

6/03

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

Département de Génie de l'Environnement



Projet de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du diplôme
d'Ingénieur d'Etat en Génie de l'Environnement

THEME

**Etude d'un réacteur en batch pour le
traitement d'un sol pollué par les
hydrocarbures**

Proposé par :
J.ARRAR

Dirigé par :
J.ARRAR

Etudié par :
YALA Amal

Soutenu en Juin 2003

Devant le jury composé de :

M^{me} A. HELLAL.....Présidente
M^{lle} J. ARRAR.....Promotrice
M^{me} S. BOUCHTAOUI.....Examinatrice
M. A. NAMANEExamineur

PROMOTION : 2002/2003

Dédicaces

المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات
BIBLIOTHEQUE — المكتبة
Ecole Nationale Polytechnique

A MES PARENTS ;

*Eux qui se sont sacrifiés corps et âme pour m'offrir le
repos et le bonheur.*

*Pour leur éducation qu'ils m'ont inculquée,
pour leur soutien moral et matériel dont j'ai bénéficié
à chaque fois que j'en ai eu besoin, pour l'amour,
la patience et dévouement qu'ils m'ont insufflés,
pour leur énorme sacrifice, très chers parents je
ne vous remercierai jamais assez pour vos actes.*

A. YALA

ملخص

يكمن الهدف من هذه الدراسة، بالدرجة الأولى، في عزل بكتيريا مكيفة للهيدروكربونات و ذلك باستعمال وحل صادر من مصفاة الجزائر ببراقي.

و تمت بالدرجة الثانية، دراسة معالجة تربة ملوثة بالهيدروكربونات بطريقة بيولوجية داخل مفاعل ذات ثلاثة أوجه مع تهوية الخليط و رجه و إضافة بكتيريا خاصة إلى البكتيريا الأصلية الموجودة في التربة. كما أننا سندرس تأثير المعالجة في المفاعل على مردود المعالجة البيولوجية و ذلك بتوفير العوامل البيئية الملائمة.

الكلمات المفاتيح : الهيدروكربونات - المعالجة البيولوجية - مفاعل ذات ثلاثة أوجه

Résumé

Le but de cette étude est, en premier lieu, d'isoler une souche adaptée aux hydrocarbures, en utilisant une boue provenant de la Raffinerie d'Alger de Baraki.

En second lieu, nous avons étudié la biodégradabilité d'un sol pollué par les hydrocarbures, dans un réacteur triphasique aéré et agité avec une bioaugmentation, en utilisant un inoculum bactérien spécifique en plus des micro-organismes autochtones du sol. Nous étudierons l'influence du pourcentage du sol à traiter dans le réacteur sur le rendement de la bioremédiation, en utilisant des conditions environnementales appropriées.

Mots clés : Hydrocarbures - Bioremédiation - Réacteur triphasique

Abstract

The aim of this study consists on, firstly, isolating bacterium fit to hydrocarbons using a mud coming from the Refinery of Algiers located at Baraki.

Secondly, on studying the biodegradability of the soil polluted by hydrocarbons in an aerated and agitated three phases reactor, with a bioaugmentation, using a specific bacterium inoculum in addition to other bacteria existing in the soil. We will also study influence of the soil percentage, to be treated in the reactor, on the biodegradability efficiency using the appropriate environment conditions.

Key words : Hydrocarbons - Biodegradability - Three phases reactor

SOMMAIRE

المدرسة الوطنية المتعددة التخصصات
المكتبة — BIBLIOTHEQUE
Ecole Nationale Polytechnique

Introduction.....	1
Partie bibliographique	
I. Généralités sur les hydrocarbures.....	2
I.1. Caractérisation des hydrocarbures.....	2
I.2. Comportement des hydrocarbures dans les sols.....	3
I.3. Processus d'altération des hydrocarbures.....	3
I.3.1. Volatilisation	3
I.3.2. Solubilité et lixiviation	3
I.3.3. Biodégradation	3
I.4. Récupération et remédiation.....	4
I.4.1. Le type de matrice.....	4
I.4.2. Les nutriments.....	4
I.4.3. Les caractéristiques des contaminants	5
I.4.4. les micro-organismes	5
II. Généralités sur le sol.....	7
II.1. Définition.....	7
II.2. Caractéristiques du sol.....	7
II.2.1. la texture	7
II.2.2. les éléments naturellement présents	7
II.2.3. la population microbienne.....	7
II.2.4. les principaux polluants du sol	7
III. Les procédés biologiques de traitement des sols.....	9
Introduction	9
III.1. Biodégradabilité d'un polluant	10
III.2. La bioremédiation.....	12
III.2.1. Définition	12
III.2.2. Les types de bioremédiation.....	12
III.3. Les techniques de traitement biologique des sols.....	13
III.3.1. Traitements in situ.....	13
a- Le bioventing.....	13
b- Le biosparging.....	14
c- Le bioslurping	15
d- Traitement biologique aérobie in situ.....	15
III.3.2. Traitement ex situ.....	16
a- Le bioterte.....	16
b- Le landfarming.....	16
c- Traitement en réacteur (bioslurry).....	13
III.4. Les coûts de traitement des sols.....	14

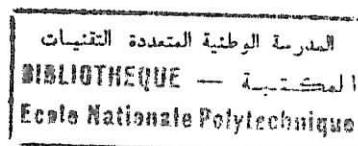
Liste des figures

- Figure1 : Principe du bioventing
Figure2 : Principe du biosparging
Figure3 : Principe du bislurping
Figure5 : Principe du bitertre
Figure6 : Principe du landfarming
Figure7 : Principe du bioslury
Figure 8 : courbe de croissance
Figure9 : Métabolisme de biodégradation des alcènes
Figure10 : Métabolisme de biodégradation des aromatiques
Figure11 : Installation expérimentale
Figure12 : Evolution de la croissance bactérienne
Figure13 : $\ln X/X_0$ en fonction du temps
Figure14 : Evolution de la concentration du phénol
Figure15 : Evolution de la croissance bactérienne
Figure16 : représentation de $\ln X/X_0$ en fonction du temps pour l'essai de 10%
Figure17 : Représentation de $\ln X/X_0$ en fonction du temps pour l'essai de 15%
Figure18 : Evolution du carbone en fonction du temps pour les deux essais
Figure19 : Evolution de la matière organique

Liste des tableaux

- Tableau I : Coûts des différents techniques de traitement
Tableau II : Evolution de la croissance bactérienne
Tableau III : Résultats d'analyse microbienne
Tableau IV : Evolution du carbone en fonction du temps pour les deux essais

INTRODUCTION



La transformation des polluants dans les sols constitue un des principaux mécanismes de "disparition" des polluants dans le milieu naturel. Ces transformations peuvent procéder de manière abiotique par l'intermédiaire de réactions photochimiques ou chimiques, mais peuvent également résulter de l'activité microbiologique dans les sols. Ces transformations biotiques sont de plusieurs types, dont:

- Réactions d'oxydoréductions : par exemple nitrification, oxydation biologique du Mn^{2+} ou Fe^{2+} .
- Réactions de complexation : complexation de métaux par des substances produites par les micro-organismes.
- Transformation sous l'action de certains micro-organismes du Hg en méthyle- ou diméthylemercure, volatil et plus facilement biodisponible : CH_3-Hg ou $(CH_3)_2-Hg$.
- Biodégradation.

Cette dernière forme de transformation ne concerne que les molécules organiques. Par définition, ces divers processus de transformation vont influencer les propriétés physico-chimiques des polluants et donc leur mobilité et leur rémanence dans le système.

Les transformations biologiques sont particulièrement importantes. De part leur très grande diversité, les micro-organismes du sol sont en mesure de dégrader une très large gamme de substances polluantes qu'elles soient d'origine naturelle ou non.

L'industrie pétrolière pose de grands problèmes concernant la pollution des sols par les hydrocarbures. Etant un pays producteur de pétrole, l'Algérie doit s'intéresser de plus en plus à ce genre de pollution, d'autant plus qu'elle peut atteindre même les eaux souterraines.

Les possibilités d'atténuation naturelle dans un site pollué par les hydrocarbures, nécessite la connaissance des capacités de biodégradation des microflore présentes restent très limitées, les cinétiques d'adaptation et de dégradation étant très faibles. Ces capacités peuvent être rapidement estimées par la détection, voire la quantification de gènes-cibles impliqués dans les processus de biodégradation.

Par ailleurs, les bactéries ne croissent que si leur environnement est adéquat. Si celui-ci n'est pas optimal, il peut y avoir croissance à faible vitesse ou pas de croissance du tout - ou encore les bactéries peuvent mourir, c'est selon les espèces et les conditions. Les exigences essentielles pour la croissance comprennent une provision de nourriture adéquate; une source d'énergie; de l'eau; une température appropriée; un pH approprié; une teneur appropriée en oxygène. Evidemment, aucun de ces facteurs n'agit seul : la modification de l'un d'entre eux peut renforcer ou réduire les effets d'un autre.

Partie Bibliographique

I.2. Comportement des hydrocarbures dans les sols

Une fois déversés sur le sol, les hydrocarbures y pénètrent. Ils migrent alors sous l'influence de la gravité. Ils se divisent alors en plusieurs phases [17][20]:

Résiduelle : Hydrocarbures (souvent liquide) qui sont présents dans la zone vadose (non saturée en eau), soit dans les pores.

Vapeur : Volatilisation des composés légers, ils deviennent alors très mobiles.

Liquide ou flottante : Les liquides qui ne sont pas restés dans la zone vadose vont atteindre la nappe (ou une surface imperméable) et se disperser latéralement sur la nappe.

Dissoute : Certains composés sont solubles et alors ils sont dissouts au contact de l'eau, ce qui complique et rend quasi impossible leur récupération.

I.3. Processus d'altération des hydrocarbures

Il existe trois principaux processus d'altération des hydrocarbures qui sont en phase résiduelle [20]:

I.3.1. Volatilisation : Importante pour les composés légers et inexistante pour ceux qui ont plus de 22 atomes de carbone. La composition du sol peut jouer sur le taux de volatilisation. Plus le sol sera pauvre en humus plus il y aura de volatilisation car, si l'humidité est réduite, il y aura une quantité plus importante d'hydrocarbures exposés à l'atmosphère. Une augmentation de la température aura, bien entendu, une influence positive sur la volatilisation.

I.3.2. Solubilité et lixiviation : La lixiviation est la dissolution de certains composés dans l'eau par percolation du liquide à travers le sol. Plus un composé sera soluble moins il s'adsorbera aux particules de sol et il sera alors plus mobilisable. Le taux de minéralisation des hydrocarbures est influencé par leur solubilité, ce qui fait que les plus solubles sont plus facilement accessibles pour la biodégradation.

I.4.3. La teneur en carbone des contaminants :

La teneur en C est primordiale, elle dicte comment le contaminant va réagir aux différents processus naturels auxquels il sera exposé. Par exemple le point d'ébullition de l'essence est 100°C tandis que celui des huiles lubrifiantes est de 450°C.

I.4.4. les micro-organismes (genre, diversité, compétition, prédation)

Dans un milieu sain et naturel, on compte normalement 0,1 % des bactéries présentes qui sont des consommateurs d'hydrocarbures, mais dans un environnement pollué par ceux-ci on peut en dénombrier jusqu'à 100 %. Il n'existe pas de micro-organisme qui dégrade entièrement une sorte d'hydrocarbure, la dégradation complète est effectuée par plusieurs populations. Balba et al. (1991)[1] ont pointé quelques bactéries ayant une contribution majeure dans ce processus : Pseudomonas, Achromobacter, Arthrobacter, Flavobacterium, Micrococcus, Nocordia, mais la littérature en nomme plusieurs autres, surtout du genre Penicillium abondant dans les climats tempérés froids comme le Canada. La longueur des chaînes de carbone influence le taux de biodégradation, car les bactéries ne sont pas aptes à dégrader les longues chaînes, par contre les champignons le peuvent. La dégradation par les champignons est toutefois partielle et nécessite l'intervention de bactéries pour une minéralisation complète.

On peut ajouter des biostimulants pour augmenter la biodégradation, soit des nutriments ou des agents tensioactifs.

Agents tensioactifs : Ce sont des substances qui favorisent la dispersion d'une autre substance. Ils activent une désorption des hydrocarbures ce qui augmente la surface de contact des hydrocarbures avec les bactéries, donc la biodégradation est favorisée.

On peut essayer de modifier la structure du sol et ce, avec des agents structurants. Ces agents peuvent être des résidus de bois (Centre pour l'avancement des technologie environnementales, 1995) qui maintiennent le taux d'humidité constant et améliorent la diffusion des éléments nécessaires au développement des bactéries et des champignons. Par contre le lixiviat issu de ces résidus est toxique.

II. Généralités sur le sol

II.1. Définition

Le sol est la couche superficielle des terres immergées, épaisses de quelques centimètres à quelques mètres. Il est issu de la dégradation de la roche mère (granite, calcaire, basalte, grès, schiste) au contact de l'air, de l'eau, du climat, de la vie animale et végétale.

D'après Chauveau [1] le sol est constitué de 50 % d'air et d'eau. Le reste c'est un agrégats de sables, de particules minérales, de limons et d'argile dont la grosseur varie du centimètre au millième de millimètre.

II.2. Caractéristique du sol

II.2.1. La texture

la texture d'un sol dépend du pourcentage en sable fin ou grossier, en argile, en limons, en humus et en calcaire.

Selon les proportions de sable, de limons et d'argile, on peut définir plusieurs textures (sableuse, limoneuse, argileuse ou équilibrée).

II.2.2. Les éléments naturellement présents

en général, les sols sont composés de silicates, dont la complexité varie du simple oxyde de silicium au très complexe silicate d'aluminium hydraté, présent dans les sols argileux. Un sol est caractérisé en chimie par sa capacité d'absorption, c'est-à-dire par le pouvoir de fixation des ions minéraux sur les colloïdes.

II.2.3. La population microbienne

la flore microbienne tellurique est très variée et comprend des bactéries, des champignons, des algues, des protozoaires et des virus.

Selon Meyer [6], les bactéries représentent la partie la plus importante de cette microflore. Chauveau [1] a constaté que chaque gramme de sol contient 100 millions de bactéries,

10 millions d'actinomycètes et 1 million de champignons.

III. Les procédés biologiques de traitement des sols

Introduction

La biodégradation est un élément clé du devenir des polluants organiques dans les sols. Seule la biodégradation peut, dans ce milieu, assurer l'élimination complète du polluant.

les micro organismes sollicités sont souvent des bactéries bien que les champignons jouent un rôle dans certains traitements ex-situ.

La biodégradation s'appuie sur la présence naturelle très importante dans le sol et sous-sol de micro-organismes capables de dégrader la plupart des produits organiques considérés comme polluants en raison de 10^6 à 10^7 bactéries par gramme de sol normal selon Colin [5].

La biodégradation d'un produit peut être partielle, ce qui signifie que les micro-organismes l'ont transformé, souvent par des mécanismes d'oxydation, ou elle peut être totale. On ne parle plus de bioremédiation dans ce dernier cas, mais de minéralisation, puisque les produits de l'action microbienne sont essentiellement du dioxyde de carbone et de l'eau. Un seul et même micro organisme ne possède pas tous les enzymes dont les actions sont nécessaires à la dégradation d'une multitude de produits. C'est pourquoi, le plus souvent, la dégradation est réalisée par une communauté de plusieurs espèces dont les actions sont complémentaires.

Les traitements biologiques utilisent et stimulent les capacités qu'ont les micro organismes à utiliser divers types de composés organiques et minéraux pour leur croissance, leurs besoins en énergie et leur maintien en vie.

L'efficacité des traitements biologiques du sol dépendent non seulement des conditions environnementales favorables à la biodégradation des polluants, mais également des techniques de fonctionnement, de la vitesse et du coût acceptables.[3],[4]

Dommergues et Mangenot[9] ont démontré que la biodégradation aérobie des composés organiques est meilleure à des taux de rétention d'eau de 50 à 70% et que l'activité biologique est inhibée à des valeurs inférieures à 50%.

Le pH du sol

La plupart des bactéries sont capables de se développer dans un intervalle de pH allant de 5 à 9, avec un optimum se situant aux alentours de 7.

Le contrôle du pH par l'ajout de chaux est utilisé en agriculture et dans les procédés de traitement de la pollution pour neutraliser les substances toxiques.

La quantité de chaux à apporter dépend de la texture du sol, du pourcentage de la matière organique qu'il contient et de la quantité des métaux échangeables.

La température

La température influence profondément le métabolisme microbien ainsi que la multiplication des bactéries.

La communauté microbienne a une température optimale de croissance de 10°C pour les psychrophiles, de 30°C pour les mésophiles et de 60°C pour les thermophiles mais d'après Meyer [6] la majorité des micro-organismes impliqués dans les cycles de dégradation sont des mésophiles.

L'azote

L'azote constitue 10 à 15 % du poids sec des cellules, fourni sous forme inorganique NO_3^- , l'azote est réduit par les bactéries selon une réaction à deux voies métaboliques différentes. En effet on peut distinguer une voie assimilatrice au cours de laquelle le nitrate est réduit jusqu'au stade ammonium, et une voie dissimilatrice dans laquelle le nitrate intervient comme un accepteur d'électrons en anaérobiose [8].

Le phosphore

Le phosphore fait partie des acides nucléiques, de nombreux coenzymes et de l'adénosine triphosphate (ATP), il est incorporé dans la cellule sous forme de

III.3. Les techniques de traitement biologique des sols

Les polluants organiques (Hydrocarbures : fuel, essences, kérosène, pétrole, HAP, crésote, composés chlorés : TCE, PCB..., molécules nitrées : TNT...) peuvent être assimilés par des micro-organismes [3],[4]. Les traitements biologiques des terrains pollués sont des techniques complémentaires aux techniques employées en matière de dépollution. Bien optimisés, ils assurent une décontamination et une détoxification des sols permettant le retour de la flore et de la faune. Le traitement biologique du sol nécessite des surfaces considérables. Il peut se faire in situ quand le sol lui même joue le rôle de réacteur ou ex situ (sur le site) quand le sol est excavé pour être mis dans la configuration souhaitée.

III.3.1. Traitements in situ

Dans ce type de traitement on distingue

a- Le bioventing

Le bioventing est une technique in situ souvent utilisée pour le nettoyage de la zone du sol non saturée et contaminée par des produits volatils.

Le traitement consiste à faire circuler de l'air dans la zone contaminée de manière à en extraire la contamination tout en assurant un apport en oxygène propice à une dégradation biologique additionnelle. La technique entraîne la récupération éventuelle des contaminants en surface dans une installation de condensation ou d'adsorption sur charbons actifs.

Le faible coût de ce traitement et son efficacité en font une technique de choix pour le traitement de sites contaminés par des produits organiques volatils, comme certains solvants chlorés.

La réalisation est assurée par l'installation d'un dispositif d'injection et de pompage d'air, comme le montre la figure 1.

c- Le bioslurping

Le bioslurping est une technique de traitement in-situ souvent utilisée dans le cas des polluants flottants.

Cette technique est la combinaison entre le slurping et la biodégradation aérobie.

Le système de bioslurping se compose d'une aiguille d'extraction et d'un tube rigide placé à l'intérieur de l'aiguille. le tube est connecté à un extracteur par une ouverture supérieure afin d'y appliquer une dépression. (figure 3)

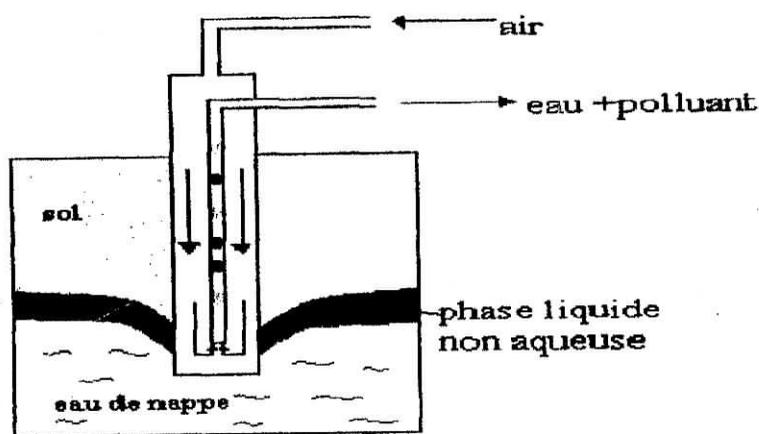


figure 3: principe du bioslurping

d- Traitement biologique aérobie in situ

Ce type de traitement est basé d'une part sur l'aération des parties polluées pour permettre aux micro-organismes aérobies de dégrader les polluants, et d'autre part sur l'ajout des nutriments nécessaires pour une biodégradation optimale.

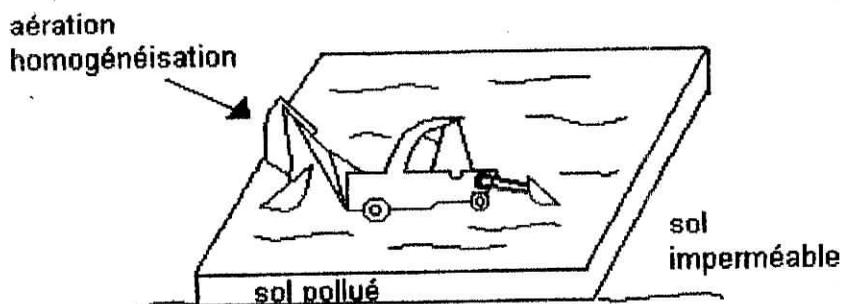


figure6: principe du landfarming

c- Traitement en réacteur (bioslurry)

Cette technique consiste à réaliser la biodégradation du polluant dans un contenant installé sur le site, en ajoutant au sol les ingrédients nécessaires à la réaction.

Dans cette technique le sol est préalablement préparé (homogénéisation, tamisage, ...) avant d'être mélangé à de l'eau (généralement en proportion de 10 à 50% poids/volume), il est ensuite introduit sous forme de boue dans le réacteur.

Le fonctionnement du bioréacteur peut se faire en continu ou en batch.

Dans la plupart des dispositifs, les réacteurs sont placés en chaîne, et l'ajout des nutriments se fait dans le premier en fonction du rapport C/N/P, de même que pour l'ajout des micro-organismes si c'est nécessaire. L'aération des réacteurs se fait par des pompes à air placées par le fond du réacteur. (figure 7)

Tableau n°1 : coûts des différents techniques de traitement

Type d'assainissement	Prix minimum (Euros/tonne)	Prix maximum (Euros/tonne)
Bioterre	45	150
Bioventing	15	30
Biosparging	30	45
Landfarming	25	45
Bioréacteur d'eau	45	105

milieu de culture et une accumulation des déchets. Il existe un début d'autolyse des bactéries.

- **Phase maximale stationnaire** : le taux de croissance devient nul ($\mu = 0$). Les bactéries qui se multiplient compensent celles qui meurent.

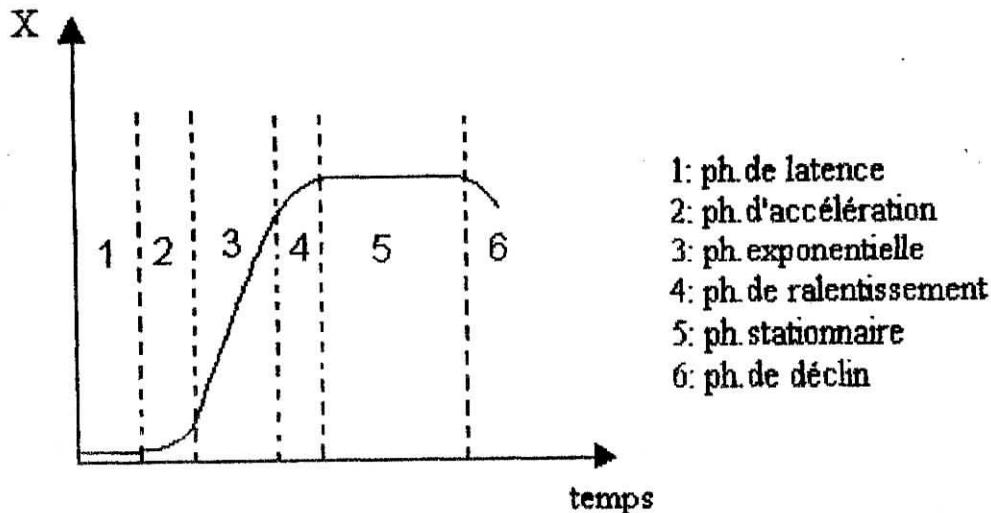


figure 8: courbe de croissance

- **Phase de déclin** : le taux de croissance est négatif ($\mu < 0$). Toutes les ressources nutritives sont épuisées. Il y a accumulation de métabolites toxiques. Il se produit une diminution d'organismes viables et une lyse cellulaire sous l'action des enzymes protéolytiques endogènes. Cependant, il persiste une croissance par libération de substances libérées lors de la lyse.

IV.2. Les conditions de croissance bactérienne

Les bactéries ne croissent que si leur environnement est adéquat. Si celui-ci n'est pas optimal, il peut y avoir croissance à faible vitesse ou pas de croissance du tout - ou encore les bactéries peuvent mourir, c'est selon les espèces et les conditions. Les exigences essentielles pour la croissance comprennent une provision de nourriture adéquate; une source d'énergie; de l'eau; une température appropriée; un pH approprié; une teneur appropriée en oxygène. Evidemment, aucun de ces facteurs n'agit seul :

énergie principalement ou exclusivement de la lumière, tandis que les espèces chimiotrophes trouvent la leur en "transformant" des produits chimiques extraits du milieu

environnant. Certaines espèces sont capables d'employer les deux méthodes [6]. Pour obtenir de l'énergie et construire de nouveaux constituants cellulaires, les organismes doivent avoir une source de matériaux de base, ou nutriments. Les nutriments sont des substances utilisées dans la biosynthèse et la production d'énergie et par conséquent requis pour la croissance microbienne.

L'eau

L'eau contribue à la masse d'une bactérie pour 80 % ou plus. Au cours de la croissance, les substances nutritives et les déchets pénètrent et quittent respectivement la cellule en solution

les bactéries ne peuvent donc croître que dans, ou sur, des matières contenant suffisamment d'eau libre. Dans une matière donnée, toute l'eau n'est pas nécessairement disponible pour la croissance bactérienne ; une partie peut, par exemple être lié à des gels hydrophiles ou à des ions en solution.

La température

Généralement, un type de bactérie donné croît plus rapidement à une certaine température: la température optimale de croissance. La vitesse de croissance se réduit lorsque la température s'écarte de cet optimum. Pour toute bactérie, il y a une température maximale et une température minimale au-delà desquelles la croissance s'arrête. Les bactéries thermophiles sont celles dont la température de croissance optimale est $> 45^{\circ}$. Ces thermophiles se trouvent, par exemple, dans les composts, les sources chaudes et les fontaines hydrothermales des fonds marins.

Les bactéries thermotolérantes peuvent survivre (mais pas nécessairement croître) à

anaérobies facultatifs. De la même façon, celles qui croissent normalement en anaérobiose mais peuvent aussi s'accommoder de la présence d'oxygène ont reçu le nom d'aérobies facultatifs. Les bactéries microaérophiles ont une croissance optimale à des concentrations en oxygène plus basses que celle de l'air.

IV.3. Les bactéries responsables de la biodégradation des hydrocarbures

La plupart des bactéries responsables de la biodégradation des hydrocarbures sont des aérobies.

Les plus fréquentes sont du genre : *Pseudomonas*, *Flavobactérium* et *Nocardia* pour les hydrocarbures aliphatiques à chaîne courte, et du genre : *Pseudomonas*, *Nocardia*, *Micrococcus* et *Corynebactérium* pour ceux à chaîne longue.

En général, les *Pseudomonas* sont très efficace dans la biodégradation de ce genre de produit organique mais la combinaison de plusieurs genres différents en plus des *Pseudomonas* donne encore un meilleur rendement.[1]

IV.4. Le mécanisme de biodégradation des hydrocarbures

L'assimilation des hydrocarbures par les micro-organismes est à nos jours un phénomène inconnu, mais plusieurs théories sont proposées et deux d'entre elles sont très étudiées par les chercheurs dans ce domaine.

La première théorie propose le contact direct entre les gouttelettes d'hydrocarbures et la cellule bactérienne, et la deuxième considère que la cellule bactérienne utilise les hydrocarbures dissous dans l'eau [13].

Partie Expérimentale

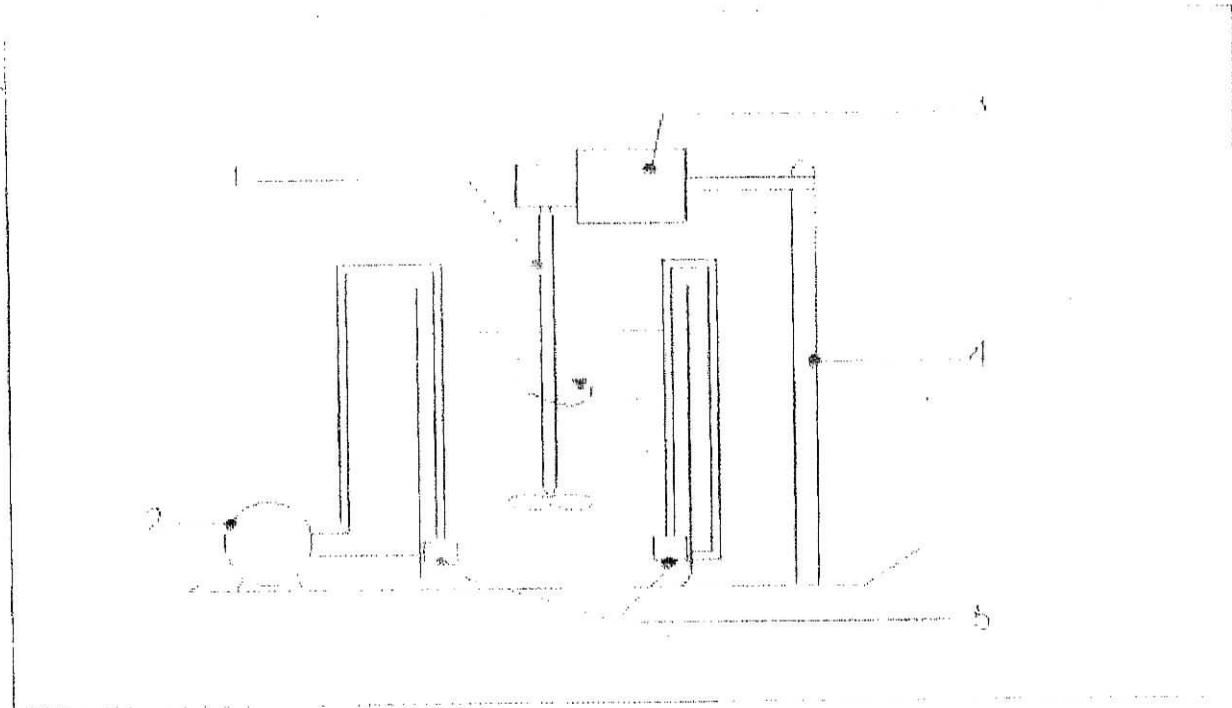


Figure 11 : Installation expérimentale.

1 : tige d'agitation, 2 : pompe d'aération, 3 : moteur d'agitation, 4 : support du moteur, 5 : diffuseurs d'O₂

1.2. Sélection d'une souche adaptée aux hydrocarbures

Une boue polluée par les hydrocarbures a été prélevée au niveau de la raffinerie d'Alger Naftec (à BERAKI).

La boue prélevée a été transportée dans une glacière au laboratoire de l'école nationale polytechnique.

Nous avons ensuite, mis cet échantillon de boue dans un réacteur et fourni toutes les conditions nécessaires (oxygène, nutriments, eau,...) pour la prolifération des bactéries, à priori, déjà présentes au sein de la boue.

Phase de latence : qui s'étend presque jusqu'au quatrième jour. Il n'y a pas de croissance et cela est dû à l'adaptation, très lente, des bactéries au milieu.

Phase exponentielle : qui correspond à la phase de croissance rapide et n'est pas très prononcée pour atteindre son maximum de $3,9 \cdot 10^6$ germes/ml.

Phase stationnaire : qui a duré presque trois jours et qui correspond à une diminution du substrat.

Phase de déclin : qui a été très lente et qui s'est stabilisé à une valeur de $3,5 \cdot 10^5$ germes/ml.

Par ailleurs, on remarque que la teneur maximale en micro-organismes atteinte reste relativement très faible.

Tableau n°II : Evolution de la croissance bactérienne

Temps (jour)	0	2	4	6	8	10	12	14	16
Nombre de germes/ml ($\times 10^5$)	3.0	3.0	3.2	39.0	41.0	4.0	3.8	3.5	3.6

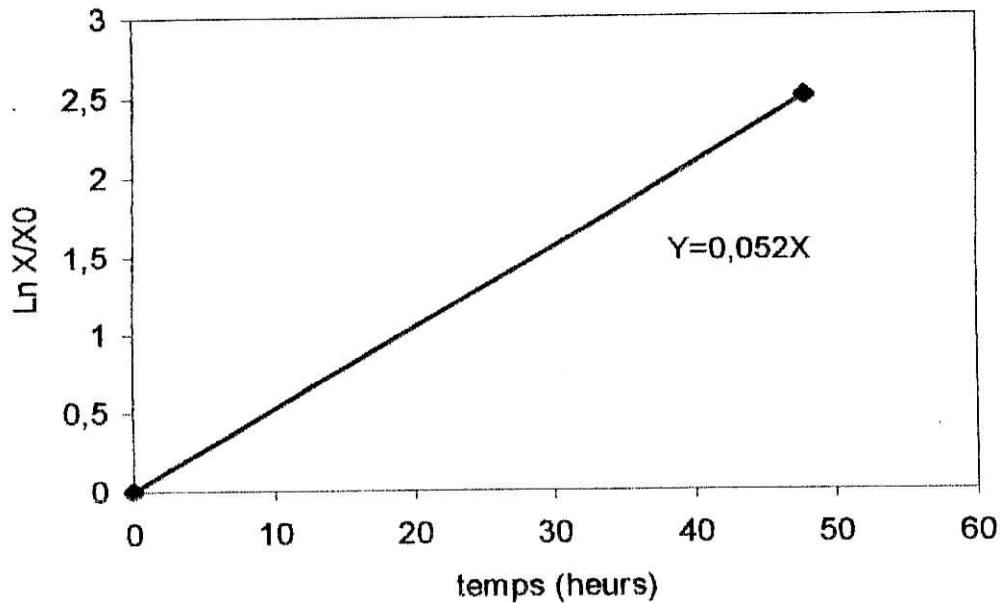


Figure 13 : $\text{Ln}X/X_0$ en fonction du temps

II.3. Évolution de la teneur en phénol

Durant l'essai de biodégradation du phénol, les prélèvements sont effectués tous les 48 heures. Les résultats de mesure du phénol par spectrophotométrie sont illustrés dans la figure 14.

On remarque que la teneur en phénol est pratiquement stable pendant les dix premiers jours du traitement, pour ensuite commencer à diminuer très lentement et atteindre une valeur de 229mg/l après 26 jours de traitement.

En se référant aux résultats de l'évolution de la biomasse, on pourrait penser à une biodégradation du phénol générant des sous produits qui absorbent à la même longueur d'onde que le phénol.

Par ailleurs, la dégradation du phénol, à priori se poursuit même pendant la phase de déclin avec $3,5 \cdot 10^5$ germes/ml pour atteindre un taux d'enlèvement de 77%. On ne peut également

Tableau n°III : Résultats d'analyse microbienne

Genre de bacteries	Nombre de germes
Coliformes totaux	920 dans 100 ml
Coliformes fécaux	22 dans 100 ml
Anaérobies sulfato-réducteurs	Supérieur 300 dans 20 ml
Streptocoque fécaux	08 dans 100 ml
pseudomonas	Abscense

III. conclusion

Il ressort des résultats de mesure de la biomasse et de la teneur en phénol, que l'essai pour sélectionner une souche microbienne à partir de boues d'hydrocarbures de la raffinerie de Beraki et dans les conditions citées précédemment s'avère non concluant.

La technique d'analyse du phénol par spectrophotométrie UV-visible dans le cas d'un traitement biologique pourrait être retenue mais conjointement avec d'autres méthodes tel que la chromatographie en phase gazeuse ou en phase liquide.

Dans le cas de la spectrophotométrie visible seule, il faut prévoir une distillation suivi d'une complexation avec le 4-Amino antipyrine en présence du ferricyanure de potassium analysé au visible afin d'éliminer toutes interférences avec d'autres produits. [21]

IV.2. Caractérisation biologique du sol

Pour déterminer les caractéristiques biologiques du sol nous avons effectué un isolement et dénombrement des souches autochtones du sol avant pollution, ensuite nous avons réalisé une observation microscopique et macroscopique des souches isolées.

a- Isolement et dénombrement des souches autochtones

▶ *Dilutions en série*

Nous avons préparé 10 tubes à essais contenant chacun 9 ml d'eau physiologique stérile.

1 gramme d'échantillon de sol est mis dans l'un des tubes (solution mère), et le tube est agité pendant quelques minutes pour permettre une bonne diffusion du sol.

On prélève 1 ml de la solution mère et le porte dans le premier tube de dilution (10^{-1}), ensuite avec une nouvelle pipette de 1ml on homogénéise par aspiration et soufflage le contenu de ce tube (10^{-1}) et on ensemence un deuxième tube de dilution (10^{-2}) et ainsi de suite en changeant à chaque fois la pipette pour ne pas perturber les dilutions.

▶ *Numération par culture sur milieu solide sur boîtes Pétri*

Cette méthode est basée sur l'emploi des dilutions et sur le fait qu'une cellule, placée sur un milieu solide favorable donnera naissance à une colonie macroscopiquement visible. Méthode : 1ml de chaque dilution est placé dans des boîtes Pétri en utilisant une pipette propre. Ensuite 10 à 15ml de milieu gélosé en surfusion (40 à 45°C) sont coulés dans la boîte et mélangés uniformément avec l'inoculum par un long mouvement circulaire horizontal. La faible épaisseur du milieu assure une aérobiose acceptable.

Après 24 heures d'incubation à 37°C, seules les boîtes contenant 20 à 300 colonies sont utilisées pour le comptage.

- la rétention gazeuse soit similaire pour les deux essais ;
- la remise en suspension des particules de sol soit maximale.

A ce titre, notre choix s'est porté sur un débit d'air de $1,25 \cdot 10^{-7} \text{ m}^3/\text{s}$ et une vitesse d'agitation de 400 tr/min

En effet, des essais de bioremédiation des sols réalisés dans le même dispositif expérimental et pour des conditions expérimentales optimales et des conditions de transfert optimums ($Q = 5 \cdot 10^{-5} \text{ m}^3/\text{s}$, $w = 600 \text{ tr/min}$, $k_{La} = 4,8 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$), ont mis en évidence une inhibition de la croissance microbienne [14].

VII. Suivi du traitement

Nous avons suivi le traitement pendant 15 jours pour chaque essai.

En prélevant un échantillon de phase solide chaque jour, nous avons pu suivre la croissance bactérienne et l'évolution du carbone organique total durant le traitement. Et pendant la phase stationnaire de la croissance bactérienne un échantillon de phase liquide du réacteur a été prélevé et envoyé à l'institut Pasteur d'Alger pour identifier une éventuelle présence de *Pseudomonas*.

VII.1. Évolution de la croissance bactérienne

Le suivi de cette croissance a été fait uniquement sur la phase solide et par la méthode de numération sur milieu solide et sur boîtes Pétri déjà décrite.

L'évolution de la croissance bactérienne, dans la phase solide, au cours des deux essais est illustrée dans la figure 15.

25×10^5 germes/g pour le second si nous nous référons à une courbe de tendance pour ce dernier.

Phase stationnaire : dans cette phase qui dure presque quatre jours pour l'essai de 15% et presque deux jours pour l'essai de 10%, la croissance bactérienne est stable et les bactéries ont développé toutes leurs structures et ont fini par épuiser le milieu. Donc la très courte stabilisation de la biomasse pour l'essai de 10% est due à l'épuisement très rapide du milieu.

* Phase de déclin : cette phase est atteinte aux alentours du huitième jour pour l'essai de 15% et cinquième jour pour l'essai de 10%. dans cette phase les bactéries ne se reproduisent plus par manque de substrat et probablement l'effet d'inhibition provoqué par la toxicité des hydrocarbures.

Donc, il en ressort clairement que la croissance bactérienne pour l'essai de 15% est très bien vue, tandis que la courbe de croissance du second essai reste difficile à exploiter vu les erreurs de manipulation.

VII.2. Évaluation du taux de croissance maximum pour les deux essais

La détermination du taux de croissance maximum pendant la phase exponentielle (figures 16 et 17) nous a permis de comparer les vitesses de croissance bactérienne dans les deux essais.

Les résultats de mesure donnent un taux de croissance maximum de $0,037h^{-1}$ pour l'essai de 10%, et de $0,059h^{-1}$ pour l'essai de 15%.

Il en ressort que le taux de croissance bactérien dans l'essai de 15% est beaucoup plus important que celui dans l'essai de 10%. Ceci s'explique par la différence du pourcentage en solide dans les deux essais puisque toutes les autres conditions opératoires sont identiques. Les bactéries présents dans l'essai où il y a moins de solide (10%) ont été moins rapides pour atteindre une croissance inférieure presque de moitié que celle dans l'essai de 15%.

La présence de solide dans des proportions plus importantes et dans conditions

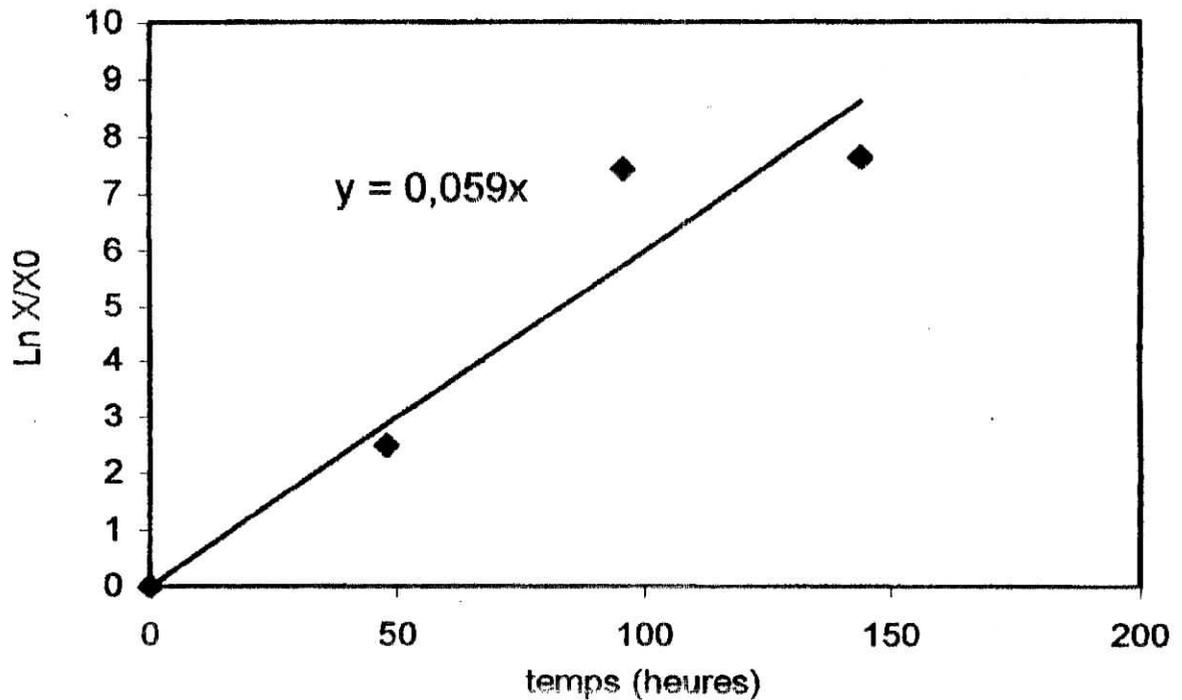


Figure 17 : représentation de $\text{Ln}X/X_0$ en fonction du temps pour l'essai 15%

VII.3. Évolution du carbone organique total

L'évolution du carbone organique total a été suivie par la méthode Anne qui nous permet de doser le carbone organique dans le sol.

Méthode Anne[23]

- Principe

On oxyde le carbone par le bichromate de potassium en milieu sulfurique.

L'excès de bichromate est dosé par le sel de Mohr en présence de diphénylamine.

Les résultats du dosage du carbone sont illustrés dans le figure 18 pour les deux essais.

Ils montrent la diminution continue du carbone jusqu'au quatrième jour, puis une stabilisation à partir du sixième jour autour de la valeur 0,92% pour l'essai de 10% en solide soit un rendement de 54%, et une diminution aussi jusqu'au quatrième jour puis une stabilisation autour de la valeur 0,53% pour l'essai à 15% pour donner un rendement de 73,5%.

Ces résultats montrent un ralentissement de la biodégradation qui s'explique par l'épuisement du substrat et ce ralentissement est plus tôt (au bout de 4 jours) pour l'essai à 10% que pour celui à 15% donc l'épuisement du substrat est plus rapide pour l'essai de 10%.

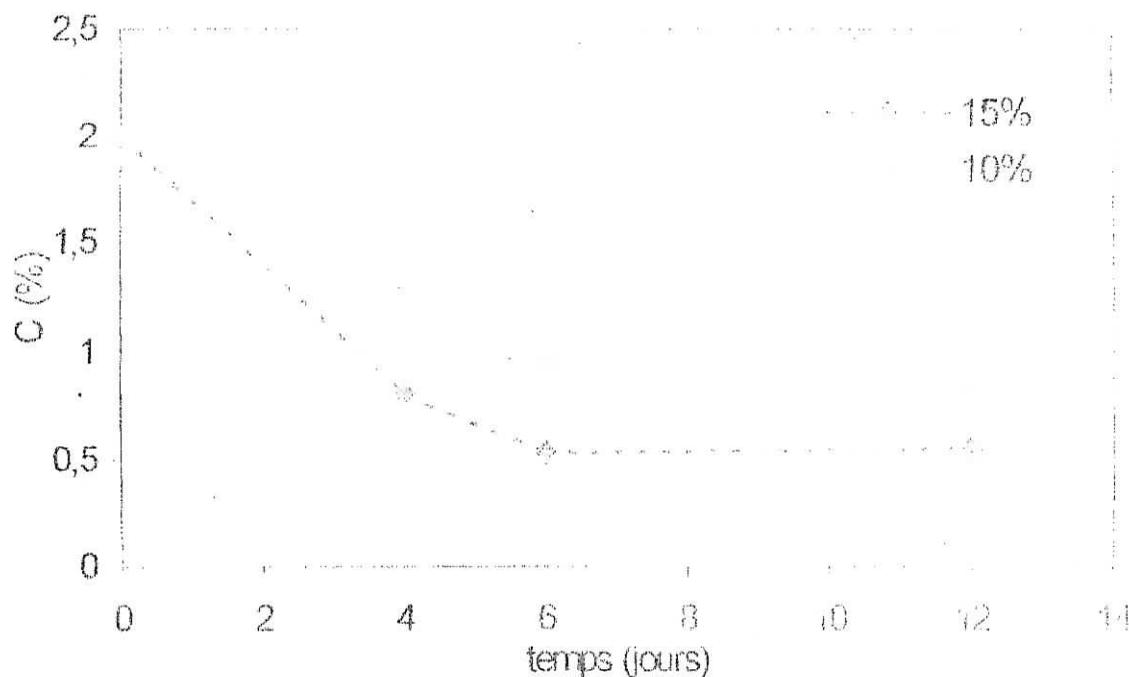


Figure 18 : Évolution du carbone en fonction du temps pour les deux essais.

VIII. Conclusion

Les résultats des deux essais montrent que le pourcentage du solide dans un traitement en réacteur triphasique joue un rôle très important. Dans notre cas nous avons obtenu de bons résultats de biodégradabilité où le pourcentage du solide est plus élevé (15%).

D'autre part la faible agitation du milieu a permis au système hydrocarbure/bactérie/eau /sol de ne pas se rompre facilement et a permis au processus de biodégradation de jouer son rôle.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Notre étude s'est basée tout d'abord sur la sélection d'une souche adaptée aux hydrocarbures à partir de boues provenant de la raffinerie d'Alger de Béraki. Après quelques jours d'adaptations et presque un mois de traitement d'une eau polluée par le phénol, les résultats obtenus n'ont pas été concluants vue la faible concentration des bactéries ($3.9 \cdot 10^6$ germes/ml).

Cependant l'élimination de 77% du phénol ne peut pas être prise en considération du fait que la méthode d'analyse utilisée ne suffi pas pour affirmer ce taux de dégradation.

On peut par contre prévoir d'autres techniques d'analyses tel que la chromatographie en phase gazeuse et/ou en phase liquide et la spectrophotométrie visible.

Dans la seconde partie expérimentale nous nous sommes intéressé au traitement, dans un réacteur triphasique, d'un sol pollué par les hydrocarbures avec une bioaugmentation. Cette bioaugmentation a été réalisée en utilisant une souche bactérienne du genre *Pseudomonas aeruginosa*.

Cette essai a été fait afin de pouvoir comparer l'effet de biodégradation des hydrocarbures selon que le pourcentage du sol dans le réacteur soit de 10% ou de 15%.

Les résultats obtenus révèlent une grande différence tant pour la croissance bactérienne où nous obtenons un taux de croissance plus élevé pour l'essai de 15% en solide soit 0.059 h^{-1} contre 0.037 h^{-1} , que pour le pourcentage d'élimination du carbone organique soit 92% pour l'essai de 15% contre 73,5% pour l'essai de 10% en solide.

Nous pouvons donc conclure que la présence de plus de solide favorise la biodégradation des hydrocarbures, puisque tous les paramètres environnementaux et toutes les conditions de traitement sont les mêmes pour les deux essais. Et nous aurions pu avoir de meilleurs résultats (plus exploitables) si nous avions effectuer nos analyses sur les deux phases et avec d'autres technique tel que la chromatographie en

Références bibliographiques

- [1] L. CHAUVEAU
« Il faut sauver les sols », Science & Vie N°972, Septembre 98, page 96
- [2] W. BELHABIB
« La dégradation biologique d'un sol contaminé par les hydrocarbures », Projet de fin d'études, E.N.P, 2000.
- [3] D. BALLERINI
« Traitements biologiques des sols », Technique de l'ingénieur, traité Environnement, G2 620
- [4] T.M. VOGEL
« Bioremédiation des sols », Technique de l'ingénieur, traité Génie des procédés, J3 982
- [5] F. COLIN
« Pollution localisée des sols et sous-sols par les hydrocarbures et par les solvants chlorés », ed. Tec & Doc Paris.
- [6] A. MEYER
« Cours de microbiologie générale », Doin Editeurs, Paris 1984
- [7] J.P. LARPENT
« Eléments de microbiologie », ed. Hermann, Paris 1985
- [8] M. MESSAOUD et Y. RECHOUM
« Etude de la biodégradation d'un pétrole brut algérien et de son résidu de distillation par une culture microbienne mixte dans un milieu aqueux » option génie biologique, USTHB, 1999.
- [9] Y. DOMMERGUES et E. MANGENOT
« Ecologie Microbienne du sol », Masson et Cie éditeurs, Paris 1970.
- [10] F. BENABDELMOUMENE et M. SALHI
« Essai de traitement biologique d'une eau polluée par le gas-oil avec l'utilisation de souches appartenant aux genres Bacillus et Pseudomonas » P.F. USTHB, 1991.
- [11] P. LECOMPTE
« Les sites pollués : Traitement des sols et des eaux souterraines », ed. Tec & Doc Paris. S.D.

Tableau n°1 Etalonnage du phénol

Concentration en mg/l	20	40	60	80	100
D.O à 270 μm	0.282	0.554	0.845	1.145	1.418

Tableau n°2 : Densité optique à 270 μm en fonction du temps

Temps (jour)	0	2	4	6	8	10	12
D.O à 270 μm	1.333	1.434	1.397	1.401	1.377	1.187	0.922
Temps (jour)	14	16	18	20	22	24	26
D.O à 270 μm	0.786	0.744	0.726	0.654	0.512	0.470	0.331

Tableau n°3 : Evolution de la croissance bactérienne

Temps (jour)	0	2	4	6	8	10	12	14	16
Nombre de germes/ml ($\times 10^5$)	3.0	3.0	3.2	39.0	41.0	4.0	3.8	3.5	3.6

Tableau N°4 : Évolution de la croissance bactérienne (germes/g de sol) pour les deux Essais.

Temps (jour)	0	2	4	6	8	12
15 % en solide ($\times 10^5$)	2.51	30.2	4200	5210	5160	13.4
10 % en solide ($\times 10^5$)	2.51	0.4	2200	8.1	2	2.12