

3/99

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

DEPARTEMENT GENIE DE L'ENVIRONNEMENT

PROJET DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en génie de l'environnement

THEME

المعرفة الوطنية المتعددة التخصصات  
المكتبة —  
BIBLIOTHEQUE —  
Ecole Nationale Polytechnique

**CONTRIBUTION A LA  
BIOREMEDIATION DANS UN  
BIOREACTEUR  
D'UN SOL CONTAMINE PAR LES  
HYDROCARBURES**

DIRIGE PAR :

M<sup>elle</sup> J. ARRAR (E.N.P)

M<sup>elle</sup> C. DALI (C.R.D)

PRESENTE PAR :

M<sup>elle</sup> BISSAAD NASSIMA

MEMBRES DU JURY

P<sup>r</sup> R. KERBACHI.....PRESIDENT

M<sup>me</sup> S. CHERID.....EXAMINATRICE

M<sup>r</sup> CHERGUL.....EXAMINATEUR

M<sup>r</sup> SADAOUI.....EXAMINATEUR

PROMOTION 1998 – 1999.

# DEDICACES

المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات  
المكتبة — BIBLIOTHEQUE  
Ecole Nationale Polytechnique

Je dédie ce modeste travail à :

Ma très chère mère dont le calme, la tendresse et la gentillesse ont toujours été mon meilleur recours.

Mon très cher père dont la grande personnalité, et pour moi le grand exemple.

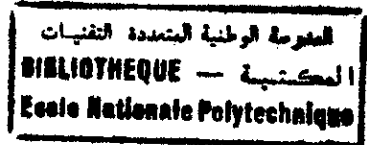
Ma chère sœur Lamia, et à mes deux chers frères Fayçal et Mohamed.

Toute ma grande famille : ma grand-mère, mes oncles, mes tantes, mes cousins et mes cousines.

Mes amies : Samia, Naïma, Souhila, Khadidja, Nassima , Assira, Hakima, , Semcha, Saïda, Dalila, Nachida, Isma, Malika, et Leila.

Mes camarades de la promotion et en particulier à Oulebsir Salim que je considère comme un grand frère pour moi. Ainsi qu'à mes camarades du C.R.D.

# REMERCIEMENTS



Je tiens à remercier vivement et à exprimer ma reconnaissance à M<sup>lle</sup> J. ARRAR et à M<sup>lle</sup> C. DALI pour avoir accepté de me diriger, pour leur gentillesse, ainsi que pour leur soutien et leur aide efficaces et éclairés qui ont permis la réalisation de ce travail.

Qu'il me soit permis, ici, d'exprimer ma reconnaissance et ma respectueuse gratitude.

J'exprime également ma profonde gratitude et ma reconnaissance à M<sup>r</sup> S. BENBATA, directeur de la direction environnement au C.R.D, Sonatrach et M<sup>me</sup> N.Boutemeur, chef de service au C.R.D, Sonatrach pour m'avoir accepté au sein de leurs structure.

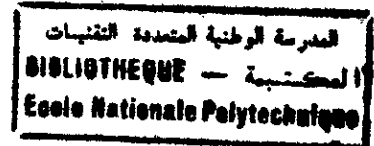
J'adresse également mes remerciements les plus chaleureux et j'exprime ma gratitude à M<sup>r</sup> R. Kerbachi, professeur à l'E.N.P, pour l'honneur qu'il m'a fait en présidant le jury de mon projet de fin d'étude, et surtout pour la clarté de son enseignement, ses conseils, son humour et sa compréhension durant les trois années de spécialité.

Ainsi qu'à l'ensemble des membres du jury M<sup>m</sup> Cherid, M<sup>r</sup> Chergui et M<sup>r</sup> Sadaoui qui m'honorent de leur présence et d'avoir accepté de juger mon travail.

Je tiens à remercier chaleureusement M<sup>r</sup> D. OUDEHMENE de l'E.N.S.P pour son aide, sa disponibilité et surtout pour sa gentillesse et sa générosité.

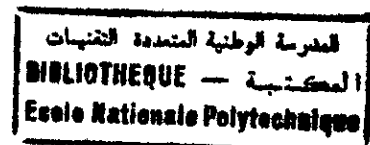
Pour leur amabilité, leur gentillesse et leur disponibilité à nous venir en aide, je remercie de tout cœur et avec une immense gratitude le personnel de la direction environnement, C.R.D Sonatrach, en particulier: M<sup>lle</sup> A. HADOU, M<sup>r</sup> S.MEHDI, M<sup>r</sup> B. RAHMOUNI, M<sup>lle</sup> FAIZA, M<sup>lle</sup> F.BENABDELMOUMEN, M<sup>lle</sup> SAMIA, M<sup>r</sup>. A. FODIL CHERIF. Ainsi que tous le personnel des services : produit, corrosion, et traitement des eaux.

# SOMMAIRE



<b>INTRODUCTION</b> .....	1	
<b>PRESENTATION DE L'ETUDE</b> .....	2	
<b>PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE</b>		
<b>I- GENERALITES SUR LE SOL</b>		
I-1- LES CARACTERISTIQUES DU SOL.....	3	
I-2- LES PHENOMENES DE RETENTIONS DANS LE SOL.....	4	
<b>II- LA POLLUTION DES SOLS</b>		
II-1- LES PRINCIPAUX POLLUANTS.....	4	
II-1-1- LES ELEMENTS TRACES.....	5	
II-1-2- LES NITRATES.....	5	
II-1-3- LE SEL DE SODIUM.....	5	
II-1-4- LES PESTICIDES.....	5	
II-1-5- LES HYDROCARBURES.....	6	
A- CLASSIFICATION DES HYDROCARBURES.....	5	
B- LE PETROLE BRUT.....	6	
C- LE PETROLE RAFFINE.....	6	
D- PHENOMENES DE MIGRATION DES HYDROCARBURES PETROLIERS.....	7	
E- LES EFFETS TOXICOLOGIQUES DES DIFFERENTS FAMILLES D'HYDROCARBURES.....	7	
II-2- L'INDUSTRIE PETROLIER ET LA POLLUTION DES SOLS.....	8	
II-2-1- L'EXPLORATION ET LA RECHERCHE DES GISEMENTS.....	8	
II-2-2- LE FORAGE D'EXPLOITATION.....	9	
II-2-3- LES OPERATIONS DE PRODUCTION.....	12	
II-2-4- LE STOCKAGE.....	12	
II-2-5- LE TRAITEMENT DES HYDROCARBURES.....	12	
II-2-6- LE TRANSPORT PAR CANALISATION.....	12	
<b>III- NORMES ET REGLEMENTATIONS EN MATIERE DE PROTECTION DES SOLS</b> .....		13
<b>IV- LES TECHNOLOGIES DE REHABILITATION DES SOLS CONTAMINES PAR LES HYDROCARBURES</b>		
IV-1- PROCEDE PHYSICO-CHIMIQUES.....	16	
IV-2- PROCEDES THERMIQUES.....	17	
IV-3- PROCEDES BIOLOGIQUES.....	18	
IV-3-1- PRINCIPES DE BASE DE LA BIOREMEDIATION.....	19	
A- PROCESSUS DE BIODEGRADATION.....	19	
B- LA CROISSANCE MICROBIENNE.....	20	
C- L'ACTIVITE MICROBIENNE.....	21	

D- LA BIODEGRADATION DES HYDROCARBURES.....	21
• ALCANES .....	21
• ALCENES.....	22
• CYCLANES.....	22
• AROMATIQUES.....	22
E- LE MECANISMES DE BIODEGRADATION DES HYDROCARBURES.....	25
F- LA CINETIQUE DE DEGRADATION DES HYDROCARBURES.....	25
G- LES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DES HYDROCARBURES DANS LE SOL.....	26
IV-3-2- LES BIOTECHNOLOGIES DISPONIBLES	
IV-3-2-1- TRAITEMENTS IN SITU.....	28
A- BIOVENTILATION.....	28
B- BIOASPIRATION.....	29
IV-3-2-2- TRAITEMENTS SUR SITE.....	29
A- BIODEGRADATION EN PILES.....	30
B- EPANDAGE CONTROLE (LAND FARMING).....	33
IV-3-2-3- LES BIOREACTEURS.....	33
A- BASES MICROBIOLOGIQUES DE LA CONCEPTION DU BIOREACTEUR.....	33
B- BIOREACTEUR COMBINE.....	33
C- TRAITEMENT DIRECT DU SOL DANS UN BIOREACTEUR.....	33
C-1- REACTEUR AGITE.....	34
C-1-1- L'AERATION.....	34
C-1-2- L'AGITATION.....	34
C-1-3- AVANTAGES.....	35
C-1-4- LES CARACTERISTIQUES DE L'ALIMENTATION DU REACTEUR.....	35



## **PARTIE EXPERIMENTALE**

<b>V- DESCRIPTION DE L'INSTALLATION EXPERIMENTALE.....</b>	<b>36</b>
<b>VI- ETUDE DU SOL.....</b>	<b>38</b>
VI-1- ECHANTILLONNAGE.....	38
VI-2- ANALYSE GRANULOMETRIQUE.....	38
VI-3- PREPARATION DU SOL.....	38
VI-4- CARACTERISTIQUES DU SOL	
VI-4-1- CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES.....	38
VI-4-2- CARACTERISTIQUES BIOLOGIQUES.....	39
A- ISOLEMENT ET DENOMBREMENT DES SOUCHES AUTOCHTONES.....	39
B- OBSERVATION MACROSCOPIQUE ET MICROSCOPIQUE DES SOUCHES ISOLEES.....	39
<b>VII- OPTIMISATION DU DEBIT D'AIR ET DE LA VITESSE D'AGITATION .....</b>	<b>42</b>
VII-1- TRANSFERT DE MATIERE GAZ-LIQUIDE.....	42
A- MESURE DE $k_{L,a}$ .....	42
A-1- DETERMINATION DU COEFFICIENT DE TRANSFERT VOLUMIQUE PAR LA METHODE D'OXYGENATION DYNAMIQUE.....	42
A-2- RESULTATS EXPERIMENTAUX ET INTERPRETATIONS.....	43

A-2-1- INFLUENCE DU DEBIT D' AIR.....43  
 A-2-2- INFLUENCE DE LA VITESSE D'AGITATION.....47  
 A-2-3- INFLUENCE DE LA PRESENCE DU SOLIDE SUR  $k_L a$  .....50

**VIII – PURIFICATION DES SOUCHES ISOLEES.....51**  
 VIII-1- RESULTATS ET DISCUSSIONS.....51  
 VIII-2- IDENTIFICATION DU GENRE BACTERIEN DE LA SOUCHE PURIFIEE....53

**IX- TRAITEMENT EN BIOREACTEUR**

**IX-1- OPTIMISATION DES PARAMETRES ENVIRONNEMENTAUX.....54**  
 IX-2- EVOLUTION DE LA TENEUR EN AZOTE.....54  
     A- EVOLUTION DE LA TENEUR EN NITRATES .....55  
     B- EVOLUTION DE LA TENEUR EN AZOTE AMMONIACAL .....55  
     C- EVOLUTION DE LA TENEUR EN NITRITES .....57  
 IX-3- EVOLUTION DE LA TENEUR EN PHOSPHORE.....57  
 IX-4- EVOLUTION DE LA TENEUR EN OXYGENE DISSOUS .....58  
 IX-5- EVOLUTION DE LA CROISSANCE BACTERIENNE .....58  
 IX-6- EVOLUTION DE LA TENEUR EN HYDROCARBURES.....61  
     IX-6-1- EVOLUTION DE LA TENEUR EN HYDROCARBURES DANS LE SOL ...61  
     IX-6-2- EVOLUTION DE LA TENEUR EN HYDROCARBURES DANS LA PHASE  
             LIQUIDE.....61  
 IX-7- DETERMINATION DE L'ORDRE DE LA REACTION DE DEGRADATION DES  
     HYDROCARBURES.....64

CONCLUSION.....68  
 RECOMMANDATIONS.....69

لتجنب كل تلوث للمياه الباطنية، وللتقليل من تأثير نفايات الصناعات البترولية على البيئة، فإنه من المهم القيام بمعالجة التربة الملوثة بالهيدروكاربونات. يهدف هذا العمل إلى معالجة أتربة الموحل، القادمة من المركز الصناعي حاسي مسعود، بطريقة بيولوجية، داخل مفاعل بيولوجي مع تهوية ورج الخليط، وتحسين العوامل المحيطة بالتربة مثل : درجة الحموضة (pH)، درجة الحرارة، تركيز الأوكسجين، كمية المواد المفدية (الأزوت والفوسفور) ، للرفع من النشاط الباكثيري. أولا سنقوم بمعالجة التربة الملوثة بالهيدروكاربونات بواسطة الباكثيرية الأصلية الموجودة في التربة. ثانيا سنقوم بالمعالجة بواسطة الباكثيرية الأصلية الموجودة في التربة زائد باكتيريا معزولة من التربة المدروسة.

## RESUME

Pour éviter toute contamination des nappes phréatiques, et minimiser au maximum l'impact des rejets d'hydrocarbures sur l'environnement, il est impératif de traiter les sols pollués par les hydrocarbures.

Notre étude consiste à traiter un sol de borbier provenant du centre industriel sud HASSI MESSAOUD par un procédé biologique, dans un bioréacteur aérobic muni d'un agitateur, et à optimiser les facteurs critiques régissant l'environnement du sol tel le pH, la température, la teneur en oxygène, la dose et la nature des nutriments, afin d'augmenter l'activité microbienne et donc la biodégradation.

Il s'agit de réaliser dans un premier lieu une dégradation par les micro-organismes autochtones du sol, sans aucun apport extérieur ; et en deuxième lieu une biodégradation par les micro-organismes autochtones du sol avec un ajout d'inoculum bactérien isolé d'un échantillon du sol étudié.

## ABSTRACT

To avoid all contamination of aquiferous and to minimize the impact of hydrocarbon rejections on the environment, it's imperative to treat soils polluted by hydrocarbons.

Our study, consist in treating a soil polluted by hydrocarbons using biologic process. In agitated aerobic bioreactor, we optimise the critical factors governing the environment of the soil such as the pH, the temperature, the content in oxygène, the dose of nutriments, in order to increase the microbial activity and the biodegradation.

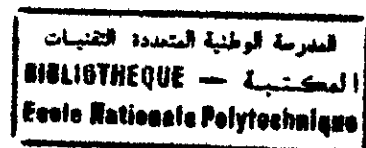
The process consist to the biodegradation from autochthons micro-organisms of the soil without no outside contribution and the biodegradation by soil autochthons micro-organisms with bacterial inoculum addition. The inoculum is isoleted from a studied soil sample.

## MOTS CLES

Biorémédiation, Bioréacteur, Biodégradation , Biotraitements,  
Hydrocarbures, Pétrole, Sol, Réhabilitation, Aérobiose, Micro-  
organisme, Transfert de matière,



# NOMENCLATURES



$k_L a$  : coefficient volumique de transfert partiel du côté liquide

$k_g a$  : coefficient volumique de transfert partiel du côté gaz

$a$  : aire interfaciale

$K_L a$  : coefficient volumique de transfert global du côté liquide

$K_g a$  : coefficient volumique de transfert global du côté gaz

$H$  : constante de Henry

$C_L$  : concentration en oxygène dans la phase liquide

$C^*$  : concentration en oxygène à la saturation

$C_0$  : concentration en oxygène au temps  $t = 0$

$X$  : concentration cellulaire

$X_0$  : concentration cellulaire au temps  $t = 0$

$dX/dt$  : vitesse de reproduction

$\mu$  : vitesse spécifique de croissance

$\mu_{max}$  : taux de croissance maximum

# ABREVIATIONS

R1 : premier réacteur

R2 : deuxième réacteur

Qg : débit gazeux

t : temps

Va : vitesse d'agitation

[HC] : concentration en hydrocarbures

C° : degré CELSUS

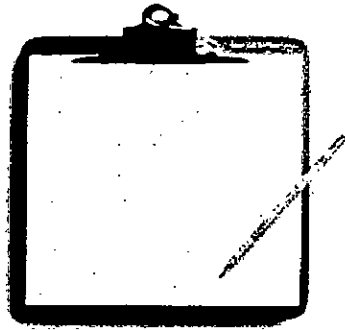
s : seconde

ppm : partie par million

tr/min : tours / minute

المدرسة الوطنية المتعددة التخصصات  
BIBLIOTHEQUE — المكتبة  
Ecole Nationale Polytechnique

# PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE



## INTRODUCTION

Comme l'air et l'eau, le sol est une ressource naturelle essentielle qui répond à des exigences multiples. S'il est pollué il peut porter atteinte à la vie humaine, en réduisant les récoltes et/ou insidieusement en contaminant les aliments et les eaux.

Un sol présente des risques de contaminations par l'accumulation de certains éléments qui sont naturellement présents ou qui peuvent être exogènes (hydrocarbures, pesticides ...).

Bien qu'elle représente le secteur clé de l'économie nationale l'industrie pétrolière, de l'exploration à la commercialisation, représente un danger potentiel et permanent pour le personnel exploitant et pour l'environnement.

La contamination des sols et des eaux souterraines par les hydrocarbures ; qui peut arriver soit à la suite de déversements accidentels soit par des rejets non contrôlés ; constitue assurément l'un des principaux problèmes environnementaux associés aux opérations de la SONATRACH et des autres entreprises pétrolières et gazières.

Les possibilités de contaminations des sols par les hydrocarbures sont donc nombreuses, et pour éliminer, du moins minimiser cette pollution, il existe plusieurs techniques de traitement et d'isolation des sols contaminés tels les traitements physico-chimiques, les traitements thermiques, le confinement, les traitements biologiques, etc...

Ces derniers suscitent actuellement un grand intérêt et plus particulièrement ceux utilisant les bioréacteurs.

## **PRESENTATION DE L'ETUDE**

A l'instar des autres régions du pays, le sud Algérien subit les effets d'un développement socio-économiques très rapide. L'industrie pétrolière est le principal responsable de la pollution.

L'étude que nous présentons s'inscrit dans le domaine de la réhabilitation des sites pollués par les hydrocarbures. Elle vise l'élimination des hydrocarbures (pétrole brut) contenus dans le sol d'un borbier situé dans un centre industriel de la division production de HASSI MESSAOUD destiné à recevoir les rejets huileux, par un traitement biologique. Un réacteur agité sera utilisé à cet effet.

Après une étude des caractéristiques physico-chimiques du sol, pour connaître l'état de la pollution et la nature du sol, nous nous sommes intéressés :

- d'une part à étudier l'influence de la vitesse d'agitation et du débit d'air à injecter pour optimiser la circulation du mélange réactionnel dans le bioréacteur ;
- d'autre part à isoler du sol étudié une souche adaptée à la dégradation de nos hydrocarbures.

Enfin nous avons procédé au traitement biologique du sol contaminé par les hydrocarbures, et comparé le pouvoir de dégradation des hydrocarbures d'une part, par les bactéries autochtones seules et d'autre part par les bactéries autochtones auxquelles nous avons ajouté un inoculum bactérien isolé du sol contaminé (bioaugmentation).

## **I- GENERALITES SUR LE SOL**

Le sol est un milieu complexe constitué d'une phase solide, minérale et organique, d'une phase liquide, constituée d'eau et de substances dissoutes et d'une phase gazeuse [1], mélange d'azote, d'oxygène, de dioxyde de carbone et de vapeur d'eau.

### **I-1- LES CARACTERISTIQUES DU SOL**

#### **I-1-1- LA GRANULOMETRIE**

Elle a pour objet la mesure de la taille des particules élémentaires qui constituent les ensembles de grains du sol. Elle offre une définition quantitative d'un des caractères fondamentaux des sols : la texture.

#### **I-1-2- LA TEXTURE**

La texture d'un sol dépend du calibre des particules qui le composent. La fraction grossière comprend les cailloux et les graviers d'un diamètre supérieur à 2 mm. La fraction fine est répartie en sables, limons et argiles d'un diamètre inférieur à 2 mm.

Selon les proportions de sable, de limon et d'argile, plusieurs textures sont définies (annexe 1). A titre d'exemple un sol constitué de 60% de sable, de 40% d'argile et de 5% de limon a une texture argileu-sableuse.

#### **I-1-3- LA POROSITE**

C'est le pourcentage d'espace vide par unité de volume du sol. Dans un sol la mobilité des contaminants est affectée [2] par la taille des pores et les propriétés de l'eau et de l'air dans ces pores.

#### **I-1-4- POUVOIR ABSORBANT**

Un sol est caractérisé par sa capacité d'absorption, c'est-à-dire par le pouvoir que possède le complexe argilo-humique de fixer énergiquement à sa surface des ions minéraux provenant de la solution du sol [2].

Certaines argiles impliquent une grande capacité d'échange ionique selon leurs charges [3].

Ainsi, la nature électrostatique du sol a une influence très importante sur la rétention des constituants organiques.

#### **I-1-5- ACTIVITE MICROBIENNE DES SOLS**

Les caractéristiques biologiques des sols dépendent de la nature de la matière organique. L'humus, mélange variable et dynamique, représente toutes les étapes de la décomposition de la matière organique dans le sol. L'humus apporte dans le sol des micro-organismes et constitue ainsi le substrat idéal qui contribue à leur développement. Il fait ainsi du sol un milieu vivant.

## **I-2- LES PHENOMENES DE RETENTIONS DANS LE SOL**

Les particules élémentaires du sol sont généralement liées entre elles par les forces électrostatiques de Van Der Waals, formant des agrégats plus ou moins volumineux, groupés en unités structurales de plus grandes dimensions (macro-agrégats ou grumeaux), pour constituer l'édifice structural du sol [3]. La structure du sol est très variée, mais l'unité fondamentale demeure toujours l'agrégat.

En fait, les agrégats tendent à diminuer l'activité microbienne dans le sol [4], de manière indirecte, par un ralentissement de la diffusion de l'oxygène et des nutriments à l'intérieur de l'unité structurale et par la protection mécanique des substrats qu'elle renferme.

La capacité de rétention des polluants par le sol est définie comme étant la capacité d'un sol à retenir, neutraliser, adsorber, atténuer et essentiellement immobiliser un contaminant véhiculé par un liquide.

Les contaminants sont retenus par le sol :

- Par adsorption physique :
  - Adsorption à l'intérieur d'agrégats de fines particules ;
  - Adsorption autour de grains individuels.
- Par chimisorption ;
- Par pénétration des ions dans la phase solide du minéral.

La pénétration des ions dans les réseaux est cependant classée par plusieurs auteurs comme une forme de chimisorption (Bruand 1996) [2].

## **II- LA POLLUTION DES SOLS**

La pollution du sol correspond à l'accumulation de composés toxiques : produits chimiques, sels, matières radioactives ou agents pathogènes qui, tous, ont des effets nocifs sur la croissance des plantes, la santé des animaux et des êtres humains.

Il existe trois grandes familles de sites pollués :

- Les anciennes décharges, réalisées sans respecter les règles techniques, et notamment celles situées sur des sous-sols fragiles et pour lesquelles une pollution des eaux souterraines peut avoir lieu [5]. C'est le cas de la décharge de Montchanin en France ;
- Les sols pollués à la suite d'infiltrations ou de déversements de substances polluantes liées à l'exploitation passée ou présente d'une installation industrielle ou à d'accidents de transport ;
- Les dépôts industriels où des déchets et des produits chimiques sont abandonnés suite à des activités industrielles, comme dans le cas des forages pour l'industrie pétrolière.

### **II-1- LES PRINCIPAUX POLLUANTS**

Les produits polluants peuvent être de nature variée : les éléments traces, les nitrates, le sel de sodium, les pesticides, mais les plus fréquemment rencontrés de l'ordre de 80% des cas, selon Bérard 1995 [4] sont des produits hydrocarbonés (pétrole brut, essence, gas-oil, huiles pour moteurs, ect...). Nous nous intéresserons plus particulièrement dans cette étude aux hydrocarbures.

- 1- **LES ELEMENTS TRACES** : il s'agit des métaux ou métalloïdes tel le cadmium, le mercure, le plomb, le zinc, etc... présents naturellement dans le sol et/ou exogènes. Ils peuvent avoir sur l'homme et sur les animaux des effets toxiques, cancérigènes [5], tératogènes ou mutagènes.
- 2- **LES NITRATES** : ils proviennent entre autres des engrais. Ils s'adsorbent difficilement dans le sol et restent donc en solution jusqu'à ce qu'ils soient dénitrifiés [5]. Adsorbés par les plantes ou entraînés vers les eaux souterraines ou de surface, ils favorisent l'eutrophisation. L'ingestion de nitrates peut être toxique et cancérigène [5].
- 3- **LE SEL DE SODIUM** : c'est le sodium, présent dans le sol sous forme échangeable qui tend à rendre un sol humide imperméable à l'air et à l'eau [6]. Une quantité excessive de sel de sodium dans un sol réduit sa fertilité et peut dans certains cas le rendre totalement stérile.
- 4- **LES PESTICIDES** : recouvrent les fongicides, les insecticides et les herbicides. Les propriétés des pesticides peuvent différer largement entre différentes classes chimiques, de même qu'entre ceux d'une même classe chimique. De ce fait leur potentiel en tant que contaminant de l'environnement peut varier [6].  
Les résidus de pesticides les plus fréquents dans le sol sont ceux des insecticides organochlorés. Les pesticides peuvent être dissous dans les solutions du sol et entraînés petit à petit vers les nappes phréatiques, malgré leur fixation plus ou moins forte sur les constituants du sol par adsorption.

## 5- LES HYDROCARBURES

Ce sont les composés organiques les plus simples, car ils sont constitués uniquement de carbone et d'hydrogène, et on peut considérer que les autres composés organiques en sont dérivés [7]. Les hydrocarbures présentent une grande importance commerciale : on les utilise comme carburants, comme combustibles, comme huiles lubrifiantes et comme produits de base en synthèse pétrochimique.

### 5-1- CLASSIFICATION DES HYDROCARBURES

#### A- Hydrocarbures aliphatiques

On différencie les composés saturés, ne contenant que des liaisons simples, des composés insaturés, qui contiennent au moins une double liaison carbone-carbone, notée  $C=C$ , ou une triple liaison  $C\equiv C$ .

- **Hydrocarbures saturés**

La formule générale d'un alcane est  $C_nH_{2n+2}$ ,  $n$  étant le nombre d'atomes de carbone dans la molécule.

- **Hydrocarbures insaturés**

- Les alcènes, composés issus principalement du craquage du pétrole, ont pour formule générale  $C_nH_{2n}$ . Ces molécules contiennent une seule double liaison  $C=C$ .

- Les alcynes constituent la troisième grande famille d'hydrocarbures aliphatiques. Ils ont pour formule générale  $C_nH_{2n-2}$ ; une molécule d'alcyne contient une triple liaison  $C\equiv C$ .

## B- Hydrocarbures cycliques

Les homocycles ont un cycle formé uniquement d'atomes de carbone ; les hétérocycles présentent un ou plusieurs cycles contenant un ou plusieurs hétéroatomes, éléments différents du carbone et de l'hydrogène (O, N, S, etc.). Parmi les cycles carbonés, on distingue les cyclanes, les cyclènes et les cyclynes.

- *Cycles saturés*

De formule brute  $C_nH_{2n}$ , les cyclanes sont des cycles saturés isomères des alcanes.

- *Cycles insaturés*

Le cycle des cyclènes possèdent une double liaison  $C=C$  ; celui des cyclynes, composés très instables, contient une triple liaison carbone-carbone.

- *Hétérocycles*

Le cycle d'une molécule peut contenir des atomes différents du carbone, appelés alors hétéroatomes. Les hétéroatomes les plus courants sont le soufre, l'azote et l'oxygène. On peut également rencontrer le bore, le phosphore et le sélénium.

## C- Hydrocarbures aromatiques

Un hydrocarbure aromatique est une substance dont les molécules possèdent un cycle insaturé à six atomes de carbone. Les électrons impliqués dans le cycle sont délocalisés sur tout le cycle : il s'agit du phénomène de conjugaison.

### 5-2- LE PETROLE BRUT

Liquide brun plus ou moins visqueux d'origine naturelle, c'est un mélange complexe d'hydrocarbures, principalement utilisé comme source d'énergie. Le pétrole contient des hydrocarbures saturés, à chaînes linéaires, ramifiés ou cycliques, ainsi que des traces de soufre, d'azote, d'oxygène, de l'eau salée et des métaux tel le fer et le nickel [8]. On le trouve en grandes quantités dans des gisements enfouis sous la surface des continents ou au fond des mers.

Un pétrole brut contient des centaines de milliers de types moléculaires différents, dont seuls quelques centaines ont été séparés et dûment identifiés [8], tels :

- Les alcanes
- Les cyclanes
- Les aromatiques
- Les molécules cyclano-aromatiques
- Le soufre (0.2 ÷ 5%)
- L'azote (0 ÷ 1%)
- Les acides organiques: acides gras, acides naphéniques.

### 5-3- LE PETROLE RAFFINE

Le raffinage du pétrole est une industrie lourde qui transforme un mélange d'hydrocarbures, appelé pétrole brut, en produits énergétiques, tels que carburant et combustibles, et en produits non énergétiques, tels que matières premières pétrochimiques, lubrifiants, paraffines et bitumes [9]. Parmi ces produits :



- **Essences (C<sub>6</sub> - C<sub>12</sub>)** : cette gamme de produits comprend les carburants pour automobile ;
- **Kérosène (C<sub>9</sub> - C<sub>15</sub>)** : il y a deux qualités de kérosène, le TRO pour l'aviation commerciale et le TR4 (contenant plus de légers) pour l'aviation militaire ;
- **Gas-oils (C<sub>14</sub> - C<sub>20</sub>)** : catégorie de pétrole intermédiaire entre les légers et les lourds. C'est un combustible utilisé dans les moteurs diesel. La propreté, la combustion et la fluidité se trouvent parmi les qualités requises pour le gas-oils ;
- **Fuels-oils (C<sub>14</sub> - C<sub>18</sub>)** : c'est un gas-oil dont le point final de distillation est plus élevé que celui d'un gas-oil normal. Il est utilisé dans l'industrie marine pour la chauffe des fours et des chaudières, ainsi que pour les moteurs diesels lourds montés sur les navires ;
- **Lubrifiants (C<sub>18</sub> et au-delà)** : les produits les plus importants dans cette catégorie sont : les huiles moteurs, les huiles machine et les huiles isolantes ;
- **Bitumes** : les bitumes sont les fractions les plus lourds du pétrole brut que l'on obtient. Ils sont utilisés essentiellement comme revêtement routier et autres travaux.

#### **5-4- PHENOMENES DE MIGRATION DES HYDROCARBURES PETROLIERS**

Le profil souterrain d'un point de vue hydrogéologique peut se diviser en deux parties principales : la *zone non-saturée* ou *zone vadose* et la *zone saturée* qui sont séparées par la *frange capillaire* [10].

Suite à un déversement de produits pétroliers, ces derniers s'infiltreront vers le bas dans le sol sous l'influence de la gravité. Au passage, les hydrocarbures vont remplir partiellement ou complètement l'espace poreux jusqu'à atteindre la limite de rétention du sol et continuer la progression vers le bas.

La profondeur finale atteinte ainsi que la forme de la zone contaminée dépendront de plusieurs facteurs dont les principaux sont

- le volume déversé ;
- le taux de déversement (fuite ponctuelle d'une conduite ou renversement d'un camion citerne) ;
- la profondeur de la nappe phréatique et la frange capillaire ;
- la capacité de rétention des sols ;
- l'hétérogénéité des sols.

Tant que la source sera active, la progression se poursuivra jusqu'à éventuellement atteindre la nappe phréatique. Lorsque la source cesse son activité, le sol se draine de ses hydrocarbures sous l'effet de la gravité. L'écoulement des hydrocarbures se poursuivra tant qu'il seront en quantité suffisante pour assurer un continuum.

Par la suite, une partie de ces hydrocarbures demeurera adsorbée sur les particules de sols pour former ce qu'on appelle la phase résiduelle qui se trouve pour ainsi dire `` figée `` en place [10].

#### **5-5- LES EFFETS TOXICOLOGIQUES DES DIFFERENTES FAMILLES D'HYDROCARBURES**

Les propriétés toxicologiques sont très diverses selon les familles d'hydrocarbures. Le tableau suivant représente les effets toxicologiques de quelques familles d'hydrocarbures.

**Tableau N°1 : Les effets toxicologiques des quelques familles d'hydrocarbures [11].**

Familles d'hydrocarbures		Les effets toxicologiques
Les paraffines saturés	Légers : méthane, éthane, propane, butane.	Propriétés anesthésiques : a très forte concentration ils peuvent produire des sérieux troubles.
	Lourds : pentane, hexane, heptane...	- effet anesthésique et irritant ; - provoquent une légère incoordination motrice.
Les paraffines insaturés	Les oléfines	narcotiques, cette action augmente avec le poids moléculaire.
	Les dioléfines	-actionsur les organes hématopoïétiques (rate, moelle osseuse) ; - entraînent l'anémie par exposition prolongée.
Les cycloparaffines	Cyclopropane, cyclobutane, méthyl, éthyl, etc...	Anesthésiques ou narcotiques. Par exemple le cyclohexane, en plus de son action narcotique et paralysante, peut détruire les globules rouges.
Les aromatiques	Benzène toluène, xylène...	Très toxiques, ils provoquent des nausées et des modifications de la formule sanguine.

## II-2- L'INDUSTRIE PETROLIERE ET LA POLLUTION DES SOLS

Les principales missions de l'industrie pétrolière sont d'abord la recherche et l'exploration des bassins sédimentaires dans les quels le pétrole et le gaz ont pu se former. S'il y a découverte de pétrole et/ou du gaz alors commence le développement et l'exploitation des gisements, pour ensuite traiter les hydrocarbures soutirés avant de les stocker et de les transporter vers les raffineries. Les hydrocarbures soutirés peuvent être directement commercialisés à l'état brut.

Ces activités peuvent être une source potentielle de pollution des sols et des eaux souterraines par les différents rejets et fuites de produits huileux.

### II-2-1- L'EXPLORATION ET LA RECHERCHE DES GISEMENTS D'HYDROCARBURES

C'est l'étude technico-économique d'une région en vue d'établir ses possibilités pétrolières. Elle représente un secteur stratégique de première importance au sein duquel les géologues jouent un rôle clé [12]. Ils interviennent dans toutes les étapes de l'exploration :

- **La géologie de surface** : qui consiste à observer et à rechercher tout signe indiquant la présence de terrains sédimentaires en utilisant diverses techniques.
- **La géophysique** : dont l'une des techniques les plus utilisées est la sismique qui consiste à provoquer, à la surface du sol, une série d'explosions dont les ondes de choc sont réfléchies par les différentes couches géologiques du sous-sol. L'interprétation des enregistrements des

ondes réfléchies donne des renseignements utiles sur l'allure des couches souterraines de la région exploitée [12].

Après ces études et pour prouver l'existence des hydrocarbures il faudra effectuer un forage d'exploration. c'est un ensemble d'opérations qui consistent à pénétrer dans le sous-sol à l'aide d'outils appropriés, pour des études géologiques.

Les risques de pollution engendrés par cette activité sont généralement attribués à la prospection sismique qui peut provoquer des fissures dans les couches du sous-sol par les explosions, d'où le risque d'infiltration des boues de forage dans le cas de réalisation d'un forage d'exploration ou d'exploitation.

Les forages d'exploration présentent aussi une source de pollution des sols que nous décrivons plus loin sommairement.

## II-2-2- LE FORAGE D'EXPLOITATION

Le pétrole brut et /ou le gaz sont remontés à la surface de la terre par le biais de puits forés dans le sous-sol.

La réalisation d'un forage nécessite l'implantation d'un appareil de forage et l'élaboration d'un programme de boues.

La boue de forage est en général un système physico-chimique à deux phases, une phase liquide constituée d'eau, d'huile et de sels solubles et d'une phase solide constituée de cuttings et de solides volontairement ajoutés en particulier les argiles et les alourdisants. Elle sert à refroidir et lubrifier l'outil de forage, à évacuer les déblais (cuttings), à maintenir les parois du trou et à équilibrer par son propre poids la pression des fluides contenus dans les roches traversées par le forage [13].

La technique du forage rotary est la plus utilisée. Le principe de cette technique est de briser la roche par l'effet combiné de la rotation et de l'application d'une force sur l'outil de forage. Cette dernière comporte des dents en métal ou diamantés.

La boue de forage est injectée en permanence et sous une pression contrôlée à l'intérieur des tiges de forage. Elle ressort au fond du trou par les orifices du trépan et remonte à la surface en cheminant à travers l'espace annulaire [12].

### A- SOURCES DE POLLUTION :

Du point de vue général, **un chantier de forage d'exploration ou d'exploitation** est une source ponctuelle de pollution dont les activités, bien que se déroulant dans un périmètre défini, induisent des nuisances qui peuvent se propager en dehors des limites du site.

Les sources de nuisances se situent à deux niveaux ; en surface et dans le sous-sol.

#### A-1- POLLUTION EN SURFACE

▪ **Le borbier** : Il fait office de décharge du chantier de forage dans laquelle sont rejetés aussi bien les effluents liquides que les déchets solides (fig.1).

- **Les effluents liquides** : Ils sont constitués par différents types de fluides qui se composent de divers produits afin de répondre à des impératifs techniques (des eaux et huiles de lavage des organes d'appareils, l'excédent de ciment...).

- **Les déchets solides** : C'est les cuttings enrobés par la boue qui a servi au forage des

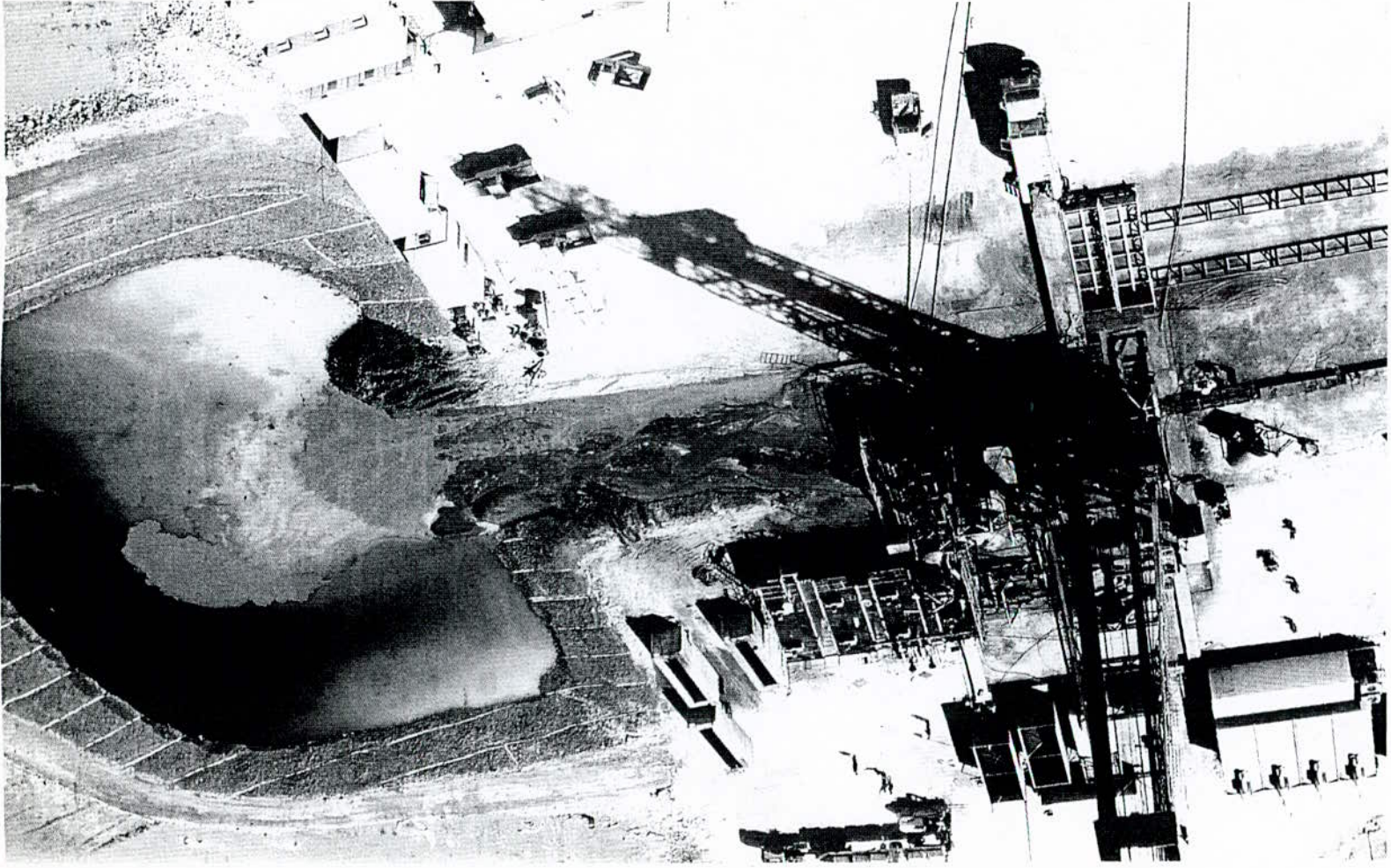


Fig. 1 : Vue d'un appareil de forage et d'un boubrier.

## II-2-3- LES OPERATIONS DE PRODUCTION

Après la découverte d'un gisement pétrolifère, la phase de mise en production comporte le forage des puits, leur équipement et la mise en œuvre des moyen d'exploitation [12].

Les risques de pollution engendrés par la production du pétrole sont généralement attribués aux rejets de différents produits et au déversement d'hydrocarbures :

- Les déversements et fuites d'hydrocarbures en surface, au niveau des puits, du réseau de collecte et des manifolds ;
- Les détériorations de tubages et casing des puits ;
- Les rejets de divers produits utilisés pour l'entretien des puits et des réseaux de collecte ;
- Les opérations de dégorgements des puits, effectuées à intervalles réguliers.

## II-2-4- LE STOCKAGE

Les techniques de stockage visent, tout au long de la chaîne qui va de la production à la consommation, à emmagasiner le plus économiquement possible toutes sortes de produits gaz ou liquide, soit par un stockage aérien soit par un stockage souterrain.

Les risques de pollution engendrés par cette activité sont généralement attribués aux :

- rejets des eaux de décantation ;
- déversements et fuites d'hydrocarbures au niveau des bacs et des conduites ;
- rejets de résidus de nettoyage des bacs.

## II-2-5- LE TRAITEMENT DES HYDROCARBURES

Les hydrocarbures (pétrole ou gaz) sortent souvent du puits sous forme de mélange liquide-gaz, accompagnés d'impuretés telles que l'eau, le sel et le sable. Ces hydrocarbures sont collectés par des conduites et évacués vers un centre de traitement [12]. Le traitement comporte d'une part une élimination aussi complète que possible des impuretés et d'autre part, une séparation des hydrocarbures en une phase liquide et une phase gazeuse.

Les risques de pollution engendrés par cette activité sont généralement attribués aux :

- rejets des divers produits utilisés pour le traitement des hydrocarbures ;
- déversements et fuites en surface d'hydrocarbures à partir des centres de traitement.

## II-2-6- LE TRANSPORT PAR CANALISATION

Contrairement au concept familier de transport conventionnel où le produit à transporter est fixe alors que le moyen de transport est en mouvement, le transport des hydrocarbures inverse ces fonctions : c'est le produit (hydrocarbures) qui est en mouvement alors que le moyen de transport (pipe line) est fixe.

Pour les hydrocarbures liquides tels le pétrole brut ou les condensats, il est nécessaire de les pousser en exerçant une force par le biais de stations de pompage ou de poussée réparties tout le long d'un pipe line. Ce genre d'ouvrage est appelé **oléoduc** [12]. Pour le gaz il est nécessaire de le comprimer au moyen de station de compression installées le long de ce que l'on appelle alors un **gazoduc**.

Les risques de pollution engendrés par cette activité sont généralement attribués aux:

- déversements en surface suite à des percements de conduites ou des éclatements ;
- fuites en profondeur des canalisations de transport.

### III- NORMES ET REGLEMENTATIONS EN MATIERE DE PROTECTION DES SOLS

En Algérie les grands principes qui régissent la réglementation en matière de protection du sol et du sous-sol sont formulés par les textes suivants :

- La loi n°83-03 du 05/02/1993, prend en considération la pollution du sol. Le législateur définit les déchets et pose les principes et les règles générales de leur gestion [15]. Concernant cette dernière, la loi fait obligation à tout détenteur ou producteur de déchets d'assurer ou de faire assurer leur élimination en évitant seulement, et non en supprimant, les effets néfastes sur le sol, la faune, la flore, etc...
- Le décret exécutif n°93-160 du 10/07/1993, réglemente le déversement des huiles et lubrifiants aussi bien dans le milieu naturel que dans le réseau d'assainissement. [15]
- Le décret exécutif n°93-162 du 10/07/1993, fixe les modalités de récupération et de traitement des huiles usagées.
- Le décret exécutif n°94-43 du 30/01/1994, fixe les règles de conservation des gisements d'hydrocarbures et de la protection des aquifères.

L'Algérie a fixé des normes de rejets des eaux industrielles et en particulier des huiles, mais jusqu'à présent les normes et les seuils de contamination des sols et des eaux souterraines n'ont pas été établis.

Parmi les normes fixes qui définissent pour chaque polluant une valeur seuil facilitant les prises de décisions et permettant de dire qu'un sol doit être dépollué ou non, celles établies par la Hollande qui sont représentés par le tableau N° 3.

Le problème posé par de telles normes est qu'elles simplifient trop les situations et ne définissent pas les méthodes de mesure [16]. Elles ne tiennent pas en compte de :

- l'état du sol avant pollution (les bruits de fond géochimiques) ;
- l'utilisation ultérieure du sol ;
- la vulnérabilité du site (la proximité d'une nappe phréatique).

Les avantages de l'approche hollandaise sont :

- la simplicité d'emploi tant pour le diagnostic que pour les objectifs de traitement ;
- sa valeur exécutoire lorsqu'elle est reconnue ;

Des valeurs normalisées basées sur une évaluation des risques ont également été mises en place aux Etats-Unis. Dans ce cas, les normes prennent en considération les risques toxicologiques dus aux transferts de pollutions et des modes d'absorption. Cette méthode est malheureusement longue et coûteuse et implique une modélisation complexe difficile, voire impossible à construire du fait de la multiplicité des paramètres [16].

**Tableau N° 2: Valeurs limites maximales des paramètres de rejet des installations de déversement en Algérie [17].**

<i>PARAMETRES</i>	<i>UNITES</i>	<i>VALEURS MAXIMALES</i>
Température	°C	30
PH	-	5.5 à 8.5
Mes	mg/l	30
DBO <sub>5</sub>	mg/l	40
DCO	mg/l	120
Azote	mg/l	40
Phosphates	mg/l	02
Cyanure	mg/l	0.1
Aluminium	mg/l	05
Cadmium	mg/l	0.2
Chrome 3+	mg/l	03
Chrome 6+	mg/l	0.1
Fer	mg/l	05
Manganèse	mg/l	01
Mercure	mg/l	0.01
Plomb	mg/l	01
Cuivre	mg/l	03
Zinc	mg/l	05
Nickel	mg/l	05
Huiles et graisses	mg/l	20
Hydrocarbures	mg/l	20
Phénols	mg/l	0.5
Solvant organique	mg/l	20
Chlore actif	mg/l	01
PCB	mg/l	0.001
Détergents	mg/l	02
Tensioactifs anioniques	mg/l	10

**Tableau N°3 : Normes Hollandaises de qualité des sols. [16]**

mg/Kg de matière sèche	A Seuil de référence	B Seuil de risque	C Seuil de danger
<b>METAUX LOURDS</b>			
As	20	30	50
Cd	1	5	20
Co	20	50	300
Cr	100	250	800
Cu	50	100	500
Hg	0.5	2	10
Ni	50	100	500
Pb	50	150	600
Zn	200	500	3000
<b>COMPOSES AROMATIQUES</b>			
Benzène	0.01	0.5	5
Ethylbenzène	0.05	5	50
Toluène	0.05	3	30
Xylène	0.05	5	50
Phénol	0.02	1	10
Total composés aromatiques	0.1	7	70
<b>HYDROCARBURES POLYCYCLIQUES (HAP)</b>			
Naphtalène	0.01	5	50
Anthracène	0.1	10	100
Phénanthrène	0.1	10	100
Fluoranthène	0.1	10	100
Pyrène	0.1	10	100
Benzo(a)pyrène	0.05	1	10
Total HAP	1	20	200
<b>AUTRES COMPOSES</b>			
Pesticides	0.1	2	20
Cyclohexane	0.1	5	60
Styrène	0.1	5	50
Huiles minérales	100	1000	5000
PCB (total)	0.05	1	10



## IV- LES TECHNOLOGIES DE REHABILITATION DES SOLS CONTAMINÉS PAR LES HYDROCARBURES

Comme la plupart des dépollutions, il n'existe pas une technique exclusive utilisable dans toutes les circonstances. La solution est souvent une combinaison de plusieurs techniques qui doivent être choisies en fonction de la nature du sol et des polluants, du taux de dépollution souhaité, des délais, de l'espace, et de l'argent à investir.

Le but de la dépollution des sols est de restituer les sites dans un état aussi proche que possible de l'état antérieur à la pollution. En outre, la technique de dépollution ne doit pas être plus polluante que le résultat de la dépollution, c'est à dire qu'il ne doit pas y avoir transfert de la pollution.

Les opérations de traitement des sols pollués peuvent se faire en plusieurs manières :

- **LE TRAITEMENT " OFF SITE "**

Les déchets sont traités sur des sites appropriés, après excavation et transport, comme une usine d'incinération ou un centre de traitement, ces déchets peuvent être directement la terre et les eaux polluées, mais il s'agit le plus souvent de gâteaux extrêmement pollués provenant d'un précédent traitement.

- **LE TRAITEMENT " IN SITU " ET " SUR SITE "**

Les opérations de décontaminations "in situ" sont réalisées sur le site même sans aucune excavation, ils sont souvent utilisées lorsque le sol est pollué en profondeur. Cependant les opérations de décontaminations "sur site" consistent à excaver et traiter les eaux et la terre sur le site même.

- **LE CONFINEMENT**

La terre et les eaux polluées sont laissés sur le site, cependant elles sont isolées pour empêcher la migration. Il ne s'agit pas à proprement parler d'un traitement de la pollution, mais d'une mise en sécurité du site.

Pour ces quatre manières de traitement des sols on peut utiliser trois grands procédés : *physico-chimiques, thermiques, et biologiques*. Sur un site il n'y a pas de solution miracle et c'est une combinaison de différentes solutions. Par exemple pour améliorer l'efficacité d'un traitement biologique, on peut réaliser des traitements combinés (dont l'efficacité doit être systématiquement vérifiée a priori lors des essais de faisabilité) à l'aide de traitements chimiques utilisant des oxydants (réduction de la taille moléculaire des polluants ayant un nombre de cycle élevés) ou des surfactants (solubilisation des polluants et donc accroissement de la biodisponibilité, c'est-à-dire de l'accessibilité des polluants aux micro-organismes) [18].

### IV-1- PROCÉDES PHYSICO-CHIMIQUES

Les procédés physico-chimiques mis en œuvre pour traiter les sols contaminés utilisent soit la destruction ou la neutralisation des polluants, soit leur récupération et concentration.

Plusieurs techniques sont mises en œuvre tels : la stabilisation/solidification ; le lavage ; la ventilation ; le stripping ; et l'extraction électrique.

Ces procédés sont reconnus pour leur fiabilité et efficacité au traitement, bien qu'ils requièrent parfois beaucoup d'énergie.

Mais ils sont de loin plus économiques que les procédés thermiques. Cependant dans certains cas, la technologie utilisée peut avoir un impact non négligeable sur l'environnement.

## IV-1-1- LA STABILISATION/ SOLIDIFICATION

C'est une technique qui permet de bloquer durablement les polluants dans une matrice solide. Elle peut se faire à l'aide de liants, mais aussi par apport d'une grande quantité de chaleur : on parle alors de vitrification et de céramisation [19].

Les techniques de stabilisation/solidification ont pour but de :

- Maintenir la pollution dans la matrice solide (stabilisation),
- Minimiser les contacts entre la zone polluée et le sol,
- Rendre les sols pollués facilement manipulables (solidification).

## IV-1-2- LE LAVAGE

Le lavage des sols consiste en plusieurs opérations :

- un tri granulométrique préalable des terres permettant de séparer les particules grossières des particules les plus fines (diamètre inférieur à  $63\mu\text{m}$ ) sur lesquels la pollution a tendance à se concentrer [18]. Les particules fines sont en général incinérées.
- Une élimination des polluants liée aux particules les plus grossières peut se faire selon plusieurs méthodes, dont les plus courantes sont :
  - l'extraction par solvant ;
  - la flottation, qui consiste en une mise en solution du sol dans l'eau contenant un agent chimique ayant des affinités avec les polluants. Un système d'insufflation d'air facilite la remontée à la surface de l'ensemble "agent chimique/polluant", séparé ensuite par écrémage. L'eau subit ensuite un traitement physico-chimique et /ou biologique ;
  - les techniques qui utilisent les forces mécaniques pour détacher les polluants des particules de sol (jets d'eau à haute pression, cyclone).

Le lavage des sols est un procédé moins cher que le traitement thermique [18]. Il permet la réduction du volume à traiter (pollution concentrée sur les fines) et la récupération du sol. Une pollution résiduelle peut cependant subsister. De plus, le pourcentage de particules fines doit être limité pour éviter un trop fort volume envoyé en incinération.

Les autres techniques de traitements physico-chimiques des sols, la ventilation, le stripping, et l'extraction électrique, sont résumées dans le tableau N°4.

## IV-2- PROCÉDE THERMIQUE

Il s'agit bien d'un procédé sur site ou off site. Ils sont adaptés dans le cas de sols pollués par des matières organiques facilement oxydables et largement convertibles en  $\text{CO}_2$  et  $\text{H}_2\text{O}$ .

Au préalable le sol est excavé pour être, broyé et tamisé afin d'extraire les gros objets (métalliques par exemple), et enfin traité par voie thermique [20].

Il existe deux méthodes de chauffage :

- Le chauffage direct (le traitement thermique dans un centre collectif) : le sol est chauffé à  $1000\text{ }^\circ\text{C}$  directement en y introduisant de l'oxygène. C'est une méthode simple mais qui coûte cher en énergie.
- Le chauffage indirect (traitement thermique sur site) : le sol est placé dans un four étanche. Il n'est pas en contact direct avec la source de chaleur. La température avoisine  $400\text{ à }500\text{ }^\circ\text{C}$ , et est suffisante pour extraire les polluants par désorption thermique.

Il existe plusieurs sortes de fours : fours rotatifs, four à chauffage indirect ou four à lit fluidisé ou encore calcination directe.

Le plus grand avantage de ces techniques réside dans la rapidité et l'efficacité de destruction des polluants organiques concentrés ou des contaminants difficilement biodégradables [20]. Toutefois, les techniques d'incinération suscitées ne permettent d'éliminer que les composés volatils, et font perdre au sol toute valeur fertilisante. En outre l'humidité du sol entraîne un surcoût énergétique,

**Tableau N° 4 : Quelques techniques des traitements physico-chimiques.**

Techniques	Principes	Avantages	Inconvénients (limites)
Ventilation (venting)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Mise en dépression du sol contaminé par une pompe à vide ;</li> <li>- aspiration de vapeurs polluées qui peuvent être traitées par oxydation, ou par adsorption sur charbon actif.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- technologie simple ;</li> <li>- très fiable;</li> <li>- performante et faible coût ;</li> <li>- rendement de 95 %</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- applicable seulement aux polluants volatils ou semi-volatils ;</li> <li>- elle perd son efficacité avec des sols argileux ;</li> <li>- utilisable pour les sols non saturés.</li> </ul>
Stripping	<ul style="list-style-type: none"> <li>- injecter de l'air ou de la vapeur sous pression dans le sol grâce à des puits d'injection pour mettre en vapeur les composés volatils ;</li> <li>- récupérer les vapeurs toxiques, grâce à des puits d'extraction, qui sont traitées par adsorption sur charbon actif ou autre procédé.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- fiable ;</li> <li>- faible coût.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- applicable pour les polluants volatils ;</li> <li>- sol perméable à l'air</li> <li>- sols non saturés.</li> </ul>
L'extraction électrique	<p>Un courant électrique circule dans le sol par l'intermédiaire d'électrodes poreuses, ainsi les particules chargées se déplaçant vers les électrodes de charges opposées, et peuvent être récupérés par pompes.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- utilisable pour une grande variété de sols (argileux, sableux...).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- il faut que le sol possède une grande teneur en eau et son pouvoir tampon est faible.</li> </ul>

#### IV-3- PROCÉDES BIOLOGIQUES

Le "Bioprocédés" constituent l'ensemble des procédés d'élimination de polluants, organiques et/ou minéraux, présents dans des sols, des boues, des sédiments ou des effluents liquides sous l'action de micro-organismes (bactéries, levures, champignons).

Selon le mode d'action des micro-organismes et la nature des polluants on peut distinguer quatre types de procédés : *Biorémédiation* , *bioréduction*, *biolixiviation*, *biosorption* [21].

- **Bioréduction** : réduction des composés oxydés (nitrates, oxydes métalliques) par voie biologique (micro-organismes vivants).
- **Biolixiviation** : extraction des métaux contenus dans une boue, un sol, un sédiment ou un minerai par solubilisation provoquée par des micro-organismes.
- **Biofixation/Biosorption** : ``fixation`` de polluants, la plupart du temps, métalliques, présents dans un effluent liquides sur des micro-organismes morts ou vivants. Les ``biosorbants`` peuvent être comparés, par certains aspects, aux résines échangeuses d'ions.
- **Biorémédiation** : décomposition d'un substrat organique, sous l'action de micro-organismes vivants, et qui fera l'objet de notre étude.

#### IV-3-1- PRINCIPES DE BASES DE LA BIOREMEDIATION

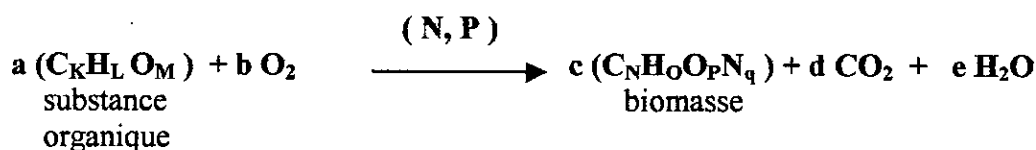
La *biorémédiation* est une technique de décontamination, fondée sur la meilleure stimulation biologique possible des micro-organismes adaptés à des contaminants. Des interactions optimales, entre les micro-organismes d'une part, et des substances nutritives d'autres part, jointes, à un approvisionnement optimal en oxygène, garantissent une décomposition des polluants, la meilleure et la plus rapide possible.

Au cours du traitement par biorémédiation , la structure du sol demeure inchangée, et la qualité du sol est intacte [3]

#### A- PROCESSUS DE BIODEGRADATION

On peut donner au terme biodégradation le sens général de `` tout processus à médiation biologique, qui entraîne la conversion d'une substance organique en dérivés ultimes organiques et inorganiques chimiquement distincts de la substance initiale ``.

La réaction de la biodégradation microbienne est la suivante :



La biodégradation des contaminants organiques s'effectue sous certaines conditions de pH, d'humidité, d'oxygène, et de température, qui sont fonction de la nature des polluants, de la nature du sol et de la microflore. Le ralentissement de biodégradation dans un milieu pollué est principalement attribué au déficit en azote et en phosphore [3].

Ces considérations ont entraîné la stimulation de l'activité bactérienne en enrichissant le sol par des éléments nutritifs créant des conditions du milieu favorables au développement des micro-organismes.

## **B- LA CROISSANCE MICROBIENNE**

### **• LA COURBE DE CROISSANCE MICROBIENNE**

En milieu non renouvelé (discontinu) qui ne subit aucune modification par le fait d'une arrivée ou d'un écoulement quelconque la croissance des bactéries dans une solution nutritive déterminée est limitée et suit les phases suivantes de croissance (fig.2) :

#### **1- La phase d'adaptation ou de latence**

C'est une période d'adaptation des micro-organismes inoculés à leurs nouvelles conditions de vie. Il s'agit d'une période au cours de laquelle la cellule synthétise les enzymes nécessaires pour métaboliser le substrat [22].

Durant cette phase, il n'y a pas de multiplication cellulaire, et la vitesse spécifique de croissance est nulle.

#### **2- La phase de d'accélération**

Lorsque la phase d'adaptation est terminée, on assiste au démarrage de la croissance proprement dite : la reproduction cellulaire commence.

La concentration cellulaire, augmente, lentement tout d'abord puis plus vite. La vitesse de reproduction augmente aussi, ainsi que la vitesse spécifique de croissance.

#### **3- La phase exponentielle**

Lorsque la vitesse de reproduction cellulaire a atteint son maximum, c'est la phase exponentielle qui commence est qui va durer tant que la vitesse de reproduction sera constante. Elle peut être évaluée simplement par le temps de doublement de la population microbienne (temps de génération) qui, tout au long de la phase exponentielle prend sa valeur minimal [22].

Au cours de cette phase, la vitesse de croissance augmente, et ce proportionnellement à la concentration cellulaire, d'où l'allure exponentielle du phénomène. Cette phase a l'allure d'une droite

$$\frac{dX}{dt} = \mu_m \cdot X$$

#### **4- La phase de ralentissement**

L'épuisement du milieu de culture du fait de la croissance, et l'accumulation dans beaucoup de cas de produits inhibiteurs résultant du métabolisme microbien, conduit à la diminution de la vitesse de croissance et de la vitesse spécifique de croissance, bien que la concentration cellulaire continue à augmenter.

#### **5- La phase stationnaire**

Lorsque le milieu de culture devient de moins en moins favorable à la croissance, les bactéries passent en phase stationnaire. Le taux de croissance diminue et tend vers zéro, bien que l'activité enzymatique et l'excrétion de produits peut se poursuivre [23].

#### **6- La phase de déclin**

Le nombre des cellules viables diminue, du fait de la mortalité dont le taux va progressivement augmenter et parallèlement la concentration cellulaire décroît.

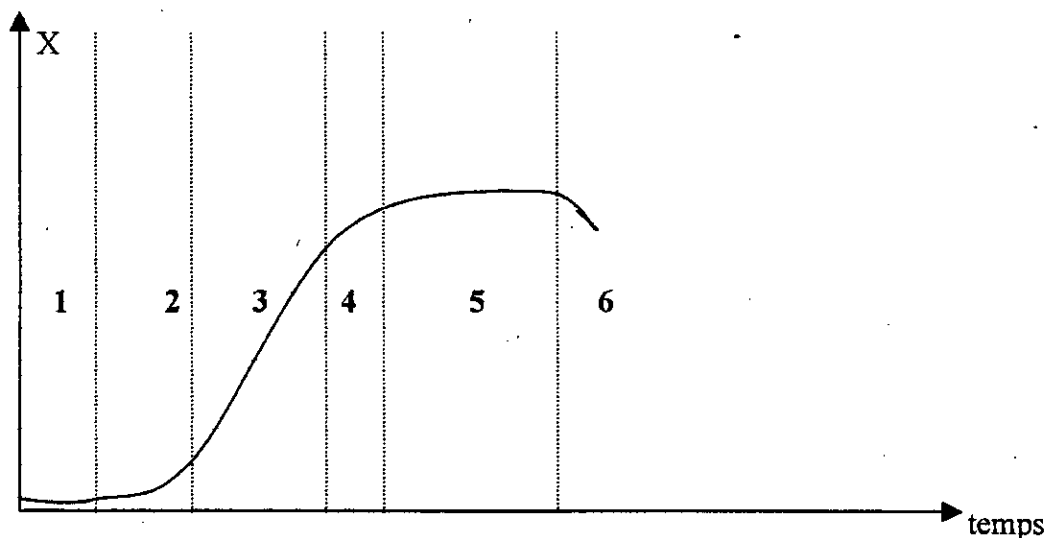


fig. 2 phases de croissance microbienne [22].

## C- L'ACTIVITE MICROBIENNE

La biodégradation des hydrocarbures est un phénomène connu, décrit par Beerstecher en 1954 [24], depuis cette époque plus de deux cents micro-organismes (bactéries, levures, champignons) ont été reconnus capable de transformer les hydrocarbures.

Ce sont pour la plupart des espèces aérobies. Selon Zobelle (1963) [24] soixante dix espèces microbiennes peuvent dégrader les hydrocarbures dans le milieu aquatique.

D'après R.M. Atlas (1973) [24], les bactéries actives les plus fréquentes sont du genre : *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Arthrobacter*, *Micrococcus*, *Vibrio*, *Acinetobacter*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Candida*, *Rhodotorula*, *sporobolomyces*.

Les hydrocarbures aliphatiques à chaîne courte sont oxydés par les *Pseudomonas*, les *Flavobactérium*, les *Nocardia* [9], alors que pour ceux à chaîne longue on trouve des *Pseudomonas*, les *Nocardias*, les *Micrococcus* et les *Corynebactérium*.

En général, les *Pseudomonas* oxydent complètement les hydrocarbures aliphatiques alors que les Microcoques et les *Nocardias* provoquent une oxydation incomplète avec accumulation de produits intermédiaires, d'où généralement l'action combinée des micro-organismes dans la nature pour dégrader complètement les hydrocarbures (Ballèviore et Coll.1963) [25].

## D- LA BIODEGRADATION DES HYDROCARBURES

La dégradation microbienne se déroule préférentiellement sur les composés à faible poids moléculaires.

Les alcanes et les aromatiques à faible poids moléculaires se dégradent rapidement, sont suivis par les alcanes à poids moléculaire le plus fort puis les cycloalcanes ; les aromatiques polynucléaires sont dégradés lentement (P.L. Bishop 1983) [9].

### • LA BIODEGRADATION DES ALCANES

Les micro-organismes se développent plus facilement sur les alcanes de 9 à 22 atomes de carbones (P.L.Bishop) [24].

Le taux de dégradation devient plus faible avec l'augmentation du poids moléculaire des alcanes, et c'est dû à la surface de contact réduite entre la molécule et les micro-organismes.

Les micro-organismes attaquent les alcanes par l'extrémité de la chaîne pour donner un alcool, éventuellement un aldéhyde et enfin un acide gras au même nombre d'atome de carbone. Ce dernier peut être scindé en métabolites assimilables par des réactions d'oxydation  $\beta$ -oxydation ou  $\omega$ -oxydation, ou recombinaison avec l'alcool pour donner un ester ( fig.3).

#### • LA BIODEGRADATION DES ALCÈNES

Les alcènes de 10 à 18 atomes de carbones sont de moins bons substrats que les alcanes correspondants (P.L.Bishop) [24].

Les alcènes à nombre pair d'atomes de carbone subissent une attaque diterminale et donnent un acide gras saturé à  $(2n-1)$  atomes de carbones. (n : le nombre d'atome de carbone).

Les alcènes à nombre impair d'atomes de carbone se transforment en acides  $\omega$ -insaturés à même nombre d'atomes de carbone (fig.4 ).

#### • LA BIODEGRADATION DES CYCLANES

Il était répandu que les composés cyclanes étaient résistants à la biodégradation, mais plusieurs souches bactériennes ont montré un développement en présence des cyclanes, surtout lorsque ce dernier constitue la seule source de carbone (Foster 1962) [24].

#### • LA BIODEGRADATION DES AROMATIQUES

La vitesse de la biodégradation des aromatiques est fonction du poids moléculaire, de la configuration du cycle et du nombre de cycles [24].

Le noyau aromatique s'oxyde par double hydroxylation en position vicinale. Il s'en suit une rupture du cycle, soit entre les deux atomes porteurs de groupements hydroxylés, soit entre un de ces carbones et celui adjacent.

Le principal produit de biodégradation du benzène est le catéchol (fig.5).

**Tableau N°5 : Produits dérivés de la dégradation d'hydrocarbures obtenues par croissance de divers micro-organismes[9]**

Substrats	Espèces	Produits
n-alcanes	Corynbactérium hydrocarboclatus	Acide L-glutamique
n-alcanes	Mycobactérium smegmatis	Caroténoïdes
Naphtalène	Pseudomonas aeruginosa	Acide salicylique
1,2, propanédiol	Arthrobacter oxdans	Acide lactique
Toluène	Pseudomonas multivorans	PyroInitrite

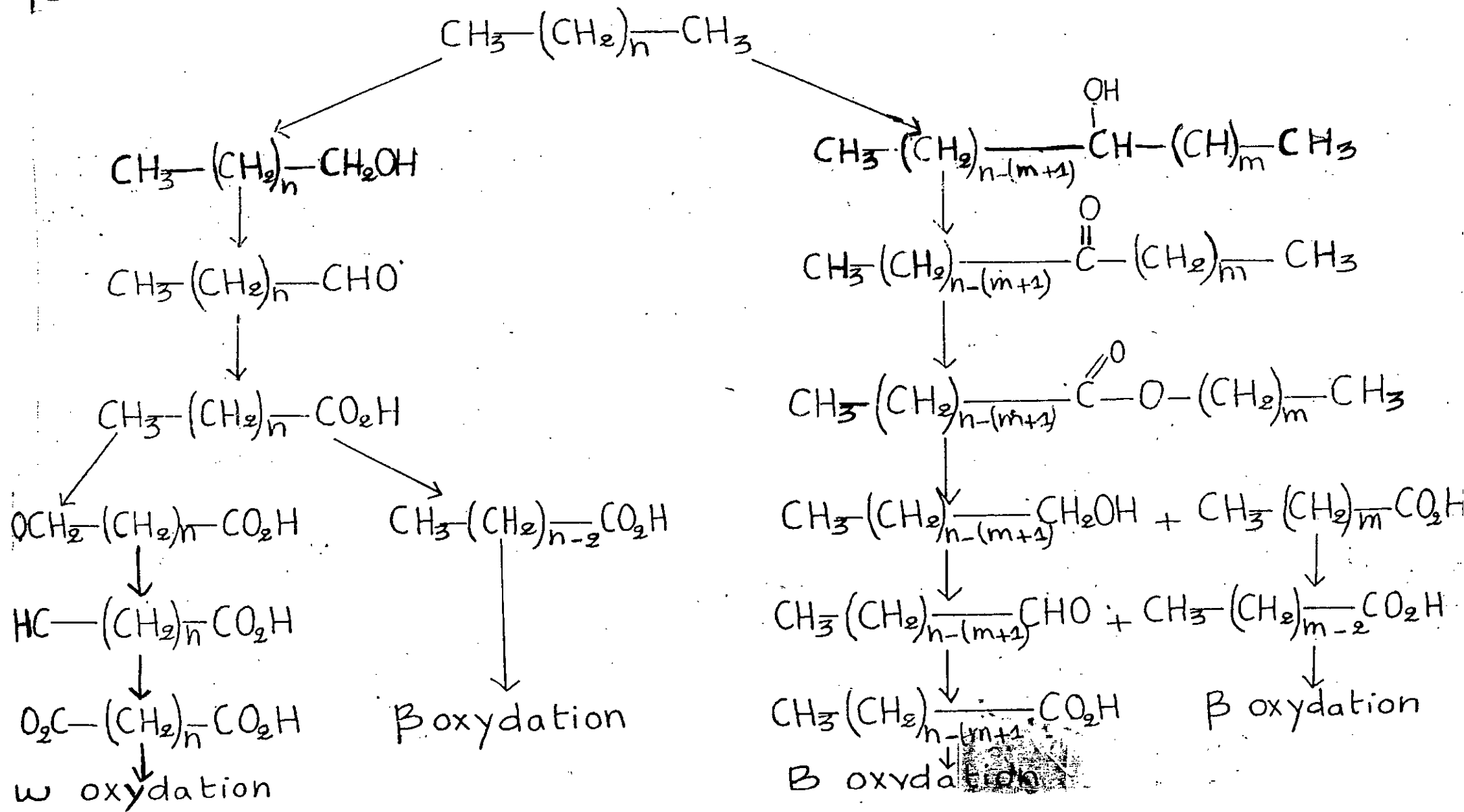


Fig.3 : Le métabolisme de biodégradation des alcanes [24].



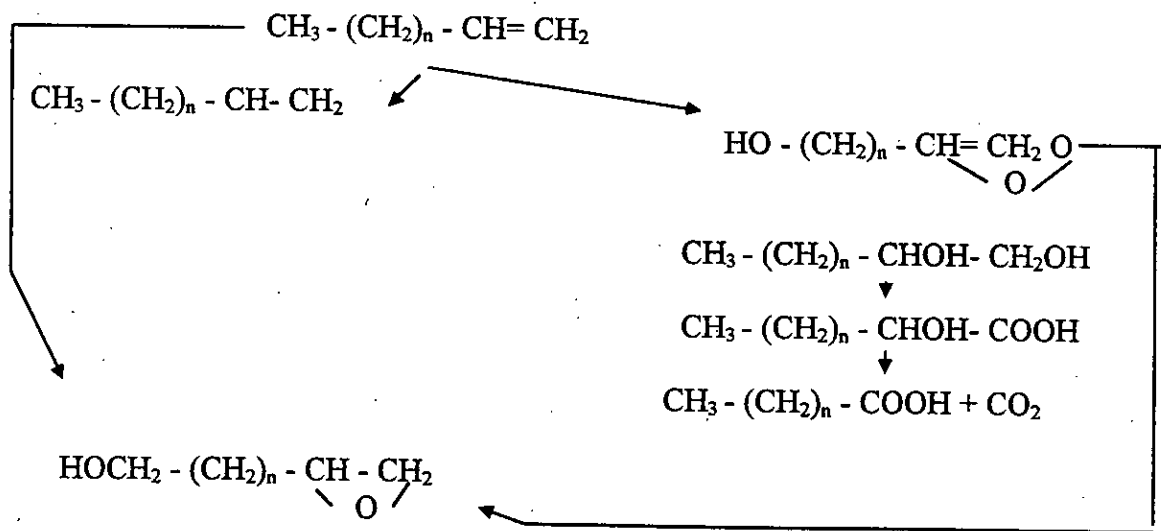


Fig.4 : Le métabolisme de biodégradation des alcènes [22].

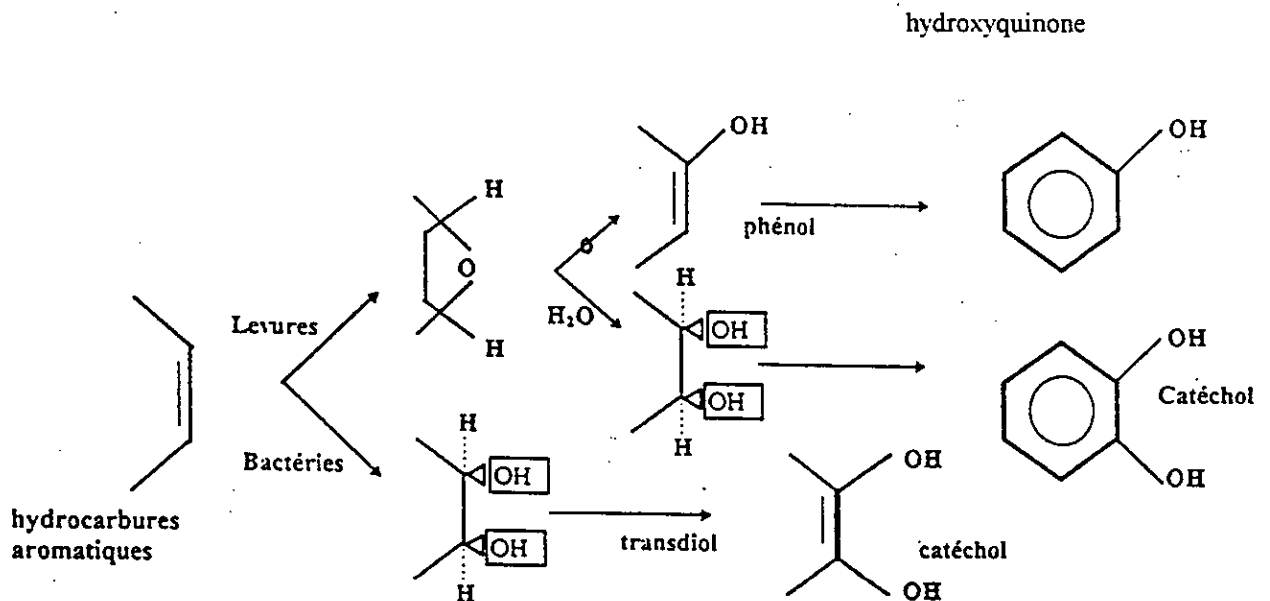


Fig.5 : Le métabolisme de biodégradation des aromatiques [22].

## E- LE MECANISME DE BIODEGRADATION DES HYDROCARBURES

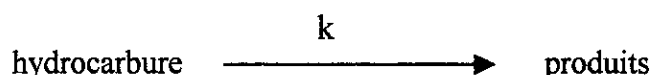
Jusqu'à présent le mécanisme d'assimilation des hydrocarbures par les micro-organismes est comme inconnu. Deux théories sont proposées, l'une considère que le contact est direct entre la cellule microbienne et les gouttelettes d'hydrocarbures assurant à ces dernières leur transfert à l'intérieur de celle-ci.

L'autre théorie considère que les cellules microbiennes utilisent les hydrocarbures dissous dans la phase aqueuse. Mais vu la solubilité très basse des hydrocarbures dans l'eau (ppm), il est nécessaire d'expliquer comment le transfert d'hydrocarbures dans la cellule peut avoir lieu dans ce cas.

S. Aida et Coll. (1969) [25], supposent que les gouttelettes d'hydrocarbures de dimension de l'ordre du micron sont utilisées par les micro-organismes comme si elles étaient à l'état dissous. Par contre G. Goma et Coll. (1973) [25], considèrent que les hydrocarbures sont solubilisés dans la phase aqueuse par la présence de surfactants sécrétés par les micro-organismes.

## F- LA CINETIQUE DE DEGRADATION DES HYDROCARBURES

La dégradation biologique d'un hydrocarbure est assimilée à une réaction d'ordre 1 [26]:



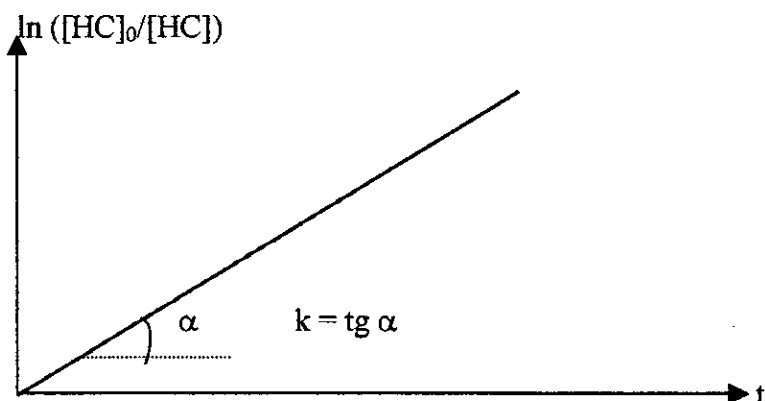
$k$  : constante de vitesse de dégradation

$$-\frac{d[HC]}{dt} = k[HC]$$

$$\int_{[HC]_0}^{[HC]} -\frac{d[HC]}{[HC]} = \int_0^t k \cdot dt$$

$$\ln \frac{[HC]_0}{[HC]} = kt$$

$[HC]_0$  : concentration de l'hydrocarbure à  $t = 0$ .



## G- LES FACTEURS INFLUENCANT LA BIODEGRADATION DES HYDROCARBURES DANS LE SOL

Divers facteurs peuvent influencer la biodégradation, parmi ces principaux facteurs, on peut citer :

**1- La texture du sol :** les sables et les graviers sont les sols les plus favorables au transport des nutriments, au contraire des sols argileux.

**2- Caractéristiques biologiques du sol :** la biodégradation est fonction du nombre, et des espèces bactériennes qui se trouvent dans le sol.

**3- Structure, concentration et caractéristiques physico-chimiques des polluants :** plus la structure moléculaire est complexe, plus le composé est difficile à dégrader et des concentrations trop élevées des polluants peuvent être toxiques pour les micro-organismes.

**4- Les paramètres environnementaux :**

- **Le pH :**

Les valeurs de pH du sol sont déterminantes quant à l'activité des micro-organismes et à leur sélection. Le pH est également important pour la solubilité des éléments nutritifs et leur disponibilité.

L'efficacité de la biodégradation des hydrocarbures est généralement plus élevée sous des conditions de pH légèrement alcalin (fig.6) [27].

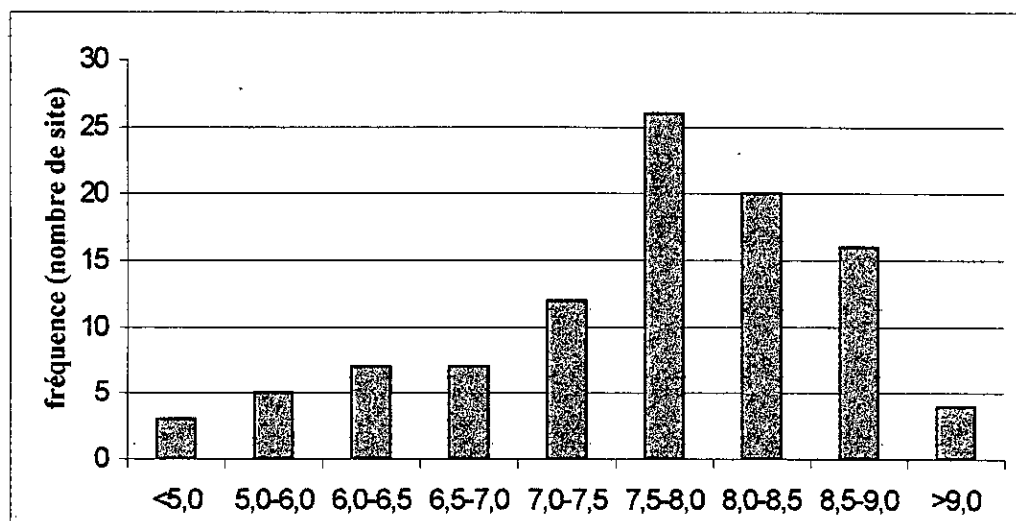


Fig.6 : Le pH des sols mesuré pendant la biorémediation de différents sites (Dragun 1988) [27].

- **L'humidité :**

L'humidité est un paramètre important dans le processus de biodégradation. L'eau intervient dans l'activité biologique des micro-organismes de plusieurs façons :

a- directement puisqu'elle est indispensable au développement des micro-organismes dont elle est l'un des principaux constituants ;

b- indirectement en transportant diverses substances dont les nutriments.

Certains travaux démontrent que la biodégradation aérobie des composés organiques simples ou complexes est meilleure à des taux de rétention d'eau de 50 à 70 % [28]. Ils

considèrent qu'il y a inhibition de l'activité biologique à des valeurs plus basses que 50%. Des valeurs plus que 70% peuvent interférer avec l'aération du sol.

- **La température :**

La température agit sur la composition, la multiplication aussi bien que sur le métabolisme et la croissance de la microflore du sol.

Les températures optimales de la croissance et de l'activité des réactions biochimiques des micro-organismes du sol varient considérablement suivant les espèces. Il existe trois catégories de micro-organismes selon leurs températures optimales de croissance :

- *Psychrophiles* ( $0^{\circ} \div 15^{\circ}\text{C}$ ) ;
- *Mésophiles* ( $20^{\circ} \div 40^{\circ}\text{C}$ ) ;
- *Thermophiles* ( $45^{\circ} \div 60^{\circ}\text{C}$ ).

Nakasaki 1985, Strom 1985, et Forgarty 1991 [29], affirment que la plupart des micro-organismes adaptés aux hydrocarbures sont mésophiles (plus performants à  $35^{\circ}\text{C}$ ).

- **L'oxygène :**

Les exigences des micro-organismes vis-à-vis de l'oxygène sont diverses. On distingue des micro-organismes **aérobies stricts** qui ne peuvent vivre qu'en présence d'air et consomment l'oxygène pendant leur développement et leurs activités métaboliques ; des micro-organismes **anaérobies stricts** qui se développent en l'absence d'air et des **aérobies-anaérobies facultatives** pouvant indifféremment se développer en présence ou en l'absence d'oxygène.

Les bactéries aérobies consomment l'oxygène pour oxyder les composés organiques qui lui servent de nourriture.

L'oxygène est un facteur limitant dans le processus de biodégradation des hydrocarbures, d'où la nécessité d'une aération dans la plupart des applications.

La biodégradation anaérobie des hydrocarbures demeure un processus controversé et mal connu [30], [31]. De plus, de nombreux auteurs Berwick et Stafford 1988 [32], [33] affirment que cette biodégradation est négligeable dans les conditions d'anaérobiose.

- **Les nutriments :**

Les substances nutritives servent de matière première pour la croissance des micro-organismes [34].

À l'exception du carbone, de l'hydrogène, de l'oxygène et de l'eau les nutriments essentiels aux micro-organismes sont :

**1- Les macronutriments :**

- L'azote : représente 10 à 15 % du poids sec des cellules, c'est un élément indispensable à la constitution des molécules de protéines.
- Le phosphore : il entre dans la constitution des acides nucléiques, des phospholipides membranaires.

**2- Les microéléments :**

Ces éléments à l'état de trace sont nécessaires à l'activité microbienne (Ca, Co, Mn, etc...).

**Tableau N°6 : Nutriments recommandés [34]**

<b>Macronutriment</b>	<b>Micronutriment</b>	<b>Auteurs</b>
Ca, Mg, N, P, K, S	B, Co, Cl, Cu, Fe, Mo, Mn, Na, Si, V, Zn	Dupont et Col., 1988
Ca, Fe, N, Na, Mg, P, S	-	Atlas, 1977

Lorsqu'un site est riche en carbone et pauvre en éléments nutritifs (azote, phosphore), les rapports C/N et C/P sont élevés et doivent être ajustés [34]. L'addition de ces éléments sera indispensable pour accélérer le processus de biodégradation des hydrocarbures.

D'après Dupont et Coll. (1988), Sims et Coll.(1990) et Moore (1992) [35], [36], la proportion de C/N/P recommandée est de 120/10/1. Par contre Hanstrveit et Coll. (1988), Dupont et Coll. (1991), Millet et Coll. (1991) [27], proposent une proportion C/N/P de 100/10/1.

### **IV-3-2- LES BIOTECHNOLOGIES DISPONIBLES**

Les biotraitements des sols contaminés par les hydrocarbures en fonction du sol, de la nature des polluants et des risques de contamination des eaux souterraines peuvent être réalisés soit en situ, soit sur site (on site) soit dans un bioréacteur.

Ces traitements utilisent le pouvoir d'autoépuration des micro-organismes présents dans le sol et adaptés aux conditions de leur milieu.

#### **IV-3-2-1- TRAITEMENTS IN SITU**

Le plus grand avantage de ces procédés c'est qu'ils n'y a pas d'excavation du sol. La flore microbienne adaptée à la biodégradation des hydrocarbures peut être stimulée sur le site même grâce à l'injection d'air et de nutriments.

En général, on utilise ces procédés dans les cas de risque de contamination de la nappe phréatique et/ou il est impossible d'excaver le sol.

### **A- BIOVENTILATION**

#### **• Description de la technologie**

La technologie de traitement de sols par bioventilation consiste à injecter de l'oxygène (air, eau oxygénée ou peroxyde d'hydrogène) [3] dans l'eau souterraine de façon à favoriser la biodégradation des contaminants organiques (hydrocarbures légers, essence, diesel) contenus dans la zone saturée d'eau et dans la zone insaturée (zone vadose). Les hydrocarbures volatils sont entraînés dans l'effluent gazeux.

Dans le cas de phase flottante, celle-ci doit être récupérée avant de procéder aux travaux de bioventilation.

La technologie repose sur un réseau d'injection d'air, un réseau de pompage à vide et une unité de biofiltration de l'air vicié [38]. Une soufflante de type régénérative peut être utilisée pour effectuer à la fois l'injection de l'air ou l'extraction des gaz viciés. L'automatisation du procédé est possible (fig. 7).

La durée de traitement pour des sols contaminés à l'essence varie entre 4 et 12 mois ; pour une contamination au diesel ou au mazout, il faut compter de 12 à 24 mois.

Les sols traités par bioventilation ne sont pas excavés et restent donc en place après les travaux de décontamination.

- **Limites d'application**

Pour que la technologie soit applicable, les sols à traiter doivent être suffisamment perméables, d'une perméabilité supérieure à 5÷10 cm/s (ceci exclut les sols à forte teneur en argile) [38].

Le procédé de bioventilation est adapté pour le traitement des hydrocarbures légers (essence, diesel...) qui doivent démontrer les caractéristiques suivantes [38]:

- pression de vapeur > 1 mm de mercure;
- solubilité < 20 000 mg/l;
- constante de Henry > 10<sup>-5</sup> atm. m<sup>3</sup>/mole.

## **B- BIOASPIRATION**

- **Description de la technologie**

La bioaspiration est un traitement qui permet de capter une gamme complète d'hydrocarbures pétroliers [39] plus ou moins volatils (des plus légers aux plus lourds) dans une variété de conditions souterraines.

Par l'application d'un gradient de pression, ce système effectue la décontamination simultanée des zones saturée et non saturée en combinant la bioventilation et l'extraction des hydrocarbures en phase libre [39]. Il permet également de traiter les contaminants en phase dissoute.

Les hydrocarbures en phase libre peuvent être extraits avec succès au cours des premiers efforts de décontamination. Enfin l'aération des sols favorise la biodégradation des contaminants résiduels par un apport d'oxygène.

Les liquides non aqueux légers et l'eau souterraine contaminée sont entraînés par la pompe à vide sous forme de gouttelettes à l'intérieur d'une veine d'air qui se déplace à grande vitesse. Un séparateur de liquide à vide élevé, sépare l'air des liquides avant qu'ils n'atteignent la pompe à vide.

La séparation subséquente, d'hydrocarbures liquides en phase libre et le traitement des contaminants en phase dissoute, pour satisfaire les normes de déversement de surface et/ou d'égout, peuvent être envisagés.

Différents procédés de traitement peuvent être adoptés in situ tel : séparation eau/huile, élimination par jet d'air, adsorption polymérique et /ou adsorption charbon/argile en phase liquide. Les gaz peuvent être traités également.

### **IV-3-2-2- TRAITEMENTS SUR SITE**

Ces techniques sont intéressantes, car elles peuvent se concevoir avec des technologies légères et donc à un coût attractif. Elles permettent également de traiter des quantités considérables de sols moyennement pollués et d'éviter le transport du sol à l'extérieur du site.

Le sol excavé est disposé en couche plus ou moins épaisses sur un parterre étanche. Deux types de traitement sont fréquemment utilisés :

- Biodégradation en piles (biopile);
- Epanchage contrôlé (land farming).

## **A- BIODEGRADATION EN PILES**

### **• Description de la technologie**

La biodégradation en piles est utilisée pour la décontamination de sols souillés par les hydrocarbures. Les sols sont alors excavés et transportés sur une plate-forme imperméable munie d'infrastructures pour l'aération forcée du sol, le captage et le traitement des eaux de lixiviation, ainsi que pour la filtration de l'air vicié (filtre à tourbe et/ou charbon activé). Des membranes recouvrent le sol, l'isolant des précipitations et minimisant la propagation des composés organiques volatils ainsi que les pertes de chaleur (fig.8) [40].

L'ensemble de ces infrastructures ainsi que l'ajout de nutriments, de surfactants, d'agents structurants (résidus de bois) et de cultures microbiennes permettent de maintenir des conditions optimales pour la biodégradation des contaminants organiques par des micro-organismes adaptés (température entre 20 et 40 °C, humidité à 85 % de la capacité de rétention d'eau du sol, débit d'air horaire qui varie avec la surface de la plate forme et avec l'épaisseur de la pile) [40].

La durée de traitement varie de deux à quatre semaines pour une contamination à l'essence, et de trois à six mois pour une contamination à l'huile de chauffage.

Lorsque la contamination affecte un sol à texture fine, le temps de traitement peut être multiplié par deux ou trois par rapport à un sol sableux.

En effet la biodégradation en pile est d'avantage adaptée aux sols ne contenant pas plus de 60% de silt et d'argile. Dans le cas de sols moins perméables, l'addition d'agents structurants tel les copeaux de bois, la paille, etc..., diminue la compacité et accroît la porosité et la perméabilité du sol.

Le caractère réfractaire de certains contaminants tel les hydrocarbures chlorés, et la toxicité de certains éléments présents en concentration élevée dans le sol (cuivre, plomb, mercure...) limite le processus de biodégradation.

Pour le traitement de l'effluent gazeux, un contrôle rigoureux des filtres permet d'assurer un rendement stable.

## **B- EPANDAGE CONTROLE (LAND FARMING)**

### **• Description de la technologie**

Cette biotechnologie est la plus ancienne des technologie on site utilisées. Elle consiste à étendre le sol en couche mince inférieure à 1÷1.5 m [3], [18] à l'air libre sur une surface imperméable.

La différence essentielle entre cette technique et la biodégradation en piles réside dans le mode d'aération [18]. Dans ce cas l'aération est mécanique et se fait par retournement périodique de la terre à l'aide d'engins spécialisés (tracteur, unité mobile munie de lame transversales rotatives) ce qui assure l'homogénéisation des sols contaminés (fig.9).

Cette technologie est efficace et économique pour traiter les hydrocarbures non volatils.

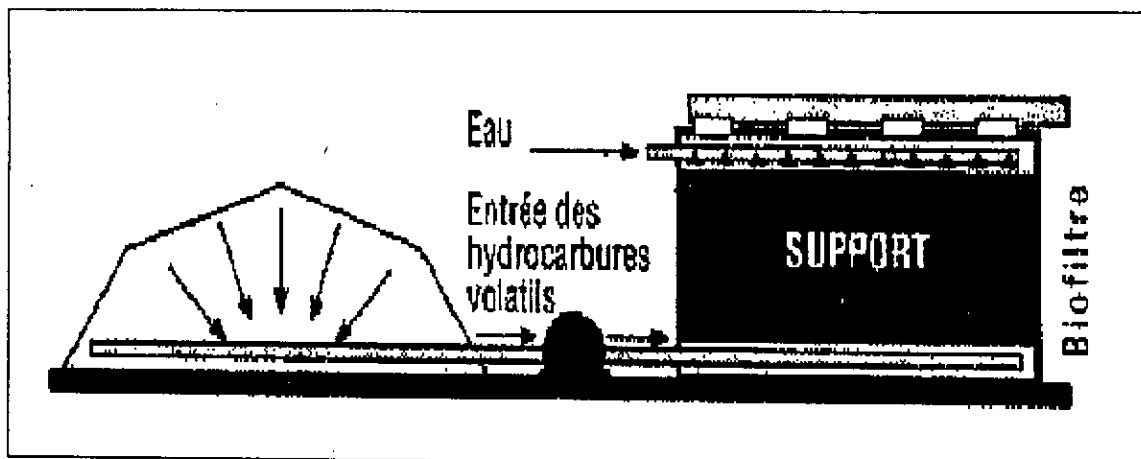


Fig.7 : Bioventilation [ 3].

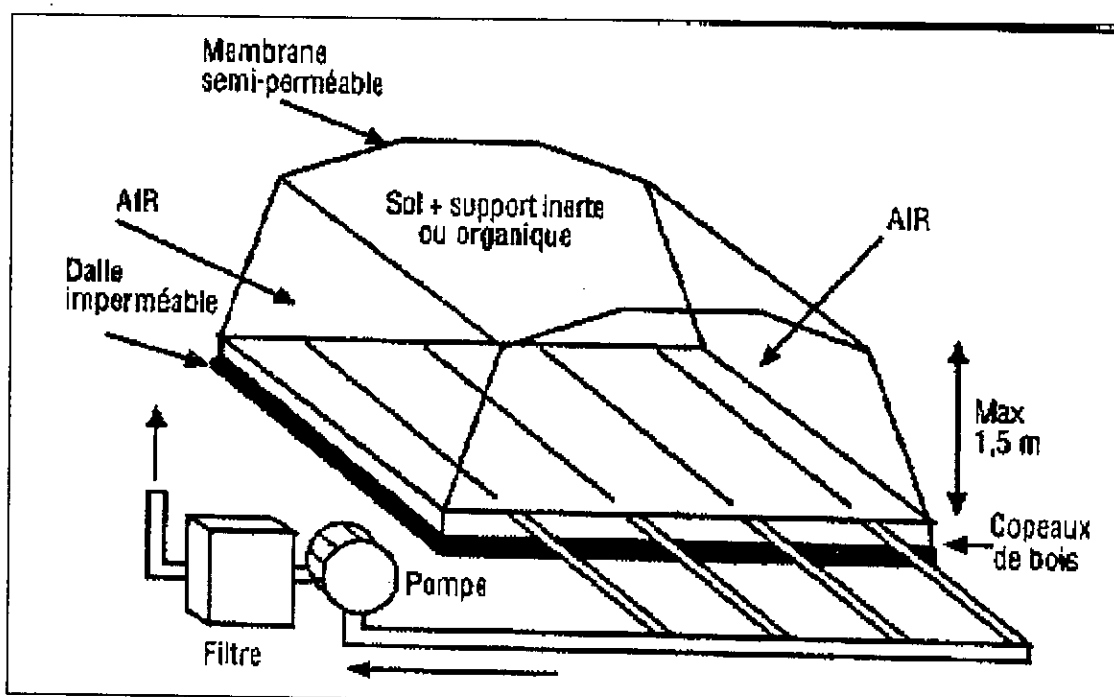


Fig.8 : Traitement en biopile [ 3].



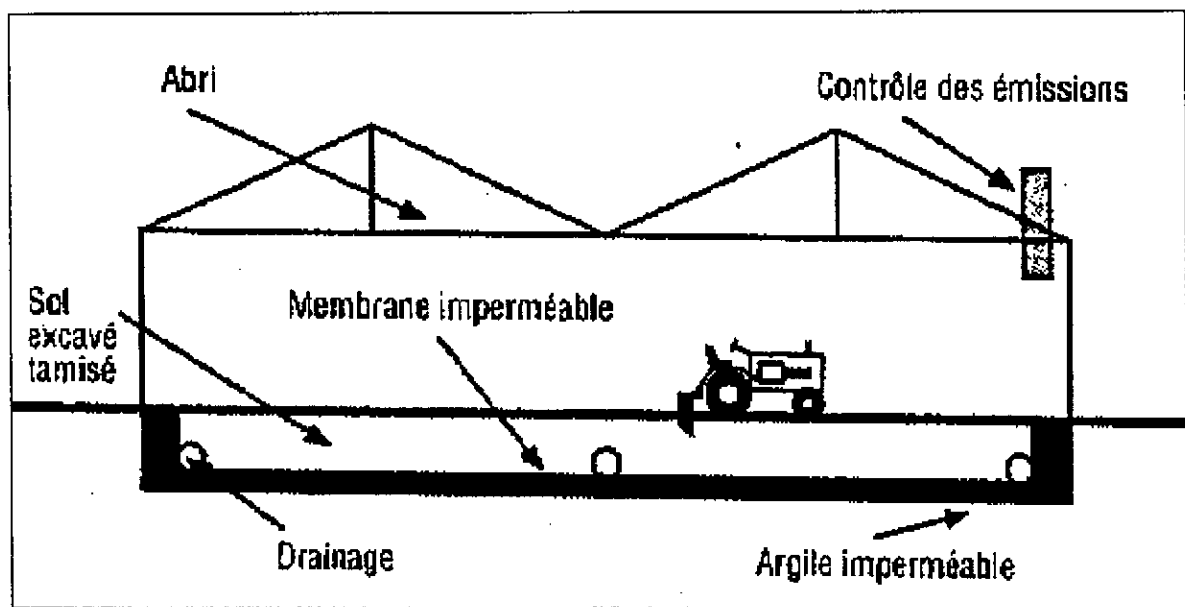


Fig.9 : Epandage contrôlé [ 3].

## **VI-3-2-3- LES BIOREACTEURS**

Un réacteur biologique c'est le cœur de tout procédé mettant en jeu une réaction biologique.

Dans un bioréacteur il y a deux phases :

- Une phase biotique : les micro-organismes, les enzymes...
- Une phase abiotique : le milieu de culture, l'eau...

Les bioréacteurs sont davantage utilisés lorsque la pollution est importante, et dans le cas où les micro-organismes ont des difficultés à se développer dans des conditions non contrôlées [18].

### **A- BASES MICROBIOLOGIQUES DE LA CONCEPTION DU BIOREACTEUR**

Le bioréacteur est conçu en fonction du type de processus qui doit s'y dérouler. Quelque soit le type de micro-organismes, le bioréacteur doit permettre un contact aussi bon que possible entre les deux phases, biotique et abiotique du système [41].

Le bon déroulement du procédé est lié aux phénomènes de transfert entre les cellules et le milieu de culture. Il s'agit tout d'abord du transfert de matière, du milieu extérieur vers la cellule pour ce qui est du substrat et des composés du milieu de culture nécessaire à la croissance cellulaire, et dans le sens inverse pour les produits du métabolisme.

Pour que les transferts puissent s'effectuer correctement, la répartition uniforme des cellules dans le milieu de culture doit être la meilleure possible.

La croissance microbienne est globalement exothermique. Le bioréacteur doit faciliter les transferts de chaleur, du milieu vers les cellules, tout d'abord, puis à l'inverse au fur et à mesure que la croissance cellulaire se produit.

La répartition homogène des cellules dans le milieu évite alors tout phénomène de surchauffe locale, dangereux étant donné la sensibilité à la chaleur des processus microbiologiques.

### **B- BIOREACTEUR COMBINE**

Dans le cas de pollution complexe (métaux lourds, hydrocarbures récalcitrants...) et pour améliorer l'efficacité du traitement en bioréacteur, plusieurs techniques peuvent être utilisées au préalable. A titre d'exemple nous citerons le lavage du sol, l'extraction à la vapeur, etc...

La deuxième étape est réalisée dans un bioréacteur spécifiquement conçu à cet effet.

Le bioréacteur utilisé est soit :

- Un bioréacteur biphasique (gaz-solide) ;
- Un bioréacteur triphasique tel les réacteurs à biofilm, les réacteurs à lit fluidisé ou les réacteurs agité.

### **C- TRAITEMENT DIRECT DU SOL DANS UN BIOREACTEUR**

Ce système consiste à traiter directement le sol dans un bioréacteur. Contrairement aux autres techniques, cette approche permet de fonctionner en continu.

Le développement des bioréacteurs pour le traitement de solides après excavation est un nouveau concept très prometteur.

Dans le cas de biotraitement des sols et d'autres résidus de nature solides, les meilleures conditions environnementales aux micro-organismes sont fournies. En effet, l'augmentation du degré de mélange et d'oxygénation, le contrôle du pH, de la température et de la quantité de nutriments disponibles, permettent d'augmenter significativement l'activité des micro-organismes [34].

L'enrichissement du sol par une population bactérienne et d'enzyme spécialisés pourrait être envisagé.

Nous nous intéresserons plus particulièrement dans notre étude au traitement en bioréacteur agité triphasé.

## **C-1- REACTEUR AGITE**

Les réacteurs agités triphasés (gaz, liquide et solide), sont couramment utilisés dans l'industrie et particulièrement pour les opérations d'hydrotraitement, de fermentation et de traitement d'effluents gazeux.

La nature hétérogène et complexe des réacteurs agités fait apparaître plusieurs aspects dont la connaissance est indispensable au dimensionnement et à l'extrapolation de ce type de réacteurs, notamment en ce qui concerne le lien entre les caractéristiques hydrodynamiques et les phénomènes de transfert [42]. Dans de nombreux cas, les performances obtenues dépendent du transfert de matière gaz-liquide, liquide-solide et gaz-solide.

### **C-1-1- L'AERATION**

Une caractéristique très importante du bioréacteur, dans le cas de processus aérobies, est sa capacité de transférer, à la biomasse microbienne qu'il contient, la quantité d'oxygène dont elle a besoin.

Certains d'entre eux sont très avides d'oxygène. Or seul l'oxygène dissous est utilisable par les cellules [41].

En culture aérobie c'est le gaz d'oxygénation qui crée la turbulence et permet le maintien des cellules en suspension homogène. La géométrie du bioréacteur est conçue avec soin de façon à ce que le transfert d'oxygène soit le plus efficace possible.

### **C-1-2- L'AGITATION**

L'agitation est l'opération qui crée ou accélère le contact entre deux ou plusieurs phases. En fermentation, la phase support est le plus souvent constituée par le milieu de culture. Il s'agit d'une solution aqueuse constituée de composés nécessaires à l'action microbienne (croissance et production). Il peut toutefois être constitué lui-même de plusieurs phases dans les cas où il renferme des particules solides en suspension ou dans celui d'hydrocarbures non miscibles à l'eau [41].

L'agitation a pour but de mélanger à cette phase support plusieurs phases d'apport :

- une phase solide (particulaire) constituée par les cellules microbiennes. L'opération de mélange consiste à réaliser une suspension, qui doit être la plus homogène possible, tout en préservant l'intégrité des cellules ;
- une phase gazeuse constituée du gaz d'oxygénation pour les procédés aérobies. L'opération de mélange, dans ce cas est une émulsion ;
- une phase liquide constituée par les réactifs que l'on ajoute au cours de la fermentation, nutriments, solution de correction de pH.

### **C-1-3 AVANTAGES**

Le bioréacteur présente plusieurs avantages. Outre le contrôle des paramètres de culture (pH, température, nutriments, etc...) il permet [42]:

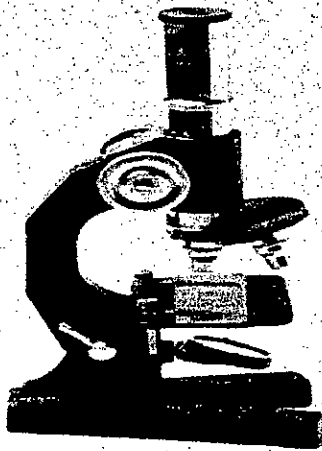
- un meilleur contact entre les micro-organismes et les polluants;
- un transfert de matière et thermique accrus ;
- une oxygénation plus efficace ;
- une amélioration de la distribution des nutriments, gaz (air, oxygène... etc) ;
- le maintien des conditions optimales de biodégradation par sélection de souches adaptées.

L'inconvénients de ce traitement, c'est qu'il exige une excavation des sols. En général un prétraitement par tamisage [42] pour l'homogénéisation et l'élimination des particules plus grosses que ¼ pouce (6.35 mm) est préconisé.

### **C-1-4- LES CARACTERISTIQUES DE L'ALIMENTATION DU REACTEUR**

Le pourcentage des solides contenus dans le bioréacteur est de : 10-30 % pour certains auteurs [42], [43] et il peut atteindre jusqu'à 70% pour d'autres [18].

# PARTIE EXPERIMENTALE



Dans cette partie nous présenterons l'installation utilisée dans les essais de traitements en bioréacteur agité triphasique. Après avoir présenter les résultats de l'étude du sol : l'échantillonnage, l'analyse granulométrique, les caractéristiques physico-chimiques et biologiques du sol étudié. Nous déterminerons les conditions optimales de fonctionnement (débit d'air et vitesse d'agitation) en première partie, et les paramètres environnementaux : le pH, la température, la dose des éléments nutritifs à rajouter dans le réacteur, en deuxième partie.

En fin nous procéderons à une purification d'une souche isolée du sol étudié adaptée à la dégradation de nos hydrocarbures.

Les résultats obtenus dans le cas d'un traitement en bioréacteur agité triphasique avec apport d'éléments nutritifs seront présentés et discutés en présence :

- 1- d'une microflore autochtone ;
- 2- d'une microflore autochtone plus une bioaugmentation réalisée par l'ajout d'un inoculum bactérien de la souche isolée du sol contaminé et purifiée.

## **V- DESCRIPTION DE L'INSTALLATION EXPERIMENTALE**

L'installation expérimentale (fig.10) se compose essentiellement d'un réacteur (4), d'un système d'agitation mécanique(5), de quatre diffuseurs de gaz (3), et d'un débitmètre (2).

### **VI-1- REACTEUR**

Le réacteur, d'une capacité de 12.5 litres, est de forme cylindrique à fond plat, muni de quatre diffuseurs.

### **VI-2- SYSTEME D'AGITATION**

Le système d'agitation doit permettre une circulation suffisante du liquide pour :

- Permettre une dispersion homogène de l'oxygène dissous et par la suite une uniformité de la concentration de ce dernier dans tout le réacteur ;
- Maintenir les solides en suspension et éviter leur dépôt.

#### **A- Modèle d'agitation**

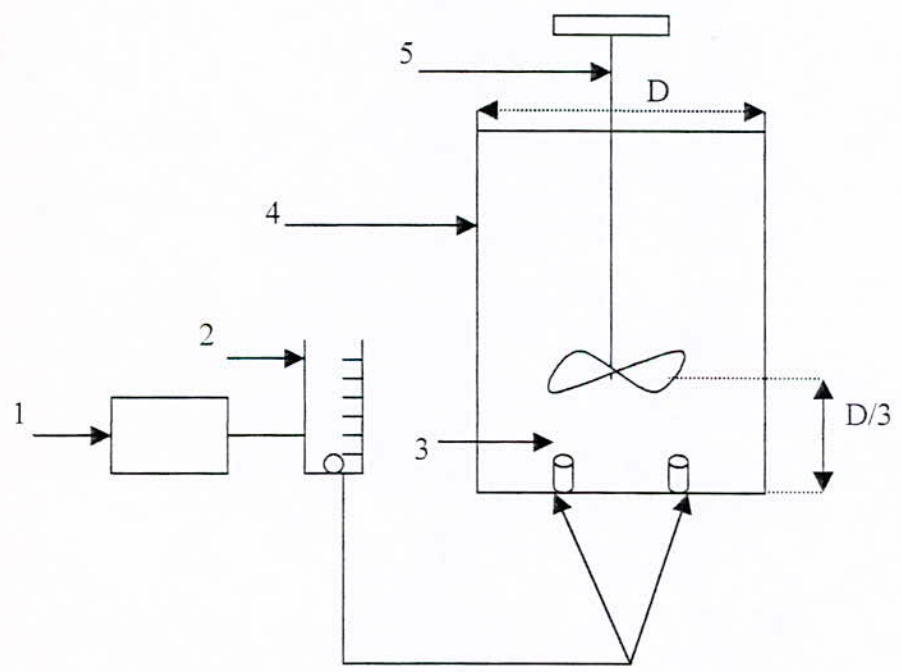
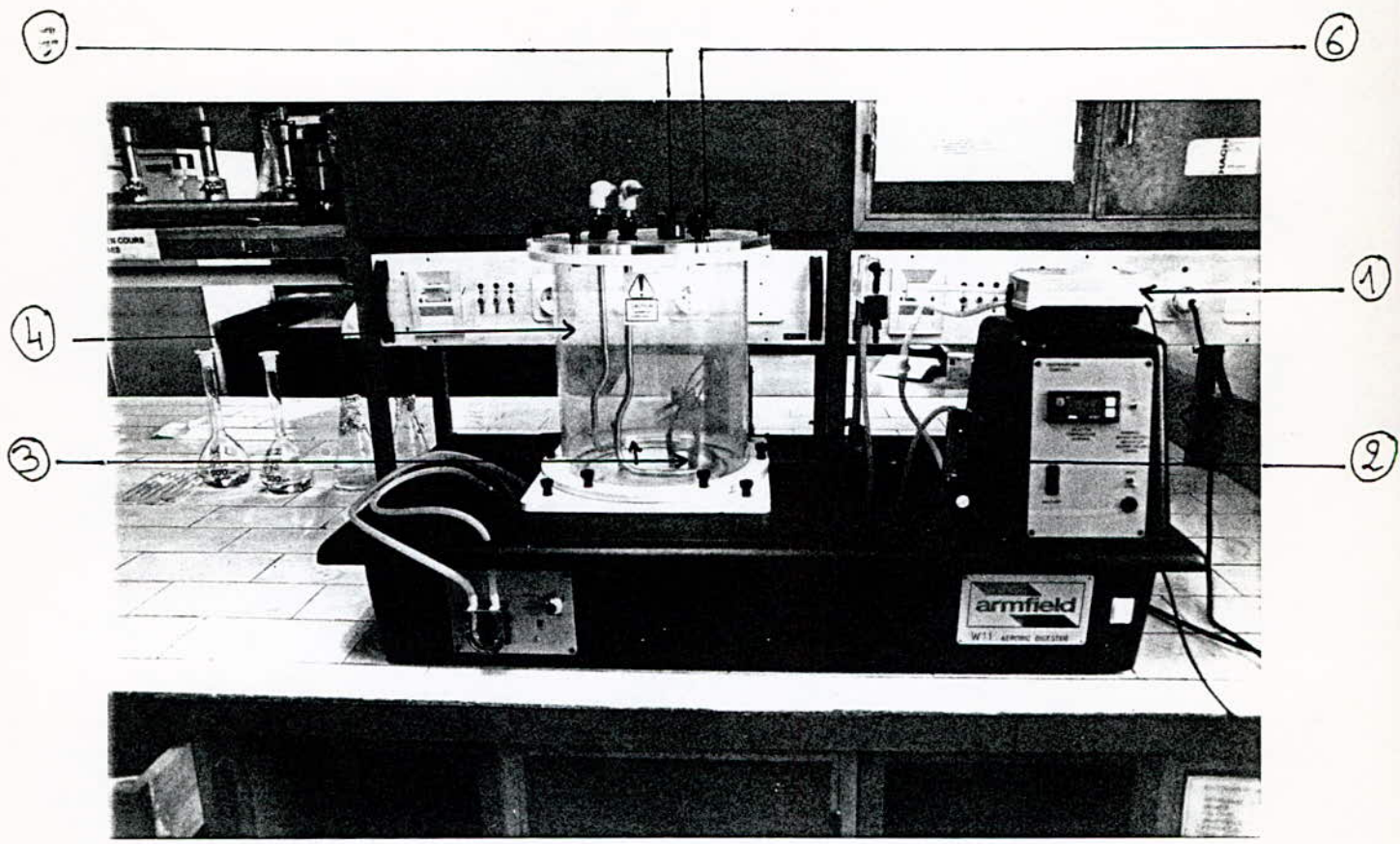
C'est un agitateur à quatre pales incurvé qui crée une circulation du liquide verticale parallèlement à l'axe d'agitation. Ce type d'agitateur à débit axial est conçu selon les normes Steel-Miller avec de l'acier inoxydable qui peut résister à la corrosion.

#### **B- Moteur d'agitation**

L'agitation du milieu réactionnel est assurée par un moteur de type IKA-WARK d'une puissance de 600 watts, sa vitesse de rotation varie entre 25 et 1000 tr/min.

### **VI-3- DEBITMETRE**

Le débit de gaz a été mesuré à l'aide d'un débitmètre à flotteur monté en position verticale permettant la lecture directe du débit en litre par minute.



1 : pompe d'aération ;  
 2 : débitmètre ;  
 3 : diffuseurs de gaz ;

4 : réacteur ;  
 5 : système d'agitation ;  
 6,7 : entrées pour les électrodes.

**Fig. 10 : L'installation expérimentale.**

## VI- ETUDE DU SOL

### VI-1- ECHANTILLONNAGE

Le sol pollué par les hydrocarbures sur lequel nous avons effectué nos expériences a été prélevé suivant la norme Afnor X31100. Un certain nombre de prélèvements élémentaires a été exécuté à l'aide d'une petite bêche, dans une zone présumée homogène d'un bournier destiné à recevoir les rejets huileux et situé au centre industriel de la division production de Hassi-Messaoud, sur une profondeur de 50 cm.

L'échantillon global a été mélangé puis partagé dans différents sacs en plastique. Enfin il a été transporté dans une glacière jusqu'au laboratoire du C.R.D pour être conservé dans le réfrigérateur et ce pour éviter toute évolution du système.

### VI-2- ANALYSE GRANULOMETRIQUE

L'analyse granulométrique a été effectuée sur un échantillon du sol à l'aide d'un granulomètre à laser de type Mastersizetz. Elle représente une gamme de distribution qui s'étend de 5.69 à 1885.64  $\mu\text{m}$  avec 2.72% de fines particules (silts), et 97.28% de sable. D'après ces résultats et selon le triangle de GEPPA (annexe1) le sol à une texture sableuse.

### VI-3- PREPARATION DU SOL

Avant de caractériser notre sol, nous avons préparé ce dernier suivant la norme NF X31-10. L'échantillon du sol a été étalé à l'air libre pendant quelques heures pour ensuite effectuer un tamisage, avec un tamis de 2mm, afin d'éviter tout problème d'hétérogénéité.

### VI-4- CARACTERISTIQUES DU SOL

#### VI-4-1- CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DU SOL

Les caractéristiques physico-chimiques du sol sur lequel nous avons effectué nos expériences sont données dans le tableau N°8 (méthodes d'analyses voir annexe2 ).

Tableau N°8 : Les caractéristiques physico-chimiques du sol.

PARAMETRES	RESULTATS
pH	7.097 (25°)
Humidité	5.7 %
Matière sèche	94.3 %
Matière organique	4.3 %
Carbone organique	1.03 %
Azote total	0.0628 %
Phosphore	0.003 %
Hydrocarbures totaux	34 g/kg
Zn	15.8 ppm
Mn	9.7 ppm
Pb	22.3 ppm
C/N/P	343.33/20.93/1



## VI-4-2- CARACTERISTIQUES BIOLOGIQUES DU SOL

Pour déterminer les caractéristiques biologiques de notre sol nous avons réalisé :

- Un isolement et un dénombrement des souches autochtones du sol ;
- Une identification des souches isolées par observation macroscopique et microscopique.

### A- ISOLEMENT ET DENOMBREMENT DES SOUCHES AUTOCHTONES

Pour isoler et dénombrer les bactéries aérobies présentes dans notre sol, nous avons utilisé la méthode de dilution et d'ensemencement sur boîtes de pétri (gélose nutritive).

#### A- 1- Préparation des dilutions

- On prépare 9 tubes à essais contenant chacun 9ml d'eau physiologique stérile ;
  - 1g d'échantillon sont mis dans l'un des tubes (solution mère), et pour permettre une bonne diffusion de l'échantillon, la solution est agitée à vitesse maximale pendant deux minutes ;
- A partir de cette suspension on prépare une série de 8 dilutions de  $10^{-1}$  à  $10^{-8}$ . De la solution mère, est prélevé 1ml qu'on transfère dans un deuxième tube contenant 9 ml d'eau physiologique pour obtenir une dilution de  $10^{-1}$ . Un millilitre est ensuite prélevé de ce deuxième tube pour être transféré dans un troisième tube pour obtenir une dilution de  $10^{-2}$ , et ainsi de suite.

#### A-2- Ensemencement sur boîtes de pétri

On prélève 0.1 ml de chacune des huit dilutions, on l'étale avec un râtelier sur des boîtes pétri qui contiennent de la gélose nutritive. Après une incubation de 24 heures à  $30^{\circ}\text{C}$ , les colonies développées (aérobies) sont dénombrées.

Le nombre des germes autochtones est de  $8.7 \times 10^7$  germes/Kg de sol.

### B- OBSERVATION MACROSCOPIQUE ET MICROSCOPIQUE DES SOUCHES ISOLEES

#### B-1- OBSERVATION MACROSCOPIQUE

L'observation macroscopique des colonies autochtones du sol ; développées après 24h d'incubation à  $30^{\circ}\text{C}$ , permet d'étudier la forme, la couleur, l'opacité, l'élévation, et la surface ; a mis en évidence deux types de colonies (fig.11) :

- Une première colonie : circulaire, beige, opaque, convexe, à surface brillante.
- Une deuxième colonie : circulaire, jaune, opaque, plate, à surface brillante.

#### B-2- OBSERVATION MICROSCOPIQUE

L'observation des frottis des deux colonies au microscope photonique de type Metallux 3 Leitz, après une coloration gram (annexe2) a montré que :

- Les bactéries de la première colonie sont des *cocci(très petits) gram positives* ;
- Les bactéries de la deuxième colonie sont des *bacilles gram négatives* (fig.12).

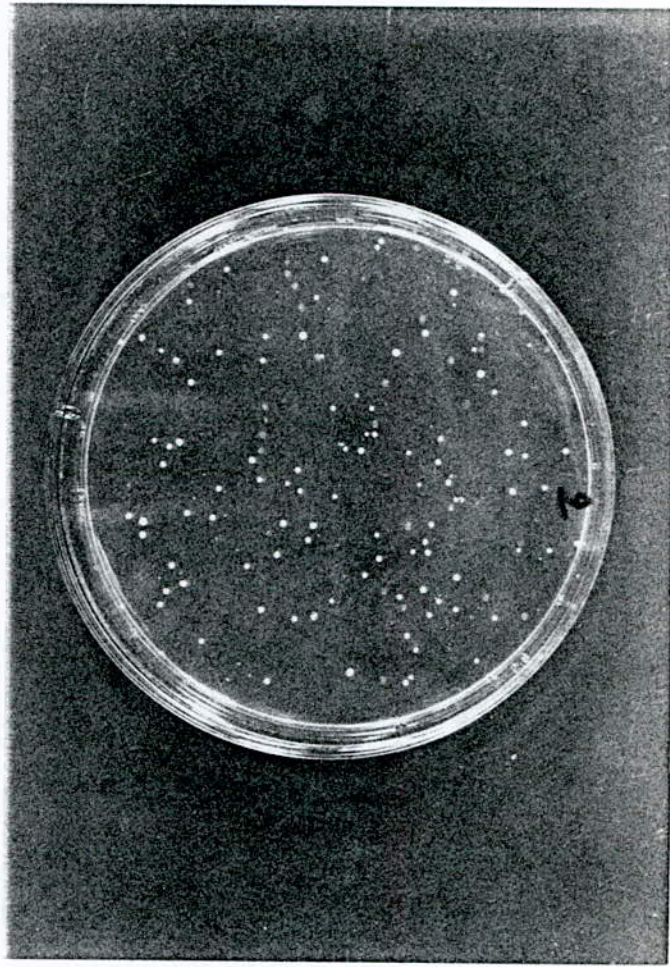


Fig. 11 : L'observation macroscopique des colonies autochtones du sol contaminé par les hydrocarbures.





Fig. 12 : L'observation microscopique de la 2<sup>ème</sup> colonie après une coloration gram (bacilles gram négatives).

## VII- OPTIMISATION DU DEBIT D'AIR ET DE LA VITESSE D'AGITATION

Le bioréacteur doit permettre un transfert d'oxygène optimal, et une circulation suffisante du liquide. La mesure du coefficient de transfert ( $k_L a$ ) d'un bioréacteur permet d'évaluer ses capacités à transférer l'oxygène [44].

A cet effet nous avons étudié l'influence du débit d'air sur le transfert d'oxygène et après avoir déterminé le débit d'air optimum, nous avons étudié l'influence de la vitesse d'agitation sur le transfert d'oxygène pour ce débit d'air.

### VII-1- TRANSFERT DE MATIERE GAZ-LIQUIDE

Dans le cadre de la théorie du double film de Lewis et Withman, la résistance au transfert est supposée localisée dans les deux couches limites respectivement du côté gazeux et du côté liquide avec les coefficients volumiques de transfert partiel  $k_g a$  du côté gaz et  $k_L a$  côté liquide.

En admettant que l'équilibre thermodynamique est réalisé à l'interface, on peut donc introduire des coefficients volumiques globaux du côté liquide  $K_L a$  et du côté gaz  $K_g a$ . Le coefficient global volumique  $K_L a$  est tel que :

$$\frac{1}{K_L a} = \frac{1}{H k_g a} + \frac{1}{k_L a} \dots \quad (1)$$

Où

H : la constante de Henry du soluté transféré. Dans le cas où le gaz est un corps presque pur et relativement peu soluble (cas de l'oxygène), le produit  $H k_g a$  devient plus important que  $k_L a$ , ce qui permet d'approximer  $k_L a$  à  $K_L a$ . Nous nous limiterons dans ce qui suit à la détermination du coefficient volumique de transfert  $k_L a$ .

#### A- MESURE DU COEFFICIENT VOLUMIQUE DE TRANSFERT

Il existe deux méthodes pour mesurer le coefficient volumique de transfert ( $k_L a$ ), les méthodes chimiques et physiques selon qu'elles mettent en œuvre ou non une réaction chimique de référence [42].

- **Méthodes chimiques** : le principe de ces méthodes repose sur une absorption suivie d'une réaction chimique dont la cinétique est connue parfaitement.
- **Méthodes physiques** : ces méthodes sont basées sur l'absorption ou la désorption d'un gaz dans le liquide en l'absence de réaction chimique.

#### A-1- DETERMINATION DU COEFFICIENT DE TRANSFERT VOLUMIQUE PAR LA METHODE D'OXYGENATION DYNAMIQUE

Parmi les méthodes physiques les plus utilisées, *la méthode d'oxygénation dynamique*.

Cette méthode consiste à suivre la teneur d'oxygène dissous dans le milieu réactionnel (l'eau) en l'absence de substrats, à l'aide d'une sonde à oxygène, et permet de déterminer la valeur du coefficient volumique de transfert dans les conditions où se déroulera la réaction.

En général il est préconiser de saturer le milieu en oxygène, puis d'arrêter l'aération et d'injecter de l'azote dans la solution. La concentration en oxygène dissous diminue et tend

vers zéro. On reprend alors l'injection d'air dans les conditions de débit à tester et on enregistre la concentration d'oxygène dissous  $C_L$  dans la phase liquide en fonction du temps.

Le bilan de matière de l'oxygène en phase liquide est le suivant :

$$\frac{dC_L}{dt} = k_L \cdot a (C^* - C_L) \dots (2)$$

$C^*$  : concentration en oxygène à la saturation en (mg/l) ;  
 $C_L$  : concentration en oxygène dans la phase liquide (mg/l) ;  
 $k_L a$  : coefficient de transfert volumique ( $s^{-1}$ ).

$$\frac{dC_L}{dt} = f (C^* - C_L) \dots (3)$$

On suppose que  $C^*$  est constante.

Il existe diverses méthodes pour déterminer le coefficient de transfert soit :

- A partir du tracer de la courbe des variations de :

- A partir de l'intégration de l'équation de transfert :

$$\int_{C_L(t=0)}^{C_L(t)} \frac{dC_L}{C^* - C_L} = k_L \cdot a \cdot dt \dots (4)$$

dans les conditions d'essais, nous n'avons pas saturé la phase liquide en oxygène, ni injecté de l'azote dans la solution. L'intégration de l'équation (4) donne :

$$\ln \frac{C^* - C_0}{C^* - C_L} = k_L \cdot a \cdot t \dots (5)$$

## A-2- RESULTAS EXPERIMENTAUX ET INTERPRETATIONS

### A-2-1- INFLUENCE DU DEBIT D'AIR

Dans cette série d'expérience, nous avons fait varier le débit d'air entre  $1.25 \times 10^{-5}$  et  $5.10^{-5} \text{ m}^3/\text{s}$  sans agitation mécanique. Nous avons enregistré l'évolution de la teneur en oxygène dissous dans l'eau en fonction du temps.

Les résultats de mesure sont consignés dans les tableaux 1,2,3 et 4 (annexe3).

De façon général la concentration de l'oxygène dissous  $C_L$  augmente avec le temps pour se stabiliser ensuite aux alentours de la concentration de saturation (fig.14), sauf pour le débit  $1.25 \times 10^{-5} \text{ m}^3/\text{s}$  où il faut attendre plus de temps pour atteindre la saturation.

A partir du tracé de  $\ln \frac{C^* - C_0}{C^* - C_L}$  en fonction du temps comme l'illustrent les figures 15

16, 17 et 18 nous avons déterminé les différents coefficients de transfert, qui sont représentés dans le tableau N°9 :

Tableau N°9 : Evolution de  $k_{L,a}$  en fonction du débit d'air sans agitation mécanique

$Q_g 10^5$ ( $m^3/s$ )	1.25	2.50	3.75	5.00
$k_{L,a} 10^3 (s^{-1})$	0.60	2.00	3.00	3.30

Nous avons constaté que le coefficient de transfert augmente avec l'augmentation du débit d'air injecté (fig.19). Mais à partir du débit  $3.75 \times 10^{-5} m^3/s$  l'augmentation du débit n'engendre qu'un léger accroissement de  $k_{L,a}$ . Ceci est probablement dû au fait que l'augmentation du débit d'air engendre la coalescence des petites bulles d'air et par conséquent l'augmentation de l'aire interfaciale ce qui peut entraîner une stabilisation du transfert d'oxygène ( $k_{L,a}$ ).

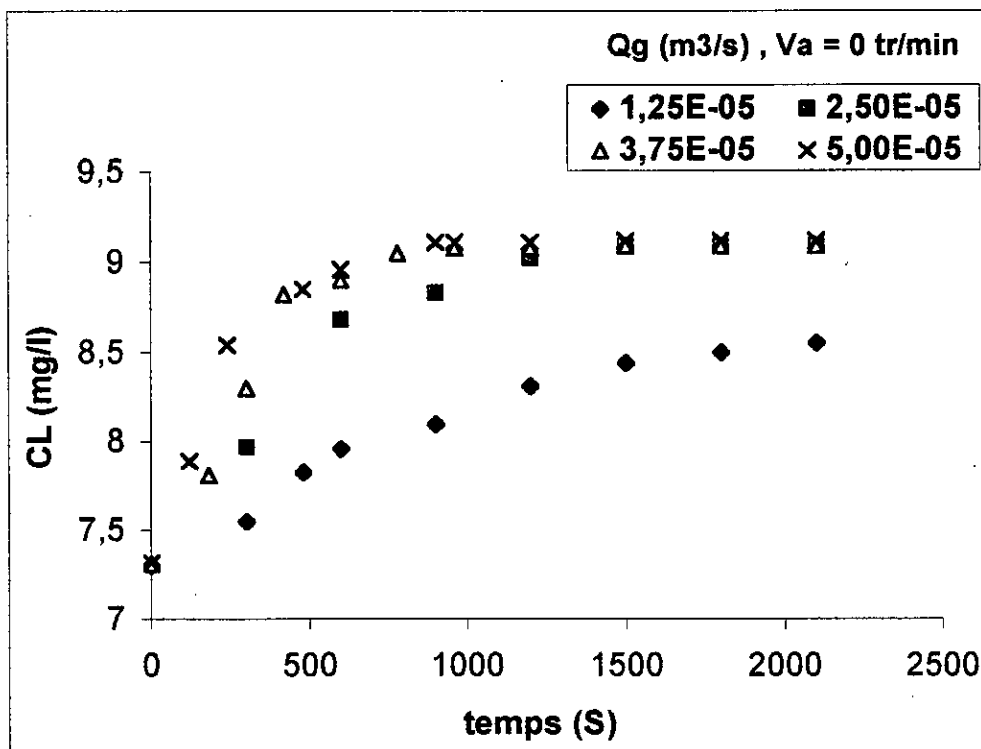
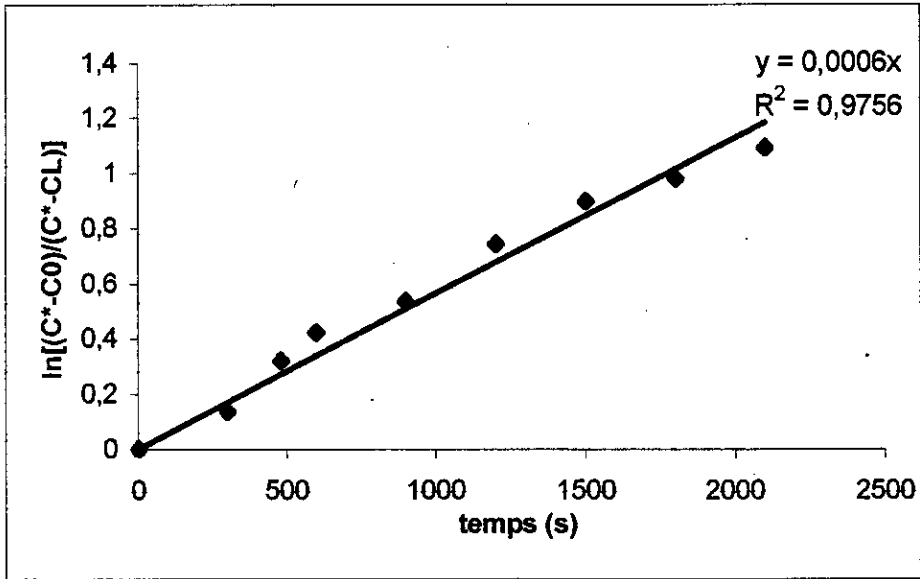
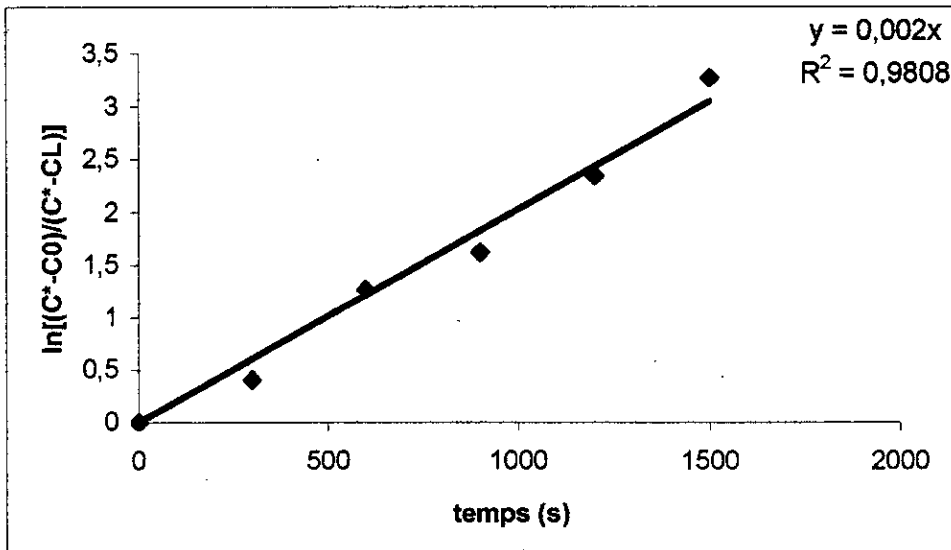


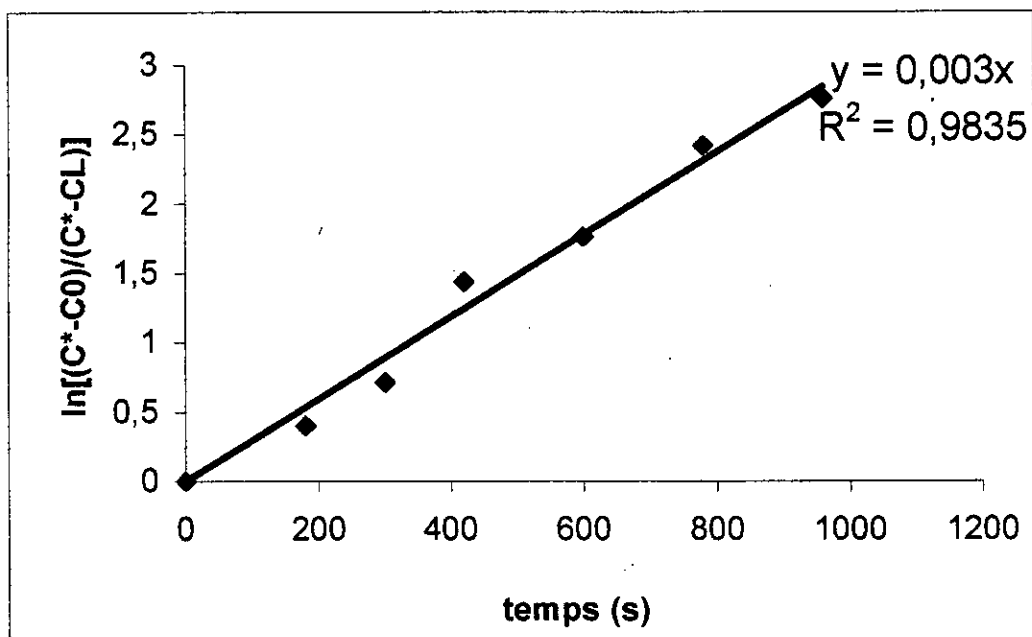
Fig.14 Evolution de la concentration en oxygène dans la phase liquide.



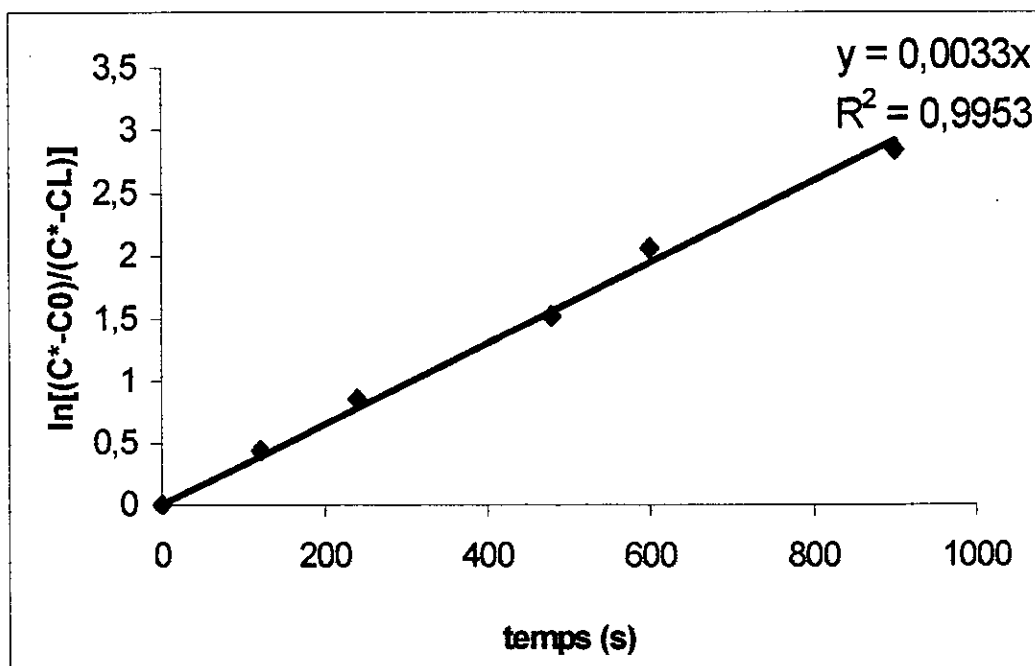
**Fig.15 Evolution de  $\ln[(C^*-C_0)/(C^*-C_L)]$  en fonction du temps pour un débit d'air de  $1.25 \times 10^{-5} \text{ m}^3/\text{s}$  et sans agitation mécanique.**



**Fig.16 Evolution de  $\ln[(C^*-C_0)/(C^*-C_L)]$  en fonction du temps pour un débit d'air de  $2.50 \times 10^{-5} \text{ m}^3/\text{s}$  et sans agitation mécanique.**

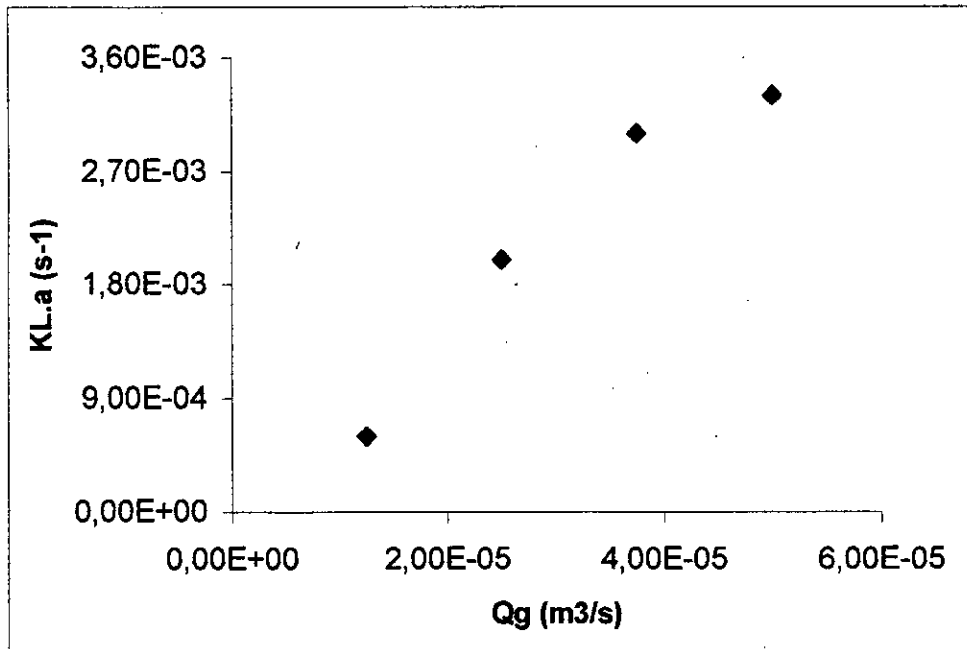


**Fig.17 Evolution de  $\ln[(C^*-C_0)/(C^*-C_L)]$  en fonction du temps pour un débit d'air de  $3.75 \times 10^{-5} \text{ m}^3/\text{s}$  et sans agitation mécanique.**



**Fig.18 Evolution de  $\ln[(C^*-C_0)/(C^*-C_L)]$  en fonction du temps pour un débit d'air de  $5.00 \times 10^{-5} \text{ m}^3/\text{s}$  et sans agitation mécanique.**





**Fig .19 Evolution de  $k_L.a$  en fonction du débit d'air sans agitation mécanique**

### A-2-2- INFLUENCE DE LA VITESSE D'AGITATION

L'agitation a pour but de réduire la résistance au transfert, mais également permettre le maintien des solides en suspension et éviter leur dépôt.

Dans cette série d'expérience, nous avons fait varier la vitesse d'agitation mécanique en maintenant le débit d'air constant et égal à  $4.5 \cdot 10^{-5} \text{ m}^3/\text{s}$ . Nous avons enregistré l'évolution de la teneur en oxygène dissous dans l'eau en fonction du temps.

Nous avons opté pour ce débit d'air dans la mesure où il se situe dans la fourchette qui permet un transfert optimal d'oxygène dissous.

Il faut toutefois signaler que pour choisir les vitesses d'agitation, nous avons effectué au préalable une série d'expériences où nous avons rajouté du sol au milieu réactionnel (eau) et avons fait varier la vitesse d'agitation. Cet essai nous a permis de déterminer la vitesse minimale permettant le maintien en suspension du sol, et la vitesse maximale au delà de laquelle il y a formation de vortex, phénomène à éviter car il peut détruire les amas des micro-organismes.

Nous avons donc choisi trois vitesses d'agitation 280, 375 et 450 tr/min.

Les résultats de mesure sont consignés dans les tableaux 5, 6, et 7 (annexe3).

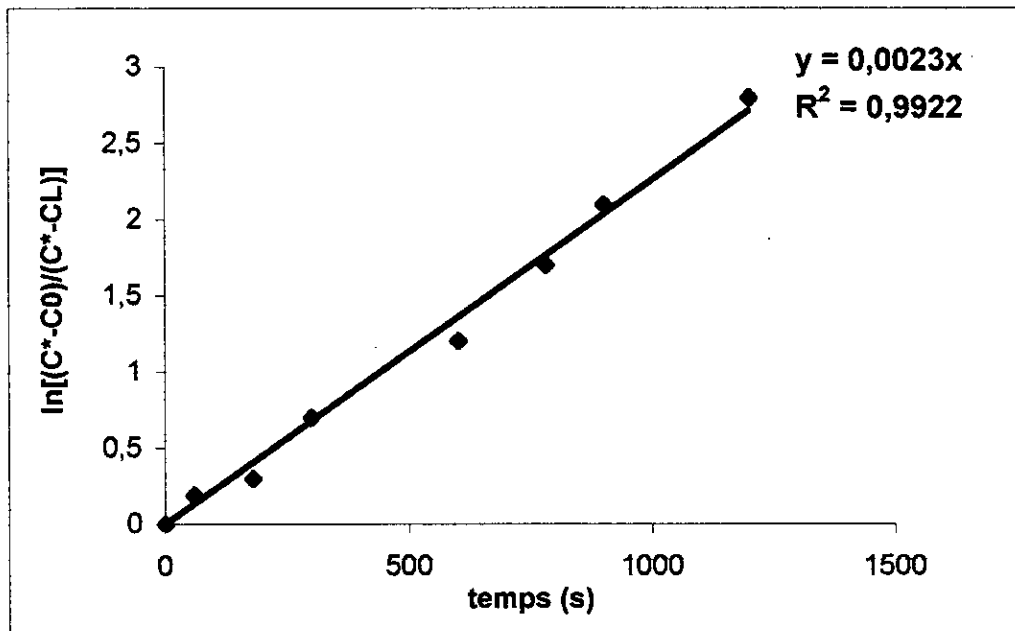
A partir du tracé de  $\ln \frac{C^* - C_0}{C - C_L}$  en fonction du temps comme l'illustre les figures 20,

21, et 22 nous avons déterminé les différents coefficients de transfert, qui sont donnés dans le tableau N°10 .

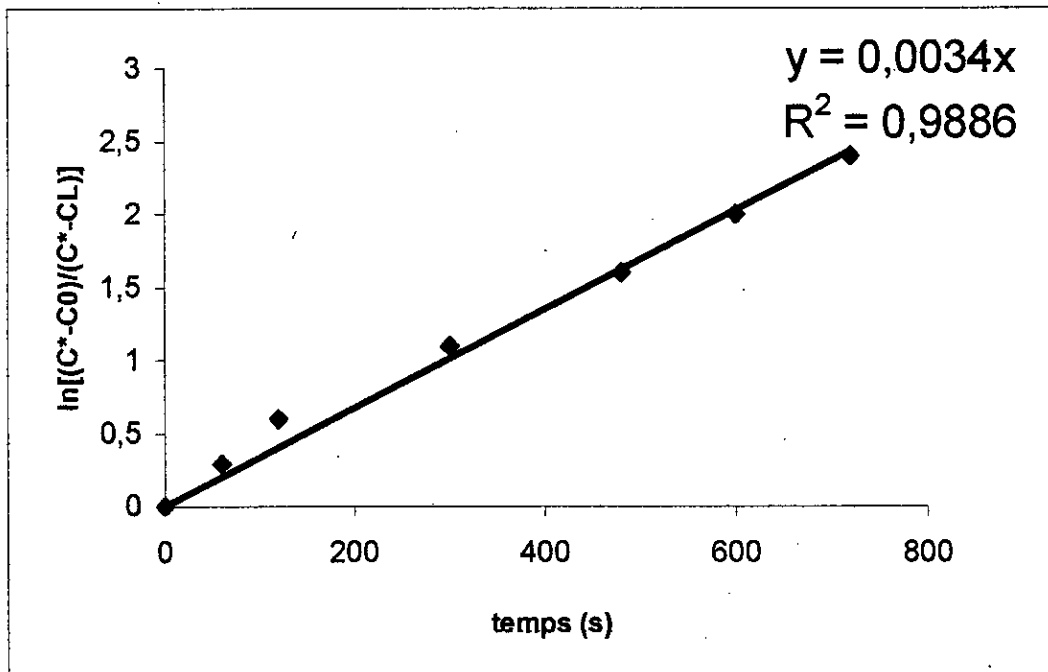
**Tableau N°10:** Evolution de  $k_L a$  en fonction de la vitesse d'agitation

$Q_g \cdot 10^5 \text{ (m}^3/\text{s)}$	4.5	4.5	4.5
$V_a \text{ (tr/min)}$	280	375	450
$k_L a \cdot 10^3 \text{ (s}^{-1}\text{)}$	2.30	3.40	5.80

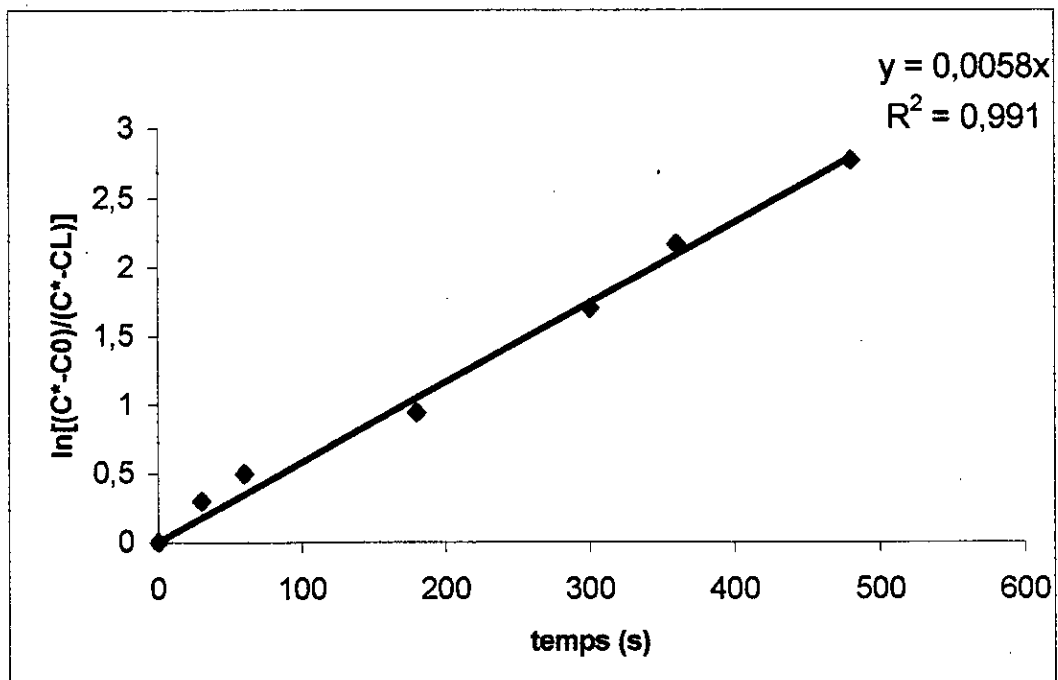
Nous constatons que le coefficient de transfert augmente avec l'augmentation de la vitesse d'agitation (fig.23). Ceci est probablement due à la résistance au transfert qui diminue avec l'augmentation de l'agitation mécanique. Ce qui est conforme aux hypothèses avancées par la littérature [41].



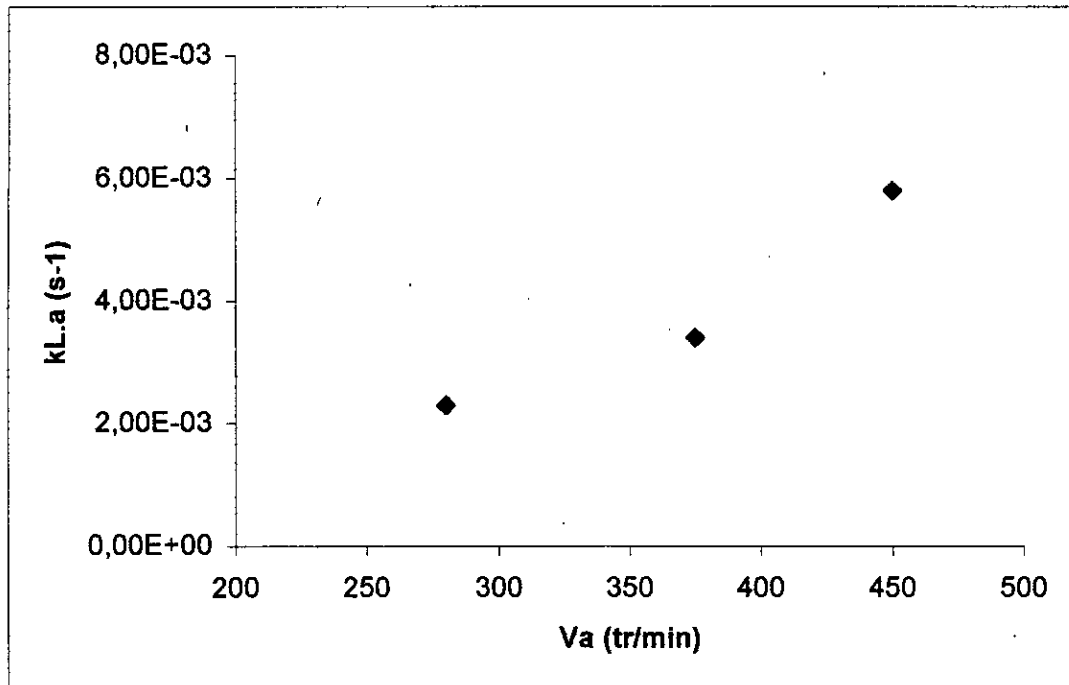
**Fig.20** Evolution de  $\ln[(C^*-C_0)/(C^*-C_L)]$  en fonction du temps pour un débit d'air de  $4.50 \times 10^{-5} \text{ m}^3/\text{s}$  et une vitesse d'agitation de 280 tr/min.



**Fig.21** Evolution de  $\ln[(C^*-C_0)/(C^*-C_L)]$  en fonction du temps pour un débit d'air de  $4.50 \times 10^{-5} \text{ m}^3/\text{s}$  et une vitesse d'agitation de 375 tr/min.



**Fig.22** Evolution de  $\ln[(C^*-C_0)/(C^*-C_L)]$  en fonction du temps pour un débit d'air de  $4.50 \times 10^{-5} \text{ m}^3/\text{s}$  et une vitesse d'agitation de 450 tr/min.



**Fig .23 Evolution de  $k_{L.a}$  en fonction de la vitesse d'agitation.**

### **A-2-3- INFLUENCE DE LA PRESENCE DU SOLIDE SUR LE COEFFICIENT DE TRANSFERT**

Nous n'avons pu effectuer des mesures de transfert d'oxygène en présence du sol contaminé par les hydrocarbures, car les agglomérats formés en solution bouchent la membrane de la sonde à oxygène ce qui cause des perturbations au niveau de la diffusion de l'oxygène au travers la membrane et par conséquent sur la valeur indiquée par l'oxymètre.

Sachant que l'introduction de particules de solide peut modifier sensiblement le transfert de matière gaz-liquide [45], il est important de discuter ici l'influence de la présence du sol sur le coefficient de transfert.

La plupart des études sont basées sur les systèmes gaz-liquide, l'effet du solide n'a été étudié que superficiellement.

Kaware et Hashimoto (1996) [44] soulignent la complexité de l'influence du solide : les particules solides peuvent augmenter  $k_L$  en augmentant la turbulence interfaciale ou, au contraire, le diminuer en bloquant la diffusion. L'aire interfaciale est aussi affectée : le solide peut augmenter la coalescence des bulles en se comportant comme un fluide visqueux (généralement pour de faibles diamètres de particules), ou au contraire "casser" les bulles s'il dispose de l'inertie suffisante (cas des particules de gros diamètre). L'effet global sur  $k_{L.a}$  est donc complexe.

La présence du solide agit surtout sur la rétention gazeuse en modifiant le comportement des bulles [46]. Les constatations actuelles sur l'effet du solide sur la rétention gazeuse sont diverses et la tendance est que :

- Les particules très fines ( $< 10\mu\text{m}$ ) en faibles concentrations ( $< 0.6\%$ ) ou les particules très grosses ( $> 2\text{ mm}$ ) en forte concentrations ( $> 10\%$ ) ont tendance à augmenter la rétention gazeuse;
- Les particules de taille intermédiaire et en concentrations modérées ont pour effet de diminuer la rétention gazeuse et par conséquent le coefficient de transfert.

La présence des particules solides influence beaucoup la vitesse de circulation du liquide. Chisti et Coll. (1995) et Kochbeck et Co (1992) [44] montrent que la vitesse de circulation du liquide diminue fortement par l'ajout des particules. Ceci serait dû à l'augmentation de la masse volumique et de la viscosité de la suspension. Cette diminution est d'autant plus marquée que les particules sont petites et ont une densité importante. Lu et Co (1994) [44] montrent que le solide a deux effets certains sur le mélange :

- L'augmentation du nombre de chocs entre particules créant ainsi des vortex de liquide, ce qui favorise le mélange ;
- La diminution de la rétention gazeuse et par conséquent la diminution du mélange du liquide.

A partir des résultats obtenus par les deux séries d'expérience nous avons choisi de travailler avec un débit d'aération égal à  $4.5 \cdot 10^{-5} \text{ m}^3/\text{s}$ , et une vitesse d'agitation de 450 tr/min ; qui assurent un transfert d'oxygène optimal et un coefficient de transfert volumique ( $k_L \cdot a$ ) important de  $5.8 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ .

## VIII- PURIFICATION DES SOUCHES ISOLEES

Chaque colonie isolée du sol, déjà mentionnée dans les caractéristiques biologiques du sol, est ensemencée dans 10 ml de milieu de culture liquide (dans des erlens de 100ml) auquel on ajoute 2% de gas-oil. Ces colonies sont incubées durant 24heures à  $30^\circ\text{C}$  sous agitation magnétique pour permettre la respiration microbienne.

A partir des milieux liquides on passe à un ensemencement par étalement et un ensemencement par stries sur milieu solide (boite de pétri) de toutes les souches purifiées.

La purification consiste donc à procéder à des transferts successifs et alternés du milieu liquide au milieu solide (annexe2) et vice-versa jusqu'à l'obtention sur la boite de pétri de colonies semblables par l'aspect et par la couleur, c'est à dire identiques par tous les critères morphologiques.

### VIII-1- RESULTATS ET DISCUSSIONS

Les tableau N° 11,12 et 13 représente les résultats de l'étude *macroscopique* des colonies bactériennes développées lors des trois essais consécutifs :

C1 : première colonie ;

C2 : deuxième colonie

#### 1<sup>er</sup> essai :

L'examen des boites de pétri et la description macroscopique des colonies développées après 24 heures d'incubation sont résumés dans le tableau N°11.

Tableau N° 11 : La description macroscopique des colonies développées après 24 heures d'incubation

Souches	Forme	Couleur	Opacité	Elévation	Surface
C1	circulaire	beige	opaque	convexe	brillante
C2	circulaire	jaune	opaque	plate	brillante

### 2<sup>ème</sup> essai :

Les résultats de l'examen des colonies prélevées individuellement des colonies du 1<sup>er</sup> essai et précultivées dans un milieu liquide après réensemencées dans des boites de pétri, sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau N°12 : La description macroscopique des colonies du 1<sup>er</sup> essai développées en milieu solide après une préculture dans un milieu liquide.

Souches	Forme	Couleur	Opacité	Elévation	Surface
C1	irrégulière	blanche	opaque	plate	brillante
C2	circulaire	jaune	opaque	plate	brillante

### 3<sup>ème</sup> essai :

Les résultats de l'examen des colonies prélevées individuellement des colonies du 2<sup>ème</sup> essai et précultivées dans un milieu liquide après réensemencées dans des boites de pétri, sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau N°13 : La description macroscopique des colonies du 2<sup>er</sup> essai développées en milieu solide après une préculture dans un milieu liquide.

Souches	Forme	Couleur	Opacité	Elévation	Surface
C1	irrégulière	blanche	opaque	plate	brillante
C2	circulaire	jaune	opaque	plate	brillante

Le tableau N° 14 représente les résultats de l'étude *microscopique* des cultures bactériennes développées successivement et alternativement du milieu liquide au milieu solide pour une confirmation de la purification des souches.

Tableau 14 : Résultats de l'étude microscopique des cultures bactériennes développées.

Temps (jours)	Souches	Types morphologiques
1 <sup>er</sup> jour	C1	Très petits cocci gram <sup>+</sup>
	C2	Bacilles gram <sup>-</sup>
2 <sup>ème</sup> jour	C1	Petits cocci gram <sup>+</sup>
	C2	Bacilles gram <sup>-</sup>
3 <sup>ème</sup> jour	C1	Cocci gram <sup>+</sup>
	C2	Bacilles gram <sup>-</sup>
4 <sup>ème</sup> jour	C1	Cocci gram <sup>+</sup>
	C2	Bacilles gram <sup>-</sup>
5 <sup>ème</sup> jour	C1	Cocci gram <sup>+</sup>
	C2	Bacilles gram <sup>-</sup>
6 <sup>ème</sup> jour	C1	Cocci gram <sup>+</sup>
	C2	Bacilles gram <sup>-</sup>

Durant les six jours consécutifs de l'étude la souche isolée C1 a présenté à chaque fois le même type morphologique.

Nous avons constaté aussi qu'au court de la purification, la croissance de la deuxième colonie (bacilles gram<sup>-</sup>) en milieu liquide est importante caractérisée par un trouble blanchâtre assez dense. Par contre la croissance de la première colonies (cocci gram<sup>+</sup>) est moins importante marquée par un trouble léger.

Le nombre des bactéries après les six jours consécutifs de l'étude est de  $5.75 \times 10^5$  bact/ml pour C1 et de  $4 \times 10^7$  bact/ml pour C2.

A partir de ces résultats nous avons opté pour l'utilisation de la deuxième colonie (bacilles gram<sup>-</sup>) pour la bioaugmentation car cette dernière a donnée une meilleure purification et un meilleur développement sur milieu liquide et solide.

### VIII-3- IDENTIFICATION DU GENRE BACTERIEN DE LA SOUCHE PURIFIEE

L'identification de la souche utilisée pour la bioaugmentation (bacille gram<sup>-</sup>) sur des galeries API 20 NE ; système d'identification des bacilles gram<sup>-</sup> non entérobactéries le plus complet pour ce groupe de bactéries ; a montrée qu'elle est du genre *Pseudomonas* d'espèce *Fluorescens*.

## **IX- TRAITEMENT EN BIOREACTEUR**

Nous avons réalisé deux essais de traitement en bioréacteur agité triphasique.

- Un premier essai dans un réacteur mécaniquement agité, aéré, avec ajout d'éléments nutritifs (source d'azote et de phosphore) en présence d'une microflore constituée par les bactéries autochtones.
- Un deuxième essai dans le même réacteur, avec les mêmes conditions, et avec ajout d'éléments nutritifs. Mais dans ce cas la microflore totale est constituée de bactéries autochtones et d'un inoculum bactérien adaptés isolés du sol étudié.

Un dosage quantitatif des hydrocarbures, des nitrates, des nitrites, de l'azote ammoniacal, du phosphore et de l'oxygène dissous a été effectué chaque trois jours, plus un dénombrement de la microflore totale afin de suivre la cinétique microbienne.

Pour tout ce qui suit, nous avons considéré :

R1 : le premier réacteur ou le premier essai (apport d'éléments nutritifs).

R2 : le deuxième réacteur ou le deuxième essai (apport d'éléments nutritifs et de bactéries adaptées).

### **IX-1- OPTIMISATION DES PARAMETRES ENVIRONNEMENTAUX**

Pour avoir un bon rendement d'élimination des hydrocarbures en bioréacteur, il faut fixer : la température, le pH du milieu, le pourcentage du sol dans le bioréacteur, et la dose d'éléments nutritifs (azote, phosphore) à rajouter.

On s'est référé à la bibliographie pour la détermination de ces paramètres.

- 1- Le pourcentage du sol dans le bioréacteur est de 20% [42], [43] ;
- 2- La plupart des micro-organismes adaptés aux hydrocarbures sont mésophiles (20 à 40°C) [27], donc nous avons travaillé à température ambiante ;
- 3- L'efficacité de la biodégradation des hydrocarbures est généralement plus élevée à un pH proche de 7 (un pH légèrement alcalin)[27]. Le pH de notre milieu a été ajusté au cours de l'expérience pour être maintenu dans l'intervalle de pH 6.8 – 7.8 (annexe3) ;
- 4- Il ressort des résultats d'analyse du sol consignés dans le tableau N°8 que les teneurs en carbone organique rapportées à celle de l'azote et celle du phosphore sont élevées. Les rapports carbone azote et carbone phosphore sont respectivement égaux à 16.4 et 343 alors que beaucoup d'auteurs Sims et Coll. 1990 ; Dupont et Coll. 1988 [35], [36] s'accordent sur la valeur du rapport optimal C/N/P : 120/10/1.

Pour parer au déficit en azote et en phosphore nous avons introduit 131.62 mg de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  / l d'eau de robinet et 56.19 mg de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  / l d'eau de robinet.

### **IX-2- EVOLUTION DE LA TENEUR EN AZOTE**

L'azote est l'un des constituants majeurs de la matière vivante, il représente 10 à 15% du poids sec des cellules, c'est un élément indispensable à la constitution des molécules de protéines.

Il est donc important de suivre l'évolution de la teneur en azote pendant la période d'incubation et d'en étudier l'influence sur la croissance bactérienne.



La plupart des bactéries n'utilisent que l'azote combiné, organique ou minéral. Dans notre travail nous avons suivi l'évolution des teneurs en nitrates, nitrites, et azote ammoniacal durant la période d'incubation.

## A- EVOLUTION DE LA TENEUR EN NITRATES

Comme le montre la figure 24 la teneur en nitrate augmente pendant les six premiers jours d'incubation dans les deux réacteurs.

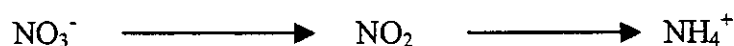
Cette augmentation est due probablement au phénomène de *nitrification*, comme le précisèrent Schloesing et Müntz [47]; une nitrification peut avoir lieu dans un milieu riche en matières organiques et en ions ammonium cet ion se transformant en nitrates lorsque l'aération est bonne, la température pas trop basse et le milieu légèrement alcalin. Ces conditions étaient réunies dans les deux réacteurs.

D'après Winogradsky (1890) [48], le phénomène de nitrification se déroule en deux étapes : la *nitrosation*, transformation d'ion ammonium  $\text{NH}_4^+$  en ion nitrite  $\text{NO}_2^-$  due aux bactéries nitreuses (*Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*) et la *nitration*, transformation de l'ion nitrite en ion nitrate  $\text{NO}_3^-$  due aux bactéries nitriques (*Nitrobacter*, *Nitrocystis*).

L'augmentation de la teneur en nitrates dans le réacteur R2 est plus importante que celle observée dans le réacteur R1, on peut attribuer cette différence à l'activité bactérienne qui est intense dans le réacteur R2 à cause de la bioaugmentation réalisée par une souche isolée du sol étudié.

Après le 6<sup>ème</sup> jour d'incubation et pour le reste de la période d'incubation la teneur en nitrate diminue bien que les conditions du milieu (aération, température, pH) n'ont pas changés.

L'accumulation des nitrates jusqu'à atteindre un excès par rapport aux besoins des bactéries, et le déficit en ion ammonium, ions indispensables aux bactéries, ont probablement engendré un rééquilibrage du système enzymatique des bactéries (hypothèse déjà avancée par S.R. Hutchins, G.A. Smith) [49]. D'où le phénomène de la *réduction-assimilation* qui consiste à réduire l'azote nitrique en ion ammonium :



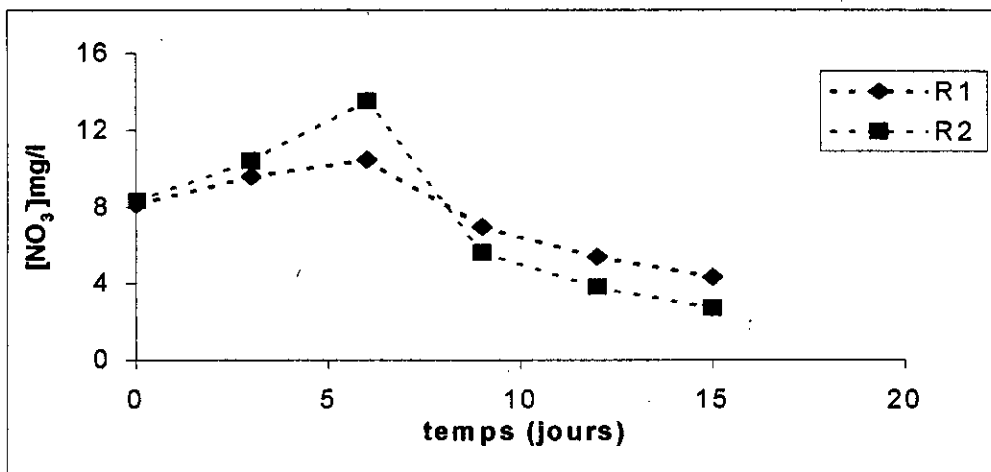
La réduction des nitrates est plus importante dans le réacteur R2. Compte tenu de l'activité plus intense des micro-organismes.

## B- EVOLUTION DE LA TENEUR EN AZOTE AMMONIACAL

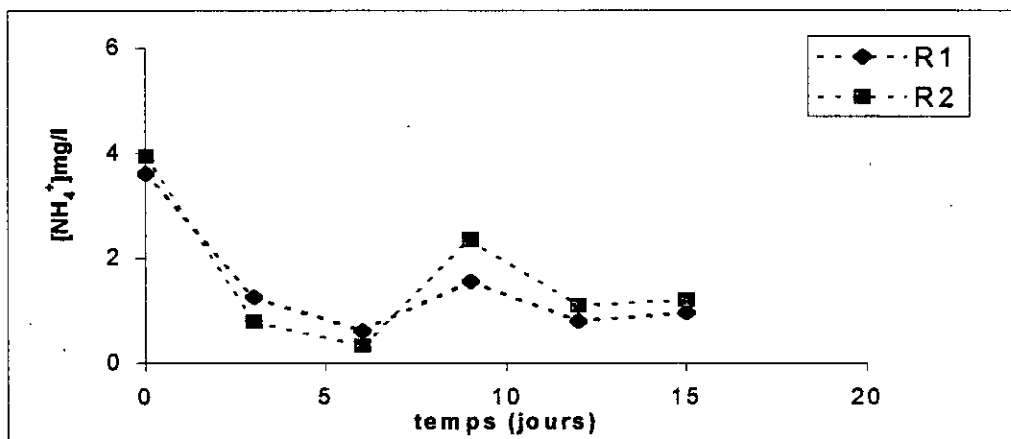
L'évolution de la teneur en azote ammoniacal dans les deux réacteurs est représentée par la figure 25. Pendant les six premiers jours une importante régression de la teneur en azote ammoniacal est constatée.

Cette régression peut être attribuée à la transformation d'une fraction de l'azote ammoniacal en nitrate par le phénomène de nitrification, par contre l'autre fraction est assimilée par les cellules bactériennes.

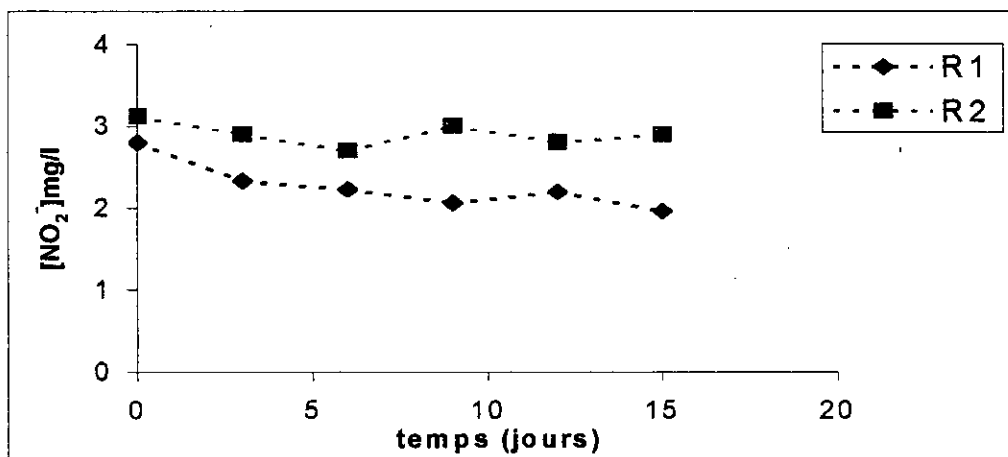
Une augmentation de la teneur en azote ammoniacal est constatée après le 6<sup>ème</sup> jour, cette augmentation est probablement due au phénomène de la *réduction-assimilation* pendant la phase stationnaire, et à la destruction des cellules bactériennes et de l'azote protéique durant la phase de déclin, hypothèse déjà avancée dans la littérature (G.W. Sewell, D.A. Kovacs 1993) [37].



**Fig.24 : Evolution de la teneur en nitrates dans les deux réacteurs R1 et R2**



**Fig.25 : Evolution de la teneur en azote ammoniacal dans les deux réacteurs R1 et R2**



**Fig.26 : Evolution de la teneur en nitrites dans les deux réacteurs R1 et R2**

Le même constat peut être fait quant à l'intensité des deux phénomènes (régression et augmentation de l'azote ammoniacal) plus importante dans le réacteur R2 que dans le réacteur R1.

### C- EVOLUTION DE LA TENEUR EN NITRITES

On constate que cette teneur est relativement stable durant la période d'incubation dans les deux réacteurs. Ceci peut être attribué à la transformation immédiate, des nitrites en nitrate dans le cas d'une nitrification, et en azote ammoniacal dans le cas d'une réduction-assimilation (fig.26).

### XI-3- EVOLUTION DE LA TENEUR EN PHOSPHORE

La figure 27 qui représente l'évolution de la teneur en phosphore, montre que dans les deux réacteurs il y a une importante assimilation du phosphore au cours des six premiers jours d'incubation, qui représente la phase exponentielle de croissance bactérienne. L'assimilation du phosphore est plus importante dans le réacteur R2 c'est due probablement à une intense activité bactérienne.

Cet élément est important pour la croissance bactérienne, il entre dans la constitution des enzymes les plus importantes de l'organismes, tel l'ATP, et se trouve chimiquement associé aux principales fractions des acides nucléiques et des lipides [49]

Pendant le reste de la période d'incubation, dans les deux réacteurs, l'assimilation du phosphore par les bactéries est relativement stable. Cette période correspond à la phase stationnaire et au début de la phase de déclin.

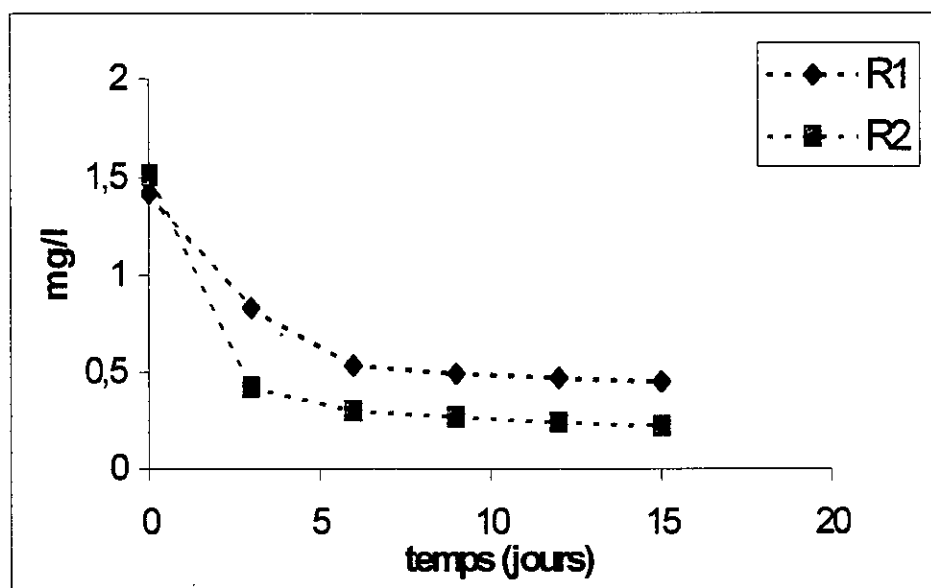


Fig.27 Evolution de la teneur en phosphore dans les deux réacteurs R1 et R2.

## **IX-4- EVOLUTION DE LA TENEUR EN OXYGENE DISSOUS**

La courbe de consommation de l'oxygène dissous par les bactéries au cours de la période d'incubation dans les deux réacteurs est illustré par la figure 28.

Dans les deux réacteurs la consommation de l'oxygène dissous est importante au cours des neuf premiers jours d'incubation, qui correspond à la phase exponentielle et stationnaire de la croissance bactérienne. Cet oxygène est consommé par les bactéries du milieu pour leur développement et leurs activités métaboliques (oxydation de diverses substances minérales ou organiques).

Au début de la phase de déclin (après le 9<sup>ème</sup> jour) on constate une diminution de la consommation d'oxygène par les bactéries, ceci est probablement dû à la mort de certaines bactéries empoisonnées par leurs catabolites, ou par l'épuisement du milieu en éléments nutritifs.

La consommation de l'oxygène par les bactéries est plus importante dans le R2 car l'activité bactérienne y est plus intense.

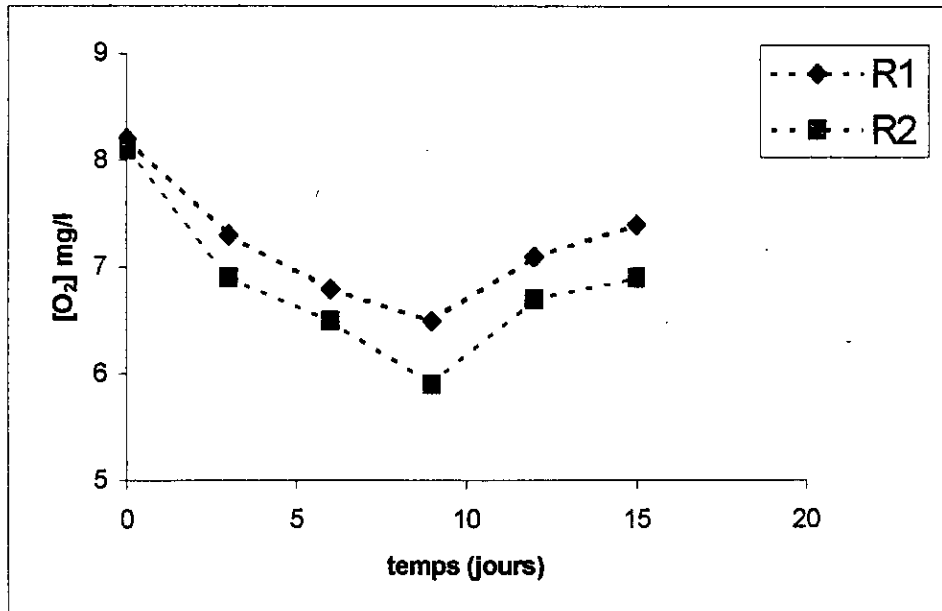
## **XI-5- EVOLUTION DE LA CROISSANCE BACTERIENNE DANS LES DEUX REACTEURS R1 ET R2.**

La figure 29 représente l'évolution de la croissance bactérienne dans les deux réacteurs durant la période d'incubation.

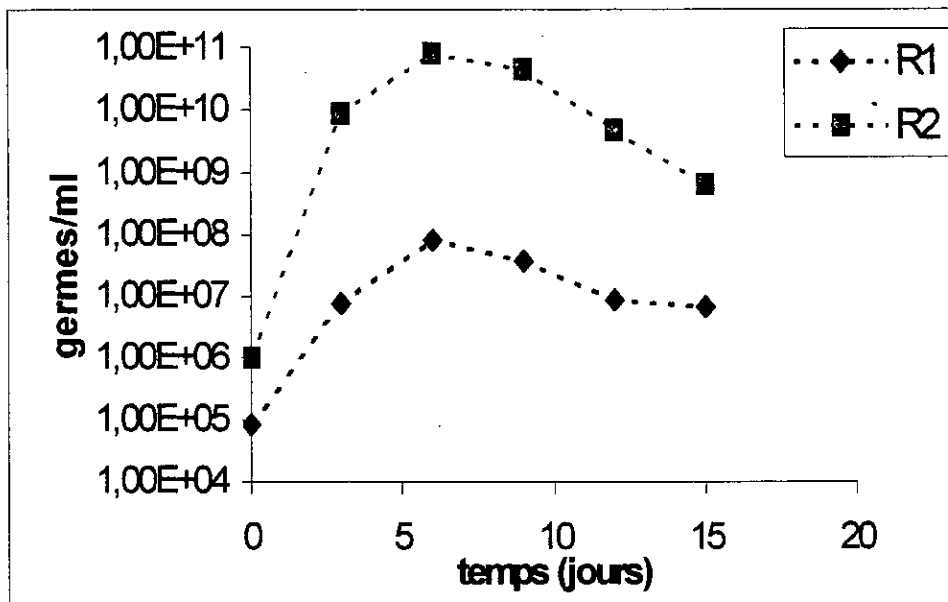
- Dans le réacteur R1 : la croissance de la microflore totale, constituée par les bactéries autochtones, passe par trois phases. Une phase exponentielle durant les six premiers jours d'incubation, correspond à l'étape de dégradation des hydrocarbures la plus active et à l'assimilation des éléments nutritifs contenus dans le milieu (azote, phosphore,...) ; à ce stade, toutes les bactéries sont vivantes. La biomasse totale atteint le nombre de  $8.1 \times 10^7$  germes/ml. Du 6<sup>ème</sup> au 9<sup>ème</sup> jour d'incubation la croissance bactérienne est stable, c'est la phase stationnaire correspondant au maximum du rendement de la croissance, où les bactéries ont développé toutes leurs structures et ont fini par épuisé le milieu. Il y a une légère décroissance après le 9<sup>ème</sup> jour, elle est suivie d'une deuxième phase stationnaire. Ceci est dû probablement au milieu qui n'est pas encore totalement épuisé.
- Dans le réacteur R2 : la microflore totale est constituée de bactéries autochtones et d'une souche adaptée isolée du sol étudié, pour enrichir le milieu de culture en bactéries adaptées aux hydrocarbures.

Durant les six premiers jours nous constatons un accroissement remarquable de la biomasse totale jusqu'à atteindre un nombre de  $7.9 \times 10^{10}$  germes/ml, correspond à la phase exponentielle de croissance. Cette phase est suivie par une stabilisation de la biomasse.

Après le 9<sup>ème</sup> jour il y a une décroissance ou un déclin de la population consécutif à la mort de certaines bactéries. Cette mort est due probablement à l'inhibition de la croissance par les catabolites toxiques des bactéries et/ou au déficit en éléments nutritifs (azote, phosphore,...) après l'épuisement du milieu de culture.



**Fig.28 Evolution de la teneur en oxygène dissous dans les deux réacteurs R1 et R2.**



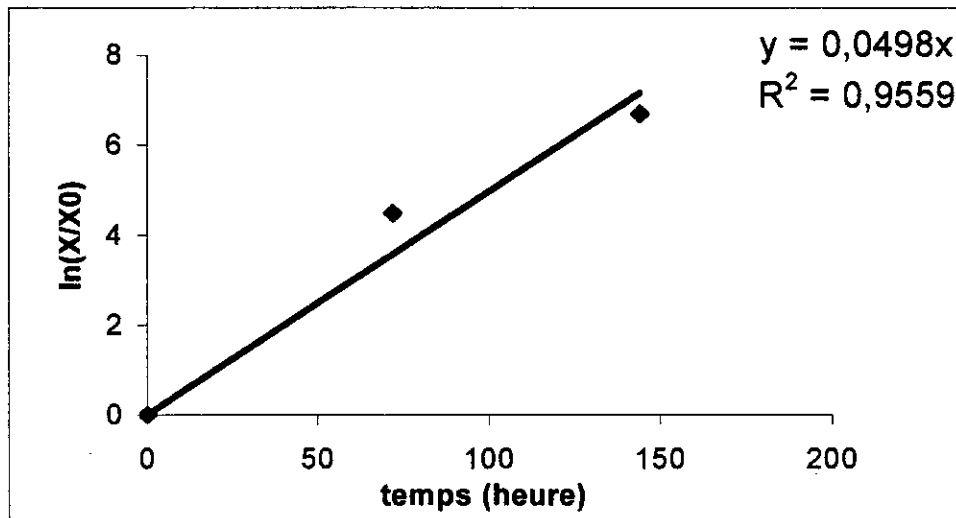
**Fig.29 Evolution de la croissance bactérienne dans les deux réacteurs R1 et R2.**

- **DETERMINATION DU TAUX DE CROISSANCE MAXIMUM DANS LES DEUX REACTEURS**

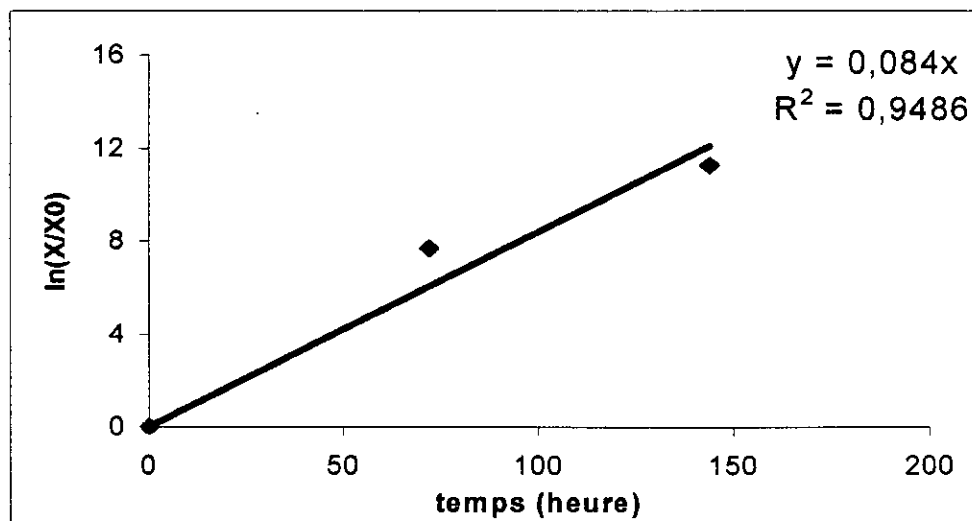
La détermination du taux de croissance maximum (lors de la phase exponentielle), en représentation semi-logarithmique (fig.30 et 31) nous a permis de comparer les vitesses de croissance bactérienne dans les deux réacteurs.

Les résultats de mesure donnent un taux de croissance maximum de  $0.049 \text{ h}^{-1}$  dans le réacteur R1 et de  $0.084 \text{ h}^{-1}$  dans le réacteur R2.

Il ressort clairement que le taux de croissance bactérien dans le réacteur R1 est faible et égale presque la moitié de celui observé dans le réacteur R2. ceci peut être attribué à l'enrichissement du milieu de culture du réacteur R2 par la souche adaptée qui a engendrée une intense activité bactérienne.



**Fig.30 Représentation de  $\ln(X/X_0)$  en fonction du temps dans le réacteur R1.**



**Fig.31 Représentation de  $\ln(X/X_0)$  en fonction du temps dans le réacteur R2.**

## **IX-5- EVOLUTION DE LA TENEUR EN HYDROCARBURES**

En contact avec l'eau, le sol relargue une certaine quantité d'hydrocarbure. Pour suivre la biodégradabilité des hydrocarbures dans les deux réacteurs nous avons dosé ces derniers dans le sol et dans la phase liquide par infrarouge (annexe2). En effet une fraction des hydrocarbures reste liée aux particules du sol par les différents phénomènes de rétention, ce pendant l'autre fraction passe dans la phase liquide. Les résultats obtenus sont représentés par les figures 32 et 34.

### **IX-6-1 EVOLUTION DE LA TENEUR EN HYDROCARBURES CONTENUS DANS LE SOL**

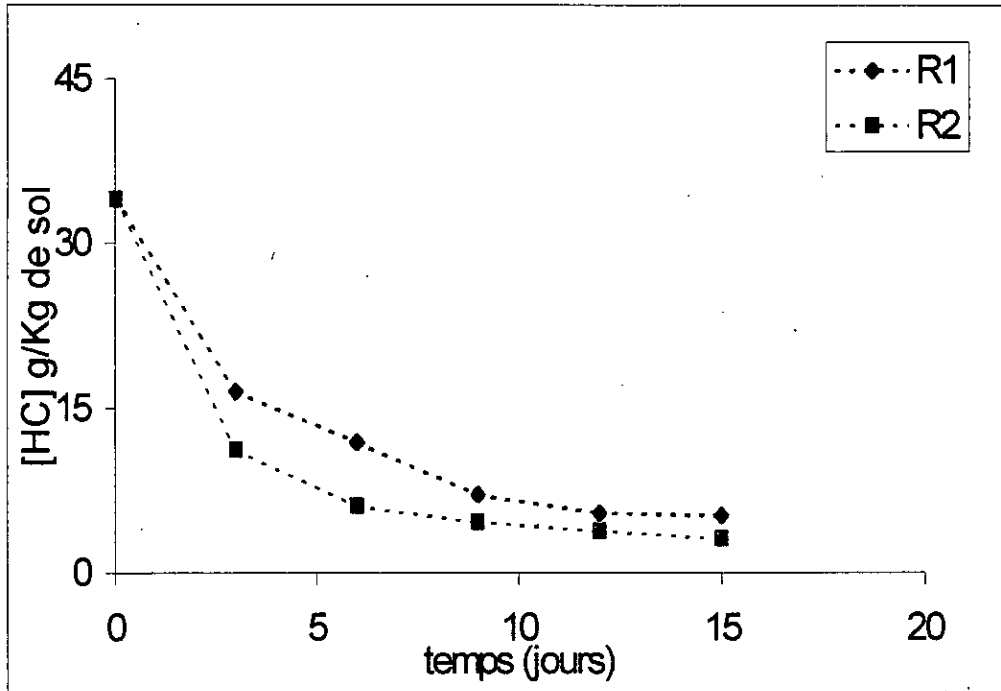
La vitesse de dégradation des hydrocarbures est rapide pendant les neuf premiers jours correspondant à la phase exponentielle et stationnaire de la croissance bactérienne, avec un rendement d'élimination de 76.11% pour le R1 et 79.11% pour le réacteur R2. (fig.32 et 33)

Après le 9<sup>ème</sup> jour la vitesse de dégradation des hydrocarbures est plus ou moins lente car c'est le début de la phase de déclin.

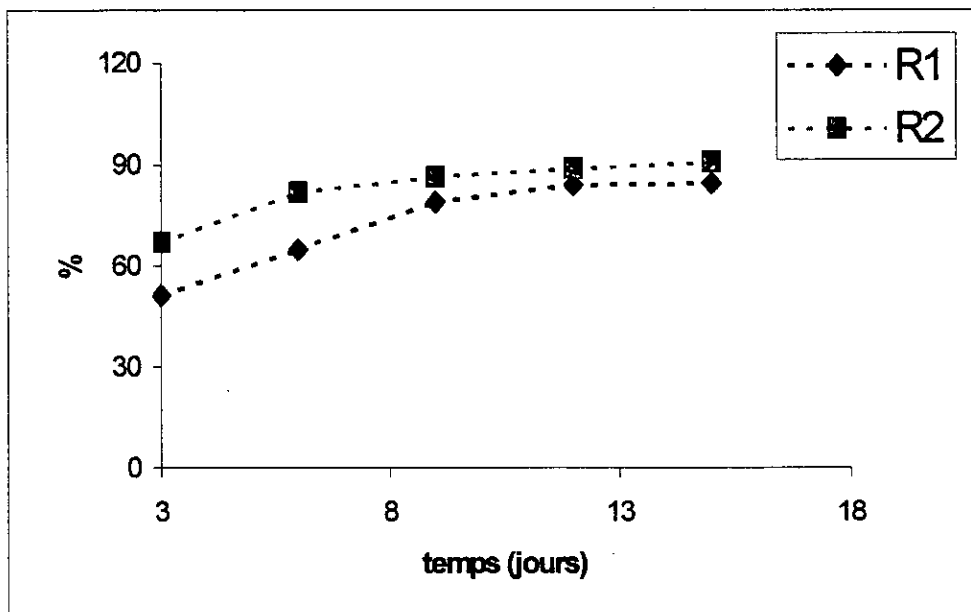
En fin de période d'incubation qui à durée 15 jours nous avons obtenu un rendement d'élimination des hydrocarbures contenus dans le sol de 84.70% pour le R1 et 90.88% pour le réacteur R2.

### **IX-6-2- EVOLUTION DE LA TENEUR EN HYDROCARBURES CONTENUS DANS LA PHASE LIQUIDE**

La vitesse de dégradation des hydrocarbures est plus ou moins rapide pendant les quinze jours d'incubation, elle ne passe pas par deux étapes comme nous l'avons déjà constaté dans le cas de la dégradation des hydrocarbures qui enrobent le sol (fig.34 et 35). Ceci est dû probablement au fait que le contact entre les bactéries et les hydrocarbures dans la phase liquide est meilleur, et que les nutriments ainsi que l'oxygène dissous se trouvent disponibles et bien répartis dans cette phase [42].

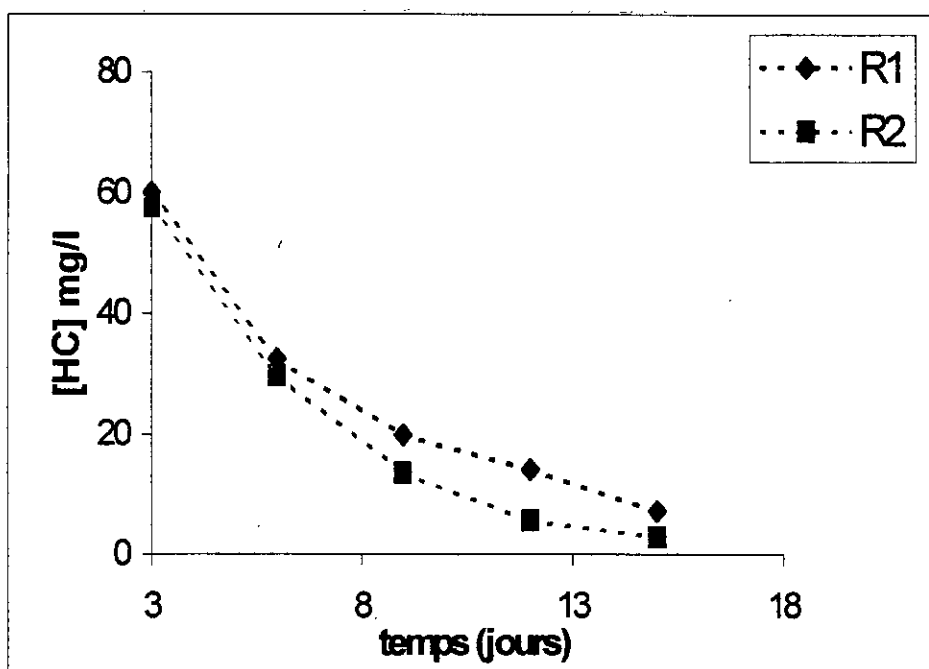


**Fig.32 Evolution de la teneur en hydrocarbures contenus dans le sol dans les deux réacteurs.**

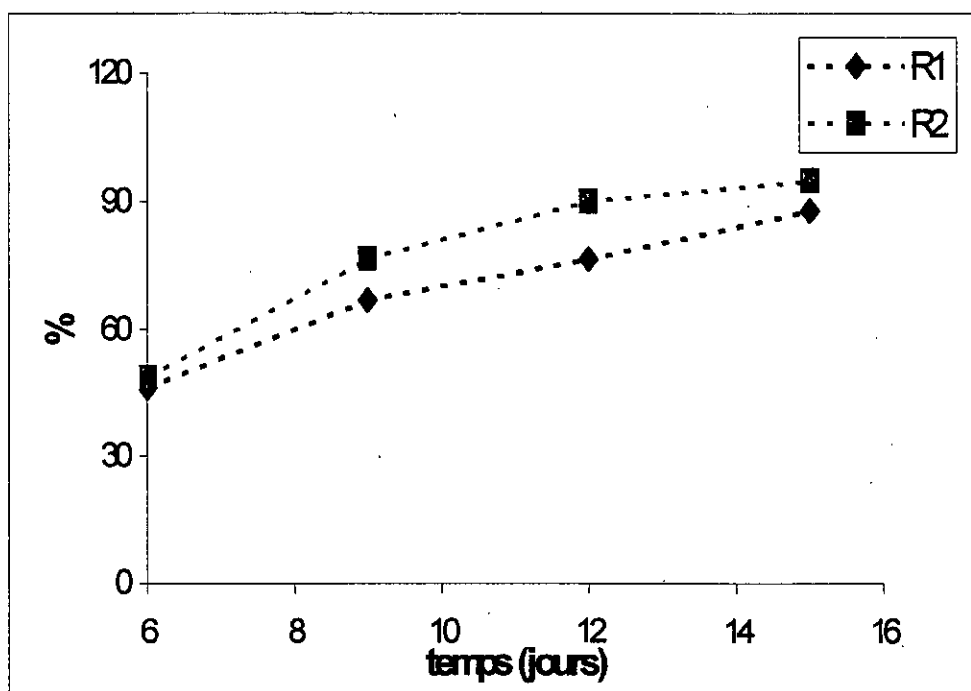


**Fig.33 Evolution du rendement d'élimination des hydrocarbures contenus dans sol dans les deux réacteurs R1 et R2.**





**Fig.34 Evolution de la teneur en hydrocarbures contenus dans la phase liquide dans les deux réacteurs**



**Fig.35 Evolution du rendement d'élimination des hydrocarbures Contenus dans la phase liquide dans les deux réacteurs R1 et R2.**

## IX-7- DETERMINATION DE L'ORDRE DE LA REACTION DE DEGRADATION DES HYDROCARBURES

Nous avons vu dans la partie théorique que la dégradation biologique d'un hydrocarbure est assimilée à une réaction d'ordre 1.

Pour déterminer la cinétique de dégradation des hydrocarbures dans notre cas il aurait fallu réaliser

- Une analyse qualitative et quantitative des hydrocarbures présents dans les deux réacteurs par chromatographie en phase gazeuse ;
- Tracer la courbe  $\ln ([HC]_0/[HC])$  en fonction du temps pour chaque hydrocarbure.

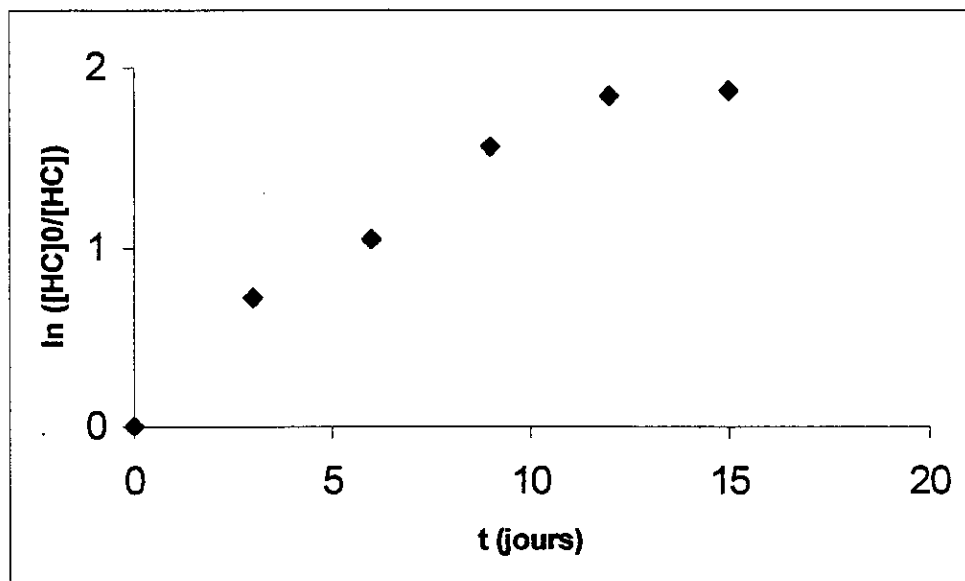
Comme les hydrocarbures totaux ont été dosés par spectroscopie infrarouge, nous avons essayé de voir la cinétique globale de dégradation de notre mélange d'hydrocarbures.

Les figures 36 et 37 montrent que la cinétique de dégradation des hydrocarbures contenus dans le sol n'est pas une cinétique d'ordre 1. Car le tracé de  $\ln ([HC]_0/[HC])$  en fonction du temps ne donne pas une droite qui passe par l'origine et plus particulièrement dans le deuxième réacteur.

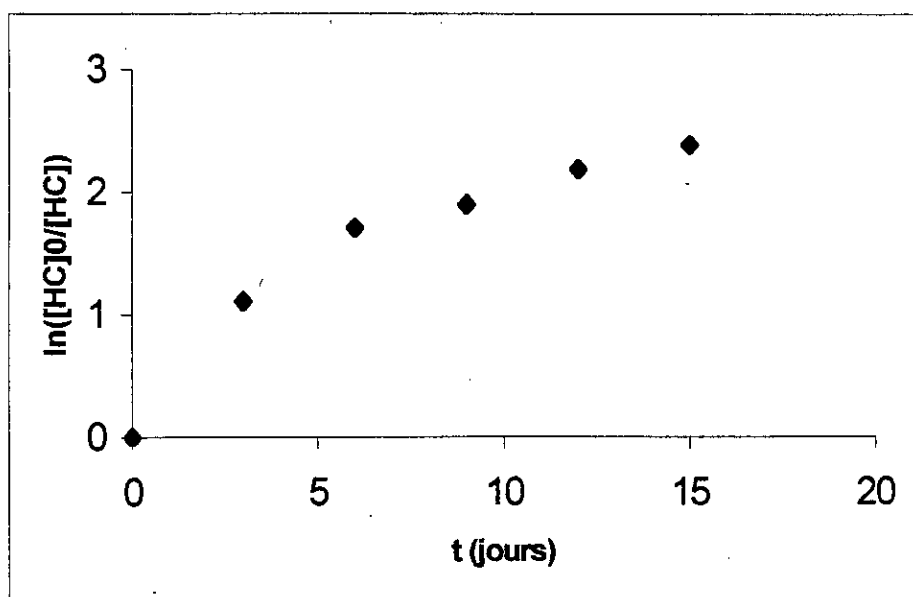
Les figures 38 et 39, montrent que la cinétique de dégradation des hydrocarbures contenus dans le sol est d'ordre deux. Car le tracé de  $1/[HC]$  en fonction du temps donne des droites qui ne passent pas par l'origine.

D'autres essais devraient être réalisés pour infirmer l'une ou l'autre hypothèse.

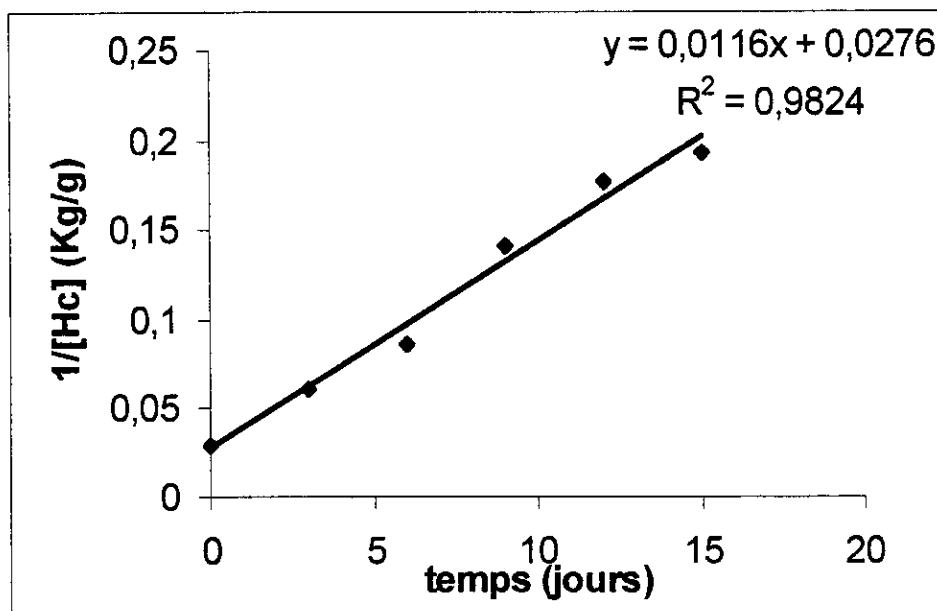
Les figures 40 et 41, montrent que la cinétique de dégradation des hydrocarbures contenus dans la phase liquide est d'ordre 1. Ceci est probablement dû à la présence d'un mélange d'hydrocarbure de la même famille : les hydrocarbures légers ce sont ces derniers soluble dans l'eau.



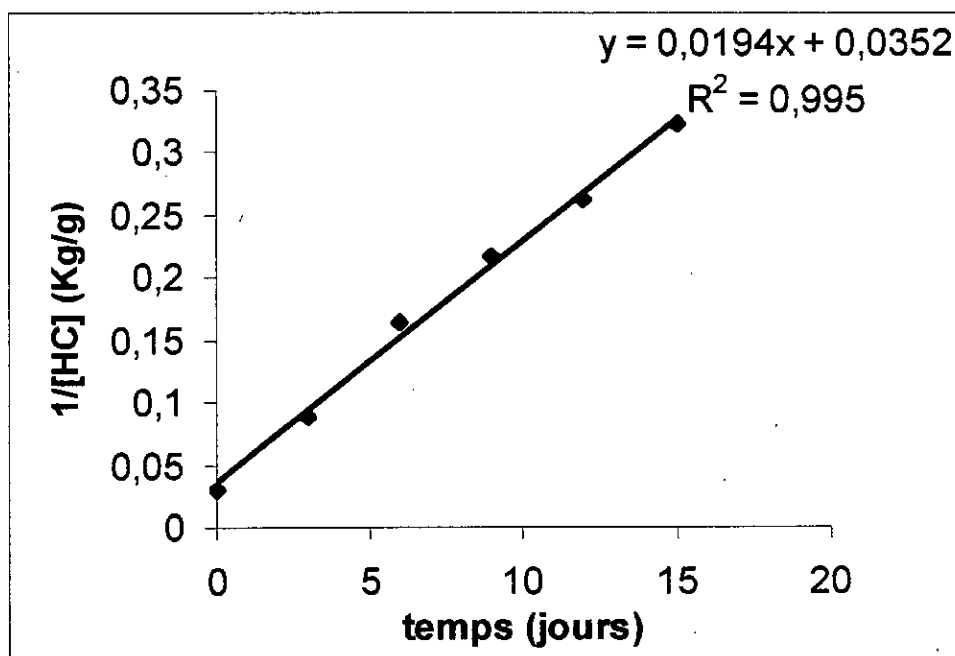
**Fig.36 : Représentation de  $\ln ([HC]_0/[HC])$  (les hydrocarbures du sol) en fonction du temps dans le premier réacteur R1.**



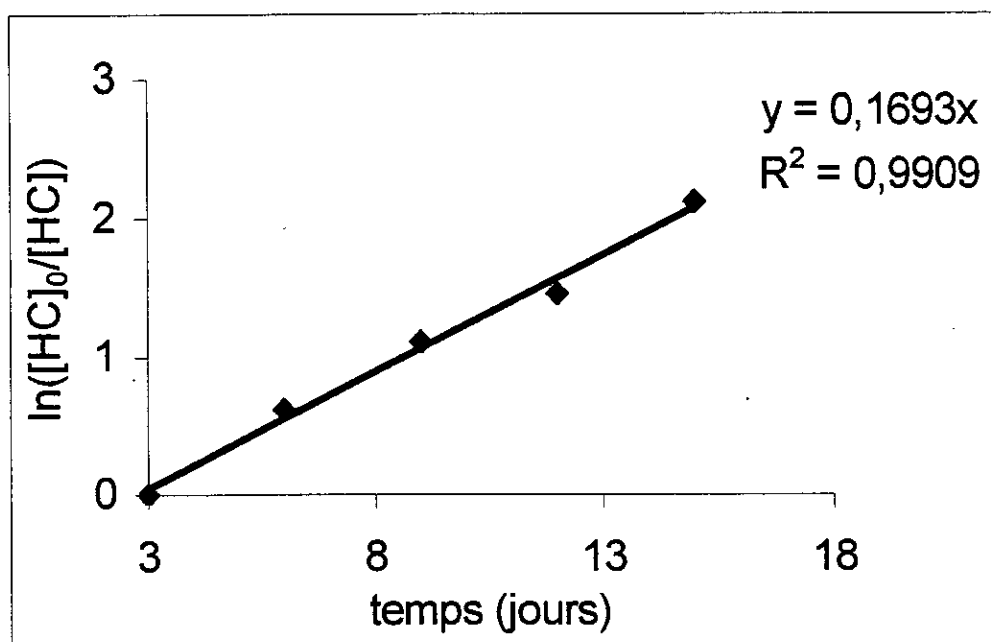
**Fig. 37 : Représentation de  $\ln ([HC]_0/[HC])$  (les hydrocarbures du sol) en fonction du temps dans le deuxième réacteur R2.**



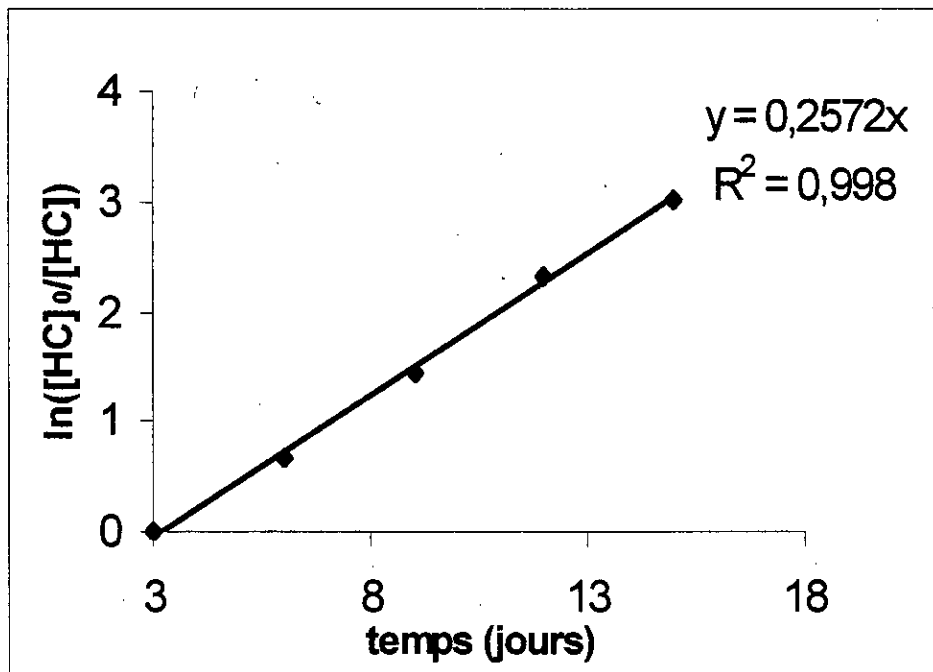
**Fig. 38 Représentation de l'inverse de la concentration des hydrocarbures du sol en fonction du temps dans le réacteurs R1.**



**Fig. 39** Représentation de l'inverse de la concentration des hydrocarbures du sol en fonction du temps dans le réacteurs R2.



**Fig. 40** Représentation de  $\ln ([HC]_0/[HC])$  (les hydrocarbures contenus dans la phase liquide) en fonction du temps dans le réacteur R1.



**Fig. 41 Représentation de  $\ln ([HC]_0/[HC])$  (les hydrocarbures contenus dans la phase liquide) en fonction du temps dans le réacteur R2.**

## CONCLUSION

Notre étude, a consisté à traiter dans un bioréacteur agité triphasé un sol pollué par du pétrole brut et provenant d'une zone industrielle située à Hassi-Messaoud.

Il ressort clairement que le traitement du sol dans un bioréacteur est plus efficace que les autres techniques de rémédiation in situ et sur site en terme de rapport temps /efficacité. Comme il a été déjà avancé à travers la littérature.

Cependant l'obtention d'un bon rendement d'élimination des hydrocarbures en utilisant un bioréacteur agité triphasé, nécessite un dimensionnement du réacteur et du système d'agitation, et une optimisation des caractéristiques hydrodynamiques (débit d'air, vitesse d'agitation) qui peuvent interférer dans les phénomènes de transfert de matières.

La détermination d'un débit d'air optimum de  $4.5 \times 10^{-5} \text{ m}^3/\text{s}$ , et d'une vitesse d'agitation optimale de 450 tr/min, a donnée un meilleur transfert d'oxygène dans le bioréacteur avec un coefficient de transfert volumique de  $5.8 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$  et une circulation suffisante du liquide tout en maintenant le sol en suspension dans la phase liquide.

Optimiser les paramètres environnementaux dans le bioréacteur est aussi une nécessité pour le bon déroulement de la dégradation des hydrocarbures. Pour cet effet nous avons optimisé le pH, la température, le pourcentage du sol et la dose des éléments nutritifs, qui est ajustée par l'ajout d'une source d'azote et de phosphore pour avoir un rapport C/N/P optimum.

Nous avons réalisé deux essais de traitements en bioréacteur, pour pouvoir comparer l'efficacité de la dégradation des hydrocarbures selon qu'on utilise une microflore autochtone ou une microflore autochtone plus une bioaugmentation. La bioaugmentation a été réalisée en utilisant une souche bactérienne du genre *Pseudomonas Fluorescens* purifiée après isolement du sol étudié.

Les résultats obtenus ne révèlent pas une grande différence dans le cas de la bioaugmentation. Au bout de quinze jours de traitement ou d'incubation le pourcentage d'élimination des hydrocarbures contenus dans le sol est de 84.70% dans le cas d'une microflore autochtone seule et de 90.88% dans le cas d'une bioaugmentation.

Les hydrocarbures présents dans la phase liquide issus du sol par différents mécanismes sont également dégradés avec un pourcentage d'élimination de 88% dans le cas d'une microflore autochtone seule et de 95 % dans le cas d'une bioaugmentation.

Nous ne pouvons cependant conclure sur l'influence de l'apport extérieur en nutriments sur la dégradation des hydrocarbures, car dans les deux réacteurs nous avons rajouté les même quantités de nutriments (azote et phosphore).

Il aurait fallu réalisé un essai témoin (sans apport de nutriments ni ajout de bactéries adaptée), mais ni le temps imparti pour cette étude, ni les moyens disponibles ne nous ont permis d'exploiter tous les paramètres et variables intervenant lors du phénomène de biodégradation des hydrocarbures.

Au bout de 15 jours d'incubation il est donc possible de séparer le sol de la phase liquide par décantation, déshydratation, etc...

La phase liquide peut être rejetée dans un milieu naturel récepteur, car elle répond aux normes de rejets présentées dans le décret exécutif n° 93-160 :

- Les teneurs hydrocarbures de 7.20 mg/l dans le premier réacteur et de 2.81 mg/l dans le deuxième, ils sont largement au dessous de la norme de rejet qui est fixée à 20 mg/l.
- Les teneurs en azote total respectivement de 11.75 mg/l et de 9.81 mg/l, ils sont largement au dessous de la norme de rejet qui est fixée à 40 mg/l.
- Les teneurs en phosphore respectivement de 0.47 mg/l et de 0.24 mg/l, ils sont largement au dessous de la norme de rejet qui est fixée à 2 mg/l.

Quant au sol traité avant de l'utiliser ou de le rejeter dans un milieu naturel, il faut faire une analyse quantitative et qualitative des hydrocarbures qui restent (par chromatographie en phase gazeuse par exemple), pour comparer les teneurs des différents hydrocarbures avec les normes.

## **RECOMMANDATIONS**

Pour des études ultérieures sur le traitement en bioréacteur des sols contaminés par les hydrocarbures, il serait souhaitable :

- D'étudier tous les paramètres hydrodynamique tel l'influence du taux de rétention , et de tester plusieurs modes d'agitation ;
- De faire un dosage des hydrocarbures par chromatographie en phase gazeuse pour suivre leur dégradation qualitativement et quantitativement ;
- D'utiliser une souche plus performante ou plus pure pour la bioaugmentation.

# BIBLIOGRAPHIE

- [1] : **P.Duchaufour** ,  
«Pédologie, sol, végétation, environnement abrégés» , 5<sup>ème</sup> édition ; Masson , 1995.
- [2] : **A.Bruand** ,  
«constitution, structure et porosité des sols » , université d'Orléans – Ecole supérieure de l'énergie et des matériaux , 1996.
- [3] : **S.Chérid** ,  
«Biodégradation des hydrocarbures, Techniques de bio-réhabilitation des sols pollués » , Journées scientifiques et techniques 3, Sonatrach , 1998.
- [4] : **Y. Dommergues** ,  
«La biologie des sols » , Presses Universitaire de France. France. 125p, 1988.
- [5] : **A.Wild** ,  
«Soils and the environment» , Cambridge University Press , 1993.
- [6] : **S.Jankovic** ,  
«Manuel de chimie de l'environnement» , OMS , Genève 1974.
- [7] : **P.Arnaud** ,  
« cours de chimie organique» , 15<sup>ème</sup> édition , Dunod , 1980.
- [8] : **M.L.Bordenave** ,  
«Applied petroleum geochemistry » , Edition Technip , paris , 1993.
- [9] : **D. Biskri** ,  
«Biodégradation Du benzène Et Du Toluène Par Des Souches De Pseudomonas Et Bacillus» , Projet de Fin d'étude , Ecole Nationale Polytechnique, Alger, 1990.
- [10] : **Lavalin** ,  
«Programme de formation en management environnemental» , Sonatrach , Volet environnement phase I , Septembre 1997.
- [11] : **F.Zaddoun et J.Bone** ,  
«Sécurité» , Publication de l'IFP , Edition technip , 1970.
- [12] : **Anonyme** ,  
«Faites connaissance avec les hydrocarbures » , Sonatrach , 2<sup>ème</sup> édition , 1990.
- [13] : **P. Motard** ,  
«La Boue De Forage » , groupe II , leçon 2 , Edition Technip , 1972.

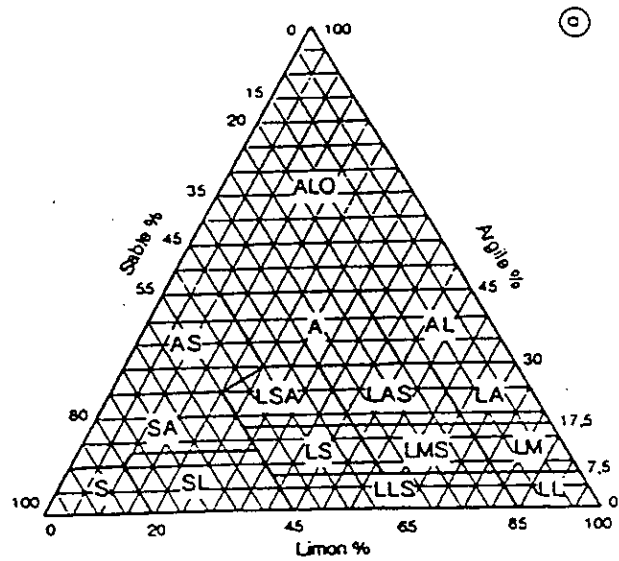


- [14] : **A.Benkara-Mostefa** ,  
 <<Protection de l'environnement dans le domaine du forage , Une tache d'envergure et des objectifs volontaires>> , Journées scientifiques et techniques 3 , Sonatrach , 1998.
- [15] : **G.Ait.Ali** ,  
 <<Mesure de réglementation pour la protection de l'environnement dans les activités d'exploration et d'exploitation des hydrocarbures>> , Ministère de l'énergie et des mines , 1998.
- [16] : **C. Gatellier** ,  
 <<Protection de l'environnement dans le milieu industriel >>, Technique de l'ingénieur , 1992, A8652-7.
- [17] : **Journal officiel de RADP** ,  
 <<Réglementant des rejets d'effluents liquides industriels >>, décret escécutif N°93-160,1993.
- [18] : **J.M.Costes et B.Druelle** ,  
 <<Les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans l'environnement : La réhabilitation des anciens sites industriels>> , Institut français du pétrole , Vol.52, N°4, 1997, 425-438.
- [19] : **J.M.Destribats, E.Prez et B.Soyez** ,  
 <<La dépollution des sols en place, Techniques et exemples>>, Environnement magazine , N°1536 ; 1995
- [20] : **J.S.Tersier** ,  
 <<Réhabilitation des sols>> , Edition Pan France , 1995.
- [21] : **Lysanne Larose** ,  
 <<Décontamination / Restauration des sites>> , Memo web à partir de <http://WWW.enviroaccess.ca/fiches/FA1-02-95 f.html>.
- [22] : **P.Douzou et G.Siclet** ,  
 <<Les biotechnologies>> , Que sais-je , 2<sup>ème</sup> édition , 1990.
- [23] : **K. Widad** ,  
 <<Contribution à l'étude de l'élimination des composés phénolés issus des unités de raffinage du pétrole>>, Projet de fin d'étude , E.N.P , Alger, 1998.
- [24] : **F. Benabdelmoumene, M.Salhi** ;  
 <<Essai de traitement biologique d'une eau polluée par le gas-oil avec l'utilisation de deux souches appartenant aux genres Bacillus et Pseudomonas >>, P.F.E , Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene , Alger, 1991.
- [25] : **S.K. Barnet et C.W. Velankar** ,  
 <<Mechanism of hydrocarbon uptake by microorganisms>>, Biotech. and bioengi. , Vol.XVI, N°26, 1974, 863-865.
- [26] : **F.Gassi** ,  
 <<La Biorémediation Des Sols Et Des Bourbiers Contaminés Par Les Hydrocarbures>> , Projet de Fin d'étude , USTHB , Alger, 1998.

- [27] : **US. E.P.A 1995** ,  
 <<Manual principales and practices of bioventing , Bioventing principales>> , Vol.I , EPA 15401 R-95/534a , Washington, 1995,p.p 18
- [28] : **Y. Dommergues et E. Mangenot**,  
 <<Ecologie Microbienne du sol >>, Masson et Cie éditeurs, Paris. 796p, 1970.
- [29] : **U.S. EPA.1991**,  
 <<Site characterization for subsurface remediation>>, Seminar publication, EPA/625/4-91/026, Office of research and development, Washington, DC.
- [30] : **R.B. Grubbs**,  
 <<Enhanced biodegradation of aliphatic and aromatic hydrocarbons through bioaugmentation>>, Presented at the 4<sup>th</sup> annual hazardous materials management conference/exhibit, Atalantic City, June 2-4.
- [31] : **J. Zeyer, E.P. Kuhn et R.P. Schwarzenbach**,  
 << Rapid microbial mineralisation of toluene and 1,3-Dimethylbenzenz in the absence of molecular oxygen >>, Appl. Environ. Microbiol., 52, 1986, 944-947.
- [32] : **R.M. Atlas**,  
 << Biodegradation of hydrocarbon in the environment >>, Basic life science, vol.45, Environmental biotechnology-reducing risks from environmental chemicals through biotechnology, B.S. Omenn, editor, Plenum Press, USA, 1988, pp. 211-223.
- [33] : **P.G. Berwick, D.A. Stafford**,  
 << Waste oil disposal by microbial technology >>, Process biochemistry, vol. 20, 1988, 460-475.
- [34] : **M.Amiali** ,  
 <<Biotraitement D'un Sol Pollué Par Les Hydrocarbures>> , Projet de fin d'études , USTHB , Alger, 1996.
- [35] : **U.S. EPA 1995**,  
 << Bioremediation in the field search system (BFSS) database >>, user documentation, EPA/540/R-95/508A, Office of research and development.
- [36] : **U.S. EPA.1989**,  
 << Bioremediation of contaminated surface soils >>, Environmental research laboratory, EPA/600/9-89/073, Ada, Ok.
- [37] : **U.S. E.P.A 1996**,  
 << Seminars : Bioremediation of Hazordous waste sites, Practical approaches to implementation >>, EPA/625/K-96/001,1996.
- [38] : **I.Denis** ,  
 <<Bioventilation des sols >>, Décontamination / Restauration des sites , Memo web à partir de [http:// WWW.enviroaccess.ca/fiches/FA1-06-95 f.html](http://WWW.enviroaccess.ca/fiches/FA1-06-95f.html).

- [39] : **T.Matt** ,  
<<Bioaspiration >> , Décontamination / Restauration des sites, Memo web à partir de [http:// WWW.enviroaccess.ca/fiches/FA1-05-96.f.html](http://WWW.enviroaccess.ca/fiches/FA1-05-96.f.html).
- [40] : **H.Derek** ,  
<<Biodégradation en piles >>, Décontamination / Restauration des sites , Memo web à partir de [http:// WWW.enviroaccess.ca/fiches/FA1-05-95.f.html](http://WWW.enviroaccess.ca/fiches/FA1-05-95.f.html).
- [41] : **R.Scriban** ,  
<<Biotechnologies>>, Lavoisier tec.et doc. , 3<sup>ème</sup> édition , 1993.
- [42] : **P.Mc Canley, et J.Glaser** ,  
<<Slurry Bioreactors For Treatment Of Contaminates Soils, Sludgs, And Sediments>> ; Seminars : Bioremediation Of Hazardous Waste Sites Practical Approches To Implementation ; EPA 625/K-96/001, 1996.
- [43] : **F.U. Chunsheng et H. Tabak** ,  
<<Studies on contaminant biodegradation in slurry, wafer, and compacted soil tube reactors>> , Enviro. Sci. Technol. , Vol.30, N° 3 , 1996.
- [44] : **L. Rideh**,  
<< Photodégradation d'une solution aqueuse du 2-Chlorophénol en présence de TiO<sub>2</sub> Anatase>>, These de doctorat, Université H. Poincaré Nancy, ENSIG-1997.
- [45] : **T. Charinpanitkul et K. Yoshida** ,  
<<Gaz-liquid mass transfer in a three-phase reactor>> , J.Chem.Eng Japan, N° 26, 1993, 440-442.
- [46] : **B.C. Smith et D.R. Skidmore** ,  
<<Mass transfer phenomena in an airlift reactor : Effects of solids loading and temperature>> , Biotech. Bioeng. , N°35 , 1990, 438-491.
- [47] : **J.I. Sprent** ,  
<<The Ecology Of The Nitrogen Cycle >>, Cambridge Univ.Press , 1987.
- [48] : **M.S. Subba Rao** ,  
<<Biological Nitrogen Fixation>> , Gordon et Breach , New York , 1988.
- [49] : **M.Sadi et K.G.Maman** ;  
<<Elimination Du Phosphore Par Voie Biologique >>, Projet de Fin d'études , Ecole Nationale Polytechnique , Alger, 1988.

# ANNEXE 1



ALO	argile lourde	LLS	limon léger sableux
AL	argile limoneuse	LS	limon sableux
A	argile	LMS	limon moyen sableux
AS	argile sableuse	LSA	limon sablo-argileux
LL	limon léger	LAS	limon argilo-sableux
LM	limon moyen	S	sable
LA	limon argileux	SL	sable limoneux
		SA	sable argileux

Fig. 1 :Triangle de classification des textures (GAPPA, 1993) [2].

# ANNEXE 2

# I- METHODOLOGIE DES ANALYSES DES PARAMETRES PHYSICO-CIMIQUES DU SOL

## 1- pH (norme NF X 31 103)

5g de sol sont introduit dans un b cher, on ajuste à 50ml avec l'eau distillée, après une agitation du mélange pendant 1/2h, on effectue la lecture à l'aide d'un potentiomètre.

## 2- L'humidité et matière sèche (norme NF T 90 029)

Un échantillon de 50g du sol est introduit dans un creuset, est séché dans l'étuve à 105  pendant 1h.

$$Hu (\%) = \frac{P_1 - P_2}{PE} \cdot 100$$

P<sub>1</sub>: poids du sol humide en gramme.

P<sub>2</sub>: poids du sol sec en gramme.

PE: prise d'essai de l'échantillon (50 g).

Hu: l'humidité en %

$$MS (\%) = 100 - Hu (\%)$$

MS: matière sèche en %.

## 3- Matière organique (NF X 31 071)

L'échantillon du sol sec (après  tuvation pendant 1h), est introduit dans un four à 550  pendant 20 minutes.

$$MO = \frac{P_2 - P_3}{PE} \times 100$$

P<sub>2</sub>: poids du sol sec (après  tuvation pendant 1h) en gramme ;

P<sub>3</sub>: poids du sol après calcination en gramme ;

MO: matière organique en gramme.

## 4- Dosage des nitrates, nitrites, azote ammoniacal, azote kjeldahl

Une lixiviation doit être effectuée pour doser ces éléments. 10 g d'échantillon du sol sont introduits dans un b cher contenant 100ml d'eau distillée. Après agitation pendant 1h et filtration, on proc de comme suit pour doser ces éléments :

### 4-1- Dosage des nitrates (norme HACH 8152)

Le dosage des nitrates est effectué à l'aide d'un spectrophotomètre type DR2000 à une longueur d'onde 400 nm, après ajout d'une gélule de réactif NitraVer5 au lixiviat.

Le principe de cette mesure repose sur la réduction des nitrates présents dans l'échantillon en nitrites par le cadmium métallique contenu dans les gélules de réactifs. Les nitrites réagissent en milieu acide avec l'acide sulfanilique pour former un sel de diazonium. Ce sel réagit avec l'acide gentisique pour former un complexe coloré ambre. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en nitrates.

#### **4-2-Dosage des nitrites (norme HACH 8153)**

Le dosage des nitrites est effectué à l'aide d'un spectrophotomètre type DR2000 à une longueur d'onde 507 nm, après ajout d'une gélule de réactif NitriVer2 au lixiviat.

la méthode utilise le sulfate ferreux en milieu acide pour réduire les nitrites en oxyde nitreux. L'ion ferreux se combine avec l'oxyde nitreux pour former un complexe brun-verdâtre dont la coloration est proportionnelle aux nitrites présents.

#### **4-3- Dosage de l'azote ammoniacal (NF T 90 015)**

Le principe de cette méthode repose sur l'entraînement à la vapeur en milieu alcalin de l'ammoniaque libre ou salifié et le dosage acidimétrique du distillat.

On fait introduire le lixiviat dans l'éprouvette adaptable à l'unité de distillation et ajoute du carbonate de sodium. Par ailleurs, on prépare le bêcher qui doit recueillir le distillat, en introduisant de l'acide borique plus quelques gouttes de l'indicateur mixte (rouge de méthyle + bleu de méthylène)

Lorsque la distillation est achevée on effectue la titration, du distillat recueilli dans le bêcher, à l'aide d'une solution d'acide sulfurique à 0,02 N jusqu'au virage de la couleur du bleu au jaune orange.

#### **4-4- Dosage de l'azote kjeldahl (norme X31 111)**

le principe de cette méthode consiste à minéraliser les composés organiques (composés d'origine biologiques) en milieu acide et en présence d'un catalyseur puis à doser l'azote ammoniacal obtenu, par titrimétrie après distillation en milieu alcalin.

L'azote kjeldahl = l'azote ammoniacal + l'azote organique.

#### **5- Dosage du phosphore (NF X 31 160)**

Le principe de cette méthode repose sur l'extraction du phosphore soluble par agitation de la prise d'essai dans une solution aqueuse d'acide citrique (20 g/l) pendant 16h.

L'extrait est dosé par un spectrophotomètre type DR2000 à une longueur d'onde 890 nm, après ajout d'une gélule de réactif PhosVer3 à 25ml d'extrait.

L'orthophosphate réagit avec le molybdate en milieu acide pour produire un complexe le phosphomolybdate. L'acide ascorbique réduit le complexe, donnant une coloration intense de bleu de molybdène.

#### **6- Les hydrocarbures totaux**

Le dosage quantitatif des hydrocarbures totaux est réalisé par spectroscopie infrarouge.

##### **6-1- Principe**

La teneur en hydrocarbures est déterminée par la mesure de l'absorption dans l'infrarouge à une longueur d'onde comprise entre 2650 et 3200  $\text{cm}^{-1}$ .



Le dosage est effectué dans un spectroscope à transformées de Fourier. Selon un logiciel de quantification suivant les normes Afnor 90114 ou 90203 améliorées par la firme Nicolet pour les sédiments.

## **6-2- Extraction des hydrocarbures du sol**

L'échantillon du sol est mélangé et broyé avec une quantité suffisante de sulfate de sodium anhydre (un rapport 4/5). Ensuite l'extraction des hydrocarbures qui enrobe le sol est réalisée dans un extracteur SOXHLET en utilisant le tétrachlorure de carbone comme solvant.

L'extrait est recueilli et filtré sur une colonne qui contient le sulfate de magnésium pour éliminer les composés polaires et dosé ensuite les composés non polaires par spectroscopie infrarouge.

## **6-3- Extraction des hydrocarbures présents dans l'eau**

A partir de l'échantillon fraîchement prélevé, on procède à une extraction de la matière organique par un solvant qui est dans notre cas le tétrachlorure de carbone dans un agitateur mécanique. La matière organique extractible est ensuite débarrassée des composés polaires (dans une colonne de silice) et les hydrocarbures sont isolés pour être analysés par spectroscopie infrarouge.

# **II-METHODOLOGIE DE LA DETERMINATION DES CARACTERISTIQUES BIOLOGIQUES**

## **II-1- COLORATION GRAM**

- 1- Préparation du frottis : une goutte d'eau physiologique dans laquelle on fait étaler notre inoculum bactérien, ensuite on sèche la lame à la flamme ;
- 2- On colore le frottis par deux gouttes du violet de Gentiane qu'on laisse agir pendant 1 minute avant de le couvrir avec le Lugol pendant 45 secondes après on jette le surplus et on refait l'opération pour une deuxième fois ; on ajoute de l'alcool qu'on laisse agir pendant 30 secondes, on lave après la lame à l'eau distillée, on recolore la lame à la Fushine qu'on laisse agir pendant 2 minutes puis on jette l'excès, on rince à l'eau distillée et on sèche la lame à la flamme.

## **II-2- LA PREPARATION DU MILIEU D'ISOLEMENT**

Le milieu utilisé est à base de sels minéraux. La préparation est ramenée à un litre d'eau. on ajuste le pH à 7.5 et on répartit 250 ml de cette solution dans des erlens de 100ml à raison de 10ml par erlen.

Les 750 ml restants sont solidifiés par ajout de 2 à 3 % de agar-agar et répartis dans 3 flacons de 250ml.

Cette répartition de la solution en deux milieux différents est nécessaire pour une bonne purification, car il est important de cultiver les souches alternativement dans un milieu solide puis dans un milieu liquide.

Tous ces milieux doivent être stérilisés tout de suite après leur préparation et ce avant toute utilisation.

### La composition du milieu d'isolement

$K_2HPO_4$	5g
$KH_2PO_4$	5g
$MgSO_4$	2g
NaCl	0.1g
$NaNO_3$	5g
Extrait de levure	3g
Eau de robinet	1000ml

Comme hydrocarbure on ajoute 2% de gas-oils dans le milieu d'isolement.

### III- LA COMPOSITION DE LA SOLUTION TAMPON UTILISEE DANS LE MILIEU DE CULTURE

La solution tampon utilisée pour maintenir le pH du milieu de culture entre 6.8 et 7.8 est constituée de :

15.8 ml de $KH_2PO_4$	0.33M
84.2 ml de $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$	0.33M

# ANNEXE 3

Tableau N°1 : un débit d'air de  $1.25 \times 10^{-5} \text{ m}^3/\text{s}$  et sans agitation mécanique.

t (s)	0	300	480	600	900	1200	1500	1800	2100
$C_L$ (mg/l)	7.30	7.55	7.83	7.96	8.1	8.31	8.44	8.50	8.55
$C^*$ (mg/l)	9.27	9.27	9.23	9.23	9.23	9.22	9.22	9.22	9.18
$\text{Ln}[(C^*-C_0)/(C^*-C_L)]$	0	0.136	0.321	0.423	0.535	0.746	0.900	0.980	1.093

Tableau N° 2 : un débit d'air de  $2.5 \times 10^{-5} \text{ m}^3/\text{s}$  et sans agitation mécanique.

t (s)	0	300	600	900	1200	1500
$C_L$ (mg/l)	7.31	7.97	8.68	8.83	9.02	9.09
$C^*$ (mg/l)	9.27	9.27	9.22	9.20	9.20	9.16
$\text{Ln}[(C^*-C_0)/(C^*-C_L)]$	0	0.410	1.270	1.625	2.346	3.269

Tableau N° 3 : un débit d'air de  $3.75 \times 10^{-5} \text{ m}^3/\text{s}$  et sans agitation mécanique.

t (s)	0	180	300	420	600	780	960
$C_L$ (mg/l)	7.31	7.81	8.3	8.82	8.9	9.05	9.08
$C^*$ (mg/l)	9.27	9.27	9.25	9.24	9.23	9.22	9.2
$\text{Ln}[(C^*-C_0)/(C^*-C_L)]$	0	0.400	0.713	1.440	1.760	2.419	2.756

Tableau N° 4 : un débit d'air de  $5.00 \times 10^{-5} \text{ m}^3/\text{s}$  et sans agitation mécanique.

t (s)	0	120	240	480	600	900
$C_L$ (mg/l)	7.32	7.89	8.54	8.78	8.96	9.11
$C^*$ (mg/l)	9.27	9.27	9.24	9.23	9.22	9.21
$\text{Ln}[(C^*-C_0)/(C^*-C_L)]$	0	0.440	0.851	1.522	2.060	2.850

Tableau N° 5 : un débit d'air de  $4.5 \times 10^{-5} \text{ m}^3/\text{s}$  et une vitesse d'agitation de 280 tr/min.

t (s)	0	60	180	300	600	780	900	1200
$C_L$ (mg/l)	7.31	7.64	7.86	8.26	8.62	8.82	8.91	9.02
$C^*$ (mg/l)	9.27	9.23	9.22	9.2	9.18	9.16	9.14	1200
$\text{Ln}[(C^*-C_0)/(C^*-C_L)]$	0	0.191	0.344	0.700	1.210	1.723	2.145	2.800

Tableau N° 6 : un débit d'air de  $4.5 \times 10^{-5} \text{ m}^3/\text{s}$  et une vitesse d'agitation de 375 tr/min.

t (s)	0	60	120	300	480	600	720
$C_L$ (mg/l)	7,32	7,89	8,27	8,68	8,92	9,03	9,12
$C^*$ (mg/l)	9,4	9,36	9,34	9,32	9,31	9,29	9,29
$\text{Ln}[(C^*-C_0)/(C^*-C_L)]$	0	0,290	0,611	1,112	1,600	2,021	2,400

Tableau N° 7 : un débit d'air de  $4.5 \times 10^{-5} \text{ m}^3/\text{s}$  et une vitesse d'agitation de 450 tr/min.

t (s)	0	30	60	180	300	360	480
$C_L$ (mg/l)	7,31	7,9	8,15	8,95	8,97	9,01	9,11
$C^*$ (mg/l)	9,34	9,32	9,31	9,29	9,25	9,24	480
$\text{Ln}[(C^*-C_0)/(C^*-C_L)]$	0	0,321	0,502	0,940	1,711	2,170	2,772

Tableau N°8 : Evolution de  $k_L a$  en fonction du débit d'air sans agitation mécanique

$Q_g$ ( $\text{m}^3/\text{s}$ )	$1.25 \cdot 10^{-5}$	$2.50 \cdot 10^{-5}$	$3.75 \cdot 10^{-5}$	$5.00 \cdot 10^{-5}$
$k_L a$ ( $\text{s}^{-1}$ )	$6.00 \cdot 10^{-4}$	$2.00 \cdot 10^{-3}$	$3.00 \cdot 10^{-3}$	$3.30 \cdot 10^{-3}$

Tableau N°9 : Evolution de  $k_L a$  en fonction de la vitesse d'agitation pour un débit d'air de  $4.5 \times 10^{-5} \text{ m}^3/\text{s}$

$V_r$ (tr/min)	280	375	450
$k_L a$ ( $\text{s}^{-1}$ )	$2.30 \cdot 10^{-3}$	$3.40 \cdot 10^{-3}$	$5.80 \cdot 10^{-3}$

Tableau N°10 : Evolution de la teneur en nitrates (en mg/l) dans les deux réacteurs

Temps (jours)	0	3	6	9	12	15
R1	8.12	9.61	10.45	6.97	5.41	4.34
R2	8.33	10.40	13.51	5.63	3.82	2.70

Tableau N°11 : Evolution de la teneur en nitrites (en mg/l) dans les deux réacteurs

Temps (jours)	0	3	6	9	12	15
R1	2.80	2.13	2.32	1.97	2.20	1.96
R2	3.12	2.91	2.70	3.28	2.81	2.90

Tableau N°12 : Evolution de la teneur en azote ammoniacal (en mg/l) dans les deux réacteurs

Temps (jours)	0	3	6	9	12	15
R1	3.61	1.26	0.62	1.57	0.81	0.96
R2	3.94	0.80	0.34	2.36	1.10	1.21

Tableau N°13 : Evolution de la teneur en phosphore (en mg/l) dans les deux réacteurs

Temps (jours)	0	3	6	9	12	15
R1	1.42	0.83	0.53	0.49	0.47	0.45
R2	1.51	0.42	0.30	0.27	0.24	0.22

Tableau N°14 : Evolution de la teneur en oxygène dissous (en mg/l) dans les deux réacteurs

Temps (jours)	0	3	6	9	12	15
R1	8.2	7.3	6.8	6.5	7.1	7.4
R2	8.1	6.9	6.5	5.9	6.7	6.9

Tableau N°15 : Evolution de la croissance bactérienne (germes/ml) dans les deux réacteurs

Temps (jours)	0	3	6	9	12	15
R1	8.40E+04	7.54E+06	8.10E+07	3.73E+07	8.70E+06	6.71E+06
R2	1.00E+06	8.71E+09	7.92E+10	4.47E+10	4.79E+09	6.46E+08

Tableau N°16 : Evolution de la teneur en hydrocarbures dans le sol (en g/Kg), dans les deux réacteurs

Temps (jours)	0	3	6	9	12	15
R1	34	16.5	11.9	7.1	5.4	5.2
R2	34	11.2	6.1	4.6	3.8	3.1

Tableau N°17 : Evolution de la teneur en hydrocarbures contenus dans la phase liquide (en mg/l) dans les deux réacteurs

Temps (jours)	3	6	9	12	15
R1	60.10	32.36	19.85	14.04	7.20
R2	57.75	29.71	13.50	5.61	2.81

Tableau N°18 : Evolution du rendement d'élimination des hydrocarbures du sol (en %) dans les deux réacteurs

Temps (jours)	3	6	9	12	15
R1	51.47	65.00	79.11	84.11	84.70
R2	67.06	82.07	86.47	88.88	90.88

Tableau N°19 : Evolution du rendement d'élimination des hydrocarbures contenus dans la phase liquide (en %) dans les deux réacteurs

Temps (jours)	6	9	12	15
R1	46.15	66.97	76.64	88.02
R2	48.55	76.62	90.30	95.13

**REMARQUE :**

R1 : le premier réacteur (apport d'éléments nutritifs).

R2 : le deuxième réacteur (apport d'éléments nutritifs et de bactéries adaptées).