

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

Département de Génie de l'Environnement

**LABORATOIRE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE
L'ENVIRONNEMENT**

**Thèse de Doctorat D-LMD
Génie de l'Environnement**

**Remédiation d'un sol pollué par les hydrocarbures pétroliers
par oxydations chimique et biologique**

*Présentée par Hadjer OURIACHE
Master2 en Génie de l'environnement*

Membres de Jury

Présidente :	M^{me} N. BELHANECHÉ	Professeur	ENP
Directrice de thèse :	M^{me} J. ARRAR	Professeur	ENP
Examineurs :	Mr S. HANINI	Professeur	U.Médea
	M^{me} Z. SALEM	Professeur	USTHB
	M^{me} F. KIES	MCA	ENP
Invités :	Mr A. NAMANE	Professeur	ENP
	Mr M. KHODJA	Directeur Central	DC RD/SH

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

Département de Génie de l'Environnement

LABORATOIRE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE
L'ENVIRONNEMENT

Thèse de Doctorat D-LMD
Génie de l'Environnement

Remédiation d'un sol pollué par les hydrocarbures pétroliers
par oxydations chimique et biologique

*Présentée par Hadjer OURIACHE
Master2 en Génie de l'environnement*

Membres de Jury

Présidente :	M ^{me} N. BELHANECHÉ	Professeur	ENP
Directrice de thèse :	M ^{me} J. ARRAR	Professeur	ENP
Examineurs :	Mr S. HANINI	Professeur	U.Médeá
	M ^{me} Z. SALEM	Professeur	USTHB
	M ^{me} F. KIES	MCA	ENP
Invités :	Mr A. NAMANE	Professeur	ENP
	Mr M. KHODJA	Directeur Central	DC RD/SH

الهدف من هذا العمل هو دراسة تأثير كل من المعالجة الكيميائية بالأوكسدة الشبيهة بفتون والبيولوجية عن طريق التحفيز من أجل العلاج في حالة التربة التي تتعرض لتلوث قديم بالهيدروكربونات البترولية.

أعطت المعالجة البيولوجية للتربة عن طريق إضافة الأسمدة الكربون / النيتروجين / الفوسفور بنسبة مولية 1/10/100 في المفاعلات الحيوية الحالة الصلبة تحت ظروف الهوائية معدل التحلل الحيوي من الهيدروكربونات البترولية الإجمالية 50 % بعد 60 يوما من العلاج.

العلاج بالأوكسدة الشبيهة بفتون وتحسين العملية من خلال الأساليب الكلاسيكية والإحصائية (المستوى المضروب) أبرز أن النسب المولية المثلى هي 4/4/15 و 1/1/20 المقابلة لمعدلات إزالة الهيدروكربونات البترولية من التربة 72.2 و 79.3 % على التوالي. يبدو أن الحديد الموجود في التربة يمكنه تحفيز الـ H_2O_2 في وجود عامل مخاب

افضل المعدلات لازالة الهيدروكربونات البترولية من تربة في حالة العلاج بكل من الاكسدة الشبيهة بالفتون و الاكسدة البيولوجية هي 83.3 و 84.0 % لحصول عليها وفقا للنسب المولية على التوالي $H_2O_2/Fe/EDTA$ 15/4/4 و 20/1/1

لكن بالنسبة للاعتبارات البيئية والتكلفة ، فإن 1/1/20 هو الذي يستخدم الحديد الموجود في التربة هو الذي يوصى به. أظهر تطبيق الظروف المثلى بالمقياس شبه التجريبي إزالة 93 % من الهيدروكربونات البترولية من التربة بعد 15 أسبوعاً من العلاج.

المفاتيح: التحلل ، التحفيز البيولوجي، الفتون الشبيهة، معالجة التربة، المفاعلات البيولوجية، الهيدروكربونات.

Abstract

The objective of this work is to study the influence of the coupling of a chemical treatment by Fenton-like oxidation (FL) and biological by stimulation for soil remediation in the case of an aged pollution by petroleum hydrocarbons.

Biological treatment of the soil by adding nutrients at a carbon / nitrogen / phosphorus molar ratio of 100/10/1 in bioreactors in solid phase under aerobic conditions gave a rate of biodegradation of total petroleum hydrocarbons (TPHs) of the soil of 50% after 60 days of treatment.

The Fenton-like oxidation treatment and the optimization of the process by the classical and statistical methods (factorial plane) highlighted an optimum molar ratio $H_2O_2 / Fe / EDTA$ of 15/4/4 and 20/1/1 corresponding to TPH removal rates of 72.2 and 79.3% respectively. It appears that endogenous iron is able to catalyze H_2O_2 in the presence of the chelating agent.

The best yields for removing TPHs from the soil by coupling Fenton-like and biological oxidation are 83.3 and 84.0% obtained for the molar ratios $H_2O_2 / Fe / EDTA$ (15/4/4 and 20 / 1/1) respectively. But for environmental considerations and cost, it is that of 20/1/1 which uses endogenous iron which is recommended. The application of optimal conditions at the semi-pilot scale showed a removal of 93% of petroleum hydrocarbons after 15 weeks.

Keywords: Degradation, Biostimulation, Fenton-like, Soil remediation, bioreactors, hydrocarbons.

Résumé

L'objectif de ce travail est d'étudier l'influence du couplage d'un traitement chimique par oxydation Fenton-like (FL) et biologique par stimulation pour la remédiation dans le cas d'un sol sujet à une ancienne pollution par les produits pétroliers.

Le traitement biologique du sol par ajout des nutriments selon un rapport molaire carbone/azote/phosphore de 100/10/1 dans des bioréacteurs en phase solide sous des conditions aérobies a donné un taux de biodégradation des hydrocarbures pétroliers totaux (TPHs) du sol de 50% après 60 jours de traitement.

Le traitement par oxydation Fenton-like et l'optimisation du processus par les méthodes classique et statistique (plan factoriel) ont mis en évidence des rapports molaires $H_2O_2/Fe/EDTA$ optimum de 15/4/4 et 20/1/1 correspondant aux taux d'enlèvement des TPHs de 72,2 et 79,3% respectivement. Il ressort que le fer endogène pourrait être catalysé le H_2O_2 en présence de l'agent chélate.

Les meilleurs rendements d'élimination des TPHs du sol par couplage de l'oxydation Fenton-like et biologique sont de 83,3 et 84,0% obtenus pour les rapports molaires $H_2O_2/Fe/EDTA$ (15/4/4 et 20/1/1) respectivement. Mais pour des considérations environnementales et de coût, c'est celui de 20/1/1 qui fait appel au fer endogène qui est préconisé. L'application des conditions optimales à l'échelle semi-pilote a montré une élimination de 93% après 15 semaines de traitement.

Mots clés : Dégradation, Biostimulation, Fenton-like, Remédiation des sols, Bioréacteurs, hydrocarbures.

Remerciements

Dieu merci pour le courage et la volonté sans lesquels mon travail n'aurait jamais pu voir la lumière de ce jour.

Le présent travail a été réalisé au Laboratoire des Sciences et Techniques de l'Environnement (LSTE) de l'Ecole Nationale Polytechnique d'ALGER.

En premier lieu, je remercie, profondément, Madame **J. ARRAR, professeur** et **Chef de département de Génie de l'environnement** à l'Ecole Nationale Polytechnique d'Alger pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de diriger ce travail, pour sa disponibilité, sa patience qui n'a cessé de m'aider, de me soutenir et de me prodiguer les précieux conseils.

Mes remerciements s'adressent également à Madame **N. BELHANECHÉ, Professeur** à l'Ecole Nationale Polytechnique et Directrice du **LSTE**, pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de présider le jury de soutenance.

Je remercie également Madame **Z. SALEM, professeur** à l'Université des Sciences et de la Technologie de Bab-Ezzouar, Monsieur **S. HANINI, professeur** à l'université de Médéa, et Madame **F. KIES, maître de conférences A** à l'Ecole Nationale Polytechnique d'Alger, d'avoir accepté d'examiner cette thèse.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à Monsieur **A. NAMANE, Professeur** à l'Ecole Nationale Polytechnique d'Alger, de m'avoir soutenu tout au long de ce travail.

Mes remerciements vont aussi à Monsieur **M. KHODJA**, pour son aimable participation au jury de soutenance.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance et gratitude à Monsieur **H. LOUNICI Professeur** à l'université de Bouira, pour ses conseils, l'aide et le temps qu'il m'a bien voulu me consacrer.

Je tiens à remercier également toute l'équipe de **LSTE** pour leur précieux soutien.

Dédicaces

*A la mémoire de ma très chère sœur « **RYMA** »*

*A mon adorable « **maman** », à celle que j'aime par-dessus tout, c'est difficile de transcrire en quelques mots tout l'amour que je lui porte.*

Merci pour t'être sacrifiée pour que tes enfants grandissent et prospèrent, tu es toujours présente et continue de l'être pour faire mon bonheur. Merci tout simplement d'être.... ma Mère.

*A ma très chère sœur « **KHALIDA** », celle qui signifie tant pour moi. Merci pour les petites choses que tu fais si souvent et qui nous gardent si proches.*

*A mon oncle « **OMAR** », celui que je ne pourrai jamais assez le remercier pour tout ce qu'il a fait pour moi. Que dieu le protège*

*A mes amours : **HICHAM, YOUNES, NORHANE, MERIEM et RAYAN***

*A toute les familles **OURIACHE** et **CHAIB***

Sommaire

Liste des Abréviations

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Introduction Générale.....	10
Synthèse Bibliographique.....	14
I. Pollution des sols.....	15
I.1. Introduction.....	16
I.2. Pollution du sol par les hydrocarbures pétroliers.....	16
I.3. Hydrocarbures pétroliers.....	17
I.4. Devenir des hydrocarbures pétroliers dans le sol.....	20
I.5. Biodégradation des hydrocarbures pétroliers.....	21
I.6. Microorganismes dégradeurs des hydrocarbures.....	22
I.7. Facteurs influençant la biodégradation des hydrocarbures.....	23
II. Techniques de traitement des sols pollués.....	25
II.1. les techniques de traitement des sols pollués.....	26
II.2. Les procédés Biologiques.....	26
II.3. Procédés d'oxydation Fenton.....	30
II.4. Facteurs influençant l'oxydation Fenton like.....	32
II.5. Les procédés intégrés.....	34
Matériel et Méthodes.....	38
1. Etude du sol.....	39
2. Dispositif expérimental.....	39
3. Caractérisation du sol.....	40
5. Les hydrocarbures pétroliers totaux du sol.....	42
Chapitre 3 : Résultats et Discussion.....	44
Caractérisation Physico-chimique et Biologique du Sol.....	45

1. Caractérisation physico-chimique et biologique du Sol	46
Traitement biologique du sol	48
2. Traitement du sol par oxydation biologique.....	49
Traitement de sol par oxydation Fenton-like	55
3. Traitement de sol par oxydation Fenton-like (FL)	56
Traitement du sol par couplage d'oxydations Fenton-like et biologique	72
4. Traitement du sol par couplage d'oxydations Fenton-like et biologique.....	73
5. Application à l'échelle semi-pilote.....	81
Conclusion générale	87
Références	90
Bibliographiques	90
Annexes	99

Liste des Abréviations

- POAs** : Procédés d'oxydation avancée.
- FL** : Fenton-like
- P** : Phosphore
- N** : Azote
- pH** : Potentiel hydrogène
- UFC** : Unités formant des colonies
- X** : Biomasse
- ZVI** : Fer zéro valent
- EDTA** : Acide éthylène di-amine tétra-acétique
- MO** : Matière organique
- CO** : Carbone organique
- TPHs** : Hydrocarbures pétroliers totaux
- Bio** : Biotique
- Abio** : Abiotique
- AN** : Atténuation naturelle

Liste des Tableaux

Tableau 1:Composition élémentaires des hydrocarbures pétroliers	17
Tableau 2 : Composition chimique des principaux dérivés des produits pétroliers	18
Tableau 3:Influence du coefficient de partage K_{ow} sur le comportement du polluant vis-à-vis de chaque phase aqueuse et solide	20
Tableau 4:Les différents types de traitement biologique des sols pollués par les hydrocarbures pétroliers.....	27
Tableau 5: Caractérisation physico-chimique et biologique du sol	46
Tableau 6: Facteurs et niveaux codés pour la conception de l'expérience	63
Tableau 7: Résultats expérimentaux de plan factoriel complet 2^3	64
Tableau 8: L'analyse des coefficients du modèle de la réponse Y	65
Tableau 9: Analyses de la variance (ANOVA)	66
Tableau 10: Les résultats de fractionnement des hydrocarbures pétroliers	85

Liste des Figures

Figure 1 : Structure chimique des hydrocarbures pétroliers	18
Figure 2: Dispositif Expérimental.....	40
Figure 3 : Evolution temporelle de la biomasse pour les systèmes biotiques.....	50
Figure 4 : Evolution Temporelle de la biomasse et le rapport molaire C/N/P.....	51
Figure 5 : Evolution temporelle de taux d'enlèvement et biodégradation des TPHs.....	53
Figure 6 : Variations de pH selon les concentrations de (a) H ₂ O ₂ , (b) fer total et fer total/EDTA.....	58
Figure 7 : Evolution Temporelle des TPHs selon la variation des concentrations de.....	62
Figure 8 : Comparaison entre les réponses estimées et expérimentales	65
Figure 9 : Test de Pareto Chart.....	66
Figure 10: Les effets d'interaction sur l'efficacité de dégradation des TPHs.....	67
Figure 11: a) Représentation en surface des effets de H ₂ O ₂ et des doses de fer totale sur l'efficacité de l'élimination des TPHs	69
Figure 12: Facteurs optimaux de traitement par fonction de désirabilité pour une élimination maximale des TPHs	70
Figure 13: Evolution temporelle de pH pour les différents systèmes biotiques	74
Figure 14: Evolution temporelle des microorganismes totaux pour les différents systèmes biotiques..	75
Figure 15: Evolution temporelle de l'azote dans les différents systèmes biotiques	76
Figure 16: Evolution temporelle du phosphore pour les différents systèmes biotiques.....	77
Figure 17: Evolution temporelle des taux d'enlèvement des TPHs pour les systèmes A,B et la biodégradation seule	78
Figure 18: Evolution temporelle des taux de biodégradation pour les systèmes A,B et la biodégradation seule	78
Figure 19: Evolution temporelle des taux des TPHs pour les différents systèmes biotiques et abiotiques	79
Figure 20: Evolution temporelle de la biomasse	82
Figure 21: Evolution temporelle des nutriments (NT, PT).....	84
Figure 22: Evolution temporelle des taux d'enlèvement des TPHs	85
Figure 23: Distribution granulométrique cumulée des particules du sol.....	100
Figure 24: Schéma de principe d'un perméamètre à charge constante.....	101

Introduction Générale

Au fil des années, le nombre de sites contaminés n'a cessé de croître. Leur contamination est la conséquence de déversements accidentels, des rejets industriels ou tout simplement de l'enfouissement de déchets. Bien que des progrès substantiels aient été accomplis ces dernières années pour réduire les rejets industriels à l'origine de pollution chronique, les accidents de pollution (déversements ou rejets non contrôlés) se produisent toujours, provoquant ainsi la pollution des côtes, des sols et des nappes phréatiques et le nombre des sites contaminés est considérable.

Parmi les grandes industries polluantes, l'industrie pétrolière avec sa multitude de réservoirs souterrains contenant des hydrocarbures, constitue la principale source de pollution des sols. C'est un problème d'actualité auquel est confronté l'environnement aujourd'hui.

C'est pourquoi nous nous intéressons particulièrement à la remédiation des sites contaminés par les hydrocarbures pétroliers.

Les industries pétrolière et gazière, occupent une place centrale dans l'économie algérienne et sont à l'origine de la pollution des sols depuis des années, voire des décennies.

En effet, la pollution des sols par les hydrocarbures, en raison de son caractère toxique et insidieux, constitue une menace très sérieuse et une source de risques permanents pour l'être humain et l'environnement en Algérie.

La dégradation naturelle est lente de certains composés, tels les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), présentant souvent un caractère toxique, cancérigène et/ou mutagène. Plusieurs techniques de traitements sont utilisées pour la réhabilitation des sols faisant appel à des procédés thermiques, physico-chimiques et/ou biologiques.

Pour un même type de pollution, plusieurs traitements peuvent être préconisés. La stratégie adoptée dépend du site, de son contexte géographique, du degré et du type de pollution etc.... D'autre part, l'importance des coûts de traitement a conduit à la recherche de nouvelles techniques de dépollution plus performantes et plus économiques.

Un intérêt est porté sur le développement des techniques biologiques mises en œuvre hors site, qui offrent de bonnes perspectives tant du point de vue performance, que celui du respect environnemental. Leur mise en œuvre est de plus en plus envisagée dans la mesure où ce sont des technologies relativement simples. En particulier, les bioréacteurs qui sont davantage utilisés lorsque la pollution est importante et permettant le contrôle des paramètres environnementaux (pH, température, taux d'humidité, nutriments, ...). Cependant, la présence de substances récalcitrantes et / ou toxiques, l'âge de la pollution, les contraintes de délais et les teneurs résiduelles de polluants nécessitent des traitements rapides et efficaces (**Kulik et**

al., 2006), tels que la combinaison de processus d'oxydations chimique et biologique (**Usman et al., 2012a**).

En effet, les procédés d'oxydation avancés constituent une bonne alternative pour la dépollution des sols sujets à une ancienne pollution par des polluants organiques toxiques et persistants et ont l'avantage d'être rapides et relativement efficaces (**Ferrarese et al., 2008; Goi et al., 2006**).

Ces procédés peuvent être utilisés jusqu'à disparition de la toxicité et / ou génération de sous-produits biodégradables et / ou inoffensifs.

Parmi eux, les procédés Fenton sont parmi les plus faciles à mettre en œuvre avec des taux d'efficacité élevés. Ils sont capables d'oxyder presque tous les types de contaminants organiques même les plus persistants. Cependant, leurs applications sont limitées par un pH optimal très acide (≤ 3). Ses effets négatifs sur le sol nécessite l'addition continue de fer pour parvenir à une dégradation complète des contaminants cibles (**Zhou et al., 2009**).

Pour surmonter ces inconvénients, l'oxydation de type Fenton-like (FL) a été développée à l'aide de catalyseurs tels que les oxydes de fer minéraux ou du fer zéro valent, pour une dégradation efficace des contaminants organiques dans la gamme de pH neutre (**Usman et al., 2012b**). L'ajout d'agents chélateurs, tels que le catéchol, l'acide gallique, l'acide oxalique et l'acide éthylène diamine tétra-acétique, est généralement recommandé pour améliorer l'efficacité du traitement Fenton-like et prévenir la précipitation du fer à pH naturel du sol (**Venny et al. , 2012**).

Dans ce cadre, nous nous intéressons au traitement chimique par oxydation Fenton-like combine un traitement biologique, par stimulation des microorganismes dans un bioréacteur en phase solide, nécessitant peu d'énergie pour l'aération forcée et de ce fait rentable même lorsque les durées de traitement requises sont longues. La problématique consiste à étudier la faisabilité et les performances de traitement combiné dans le cas d'un sol sujet à une ancienne pollution par les hydrocarbures pétroliers à fortes concentrations. Après caractérisation du sol, le traitement du sol a été réalisé dans des réacteurs en phase solide, sous des conditions aérobies (cas d'oxydation biologique) tant qu'à l'échelle de microcosme qu'au réacteur semi-pilote de laboratoire.

La 1ère partie a porté sur le traitement biologique des hydrocarbures pétroliers du sol par ajout de sources d'azote et de phosphore selon un rapport molaire C/N/P=100/10/1.

La 2ème partie, est basée sur l'étude de l'efficacité du procédé Fenton-like, puis l'optimisation du rapport molaire optimale $H_2O_2/Fe/EDTA$ par application du plan factoriel à

deux niveaux, qui nous a permis de modéliser le processus Fenton-like dans le cas du sol étudié.

La 3ème partie, a été consacrée à l'étude de couplage d'oxydations Fenton-like et biologique, en considérant les rapports molaires C/N/P de 100/10/1 pour un taux d'humidité entre 25 et 30% à température ambiante.

Les essais ont été réalisés à l'échelle de microcosmes puis appliqué à un réacteur semi-pilote en optant pour les conditions optimales.

La thèse comprend deux parties principales :

- Une synthèse bibliographique, dont une partie est consacrée à la pollution du sol, en particulier les hydrocarbures pétroliers et leur toxicité et aux pollutions qui en découlent. Nous aborderons également les différentes techniques de traitement des sols pollués par les hydrocarbures. Nous avons décrit de manière explicite, les bioréacteurs, l'oxydation Fenton-like et le traitement combiné adopté dans notre étude.
- Une partie expérimentale, qui comprend principalement deux volets

Le premier est une présentation de dispositif expérimental, du matériel et des méthodes analytiques utilisés pour la réalisation de ce travail.

Le deuxième volet regroupe tous les résultats obtenus et leurs interprétations : la caractérisation physico-chimique et biologique du sol, le traitement biologique des hydrocarbures pétroliers. Puis la détermination des conditions optimales du procédé Fenton-like suivie d'un traitement combiné d'oxydation biologique (Biostimulation) et d'une oxydation chimique (Fenton_like) tant à l'échelle de microcosmes que semi-pilote.

Nous terminons notre étude par une conclusion générale et quelques recommandations.

Chapitre 1 :

Synthèse Bibliographique

I. Pollution des sols

I.1. Introduction

La pollution des sols correspond à la présence des composés toxiques qui ont des effets nocifs sur les êtres humains, la faune et la flore (la croissance des plantes, la santé des animaux et les êtres humains). Elle peut être issue des phénomènes naturels ou des activités humaines.

Elle provient le plus souvent des activités humaines qui durant des décennies ont rejeté dans l'environnement des quantités importantes de polluants, faute de techniques et de réglementation stricte en matière de protection. La pollution des sols est le résultat de pratiques sommaires d'élimination des déchets, des fuites ou d'épandage de produits chimiques (accidentels ou pas), et des retombées atmosphériques (**Osman, 2018**).

Ces micropolluants se sont accumulés au fil du temps au niveau des sols où ils atteignent des teneurs supérieures à celles des fonds géochimiques. La pollution peut être **ponctuelle** ou **accidentelle**, se caractérisant par des déversements très localisés (pollution localisée), dans l'espace et dans le temps, d'un nombre limité de produits à des concentrations élevées. Elle peut également être **diffuse**, impliquant des polluants à faibles concentrations s'étalant sur de grandes surfaces. C'est le cas de la pollution des sols par les polychlorobiphényles (PCB) et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP).

Les composés rencontrés dans les sites pollués sont d'origine organique ou minérale. Les principaux polluants organiques sont des hydrocarbures (carburants et combustibles) et des produits halogénés (solvants chlorés, polychlorobiphényles, polychlorophénols). Les polluants d'origine minérale sont des composés à base de métaux lourds tels que le plomb, le mercure, le zinc et le cadmium (**Raymond et al., 2010**).

Les hydrocarbures sont les polluants organiques les plus fréquents, étant donné le rôle fondamental des produits pétroliers dans l'économie moderne et les quantités énormes utilisées dans le monde, en particulier la production d'énergie (**Ballerini, 2001**). C'est pour cela, nous nous intéressons plus particulièrement à la pollution des sols par les hydrocarbures pétroliers.

I.2. Pollution du sol par les hydrocarbures pétroliers

La pollution des sols par les hydrocarbures constitue une menace très sérieuse pour l'environnement en Algérie, les pertes et les fuites ainsi que les déversements accidentels font craindre une situation écologique irréversible.

L'Algérie est un pays producteur et explorateur de pétrole. En effet, la production du pétrole brut est en hausse. Elle a atteint 64,3MTEP (millions de tonne équivalent pétrole) en 2019. Le raffinage du pétrole donne des rejets de produits toxiques tels que les HAPs, alors que son stockage est souvent sujet à des fuites. Mais le transport représente la source la plus conséquente puisqu'à toutes ses étapes il y a des pertes (**Larid et al., 2001**).

De nombreux déversements ont lieu au niveau des sites d'exploitation et de production générant des surfaces importantes de sol pollué. Le transport du pétrole des lieux de production au sud vers les unités industrielles implantées au nord augmente le risque de déversements accidentels, et de fait la contamination du sol et sous-sol par les hydrocarbures pétroliers voire même les eaux souterraines (**Larid et al., 2001**).

I.3. Hydrocarbures pétroliers

1.3.1. La composition chimique des hydrocarbures pétroliers

Les hydrocarbures pétroliers font partie des produits chimiques les plus importants pour l'humanité et sont notamment utilisés comme source d'énergie primaire (**Sunita et Varjani, 2017**). Ils contiennent principalement des molécules composées d'atomes de carbone et d'hydrogène. Ce sont des composés organiques de formule brute : C_nH_m où n et m sont des entiers naturels. Ces hydrocarbures sont classés en composés saturés ou insaturés qui peuvent être linéaires, ramifiés ou cycliques (**Fig.1**). Il s'agit d'alcanes non cycliques (ou paraffines), des cycloalcanes (ou naphènes), d'alcènes (ou oléfines) et d'hydrocarbures aromatiques (**Fig.1**). D'autres constituants mineurs sont également présents dans les hydrocarbures pétroliers, comme des métaux et des composés polaires qui contiennent de l'azote, du soufre ou de l'oxygène. Les molécules polaires de faible masse moléculaire sont appelées des résines, les plus lourdes étant regroupées sous l'appellation d'asphaltènes. La composition élémentaire des hydrocarbures pétroliers est présentée dans le **Tableau 1**.

Tableau 1:Composition élémentaires des hydrocarbures pétroliers (**seibig et Van Edik,1997**)

Eléments	Carbone	Hydrogène	Azote	Oxygène	Soufre	Métaux
Pourcentage	83 à 87%.	10 à 14%	0,1 à 2 ,0%	0,05 à 6,0 %	0,05 à 6,0%	<0,1%

La différence de composition chimique des hydrocarbures pétroliers (**Tableau 1**) est due à la nature du pétrole, son origine, ses caractéristiques chimiques, aux propriétés du sol et de l'ensemble des traitements et transformations réalisés selon l'objectif visé lors du raffinage.

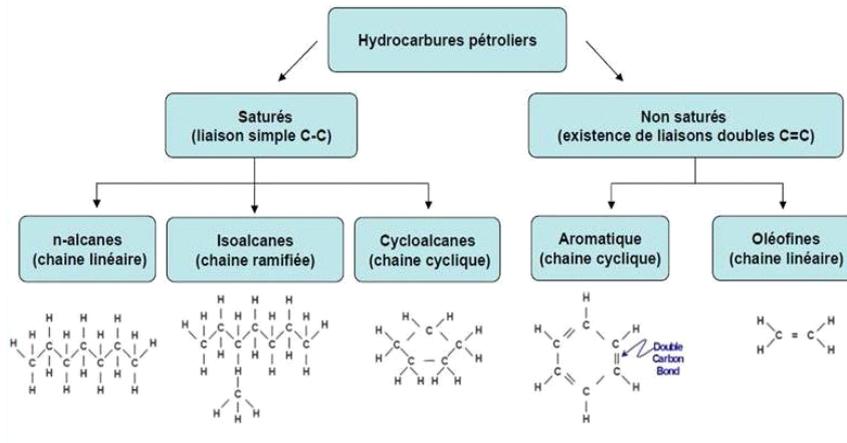


Figure 1 : Structure chimique des hydrocarbures pétroliers (Colombo et al., 2013).

Tableau 2 : Composition chimique des principaux dérivés des produits pétroliers (Akram, 2010)

Groupe	Composés	Essence	Diesel	Pétrole brut léger	Pétrole brut lourd	Mazout intermédiaire	Mazout lourd
Aliphatiques (%)	Totaux	50-60	65-95	55-90	25-80	25-35	20-30
	Alcanes Non cycliques	45-55	35-55	40-85	20-60	10-25	10-20
	Alcanes Cycliques	5	25-50	5-35	0-10	0-5	0-5
	Alcènes	5-10	0-10				
Aromatiques (%)	Totaux	25-40	5-25	10-35	15-40	40-60	30-50
	BTEX	15-25	0,5-2,0	0,1-2,5	0,01-2,0	0,05-1,0	0,00-1,0
	HAP	0,5	10-35	15-40	30-50-	10-30	
Composés polaires (%)	Totaux		0,2	1-15	5-40	15-25	10-30
	Résines		0,2	0-10	2-25	10-15	10-20
	Asphaltènes			0-10	0-20	5-10	5-20
Eléments mineurs	Métaux (ppm)			30-250	100-500	100-1000	100-2000
	Soufre (%)	0,02	0,1-0,5	0-2	0-5	0,5-2	2-4

I.3.2. Les caractéristiques physico-chimiques des hydrocarbures pétroliers

➤ **la masse volumique** : correspond à la masse par unité de volume, et est utilisée pour distinguer les hydrocarbures légers et lourds. Elle contrôle fortement le comportement des polluants liquides dans la zone saturée si le polluant est immiscible. La plupart des hydrocarbures ont des densités comprises entre 0,70 et 0,99 g/ml à 15°C (**Kanzari et al., 2012**)

➤ **La solubilité** : peut être un bon indicateur de la tendance d'un produit à être entraîné par les eaux dans un sol. La solubilité des hydrocarbures dans l'eau est très faible. Un hydrocarbure est d'autant plus soluble que sa masse moléculaire est faible et que sa polarité est élevée. Il est importants de noter que les hydrocarbures solubles sont parmi les plus dangereux pour l'environnement, ils sont difficiles à éliminer et sont adsorbés par la faune et la flore du sol (**Chaineau et al., 2000**).

➤ **La viscosité** : influe sur l'aptitude à l'écoulement et l'infiltration dans le sol d'un composé organique. Plus la viscosité est élevée, plus le déplacement du polluant sera lent.

➤ **La pression de vapeur** : c'est un indicateur sur la tendance d'un produit à se volatiliser

➤ **Le coefficient de partage octanol-eau (K_{ow})** : est directement lié à la polarité et représente le rapport entre la concentration à l'équilibre d'un composé dans l'octanol et la concentration de ce même composé dans l'eau. Un composé est dit non polaire ou apolaire si $\log(K_{ow}) > 4$, polaire si $\log(K_{ow}) < 1,5$ et moyennement polaire si son $\log(K_{ow})$ est compris entre ces deux valeurs. Ce coefficient est utilisé pour estimer la sorption d'une substance organique dans un sol (**Viet et al., 2015**). les composés à forte valeur de K_{ow} (c'est-à-dire facilement soluble dans l'octanol et moins dans l'eau) s'adsorbent mieux sur les particules solides, et sur la matière organique du sol et ne sont pas entraînés avec l'eau dans les profondeurs (**Gatellier, 1992**). Et donc ils sont hydrophobes. **Le tableau 3** donne l'influence du coefficient de partage K_{ow} sur le comportement du polluant vis-à-vis des phases aqueuses et solides selon **Ballerini et al., (2001)**.

➤ **Le coefficient d'adsorption au carbone organique (K_{oc})** : caractérise la tendance d'un composé à être retenu par la matière organique du sol. Plus le K_{oc} est élevé plus le composé tend à quitter l'eau pour se fixer sur la matière organique qui est présente en proportions variables dans l'ensemble des sols (**Géraldine et Josiane, 2002**).

Tableau 3:Influence du coefficient de partage K_{ow} sur le comportement du polluant vis-à-vis de chaque phase aqueuse et solide (**Ballerini et al., 2001**)

Coefficient de partage	>10	>100
Comportement vis-à-vis de l'eau	Hydrophile	Hydrophobe
Solubilité dans l'eau	Elevé	Faible
Solubilité dans la phase organique	Faible	Elevée
Coefficient d'adsorption	Faible	Elevée
Facteur de bio-concentration	Faible	Elevée

I.4. Devenir des hydrocarbures pétroliers dans le sol

Le devenir et la mobilité des hydrocarbures dans l'environnement, qu'ils soient d'origine pétrolière ou synthétique, notamment leur mode de transport et de dispersion, leur transformation physico-chimique et leur évolution ultime, est fonction de leurs caractéristiques physico-chimiques, et les caractéristiques du sol.

Les hydrocarbures dans les sols sont susceptibles d'être affectés par différents phénomènes, on cite :

➤ **Evaporation** : Ce phénomène touche les fractions de faible poids moléculaire. Les hydrocarbures les plus légers, ayant de 4 à 12 atomes de carbone ($T_{eb} < 270$ °C), sont évaporés rapidement dès les premiers jours, pouvant conduire à une pollution de l'atmosphère (**Chaplin et al., 2002**) Ainsi, quelques jours après un déversement, les hydrocarbures peuvent perdre jusqu'à 75% de leur volume initial et les bruts moyens, jusqu'à 40%. En revanche, les hydrocarbures lourds ne perdent pas plus de 10% de leur volume durant les premiers jours suite à un déversement (**Chaplin et al., 2002**).

➤ **L'adsorption** : Après avoir pénétré dans le sol, une partie des hydrocarbures peut s'adsorber à la matrice du sol et être incorporée à sa matière organique. La présence d'argile et de matière organique favorisent la rétention des polluants organiques dans le sol. Plus la taille de la molécule est importante, plus grande est son hydrophobicité et plus son adsorption sur la matrice solide sera importante (**Charisma et al., 2014**).

➤ **La photo-oxydation** : La photo-oxydation, ou oxydation photochimique, est une transformation des hydrocarbures observée à la surface du sol sous l'effet des rayons UV (radiations solaires) (**Payne et al., 1985**). Ce mode de transformation dépend de la nature des hydrocarbures et de la présence de composés non hydrocarbonés. La photo oxydation touche plus particulièrement les composés aromatiques qui sont plus photosensibles que les composés aliphatiques. D'autre part, les composés ramifiés sont plus facilement photo-oxydés que les *n*-alcanes (**Rontani et al., 1987**).

➤ **La biodégradation** : Des hydrocarbures par les microorganismes est le phénomène majoritaire consistant à une décomposition de la matière organique. Elle est proportionnelle à la solubilité et inversement proportionnelle à l'adsorption (**Guittoun et Abbia, 2014**).

I.5. Biodégradation des hydrocarbures pétroliers

C'est une réaction de type redox qui aboutit à la dégradation des molécules organiques sous l'action des microorganismes, où les composés organiques sont transformés en sous-produits simples (métabolites), généralement le dioxyde de carbone et l'eau (minéralisation).

La biodégradation peut être réalisée soit en conditions aérobies (conditions oxydantes), si l'oxygène agit comme un accepteur terminal des électrons, soit en conditions anaérobies (conditions réductrices), en présence de nitrates, sulfates et/ou bicarbonates, qui jouent le rôle d'accepteurs terminaux (**Kumar et al., 2006**).

La biodégradation des composés organiques dépend de leur structure chimique, de leur concentration et de leur accessibilité à la flore microbienne. Le potentiel de biodégradation permet de classer les hydrocarbures pétroliers en composés dégradables, persistants (ne changent pas d'état spontanément) et récalcitrants. En règle générale, les hydrocarbures de faible poids moléculaire sont plus facilement biodégradables que les grosses molécules et la vitesse de dégradation dépend du degré de ramification. En général, les taux de biodégradation dans des conditions aérobies sont considérablement plus élevés que ceux dans des conditions anaérobies (**Mukherji, 2007**).

Il peut arriver que des composés potentiellement biodégradables ne subissent pas d'attaques par les microorganismes. Plusieurs raisons peuvent être suggérées (**Lecompte (1998), USEPA (1998)**) :

- Le polluant n'est pas bio-disponible pour les microorganismes ;
- Les teneurs intrinsèques en nutriments nécessaires sont insuffisantes ;
- La concentration du polluant est trop élevée dans le site de sorte qu'elle empêche la prolifération microbienne ;
- La présence de mélanges de substances peut développer les phénomènes d'inhibition et stopper le processus, en empoisonnant les microorganismes présents.

I.5.1. Les hydrocarbures aliphatiques

Les cinétiques de dégradation des alcanes sont inversement proportionnelles à la longueur de leur chaîne (**Eriksson et al., 2003**) et l'augmentation du nombre de ramification a pour effet de diminuer leur biodégradabilité (**Tao et al., 2004**).

Les alcanes entre C₁₀ et C₂₀ sont des substrats aisément dégradables, tandis les alcanes à chaînes plus longues entre C₂₀ et C₄₀ sont des solides hydrophobes difficiles à dégrader du fait de leurs faibles solubilité et biodisponibilité. Les alcanes à chaînes ramifiées sont également dégradés mais beaucoup plus lentement que ceux à chaînes linéaires (**Kanzari et al., 2012**).

I.5.2. Les hydrocarbures aromatiques

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques à nombre de cycles élevés (>4) sont les plus résistants et sont considérés comme réfractaires à la biodégradation. Leur biodégradation nécessite des microorganismes spécifiquement adaptés. En général, plus une molécule est substituée, plus elle est difficile à dégrader et plus elle est récalcitrante (**Varjani, 2017**)

I.6. Microorganismes dégradeurs des hydrocarbures

La dégradation microbienne est un mécanisme naturel et primordial pour dépolluer les sites contaminés par les hydrocarbures (**Ward et al., 2003**). Une grande variété de microorganismes indigènes du sol a la capacité de dégrader les hydrocarbures pétroliers (**Huang et al., 20019**).

Les bactéries et les champignons sont des médiateurs primaires dans la dégradation des hydrocarbures, les plus étudiés et semblent les plus efficaces. En effet, ils sont capables de métaboliser une large gamme d'hydrocarbures, les transformant partiellement en métabolites ou en les minéralisant complètement (**Lu et al., 2010b**) Les bactéries se sont avérées plus polyvalentes et actives que les champignons et peuvent donc jouer un rôle plus important au cours de la biodégradation des hydrocarbures. A l'inverse, les champignons se propagent dans le sol grâce à leur mycélium et produisent des enzymes extracellulaires par exemple des oxydases à large spécificité de substrats qui permettent un meilleur contact avec les hydrocarbures. D'où une plus forte efficacité.

Les différents genres bactériens fréquemment décrits pour leur capacité à dégrader les hydrocarbures dans le sol comprennent : *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Collimonas*, *Corynebacterium*, *Dietzia*, *Flavobacterium*, *Gordonia*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Nocardioides*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Rhodococcus*, *Sphingomonas*, *Variovorax* et d'autres clones bactériens (**Leahy et Colwell, 1990 ; Cerniglia, 1992; Juhash et Naidu, 2000; Hamamura et al, 2006; Chikere et al, 2009a; Obayori et Salam, 2010**).

I.7. Facteurs influençant la biodégradation des hydrocarbures

I.7.1. pH

La plupart des microorganismes sont capables de se développer dans un intervalle de pH allant de 5 à 9 avec un optimum se situant aux alentours de 7 légèrement alcalin (**Gobet, 2004**). **Dibble et Bartha (1979) cités par (Arrar et al., 2007)** ont mis en évidence que la dégradation des hydrocarbures est maximale pour des pH compris entre 7,5 et 7,8 et est inhibée pour des valeurs inférieurs.

I.7.2. L'Humidité

De manière générale, l'eau dans les sols doit être en quantité suffisante afin de permettre l'activité microbienne. Mais elle peut également la limiter, en empêchant la diffusion de l'oxygène, si elle se trouve en quantité très importante (**Bergendhal et al., 2004**). Dans ce cas, c'est le développement de communautés bactériennes réductrices qui est favorisé. **Viisima et al., 2013** ont étudié la bioremédiation en microcosmes d'un sol contaminé par le créosote. Dans le cas d'un sol sec, aucune diminution des teneurs en contaminants n'était observée alors que pour un sol humidifié à 40% de la capacité de rétention du sol, la diminution des teneurs en HAPs totaux atteint 87% au bout de 200 jours d'incubation. **Antizar-Ladislao et al., (2006)** ont étudié la bioremédiation en batch d'un ancien sol contaminé par du goudron à différentes teneurs en eau (0% , 40%, 60% et 80%) une très faible diminution des HAP est dans le cas du sol sec et que teneur en eau optimale s'est avérée de 60% avec près de 70% de dégradation des HAPs après 98 jours de traitement.

I.7.3. Les nutriments

Les nutriments sont très importants pour la biodégradation des hydrocarbures en particulier l'azote, le phosphore et, dans certain cas le fer (**Cooney, 1984) cité par (Arrar, 2007)**. Les sols contaminés par les hydrocarbures sont souvent limités en nutriments en raison de l'apport excessif en carbone du combustible sans apport important en nutriments. L'azote et le phosphore sont souvent identifiés comme des facteurs limitant à la biodégradation dans les sols (**Sun et al., 2008**).

Xu et al. (2011) ont constaté que les sols contaminés par les carburants pétroliers ont tendance à perdre de l'azote à des taux plus rapides que les sols non contaminés, principalement en raison de la dénitrification.

En général, c'est le rapport molaire C/N/P de 100/10/1 qui est considéré comme optimal et est préconisé (**Sabate et al., 2004**). Selon d'autres chercheurs, le rapport C/N approprié et/ou

optimal pour la biodégradation s'étend de 14/1 jusqu'à 560/1, selon **Moller et al.,(1995) cité par (Arrar,2007)**.

I.7.4. La température

La température affecte la solubilité des hydrocarbures. Bien que la biodégradation des hydrocarbures puisse se produire sur un large éventail de températures, le taux de biodégradation diminue généralement avec la température. Les taux de dégradation les plus élevés se situent généralement entre 30 et 40°C dans les milieux du sol (**Sunita et Varjani, 2017**).

I.7.5. L'oxygène (O₂)

La disponibilité d'accepteurs d'électrons constitue un facteur limitant au développement des processus microbiologiques dans les sols. C'est l'oxygène qui joue ce rôle dans le cas des procédés aérobies.

L'oxydation par l'oxygène semble être le mécanisme primaire dans la biodégradation des hydrocarbures selon **Greer et al. (2003) cité par Arrar (2007)**. Cette étape initiale du catabolisme des hydrocarbures par les microorganismes implique l'intervention d'hydroxylases et d'oxygénases, pour lesquelles l'oxygène est indispensable.

La teneur en oxygène doit être supérieure à 10% pour stimuler la dégradation par voie aérobie (**Valderram et al., 2009**). La dégradation anaérobie des composés hydrocarbonés par les micro-organismes peut se produire mais les cinétiques sont beaucoup plus lentes que celles de la biodégradation aérobie (**Liu et al., 2011**).

II. Techniques de traitement des sols pollués

II.1. les techniques de traitement des sols pollués

La pollution des sols par les hydrocarbures pose d'importants problèmes d'élimination. Les méthodes de traitements sont nombreuses et peuvent être de nature physique, chimique, thermique ou biologique. Les méthodes physiques consistent à transférer et concentrer les polluants du sol contaminé, sans les modifier ou les détruire (**Masten et Davies, 1997**). Les méthodes chimiques font appel à un principe réactionnel pour transformer le polluant en un composé moins toxique (**Collin, 2000**). Les méthodes thermiques consistent à chauffer le sol contaminé pour en extraire le polluant le détruire, par incinération ou désorption thermique (**Kosarsic, 2001**). Ces voies d'élimination ont leurs limites du fait de leurs coûts ou impact secondaire sur l'environnement. La voie biologique est actuellement en plein essor et suscite de très nombreux travaux de par le monde, elle vise à favoriser la biodégradation voire la minéralisation des polluants en accélérant le processus d'atténuation naturelle.

Des techniques de mise en œuvre Ex-situ ou In-situ sont envisageables, selon le degré et le type de pollution, le site et son contexte géographique (**Phillips, 1999**). Les techniques ex-situ consistent en l'excavation des sols contaminés. Ce sont des méthodes hors site si le sol est évacué vers un centre de traitement spécialisé, ou des méthodes sur site si le sol est excavé et redéposé sur le site même pour y être traité. Dans le cas des techniques in-situ, la dépollution s'effectue sans excavation du sol.

II.2. Les procédés Biologiques

Les procédés biologiques permettent de dégrader les polluants par l'action de microorganismes (bactéries, champignons...). Ils peuvent être utilisés seuls ou en complément d'autres techniques. Cela peut être réalisé sans ou avec excavation du sol qui font appel à la biostimulation du milieu réactionnel, pour assurer aux microorganismes les conditions optimales pour leur prolifération, avec ou sans inoculation de consortium bactérien ou microorganismes dégradeurs correspondant à la bioaugmentation.

➤ **La biostimulation** : implique la modification de l'environnement pour stimuler l'activité des populations microbiennes autochtones du sol par l'ajout des nutriments, notamment l'azote, le phosphore, les teneurs intrinsèques étant faibles limitent l'activité microbienne (**Dellile et al., 2004**).

Le principal avantage de la biostimulation est de faire appel aux microorganismes indigènes déjà présents, et qui sont bien adaptés à l'environnement du sous-sol, et qui sont bien repartis spatialement dans la sous-surface (**Silva et al., 2013**).

➤ **La bioaugmentation** : consiste à introduire des cultures de microorganismes au milieu contaminé dans l'objectif d'améliorer la biodégradation des hydrocarbures. Elle repose sur l'addition de souches bactériennes pures pré-adaptés, d'un consortium pré-adapté, ou de bactéries génétiquement modifiées (**Venosa et al., 2002**).

L'utilisation d'un consortium microbien plutôt que d'une culture pure pour la bioremédiation est plus avantageuse car elle fournit la diversité métabolique et la résistance nécessaire aux applications sur le terrain (**Ghazali et al., 2004**).

Le tableau 4 résume les différents types de traitement biologique pour la réhabilitation d'un sol pollué par les hydrocarbures pétroliers.

Tableau 4: Les différents types de traitement biologique des sols pollués par les hydrocarbures pétroliers

Technique de mise en œuvre	Nature de pollution	Type de traitement	
In-situ	Hydrocarbures volatils et semi-volatils	Bioventing phytoremediation	
Ex-situ	Hydrocarbures	Bioréacteurs	Réacteur à boues activées
			Biopiles
		Land-farming	

II.2.1. Bioventing

C'est une méthode qui fait appel à des techniques de pompage et d'injection pour fournir de l'oxygène sous forme gazeuse (air, oxygène, ozone), ou liquide (peroxyde d'oxygène) avec injection de nutriments nécessaires à l'activité microbienne. La source d'oxygène est le principal inconvénient de ce système, car l'injection d'eau saturée en air n'est pas suffisante.

L'apport d'oxygène s'effectue de plus en plus en phase liquide surtout à partir de peroxyde d'hydrogène. Cependant, cette technique présente trois inconvénients majeurs : son coût, le caractère corrosif de peroxyde d'oxygène, qui attaque les puits d'injection (**Collin, 2000**), et son pouvoir désinfectant utilisé à de fortes concentrations. Du fait de la lenteur du processus de dégradation des hydrocarbures, notamment attribuable à leur forte adsorption sur le sol, il peut être nécessaire d'augmenter la biodisponibilité des hydrocarbures par ajout de tensioactifs. En effet, **Kosaric, (2001)** a observé une réduction significative de la concentration en hydrocarbures après 22 jours de bioremédiation et ajout de bio-tensioactifs.

II.2.2. Landfarming

C'est une technique ex-situ, qui regroupe toutes les applications mettant en œuvre des lots de terres contaminées de différentes hauteurs, y compris ceux auxquels ont été additionnés des matières végétales (composts). Pour ce faire, sol est étalé après excavation sur une grande surface imperméable, sur une épaisseur de quelques dizaines de centimètres. Ensuite la terre est retournée avec d'éventuels ajouts favorisant la biodégradation. La durée du traitement varie de 12 à 24 mois pour les hydrocarbures, avec un taux moyen d'élimination de 80 %, le rendement variant selon la nature et le type de pollution (**Lecompte, 1995**). Lorsque le taux d'élimination n'est pas suffisamment élevé, la biostimulation peut être effectuée par ajout de nutriments spécifiques, ou alors la bioaugmentation peut être préconisée par ajout de bactéries adaptées à la pollution. **Straube et al. (2003)** ont constaté une réelle amélioration de 10% du taux de dégradation des hydrocarbures après avoir ajouté de l'azote. **Juhasz et Naidu. (2000)** suggèrent que la bioaugmentation est une solution pour favoriser la dégradation des hydrocarbures ou le traitement des sols fortement contaminés. Pour des sols pollués contenant des contaminants volatils en quantités non négligeables, ou dans des pays où la législation interdit le traitement de dépollution à l'air libre (Québec par exemple), l'utilisation des "**bioréacteurs**" est nécessaire. Les réacteurs à l'air libre sont alors remplacés par des réacteurs où les flux de gaz et de liquide sont parfaitement contrôlés.

II.2.3. Bioréacteurs

Ce sont des systèmes généralement composés de réservoirs qui contiennent un milieu fixe ou en suspension de biomasse et qui opèrent de façon aérobie ou anaérobie (**Vogel, 2001**)

Les bioréacteurs sont particulièrement utilisés lorsque la pollution est importante et dans le cas où les microorganismes ont des difficultés à se développer dans des conditions non contrôlées (**Costs et Druelle, 1997**). Ces réacteurs fonctionnent soit en continu soit en discontinu, les temps de séjour variant avec la biodégradabilité des polluants. Ils accélèrent considérablement la vitesse de dégradation des polluants et présentent plusieurs avantages tels un meilleur contrôle des paramètres de culture (pH, température, nutriments), une oxygénation plus efficace, un contact plus intime entre les micro-organismes et les polluants, des transferts de matière et thermique accrus, un maintien de conditions optimales de biodégradation par sélection de souches adaptées.

Deux types de bioréacteurs sont utilisés ; bioréacteurs à boues activées et bioréacteur en phase solide (biopiles ou bioréacteur à sol statique).

➤ **Bioréacteur à boues activées** : Le sol contaminé est tout d'abord tamisé au préalable pour séparer les grosses particules de sol et les roches des particules fines (les contaminants adhérant généralement à ces dernières) puis mis en suspension dans l'eau moyennant une agitation mécanique selon un pourcentage massique compris entre 20 et 70% selon **Barooah (1999) et Samson (1997)** cités par **Arrar (2007)**. En général, l'aération est assurée par de l'air comprimé à partir de diffuseurs situés au fond du réacteur. **Nano et al., (2003)** préconisent de saturer l'air en eau au préalable pour réduire les pertes par évaporation et que les débits d'air soient ajustés pour maintenir une teneur en oxygène dans le réacteur proche de celle de saturation, c'est-à-dire approximativement de 6,5mg/L, la teneur en oxygène étant directement liée au débit d'aération. La circulation d'air et la vitesse d'agitation sont des facteurs importants affectant l'efficacité de la biodégradation dans les bioréacteurs à boues.

Il faut toutefois souligner que les coûts énergétiques et les investissements sont importants, par contre les durées de traitement requises sont largement diminuées, elles varient de quelques jours à quelques semaines. Ces bioréacteurs sont de loin plus efficaces que les biopiles, ils permettent un meilleur contact entre les phases biotiques et abiotiques. Cette efficacité se traduit par des taux importants de biodégradation des polluants et par conséquent des temps de séjours relativement faibles en accélérant considérablement la cinétique de dégradation des polluants et une uniformité de la bioremédiation du sol. Les durées de traitement varient de quelques jours à quelques semaines (**Nano et al., 2003**). Cependant, les coûts énergétiques pour maintenir le sol en suspension et les investissements sont nettement plus importants. Lorsque la durée requise pour le traitement n'est pas trop longue, le bioréacteur à boue reste compétitif.

➤ **Les biopiles** : sont utilisés lorsque le sol pollué contient une fraction de contaminants volatils non négligeable. cette technique nécessite une mise en tas du sol qui sera recouvert d'une membrane imperméable. Le matériau à traiter est étalé sur une surface imperméable légèrement en pente. A la base du tas, une tuyauterie est installée permettant l'aération du matériau et au sommet, un dispositif d'aspersion servira à l'humidifier. Des rigoles permettent de récupérer l'eau sortant du tas et à laquelle on ajoute les nutriments et les microorganismes nécessaires. Les gaz sont aspirés et traités avant d'être libérés dans l'atmosphère.

A l'inverse—des bioréacteurs à boues, les biopiles sont peu coûteux et exigent une faible quantité d'énergie pour l'aération forcée ce qui rend la bioremédiation en phase solide plus attrayante car plus rentable même lorsque les durées de traitement exigé sont très longues.

II.3. Procédés d'oxydation Fenton

Depuis environ une vingtaine d'années, la réaction Fenton a été développée pour la dépollution des effluents industrielles, et a été adaptée par la suite au traitement des sols (Lu et al., 2010 ; Nam et al., 2001). La réaction se fait en présence de peroxyde d'hydrogène et est catalysée par le fer présent dans le milieu sous forme ionique ou métallique pour générer le radical hydroxyle (OH[•]), extrêmement réactif (Delaat et al., 2004), et responsable de l'oxydation des polluants. On notera que d'autres métaux (cuivre, molybdène) peuvent également jouer le rôle de catalyseur mais le fer leur est préféré pour des raisons de prix et d'impacts environnementaux évidentes (Silva et al., 2013).

Le mécanisme de dégradation d'un polluant par la réaction de Fenton est complexe générant de nombreux intermédiaires réactionnels (Bielski et al., 1985 ; Buxton et al., 1988). Le phénomène de piégeage des radicaux hydroxyles affecte l'efficacité des réactions de Fenton car, il limite la quantité des radicaux hydroxyles destinés à la minéralisation des polluants (Baldrian et al., 2005 ; Kang et Hua, 2005 ; Kang et al., 2006 ; Seol et Javandel, 2008). Ce phénomène est beaucoup plus accentué dans le cas d'un large excès de catalyseur ou de peroxyde d'hydrogène (Pignatello, 1992). La présence d'ions inorganiques (Cl⁻, Br⁻, F⁻, SO₄²⁻ ou PO₄³⁻) dans le milieu réactionnel peut aussi inhiber la réaction de Fenton par piégeage des radicaux par des ions ou par complexation des espèces libres (Fe) et Fe(III) Pignatello, 1992 ; Kiwi et al., 2000 ; Delaat et al., 2004). Cités par Chiew et al. (2011).

On distingue plusieurs types de traitement Fenton, selon que le processus catalytique soit en milieu homogène (Fenton conventionnel et modifié) ou hétérogène (Fenton-like) (Gan et Ng, 2012).

- **Oxydation Fenton conventionnel et modifié** : sont tous deux basés sur une réaction entre le peroxyde d'hydrogène et les ions Fe²⁺ (Eq 1 et 2), mais la différence entre les deux méthodes se situe principalement dans les conditions de pH dans lesquelles la réaction est conduite.



En effet, le Fenton conventionnel qui est conduit dans un milieu très acide s'est avéré incompatible avec la présence de vie dans le sol (faune et flore), et a ainsi dû être modifié pour étendre son domaine d'application à des milieux presque neutres (Yap et al., 2011).

Par conséquent, la réaction de Fenton a été modifiée (d'où l'appellation Fenton modifié) pour étendre son champ d'application au pH du sol anti facial qui est à un état approximativement neutre. Dans ces conditions, le fer est susceptible de précipiter et former des hydroxydes de fer induisant ainsi une faible activité catalytique. A cet égard, des agents chélates biodégradables ont particulièrement suscité beaucoup d'intérêt.

Les radicaux hydroxyles peuvent oxyder les composés organiques par abstraction d'atomes d'hydrogène sur des chaînes hydrocarbonées saturées, sur lesquelles des sites radicalaires sont créés et où l'oxygène pourra ensuite attaquer. Ce processus mène à la rupture homolytique d'une liaison (Eq 3).



Ces radicaux organiques peuvent encore réagir avec le peroxyde pour générer plus de radicaux OH. (Eq 4)



Les ions Fe^{3+} peuvent réagir également avec les radicaux organiques R. pour donner des composés moins toxiques (Eq 5)



➤ **oxydation Fenton-like** : est basée sur une réaction mettant en jeu du peroxyde d'hydrogène et des ions Fe^{3+} issus de catalyseurs hétérogènes qui peuvent être des oxydes de fer à des pH-neutre et encore des pH plus élevés. Ces oxydes peuvent être soit des réactifs ajoutés au même titre que le peroxyde d'hydrogène, soit des oxydes naturellement présents dans le sol tels que la goethite ($\alpha\text{-FeOOH}$), l'hématite ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) ou encore la magnétite (Fe_3O_4). D'ailleurs, beaucoup des études effectuées en matière de décontamination par Fenton se sont faites en n'utilisant que le fer naturellement présent dans la fraction minérale de la matrice « sol » (Rivas, 2006).

Les principaux avantages de l'application de catalyseurs hétérogènes dans le procédé Fenton sont (Yeh et al., 2003) :

- De longues périodes de vie du catalyseur sans avoir besoin de régénération ou de remplacement de ce dernier ;
- Le pH des milieux traités peut être dans la plage 5-9

II.4. Facteurs influençant l'oxydation Fenton like

II.4.1. Effet de pH

L'efficacité de la dégradation est conditionnée par le pH. La réaction de Fenton a généralement lieu en milieu acide pour prévenir la précipitation des sels de fer (particulièrement les sels ferriques) en hydroxydes correspondants. A pH acide le fer ferreux est essentiellement présent sous la forme de l'ion Fe^{2+} libre, la dégradation optimale est obtenue à $pH = 3$. A ce pH, peu d'intermédiaires sont formés et ils sont rapidement dégradés, à $pH = 4$ les composés parents et les intermédiaires sont lentement dégradés (Merouani, 2011). Vers des pH proches, égales à la neutralité ou supérieurs à 8, le fer ferreux se précipite sous forme de $Fe(OH)_2$ (Merouani, 2011).

En présence d'agents chélates, le pH a tendance de diminuer en favorisant la stabilisation du peroxyde d'hydrogène (qui est typiquement stabilisé à pH acide). Sauf dans le cas de l'Éthylène diamine tétra acétate EDTA où le complexe EDTA-fer est très stable même à l'environnement naturel du pH du sol et ce grâce à sa structure cyclique intrinsèquement forte à cinq éléments. Ce qui met en évidence l'absence du pouvoir tampon de l'EDTA dans le traitement Fenton (Nam et al., 2001). En général, l'EDTA est le seul agent chélate qui n'a produit aucune réduction pertinente de la décomposition du peroxyde d'hydrogène. La dépollution des sols contaminés par Fenton a montré une augmentation de la dégradation liée à l'addition d'EDTA comme agent chélate. Cette amélioration est due à la désorption du polluant piégé produit par l'addition de l'agent chélate et sa capacité à complexer les métaux naturels du sol (Sun et Pignatello, 2008).

II.4.2. La Température

Peu de travaux ont été menés afin d'évaluer l'influence de la température sur la réaction de Fenton. Toutefois, l'absence d'influence de ce paramètre a été notée lors de l'oxydation de l'acide p-hydroxybenzoïque (gamme de 11 à 41 °C). Ceci peut s'expliquer par le fait que l'étape d'initiation du mécanisme radicalaire ne nécessite qu'une faible énergie d'activation (l'effet de température sur la vitesse de production des radicaux hydroxyles n'est pas significatif) (Merouani, 2011).

II.4.3. Les ions ferreux et le peroxyde d'hydrogène

➤ Quantités d'ions ferreux

Habituellement, le taux de dégradation augmente avec une augmentation de la concentration en ions ferreux (Kavitha et Palanivelu, 2005). Cependant, Rodriguez, (2008) a observé

qu'une utilisation excessive d'ions ferreux dans la solution a un effet négatif sur l'oxydation du polluant. Cet effet est dû à la présence de réactions indésirables et compétitives qui diminuent la quantité de radicaux disponibles, pour oxyder la matière organique, par réaction avec les ions de fer en excès.

➤ **Quantités du peroxyde d'hydrogène**

La concentration de peroxyde d'hydrogène joue un rôle crucial dans le processus de dégradation. Il a été observé que le pourcentage de dégradation des polluants augmente avec une augmentation de la dose de peroxyde d'hydrogène. Cependant, si le peroxyde d'hydrogène est présent dans la solution en trop grandes quantités, il agit en tant que piègeur de radicaux hydroxyles générés pouvant réduire l'efficacité du processus Fenton (**Edelahi, 2004**).

L'excédent de H_2O_2 n'est pas recommandé dans le traitement des polluants, il est coûteux, peu efficace, et nuisible à la plupart des micro-organismes lorsqu'il est utilisé comme un traitement préalable à l'oxydation biologique.

➤ **Rapports $[Fe]^{2+}/[H_2O_2]$**

Le rapport $[Fe^{2+}]/[H_2O_2]$ est un facteur important pour le dosage des ions ferreux et du peroxyde d'hydrogène dans l'oxydation Fenton. Certains chercheurs ont étudié ces relations et les ont classé en trois catégories en fonction de la quantité du rapport $[Fe^{2+}]_0/[H_2O_2]_0$ (la concentration initiale de Fe^{2+} par rapport à la concentration initiale de H_2O_2). Leurs résultats sont résumés ci-dessous (**Deng et Englehardt, 2006**) :

- Quand le rapport $[Fe^{2+}]_0/[H_2O_2]_0$ est élevé (≥ 2). La réaction de Fenton commence en produisant le radical hydroxyle (OH^\bullet) de la réaction entre l'ion ferreux et le peroxyde d'hydrogène.
- lorsque le rapport $[Fe^{2+}]_0/[H_2O_2]_0 = 1$, indépendamment de la présence de matières organiques, le peroxyde d'hydrogène transforme tout ion ferreux en ion ferrique.
- lorsque le rapport est faible $[Fe^{2+}]_0/[H_2O_2]_0 (< 1)$, en l'absence de RH, une lente décomposition du peroxyde d'hydrogène se produit causée par l'ion ferrique, qui induit des réactions radicalaires en chaîne (système ferrique) immédiatement après le premier appauvrissement rapide en peroxyde d'hydrogène. Toutefois, la présence de RH empêche pratiquement la décomposition du peroxyde d'hydrogène par l'ion ferrique (système ferrique), la quantité de peroxyde d'hydrogène décomposée induite par l'ion ferreux initial (système ferreux) en présence de RH, est inférieure à celle en l'absence de RH.

II.4.4. Le mode d'ajout des réactifs

En pratique, il est souvent préférable d'ajouter la solution d'ions ferreux en milieu réactionnel avant celle du peroxyde d'hydrogène. Toutefois, l'ajout de peroxyde d'hydrogène doit se faire assez rapidement, sinon on peut observer une auto-oxydation partielle du fer (II) en présence d'oxygène dissous. L'ajout du peroxyde d'hydrogène se fait le plus souvent en une seule fois, au début de la réaction. Il peut être avantageux dans certains cas de faire plusieurs ajouts à des temps différents, afin de limiter l'excès du peroxyde d'hydrogène dans la solution et dans la consommation en HO[•] qui pourrait en découler. Il est aussi possible de faire un ajout en continu dans le temps, en ajoutant lentement et progressivement une petite quantité connue à la solution contenant un excès de fer ferreux et de substrat sous agitation vigoureuse, afin de minimiser les réactions compétitives (Sifon, 2008).

II.4.5. Influences des ions inorganiques

La présence des ions inorganiques en milieu réactionnel peut aussi inhiber la réaction de Fenton. Cette inhibition est due à deux phénomènes (Truong et al., 2004).

- un piégeage des radicaux par des ions tels que Cl⁻, Br⁻, F⁻, SO²⁻ ou PO^{4³⁻} ;
- un phénomène de complexation des espèces libres (Fe) et Fe(III).

Par contre, les ions ClO₄⁻ et NO₃⁻ n'exercent aucun effet négatif sur la réaction de Fenton. L'utilisation des acides HClO₄ ou HNO₃ pour ajuster le pH du milieu réactionnel avant traitement peut donc permettre d'augmenter l'efficacité du procédé (Diagne et al., 2007 ; De Laat et Giang, 2005).

II.5. Les procédés intégrés

Les processus de bioremédiation transforment les contaminants sous des formes moins dangereuses avec moins d'apport de produits chimiques et d'énergie de manière écologique (Ward et al., 2003). Cependant, Eriksson et al. (2003) ont rapporté que la biodégradation des hydrocarbures se produit lentement. Néanmoins, Kanel et al. (2003) ont observé que la biodégradation des hydrocarbures n'offrait pas une solution rapide. Plusieurs limitations ont empêché l'utilisation généralisée de la biorestauration unique pour le traitement des hydrocarbures (Lu et Tarr., 2000), on cite : (1) l'inhibition par toxicité des POPs (produits organiques persistants) à haute concentration et (2) incapacité à traiter les mélanges de contaminants.

La réhabilitation des sols contaminés par les hydrocarbures nécessitent dans la plupart des cas des traitements intégrés (Tao et al., 2004). Gan et al. (2009) ont montré qu'en général,

aucune approche de réhabilitation unique ne pouvait fournir une élimination totale de la pollution dans le cas des sols contaminés par les hydrocarbures. De multiples technologies combinées physico-chimiques ont été tentées pour la réhabilitation des sols contaminés par les hydrocarbures. Plusieurs chercheurs ont suggéré un traitement combiné bioremédiation-Fenton pour une meilleure efficacité de réhabilitation des sols pollués par les hydrocarbures. Plusieurs traitements combinés ont été utilisés :

II.3.1. Traitement Fenton suivi d'un traitement biologique

Les contributions majeures du prétraitement par oxydation chimique comprennent: (1) la diminution de la concentration de polluants à des niveaux moins toxiques (**chapelle et al., 2005**) ; (2) amélioration de la biodisponibilité des hydrocarbures (**Goi et al., 2006**); (3) prévention de la minéralisation incomplète des hydrocarbures partiellement oxydés en utilisant des bactéries et des champignons dégradants que l'on trouve couramment en milieu naturel; (4) libération d'oxygène provenant de la décomposition de H₂O₂ du traitement de Fenton qui fournit une aération pour la transformation biologique aérobie dans la matrice du sol .

L'application de l'oxydation Fenton-like comme prétraitement suivie de la biodégradation dans le cas de la remédiation d'un sol sableux, par introduction de peroxyde d'hydrogène avec et sans ions ferreux supplémentaires a entraîné une dégradation des hydrocarbures de 94 % et 85,5% respectivement après 8 semaines d'incubation. Ainsi, la libération d'oxygène pendant la décomposition du peroxyde d'hydrogène dans le sol pourrait stimuler l'activité biologique aérobie (**Niina et al., 2006**).

Kulik et al. (2006) ont effectué des réactions de genre Fenton avec et sans addition de Fe²⁺ comme étape de pré-traitement pour la biodégradation à l'aide de micro-organismes indigènes. La performance de Fenton-traitement biologique a été meilleure que l'un ou l'autre seul et a été plus efficace dans le sol sablonneux que dans le sol de tourbe. Cependant, l'addition de Fe²⁺ était toujours préférée pour améliorer l'efficacité de l'oxydation de Fenton (**Mang et al., 2010**).

Palmroth et al. (2006) ont expérimenté le prétraitement de Fenton-like sur le sol sans addition de fer. La concentration de fer indigène suffisamment élevée a été découverte pour pouvoir soutenir le traitement de Fenton, et l'enlèvement accru des Hydrocarbures a été observé dans le traitement intégré de Fenton-biologique (**Mang et al. 2010**). **Valderrama et al. (2009)** ont indiqué que l'efficacité du traitement Fenton-biologique dépendait de l'étape de pré-oxydation. Le rapport optimal de H₂O₂ /Fe pour le processus combiné était de 20/1 avec

un excès de H₂O₂ entraînant une mauvaise élimination biologique. Cela suggère que la pré-oxxydation chimique plus agressive ne favorise pas le traitement biologique subséquent (**Mang et al. 2010**).

Surabhi et al. (2013) ont montré que le traitement combiné chimique-biologique a montré une dégradation globale de 75% tandis que le traitement biologique seul après un mois d'incubation a donné une dégradation de 61%. Le traitement de Fenton a donné seulement 34% et 57% de conversion après 5 et 10 jours respectivement.

II.3.2. Traitement biologique suivie par oxydation Fenton

Dans une étude, d'oxydation des sols contaminés par les hydrocarbures par Fenton modifié ont montré que la biostimulation en tant qu'étape post-traitement était une solution plus efficace pour l'élimination des hydrocarbures 8 semaines (**Venny et al., 2012**).

Pradhan et al. (1997) ont indiqué que le traitement biologique – Fenton-biologique effectué à l'échelle pilote était de 70% plus efficace que la biorestauration conventionnelle (**Mang et al. 2010**). La méthode intégrée a également réduit le niveau de toxicité dans le sol d'environ 50 fois (**Mang et al., 2010**). D'autre part, **Brown. (1997)** a indiqué que 84% de la destruction des hydrocarbures cancérigènes dans une échelle pilote de traitement biologique – chimique – biologique pourrait être atteint (**Mang et al. 2010**). L'augmentation du temps de contact ou du temps de résidence hydraulique a amélioré la transformation des Hydrocarbures dans la première étape biologique et la deuxième étape d'oxydation de Fenton, qui a suggéré que le troisième traitement biologique n'était pas nécessaire (**Mang et al., 2010**).

II.3.3. Traitement simultané de traitement Fenton et biologique (couplage)

Dans une étude de (**Gong et al., 2012**) pour l'élimination des hydrocarbures totaux du sol pollué artificiellement était de 88,9 % par couplage de traitements oxydation Fenton et biostimulation et ont montré que l'oxydation Fenton n'a pas affecté l'activité microbienne et le taux d'enlèvement des hydrocarbures totaux était supérieur que dans le cas de traitement par biostimulation seule ou oxydation Fenton seule.

Palmroth et al. (2006) ont également utilisé la combinaison des traitements biologique et oxydation Fenton pour la réhabilitation des sols pollués par l'huile de créosote et ils ont atteint un rendement d'élimination de 43 – 59% alors que **Surabhi et al., (2013)** ont trouvé un taux d'élimination de 22-30% dans le cas de traitement biologique seule

Dans une étude de **Mang et al. (2010)**, la combinaison de l'oxydation Fenton-like avec le compostage comme procédé biologique sous des conditions aérobies a donné un résultat

satisfaisant. Toutefois, la remédiation des sols hautement contaminés, il serait coûteux de réduire la contamination des sols à un faible niveau à l'aide d'une méthode physique ou chimique seule. La biorestauration est actuellement largement utilisée. De plus, l'activité de dégradation microbienne peut être éliminée et le processus de biorestauration sera stoppé si les métabolites inhibiteurs s'accumulent dans une certaine mesure. Dans ce cas, un système de traitement combiné peut être nécessaire.

La combinaison de processus de traitement chimique et biologique a montré des avantages par rapport à l'un ou l'autre processus, Seul **Nam et al. (2001)** ont utilisé le traitement combiné de la réaction de Fenton modifiée et de la biodégradation pour dégrader les hydrocarbures du sol d'une usine de gaz, et plus de 70% des HAP ont été dégradés.

Chapitre 2 :

Matériel et Méthodes

1. Etude du sol

Le sol étudié a été échantillonné dans un site pollué par les hydrocarbures pétroliers depuis les années 1990 et situé à 36°11'26, 01 nord, 3 ° 11'08, 0 est à Dar El Beida, à l'est d'Alger. L'échantillon de sol a été collecté, selon la méthode standard, jusqu'à 20 cm de profondeur ; séché à l'air à température ambiante, tamisé à 0,8 mm et homogénéisé selon la méthode de quartage (refait deux fois). Le sol prétraité a ensuite été stocké à 4°C à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation.

2. Dispositif expérimental

Tous les essais sont réalisés dans des réacteurs en phase solide.

A l'échelle de microcosmes, 15 à 600g de sol sont utilisés et mélangés aux réactifs appropriés. Des systèmes abiotiques ont été également utilisés par addition de HgCl₂ 4% (Nam et al., 2001). Le taux d'humidité est maintenu constant $\geq 15\%$.

Nous avons également conçu un réacteur à un seul jet semi-pilote cylindrique (Φ : 20cm) constitué d'un bac d'alimentation (1) du sol en nutriments (solution de NH₄Cl et KH₂PO₄), afin de réajuster le rapport molaire C/N/P à 100/10/1, d'une colonne contenant le sol (2), plaque support en acier fine sur laquelle repose une couche de granulat synthétique pour assurer l'homogénéité de la dispersion de l'air (3), une zone de repos (4) (remplie d'eau) pour permettre l'humidification de l'air et réduire au maximum les pertes par volatilisation des hydrocarbures, compresseur pour l'aération du sol (5) passe par un bac contenant une solution de NaOH (6) pour piéger le dioxyde de carbone. L'air ainsi se débarrasse du dioxyde de carbone, passe par la zone de repos et est humidifié, pour ensuite se disperser d'une manière homogène au niveau de la couche de granulat avant arriver à la colonne de fluidisation pour assurer une bonne oxygénation du sol.

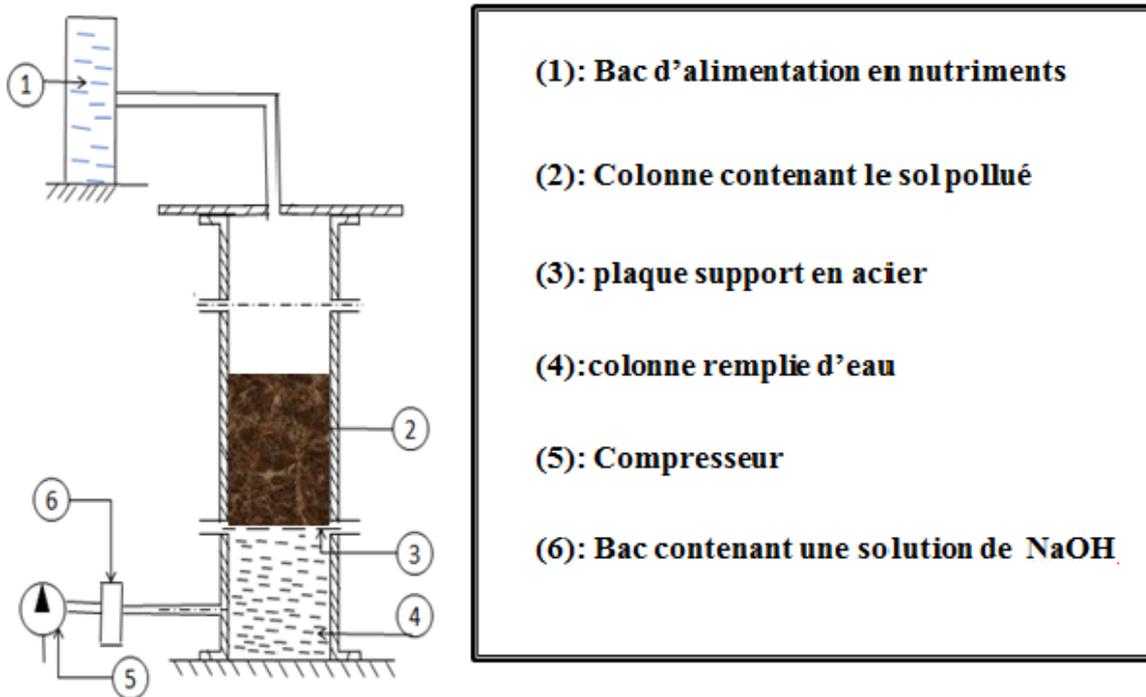


Figure 2: Dispositif Expérimental

3. Caractérisation du sol

a. Analyse granulométrique

La répartition selon la taille des particules du sol est obtenue par analyse granulométrique par la méthode du tamisage (**Annexe 1**) selon la norme **DIN ISO3310-1**, Cette opération consiste à placer un échantillon représentatif de particules solides dans un appareil de tamisage comportant plusieurs tamis d'ouvertures déterminées disposés dans le sens décroissant des ouvertures des mailles de haut en bas. Les particules dont les dimensions sont inférieures à celles des ouvertures traversent le tamis lorsqu'il est mis en vibration, alors que les plus grosses particules sont retenues. A la fin de l'opération, la masse du solide recueillie sur chacun des tamis est pesée.

b. La perméabilité

La perméabilité a été réalisée au sein du **LCTP** (Laboratoire Central des Travaux Publics) d'HusseinDey à Alger. Selon la loi de Darcy (**Annexe 1**).

c. Le potentiel hydrogène

Le pH du sol est déterminé à partir de la suspension sol/eau distillée (1/10) selon la norme **NF ISO 10 390**.

5 g de sol sont mélangés avec 50ml d'eau distillée. Après agitation et décantation Une lecture du pH du surnageant est faite à l'aide d'un PH-mètre.

d. Le taux d'humidité

L'humidité du sol est déterminée selon la norme **NF X 31-102** par séchage à l'étuve à 105° C d'une masse donnée de l'échantillon du sol pendant 24 heures (Annexe 1)

e. Le carbone organique

Le carbone organique est déterminé selon la méthode Anne (**norme NF ISO 14235**) qui se fait par oxydation à chaud avec le bichromate de potassium en milieu sulfurique. (**Annexe 2**).

f. La matière organique.

Tandis que la matière organique totale est déterminée par calcination après séchage à 105°C pendant une heure, pour ensuite être introduite dans un four à 550°C pendant 20 minutes selon la norme (**NF-X31 071**) (**Annexe 1**).

g. La masse volumique

La masse volumique réelle d'un sol consiste à définir le poids de celui-ci par unité de volume. Elle est déterminée par la méthode de l'éprouvette graduée, dont le principe consiste à introduire une masse bien déterminée **ms** du solide dans une éprouvette graduée et à combler les interstices avec de l'eau jusqu'à un certain volume (**Annexe 1**).

h. Dosage du fer

Le fer total a été déterminé par spectrophotomètre d'absorption atomique (Agilent 240 Z AA) après calcination, suivie d'une digestion à l'eau régale (4: 1 v / v d'acide chlorhydrique concentré et acide nitrique concentré) selon **Mc Grath et Cunliffe (1985)** (**Annexe 3**).

i. Dosage des nutriments

Le dosage des nutriments est effectué après leur extraction de la matrice du sol, en mélangeant de sol et l'eau distillée suivant un rapport 1/10 (v/v).

Les nitrites sont dosés par la méthode de réactif de diazotation selon la norme **ISO 677-NF EN 26777**. La diazotation de l'amino-4-benzènesulfonamide-1,2-éthane donne un complexe coloré pourpre susceptible d'un dosage colorimétrique à la longueur d'onde $\lambda=537\text{nm}$.

Les nitrates sont dosés par la méthode du réactif sulfophénique selon la norme (**NF T 90 102**).

Les nitrates sont transformés en dérivé nitrophénol sulfonique coloré au moyen d'acide sulfophénique, tandis que l'azote ammoniacal est dosé par le réactif de Nessler selon la

norme **NF 90-015**. En présence d'hydroxyde de sodium ou de potassium, il se produit une réaction entre les ions ammonium et le réactif de Nessler avec formation d'un composé de coloration variant du rouge au brun.

Le phosphore est dosé selon la norme **NF EN 1189** en milieu acide et en présence d'ions molybdate d'ammonium et de tartrate double d'antimoine et de potassium.

4. Caractérisation biologique du sol

Elle a porté sur le dénombrement de la population microbienne autochtone et des microorganismes dégradeurs présents dans un échantillon du sol, la biomasse a été déterminé en utilisant la méthode de dilution puis ensemencement sur boîtes de pétri. Dans le cas des microorganismes totaux c'est l'eau physiologique stérile qui est utilisée, tandis que dans le cas des microorganismes dégradeurs c'est le milieu minéral pollué du gasoil pour ne favoriser que la prolifération des dégradeurs, puis ensemencement sur boîtes de pétri à l'aide de gélose nutritive. L'incubation à 25°C et 37°C pour la population autochtone et microorganismes dégradeurs respectivement pendant 24 à 48h. Une moyenne des nombres de germes pour chaque dilution dénombrable en unités formant les colonies (UFC/g de sol sec).

5. Les hydrocarbures pétroliers totaux du sol

L'extraction des hydrocarbures du sol a été réalisée par ultrason à 40°C en utilisant du dichlorométhane par la méthode de bi-lavage. Le mélange (dichlorométhane + extrait) est filtré au préalable, la détermination des hydrocarbures totaux (TPH) du sol est réalisée par pesée de l'extrait recueilli après évaporation du solvant en utilisant un rotavapor.

Les taux d'élimination et de biodégradation des hydrocarbures pétroliers totaux ont été estimés à partir des équations suivantes (1) et (2):

$$\text{Taux d'élimination des hydrocarbures} = \frac{[TPH]_0 - [TPH]}{[TPH]_0} * 100 \quad (1)$$

$$\text{Taux de biodégradation des hydrocarbures} = \frac{[TPH]_{bio} - [TPH]_{abio}}{[TPH]_{bio}} * 100 \quad (2)$$

$[TPH]_0$ = la concentration initiale des hydrocarbures pétroliers totaux ;

$[TPH]_{bio}$ = la concentration des hydrocarbures pétroliers totaux à l'instant "t" pour les systèmes biotiques ;

$[TPH]_{abio}$ = la concentration des hydrocarbures pétroliers totaux à l'instant « t » pour le systèmes abiotiques.

6. Fractionnement des hydrocarbures pétroliers

La séparation des hydrocarbures saturés (F1), hydrocarbures aromatiques (F2) et des composés polaires (F3), a été réalisée par la technique de chromatographie par adsorption sur colonne mixte silice/alumine (**Kanzari et al., 2012**) (voir **Annexe 6**).

Chapitre 3 :

Résultats et Discussion

*Caractérisation Physico-
chimique et Biologique du Sol*

1. Caractérisation physico-chimique et biologique du Sol

Les principaux résultats de la caractérisation du sol figurent dans le **tableau 5**.

Tableau 5: Caractérisation physico-chimique et biologique du sol

pH	7,21±0,11	Texture du sol	Limoneuse
Humidité (%)	2,46±0,06	Argile (%)	15,00±0,11
Matière organique (%)	5,97±0,16	Limon (%)	35,75±0,25
Carbone organique (%)	2,08±0,01	Sable (%)	49,25±0,50
BET (m ² .g ⁻¹)	24,42±0,12	d ₆₀ (µm)	160
TPHs (g.kg ⁻¹)	30,51±0,46	Cu (D ₆₀ /D ₁₀)	10,66
Fer total (Fe) (%)	1,68±0,10	Perméabilité (m.s ⁻¹)	5,56.10 ⁻⁵
Biomasse (UFC/g sol sec)	98,4.10 ³	C/N.10 ² /P.10 ³ (molaire)	100/7/2

L'analyse de la taille des particules de sol (**tableau 5**) a révélé une texture limoneuse avec 15% d'argile, 35,75% de limon et 49,25% de sable. La mesure de la perméabilité a mis en évidence un sol perméable favorable au meilleur transfert entre les différentes phases et à une bonne oxygénation. Le pH du sol se situe dans l'intervalle ($5 < \text{pH} < 9$), et est donc favorable pour le développement de la population microbienne et de la croissance des microorganismes dégradeurs des hydrocarbures (**Gray et al., 2000**). Les teneurs en matière organique et en TPHs sont respectivement de 6,0% et 3,0%. Le taux d'humidité, paramètre très important dans le processus de biodégradation et indispensable au développement des microorganismes est légèrement supérieur à 2%, le seuil minimal requis pour que les transferts entre substrat, microorganismes et nutriments puissent s'effectuer (**Ballerini, 2009 ; Nano et al, 2003**) ; pourrait être considéré favorable pour un traitement biologique. Plusieurs taux d'humidité ont été préconisés dans la littérature. **Ballerini et al. (1998)** proposent 10%, **Nano et al. (2003)** proposent un taux d'humidité supérieur ou égal à 15% tandis que **Sabaté et al. (2004)** suggèrent qu'il soit ajusté à 60% de la capacité de rétention d'eau du sol. Toutefois, nous adopterons un taux d'humidité de 15-30% dans tous les essais pour favoriser les transferts entre les différentes phases en présence.

La détermination des rapports molaires $C/N.10^2$ et $C/P.10^3$ respectivement égaux à 100/7 et 100/2 mettent en évidence que les nutriments (N, P) sont présents en quantités insuffisantes pour permettre une activité microbienne, ce qui a nécessité l'ajout de sources d'azote (NH_4Cl) et de phosphore (KH_2PO_4) dans le cas de traitement du sol par oxydation biologique. Les quantités de chaque entité ajoutée ont été évaluées pour réajuster le rapport molaire C/N/P à 100/10/1 tel que préconisé dans la littérature (**Ballerini, 2009 ; Sabate et al., 2004**).

La teneur en fer total de $16,8 \text{ g.kg}^{-1}$ est significative en ce qui concerne l'oxydation de Fenton (**Ferguson et al., 2004**).

Traitement biologique du sol

2. Traitement du sol par oxydation biologique

Ce travail porte sur l'étude de la faisabilité de traitement biologique d'un sol limoneux pollué par les hydrocarbures pétroliers (3%) par stimulation des microorganismes du sol par amendements des nutriments (azote, phosphore), et assurer un taux d'humidité et températures adéquats pour atteindre une biodégradation maximale.

2.1. Etude en microcosmes du sol

L'étude porte sur des systèmes biotique (A), abiotique (B) et l'atténuation naturelle (C) à l'échelle de microcosmes contenant 210g de sol pollué. Dans le cas des systèmes biotique (A) et abiotique (B), le sol est amendé en azote sous forme de NH_4Cl et en phosphore sous forme de KH_2PO_4 selon un rapport molaire C/N/P de 100/10/1, à pH neutre et un taux d'humidité de 15% a été adopté, où il est suffisant pour assurer les différents transferts dans le processus de biodégradation, il permettrait de minimiser les pertes par évaporation et par entrainement des hydrocarbures pétroliers.

Dans le cas du système abiotique (B) de référence, le sol est stérilisé par ajout d'un biocide HgCl_2 (2%) (Nam et al., 2001).

Tous les systèmes ont été incubés à une température comprise entre 27 et 30°C, puisque les faibles températures réduisent le métabolisme microbien et la biodégradation des hydrocarbures, la plupart des microorganismes dégradeurs des hydrocarbures sont mésophiles et plus perforants à 30°C (Dellile, 2004).

Les systèmes biotique et abiotique ont été incubées à l'abri de la lumière pendant 9 semaines, durant cette période les particules de sol sont intimement mélangés, pour assurer une meilleure homogénéisation et aspergées d'eau pour maintenir le taux d'humidité.

Le suivi du traitement biologique est réalisé à partir des mesures de la biomasse et de la teneur en TPHs qui sont périodiquement contrôlés. Et afin de s'assurer des conditions environnementales optimales favorables à la biodégradation, des mesures de PH, taux d'humidité, de la température et des teneurs en nutriments, sont également effectués.

➤ La biomasse

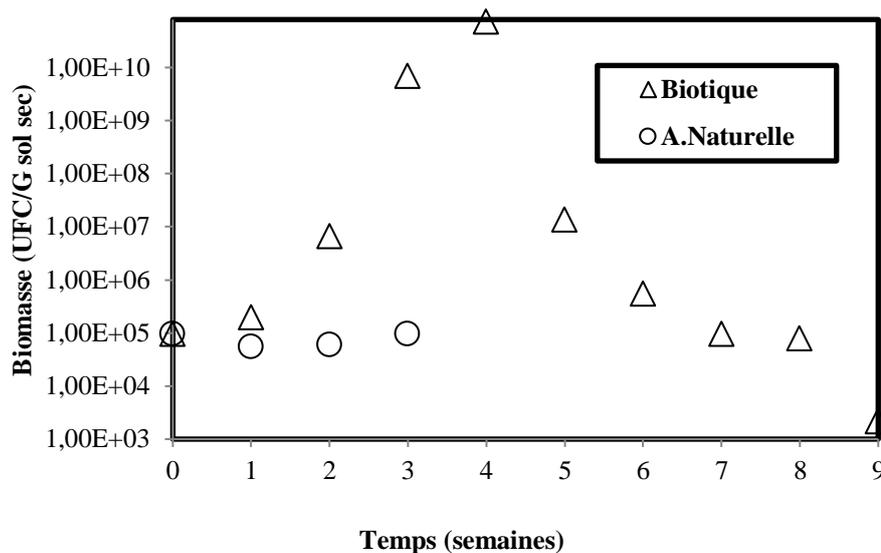


Figure 3 : Evolution temporelle de la biomasse pour les systèmes biotiques

Le suivi de la croissance bactérienne à partir des échantillons prélevés périodiquement met en évidence une augmentation significative du nombre totale des microorganismes hétérotrophes qui est passé de $9,8 \cdot 10^4$ à $7,5 \cdot 10^{10}$ UFC/g de sol sec pour le système biotique (A).

Les courbes de croissance microbienne présentent en général différentes phases **Scriban (1999)** : de latence, d'accélération, croissance exponentielle, stationnaire et de déclin. Tandis que dans notre cas (**Fig.3**), on observe une phase d'accélération suivie d'une phase de croissance exponentielle et d'une phase de déclin.

La phase d'accélération, est observée au début du traitement ($t=0$ à $t=7$ jours), où la biomasse augmente légèrement et passe de $9,8 \cdot 10^4$ à $1,18 \cdot 10^5$ UFC/ g de sol sec. La courte durée de cette phase est due à l'adaptation rapide des microorganismes avec les nouvelles conditions du milieu, ceci peut être expliqué par l'âge de la pollution.

La phase exponentielle où la croissance bactérienne est relativement prononcée correspond à l'étape où la dégradation des hydrocarbures pétroliers est la plus active et est accélérée et la biomasse atteint son maximum de $7,5 \cdot 10^{10}$ UFC/g de sol sec.

La phase de déclin se caractérise par un taux de croissance négatif, les microorganismes ne se reproduisent plus et passent de $7,5 \cdot 10^{10}$ à $2,2 \cdot 10^3$ UFC/g de sol sec à la fin du traitement (après 9 semaines de traitement). Ceci est probablement dû au déficit des nutriments, l'épuisement de la fraction de substrat facilement biodégradable et par conséquent épuisement de la source de carbone, et à un effet d'inhibition provoqué par la toxicité de certains métabolites.

Pour l'atténuation naturelle (C), la numération bactérienne totale a diminué pour devenir négligeable à la fin du traitement. Ceci est expliqué par l'absence d'un environnement favorable au développement des microorganismes, et donc la stimulation a amélioré la croissance bactérienne par rapport à l'atténuation naturelle.

Miicic-Terzic et al., (2000) enregistrent également un accroissement bactérien qui passe de 10^5 à 10^7 UFC/g de sol sec tandis **que Ghazali et al., (2004)**, après addition d'un inoculum dans le cas de la bioremédiation d'un sol contaminé par les hydrocarbures constatent une croissance des microorganismes indigènes de 10^5 UFC/g de sol sec pour passer à 10^7 UFC/g de sol sec.

➤ **Evolution des nutriments**

La présence d'hydrocarbures et leur assimilation ont pour conséquence un déficit en azote (N) et en phosphore (P), éléments indispensables et essentiels au métabolisme cellulaire. Une faible disponibilité du phosphore limite la croissance bactérienne et par voie de conséquence la biodégradation des hydrocarbures pétroliers **Kwok. (2003)**, puisqu'il joue un rôle important dans le métabolisme cellulaire **Margesin. (2001)**, il permet la récupération, l'accumulation et la distribution de l'énergie dans la cellule. Tandis que l'azote joue un rôle dans la synthèse des protéines et des bases azotés de la cellule microbienne **Meyer et al., (1984)**.

Il était alors nécessaire de suivre l'évolution des teneurs en nutriments pendant toute la période de traitement.

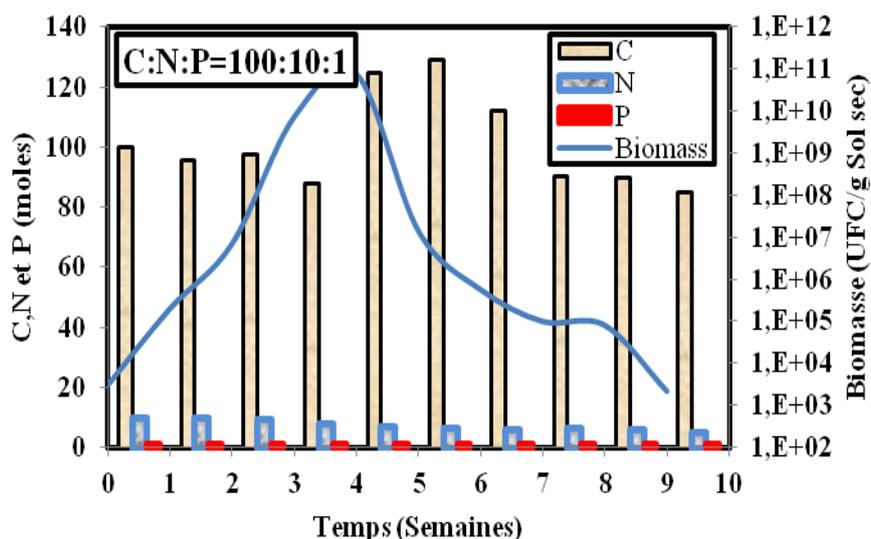


Figure 4 : Evolution Temporelle de la biomasse et le rapport molaire C/N/P

Les suivis des teneurs en nutriments a permis de déterminer le rapport molaire C/N/P en référence à la teneur résiduelle en phosphore (P) (**Fig.4**).

Pendant la première semaine, les teneurs en azote et en phosphore semblaient constants, le rapport molaire C/N/P passe de 100/10/1 à 98/10/1, correspondant à une faible diminution des TPHs (source de carbone) et une légère augmentation des microorganismes dégradeurs qui est passée de $9,8.10^4$ à $7,0.10^5$ UFC/g de sol sec, cette période correspond à la phase d'accélération des microorganismes au milieu et la faible augmentation de biomasse pourrait être expliqué par l'utilisation des microorganismes d'une autre source de substrat, la matière organique (6%) que les hydrocarbures pétroliers.

De la 2^{ème} à la 4^{ème} semaine, une diminution significative des teneurs en azote et en phosphore est observée, et le rapport molaire passe de 98/10/1 à 125/7/1 correspondant à une augmentation des microorganismes dégradeurs pour atteindre leur maximum de $7,5*10^{10}$ UFC/g de sol sec à la 4^{ème} semaine, qui a été suivie par une activité microbienne avec un taux de biodégradation de 42%.

Au-delà de la 4^{ème} semaine, on constate que les teneurs en azote et phosphore sont négligeables, leur diminution est très faible et le rapport molaire C/N/P passe de 125/7/1 à 85/5/1 correspondant à une diminution des microorganismes dégradeurs pour atteindre $2,2.10^3$ UFC/g de sol sec à la fin du traitement et un taux de biodégradation de 50%.

Ces résultats correspondent à l'épuisement des éléments nutritifs et/ou à la biodégradation de la plupart des hydrocarbures récalcitrants et à la présence de métabolites toxiques.

De plus, il ressort des résultats de la **Fig.4** que la consommation de phosphore est plus importante que celle d'azote, ceci pourrait être dû au phénomène de la lyse des microorganismes qui consiste en la libération de l'azote qu'elle avait emmagasiné d'une part **Davet (1996)** et d'autre part à la transformation de l'azote ammoniacal en nitrates par le phénomène de nitrification **Schloesing et Muntz [Seprent 1987]**.

Trindade et al., (2005) ont signalé qu'aucune addition d'azote n'était pas nécessaire, car la concentration d'azote dans le sol était suffisante pour maintenir le rapport molaire C/N/P à 100/1,25/ 1.

Venosa et al., (2002) ont obtenu une efficacité d'élimination des hydrocarbures pétroliers de 90% pour les alcanes et de 80% pour les aromatiques, selon un rapport molaire de 150/10/3.

Sanscartier et al.,(2009) ont utilisé un rapport de 100/7,5/0,5 pour obtenir une efficacité d'élimination du diesel de 97 %.

Les études de **Liu et al., (2011)** ont consisté à utiliser trois rapports molaires C/N/P différents: 100/27/6,5, 100/11/3,7 et 100/4,6/3,1. Une stimulation réussie dans les communautés a été obtenue avec 100: 11: 3,7, ce qui correspond à une élimination des TPHs > 80%; ce rapport était proche des éléments nutritifs nécessaires pour le rapport C/N/P recommandé (100/10/1) pour le fonctionnement des biopiles (**USEPA, 2002**) ainsi que pour le rapport souhaité (100/15/1) pour une ex-bioremediation (**Philp et al., 2015**).

En général, les rapports molaires C/N allant de 14/1 à 560/1 ont été proposés comme étant appropriés ou optimaux pour la biodégradation (**Susan et al., 2003**).

Cette étude a montré que la biostimulation pouvait éliminer 62% des hydrocarbures pétroliers du sol pour un rapport molaire C/ N/P =100/10/1.

L'ajout de sources d'azote et de phosphore était nécessaire pour améliorer la biodégradation des hydrocarbures pétroliers du fait que les contenus intrinsèques des éléments nutritifs du sol essentiels à l'activité et à la croissance des micro-organismes sont très faibles. Les pertes abiotiques ont joué un rôle important dans la réduction des hydrocarbures pétroliers.

➤ **Les hydrocarbures pétroliers totaux (TPHs)**

L'analyse des hydrocarbures pétroliers dans le sol est déterminant pour le suivi d'efficacité d'un traitement de remédiation et les prises de décision quant à la faisabilité de ce dernier. Le suivi de la teneur des hydrocarbures pétroliers pour les différents systèmes mettent en évidence une bonne corrélation avec ceux de la biomasse et teneurs en nutriments (azote et phosphore).

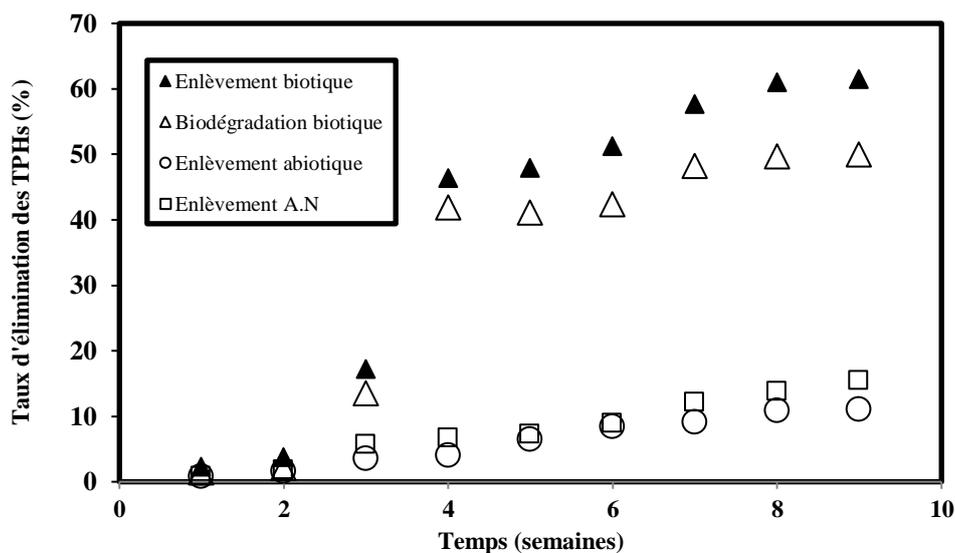


Figure 5 : Evolution temporelle de taux d'enlèvement et biodégradation des TPHs

Les résultats de mesure des hydrocarbures pétroliers totaux résiduels (TPHs) dans les différents systèmes (**Fig.5**) ont mis en évidence un taux d'élimination de la pollution négligeable les deux premières semaines, ne dépassant pas les 4%, au même titre que dans le cas de l'atténuation naturelle (C). Cela pourrait être attribué à l'âge de la pollution et à la nature des hydrocarbures pétroliers en présence, mais aussi à la période d'adaptation des microorganismes dégradeurs capables d'initier et d'améliorer la dégradation des TPHs.

De la 3^{ème} à la 7^{ème} semaine, une augmentation significative de taux d'enlèvement et biodégradation des hydrocarbures pétroliers pour atteindre les 57% et 48% puis se stabiliser à la fin du traitement à une valeur de 62% et 50% respectivement. Cela pourrait être dû à l'épuisement des éléments nutritifs et/ou la présence de la fraction d'hydrocarbures récalcitrants et de métabolites toxiques.

Il ressort aussi de ces résultats que l'activité microbienne a participé majoritairement à la dégradation des hydrocarbures pétroliers. Et la réduction des teneurs en hydrocarbures pétroliers est importante tant pour les systèmes biotiques qu'abiotiques. L'élimination maximale des hydrocarbures par le processus abiotique était de 10% après 9 semaines ceci est dû à la volatilisation et l'évaporation des hydrocarbures. Ces résultats corroborent ceux de **Sarkar et al. (2005)** qui ont trouvé que l'enlèvement abiotique des hydrocarbures par volatilisation est de l'ordre de 10% et peut atteindre jusqu'à 12% lorsque la période d'exposition est prolongée pour de longues périodes de traitement. Tandis que dans le cas de l'atténuation naturelle (C), l'élimination des hydrocarbures pétroliers n'excédait pas les 15% à la fin du traitement, du fait de processus abiotiques tels que la volatilisation et/ou la photo-oxydation mais également de biodégradation.

L'élimination des hydrocarbures est dû au processus biotique (minéralisation complète, production de biomasse et de métabolites) et abiotique (entraînement, volatilisation). Le système biotique implique des processus abiotique et biotique tandis que le système abiotique, seule la volatilisation est à l'origine de l'élimination des hydrocarbures (**Christian et al., 2010**).

*Traitement de sol par
oxydation Fenton-like*

3. Traitement de sol par oxydation Fenton-like (FL)

Ce travail porte sur l'enlèvement des hydrocarbures pétroliers du sol dans le cas d'une ancienne pollution par oxydation FL sans modification du pH et détermination des conditions optimales. L'influence du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), du fer endogène et zéro valent (Fe) et de l'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) sont étudiés. L'application d'un modèle expérimental a été utilisée pour évaluer et optimiser les paramètres potentiellement influents sur l'élimination des sols d'hydrocarbures pétroliers et la modélisation du processus FL dans le cas du sol étudié.

3.1. Etude paramétrique

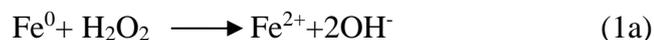
Les essais expérimentaux ont été réalisés à l'échelle du microcosme dans un réacteur en phase solide à une température ambiante à l'abri de la lumière pendant 48 heures. 150 g d'échantillons de sol contaminés à traiter ont été introduits dans un Erlenmeyer de 250 ml et placés sur un agitateur vibrant orbital à 150 tour/min. Ces échantillons ont été préalablement stérilisés avec 2% de chlorure de mercure ($HgCl_2$) (Nam et al., 2001) et aspergés avec de l'eau déminéralisée pour assurer une teneur en humidité de 25%. L'élimination des TPHs du sol a été réalisée par oxydation FL sans ajustement du pH, le peroxyde d'hydrogène étant catalysé par du fer endogène et par du fer zéro valent.

Dans une première partie, chaque réacteur recevait différentes quantités de peroxyde d'hydrogène selon des rapports molaires H_2O_2 /Fe allant de 1/1 à 20/1 pour révéler l'influence du peroxyde d'hydrogène sur l'élimination des TPHs. Dans une seconde partie, chaque réacteur recevait la même quantité de peroxyde d'hydrogène, la teneur étant fixée à 4,5 moles H_2O_2 /kg de sol sec, ainsi que différentes quantités de fer en poudre selon différents rapports molaires H_2O_2 /Fe allant de 15/1 à 15/8 en référence à la fois au fer endogène et exogène.

Une troisième série d'expériences s'est concentrée sur l'influence de l'addition d'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) selon différents rapports molaires H_2O_2 /Fe/EDTA en considérant les quantités optimales de peroxyde d'hydrogène et de fer total. Pour toutes les expériences, l'oxydation FL a été initiée avec introduction de H_2O_2 et son mélange avec le sol et tous les autres additifs. La teneur en TPHs, le pH et la teneur en humidité ont été contrôlés périodiquement pendant 48 heures. Ce dernier a été maintenu entre 25-30%. La réaction d'oxydation a été arrêtée par addition de 1% de sulfite de sodium (Na_2SO_3) (Valderrama et al., 2009) afin de surveiller les TPHs résiduels du sol traité.

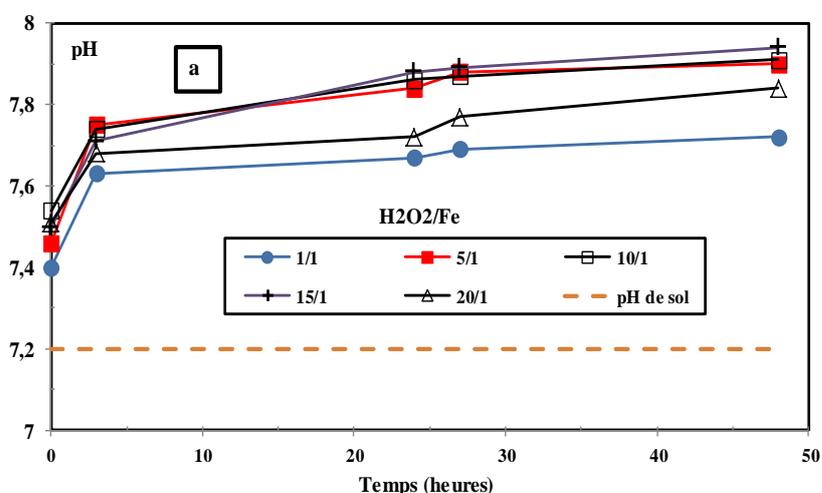
➤ pH

L'ajout de réactifs FL et d'EDTA n'a affecté que peu le pH initial (**Fig.6**). En général, la réaction de FL s'accompagnait d'une augmentation du pH dans un champ de 7,2 à 7,9. L'augmentation du pH avec l'addition de peroxyde d'hydrogène (**Fig.6a**) pourrait être attribuée à la libération d'ions hydroxyde selon les réactions 1 (**Bergendhal et Thies, 2004; Sherwood et al., 2014**).



Cette augmentation était moins significative avec l'addition de fer. Au-delà de 1,2 mole de fer / kg de sol sec ($\text{H}_2\text{O}_2 / \text{Fe} = 15/4$), les valeurs de pH enregistrées étaient inférieures (≤ 7) au pH naturel (**Fig.6b**). Cette diminution pourrait être associée à la stabilisation du peroxyde d'hydrogène (**Jung et al., 2013 ; Vicente et al., 2011**).

Dans le cas de l'EDTA (**Fig.5c**), l'augmentation du pH était modérée, probablement en raison de la génération de peroxyde d'hydrogène dans le milieu et d'ions hydroxyde résultant de la Réaction de l'EDTA avec du fer (**Zhou et al., 2009**). **Sherwood et al. (2014)** ont enregistré des valeurs de pH similaires indépendamment de la présence d'EDTA. **Goi et al. (2006); Sherwood et al. (2014) et Usman et al. (2012a)** n'ont pas observé de changements de pH dans le sol pendant le prétraitement par oxydation FL, alors que **Vicente et al. (2011)** ont observé une diminution du pH du sol initialement comprise entre 7 et 8,2. L'acidification du sol serait principalement attribuée à une modification de la charge de surface ou du potentiel redox de la surface minérale par la précipitation de cations (**Vicente et al., 2011**).



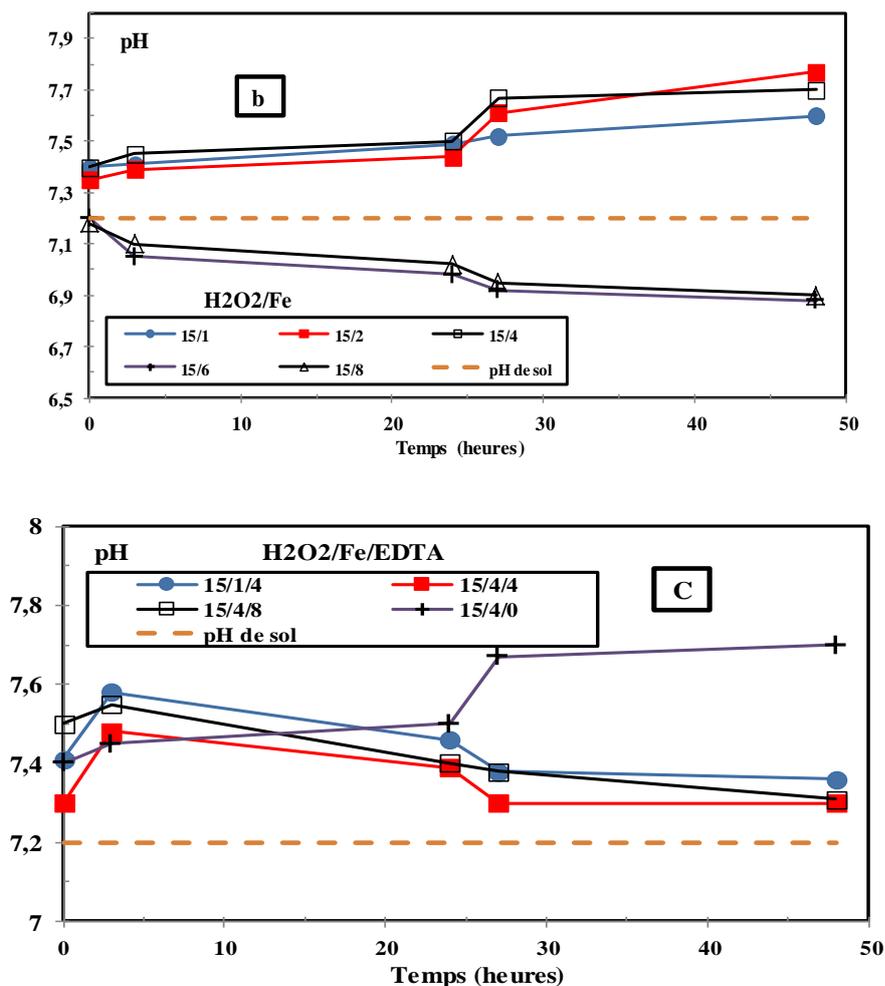


Figure 6 : variations de pH selon les concentrations de (a) H₂O₂, (b) fer total et fer total/EDTA

➤ Les hydrocarbures pétroliers totaux (TPHs)

L'efficacité du traitement par oxydation Fenton-like dépend de la matrice du sol (Kulik et al., 2006; Sun et Yan, 2008), de l'âge de la contamination et de l'étendue, et nécessite par conséquent la détermination de conditions optimales pour une application efficace.

L'influence du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) sur l'élimination des TPHs sans addition de fer a été étudiée pour différents teneurs allant de 0,3 à 6,0 mol.kg⁻¹ de sol sec. Les résultats des TPHs résiduels (Fig.7a) ont mis en évidence le potentiel catalytique du fer endogène avec des rendements d'oxydation d'hydrocarbures pétroliers du sol compris entre 7,3 et 29,0% après 48h de traitement. En effet, plusieurs études ont montré que les minéraux de fer naturellement présents dans le sol présentent différentes activités catalytiques en fonction de la charge de surface du fer ou de son état d'oxydation dans des conditions de pH allant de 4 à 9 (Kwan et al., 2003). Yeh et al. (2003) ont signalé une réduction de 3% de H₂O₂ des composés

organiques extractibles totaux(TCE) absorbé de 78% dans le cas de sable aquifère contenant 2,01 g de fer extractible / kg de sable.

L'élimination des TPHs du sol a augmenté avec la quantité de H₂O₂ jusqu'à 29%, puis a diminué au-delà d'une teneur en H₂O₂ de 4,5 mol/kg de sol sec. Des tendances similaires ont été rapportées dans la littérature (**Flotron et al., 2005; Goi et al., 2006; Watts et al., 2002**).

L'excès de H₂O₂ réduit l'efficacité de l'oxydation des TPHs et inhibe le processus FL pour un rapport molaire H₂O₂/Fe de 20/1. Cette inhibition pourrait être le résultat d'une consommation et/ou d'un balayage importants des radicaux OH dus à un excès de H₂O₂ (**Yap et al., 2011**) et à la formation de radicaux HO₂ moins réactifs, tels que présentés par les réactions 2 et 3 (**Watts et al., 2002**).



De plus, des doses trop élevées en peroxyde d'hydrogène entraînent la décomposition de ce dernier et limitent la production de radicaux OH et d'autres espèces radicalaires ou non radicalaires, Selon **Walling (1975)**, un excès de H₂O₂ pourrait entrer en compétition avec les substances organiques en ce qui concerne les radicaux OH, ce qui réduirait leur efficacité et l'oxydation des polluants.

La quantité optimale de H₂O₂ pour une oxydation efficace varie en fonction de la réactivité des composés organiques vis-à-vis du radical OH. De nombreuses études font référence à un rapport molaire optimal H₂O₂/Fe de 10/1 entre le peroxyde d'hydrogène et le fer (**Goi et Trapido, 2004 ; Kulik et al., 2006 ; Sun et Yan, 2008 ; Usman et al., 2012; Valderrama et al., 2009**). Le taux d'élimination maximal des TPHs de 29% a été obtenu pour un rapport molaire H₂O₂/Fe de 15/1 correspondant à une teneur en H₂O₂ de 4,5 mol / kg de sol sec. Ce résultat est en bon accord avec ceux d'autres études connexes fournissant des valeurs optimales de rapports molaires H₂O₂/Fe compris entre 5/1 et 25/1 (**Jorfi et al., 2013**). **Valderrama et al. (2009)** ont enregistré une diminution de 80% du taux d'élimination des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) totaux lorsque le rapport molaire H₂O₂/ Fe²⁺ augmentait de 10/1 à 40/1. **Xu et al. (2011)** ont observé une élimination maximale des TPHs de 23% et 24% pour les rapports molaires 42/1 et 210/1 respectivement. **Lu et al. (2010b)** ont obtenu une efficacité d'élimination maximale des composés organiques extractibles au dichlorométhane totaux avec un rapport molaire H₂O₂/Fe³⁺ de 300/1, la dose de H₂O₂ étant fixée à 0,49 mol.kg⁻¹ de sol sec.

Usman et al. (2012b) ont indiqué que l'application de magnétite pour activer le peroxyde d'hydrogène permettait d'obtenir un rendement élevé (80%) des sols contaminés par du pétrole brut pour un rapport molaire H_2O_2/Fe de 10/1. Dans des conditions optimisées, **Watts et al. (2002)** ont atteint 85% de la minéralisation de benzo [a] pyrène en utilisant du H_2O_2 15M catalysé par du fer endogène et ont indiqué pour le traitement Fenton-like que les teneurs optimisées en H_2O_2 étaient normalement supérieures à 5M.

Goi et Trapido (2004) ont rapporté que l'oxydation des sols contaminés par les HAP avec des teneurs élevées en H_2O_2 était efficace, même pour des sols sujets à une ancienne pollution, et entraînait des rendements allant de 40 à 86%. Enfin, les composés très hydrophobes nécessitent généralement des doses élevées de H_2O_2 , tandis que les composés moins solubles peuvent être dégradés avec des doses relativement faibles (**Villa et al., 2008**).

Bien que **Yap et al. (2011)** ont rapporté que la réaction Fenton-like avec les oxydes de fer donne une efficacité de dégradation élevée à un pH presque neutre entre 7,0 et 8,0 et que l'oxydation des contaminants adsorbés était possible avec des doses élevées de H_2O_2 (**Quan et al., 2003 ; Watts et al., 2002**), l'efficacité de l'oxydation des TPHs n'a pas dépassé les 29% dans notre cas.

Compte tenu des rendements relativement faibles ($\leq 29\%$) obtenus avec le fer endogène, l'élimination des TPHs du sol étudié nécessite de déterminer des quantités de fer plus importantes. À cette fin, la poudre de fer à zéro valence (ZVI) a été utilisée et une teneur en H_2O_2 de 4,5 mol/kg de sol sec a été considérée comme la valeur optimale pour les essais ultérieurs. En général, l'augmentation de la teneur en fer a amélioré le taux d'oxydation des polluants organiques en raison de l'augmentation du nombre de sites actifs catalysant le H_2O_2 et de la production de radicaux OH (**Yap et al., 2011**).

L'ajout de fer (**Fig.7b**) a entraîné une légère augmentation de l'efficacité d'élimination des TPHs pour atteindre un maximum de $39,3 \pm 3,8\%$ pour un rapport molaire H_2O_2/Fe de 15/4, en prenant en compte le fer total, puis sa diminution.

Il est à noter que pour des rapports molaires H_2O_2/Fe supérieurs à 15/4, des dépôts rouges, probablement des hydroxydes de fer, ont été observés et pourraient être responsables de l'inhibition de l'oxydation Fenton-like. **Benatia et al. (2009)** et **Henz et al. (2002)** ont observé le même phénomène avec un catalyseur à base de fer pour un $pH > 5$. En outre, un excès de fer entraîne également une consommation improductive des radicaux hydroxyles (**Lu et al., 2010a**) et des réactions secondaires indésirables qui augmentent le balayage des radicaux OH (**Yap et al., 2011**).

L'ajout de fer a amélioré l'efficacité d'élimination des TPHs de seulement 37,4% par rapport au fer endogène seul. Cette amélioration, non significative, pourrait être attribuée aux performances du fer zéro valent (ZVI) utilisé. Il pourrait également être attribué à la sorption d'espèces de Fe sur des composés organiques du sol, qui est d'autant plus importante que le pH est élevé (**Catrouillet et al., 2014**). Cela rend les espèces de fer moins disponibles pour l'activation de la réaction de Fenton. De plus, le vieillissement de la pollution et les matières organiques sont autant de facteurs qui peuvent limiter la disponibilité des contaminants aux réactifs de Fenton et favoriser la séquestration des radicaux OH, comme le démontraient les travaux antérieurs de **Sun et Yan (2008)**.

Afin d'améliorer les performances du processus d'oxydation Fenton-like et de favoriser la formation des radicaux hydroxyles ou d'autres oxydants et, par conséquent, l'élimination des TPHs, nous avons utilisé l'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) selon différents rapports molaires H₂O₂/Fe/EDTA. Les résultats (**Fig.7c**) ont montré que l'EDTA entraînait une augmentation significative de l'élimination des TPHs, indépendamment de l'addition de fer et donc de la performance de l'oxydation Fenton-like. L'addition d'EDTA a contribué à une augmentation de 80,8% (sans addition de Fe) et de 83,6% (avec addition de Fe) pour les rapports molaires respectifs H₂O₂/Fe/EDTA de 15/1/4 et 15/4/4 par rapport à ces derniers 15/1/0 et 15/4/0. Les rendements d'élimination des TPHs les plus élevés de 72,2% ont été observés pour des rapports molaires H₂O₂/Fe/EDTA de 15/4/4 et 15/4/8 et mettent en évidence un rapport molaire Fe/EDTA optimal de 1/1 à appliquer. Ce dernier ratio corrobore les résultats de travaux ultérieurs dans le domaine de la dépollution des sols par oxydation Fenton-like et est particulièrement recommandé pour les contaminants organiques hydrophobes (**Xue et al., 2009 ; Lu et al., 2010a**).

L'augmentation de l'efficacité d'élimination des TPHs du sol avec l'addition d'EDTA pourrait être attribuée aux modifications de la charge de surface ou de l'état d'oxydation du fer, ce qui permettrait d'améliorer le potentiel catalytique de ce dernier et/ou la formation de complexes ferreux en faveur de la disponibilité du catalyseur (**Vicente et al., 2011**). Cette augmentation pourrait également résulter de la génération de H₂O₂ dans le milieu selon **Zhou et al. (2009)** et/ou une réduction de son assimilation. En effet, l'EDTA a fortement réduit l'absorption de H₂O₂, probablement en raison de la compétition entre l'agent chélateur et H₂O₂ pour les sites de surface sur le fer endogène, selon **Jia et al. (2018)**. Une diminution des taux de décomposition de H₂O₂ a également été observée avec l'utilisation d'EDTA à pH neutre (**Xue et al., 2009**).

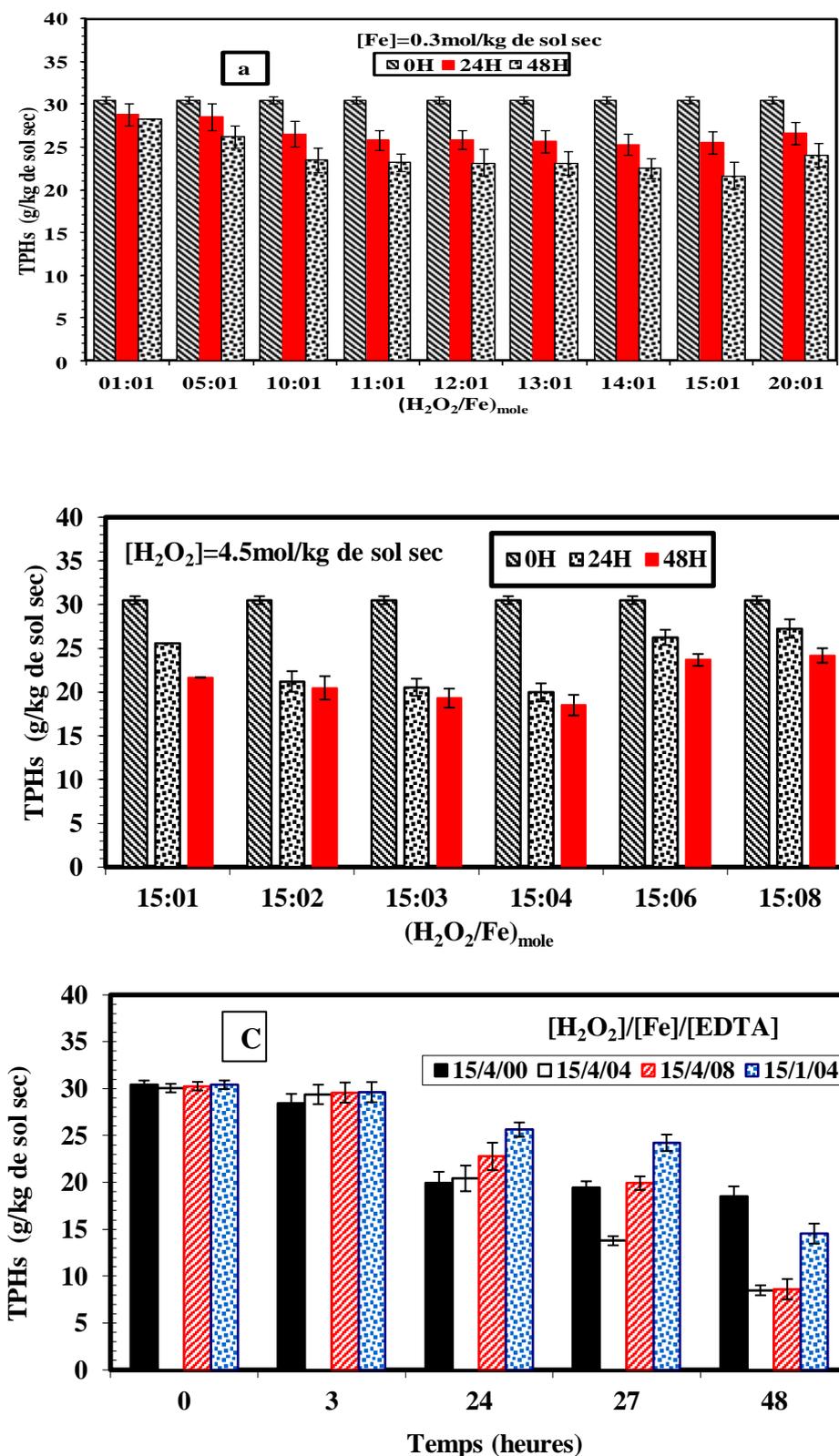


Figure 7 : Evolution Temporelle des TPHs selon la variation des concentrations de
 (a) H₂O₂, (b) le fer et (c) EDTA

Jia et al. (2018) ont rapporté que l'addition d'EDTA augmentait la dégradation du TCE dans les colonnes de sable à forte teneur en magnétite (7,0%) et l'inhibait avec une faible teneur en magnétite (0,5%). **Lu et al. (2010a)** ont obtenu les meilleurs résultats avec un rapport molaire H_2O_2/Fe^{3+} de 200/1 de 38,3%, un pH de suspension de 7, la dose de H_2O_2 et le rapport molaire EDTA /Fe étant fixés à 0,49 mol/kg de sol sec et 1/1 respectivement. **Viisima et al. (2013)** ont souligné que l'addition d'EDTA non seulement chélate et mobilise les métaux du sol, mais augmente également de manière substantielle la disponibilité des contaminants dans le sol, améliorant ainsi leur oxydation.

Les résultats des tests à l'échelle de microcosmes (sol non saturé) ont révélé qu'en plus de l'efficacité et de la faisabilité du processus d'oxydation Fenton-like dans le cas d'une ancienne pollution du sol, les réactifs de Fenton et l'EDTA influent sur l'efficacité de l'oxydation des TPHs du sol, avec des effets synergiques et antagonistes, d'où la pertinence d'optimiser le processus.

➤ **Conception factorielle**

La conception expérimentale factorielle a été utilisée pour déterminer les principaux effets de la teneur en H_2O_2 , en fer total et en EDTA, ainsi que les effets d'interaction entre eux pour optimiser et prédire le processus de type Fenton. Les expériences ont été organisées selon un plan factoriel comportant trois facteurs à deux niveaux distincts (2^3). Le tableau 6 présente les limites de variation des variables indépendantes. Les niveaux bas, centre et haut de chaque facteur indépendant ont été conçus sous les niveaux -1, 0, +1 respectivement.

Tableau 6: Facteurs et niveaux codés pour la conception de l'expérience

Variables indépendantes (mol/kg sol sec)	Facteurs	Niveaux codés		
		-1	0	+1
H_2O_2	X_1	0,30	3,15	6,00
Fe	X_2	0,30	1,35	2,40
EDTA	X_3	0,30	1,35	2,40

Les tests expérimentaux ont été organisés et réalisés selon une matrice d'expériences, écrite en variables codées, comme indiqué dans le tableau 6, afin de modéliser l'élimination des TPHs (réponse Y) dans le domaine d'étude précédemment établi. Pour une évaluation de la signification statistique des effets et des interactions, 3 points centraux ont été réalisés. Les

rendements d'élimination des TPHs par oxydation Fenton-like ont été ajustés avec un modèle polynomial du 1er ordre reliant la réponse Y aux variables $X_i = 1, 2, 3$ données par l'équation 4. Les coefficients du modèle ont été déterminés à l'aide du logiciel d'analyse statistique **JMP 8.0**.

$$Y = 51.62 + 24.10X_1 - 1.49X_2 + 1.01X_3 - 1.98X_1X_2 + 0.02X_1X_3 - 3.12X_2X_3 + 4.54X_1X_2X_3 \quad (4)$$

Où les variables $X_i = 1, 2, 3$ sont les valeurs codées des teneurs en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ($3,15 + 2,85X_1$ (mole/kg sol sec)), en fer total (Fe) ($1,35 + 1,05X_2$ (mole/kg sol sec)) et de l'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) ($1,35 + 1,05 X_3$ (mole/kg sol sec)).

Tableau 7: Résultats expérimentaux de plan factoriel complet 2^3

Numéro d'expérience	Type de point	X_1	X_2	X_3	Réponse Y(%)
01	Factoriel	-1	-1	-1	18.80
02	Factoriel	+1	-1	-1	80.01
03	Factoriel	-1	+1	-1	35.10
04	Factoriel	+1	+1	-1	70.10
05	Factoriel	-1	-1	+1	36.10
06	Factoriel	+1	-1	+1	79.21
07	Factoriel	-1	+1	+1	31.76
08	Factoriel	+1	+1	+1	75.11
09	Centre	0	0	0	50.98
10	Centre	0	0	0	50.13
11	Centre	0	0	0	50.45

➤ **Régression du modèle et tests statistiques**

Le graphique des réponses expérimentales par rapport aux prévisions (**Fig.8**) a montré que les coefficients de corrélation carrés R^2 et R^2 ajusté étaient respectivement égaux à 0,999 et 0,996. Seul 0,4% de la variance totale n'a pas pu être expliquée par le modèle utilisé. Les valeurs élevées de ces deux coefficients et leur concordance significative assurent une très bonne qualité descriptive du modèle.

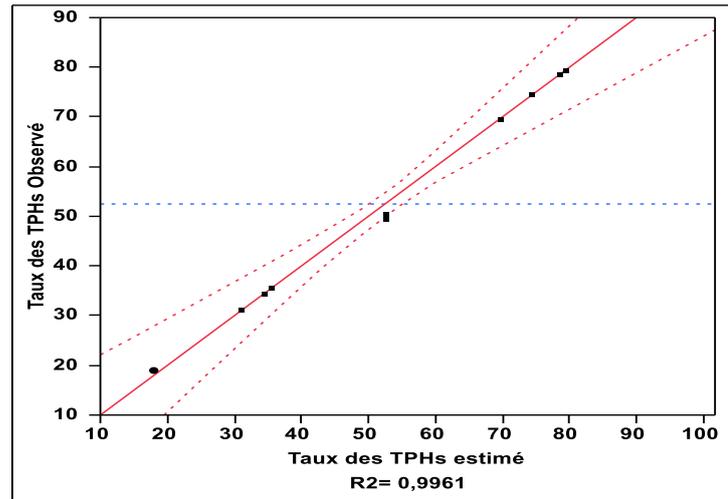


Figure 8 : Comparaison entre les réponses estimées et expérimentales

La signification des coefficients de régression dans l'équation 4 a été vérifiée par l'application du test t de Student. Un effet sera pris en compte si la valeur t absolue associée est supérieure à la valeur de Student critique lue sur la table de Student pour un niveau de confiance de 95% ($\alpha=5\%$) et (n-p) degré de liberté ($t_{\text{crit}}(0,05 ; 3) = 3,182$).

Une autre méthode consiste à examiner la valeur de probabilité (valeur p) de chaque terme de modèle plus proche de zéro et qui doit être inférieur ou égal au seuil p de 0,05. Ces tests, issus de l'examen des valeurs t et p (**tableau 8**), ont mis en évidence 3 coefficients non significatifs (a2, a3 et a13) pour la réponse Y.

Tableau 8: L'analyse des coefficients du modèle de la réponse Y

Coefficients	Valeurs	Écart-type	Valeur "t"	Valeur "p"
a ₀	51,622	0,403944	127,80*	<0,0001*
a ₁	24,096	0,473666	50,87*	<0,0001*
a ₂	-1,493	0,473666	-3,15	0,0511
a ₃	1,008	0,473666	2,13	0,1231
a ₁₂	-1,983	0,473666	-4,19*	0,0248*
a ₁₃	0,018	0,473666	0,04	0,9709
a ₂₃	-3,116	0,473666	-6,58*	0,0071*
a ₁₂₃	4,543	0,473666	9,59*	0,00241*

Ces résultats ont également été confirmés par le test de Pareto Chart (**Fig.9**), qui montre chacun des effets et des interactions estimés par ordre décroissant d'importance, la ligne verticale définissant 95% de l'intervalle de confiance.

Il ressort des différents tests de signification que seule la variable X_1 et les interactions X_1X_2 , X_2X_3 et $X_1X_2X_3$ affectent de manière significative l'efficacité d'élimination du TPHs du sol (réponse Y).

Par conséquent, le modèle a été ajusté en prenant en compte uniquement les effets linéaires et d'interaction influents (équation 2).

$$Y = 51.62 + 24.10X_1 - 1.98X_1X_2 - 3.12X_2X_3 + 4.54X_1X_2X_3 \quad (5)$$

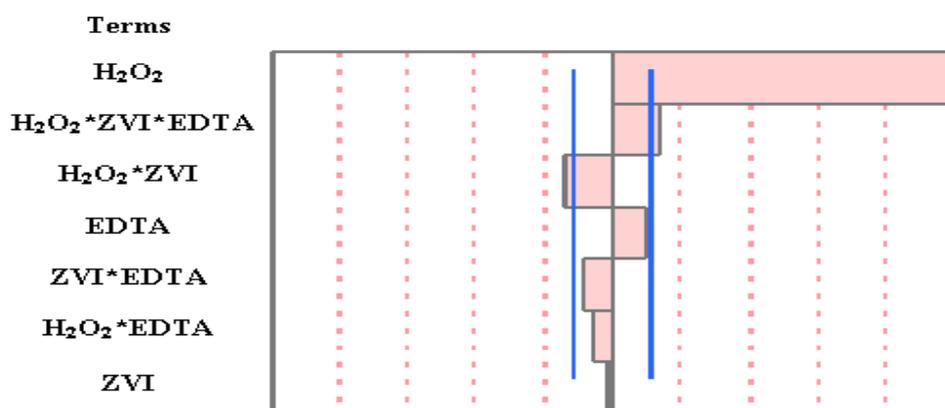


Figure 9 : Test de Pareto Chart

Pour vérifier la signification des variables de modèle retenues, un test de Fisher a été établi. L'analyse de variance (ANOVA) a révélé un carré moyen de régression assez élevé par rapport au carré principal de résidus (**tableau 9**) et, par conséquent, une valeur de Fisher ($F = 111,19$) très supérieure à la valeur critique ($F_{0,05; 7; 3} = 8,89$). Cela signifie une bonne adéquation de la régression du modèle aux données expérimentales avec un niveau de confiance de 95%.

Tableau 9: Analyses de la variance (ANOVA)

Source de variation	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carrée moyen	FISHER
Modèle	7	4427,3384	632,477	111,1938 Prob>F <0,0001
Résidus	3	17,0642	5,688	
Totale	10	4444,4025		

➤ Effets moyens des facteurs et des interactions

L'analyse du modèle ajusté donné dans l'équation (5) a indiqué que la quantité de H_2O_2 (X_1) est le facteur clé affectant l'efficacité de l'élimination des TPHs du sol (réponse Y) puisque son coefficient est le module le plus élevé. De plus, son signe positif signifie que l'efficacité d'élimination des TPHs augmente considérablement avec la teneur en H_2O_2 . Ces résultats corroborent les résultats expérimentaux obtenus dans la première étape en ne faisant varier que la dose de H_2O_2 .

Inversement, la teneur en fer (X_2) s'est révélée non significative sur le plan statistique pour la réponse Y, probablement en raison de la capacité du fer endogène (0,3 mol/kg de sol sec) à catalyser H_2O_2 et à générer une élimination maximale des TPHs du sol pour une teneur en H_2O_2 de 6,0 mol/kg sol sec. Ces résultats corroborent les travaux de **Goi et al. (2006)**, **Jung et al. (2013)**, **Kulik et al. (2006)**, **Kwan et Voelker (2003)**, **Xu et al. (2009)**, **Yap et al. (2011)**, qui ont démontré que les oxydes de fer naturellement présents dans le sol peuvent catalyser le H_2O_2 et favoriser l'oxydation des contaminants organiques à pH dans le domaine de la neutralité.

Les effets des teneurs en fer (X_2) et en EDTA (X_3) n'ont pas d'influence directe, mais résultent d'effets d'interaction au niveau de confiance de 95%, comme le montre la figure 10. Les courbes des effets d'interaction ont mis en évidence l'existence d'une interaction entre les niveaux -1 et +1 ne sont pas parallèles. Les lignes parallèles indiquent l'absence d'interaction entre les facteurs.

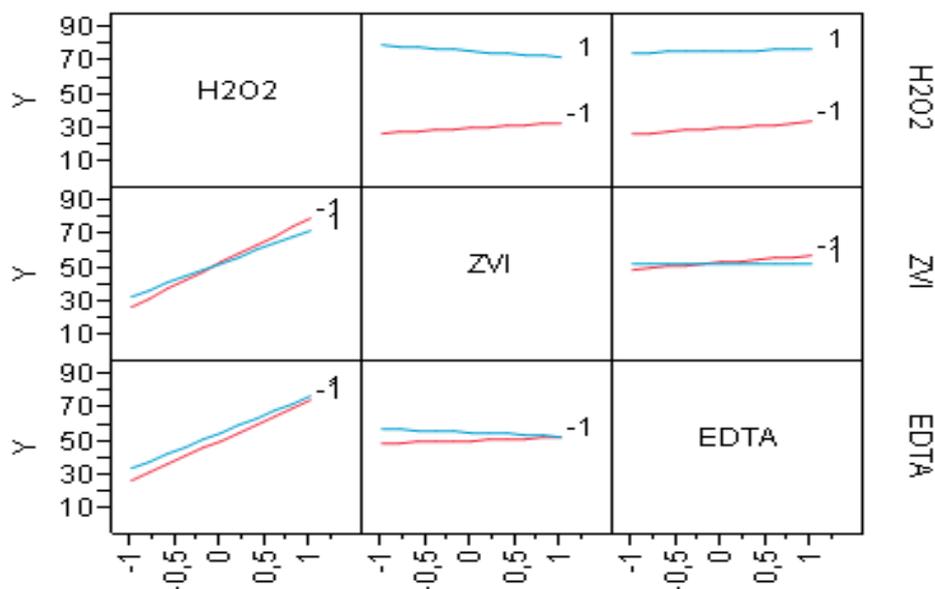


Figure 10: Les effets d'interaction sur l'efficacité de dégradation des TPHs

Des effets d'interaction importants entre H_2O_2 -Fe (X_1X_2), Fe-EDTA (X_2X_3) et H_2O_2 -Fe-EDTA ($X_1X_2X_3$) ont été observés. Le signe négatif du coefficient d'effet d'interaction (-1,98) entre H_2O_2 et le fer signifie que l'efficacité de l'élimination des TPHs diminue avec l'augmentation de la dose de H_2O_2 lorsque la teneur en Fe est élevée. Bien qu'une grande quantité de H_2O_2 soit une source remarquable de production de radicaux OH, un excès de fer pourrait piéger et/ou réagir avec les radicaux OH, entraînant une consommation non productive de ces derniers et, par conséquent, inhiber l'oxydation des TPHs. Le coefficient d'effet d'interaction entre le fer et l'EDTA étant également négatif, l'efficacité d'élimination des TPHs augmente avec la dose d'EDTA lorsque la quantité totale de fer est faible. Le signe positif du coefficient d'effet d'interaction entre H_2O_2 , le fer et l'EDTA révèle que la réponse Y diminue avec de faibles concentrations de ces trois éléments. En effet, les meilleures efficacités d'élimination des TPHs du sol (70,1 à 80,0%) étaient prédites pour des rapports molaires H_2O_2 /Fe/EDTA de 20/8/1, 20/8/8, 20/1/8 et 20/1/1 dans un bon accord avec les résultats expérimentaux. Celles-ci corroborent d'une part l'influence de l'interaction du catalyseur et de l'agent chélate ainsi que de l'oxydant, du catalyseur et de l'agent chélate. D'autre part, ils ont démontré qu'une petite quantité d'EDTA était suffisante pour favoriser l'oxydation des TPHs avec une teneur élevée en oxydant (6 mol/kg de sol sec) alors qu'en l'absence d'EDTA, un effet inhibiteur était observé. En augmentant la teneur en H_2O_2 de 4,5 à 6,0 mol/kg de sol sec, l'élimination des TPHs est passée de 29,0 à 21,0%. Ces résultats corroborent l'effet significatif de l'EDTA sur l'amélioration de l'efficacité de l'oxydation de la FL à un pH presque neutre. En effet, l'EDTA peut induire et favoriser l'extraction du fer lié (Vicente et al., 2011) et augmenter la quantité de catalyseur, mais également la disponibilité de contaminants pour les réactifs de Fenton dans le sol (Viisimaa et al. 2013).

De la même manière, des surfaces de réponse ont été construites pour estimer l'efficacité d'élimination des TPHs après 48h de traitement en fonction de la variable significative et des interactions. La figure 11.a présente le graphique de surface de la réponse en Y par rapport aux niveaux de H_2O_2 et de Fe pour une teneur en EDTA fixée au niveau zéro, illustre et met en évidence l'effet d'interaction important de H_2O_2 -Fe ($X_1 X_2$). Une augmentation de la quantité de H_2O_2 et une réduction de celle du fer ont considérablement favorisé l'efficacité de l'oxydation de la FL et, par conséquent, l'élimination du TPHs. Les variations de la teneur en EDTA et en fer total pour la teneur en H_2O_2 fixée au niveau zéro (Fig.11.b) ont favorisé l'élimination du TPHs avec un effet d'interaction moins prononcé des variables testées.

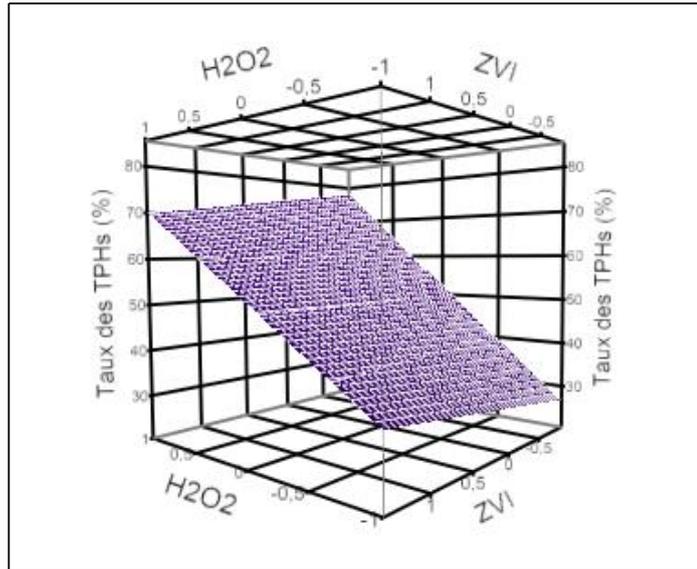


Figure 11: a) Représentation en surface des effets de H₂O₂ et des doses de fer totale sur l'efficacité de l'élimination des TPHs

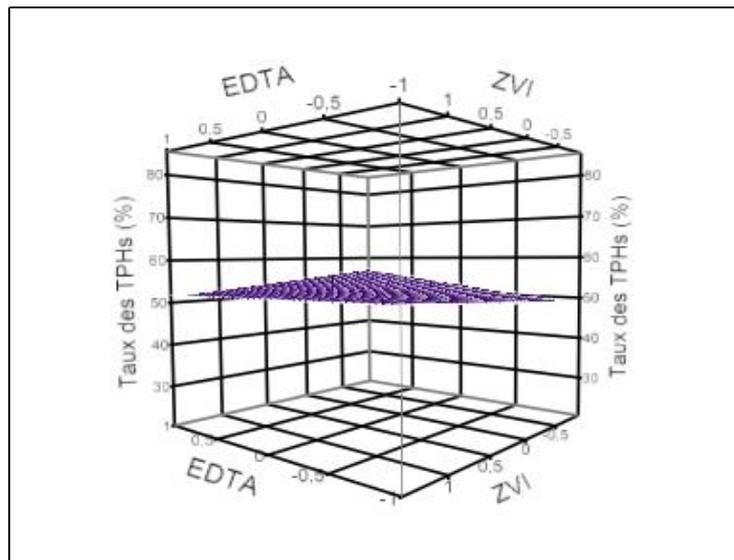


Figure 11 : b) Représentation graphique en surface de l'effet des doses de fer total et d'EDTA sur l'efficacité des TPHs

La fonction de désirabilité est généralement utilisée pour optimiser les indicateurs de performances multiples d'un processus donné. Les valeurs de la fonction de désirabilité individuelle (D) sont comprises entre 0 et 1 et reflètent le degré de satisfaction pris par un indicateur de performance (réponse Y).

La valeur d de 0 est attribuée lorsque les facteurs conduisent à une réponse inacceptable ($Y < Y_{min}$)

Et celle de 1 lorsque la réponse présente la performance maximale souhaitée ($Y > Y_{max}$) pour les facteurs considérés, Où Y_{min} et Y_{max} sont respectivement les valeurs minimale et maximale de la réponse et s est le facteur modifiant l'importance d'une augmentation de la réponse Y pour la désirabilité individuelle considérée (Colombo et al., 2013 ; Xie et al., 2016).

La recherche des conditions de fonctionnement optimales conduisant à l'optimisation de l'élimination des TPHs, à partir du modèle précédemment établi, a été réalisée à l'aide du profileur de réponse (Fig.11) dont la valeur de désirabilité proche de 1 correspond aux valeurs maximales des rendements d'élimination du TPHs du sol.

Plus la fonction de désirabilité tend vers 1; la réponse représente une performance maximale pour les facteurs considérés. La fonction de désirabilité augmente de manière significative avec l'augmentation de la teneur en H_2O_2 . L'efficacité optimale d'élimination des TPHs après 48h de traitement était de 79%, ce qui correspond à une désirabilité maximale de 0,85; elle a été obtenue pour les conditions suivantes :

De 6,0, 0,3, 0,3 mole/kg de sol sec de H_2O_2 , de fer endogène et d'EDTA correspondant respectivement à un rapport molaire $H_2O_2/Fe/EDTA$ endogène de 20/1/1. La dose optimisée de H_2O_2 était en bon accord avec les niveaux de H_2O_2 plus élevés prévus dans d'autres travaux (Goi et Trapido., 2004 ; Watts et al., 2002).

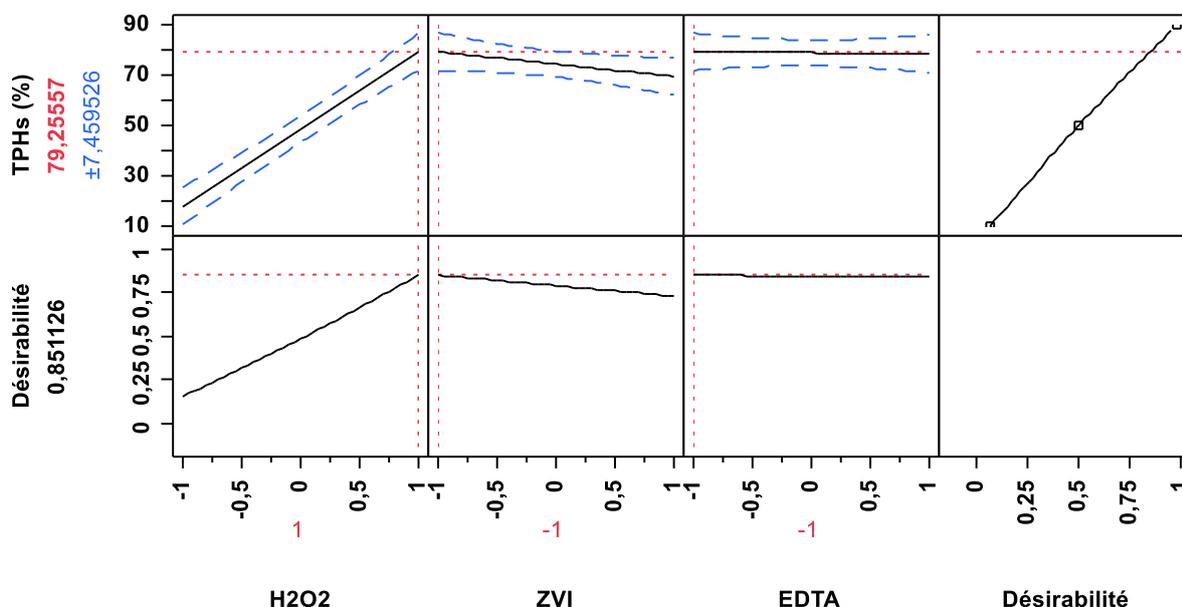


Figure 12: Facteurs optimaux de traitement par fonction de désirabilité pour une élimination maximale des TPHs

Une augmentation de la quantité de H_2O_2 favorise l'augmentation des radicaux OH et, par conséquent, le rendement de l'élimination des hydrocarbures pétroliers. **Pardo et al. (2014)** ont noté que l'augmentation de la quantité de H_2O_2 de simple à double améliore l'efficacité de l'élimination du TPHS dans le cas de sols pollués par un mélange de biodiesel et de diesel. **Mater et al. (2007) et Villa et al. (2008)** ont également observé une amélioration de l'efficacité de la dégradation des composés organiques pour des concentrations élevées en H_2O_2 .

L'utilisation du plan factoriel à deux niveaux a permis de déterminer et d'optimiser les facteurs et interactions potentiellement influents et de fournir un modèle de prévision du processus d'oxydation de la FL dans le domaine d'étude établi. Le fer endogène était suffisant pour catalyser H_2O_2 et améliorer l'oxydation des TPHs jusqu'à $79,3 \pm 7,5\%$ pour un rapport molaire H_2O_2 /fer endogène/EDTA de 20/1/1 correspondant à 6 mol/kg1 de H_2O_2 et 0,3 mol/kg de fer endogène et EDTA. La fonction de désirabilité a mis en évidence que l'efficacité d'élimination maximale était attendue avec une désirabilité de 0,85 dans des conditions optimales.

*Traitement du sol par
couplage d'oxydations
Fenton-like et biologique*

4. Traitement du sol par couplage d'oxydations Fenton-like et biologique

Cette étude a porté sur l'étude de la faisabilité et les performances de couplage d'oxydation chimique par procédé d'oxydation avancée Fenton-like et biologique, en considérant le rapport molaire C/N/P de 100/10/1 et deux rapports molaires H₂O₂/Fe/EDTA de 15/4/4 et 20/1/1, un taux d'humidité entre 25 et 30% à température ambiante, pour le traitement d'un sol pollué par les hydrocarbures pétroliers à raison de 30,51±0,45 g/kg de sol sec.

➤ Etude en microcosmes

L'étude a porté sur le traitement simultané d'oxydation biologique et Fenton-like pour les rapports molaires H₂O₂/Fer/EDTA de 15/4/4 (système A) et 20/1/1 (système B) et C/N/P de 100/10/1, en optant pour l'addition séquentielle du H₂O₂ (0, 24h, 48h). Des systèmes abiotiques ont également été utilisés (microcosmes de 250g de sol pollué) pour les rapports molaires H₂O₂/Fer/EDTA précités.

Pour pallier au problème de déficit en nutriments observé dans la partie §2, nous avons réajusté les rapports C/N/P à 100/10/1 la 4^{ème} semaine de traitement et nous avons également introduit le peroxyde d'hydrogène (systèmes A' et B') selon les rapports précités

Dans tous les essais, la température est maintenue constante et égale à la température ambiante (25-27°C) et l'humidité maintenue entre 25 et 30%.

Des systèmes abiotiques ont été réalisés dans les mêmes conditions des systèmes biotiques A et B (systèmes C et C' respectivement).

Tous les systèmes ont été placés sur un agitateur vibrant orbital à 150 tour/min (pendant 72h), 72 heures à un pH neutre, à l'abri de la lumière afin d'éviter les effets de la photo-oxydation.

L'oxydation Fenton-like a été initiée après le mélange du sol avec les différents additifs, dès l'introduction de H₂O₂. Toutes les expériences ont été dupliquées.

Des prélèvements ont été effectués toutes les 24 heures pour le suivi des différents paramètres de pH, d'hydrocarbures pétroliers totaux (TPHs), de biomasse, d'humidité et de nutriments durant les trois premiers jours, ensuite toutes les semaines durant deux mois pour le suivi de l'efficacité du traitement et l'évolution temporelle des paramètres précités.

➤ pH

Le suivi du pH durant le traitement pour les différents systèmes biotiques et abiotiques est illustré dans la figure 13. On remarque une faible augmentation de pH pour les différents systèmes biotiques, probablement due à la décomposition du peroxyde d'hydrogène et la

présence des radicaux $\bullet\text{OH}$ dans le milieu réactionnel (Sherwood et al., 2014), suivant la réaction (a) :

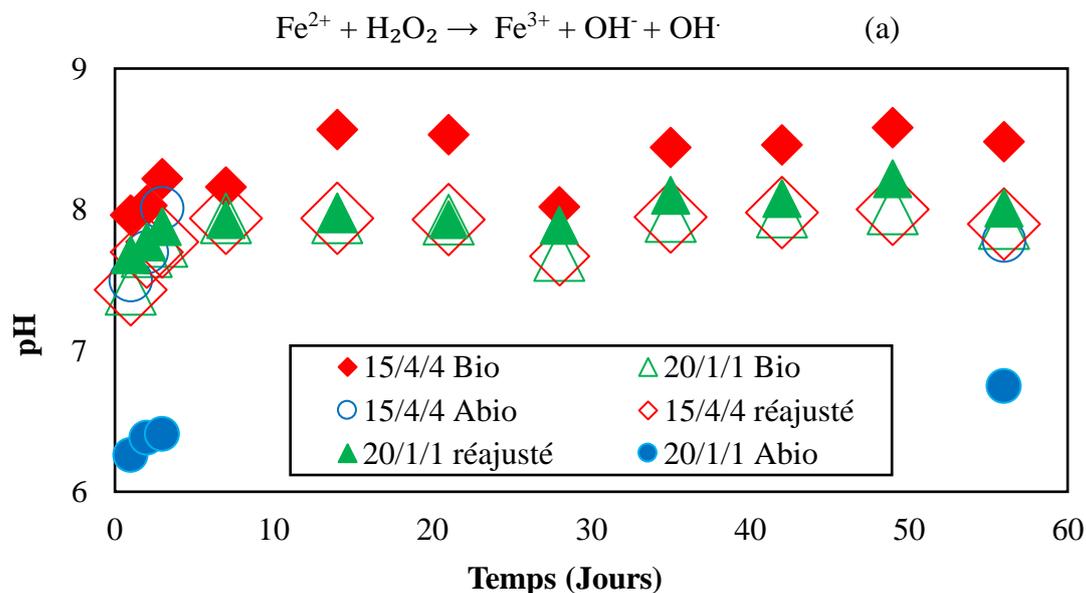


Figure 13: Evolution temporelle de pH pour les différents systèmes biotiques

Le pH demeure dans la zone de neutralité, compris entre 6,3 et 8,6, qui est favorable au développement des microorganismes dégradeurs des hydrocarbures pétroliers, pour une éventuelle biodégradation (Gray, 2000 ; Landstedt et al., 2006).

Lu et al., (2010), observent des efficacités de dégradation plus faibles à pH 7,5 qu'à pH 7,0, indiquant que le couple Fe-EDTA peut être moins actif à PH élevé dans le domaine de la neutralité.

➤ Biomasse

Le suivi de la croissance bactérienne à partir des échantillons prélevés périodiquement met en évidence une augmentation du nombre des microorganismes. Les courbes de croissance microbienne se caractérisent par deux phases, phase de croissance exponentielle et de déclin pour les systèmes A et B, phase exponentielle et stationnaire pour le système B' tandis que pour le système A' on observe trois phases, phase exponentielle, phase stationnaire suivi d'une phase de déclin, comme illustré sur la figure 14.

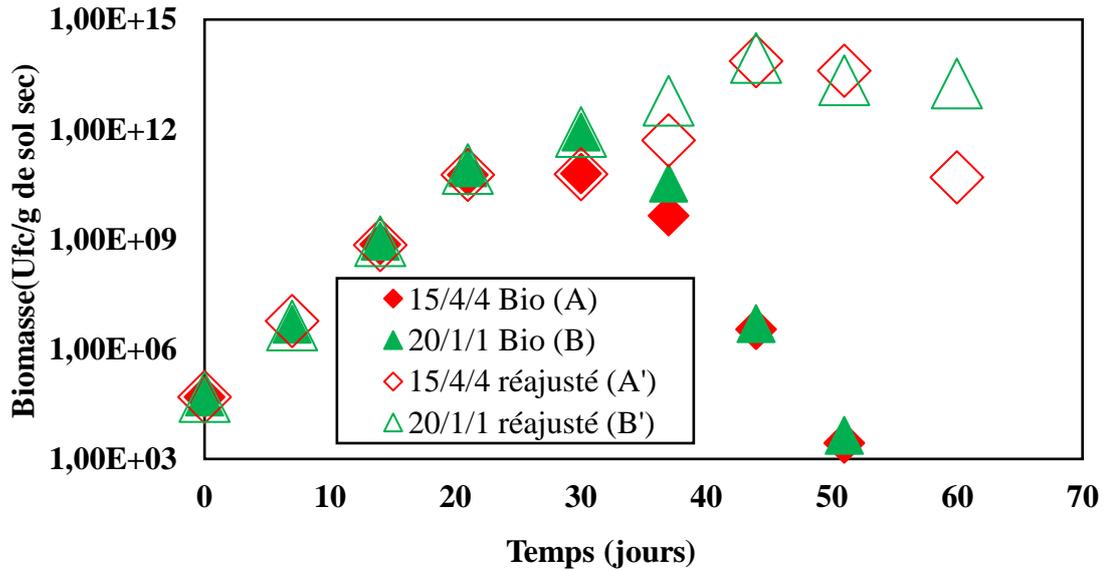


Figure 14: Evolution temporelle de la biomasse pour les différents systèmes biotiques

La phase de croissance exponentielle : elle correspond à la période où le nombre de microorganismes augmente de façon linéaire pour atteindre un maximum de $6,4 \cdot 10^{10}$ et $8,5 \cdot 10^{11}$ UFC/g de sol sec pour les systèmes A et B respectivement pour une période de 4 semaines (30 jours) tandis que dans le cas des systèmes A' et B', elle se prolonge jusqu'au 6^{ème} semaine (44^{ème} jours) correspondant à un nombre de microorganismes de $7,5 \cdot 10^{13}$ et $8,1 \cdot 10^{13}$ UFC/g de sol sec respectivement pour se stabiliser par la suite. Cette croissance rapide est favorisée par la présence de source de carbone et de nutriments (azote et phosphore), et peut être associée à la dégradation d'un substrat facilement biodégradable généré par le procédé Fenton qui a conduit à des molécules de faible poids moléculaire et a facilité la biodégradation des hydrocarbures. La prolongation de la phase de croissance pour les systèmes A' et B' par rapport aux A et B est dû au réajustement du rapport molaire C/N/P à 100/10/1.

La phase stationnaire, elle est observée seulement pour les systèmes réajustés (A' et B'), pour le système A' elle dure une semaine suivie d'une phase de déclin tandis que dans le cas du système B' alors qu'elle se poursuit jusqu'à la fin du traitement pour le système B'.

La phase de déclin, dans cette phase on observe une diminution du nombre des microorganismes qui commence dès la 5^{ème} semaine pour les systèmes A et B et à partir de la 7^{ème} semaine pour le système A'. Cette phase nous renseigne sur l'atteinte des microorganismes de leur maximum, et elles ne se multiplient plus, ceci pourrait être expliqué par le déficit des nutriments et l'épuisement de la partie du substrat biodégradable.

Greer et al., (2003) mettent en évidence que l'amendement du sol génère un accroissement de la flore microbienne qui passe de 3.10^7 à 10^8 UFC/g de sol sec après quatre semaines de traitement.

Sarkar et al., (2005) et Arrar et al., (2007) n'observent pas de phase de latence dans le cas de la bioremédiation d'un sol pollué par du gasoil. Selon Mukherji et al. (2004), la phase de croissance exponentielle arrive à terme au bout du 8^{ème} jour. Les travaux de Ghazali et al. (2004), dans le cas de la bioremédiation d'un sol contaminé par du gasoil (1,4%), mettent en évidence une augmentation du nombre des microorganismes indigènes de 99,5% après 60 jours d'inoculation.

➤ **Nutriments**

La croissance microbienne est étroitement liée à la disponibilité des nutriments (N, P) dans le sol. Pour pouvoir comprendre l'évolution de la biomasse, il fallait impérativement étudier l'évolution temporelle de l'azote total à partir de la détermination des teneurs résiduelles en azote total et phosphore total.

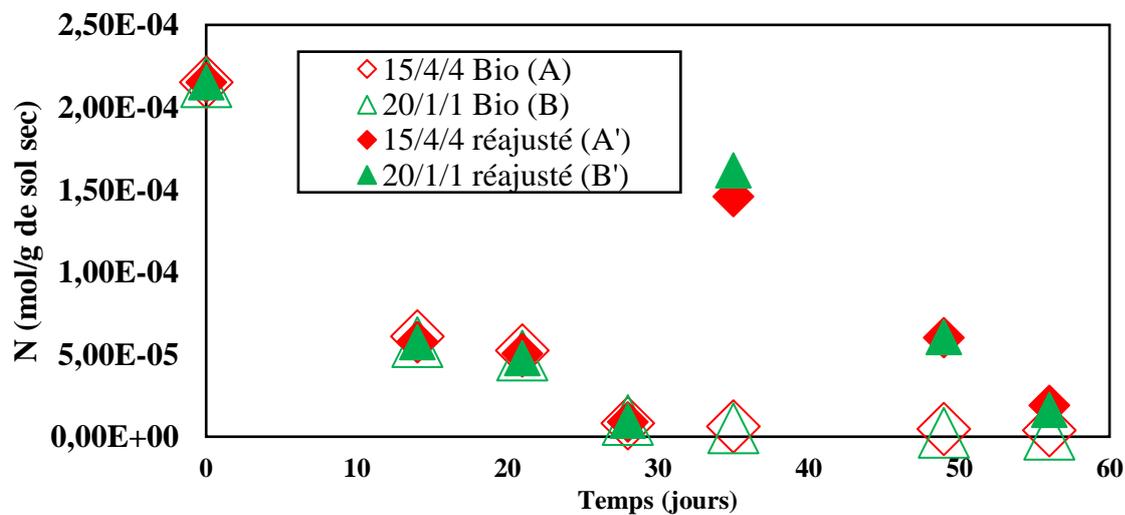


Figure 15: Evolution temporelle de l'azote dans les différents systèmes biotiques

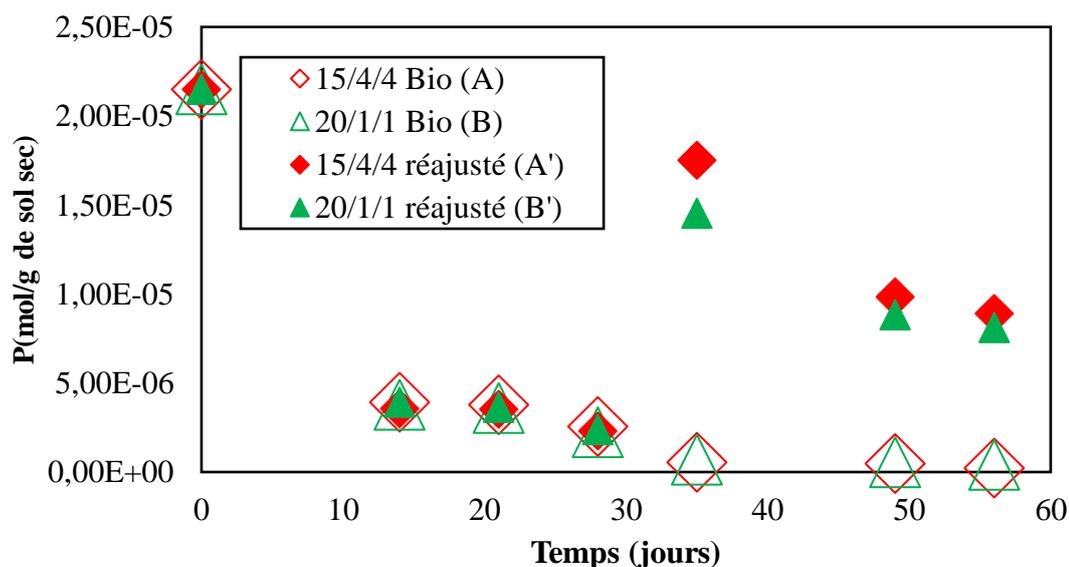


Figure 16: Evolution temporelle du phosphore pour les différents systèmes biotiques

En général, c'est le rapport C/N/P de 100/10/1 qui est considéré comme optimal et est préconisé (Sabate et al., 2004).

L'évolution temporelle des teneurs en azote total et en phosphore (Fig.15 et Fig.16) respectivement, mettent en évidence une bonne concordance entre l'activité microbienne et les nutriments. En effet on constate une diminution importante de la source d'azote et de phosphore durant les deux premières semaines, qui correspond à la meilleure croissance microbienne enregistrée.

Après 30 jours de traitement, on note l'épuisement total des nutriments dans les systèmes A et B qui coïncide avec la phase de déclin enregistrée sur la figure 14.

L'amendement du sol dans les systèmes A' et B' se traduit par une augmentation des teneurs en azote et en phosphore tel qu'illustré dans les figures 15 et 16 qui coïncide avec la croissance exponentielle des microorganismes jusqu'à 44-50^{èmes} jour (Fig.14).

➤ Hydrocarbures totaux (TPHs)

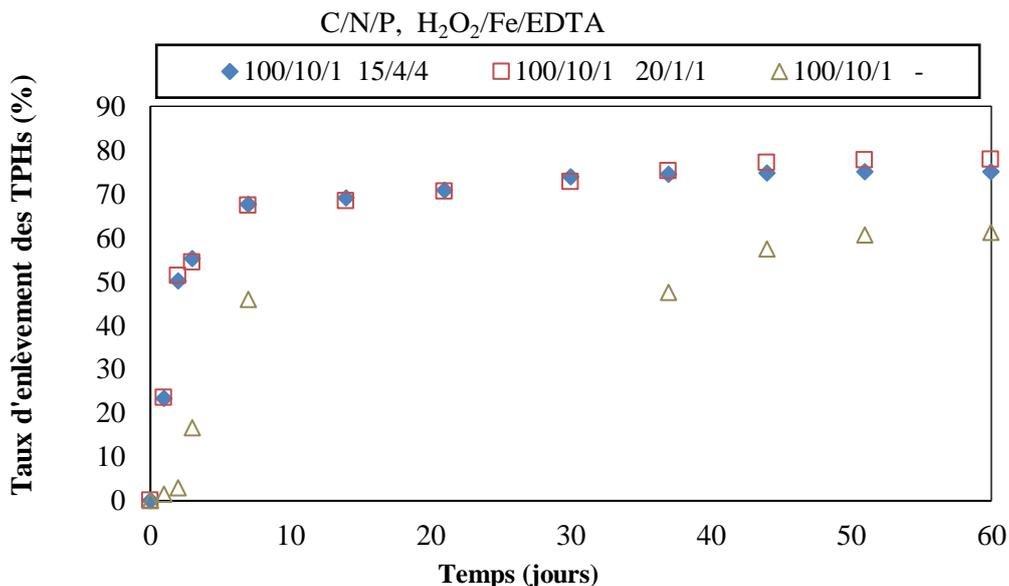


Figure 17: Evolution temporelle des taux d'enlèvement des TPHs pour les systèmes A,B et la biodégradation seule

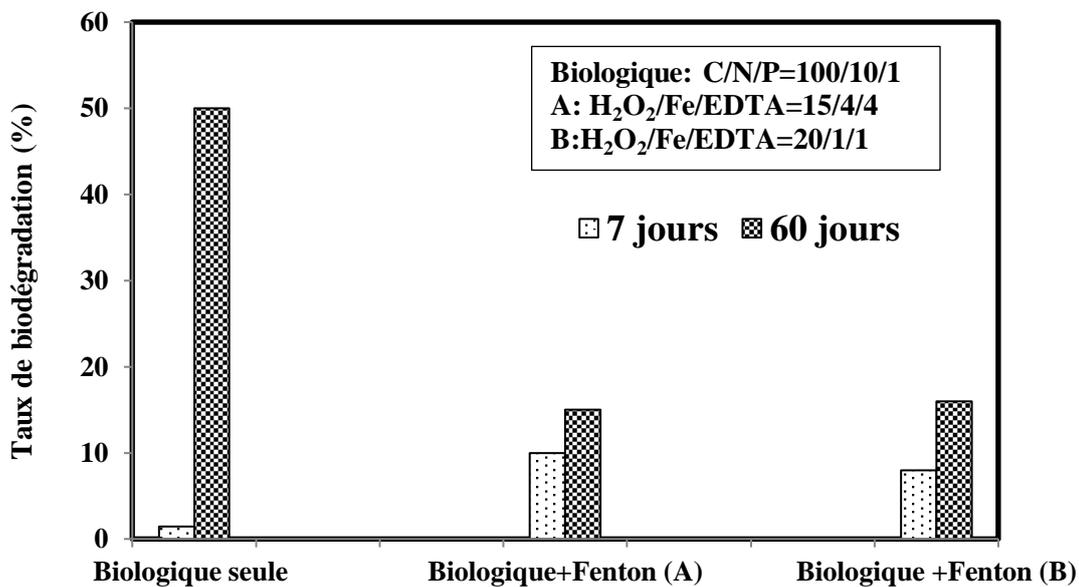


Figure 18: Evolution temporelle des taux de biodégradation pour les systèmes A,B et la biodégradation seule

Il ressort des résultats de comparaison des taux d'enlèvement des TPHs résiduels dans le cas de couplage d'oxydations biologique et Fenton-like (A et B) avec ceux obtenus par oxydation biologique seule (**Fig.17**), que durant la première semaine, les taux d'enlèvement étant de 67 et 68% pour les systèmes A et B respectivement, tandis que dans le cas de traitement biologique seul, il ne dépasse pas les 3. Cela signifie que l'enlèvement des TPHs au début du traitement est dû essentiellement à l'oxydation Fenton-like pour les systèmes A et B, puisque leur taux de biodégradation ne dépassant pas les 10%, qui étaient de 8 et 10% respectivement alors qu'il ne dépasse pas les 2% dans le cas de traitement biologique seul (**Fig.18**).

Au-delà de la première semaine, les taux d'enlèvement des TPHs augmentent graduellement pour les trois systèmes, pour se stabiliser à la fin du traitement à des taux de 75, 77 et 62% correspondant à des taux de biodégradation de 15, 16 et 50% pour les systèmes A, B et traitement biologique seule respectivement.

Ces résultats montrent que dans le cas de couplage, l'enlèvement des TPHs résiduels est dû essentiellement à l'oxydation par Fenton-like en comparant leurs taux de dégradation avec ceux de biodégradation, alors qu'on a observé une augmentation importante du nombre de microorganismes de l'ordre de 10^{13} (**Fig.14**) et une consommation importante des nutriments (**Fig.15 et 16**), ceci pourrait être expliqué par la biodisponibilité de polluant aux microorganismes qui peut être affecté par la matière organique, et/ou l'épuisement de la partie facilement biodégradable, ce qui a mené les microorganismes d'utiliser une autre source de carbone.

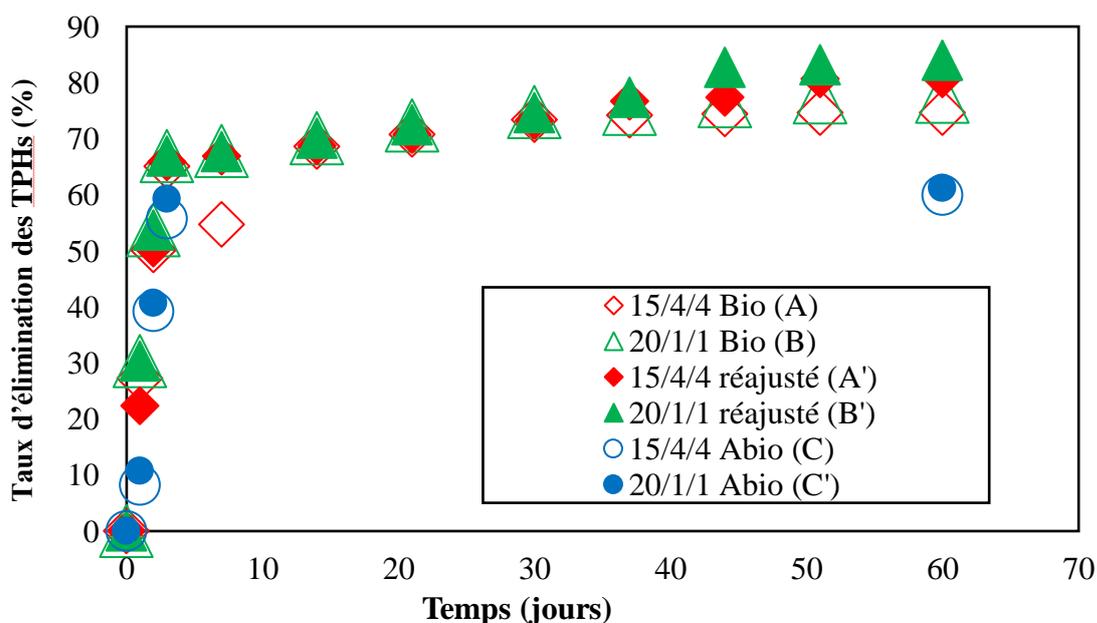


Figure 19: Evolution temporelle des taux des TPHs pour les différents systèmes biotiques et abiotiques

Le suivi temporel des taux d'enlèvement des hydrocarbures pétroliers totaux pour les différents systèmes biotique (A, A', B, B') et abiotique (C, C') (**Fig.19**) met en évidence des profils similaires, une augmentation rapide des taux de dégradation les trois premiers jours est observée pour les systèmes biotiques et abiotiques pour des valeurs de 65%, 66% , 67% et 67% pour le systèmes biotiques A, A', B, B' respectivement et 56% et 60% pour les systèmes abiotiques C et C' respectivement. Cette approche des valeurs des taux d'enlèvement des TPHs entre les systèmes biotiques et abiotique, montre que la dégradation des hydrocarbures n'était pas dû à l'activité microbienne mais également de l'oxydation Fenton-like.

Au-delà du 3^{ème} jour, l'élimination des TPHs du sol se fait graduellement et les teneurs en TPHs sont sensiblement identiques pour l'ensemble des systèmes (A, A', B, B') pour arriver à des taux de 73%, 76%, 74% et 77% respectivement à la 4^{ème} semaine.

A partir de la 4^{ème} semaine, de très faibles variations des taux d'enlèvement des TPHs sont enregistrées pour se stabiliser à partir de la 6^{ème} semaine jusqu'à la fin du traitement à 75% et 77% pour les systèmes A et B respectivement, tandis que dans le cas des systèmes A' et B', les taux d'enlèvement se sont stabilisés à partir de la 7^{ème} semaine pour atteindre 83% et 84% respectivement à la fin du traitement.

Cette faible différence de variations des teneurs résiduelles en TPHs enregistrées dans les systèmes A' et B' par rapports aux A et B respectivement ne sont pas dues à l'épuisement des nutriments mais probablement à la nature des hydrocarbures résiduels et de métabolites plus récalcitrants, et au problème de la disponibilité des polluants aux micro-organismes. En effet, la biodisponibilité des polluants aux micro-organismes est affectée par la matière organique.

L'ajout de H₂O₂ durant la 4^{ème} semaine n'a pas une grande influence sur la dégradation des TPHs du sol au regard des résultats obtenus.

La cinétique de biodégradation est très faible indépendamment des rapports H₂O₂/Fe/EDTA étudiés qui aboutissent à la même efficacité de traitement 83,90%.

Il ressort que, dans le cas des systèmes abiotiques, les rendements d'élimination des TPHs du sol après 3 jours de traitement sont de 56% et 59% pour les systèmes C et C' respectivement correspondant aux rapports molaires H₂O₂/Fe/EDTA respectifs de 15/4/4 et 20/1/1. Puis une légère amélioration des taux d'enlèvement est observée à la fin du traitement ne dépassant pas les 4%, d'où 60% et 61% pour les systèmes C et C' respectivement, cela signifie que l'oxydation Fenton ne s'arrête pas après 3 jours, du fait de l'existence des substances générées par le procédé de Fenton qui contribue à la dégradation des TPHs avec un faible pourcentage.

Il ressort de la figure 19 que les meilleurs rendements d'élimination des TPHs du sol de 83% et 84% sont obtenus pour les systèmes A' et B' comparés aux d'autres systèmes.

Ces résultats mettent en évidence des différences de rendement peu significatives entre les deux rapports H₂O₂/Fe/EDTA étudiés en faveur de l'oxydation Fenton like sans ajout de fer.

Aussi, les rapports molaires H₂O₂/Fe/EDTA de 15/4/4 et 20/1/1 peuvent être préconisés mais pour des considérations environnementales et de coût, nous privilégions celui de 20/1/1 (système B') qui fait appel au fer endogène.

La contribution microbienne dans la dégradation des hydrocarbures pétroliers totaux est estimée à 23% dans les deux microcosmes B et B'

Dans une étude de (**Gong et al., 2012**) pour l'élimination des hydrocarbures totaux du sol pollué artificiellement était de 88,9 % par couplage de traitements oxydation Fenton et biostimulation et ont montré que l'oxydation Fenton n'a pas affecté l'activité microbienne et le taux d'enlèvement des hydrocarbures totaux était supérieur que dans le cas de traitement par biostimulation seule ou oxydation Fenton seule.

Palmroth et al. (2006) ont également utilisé la combinaison des traitements biologique et oxydation Fenton pour la réhabilitation des sols pollués par l'huile de créosote et ils ont atteint un rendement d'élimination de 43 – 59% alors que **Surabhi et al., (2013)** ont trouvé un taux d'élimination de 22-30% dans le cas de traitement biologique seul.

La combinaison de processus de traitement chimique et biologique a montré des avantages par rapport à l'un ou l'autre processus, Seul. **Nam et al. (2001)** ont utilisé le traitement combiné de la réaction de Fenton modifiée et de la biodégradation pour dégrader les hydrocarbures dans le sol d'une usine de gaz manufacturé, et plus de 70% des HAP ont été dégradés (**Mang. et al., 2010**).

5. Application à l'échelle semi-pilote

Dans le but d'appliquer le traitement simultané d'oxydations biologique et Fenton-like, nous avons réalisé les essais dans un réacteur à jet semi-pilote en phase solide. 6kg de sol pollué sont introduits dans la colonne et reposent sur une couche de granulats synthétique d'une hauteur de 5cm. Le sol est initialement amendé en azote et en phosphore pour réajuster le rapport molaire C/N/P à 100/10/1 et les réactifs Fenton sont introduits et mélangés au sol suivant le même principe que celui décrit à l'échelle de microcosmes (§4). Dans cette partie nous avons toutefois opté pour l'addition séquentielle du H₂O₂ (0, 24h, 48h) qui donne de meilleurs résultats en référence des essais préalables à l'échelle de microcosmes et en

parfaitement accord avec ceux de (Nam et al. (2001). L'oxydation Fenton-like est initiée, après le mélange du sol avec les différents additifs, dès l'introduction de la première dose de H₂O₂.

La température est maintenue constante et égale à la température ambiante et l'humidité maintenue entre 25 et 30% sans modification du pH, à l'abri de la lumière afin d'éviter les effets de la photo-oxydation.

L'aération est effectuée toutes les semaines, pour assurer l'homogénéisation et l'oxygénation du sol à traiter.

Le traitement simultané a été appliqué pour une durée de 5 semaines, suivie d'une atténuation naturelle de 10 semaines et enfin une semaine de traitement dans les conditions précitées.

Des prélèvements ont été effectués toutes les 24 heures pour le suivi des différents paramètres de pH, d'hydrocarbures pétroliers totaux (TPHs), et d'humidité (Hu%) durant les trois premiers jours, ensuite de façon hebdomadaire pour les TPHs, l'humidité, le pH, la biomasse et les nutriments jusqu'à la 5^{ème} semaine puis à la fin de traitement (15^{ème} semaine) pour le suivi de l'efficacité du traitement et l'évolution temporelle des paramètres précités.

Nous avons également déterminé les différentes fractions de TPHs résiduelles dans le sol ainsi traité.

➤ **Biomasse**

Le suivi de la croissance bactérienne à partir des échantillons prélevés périodiquement met en évidence une augmentation linéaire du nombre des microorganismes telle qu'illustre la figure 20.

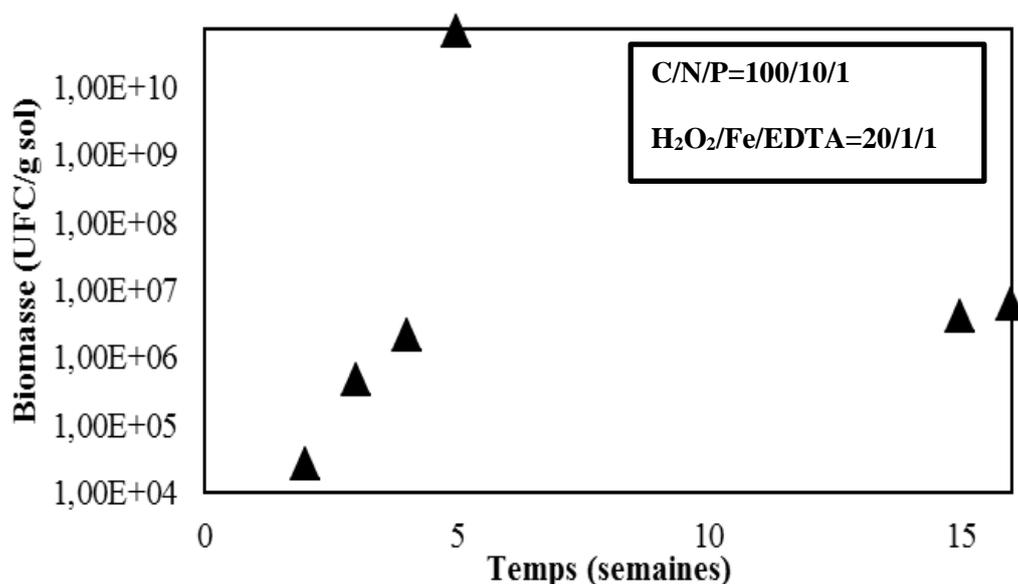


Figure 20: Evolution temporelle de la biomasse

Dans notre cas, une phase de croissance exponentielle est observée en l'absence de phase de latence, comme illustré sur la figure 20. Ceci pourrait être expliqué par l'adaptation rapide des microorganismes aux nouvelles conditions du milieu. Ces résultats corroborent ceux de **Sarkar et al. (2005)** et **Arrar et al. (2007)** qui eux aussi n'observaient pas de phase de latence dans le cas de la bioremédiation d'un sol pollué par du gasoil.

La phase de croissance exponentielle : correspond à la période où le nombre de microorganismes augmente de façon linéaire pour atteindre un maximum de $6,5 \cdot 10^{10}$ UFC/g de sol sec pour une période de 5 semaines (35 jours). Cette croissance rapide est favorisée par la présence de source de carbone et de nutriments (azote et phosphore), et peut être associée à la dégradation d'un substrat facilement biodégradable généré par le procédé Fenton qui a conduit à des molécules de faible poids moléculaire et a facilité la biodégradation des hydrocarbures. A la fin du traitement (15^{ème} semaine) une diminution du nombre des microorganismes a été enregistrée et est égal à $5,9 \cdot 10^6$ UFC/g de sol sec. Cela n'empêche pas l'activité microbienne, puisque cette valeur de biomasse est suffisante pour qu'une activité microbienne puisse avoir lieu (**Ghazali et al., 2004**). Toutefois, cette diminution de la biomasse pourrait être attribuée au déficit des nutriments et l'épuisement de la partie du substrat biodégradable.

Greer et al. (2003) mettent en évidence que l'amendement du sol génère un accroissement de la flore microbienne qui passe de $3 \cdot 10^7$ à 10^8 UFC/g de sol sec après quatre semaines de traitement.

Selon **Mukherji et al. (2004)**, la phase de croissance exponentielle arrive à terme au bout du 8^{ème} jour. Les travaux de **Ghazali et al. (2004)**, dans le cas de la bioremédiation d'un sol contaminé par du gasoil (1,4%), mettent en évidence une augmentation du nombre des microorganismes indigènes de 99,5% après 60 jours d'inoculation.

➤ **Nutriments**

L'évolution temporelle des teneurs en azote total et en phosphore (**Fig.21**) met en évidence une bonne concordance entre l'activité microbienne et les nutriments. En effet, on constate une diminution importante de la source d'azote et de phosphore durant les cinq premières semaines, qui correspond à la meilleure croissance microbienne enregistrée.

A la 15^{ème} semaine (fin du traitement), on note l'épuisement des nutriments qui coïncide avec la diminution de nombre des microorganismes.

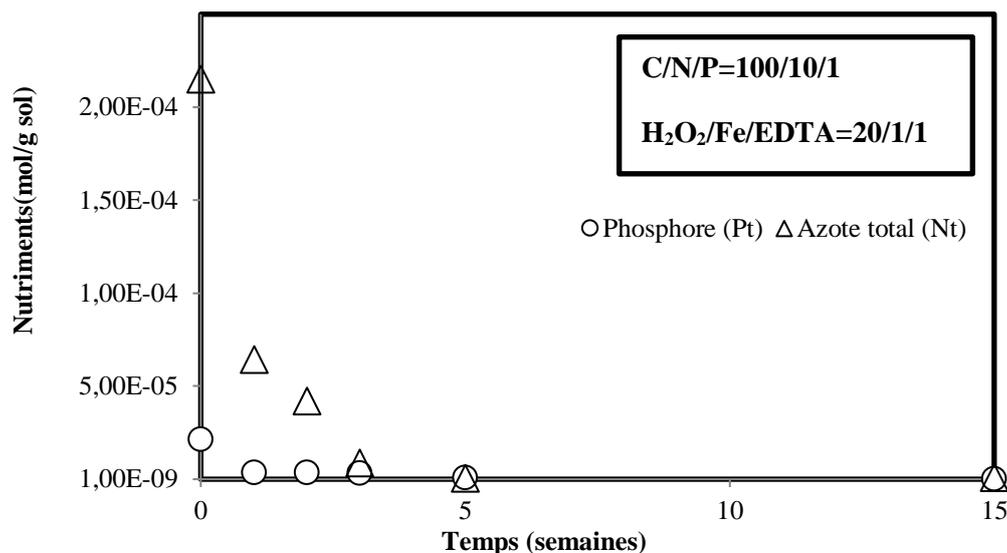


Figure 21: Evolution temporelle des nutriments

➤ Hydrocarbures pétroliers totaux (TPHs)

Le suivi temporel des taux d'enlèvement des hydrocarbures pétroliers totaux met en évidence, une augmentation rapide des taux de dégradation les trois premiers jours pour atteindre un taux de réduction des TPHs de 67%. On peut constater que l'élimination importante des TPHs est due principalement à l'oxydation Fenton-like, où la croissance microbienne ne dépasse pas les 105 UFC/g de sol sec (**Fig.21**).

En effet, au-delà du 3ème jour l'élimination des TPHs se fait graduellement jusqu'à la 2ème semaine. Une augmentation de 23% a été enregistrée pour atteindre les 90% à la 5ème semaine correspondant à une croissance microbienne maximale et se stabiliser par la suite jusqu'à la fin du traitement (15èmesemaine) à 93%. A l'échelle de microcosmes, une élimination des hydrocarbures pétroliers de 75% a été enregistrée après 5 semaines de traitement.

Dans une étude de **Gong et al. (2012)**, l'élimination des hydrocarbures totaux du sol pollué artificiellement était de 88,9% par couplage de traitements oxydation Fenton et biostimulation. Ils ont montré que l'oxydation Fenton n'a pas affecté l'activité microbienne et le taux d'enlèvement des hydrocarbures totaux était supérieur que dans le cas de traitement par biostimulation seule ou oxydation Fenton seule.

Palmroth et al. (2006) ont également utilisé la combinaison des traitements biologique et oxydation Fenton pour la réhabilitation des sols pollués par l'huile de créosote et ont

atteint un rendement d'élimination de 43–59% alors que **Surabhi et al. (2013)** ont trouvé un taux d'élimination de 22-30% dans le cas de traitement biologique seul.

La combinaison de processus de traitement chimique et biologique a montré des avantages par rapport à l'un ou l'autre processus. Seul **Nam et al. (2001)** ont utilisé le traitement combiné de la réaction de Fenton modifiée et de la biodégradation pour dégrader les hydrocarbures du sol d'une usine de gaz, et plus de 70% des HAP ont été dégradés.

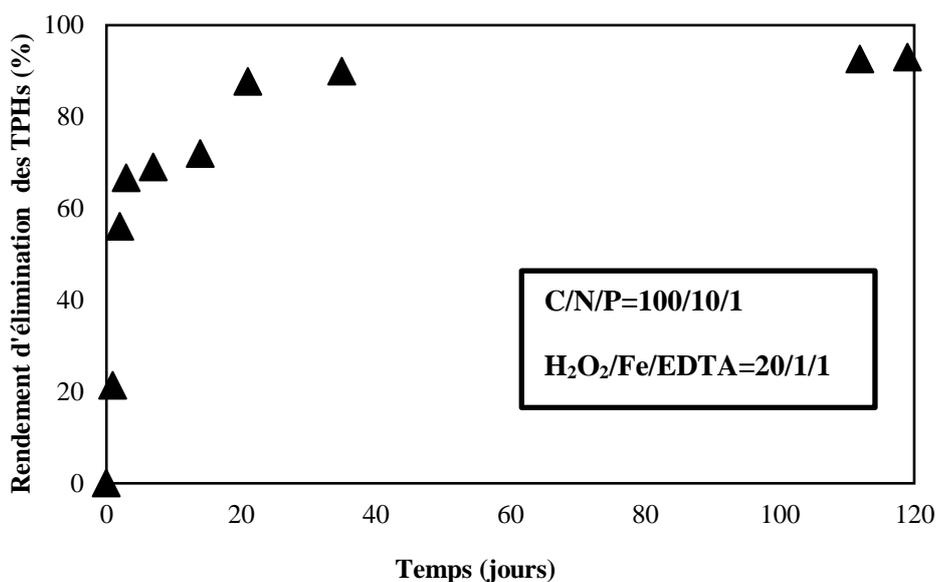


Figure 22: Evolution temporelle des taux d'enlèvement des TPHs

Nous avons également analysé la distribution des différentes fractions des hydrocarbures après traitement, les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 10.

Tableau 10: Les résultats de fractionnement des hydrocarbures pétroliers

Fractionnement des hydrocarbures	Composés aliphatiques (g/kg de sol sec)	Composés polaires (g/kg de sol sec)	Composés aromatiques (g/kg de sol sec)
Avant traitement	9,248 (31,07%)	4,987 (16,76%)	15, 525 (52,17%)
Après traitement	0,257 (12,60%)	0,426 (20,89%)	1,356 (66,50%)

Les résultats de mesure des différentes fractions d'hydrocarbures avant et après traitement mettent en évidence d'une part l'absence d'asphaltènes et une réduction très importante tant

des composés aliphatiques (97,7%) que des hydrocarbures aromatiques (91,3%) et des composés polaires (91,5%). D'autre part, le traitement combiné génère une modification de la composition de différentes fractions d'hydrocarbures avec un enrichissement en aromatiques de 27,5%. Cet enrichissement relatif à la fraction d'hydrocarbures difficilement dégradables et/ou récalcitrante de réactivité décroissante, au détriment de la fraction labile ou facilement biodégradable et source de carbone, affecte l'activité bactérienne et de fait l'efficacité du traitement biologique. En effet, bien que la biomasse soit de l'ordre de 10^6 UFC/g de sol sec à la fin du traitement, l'épuisement des nutriments et des hydrocarbures résiduels facilement biodégradables et l'enrichissement en composés aromatiques, composés difficilement biodégradables, pourraient être expliqués par des cinétiques de biodégradation très faibles de 0,012g de TPHs /jour et 0,017g de TPHs/jour du 5^{ème} au 15^{ème} semaines et 15^{ème} et 16^{ème} semaine respectivement comparées à celle observée du début de traitement au 5^{ème} semaine qui est de 0,499g de TPHs/jour.

Enfin, la teneur en hydrocarbures aromatiques de 1356mg/kg de sol sec est élevée au regard de l'impact des produits pétroliers et en particulier les hydrocarbures polycycliques aromatiques (HAPs) sur la santé humaine et l'environnement et en référence aux valeurs guides des normes hollandaises relatives à la qualité des sols (**Gatellier, 1992**). Par conséquent, un traitement Fenton-like dans les mêmes conditions précitées par ajout du peroxyde d'hydrogène est nécessaire pour arriver à une teneur en hydrocarbures aromatiques inférieure au seuil de danger (200mg/kg de sol sec) pour restaurer la qualité du sol.

Conclusion générale

L'objectif principal de ce travail est d'étudier la faisabilité du couplage d'oxydation chimique par procédé d'oxydation avancée (Fenton-like) et biologique (Biostimulation) d'un sol pollué par les hydrocarbures pétroliers à raison de 3% (m/m), et la possibilité de l'appliquer pour la remédiation des sites sujets à d'anciennes pollutions.

L'application du traitement biologique (Biostimulation) seule selon le rapport molaire C/N/P, 100/10/1, a permis d'éliminer respectivement 62% des hydrocarbures pétroliers après 60 jours de traitement.

L'application du procédé Fenton-like seul a permis de déterminer les conditions optimales de traitement, soit le rapport molaire H_2O_2 /Fer/EDTA. De ce fait, les résultats expérimentaux relatifs à l'influence du H_2O_2 et du fer ont montré un faible rendement de dégradation des TPHs (29,0-39,3%) probablement en raison des caractéristiques de la matrice du sol, de l'âge de la pollution mais également du faible transfert de masse dans le réacteur en phase solide. L'addition d'un agent chélate, l'EDTA a considérablement amélioré l'oxydation des TPHs jusqu'à 72,2% pour un rapport molaire (H_2O_2 /Fer total/EDTA) de 15/4/4 après 48h du traitement correspondant à $4,5\text{mol.kg}^{-1}$ de H_2O_2 , $1,2\text{mol.kg}^{-1}$ de fer total et d'EDTA.

La détermination et l'optimisation des facteurs et interactions potentiellement influents à partir d'un modèle de prévision du processus d'oxydation de la FL dans le domaine d'étude établi, ont montré que le fer endogène était suffisant pour catalyser le H_2O_2 et améliorer l'oxydation des TPHs jusqu'à $79,3\pm 7,5\%$ pour un rapport molaire H_2O_2 /Fer endogène/EDTA de 20/1/1 correspondant à 6mol.kg^{-1} de H_2O_2 et $0,3\text{mol.kg}^{-1}$ de fer endogène et d'EDTA. La fonction désirabilité a mis en évidence que l'efficacité de détermination maximale était attendue avec une valeur de 0,85 dans les conditions optimales.

Le traitement par couplage des oxydations Fenton-like et biologique pour les rapports molaires H_2O_2 /Fe/EDTA (15/4/4 et 20/1/1) et d'un rapport molaire C/N/P de 100/10/1 a permis une dégradation de 83,3% et 84,0% respectivement.

Les résultats dans le cas des systèmes abiotiques et biotiques ont montré une dégradation importante des TPHs avec des rendements proches pendant les premiers 72h. Ceci nous a permis de déduire que l'oxydation par le procédé Fenton-like diminue la toxicité du sol et permet de convaincre le pouvoir récalcitrant des contaminants, pour ensuite permettre aux microorganismes de dégrader ces contaminants avec une meilleure efficacité. Ce couplage entre les deux procédés de traitements, permet de concevoir des processus de traitement du sol complets.

Les nutriments n'ont pas un effet limitant sur la dégradation des TPHs, leur épuisement n'a pas affecté l'activité microbienne dans le sol.

Les résultats de l'application des conditions optimales à l'échelle semi-pilote étant meilleures à ceux obtenus à l'échelle de microcosmes, une amélioration de 13% a été enregistrée.

Le taux d'enlèvement des hydrocarbures pétroliers après 5 semaines de traitement est de 90%, et 93% après 15 semaines.

Ces résultats sont non satisfaisants, en termes de la teneur élevée des composés aromatiques en références aux normes hollandaises.

Perspectives :

- ❖ Un traitement par oxydation FL à l'échelle semi-pilote pendant 72h, suivie d'une biostimulation et donc on amende le sol en azote et en phosphore selon un rapport molaire C/N/P=100/10/1 après 72h ;
- ❖ On commence par un traitement par biostimulation afin de diminuer la charge organique et éviter les réactions dites parasites, puis on entame une oxydation FL au moment d'épuisement des nutriments et la diminution de la croissance microbienne ;
- ❖ l'application d'un plan factoriel pour modéliser le traitement simultanés d'oxydation FL et biostimulation comportant 4 facteurs (teneur en H₂O₂, fer, EDTA et aussi la charge organique) et deux réponses (biomasse et le taux d'enlèvement des hydrocarbures) et d'étudier les principaux effets de ces variables ainsi que les interactions entre eux.

Références
Bibliographiques

Akram Alhusein. Transport et stockage des dérivés pétroliers : problématique d'endommagement des pipes par érosion de sable et par hydrogène. Autre. Université Paul Verlaine - Metz, 2010. France.

Antizar-Ladislao, B.; Lopez-Real, J.; and Beck A. J. Investigation of organic matter dynamics during in-vessel composting of an aged coal-tar contaminated soil using fluorescence excitation-emission spectroscopy. *Chemosphere*.2006, vol64,pp.839 - 847.

Arrar ,J, Chekir,N, Bentahar,F. Treatment of diesel fuel contaminated soil in jet–fluidized bed, *Biochemical Engineering Journal*,2007, Volume 37, Issue 2,Pp 131-138,

Ballerini, D. Traitements biologiques des sols. *Techniques de l'ingénieur*, G2 620, (1999).

Benatia, C.T., Costa, A.C.S., Tavares, C.R.G. Characterization of solids originating from the Fenton's process. *J. Hazard. Mater.*2009, vol.163, pp.1246-1253.

Bergendhal, J.A., Thies, T.P.,Fenton's oxidation of MTBE with zero-valent iron. *Water Res.* 2004,vol.38,pp. 327-334.

Bremmer,D.H., Burgess, A.E., Houlemare, D., Namkung, K.C. Phenol degradation using hydroxyl radicals generation from zero-valent iron and hydrogen peroxide. *Appl. Catal.*2006,vol.63,pp. 15-19.

Cao, M., Wang, L., Chen, J., Lu, X. Remediation of DDTs contaminated soil in a novel Fenton-like system with zero-valent iron. *Chemosphere*.2013, vol.90,pp. 2303-2308.

Catrouillet, C., Davranche, M., Dia, A., Coz, M.B-L., Marsac, R., Pourret, O., Gruau, G. Geochemical modeling of Fe(II) binding to humic and fulvic acids. *Chem. Geol.*2014,vol.372, pp. 109-118.

Chaîneau, C.H, Moreland, J.L et Oudot, J. Biodegradation of fuel oil hydrocarbons in the rhizosphere of maize. *Environmental Quality*.2000,vol.29,n° 2,PP.259-278.

Chapelle, F.H, Bradley, P.M., Casey, C.C. Behaviour of a chlorinated ethene plume following source-area treatment with Fenton's reagent, *Ground Water Monitor. Remediat.*2005,vol.25,pp.131–141.

Chaplin,B. P, Delin,G. N, Baker,R. J et Lahvis,M. A. Long-term evolution of biodegradation and volatilization Rates in crude oil contaminated aquifer *Bioremediation Journal*.2002; vol. 6, N°3,pp. 237-255.

Charisma,L, Xiaoyan,C, Jingdong,M, Klaus,S et Pignatello.J. Influence of molecular structure and adsorbent properties on sorption of organic compounds at a range of charcoal temperatures. *Environmental science and technology*2014,vol.48, N°9, pp.4790-4798.

Cheng, M., Zeng, G., Huang, D., Lai, C., Xu, P., Zhang, C., Liu, Y. Hydroxyl radicals based advanced oxidation processes (AOPs) for remediation of soils contaminated with organic compound : A review. *Chem. Eng.* 2016a. Vol.284, pp.582-598.

Cheng, M., Zeng G., Huang D., Lai C., Xu P., Zhang C., Liu Y., Wan J., Gong X., Zhu Y. Degradation of atrazine by a novel Fenton-like process and assesment the influence on the treated soil. *J. Hazard. Mater.*2016b.vol. 312, pp.184-191.

Collin, F. Pollution localisés des sols et des sous-sols par les hydrocarbures et par les solvants chlorés»Académie des sciences. 2000. rapport n°44, Edit. Tec et Doc .

Colombo, R., Ferreira, T.C.R., Alves, S.A., Carneiro, R.L., Lanza, M.R.V. Application of the response surface and desirability design to the Lambda-cyhalothrin degradation using photo-Fenton reaction. *J. Environ. Manage.* 2013. vol. 118, pp. 32-39.

Costes, J. M et Druelle, V. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans l'environnement; la réhabilitation des anciens sites industriels, *Revue de l'institut Français du pétrole.* 1997, vol.52, pp.425-440.

Coulon, F., Pelletier, E, Gourhant, L et Dellile, D. Effects of nutrient and temperature on degradation of petroleum hydrocarbons in contaminated sub-Antarctic soil. *Chemosphere,* 2005, vol.58, pp.1439 - 1448.

Delaat ,J., Giang ,Le .T. Kinetics and Modeling of the Fe(III)/H₂O₂ System in the Presence of Sulfate in Acidic Aqueous Solutions. *Environ. Sci. Technol.* 2005. vol. 39, pp.1811-1818.

Delille, D.; Coulon, F.; and Pelletier, E. Effects of temperature warming during a bioremediation study of natural and nutrient-amended hydrocarbon contaminated sub-Antarctic soil. *Cold Regions Sciences and Technology.* 2004, 40, pp.61 – 70.

Deng, Y. et Englehardt, J.D. Treatment of landfill leachate by Fenton process. *Water Res.* 2006, vol.40, p.3683-3694.

Diagne, M., Oturan, M.A., Oturan, N. Removal of methyl parathion from water by electrochemically generated Fenton's reagent. *Chemosphere.* 2007, vol. 66, pp.841-848.

Edelahi, M. C. 2004. Contribution à l'étude de dégradation in situ des pesticides par procédés d'oxydation avancées faisant intervenir le fer. Application aux herbicides phénylurées, Thèse de Doctorat, Université de Marne La Vallée.

Eriksson, M, E. Soderstern, Z. Yu, G. Dalhammar, W.W. Mohn. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons at low temperature under aerobic and nitrate-reducing conditions in enrichment cultures from northern soils, *Appl. Environ. Microbiol.* 2003, vol.69, pp.275–284.

Ferguson, S.H, Woinarski, A, Snape, I., Morris, C.E, Revill, T.E. A field trial of in situ chemical oxidation to remediate long-term diesel contaminated Antarctic soil. *J. cold Regions Science and Technology.* 2004, vol.40, pp.47-60.

Ferrarese, E., Andreottola, G, Opera, I.A. Remediation of PAH-contaminated sediments by chemical oxidation. *J. Hazard. Mater.* 2008, vol. 152, pp.128-139.

Flotron, V., Delteil, C., Padellec, Y., Camel, V. Removal of sorbed polycyclic aromatic hydrocarbons from soil, sludge and sediment samples using the Fenton's reagent process. *Chemosphere.* 2005, vol. 59, pp.1427-1437.

Gan, S, Yap, CL, Ng, H.K., Venny. Investigation of the impacts of ethyl lactate based Fenton treatment on soil quality for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH_S)-contaminated soils. *J. Hazard. Mater.* 2013, vol.262, pp.691-700.

Gan,S, Lau,E.V, Ng,H.K.Remediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), *J. Hazard. Mater.* .2009, vol.172 ,pp.532–549.

Gatellier,G."Protection de l'environnement dans le milieu industriel", *Techniques de l'ingénieur.* (1992).

Giry,G et Ayele.J. Study of norflurazon behaviour in soils – Influence of formulation additives upon sorption parameters. *Agronomy.*2002, vol. 22 (5), pp. 467-478.

Ghazali, F. M.; Rahman, R. N. Z. A.; Salleh, A. B. ; Basri. M. Biodegradation of hydrocarbon in soil by microbial consortium. *International Biodeterioration & Biodegradation.*2004,vol 54,pp.61 - 67.

Goi, A., Trapido, M.Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil: the Fenton reagent versus ozonation. *Environ. Technol.*2004, vol. 25,pp. 155-164.

Goi, A., Kulik, N., Trapido, M.Combined chemical and biological treatment of oil contaminated soil. *Chemosphere.*2006, vol.63, pp.1754-1763.

Gray,M.R., Banerjee, D.K., Dudas, M.J., Pickard, M.A.Protocols to enhance biodegradation of hydrocarbon contaminants in soil.*Biorem.J.*2000, vol. 4, pp.249-257.

Hatt, B.E., Fletcher, T.D., Deletic, A.Hydrologic and pollutant removal performance of stormwater biofiltration systems at the field scale. *Journal of Hydrology.*2009,vol. 365, pp.310–321.

Henz, M., Harremoes, P., La Cour Jansen, J., Arvin, E.Waste water treatment: Biological and Chemical processes, Third Ed., Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Germany. 2002.P331.

Hu,C., Huang, D., Zeng, G., Cheng, M., Gong, X., Wang, R., Xue, W., Hu, Z., Liu, Y.The combination of Fenton process and Phanerochaete chrysosporium for the removal of bisphenol A in river sediments: Mechanism related to extracellular enzyme, organic acid and iron. *Chem. Eng. J.*2018,vol. 338,pp. 432–439.

Huang, D., Hu, C., Zeng, G., Cheng, M., Xu, P., Gong, X., Wang, R., Xue, W.Combination of Fenton processes and biotreatment for wastewater treatment and soil remediation. *Sci. Total Environ.* 2017,vol.574, pp.1599-1610.

Huang, D., Guo X, Peng, Z., Zeng, G, Xu, P., Gong, X., Deng, R., Xue, W., Wang, R., Yi, H., Liu, C.White rotten fungi and advanced combined biotechnologies with nanomaterials: promising tools for the biotransformation of compounds that disrupt the endocrine system. *Biotechnol. J.*,2018. Vol.38,n° 5, pp.671-689.

Huang, D., Luo, H., Zhang, C., Zeng, G., Lai, C., Cheng, M., Wang, M., Deng, R., Xue, W., Gong, X., Guo, X., Li, T. Nonnegligible role of biomass types and its compositions on the formation of persistent free radicals in biochar: Insight into the influences on Fenton-like process. *Chem. Eng.* 2019. 361, 353-363.

Jia,D., Sun, S.P., Wu, Z., Wang, N., Jin, Y., Dong, W., Chen, X.D., Ke, Q. TCE degradation in groundwater by chelators-asisted Fenton-like reaction of magnetite: sand columns demonstration. *J. Hazard. Mater.*2018, vol. 346,pp. 124-132.

Jorfi,S., Rezaee, A, Moheb-ali, G.A., Jaafarzadeh, N.A. Pyrene removal from contaminated soils by modified Fenton oxidation using iron nano particles. *J. Environ. Sci. Health. Eng.*2013.vol.11,n°17.

Juhasz,A.L. et Naïdu,R. Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of the microbialdegradation of benzo[a]pyrene. *InternationalBiodeterioration & Biodegradation*, 2000, pp.4557-88.

Jung, Y., Park, J., Ko, S., Kim, Y. Stabilization of hydrogen peroxide using phthalic acids in the Fenton and Fenton-like oxidation. *Chemosphere.*2013,vol.90, pp.812-819.

Kanel.S.R, Neppolian., B, Choi,H., Yang,,J.W. Heterogeneous catalytic oxidation of phenanthrene by hydrogen peroxide in soil slurry: kinetics, mechanism and implication, *Soil Sediment Contam.* 2003, vol.12,pp.101–117.

Kanzari, F., Syakti, A.D, Asia, L., Malleret,L., Mille, G.,Jamoussi,M., Doumenq, A.P. Hydrocarbures aliphatiques, hydrocarbures aromatiques polycycliques, biphényles polychlorés, organochlorés et pesticides organophosphorés dans les sédiments de surface de l'Arc et de la lagune de Berre, France. *Environ Sci Pollut Res.*2012,vol 19,pp. 559-576. <https://doi.org/10.1007/s11356-011-0582-5>

Kavitha, V., Palanivelu, K. Destruction of cresols by Fenton oxidation process. *Water Research.*2005, vol.39 ,pp.3062-3072.

Kawahara, F.K , Davila, B, Al-Abed, S.R, Vesper, S.J, Ireland, J.C et ROCK, S.polynuclear aromatic hydrocarbon (PAH) release from soil during treatment with Fenton's reagent *Chemosphere*,1995, vol.31,n° 9,pp.4131-4142

Kosaric,N.Biosurfactants and their application for soil bioremediation, *Food Technol. biotechnol*, 2001, vol.39, n°4,pp.295-304.

Kulik,N., Goi, A., Trapido, M., Tuhkanen, T.Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by combined chemical pre-oxidation and bioremediation in creosote contaminated soil. *J. Environ. Manage.* 2006, vol.78, pp.382-391.

Kumar,M., Gupta, S.K.; Garg, S.K.; Kumar, A. Biodegradation of hexachlorocyclohexane isomers in contaminated soils. *Soil Biology & Biochemistry.*2006,38,pp. 2318-2327.

Kwan,W.P., Voelker, B.M.Rates of hydroxyl radical generation and organic compound oxidation in mineral-catalyzed Fenton-like systems. *Environ. Sci. Technol.*2003,vol. 37,pp. 1150-1158.

Liu ,W. Grace et al. of petroleum hydrocarbon contaminated soil: Effects of strategies and microbial community shift. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2011,vol.65,pp.1119-1127.

Lu,,J et Tarr., M.A. Degradation of PCBs sorbed to surfaces using modified Fenton chemistry, in: *Symposia Papers Presented before the Division of Environmental Chemistry American Chemical Society, Washington, DC,2000, vol. 40, pp. 57–59*

- Lu, M., Zhang, Z., Qiao, W., Guan, Y., Xiao, M., Peng, C.** Removal of residual contaminants in petroleum-contaminated soil by Fenton-like oxidation. *J. Hazard. Mater.* 2010a, vol.179, pp. 604-611.
- Lu, M., Zhang, Z., Qiao, W., Wei, X., Guan, Y., Maa, Q., Guan, Y.** Remediation of petroleum-contaminated soil after composting by sequential treatment with Fenton-like oxidation and biodegradation. *Bioresour. Technol.* 2010b, vol. 101, pp.2106-2113.
- Masten, S.J et Davies S.H.** Efficacy of in-situ ozonation for the remediation of polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soils. *contam. hydrol*, 1997, vol.28, pp.327-335.
- Mrayyan, B. and M. N. Batikhi., M.N.** Biodegradation of total organic carbon (TOC) in Jordanian petroleum sludge. *Journal of Hazardous Materials B*, 2005, vol.120, pp.127 - 134.
- Mater, L., Rosa, E.V.C., Berto, J., Correa A.X.R., Schwingel, P.R., Radetski C.M.** A simple methodology to evaluate influence of H₂O₂ and Fe²⁺ concentrations on the mineralization and biodegradability of organic compounds in water and soil contaminated with Crude petroleum. *J. Hazard. Mater.* 2007, vol.149, pp.379-386.
- Mathieu, C., Pieltain, F.** Analyse chimique des sols – Méthodes choisies. Ed. Tec et Doc - Lavoisier, Paris. 2003. pp388.
- Matta, R., Hanna, K., Chiron, S.** Fenton-like oxidation of 2,4,6-trinitotoluene using different iron minerals. *Sci. Total. Environ.* 2007, vol. 385, pp.242-251.
- Mc Grath S.P., Cunliffe C.H.** A simplified method for the extraction of the metals Fe, Zn, Cu, Ni, Cd, Pb, Cr, Co and Mn from soils and sewage sludges. *J. Sci. Food Agriculture*. 1985, vol. 36, n°9, pp.794-798.
- Mukherjee, Das., A.K.** Crude petroleum-oil biodegradation efficiency of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from a petroleum-oil contaminated soil from North-East India. *Bioresource Technology*. 2007, vol 98(7). PP.1339-1345.
- Nam, K., Rodriguez, W., Kukor, J.J.** Enhanced degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by biodegradation combined with a modified Fenton reaction. *Chemosphere*. 2001. vol.45, pp.11-20.
- Nano, G., Borroni, A et Rota., R.** Combined slurry and solid-phase bioremediation of diesel contaminated soils. *Journal of Hazardous Materials*, 2003, vol.100, pp.79 - 94.
- Osman, K.T.** Sols pollués. Dans: *Management of Soil Problems*. Springer, Cham. 2018. https://doi.org/10.1007/978-3-319-75527-4_12
- Pardo, F., Rosas, J.M., Santos, A., Ramero, A.** Remediation of a biodiesel blend-contaminated soil by using a modified Fenton process. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2014, vol.21, pp.198-207.
- Payne J. R, et Philipps C. R.** Photochemistry of petroleum in water: Photooxidation causes changes in oil and enhances dissolution of its oxidized products. *Environmental Science and Technology*. 1985, vol. 19, pp. 569-579.

Petigara, B.R., Blough, N.V., Mignerey, A.A. Mechanisms of hydrogen peroxide decomposition in soils. *Environ. Sci. Technol.* 2002, vol. 36, pp.639-645.

philips D.H. polycyclic aromatic hydrocarbons in the diet. *Mutation Research*, 1999, vol.443, pp.139-147.

Quan, H.N., Teel, A.L., Watts, R.J. Effect of contaminant hydrophobicity on hydrogen peroxide dosage requirements in the Fenton-like treatment of soils. *J. Hazard. Mater.* 2003, vol. 102, pp.277-289.

Romero, A., Santos, A., Cordero, T., Rodriguez-Mirasol, J., Rosas, J.M, Vicente, F. Soil remediation by Fenton-like process : Phenol removal and soil organic matter modification. *Chem. Eng. J.* 2011, vol. 170, pp. 36-43.

Rontani J.F et Giusti G. Photosensitized oxidation of pristine in sea water: effect of photochemical reactions on tertiarycarbons, *Journal of Photochemistry and Photobiology A*, 1987, vol.40, pp.107-120.

Rivas R. and yeast. J. An effective, rapid and simple method for total RNA extraction from bacteria *Microbiol Methods*. 2001, vol. 47n°1, p p.59-63.

Sabaté, J., Vinãs, M et Solanas, A.M. Laboratory-scale bioremediation experiments on hydrocarbon-contaminated soils. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 2004, vol.54, pp.19 – 25.

Sanscartier, D., Zeeb, B., Koch, I et Reimer, K. Bioremediation of diesel-contaminated soil by heated and humidified biopile system in cold climates. *Cold Regions Science and Technology*, 2009, vol.55, pp.167 - 173.

Scriban, R. *Biotechnologie*, édition Lavoisier, 4^{ème} édition. 1994.

Seibig, S., Van Eldik, R., 1997. Kinetics of [FeII(edta)] Oxidation by Molecular Oxygen Revisited. New Evidence for a Multistep Mechanism. *Inorg. Chem.* 1997, vol. 36, n°18, pp. 4115-4120.

Sherwood, M.K., Cassidy D.P. Modified Fenton oxidation of diesel fuel in arctic soils rich in organic matter and iron. *Chemosphere*. 2014, vol.113, pp.56-61.

Silva-Castro, G.A., Rodelas, B., Perucha, C., Laguna, J. Bioremediation of diesel-polluted soil using biostimulation as post-treatment after oxidation with Fenton-like reagents: Assays in a pilot plant. *Sci. Total Environ.* 2013, vol 445, pp. 347-355.

Sirguy, C., Silva, P.T.S., Schwartz, C., Simonnot M.O. Impact of chemical oxidation on soil quality. *Chemosphere*. 2008, vol.72, pp.282–289.

Straube, W.L, Nestler, C.C, Hansen, L.D, Ringleberg, D, Pritchard ,P.H et Jones-meehan, J. Remediation of polycyclic hydrocarbons (PAHs) through Landfarming with Biostimulation and Bioaugmentation. *Acta Biotechnol*, 2003, vol. 23n°23, pp. 179-196.

Sun, H., Yan, Q. Influence of pyrene combination state in soils on its treatment efficiency by Fenton oxidation. *J. Environ. Manage.* 2008, vol. 88, pp.556–563.

Tao, S., Cui, Y.H., Xu, F.L., Li, B.G., Cao, J., Liu, W.X., Schmitt, G., Wang, X.J., Shen, W.R., Qing, B.P., Sun, . R. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in agricultural soil and vegetables from Tianjin, *Sci. Total Environ.* 2004, vol. 320, pp.11–24.

Trindade, P. V. O., L. G. Sobral, A. C. L. Rizzo, S. G. F. Leite, and A. U. Soriano. Bioremediation of a weathered and a recently oil-contaminated soils from Brazil: a comparison study. *Chemosphere*, 2005, vol. 58, pp.515 – 522.

Truong, G. L., DeLaat, J., Legube, B. Effects of chloride and sulfate on the rate of oxidation of ferrous ion by H₂O₂, *Wat. Res.* 2004, vol.38, pp.2384-2394.

Usman, M., Faure, P., Ruby, C., Hanna, K. Remediation of PAH-contaminated soils by magnetite catalyzed Fenton-like oxidation. *App. Catal. B.* 2012a, vol.17, pp.10-17.

Usman, M., Faure, P., Hanna, K., Abdelmoula, M., Ruby, C. Application of magnetite catalyzed chemical oxidation (Fenton-like and persulfate) for the remediation of oil hydrocarbon contamination *Fuel.* 2012b. 96, 270-276.

Valderrama, C., Alessandri, R., Aunola, T., Cortina, J.L., Gamisans, X., Tuhkanen, T. Oxidation by Fenton's reagent combined with biological treatment applied to a creosote-contaminated soil. *J. Hazard. Mater.* 2009, vol. 166, pp. 594-602.

Varjani, S.J. Dégradation microbienne des hydrocarbures pétroliers, *Bioresource Technology*, 2017, vol. 223, pp.277-286.

Venny, Gan, S., Ng, H.K. Modified Fenton oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated soils and the potential of bioremediation as post-treatment. *Sci. Total Environ.* 2012, vol. 419, pp.240–249.

Venosa, A. D., Lee, K., Suidan, M. T., Garcia-Blanco, S., Cobanli, S., Moteleb, M., Haines, J. R., Tremblay, G. et Hazelwood, M. Bioremediation and biorestitution of Crude oil contaminated Freshwater wetland on the St. Lawrence River. *Bioremediation Journal*, 2002, vol.6, pp. 261-281.

Vicente, F., Rosas, J.M., Santos, A., Romero, A. Improvement soil remediation by using stabilizers and chelating agents in a Fenton-like process. *Chem. Eng.* 2011. 172, 689-697.

Viet, V. Ngo, Julien Michel, Lise Lucas, Abderrazak Latifi & Marie-Odile Simonnot. Sensitivity estimability and correlation of parameters describing equilibrium and nonequilibrium transports of bromide tracer in the field lysimeter, *European Journal of Environmental and Civil Engineering.* 2015, vol.19, N°4, PP.445-466.

Viisimaa, M., Karpenko, O., Novikov, V., Trapido, M., Goi, A., 2013. Influence of biosurfactant on combined chemical–biological treatment of PCB-contaminated soil. *Chem. Eng. J.* 2013. vol.220, pp.352–359.

Villa, R.D., Trovó, A.G., Nogueira, R.F. Environmental implications of soil remediation using the Fenton process. *Chemosphere.* 2008, vol.71n°1, pp 43-50.

Vogel Timothy, M. Bioremédiation des sols, *Techniques de l'ingénieur*, 2001. J3.

Walling, C., 1975. Fenton's reagent revisited. *Acc. Chem. Res.* 8, 125-131.

Ward,O.P, Singh,A., Hamme,J.V.Accelerated biodegradation of petroleum hydrocarbon waste, *J. Ind. Microbiol.Biotechnol.*2003,**vol.30,pp.260–270.**

Watts, R.J., Stanton, P.C., Howsawkeng, J., Teel, A. Mineralization of a sorbed polycyclic aromatic hydrocarbon in two soils using catalyzed hydrogen peroxide. *Water. Res.* 2002,**vol.36, pp.4283-4292.**

Wuana,R.A., Okieimen.,F.E. Heavy metals in contaminated soils: a review of the sources, chemistry, risks, and best available strategies for remediation”, *International Scholarly Research Notices.*2011. **vol.2011, N° 402647,pp.20.**

Xie, Y., Chen, L., Lin, R.Oxidation of AOX and organic compounds in pharmaceutical wastewater in RSM-optimized-Fenton system. *Chemosphere.*2016,**vol. 155, pp.217-224.**

Xu, J., Xin, L., Huang, T., Chang, K.Enhanced bioremediation of oil contaminated soil by graded modified Fenton oxidation. *J. Environ. Sci.*2011,**vol. 23,n°11,pp. 1873-1879.**

Xue,X., Hanna,K., Despas,C., Wu,F., Deng,N.S.Effect of chelating agent on the oxidation rate of PCP in the magnetite/H₂O₂ system at neutral pH. *J.*2009,**vol.311, pp.29-35.**

Yap,C.L., Gan, S., Ng, H.K.Fenton based remediation of polycyclic aromatic hydrocarbons-contaminated soils. *Chemospere.*2011,**vol.83, pp.1414-1430.**

Yeh,C.K.J., Wu, H.M., Chen, T.C.Chemical oxidation of chlorinated non-aqueous phase liquids by hydrogen peroxide in natural sand systems. *J. Hazard. Mater.*2003,**vol.96, pp.29-51.**

Yen, C.H, Chenb,K.F, Kaoc,C.M, Liangc,S.H., et Chend,T.Y. Application of persulfate to remediate petroleum hydrocarbon-contaminated soil: Feasibility and comparison with common oxidants. *Journal of Hazardous Materials,*2011,**vol.18, pp. 2097–2100.**

Zhou,T., Lim, T., Lu, X., Li, Y., Wong, F. Simultaneous degradation of 4CP and EDTA in a heterogeneous Ultrasound/Fenton like system at ambient circumstance, *Sep. Purif. Technol.*2009.**vol.68,pp.367-374.**

Annexes

Annexe 1 : Caractéristiques du sol :

1. L'Analyse granulométrique :

La granulométrie a pour objet la mesure de la taille des particules élémentaires qui constituent les ensembles de grains de substances diverses et la définition des fréquences statistiques des différentes tailles de grains dans l'ensemble étudié. L'essai consiste à isoler des fractions de sol suivant leur diamètre de particules, en utilisant des tamis de mailles différentes. Chaque fraction est ensuite pesée, et sa masse est rapportée à un pourcentage pondéral de la masse initiale de sol. L'analyse granulométrique a été effectuée au niveau du Laboratoire Central des Travaux Publics (LCTP) d'Hussein Dey. Cet essai s'est fait en deux étapes : Une analyse granulométrique par tamisage par voie humide réalisé suivant la norme NFP 94-056 qui fait appel à une série de tamis dont les diamètres varient entre 1000 et 80 μm . Une analyse granulométrique par sédimentation effectuée conformément à la norme NFP 94-057 et qui consiste à suivre la vitesse de sédimentation de particules ayant des diamètres inférieurs à 80 μm .

Résultats expérimentaux : La figure suivante représente la distribution granulométrique cumulée des particules du sol

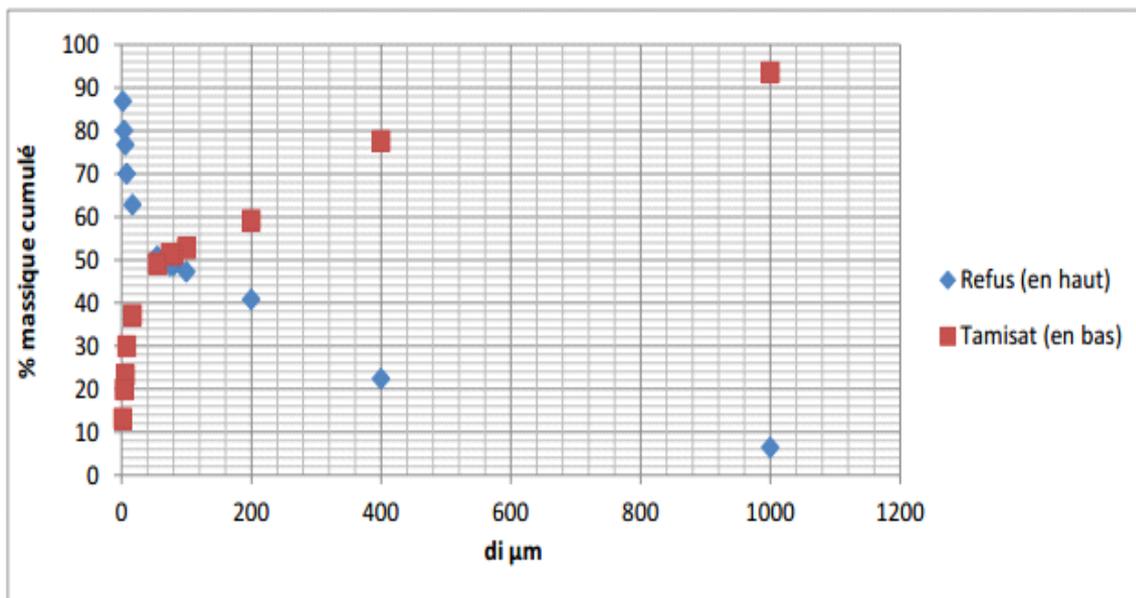


Figure 23: Distribution granulométrique cumulée des particules du sol

L'hétérogénéité est déterminée à partir de la courbe granulométrique. C'est une propriété importante qui peut être quantifiée par le calcul du coefficient d'uniformité CU défini par l'expression suivante :

$$CU = d_{60} / d_{10}$$

Avec :

d_{10} : diamètre correspondant à 10% des particules du sol (μm).

d_{60} : diamètre correspondant à 60% des particules du sol (μm)

2. la perméabilité

un échantillon est placé dans un moule cylindrique de section « S » et de hauteur « L », qui est en contact d'une part d'un tube gradué de section « s », et qui sert à alimenter l'échantillon par l'eau, et d'autre part d'un tube de collecte de l'eau dégagée du moule. L'échantillon est saturé au préalable par l'eau. L'eau dans le tube circule dans l'échantillon et on mesure le temps « t » nécessaire pour une baisse du niveau d'eau dans le tube de « h », qui est d'ailleurs la perte de charge. On remarque que le niveau d'eau baisse avec une vitesse suffisamment lente, ce qui permet de supposer que le régime d'écoulement est permanent et d'appliquer ainsi la loi de Darcy. En mesurant les niveaux d'eau par rapport à celui du tube de sortie, aux instants t_1 et t_2 , soient h_1 et h_2 , on aura la perméabilité β qui est égale à :

$$\beta = \frac{s \times L}{S \times t} \ln \left(\frac{h_1}{h_2} \right)$$

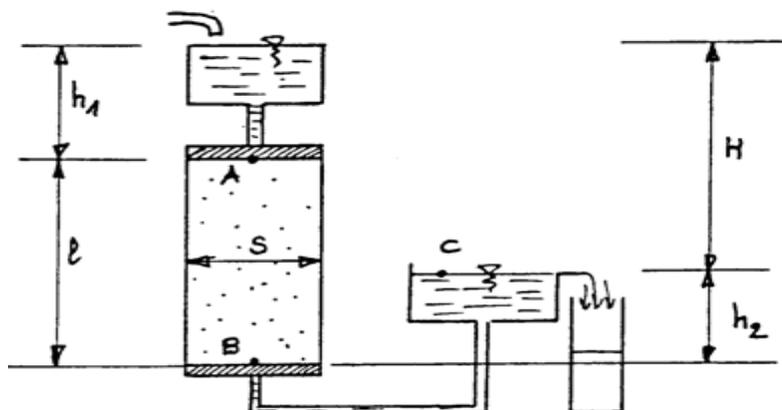


Figure 24: Schéma de principe d'un perméamètre à charge constante

3. Masse volumique

$$m_T = 11,87 \text{ g};$$

$$V_T = 8 \text{ cm}^3, m_s = 7,57 \text{ g}$$

$$m_{ex} = V_{ex} \times \rho_{eau};$$

$$m_{ex} = 1 \times 1 = 1 \text{ g};$$

$$P_S = m_s / V_s; V_P$$

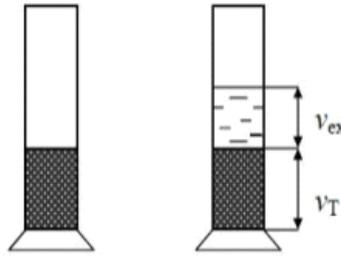
$$= m_p / \rho_{eau};$$

$$m_{ex} = v_{ex} \times \rho_{eau};$$

$$V_P = 3,30 \text{ cm}^3;$$

$$\rho_s = 1,61 \text{ g/cm}^3;$$

$$\varepsilon = V_p / V_T = 0,41.$$



Avec :

m_T : masse totale (g) ;

m_S : masse du solide (g) ;

m_{ex} : masse d'eau en excès (g) ;

m_P : masse de l'eau dans les pores (g) ;

V_P : volume d'eau emprisonné dans les pores (cm³) ;

V_S : volume du solide (cm³) ;

V_T : volume apparent du solide (cm³) ;

ε : porosité du sol ;

3. Humidité :

L'humidité est déterminée selon la norme AFNOR (NF X31-102). Le principe est un séchage à l'étuve à 105°C d'une masse donnée de l'échantillon du sol pendant 24h.

L'humidité du sol est définie comme étant la différence entre la masse de la prise d'essai de l'échantillon du sol avant et après séchage (m_f) rapportée à la masse initiale (m_0)

$$Hu(\%) = (m_0 - m_1) / m_0$$

Où :

m_i : la masse, en gramme, de la prise d'essai avant séchage.

m_f : la masse, en gramme, de la prise d'essai après séchage.

4. Matière Organique :

La matière organique est mesurée selon la norme (NF X 31-071). On met dans l'étuve à 105°C pendant 1h, une masse bien déterminée d'un échantillon du sol, ensuite on l'introduit dans un four à 550°C pendant 20min, la matière organique totale est égale à :

$$\text{MO}(\%) = (\text{m1}-\text{m2}) / \text{m0}$$

m0 : masse de la prise d'essai avant séchage (g) ;

m1 : masse de la prise d'essai après séchage (dans l'étuve) (g) ;

m2 : masse de la prise d'essai après calcination (g) ;

MO : taux de la matière organique (%) (kg de MO/ kg solide).

Annexe 2 : Dosage du carbone organique

➤ Réactifs utilisés

- Acide sulfurique concentré, H₂SO₄ ;
- Solution de bichromate de potassium K₂Cr₂O₇ à 8% (0,2 N) ;
- Sel de Mohr (sulfate d'ammonium-fer II hexahydraté) ;
- Fluorure de sodium en poudre (NaF) ;
- Diphénylamine.

➤ Préparation de la solution de diphénylamine

Dissoudre 0,5g de diphénylamine dans 60mL de l'acide sulfurique concentré, le verser ensuite dans 40mL d'eau distillée.

➤ Préparation de la solution de sel de Mohr

- Dissoudre 78,5g de sel de Mohr dans 500mL d'eau distillée chaude, refroidir à l'abri de l'air
- Ajouter 20mL d'acide sulfurique concentré et compléter à 1000mL.

➤ Mode opératoire

- Peser 0,5g de terre séchée ;
- Mettre la prise d'essai dans un ballon de 250mL ;
- Ajouter 10mL de bichromate de potassium et 15mL de H₂SO₄ concentré ;
- Couvrir le ballon d'un verre de montre ;
- Porter le ballon sur un chauffe ballon ;
- Après la chute de la première goutte d'eau, compter 5 minutes et retirer le ballon ;
- Laisser refroidir ;
- Transvaser le contenu du ballon dans une fiole de 100mL et ajuster à 100 mL avec de l'eau distillée ;
- Pipeter 20mL de la solution et transvaser dans un erlen ;
- Ajouter :
 - 150mL d'eau distillée ;
 - Une pince de NaF ;
 - 3 à 4 gouttes de solution de diphénylamine ;
- En agitant, titrer avec la solution de sel de Mohr jusqu'à obtention d'une couleur bleu verte ;
- Refaire la même opération avec un témoin (sans terre fine).

Le carbone organique est calculé à partir de l'équation suivante :

$$\text{CO \%} = (y - x) \cdot 0,615 / P$$

où :

y : quantité en ml de sel de Mohr ayant servi à réduire tout le volume de bichromate de potassium du témoin ;

x : quantité en mol de sel de Mohr ayant servi à réduire l'excès de bichromate de potassium de

l'essai ;

(y - x) : quantité en ml de sel de Mohr ayant servi à réduire le volume du bichromate de potassium qui a servi à oxyder le carbone organique ;

P : prise d'essai en g.

Annexe 3: dosage de fer

Verrerie :

Fioles jaugées 50, 100 ml (classe A).

Pipettes jaugées 1, 2, 3, 4, 10, 50 ml (classe A).

Bécher 250 ml (classe A).

Appareillage :

Spectrophotomètre (exemple de réglage du modèle VARIAN 575)

Flamme air-acétylène oxydante, débits : air : 7,51/min C₂ H₂ : 3,51/min

Lampe à cathode creuse au fer ; longueur d'onde : 248,3 nm, fente (slit) : 0,5 nm, intensité de la lampe : 5 m A

Réactifs :

Eau déminéralisée ultra pure résistivité 18,2 M Ω .m.(par ex. Milli-Q).

Solution mère à 1 g/l de fer : (par ex.TitrisolMerck).

Annexe 4 : dosage des nutriments

- *Dosage des nitrites :*

Réactifs utilisés

Acide orthophosphorique concentré H_3PO_4 ;

Sulfanilamide $C_6H_8O_2N_2S$;

Dichlorure de N-(1-naphtyl) éthylène diamine (DNED) ($C_{10}H_7NHCH_2CH_2NH_2, 2HCl$);

Nitrite de sodium $NaNO_2$.

Préparation du Réactif de Diazotation

Introduire dans une fiole de 250 ml, contenant 150ml d'eau distillée, 25ml d'acide orthophosphorique concentré ;

Ajouter 10g de sulfanilamide ;

Ajouter après dissolution, 0.5 g de DNED ;

Une fois le mélange totalement dissous, compléter à 250ml avec de l'eau distillée ;

Mettre le réactif dans un flacon brun et le conserver à 4°C à l'abri de la lumière.

Courbe d'étalonnage :

Préparer une solution de 100 mg/L et la diluer à 1/100 ;

Réaliser des dilutions de manière à obtenir des solutions de concentrations 10,30, 50, 70, 90 et 100µg de NO_2^-

Prélever à l'aide d'une pipette 20ml d'échantillon et l'introduire dans un tube à essai

Ajouter 0.4ml du réactif de diazotation dans chaque solution préparée et homogénéisée ;

Attendre 10min environ et effectuer les mesures à la longueur d'onde $\lambda=537$ nm ;

DO	0	0,013	0,032	0,052	0,078	0,100	0,110
NO₂(mg/L)	0	0,001	0,030	0,050	0,070	0,090	0,100

Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous :

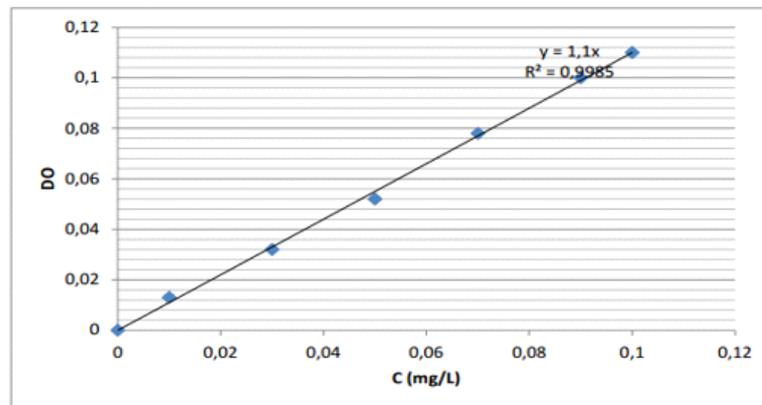


Figure3: Courbe d'étalonnage des Nitrites

- **Dosage des nitrates :**

Réactifs utilisés :

Acide sulfurique H₂SO₄ (d=1.84) ;

Phénol C₆H₆O ;

Ammoniaque NH₃ ;

Nitrate de potassium KNO₃ ;

Préparation du réactif sulfophénique :

Dissoudre 12g du phénol dans 144ml d'acide sulfurique ;

Mettre le mélange au bain marie pendant 2h pour que la réaction soit totale ;

Conserver le réactif dans un flacon brun.

Courbe

DO	0	0.050	0.196	0.306	0.392	0.524	0.598
NO₃⁻² (mg/L)	0	10.00 0	30.000	50.000	70.000	90.000	100.000

d'étalonnage :

Préparer une solution étalon de 1g/L de NO₃⁻² ;

Réaliser des dilutions de manière à obtenir des solutions de concentrations 10, 30, 50, 70, 90 et 100 mg/L ;

Prélever à l'aide d'une pipette 5ml d'échantillon et l'introduire dans un bécher

Evaporer à sec ;

Laisser refroidir et ajouter 2ml du réactif sulfophénique ;

Attendre 10min et ajouter ensuite 10ml d'eau distillée et un volume d'ammoniaque de 10 à 15 ml qui dévoile une coloration jaune, compléter à 50ml avec de l'eau distillée ;

Réaliser la lecture sur le spectromètre à la longueur d'onde $\lambda=440$ nm ;

Les résultats sont consignés dans le tableau ci-dessous :

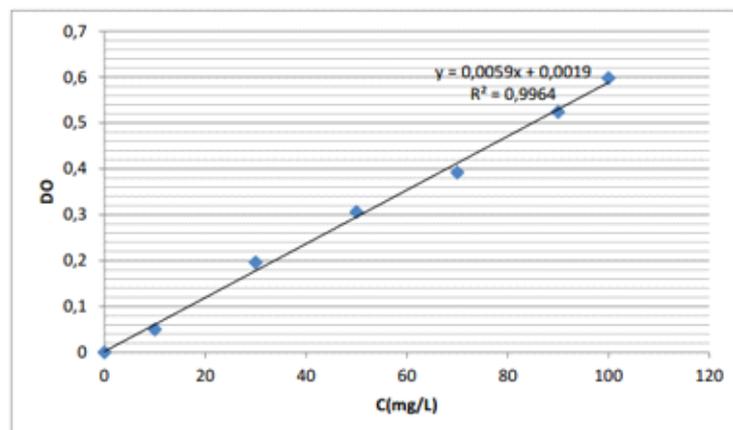


Figure 4 : Courbe d'étalonnage de Nitrates

Pour notre sol on a (DO=0.067) ce qui nous donne une concentration de nitrates de :

$$C(\text{NO}_3^{-2}) = 11.02 \text{ mg/L.}$$

- **Dosage de l'azote ammoniacal :**

Réactifs utilisés :

Iodure de potassium KI ;

Dichlorure de mercure HgCl_2 ;

Hydroxide de sodium NaOH ;

Tartrate double de potassium et de sodium ($\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6\text{KNa}$, $4\text{H}_2\text{O}$) ;

Chlorure d'ammonium NH_4Cl

Préparation du réactif Nessler :

Dissoudre 50 g d'iodure de potassium dans 35ml d'eau distillée ;

Ajouter une quantité suffisante de solution saturée de dichlorure de mercure jusqu'à ce qu'un léger précipité subsiste ; introduire 400ml de solution d'hydroxyde de sodium 9N ;

Ajuster le volume à 1L ;

Laisser reposer, décanter.

Préparation du tartrate double de potassium et de sodium :

Dissoudre 125g de tartrate double de sodium et de potassium dans 250ml d'eau chaude ;

Après refroidissement, ajouter 12,5 ml de réactif Nessler ;

Laisser reposer 2jours environ, puis filtrer ;

A conserver ensuite au réfrigérateur.

Préparation de la solution étalon azote ammoniacal (10 mg/L de NH_4^+) :

Dissoudre 2.97 g de chlorure d'ammonium de l'eau distillée ;

Compléter à 100ml avec de l'eau distillée en fiole jaugée ;

La solution obtenue est ensuite diluée au 1/10 ;

A conserver au réfrigérateur.

Courbe d'étalonnage :

Dans une série de fioles jaugées de 50ml, introduire les quantités de solution étalon de l'azote ammoniacal suivants : 1, 2, 3, 5, 10, 15, 20 et 25 ml ;

Compléter à 50ml avec de l'eau distillée et ajouter 2ml de la solution de tartrate puis mélanger ;

Ajouter 2ml du réactif Nessler puis mélanger à nouveau ;

Attendre 10min et effectuer les mesures de spectromètre à la longueur d'onde $\lambda=420\text{nm}$;

Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous :

DO	0	0,003	0,006	0,014	0,029	0,04	0,054	0,060
NO⁻²₃ (mg/L)	0	0,200	0,400	1,000	2,000	3,000	4,000	5,000

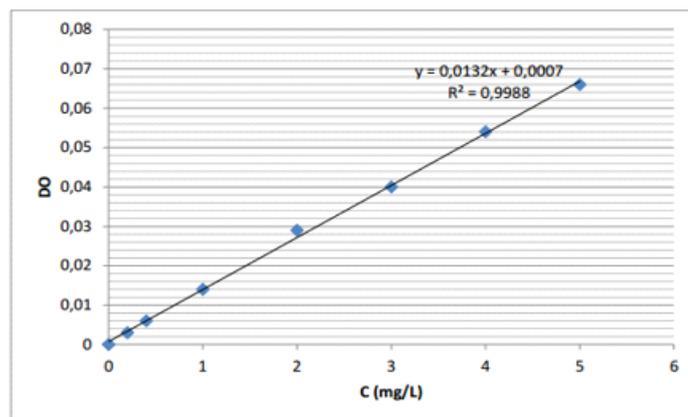


Figure 5 : Courbe d'étalonnage de l'Azote ammoniacal

- **Dosage du Phosphore :**

Réactifs utilisés

Acide ascorbique $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$;

Acide sulfurique H_2SO_4 (9N) ;

Tartrate d'antimoine et de potassium ;

Paramolybdate d'ammonium ;

Dihydrogénophosphate de potassium KH_2PO_4

Préparation de la solution molybdate acide :

Dissoudre 13g de tartrate d'antimoine et de potassium dans 100ml d'eau distillée

Diluer 230ml de H_2SO_4 (9N) dans 70 ml d'eau distillée puis l'ajouter à la solution précédente.

Ajouter au mélange la solution suivante : dissoudre 0.35g de paramolybdate d'ammonium dans 100ml d'eau distillée.

Préparation de la solution ascorbique

Dissoudre 10g d'acide ascorbique dans 100ml d'eau distillée.

Préparation de la solution étalon :

Dissoudre 0.2197 g de KH_2PO_4 dans 800 ml d'eau distillée, ajouter 10 ml d'acide sulfurique (4.5 M) puis compléter à 1000ml avec de l'eau distillée (solution mère 50mg/L de P) ;

Courbe d'étalonnage :

Dans une série de fioles jaugées de 50ml, faites une dilution de la solution fille (2mg/L) correspondant aux concentrations suivantes : 0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mg/L ; ajuster à 50ml de l'eau distillée, puis prélever de chaque fiole un volume équivalent à 40ml

Ajouter 1ml de la solution d'acide ascorbique+ 2ml de la solution e molybdate acide une couleur bleue apparaîtra, attendre 30 min, la lecture des densités optiques peut s'effectuer à l'aide d'un spectromètre à une longueur d'onde égale à 880nm ;

Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous :

DO	0	0,025	0,082	0,153	0,237	0,347	0,428
C(p) (mg/L)	0	0,2	0,4	1,0	2,0	4,0	5,0

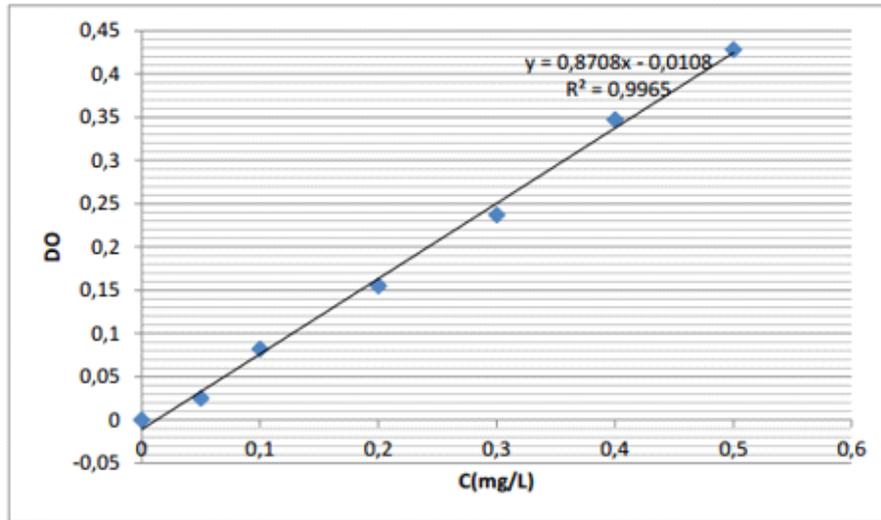


Figure 6 : Courbe d'étalonnage du phosphore

Annexes 5 : les Hydrocarbures du sol

Extraction des Hydrocarbures du sol par ULTRASON :

L'extraction des hydrocarbures du sol a été réalisée dans un ULTRASON de modèle BIOBLOCK scientifique (88155) en se basant sur la méthode de bi-lavage :

On prend 2g du sol pollué à analyser dans un Erlen de 50ml ;

Mélanger avec 1,5 g de sulfate de sodium Na_2SO_4 ;

Ajouter 12ml de solvant dichlorométhane CH_2Cl_2 ;

Mettre l'Erlen dans un Bain marie d'eau distillée contenue dans la cuve de l'ULTRASON pendant 10min pour un deuxième lavage ;

Le mélange (extrait-solvant) est filtré à l'aide d'un papier filtre ordinaire dans un tube bien fermé, puis le contenu du tube est distillé à l'aide d'un ballon dans un ROTAVAPOR à 40°C ;

Après distillation, l'extrait est laissé à sécher pour être ensuite pesé. La quantité d'hydrocarbures pétroliers extraite est déterminée par différence avec la masse du ballon pesée initialement (à vide).

Annexe 6 : Fractionnement des hydrocarbures pétroliers

La séparation des hydrocarbures saturés (**F1**), hydrocarbures aromatiques (**F2**) et des composés polaires (**F3**), a été réalisée par la technique de chromatographie par adsorption sur colonne mixte silice/alumine. Elle est effectuée sur colonne en verre (1cm de diamètre interne par 40 cm de longueur, munie d'un réservoir de 200mL, d'un robinet de téflon et bouchée en son extrémité par un tampon de coton de verre) contenant 8 g de gel de silice (désactivée avec 5% d'eau) en suspension dans l'hexane.

Après 12 h de repos, sont ajoutés sur la silice 8g d'alumine (désactivée avec 5% d'eau). La colonne est ensuite chargée avec au maximum 50 mg de MOE (matière organique extractible) dans l'heptane, déposés en tête de colonne. L'élution des composés est réalisée successivement par 30 mL de n-heptane, puis 20mL d'un mélange de n-heptane/CH₂Cl₂ (90/10 ; v/v) (fraction saturée: F1), ensuite par 40mL d'un mélange de n-heptane/CH₂Cl₂ (80/20 ; v/v) (fraction aromatique : F2) et enfin par 40mL d'un mélange de CH₂Cl₂/Méthanol proportion (95/5 ; v/v) (fraction polaire : F3). Les 2 fractions sont ensuite évaporées à l'aide d'un évaporateur rotatif et récupérées dans des piluliers pré-pesés et séchées sous flux d'azote avant quantification par gravimétrie (microbalance Mettler AE240). Dans le but d'une conservation pour une analyse ultérieure par CPG/SM, les extraits obtenus sont mis au frais dans du CH₂Cl₂

Annexe 7 : Table de Student

v	P									
	0.60	0.70	0.80	0.90	0.95	0.975	0.990	0.995	0.999	0.9995
1	0.325	0.727	1.376	3.078	6.314	12.71	31.82	63.66	318.3	636.6
2	0.289	0.617	1.061	1.886	2.920	4.303	6.965	9.925	22.33	31.60
3	0.277	0.584	0.978	1.638	2.353	3.182	4.541	5.841	10.22	12.94
4	0.271	0.569	0.941	1.533	2.132	2.776	3.747	4.604	7.173	8.610
5	0.267	0.559	0.920	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032	5.893	6.859
6	0.265	0.553	0.906	1.440	1.943	2.447	3.143	3.707	5.208	5.959
7	0.263	0.549	0.896	1.415	1.895	2.365	2.998	3.499	4.785	5.405
8	0.262	0.546	0.889	1.397	1.860	2.306	2.896	3.355	4.501	5.041
9	0.261	0.543	0.883	1.383	1.833	2.262	2.821	3.250	4.297	4.781
10	0.260	0.542	0.879	1.372	1.812	2.228	2.764	3.169	4.144	4.587
11	0.260	0.540	0.876	1.363	1.796	2.201	2.718	3.106	4.025	4.437
12	0.259	0.539	0.873	1.356	1.782	2.179	2.681	3.055	3.930	4.318
13	0.259	0.538	0.870	1.350	1.771	2.160	2.650	3.012	3.852	4.221
14	0.258	0.537	0.868	1.345	1.761	2.145	2.624	2.977	3.787	4.140
15	0.258	0.536	0.866	1.341	1.753	2.131	2.602	2.947	3.733	4.073
16	0.258	0.535	0.865	1.337	1.746	2.120	2.583	2.921	3.686	4.015
17	0.257	0.534	0.863	1.333	1.740	2.110	2.567	2.898	3.646	3.965
18	0.257	0.534	0.862	1.330	1.734	2.101	2.552	2.878	3.611	3.922
19	0.257	0.533	0.861	1.328	1.729	2.093	2.539	2.861	3.579	3.883
20	0.257	0.533	0.860	1.325	1.725	2.086	2.528	2.845	3.552	3.850
21	0.257	0.532	0.859	1.323	1.721	2.080	2.518	2.831	3.527	3.819
22	0.256	0.532	0.858	1.321	1.717	2.074	2.508	2.819	3.505	3.792
23	0.256	0.532	0.858	1.319	1.714	2.069	2.500	2.807	3.485	3.767
24	0.256	0.531	0.857	1.318	1.711	2.064	2.492	2.797	3.467	3.745
25	0.256	0.531	0.856	1.316	1.708	2.060	2.485	2.787	3.450	3.725
26	0.256	0.531	0.856	1.315	1.706	2.056	2.479	2.779	3.435	3.707
27	0.256	0.531	0.855	1.314	1.703	2.052	2.473	2.771	3.421	3.690
28	0.256	0.530	0.855	1.313	1.701	2.048	2.467	2.763	3.408	3.674
29	0.256	0.530	0.854	1.311	1.699	2.045	2.462	2.756	3.396	3.659
30	0.256	0.530	0.854	1.310	1.697	2.042	2.457	2.750	3.385	3.646
32	0.256	0.530	0.853	1.309	1.694	2.037	2.449	2.738	3.365	3.622
34	0.255	0.529	0.852	1.307	1.691	2.032	2.441	2.728	3.348	3.601
36	0.255	0.529	0.852	1.306	1.688	2.028	2.434	2.719	3.333	3.582
38	0.255	0.529	0.851	1.304	1.686	2.024	2.429	2.712	3.319	3.566
40	0.255	0.529	0.851	1.303	1.684	2.021	2.423	2.704	3.307	3.551
50	0.255	0.528	0.849	1.298	1.676	2.009	2.403	2.678	3.261	3.496
60	0.254	0.527	0.848	1.296	1.671	2.000	2.390	2.660	3.232	3.460
70	0.254	0.527	0.847	1.294	1.667	1.994	2.381	2.648	3.211	3.435
80	0.254	0.527	0.846	1.292	1.664	1.990	2.374	2.639	3.195	3.415
90	0.254	0.526	0.846	1.291	1.662	1.987	2.368	2.632	3.183	3.402
100	0.254	0.526	0.845	1.290	1.660	1.984	2.365	2.626	3.174	3.389
200	0.254	0.525	0.843	1.286	1.653	1.972	2.345	2.601	3.131	3.339
500	0.253	0.525	0.842	1.283	1.648	1.965	2.334	2.586	3.106	3.310
∞	0.253	0.524	0.842	1.282	1.645	1.960	2.326	2.576	3.090	3.291

Annexe 8 : Table de Fisher

 v_1

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	14
1	161	200	216	225	230	234	237	239	241	242	244	245
2	18.5	19.0	19.2	19.2	19.3	19.3	19.4	19.4	19.4	19.4	19.4	19.4
3	10.1	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81	8.79	8.74	8.71
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00	5.96	5.91	5.87
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77	4.74	4.68	4.64
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10	4.06	4.00	3.96
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.64	3.57	3.53
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39	3.35	3.28	3.24
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18	3.14	3.07	3.03
10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02	2.98	2.91	2.86
11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90	2.85	2.79	2.74
12	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.91	2.85	2.80	2.75	2.69	2.64
13	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71	2.67	2.60	2.55
14	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.70	2.65	2.60	2.53	2.48
15	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59	2.54	2.48	2.42
16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54	2.49	2.42	2.37
17	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.61	2.55	2.49	2.45	2.38	2.33
18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46	2.41	2.34	2.29
19	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42	2.38	2.31	2.26
20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39	2.35	2.28	2.22
21	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37	2.32	2.25	2.20
22	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.40	2.34	2.30	2.23	2.17
23	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.44	2.37	2.32	2.27	2.20	2.15
24	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.30	2.25	2.18	2.13
25	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60	2.49	2.40	2.34	2.28	2.24	2.16	2.11
26	4.23	3.37	2.98	2.74	2.59	2.47	2.39	2.32	2.27	2.22	2.15	2.09
27	4.21	3.35	2.96	2.73	2.57	2.46	2.37	2.31	2.25	2.20	2.13	2.08
28	4.20	3.34	2.95	2.71	2.56	2.45	2.36	2.29	2.24	2.19	2.12	2.06
29	4.18	3.33	2.93	2.70	2.55	2.43	2.35	2.28	2.22	2.18	2.10	2.05
30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21	2.16	2.09	2.04
32	4.15	3.29	2.90	2.67	2.51	2.40	2.31	2.24	2.19	2.14	2.07	2.01
34	4.13	3.28	2.88	2.65	2.49	2.38	2.29	2.23	2.17	2.12	2.05	1.99
36	4.11	3.26	2.87	2.63	2.48	2.36	2.28	2.21	2.15	2.11	2.03	1.98
38	4.10	3.24	2.85	2.62	2.46	2.35	2.26	2.19	2.14	2.09	2.02	1.96
40	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12	2.08	2.00	1.95
50	4.03	3.18	2.79	2.56	2.40	2.29	2.20	2.13	2.07	2.03	1.95	1.89
60	4.00	3.15	2.76	2.53	2.37	2.25	2.17	2.10	2.04	1.99	1.92	1.86
70	3.98	3.13	2.74	2.50	2.35	2.23	2.14	2.07	2.02	1.97	1.89	1.84
80	3.96	3.11	2.72	2.49	2.33	2.21	2.13	2.06	2.00	1.95	1.88	1.82
90	3.95	3.10	2.71	2.47	2.32	2.20	2.11	2.04	1.99	1.94	1.86	1.80
100	3.94	3.09	2.70	2.46	2.31	2.19	2.10	2.03	1.97	1.93	1.85	1.79
∞	3.84	3.00	2.60	2.37	2.21	2.10	2.01	1.94	1.88	1.83	1.75	1.69