

**ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE**

DEPARTEMENT DE GENIE DE L'ENVIRONNEMENT  
LABORATOIRE DES BIOTECHNOLOGIES  
ENVIRONNEMENTALES ET GENIE DES PROCES(BIOGEP)



**THESE DE DOCTORAT**

En Génie de l'Environnement  
Option: Biotechnologie  
Présentée par

**Radia CHEMLAL**

Magister en Génie de l'Environnement, Option: Biotechnologie

**THEME**

**TRAITEMENT DES SOLS POLLUES PAR LES HYDROCARBURES  
PAR LE PROCEDE BIOLOGIQUE BIOPILE  
ET DES LIXIVIATS PAR PROCEDE D'OXYDATION AVANCEE**

Soutenue publiquement .././2013 devant le jury composé :

Président:	Mr. BENYOUSSEF EL Hadi	Pr.	ENP
Examineurs	Mr. ABDESSEMED Djamel	Pr.	USTHB
	Mr. AHMED ZAID Toudert	Pr.	ENP
	Mr. SAHMOUNE Amar	Pr.	UMMTO
	Mme. CHIKHI Nassima	MCA	ENV
Invité :	Mr. MAMERI Nabil	Pr.	ENP
Directeurs:	Mr. LOUNICI Hakim	Pr.	UAMOB/BIOGEP
	Mme. ABDI Nadia	Pr.	ENP

Avril 2013

***Louanges à Dieu***

*A la mémoire de « Djamila Belhocine »*

# *Dédicaces*

*A mes très chers parents avec toute ma reconnaissance.*

*A ma chère sœur Loubna.*

*A mes très chers enfants Lyna et Nasrouallah.*

*A la mémoire de mes grands parents.*

*A tous ceux et celles qui ont contribué à ma formation.*

*A tous ceux et celles qui me sont chers.*

*Radia*

## ***Avant – Propos***

Ce travail a été réalisé au laboratoire des Biotechnologies Environnementales et Génie des Procédés « BIOGEP » du département de Génie de l'Environnement de l'Ecole Nationale Polytechnique.

La concrétisation de ce travail a été rendue possible par la participation d'un grand nombre de personnes, qu'elles veuillent bien trouver, ici, l'expression de mes remerciements les plus sincères.

Mes sincères remerciements s'adressent au Professeur **H. GRIB**, Directeur du laboratoire BIOGEP ainsi qu'au Professeur **N. MAMERI** qui m'a fait profiter de l'étendue de ses connaissances, de son expérience dans le domaine, de son esprit critique et de ses remarques constructives qui ont enrichi le travail. Son dynamisme et son enthousiasme sont pour nous un exemple.

J'adresse ma gratitude et mes vifs remerciements au Professeur **H. LOUNICI**, mon directeur de thèse pour son encadrement, son aide très précieuse, ses encouragements constants et ses conseils. C'est surtout sa grande patience qui a permis de mener à bien cette thèse. J'associe à ces remerciements la Professeur **N. ABDI** ma co-directrice de thèse pour sa disponibilité, sa gentillesse et son implication durant ces années. Ces années de thèse passées avec eux ont représenté pour moi une expérience très enrichissante.

Je tiens également à exprimer ma reconnaissance à Monsieur le Professeur **E. H. BENYOUSSEF** qui a bien voulu accepter de présider le jury

Mes remerciements s'adressent également à **M<sup>r</sup> D. ABDESSEMED**, Professeur à l'USTHB ; à **M<sup>r</sup> T. AHMED ZAID**, Professeur à l'ENP ; à **M<sup>r</sup> A. SAHMOUNE**, Professeur à l'UMMTO et à **M<sup>me</sup> N. CHIKHI**, Maître de conférences à l'ENV Alger pour l'intérêt qu'ils ont bien voulu accorder à mon travail en me faisant l'honneur d'accepter de faire partie du jury.

J'exprime toute ma reconnaissance à mes parents et en particulier à ma mère et à ma sœur Loubna pour leurs soutiens sans faille.

Je ne saurais oublier dans mes remerciements :

- Mr Bali Abderrahim, Professeur à l'ENP.
- Mr Labadi Redouane, Technicien au laboratoire de pédologie à l'INA.
- M<sup>elle</sup> Azzouz Latifa et Mr Kernani Rhéda pour leurs aides.
- Mes amies pour leurs sympathies.
- M<sup>me</sup> Bouaam Hamida secrétaire du département de Génie de l'Environnement.

Il me serait difficile d'omettre de remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à ce travail, qu'ils trouvent dans ces quelques lignes, l'expression de mes sincères remerciements.

## LISTE DES ABREVIATIONS

---

<b>Abs (600 nm)</b>	Absorbance à 600nm.
<b>ACP</b>	Analyse des composantes principales
<b>C</b>	Concentration des hydrocarbures.
<b>C<sub>0</sub></b>	Concentration des hydrocarbures à l'instant t <sub>0</sub> =0.
<b>C/N/P</b>	Rapport carbone, azote, phosphore.
<b>CaCO<sub>3</sub></b>	Calcaire.
<b>CO</b>	Carbone organique.
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dioxyde de carbone.
<b>C-CO<sub>2</sub></b>	Carbone du CO <sub>2</sub>
<b>COD</b>	Carbone organique dissous.
<b>CODi</b>	Carbone organique dissous à l'instant t <sub>0</sub> =0.
<b>COT</b>	Carbone organique total.
<b>DBO5</b>	Demande biochimique en oxygène pendant 5 jours.
<b>DCO</b>	Demande chimique en oxygène.
<b>DCO<sub>0</sub></b>	Demande chimique en oxygène à l'instant t <sub>0</sub> =0.
<b>DO</b>	Densité optique.
<b>EC<sub>50</sub> ou CE<sub>50</sub></b>	La dilution qui provoque une diminution de la luminescence de 50% par rapport au témoin
<b>E-as</b>	Elongation asymétrique.
<b>E-s</b>	Elongation symétrique.
<b>J.O.R.A</b>	Journal Officiel de la République Algérienne.
<b>h</b>	Heure.
<b>K</b>	La constante de vitesse.
<b>MES</b>	Matière en suspension.
<b>μ<sub>max</sub></b>	Taux de croissance maximal.
<b>N<sub>T</sub></b>	Azote total.
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	Ammonium.
<b>NO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>	Nitrate.
<b>NO<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	Nitrite.
<b>NTK</b>	Azote Kjeldahl.
<b>pH</b>	Potentiel d'hydrogène.
<b>P<sub>2</sub>O<sub>5</sub></b>	Phosphore assimilable.
<b>PO<sub>4</sub><sup>3-</sup></b>	Les ions orthophosphates.
<b>POA</b>	Procédé d'oxydation avancée.
<b>R<sup>2</sup></b>	Coefficient de corrélation au carré.
<b>R<sub>DCO</sub>(%)</b>	Taux d'abattement de la DCO.
<b>R<sub>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></sub>(%)</b>	Taux d'abattement desNH <sub>4</sub> <sup>+</sup> .
<b>R<sub>m</sub>%</b>	Le taux de minéralisation du carbone organique.
<b>STEP</b>	Station d'épuration des eaux usées urbaines.
<b>T</b>	Température.
<b>t</b>	Temps.
<b>T<sub>1/2</sub></b>	le temps de demi-réaction.
<b>TiO<sub>2</sub></b>	Oxyde de titane.
<b>TU</b>	Unité toxique.
<b>TPH</b>	hydrocarbures totaux.
<b>UFC</b>	Unité formant la colonie.
<b>UV</b>	Ultra-violets.
<b>X</b>	Nombre des microorganismes.
<b>X<sub>0</sub></b>	Nombre des microorganismes à l'instant t <sub>0</sub> =0

## Liste des tableaux

---

Tableau III.1	Résumé des travaux réalisés sur le traitement des lixiviats stabilisés par couplage POA/traitement biologique	59
Tableau V.1	Tableau récapitulatif des méthodes d'analyse mise en œuvre	83
Tableau VI.1	Résultats de l'analyse microbiologique du sol pollué	88
Tableau VI.2	Résultats des analyses physiques du sol pollué	89
Tableau VI.3	Résultats des analyses chimiques du sol pollué	90
Tableau VI.4	Détermination des $\mu_{max}$ de la biopile	97
Tableau VII.1	Résultats de l'analyse microbiologique du sol pollué	99
Tableau VII.2	Résultats des analyses physico-chimiques du sol pollué	101
Tableau VII.3	Récapitulatif des rendements de la biopile	103
Tableau VII.4	Paramètres cinétiques de la biodégradation du gasoil dans la biopile	110
Tableau VIII.1	Caractérisation des lixiviats de la décharge d'Oued Smar	113
Tableau VIII.2	Influence du pH sur le taux d'abattement de la DCO et des $NH_4^+$	118
Tableau VIII.3	Paramètres cinétiques de la DCO lors du traitement photocatalytique	124
Tableau VIII.4 :	Paramètres cinétiques de la photocatalyse des eaux de la décharge d'Oued Smar	124
Tableau VIII.5 :	Caractéristiques physico-chimiques des lixiviats traités par POA	127
Tableau VIII.6	Résultats du test Microtox	129
Tableau VIII.7:	Résumé des $\mu_{max}$	135
Tableau VIII.8	Caractéristiques physico-chimiques du lixiviat 4 irradié à la fin du traitement biologique	136
Tableau VIII.9	Paramètres cinétiques du COD des différents bioréacteurs	139
Tableau VIII.10:	Résumé des rendements d'abattement de la minéralisation du carbone organique	144



## LISTE DES FIGURES

<b>Figure I.1</b>	Interactions entre les hydrocarbures aliphatiques et les différentes fractions du sol (Militon, 2007)	5
<b>Figure I.2</b>	Le système de la biodégradation en bioremédiation selon (Singh et Ward, 2004)	14
<b>Figure II.1</b>	Schéma général des voies métaboliques de dégradation des n-alcanes et des iso-alcanes (Ballerini et Vandecasteele, 1999)	33
<b>Figure II.2</b>	Voie métabolique de la dégradation du cyclohexane (Atlas et Bartha, 1993 ; Morgan et Watkinson, 1994)-	35
<b>Figure II.3</b>	Les différents produits issus de l'oxydation du toluène (Parales et al, 2000)	38
<b>Figure II.4</b>	La voie de l'oxydation du toluène (Zylstra et Gibson, 1989; Sakamoto et al, 2001)	38
<b>Figure II.5</b>	Voies proposées pour la dégradation des HAP par les cyanobactéries (Subashchandrabose et al, 2013). A) Phénanthrène par <i>Agmenellum quadruplicatum</i> PR-6 ; B) Anthracène par <i>Phormidium tenue</i>	45
<b>Figure II.6</b>	Dégradation anaérobie du phénanthrène par les bactéries sulfato-réductrices (Tsai et al, 2009a et b)	46
<b>Figure II.7</b>	Production de l'acide naphthoïque par la dégradation anaérobie des HAP (Meckenstock et al, 2004)	47
<b>Figure II.8</b>	Le mécanisme de dégradation du trichloréthylène (TCE) par une bactérie méthanotrophe (la souche 46-1) (Little et al, 1988)	48
<b>Figure VI.1</b>	La décharge d'Oued Smar dans sa phase de réhabilitation (Google Earth®) Images prises en différentes dates	65
<b>Figure V.1</b>	Les différentes étapes du protocole expérimental	69
<b>Figure V.2</b>	Schéma synoptique de la biopile	71
<b>Figure V.3</b>	Les différentes étapes du protocole expérimental de la Biorestauration	74
<b>Figure V.4</b>	Schéma de la décharge après son réaménagement	78
<b>Figure V.5</b>	Schéma du photoréacteur utilisé lors de cette étude	80
<b>Figure V.6</b>	Le dispositif expérimental	82
<b>Figure VI.1</b>	Cinétiques de croissance enregistrées dans la biopile et le sol témoin	92
<b>Figure VI.2</b>	Cinétiques de biodégradation du gasoil enregistrées dans la biopile et le sol témoin	93
<b>Figure VI.3</b>	Rendements de disparition des liaisons C-H appartenant aux hydrocarbures aliphatiques et aromatiques du gasoil à la fin du traitement dans la biopile	95
<b>Figure VI.4</b>	Schéma de croissance des microorganismes au cours du traitement par biopile	96
<b>Figure VII.1</b>	Profil chromatographique du gasoil obtenu par CPG –détecteur FID. (A) à $t_0$ et (B) à la fin du traitement	102

## Liste des figures

---

<b>Figure VII.2</b>	Cinétique de biodégradation du gasoil dans la biopile et le témoin	104
<b>Figure VII.3</b>	Rendements de disparition des liaisons C-H appartenant aux hydrocarbures aliphatiques et aromatiques du gasoil à la fin du traitement dans la biopile	106
<b>Figure VIII.1</b>	Effet du pH sur le procédé TiO <sub>2</sub> /UV	116
<b>Figure VIII.3</b>	Evolution du pH au cours du traitement des lixiviats par TiO <sub>2</sub> /UV	119
<b>Figure VIII.4</b>	Modèles cinétiques de la minéralisation de la charge polluante des lixiviats par TiO <sub>2</sub> à différents pH	121
<b>Figure VIII.5</b>	Représentation graphique du DCO/DCO <sub>0</sub> des lixiviats traités par TiO <sub>2</sub> /UV à pH régulé à 5	123
<b>Figure VIII.6</b>	Rendement d'abattement de la DCO et des NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> après traitement par photocatalyse hétérogène TiO <sub>2</sub> /UV	126
<b>Figure VIII.7</b>	Rendement d'abattement de la DCO après traitement biologique	130
<b>Figure VIII.8</b>	Evolution de la DCO, du pH et de la croissance microbienne au cours du traitement par bioréacteur aérobie	134
<b>Figure VIII.9</b>	Evolution du COD durant le traitement biologique du lixiviat irradié	138
<b>Figure VIII.10</b>	Evolution du rapport DCO/COD durant le traitement biologique du lixiviat irradié	139
<b>Figure VIII.11</b>	Evolution du CO <sub>2</sub> cumulé durant le traitement biologique	141
<b>Figure VIII.12</b>	Représentation semi logarithmique de l'émission du CO <sub>2</sub> en fonction du temps	142
<b>Figure VIII.13</b>	L'évolution de la biodégradation de la matière organique en fonction du temps dans les bioréacteurs aérobies	143
<b>Figure VIII.14</b>	Evolution des différentes formes d'azote assimilable au cours de la biodégradation de la matière organique dans les différents bioréacteurs	145
<b>Figure VIII.15</b>	Carte factorielle et cercle de corrélation de l'ACP des paramètres étudiés lors de la biodégradation de la matière organique dans un bioréacteur inoculé par le lixiviat brut 4	147
<b>Figure VIII.16</b>	Carte factorielle et cercle de corrélation de l'ACP des paramètres étudiés lors de la biodégradation de la matière organique dans un bioréacteur inoculé par les boues activées	148
<b>Figure VIII.17</b>	Carte factorielle et cercle de corrélation de l'ACP des paramètres étudiés lors de la biodégradation de la matière organique dans un bioréacteur inoculé par l'extrait de sol de la décharge	148
<b>Figure VIII.18</b>	Résumé des taux d'abattement de la DCO durant les différents traitements	150
<b>Figure VIII.19</b>	Schéma représentant le cycle envisagé de traitement des lixiviats	151
<b>Figure VIII.20</b>	Schéma représentant les réactions métaboliques intervenant au cours de la biodégradation du COD	151

# TABLE DES MATIERES

---

LISTE DES ABRÉVIATIONS	i
LISTE DES FIGURES	ii
LISTE DES TABLEAUX	iv

## PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

### CHAPITRE I : PROBLEMATIQUE DE LA RESTAURATION DES SOLS CONTAMINES

I.1- INTRODUCTION	4
I.2 -LE DEVENIR DE LA POLLUTION PETROLIERE DANS LE SOL	4
I.2.1-les propriétés physico-chimiques du pétrole brut	6
I.2-2- Propriétés du sol	8
I.3- LA MIGRATION DES HYDROCARBURES DANS LE SOL	9
I.3.1 Cas des hydrocarbures plus légers que l'eau	10
I.3.2 Cas des hydrocarbures plus lourds que l'eau	10
I.4.TRAITEMENT BIOLOGIQUE (BIOREMEDIATION)	10
I.4.1 L'atténuation naturelle	11
I.4.2 La biostimulation	12
I.4.3 La bioaugmentation ou la bio-inoculation	12
I.4.4 Facteurs influençant les performances de la bioremédiation	13
I.4.5 Les techniques de la bioremédiation	15
I.4.5.1 Bioréacteur	15
I.4.5.2. Le compostage	16
I.4.5.3 Le landfarming	16
I.4.5.4 Traitement par les champignons	17
I.4.5.5 Bioventing	18
I.4.5.6 Biosparging (biobarbotage)	18
I.4.5.7 Phytoremédiation	19
I.4.5.8 Biobarrières	20
I.4.5.9 Traitement en biopile	20

### CHAPITRE II : LA BIODEGRADATION DES HYDROCARBURES

II.1- INTRODUCTION	24
II.2- MECANISMES D'ACCESSION AUX HYDROCARBURES	25
II.2.1-Utilisation de la phase dissoute (le transfert par solubilisation dans la phase aqueuse)	25
II.2.2-Le transfert interfacial direct (TID)	25
II.2.3- Le transfert interfacial assisté par biosurfactants (TIA)	26
II.2.4- Le transfert micellaire (la pseudo-solubilisation)	27
II.3-LES VOIES METABOLIQUES DE LA BIODEGRADATION	28
II.3.1. Dégradation des hydrocarbures saturés.	28
II.3.1.1.Micro-organismes	28
II.3.1.2. Mécanismes d'attaque «Les oxygénases»	30
II.3.1.3. Voies de dégradation	31
II.3.1.4.Croissance	34
II.3.1.5. Métabolisme anaérobie	34
II.3.2. Dégradation des hydrocarbures aromatiques	36
II.3.2.1. Dégradation des hydrocarbures mono-aromatiques	36

II.3.2. 2. Dégradation des hydrocarbures aromatiques polycycliques	40
II.3.3. Dégradation des hydrocarbures chlorés (solvants chlorés)	49
II.3.3.1. Dégradation aérobie	49
II.3.3.2. Dégradation anaérobie	50
<b>CHAPITRE III : TRAITEMENT DES LIXIVIATS STABILISES PAR COUPLAGE PROCÉDE D'OXYDATION AVANCÉE ET TRAITEMENT BIOLOGIQUE</b>	
III.1- INTRODUCTION	51
III.2 LES PROCÉDES D'OXYDATION AVANCÉE	52
III-2.1 Procédé photocatalytique hétérogène (TiO <sub>2</sub> /UV)	53
III.3 LES PARAMÈTRES INFLUENÇANT LA PHOTOCATALYSE HÉTÉROGÈNE	54
III.3.1 Oxygène dissous	54
III.3.2 pH de la solution	55
III.3.3 L'intensité du rayonnement UV et la température	55
III.3.4. La quantité du catalyseur	56
III.3.5. La concentration en polluant	56
III.4 LE COUPLAGE PROCÉDE D'OXYDATION AVANCÉE-TRAITEMENT BIOLOGIQUE.	57
III.5 PARAMÈTRES INFLUENÇANT LE COUPLAGE PHOTOCATALYSE ET TRAITEMENT BIOLOGIQUE	58
III.5.1 Biodégradabilité et toxicité	58
III.5.2 La durée de prétraitement	60
III.5.3. La minéralisation et l'état d'oxydation des composés	60
III.5.4. Les avantages du couplage	61
<b>CHAPITRE IV : PROBLÉMATIQUE DE LA DÉCHARGE D'OUED SMAR</b>	
IV.1 INTRODUCTION	62
IV.2 EXPLOITATION DE LA DÉCHARGE D'OUED SMAR	63
IV.2.1 Historique	63
IV.2.2 Situation géographique de la décharge	64
IV.2.3 Cadre géologique et hydrogéologique de la décharge	64
IV.2.4 Type de déchets mis en dépôt	66
IV.2.5 Impact de la décharge sur l'environnement	66
<b>PARTIE EXPERIMENTALE</b>	
<b>CHAPITRE V : MATERIEL ET METHODES</b>	
V.1 VOLET BIOREMEDIATION	68
V.1.1 Méthodologie	68
V.1.2 - Matériel	70
V.1.2.1 Description de la biopile	70
V.1.2.2- L'expérimentation	70
V.1.2.3- La terre polluée	72
V.1.3. Méthodes	73
V.1.3.1- Analyses du sol	73
V.1.3.2-Analyse granulométrique	73
V.1.2.3-La capacité de rétention en eau	73
V.1.2.4-La conductivité électrique	73
V.1.2.5-Le pH	73

V.1.2.6-L'humidité	73
V.1.2.7-Détermination de la porosité	75
V.1.2.8- Détermination de la perméabilité	75
V.1.2.9-Evaluation du calcaire total « CaCO <sub>3</sub> »	75
V.1.2.10-Le carbone organique « CO »	75
V.1.2.11-Détermination des cations échangeables	75
V.1.2.12-Dosage du phosphore « P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> »	75
V.1.2.13- Dosage de l'azote total « NT »	76
V.1.2.14-Dosage de l'azote minéral (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> et NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	76
V.1.2.15-Analyse des hydrocarbures	76
V.1.2.16-Analyse microbiologique	77
V.1.3. Cinétique microbienne	77
V.1.3.1 Modélisation de la biodégradation	77
V.1.3.2 Paramètres de la croissance	78
V.2 : VOLET REHABILITATION DE LA DECHARGE	78
V.2.1. Matériel	78
V. 2.1.1 La collecte des lixiviats	78
V. 2.1.2-Les supports photocatalytiques	79
V.2.1.3-Dispositif expérimental	79
V.2.2-Traitement photocatalytique	80
V.2.3-Traitement biologique des lixiviats irradiés	81
V.2.3.1- Etude de faisabilité	81
V.2.3.2-Traitement par bioréacteur aérobie	81
V.2.4 -Mesure des paramètres globaux des effluents aqueux	83
V.2.4.1- pH et conductivité	83
V.2.4.2-Dosage de la matière en suspension (MES)	83
V.2.4.3- Dosage des chlorures	83
V.2.4.4- Détermination de l'alcalinité	84
V.2.4.5- Dosage de l'azote Kjeldahl par minéralisation au sélénium	84
V.2.4.6- Dosage de l'azote ammoniacal (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )	84
V.2.4.7-Dosage des nitrates (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	84
V.2.4.8- Dosage des nitrites (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	85
V.2.4.9- Dosage du phosphore	85
V.2.4.10-Détermination de la demande chimique en oxygène (DCO)	85
V.2.4.11-Détermination de la demande biochimique en oxygène (DBO <sub>5</sub> )	85
V.2.4.12-Dosage du carbone organique total (COT)	86
V.2.4.13-Analyse des métaux par spectrométrie d'absorption atomique de flamme	86
V.2.4.14-Test de toxicité	86
V.2.5-Analyse statistique	86
<b>CHAPITRE VI : ETUDE DE L'ASPECT MICROBIOLOGIQUE DE LA BIODEPOLLUTION DES SOLS CONTAMINES PAR LE GASOIL SUIVANT LE PROCEDE BIOPILE.</b>	
VI.1 INTRODUCTION...	87
VI.2 MATERIEL ET METHODES	88
VI.3 RESULTATS ET DISCUSSION	88
<b>CHAPITRE VII : MODELISATION ET ETUDE QUALITATIVE DE LA BIODEGRADATION DU GASOIL PAR LE PROCEDE BIOPILE DANS UN SOL SABLEUX</b>	
VII.1-INTRODUCTION	98
VII.2- MATERIELS ET METHODES	99

## *Tables des matières*

---

VII.3- RESULTATS ET DISCUSSION	99
VII.3.1- Caractérisation du sol	99
VII.3.2. Cinétique de dégradation du gasoil	100
VII.3.3 Paramètres cinétiques de la biodégradation du gasoil	108
<b>CHAPITRE VIII : TRAITEMENT DES LIXIVIATS DE LA DECHARGE D'OUED SMAR PAR PHOTOCATALYSE HETEROGENE <math>TiO_2/UV</math></b>	
VIII .1 CARACTERISATION DES LIXIVIATS DE LA DECHARGE D'OUED SMAR	111
VIII .2 TRAITEMENT PHOTOCALYTIQUE DES LIXIVIATS	114
VIII.2.1 Etude de l'Influence du pH sur l'efficacité du traitement photocatalytique	114
VIII.2.2 Paramètres de la cinétique de la photocatalyse hétérogène $TiO_2/UV$	120
VIII.2.3. Effet de la charge polluante	122
VIII.2.4. Traitement par photocatalyse hétérogène $TiO_2/UV$	122
VIII.2.5. Toxicité	128
VIII.3-ETUDE DU COUPLAGE PHOTOCATALYSE HETEROGENE ( $TiO_2/UV$ ) / TRAITEMENT BIOLOGIQUE PAR BIOREACTEUR AEROBIE	130
VIII.3.1- Etude de la faisabilité du couplage	130
VIII.3.2. Traitement biologique par bioréacteur aérobie	131
VIII.3. 3-Suivi de la minéralisation	137
<b>Conclusion générale</b>	152
<b>Références</b>	155

## INTRODUCTION

---

L'un des problèmes rencontrés dans la réhabilitation de la décharge d'Oued Smar est la gestion des lixiviats générés au fil des ans. En effet, de 1978 jusqu'à 2010, la décharge d'Oued Smar a reçu continuellement un important flux de déchets urbains et industriels s'accumulant jusqu'à atteindre une masse de 40 millions de tonnes (**MATE, 2010**). L'exploitation de la décharge était anarchique et ne répondait à aucune norme. Elle se résumait donc à un tri sauvage de certains produits de récupération, notamment le carton, les emballages de toutes sortes, le polyéthylène, le PVC, les métaux et autres.

Le lixiviat par sa composition hétérogène (très riche en matières organiques et minérales) est susceptible de contaminer l'environnement avoisinant en particulier les eaux souterraines, affectant ainsi la qualité des eaux et compromettant la santé humaine. En plus de l'atteinte des nappes phréatiques, une altération de la qualité des sols et un déséquilibre de l'écosystème ont été constaté (c'est le cas de cette décharge où le système de drainage du lixiviat est défectueux). Cet état de fait, favorise l'accumulation du lixiviat, ce qui provoque généralement des éboulements.

Vu la diversité de la composition et le caractère récalcitrant des lixiviats, un procédé unique ne peut être envisagé pour remédier au problème de la pollution engendrée par ces lixiviats à caractère récalcitrant. Pour cela, différents procédés qui consistent à coupler des techniques d'oxydation avancées aux procédés biologiques ont été mis au point ces dernières années notamment au niveau du Laboratoire des Biotechnologies Environnementales et Génie des Procédés (BIOGEP). Parmi ces procédés développés, la décomposition photocatalytique de l'eau en présence du dioxyde de titane ( $\text{TiO}_2$ ) qui permet de réduire les fractions réfractaires en fractions biodégradables ou aboutir aux produits ultimes de la minéralisation. Ce dernier procédé a suscité beaucoup d'attention en tant que procédé chimique prometteur pour un environnement sain. L'oxyde de titane ( $\text{TiO}_2$ ) est largement utilisé comme photocatalyseur en raison, de sa non-toxicité, de sa stabilité photochimique et de son faible coût.

D'une manière globale, les procédés d'oxydation avancés (POA) sont présentement présentés comme une alternative efficace à la minéralisation des fractions organiques récalcitrantes des lixiviats de la décharge. Les POAs sont caractérisés par la présence des radicaux  $\cdot\text{OH}$  qui possèdent un pouvoir oxydant supérieur à celui des oxydants traditionnels tels que  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{Cl}_2$ ,  $\text{ClO}_2$  ou  $\text{O}_3$  et qui

conviennent pour des réactions rapides et non spécifiques. Ces radicaux sont capables de minéraliser la quasi-totalité des composés organiques et organométalliques.

Ces dernières années, il a été constaté une utilisation des procédés photochimiques en amont des traitements biologiques, mais toutefois, leur utilisation n'est alors justifiée que si les sous-produits résultants de la réaction sont assimilables par les micro-organismes lors du traitement biologique permettant ainsi d'augmenter la biodégradabilité des polluants récalcitrants et d'en diminuer leur toxicité. Ce couplage de procédés permet aussi la diminution du coût de traitement global.

Le premier objectif assigné lors de cette étude est d'éliminer le problème des lixiviats fortement chargées en substances polluantes de la décharge d'Oued Smar par un procédé d'oxydation avancée qui est la photocatalyse hétérogène ( $\text{TiO}_2/\text{UV}$ ). Ces lixiviats ne peuvent être traités par un traitement biologique du fait des faibles rapports  $\text{DBO}_5/\text{DCO}$  qui varient entre 0.045 et 0.18. Cependant, la photocatalyse hétérogène ( $\text{TiO}_2/\text{UV}$ ) utilisée seule ne permet pas d'éliminer la fraction réfractaire de certains lixiviats fortement chargées. En effet, les fluctuations dans les caractéristiques de ces lixiviats dues probablement à l'accumulation au fil des ans des fractions réfractaires posent un obstacle pour atteindre les normes des rejets. Pour ce faire, un couplage de la photocatalyse hétérogène  $\text{TiO}_2/\text{UV}$  à un traitement biologique a été envisagé.

Le deuxième objectif de notre travail réside dans la contribution à la bioremédiation d'un sol pollué par du gasoil à l'aide d'un procédé biologique « **Biopile** » et l'étude des relations existantes entre la structure des microflore de l'environnement et leurs capacités à dégrader le gasoil. En effet, l'utilisation massive et abusive du pétrole brut et de ses dérivés et les déversements accidentels sont une source importante de pollution des sols. Cette pollution constitue alors un risque réel qui s'accroît avec le temps vue les rôles stratégique et politique que joue le pétrole dans la scène mondiale et dont l'impact réside dans les effets désastreux qu'encourent l'homme et son environnement. Des dégâts réels ont été constatés lors des accidents (déversement, fuite...etc.) et des rejets entraînant parfois des catastrophes écologiques irréversibles. Pour faire face à cette situation, des technologies de décontamination des sols pollués ont été développées pour éliminer la pollution. Parmi ces technologies la bioremédiation apparaît comme un procédé très efficace, moins onéreux et simple d'application et dont le principe repose sur la minéralisation complète des produits pétroliers et leurs dérivés en  $\text{CO}_2$  et  $\text{H}_2\text{O}$ . La bioremédiation ne générerait aucun sous-produit toxique, contrairement aux procédés physicochimiques qui consistent souvent en un transfert de la pollution d'un milieu à un autre ou encore à son confinement.

Cette thèse est structurée en huit chapitres. Une revue bibliographique concernant les généralités sur la bioremédiation, les voies métaboliques de la biodégradation des hydrocarbures impliquées dans la bioremédiation, la problématique de la décharge d'Oued Smar et le traitement des lixiviats stabilisés issues des décharges par couplage



du procédé d'oxydation avancée et du traitement biologique font l'objet des chapitres I à IV respectivement.

L'ensemble du matériel et des méthodes utilisées sont présentés dans le cinquième chapitre. Le sixième chapitre sera consacré à l'étude de l'aspect microbiologique de la biodépollution des sols contaminés par le gazoil par le procédé biopile. Le septième chapitre portera sur la modélisation et sur l'étude qualitative de la biodégradation du gazoil par le procédé biopile dans un sol sableux. Le huitième et dernier chapitre sera réservé à la caractérisation physico-chimique du lixiviat de la décharge d'Oued Smar, et aux essais de faisabilité de la photocatalyse hétérogène  $\text{TiO}_2/\text{UV}$  sur les lixiviats. Le couplage de la photocatalyse hétérogène aux procédés biologiques y sera également traité.

Pour conclure ce mémoire, une synthèse des résultats acquis est proposée et les perspectives de poursuite de ce travail sont dégagées.

# CHAPITRE I

## Problématique de la restauration des sols contaminés

### I.1- INTRODUCTION

Suite à la croissance de l'industrie et la demande inhérente en énergie, il a été constaté ces dernières années une nette recrudescence des pollutions des sols par le pétrole brut et ses dérivés (**Udiwal et Patel, 2010**). En effet, la pollution pétrolière est en relation avec les différentes opérations de l'industrie pétrolière, de l'exploration, production, raffinage et transport du pétrole jusqu' à sa commercialisation (**Vogel et Ballerini, 2001 ;Kuhad et Gupta ; 2009**).

De nombreux sites industriels et municipaux devront être restaurés pour des raisons de déclassement, de transactions immobilières, de protection des eaux souterraines, de déversements ou de fuites de produits chimiques. Ces déversements posent de graves menaces pour l'environnement et pour la santé humaine (**CCME, 2008; Sanscartier et al, 2011**).

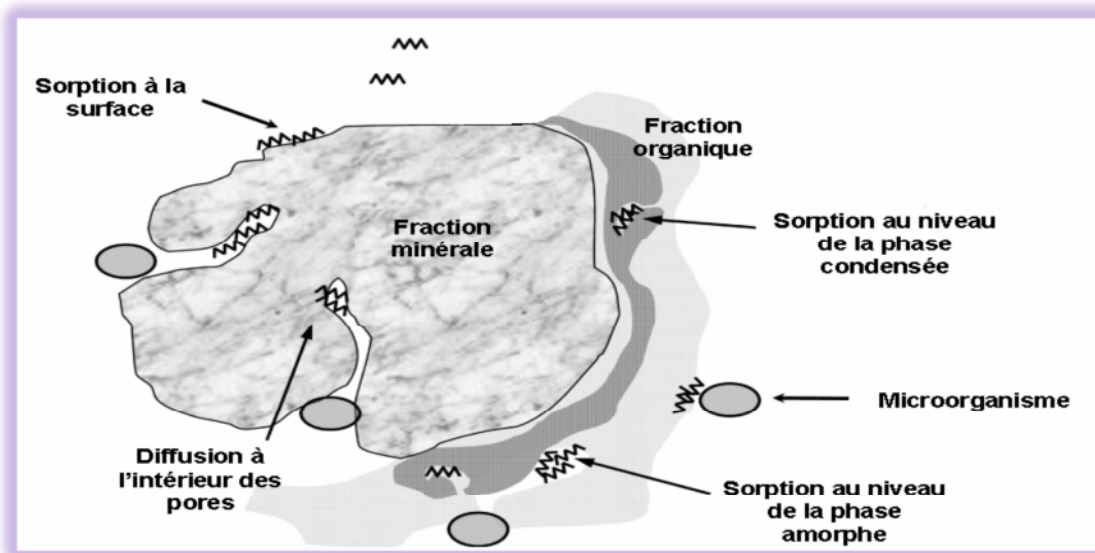
Cette situation a entraîné en parallèle le développement du marché de la restauration des sols pollués. Parmi les différentes techniques, le traitement biologique est bien reconnu comme un processus très efficace pour le traitement des sols fortement pollués en composés pétroliers biodégradables (**Nano et al, 2003; Fallgren et al, 2008**), puisque le devenir de ces produits pétroliers rejetés dans l'environnement y est principalement régi par le procédé de biodégradation (**Solano-Serena et al, 2001 ; Sanscartier et al, 2009**). Cette dernière dépend non seulement de la biodégradabilité intrinsèque des polluants, mais aussi de la présence de micro-organismes compétents dans les sols (**Solano-Serena et al, 2001; Gallego et al, 2011**).

### I.2 -LE DEVENIR DE LA POLLUTION PETROLIERE DANS LE SOL

Le devenir du pétrole répandu dans le sol dépend des propriétés physico-chimiques des hydrocarbures, des caractéristiques du sol et des facteurs environnementaux (température, précipitation et dissémination des particules contaminées du sol).

L'ensemble de ces paramètres contrôlent les taux d'adsorption/désorption des polluants du sol et donc la distribution de ces substances dans les trois phases du sol (solide, liquide et gazeuse). Du fait de leur caractère lipophile et d'une faible solubilité, la majorité des hydrocarbures ne sont pas volatilisables ou lessivables et ont tendance à s'adsorber sur les fractions organiques et minérales du sol. Ce phénomène, nommé géosorption, est un procédé d'accumulation de molécules sur des surfaces solides (phénomènes d'adsorption) ou d'une phase du sol vers une autre (phénomène de partitionnement). Selon le type de la fraction organique (amorphe et condensée) concernée, la géosorption est subdivisée en deux catégories (la phase amorphe et la phase condensée).

La phase amorphe constituée par les substances humiques, les polysaccharides, les lipides, les protéines et la lignine, est majoritairement responsable du partitionnement des polluants organiques. Par contre, la phase condensée est composée de charbon, de suie et de kérogène lorsqu'elle est impliquée dans l'adsorption des hydrocarbures. La séquestration des hydrocarbures est considérée comme réversible au niveau de la phase amorphe et irréversible au niveau de la phase condensée (**Figure I.1**). Ce phénomène est gouverné par différents paramètres : les propriétés intrinsèques de l'écosystème, les facteurs environnementaux et les propriétés physico-chimiques du polluant.



**Figure I.1 : Interactions entre les hydrocarbures aliphatiques et les différentes fractions du sol (Milton, 2007).**

Un autre paramètre essentiel modulant la disponibilité des polluants du sol est le temps de contact entre les composants du sol et ses molécules (**Laurent et al, 2005 ; Militon, 2007**). Il faut noter que ces propriétés et les conditions de l'environnement changent avec le temps et doivent donc faire l'objet d'une surveillance continue.

Par exemple, au fur et à mesure que la dégradation du pétrole prend place par évaporation, sa densité augmente et le taux d'évaporation s'accélère avec l'augmentation de la température et de la vitesse des vents et donc, il est important de connaître la nature dynamique des déversements d'hydrocarbures et le fait que les propriétés des hydrocarbures déversés puissent éventuellement se modifier en continu au cours des opérations d'intervention. Le suivi de près de ces changements permettront de déterminer les stratégies d'interventions en conséquence (**Russell, 1999**).

### **I.2.1-les propriétés physico-chimiques du pétrole brut :**

Les caractéristiques physico-chimiques du pétrole brut et du pétrole raffiné diffèrent. Ces caractéristiques influencent leur volatilité, leur toxicité ainsi que le taux et la durée de l'altération et donc il va falloir en tenir compte pour les interventions en cas de déversement (**Russell, 1999**) :

- **Densité** : La densité de l'hydrocarbure détermine la flottabilité du pétrole déversé. La densité de la plupart des pétroles, bruts et raffinés, se situe entre 0,78 et 1,00. La densité du pétrole répandu augmente avec le temps, au fur et à mesure que disparaissent les composants les plus volatils et les moins denses (**Russell, 1999 ; Ghaderi, 2012**).
- **Point d'écoulement** : Dans l'industrie pétrolière, le point d'écoulement d'un produit est la température à laquelle le produit commence à s'écouler. On mesure souvent le point d'écoulement d'un brut, d'un gazole, d'un résidu ou d'un fioul pour définir la faisabilité d'un pompage. Dans notre cas, c'est cette propriété qui va déterminer si le pétrole pénètre dans les sédiments ou suit la pente en s'écoulant (**Russell, 1999 ; Taraneh et al, 2008**).
- **Viscosité** : C'est une mesure de la résistance des hydrocarbures à l'écoulement, ou de leur cohésion interne; la viscosité contrôle la vitesse d'étalement et le degré de pénétration du pétrole dans les sédiments. Le déplacement du fluide est d'autant plus lent que son coefficient de viscosité est élevé (**Russell, 1999 ; BRGM, 2005**).

- **H<sub>2</sub>S** : Au cours d'un déversement d'hydrocarbures, ce facteur est un élément de préoccupation pour la sécurité car l'hydrogène sulfuré est un gaz dont la toxicité est fonction de la concentration et du temps d'exposition (**Russell, 1999**).

Parmi les autres propriétés des hydrocarbures dont il faut tenir compte pour les mesures d'interventions se trouvent le point d'ébullition, le point éclair, la tension superficielle, l'adhésion, la solubilité et le contenu aromatique.

- **Point d'ébullition** : Il détermine la température d'évaporation de chaque hydrocarbure. Un grand nombre de fractions légères (à basse température d'ébullition) s'évaporent à des températures inférieures à 20°C. Avec l'évaporation de ces fractions légères, le volume du pétrole diminue et il devient plus dense et plus visqueux (**Russell, 1999**).
- **Point éclair** : Le point d'éclair est la température à laquelle il faut porter l'échantillon pour que les vapeurs émises brûlent spontanément en présence d'une flamme. Le point d'éclair constitue un critère de sécurité lors des opérations de stockage et de distribution. On doit se souvenir qu'il existe un sérieux danger si les températures de l'air sont supérieures au point éclair de chaque fraction légère contenue dans les déversements d'hydrocarbures. L'essence et d'autres fuels légers peuvent s'enflammer sous la plupart des conditions ambiantes et posent donc un danger grave lors de tout déversement. Un grand nombre d'hydrocarbures qui viennent de se répandre ont également des points éclair peu élevés jusqu'à ce que les composants plus légers s'évaporent ou se dispersent (**Russell, 1999**).
- **Tension superficielle** : Elle contrôle la vitesse à laquelle s'étale l'hydrocarbure. Les hydrocarbures à faible tension superficielle s'étalent plus rapidement. Il s'ensuit qu'une plus grande superficie est exposée à l'altération. La tension superficielle est en partie déterminée par la température ambiante et diminue avec l'augmentation de la température (**Russell, 1999 ; Chen et al, 1999**).
- **Adhésion** : Cet élément est important pour déterminer si le pétrole adhère aux sédiments ou aux autres substances avec lesquelles il entre en contact (**Russell, 1999**).
- **Solubilité** : Elle détermine si le pétrole se dissout dans l'eau et devient toxique pour la faune et flore marine (**Russell, 1999**).
- **Contenu aromatique** : Les aromatiques sont plus toxiques et présentent une haute solubilité qui peut accroître la toxicité; en outre, ils sont plus volatils que d'autres composants des hydrocarbures (**Russell, 1999**).

- **Pression de vapeur** : La pression de vapeur du produit indique sa capacité à se volatiliser (**BRGM, 2005**).
- **Constante de Henry** : Elle influe à la fois sur la capacité d'un produit à se volatiliser et sur les phénomènes d'adsorption (**BRGM, 2005**).
- **Coefficient de partage eau/octanol** : Il permet d'apprécier l'hydrophobie de la substance et par conséquent son affinité pour la matrice solide. Cela conditionne les phénomènes d'adsorption, de migration, et de biodisponibilité de la substance. En fonction des propriétés du milieu (contenu en carbone et en minéraux argileux), celui-ci peut piéger le produit dans les niveaux riches en matières organiques (**BRGM, 2005 ; Copolovici et al, 2005**).
- **Coefficient de partage eau/solide** : Il quantifie la répartition relative du composé entre une phase solide et l'eau. Plus le coefficient est élevé, plus le produit est adsorbé sur la phase solide (**BRGM, 2005**).
- **Coefficient de partage eau/carbone organique** : Il correspond au coefficient de partage eau/solide rapporté à la teneur en carbone organique du sol. Il quantifie la répartition relative du composé entre la matière organique et l'eau. Plus le coefficient est élevé, d'autant le produit a une affinité pour la fraction organique du sol (**BRGM, 2005**).

### 1.2-2- Propriétés du sol

Les propriétés physico-chimiques du sol peuvent affecter de manière significative le devenir des hydrocarbures. D'après le BRGM (**2005**), les principales propriétés sont :

**La nature du sol** : Elle regroupe la granulométrie, la minéralogie et la composition chimique globale, Ces paramètres influents sur les phénomènes de sorption du contaminant : fonction du contenu en carbone organique, en minéraux argileux (fraction de taille inférieure à 2  $\mu\text{m}$ ), en oxydes et hydroxydes métalliques, en carbonates et en silicates. Ces paramètres influent également sur le transfert du contaminant dans le milieu : la convection, la dispersion et la diffusion.

**Porosité/Perméabilité** : Influe sur le transfert du contaminant dans le milieu : la convection, la dispersion et la diffusion.

**Teneur en eau** : Influe sur le transfert du contaminant dans le milieu (la convection, la dispersion et la diffusion), la dissolution et l'hydrolyse du contaminant et sur l'activité microbienne et donc sur la biodégradation du contaminant.

**Conditions d'oxydoréductions :** Influent sur la dégradation abiotique de certains polluants organiques.

**pH :** Influe sur le phénomène de sorption et sur la présence et le développement microbien, donc sur la biodégradation du contaminant.

**Présence d'une population microbienne :** Influe sur la biodégradation du contaminant.

**Disponibilité en éléments nutritifs :** Influe sur le développement de la population microbienne présente dans le sol, donc sur la biodégradation du contaminant.

La composition chimique des hydrocarbures change suite à leur dégradation. Cette dernière se produit par évaporation, dégradation microbienne, oxydation chimique et réactions photochimiques. Ces phénomènes engendrent l'apparition de métabolites, avec un changement de la structure chimique. Ceci provoque des modifications de leur toxicité et de leur comportement dans le sol par rapport à celui de la molécule mère.

Certains hydrocarbures dont la masse moléculaire est peu élevée se dégradent rapidement (1 à 2 jours) à cause de l'évaporation et subissent des changements profonds de nature, tandis que les autres hydrocarbures dont la masse moléculaire est plus élevée demeurent relativement stables pendant longtemps et leur dégradation est plus lente et a pour principale cause la dégradation microbienne et l'oxydation chimique **(Russell, 1999 ; Laurent *et al*, 2005)**.

### **I.3- LA MIGRATION DES HYDROCARBURES DANS LE SOL**

Il s'agit d'un problème particulièrement complexe à traiter dans son ensemble. Une telle pollution conduit en effet à un mélange de phases (eau, huile, air, vapeur) et à un mélange de plusieurs composants carbonés avec leurs propres caractéristiques physiques (densité, viscosité...). Chaque phase en déplacement (avec passage possible d'une à l'autre) véhicule plusieurs composants, susceptibles de passer d'une phase à l'autre (par dissolution, vaporisation, condensation), y compris d'interagir avec la phase solide (adsorption-désorption) **(Lemière *et al*, 2001)**.

Les caractéristiques des hydrocarbures vont donc influencer leur migration et leur comportement dans l'environnement; la densité, la viscosité, la solubilité, les conditions d'équilibre entre phase liquide ou dissoute et phase vapeur et la biodégradabilité **(SDAGE, 2002; BRGM, 2005)**.

La pollution par les hydrocarbures forme une phase fluide distincte de l'eau ; une fraction soluble et susceptible de passer dans les nappes ; dans la zone non saturée une autre fraction peut se trouver sous forme gazeuse. De plus, la densité du polluant par rapport à l'eau induira un comportement de pollution très différente selon qu'elle est inférieure ou supérieure à celle de l'eau (**Lemière *et al*, 2001**).

### **I.3.1 Cas des hydrocarbures plus légers que l'eau**

La quantité déversée doit être suffisante pour qu'il y ait formation d'une phase continue non miscible, sinon, la pollution se manifestera sous la forme de gouttelettes d'huile piégées dans les pores constituant autant de micro sources de pollution. Les hydrocarbures contenus dans ces micro-sources seront transportés vers les eaux souterraines sous forme dissoute uniquement, et principalement par le jeu des eaux de pluie. Dans le cas où il y a constitution d'une phase huileuse non miscible et continue, celle-ci va migrer vers la nappe.

Ainsi le volume de produits non piégés dans la zone non-saturée va atteindre la nappe sous l'influence de la gravité et des forces capillaires, et s'étalera progressivement à son toit en phase flottante. Une fraction de ces composés migrera avec l'eau souterraine suivant le gradient hydraulique (phase libre), une autre sera adsorbée au matériau aquifère et/ou biodégradée à divers degrés, une autre pourra se volatiliser dans les pores de la zone non saturée (phase gazeuse), une dernière se solubiliser dans l'eau souterraine (phase dissoute). Cette dernière phase formera ainsi un panache de contamination qui pourra migrer et se disperser à l'intérieur de l'aquifère (**Lemière *et al*, 2001**; **SDAGE, 2002** ; **BRGM, 2005**).

### **I.3.2 Cas des hydrocarbures plus lourds que l'eau**

Leur migration jusqu'à la nappe peut être très rapide, surtout si la teneur en eau de la zone non saturée est faible. Une fois dans la nappe, ils continuent à migrer vers le bas jusqu'à ce qu'ils aient atteint soit le substratum soit une intercalation peu perméable. Ils peuvent alors rester piégés dans les irrégularités du substratum ou bien migrer dans le sens du pendage de celui-ci, éventuellement dans le sens contraire de la direction générale de l'écoulement de la nappe (**Lemière *et al*, 2001**).

## **I.4.TRAITEMENT BIOLOGIQUE (BIOREMEDIATION)**

La bioremédiation est une technique de traitement de plus en plus utilisée afin de traiter des sols et des eaux contaminés par les hydrocarbures. Elle consiste principalement en l'utilisation des micro-organismes ou des plantes présents en milieu naturel.



Au cours de la bioremédiation, les micro-organismes du sol jouent un rôle primordial dans la minéralisation des hydrocarbures pétroliers en sous-produits non-toxiques tels que le dioxyde de carbone, l'eau, la biomasse et l'humus (**G.I.E, 2000; Huesemann, 2004; Singh et al ; 2009**).

Ces processus de dégradation biologique peuvent exiger la présence d'air, ou non. Dans certains cas, les voies métaboliques que les organismes utilisent pour s'accroître ou pour obtenir de l'énergie peuvent aussi être utilisées pour décomposer des molécules de substances polluantes. Dans ce cas (nommé cométabolisme), le micro-organisme ne retire aucun bénéfice direct. Les chercheurs tirent avantage de ce phénomène pour l'appliquer dans le domaine de la bioremédiation. Complète, une biodégradation parvient à détoxifier des polluants jusqu'au stade du dioxyde de carbone (gaz carbonique), de l'eau et de sels minéraux inoffensifs (**EFB, 1999**).

La bioremédiation utilisée comme une approche de décontamination des sols pollués est en concurrence avec d'autres disciplines, puisque elle est efficace et moins coûteuse pour éliminer les contaminants dangereux par rapport aux procédés physico-chimiques (**Ward et Singh, 2004 ; Singh et al, 2009**).

Plusieurs types de bioremédiation existent, différents selon les conditions naturelles, on distingue:

#### **I.4.1 L'atténuation naturelle :**

Selon l'agence de protection de l'environnement des Etats Unis (**USEPA 1997**), le terme de l'atténuation naturelle désigne tous les processus se produisant naturellement dans les sols et les eaux souterraines, sans intervention humaine, visant à réduire la masse, la toxicité, la mobilité, le volume ou la concentration des polluants dans ces milieux.

Les processus impliqués in situ sont la dispersion, la dilution, la volatilisation, l'adsorption, les mécanismes de stabilisation ou de destruction des polluants (dégradation biotique par des bactéries autochtones ou abiotique), qu'ils soient physiques, chimiques ou biologiques.

Ces réactions peuvent être classées en deux grandes catégories (catégories destructives et catégories non destructives).

Les mécanismes non destructifs ont pour seul effet la réduction de la concentration des contaminants par la dispersion hydrodynamique (la diffusion et la dispersion mécanique), la sorption, la dilution, la volatilisation et la stabilisation chimique. Par contre les mécanismes destructifs visent à réduire la masse et le volume des contaminants. Les réactions incluses dans cette catégorie, sont la biodégradation, l'oxydation et l'hydrolyse abiotique.

Le processus de biodégradation dans ce cas est dénommé «bioremédiation intrinsèque» et est considéré comme le mécanisme majeur d'atténuation naturelle. Cette approche est passive et le processus de biodégradation dépend uniquement des conditions naturelles du site. Une diminution significative des teneurs en polluant est alors incertaine et ne peut être envisagée que sur un très long terme (<http://www.biorem.net>; Delisle et Greer, 2004 ; BRGM, 2005; ADEME, 2006).

#### **I.4.2 La biostimulation :**

Elle consiste à modifier les conditions naturelles d'un site pour en augmenter les taux de biodégradation par l'ajout des substances nutritives, d'oxygène sous forme gazeuse ou liquide et agents correcteurs du milieu afin de favoriser la croissance et le développement de bactéries déjà présentes dans le milieu. La dispersion des contaminants est contrôlée afin de garantir l'efficacité des mesures correctives.

Cette méthode possède le désavantage d'être non sélective, et donc de faire croître indifféremment tous les types de micro-organismes, éventuellement toxiques ou pathogènes, présents naturellement sur le site avant intervention (<http://www.biorem.net>; Koller, 2009).

#### **I.4.3 La bioaugmentation ou la bio-inoculation :**

C'est l'introduction des souches bactériennes spécialisées pures ou de consortiums de microorganismes, ou des enzymes spécifiquement élevés et adaptés pour digérer un type précis de polluant en vue de la décontamination d'un sol (<http://www.biorem.net>; Gobat *et al*, 2010).

Selon Radwan (2009), la biorestauration implique deux approches ; la biostimulation et la bioaugmentation ; le fait d'atteindre ces deux objectifs sur site est loin d'être une tâche facile, surtout en ce qui concerne le second objectif, et ce à l'inverse de l'atténuation naturelle qui est considérée comme une stratégie pour la gestion des sites pollués et non comme un procédé de bioremédiation (Pignatello, 2009; BRGM, 2005, ADEME, 2006).

#### **I.4.4 Facteurs influençant les performances de la bioremédiation :**

Le succès de la bioremédiation des sols dépend de la connaissance des facteurs environnementaux (**Figure I.2**), de leur identification et de leur optimisation de sorte qu'aucun d'entre eux ne deviennent un facteur limitant au cours du traitement. Ces facteurs sont connus pour affecter à la fois la vitesse et le degré de la biodégradation des hydrocarbures dans les sols contaminés (**Huesemann, 2004 ; Kuhad et Gupta ; 2009**).

Les différents facteurs influençant le bon déroulement de la bioremédiation sont selon (<http://www.enviroaccess.ca/>; **Costes et Druelle, 1997 ; Huesemann, 2004 ; Vidal, 2011**) :

➤ **La nature du sol :**

- La composition granulométrique de la fraction minérale solide, qui caractérise la texture du sol;
- Les compositions chimiques : caractéristiques de la phase minérale et organique;
- Caractéristiques physiques : conductivité électrique et hydraulique,... etc.;
- Caractéristiques géotechniques : teneur en eau, porosité, densité et indice de plasticité;
- Caractéristiques biologiques : nombre suffisant en microorganismes qui dégradent les hydrocarbures, absence de cométabolisme.

➤ **La distribution de la pollution dans le sol :**

Elle renseigne sur le degré de piégeage du contaminant au niveau du sol qui conduit souvent à de sérieux problèmes de limitations de la biodisponibilité.

- NAPL (phase liquide non aqueuse); Gouttelettes plus ou moins solidifiées;
- Adsorption à l'intérieur d'agrégats de fines particules;
- Adsorption autour de grains individuels;

➤ **La concentration, la structure et les caractéristiques physico-chimiques du polluant :**

- Proportion de 2, 3, 4, 5 et 6 cycles aromatiques (le nombre de cycles influent sur les propriétés physico-chimiques des polluants : solubilité dans l'eau, pression de vapeur, dégradabilité, etc.);
- Densité et viscosité;

- Importance des fractions lourdes des goudrons associés aux HAP (résines, asphaltènes).

➤ **Les facteurs environnementaux :**

- La température ;
- Le pH ;
- L'humidité ;
- La teneur en nutriments ;
- La teneur en oxygène ;
- Présence d'inhibiteurs ;
- Le potentiel d'oxydoréduction.

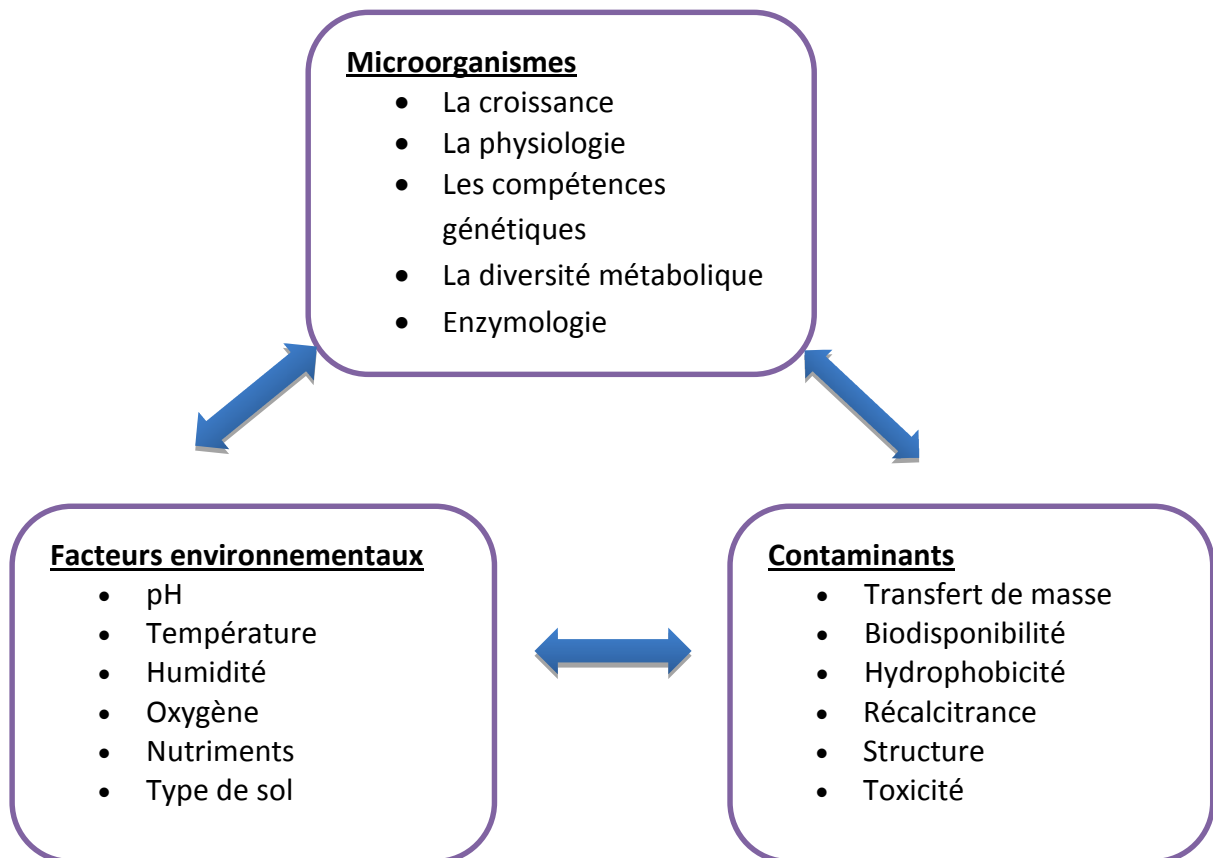


Figure I.2: Le système de la biodégradation en bioremédiation selon (Singh et Ward, 2004).

#### I.4.5 Les techniques de la bioremédiation :

D'après ADEME (2006), les techniques biologiques de dépollution des sols sont nombreuses; selon la nature de la pollution à traiter, elles sont mises en œuvre seules ou combinées à d'autres procédés, physiques, chimiques, thermiques ou biologiques.

Bien que l'avantage principal des techniques biologiques réside dans leur mise en œuvre sur le site même (in situ), certaines nécessitent l'excavation des terres et sont traités sur site ou hors site (excavation et transport des terres vers un centre de dépollution).

- L'identification des techniques biologiques existantes ou émergentes et l'analyse des procédés impliqués met en évidence l'existence de deux catégories principales : les techniques de bioremédiation qui utilisent essentiellement des bactéries et les techniques de phytoremédiation qui exploitent les propriétés des végétaux (plantes, arbustes, arbres). Elles peuvent être classées en fonction de leur degré d'innovation :
- Les techniques plus anciennes, qui n'évoluent plus vraiment, à l'exception d'ajustements mineurs pour optimiser leur rendement et gagner en efficacité.
- Les techniques innovantes qui font l'objet de travaux de recherche et développement poussés et d'essais pilotes sur site. Elles concernent principalement la combinaison de procédés existants et bien connus (couplage bioaugmentation / phytoremédiation ; couplage bioremédiation (champignon)/ phytoremédiation ; couplage phytoextraction / valorisation énergétique de la biomasse ; système de multi procédés /phytoremédiation.

##### I.4.5.1 Bioréacteur

La technique de bioremédiation en réacteur ou « *bioslurry* » consiste à réaliser la biodégradation du polluant dans un contenant installé sur le site (cuve fermé, bassin, colonne...), en ajoutant au matériel à traiter, les ingrédients nécessaires à la réaction. L'eau doit être en quantité suffisante pour maintenir en suspension les particules du sol. L'utilisation des réacteurs est généralement admise pour des sols et des boues contaminés (efficace pour des concentrations en polluants comprises entre 2.5 et 25g/Kg) par des substances peu biodégradables et/ou pour des sols particulièrement difficiles à traiter comme ceux fortement argileux (**Koller, 2009**).

Le bioréacteur présente plusieurs avantages (**Costes et Druelle, 1997**) :

- Meilleur contrôle des paramètres de cultures (température, pH, nutriments) ;

- Oxygénation plus efficace ;
- Contact entre organismes et polluants plus intimes ;
- Transferts de matière et thermiques accrus.

On distingue les trois dispositifs suivants

- Traitement des matériaux solides : on réalise des opérations d'homogénéisation puis on mélange avec de l'eau pour former de la boue. Les réacteurs mélangent ensuite la boue avec les micro-organismes et de l'air pulsé généré au niveau bas des réacteurs, la boue est récupérée en sommet de cuve puis est traitée avant d'être rejetée. La boue passe enfin dans un séparateur : la terre est remise en place, l'eau est recyclée.
- Traitement de l'eau : le principe est le même que pour les solides. Les réacteurs sont remplacés par des colonnes dans lesquelles l'eau est mise en contact avec un matériau neutre qui sert de support aux micro-organismes fixés.
- Traitement des gaz : l'emploi d'un biofiltre est la solution la plus répandue, qui est efficace et peu onéreuse. Le filtre biologique est formé de compost, milieu idéal pour la croissance des bactéries. Le rendement du biofiltre est directement dépendant de la hauteur de compost filtrant, et aussi de la vitesse du flux gazeux injecté. Le maintien de bonnes conditions d'utilisation permet d'obtenir un taux de dégradation des polluants au-delà de 90%.

#### **I.4.5.2. Le compostage :**

On fait plusieurs tas de quelques mètres de circonférence et d'un mètre de hauteur. On mélange la terre extraite à un substrat organique qui favorisera l'aération au cours du temps. Le processus est thermogène et thermophile, comme pour un compost normal. Les températures élevées peuvent accélérer la dégradation et les processus du métabolisme, mais la diversité des organismes actifs à haute température peut être plus faible. Les rendements obtenus étant généralement très faibles, il vaut mieux réserver cette technique pour des contaminants aisément biodégradables (**Van Gestel *et al*, 2003 ; Godoy-Faúndez *et al*, 2008 ; Gobat *et al*, 2010**).

#### **I.4.5.3 Le landfarming :**

Cette technique consiste en l'épandage en faible épaisseur (de l'ordre de quelques dizaines de centimètres) de sols pollués par des produits organiques, souvent d'origine pétrolière, sur une surface préparée à l'avance, le terrain pouvant être ensuite cultivé. Le sol pollué est traité comme une surface agricole (on ajoute du fertilisant (nutriments)

et on mélange avec le sol). L'efficacité et la rapidité (un à deux ans) de la biodégradation varient notamment en fonction de l'aération du sol, de son humidité, de la biodisponibilité des nutriments, de la richesse microbienne et de la température. La mise en culture favorise le métabolisme des microorganismes.

Cet épandage se fait sur des zones soigneusement confinées pour protéger le sous-sol de tout risque d'infiltration, avec l'installation par exemple de films de polyéthylène haute densité, qui doit pouvoir supporter le passage d'engins de labour. Le labour des terres permet de contrôler la percolation des contaminants vers les couches plus profondes du sous-sol, tout en assurant la ré-oxygénation des terres, on profite de cette opération pour ajouter des éléments minéraux tels que des engrais (**Koller, 2009; Marin et al, 2005 ; Hejazi et al, 2003 ;Ballerini, 2000**).

#### **I.4.5.4 Traitement par les champignons :**

La biodégradation de polluants récalcitrants, comme les HAP de haut poids moléculaire et les huiles lourdes, crée toujours un obstacle à l'utilisation généralisée des biotechnologies d'assainissement. Cette situation est attribuable au fait que les bioprocédés utilisent principalement des bactéries. Or, la majorité des réactions de biodégradation effectuées par les bactéries sont réalisées par des enzymes spécifiques, ce qui implique le transport des polluants à l'intérieur des cellules.

Cette situation devient problématique lorsque le sol contient des polluants fortement adsorbés sur les particules de sol, ou lorsque ceux-ci ont un poids moléculaire élevé, puisque les bactéries ne possèdent pas les enzymes spécifiques requises pour le transport. En contrepartie, certains champignons microscopiques ont la capacité de produire des enzymes extracellulaires non spécifiques. Ces enzymes de la famille des monoxygénases peuvent transformer les HAP de haut poids moléculaire, facilitant ainsi le traitement des sols contaminés par des composés plus complexes (**Samson, 1994 ; Salicis et al, 1999 ; Burns et al, 2013**).

Récemment, des chercheurs ont constaté que les HAP ont des structures proches de celles des écorces de pin qui sont attaquées par des champignons filamenteux. Ces micro-organismes présentent aussi l'intérêt de travailler dans des pH plus acides que les bactéries et d'être moins exigeants en oxygène (**Lors et al, 2012 ; Burns et al, 2013**).

L'utilisation des champignons est très efficace sur les HAP (>60%) mais reste cependant encore très limitée. Sur un chantier en 1998, 10 000 tonnes de terre polluée ont été traitées pour une dépense estimée à 80 000 Euros : Les concentrations des

polluants de départ atteignaient 10000 ppm. Après traitement les concentrations résiduelles étaient de 10 ppm : un résultat exceptionnel pour un prix défiant toute concurrence! Il y a ainsi eu quelques réussites sur des pilotes mais la méthode n'est pas encore complètement au point. Une société américaine a enregistré l'année passée des premiers résultats positifs concernant les HAP, et l'on espère pouvoir traiter prochainement également les PCB.

Même s'il n'est pas encore parfaitement au point, le traitement par champignons est sans aucun doute une des grandes technologies de demain (<http://www.mine.pollution.sols.free.fr/Eipr/>).

#### **I.4.5.5 Bioventing :**

La technologie de traitement de sols par bioventilation consiste à injecter de l'air sous la nappe dans l'enclave contaminée, de façon à favoriser la biodégradation des contaminants organiques (hydrocarbures légers, essence, diesel) et à les entraîner dans l'effluent gazeux. En cas de phase flottante, celle-ci doit être récupérée avant de procéder aux travaux de bioventilation (**Magalhães et al, 2009 ; Garcia Frutos et al, 2010**).

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. 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. Les sols traités par bioventilation ne sont pas excavés et restent donc en place après les travaux de décontamination. Le contrôle de l'efficacité du traitement est effectué principalement par un bilan de masse (différence entre la quantité initiale de contaminant et la quantité extraite dans l'effluent gazeux). Des mesures de la contamination résiduelle dans les sols et les eaux souterraines sont aussi réalisées à intervalles réguliers (<http://www.enviroaccess.ca/fra/>).

#### **I.4.5.6 Biosparging (biobarbotage) :**

Cette technique, qui permet de traiter localement la zone saturée, consiste en l'injection d'air dans la zone aquifère, par des puits verticaux ou horizontaux, en dessous du niveau de la nappe d'eau (**Kao et al, 2008 ; Chien et al, 2008**).

L'enrichissement en oxygène de l'aquifère pollué peut être aussi réalisé par injection d'eau oxygénée, qui en se décomposant libère progressivement de l'oxygène.



Les solutions utilisées renferment généralement des teneurs limitées en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ne dépassant pas 1000ppm afin d'éviter toute action bio-acide potentielle.

D'autres accepteurs d'électrons tels que les nitrates ont déjà été introduits en zone saturée pour accélérer les processus biologiques de dégradation (**Vogel et Ballerini, 2001**).

#### **I.4.5.7 Phytoremédiation :**

Plusieurs processus naturels liés à la croissance des végétaux peuvent aider à nettoyer des composés organiques, des métaux et même des radioéléments qui contaminent des sites et des eaux. Les biotechnologies végétales qui en découlent sont englobées sous le nom générique de phytoremédiation. Elles sont un choix de plus en plus fréquent dans le monde lorsqu'il s'agit de rechercher des méthodes efficaces, peu coûteuses, générant peu de déchets et respectueuses de l'environnement pour assainir et restaurer des sites pollués (**Pulford et Watson, 2003 ; Zhang et al, 2010 ; Kim et al, 2011**).

Parmi les mécanismes d'action des végétaux contre la pollution, on distingue :

- a) **la phytoextraction** : Certaines plantes, dites hyper-accumulatrices, ont acquis une capacité naturelle à accumuler des composés potentiellement toxiques dans leurs tissus pendant leur croissance.
- b) **la phytostabilisation** : la rhizofiltration qui consiste à développer une biomasse végétale sur les eaux contaminées ou usées peut être beaucoup moins chère que les méthodes traditionnelles de filtration ou même d'autres biotechnologies utilisant des fermenteurs avec des micro-organismes.
- c) **la phytodégradation** : Il s'agit de contribuer à la dégradation de composés organiques (ex : hydrocarbures, pesticides) en composés plus simples par des cultures de plantes appropriées. La présence de ces plantes a deux actions possibles:
  - favoriser la présence et l'activité dépolluantes de micro-organismes associés à leurs racines
  - dégrader directement dans leurs cellules les composés polluants.

Il est possible de sélectionner les microorganismes associés dans ces biotechnologies végétales, afin de renforcer l'efficacité des traitements ou d'accélérer les processus. La plante apporte l'énergie via des composés organiques libérés par ses racines et sa biomasse, ou sert d'hôte aux microorganismes.

Les micro-organismes peuvent aider les végétaux à s'établir dans un milieu pauvre en nutriments. De nombreuses plantes sont capables d'utiliser et de détruire des

molécules organiques pendant leurs croissances : des organochlorés, d'autres pesticides, des molécules entrant dans la composition d'explosifs, des PCB (diphénylpolychlorés), des TCEs (trichloréthylène), des HAPs (hydrocarbures polyaromatiques) et d'autres résidus pétroliers.

d) **la phytovolatilisation** : Des plantes ont naturellement l'aptitude d'absorber des contaminants. Puis, lors du métabolisme, les contaminants ou leurs dérivés sont associés dans des composés volatils qui sont libérés dans l'atmosphère.

Pour les sites très pollués où les végétaux ne peuvent pas directement s'installer, l'apport d'amendements organiques et minéraux aide à changer la forme chimique des contaminants dans les sols et à diminuer la phytotoxicité. Il s'agit des techniques d'inactivation, pratiquées sur le site ou une zone de traitement. Des plantes peuvent ensuite être installées en complément. Il peut s'agir de plantes relativement tolérantes, n'accumulant pas les contaminants dans les parties susceptibles d'être consommées par des animaux, ou bien de plantes métalphytes.

#### **I.4.5.8 Biobarrières :**

Dans beaucoup de cas, l'atténuation naturelle n'est pas suffisante pour contrôler le nuage de pollution dans la zone saturée du sol et ne peut donc pas prévenir la migration des polluants vers les zones de captage d'eau potable. Pour remédier à cette situation, des barrières anti-migrations telles que des puits d'injection d'air, des puits remplis de composés aptes à relarguer très progressivement de l'oxygène (peroxyde de magnésium), des tranchées d'interception avec flux d'air ou d'autres accepteurs d'électrons, peuvent se révéler très utiles.

Les barrières peuvent encore être des tranchées remplies d'un support (granulés de tourbe) ou des plaques d'acier perforées sur lesquels des microorganismes adaptés aux polluants en place sont fixés. Ces barrières doivent être placées à une bonne distance de la source de pollution pour que la teneur en polluants soit compatible avec la capacité biologique des micro-organismes fixés (**Vogel et Ballerini, 2001**).

#### **I.4.5.9 Traitement en biopile :**

La biopile est une technique qui couple la biodégradation et la ventilation sur le sol excavé et peut combiner deux principes très différents (la biostimulation et la bioaugmentation). Pour certaines applications, la biostimulation des microorganismes indigènes est la méthode la plus efficace. Le processus est entretenu (croissance de la biomasse) par l'intermédiaire de la réaction d'oxydation contrôlée du carbone, utilisé

comme source d'énergie. Outre l'apport d'oxygène, le procédé de dégradation biologique requiert des macroéléments sous une forme biodisponible, c'est-à-dire directement assimilables par les microorganismes. Il s'agit d'une réaction en chaîne, où les composés sont transformés par cassures successives en molécules moins complexes, jusqu'à l'obtention de sous-produits simples tels que le CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O.

Pour satisfaire les contraintes techniques et/ ou législatives, le tas à traiter sera recouvert d'une membrane imperméable, et la gestion des entrées sorties des phases liquides et gazeuses devra être parfaitement maîtrisée. Pour améliorer le rendement (70 à 90%), on ajoute si possible des nutriments et des micro-organismes à la terre à traiter. Cette technique a permis d'ouvrir le marché biologique à de nouvelles pollutions plus difficiles. Toutefois, il reste pour l'instant plus cher que le traitement in-situ et il nécessite beaucoup de temps et de place.

Le matériau à traiter est installé sur une surface imperméable, légèrement en pente. Un tas de plusieurs mètres de haut est façonné et taluté, et peut s'étendre sur un périmètre de quelques mètres à quelques dizaines de mètres de large, et sur plusieurs dizaines, voire plusieurs centaines de mètres de long.

A la base du tas, un système de tuyauterie est installé dans une couche drainante (gravier); il permettra une aération efficace de l'ensemble du matériau, selon une répartition régulière. Au sommet du tas, un dispositif d'aspersion (de type agricole le plus souvent) est mis en place; il servira à humidifier le matériau et, éventuellement, à ajouter des nutriments et/ou des micro-organismes. Un réseau de rigoles ceinture le dispositif, afin de pouvoir récupérer les effluents sortant du tas et coulant sur une dalle imperméable. Enfin, l'ensemble est recouvert d'une membrane plastique, l'isolant de l'extérieur (**Lecomte, 1995 ; RECORD, 2007; Wu et al 2009; Koller, 2009**).

**a) Le fonctionnement du dispositif est le suivant :**

- La quantité de nutriments nécessaire peut être ajoutée à la terre à traiter avant la mise en tas (et éventuellement des micro-organismes). Dans le cas contraire, les nutriments en solution sont ajoutés par le système d'aspersion sommital.
- Percolant au travers du tas, les effluents liquides sont récupérés via le réseau de rigoles, envoyés dans une cuve et recyclés avant d'être injectés à nouveau. La concentration en nutriments est au besoin réajustée, et en cas de baisse de l'activité bactérienne, des ajouts de micro-organismes peuvent être effectués directement dans la cuve.

- Au démarrage de l'opération, une aspiration des gaz est réalisée par le système de drainage du fond. Dans un premier temps, cette aspiration permet de récupérer un maximum de composés polluants volatils. Ceux-ci sont traités dans un filtre (biologique ou charbon actif) avant que l'air extrait ne soit évacué dans l'atmosphère.
- Lorsque le dégazage des produits volatils diminue, l'aspiration des gaz peut être arrêtée et le dispositif de pompage des gaz inversé. Au lieu d'aspirer, on injecte au contraire de l'air frais par la base du tas, provoquant ainsi une augmentation significative de la vitesse de biodégradation. Pendant l'aspiration des volatils, le pompage maintient un débit du flux gazeux important. Par contre, pendant l'injection d'air frais, un débit faible est conservé au niveau du pompage.

Le dispositif est aménagé de façon à permettre d'une part l'échantillonnage de terre traitée, et d'autre part la mesure en continu d'un ensemble de paramètres déterminants pour le bon fonctionnement du système, tels le pH, la température, le taux d'humidité, la teneur en gaz polluants de l'air ambiant... les échantillons sont prélevés à intervalles réguliers et analysés. L'analyse portera sur les nutriments, les produits polluants à dégrader et éventuellement certains métabolites intermédiaires. La gestion de l'ensemble de ces résultats est effectuée par le poste central du contrôle (**Lecomte, 1995**).

### ***b) Limites d'application***

Les facteurs limitant l'applicabilité de la technologie sont:

- la perméabilité du sol (il est préférable que le sol ne contienne pas plus de 60 % de silt et d'argile);
- le caractère réfractaire de certains contaminants à la biodégradation (PCB et autres hydrocarbures chlorés) ;
- la présence de substances toxiques en concentration élevée dans le sol (cuivre, plomb, mercure...).

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

La technologie ne permet pas d'éliminer les contaminants inorganiques comme les métaux.

Cette technique permet aujourd'hui de traiter avec un excellent résultat les sols et nappes pollués par des produits organiques y compris les polychlorobiphényles (PCB) et

les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) à l'exception de pollutions particulièrement récalcitrantes (**Record, 2007 ; Yang et al 2009**).

## CHAPITRE II

### La biodégradation des hydrocarbures

#### II.1- INTRODUCTION

Les connaissances de la biodégradation des hydrocarbures pétroliers ont pris de l'avancée au cours de ces deux dernières décennies. Un certain nombre de souches dégradant les hydrocarbures ont été isolées et caractérisées à l'aide des techniques moléculaires avancées

En effet, au cours de la bioremédiation, la communauté microbienne joue un rôle important dans le cycle biogéochimique, d'où la nécessité d'analyser la structure de la communauté et ses variations afin d'améliorer la compréhension de l'écologie de la communauté microbienne et les mécanismes de biodégradation des hydrocarbures. Le défi à soulever est donc de caractériser le rôle des divers organismes métabolisant les différentes familles des hydrocarbures pétroliers présents dans les sols contaminés (**Singh et Ward, 2004 ; Kuhad et Gupta, 2009**).

Le devenir des produits pétroliers rejetés dans l'environnement est principalement gouverné par le processus de la biodégradation. L'existence de ce phénomène dépend de la biodégradabilité intrinsèque du polluant mais aussi de la présence de microflore dégradatrices compétentes dans les sols et les eaux souterraines. Les interactions physiques, métaboliques de la communauté microbienne contribuent à la nature dynamique de ce système et utilisent différentes méthodes pour accéder aux hydrocarbures. Une compréhension de ces interactions est nécessaire pour élaborer des stratégies efficaces de la bioremédiation des sols (**Solano-Serena et al, 2001 ; Van Hamme et Ward, 2001 ; Kuhad et Gupta, 2009**).

Dans ce chapitre, nous donnerons un aperçu sur les mécanismes et les différentes voies métaboliques de la biodégradation des hydrocarbures.

---

## II.2- MECANISMES D'ACCESSION AUX HYDROCARBURES

Depuis longtemps, on a attribué la faible dégradation de plusieurs contaminants à leur récalcitrance (résistance à l'attaque enzymatique). Mais, depuis le début des années 90, c'est plutôt leur très basse hydro-solubilité qui expliquerait leur catabolisme difficile et limité (Comeau, 1999). Selon Scott et Finnerty (1976a, b) le mécanisme d'accession impliqué dans le transport des hydrocarbures à travers la paroi est mal compris bien que des gouttelettes d'hydrocarbures soient fréquemment observées dans la cellule (Morgan et Watkinson, 1994). Ainsi, du fait de la faible solubilité de la plupart des hydrocarbures, le mécanisme d'accession par les microorganismes peut se faire par quatre modes:

### II.2.1-Utilisation de la phase dissoute (le transfert par solubilisation dans la phase aqueuse) :

Ce modèle est celui généralement accepté pour la plupart des substrats. Une fois le substrat dissout assimilé, la bactérie ne peut utiliser que les molécules se solubilisant dans l'eau. Par exemple, il a été démontré que la solubilité et la vitesse de dissolution du naphthalène limitent la croissance d'une souche *Alcaligenes* NP-ALK (Comeau, 1999) ; Au début, la faible densité cellulaire de la culture initiale permet une croissance exponentielle puisque la concentration de naphthalène dissous suffit aux besoins métaboliques. Lorsque la densité cellulaire augmente jusqu'à ce que les exigences nutritionnelles surpassent la vitesse de dissolution, la biodisponibilité devient alors limitante et la croissance linéaire dépend, alors de la vitesse de dissolution du naphthalène (Comeau, 1999).

### II.2.2-Le transfert interfacial direct (TID) :

Dans ce cas, le microorganisme ne produit pas de biosurfactant, mais adhère du fait de sa forte hydrophobicité à l'interface phase hydrophobe/phase aqueuse (Ballerini et Vandecasteele, 1999).

Ainsi selon Finnerty et Singer (1985) divers microorganismes dégradant des hydrocarbures ont des surfaces hydrophobes et peuvent donc s'associer aux gouttelettes d'hydrocarbures ou même entrer dans la phase organique pendant la culture. Singer et Finnerty (1984a) et Rateldge (1978) ont largement démontré que les grands changements dans la composition des lipides de la membrane cellulaire

peuvent se produire pendant la croissance sur des alcanes et peuvent dans certains cas augmenter l'association cellulaire avec la phase d'hydrocarbure.

**Kappeli et Finnerty (1979)** ont décrit un système de transport actif utilisé par *Acinetobacter*HO1-N cultivé sur le *n*-hexadécane, les gouttelettes d'hydrocarbures sont encapsulées dans des microvésicules de membrane qui pénètrent par ce biais dans la cellule.

On a également observé des structures intracellulaires, exemples décrits par **Watkinson (1980)** qui fait cas de vésicule et de tubules intracellulaires dans le cas de *Nocardia* sp. **Cooney et al (1980)**; **Sumcker et Cooney (1981)** ont rapporté l'accumulation des gouttelettes d'hydrocarbures dans les hyphes des *Cladosporium resinae* pendant la croissance sur des *n*-alcanes mais les mécanismes impliqués dans la pénétration n'ont pas été élucidés. Par la suite, **Lindley et Heydeman (1986, 1988)** ont constaté que pour le cas de *Cladosporium resinae* le processus se déroule en deux étapes, l'hydrocarbure est dans un premier temps passivement adsorbé sur la surface de la cellule ensuite dans un second temps est transporté dans la cellule par un processus qui obéit à la cinétique de Michaelis Menten (**Morgan et Watkinson, 1994**).

### II.2.3- Le transfert interfacial assisté par biosurfactants (TIA) :

Des biosurfactants sont produits par la bactérie, ils ne sont pas indispensables au transfert qui s'effectue par adhésion comme dans le cas précédent mais ils l'accélèrent de façon importante en augmentant l'aire interfaciale entre les phases hydrophobe et hydrophile (émulsification) (**Ballerini et Vandecasteele, 1999**).

La formation d'une émulsion est souvent observée lors de la croissance de microorganismes sur des hydrocarbures aliphatiques (huiles), dans ce cas la production de bio-émulsifiant permet un accroissement du ratio surface/volume. Ceci augmente la surface disponible pour l'attachement direct des microorganismes au substrat (**Comeau, 1999**).

L'émulsane est le bio-émulsifiant le plus connu, sécrété par la souche *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1 (**Foght et al, 1989** ; **Hommel, 1994** ; **Vaneechoutte et al, 1999**), il existe aussi l'alsane sécrété par *Acinetobacter radioresistens* KA53. **Barkay et al (1999)** ont démontré que le complexe alsane augmente considérablement la solubilité des hydrocarbures polyaromatiques dans la phase aqueuse (**Toren et al, 2002**).



En plus des bactéries, certaines levures sont capables de produire des bio-émulsifiants telle que *Candida lipolytica* (le liposan), *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichosporon loubieri* CLV20, *Geotrichum* sp. CLOA40, et *Trichosporon montevidense* CLOA70 etc... (Hommel, 1994 ; Barriga *et al*, 1999 ; Monteiro *et al*, 2010).

Iwabuchi *et al* (2000) ont constaté l'existence d'une relation étroite entre la morphologie des colonies de *Rhodococcus rhodochrous* et leur capacité à tolérer le pétrole. Ainsi, les souches issues des colonies de morphotype rugueux sont sensibles au n-hexadécane à la fraction aromatique du pétrole brut par rapport aux souches issues des colonies mucoïdales lisses. Ceci est particulièrement dû à la production d'un polysaccharide extracellulaire « S-2 EPS » qui rend les cellules lisses résistantes. Iwabuchi *et al* (2002) ont constaté que l'utilisation de ce polysaccharide extracellulaire « S-2 EPS » stimule la dégradation de la fraction aromatique du pétrole brut « Arabian light », par les bactéries autochtones des eaux marines et proposent de l'utiliser dans la bioremédiation des environnements marins contaminés par le pétrole.

#### II.2.4- Le transfert micellaire (la pseudo-solubilisation) :

Certains microorganismes peuvent produire des biosurfactants qui solubiliseraient le substrat dans des micelles et que ces derniers seraient directement assimilés (Comeau, 1999).

Koch *et al*(1991) ont obtenu un mutant Tn5 d'une souche de *Pseudomonas aeruginosa* dégradant des hydrocarbures qui ne pourrait pas se développer sur le n-hexadécane. Ils ont constaté que la mutation avait eu comme conséquence, une perte de production du biosurfactant, entraînant ainsi l'arrêt de la pénétration des hydrocarbures dans la cellule.

Goswami *et Singh* (1991) ont remarqué qu'un processus de pseudo-solubilisation (formation de micro-émulsions) est impliqué dans la prise du n-hexadécane. Ils ont étudié deux souches de *Pseudomonas* capables de croître sur cet hydrocarbure. Une de ces deux souches s'est développée beaucoup plus rapidement que l'autre, avec un taux de croissance relativement élevée. Ceci est dû à la production simultanément d'un émulsifiant «une lipoprotéine» et un facteur de pseudo-solubilisation «une glycoprotéine» (synergie).

Il existe plusieurs microorganismes capables de produire des biosurfactants, par exemple : *Ustilago maydis* PRL-617, *Rhodococcus aurantiacus*, *Rhodococcus erythropolis*, *Mycobacterium paraffinicum*, *Corynebacterium* spp, *Arthrobacter* sp, *Flavobacterium* sp,

*Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Brevibacterium aureum* MSA13 etc... (Hommel, 1994 ; Bodour *et al*, 2003 ; Xia *et al*, 2011 ; Youssef *et al*, 2012 ; Freitas de Oliveira *et al*, 2013).

Les exemples les plus importants de tels microorganismes sont les espèces de *Pseudomonas* produisant les rhamnolipides et les espèces de *Torulopsis* produisant les sophorolipides. Les biosurfactants de ces espèces sont extrêmement efficaces et engendrent des tensions superficielles minimales pour des concentrations inférieures que celles requises pour les agents tensioactifs synthétiques. Il convient de noter que les rhamnolipides sont activement synthétisés au cours de la phase stationnaire de *Pseudomonas aeruginosa*. Par conséquent, elles sont également produites pendant la première étape du processus de la bioremédiation et contribuent donc à la mobilisation et solubilisation des contaminants pendant les étapes de minéralisation (Chayabutra *et al*, 2000 ; Yin *et al*, 2009).

Dans le cas des champignons, le mécanisme d'accession aux hydrocarbures demeure mal compris. Kirk *et Gordon* (1988) ont mis en évidence que quelques souches des champignons marins dégradant les alcanes, ont produit des biosurfactants pour émulsionner leurs substrats et que les microgouttelettes résultantes ont été alors entourées et pénétrées par des hyphes. Cependant, selon Morgan *et Watkinson*, 1994, le mode du transport d'hydrocarbures dans la cellule n'a pas été déterminé.

Kiran *et al* (2009) avaient isolé à partir d'une éponge marine un *Aspergillus ustus* (MSF3) capable de produire des biosurfactants et de dégrader une panoplie d'hydrocarbures et ce à l'inverse des surfactants synthétiques. Il est à noter que dernièrement Konishi *et al* (2010) *et Rufino et al* (2011) ont pu isoler des levures telles que *Pseudozyma hubeiensis* SY62 et *Candida lipolytica* UCP 0988 possédant la capacité de produire des biosurfactants.

## II.3-LES VOIES METABOLIQUES DE LA BIODEGRADATION

### II.3.1. Dégradation des hydrocarbures saturés.

#### II.3.1.1.Micro-organismes :

La biodégradation des hydrocarbures saturés est essentiellement un processus aérobie réalisé par des bactéries. Les capacités des microorganismes eucaryotes plus restreintes seront mentionnées pour les classes d'hydrocarbures concernées. La dégradation des *n*-alcanes a été étudiée en détail. Une spécialisation nette des microorganismes selon les longueurs de chaîne des alcanes en est une première caractéristique importante.

Des bactéries méthylothropes sont seules capables (hormis quelques levures) de dégrader le méthane. Elles sont répandues en reflétant la distribution du méthane dans l'environnement et elles appartiennent à cinq genres de bactéries gram-négatifs (*Methylobacter*, *Methylococcus*, *Methylomonas*, *Methylocystis*, *Methylosinus*).

Les alcanes courts (C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>) sont dégradés par des bactéries appartenant aux genres *Mycobacterium* et *Nocardia* et par certains champignons (*Graphium* sp.). Les alcanes à chaîne moyenne (C<sub>5</sub>-C<sub>10</sub>) sont utilisés notamment par des bactéries du genre *Pseudomonas* (*P. aeruginosa* et *P. putida*, *P. oleovorans*) et ont été les plus particulièrement étudiés.

Les alcanes à chaîne longue (C<sub>10</sub>-C<sub>20</sub>) sont très bien dégradés par les microorganismes, plus rapidement que les alcanes moyens. Ces bactéries appartiennent en particulier au groupe *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Nocardia* (CMN), notamment au genre *Rhodococcus* (c'est le cas de la souche *Rhodococcus* Q15 capable de dégrader une large gamme des alcanes (C<sub>10</sub> à C<sub>21</sub>) à de basses températures allant de 0° à 30°C et de la souche *Rhodococcus erythropolis* NTU-1 qui peut se développer à des concentrations relativement élevées en n-alcane mais aussi à des genres gram-négatifs (*Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Alcanivorax* et *Burkholderia cepacia*).

Elles sont ubiquistes dans l'environnement comme le sont leurs substrats d'origine naturelle produits par les végétaux. Les n-alcanes à longue chaîne sont également d'excellents substrats pour plusieurs genres de levures (*Candida*, *Pichia*, *Yarrowia*, *Torulopsis*) et de champignons (*Phanerochaete chrysosporium*). Les alcanes à très longue chaîne (>C<sub>20</sub>) sont également dégradés par les microorganismes comme *Exiguobacterium aurantiacum* mais il existe très peu d'études sur l'utilisation de ces substrats solides à température ambiante (**Whyte et al, 1998 ; Ballerini et Vandecasteele, 1999 ; Kloos et al, 2006 ; Mohanty et Mukherji, 2008, Liu et al, 2012 ; Adetutu et al, 2012**).

Une étude publiée par **Churchill et al (1999)** a révélé que la souche CH1 de l'espèce de *Mycobacterium* isolée dans les dépôts d'Alaska est capable d'utiliser à l'état liquide les n-alcanes linéaires (dodécane et décahécane) et les n-alcanes à chaînes branchées (pristane), ainsi qu'à l'état solide des n-alcanes à longues chaînes (octadécane, docosane, octacosane) comme source unique de carbone et d'énergie pour la croissance.

**Yu et al (2000)** ont également isolé deux souches de *Mycobacterium* à partir des sols arctiques de la Toundra canadienne, il s'agit de la souche DhA-55 capable de se

développer sur le dodécane et le pristane, et la souche IpA-13 capable de se développer sur l'octane et le pristane.

Des études récentes ont montré la possibilité de la dégradation *des n*-alcanes par des microorganismes photosynthétiques en particulier les cyanobactéries *Microcoleus chthonoplastes*, *Phormidium corium*, *Aphanothece halophyletica*, *Dactylococcopsis salina* et les souches *Halothece* EPUS, *Oscillatoria* OSC et *Synechocystis* UNIGA mais aussi les algues vertes *Spirogyra mirabilis*, *Ulothrix subtilissima*, *Mougeatia scalaris*, *Pediastrum clathratum*, *S. quadricauda*, *Tetraedron minimum* et *Ankistrodesmus acicularis*. Il a été également démontré par **Abed et al, 2002**; **Abed et Koster, 2005**; **Subashchandrabose et al, 2013** que les *n*-alcanes ont été oxydés en acides gras et ensuite incorporés aux lipides des cellules.

Plusieurs autres études ont mentionné l'avantage de l'association des bactéries photosynthétiques de type cyanobactéries ou les algues et les bactéries hétérotrophes au cours de la biodégradation des *n*-alcanes. Les cyanobactéries et les algues fournissent l'oxygène nécessaire pour les bactéries hétérotrophes. Ces derniers, à leur tour vont émettre le dioxyde de carbone nécessaire à la croissance des phototrophes (**Abed et Koster, 2005**; **Abed, 2010**; **Subashchandrabose et al, 2011**)

### II.3.1.2. Mécanismes d'attaque «Les oxygénases» :

Selon le schéma standard, le catabolisme des *n*-alcanes commence par l'hydroxylation du carbone situé à une extrémité de la chaîne (oxydation terminale) qui correspond au bilan réactionnel d'une monooxygénase (**Truffaut et al, 2001**; **Morgan et Watkinson, 1994**):



Le système enzymatique impliqué est bien connu chez la souche *Pseudomonas oleovorans* qui sert de référence pour la dégradation des alcanes. Il comprend trois composantes : une hydroxylase membranaire (gène *alkB*) qui catalyse l'oxydation de la molécule, ainsi qu'une rubridoxine-Fe<sup>2+</sup> couplée à une rubrédoxine réductase qui assurent le transport d'électrons. Tous les gènes codants de ces enzymes ont été entièrement séquencés. Contrairement à l'alcane hydroxylase de *Pseudomonas oleovorans* qui est une mono-oxygénase, une dioxygénase conduisant à un hydroperoxyde a été identifiée chez une espèce d'*Acinetobacter*. Plusieurs séquences nucléotidiques similaires au gène *alkB* ont par ailleurs été obtenues récemment chez

diverses espèces de microorganismes, y compris à Gram positif. Ces travaux révèlent la diversité relativement importante de ces gènes, dont certains présentent peu de similarité avec le gène initialement connu chez *Pseudomonas oleovorans*. (**Truffaut et al, 2001**).

Les travaux menés par **Margesin et al (2003)** concernant la caractérisation de la population microbienne dégradant les hydrocarbures dans les sols alpestres contaminés indiquent la prédominance de sept génotypes responsables de la dégradation des hydrocarbures, parmi eux quatre impliqués dans la dégradation des *n*-alcanes (*Pseudomonas putida* Gpo1 *alkB* ; *Acinetobacter* spp. *AlkM* ; *Rhodococcus* spp. *alkB1* et *Rhodococcus* spp *alkB2*).

**Tanase et al, (2012)** ont isolé et identifié des souches capables d'utiliser les *n*-alcanes à chaîne longue comme seule source d'énergie et de carbone. Il s'agit de *Rhodococcus erythropolis*, *Acinetobacter baumannii*, *Burkholderia cepacia* et *Achromobacter xylosoxidans*). Le gène *alkB* codant pour l'alcane mono-oxygénase a été détecté dans ces souches. Le même gène a été détecté dans neuf genres : *Acetobacter*, *Alcanivorax*, *Acidisphaera*, *Burkholderia*, *Geobacillus*, *Marinobacter*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus* et *Xanthobacter*. Ces gènes sont considérés comme des biomarqueurs pour la détection des bactéries dégradant les alcanes (**Li et al, 2013**).

Le système d'hydroxylation des eucaryotes, a été étudié notamment chez la levure *Candida tropicalis*. L'hydroxylase est un cytochrome P-450 qui reçoit les électrons du NADPH par l'intermédiaire d'une réductase flavoprotéique. Les hydroxylases du type cytochrome P-450 sont caractéristiques des organismes eucaryotes mais ont été observées chez quelques systèmes bactériens tels que l'octane hydroxylase de *Cornybacterium* 7E1C (**Ballerini et Vandecasteele, 1999**) et le cytochrome P-450 de la souche *Burkholderia cepacia* (GS3C). Le cytochrome P450 (mono-oxygénase) joue un rôle important dans la dégradation des *n*-alcanes ; elle est particulièrement nécessaire pour introduire de l'oxygène dans le *n*-alcane (**Wu et al, 2011**).

### II.3.1.3. Voies de dégradation :

La figure II.1 présente une synthèse des voies métaboliques impliquées dans la dégradation des alcanes linéaires et branchés. La séquence de base après l'hydroxylation terminale de l'alcane consiste en une suite de déshydrogénation, impliquant souvent des enzymes NAD (P) dépendantes, en aldéhyde et acide. Le dérivé acyl coenzyme A (acylCoA) est ensuite métabolisé par le système classique de la  $\beta$ -oxydation soit

directement ou, dans certains cas, après avoir subi à nouveau la séquence d'oxydation terminale à l'autre bout de la chaîne ( $\omega$ -oxydation).

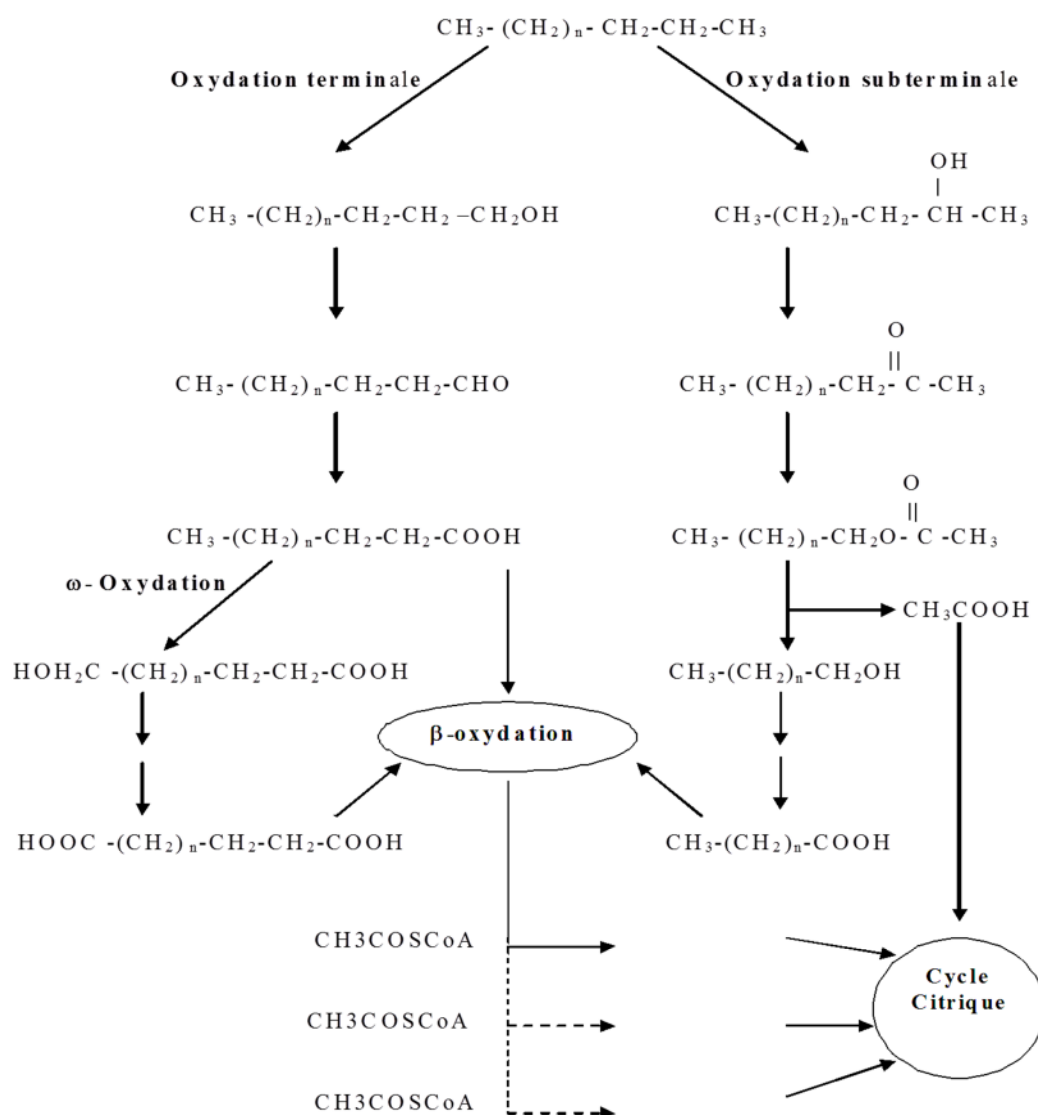
L'oxydation subterminale peut également avoir lieu, l'hydroxylation initiale se faisant alors sur l'avant-dernier carbone ou même plus loin dans la chaîne (**Watkinson et Morgan, 1990**). L'ensemble de ces voies a été démontré lors de la dégradation des *n*-alcanes mais il est possible que l' $\omega$ -oxydation et l'oxydation subterminale concernent plus les alcanes branchés. Certaines souches de *Rhodococcus* possèdent les deux voies métaboliques pour la dégradation des alcanes de C<sub>2</sub> à C<sub>8</sub>; il s'agit de *Rhodococcus rhodochrous* PNKb1. La souche BPM 1613 d'espèce *Rhodococcus sp* quant à elle catabolise le pristane par l'oxydation terminale, suivi de l' $\omega$  oxydation. D'autre part, *Rhodococcus erythropolis atcc 4277* apparaît pour dégrader les alcanes (C<sub>5</sub> à C<sub>16</sub>) seulement par la subterminale (**Ballerini et Vandecasteele, 1999 ; Whyte et al, 1998**).

Les résultats obtenus par **Koike et al, (1999)** suggèrent qu'une nouvelle voie oxydante impliquant l'étape de la cis-désaturation puisse être incriminée dans la dégradation des alcanes par *Rhodococcus*. Comme étape initiale dans l'utilisation des alcanes, un coenzyme A cis-désaturation interne indépendante peut être impliqué, où un métabolite insaturé produit serait alors scindé au niveau de la double liaison en deux chaînes plus courtes d'acide gras dicarboxylique qui par la suite seront oxydées par la  $\beta$ -oxydation. Cette voie postulée est bien différente de l'oxydation subterminale.

En ce qui concerne les alcènes, le cas des doubles liaisons terminales a été étudié. Ces alcènes sont biodégradables et leur métabolisme rejoint celui des alcanes. Plusieurs modes d'attaques ont été mis en évidence mais l'oxydation du groupement méthyl terminal est considérée comme le mécanisme majeur. Les cyclo-alcanes constituent une autre classe d'hydrocarbures. Les structures alicycliques sont fréquentes dans les composés naturels ( $\alpha$ -pinène, camphre) et la dégradation de ces composés a été bien initiée (**Trudgill, 1990**).

En ce qui concerne les hydrocarbures pétroliers, les voies de dégradation examinées dans le cas du cyclohexane et de ses dérivés conduisent aux conclusions résumées ci-dessous:

La dégradation du cyclohexane nécessite une première étape d'hydroxylation du noyau qui permet la dégradation selon le schéma présenté dans la figure II.2. Plusieurs auteurs s'accordent pour constater que l'on n'isole pas de souches pures utilisant le cyclohexane comme seule source de carbone et d'énergie mais des cultures mixtes. Certaines impliquent des relations de cométabolisme ou de mutualisme.



**Figure II.1:** Schéma général des voies métaboliques de dégradation des n-alcanes et des isoalcanes (Ballerini et Vandecasteele, 1999).

Des souches cultivables sur cyclohexanol ou cyclohexanone sont en revanche facilement isolées. Le point remarquable dans la voie de la dégradation suivie est l'étape d'oxygénation du cycle pour former l' $\omega$ -caprolactone.

D'autres voies de dégradation des composés alicycliques ont été démontrées, dépendantes de la nature des substituants du cycle. Un cas important est celui des alkylcycloalcanes. Les n-alkylcycloalcanes à nombre impair de carbone dans la chaîne latérale sont facilement dégradés, après l'hydroxylation terminale initiale de la chaîne, par la  $\beta$ -oxydation qui englobe la dégradation du cycle.



Dans le cas des chaînes à nombre pair de carbone, la  $\beta$ -oxydation est bloquée au niveau du cycle. Seules des bactéries spécialisées, plus rares peuvent à ce niveau libérer la cyclohexanone qui peut alors être dégradée comme préalablement mentionné (**Ballerini et Vandecasteele, 1999**).

#### II.3.1.4 Croissance :

Les cinétiques de croissance sur *n*-alcanes à longue chaîne ont été étudiées en détail mais ces cinétiques sont complexes du fait du mode de transfert. Une valeur caractéristique est celle du taux de croissance ( $\mu$ ) observé en culture continue qui est de  $0.25\text{h}^{-1}$  pour la levure *Candida tropicalis* utilisée pour la production de protéines unicellulaires. La croissance sur *n*-alcanes est très énergétique, elle impose des transferts d'oxygène et de chaleur importants et permet des rendements massiques de production (**Ballerini et Vandecasteele, 1999**).

#### II.3.1.5. Métabolisme anaérobie :

Les capacités des micro-organismes pour dégrader des hydrocarbures dans des conditions strictement anaérobies sont très limitées. Elles sont pratiquement absentes pour des composés aliphatiques, mais cela n'empêche pas qu'il existe des exceptions extrêmement rares (**Chayabutra et Ju, 2000**). C'est le cas d'une étude réalisée par **Holiger et Zehnder (1996)** qui ont établi une description crédible de la dégradation et de la minéralisation de l'hexadécane et du dodécane par une bactérie sulfato-réductrice, dont le bilan global correspond à l'équation suivante :



Ce phénomène lent apparaît actuellement comme assez inhabituel (**Ballerini et Vandecasteele, 1999**).

Récemment, plusieurs études ont démontré la biodégradation anaérobie des alcanes en présence des nitrates, sulfates, fer ferrique comme accepteur final d'électrons ou dans des conditions méthanogènes (**So et Young, 2001 ; Johnes et al, 2008 ; Callaghan et al, 2009 ; Sherry et al, 2012 ; Hasinger et al, 2012**). Les résultats obtenus par **Hasinger et al (2012)** ont montré que la biodégradation des alcanes à longues chaînes (*n*-C<sub>32</sub> à *n*-C<sub>39</sub>) est prononcée en présence des sulfates et l'observation des fractions croissantes en pristane (*n*-C<sub>17</sub>) et phytane (*n*-C<sub>18</sub>) fournit la première



preuve de la dégradation préférentielle des alcanes ramifiés par rapport aux alcanes non ramifiés en présence des sulfates.

Deux voies biochimiques ont été proposées pour l'activation initiale des alcanes: l'addition du fumarate et la carboxylation. Les microorganismes impliqués dans la biodégradation anaérobie des n-alcanes sont: *Pseudomonas chloritidismutans*, *Pelotomaculum* spp, *Desulfotomaculum*, *Desulfobulbus*, *Desulfovibrio*, *Smithella*, *Chloroflexi*, *Bacteroidetes* et *Actinobacteria* (Mbadinga et al, 2011).

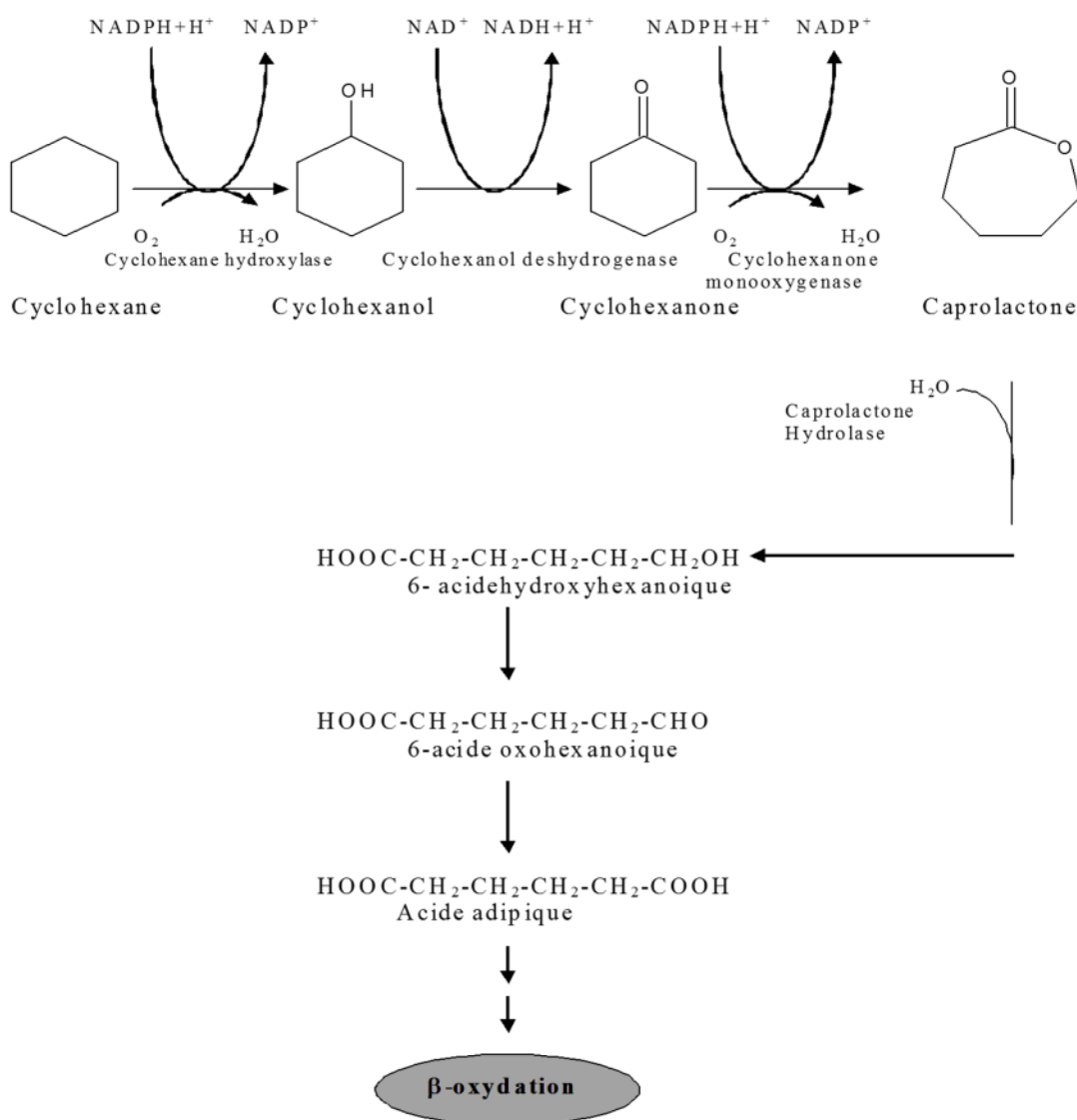


Figure II.2: Voie métabolique de la dégradation du cyclohexane (Atlas et Bartha, 1993 ; Morgan et Watkinson, 1994).

### II.3.2. Dégradation des hydrocarbures aromatiques :

En aérobiose, la plupart des voies cataboliques hydrocarbures aromatiques convergent vers des intermédiaires hydroxylés tels que les catéchols ou leurs dérivés (protocatéchuate, gentisate). Les enzymes qui catalysent ces transformations sont des mono-oxygénases et des dioxygénases. D'autres dioxygénases agissent ensuite pour réaliser l'ouverture du cycle aromatique de ces intermédiaires selon un clivage en position ortho ou méta. Ainsi, les enzymes dioxygénases impliquées dans le catabolisme des hydrocarbures aromatiques par des microorganismes de sol illustrent bien la nature et la capacité de s'adapter à différentes sources de carbone (**Mesarch et al, 2000; Truffaut et al, 2001; Sakamoto et al, 2001 ; Bugg, 2010; Zhang et al, 2013**).

#### II.3.2.1. Dégradation des hydrocarbures mono-aromatiques :

##### II.3.2.1.1. Dégradation aérobie des hydrocarbures mono-aromatiques :

###### II.3.2.1.1.1. Micro-organismes :

La dégradation des hydrocarbures monoaromatiques est essentiellement le fait de bactéries gram-négatives, surtout les espèces de *Pseudomonas* (*Pseudomonas putida*01G3, *Pseudomonas putida* PaW1, *Pseudomonas pseudoalcaligenes* KF707, *Pseudomonas putida* F1, *Pseudomonas mendocina* KR1, *Pseudomonas fluorescens*, *Burkholderia cepacia* G4, *Ralstonia pickettii* PKO1) et gram-positives du groupe CMN (en particulier la nouvelle souche de *Mycobacterium cosmeticum* byf-4 qui est capable de dégrader simultanément le benzène, le toluène, l'éthylbenzène et l'*o*-xylène (BTE(*o*-)X) (**Hanson et al, 1999; Ballerini et Vandecasteele, 1999; Parales et al, 2000; Chablain et al, 2001; Suenaga et al, 2001 ; Shim et al, 2002 ; Morlett-Chávez et al, 2010 ; Mazzeo et al, 2010 ; Xin et al, 2012 ; Zhang et al, 2013**).

Quelques cas de dégradation fongique ont été rapportés, c'est le cas du deutromycète *Cladophialophora* sp (=ATCC MYA-2335) isolée à partir d'un sol contaminé par le BTEX, de *Paecilomyces variotii* CBS115145 capable de minéraliser complètement le toluène et de *Trametes versicolor* et *Exophiala* sp (**Prenafeta-Boldu et al, 2003 ; Garcia-Pena et al, 2008 ; Aranda et al, 2010 ; Rene et al, 2012**).

###### II.3.2.1.1.2. Voies de dégradation :

Le mode d'attaque dépend des groupements alkyles substituants mais pour un même composé il dépend également de la souche bactérienne. Cinq voies distinctes ont été décrites pour la dégradation aérobie du toluène. Toutes les voies sont amorcées

avec l'oxydation du toluène mais cinq produits d'oxydation différents sont formés (Figure III.3).

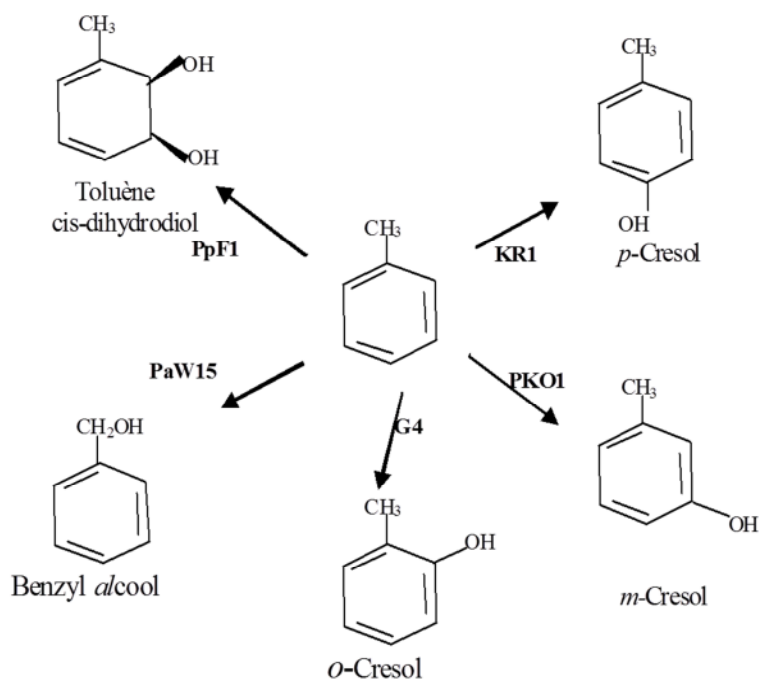
Le mode d'attaque très utilisé par la dioxygénase sur le noyau aromatique est la voie de dihydrodiol. La figure II.4 illustre cette voie en présence de la molécule du toluène. Le toluène est d'abord oxydé en toluène cis- dihydrodiol par addition de l'O<sub>2</sub> au noyau aromatique. Cette première réaction est effectuée par un système enzymatique désigné par le « toluène dioxygénase ».

Ce système enzymatique a été déterminé chez *Pseudomonas putida* F1 qui présente des analogies avec le système bactérien d'hydroxylation des alcanes déjà décrits. Il comprend trois composantes: réductase<sub>TOL</sub> (todA), ferridoxine<sub>TOL</sub> (todB), et les deux sous unité de la terminal dioxygénase « ISP<sub>TOL</sub> » (todC1C2).

Le toluène dioxygénase a pour fonction de transférer des électrons du NADH au ISP<sub>TOL</sub>. Une règle générale est que les voies suivies aboutissent toujours à la formation des composés du cycle citrique et la présence nécessaire des deux groupements hydroxyles sur le cycle aromatique pour l'ouverture du cycle. Leur disposition doit être en *ortho* (cas du catéchol) ou en *para* (l'acide gentisique) (Zylstra et Gibson, 1989; Ballerini et Vandecasteele, 1999; Parales et al, 2000 ; Shindo et al, 2005).

Les voies de dégradations des BTEX sont les mieux connues (voies Xyl, Tod, Tom/Ttb2m, Tbu, Tmo) ainsi que leurs gènes (toluène dioxygénase « tod », toluène monooxygénase « xyl », xylène monooxygénase « tol », anneau hydroxylation toluène monooxygénase « tbu, tmo »). Ils ont été tous identifiés et bien caractérisés, notamment ceux de la voie Xyl, impliqués dans la dégradation du toluène et des *meta*- et *para* xylènes.

Les gènes *xyl* sont souvent portés par des plasmides dits « plasmides TOL » chez des souches des genres *Pseudomonas* ou *Alcaligenes*. Ils ont été analysés et séquencés dans le cas du plasmide TOL présent chez la souche *Pseudomonas putida* mt-2 et la souche *Pseudomonas putida* MT53 (Truffaut et al, 2001; Baldwin et al, 2003 ; Yano et al, 2007 ; Zhang et al, 2013).



**PpF1** (*Pseudomonas putida* F1), **PaW15** (*Pseudomonas putida* PaW1), **G4** (*Burkholderia cepacia* G4), **PKO1** (*Ralstonia picketti* PKO1), **KR1** (*Pseudomonas mendocina* KR1).

Figure II.3 : Les différents produits issus de l'oxydation du toluène (Parales et al, 2000)

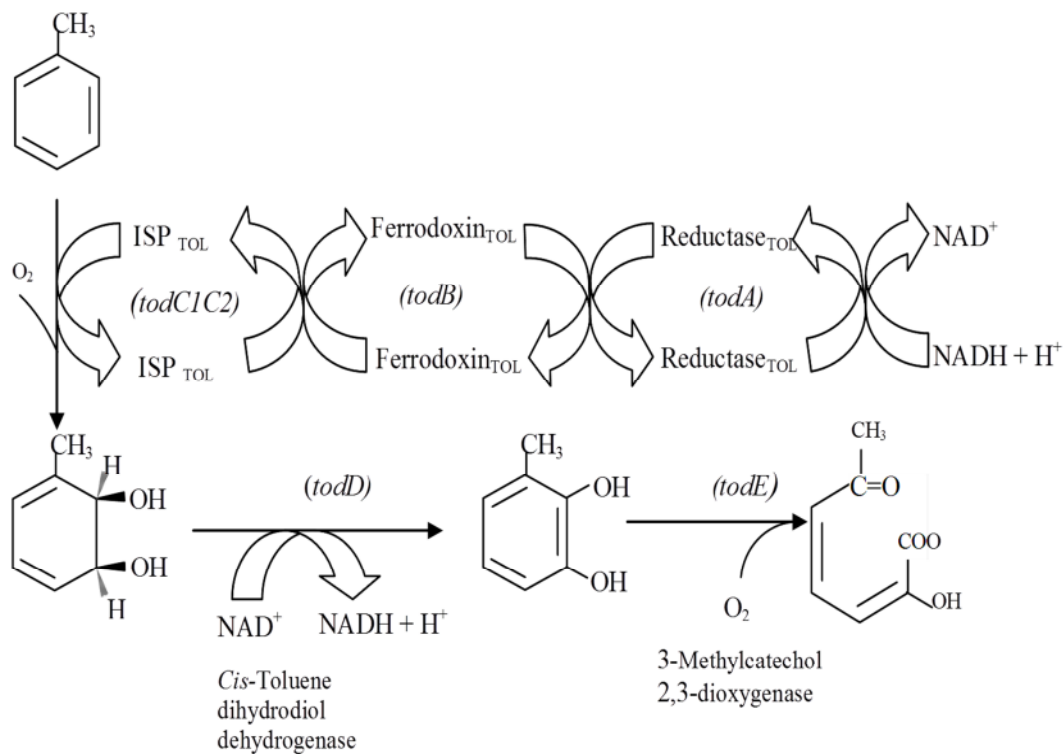


Figure II.4 : La voie de l'oxydation du toluène (Zylstra et Gibson, 1989; Sakamoto et al, 2001).

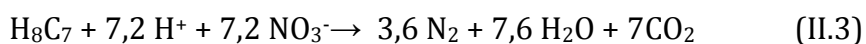
**II.3.2.1.1.3. Croissance :**

Les BTEX constituent d'excellents substrats de croissance, très rapidement minéralisés par les bactéries, même si l'*o*-xylène est dégradé plus lentement que les autres et exceptionnellement par des souches pures. Les autres composés mono-aromatiques de l'essence plus substitués sont également dégradés. Cependant le problème de la toxicité des composés est posé.

Les doses toxiques variables selon les bactéries (dont certaines sont particulièrement résistantes) sont d'autant plus facilement atteintes que la solubilité de ces hydrocarbures est significative, d'où l'utilisation dans certains cas de techniques de limitation en substrat. Les microflores sous forme de biofilms, utilisées dans les procédés d'épuration en biofiltre, sont peu sensibles à ces effets d'inhibitions comparées aux bactéries libres (**Ballerini et Vandecasteele, 1999**).

**II.3.2.1.2. Dégradation anaérobie des hydrocarbures mono-aromatiques :**

Récemment plusieurs travaux ont été publiés concernant la biodégradation anaérobie des BTEX. C'est surtout dans les conditions dénitrifiantes que la dégradation des BTEX a été constatée dans l'ordre toluène, *p*- et *m*-xylène, éthylbenzène et *o*-xylène (le cas du benzène sera évoqué plus loin). Le bilan correspond à une minéralisation de l'hydrocarbure :



Les nitrates apparaissent comme l'accepteur final d'électron le plus efficace que les sulfates et le fer mais, en plus des sulfates et du fer, d'autres accepteurs d'électrons fonctionnant à des potentiels plus bas peuvent également dégrader certains hydrocarbures mono-aromatiques. C'est le cas pour les bactéries sulfato-réductrices, des bactéries utilisant  $\text{Fe}^{3+}$  et enfin des consortiums dans les conditions méthanogènes. La réaction conduit à une minéralisation du toluène (production de  $\text{CO}_2$  et de  $\text{CH}_4$ ).

Concernant le benzène des résultats positifs et d'autres négatifs, ont été rapportés avec divers accepteurs d'électrons. Il apparaît que le benzène est dégradé dans certains milieux possédant les microflores adéquates mettant en œuvre la réduction des sulfates ou de  $\text{Fe}^{2+}$  ou la méthanogenèse. Des bactéries impliquées dans la biodégradation anaérobie du benzène ont été identifiés appartenant à la famille *Desulfobacteraceae*, *Desulfobulbaceae*, *Peptococcaceae* et *Geobacteraceae*. Les voies biochimiques de dégradation anaérobie du benzène sont actuellement inconnues, mais il existe de nombreuses possibilités pour la réaction initiale :

- Une alkylation initiale pour former le toluène ;
- Une hydroxylation pour former le phénol ;
- Une carboxylation pour former le benzoate ;
- L'addition du fumarate ;
- Une méthylation du benzène.

Elles sont supposées analogues à celles des composés comme le benzoate (**Ballerini et Vandecasteele, 1999 ; Coates *et al*, 2002 ; Coates, 2004 ; Hu *et al*, 2007 ; Dou *et al*, 2008a, b et c ; Dou *et al*, 2010 ; Cupples, 2011 ; Yu *et al*, 2012**). D'après la revue bibliographique publiée par **Farhadian *et al* (2008)**, la bioremédiation dans des conditions anaérobies peut être appliquée à des eaux souterraines contaminées par des BTEX, puisqu' elle est simple et économique.

### II.3.2. 2.Dégradation des hydrocarbures aromatiques polycycliques :

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont des contaminants environnementaux omniprésents. Ils constituent une classe des produits chimiques organiques dangereux, dont certains effets toxiques sont fortement cancérogènes, génotoxiques, immunotoxiques, mutagènes ou tératogènes et donc une menace pour la santé publique (**Heitkamp *et al*, 1987; Boldrin *et al*, 1993; Langworthy *et al*, 1998; Kastner *et al*, 1998; Bastiaens *et al*, 2000; Kanaly et Harayama, 2000; Wang *et al*, 2000; Rehmann *et al*,2001; Cheung et Kinkle, 2001; Alexander *et al*, 2002; Kanaly *et al*, 2002; Eriksson *et al*, 2003 ; Bernal-Martinez *et al*, 2009 ; Jung *et al*, 2013; Yessica *et al*, 2013**).

Quelques HAP sont classifiés comme polluants prioritaires par la plupart des agences de protection de l'environnement et en particulier celle des Etats-Unis en raison de leur persistance dans l'environnement (**Kanaly *et al*, 2000; Kanaly et Harayama, 2000; Wang *et al*, 2000; Kanaly *et al*, 2002; Eriksson *et al*, 2003 ; Pazos *et al*, 2009**). Bien que les HAP puissent subir l'oxydation chimique, la photodécomposition et la volatilisation; la dégradation microbienne est le processus principal affectant la persistance des HAP dans l'environnement (**Potin *et al*, 2004b ; Laurent *et al*, 2005 ; Haritash and Kaushik, 2009 ; Su *et al*, 2012**).

**II.3.2.2.1. Micro-organismes :**

Plusieurs espèces d'algues, de bactéries et de champignons sont connues dans la dégradation des HAP et peuvent être exploités pour la remédiation des sols contaminés. Généralement, ces micro-organismes sont isolés dans les sols et les dépôts contaminés, mais leur rôle au sein de la communauté microbienne n'est pas bien connu (**Stapleton et al, 1998; Langworthy et al, 1998; Juhasz and Naidu, 2000; Kanaly and Harayama, 2000; Juhasz et al, 2010**). Des études ont montré qu'il y a une synergie entre les mycètes et les bactéries pour la minéralisation des hydrocarbures aromatiques dans le sol (**Stapleton et al, 1998**).

La dégradation des HAP par les différents microorganismes a fait l'objet de plusieurs travaux scientifiques.

**II.3.2.2.1.1. Dégradation par les bactéries :**

Il a été observé que la dégradation des HAP dans le sol est dominée par des souches bactériennes appartenant à un nombre très limité de groupes taxonomiques tels que *Sphingomonas*, *Burkholderia*, *Pseudomonas* et *Mycobactérie* y compris les genres *Acidovorax*, *Bordetella*, *Paracoccus*, *Rhodococcus*, *Rhodoferax*, *Hydrogenophaga*, *Bacillus* et *Variovorax* (**Kastner et al, 1998; Bastiaens et al, 2000; Annweiler et al, 2000; Kazunga et al, 2000; Kanaly et al, 2000; Samanta et al, 2002; Eriksson et al, 2003; Johnsen et al, 2005; Yu et al, 2005; Guo et al, 2010a; Martin et al, 2012**).

Parmi ces groupes taxonomiques les isolats appartenant aux sphingomonadaceae occupent la proportion la plus élevée, qui récemment ont été classés dans les genres suivants : *Sphingomonas*, *Sphingobium*, *Novosphingobium* et *Sphingopyxis* et qui sont spécialisés dans la dégradation des produits chimiques aromatiques et certains sont même considérés comme des oligotrophes strictes (**Johnsen et al, 2005**).

Il est à noter que plusieurs travaux se sont intéressés aux espèces de *Mycobactéries* en raison de leurs capacités à dégrader les HAP soit par cométabolisme soit par minéralisation. La plupart des voies biochimiques des *Mycobactéries* et leurs métabolites ont été identifiées par **Boldrin et al, 1993; Schneider et al, 1996; Kanaly et Harayama, 2000; Cheung et Kinkle, 2001; Khan et al, 2001; Moody et al, 2001; Rehmann et al, 2001; Vila et al, 2001; Bogan et Sullivan, 2003; Fredslund et al, 2008; Zhong et al, 2011; Sarma et Pakshirajan, 2011**. D'autres espèces telles que *Cycloclasticus spirillensus*, *Lutibacterium anuloederans* et *Cycloclasticus* spp provenant des milieux marins ont montré leur potentiel à dégrader les HAP (**Geiselbrecht et al, 1998; Chung et King, 2001**).



Les voies de dégradation des HAP ont été caractérisées sur la base des structures des intermédiaires de dégradation identifiés. Le schéma général est comparable à celui des hydrocarbures mono-aromatiques. Après la double hydroxylation du premier noyau, une étape d'oxygénation supplémentaire est nécessaire pour chaque ouverture du cycle (**Ballerini et Vandecasteele, 1999**). Les gènes impliqués dans le métabolisme et la régulation des HAP ont été décrits pour des espèces de *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Mycobacterium* et *Nocardia* par **Menn et al, 1993; Sanseverino et al, 1993; Wang et al, 2000; Moody et al, 2001; Ferrero et al, 2002 ; Pagnout et al, 2007 ; Cébron et al, 2008 ; Guo et al, 2010a**.

#### **II.3.2.2.1.2. Dégradation par les champignons :**

Contrairement aux bactéries, les champignons n'utilisent généralement pas les HAP comme leur source unique de carbone et d'énergie mais transforment ces composés en métabolites détoxifiés par cométabolisme (**Boonchan et al, 2000**).

Parmi les voies d'attaque des HAP chez les champignons, il faut distinguer celles existant chez les champignons lignolytiques de celles existant chez les autres champignons (non lignolytiques). Cette différence a fait l'objet de nombreuses études. Deux cas sont à considérer (**Bouchez, 1995 ; Ballerini et Vandecasteele, 1999 ; Juhasz et Naidu, 2000**).

**a) Cas des champignons non lignolytiques :** Les champignons non lignolytiques tels : *Cunninghamella elegans*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium janthinellum*, *Syncephalastrum* sp et *Saccharomyces cerevisiae* peuvent transformer une variété de HAP, y compris le pyrène, le chrysène, et le benzo[a]pyrène en métabolites polaires. Une étude a montré la capacité de la souche *Aspergillus niger* à transformer le pyrène et le phénanthrène en 1-méthoxypyrène et 1-méthoxyphénanthrène.

L'attaque initiale des HAP est catalysée par une mono-oxygénase, par le biais de cette enzyme. Un atome d'une molécule d'oxygène est incorporé dans un cycle aromatique du HAP impliqué qui forme alors, un arène oxyde qui peut évoluer en phénol ou en *trans*-dihydrodiol. L'autre atome de la molécule d'oxygène est réduit en eau.

L'attaque initiale des HAP pouvant se faire en différentes positions, à partir d'un même HAP, de très nombreux isomères peuvent être formés. La mono-oxygénase responsable de cette dégradation est le cytochrome P-450 (enzyme membranaire inductible) (**Bouchez, 1995; Sack et al, 1997; Boonchan et al, 2000; Garon et al, 2002; Potin et al, 2004a; Potin et al, 2004b ; Hlavica , 2013**)



**b) Cas des champignons lignolytiques :** Le mécanisme d'attaque des HAP est ici complètement différent des précédents. Lorsqu'ils sont cultivés en conditions limitantes en carbone, en azote ou en soufre, les champignons lignolytiques produisent des enzymes extracellulaires, y compris des lignines peroxydases [LiP] qui permettent l'attaque de la structure aromatique de la lignine et le manganèse peroxydases [MnP].

Ces enzymes extracellulaires sont présumées être impliquées dans le processus de dégradation des HAP et la laccase. Il s'agit en fait de cométabolisme puisque les composés libérés ne peuvent pas servir de substrats de croissance aux champignons qui les produisent. Les champignons de la pourriture blanche tels que *Phanaerochete chryso sporium*, *Trametes versicolor*, *Bjerkandera adusta* et *Pleurotus ostreatus* sont les mieux étudiés et peuvent dégrader certains HAP et détoxifier les sols et les dépôts pollués par les HAP.

Les lignines peroxydases sont peu spécifiques. Elles agissent sous forme oxydée en soustrayant un électron à la structure aromatique attaquée. Les HAP tels que l'anthracène, le pyrène, le benzo (a)anthracène et le benzo (a)pyrène sont oxydés mais l'attaque reste très limitée. Des structures quinoniques (pyrène 1,6-dione dans le cas du pyrène) et des composés aromatiques hydroxylés sont obtenues. Dans la plupart des cas ces métabolites ne sont pas métabolisés plus loin.

L'intérêt suscité par ce mécanisme réside dans le fait qu'il met en jeu une enzyme libre extracellulaire susceptible d'un meilleur accès qu'une bactérie aux HAP polluants et peut-être, selon certaines hypothèses encore à confirmer (**Ballerini et Vandecasteele, 1999; Kastner et al, 1999; Boonchan et al, 2000; Canet et al, 2001; Garon et al, 2002; Potin et al, 2004a; Potin et al, 2004b; Zhang et al, 2006; Valentin et al, 2007; Haritash et Kaushic, 2009. Silva et al, 2009; Arun et Eyini, 2011**).

#### **II.3.2.2.1.3. Voies de dégradation chez les algues et les cyanobactéries :**

Des rapports récents ont montré que les microorganismes photosynthétiques, en particulier les cyanobactéries, peuvent jouer un rôle direct ou indirect dans le métabolisme et la dégradation des hydrocarbures. Les cyanobactéries comme *Anabaena cylindrica*, *Phormidium faveolarum* de *Oscillatoria* JCM, *Agmenellum quadruplicatum* et *Phormidium tenue* peuvent dégrader différents composés aromatiques. La figure II.5 illustre les voies de la dégradation du phénanthrène par *Agmenellum quadruplicatum* PR-6 et de l'Anthracène par *Phormidium tenue* selon **Subashchandrabose et al (2013)**.

En 1985, Narro avait démontré la capacité de *A. quadruplicatum* à oxyder le phénanthrène en *trans*-9, 10-dihydroxy-9, 10-dihydrophenanthrene et 1-methoxyphénanthrène avec le système de mono-oxygénase. Une autre étude réalisée par Narro *et al* (1992) avait confirmé la formation du 1-methoxyphénanthrène à partir du phénanthrène par *Agmenellum quadruplicatum* PR-6 (Sack *et al*, 1997; Abed *et al*, 2002 ; Subashchandrabose *et al*, 2013). Cependant, une recherche sur le génome de la souche *Synechocystis* PCC 6803 a indiqué que cette cyanobactérie possède les gènes de dioxygénase, qui catalysent l'incorporation des deux atomes de la molécule d'oxygène dans le noyau aromatique, produisant ainsi les dihydrodiols. Ceci laisse suggérer que ce *cyanobacterium* pourrait également avoir joué un rôle dans la dégradation aérobie des composés aromatiques comme le dibenzothiophene et phénanthrène (Abed *et al*, 2002).

Dans des systèmes de nappe, les cyanobactéries sont présentes en association avec les bactéries dégradant le pétrole brut et les empêchent de se disperser par l'immobilisation dans leur mucilage. En outre, elles fournissent également aux bactéries l'oxygène produit par la photosynthèse et l'azote fixé requis pour leur activité dans le processus de dégradation. Ce rôle indirect des cyanobactéries peut être important pour le succès global du procédé de la biodégradation (Abed *et al*, 2002).

#### II.3.2.2.2. Dégradation anaérobie des hydrocarbures aromatiques polycycliques :

La dégradation anaérobie des HAP a été démontrée dans plusieurs études de microcosme avec comme accepteur final d'électron le nitrate, le fer ferrique, le sulfate ou dans des conditions méthanogènes (Meckenstock *et al*, 2004 ; Ambrosoli *et al*, 2005 ; Fuchedzhieva *et al*, 2008).

Les résultats obtenus par Chang *et al* (2002) prouvent que des bactéries sulfato-réductrices, méthanogènes, et les eubactéries sont impliqués dans la dégradation des HAP, mais les bactéries sulfato-réductrices occupent une part importante des consortiums adaptés aux HAP. Ce dernier constat concorde avec les travaux publiés par Tsai *et al* (2009a et b). La figure II.6 illustre la dégradation anaérobie des phénanthrènes par les bactéries sulfato-réductrices.

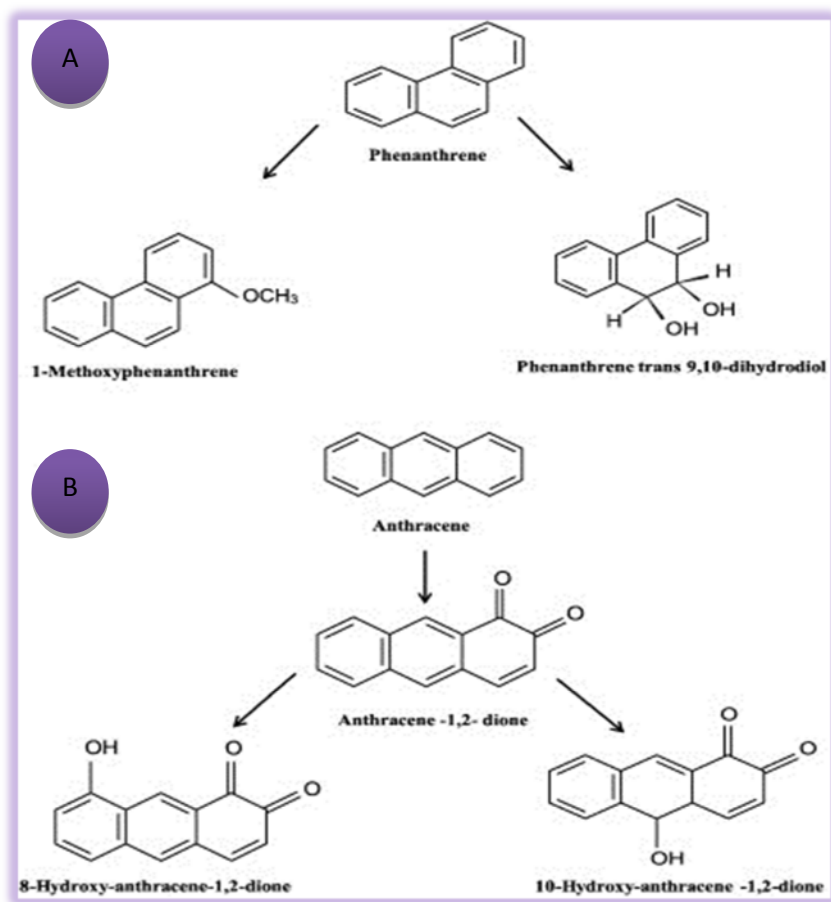


Figure II.5: Voies proposées pour la dégradation des HAP par les cyanobactéries (Subashchandrabose et al, 2013). A) Phénanthrène par *Agmenellum quadruplicatum* PR-6 ; B) Anthracène par *Phormidium tenue*.

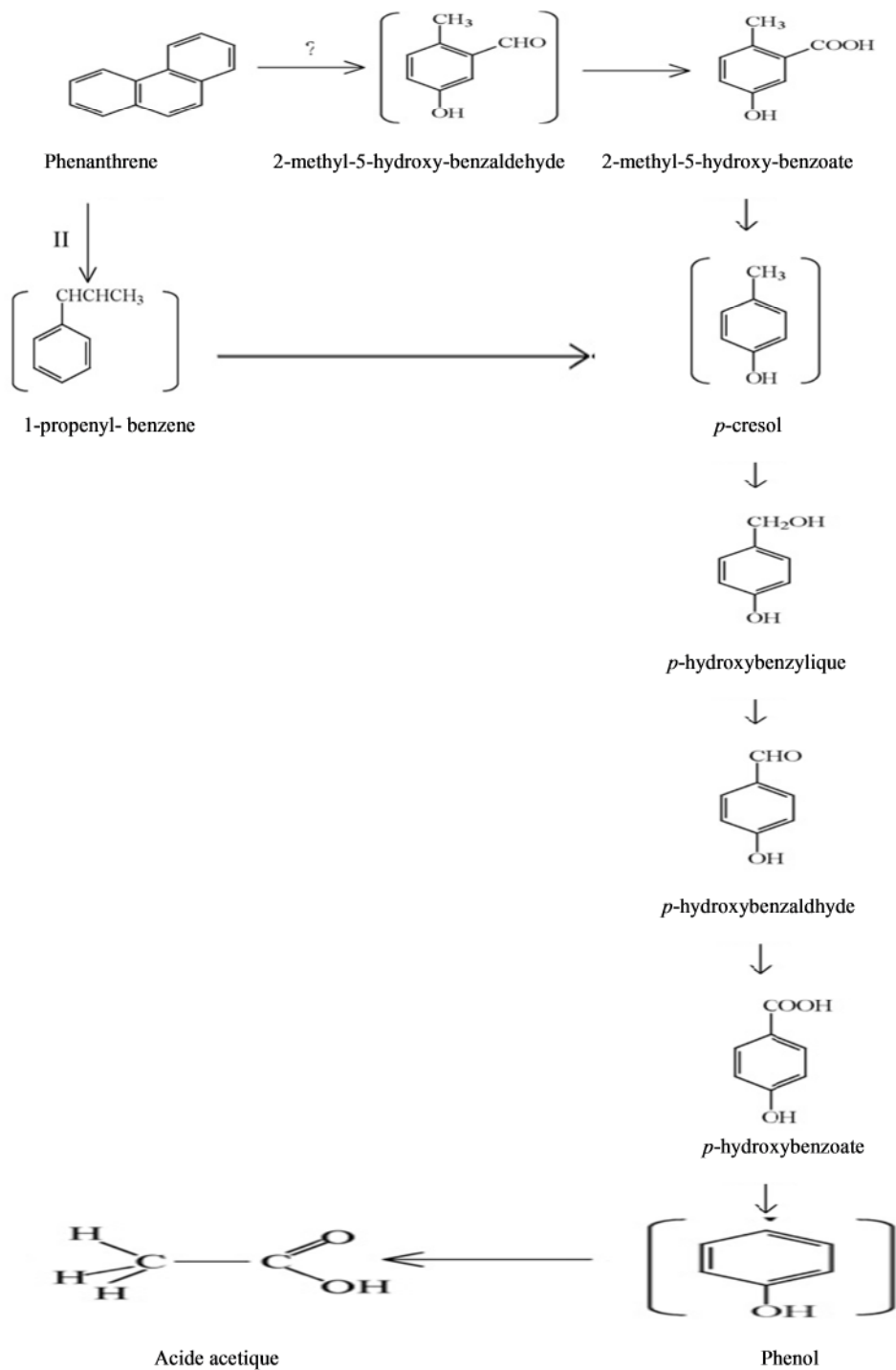
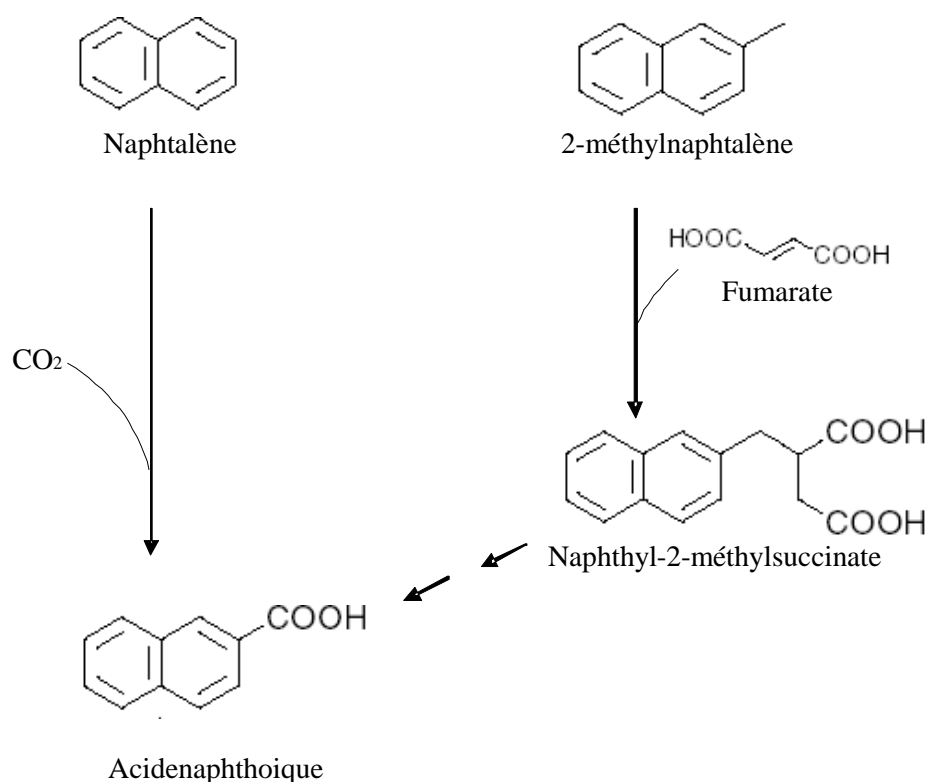


Figure II.6 : Dégradation anaérobie du phénanthrène par les bactéries sulfato-réductrices (Tsai *et al*, 2009a et b).

Les voies biochimiques de dégradation ont été étudiées avec des espèces dégradant le naphthalène soit en culture pure, soit en culture enrichie. Ces voies convergent toutes vers un métabolite principal qui est l'acide 2-naphthoïque. Ce dernier est obtenu soit par l'addition d'une molécule de dioxyde de carbone au naphthalène, soit par l'addition du fumarate au groupe méthylique du méthyl-naphthalène (**Figure II.7**).



**Figure II.7:** Production de l'acide naphthoïque par la dégradation anaérobie des HAP (Meckenstock et al, 2004).

La dégradation anaérobie des HAP a été également démontrée in situ dans des couches aquifères contaminées par identification des métabolites spécifiques (naphthyl-2-méthylsuccinate, l'acide 2-naphthoïque). D'autres métabolites spécifiques tels que les acides carboxyliques ont été détectés dans les eaux souterraines, indiquant ainsi la dégradation anaérobie des HAP et des composés hétérocycliques (**Meckenstock et al, 2004**).

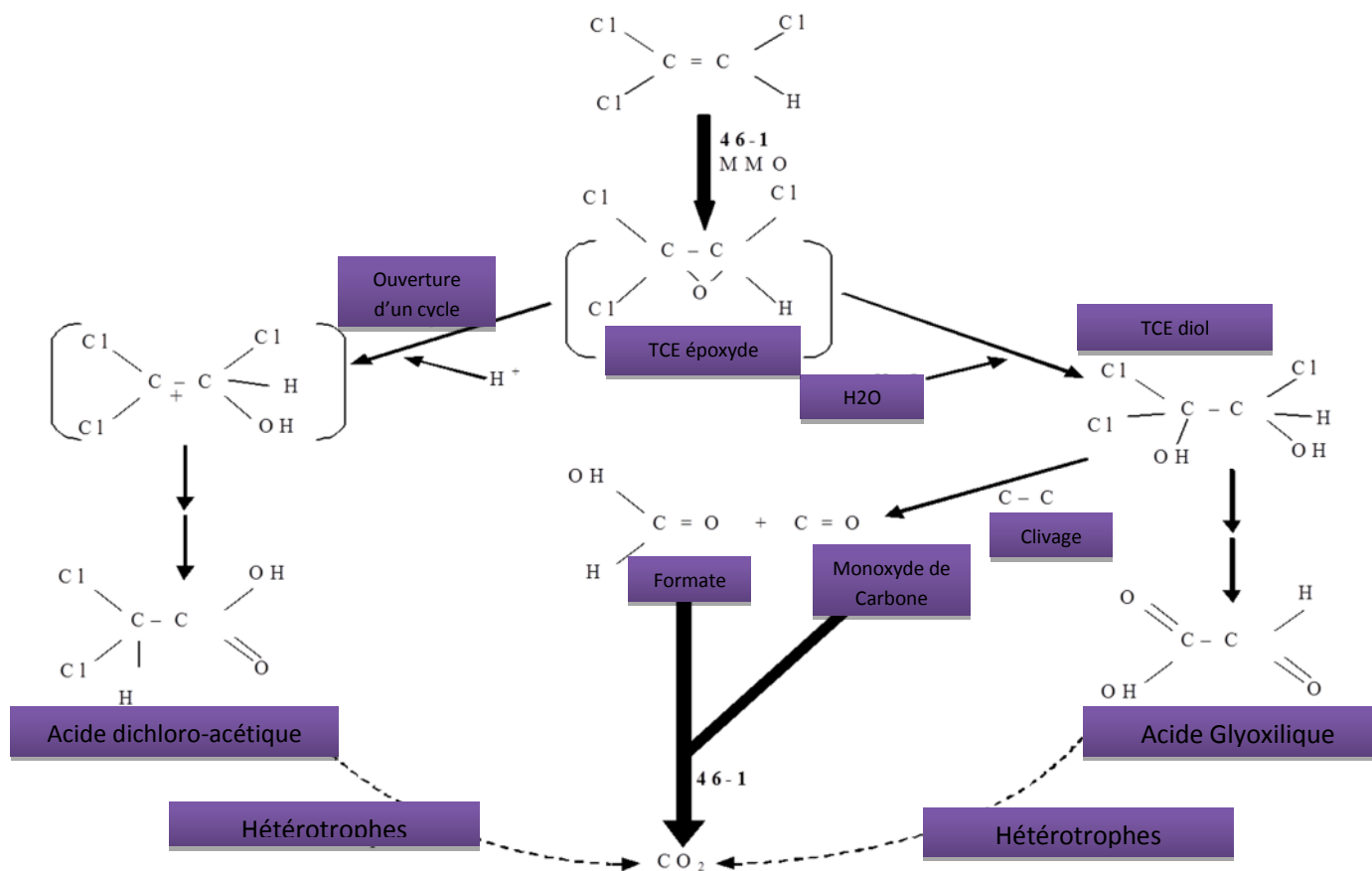


Figure II.8 : Le mécanisme de dégradation du trichloréthylène (TCE) par une bactérie méthanotrophe (la souche 46-1) (Little et al, 1988)

### II.3.3. Dégradation des hydrocarbures chlorés (solvants chlorés):

Les solvants chlorés sont des hydrocarbures aliphatiques de bas poids moléculaire, partiellement ou totalement substitués par du chlore. Le trichloréthylène (TCE) est reconnu pour être le polluant environnemental plus répandu dans le monde industriel (40% des sites en sont contaminés). Il est considéré comme un polluant prioritaire par l'agence de protection de l'environnement EPA (suspecté pour être cancérigène).

En général, les solvants chlorés sont des composés qui persistent dans l'environnement pendant des décennies, quoiqu'ils puissent être métabolisés par les bactéries, en anaérobiose (déshalogénéation réductrice) ou en aérobiose (oxydation cométabolique).

En tenant compte des différentes contributions des auteurs (**Doty *et al*, 2000 ; Parales *et al*, 2000 ; Vogel et Ballerini, 2001 ; Maeda *et al*, 2001 ; Pant et Pant, 2010**), nous avons résumé les processus de dégradation comme ci-dessous.

#### II.3.3.1. Dégradation aérobie :

Certains solvants chlorés peuvent être utilisés comme substrats carbonés par des microorganismes aérobies. C'est le cas par exemple du dichlorométhane, du chlorure de vinyle, du 1,2-dichloroéthane et du chloro-éthane. La biodégradation procède par une réaction de substitution d'un atome de chlore par un groupement hydroxyle.

Toujours en aérobiose, plusieurs solvants chlorés peuvent être dégradés par un processus de cométabolisme. C'est le cas du dichlorométhane, du chloroéthane, du chlorure de vinyle, du dichloroéthylène (DCE) et du trichloroéthylène (TCE).

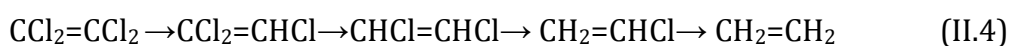
Les enzymes responsables de l'attaque primaire sont des mono-oxygénases et des dioxygénases telles la méthane mono-oxygénase (MMO), la toluène mono-oxygénase, l'ammonium mono-oxygénase, le propane mono-oxygénase (PMO), le phénol hydroxylase et le toluène dioxygénase induites en présence de substrats inducteurs cométaboliques comme par exemple : le méthane (stimulation des microorganismes méthanotrophes), le propane, le propylène, le phénol, le toluène et l'ammoniaque.

Généralement, ces enzymes sont d'autant plus efficaces que les solvants halogénés sont moins substitués.

Les microorganismes aérobies capables d'effectuer ces types de réaction appartiennent aux genres *Pseudomonas* (*P. cepacia*, *P. mendocina* et *P. putida*, *P. aeruginosa*), *Alcaligenes*, *Hypohomobim*, *Xanthobacter*, *Acinetobacter*, *Ancylobacter*, *Arthrobacter*, *Mycobacterium*, *Rhodococcus*, *Burkholderia* sp. PS12, *Bacillus*, *Achromobacter xylosoxidans*, *Klebsiella* et *Methylocystis* (Fan et Scow, 1993 ;Doty et al, 2000 ; Vogel et Ballerini, 2001 ; Maeda et al, 2001 ;Olaniran et al, 2008 ;Shukla et al, 2009 ; Pant et Pant, 2010 ;Chee, 2011). Le mécanisme de dégradation du trichloréthylène (TCE), solvant chloré type, est illustré dans la figure II.8 dans le cas de la MMO.

### II.3.3.2. Dégradation anaérobie :

Les composés totalement substitués tels que le tétrachloroéthylène et le tétrachlorure de carbone ne peuvent être dégradés qu'en anaérobiose par des bactéries méthanogènes, sulfato-réductrices, dénitrifiantes ou acétogènes. Le mécanisme de biodégradation consiste en une déchloration réductrice se traduisant par la perte des substituants chlorés, remplacés par des atomes d'hydrogène. Pour la mise en œuvre d'un tel mécanisme, les bactéries ont besoin d'une source de carbone et d'électrons autre que le solvant chloré. Cela peut être, par exemple, le benzoate (Vogel et Ballerini, 2001). Les déshalogénations successives du tétrachloroéthylène sont réalisées selon la séquence :



Les vitesses de dégradation obtenues en déshalogénations réductrices sont plus faibles qu'en co-oxydation (Ballerini et Vandecasteele, 1999).



## CHAPITRE III

### TRAITEMENT DES LIXIVIATS STABILISES PAR COUPLAGE PROCEDE D'OXYDATION AVANCEE ET TRAITEMENT BIOLOGIQUE.

#### III.1- INTRODUCTION

Dans la plupart des pays, l'enfouissement sanitaire est aujourd'hui la méthode la plus courante pour éliminer les déchets solides municipaux **(Renou et al, 2008a)**. En effet, les centres de stockage de déchets qui sont les voies de gestion les plus usitées dans le monde, peuvent être considérées comme des réacteurs chimiques et biologiques complexes. Au cours de la dégradation des déchets, deux effluents sont produits par les centres de stockage de déchets : les lixiviats et les biogaz **(Pinel-Raffaitin, 2006)**. Ces lixiviats sont générés sous l'action de l'eau qui s'infiltré à travers les déchets mis en décharge. Ils sont composés de multiples éléments organiques et minéraux **(Renou et al, 2008b)**. Suivant le stade d'évolution biologique des déchets, on peut distinguer trois types de lixiviats (les lixiviats jeunes, les lixiviats intermédiaires et les lixiviats âgés ou stabilisés) **(Renou et al, 2008c)**.

En raison de la stabilisation des lixiviats au cours du temps, les traitements « traditionnels » d'épuration ne suffisent plus à respecter les exigences de rejet. Les lixiviats âgés ou stabilisés sont caractérisés par une faible charge organique, composés essentiellement des substances humiques (acides fulviques et humiques) de haut poids moléculaire. Ces composés sont réfractaires à la biodégradation et conservent une DCO récalcitrante d'où un rapport  $DBO_5/DCO$  faible et inférieur à 0,1 **(Trebouet et al, 1998 ; De Morais et Zamora, 2005;Renou et al, 2008c)**.

Au fil des ans, la reconnaissance de l'impact des lixiviats de décharge sur l'environnement a contraint les autorités à fixer des normes strictes relatives au contrôle de la pollution par les lixiviats ; ces derniers doivent être impérativement traités avant d'être rejetées dans l'environnement **(Renou et al, 2008a)**. Afin

d'améliorer la biodégradabilité des lixiviats stabilisés, les procédés d'oxydation avancée (POA) ont été largement utilisés dans le but d'atteindre des valeurs compatibles avec le traitement biologique (**Renou et al, 2008a ; Rizzo, 2011**) et sont considérés comme une alternative intéressante pour le traitement des lixiviats de décharge (**Moravia et al, 2013**) par rapport aux procédés de traitement conventionnelles (la biodégradation, coagulation-floculation, adsorption sur charbon, osmose inverse... etc) (**Oller et al, 2011**). Il a été signalé comme étant l'une des méthodes les plus efficaces pour dégrader les composés réfractaires du lixiviat stabilisé (**Kurniawan et al, 2006**).

Cependant, le développement de ces procédés dans les filières de traitement des eaux reste encore limité en raison des coûts d'investissement et des coûts opératoires associés. Le développement des procédés hybrides et leur couplage avec des traitements biologiques conventionnels ont été proposé, et ce, afin de pallier à certaines contraintes spécifiques des POA et faciliter ainsi leur insertion dans les filières de traitement des eaux et des effluents industriels (**Zaviska et al, 2009 ; Oller et al, 2011**).

### **III.2 LES PROCEDES D'OXYDATION AVANCEE**

Il s'agit de procédés de traitement oxydatif qui peuvent être regroupés en quatre catégories : les procédés d'oxydation chimique en phase homogène ( $H_2O_2/Fe^{2+}$  et  $H_2O_2/O_3$ ), procédés photocatalytiques en phase homogène et/ou hétérogène ( $H_2O_2/UV$ ,  $O_3/UV$ ,  $Fe^{2+}/H_2O_2/UV$  et  $TiO_2/UV$ ), procédés d'oxydation sonochimique et procédés d'oxydation électrochimique (**Zaviska et al, 2009**).

Le principe des POAs repose sur la génération des radicaux  $HO\cdot$  (**Homlok et al, 2013**). Ces radicaux libres sont des espèces hautement actives capables de réagir rapidement et de manière non sélective sur la plupart des composés organiques, réputés difficilement oxydables par voie biologique ou par des traitements chimiques conventionnels (**Bauer, 1994 ; Rodriguez et al, 2002 ; Tiburtius et al, 2005 ; Zaviska et al, 2009**). Ces composés réagissent avec les doubles liaisons  $-C=C-$  et attaquent les noyaux aromatiques, composants majeurs des composés réfractaires (**Gogate et Pandit, 2004a ; Zaviska et al, 2009**).

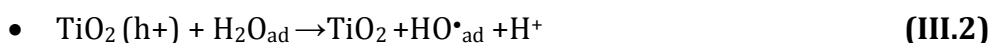
Parmi les procédés d'oxydation avancés utilisés pour générer des radicaux hydroxyles comme un oxydant puissant, la décomposition photocatalytique de l'eau en présence du  $TiO_2$  (**Tiburtius et al, 2005**). L'oxydation photocatalytique des polluants organiques par le dioxyde de titane ( $TiO_2$ ) a suscité beaucoup d'attention en tant que procédé chimique prometteur pour un environnement sain (**Ohko et al, 2001 ; Guo et al, 2010b**). L'oxyde de titane ( $TiO_2$ ) est largement utilisé comme un photocatalyseur en

raison de sa non toxicité, de sa stabilité photochimique et de son faible coût. Certains auteurs (**Hoffman et al, 1995 ; Chen et Cao, 2005; Wu et al, 2009 ; Pobleto et al, 2011**) prédisent qu'il sera bientôt reconnu comme l'une des techniques les plus efficaces pour traiter les différents types d'eaux usées.

### III-2.1 Procédé photocatalytique hétérogène (TiO<sub>2</sub>/UV)

La photocatalyse hétérogène est une technologie basée sur l'irradiation d'un catalyseur qui est un semi-conducteur «TiO<sub>2</sub>», qui peut être photo-excité pour former des sites électro-donneurs ou électro-accepteurs d'électrons et ainsi induire des réactions d'oxydoréduction. En effet, si les photons absorbés possèdent une énergie supérieure au 'gap' d'énergie entre la bande de valence et la bande de conduction, des paires d'électron-trou se créent dans le semi-conducteur. Ces paires 'électron-trou' peuvent se recombiner pour libérer de la chaleur ou migrer à la surface du semi-conducteur et ainsi, réagir avec les espèces adsorbées à la surface (**Zaviska et al, 2009**).

Ainsi la première étape impliquée dans la dégradation des contaminants par le photocatalyseur TiO<sub>2</sub> supporté/UV est la génération des paires (e<sup>-</sup>/ h<sup>+</sup>), ce qui conduit soit à l'oxydation direct du contaminant adsorbé soit à l'oxydation indirect par la formation des radicaux hydroxyles (HO•) formés par les réactions indiquées ci-dessous (**Gouvêa et al, 2000 ;Chen et al, 2002; Daneshvar et al, 2003 ; Da Silva and Faria, 2003 ; Chan et al, 2004 ; Tiburtius et al, 2005 ; Wu et al, 2009 ; Zaviska et al, 2009**):



De nos jours, le débat demeure ouvert concernant le phénomène d'oxydation : Est-ce que les molécules sont directement oxydées à la surface du semi-conducteur ou alors par l'intermédiaire des radicaux HO• sous leurs formes libres ou adsorbées? Dans tous les cas, le produit final de l'oxydation d'un substrat organique conduit à la formation de CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O (**Bessekhouad, 2003**).

La photocatalyse peut s'appliquer en utilisant le catalyseur sous forme de particules en suspension ou supporté. Des configurations de réacteur contenant des particules en suspension (type *slurry*) ont été proposées comme les plus efficaces par rapport aux catalyseurs immobilisés sur des supports solides. Cependant, l'emploi de poudres dispersées en solution présente un inconvénient majeur : une fois la solution dépolluée, le catalyseur doit en être éliminé par filtration. Cette opération augmente la durée globale du traitement et le coût de l'installation.

Pour éviter la filtration, la recherche s'est orientée vers des systèmes à catalyseur supporté sous forme de films minces. L'immobilisation du photocatalyseur sur un support inerte présente de nombreux avantages. Elle rend flexible le transport et la recharge du photocatalyseur, elle permet un flux continu des polluants, elle ne nécessite pas de système de filtration, et peut être utilisé pour des applications à petite et moyenne échelle. Toutefois, l'immobilisation d'un catalyseur sur un support génère des problèmes spécifiques.

Pendant l'étape du chauffage pour fixer la couche mince, une partie de la structure poreuse disparaît sous l'effet du frittage. De plus, seulement une partie du catalyseur est en contact avec le polluant. Dans le cas des suspensions de  $\text{TiO}_2$ , les particules ne sont pas illuminées de manière continue mais pendant de courts instants à cause de l'agitation, tandis que le catalyseur fixé sur un support est irradié en permanence sur toute sa surface jusqu'à une profondeur effective qui correspond à une épaisseur critique (**Sarantopoulos, 2007**).

### **III.3 LES PARAMETRES INFLUENÇANT LA PHOTOCATALYSE HETEROGENE**

Plusieurs travaux (sus- cités) ont mentionné l'influence de plusieurs paramètres tels que la concentration en polluant, l'intensité du rayonnement, la quantité de catalyseur, la température, le pH et la teneur en oxygène dissous sur la dégradation photocatalytique sur le  $\text{TiO}_2$ .

#### **III.3.1 Oxygène dissous**

Bien que la présence d'oxygène en solution ne soit pas indispensable pour la dégradation photocatalytique des substrats organiques, elle améliore de manière significative l'efficacité du procédé. Les molécules d'oxygène adsorbées sur le  $\text{TiO}_2$  agissent comme des pièges très efficaces des électrons de la bande de conduction. Ainsi, plus la teneur en oxygène dissous, est élevée plus la recombinaison de la paire électron-trou est atténuée. De plus, l'ion-radical super-oxyde  $\text{O}_2^{\cdot-}$  est un agent oxydant pouvant réagir avec les substrats organiques ou participer à la formation d'autres espèces réactives.

Il est généralement considéré que l'oxygène et les substrats organiques s'adsorbent sur des sites de surface différents, ce qui signifie que l'adsorption de l'oxygène et des polluants organiques n'est pas compétitives (**LHOMME, 2006**).

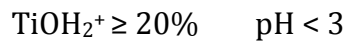
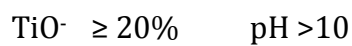
### III.3.2 pH de la solution

Le pH optimal du milieu dépend fortement du type de polluant. Ainsi, pour des polluants faiblement acides, le rendement photocatalytique augmente en faisant baisser le pH car cela diminue sa polarité et ainsi facilite son adsorption sur le catalyseur, et inversement pour des polluants faiblement basiques (Zaviska *et al*, 2009).

En effet, le pH en solution aqueuse affecte énormément le TiO<sub>2</sub> (il a un effet sur la charge de surface et sur la taille des agrégats). Les groupements hydroxyles à la surface du catalyseur participent aux équilibres acido-basiques décrits ci-dessous :



Le pH pour lequel la charge de surface de l'oxyde est nulle s'appelle point de zéro charge (pH<sub>pcz</sub>) ou point isoélectrique, il est égal à 6.5 environ pour le TiO<sub>2</sub> Degussa P25. La spéciation des espèces en fonction du pH est la suivante :



Dans ces conditions, la dégradation photocatalytique des composés organiques ionisés est influencée par le pH de la solution. A un pH supérieur au pH<sub>pcz</sub>, les interactions avec les donneurs et les accepteurs d'électrons cationiques sont favorisées, alors que pour un pH inférieur au pH<sub>pcz</sub>, ce sont les interactions avec les espèces anioniques qui seront privilégiées (Yahiat, 2010).

### III.3.3 L'intensité du rayonnement UV et la température

L'intensité lumineuse fait partie des paramètres à prendre en compte pour obtenir un modèle complet. Une source homogène permettra une irradiation optimale de la surface du support catalytique. La relation entre l'intensité lumineuse et la constante cinétique de dégradation  $k$  s'exprime fréquemment selon l'équation suivante :

$$k = I_0^\alpha k' \quad \text{(III.5)}$$

Il est souvent rapporté dans la littérature que la valeur de l'exposant  $\alpha$  varie en fonction de la puissance lumineuse reçue par le catalyseur. Pour des intensités inférieures à 250 W.m<sup>-2</sup>, l'équation tend à être du premier ordre.

La valeur de  $\alpha$  tend vers 0.5 pour des intensités supérieures. Ceci est dû à l'augmentation de la recombinaison  $e^-/h^+$  pour les fortes intensités lumineuses (**Petit, 2007**).

Il est à noter par ailleurs que lors du processus d'oxydation photochimique, les irradiations émises peuvent directement conduire à une transformation du polluant cible. Cependant de forts changements de température entraineront des modifications des propriétés adsorbantes du catalyseur, ce qui est susceptible de modifier la vitesse de dégradation (**Petit, 2007**).

### **III.3.4. La quantité du catalyseur**

En général en photocatalyse hétérogène, la vitesse initiale est proportionnelle à la quantité de catalyseur. Cependant, cette linéarité n'est valable jusqu'à une certaine valeur de masse au-delà de laquelle il n'y a plus d'effet sur la vitesse : c'est la masse optimale. Celle-ci est fonction de la conception du réacteur, de la source d'irradiation, du type et de la concentration du polluant. En effet, jusqu'à une certaine quantité de catalyseur, toute la surface photocatalytique est exposée au rayonnement UV. Au-delà de cette quantité, certaines particules font écran à leurs voisines, empêchant de fait l'activation de ces dernières. Le réacteur doit être donc conçu de telle sorte que l'irradiation soit uniforme sur la surface entière du catalyseur. De plus, pour la conception de réacteurs à grande échelle, l'élimination de la résistance liée au transfert de masse doit être prise en compte (**Zaviska et al, 2009 ; Cazoir, 2011**).

### **III.3.5. La concentration en polluant**

L'importance de l'étape initiale d'adsorption du composé à dégrader à la surface du photocatalyseur est mise en évidence par l'utilisation du modèle de Langmuir Hinshelwood. C'est un modèle cinétique en catalyse hétérogène reliant la vitesse de disparition d'un composé à sa concentration en solution. Il est souvent utilisé pour décrire des réactions catalytiques ayant lieu entre deux espèces adsorbées sur une surface. C'est le cas de la photocatalyse.

Les composés dégradés par la réaction photocatalytique sont ceux qui se trouvent adsorbés en surface du catalyseur, car ils peuvent entrer en contact avec les espèces radicalaires oxydantes (par exemple  $HO^\bullet$ ) générées à la surface du photocatalyseur excité (**Huchon, 2006**).

#### III.4 LE COUPLAGE PROCÉDE D'OXYDATION AVANCEE-TRAITEMENT BIOLOGIQUE.

L'efficacité des procédés biologiques est souvent heurtée par la présence des composés bio-réfractaires, même si ceux-là soient les plus conventionnellement utilisés et plus économiques.

D'autre part, les procédés d'oxydation avancée promettent la dégradation de la majorité des contaminants mais leurs utilisations sont entravées par le manque de connaissances requises pour la conception des réacteurs à grande échelle. Par ailleurs, en considérant le coût élevé du traitement par les POAs l'utilisation de ces derniers seuls comme procédure de traitement ne semble pas lucrative.

Ainsi, un procédé hybride qui consiste à utiliser les procédés d'oxydation avancées pour réduire la toxicité de l'effluent jusqu'à un niveau désiré suivi par l'oxydation biologique est peut-être une bonne alternative (**Gogat et Pandit, 2004b**).

Une diminution significative dans le coût de traitement des lixiviats pourrait être obtenue par couplage de procédé d'oxydation avancée et biologique, mais leur compatibilité doit être d'abord prouvée (**Oller et al, 2011**). Par exemple, **Koh et al, (2004)** ont combiné avec succès le processus biologique de nitrification/dénitrification avec le procédé UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Cette combinaison a permis de diminuer la DBO<sub>5</sub> et la DCO en-dessous des normes de rejet des eaux usées.

Récemment, **Wang et al, (2009)** en optant pour le prétraitement par la coagulation et l'oxydation Fenton suivie par un biofiltre aéré, ont pu réduire la DCO du lixiviat jusqu' à une valeur de 75 mg/L. Le réacteur biologique combiné avec les POAs à l'échelle laboratoire pour le traitement des lixiviats est le SBR.

Le procédé 'électro- Fenton' assisté par la coagulation chimique a été jugé très probant par **Lin et Chang (2000)** pour éliminer une quantité importante de composés organiques et inorganiques réfractaires présents dans les lixiviats avant traitement par le SBR. Les travaux de **Neczaj et al (2007)** réalisées sur la sonication suivie par un SBR ont montré une amélioration significative des taux d'élimination de la DCO et des composés azotés comparé à un traitement biologique du lixiviat brut (**Oller et al, 2011**).

La majorité des études publiées entre 2000 et 2013 présentées dans le tableau (III.1) mettent en évidence un effet positif du couplage des procédés d'oxydation avancée aux traitements biologiques.

### III.5 PARAMETRES INFLUENÇANT LE COUPLAGE PHOTOCATALYSE ET TRAITEMENT BIOLOGIQUE.

Plusieurs auteurs ont mis au point une stratégie générale applicable au traitement d'eaux usées contenant des composés bio-récalcitrant.

#### III.5.1 Biodégradabilité et toxicité

Compte tenu des coûts relativement élevés engendrés par la photocatalyse, l'étude de la biodégradabilité de la solution initiale contenant le polluant à dégrader constitue toujours l'étape préliminaire. En présence d'une non-biodégradabilité du mélange à traiter, un couplage est à envisager. Une compatibilité biologique de la solution résultant du traitement par photocatalyse est nécessaire (**Yahiat, 2010**) et l'évaluation de la biodégradabilité devient indispensable non seulement pour les eaux usées brutes mais aussi au cours du prétraitement par les procédés d'oxydation avancée. Dans ce sens, l'amélioration de la biodégradabilité par une application des POAs peut être contrôlée au moyen :

- D'une analyse des paramètres globaux tels que la demande biologique en oxygène (DBO), la demande chimique en oxygène(DCO),et le carbone organique dissous (COD) ;
- Du calcul du rapport  $DBO_5/DCO$  ou l'état d'oxydation avancée (AOS). En général, la plupart des études dans ce domaine utilisent des essais biologiques conventionnels, tels que le rapport ( $DBO_5/COD$ ) afin de déterminer la vitesse de la biodégradation améliorée des eaux usées bio-récalcitrants après prétraitement par POA.
- Des essais de la biodégradation par les boues activées, tels que le test de Zahn-Wellens qui est aussi largement utilisé quand il est souhaitable d'étudier l'effet d'acclimatation de la biomasse où des résultats très fiables sont exigés et de s'assurer que la biocompatibilité des composés biorécalcitrants est amélioré lors du prétraitement photochimique ;
- Des essais de respirométrie pour déterminer le taux de consommation d'oxygène. Ils sont les moins fréquents pour évaluer l'efficacité de l'oxydation partielle des eaux usées. D'après **Oller *et al* (2011)**, seuls quelques auteurs ont étudié les paramètres de biodégradation par le biais de ce test pour évaluer l'effet des POAs sur les lixiviats de décharge.



**Tableau III.1 : Résumé des travaux réalisés sur le traitement des lixiviats stabilisés par couplage POA/traitement biologique.**

Auteurs	Procédé d'oxydation avancée	Traitement biologique	Taux d'abattement
<b>Lin et Chang (2000)</b>	Electron-Fenton	Bioréacteur séquentiel (SBR)	96% DCO
<b>Lei et al, (2007)</b>	Oxydation électrochimique	Bioréacteur	98.5% DCO et 98% COT
<b>Li et al, (2009)</b>	Procédé Fenton	Bioréacteur séquentiel (SBR)	97% DCO et 99%N-NH <sub>3</sub> .
<b>Urtiaga et al, (2009)</b>	Procédé Fenton et Oxydation électrochimique	Culture en boue activée	97% DCO et 100% N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>
<b>Feki et al, (2009)</b>	Oxydation électrochimique	Bioréacteur à membrane (MBR)	85%DCO et 94% Azote total
<b>Wang et al, (2009)</b>	Procédé Fenton	Anaérobique biofiltre	89%DCO
<b>Zhao et al, (2010)</b>	Oxydation électrochimique	Biofiltre	98% COT
<b>Guo et al, (2010c)</b>	Procédé Fenton	Bioréacteur séquentiel (SBR)	93% DCO et 98%N-NH <sub>3</sub>
<b>Xie et al, ( 2010)</b>	Procédé Fenton	Biofiltre	97% DCO et 99%N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>
<b>Di laconi (2011)</b>	Ozonation	SBBGR (Sequencing Batch Biofilter Granular Reactor)	73-76% DCO et 99%N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>
<b>Zhang et al, (2011)</b>	Oxydation électrochimique	Bioréacteur séquentiel (SBR)	92%DCO et 99.7%N-NH <sub>3</sub>
<b>Cassano et al, (2011)</b>	Ozonation et Photo-Fenton Solaire	SBBGR (Sequencing Batch Biofilter Granular Reactor)	95%DCO et 93% COD
<b>Vilar et al, (2011a)</b>	Photo-Fenton Solaire	Réacteur à biomasse immobilisée	89%DCO et 57% COD
<b>Wu et al, (2011b)</b>	Procédé Fenton	SBR et aérobique biofiltre	98%DCO et 99%N-NH <sub>3</sub>
<b>Wang et al, (2012)</b>	Procédé Fenton	Anaérobique biofiltre et aérobique biofiltre	96%DCO et 96% Azote total
<b>Fernandes et al, (2012)</b>	Oxydation électrochimique	Culture en boue activée	98%DCO et 99 % COD
<b>Del Moro et al, (2013)</b>	UV/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	SBBGR (Sequencing Batch Biofilter Granular Reactor)	71%DCO et 68% COD

Récemment, certains auteurs (**Ballesteros-Martín et al, 2008 a, b, 2010; García-Ripoll et al, 2009**) ont également utilisé d'autres cultures de micro-organismes pour déterminer la biodégradabilité des eaux usées synthétiques partiellement traitées par POA, c'est le cas de *Pseudomonas putida*. Celle-ci est considérée comme un outil fiable et reproductible pour évaluer à la fois la toxicité et la biodégradabilité (**Oller et al, 2011**).

La minéralisation partielle des polluants organiques complexes par POA peut entraîner la formation des produits intermédiaires plus toxiques que les composés initiaux. Pour éviter cet inconvénient, les procédés d'oxydation avancée devraient être soigneusement gérés et surveillés.

Dans ce sens, des tests de toxicité ont été utilisés pour évaluer si la détoxification des effluents a lieu (**Rizzo, 2011**). Dans la plupart des travaux publiés, les chercheurs utilisent systématiquement le test Microtox pour l'étude de la toxicité (**Cho et al, 2009 ; Gotvajn et al, 2009**).

### **III.5.2 La durée de prétraitement**

Le temps de photo-traitement est un paramètre qui représente le meilleur compromis entre l'efficacité du traitement initial et son coût actif. Il dépend de l'évolution de la toxicité et de la biodégradabilité de la solution traitée. Il est important que ce paramètre soit faible, autrement dit le temps de photo-traitement doit être le plus court possible, afin de réduire au maximum la consommation d'électricité.

En effet, le coût électrique atteint 60% du coût opérationnel total d'un procédé de photo-traitement utilisant une source électrique. De même, les intermédiaires réactionnels encore présents doivent être biologiquement utiles. Cependant, un temps de photo-traitement trop court génèrerait une structure des intermédiaires formés trop similaire à celles des composés bio-récalcitrants de départ qui sont, de fait, non biodégradables (**Yahiat, 2010**).

### **III.5.3. La minéralisation et l'état d'oxydation des composés**

Le Carbone Organique Total (COT) doit être mesuré afin d'assurer le suivi de la minéralisation du composé. Le COT ne devra pas présenter une valeur résiduelle trop faible, ceci pour pouvoir servir de substrat aux microorganismes. Le degré de minéralisation des composés ayant subi un traitement photocatalytique influence ainsi l'intervalle de temps de traitement biologique. Il est à noter que l'évolution de la réaction d'oxydation des composés, par voie photocatalytique et biologique, est étudiée par la mesure de la demande en oxygène (DCO) qui apporte les informations nécessaires à son suivi.

Un compromis entre le choix du temps de prétraitement et la minéralisation est généralement posé. Toute difficulté du couplage réside donc dans la nécessité de trouver un temps de prétraitement suffisant pour réduire la toxicité de la solution initiale et la rendre plus biodégradable mais sans trop minéraliser la solution, afin qu'une quantité suffisante de substrats organiques s'y maintienne pour satisfaire le traitement biologique **(Yahiat, 2010)**.

#### **III.5.4. Les avantages du couplage**

Il a été démontré que la combinaison d'un procédé d'oxydation avancée à un traitement biologique a les avantages suivants:

- Les processus chimiques et biologiques sont complémentaires l'un pour l'autre.
- Le prétraitement chimique peut protéger les micro-organismes contre les composés inhibiteurs ou toxiques.
- La diminution du coût des produits chimiques à l'aide du rapport coût-efficacité en pré ou post-traitement biologique
- Le temps de séjour total est flexible (le temps de séjour dans le réacteur chimique est différent de celui du réacteur biologique)
- La minéralisation totale des produits organiques, tout en minimisant le coût total du procédé **(Chebli, 2012)**.

## CHAPITRE IV

# PROBLEMATIQUE DE LA DECHARGE D'OUED SMAR

### IV.1 INTRODUCTION

A l'instar de nombreuses villes-capitales à travers le monde, Alger connaît une croissance démographique et une expansion non maîtrisées engendrant des décalages importants dans les infrastructures, et des capacités insuffisantes des services publics, en matière d'éducation et de santé, et en matière de services urbains en général.

Dans ce contexte, la gestion des déchets urbains en particulier, représente pour les autorités, un défi majeur pour faire face à l'accroissement des volumes de déchets lié à la croissance démographique et l'évolution des modes de consommation (déchets d'emballages et des plastiques) et arriver à mieux maîtriser les nuisances engendrées à l'environnement, et ses conséquences désastreuses pour la santé publique et les ressources naturelles **(MATE, 2007 et 2008)**.

Le choix est porté sur l'enfouissement des déchets comme mode de traitement, mais qui reste inadapté aux contraintes locales. Cela est dû à un manque de connaissance des paramètres spécifiques aux décharges dans les pays en développement. En effet depuis l'indépendance, Alger éliminait ses déchets dans des décharges publiques souvent non contrôlées. Il existait bien un incinérateur d'une capacité de 20 tonnes jour environ, réalisé dans les années 40 à Caroubier, mais sa cheminée menaçante a été démolie en 1991. En outre, une unité de compostage de 200 tonnes jour a été réalisée par la ville d'Alger (CPVA) en 1975. Cette unité située à Bourouba a cessé de fonctionner en 1986.

Plusieurs sites pour l'implantation de décharges contrôlées, ont été préconisés en 1975 par l'étude de Comité de développement et d'organisation de l'agglomération d'Alger **(Mezouari, 2011)**. Actuellement, sur le territoire national, on recense près de 3000 décharges non contrôlées sur une superficie totale de 150 000 hectares dont 350 au niveau des 40 grandes villes du pays **(Tolba, 2008)**. Il est à noter l'absence de contrôle et d'aménagements fonctionnels inadaptés (collecte et traitement des lixiviats, du biogaz...) ou inexistantes et aussi de difficultés de financement **(Mezouari, 2011)**.

Après l'éradication des décharges sauvages de Khraïssia, Baba Hassen, Douéra et Mahelma, la wilaya d'Alger disposerait présentement de quatre décharges publiques en exploitation accueillant les déchets ménagers et assimilés, correspondant à trois catégories selon le rapport du Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement (**MATE, 2008**) :

- La décharge contrôlée d'Oued Smar ;
- Le Centre d'Enfouissement Technique (CET) d'Ouled Fayet ;
- Et les deux décharges non contrôlées de Tessala El Merdja et de Baba Ali.

## **IV.2 EXPLOITATION DE LA DECHARGE D'OUED SMAR**

### **IV.2.1 Historique**

La décharge d'Oued Smar a vu le jour le 13 juin 1978, à la suite de la fermeture de l'ancienne décharge de la ville d'Alger, située à Baraki. Elle recevait jusqu'à 2500 tonnes par jour de déchets provenant de 53 communes de la wilaya d'Alger, soit 3 millions de tonnes par an (**MATE, 2006**). Cette nouvelle décharge a été créée en contravention des règlements en vigueur ; le Conseil Populaire de la Ville d'Alger a choisi ce site sans procéder au préalable à une étude géologique et hydrogéologique détaillée.

Le fait que le sol soit argileux, a suffisamment justifié l'implantation de cette décharge. En progressant vers le Nord-Ouest de la région, la Société Nationale des Matériaux de Construction met à la disposition de la décharge la partie exploitée, c'est-à-dire creusée sur une profondeur de plus de 6 mètres. Ainsi, la décharge actuelle incontrôlée se trouve donc implantée dans une région à vocation agricole, et en partie marécageuse (**Belkacemi, 1993**). Au fil des années la décharge a accumulé plus de 35 millions de tonnes déversées pendant plus de 33 ans.

La réhabilitation de la décharge est l'un des vieux projets, sans cesse reportés. L'idée même avait été évoquée déjà en 1987. Bien que la décharge fût déjà saturée en 1997, elle continuera de servir pendant plusieurs années, avalant tout ce que la ville d'Alger produisait de plus rebutant.

L'annonce de sa fermeture prochaine et définitive a enfin été proclamée en 2005. Cependant, les machines de l'entreprise turque *Sistem Yapine* chargée de la réhabilitation de la dite décharge ne se sont mises à déblayer le terrain qu'en juillet 2009. Entre temps, la décharge d'Oued Smar a été le témoin de la phénoménale éruption urbaine de la capitale : à titre d'exemple, le volume des déchets est passé de 200 t/j en 1960 à plus de 1600 t/j en 1990.

A l'aube des années 2010s, les ordures déversées à la décharge d'Oued Smar étaient estimées entre 500 et 800 t par jour (comparativement aux 2000 t journaliers dans ses « glorieuses années ». La décharge admet en moyenne 440 opérations de décharge par jour, dont 220 opérations pour les ordures ménagères contre 1100 au cours des dernières années (**Blidi, 2010**).

En juin 2012, la décharge d'Oued Smar a été définitivement fermée et le site devant être récupéré comme un parc d'attraction.

#### **IV.2.2 Situation géographique de la décharge**

Oued Smar est située à 15 Km au Sud-Est d'Alger, à environ 2 km de l'aéroport « Houari Boumediene ». Au nord de la décharge, se trouve la ligne de chemin de fer Alger-Constantine, et à l'est, l'Oued Smar (canalisé à cet endroit). Elle occupe une superficie d'environ de 40 ha et sa hauteur par endroits atteint près de 63m. L'accès à la décharge se fait exclusivement par une impasse de 2 km environ reliée à la Route Nationale n°8 (El Harrach-Larbaa) (**Figure IV.1a**).

#### **IV.2.3 Cadre géologique et hydrogéologique de la décharge**

La zone d'Oued Smar fait partie de la plaine de la Mitidja qui est une région de subsidence continue, c'est-à-dire, une région où s'effectue un lent mouvement d'affaissement de l'écorce terrestre sous le poids des dépôts sédimentaires, et sous l'action de déformations. Cette subsidence a donné naissance à une sédimentation active dont les éléments proviennent essentiellement des reliefs de l'Atlas Blidéen. La décharge d'Oued Smar pourrait être située entre deux formations géologiques distinctes :

- La formation de la Mitidja qui comprend des matériaux grossiers comme les graviers et les galets avec des limons ou des argiles ;
- La formation d'El Harrach (Villafranchien) connue sous le nom de formation de marnes d'El Harrach et qui est une séquence relativement uniforme d'argiles jaunâtres ou grises par endroit avec quelques cailloutis et lentilles de graviers épais de 2 à 6 mètres.
- La zone d'Oued Smar est de formation à prédominance argileuse jusqu'à 20m de profondeur et plus. La nappe souterraine d'Oued Smar fait partie de la vaste nappe aquifère de la Mitidja qui s'étend sur une superficie de quelques centaines de kilomètres carrés. Elle est formée des alluvions de l'ère quaternaire et est alimentée par les eaux de pluies, les eaux des oueds, les eaux de ruissèlement des montagnes, des rivières des petits versants existants dans la plaine, et les écoulements souterrains de Khemis-El-Khechna et Meftah.



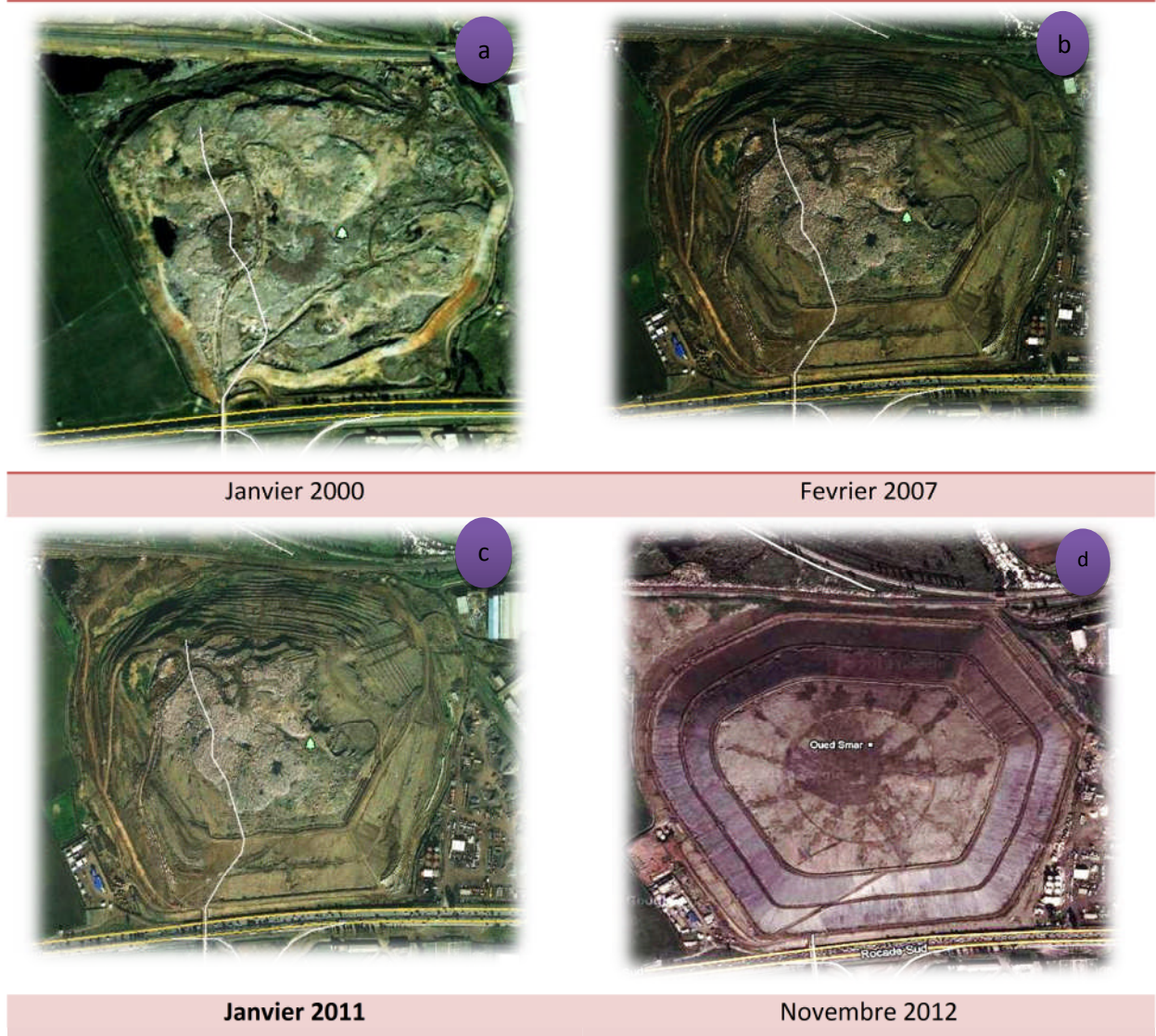


Figure VI.1 La décharge d'Oued Smar dans sa phase de réhabilitation ( Google Earth®) Images prises à différentes dates.

Les limites géographiques de l'aquifère et son hydrodynamisme montrent que le sens de l'écoulement des eaux dans la zone d'Oued Smar se fait du sud vers le nord. Cependant, on note l'existence d'un axe de drainage, c'est-à-dire, une convergence des eaux souterraines vers l'ouest de la décharge, qui correspond à trois champs de captage. Il s'agit des captages Adda au Nord-Ouest, Baraki à l'ouest et Haouch-Felit.

A la lumière de cet aperçu géologique et hydrogéologique de la zone d'Oued Smar, on peut dire que la nappe souterraine pourrait être naturellement protégée. Cependant, du fait que la décharge soit opérationnelle depuis des années, et qu'elle ait reçu des déchets de toutes sortes sans aucun contrôle préalable, les risques de pollution des eaux pourrait s'accroître.

Au bout d'un certain temps, un site imperméable au départ, peut, d'une part, atteindre le stade de saturation, et d'autre part, subir des altérations ou des modifications de sa structure dues aux différents phénomènes physico-chimiques qui s'y produisent (Belkacemi, 1993).

### IV.2.4 Type de déchets mis en dépôt

Le travail sur la décharge se faisait en continu, c'est-à-dire jour et nuit, et 7 jours sur 7. Les déchets proviennent de plus de 100 organismes publics, privés et communes.

Les déchets déposés sur la décharge sont assez diversifiés. C'est ainsi qu'en plus des déchets habituellement admis (ordures ménagères, terre végétale, bois, branchages et autres déchets verts), on relève d'autres déchets qui ne devraient pas être admis :

- Des déchets inertes (gravats, graviers, béton ...);
- Des déchets industriels, et divers objets métalliques ferreux et non ferreux ;
- Et même des déchets dangereux engendrant des risques de contamination des eaux et des sols (produits chimiques, médicaments, piles, batteries ...) mais également des risques de contamination des hommes notamment ceux qui interviennent sur la décharge (déchets infectieux ...).

### IV.2.5 Impact de la décharge sur l'environnement

L'exploitation de la décharge est source de multiples nuisances à l'environnement, dont on peut citer les plus importantes :

- Tout d'abord, il n'existe aucun système de drainage des lixiviats. Déjà, la décharge avait été, à l'origine, installée en l'absence de toute réglementation environnementale, et sans soucis quant aux risques que cela pourrait représenter pour les sols et la nappe phréatique, compte tenu de la présence constatée d'une couche d'argile. Par ailleurs, la présence en certains endroits, d'eaux de pluie mélangées aux eaux de percolation, laisse deviner une importante pollution de la nappe phréatique ;



➤ La décomposition des importantes quantités de déchets organiques mis en décharge engendrent une production de méthane, qui peut rester emprisonné sous les déchets compactés en grandes quantités. Cette situation engendre des risques importants d'explosion et d'incendies. Des feux couvant sont ainsi souvent observés, et peuvent durer jusqu'à deux mois selon les disponibilités de terres pour recouvrir les déchets déposés. Aucune action n'a été prise pour évaluer les risques réels, et entreprendre les mesures adaptées ; les quelques initiatives de l'équipe exploitante (dont la réalisation de torchères de fortune ...) restant très insuffisantes.

De plus, la mauvaise couverture des déchets est également à l'origine de nombreuses autres nuisances comme :

- La présence de matière organique qui attire des oiseaux (mouettes, moineaux, pigeons et étourneaux), insectes (mouches, moustiques ...), et autres parasites présents sur la décharge (rats, vermines ...) ;
- Les gênes liées à l'envol des déchets légers ;
- Les risques de transmission de maladies liés à la prolifération de rongeurs et de larves, ou les risques d'intoxication liés à la contamination des terres agricoles environnantes ;
- Les fortes émissions de fumées jugées à l'origine de troubles respiratoires et oculaires observés tant chez les employés de la décharge que chez d'autres personnes habitant en proximité ;
- L'aggravation des risques sanitaires engendrés par les émissions de fumées, liées aux interventions illicites des chiffonniers brûlant les câbles en vue de la récupération de métaux (notamment le plomb et le cuivre).

Face à cette situation, aucune mesure n'est prise pour assurer la protection des sols et des eaux souterraines, ou la réduction des émissions d'odeurs, de fumées toxiques et de gaz. La couverture de déchets, réalisée par déversement de gravats et de remblais étant d'ailleurs tout à fait insuffisante. S'y ajoute le dépôt sur la décharge, et sans le moindre contrôle, de déchets industriels parfois toxiques, et d'autres déchets dangereux.

En somme, la situation globale de la décharge (notamment les conditions de son exploitation) est assez alarmante, compte tenu de la quantité importante des déchets qui sont entreposés, de la nature de ces déchets (déchets industriels et déchets dangereux), ainsi que du non-respect flagrant des normes environnementales (écoulements de lixiviats, émission de fumées nocives, risques d'explosion, risques de santé ...) (**MATE, 2008**).

## CHAPITRE V

# MATERIEL ET METHODES

### V.1 VOLET BIOREMEDIATION

#### V.1.1 Méthodologie

L'objectif de notre investigation est d'étudier de près le métabolisme microbien qui s'accompagne avec la bioremédiation d'un sol sablonneux contaminé par du gasoil et, durant une période de 90 jours. La technique suivie de la bioremédiation est la biopile dont le principe consiste à optimiser les conditions de biodégradation du contaminant dans le sol après excavation (ex-situ).

Notre travail consiste en:

- Un échantillonnage (excavation du sol et préparation du sol) ;
- Une caractérisation physicochimique du sol ;
- Une analyse microbiologique ;
- Une caractérisation des hydrocarbures par infra-rouge;
- Une bioaugmentation du sol enrichi par bioréacteur ;
- Un traitement en biopile ;
- Un suivi des agents responsables de la biodépollution (Bactéries, levures et champignons);
- Une modélisation des cinétiques de la croissance des microorganismes et de la biodégradation des hydrocarbures.

Afin de confirmer le choix de la biopile comme procédé de bioremédiation le mieux adapté à notre sol, il est important de réaliser une étude de faisabilité. Pour cela, nous nous sommes attelés à l'étude des points suivants :

- Le type de contaminant à l'origine de la pollution ;
- Le degré de contamination ;
- La capacité maximale de rétention d'eau du sol,
- Le nombre de micro-organismes par gramme du sol ?
- Le pourcentage de l'argile dans le sol ?

Pour cela, nous avons effectué des caractérisations physico-chimique, microbiologique et granulométrique du sol afin d'estimer son pouvoir auto-épurateur.

Les différentes étapes du protocole expérimental sont représentées sur la figure V.1.

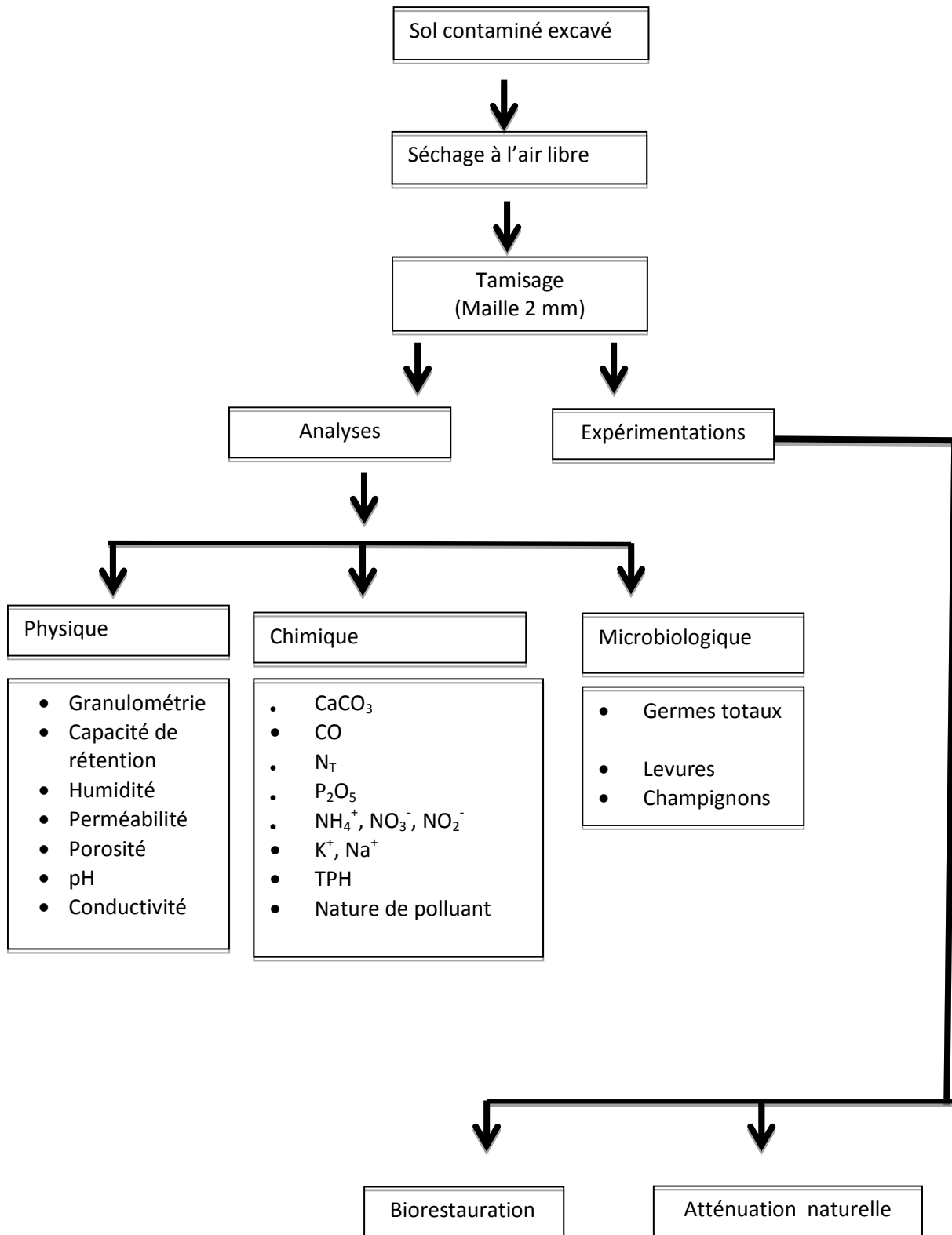


Figure V-1: Les différentes étapes du protocole expérimental.

## V.1.2 - Matériel

### V.1.2.1 Description de la biopile

La biopile a été réalisée au niveau du laboratoire des Biotechnologies Environnementales et Génie des Procédés de l'École Nationale Polytechnique. Elle se compose essentiellement d'une surface imperméable légèrement inclinée (un système en pente). Celle-ci est aménagée en cuvette de rétention, avec un drain de récupération afin de recueillir les eaux de lixiviation qui seront éventuellement recyclées et d'une toile perforée (semi-perméable) appliquée sur la biopile.

Le dispositif est muni d'un système d'aération constitué de pompes type aquarium. L'humidité et les nutriments sont assurés par arrosage.

Le dispositif expérimental est représenté sur la figure V.2

### V.1.2.2- L'expérimentation

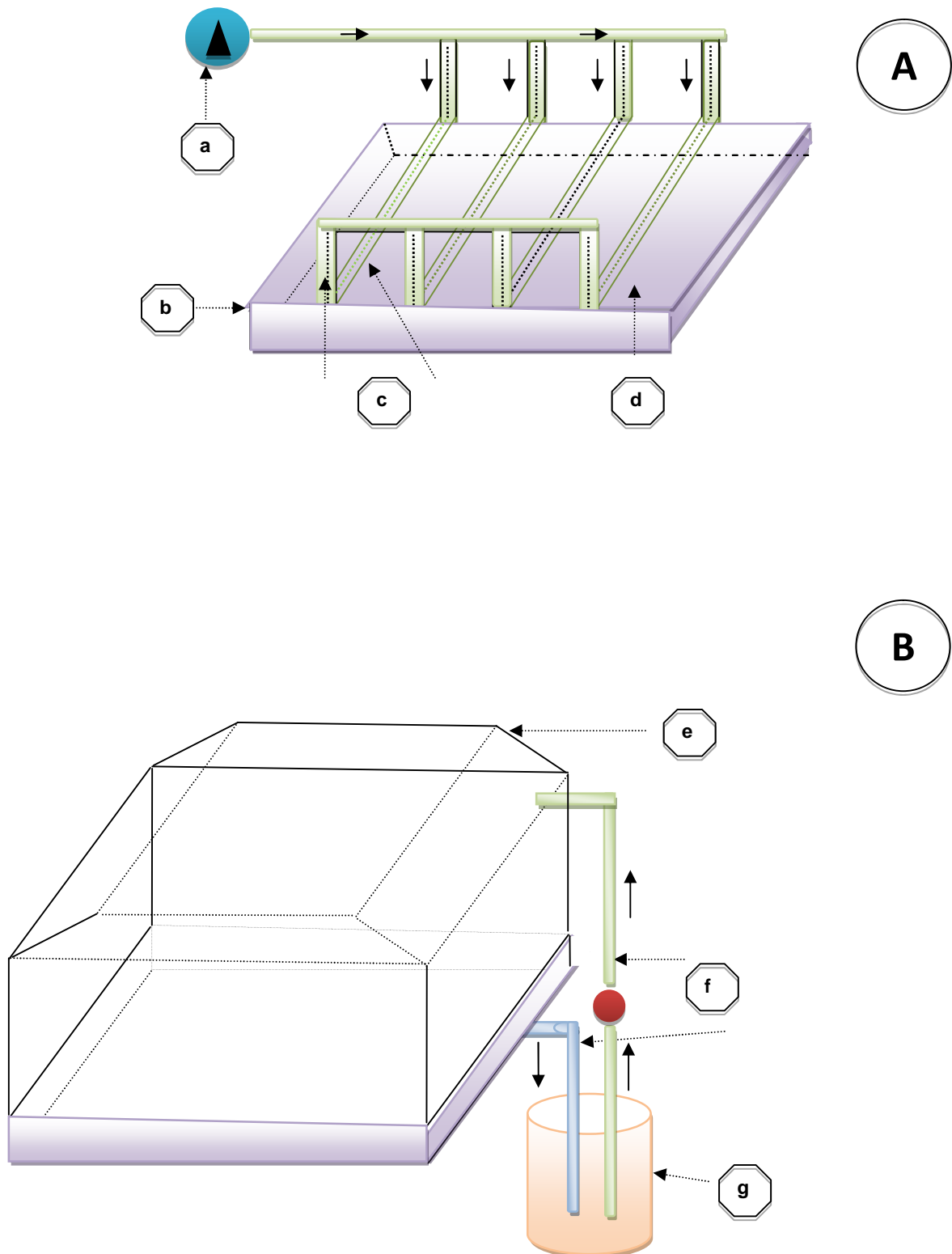
Elle repose sur la préparation de deux types d'essais: Un essai témoin où le sol pollué est décontaminé par l'atténuation naturelle sans aucun apport extérieur en nutriments et sans aération et les essais en biopile.

Les produits utilisés dans l'alimentation nécessaires pour la croissance des microorganismes dans la biopile sont l'urée comme source d'azote et le  $K_2HPO_4$  comme source de phosphore. Les quantités de chaque entité sont évaluées sur la base du rapport C/N/P fixé à 100/10/1 recommandé par plusieurs auteurs (**De la Torre-Sanchez *et al*, 2006; Kriipsalu *et al*, 2007**).

Les nutriments sont dissous dans de l'eau déminéralisée destinée à assurer et maintenir l'humidité dans un intervalle entre 15% et 25% (**Gallego *et al*, 2011**). La source de carbone est fournie par le contaminant lui-même.

Afin de réduire le temps de traitement du sol en biopile, nous avons opéré dans un premier temps un enrichissement biologique des sols contaminés. Le sol enrichi y est préparé à raison de 1% du poids total du sol contaminé, auquel nous rajoutons les nutriments selon le rapport C/N/P fixé à 100/10/1; le tout transféré dans un réacteur contenant de l'eau déminéralisée à raison de 10% (sol/eau).

Les réacteurs sont incubés à 25°C, sous agitation pendant trois jours. Le sol ainsi enrichi est ensuite mélangé au sol à traiter et va servir d'inoculum pour le traitement en biopile.



**Figure V- 2 : Schéma synoptique de la biopile :**

*A- système d'aération et la plateforme. B- Cuvette de rétention.*

***a**-Compresseur, **b**- Pente, **c**- Tuyauterie perforée en PVC, **d**- Dalle imperméable, **e**- Toile perforée, **f**- Collecte et recyclage du lixiviat, **g**- Réservoir.*

Au cours du traitement, un contrôle hebdomadaire de différents paramètres est réalisé afin d'agir sur les critères suivants :

- 1) Le maintien de l'humidité entre 15 et 25% ;
- 2) L'apport en nutriments si nécessaire, afin de maintenir le rapport C/N/P constant.

Les prélèvements sont effectués à des intervalles de temps réguliers (tous les trois jours durant les deux premières semaines, ensuite une fois par semaine) pendant le cycle de traitement d'une durée de trois mois, dans le but d'évaluer la croissance et le métabolisme cellulaire.

Au cours du traitement, nous avons axé le suivi sur les paramètres suivants :

1. Le pH ;
2. La teneur en hydrocarbures (TPH) ;
3. Le carbone organique ;
4. Le phosphore assimilable ;
5. Les différentes formes d'azote ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ) ;
6. L'azote total ;
7. Le dénombrement des germes totaux (bactéries), champignons et levures.

Les différentes étapes du protocole expérimental de la biorestauration sont représentées sur la figure V-3

### V.1.2.3- La terre polluée

Le sol contaminé a été échantillonné à partir d'un site ancien d'une raffinerie de pétrole en Algérie. Le sol contaminé est un mélange de terre et de matériaux stockés sur le site. L'échantillonnage est réalisé sur les 20 premiers centimètres du sol contaminé. Le prélèvement est effectué selon la norme **AFNOR (1987)** dont le principe consiste à exécuter un certain nombre de prélèvements élémentaires dans une zone présumée homogène et à une couche de profondeur donnée.

Cet échantillon est par la suite acheminé au laboratoire où il est stocké à température ambiante en vue d'être étudié. La préparation de l'échantillon pour les essais est réalisée selon la norme **AFNOR (1987)**, les échantillons sont mélangés, séchés à l'air libre, et tamisés (maille 2mm) afin d'éliminer les débris rocailloux. Ils sont ensuite conservés dans un endroit sec et à l'abri de la lumière.

### V.1.3. Méthodes

#### V.1.3.1- Analyses du sol

L'analyse physico-chimique et la caractérisation granulométrique du sol à traiter sont réalisées selon les normes **AFNOR (1979 et 1987)** et les méthodes décrites par **Aubert (1978)**.

#### V.1.3.2-Analyse granulométrique :

L'analyse granulométrique du sol est déterminée suivant la norme **(NF X 31-107)** qui a pour principe la mise en suspension des particules minérales, la séparation des différentes classes de particules par sédimentation et enfin les prélèvements des fractions fines par la méthode de la pipette **(AFNOR, 1987)**.

#### V.1.2.3-La capacité de rétention en eau :

Elle représente la fraction d'eau emmagasinée dans les micropores. La capacité de rétention en eau est mesurée selon la méthode par pression dont le principe repose sur la détermination de la quantité d'eau d'un échantillon de sol retenue sous une force de rétention n'excédant pas  $1000 \text{ g/cm}^2$  **(Aubert, 1978)**.

#### V.1.2.4-La conductivité électrique:

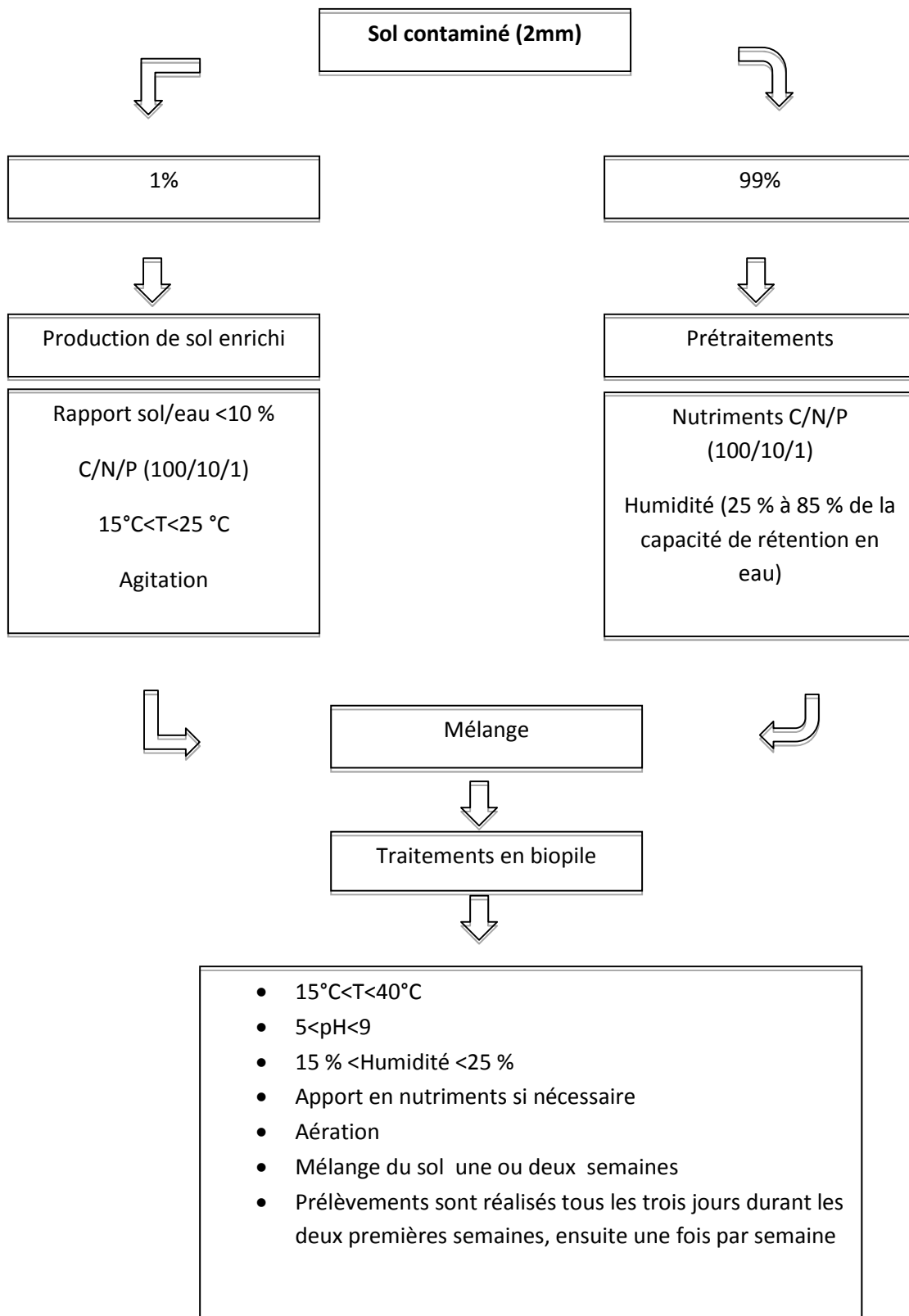
La présente norme repose sur l'extraction des sels solubles dans l'eau à partir d'un échantillon de terre, , dans des conditions bien définies et dans un rapport terre sèche/eau égale à 1/5 **(NF X 31-113, AFNOR, 1987)**.

#### V.1.2.5-Le pH:

C'est la mesure du pH par la méthode électrométrique. Elle s'effectue dans des conditions déterminées (rapport massique prise d'essai /solution : 1/2,5) de la différence de potentiel existant entre une électrode de mesure et une électrode de référence plongée dans une suspension aqueuse de l'échantillon de sol **(NF X 31-103, AFNOR, 1987)**.

#### V.1.2.6-L'humidité :

Elle est basée sur la différence de poids de la prise d'essai avant et après séchage à  $105^\circ\text{C}$ . La teneur en matière sèche est calculée à partir de l'humidité selon la norme **(NFX 31-102, AFNOR, 1987)**.



**Figure V-3: Les différentes étapes du protocole expérimental de la Biorestauration.**



**V.1.2.7-Détermination de la porosité :**

La porosité totale d'un sol est égale au volume des vides exprimé en % du volume total. Elle permet d'apprécier la perméabilité et l'aération d'un sol. La mesure est réalisée selon la méthode des densités (Aubert, 1978).

**V.1.2.8- Détermination de la perméabilité :**

Dans un tube de verre ouvert aux deux extrémités, on place une certaine quantité de la terre fine obtenue après traitement particulier du prélèvement. Au travers de celle-ci on fait passer de l'eau sous une charge constante. La quantité d'eau recueillie permet de calculer un coefficient K exprimée en cm/h (hauteur d'eau infiltrée par heure sous une charge de 1cm et au travers d'une colonne de terre d'une épaisseur de 1cm) (Aubert, 1978).

**V.1.2.9-Evaluation du calcaire total « CaCO<sub>3</sub> »**

Elle consiste en la détermination volumétrique du dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) dégagé sous l'action d'un acide fort à température ambiante (du laboratoire) par l'échantillon de terre préparé pour essai (AFNOR, 1987, NF X 31-105).

**V.1.2.10-Le carbone organique « CO »**

La méthode dite de "Anne" décrite dans la norme NF X31-109 est utilisée pour déterminer le carbone organique dans les sols. Cette méthode permet le dosage direct du Carbone organique par colorimétrie après oxydation de la matière organique par du bichromate de potassium en excès, en milieu sulfurique et à 135°C. En effet, la quantité de chrome III+ formée est proportionnelle à la teneur en carbone organique présente dans le sol. La teneur en matières organiques est évaluée en multipliant la teneur en carbone organique par un coefficient de 1.7.

**V.1.2.11-Détermination des cations échangeables:**

Les normes (NFX31-108) ou (NF X 31-130)(AFNOR, 1987)., ont pour principe l'extraction des cations du sol par agitation de la prise d'essai à l'aide d'une solution d'acétate d'ammonium à pH 7 avec un rapport de mélange d'extraction de 1/20 (m/v). Le dosage des cations K<sup>+</sup> et Na<sup>+</sup> est réalisé par spectrophotométrie de flamme.

**V.1.2.12-Dosage du phosphore « P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> »:**

Le dosage du phosphore est déterminé selon la méthode Olsen dont le principe repose sur l'extraction des formes de phosphore solubles par une solution de bicarbonate de sodium (0,5N), dans des conditions déterminées (solution d'extraction à pH 8,5 et rapport prise d'essai/solution : 1/20 (m/v)) suivant la norme NFX31-116 (AFNOR, 1987).

**V.1.2.13- Dosage de l'azote total « N<sub>T</sub> » :**

La teneur en azote total est déterminée par la méthode Kjeldahl. La norme utilisée **NF X 31-111 (AFNOR, 1987)** a pour principe de minéraliser l'azote organique par l'acide sulfurique en présence d'un activateur de minéralisation, distillation de l'azote ammoniacal formé et titrage dans une solution d'acide borique.

**V.1.2.14-Dosage de l'azote minéral (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> et NO<sub>2</sub><sup>-</sup>):**

Le dosage repose sur l'extraction de l'azote ammoniacal, l'azote nitrique et l'azote nitreux présents dans le sol par une solution de KCl (2N). L'azote ammoniacal et l'azote nitrique sont dosés successivement dans le filtrat par distillation au Büchi, en présence d'oxyde de magnésium (MgO) calciné et de l'alliage de Dewarda (**Aubert, 1978**).

L'azote nitreux est déterminé dans le filtrat selon la norme **NF T 90-013 (AFNOR, 1979)** dont le principe est une diazotation de la sulfanilamide par les nitrites, en présence de dichlorure de N-(1-naphtyl) éthylène-diamine.

**V.1.2.15-Analyse des hydrocarbures:**

Plusieurs facteurs peuvent affecter la dégradation des hydrocarbures, en particulier la teneur en huile est un facteur important dont il faut tenir compte pour déterminer si la bioremédiation est une solution viable (**Zahed et al, 2010, 2011**).

Pour déterminer la teneur en hydrocarbures dans notre sol, nous avons procédé tout d'abord à l'extraction des hydrocarbures présents dans le sol (2g) par le tétrachlorure de carbone (50 ml). L'extraction est réalisée dans un extracteur Soxhlet TECH (**SOXTEC System HT (1043-Extraction Unit Tecator)**). Après extraction, l'extrait est recueilli dans du sulfate de sodium anhydre puis filtré sur une colonne qui contient du **florisil®** 60-100mesh afin d'éliminer les composés polaires.

La teneur en hydrocarbures de l'extrait purifié est dosé par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (**SIR MAGNA-IR-560 FTIR** double faisceaux (**Nicolet**)), selon un logiciel de quantification **CxHx®** suivant la norme (**NF T 90-114**) améliorée par la firme Nicolet© pour les sédiments. Cette présente norme a pour objet le dosage des hydrocarbures totaux (TPH) des produits hydrocarbonés extractibles par le tétrachlorure de carbone en milieu acide, non retenus sur l'agent adsorbant et donnant un maximum d'adsorption dans la région de 3290 à 3510 nm.

L'identification des composés extraits est effectuée par chromatographie en phase gazeuse avec un détecteur **FID (GC CHROMPACH CP 9001)**, après avoir concentré l'extrait purifié. Les conditions opératoires sont :

- colonne capillaire en silice fondue de 50m (0,32mm de diamètre interne et 0,40µm épaisseur du film),
- injecteur split (T= 315°C),
- détecteur FID (T= 325°C),
- température de la colonne : 35°C pendant 5mn puis programmation à 6°C/mn jusqu'à 310°C,
- gaz vecteur : hélium, 1,5ml/mn sortie colonne,
- quantité injectée : 0,6µl.

#### V.1.2.16-Analyse microbiologique :

Afin d'estimer le pouvoir auto-épuration du sol, nous avons dénombré les germes totaux (bactéries) sur gélose nutritive, après incubation à 30°C pendant 24 à 48h. Par contre, les mycètes (champignons, levures) sont dénombrés sur milieu gélosé à base d'oxytétracycline (OGA), après incubation à 20°C pendant 5 jours. Le dénombrement des colonies se fait à l'aide d'un compteur de colonies. Avant de procéder à l'ensemencement, les microorganismes sont extraits par la mise en suspension d'un gramme (1g) de sol dans 10ml d'eau physiologique et ensemencées sur chaque milieu, après dilutions (1/10<sup>ème</sup>).

#### V.1.3. Cinétique microbienne

##### V.1.3.1 Modélisation de la biodégradation :

La dégradation des hydrocarbures est typiquement représentée par la réaction d'ordre un :

$$\ln [\text{HC}] = -k t + \ln [\text{HC}]_0 \Rightarrow [\text{HC}] = [\text{HC}]_0 e^{-kt} \quad (\text{V.1})$$

Où  $[\text{HC}]_0$  est la concentration des hydrocarbures à l'instant  $t_0 = 0$ .

La concentration des hydrocarbures diminue exponentiellement en fonction du temps et par conséquent celle des produits de dégradation augmente exponentiellement en fonction du temps.

Le temps de demi-vie (appelé aussi temps de demi-réaction) est défini comme le temps nécessaire pour consommer la moitié de la concentration des réactifs. Il est obtenu à partir de la relation suivante pour le cas d'une réaction d'ordre 1.

$$t_{1/2} = \ln(2)/k \quad (\text{V.2})$$

Une représentation de  $\ln([\text{HC}]) = f(t)$  est une droite de pente  $-k$ . Pour une réaction d'ordre un, la constante de vitesse  $k$  a les dimensions d'un  $[\text{temps}^{-1}]$ .

### V.1.3.2 Paramètres de la croissance :

Les paramètres de la croissance sont calculés selon la méthode utilisée par **Liwarska-Bizukojc *et al* (2001)**. Le taux de croissance des microorganismes est calculé à partir de la relation suivante:

$$X=X_0 e^{\mu t} \quad (V.3)$$

## V.2 : VOLET REHABILITATION DE LA DECHARGE

### V.2.1. Matériel

#### V. 2.1.1 La collecte des lixiviats

Les lixiviats ont été récoltés au cours de la période 2009-2011 à différents endroits distincts de la décharge. Les lixiviats 1 et 2 sont collectés à la sortie d'un tuyau de drainage durant la période allant de février à juin 2009, juste avant la fermeture officielle de la décharge. Tandis que les autres lixiviats sont prélevés durant la période 2010-2011, après la fermeture de la décharge.

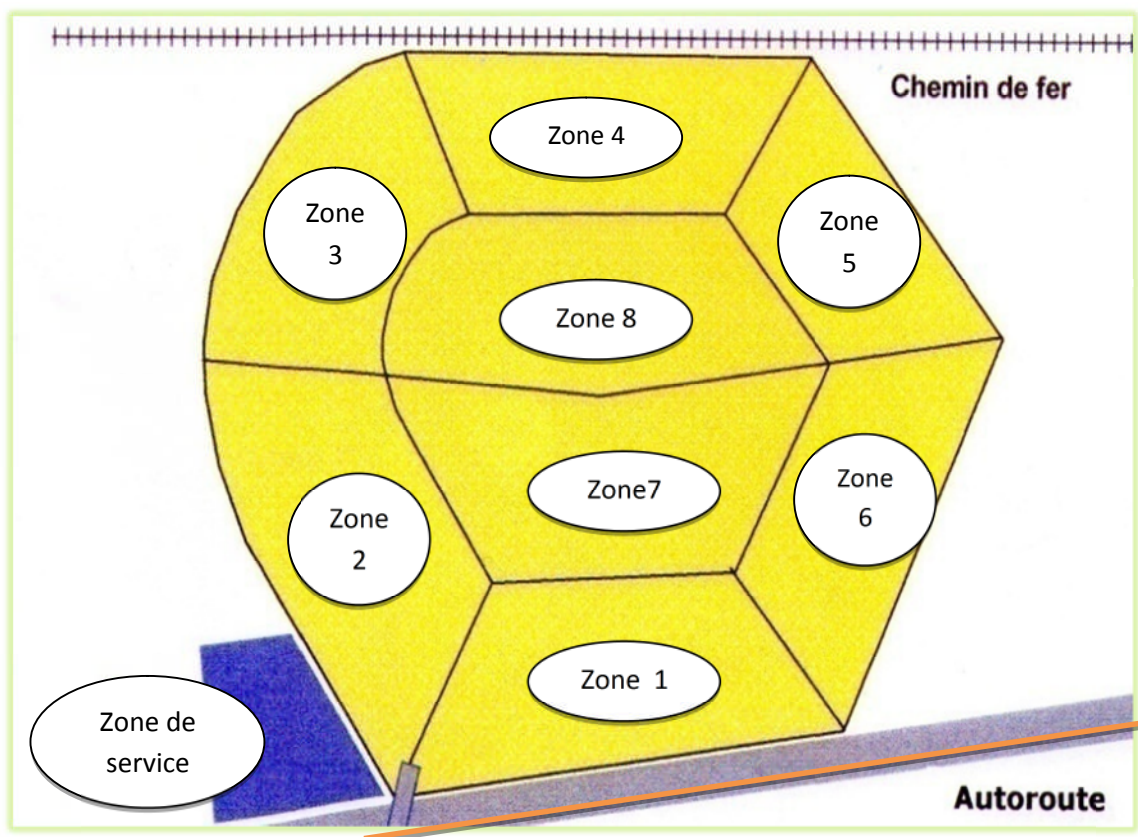


Figure V.4 : Schéma de la décharge après son réaménagement.

Après sa fermeture, la décharge d'Oued Smar, a été agencée et divisée en huit zones : six à la périphérie et deux au centre. Ceci pour une meilleure exploitation du site (**Figure V.4**). Les lixiviats 3 et 4 proviennent des zones 3 et 8 et sont collectés en surface, tandis que le lixiviat 5 est issu de la zone 1, récolté après forage à 28m de profondeur de la décharge.

Dès l'arrivée des lixiviats au laboratoire, ils sont répartis dans des récipients en plastique et stockés dans le congélateur afin de limiter l'activité microbienne sur la composition des prélèvements.

#### **V. 2.1.2-Les supports photocatalytiques**

Lors des expériences réalisées, nous avons utilisé un média photocatalytique **1048®**. Il est commercialisé par la compagnie Ahlstrom® qui est l'une des rares entreprises qui maîtrise la technique de fixation du  $TiO_2$  sur différents supports. Le média 1048® est un support cellulosique fibreux enduit de  $TiO_2$ , de silice et de zéolithe. La silice joue le rôle de liant inorganique qui assure l'adhésion du  $TiO_2$  à la surface du support, l'incorporation de la zéolithe au mélange  $TiO_2$ - $SiO_2$  permet d'augmenter la capacité d'adsorption du média.

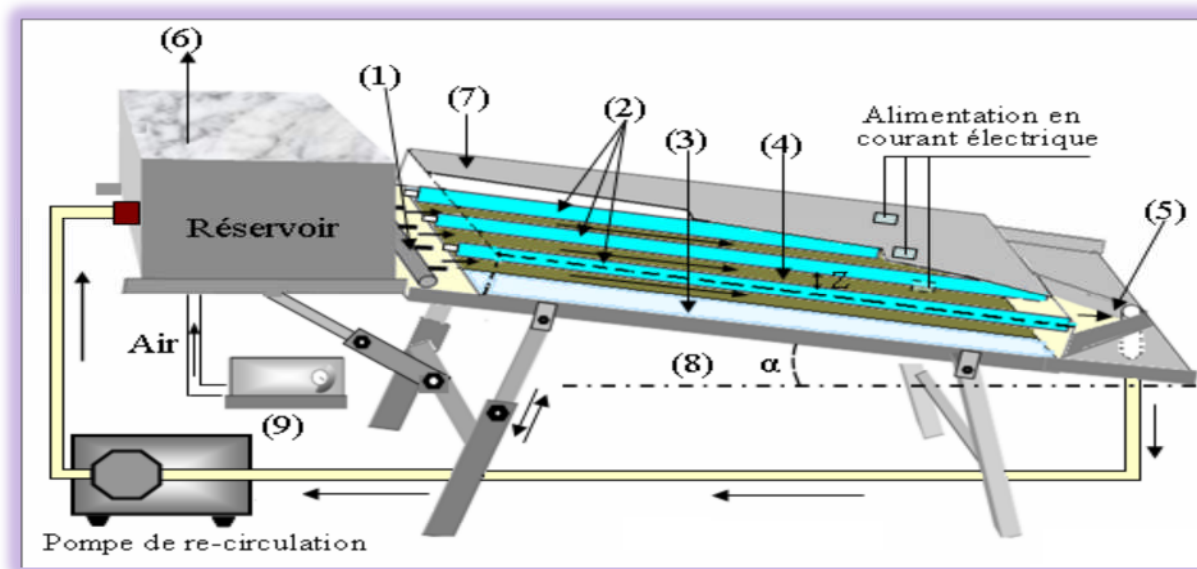
#### **V.2.1.3-Dispositif expérimental**

Le dispositif expérimental a été conçu au niveau du laboratoire des Biotechnologies Environnementales et Génie des Procédés BIOGEP. Les expériences menées en photocatalyse ont été réalisées en mode discontinu dans un réacteur photocatalytique avec un écoulement à film tombant le long d'une plaque en verre fonctionnant en recirculation.

Le photoréacteur est composé d'un châssis en acier muni d'un réservoir d'une capacité de 3L, d'une plaque en verre inclinée recouverte du média photocatalytique 1048 sur lequel circule le lixiviat à traiter et d'un couvercle sous lequel sont fixées les trois lampes UV-C OSRAM HNS 15 W. Une distance minimale, entre le support du catalyseur et la lampe est fixée d'une manière à ce que le rayonnement lumineux délivré par les lampes UV diffuse sur toute la surface du réacteur.

Le débit du lixiviat à traiter et la pente d'inclinaison sont modulables. La bonne répartition du lixiviat sur toute la surface du support du catalyseur, lors de son écoulement est assurée par un distributeur muni d'une vanne. L'agitation de la solution à traiter est assurée par un agitateur à hélice, et l'oxygénation du milieu se fait par diffusion d'air généré par une pompe d'air.

Un schéma simplifié du photoréacteur est représenté sur la figure V.5.



**Figure V.5 : Schéma du photoréacteur utilisé lors de cette étude.**

- (1) Distributeur avec vannes, (2) Lampes UV, (3) plaque en verre, (4)  $\text{TiO}_2$  fixé sur le tissu, (5) Point de prélèvement, (6) Collecteur, (7) Porteur de lampes, (8) Pente modulable, (9) Pompe de barbotage

#### IV.2.2-Traitement photocatalytique

Durant le traitement photocatalytique le réacteur est maintenu à l'obscurité pour que le  $\text{TiO}_2$  n'ait pas d'activité photocatalytique parasite. Le pH est un facteur déterminant lors de cette étude.

L'influence du pH sur les performances du procédé de photocatalyse hétérogène  $\text{TiO}_2/\text{UV}$  a été réalisée en faisant varier sa valeur de 6 à 5. Dans un premier temps, nous avons lancé un traitement sans modification préalable de pH.

Dans un deuxième temps, deux essais sont réalisés à pH 6 : le premier à pH 6 maintenu constant durant toute la durée du traitement au moyen de l'addition de l'acide sulfurique  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1N. Le second, l'échantillon est ramené initialement au début du traitement à pH 6 et nous avons suivi son évolution au cours du traitement. Deux autres expériences sont réalisées à pH 5 en suivant la même démarche que pour le pH 6.

A des intervalles de temps réguliers (toutes les 3 heures), des prélèvements sont effectués afin de les soumettre aux différentes analyses. Les paramètres suivis au cours

du traitement sont le pH, la DCO, l'azote ammoniacal. Les techniques analytiques sont conformes aux méthodes standards (Standards Methods, 1999) et aux normes standardisées décrites dans le tableau V.1.

### **V.2.3-Traitement biologique des lixiviats irradiés**

#### **V.2.3.1- Etude de faisabilité**

Des expériences ont été réalisées en utilisant des boues activées prélevés au niveau des stations d'épuration de Tizi Ouzou et de Beni Messous. Le but de ces expériences est de tester la faisabilité du traitement biologique des lixiviats irradiés par POA.

#### **V.2.3.2-Traitement par bioréacteur aérobie**

Dans le cadre du traitement biologique, deux types d'inoculum microbien ont été utilisés : L'un provient du lixiviat brut de la décharge d'Oued Smar et l'autre provient de l'extrait de sol de la même décharge. Ces résultats seront comparés à ceux observés dans le cas d'un traitement classique par les boues activées.

Le traitement biologique a consisté en la mise en place de trois bioréacteursensemencés par différents inoculas à savoir le lixiviat brut, l'extrait de sol et enfin les boues activées. Avant d'entamer le traitement biologique, une phase d'adaptation des microorganismes au lixiviat irradié est nécessaire dans le but de réduire le temps de traitement dans les bioréacteurs. Cette phase a consisté à mettre le lixiviat brut, l'extrait de sol de la décharge d'Oued Smar et les boues activées en contact avec le lixiviat irradié à raison de 50% du volume total du lixiviat irradié, auquel nous rajoutons les nutriments selon le rapport C/N/P fixé à 100/10/1. Les inoculas sont incubés à température ambiante sous agitation pendant 3jours et l'aération est assurée par une pompe aquarium.

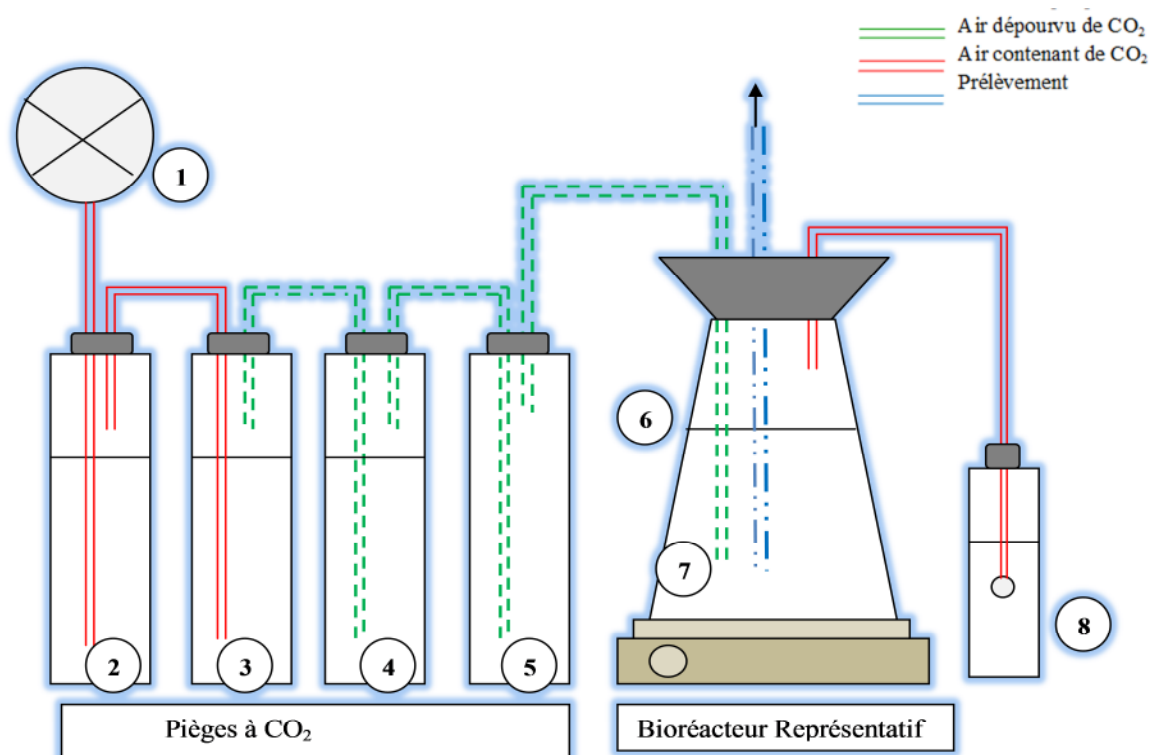
Les précultures ainsi préparées seront transférées dans des ErlensMeyers contenant le lixiviat irradié. Les cultures sont incubées à température ambiante sous agitation, l'aération est assurée par un compresseur (**Figure V.6**). Au cours du traitement, de l'urée et du  $K_2HPO_4$  sont ajoutés comme source d'azote et de phosphore selon le rapport C/N/P fixé à 100/10/1, pour stimuler la biodégradation de la matière organique. Certains paramètres font l'objet d'un suivi régulier afin d'évaluer la croissance et le métabolisme cellulaire à savoir le pH,  $NO_3^-$ ,  $NO_2^-$ ,  $NH_4^+$ , DCO, COT et  $CO_2$  dégagé lors de la biodégradation de la matière organique dans les bioréacteurs.

La croissance est évaluée par turbidimétrie en mesurant la densité optique de la biomasse à 600 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Le dispositif de déplacement du



CO<sub>2</sub> utilisé est inspiré de celui conçu par **Namkoong *et al* (2002)** (Figure V.6). Il comprend un compresseur à air relié à un premier récipient contenant une solution de baryte Ba(OH)<sub>2</sub>, lequel est relié à un second récipient contenant de la soude.

La baryte et la soude servent à capter le CO<sub>2</sub> de l'air. L'air privé de CO<sub>2</sub> traverse ensuite un récipient contenant de l'eau et un autre récipient vide pour éviter de contaminer les bioréacteurs. Chaque bioréacteur est relié à une solution de soude 4N servant à capter le CO<sub>2</sub> dégagé par l'activité microbienne et déplacé par l'air. Le CO<sub>2</sub> reflétant l'activité microbienne du lixiviat irradié est fixé par une solution de soude 4N. Cette dernière est ensuite titrée volumétriquement par une solution HCl 4N en présence de BaCl<sub>2</sub> 3N et de phénolphaléine. L'excès de NaOH qui n'a pas réagi avec le CO<sub>2</sub> dégagé pendant le barbotage est comparé à celui de l'essai témoin. La différence du volume de HCl correspond au volume de NaOH ayant réagi avec le CO<sub>2</sub> dégagé lors de la biodégradation.



**Figure V.6: Le dispositif expérimental.**

**(1) Air, (2) BaOH<sub>2</sub>, (3) Solution NaOH 4N, (4) Eau distillée, (5) Vide, (6) Bioréacteur contenant le lixiviat irradié, (7) Diffuseur d'air, (8) CO<sub>2</sub> émis capté par la solution NaOH 4N.**



### V.2.4 -Mesure des paramètres globaux des effluents aqueux

Les lixiviats étudiés sont caractérisés selon les méthodes normalisées (AFNOR, 1979; Standard Methods, 1999). Ces méthodes sont énumérées dans le tableau V.1

**Tableau V.1** : Tableau récapitulatif des méthodes d'analyse mise en œuvre.

Paramètres	Normes
pH	NF T 90-008 (2001)
Conductivité	2510 Standard Methods
Alcalinité	Norme EN ISO 9963-1
MES	NF T 90-105
Chlorures	NF T 90-014
Azote kjeldahl	NF EN 25663
Azote ammoniacal	ISO 7150/1-1984
Nitrates	NFT 90-012
Nitrites	NFT 90-013
Les orthophosphates	NF EN 1189
DCO	MA.315-DCO1.0
DBO <sub>5</sub>	MA.315-DBO1.1
Métaux lourds	Digestion Acide nitrique/Acide sulfurique (3030G), Standard Methods
COT et COD	MA.300-C1.0
Test de toxicité	ISO 11348-1 (1998)

#### V.2.4.1- pH et conductivité

Le pH des échantillons a été mesuré sous agitation magnétique à l'aide d'un pH mètre de marque HANNA, modèle pH 211, calibré avec deux solutions tampon de pH 4 et 7 selon la norme **NF T90-008 (AFNOR, 2001)**. La conductivité a été mesurée à l'aide d'un conductimètre de marque HANNA, modèle EC 214 à 25°C.

#### V.2.4.2-Dosage de la matière en suspension (MES)

La norme **NFT 90 – 105** a pour principe la séparation de la matière en suspension les eaux usées et les effluents par centrifugation suivie d'un séchage à 105°C. Le résidu obtenu après séchage est ensuite pesé.

#### V.2.4.3- Dosage des chlorures

Les chlorures sont dosés selon la norme (NF T 90-014). Les chlorures sont dosés par les nitrates d'argent en présence de chromate de potassium comme indicateur.

#### V.2.4.4- Détermination de l'alcalinité

La détermination de l'alcalinité a été réalisée suivant la norme **(EN ISO 9963-1)**. Elle repose sur le dosage des différentes formes chimiques responsables de l'alcalinité d'une eau ( $\text{OH}^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ) par titration à l'aide d'un acide. Il est à noter que la détection du point de virage est réalisée à l'aide d'un pH-mètre ce dernier est moins sujet aux interférences que l'usage d'un indicateur.

#### V.2.4.5- Dosage de l'azote Kjeldahl par minéralisation au sélénium

L'azote Kjeldahl est dosé par distillation après une minéralisation. Dans un premier temps, l'azote organique est minéralisé par de l'acide sulfurique à ébullition en présence d'une concentration élevée de sulfate de potassium et de sélénium comme catalyseur. Cette minéralisation n'est pas efficace sur toutes les formes d'azote organique et les formes azide, azine, hydrazone, nitrite, nitrée, ne sont pas dosées en totalité.

L'azote des composés hétérocycles également n'est pas complètement minéralisé. L'azote ammoniacal formé en milieu acide sulfurique se trouve sous forme de sulfate d'ammonium qui s'ajoute à l'azote ammoniacal présent dans l'eau à analyser. Après la minéralisation, le minéralisât contient uniquement des ions  $\text{NH}_4^+$ . Le dosage se fait par distillation puis titration à l'acide chlorhydrique **(Norme NF EN 25663)**.

#### V.2.4.6- Dosage de l'azote ammoniacal ( $\text{NH}_4^+$ )

Le dosage de l'azote ammoniacal est réalisé suivant la méthode **(Norme ISO 7150/1)** qui repose sur le principe de la mesure spectrophotométrique à une longueur d'onde de 655 nm d'un composé bleu formé par la réaction de l'ammonium avec les ions salicylate et hypochlorite en présence de nitroprussiate de sodium comme catalyseur.

#### V.2.4.7- Dosage des nitrates ( $\text{NO}_3^-$ )

**La Norme NF T 90 012** a servi comme méthode de dosage des nitrates. Elle se base sur la réaction des nitrates avec l'acide sulfosalicylique (formé par addition à l'échantillon, de salicylate de sodium et d'acide sulfurique), le dérivé obtenu donne, en présence d'ammoniaque, une coloration jaune stable qui peut être suivie spectrophotométrique à une longueur d'onde voisine de 415nm

#### V.2.4.8- Dosage des nitrites ( $\text{NO}_2^-$ )

Le dosage des nitrites est suivie par complexométrie et selon la norme (**NF T90-013**), elle se base sur la réaction de diazotation de la sulfanilamide par les nitrites, en présence de dichlorure N-(1-naphtyl)-éthylène-diamine, en vue de la formation d'un complexe coloré rose dont l'intensité est mesurée au spectrophotomètre à une longueur d'onde voisine de 537 nm.

#### V.2.4.9- Dosage du phosphore

Les ions orthophosphates en solution acide et en présence d'ion molybdate et antimoine forment un complexe d'antimonyl-phosphomolybdate qui, après réduction par l'acide ascorbique, donne un complexe de molybdène fortement coloré en bleu. Le développement de la coloration est accéléré par l'utilisation d'un catalyseur, le tartrate double de potassium et d'antimoine (**NF EN 1189**). La mesure de l'absorbance de ce complexe se fait à 880nm et permet de déterminer la concentration en orthophosphates de l'échantillon par rapport à une gamme étalon.

#### V.2.4.10-Détermination de la demande chimique en oxygène (DCO)

La demande chimique en oxygène (DCO) est la mesure de la quantité d'oxygène requise pour oxyder la matière organique et inorganique oxydable contenue dans un échantillon. La matière oxydable contenue dans un échantillon est oxydée par chauffage à reflux en milieu fortement acide avec une quantité connue de bichromate de potassium dans une éprouvette fermée. La consommation d'oxygène par l'échantillon provoque un changement de couleur dont l'absorbance est proportionnelle à la quantité de bichromate de potassium réduit et se mesure en équivalent d'oxygène(**MA.315-DCO 1.1**).

#### V.2.4.11-Détermination de la demande biochimique en oxygène ( $\text{DBO}_5$ )

La  $\text{DBO}_5$  est la mesure de la consommation d'oxygène d'un effluent après cinq jours d'incubations à 20 °C. La consommation d'oxygène de l'échantillon provient de la dégradation des molécules organiques et de l'oxydation des molécules inorganiques comme les sulfures, les ions ferreux et les différentes formes de composés azotés. La méthode (**MA. 315 – DBO 1.1**) consiste à déterminer la quantité d'oxygène consommée par la matière oxydable à l'aide de bactéries acclimatées pendant une période de 5 jours d'incubation à une température de 20 °C. La concentration de l'oxygène dissous est mesurée par électrométrie. La quantité d'oxygène consommée est proportionnelle à la concentration de matières oxydables.

#### V.2.4.12-Dosage du carbone organique total (COT)

Pour l'analyse du carbone organique total (COT), tout comme le carbone organique dissous (COD), l'échantillon contenant des composés carbonylés est introduit dans un tube chauffé à 680 °C qui contient un catalyseur agissant comme oxydant. Les composés de combustion et de dégradation sont sous forme de CO<sub>2</sub>, qui est analysé par détection infrarouge et quantifié par comparaison à une courbe d'étalonnage. Le carbone organique dissous (COD) et le carbone organique total (COT) se réfèrent au carbone organique non volatile, qui est mesuré en acidifiant l'échantillon au préalable à l'aide de l'acide chlorhydrique 1 N et en y faisant barboter de l'air de qualité ultra pure 0.

#### V.2.4.13-Analyse des métaux par spectrométrie d'absorption atomique de flamme :

Les métaux de lixiviat (Fe, Pb, Cd, Mn, Zn et Cu) ont été déterminés par spectrophotométrie d'absorption atomique après une digestion préliminaire avec HNO<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> selon la méthode décrite dans Standard Methods **(3030 G. NitricAcid-SulfuricAcid Digestion)**.

#### V.2.4.14-Test de toxicité

La toxicité des lixiviats a été déterminée par le test Microtox selon la norme ISO 11348-1 (1998). Le principe repose sur la mesure de l'inhibition de la luminescence émise par la bactérie marine *Vibrio fischeri* NRRL B-11177 après sa mise en contact avec l'échantillon. L'inhibition est exprimée par les valeurs de dilution qui provoquent une diminution de la luminescence de 20% et 50% par rapport au témoin (CE<sub>20</sub> et CE<sub>50</sub>).

#### V.2.5-Analyse statistique

Afin d'évaluer les différentes interactions métaboliques observées lors de la biodégradation de la matière organique pendant le traitement biologique, une analyse statistique de type ACP (analyse en composantes principales) a été effectuée sur les paramètres suivis. Les ACP ont été réalisés à l'aide du logiciel Statistica® version 8.

## CHAPITRE VI

# ETUDE DE L'ASPECT MICROBIOLOGIQUE DE LA BIODEPOLLUTION DES SOLS CONTAMINES PAR LE GASOIL SUIVANT LE PROCEDE BIOPILE.

### VI.1 INTRODUCTION

Suite à la croissance de l'industrie et la demande inhérente en énergie, Il a été constaté ces dernières années une nette recrudescence des pollutions des sols par le pétrole brut et ses dérivés (**Udiwal et Patel, 2010**) ; ces déversements sont nuisibles à la santé humaine et à l'environnement (**CCME, 2008; Sanscartier et al, 2011**). Le devenir de ces produits pétroliers rejetés dans l'environnement est principalement régi par le processus de biodégradation qui est considéré comme le processus le plus important dans l'environnement (**Solano-Serena et al, 2001 ; Sanscartier et al, 2009**). La biodégradation des produits pétroliers rejetés dans l'environnement dépend non seulement de la biodégradabilité intrinsèque des polluants, mais aussi de la présence de micro-organismes « aptes » dans les sols (**Solano-Serena et al, 2001**). Ce procédé est reconnu comme très efficace pour le traitement des sols riches en composés pétroliers biodégradables (**Nano et al, 2003, Fallgren et al, 2008**).

Le succès de la bioremédiation dépend aussi bien des caractéristiques physico-chimiques du sol à traiter que des conditions environnementales. Ces caractéristiques sont déterminantes pour la croissance des microorganismes impliqués dans la biodégradation des hydrocarbures (**Costes et Druelle, 1997, De la Torre-Sanchez et al, 2006**).

Les interactions physiques et métaboliques de la communauté microbienne contribuent à la nature dynamique de ce système, en utilisant les différentes méthodes pour accéder aux hydrocarbures. Une compréhension de ces interactions est nécessaire aux développements des techniques de traitement par la biodégradation des hydrocarbures (**Van Hamme et Ward, 2001**).

Il est à noter que peu d'études ont été rapportées sur la contamination des sols sableux par les dérivés du pétrole. C'est dans ce cadre que vient s'inscrire notre étude, qui consiste en la bioremédiation d'un sol sableux pollué par du gasoil à l'aide d'une biopile durant une période de 83 jours. Une nouvelle approche est proposée dans l'interprétation des résultats de l'analyse microbiologique afin de mieux comprendre le comportement des microorganismes dans la biodégradation des hydrocarbures dans une biopile. Des interactions positives (synergie) et négatives (antagonisme) entre les procaryotes (bactéries) et les eucaryotes (levures et champignons) ont été observées.

## VI.2 MATERIEL ET METHODES

Le matériel et les méthodes utilisées dans cette partie d'étude sont décrits dans le chapitre précédent (§ V).

## VI.3 RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats de l'analyse microbiologique sont représentés dans le tableau VI.1. Ces résultats mettent en évidence la présence d'une flore autochtone estimée à  $3.5 \cdot 10^7$  UFC/Kg de sol. La norme pour toute biodégradation du sol exige au moins la présence de  $10^6$  germes/Kg de sol soit des valeurs  $\geq 10^6$  germes/Kg de sol (**Battele et NFESC, 1996**). Ce qui nous permet d'affirmer que ce sol pourrait être traité par le biais de micro-organismes déjà existants. Nous pouvons noter que plusieurs auteurs ont débuté leurs traitements avec un nombre initial en microorganismes dépassant  $10^6$  germes /Kg de sol, c'est le cas de **Margesin et Schinner (2001)**, **Eriksson et al (2001)**, **Stapleton et al (1998)** et **Gallego et al (2011)**.

**Tableau VI.1 : Résultats de l'analyse microbiologique du sol pollué.**

Paramètres	Valeurs
Nombres des germes totaux à 30°C (bactéries)	$3.5 \cdot 10^7$ UFC/Kg de sol
Levures	0 UFC/ Kg de sol
Champignons	$6 \cdot 10^6$ UFC/Kg de sol

Les résultats de l'analyse granulométrique font apparaître que le sol présente une texture sableuse avec 48.25% de sable fin et 51.25% de sable grossier ; avec 0% d'argile et de limon. Ce dernier est suffisamment perméable pour permettre le transfert des matières nutritives et une bonne oxygénation. Selon **Penberthy et Weston (2005)** la

teneur élevée en argile rend n'importe quel effort de remédiation particulièrement difficile.

D'après les résultats de l'analyse physique (**Tableau VI.2**), le taux d'humidité du sol n'est pas satisfaisant sachant que pour une bonne dégradation biologique dans la biopile, celui-ci doit être compris entre 15 et 25 % (**Gallego et al, 2011**). En effet la faible teneur en humidité est un facteur important, pouvant limiter ainsi la biodégradation (**Margesin et Schinner, 2001**).

**Tableau VI.2: Résultats des analyses physiques du sol pollué**

Paramètres	Valeurs
pH	8.6
Humidité	1.7%
Matière sèche	98.3%
Capacité maximale de rétention d'eau	7.3%
Conductivité	0.87 ms/cm
Porosité	69.5%
Perméabilité	36.0cm/h

Le pH du sol relevé pour le sol étudié est compris dans la marge optimale des pH (5 à 9) recommandée par plusieurs auteurs : (**Battele et NFESC, 1996; Rojas-Avelizapa et al, 2007**). Le pH du sol est un paramètre important pour la réussite de la bioremédiation et devrait être maintenu dans la gamme de pH optimal de la croissance et du métabolisme bactérien (**Thavamani et al, 2011**). La porosité excessive de notre sol ainsi que sa très grande perméabilité reflètent son caractère sableux ce qui lui confère une structure qui peut assurer un développement d'une activité biologique acceptable.

Les résultats d'analyses chimiques (**Tableau VI.3**) indiquent un déficit en éléments azote et phosphore (le rapport calculé dans notre cas C/N est >74/1) ce qui corrobore les analyses faites par **Eckford et al (2002)** où ils ont étudié la pollution des sols par les huiles (diesel, carburant) et ont relevé un déficit en azote par rapport au carbone (à titre d'exemple le rapport C/N est >250/1), ce qui peut entraver la biodégradation des hydrocarbures. Un enrichissement du sol avec ces éléments pour tout le traitement biologique est donc indispensable.

Les résultats de la cinétique de croissance sont représentés sur la figure VI.1. Deux phases de croissance différentes des bactéries ont été observées (**Figure VI.1-A**). Il y a une co-multiplication des levures pendant la première phase de croissance des bactéries (**Figure VI.1-B**) ; le phénomène de synergie se confirme, un premier groupe bactérien est responsable avec les levures de la dégradation des fractions simples du gasoil.

**Tableau VI.3 : Résultats des analyses chimiques du sol pollué**

Paramètres	Valeurs
TPH	5.8 g/Kg du sol
Azote total	0.15 g/Kg du sol
Matière organique	2%
CO	1.14%
Phosphore	$1.5 \cdot 10^{-2}$ g/Kg du sol
Na <sup>+</sup>	$5.21 \cdot 10^{-3}$ meq/100g du sol
K <sup>+</sup>	$5.35 \cdot 10^{-3}$ meq/100g du sol

A l'épuisement de ces fractions, le déclin est enregistré pour les deux populations microbiennes. A ce moment, un autre groupe bactérien dont la phase de latence y était durant la première phase de croissance intervient dans la biodégradation des hydrocarbures complexes.

Ce groupe bactérien est caractérisé par une seconde phase de croissance avec une phase exponentielle étendue sur 21 jours (**Figure VI.1-A**). Ceci nous laisse penser que les fractions dégradées pendant cette phase sont plus complexes. Cette phase pourrait être caractéristique de la dégradation des hydrocarbures ramifiés et des aromatiques complexes.

Il faut noter qu'au cours du traitement, le témoin débute avec un nombre plus faible en microorganismes (bactéries, levures ou champignons) par rapport à celui de la biopile (**Figure VI.1**). Ceci est dû au fait que le procédé a été enrichi avec une pré-culture obtenue à partir du même sol. Selon **Ulfig et al (2001)**, l'enrichissement du sol avec l'inoculum fait augmenter le transfert des hydrocarbures du pétrole et donc conduit à une amélioration nette de la bioremédiation. Dès le premier jour du traitement, nous avons noté une augmentation considérable de la population bactérienne dans la biopile entre  $J_0$  et  $J_9$  par rapport au témoin qui se situe entre  $J_0$  et  $J_{26}$ . D'après **Coulon and Delille 2003, Lin et al. 2010 et Wang et al 2011**, l'amendement par l'engrais induit une augmentation significative du nombre des microorganismes.



Pour les levures, nous avons noté une absence totale dans l'échantillon témoin. En contrepartie, une augmentation importante a été remarquée au niveau de la biopile et ce entre  $J_0$  et  $J_3$  (**Figure VI.1-B**). Ce phénomène pourrait être attribué à la régénération des endospores au cours de la préculture grâce aux conditions favorables fournis (Agitation, suppléments nutritifs). **Labrecque (2003) et Van Beilen et al (2003)** ont évoqué la capacité des levures à dégrader les hydrocarbures.

Le nombre de la microflore fongique (champignon) a légèrement diminué dès le premier jour de traitement (témoin, biopile) (**Figure VI.1-C**). Au niveau de la biopile la disparition totale des champignons se produit au 19<sup>ème</sup> jour. La croissance de ces champignons redémarre de nouveau à partir du 33<sup>ème</sup> jour de traitement (**Figure VI 1-C**). Dans ces conditions le palier de la biodégradation est presque atteint (**Figure VI.2**).

Un phénomène d'inhibition de la croissance est apparu, ceci pourrait être dû soit à la prédominance des autres espèces microbiennes (bactéries et levures) au cours de la première phase de croissance et donc un phénomène d'antagonisme est observé, soit à l'incapacité de ces champignons à dégrader les hydrocarbures d'où leur disparition ; ce qui met en évidence que leur croissance est capable de redémarrer dès qu'il y a libération suffisante des produits de la biodégradation grâce au phénomène de co-métabolisme entre les bactéries et les levures.

En comparant avec le témoin, le nombre des champignons diminue mais ne s'annule pas; ce qui nous laisse penser qu'en plus du faible potentiel de dégradation, le milieu devient défavorable à leur survie. **Lu et al (2009)** ont signalé que l'incapacité des microorganismes pour décomposer continuellement les résidus est due à l'accumulation des métabolites intermédiaires toxiques au cours de la bioremédiation.

D'après la figure VI.2 le témoin présente un déclin très lent de la concentration allant de 5.8g/kg à 5.3g/Kg avec un rendement d'élimination de 8.6% et un temps de demi-réaction de 226,28 jours. Le profil de la biodégradation du gasoil au niveau de la biopile suit une cinétique exponentielle d'ordre 1 avec un temps de demi-réaction 24,15 jours, donnant une concentration finale de 1.73g/Kg et donc un rendement de 70%.

**Marchal et al (2003)**, indiquent que la dégradation du diesel est un processus inachevé. Cependant, la résistance partielle à la biodégradation peut être due soit à la composition complexe du pétrole soit aux conditions expérimentales qui limitent le transfert de l'oxygène et des hydrocarbures. **Gallego et al (2010)** suggèrent que l'absence d'ajout d'éléments nutritifs (azote et phosphore) dans le sol témoin entraîne la limitation de la croissance microbienne.

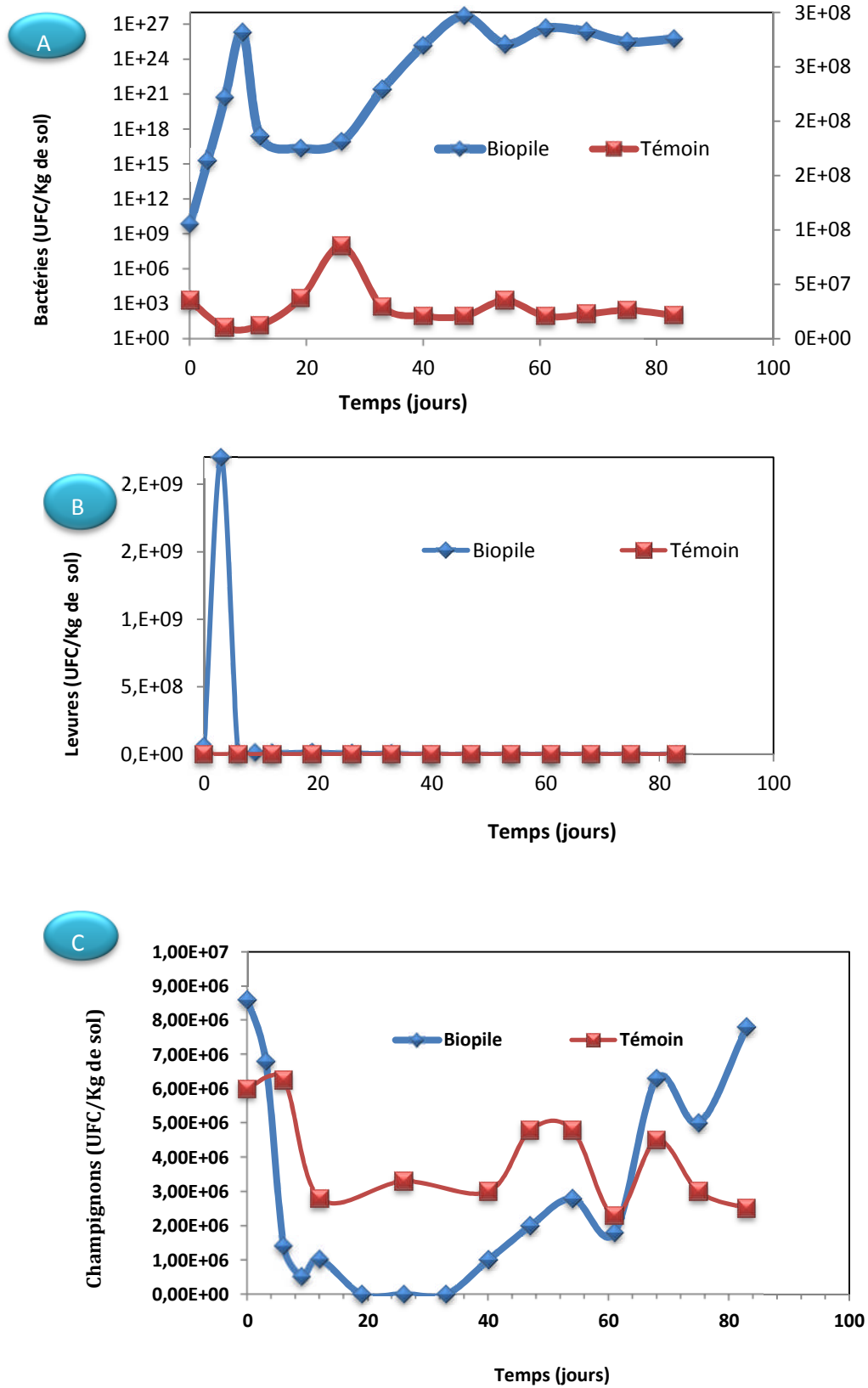


Figure VI.1: Cinétiques de croissance enregistrées dans la biopile et le sol témoin.

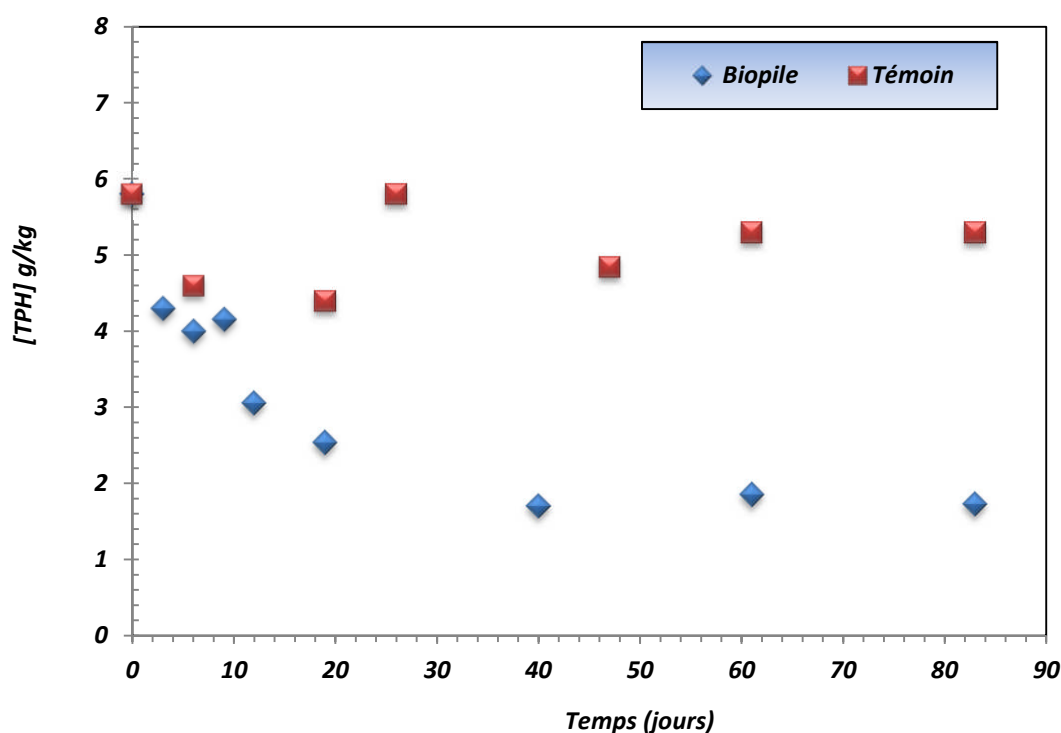


Figure VI.2 : Cinétiques de biodégradation du gasoil enregistrées dans la biopile et le sol témoin.

Le rendement exprimé du témoin (ou l'atténuation est naturelle) n'est pas appréciable comparativement à celui relatif de la biopile. Ceci pourrait être dû au fait que la flore autochtone est moins active vis-à-vis des fractions complexes restantes du gasoil.

Il faut rappeler qu'au niveau de la biopile les conditions d'aération, d'humidité et d'alimentation permettent à la flore disponible de se multiplier et de permettre d'obtenir ainsi un rendement appréciable comparativement à celui constaté au niveau du témoin. Les observations constatées corroborent celles relevées par plusieurs auteurs (Yeung *et al*, 1997; Ulfig *et al*, 1998; Wu et Crapper, 2009; Castorena-Cortés *et al*, 2009; Beškoski *et al*, 2011) où ils confirment que l'aération du sol est un facteur critique qui affecte de manière significative la biodégradation des hydrocarbures dans le traitement des sols.

L'appréciation qualitative de la biodégradation, comme le montre la figure VI.3, permet de mettre en évidence que les liaisons touchées sont surtout à prédominance aliphatiques. Les hydrocarbures aromatiques sont des polluants complexes et de ce fait dégradés moins efficacement. Des résultats similaires ont été obtenus par Coulon *et al*

(2010) qui indiquent que les taux de dégradation les plus élevés ont été enregistrés pour la fraction aliphatique suivie par les hydrocarbures aromatiques.

On peut résumer ce qui se passe dans la biopile par le schéma représenté sur la figure VI.4. La première phase de croissance décrit une phase de cométabolisme (synergie) entre les levures et un certain groupe bactérien pour la dégradation des fractions simples du gasoil (n- alcanes, certains aromatiques simples).

Les levures commencent à dégrader les chaînes d'hydrocarbures, en les rendant plus facilement bio-accessibles, ce qui permet aux bactéries d'intervenir pour achever la dégradation. Lorsque ces fractions sont épuisées, on assiste à un déclin de la croissance des levures.

Les champignons ne semblent pas avoir un rôle dans la biodégradation du gasoil au cours de la première phase de la croissance par contre leur rôle est apparue dans la deuxième phase de croissance.

Le calcul des  $\mu_{\max}$  nous révèle que la population microbienne développée au cours de la dégradation des hydrocarbures est à prédominance bactérienne. Les taux de croissance observés pour les bactéries sont supérieurs à ceux observés pour les levures et des champignons.

Bien que les taux de croissance des levures soient inférieurs à ceux des bactéries, cela n'exclut point leur rôle synergique dans le déroulement de la biodégradation. La croissance des levures est relativement lente par rapport aux bactéries, ce constat a été signalé aussi par **Labrecque (2003)**. Les champignons manifestent soit un déclin ou une croissance à la fin du procédé, ce qui n'exclue pas leur rôle dans la dégradation du gasoil.

En comparant les deux phases nous constatons que les taux de croissance des bactéries enregistrés pendant la deuxième phase sont inférieurs à ceux de la première phase révélant le degré de complexité des fractions biodégradées à la fin du traitement.

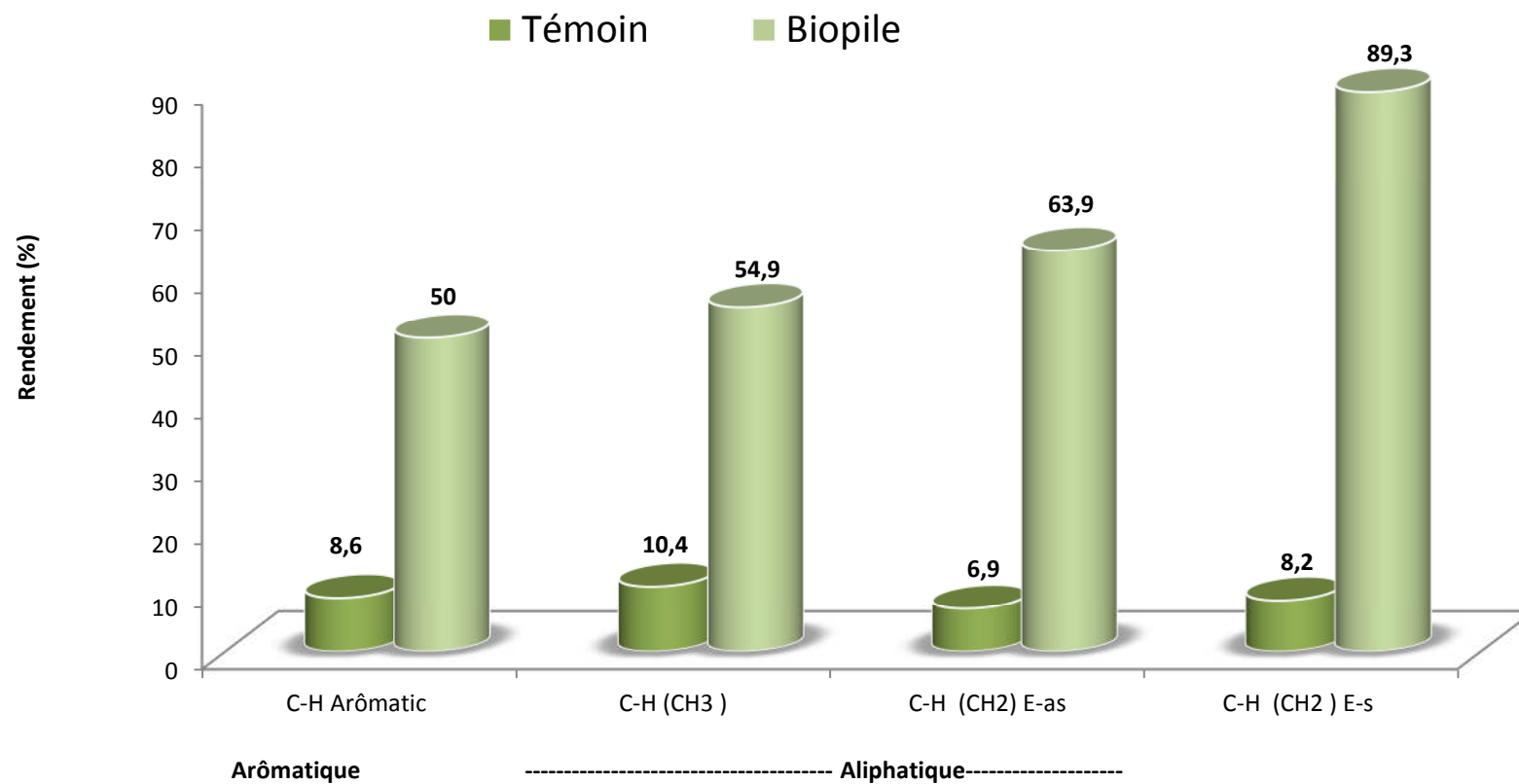


Figure VI.3 : Rendements de disparition des liaisons C-H appartenant aux hydrocarbures aliphatiques et aromatiques du gasoil à la fin du traitement dans la biopile.

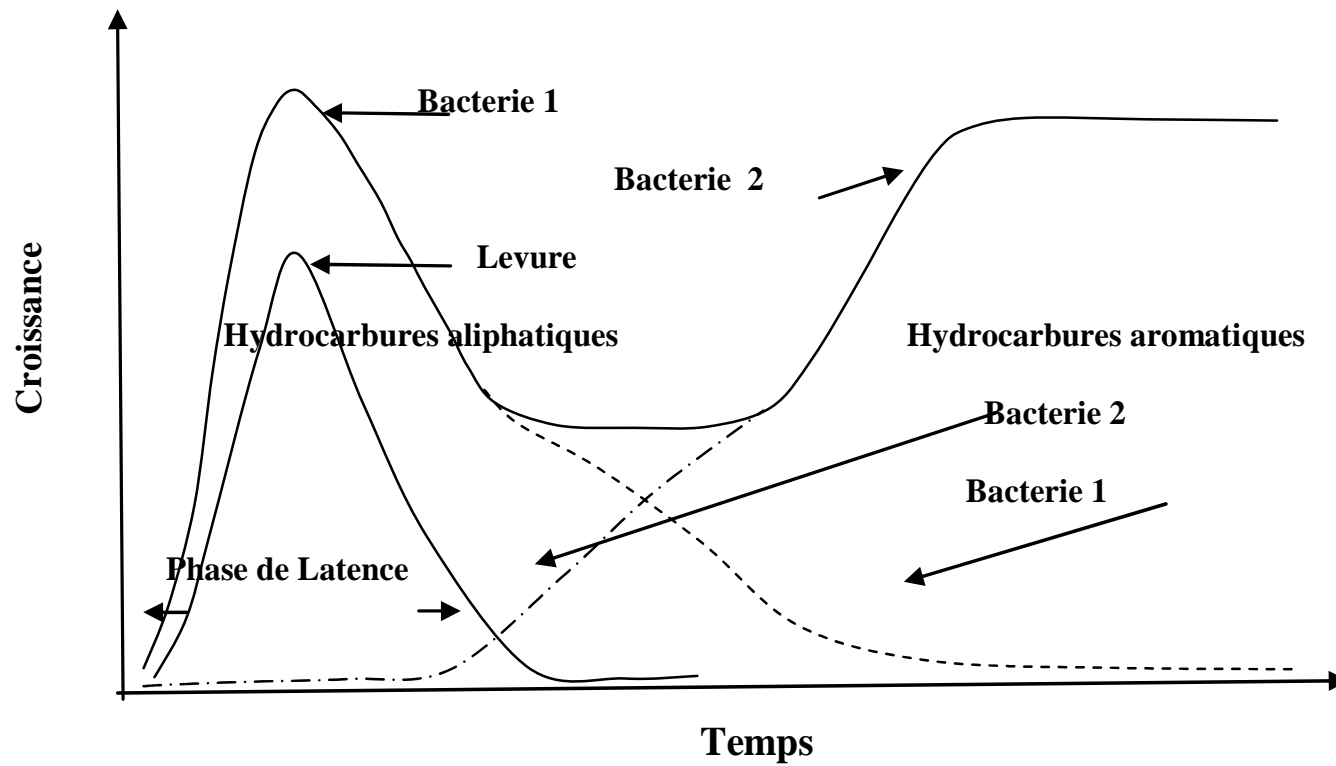


Figure VI.4 Schéma de croissance des microorganismes au cours du traitement par biopile.

Tableau VI. 4 : Détermination des  $\mu_{\max}$  de la biopile

	<b>Témoin</b>	<b>Biopile</b>	
	Bactéries	Croissance I	Croissance II
<b>R<sup>2</sup></b>	0.99	1	0.99
<b><math>\mu_{\max}</math> (jours<sup>-1</sup>)</b>	0,14	4.2	1.2

### Conclusion

Les résultats obtenus mettent en évidence la capacité des microorganismes autochtones à dégrader le gasoil. Ils ont fait apparaître que le procédé en « Biopile » est efficace et applicable à nos sols algériens. Il permet d'induire une augmentation de l'activité microbienne, ce qui se traduit par une importante décontamination.

Les résultats obtenus sont très prometteurs, les rendements d'élimination du gasoil sont de l'ordre de 70% pour la biopile valeur à comparer avec le rendement 8.6% obtenu dans le cas du sol qui a subi l'atténuation naturelle. La microflore responsable de la biodégradation appartient à la population bactérienne, une synergie a été enregistrée entre les levures et les bactéries et entre les champignons et les bactéries pour la biodégradation du gasoil, il s'agit du phénomène de cométabolisme.

## CHAPITRE VII

### MODELISATION ET ETUDE QUALITATIVE DE LA BIODEGRADATION DU GASOIL PAR LE PROCÉDE BIOPILE DANS UN SOL SABLEUX

#### VII.1-INTRODUCTION

Le problème majeur rencontré dans les sols pollués par les produits pétroliers est l'atteinte des nappes phréatiques affectant ainsi la qualité des eaux. Les effets dévastateurs de l'industrie pétrolière sur l'environnement ont été constatés lors des accidents (déversement, fuite...etc.) et des rejets entraînant des fois des catastrophes écologiques irréversibles. La décontamination des sols pollués nécessite l'intervention des procédés physicochimiques et biologiques.

Le devenir des produits pétroliers rejetés dans l'environnement est principalement gouverné par le processus de biodégradation. L'existence de ce phénomène dépend de la biodégradabilité intrinsèque du polluant mais aussi de la présence de microflore compétentes dans les sols et dans les eaux souterraines (**Solano-Serena *et al*, 2001 ; Cunningham *et al*, 2004; Mrozik et Piotrowska-Seget, 2010; Bacosa *et al*, 2012; Chemlal *et al*, 2012**).

En dépit de l'utilisation multiple des procédés physicochimiques dans la restauration des sols pollués par les produits pétroliers (la vitrification, le lavage, le traitement thermique, etc.), la bioremédiation reste la solution la plus efficace. Le principal avantage de la bioremédiation est son coût réduit par rapport aux techniques classiques. De plus, elle peut conduire à une minéralisation complète du polluant en H<sub>2</sub>O et CO<sub>2</sub> (condition aérobie) ou CH<sub>4</sub> (condition anaérobie).

La bioremédiation peut faire face à des faibles concentrations de contaminants où le traitement par des moyens physiques ou chimiques ne serait pas possible (**Haritash et Kaushik, 2009; Perelo, 2010; Partovinia *et al*, 2010**).

Dans nos précédents travaux (**Chemlal *et al*, 2012**), les résultats obtenus à l'échelle laboratoire ont montré la capacité des micro-organismes autochtones à dégrader le gasoil. Ils ont fait apparaître que le procédé en « Biopile » est efficace et



applicable à nos sols algériens. Il permet d'induire une augmentation de l'activité microbienne, ce qui se traduit par une importante décontamination. Notre travail consiste en la mise en œuvre de la bioremédiation d'un sol pollué par du gazoil à l'aide d'une biopile durant une période de 76 jours. Les cinétiques de la croissance microbienne et de la biodégradation du gazoil ont été étudiées.

## VII.2- MATERIELS ET METHODES

Le matériel et les méthodes utilisées dans cette partie d'étude sont décrits dans le chapitre Cinq (§ V).

## VII.3- RESULTATS ET DISCUSSION

### VII.3.1- Caractérisation du sol

Les résultats de l'analyse microbiologique sont rapportés dans **le Tableau VII.1**. Ces résultats affirment que ce sol présente une flore autochtone qui est de  $3.7 \cdot 10^7$  UFC/Kg de sol. Ce résultat est en accord avec l'étude précédente menée par **Chemlal et al, (2012)**.

Les lignes directrices de l'Agence de Protection de l'Environnement des Etats Unis (**USEPA**) indiquent que la bioremédiation est réalisable lorsque le sol présente une population microbienne d'environ  $10^6$  UFC/kg de sol. Ce qui nous permet d'affirmer que ce sol pourrait être traité par un procédé biologique en utilisant les micro-organismes déjà existants. Plusieurs auteurs ont débuté leurs traitements avec un nombre initial en microorganismes dépassant  $10^6$  germes/Kg de sol (**Margesin et Schinner, 2001 ; Eriksson et al, 2001**).

**Tableau VII.1 : Résultats de l'analyse microbiologique du sol pollué**

PARAMETRES	VALEURS	UNITE
Nombres des germes totaux à 30°C (bactéries)	$3.7 \cdot 10^7$	UFC/Kg de sol
Levures	0	UFC/ Kg de sol
Champignons	$2.8 \cdot 10^7$	UFC/Kg de sol

Les résultats de la granulométrie font apparaître que le sol présente une texture sableuse avec 48% de sable fin 51% du sable grossier et 0% d'argile et de limon. Ce dernier est suffisamment perméable et permet ainsi le transfert des matières nutritives avec une bonne oxygénation.

Selon **Samson (1994)**, l'analyse granulométrique permet de fournir des renseignements sur le pouvoir d'adsorption du sol vis-à-vis des contaminants et sur la difficulté qu'auront les bactéries à accéder aux polluants. Il est ainsi plus facile de traiter des sols sablonneux par opposition aux sols argileux.

D'après les résultats de l'analyse physico-chimique (**Tableau VII.2**) le taux d'humidité du sol n'est pas satisfaisant sachant que pour une bonne dégradation biologique dans la biopile, celui-ci doit être compris entre 15 et 25%. En effet la faible teneur en humidité est un facteur limitant important dans la biodégradation (**Margesin et Schinner, 2001**).

Le pH de notre sol (pH=8.6) est compris dans la marge optimale ( $5 < \text{pH} < 9$ ) citée par plusieurs auteurs : (**Battele et NFESC, 1996; Rojas-Avelizapa et al, 2007**).

Les résultats chimiques indiquent un déficit en éléments azote et phosphore. **Eckford et al (2002)** ont mis en évidence que la pollution des sols par les huiles (diesel, carburant) induit un déficit en azote par rapport au carbone (par exemple le rapport C/N est  $>250/1$ ) ce qui peut limiter la biodégradation des hydrocarbures et par voie de conséquence nécessitera un enrichissement du sol avec ces éléments pour tout le traitement biologique.

Le profil chromatographique obtenu par CPG montre l'allure d'un gasoil dont le nombre de carbone varie entre  $C_{12}$  et  $C_{26}$  (**Figure VII.1-A**). Ce profil concorde bien avec les résultats obtenus par **Marchal et al (2003)**. La concentration du polluant est déterminée par spectroscopie infrarouge à transformées de Fourier (FTIR), elle est de 13 g/Kg de sol.

### VII.3.2. Cinétique de dégradation du gasoil:

La figure VII.2 illustre les profils de biodégradation du gasoil dans la biopile et le sol témoin. Le témoin présente une concentration en hydrocarbures stable de 13 g/kg pendant les six premiers jours. La concentration commence ensuite à décliner jusqu'à

atteindre une valeur de 6.5g/Kg qui correspond à un rendement d'élimination de 50% (Tableau VII.3) obtenu au bout de 20 jours.

*Tableau VII.2 : Résultats des analyses physico-chimiques du sol pollué*

PARAMETRES	UNITES	VALEURS
pH		8.6± 0.02
Humidité	%	1.8±0.1
Matière sèche	%	99.9 ±0.1
Capacité maximale de rétention d'eau	%	7.3 ±0.1
Conductivité	µS/cm	870±0.2
Porosité	%	70 ±0.5
Perméabilité	cm/h	36.0±0.5
TPH	g/Kg du sol	13±0.2
Azote total	mg/Kg du sol	78±0.1
Azote ammoniacal (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )	mg/Kg du sol	1.8±0.1
Nitrate (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	g/Kg du sol	0
Nitrite (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	mg/Kg du sol	1.1±0.1
Matière organique	%	2.3±0.05
CO	%	1.32±0.05
Phosphore	mg/Kg du sol	15±0.05
Na <sup>+</sup>	meq/100g du sol	5.2±0.1 10 <sup>-3</sup>
K <sup>+</sup>	meq/100g du sol	5.3±0.1 10 <sup>-3</sup>

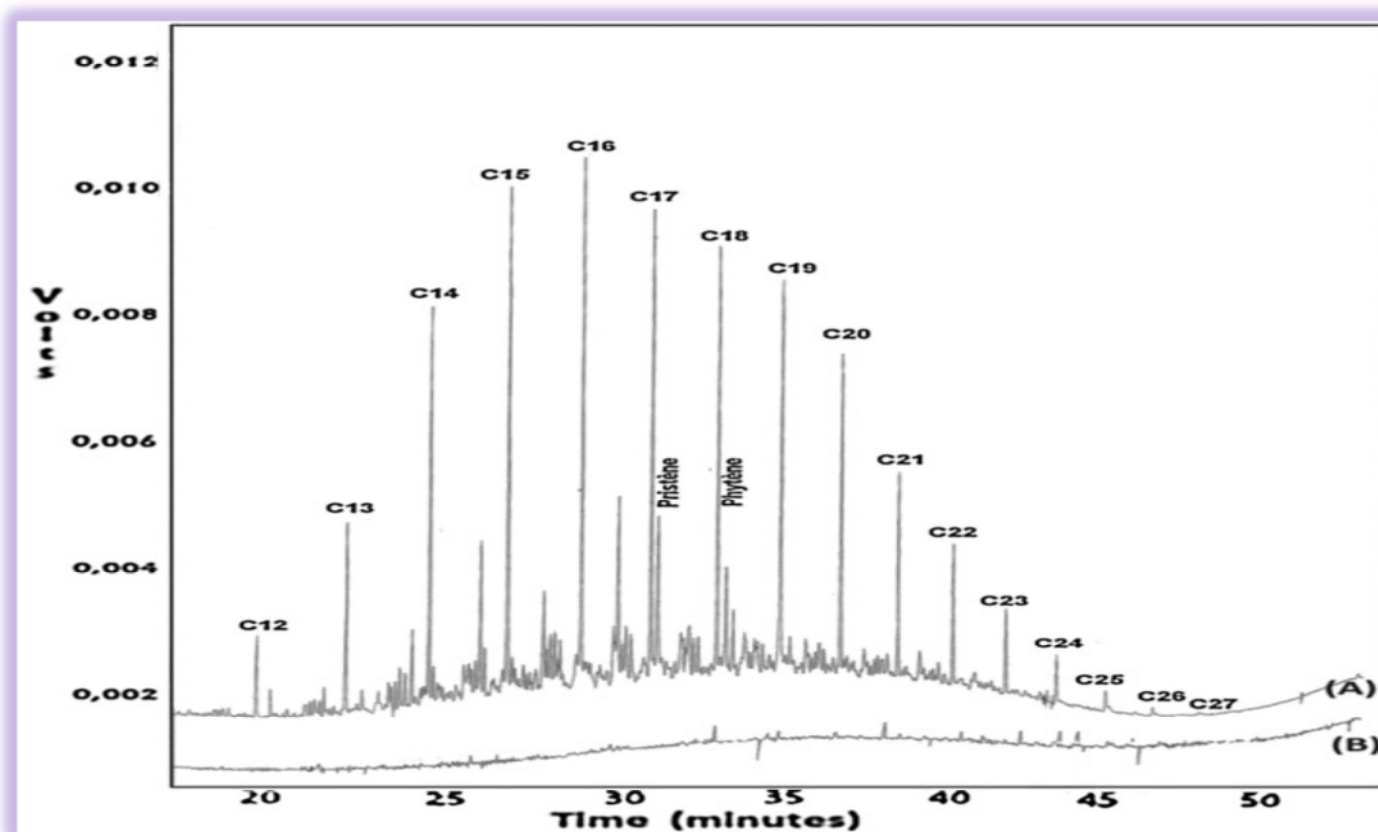


Figure VII.1 : Profil chromatographique du gasoil obtenu par CPG -détecteur FID. (A) à  $t_0$  et (B) à la fin du traitement.

Le profil des courbes de dégradation révèle que la cinétique de la biodégradation du gasoil est différente en allant de la surface vers la profondeur. La concentration des TPH en profondeur passe de 13 g/Kg à 6 g/kg (**Figure VII.2**) suivant une cinétique régulière d'ordre 0 tout au long du traitement donnant un rendement de 54% au bout de 20 jours. En revanche, l'allure de la courbe de biodégradation en surface suit une cinétique exponentielle aboutissant à une concentration finale de 5.3 g/Kg (rendement de 59%).

Il faut signaler que le procédé biopile a été interrompu après 20 jours de traitement suite à une panne au niveau de l'aération. A grande échelle, parmi les inconvénients de la biopile on cite l'éclatement des canalisations d'aération. Les analyses ont montré que la biodégradation du gasoil a stagné pendant la période d'arrêt. En effet, nous n'avons pas observé de variation des concentrations. Nous avons redémarré le traitement pour une durée de 56 jours et obtenu les mêmes cinétiques après mise en route de l'aération à la surface et en profondeur (**Tableau VII.4**). La concentration enregistrée à la fin du procédé est de 1.9g/kg à la surface et en profondeur avec un rendement d'élimination final de 85.5%. Au cours de cette période, la biodégradation du témoin est négligeable, le rendement final est de 55.5%, soit une différence de 5.5% par rapport aux 20 premiers jours du traitement (**Figure VII.2**).

**Tableau VII.3 : Récapitulatif des rendements de la biopile**

	$R_f$ (%)	$R_1$ (%)	$R_f(\%) - R_1$ (%)
Témoin	55.5	50	5.5
Surface	85.5	59	26.5
Profondeur	85.5	54	31.5

$R_f$ : Le rendement final enregistré à la fin du procédé.  $R_1$ : La contribution de la 1<sup>ère</sup> phase.

$R_f - R_1$ : La contribution de la deuxième phase après redémarrage de l'aération.

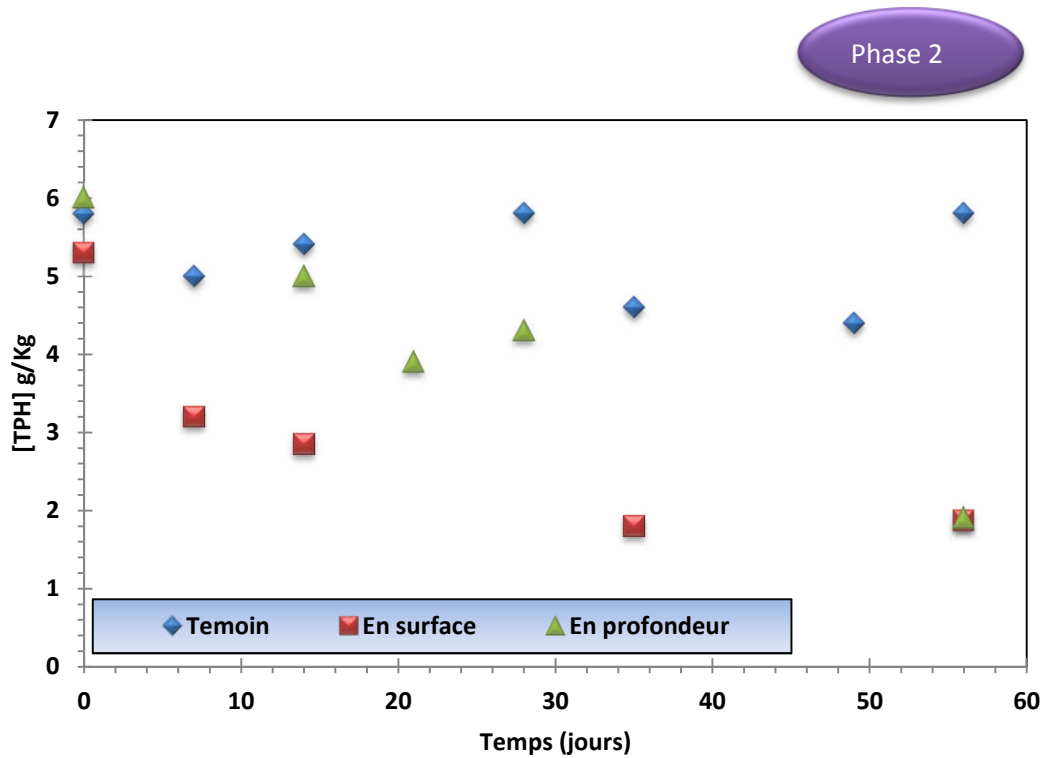
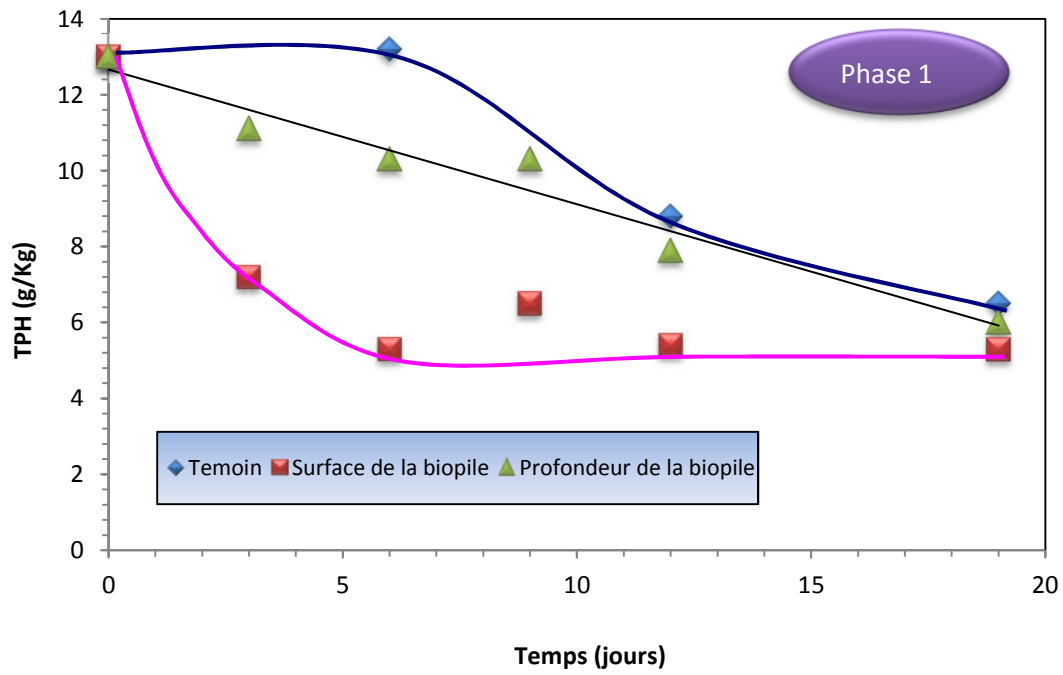


Figure VII.2: Cinétique de biodégradation du gasoil dans la biopile et le témoin.

Ces résultats mettent en évidence que la plus grande partie du polluant est éliminée pendant les 20 premiers jours de traitement, ce qui concorde avec les résultats obtenus par **Eriksson et al (2001)** et **Namkoong et al (2002)**.

Les hydrocarbures les plus simples pourraient être dégradés pendant la première phase. En effet, il a été constaté que les mêmes taux de dégradation ont été observés pour le témoin et la biopile. Ce résultat est en accord avec ceux rapportés par **Makadia et al (2011)**.

La biodégradation du gasoil enregistrée au niveau du témoin réside essentiellement dans la capacité intrinsèque des microflore présentes dans le sol. Il s'agit du phénomène d'atténuation naturelle du sol. **Beskoski et al (2011)** ont signalé l'existence de ce phénomène. Le sol étant rarement stérile, la microflore en place en présence des polluants aura, en fonction des conditions physico-chimiques de l'environnement immédiat, tendance à métaboliser les polluants. Nous pouvons considérer que les résultats obtenus dans cette présente étude sont plus probants que ceux obtenus par **Marchal et al (2003)** et confirment que le taux de biodégradabilité du gasoil commercial se situe entre 60 et 73 % selon la microflore utilisée.

Contrairement à la première phase où l'influence de l'aération n'est pas avérée, dans la deuxième phase, l'aération peut être considérée comme un facteur essentiel et critique. En effet nous pouvons constater une différence nette entre les rendements d'abattements relatif au témoin (non aéré) (5.5%) et ceux relevés sur la biopile (le taux d'abatement à la surface : 26.5% et taux d'abatement en profondeur : 31.5%). Ces observations faites sont en accord avec celles relevées par **Wu et Crapper (2009)** **Castorena et al (2009)** **Beskoski et al (2011)** où ils ont constaté que l'aération du sol affecte de manière significative la biodégradation des hydrocarbures dans la bioremédiation et de ce fait elle doit être considérée comme un facteur critique.

A partir des absorbances infrarouges obtenus sur les spectres infrarouges des sols analysés avant et après traitement, nous avons pu calculer les rendements de disparition des liaisons C-H représentatives des hydrocarbures aromatiques et aliphatiques à l'aide du logiciel dédié **C<sub>x</sub>H<sub>x</sub>®**. Les résultats sont représentés sur la figure VII.3.

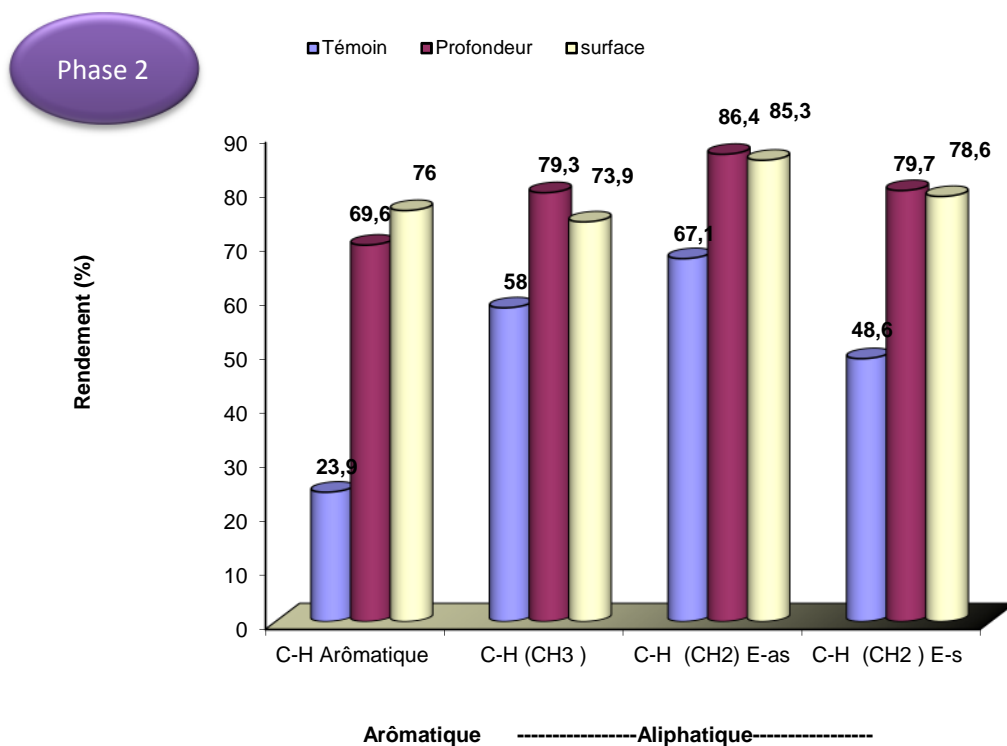
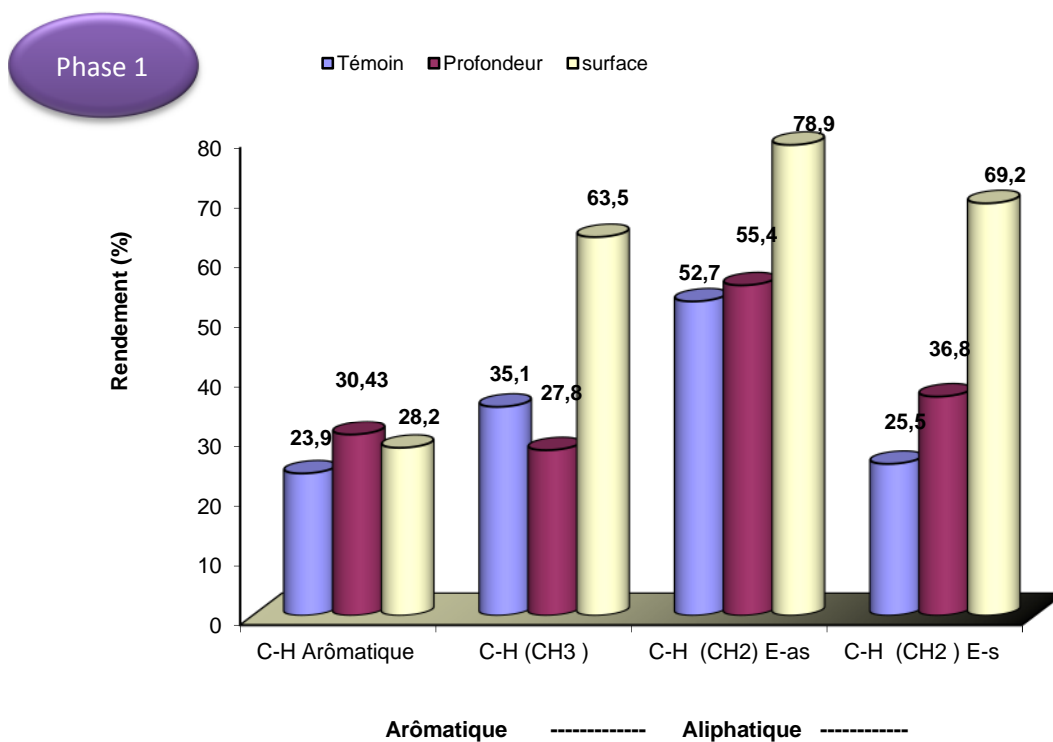


Figure VII.3 : Rendements de disparition des liaisons C-H appartenant aux hydrocarbures aliphatiques et aromatiques du gasoil à la fin du traitement dans la biopile.



En faisant la différence des rendements finaux et les rendements représentatifs de la première phase on constate que les liaisons C-H des hydrocarbures aliphatiques sont dégradées majoritairement pendant la première phase de traitement, contrairement aux liaisons C-H des hydrocarbures aromatiques sont dégradées en grande partie au cours de la deuxième phase de traitement suggérant que les fractions aromatiques simples sont dégradées pendant la première phase, suivies des fractions complexes (pendant la deuxième phase). Des résultats similaires ont été obtenus par **Xu et Obbard (2004)** où la dégradation des HAP est plus faible que la dégradation des alcanes lors du traitement des sédiments marins contaminés par les HAP par ajout de fertilisants. Toutefois ces auteurs ont constaté que les aromatiques simples sont plus rapidement dégradés que les alcanes. **Coulon et al (2010)** ont signalé dans leurs travaux concernant la bioremediation (la biopile), un taux plus élevé de la dégradation des fractions aliphatiques suivie des fractions aromatiques.

Le palier final obtenu lors de la seconde phase (**Figure VII.2**) pourrait être dû aux fractions les plus complexes qui résistent à la biodégradation. **Marchal et al (2003)**, signalent que la dégradation du gazoil est un processus inachevé. Cependant, la résistance partielle à la biodégradation pourrait être due soit à la composition complexe du pétrole ou bien aux conditions expérimentales créant ainsi la limitation possible de transfert d'oxygène et des hydrocarbures.

Plusieurs travaux ont traité la priorité de la biodégradation des hydrocarbures chez les microorganismes. Certains auteurs ont constaté que les fractions à faibles poids moléculaires sont plus facilement biodégradées au cours de la première phase de traitement par la biopile. Tandis que les fractions de poids moléculaire élevés ou ramifiées sont difficiles à biodégrader (**Lin et al, 2010**).

A la fin du traitement, une analyse du sol après extraction des hydrocarbures a été effectuée par CPG sur le dernier prélèvement à la surface (**Figure VII.1-B**). Une diminution notable des pics a été enregistrée par comparaison avec le profil obtenu par CPG du sol non traité (**Figure VII.1-A**). Cependant, quelques pics représentatifs des résidus complexes non dégradés sont toujours présents à la fin du traitement par biopile.

### VII.3.3 Paramètres cinétiques de la biodégradation du gasoil :

La dégradation des hydrocarbures est typiquement représentée par la réaction d'ordre un :

$$\ln [HC] = -k t + \ln [HC]_0 \Rightarrow [HC] = [HC]_0 e^{-kt} \quad (\text{VII.1})$$

Où  $[HC]_0$  est la concentration des hydrocarbures à l'instant  $t_0 = 0$ .

La concentration des réactifs diminue exponentiellement en fonction du temps et évidemment celle des produits augmente exponentiellement en fonction du temps.

On définit pour une réaction d'ordre 1 le **temps de demi-vie** (appelé aussi temps de demi-réaction) qui correspond au temps nécessaire pour consommer la moitié de la concentration des réactifs.

$$t_{1/2} = \ln(2)/k \quad (\text{VII.2})$$

Une représentation de  $\ln([HC]) = f(t)$  est une droite de pente  $-k$ .

Où  $k$  est la constante de vitesse.

Les résultats de la modélisation des cinétiques de biodégradation du gasoil sont représentés sur le tableau VII.4.

La cinétique de biodégradation en surface est d'ordre 1 avec un coefficient de corrélation de 0.84 à 0.90. Plusieurs auteurs (**Xu et Obbard, 2004 ; Sanscartier et al, 2009**) ont obtenu une cinétique du même ordre au cours de leurs essais concernant les polluants: fraction aromatique *Arabian light* et Diesel respectivement. La cinétique de biodégradation en profondeur est d'ordre zéro avec un coefficient de corrélation  $R^2$  de 0.95. La cinétique de biodégradation en profondeur n'a pas encore été étudiée par d'autres chercheurs.

Pendant la première phase de traitement, le témoin présente une dégradation notable (rendement de 50%), selon une cinétique d'ordre 1 ( $R^2 = 0.9$ ). Cependant pendant la deuxième phase de traitement, la dégradation est négligeable (5.4%) (**Tableau VII.3**), l'ordre de la réaction change. La concentration des TPH décroît lentement selon une cinétique considérée d'ordre pseudo-zéro.

Le temps de demi-réaction de la première phase de traitement, est pratiquement du même ordre de grandeur pour le témoin et le sol prélevé en profondeur (17 jours). Il

faut rappeler que ces derniers ont des rendements de dégradation très rapprochés (50% et 53%).

Le temps de demi-réaction à la surface est légèrement court (14 jours) traduisant un rendement d'élimination plus ou moins important (59%). En comparant les réactions de même ordre (surface et témoin), la constante de vitesse K est légèrement plus importante à la surface, exprimant une réaction un peu plus accélérée avec un temps de demi-vie plus court.

Pour la deuxième phase de traitement, bien que la surface et la profondeur expriment des temps de demi-réaction différents (**Tableau VII.4**), les rendements obtenus à la fin du traitement sont similaires. Ceci est dû au fait que la biodégradation à la surface suit une cinétique rapide jusqu'à atteindre un palier (**Figure VII.2**).

Ce palier peut être expliqué soit par la résistance de certaines fractions complexes à la dégradation ou bien par le déclin de la viabilité cellulaire de la flore qui empêche l'augmentation du taux d'abattement des hydrocarbures. Il faut rappeler qu'aux faibles concentrations en source de carbone (TPH dans notre cas), la croissance s'arrête et certains microorganismes maintiennent leur vie sur la base des produits de l'autolyse d'autres microorganismes. Ces résultats ont été confirmés par **Wang et al (2011)** et **Lee et al (2008)**, qui indiquent que la plupart des hydrocarbures (principalement les fractions saturées) ont été facilement dégradés au début du traitement par la biopile. En revanche, le taux de dégradation diminue avec le temps (après 120 jours du traitement).

Ceci pourrait être due soit au temps de dégradation suffisamment long entraînant la perte des bactéries « dégradatrices » vers la fin du traitement soit au fait que les composés restants étaient probablement des fractions récalcitrantes (les alcanes à chaînes ramifiées, les alcanes cycliques saturés et les composés aromatiques) (**Jorgensen et al, 2000**).

Le temps de demi-réaction du témoin est trop faible (248 jours) révélant une cinétique de biodégradation très lente, ce qui explique le rendement enregistré de 5.5% (**Tableau VII.4**).

Le procédé de traitement en biopile réduit le temps de demi-réaction de 90% en surface et 83% en profondeur.

Tableau VII.4: Paramètres cinétiques de la biodégradation du gasoil dans la biopile

	Témoin	Profondeur	Surface
	Phase1		
<b>Ordre</b>	1	0	1
<b>Equation</b>	$\ln C = 2.7 - 0.04t$	$C = 12.7 - 0.36 t$	$\ln C = 2.4 - 0.05 t$
<b>K</b>	$0.04 \text{ J}^{-1}$	$0.36 \text{ g.Kg}^{-1} \cdot \text{J}^{-1}$	$0.05 \text{ J}^{-1}$
<b><math>C_0</math> (g/Kg)</b>	14.4	12.7	11.5
<b><math>T_{1/2}</math>(jours)</b>	17.45	17.83	14.11
	Phase2		
<b>Ordre</b>	0	0	1
<b>Equation</b>	$C = 5.7 - 0.01 t$	$C = 5.9 - 0.07 t$	$\ln C = 1.5 - 0.03 t$
<b>K</b>	$0.01 \text{ g.Kg}^{-1} \cdot \text{J}^{-1}$	$0.07 \text{ g.Kg}^{-1} \cdot \text{J}^{-1}$	$0.03 \text{ J}^{-1}$
<b><math>C_0</math>(g/Kg)</b>	5.7	5.9	4.5
<b><math>T_{1/2}</math>(jours)</b>	247.71	41.36	24.84

En comparant les deux phases : les constantes de vitesses et les temps de demi-réactions sont en faveur de la prédominance de la première phase. La réaction de biodégradation est plus accélérée pendant la première phase (les constantes K sont plus élevés) donnant des temps de demi-réaction plus courts.

## Conclusion

Le traitement d'un sol contaminé par du gasoil à l'aide d'une biopile a permis d'atteindre des résultats très prometteurs dénotant le rôle crucial de l'aération dans la biodégradation des hydrocarbures.

L'élimination des TPH se fait en grande partie au cours des vingt premiers jours de traitement et les fractions simples (alcanes et aromatiques) ont été dégradées en premier lieu suivies des fractions complexes.

Le rendement d'élimination du gasoil dans la biopile est de 85% au bout de 76 jours de traitement seulement. Ce résultat est très probant si on le compare au rendement maximal de 59 % pour le témoin (l'atténuation naturelle) obtenu au bout de 270 jours (9 mois).

A ce stade de l'étude, les résultats mettent en évidence la capacité des microorganismes autochtones à dégrader le gasoil. Le procédé Biopile est efficace et applicable aux sols algériens avec des rendements élevés de décontamination et cela après seulement 76 jours de traitement.

## CHAPITRE VIII

### TRAITEMENT DES LIXIVIATS DE LA DECHARGE D'OUED SMAR PAR PHOTOCATALYSE HETEROGENE $\text{TiO}_2/\text{UV}$

#### VIII .1 CARACTERISATION DES LIXIVIATS DE LA DECHARGE D'OUED SMAR

La composition des lixiviats récoltées au cours de la période 2009-2011 est donnée sur le tableau VIII.1. Ces résultats révèlent de grandes variations de la composition chimique des lixiviats prélevés à différents points de la décharge et à des périodes différentes. Ces variations sont dues à la composition des déchets et à la durée d'enfouissement. **Vilar *et al* (2011a)** indique que le lixiviat des sites d'enfouissement sanitaires présente une composition très complexe, avec une couleur intense, une forte concentration en matières organiques (biodégradables et récalcitrantes), des matières en suspension, de l'ammonium, des chlorures, des sulfates et d'autres ions. La complexité des lixiviats en particulier les lixiviats âgés, implique la recherche de méthodes de traitement efficaces et à faible coût afin de réduire l'impact négatif sur l'environnement.

La composition chimique de ces lixiviats permet de constater que la DCO se situe dans une large gamme allant de 1 200 à 34 200 mg  $\text{O}_2/\text{L}$  selon les points de collecte. L'alcalinité, les chlorures et les MES sont relativement élevés par rapport aux normes.

L'analyse des composés azotés a permis de constater que l'azote d'ammoniacal est présent en forte concentration. On note aussi une légère variation dans les concentrations suivant les points de collecte. Les nitrites et nitrates sont présents en faibles concentrations. D'après **Deng et Ezyske (2011)**, un lixiviat stabilisé contient des niveaux élevés en matières organiques non biodégradables et en azote ammoniacal et l'élimination simultanée de ces deux polluants persistants dans un tel lixiviat est un défi majeur.

La conductivité électrique est également élevée avec une valeur allant de 5 à 14 mS/cm mais la réglementation des rejets en Algérie ne prévoit pas de limite pour ce paramètre.

Les concentrations des métaux lourds sont relativement dans les normes à l'exception pour le fer qui présente des concentrations assez élevées pour certains points de collecte, dépassant considérablement les valeurs préconisées par la législation en vigueur ; ces résultats corroborent ceux de **Wu et al, (2011a, b) et de Vilar et al, (2011b)**.

Ceci nous amène à présumer que ces métaux restent piégés au sein des couches sol-déchet de la décharge, alors que le fer se trouve essentiellement sous sa forme lessivable, ce qui expliquerait les fortes teneurs des lixiviats en fer, et en particulier au niveau du lixiviat provenant du forage. Cependant et tenant compte de la bibliographie parue, notamment les travaux de **Bilgili et al (2007)**, nous pouvons considérer que la concentration des métaux lourds dans les lixiviats de décharge ne constituerait pas une préoccupation majeure, puisque leurs concentrations sont en-dessous de la limite fixée par la réglementation et atteindraient ces limites avec le temps. D'après **Renou et al, (2008c)**, les teneurs en métaux des lixiviats ainsi que les acides gras volatiles diminuent rapidement avec le temps conjointement à l'augmentation du poids moléculaire des constituants organiques.

La présence des acides humiques et fulviques de haut poids moléculaire est importante à souligner du fait de leur affinité avec les polluants. Ces espèces fortement complexantes, sont en effet responsables du transport et du comportement des principaux polluants dans l'environnement, en particulier les métaux et les polluants hydrophobes, ces composés sont également reconnus comme étant responsables de la coloration brune-noirâtre des lixiviats. Les lixiviats stabilisés sont donc globalement moins chargés que ceux d'un jeune lixiviat, mais plus difficiles à biodégrader.

Les valeurs relevées du pH sont comprises entre 7 et 8 durant toute l'année, ceci rejoint la constatation faite par **Christensen et al (2001)** qui indiquent que le pH neutre est couramment observé dans une décharge.

Le rapport DBO<sub>5</sub>/DCO qui est pris en compte pour exprimer la fraction organique facilement biodégradable en plus des paramètres indicateurs de la pollution (DCO et DBO<sub>5</sub>), présente des valeurs assez disparates, cependant ces dernières demeurent relativement assez faibles indiquant, de ce fait, une faible biodégradabilité des lixiviats étudiés.

Tableau VIII.1: Caractérisation des lixiviats de la décharge d'Oued Smar.

Paramètre	Unité	Lixiviat 1 (02/2009)	Lixiviat 2 (06/2009)	Lixiviat 3 (03/2010)	Lixiviat 4 (05/2010)	Lixiviat5(forage) (01/2011)
pH	-	7.3 - 7.6	7.0 - 8.4	7.4	7.8	7.3
Conductivité	mS/cm	12.85	14.6	6.6	8.7	5
Alcalinité	mg CaCO <sub>3</sub> /L	2867	3033	ND	ND	ND
Chlorure	mg/L	2584	4076	1301.5	3183.5	1782
M.E.S	mg/L	490	520	412.5	1141.7	39125
DCO	mg O <sub>2</sub> /L	28200	34200	1233	16500	4417
DBO <sub>5</sub>	mg O <sub>2</sub> /L	3850	3685	220	750	250
Rapport (DBO <sub>5</sub> /DCO)	-	0.13	0.10	0.178	0.045	0.056
NTK	mg /L	1852	1576.7	5.8	8.5	3.5
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	mg /L	3625.7	3145.4	166	392	356
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	mg/L	0	0	15	54	95
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	mg/L	0.75	0,24	0.11	1.87	0.26
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	mg/L	ND	ND	0.9	1.22	26.4
Fe	mg/L	4.88	3.29	10	2.8	83
Cu	mg/L	< 0.003	< 0.003	0.04	0.08	0.14
Pb	mg/L	0.22	0.32	0.22	0.34	0.46
Hg	mg/L	ND	ND	traces	traces	traces
Cd	mg/L	< 0.002	< 0.002	ND	ND	ND
Zn	mg/L	1.05	1.39	ND	ND	ND
Cr	mg/L	0.31	0.13	ND	ND	ND

Cette faible biodégradabilité constatée peut être attribuée à la présence des substances réfractaires et de la matière organique non biodégradable, cette dernière hypothèse a aussi été avancée par **Kurniawan et Lo (2009)** lors de leur étude sur un lixiviat de la décharge de Hong Kong, où le rapport DBO<sub>5</sub>/DCO relevé a été de l'ordre de 0,08.

Cette hypothèse a été aussi avancée par **Poblete et al, (2011)** où ils affirment que les lixiviats stabilisés présentant un rapport DBO<sub>5</sub>/DCO très faible sont caractérisés par la présence de matière organique récalcitrante difficile à traiter. C'est le cas des lixiviats de la décharge d'Oued Smar où le rapport DBO<sub>5</sub>/DCO est proche ou égale à 0,04.

Pour **De Morais et Zamora (2005)** quoiqu'ils partagent le postulat de la complexité avérée des lixiviats stabilisés notamment pour les lixiviats présentant des faibles rapports de DBO<sub>5</sub>/DCO (inférieur à 0.10), toutefois, ils imputent cette complexité à la prédominance des acides fulviques et des acides humiques de poids moléculaire très élevé supérieur à 10 kD.

De ces résultats, il apparaît que les lixiviats de la décharge d'Oued Smar présentent une forte charge polluante pour l'environnement, et qu'un traitement de ces lixiviats est plus qu'indispensable. Ceci nous a amené à opter pour un procédé physico-chimique : la photocatalyse hétérogène avec le dioxyde de titane «TiO<sub>2</sub>» comme catalyseur, et ce pour transformer ces composés récalcitrants du lixiviat en des composés biodégradables.

De même, ceci, nous permettra d'améliorer éventuellement la biodégradabilité des composés organiques pour un traitement biologique ultérieur ou d'obtenir une minéralisation complète des constituants organiques : **Deng (2009)** et **Poblete et al, (2011)**.

Il est à noter que la suite de l'étude a été réalisée avec les lixiviats 1 et 2 prélevés au cours de la période février-juin 2009.

## VIII.2 TRAITEMENT PHOTOCALYTIQUE DES LIXIVIATS

### VIII.2.1 Etude de l'Influence du pH sur l'efficacité du traitement photocatalytique

Dans le cadre de cette étude, nous avons choisi de travailler à des valeurs de pH où le catalyseur TiO<sub>2</sub> change de charge. En s'appuyant sur le fait que le pH<sub>PZC</sub> du dioxyde de titane TiO<sub>2</sub> est compris dans la gamme des pH 5.6-6.4; et que selon la valeur du pH appliqué, la surface du catalyseur serait chargée positivement (pour un pH



$<pH_{Pzc}$ ), négativement (pour un  $pH >pH_{Pzc}$ ) ou neutre (pour un  $pH = pH_{Pzc}$ ) (**Cho et al, 2002; Bayarri et al, 2005**).

Cette caractéristique affecte d'une manière significative les propriétés d'adsorption et de désorption de  $TiO_2$ . En outre, la structure des polluants changera avec le pH (**Bayarri et al. 2005**). Il est donc clair que les interactions et l'affinité des substances polluantes vis-à-vis du  $TiO_2$  seront régies selon la valeur du pH appliqué.

Pour ce faire, nous avons procédé à deux séries d'essais, où nous avons suivi le traitement photocatalytique des lixiviats à des pH régulés ou non de 5 et 6 respectivement, nous avons aussi procédé à des essais à pH réel, afin de permettre une meilleure comparaison. Nous avons aussi choisi la demande chimique en oxygène DCO comme paramètres réponse du système utilisé.

Les évolutions de la DCO du lixiviat traité par photocatalyse hétérogène, aux différentes valeurs du pH lors des essais, sont rapportées par la figure VIII.1 (A et B).

L'allure des courbes révèlent une tendance temporelle décroissante de la DCO, mais sans toutefois, atteindre la valeur fixée des rejets par le journal officiel (120mg d' $O_2/L$ ).

Concernant les cinétiques de l'évolution de la DCO à pH 6 et à pH réel du lixiviat, on peut en distinguer trois phases ;

- La première phase correspond aux premières heures du traitement ; une diminution de la DCO y est enregistrée et cette réduction varie selon la valeur du pH utilisée.
- Une deuxième phase caractérisée par un palier : Ce dernier est atteint suite à une saturation des sites d'adsorption des composés organiques sur le  $TiO_2$ .
- Une troisième phase au cours de laquelle un déclin rapide de la DCO est obtenu. Cette phase montre une allure un peu particulière à la fin du traitement pour l'essai réalisé à pH 6 régulé.

Une augmentation et une diminution de la DCO à plusieurs reprises et à des vitesses très différentes sont observées

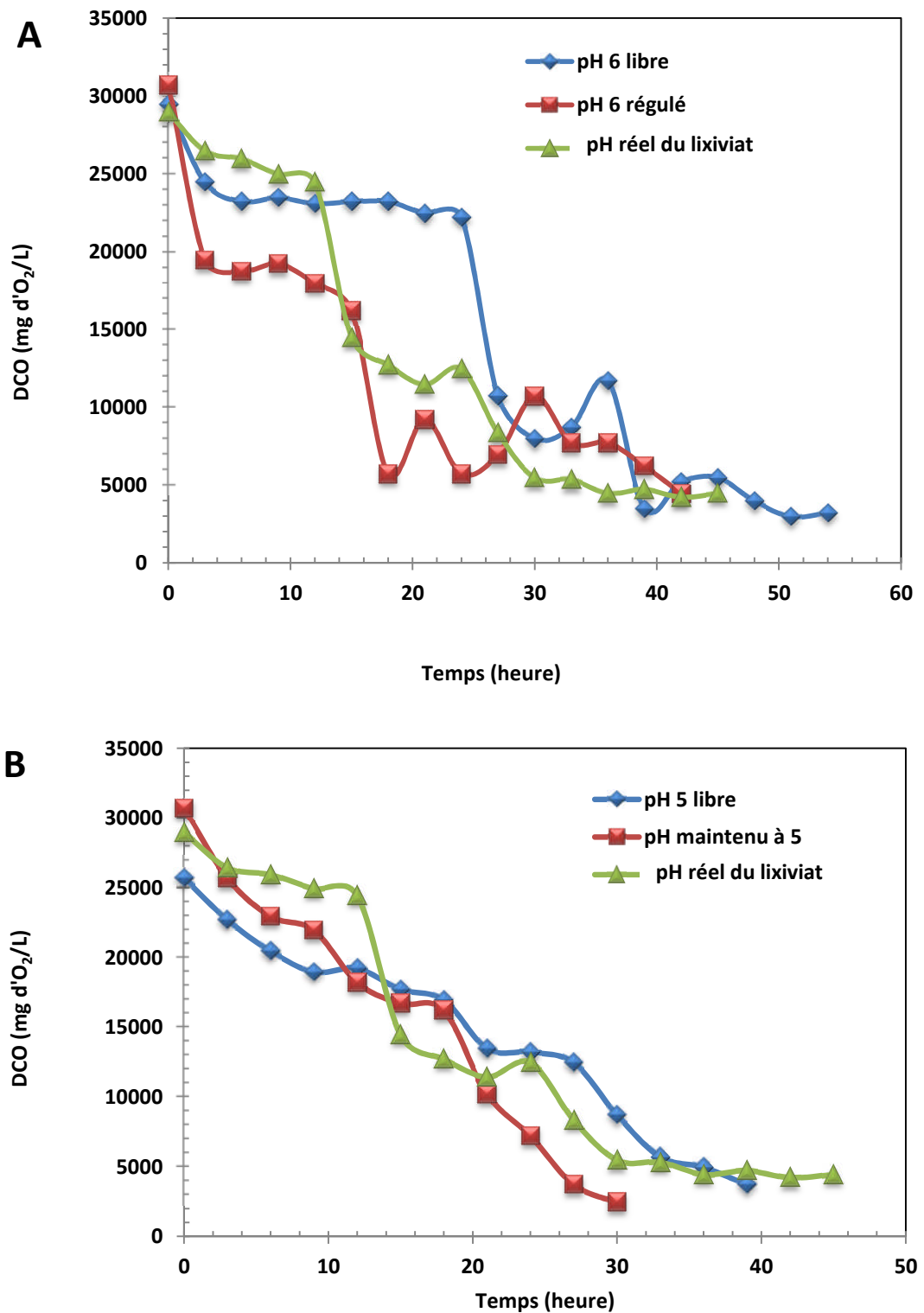


Figure VIII.1 : Effet du pH sur le procédé TiO<sub>2</sub>/UV

A) à pH 6 libre et régulé B) à pH 5 libre et régulé

➤ Ces augmentations de la DCO reflètent le rôle de la photocatalyse hétérogène qui consiste dans un premier temps à scinder des molécules mères en molécules filles (composés intermédiaires), entraînant ainsi une augmentation de la demande chimique en oxygène. Dans un deuxième temps, une oxydation des composés intermédiaires formés par des radicaux  $\text{HO}^\bullet$  correspond à une diminution de la DCO. Celle-ci compensera donc toute nouvelle apparition d'espèces chimiques, ce qui peut expliquer l'apparition du palier que l'on visualise à la fin de chaque traitement.

En revanche à pH 5 régulé, le profil des courbes de la photodégradation du lixiviat révèle que l'évolution de la DCO durant le traitement est différente de celle obtenue lors de l'étude de l'influence de pH sur la photocatalyse hétérogène.

La diminution de la DCO suit une cinétique régulière d'ordre quasi nulle tout au long du traitement. On peut expliquer ce phénomène par le fait qu'à pH 5 régulé, les acides humiques sont solubles et donc leurs effets filtres sont réduits. Il est connu que le pH peut affecter le mécanisme et les voies de la dégradation et donc affecter la cinétique de dégradation photocatalytique du lixiviat.

Les résultats obtenus lors de l'étude de l'influence du pH sur l'abattement de la DCO du lixiviat de la décharge ont permis de constater que la régulation du pH améliore légèrement les performances du procédé de traitement. Les rendements de l'abattement de la DCO du lixiviat traité obtenus pour chaque valeur de pH, sont regroupés dans le tableau VIII.2.

Il apparaît que le procédé y est plus efficace à pH 5 régulé correspondant à un taux d'abattement élevé de l'ordre de 92%. Dans ces conditions, l'adsorption sur la surface du catalyseur est fortement favorisée par les forces d'attraction entre les molécules organiques et le catalyseur  $\text{TiO}_2$  chargé positivement. Une dégradation de la matière organique a pu être réalisée aussi dans le lixiviat, par les radicaux hydroxyles libérés lors de la photocatalyse hétérogène  $\text{TiO}_2/\text{UV}$ , qui peut être argumenté par l'évolution du pH (**Figure VIII.3**).

A mesure que le pH augmente, le  $\text{TiO}_2$  acquiert une charge négative, ce qui a provoqué une diminution de l'adsorption des substances organiques sur le catalyseur réduisant de ce fait leurs dégradations. **Kurniawan et Lo (2009)** ont rapporté qu'au cours du traitement photocatalytique, les radicaux  $\text{HO}^\bullet$  dégradent rapidement tous les composés cibles du lixiviat.

Tableau VIII.2 : Influence du pH sur le taux d'abattement de la DCO et des  $\text{NH}_4^+$ 

pH	Durée (h)	R <sub>DCO</sub> (%)	R <sub>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></sub> (%)
pH réel du lixiviat	45	84	17
pH ajusté à 6	54	89	14.4
pH maintenu à 6	48	76	14.8
pH ajusté à 5	39	86	10
pH maintenu à 5	30	92	7.4

Nous avons constaté une augmentation du pH de près d'une unité, lors des 3 premières heures de traitement puis une stabilisation a lieu à des valeurs proches de 8 (**Figure VIII.3-A et B**). L'allure générale des courbes de l'évolution du pH est assez similaire, un palier est obtenu, quoique que pour le cas où le pH a été ajusté à 5, la valeur du pH continue à augmenter jusqu'à atteindre une valeur de 7.5 (**Figure VIII.3-C**).

L'augmentation du pH est la résultante directe de la production des radicaux hydroxyles. La stabilité du pH que nous avons observé est due, d'une part à la production de ces oxydants, et d'autre part à la consommation de ces derniers pour la dégradation des espèces chimiques et la formation de produits organiques oxydés. Les radicaux  $\text{HO}^\bullet$  étant produits en continu, ceci explique le déplacement et la croissance du pH.

Le suivi de la concentration de l'azote ammoniacal au cours du traitement a montré que ce paramètre n'évoluait pas durant l'expérience et ce pour les différents pH (**Tableau VIII.2**).

La grande variation des substances organiques présentes dans le lixiviat, implique une hétérogénéité dans la nature de la charge de leurs surfaces extérieures (chargées négativement ou positivement). A ce pH, le taux d'abattement de la DCO est intéressant, ce qui laisse supposer que les substances organiques sont en compétition avec l'ammoniaque pour s'adsorber sur la surface de  $\text{TiO}_2$ , et qui explique la faible élimination de  $\text{NH}_4^+$ .

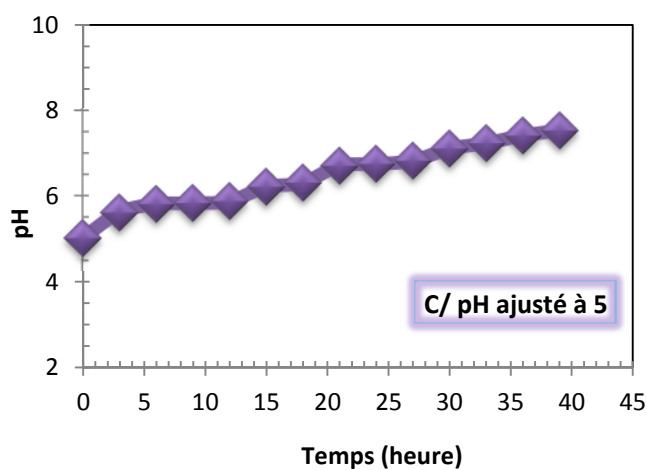
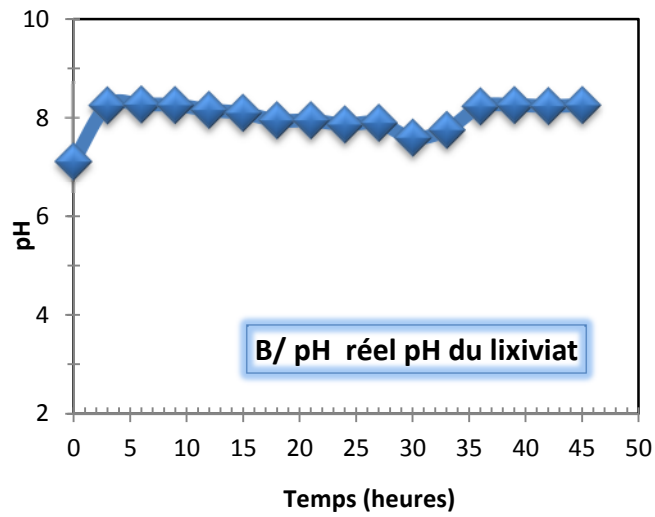
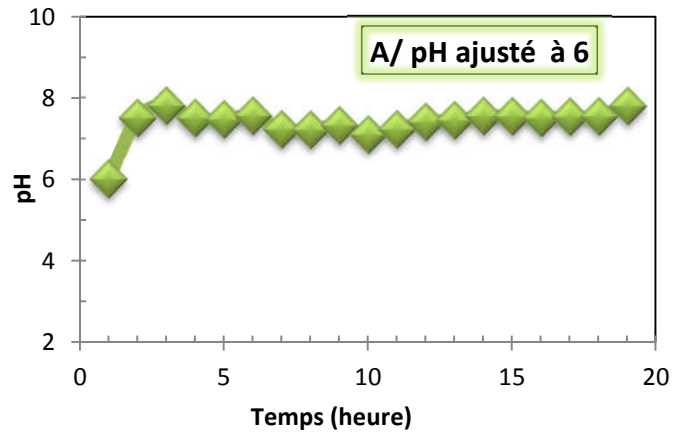


Figure VIII.3 : Evolution du pH au cours du traitement des lixiviats par  $TiO_2/UV$ .

### VIII.2.2 Paramètres de la cinétique de la photocatalyse hétérogène TiO<sub>2</sub>/UV

D'après l'allure générale des courbes, nous estimons que la cinétique d'abattement de la DCO aux différentes valeurs du pH (pH 6, pH initialement ajusté à 5 et pH réel du lixiviat) est une réaction d'ordre 1 selon l'équation VIII.1:

$$\ln(C/C_0) = -kt \quad \text{(VIII.1)}$$

Par contre, l'ordre de la réaction change et passe de 1 à 0 pour des cinétiques obtenues à pH maintenu à 5 (Equation VIII.2).

$$C = -kt + C_0 \quad \text{(VIII.2)}$$

La figure VIII.4 illustre les tracés de Ln (DCO) en fonction de la durée de traitement pour chaque valeur du pH. Ces résultats montrent que la dégradation photocatalytique du lixiviat traité à pH réel du lixiviat et à pH ajusté initialement à 6 et à 5, obéit effectivement à une cinétique du premier ordre, puisque les courbes de la photocatalyse suivent une cinétique exponentielle.

La représentation graphique du Ln(DCO) en fonction du temps expérimental (t) ont permis de déterminer les constantes k et les coefficients de corrélation R<sup>2</sup> présentés sur le tableau VIII.3.

On constate d'après le tableau VIII.3 que le coefficient de corrélation R<sup>2</sup> est satisfaisant, ceci dénote une corrélation satisfaisante entre les résultats expérimentaux et le modèle cinétique. D'autre part, les valeurs de k calculées sont très proches et se situent aux alentours de -0,04 et -0,05, ce qui signifie que la vitesse de dégradation de chacun des traitements est similaire. En revanche, la figure VIII.5 montre bien un changement dans l'ordre de la cinétique, qui devient d'ordre 0. Il est important de noter que ces changements dans la vitesse de dégradation et dans l'ordre de la cinétique, ont lieu lorsque le traitement est réalisé à pH maintenu durant toute la durée du traitement à 5. De plus le meilleur taux d'abattement de la DCO est obtenu pour cette valeur du pH.

Les résultats expérimentaux montrent que la cinétique de diminution de la DCO en fonction du pH est de premier ordre et reste inchangée, sauf pour le traitement réalisé à pH maintenu à 5 elle devient d'ordre 0. Pour expliquer la cinétique de diminution de la DCO, d'autres essais ont été menés et ce pour mieux appréhender le changement de l'ordre de la réaction passant de 1 à 0 à pH 5. Dans ce cadre, nous avons étudié l'effet de la charge polluante sur la DCO.

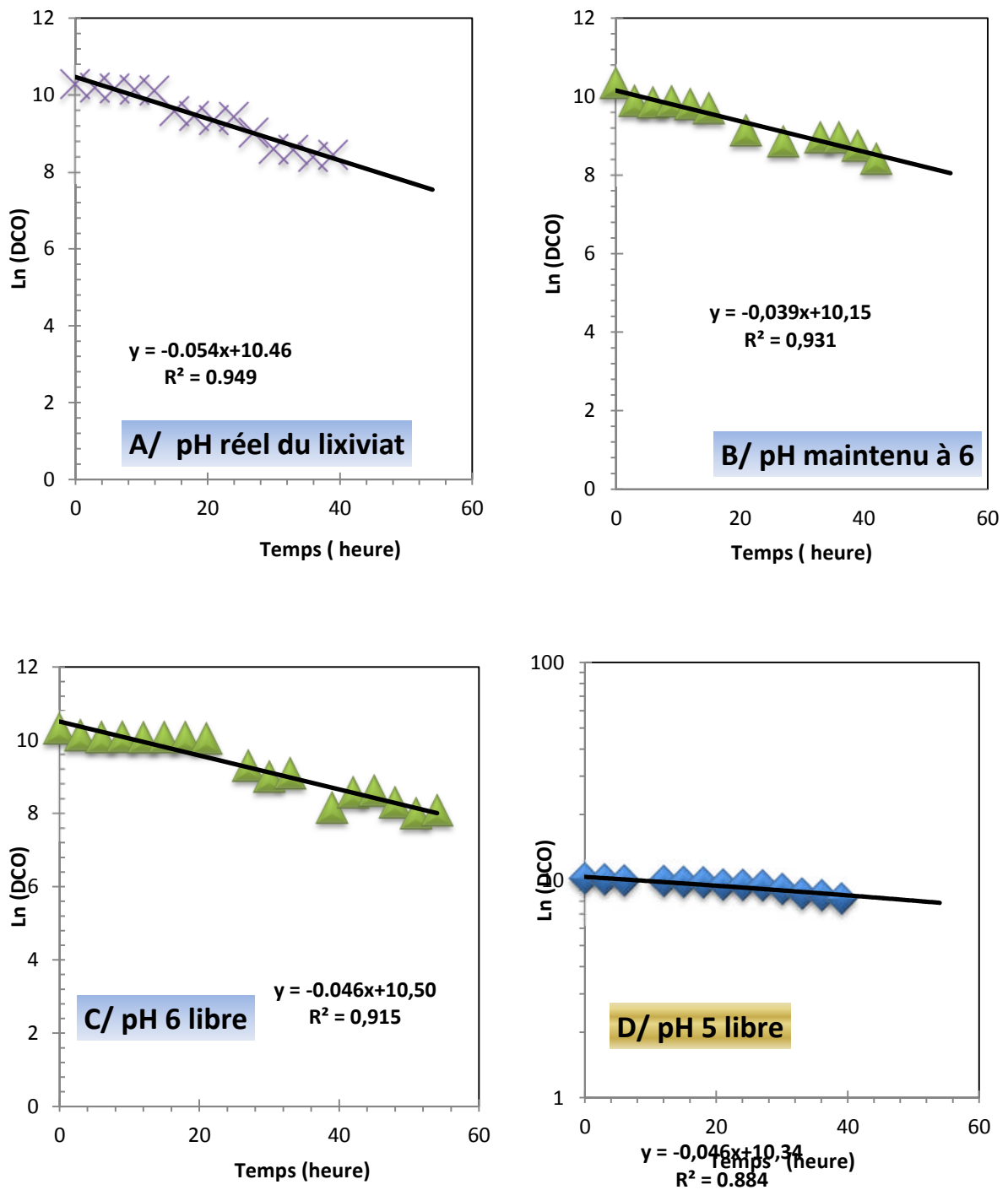


Figure VIII.4: Modèles cinétiques de la minéralisation de la charge polluante des lixiviats par  $TiO_2$  à différents pH.

### VIII.2.3. Effet de la charge polluante

L'effet de la charge polluante des lixiviats de la décharge, comprise dans la gamme de 1200 à 34 000 mgO<sub>2</sub>/L, sur l'efficacité du procédé a été réalisé à pH=5 régulé. Les résultats obtenus (**Figure VIII.5**) dévoilent une allure similaire et ce pour les différentes charges avec une cinétique d'ordre 0 sauf pour le lixiviat 4.

La représentation graphique (DCO/DCO<sub>0</sub>) en fonction du temps expérimental (t) a permis de déterminer les constantes k et les coefficients de corrélation R<sup>2</sup> présentés dans le tableau VIII.4.

Les résultats confirment l'obtention des constantes k très proches, malgré l'étendue de la gamme des charges polluantes des lixiviats variant de 1200 à 34000 mgO<sub>2</sub>/L.

Le traitement du lixiviat 5 issu du forage a montré que la valeur de la constante k obtenue est d'environ 2 fois plus élevée que celle obtenue avec les lixiviats de surface. Les valeurs des coefficients de corrélation R<sup>2</sup> sont proches de l'unité et ce pour toutes les expériences, confirmant que la loi cinétique d'ordre zéro peut être retenue pour représenter la cinétique de minéralisation des polluants par le procédé TiO<sub>2</sub>/UV.

Il apparait ainsi que la charge des solutions traitées n'influe pas sur l'ordre de la cinétique du procédé d'épuration et cela dans la large gamme de DCO allant de 1200 à 34 000 mgO<sub>2</sub>/L.

### VIII.2.4. Traitement par photocatalyse hétérogène TiO<sub>2</sub>/UV

Le pH des lixiviats est ajusté et maintenu constant à 5 durant tout le processus de traitement par POA (paramètre préalablement optimisé).

Les résultats obtenus lors de l'étude de l'influence du pH sur l'abattement de la DCO des lixiviats ont permis de constater que le procédé est plus efficace à pH 5 régulé avec un taux d'abattement élevé de l'ordre de 92% pour les lixiviats 1.

Après ajustement du pH à 5 dans le cas des lixiviats 3, 4 et 5, il a été constaté un abattement de la DCO de (1233 à 850 mg d'O<sub>2</sub>/L) de (16500 à 7500 mg d'O<sub>2</sub>/L) et de (1467 à 867 mg d'O<sub>2</sub>/L) respectivement correspondant aux taux d'abattement suivants 31, 55 et 41%.



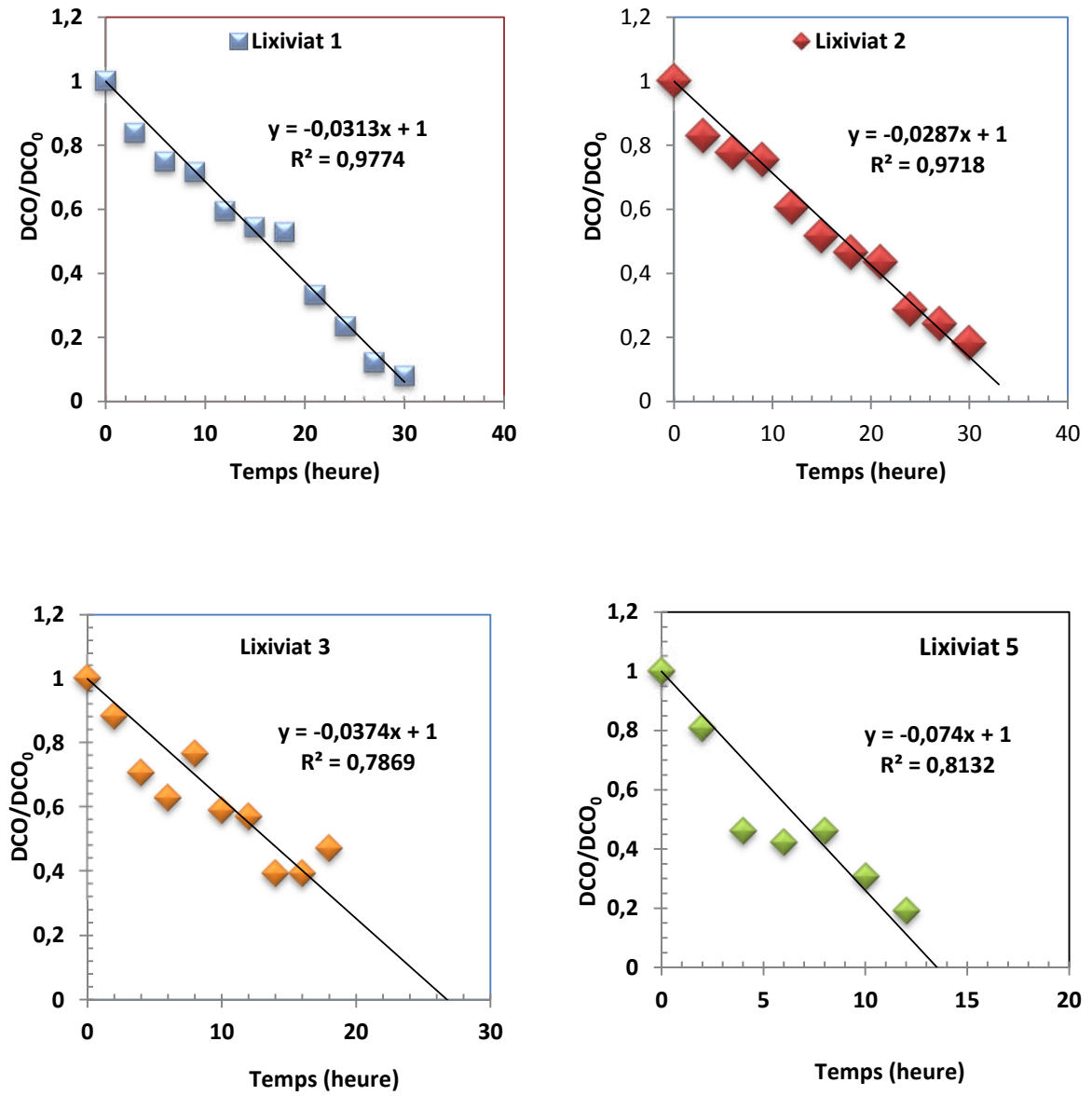


Figure VIII.5 : Représentation graphique du  $DCO/DCO_0$  des lixiviats traités par  $TiO_2/UV$  à pH réglé à 5.

Tableau VIII.3 : Paramètres cinétiques de la DCO lors du traitement photocatalytique.

	pH naturel du lixiviat	pH maintenu à 6	pH ajusté à 5	pH ajusté à 6
<b>Ordre</b>	1	1	1	1
<b>Equation</b>	$\text{Ln DCO} = -0,054t + 10,46$	$\text{Ln DCO} = -0,039t + 10,15$	$\text{Ln DCO} = 0,046t + 10,34$	$\text{Ln DCO} = -0,046t + 10,50$
<b>R<sup>2</sup></b>	0.949	0.931	0.884	0,915
<b>k</b>	-0.054	-0.039	-0.046	-0.046

Tableau VIII.4 : Paramètres cinétiques de la photocatalyse des eaux de la décharge d'Oued Smar.

	Lixiviat 1	Lixiviat 2	Lixiviat 3	Lixiviat 5 Forage
<b>Equation</b>	$C/C_0 = -0.031x + 1$	$C/C_0 = -0.028x + 1$	$C/C_0 = -0.037x + 1$	$C/C_0 = -0.074x + 1$
<b>R<sup>2</sup></b>	0.977	0.971	0.786	0.813
<b>k</b>	-0.031	-0.028	-0.037	-0.074

Il est à signaler que le lixiviat 5 issu du forage a un caractère encrassant ; il présente une forte concentration en MES (près de 40 g/L) liée à la présence de matières en suspension et de colloïdes. Pour ce faire, une décantation naturelle du prélèvement a été réalisée et a entraîné une réduction de la DCO à une charge de près de 1.5 g d'O<sub>2</sub>/L soit un abattement de 60 % (pour une charge initiale en DCO de 4.4 g d'O<sub>2</sub>/L).

Le pH maintenu à 5 serait donc un traitement pré-photocatalytique très probant où l'hydrolyse acide jouerait un rôle prépondérant dans l'abattement de la charge polluante.

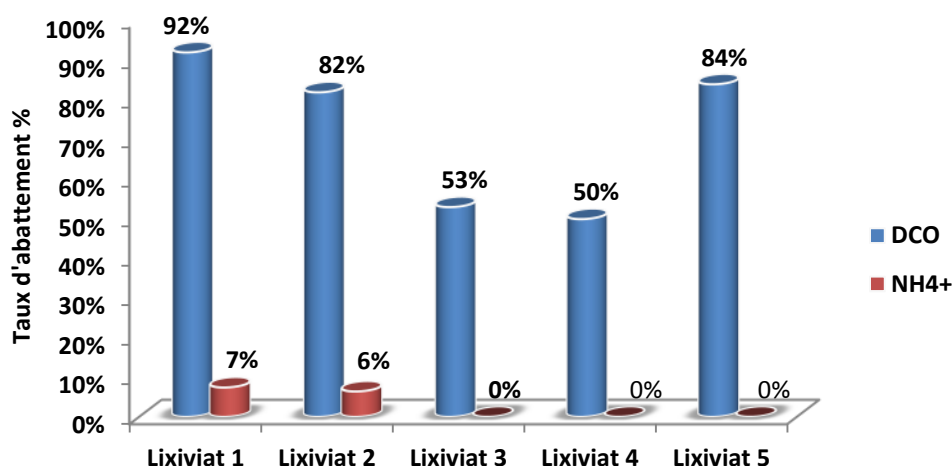
Le traitement par photocatalyse hétérogène TiO<sub>2</sub>/UV quant à lui a permis d'atteindre un taux d'abattement de la matière récalcitrante des lixiviats de 53, 50 et 84% pour lixiviats 3, 4 et 5.

Cette grande variation des rendements d'élimination de la charge polluante exprimée en DCO est due probablement aux caractéristiques particulières de chaque lixiviat issu de la même décharge mais prélevé à des périodes et dans des zones différentes (**Figure VIII.6**).

Inversement à la DCO, l'acidification des lixiviats n'élimine pas les NH<sub>4</sub><sup>+</sup> sauf pour le lixiviat 4 où nous avons constaté un abattement de 39.5% par rapport à la charge initiale après ajustement du pH à 5.

Les résultats de l'abattement de la DCO et des NH<sub>4</sub><sup>+</sup> des lixiviats obtenus à pH 5 par POA, sont représentés sur la figure VIII.6. Nous pouvons remarquer que les rendements d'abattement des NH<sub>4</sub><sup>+</sup> obtenus par le procédé de photooxydation hétérogène TiO<sub>2</sub>/UV sont négligeables comparativement à ceux obtenus pour la DCO. Le suivi de la teneur en NH<sub>4</sub><sup>+</sup> au cours du traitement a montré que ce paramètre ne varie guère durant l'expérience.

Nous pouvons observer que la photocatalyse hétérogène présente une faible efficacité en termes de minéralisation des lixiviats à pH alcalin, en effet, à pH 5, seule la matière organique est minéralisée sous l'effet de la photooxydation hétérogène TiO<sub>2</sub>/UV, ces observations corroborent celles émises par **Rocha et al (2011)**. En effet **Cho et al (2002)** ont montré que l'abattement de la DCO d'un lixiviat, au cours d'un traitement photocatalytique, doit être réalisé dans des conditions acides en particulier à pH 4; à l'opposé, l'oxydation photocatalytique de l'azote ammoniacal est effectuée à pH basique.



**Figure VIII.6 : Rendement d'abattement de la DCO et des  $\text{NH}_4^+$  après traitement par photocatalyse hétérogène  $\text{TiO}_2/\text{UV}$ .**

Les nouvelles caractéristiques des lixiviats traités par photocatalyse hétérogène sont récapitulées dans le tableau VIII.5. Il en ressort que la photocatalyse hétérogène  $\text{TiO}_2/\text{UV}$  a permis d'améliorer la biodégradabilité des lixiviats (i.e., le rapport  $\text{DBO}_5/\text{DCO}$ ). En effet, les rapports  $\text{DBO}_5/\text{DCO}$  obtenus après traitement varient entre 0.2 et 0.6 ceci nous permet d'affirmer que les lixiviats traités sont fortement biodégradables; la dégradation complète des lixiviats se fera naturellement par des microorganismes autochtones.

En termes de charge polluante exprimée en DCO, le rendement final du traitement par procédé physico-chimique (hydrolyse acide et POA) appliqué au lixiviat 3 est de 67 %, ce qui correspond à une DCO finale de 400 mg d' $\text{O}_2/\text{L}$ . Cette dernière valeur nous amène à annoncer que le traitement par le procédé POA seul n'est pas assez suffisant pour répondre aux normes de rejets en milieu naturel, cependant, il répond aux normes de déversement de celui-ci dans une station d'épuration d'eau usée urbaine (STEP), puisque la valeur du rapport  $\text{DBO}_5/\text{DCO}$  le permet. La norme à l'entrée de cette dernière est de 1000 mg d' $\text{O}_2/\text{L}$  (J.O.R.A, 2009). Le lixiviat 3, traité par POA sera donc facilement et rapidement dégradé par les boues activées de la station d'épuration.

Quant au lixiviat 5 traité par POA, il ne nécessite pas un post-traitement, en effet, sa DCO finale est de 140 mg d' $\text{O}_2/\text{L}$  (correspondant à un rendement de 97%) considérée comme valeur convenable pour un rejet en milieu naturel.

Tableau VIII.5 : Caractéristiques physico-chimiques des lixiviats traités par POA.

Paramètre	Unité	Lixiviat3 /POA	Lixiviat4 /POA	Lixiviat5 /POA
pH		5	5	5
Conductivité	mS	0.5	0.7	0.6
DCO	mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	400	3778	140
DBO <sub>5</sub>	mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	82	1000	84
Rapport (DBO <sub>5</sub> /DCO)		0.2	0.3	0.6
COT	mg C L <sup>-1</sup>	436	4808	ND
NTK	mg L <sup>-1</sup>	9.1	9.87	ND
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	mg.L <sup>-1</sup>	185	237	407
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	mg.L <sup>-1</sup>	11.63	22.44	42.65
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	mg.L <sup>-1</sup>	0.025	0.237	0.88
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	mg.L <sup>-1</sup>	0.93	2.18	19.4
Fe	mg.L <sup>-1</sup>	11.7	8.4	112
Cu	mg.L <sup>-1</sup>	0.11	0.27	0.03
Pb	mg.L <sup>-1</sup>	0.4	0.5	0.4
M.E.S	mg.L <sup>-1</sup>	233	464	160
AOS		2.7	0.9	ND
Couleur λ 450 nm		0.256	0.682	0.185
λ 254nm		0.785	1.024	0.754

Pour le lixiviat 4 traité par POA, la charge en DCO passe de près de 16.5 à 3.8 g d'O<sub>2</sub>/L, soit un rendement obtenu de 77 %, ce qui correspond au même ordre de grandeur obtenu par l'équipe de **Meeroff et al (2012)** où les taux d'abattelements obtenus varient entre 55 et 87% pour des lixiviats qu'ils ont traités par le procédé TiO<sub>2</sub>/UV.

La DCO restant largement élevée et au-dessus des normes en vigueur pour pouvoir rejeter l'effluent dans le milieu naturel, un post-traitement s'avèrerait donc nécessaire pour respecter les normes de rejets. Mais il a relevé que la photocatalyse hétérogène par sa capacité à minéraliser et à simplifier des molécules réfractaires et

récalcitrantes, a permis de transformer le lixiviat 4 en un effluent plus biodégradable ( $DBO_5/DCO=0.3$ ).

Un traitement biologique est des plus convenables et nous permettrait de rester dans un contexte économique peu onéreux. Les composés organiques dans les lixiviats sont oxydés par les radicaux libres et minéralisés en  $CO_2$  et  $H_2O$  ou transformés en composés moins nocifs, qui peuvent être ensuite enlevés à l'aide d'un procédé biologique **Kurniawan et al (2006)**.

Le tableau VIII.5 montre que l'application du POA sur les lixiviats entraîne une légère augmentation de la teneur des métaux lourds par rapport aux concentrations initiales, toutefois ces concentrations restent dans la fourchette des normes citées par le journal officiel Algérien mis à part le fer où une élévation de 30% a été constatée. **Sillanpää et al (2011)** dans leur synthèse bibliographique ont rapporté que **Yang et Davis (2000a, b)** ont constaté que les POA ont la capacité de casser l'agent complexant métal-métal à travers la séparation entre les métaux lourds et de son agent complexant. Une fois que la capacité de complexation de métal du composé cible est détruite, le métal résiduel pourrait être rejeté dans des solutions, tandis que le photocatalyseur peut être réutilisé.

La présence gênante des ions ammoniums et du fer dans notre effluent prétraité par le procédé POA peut devenir un avantage en étant « utilisables » par les microorganismes. En effet, ces microorganismes aux besoins nutritifs parfois très spécifiques, la pollution minérale et organique leur servira de substrat et de micronutriments. Le POA donne donc l'avantage de poursuivre le traitement par un traitement biologique, qui dans notre cas, est le bioréacteur aérobie. **Vilar et al (2011b)** ont proposé la combinaison entre le procédé photo-fenton et le traitement biologique pour décontaminer le lixiviat de la décharge. Les résultats obtenus ont révélé que le prétraitement photocatalytique était très efficace et permettait une amélioration de la biodégradation du lixiviat lors du traitement biologique.

### VIII.2.5.Toxicité

La toxicité a également été évaluée au début et à la fin du traitement photocatalytique et ce pour chaque lixiviat à l'exception des lixiviats prélevés en 2009 (**Tableau VIII.6**). Les valeurs obtenues sont exprimées en unités toxiques (TU) selon l'équation citée par **Lapa et al (2002)** et **Barbosa et al (2012)**:

$$TU = (1/ EC_{50}) 100\% \quad (VII.3)$$

Pour le lixiviat 5, après 18 heures de traitement, la toxicité a augmenté d'une manière assez significative. On «passe» d'un lixiviat non toxique (TU =0) à un lixiviat toxique dont la valeur du TU varie entre 1.7 et 2.5 après 15mn et 30mn de contact avec la bactérie *Vibrio fischeri* NRRL B-11177. Contrairement au lixiviat 5, les résultats obtenus du lixiviat 4 révèlent une diminution de la toxicité. La valeur correspondante de TU passe de 2.5 à 0 après 15 mn de contact avec la bactérie *Vibrio fischeri* NRRL B-11177. Le lixiviat 4 n'est plus toxique et de ce fait le couplage (POA/ traitement biologique) peut être envisagé. Concernant le lixiviat 3, le traitement par photocatalyse hétérogène TiO<sub>2</sub>/UV n'engendre aucun effet toxique vis-à-vis de la bactérie *Vibrio fischeri* NRRL.

En conclusion, le comportement des trois lixiviats vis-à-vis de la toxicité (test Microtox) est différent d'un lixiviat à l'autre. Ce constat corrobore les travaux de **Baun et al (2004)** et nous renseigne sur le caractère fortement hétérogène de la composition des lixiviats issus d'une même décharge mais prélevés à des intervalles temps et à des points différents.

**Tableau VIII.6: Résultats du test Microtox.**

	EC <sub>50</sub> (%)		TU	
	15mn	30mn	15mn	30mn
<b>Temps d'exposition</b>	15mn	30mn	15mn	30mn
<b>Lixiviat 1</b>	ND	ND	ND	ND
<b>Lixiviat 2</b>	ND	ND	ND	ND
<b>Lixiviat 3</b>	Non toxique	Non toxique	0	0
<b>Lixiviat 4</b>	40%	37%	2.5	2.7
<b>Lixiviat 5</b>	Non toxique	Non toxique	0	0
<b>Lixiviat 3/POA</b>	Non toxique	Non toxique	0	0
<b>Lixiviat 4/POA</b>	Non toxique	Non toxique	0	0
<b>Lixiviat 5/POA</b>	58%	36%	1.7	2.7
<b>Lixiviat 4/POA/Bioréacteur- Lixiviat 4</b>	Non toxique	Non toxique	0	0
<b>Lixiviat 4/POA/Bioréacteur-Extrait de sol</b>	Non toxique	Non toxique	0	0
<b>Lixiviat4/POA/Bioréacteur-Boue activée</b>	Non toxique	Non toxique	0	0

### VIII.3-ETUDE DU COUPLAGE PHOTOCATALYSE HETEROGENE (TiO<sub>2</sub>/UV)/TRAITEMENT BIOLOGIQUE PAR BIOREACTEUR AEROBIE

L'objectif fixé par la photocatalyse hétérogène TiO<sub>2</sub>/UV est atteint (amélioration du rapport DBO<sub>5</sub>/DCO), ce qui a conduit à une augmentation de la biodégradabilité des lixiviats et en particulier celui des lixiviats 2 et 4 dont la DCO demeure élevée après traitement (3778 mg d'O<sub>2</sub>/L et 6200 mg d'O<sub>2</sub>/L respectivement). **Vilar et al (2011b)** ont préconisé une amélioration du rapport DBO<sub>5</sub>/DCO par le procédé POA comme prétraitement au traitement biologique ; dans leur cas, ils ont amélioré le rapport DBO<sub>5</sub>/DCO d'une valeur de 0.16 à une valeur de 0.37, cette dernière valeur leur permettait d'entrevoir une amélioration considérable de la biodégradabilité.

Pour les lixiviats 2 et 4 irradiés, les valeurs de la DCO au-dessus des normes de rejet nous orientent vers un traitement biologique par bioréacteur aérobie.

#### VIII.3.1-Etude de la faisabilité du couplage

Des essais de traitement biologique par bioréacteur aérobie ont été envisagés sur les lixiviats 2 et 4 irradiés avec la boue activée afin d'évaluer la compatibilité biologique des lixiviats irradiés par le procédé de photocatalyse hétérogène TiO<sub>2</sub>/UV. Les résultats de ces essais sont présentés par la figure VIII.7.

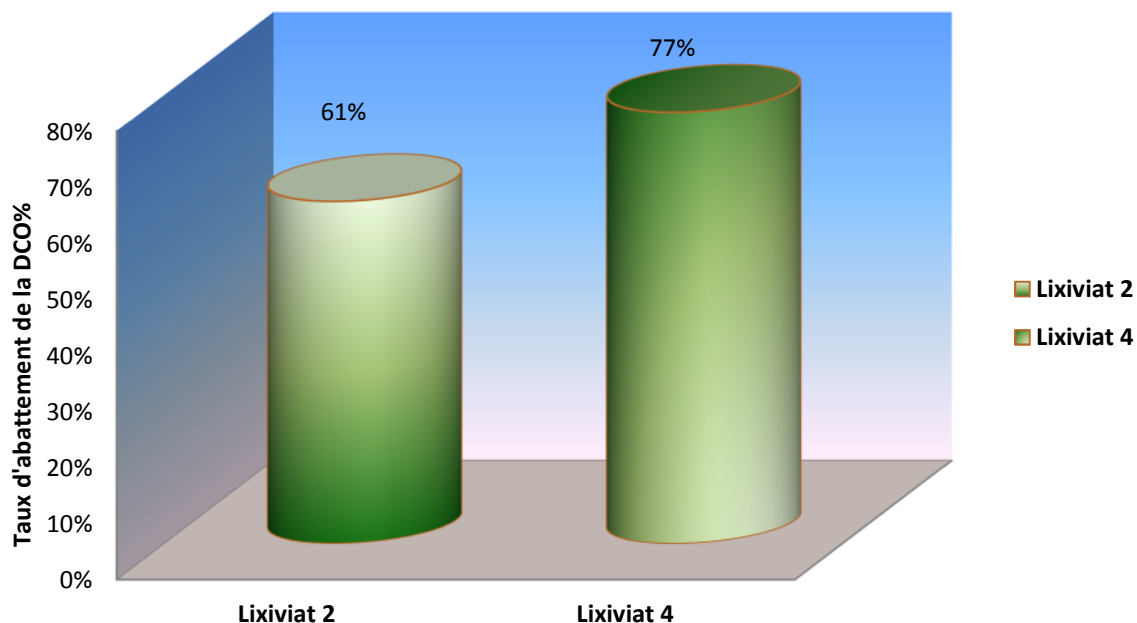


Figure VIII.7 : Rendement d'abattement de la DCO après traitement biologique.



De ces premiers résultats, nous pouvons percevoir que le traitement biologique par les boues activées a permis une réduction de la DCO entre 61 et 77% et démontre que le traitement biologique y est très efficace pour la biodégradation des composés intermédiaires résultant de la photocatalyse des lixiviats. Le traitement biologique est donc envisageable et la suite de l'étude a été réalisée avec le lixiviat 4 irradié.

### VIII.3.2. Traitement biologique par bioréacteur aérobie

Dans le but de vérifier l'hypothèse émise par **Chemlal *et al* (2013)** concernant le recyclage des lixiviats irradiés au sein de la décharge qui se comporte comme une biopile, des essais sur la capacité des microorganismes autochtones des lixiviats bruts et des sols issus de la décharge d'Oued Smar ont été entamés.

Avant d'amorcer le traitement biologique et d'évaluer l'efficacité de la biodégradation de la matière organique, plusieurs paramètres ont été revus afin de réunir les conditions favorables à la biodégradation de la matière organique. Pour cela, nous avons ajusté deux paramètres: le pH et le rapport C/N/P. D'autres paramètres ont fait aussi l'objet d'un suivi régulier, à savoir la DCO, COD, C-CO<sub>2</sub>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, pH et enfin la croissance microbienne (Absorbance à 600nm).

Les résultats concernant la DCO, le pH et la croissance des microorganismes sont représentés sur la figure VIII.8. Elle met en évidence que quel que soit le type d'inoculumensemencé dans les bioréacteurs (lixiviat 4 brut, extrait de sol et boue activée), les courbes obtenues pour la DCO présentent les mêmes tendances et profils. Une augmentation de la DCO a été observée en début de traitement suivi d'une diminution progressive jusqu'à atteindre un palier pour laquelle le traitement n'apporterait plus d'amélioration supplémentaire.

Les valeurs de la DCO enregistrées à l'instant  $t_0$  du traitement par bioréacteur aérobie sont de 4133, 4800 et 4333 mg d'O<sub>2</sub>/L respectivement pour les bioréacteursensemencés par le lixiviat 4 brut, l'extrait de sol et la boue activée.

La figure VIII.8-A représente l'évolution de la DCO au niveau du bioréacteurensemencé par le lixiviat 4 brut. Dans un premier temps, la DCO a tendance à augmenter atteignant une valeur maximale de près de 7,5g d'O<sub>2</sub> /L après 29h de traitement, pour ensuite diminuer progressivement au cours du traitement jusqu'à atteindre un palier d'une valeur de 1,6g d'O<sub>2</sub> /L pour laquelle le traitement n'est plus efficace.

Pour le bioréacteur ensemencé par l'extrait de sol représenté sur la figure VIII.8-B, la valeur maximale de la DCO est de 5,9g d'O<sub>2</sub>/L au bout de 27h de traitement, puis elle diminue par la suite et atteint un palier à la valeur de 1,5g d'O<sub>2</sub>/L.

Quant au bioréacteur inoculé par boue activée représenté dans la figure VIII.8-C, la DCO maximale a atteint une valeur de 9,3g d'O<sub>2</sub>/L, beaucoup plus importante par rapport aux autres bioréacteurs et ce après 24h de traitement. En effet, le meilleur taux d'abattement de la DCO de 77% est observé au niveau de ce bioréacteur dont la DCO finale est de 1g d'O<sub>2</sub>/L par rapport aux autres bioréacteurs inoculés par le lixiviat 4 brut et l'extrait de sol, pour lesquels les taux d'abattements de la DCO sont respectivement de 60% et 70%. Des taux d'abattement de la DCO presque similaires ont été obtenus par **Del Moro et al (2013)**, **Cassano et al (2011)** et **Xie et al (2010)** durant le traitement des lixiviats réalisé par couplage traitement biologique/ POA. Ces taux sont respectivement de 64.2%, 54% et 80%.

On peut expliquer l'augmentation de la DCO dans les trois bioréacteurs par le fait que la flore microbienne au cours du traitement a besoin d'une source d'énergie et de carbone. Cette dernière est extraite de l'oxydation de la matière organique. En fait, les macromolécules de la matière organique sont hydrolysées par les enzymes exocellulaires sécrétées par les microorganismes en molécules simples. Il s'agit d'une phase de catabolisme. Ces molécules simples sont ensuite assimilées par les microorganismes soit pour être minéralisées pour des besoins énergétiques soit pour synthétisées des constituants cellulaires. A l'opposé de la phase du catabolisme, on parle de la phase d'anabolisme. Cette dernière désigne l'ensemble des réactions qui entraîne la diminution de la DCO.

L'évolution du pH en fonction du temps sont représentée par la figure VIII.8. Au début de la biodégradation de la matière organique le pH du lixiviat irradié était de 8.5 pour le bioréacteur inoculé par la boue activée et 7 pour les bioréacteurs inoculés par l'extrait de sol et le lixiviat 4brut. Il augmente durant les deux premiers jours du traitement puis se stabilise à des valeurs de pH proche de l'alcalinité (pH 8-8.9) pour les bioréacteurs inoculés par l'extrait de sol et le lixiviat 4 brut. Cette augmentation du pH est due à l'hydrolyse de l'urée qui conduit à la formation de l'ammoniac (rappelons que les bioréacteurs sont enrichis par l'urée).

Le bioréacteur ensemencé par la boue activée se comporte différemment. Le pH diminue durant le premier jour du traitement atteignant une valeur de 7.4, puis par la suite il augmente et se stabilise à des valeurs légèrement basiques. La baisse de pH observée en début de traitement indique la présence d'une activité microbienne accrue dans le lixiviat irradié inoculé par la boue probablement due aux différentes réactions

biochimiques qui entraînent l'assimilation des composés de la matière organique. Un autre paramètre responsable de la diminution du pH est la production des nitrates observée au début du traitement (**Figure VIII.14**) suite au processus de nitrification.

L'utilisation du CO<sub>2</sub> libéré lors de la minéralisation de la matière organique par les microorganismes autotrophes et le piégeage du CO<sub>2</sub> par le NaOH entraîne l'élévation du pH d'où la stabilité de ce dernier à des valeurs basiques.

Le suivi de la croissance microbienne est un paramètre clé dans les bioréacteurs, il permet d'évaluer la capacité des microorganismes à minéraliser la matière organique et de définir le type de métabolisme microbienne en établissant le lien entre la consommation de la matière organique et la croissance microbienne. Les résultats de la cinétique de croissance sont représentés sur la figure VIII.8, où l'on peut noter le comportement des microorganismes dans chacun des bioréacteurs.

D'après la figure VIII.8, on peut remarquer que, hormis le bioréacteur inoculé par le lixiviat 4 qui présente une courte phase de latence qui a duré un peu moins de 24h, une quasi absence de phase de latence, due au fait que les procédés ont été enrichis avec une préculture avant traitement ce qui a permis aux microorganismes de s'adapter très rapidement au substrat d'où une apparition directe de la phase exponentielle.

L'allure des courbes est très intéressante, car dans un premier temps, l'évolution des microorganismes est identique, et ce quel que soit l'origine de l'inoculum ensemené dans les bioréacteurs. Une phase exponentielle très rapide atteignant un pic au bout de 45h de traitement est constatée, suivie par une phase stationnaire qui a duré plus de 48h. Après 120h de traitement, on atteint la phase de déclin. Néanmoins, en plein phase de déclin, on assiste à une reprise de la croissance.

Dans les faits, on constate au cours de la biodégradation de la matière organique, l'apparition de trois courbes de croissance successives en relation avec les activités du catabolisme et d'anabolisme : le catabolisme des fractions de la matière organique difficilement assimilables par les microorganismes et l'anabolisme des métabolites intermédiaires facilement assimilables par les microorganismes.

Dans le cadre de ce travail, on ne s'intéressera qu'à la première courbe de croissance qui correspond d'après les résultats à la phase de minéralisation du carbone organique dissous. Il serait par ailleurs intéressant de comparer les vitesses spécifiques de croissance des trois types de population microbienne.

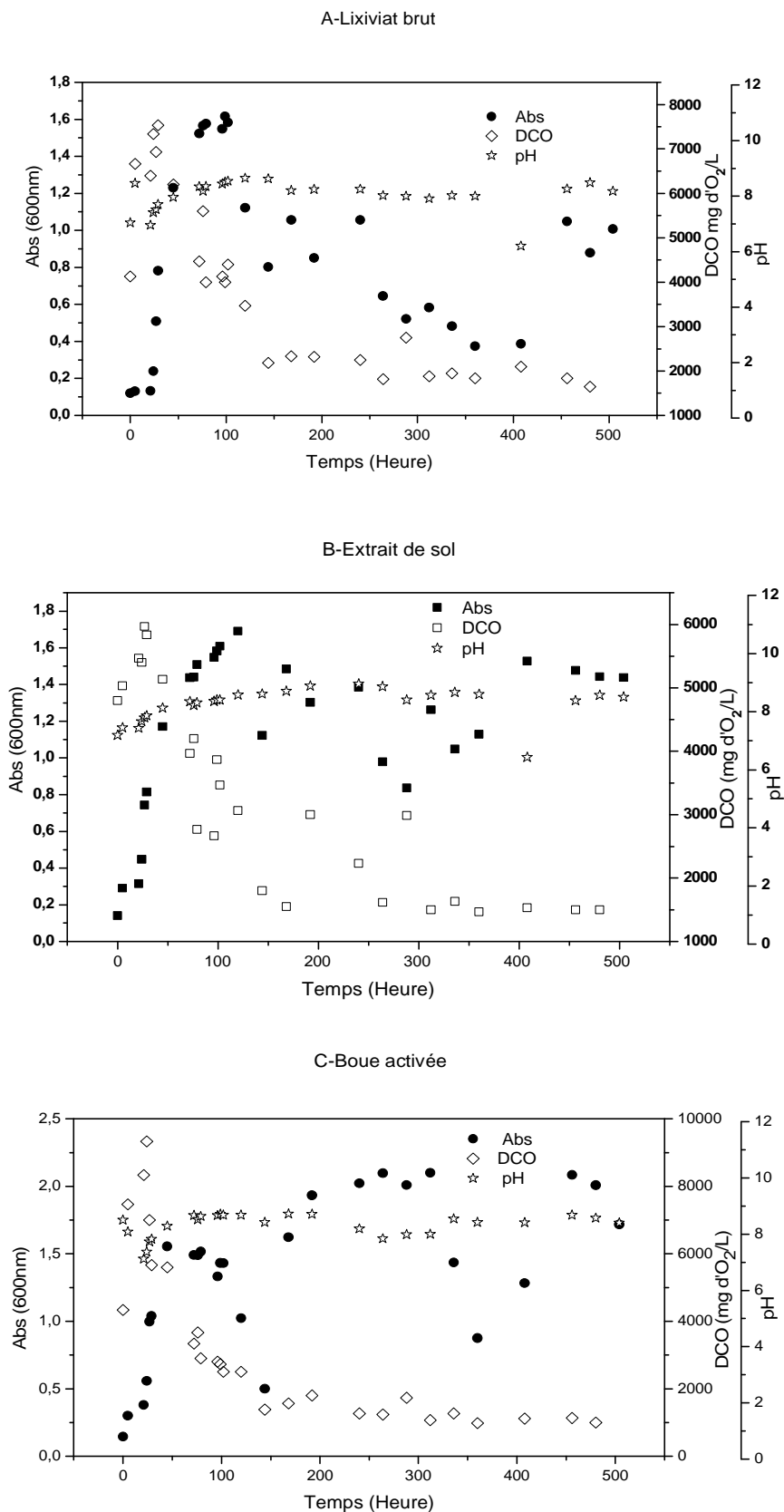


Figure VIII.8 : Evolution de la DCO, du pH et de la croissance microbienne au cours du traitement par bioréacteur aérobie.

Les paramètres de la croissance sont calculés selon la méthode utilisée par **Liwarska-Bizukojc *et al* (2001)**. Le taux de croissance des microorganismes est calculé à partir de la relation suivante:

$$X=X_0 e^{\mu t} \quad \text{(VIII.4)}$$

Où  $\mu$  est le taux de croissance.

$X$  et  $X_0$  correspondent aux absorbances  $A$  et  $A_0$  mesurées à 600nm à l'instant  $t$  et  $t = 0$  respectivement.

Selon **Liwarska-Bizukojc *et al* (2001)**,  $\mu$  peut être considéré comme le taux de croissance spécifique maximal des microorganismes  $\mu_{\max}$  ( $\text{heure}^{-1}$ ) de la phase exponentielle.

En traçant  $\text{Log } A / A_0$  en fonction du temps, une représentation linéaire de la pente  $\mu_{\max}$  est obtenue.

Les résultats obtenus par linéarisation des phases exponentielles présentées dans la figure VIII.8 sont résumés dans le tableau VIII.7. La vitesse spécifique de croissance des microorganismes dans le bioréacteur inoculé par le lixiviat4 brut est plus grande que celle du Bioréacteur inoculé par la boue suivie de la vitesse du Bioréacteur inoculé par l'extrait de sol. Ceci s'explique par une meilleure adaptation des microorganismes du fait que l'inoculum provient lui-même du lixiviat 4 brut non traité. Leur vitesse de croissance  $y$  est très rapide par rapport aux autres inoculas.

**Tableau VIII.7: Résumé des  $\mu_{\max}$ .**

	Equation	R <sup>2</sup>	$\mu_{\max}(\text{h}^{-1})$
<b>Bioréacteur lixiviat</b>	$y=0.001e^{0.224x}$	0.997	0.224
<b>Bioréacteur sol</b>	$y=0.022e^{0.125x}$	0.976	0.125
<b>Bioréacteur boue</b>	$y=0.022e^{0.135x}$	0.959	0.135

Mais ceci n'est pas pour autant suffisant en termes de charge polluante exprimée en DCO pour mener à terme le traitement biologique. En effet, la phase de déclin s'est manifestée rapidement pour le bioréacteur inoculé par le lixiviat 4 brut et le rendement d'abattement de la DCO est plus faible par rapport aux deux autres bioréacteurs. Contrairement au carbone organique dissous où le taux d'abattement est intéressant.

A la fin du traitement biologique par bioréacteur aérobie une diminution du rapport DBO<sub>5</sub>/DCO est enregistrée (**voir Tableau VIII.8**). Ceci est dû au fait que la teneur en matières non biodégradables représente une fraction plus importante dans le lixiviat 4 irradié, ce qui explique le palier pour lequel le traitement n'est plus efficace.

**Tableau VIII.8: Caractéristiques physico-chimiques du lixiviat 4 irradié à la fin du traitement biologique.**

Paramètre	unité	Bioréacteur	Bioréacteur	Bioréacteur
		lixiviat	sol	boue
<b>pH</b>		8.4	8.5	8.5
<b>Conductivité</b>	mS	6.4	5.8	0.7
<b>MES</b>	mg L <sup>-1</sup>	183	41	325
<b>DCO</b>	mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	1800	1500	1000
<b>DBO<sub>5</sub></b>	mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup>	159	73.5	73.5
<b>Rapport (DBO<sub>5</sub>/DCO)</b>		0.08	0.049	0.073
<b>COD</b>	mg L <sup>-1</sup>	800	700	600
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	mg.L <sup>-1</sup>	30.4	29.4	341
<b>NO<sub>3</sub><sup>-</sup></b>	mg.L <sup>-1</sup>	14.28	10.61	11.42
<b>NO<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	mg.L <sup>-1</sup>	0.18	0.075	0.6
<b>Fe</b>	mg.L <sup>-1</sup>	0.76	1.5	1.22
<b>Cu</b>	mg.L <sup>-1</sup>	0.002	0.02	0.07
<b>Pb</b>	mg.L <sup>-1</sup>	0.3	0.36	0.37

### VIII.3. 3-Suivi de la minéralisation

Il est important de rappeler qu'une faible minéralisation de la matière organique dans les lixiviats est exigée durant le prétraitement photocatalytique afin d'assurer une quantité résiduelle significative en carbone pour la culture microbienne. La connaissance de l'efficacité de la biodégradation de la matière organique est essentielle. Pour cela il est nécessaire de suivre la minéralisation de la matière organique.

L'évolution de cette dernière a été déterminée par la mesure du carbone organique dissous (COD) et les résultats obtenus sont représentés sur la figure VIII.9. Ces résultats montrent que la minéralisation du COD présente une évolution comparable pour les trois bioréacteurs caractérisée par une chute rapide du COD au début du traitement.

L'allure générale des courbes relatives aux bioréacteurs enrichis par les différentes inoculum révèle la présence de trois étapes distinctes au cours de la minéralisation de la matière organique:

- de la 1<sup>ère</sup> jusqu'à la 144<sup>ème</sup> heure la minéralisation est intense;
- de la 144<sup>ème</sup> à la 312<sup>ème</sup> heure, il se produit un ralentissement de la minéralisation;
- dès la 312<sup>ème</sup> heure, le palier est atteint. La minéralisation est relativement stable et modérée.

D'après les résultats, on constate que la cinétique de la biodégradation du COD est du premier ordre pour le bioréacteur inoculé par l'extrait de sol et du deuxième ordre pour les bioréacteurs inoculés par la boue activée et par le lixiviat brut dont les réactions sont représentées par les équations suivantes :

$$\text{Ordre 1} \quad \text{COD} = \text{COD}_0 e^{-kt} \quad (\text{VIII.5})$$

$$\text{Ordre 2} \quad 1/\text{COD} = kt + 1/\text{COD}_0 \quad (\text{VIII.6})$$

Où  $\text{COD}_0$  est la concentration du carbone organique dissous à  $t_0=0$  et  $k$  est la constante cinétique.

Le temps de demi-réaction est défini par les équations suivantes:

$$\text{Ordre 1} \quad T_{1/2} = \ln 2/k \quad (\text{VIII.7})$$

$$\text{Ordre 2} \quad T_{1/2} = 1/k \text{ COD}_0 \quad (\text{VIII.8})$$

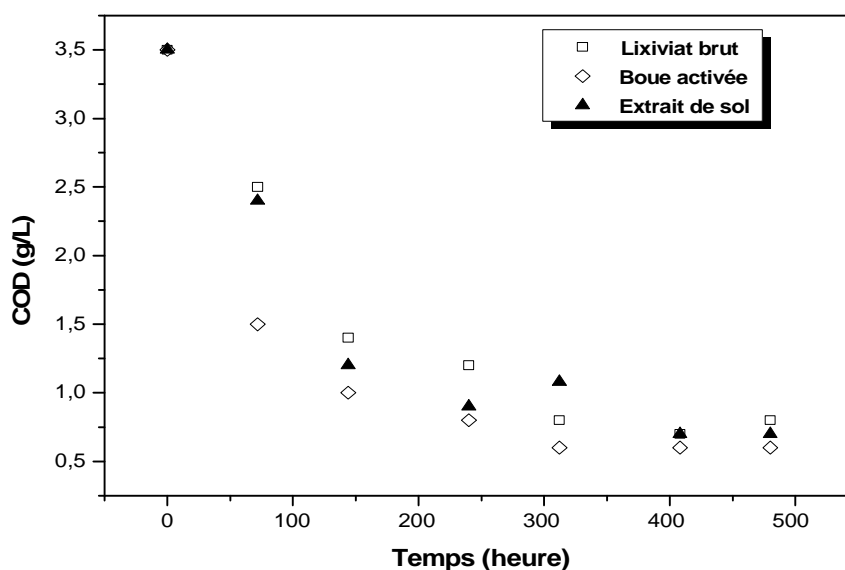


Figure VIII.9: Evolution du COD durant le traitement biologique du lixiviat irradié.

A partir de l'équation VIII.5 et VIII.6, on peut extraire les constantes de vitesses de la minéralisation de la matière organique ( $k$ ), représentées dans le tableau VIII.9. Pour cela, on s'intéresse aux points représentant la réduction du COD qui correspondent à la phase du catabolisme et d'anabolisme (hydrolyse enzymatique+ biosynthèse) de la DCO.

Il apparaît que la minéralisation par le bioréacteur sol contenant des microorganismes extrait du sol de la décharge s'avère plus rapide, suivie de près par le bioréacteurensemencé par les boues dénotant que celui-ci donne un résultat très satisfaisant. Pour le bioréacteur lixiviat, on note une vitesse de minéralisation du COD par les microorganismes du lixiviat 4 brut moins rapide comparativement aux deux autres.

Afin d'évaluer la pertinence du traitement biologique par bioréacteur aérobie, l'un des principaux critères à prendre en compte est la variation du rapport DCO/COD qui a été suivi pour chaque bioréacteur (**Figure VIII.10**). Ce rapport représente la disponibilité du carbone organique comme source d'énergie et il indique le taux d'oxydation de la matière organique.

La figure VIII.10 montre l'évolution du rapport pour le lixiviat irradié traité en bioréacteur. Au début du traitement biologique le rapport DCO/COD augmente jusqu'à atteindre les valeurs de 2,2 ; 1,8 et 1,7 respectivement pour le bioréacteurensemencé



par la boue, le bioréacteur ensemencé par le lixiviat brut et enfin le bioréacteur ensemencé par l'extrait de sol de la décharge, on observe, ensuite une diminution du rapport.

Tableau VIII.9 Paramètres cinétiques du COD des différents bioréacteurs.

	Bioréacteur lixiviat	Bioréacteur sol	Bioréacteur boue
Ordre	2	1	2
Equation	$1/\text{COD} = 0.002t + 0.248$	$\text{COD} = \text{COD}_0 e^{-0.0059t}$	$1/\text{COD} = 0.004t + 0.328$
R <sup>2</sup>	0.979	0.956	0.985
k	0.002	0.0059	0.004
T <sub>1/2</sub>	124,06	117,48	81,96

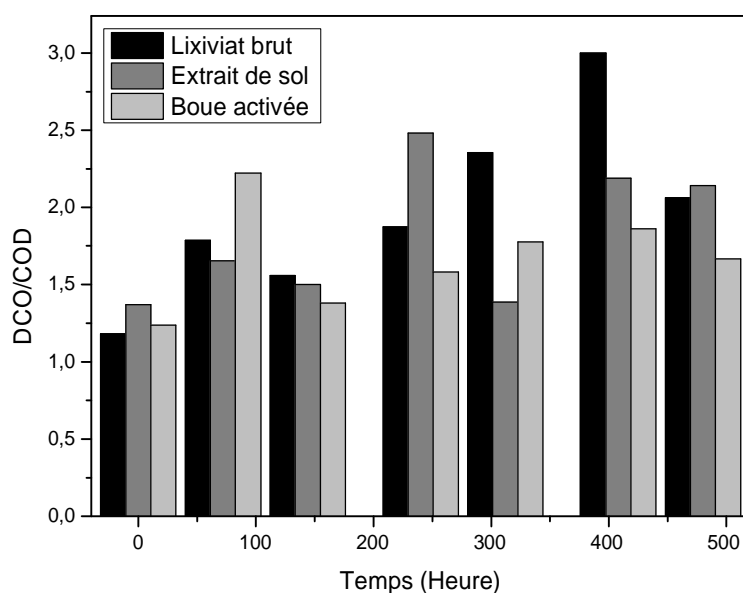


Figure VIII.10: Evolution du rapport DCO/COD durant le traitement biologique du lixiviat irradié.

Au-delà de 144heures de traitement biologique, les analyses ont indiqué que la variation observée du rapport DCO/COD est différente et ce, selon le type d'inoculum présent dans le bioréacteur.

Le rapport est presque constant avec une légère augmentation à la fin du traitement pour le bioréacteur ensemencé par la boue activée contrairement aux autres bioréacteurs où il a été constaté une augmentation importante du rapport plus particulièrement pour le bioréacteur inoculé par le lixiviat 4 brut(DCO/COD=3).

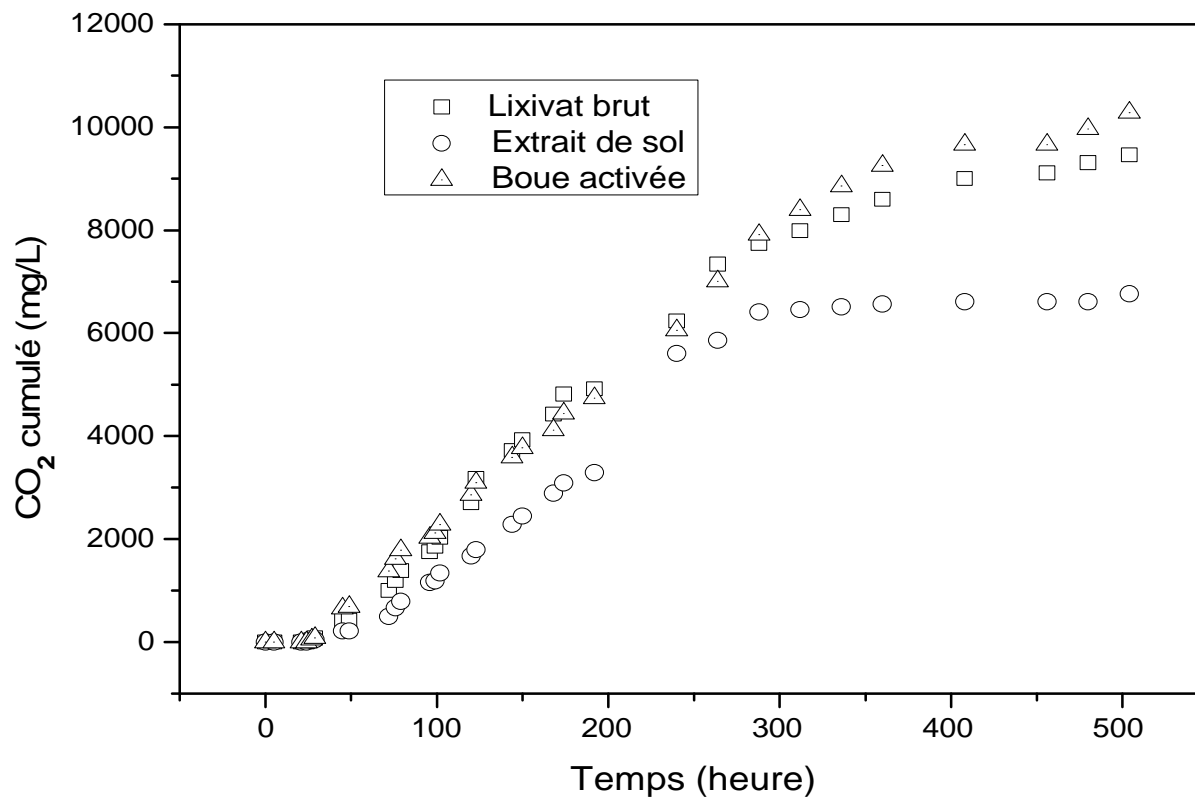
On peut attribuer la stabilité du rapport DCO/COD au niveau du bioréacteur à boue activée aux réactions de nitrification et de dénitrification qui se sont déroulées simultanément au sein du floc de la boue activée. Pour le bioréacteur sol et le bioréacteur lixiviat brut une accumulation, des ions nitrates a été constatée suite au processus de nitrification (**Figure VIII.14**).

Il est intéressant de suivre le dégagement du CO<sub>2</sub>, métabolite final de la minéralisation du carbone organique dissous par les microorganismes.

La figure VIII.11 présente le CO<sub>2</sub> cumulé émis lors de la biodégradation de la matière organique dans les trois bioréacteurs. On remarque que les courbes d'émission du CO<sub>2</sub> pour les bioréacteurs inoculés par le lixiviat brut et la boue activée sont très proches l'une de l'autre suivies par la courbe du bioréacteur inoculé par l'extrait de sol.

L'allure générale des courbes suggère l'existence de deux phases de production du CO<sub>2</sub>, avec deux vitesses différentes. La première phase se situe entre la 27<sup>ème</sup> et 288<sup>ème</sup> heure de traitement et elle est caractérisée par une forte production du CO<sub>2</sub>. La seconde à partir de la 288<sup>ème</sup> heure de traitement caractérisée par un ralentissement de la production du CO<sub>2</sub> qui devient relativement faible.

En faisant le lien avec les résultats de l'analyse du COD, la première phase de production du CO<sub>2</sub> correspond à la première phase de disparition du COD. Ces deux activités sont des étapes métaboliques assurées par les différents inoculas ensemencés dans les bioréacteurs. En effet, la minéralisation complète de la matière organique entraîne la production du CO<sub>2</sub>. Les microorganismes ont besoin d'une source de carbone et d'énergie pour leur multiplication et croissance et utilisent le carbone organique dissous de la matière organique d'où le déclin du COD et l'apparition de la phase exponentielle pour les courbes de croissance.

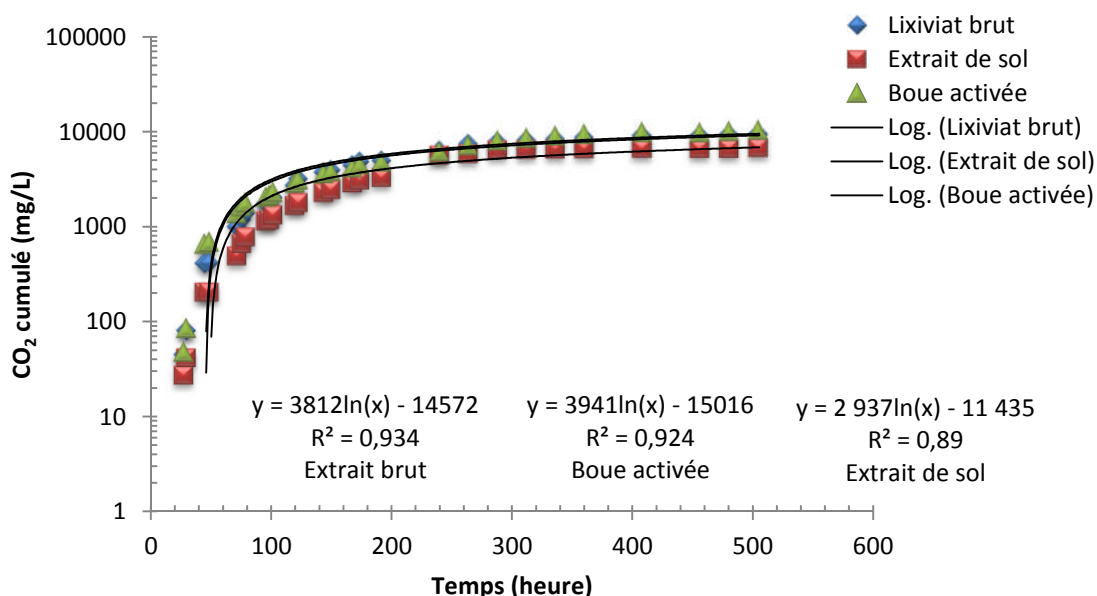


**Figure VIII.11: Evolution du CO<sub>2</sub> cumulé durant le traitement biologique.**

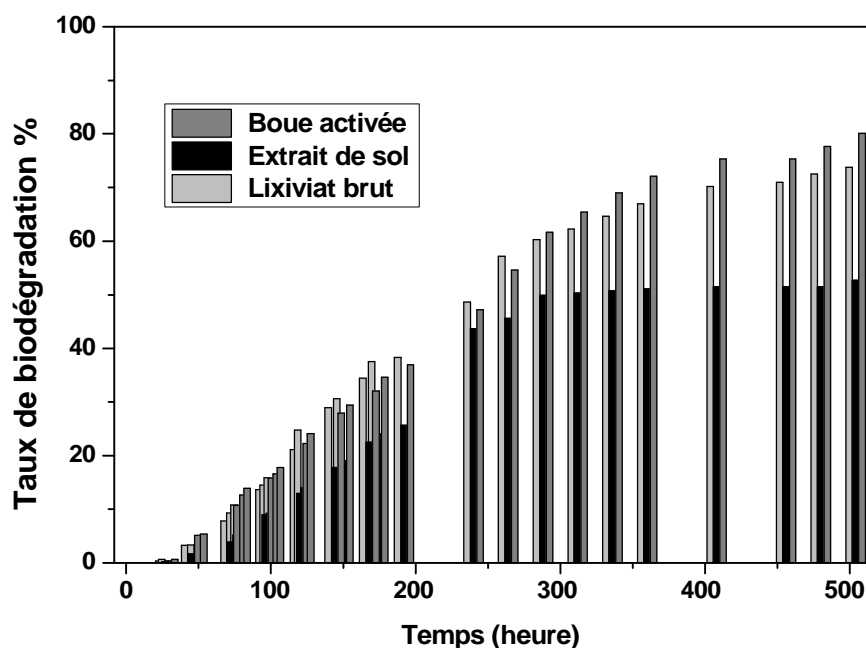
La recherche du meilleur modèle d'ajustement des données relatives à l'évolution de la production cumulée de CO<sub>2</sub> en fonction du temps de traitement aboutit à un modèle logarithmique (**Figure VIII.12**). Les coefficients de détermination obtenus sont de 0.934 pour le bioréacteur enrichi par le lixiviat brut, 0.924 pour le bioréacteur enrichi par les boues et enfin 0.89 pour le bioréacteur enrichi par l'extrait de sol. Les modèles montrent que les variations du CO<sub>2</sub> cumulé produit s'expliquent par le paramètre « temps » et non pas par l'origine de l'inoculum puisque ils sont presque identiques.

D'après la figure VIII.13 les résultats de la minéralisation de la matière organique montrent que le taux de minéralisation le plus élevé de 80% est enregistré au niveau du bioréacteur enrichi par la boue activée suivi respectivement par un taux de 74% et 53% pour le bioréacteur enrichi par le lixiviat et le bioréacteur enrichi par l'extrait de sol. Il est à signaler que le taux de minéralisation du carbone organique (R<sub>m</sub>%) correspond au rapport de la quantité de carbone dégagé par la minéralisation au carbone organique dissous initial:

$$R_m \% = (C - CO_2 \text{ dégagé} / COD_i) 100 \quad \text{(VIII.9)}$$



**Figure VIII.12:** Représentation semi logarithmique de l'émission du CO<sub>2</sub> en fonction du temps.



**Figure VIII.13 : L'évolution de la biodégradation de la matière organique en fonction du temps dans les bioréacteurs aérobies.**

Le tableau VIII.10 résume les valeurs des taux de minéralisation de la matière organique obtenues à partir des résultats de l'analyse du COD et de la méthode respirométrique.

Ces résultats révèlent que le taux de minéralisation dans les bioréacteurs lixiviat et bioréacteur boue est presque identique avec une légère différence de 3%, quel que soit la méthode d'évaluation. Par contre, au niveau du bioréacteur enrichi par l'extrait de sol une différence de 27% a été notée. Cette variabilité du taux de minéralisation calculé par les deux méthodes peut être expliquée par le fait que le phénomène de nitrification a été observé au niveau du bioréacteur inoculé par l'extrait de sol (**voir Figure VIII.14- sol**) d'où la faible intensité d'émission du CO<sub>2</sub>. Il faut rappeler que les bactéries nitrifiantes sont des bactéries autotrophes qui utilisent le carbone du CO<sub>2</sub> comme seule source de carbone.

Les taux d'abattement du COD obtenus lors du traitement biologique sont meilleurs que ceux obtenus par **Del Moro et al (2013)** et **Cassano et al (2011)**. L'abattement obtenu par ces auteurs est de l'ordre de 61%.

**Tableau VIII.10: Résumé des rendements d'abattement de la minéralisation du carbone organique.**

	Bioréacteur lixiviat	Bioréacteur boue	Bioréacteur sol
<b>%COD</b>	77%	83%	80%
<b>%R<sub>m</sub></b>	74%	80%	53%
<b>%COD-%R<sub>m</sub></b>	3%	3%	27%

Les taux élevés de la minéralisation du COD du lixiviat irradié par les microorganismes autochtones de la décharge d'Oued Smar (issues du lixiviat 4 brut et de l'extrait de sol) sont presque identiques au taux de minéralisation du COD par les boues activées. Ces résultats sont en faveur d'un recyclage des lixiviats irradiés dans la décharge dans laquelle la biodégradation de la matière organique irradiée peut se poursuivre au sein de la décharge qui se comporte comme une biopile à grande échelle.

Comme il a été constaté, au cours du traitement photocatalytique la concentration de l'azote ammoniacal est restée inchangée (**Figure VIII.6**), et nous avons par ailleurs suivi la variation des différentes formes de l'azote assimilable (azote ammoniacal, azote nitreux et l'azote nitrique) au cours de la biodégradation de la matière organique par bioréacteur. Les résultats obtenus sont illustrés sur la figure VIII.14. Les graphes obtenus ont la même allure pour les trois bioréacteurs quel que soit le type d'inoculum.

Durant les premières heures du traitement, une importante régression de la teneur en azote ammoniacal a été constatée avec une vitesse d'assimilation qui diffère selon la nature de l'inoculum (43% de  $\text{NH}_4^+$  éliminée pour le lixiviat inoculé par le lixiviat 4 brut, 61% de  $\text{NH}_4^+$  éliminée pour le lixiviat inoculé par l'extrait de sol et enfin 79% de  $\text{NH}_4^+$  éliminée pour le lixiviat inoculé par la boue activée).

La diminution de la teneur en  $\text{NH}_4^+$  durant les premières heures de traitement est suivie de l'apparition des nitrates suite au phénomène de la nitrification. L'aération des bioréacteurs favorise le phénomène de nitrification c'est à dire l'oxydation de l'azote ammoniacal en azote nitreux (nitritation) suivi d'une oxydation des ions nitrites en azote nitrique (nitratation).

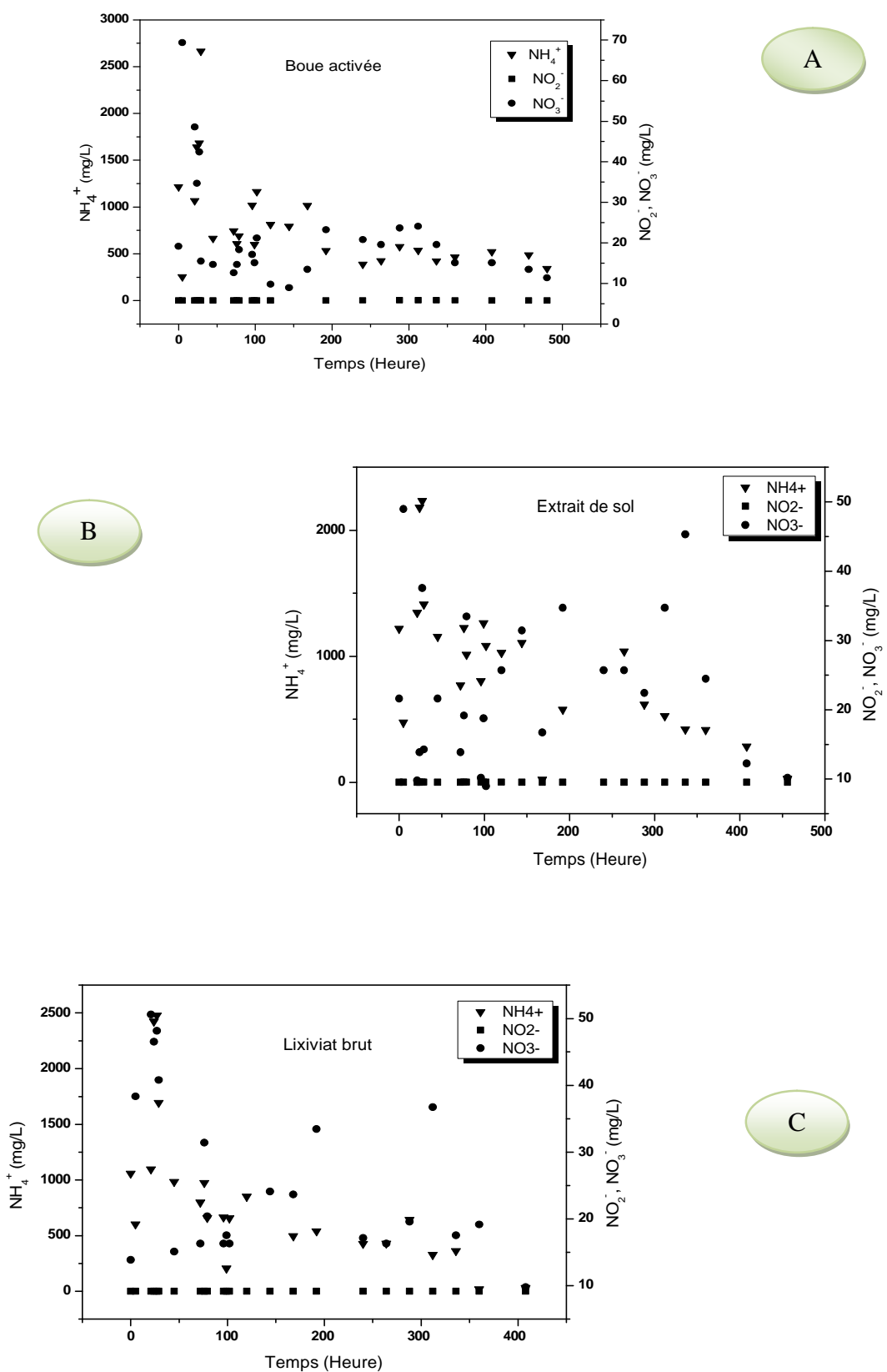


Figure VIII.14: Evolution des différentes formes d'azote assimilable au cours de la biodégradation de la matière organique dans les différents bioréacteurs.

Après 27 heures de traitement, la concentration des ions  $\text{NH}_4^+$  est optimale pour les trois bioréacteurs et ce quel que soit la nature de l'inoculum. Cette augmentation est le résultat de l'hydrolyse de l'urée (rappelons que les bioréacteurs sont enrichis par l'urée) et de la dégradation des composés organiques azotés par phénomène d'ammonification.

Au-delà de 27 heures de traitement, une seconde phase de nitrification a été enregistrée. Une accumulation des ions nitrates a été constatée dans les bioréacteurs inoculés par le lixiviat 4 brut et l'extrait de sol suite au processus de nitrification.

Dans le réacteur à boue activée, on observe que les processus de nitrification-dénitrification ont lieu simultanées au sein du floc de la boue activée. En effet, la couche du floc la plus externe, est le siège de la nitrification du fait de sa proximité avec l'interface floc/lixiviat et donc en contact avec l'oxygène alors que les couches anoxiques, les plus profondes présentant un déficit en oxygène sont donc le siège de la réaction de dénitrification. **Fu et al (2009)** ont signalé que la concentration de l'azote ammoniacal diminue lorsque les liquides transitent de la zone anoxique vers la zone aérobie et que l'élimination de l'azote se fait par les processus nitrification-dénitrification simultanées. **Del Moro et al (2013)** appuient ce constat et annoncent que 98% d'abattement de l'azote est dû aux processus de nitrification-dénitrification simultanée. Par contre, la variation de la concentration en azote nitreux est négligeable par rapport à celles des nitrates et de l'ammoniaque

Ceci est dû au fait que la nitrification étant beaucoup plus rapide que la nitritation et donc l'azote nitreux est une forme transitoire servant de pont à la nitrification.

**Vilar et al (2011b)** ont observé que l'élimination de l'azote ammoniacale par nitrification est observée durant le traitement biologique des lixiviats prétraités par phototraitement.

La mise en œuvre de l'analyse en composantes principales des données obtenues au cours du traitement biologique, nous a permis d'établir la nature des corrélations existantes entre les paramètres suivis au sein de chaque bioréacteur. Les résultats de l'analyse sont présentés sur les figures VIII.15 à VIII.17.

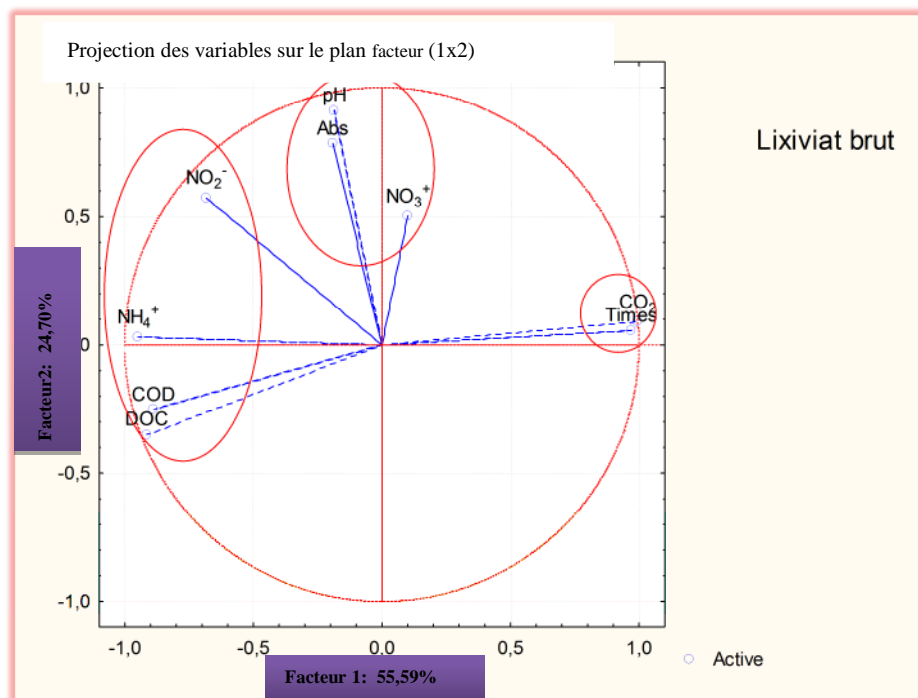
D'après la figure VIII.15, les deux axes de l'ACP (F1 et F2) révèlent respectivement une inertie de 56 et 25%. Par rapport au facteur  $F_1$  du cercle de corrélation de l'ACP, le COD et la DCO sont corrélés positivement avec les  $\text{NH}_4^+$  et les  $\text{NO}_2^-$  mais négativement avec le  $\text{CO}_2$ . Ce résultat confirme les cinétiques obtenues lors de la biodégradation de la matière organique où la minéralisation du carbone organique entraîne la libération



du  $\text{CO}_2$ . Par contre, ces paramètres ne sont pas corrélés avec la croissance microbienne observée à 600 nm ni avec les paramètres chimiques ( $\text{pH}$ ,  $\text{NO}_3^-$ ).

Pour les boues activées (**Figure VIII.16**), l'ACP a montré sur le facteur  $F_1$  (63% d'inertie), que les paramètres COD, la DCO et les  $\text{NH}_4^+$  sont intercorrélés positivement mais corrélés négativement avec le  $\text{CO}_2$ . Ce constat corrobore les résultats obtenus de l'ACP de l'essai effectué sur le bioréacteur inoculé avec le lixiviat brut n°4. D'autre part, le  $\text{pH}$  est corrélé négativement avec les  $\text{NO}_3^-$  et les  $\text{NO}_2^-$  qui constituent les variables du facteur 2 dont l'inertie est de 23%.

L'analyse de l'ACP des variables suivies au cours de la biodégradation de la matière organique au niveau du bioréacteur (**Figure VIII.17**) montre par rapport au facteur  $F_1$  (56%), que les paramètres COD et les  $\text{NH}_4^+$  sont intercorrélés positivement et négativement avec le  $\text{CO}_2$  et la croissance microbienne (l'absorbance à 600nm).



**Figure VIII.15 :** Carte factorielle et cercle de corrélation de l'ACP des paramètres étudiés lors de la biodégradation de la matière organique dans un bioréacteur inoculé par le lixiviat brut 4.

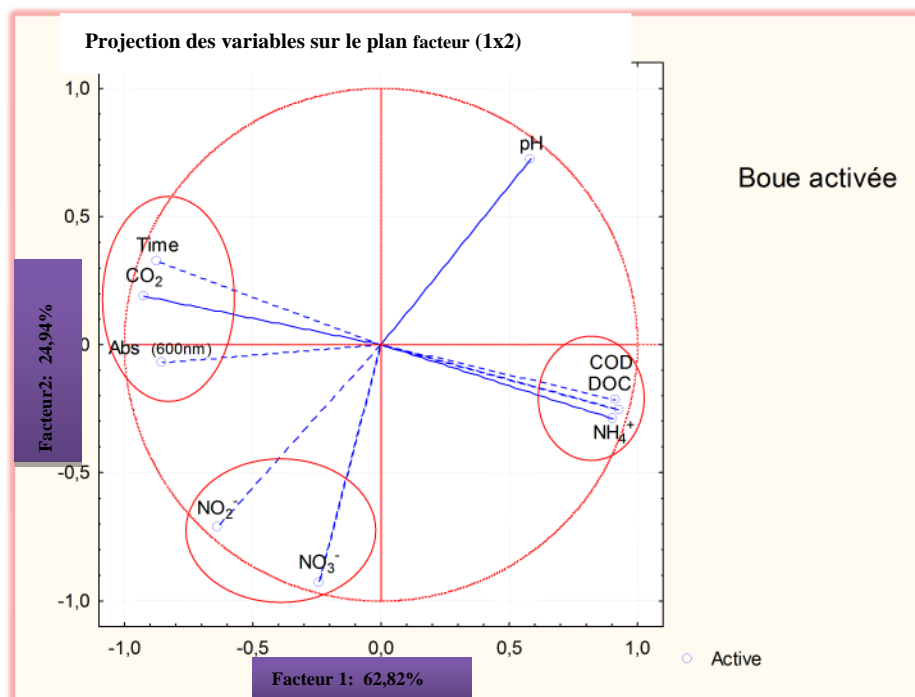


Figure VIII.16 : Carte factorielle et cercle de corrélation de l'ACP des paramètres étudiés lors de la biodégradation de la matière organique dans un bioréacteur inoculé par les boues activées.

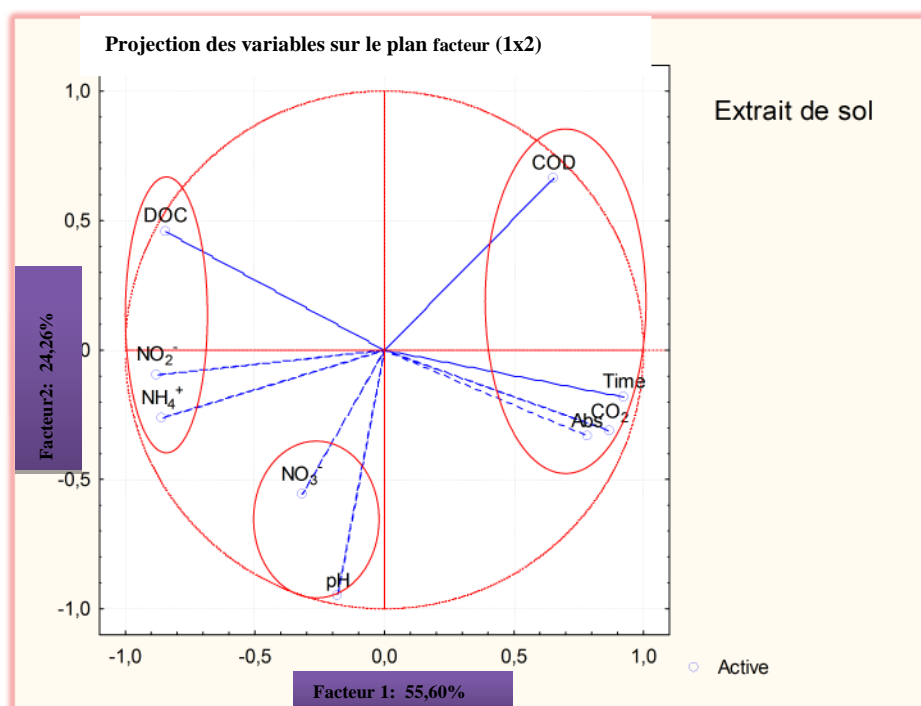


Figure VIII.17: Carte factorielle et cercle de corrélation de l'ACP des paramètres étudiés lors de la biodégradation de la matière organique dans un bioréacteur inoculé par l'extrait de sol de la décharge.

Les résultats de l'ACP pour les trois bioréacteurs, affichent une similitude au niveau du métabolisme de la biodégradation de la matière organique présente dans les lixiviats irradiés. Quel que soit la nature de l'inoculum, la dégradation de la matière organique entraîne souvent la libération du CO<sub>2</sub> par le biais de la minéralisation du carbone organique dissous. Le phénomène de nitrification est mis en évidence via la consommation des NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

Le bilan d'abattement de la DCO du lixiviat 4 durant les différentes étapes de traitement est résumé sous forme d'un histogramme récapitulatif (**Figure VIII.18**), le constat établi révèle que le prétraitement par l'hydrolyse acide et le couplage (TiO<sub>2</sub>/UV+Bioréacteur) ont permis de réduire entre 90 et 94% de la DCO initiale et entre 79 et 90% de la DBO<sub>5</sub>. Un résultat très satisfaisant et très prometteur vis à vis des lixiviats cumulés pendant plus de 30 ans d'enfouissement des déchets au niveau de la décharge d'Oued Smar.

**Bu et al (2010)** ont montré que les lixiviats de décharge peuvent être traités efficacement par la combinaison du traitement biologique, phototraitement et adsorption sur charbon actif. Les rendements d'élimination de la DCO et DBO<sub>5</sub> sont de 97,2% et 99,1% respectivement. Nos résultats sont plus probants comparativement à ceux obtenus par **Del Moro et al (2013)** avec des abattements de 70.6% de la DCO et de 68 % du COD.

Toutefois ces lixiviats traitées restent non conformes pour être réutilisées ou rejetées tels quels dans la nature puisque la DCO finale est de l'ordre de 1000 mg d'O<sub>2</sub>/L, valeur non conforme à la norme des rejets fixé par le journal officiel Algérien (120 mg d'O<sub>2</sub>/L). Les nouveaux rapports DBO<sub>5</sub>/DCO sont défavorables pour un second traitement biologique. Mais cela n'évite pas de prévoir un traitement tertiaire comme l'osmose inverse ou la coagulation floculation.

Les essais effectués ont montré la capacité des microorganismes autochtones de la décharge à dégrader la matière organique irradié et encourage l'hypothèse de recycler le lixiviat irradié au sein de la décharge (système de boucle POA+décharge) tel est présenté sur la figure VIII.19.

Mais pour réaliser cette hypothèse, il faut prendre en considération d'autres paramètres telle que les caractéristiques physiques (granulométrie, perméabilité) du sol de la décharge.

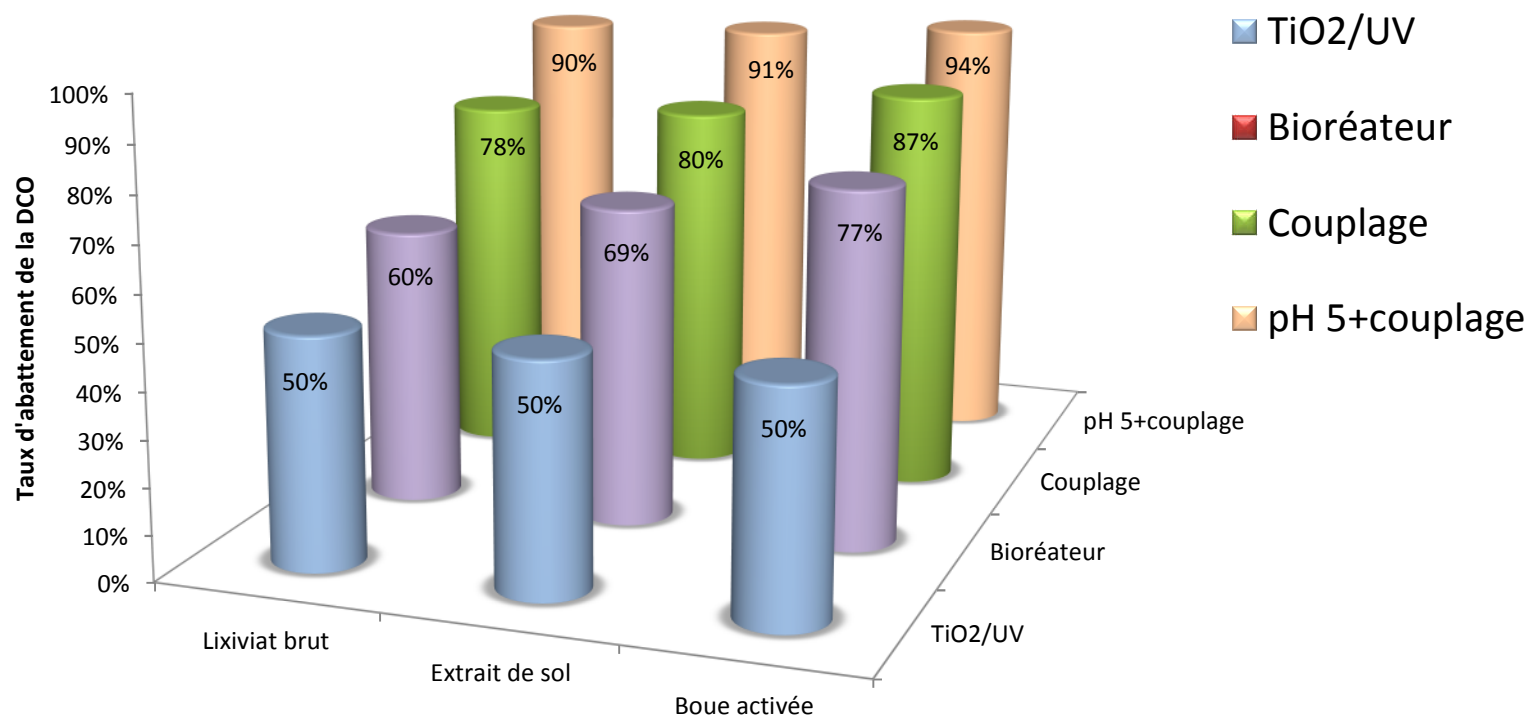


Figure VIII.18: Résumé des taux d'abattement de la DCO durant les différents traitements.

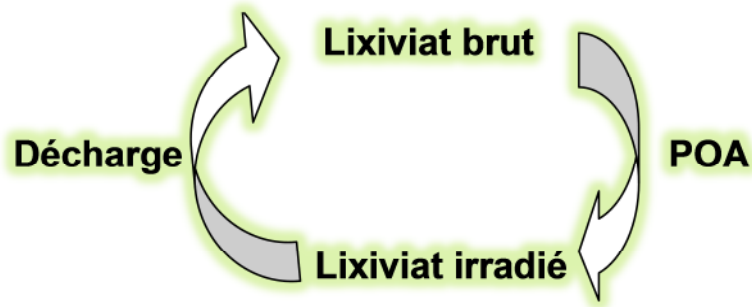


Figure VIII.19 : Schéma représentant le cycle envisagé de traitement des lixiviats

Le schéma de la figure VIII.20 décrit les réactions métaboliques qui interviennent au cours de la biodégradation du COD. Au début du traitement biologique les microorganismes hétérotrophes stimulés par l'addition de l'urée et l'oxygène minéralisent le COD disponible et libèrent des composés inorganiques tels que le  $\text{CO}_2$  et les ions ammoniums  $\text{NH}_4^+$  nécessaires à la croissance des microorganismes autotrophes.

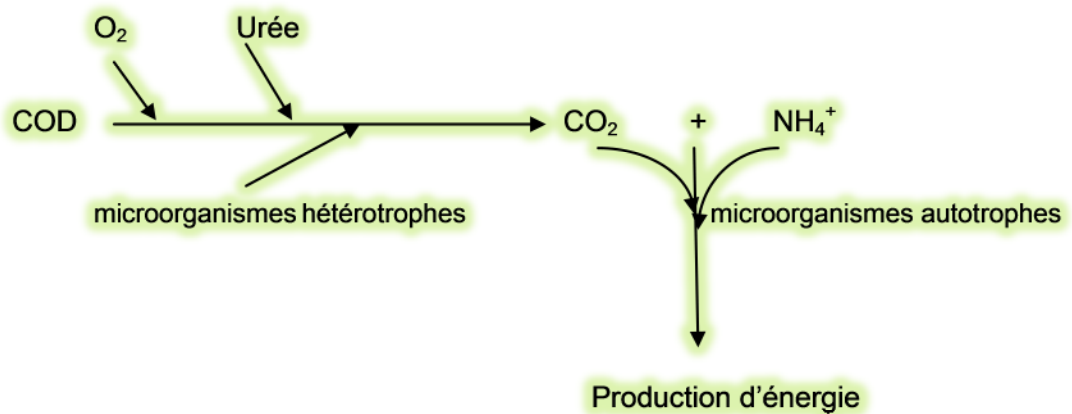


Figure VIII.20 : Schéma représentant les réactions métaboliques intervenant au cours de la biodégradation du COD.

## Conclusion générale

---

Cette étude est une contribution d'une part à la réhabilitation du site de la décharge d'Oued Smar, en un parc de détente avec des espaces verts et d'autre part, de contribuer à la bioremédiation d'un sol pollué par du gasoil à l'aide d'un procédé biologique « **Biopile** ».

Les résultats de la première étude ont permis de mettre en évidence que la décontamination des lixiviats de surface et des lixiviats souterrains s'avère d'une importance cruciale pour la réussite de ce projet. Ces lixiviats ne peuvent être traités par un traitement biologique puisque les analyses réalisées ont montré une forte pollution organique difficilement biodégradable vu les faibles rapports  $DBO_5/DCO$  qui varient entre 0.045 et 0.18. Par ailleurs, il est apparu que la photocatalyse hétérogène ( $TiO_2/UV$ ) ne permettait pas l'élimination de la fraction réfractaire de certains lixiviats et donc un prétraitement par POA est préconisé dans un premier temps pour augmenter la biodégradabilité des polluants difficilement biodégradables (amélioration du rapport  $DBO_5/DCO$ ). Le lixiviat irradié est ensuite traité dans un second temps par bioréacteur aéré afin d'assurer la minéralisation complète des fractions réfractaires.

En effet, l'efficacité du procédé d'oxydation avancée par photocatalyse hétérogène ( $TiO_2/UV$ ) vis à vis des lixiviats fortement chargés de la décharge a été mise en revue. Les résultats obtenus après photocatalyse hétérogène sont pertinents ; en effet, des diminutions allant de 50 à 92% de la DCO initiale à pH maintenu à 5, ont été enregistrées. Contrairement à la DCO, la concentration en  $NH_4^+$  reste stable à ce pH.

Les résultats de la modélisation des cinétiques de la dégradation par photocatalyse à pH maintenu à 5 indiquent que l'ordre de la réaction est 0 lors du traitement par photocatalyse et cela, indépendamment de la charge polluante.

Toutefois, les lixiviats traités demeurent non conformes pour être réutilisés ou rejetés directement dans la nature. Les nouveaux rapports  $DBO_5/DCO$  sont favorables à un traitement biologique dans un bioréacteur aérobie.

Le couplage de la photocatalyse hétérogène au procédé biologique a permis une réduction de 78 et 87% de la DCO initiale, de 79 et 90% de la DBO<sub>5</sub> initiale et ce pour les lixiviats de surface. Ce qui représente un résultat très satisfaisant et très prometteur vis à vis des lixiviats cumulés pendant plus de 30 ans d'enfouissement des déchets au niveau de la décharge d'Oued Smar. Par ailleurs, les lixiviats ainsi obtenus ont une DCO de valeur finale de 1000 mg d'O<sub>2</sub>/L, à comparer à la norme des rejets en vigueur en Algérie de 120 mg d'O<sub>2</sub>/L. Il est à noter que les nouveaux rapports DBO<sub>5</sub>/DCO sont défavorables pour un second traitement biologique. Ce qui n'empêche pas de prévoir un traitement physico chimique tertiaire comme l'osmose inverse.

Pour les lixiviats souterrains le POA s'est avéré capable de rendre conforme ces lixiviats aux normes de rejets. Ils peuvent par voie de conséquence être utilisés comme eaux d'arrosage du parc de détente.

Les résultats de la seconde étude mettent en évidence la capacité des microorganismes autochtones à dégrader le gasoil. Nous avons montré que la « Biopile » est efficace et applicable à nos sols algériens. Ce procédé induit une augmentation de l'activité microbienne, ce qui se traduit par une importante décontamination. Ces résultats sont très prometteurs, les rendements d'élimination du gasoil sont de l'ordre de 70% à 85% pour la biopile dénotant le rôle crucial de l'aération dans la biodégradation des hydrocarbures.

La microflore responsable de la biodégradation appartient à la population bactérienne, une synergie a été enregistrée entre les levures et les bactéries et entre les champignons et les bactéries pour la biodégradation du gasoil, il s'agit du phénomène de cométabolisme.

L'élimination des TPH se fait en grande partie au cours des vingt premiers jours du traitement et les fractions simples (alcanes et aromatiques) ont été dégradées en premier lieu suivies des fractions complexes.

En perspective, nous pouvons dire que la réussite du projet de réaménagement de la décharge d'Oued Smar dépend de la gestion des lixiviats de surface et souterrains. La mise en œuvre d'une technologie propre comme le procédé photocatalyse hétérogène TiO<sub>2</sub>/UV couplée à la biopile que représente la décharge pourrait apporter une solution à ce problème crucial permettant une réduction du temps de traitement et une amélioration de la qualité des lixiviats.

## ***Conclusion générale***

---

Ce système opérera en recyclant les lixiviats de décharge et permettra à chaque nouveau cycle de réduire la concentration des substances récalcitrantes présentes dans les lixiviats tout en préservant les eaux souterraines de la pollution diffuse causée par l'enfouissement dans ce site des déchets solides au cours des dernières décennies.



## Références

---

- **ABED R.M.M., KOSTER J.** (2005). *The direct role of aerobic heterotrophic bacteria associated with cyanobacteria in the degradation of oil compounds.* International Biodeterioration & Biodegradation. 55,29–37;doi:10.1016/j.ibiod.2004.07.001
- **ABED R.M.M., SAFI N.M.D., KÖSTER J., DE BEER D., EL-NAHHAL Y., RULLKÖTTER J., GARCIA-PICHEL F.** (2002). *Microbial Diversity of a Heavily Polluted Microbial Mat and Its Community Changes following Degradation of Petroleum Compounds,* Applied and Environmental Microbiology, 68, 1674–1683;doi: 10.1128/AEM.68.4.1674-1683.2002
- **ABED R.M.M.,** (2010). *Interaction between cyanobacteria and aerobic heterotrophic bacteria in the degradation of hydrocarbons.* International Biodeterioration & Biodegradation. 64, 58-64;10.1016/j.ibiod.2009.10.008
- **ADEME** (2006).*Traitement biologique des sols pollués : recherche et innovation,* Edition ADEME ,92 pages.
- **ADETUTU E.M., BALLA.S., WEBERJ., ALEERS., DANDIEC.E., JUHASZA.L.** (2012). *Impact of bacterial and fungal processes on <sup>14</sup>C-hexadecane mineralisation in weathered hydrocarbon contaminated soil.* Science of The Total Environment. 414, 585–591; doi:10.1016/j.scitotenv.2011.11.044
- **AFNOR** (Association Française de Normalisation), (1979). *Recueil des normes Françaises sur les méthodes d'analyse de l'eau,* 1<sup>ère</sup> édition, Lavoisier TEC & DOC.
- **AFNOR** (Association Française de Normalisation), (1987). *Recueil des normes Françaises sur la qualité des sols, méthodes d'analyse,* 1<sup>ère</sup> édition, Lavoisier TEC & DOC.
- **ALEXANDER R.R., TANG J., ALEXANDER M.** (2002). *Ecological Risk Assessment: Genotoxicity is Unrelated to Total Concentration of Priority Carcinogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soils Undergoing Biological Treatment.* Journal of Environmental Quality. 31, 150–154
- **AMBROSOLI R., PETRUZZELLI L., MINATI J.L., MARSAN F.A.** (2005). *Anaerobic PAH degradation in soil by a mixed bacterial consortium under denitrifying conditions.* Chemosphere. 60, 1231–1236;doi: 10.1016/j.chemosphere.2005.02.030
- **ANNWEILER E., RICHNOW H. H., ANTRANIKIAN G., HEBENBROCK S., GARMS C., FRANCKE S., FRANCKE W., MICHAELIS W.** (2000). *Naphthalene Degradation and Incorporation of Naphthalene-Derived Carbon into Biomass by the Thermophile Bacillus thermoleovorans.* Applied and Environmental Microbiology. 66, 518 – 523.
- **ARANDA E, MARCO-URREA E, CAMINAL G, ARIAS ME, GARCÍA-ROMERA I, GUILLÉN F.** (2010). *Advanced oxidation of benzene, toluene, ethylbenzene and xylene isomers (BTEX) by Trametes versicolor.* Journal of Hazardous Materials. 181, 181–186; doi: 10.1016/j.jhazmat.2010.04.114.
- **ARUN A., EYINI M.** (2011). *Comparative studies on lignin and polycyclic aromatic hydrocarbons degradation by basidiomycetes fungi.* Bioresource Technology. 102. 8063–8070. doi:10.1016/j.biortech.2011.05.077

- **ATLAS R.M., BARTHA R.** (1993). *Microbial ecology- Fundamentals and applications*, 3<sup>ème</sup> éd. Benjamin Cummings, Redwood City, CA.
- **AUBERT G.**, (1978). *Méthodes d'analyses des sols*. Marseille : Centre régional de documentation pédagogique, p. 191.
- **BACOSA H.P., SUTO K., INOUE C.** (2012). *Bacterial community dynamics during the preferential degradation of aromatic hydrocarbons by a microbial consortium*. International Biodeterioration & Biodegradation. 74, 109-115.doi:10.1016/j.ibiod.2012.04.022
- **BALDWIN B.R., NAKATSU C.H., NIES L.** (2003). *Detection and Enumeration of Aromatic Oxygenase Genes by Multiplex and Real-Time PCR*, Applied and Environmental Microbiology. 69, 3350 – 3358; doi: 10.1128/AEM.69.6.3350-3358.2003.
- **BALLERINI D.** (1999). *Traitements biologiques des sols*, Technique de l'ingénieur, traité Environnement, G2 620, pp. 1- 6.
- **BALLERINI D., VANDECASTEELE J.P.** (1999), *La restauration par voie microbiologique des sols contaminés par les polluants organiques*, In : Biotechnologie, coordinateur R. Scriban, 5<sup>ème</sup> édition, Edition Tech et Doc, , pp 835- 865.
- **BARBOSA R., DIAS D., LAPA N., LOPES H., MENDES B.**, (2012). *Chemical and ecotoxicological properties of size fractionated biomass ashes*. Fuel Processing Technology.109,124-132;doi.org/10.1016/j.fuproc.2012.09.048
- **BARKAY T., NAVON-VENEZIA S., RON E. Z., ROSENBERG E.** (1999), *Enhancement of solubilization and biodegradation of polyaromatic hydrocarbons by the bioemulsifier alasan*. Applied and Environmental Microbiology. 65, 2697–2702.
- **BARRIGA J.A.T., COOPER D.G., IDZIAK E.S., CAMERON D.R.** (1999). *Components of the bioemulsifier from S. cerevisiae*. Enzyme and Microbial Technology. 25, 96–102.
- **BASTIAENS L., SPRINGAEL D., WATTIAU P., HARMS H., WACHTER R.D., VERACHTERT H., DIELS L.** (2000). *Isolation of Adherent Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH)-Degrading Bacteria Using PAH- Sorbing Carriers*. Applied and Environmental Microbiology, 66, 1834 – 1843.
- **BATELLE & NFESC**, (1996). *Biopile operations and maintenance manual*, Technical Memorandum TM-2190-ENV, 65. Port Hueneme. CA.
- **BAUER R.** (1994) *Applicability of solar irradiation for photochemical wastewater treatment*. Chemosphere. 29, 1225–1233.
- **BAUN A., LEDIN L.A., REITZEL P.L., BJERG T.H., CHRISTENSENE.** (2004). *Xenobiotic organic compounds in leachates from ten Danish MSW landfills—chemical analysis and toxicity tests*. Water Research 38, 3845–3858;doi:10.1016/j.watres.2004.07.006
- **BAYARRI B., GIMENEZ J., CURC D., ESPLUGAS S.**, (2005). *Photocatalytic degradation of 2, 4-dichlorophenol by TiO<sub>2</sub>/UV: Kinetics, actinometries and models*. Catalysis Today 101: 227-236;doi:10.1016/j.cattod.2005.03.019
- **BELKACEMI M.** (1993). *Contribution à l'étude des interactions dans le système déchets-sol-eau : cas de la décharge de « Oued Smar »*, thèse de magister. E.N.P.
- **BERNAL-MARTINEZ A., PATUREAU D., DELGENES J-P, CARRERE H.** (2009). *Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) during anaerobic digestion with recirculation of*

- ozonated digested sludge. Journal of Hazardous Materials. 162, 1145–1150; doi: 10.1016/j.jhazmat.2008.05.163.
- **BESKOSKI, V. P., GOJGIC-CVIJOVIC, G., MILIC, J., ILIC, M., MILETIC, S., ŠOLEVIC, T., VRIVIC, M.M.,** (2011). *Ex situ bioremediation of a soil contaminated by mazut (heavy residual fuel oil) – A field experiment.* Chemosphere 83, 34-40;doi: 10.1016/j.chemosphere.2011.01.020.
  - **BESSKHOUD Y.** (2003). *Propriétés photocatalytiques de TiO<sub>2</sub> nanocristallins dopés par des cations (Li<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup>) et des hétérojonctions à base de sulfures et d'oxydes métalliques /TiO<sub>2</sub>». Thèse de Doctorat en Chimie, chimie Physique, Université de Metz (France).*
  - **BILGILI M. S, DEMIR A., INCE M., OZKAYA B.** (2007). *Metal concentrations of simulated aerobic and anaerobic pilot scale landfill reactor.* Journal of Hazardous Materials. 145 186–194 ; doi. 10.1016/j.jhazmat.2006.11.014
  - **BLIDI A.** (2010). *Le site date de 1978: Un témoin de l'éruption urbaine » Algérie-Watch : Information sur la situation des droits humains en Algérie.* www.algeria-watch.org.
  - **BODOUR A., DREES K.P., MAIER R.M.** (2003). *Distribution of Biosurfactant – Producing Bacteria in Undisturbed and Contaminated Arid Southwestern Soils.,* Applied and Environmental Microbiology, 69, 3280 – 3287.
  - **BOGAN B.W., SULLIVAN W.R.** (2003). *Physicochemical soil parameters affecting sequestration and mycobacterial biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil.* Chemosphere, 52, 1717 – 1726.
  - **BOLDRIN B., TIEHM A., FRITZSCHE C.,** (1993). *Degradation of Phenanthrene, Fluorene, Fluoranthene, and Pyrene by a Mycobacterium sp,* Applied and Environmental Microbiology, 59, 1927–1930.
  - **BOONCHAN S., BRITZ M.L., STANLEY G.A.,** (2000). *Degradation and Mineralization of High-Molecular-Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Defined Fungal-Bacterial Cocultures.* Applied and Environmental Microbiology, 66, 1007 – 1019.
  - **BOUCHEZ M.** (1995). *La biodégradation des hydrocarbures aromatiques polycycliques : métabolisme des substrats non conventionnels = The biodegradation of polycyclic-aromatic hydrocarbons: metabolism of non conventional substrates.* Thèse de doctorat de l'Ecole nationale supérieure des industries agro-alimentaires, Massy, FRANCE p. 245.
  - **BRGM (2004) (SAADAA., NOWAK C. & COQUEREAU) N.** *Etat des connaissances sur l'atténuation naturelle des hydrocarbures – Rapport intermédiaire : résultat de la phase 1.* Rapport BRGM/RP-53739-FR, 107 pages,
  - **BU L., WANG K., ZHAO Q-L., WEI L-L., ZHANG J., Yang J-C.,** (2010). *Characterization of dissolved organic matter during landfill leachate treatment by sequencing batch reactor, aeration corrosive cell-Fenton, and granular activated carbon in series ,* Journal of Hazardous Materials, 179. 1096–1105; doi: 10.1016/j.jhazmat.2010.03.118.
  - **BUGGT D.H.** (2010). *Dioxygenase Enzymes and Oxidative Cleavage Pathways ».* Comprehensive Natural Products II. Chemistry and Biology”. In Enzymes and Enzyme Mechanisms. 8, 583–623.
  - **BURNS R.G., DEFOREST J.L., MARXSEN J., SINSABAUGH R.L., STROMBERGER M.E., WALLENSTEIN M.D., WEINTRAUB M.N., ZOPPINI A.** (2013) *Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions.* Soil Biology and Biochemistry, 58, 216-234;

- **CALLAGHAN A.V., TIERNEY M., PHELPS C.D., YOUNG L.Y., (2009).** *Anaerobic biodegradation of n-hexadecane by a nitrate-reducing consortium.* Applied and Environmental Microbiology. 75, 1339–1344;doi: 10.1128/AEM.02491-08
- **CANADIAN COUNCIL OF MINISTERS OF THE ENVIRONMENT (CCME).** (2008). Canada-Wide Standards for Petroleum Hydrocarbons (HCs) in Soil, Winnipeg, MB: CCME.
- **CANET R., BIRNSTINGL J.G., MALCOLM D.G., LOPEZ-REAL J.M., BECK A.J. (2001).** *Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by native microflora and combinations of white-rot fungi in a coal-tar contaminated soil.* Bioresource Technology, 76, 113 – 117.
- **CASSANO D., ZAPATA A., BRUNETTI G., DEL MORO G., DI IACONI C., OLLER I., MALATO S., MASCOLO G. (2011)** *Comparison of several combined/integrated biological-AOPs setups for the treatment of municipal landfill leachate: Minimization of operating costs and effluent toxicity.* Chemical Engineering Journal. 172, 250– 257; doi./10.1016/j.cej.2011.05.098
- **CASTORENA-CORTES, G., ROLDAN-CARRILLO, T., ZAPATA-PENASCO, I., REYES-AVILA, J., QUEJ-AKE, L., MARIN-CRUZ, J., OLGUIN-LORA, P., (2009).** *Microcosm assays and Taguchi experimental design for treatment of oil sludge containing high concentration of hydrocarbons.* Bioresource Technology 100, 5671–5677;doi: 10.1016/ j.biortech.2009.06.050
- **CAZOIR D.A. (2011),** « *Traitement d'eaux huileuses par photocatalyse heterogene : application a la depollution des eaux de cales* ». Thèse doctorat de l'université de lyon.
- **CÉBRON A., NORINI M-P., BEGUIRISTAIN T., LEYVAL C., (2008).** *Real-Time PCR quantification of PAH-ring hydroxylating dioxygenase (PAH-RHD<sub>α</sub>) genes from Gram positive and Gram negative bacteria in soil and sediment samples.* Journal of Microbiological Methods. 73, 148–159; doi: 10.1016/j.mimet.2008.01.009
- **CHABLAIN P.A., ZGODA A.L., SARDE C.O, TRUFFAUT N., (2001).** *Genetic and Molecular Organization of the Alkylbenzene Catabolism Operon in the Psychrotrophic Strain Pseudomonas putida 01G3,* Applied and Environmental Microbiology, 67,453 – 458.
- **CHAN C.Y, TAO S, DAWSON R, WONG P.K (2004).** *Treatment of atrazine by integrating photocatalytic and biological processes.* Environmental Pollution. 131,45-54.
- **CHANG B. V., SHIUNG L. C., YUAN S. Y. (2002),** *Anaerobic biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbon in soil,* Chemosphere, 48:717 – 724.
- **CHAYABUTRA C., JU L.K., (2000).** *Degradation of n-Hexadecane and Its Métabolites by Pseudomonas aeruginosa under microaerobic and Anaerobic Dentrifying conditions.* Applied and Environmental Microbiology, 66, 493 –498.
- **CHEBLI D., (2012).** « *Traitement des eaux usées industrielles: Dégradation des colorants azoïques par un procédé intégré couplant un procédé d'oxydation avancée et un traitement biologique* ». These de doctorat. de l'université de ferhat abbas, Sétif, Algérie.
- **CHEE G.J. (2011).** *Biodegradation analyses of trichloroethylene (TCE) by bacteria and its use for biosensing of TCE.* Talanta, 851778– 1782; doi: 10.1016/j.talanta.2011.07.002.
- **CHEMLAL R., ABDI N., DROUCHE N., LOUNICI H., PAUSS A., MAMERI N., (2013).**« *Rehabilitation of Oued Smar landfill into a recreation park: Treatment of the*

- contaminated waters* ». Ecological Engineering. 51. 244–248 ; doi :10.1016/j.ecoleng.2012.12.019
- **CHEMLAL R., TASSIST A., DROUICHE M., LOUNICI H., DROUICHE N., MAMERI N.,** (2012). *Microbiological aspects study of bioremediation of diesel-contaminated soils by biopile technique* ». International Biodeterioration&Biodegradation. 75. 201-206 ;doi. /10.1016/j.ibiod.2012.09.011
  - **CHEN J., EBERLEIN L, LANGFORD C.H.** (2002). *Pathways of phenol and benzene photooxidation using TiO<sub>2</sub> supported on a zeolite*. Journal Photochemistry Photobiology. A:Chemistry. 5994, 1–7.
  - **CHEN P., POLICOVA Z., PACE-ASCIAC C.R, NEUMANN A.W.** (1999). *Study of molecular interactions between lipids and proteins using dynamic surface tension measurements: a review*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 15, 313-324 ;doi.org/10.1016/S0927-7765(99)00097-1
  - **CHEN S, CAO G** (2005). *Study on the photocatalytic reduction of dichromate and photocatalytic oxidation of dichlorvos*, Chemosphere. 60, 1308–1315; doi:10.1016/j.chemosphere.2005.01. 056
  - **CHEUNG P.Y., KINKLE B.K.** (2001). *Mycobacterium Diversity and Pyrene Mineralization in Petroleum-Contaminated Soils*, Applied and Environmental Microbiology, 67, 2222 – 2229.
  - **CHIEN H.Y., KAO C.M., CHEN S.C., CHEN Y.L.** (2008). *Bioremediation of a petroleum-hydrocarbon contaminated aquifer by in situ biosparging system*. Journal of Biotechnology, 136, 649-653.
  - **CHO E., TAMEDA K., HANASHIMA M., YAMADA T., HIGUCHI S.** (2009). *Toxicological evaluation of the chemical oxidation methods for landfill stabilization*. Waste Management 29, 1006–1011;doi:10.1016/j.wasman.2008.08.003
  - **CHO S.P., HONG S.C., HONG S.I.,** (2002). « *Photocatalytic degradation of the landfill leachate containing refractory matters and nitrogen compounds* ». Applied Catalysis B: Environmental. 39:125-133 ;doi.org/10.1016/S0926-3373(02)00079-6
  - **CHRISTENSEN T.H, KJELDTSEN P, BJERG P.L, JENSEN D.L, CHRISTENSEN J.B, BAUM A, ALBERECHTESEN H, HERON G.,** (2001). *Biogeochemistry of landfill leachate plumes*. Applied Geochemistry. 16, 659–718.
  - **CHUNG W.K., KING G.M.** (2001). *Isolation, Characterization and Polyaromatic Hydrocarbon Degradation Potential of Aerobic Bacteria From Marine Macrofaunal Burrow Sediments and Description of Lutibacterium anuloederans gen. nov., sp. nov., and Cycloclasticus Spirillensus sp. nov.*, Applied and Environmental Microbiology, 67, 5585 – 5592.
  - **CHURCHILL S.A., HARPER J.P., CHURCHILL A.F.** (1999). *Isolation and Characterization of a Mycobacterium Species Capable of Degrading Three- and Four-Ring Aromatic and Aliphatic Hydrocarbons*. Applied and Environmental Microbiology, 65, 549–552.
  - **COATES J.D.** (2004). *Anaerobic biodegradation of hydrocarbon*. In *Biodegradation and Bioremediation Soil Biology*, Ajay Singh and Owen P.Ward (eds). Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2, 57-81.
  - **COATES J.D., CHAKRABORTY R., MCINERNEY M.J.** (2002). *Anaerobic benzene biodegradation—a new era (mini review)*. Research in Microbiology, 153 621–628.



- **COMEY Y.** (1999), *Biorestauration des sols contaminés*. Cours professé à l'Ecole Polytechnique de Montréal, Etudes supérieures en génie de l'environnement.
- **COONEY J.J., SIPORIN C., SMUCKER R.A.** (1980). *Physiological and cytological responses to hydrocarbons by the hydrocarbon-using fungus *Cladosporium resinae**. Botanica Marina, 23, 227-232.
- **COPOLOVICI L.O., NIINEMETS Ü.** (2005). *Temperature dependencies of Henry's law constants and octanol/water partition coefficients for key plant volatile monoterpenoids*. Chemosphere, 61,1390-1400
- **COSTES J.M., DRUELLE V.** (1997). *Les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans l'environnement, la réhabilitation des anciens sites industriels*, Revue de l'institut français du pétrole, 52, 425- 440.
- **COULON, F., AI AWADI, M., COWIE, W., MARDLIN, D., POLLARD, S., CUNNINGHAM, C., RISDON, G., ARTHUR, P., SEMPLE, K.T., PATON, G.I.,** (2010). *When is a soil remediated? Comparison of biopile and windrowed soils contaminated with bunker-fuel in a full-scale trial*. Environmental Pollution. 158, 3032-3040;doi: 10.1016/j.envpol.2010.06.001
- **COULON, F., DELILLE, D.,** (2003). *Effects of Biostimulation on Growth of Indigenous Bacteria in Sub-Antarctic Soil Contaminated with Oil Hydrocarbons*. Oil & Gas Science and Technology 58, 469-479.
- **CUNNINGHAM C.J., IVSHINA I.B., LOZINSKY V.I., KUYUKINA M.S., PHILIP J.C.,** (2004). *Bioremediation of diesel-contaminated soil by microorganisms immobilised in polyvinyl alcohol*. International Biodeterioration & Biodegradation.54, 167-174.
- **CUPPLES A.M.,** (2011). *The use of nucleic acid based stable isotope probing to identify the microorganisms responsible for anaerobic benzene and toluene biodegradation; Review*. Journal of Microbiological Methods.85, 83-91.
- **DA SILVA C.G, FARIA J.L** (2003). *Photochemical and photocatalytic degradation of an azo dye in aqueous solution by UV irradiation* Journal Photochemistry Photobiology. A: Chemistry. 155, 133-143; doi.org/10.1016/S1010-6030(02)00374-X
- **DANESHVAR N, SALARI D, KHATAEE A.R** (2003). *Photocatalytic degradation of azo dye acid red 14 in water: investigation of the effect of operational parameters*, Journal Photochemistry Photobiology. A: Chemistry 157,111-116; doi.org/10.1016/S1010-6030 (03)00015-7.
- **DE LA TORRE-SANCHEZ R., BARUCH I, BARRERA-CORTES J.** (2006). *Neural prediction of hydrocarbon degradation profiles developed in a biopile*. Expert Systems with Applications. 31, 383-389.
- **DE MORAIS J. L., ZAMORA P.P.** (2005). *Use of advanced oxidation processes to improve the biodegradability of mature landfill leachates*. Journal of Hazardous Materials. 123, 181-186; doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.03.041
- **DEL MORO G., MANCINI A., MASCOLO G., DI IACONI C.** (2013). *Comparison of UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> based AOP as an end treatment or integrated with biological degradation for treating landfill leachates*. Chemical Engineering Journal, 218, 133-137; doi.org/10.1016/j.cej.2012.12.086

- **DELISLE S., GREER C.W.**(2004). *Remediation of Organic Pollutants Through Natural Attenuation, In Applied Bioremediation and phytoremediation Soil Biology* Volume 1. Ajay Singh and Owen P.Ward (eds). Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Page 159-186.
- **DENG Y., EZYSKE C.M.**, (2011). *Sulfate radical-advanced oxidation process (SR-AOP) for simultaneous removal of refractory organic contaminants and ammonia in landfill leachate*. Water Research. 45, 6189-6194.
- **DI LACONI C., DE SANCTIS M., ROSSETTI S., MANCINI A.**, (2011). *Bio-chemical treatment of medium-age sanitary landfill leachates in a high synergy system*. Process Biochemistry 46, 2322–2329; <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2011.09.013>
- **DOTY S.L., SHANG T.Q., WILSON A.M., TANGEN J., WESTERGREEN A.D., NEWMAN L. STRAND A., GORDON M.P.** (2000). *Enhanced metabolism of halogenated hydrocarbons in transgenic plants containing mammalian cytochrome P450 2E1*. Applied Biological Science, 97, 6287 – 6291.
- **DOU A J., LIU X., HUC Z., DENG D.** (2008b). *Anaerobic BTEX biodegradation linked to nitrate and sulfate reduction*. Journal of Hazardous Materials. 151,720–729, [doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.06.043](http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.06.043)
- **DOU J, DING A, LIU X, DU Y, DENG D, WANG J.** (2010). *Anaerobic benzene biodegradation by a pure bacterial culture of Bacillus cereus under nitrate reducing conditions*. Journal of Environmental Sciences, 22, 709–715.
- **DOU J, LIU X, HU Z.** (2008c). *Anaerobic BTEX degradation in soil bioaugmented with mixed consortia under nitrate reducing conditions*. Journal of Environmental Sciences 20,585–592.
- **DOU J, LIU X, HUC Z.** (2008a). *Substrate interactions during anaerobic biodegradation of BTEX by the mixed cultures under nitrate reducing conditions*. Journal of Hazardous Materials, 158, 264–272; doi: 10.1016/j.jhazmat.2008.01.075.
- **ECKFORD, R., COOK, F. D., SAUL, D., AISLABIE, J., FOGHT, J.**, (2002). *Free-Living Heterotrophic Nitrogen-Fixing Bacteria Isolated from Fuel-Contaminated Antarctic Soils*. Applied and Environmental Microbiology 68, 5181–5185.
- **EFB** (1999). Bulletin de “European federation of biotechnology, Task Group on Public Perceptions of Biotechnology”., Biotechnologie environnementale , Bulletin accessible sur le lien suivant [http://www.wmaker.net/inoplant/docs/Pdf\\_Presse/Article\\_Environmental\\_biotechnology\\_French.pdf](http://www.wmaker.net/inoplant/docs/Pdf_Presse/Article_Environmental_biotechnology_French.pdf), dernier accès le 3 Mars 2013.
- **ERIKSSON M., KA J. O., MOHN W. W.**, (2001). *Effects of Low Temperature and Freeze-Thaw Cycles on Hydrocarbon Biodegradation in Arctic Tundra Soil*, Applied and Environmental Microbiology, 67, 5107 – 5112.
- **ERIKSSON M., SODERSTEN E., YU Z., DALHAMMAR G., MOHN W.W.** (2003). *Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons at Low Temperature under Aerobic and Nitrate-Reducing Conditions in Enrichment Cultures from Northern Soils*, Applied and Environmental Microbiology, 69, 275–284;doi: 10.1128/AEM.69.1.275-284.2003
- **FALLGREN P.H, JIN S.** (2008). *Biodegradation of petroleum compounds in soil by a solid-phase circulating bioreactor with poultry manure amendments*. Journal of Environmental Science and Health Part A 43, 125–131; doi: 10.1080/10934520701781202.

- **FAN S., SCOW K.M.,** (1993). *Biodegradation of Trichloroethylene and Toluene by Indigenous Microbial Populations in Soil.* Applied and Environmental Microbiology, 59, 1911-1918.
- **FARHADIAN M., VACHELARD C., DUCHEZ D., LARROCHE C.,** (2008). *In situ bioremediation of monoaromatic pollutants in groundwater: A review.* Bioresource Technology 99, 5296–5308.
- **FEKI F., ALOUI F., FEKI M., SAYADI S.** (2009). *Electrochemical oxidation post-treatment of landfill leachates treated with membrane bioreactor.* Chemosphere 75 256–260.
- **FERNANDES A., PACHECO M.J., CIRIACO L., LOPES A.,**(2012). *Anodic oxidation of a biologically treated leachate on a boron-doped diamond anode.* Journal of Hazardous Materials 199– 200 (2012) 82– 87. doi:10.1016/j.jhazmat.2011.10.074.
- **FERRERO M., LLOBET-BROSSA E., LALUCAT J., GARCIA-VALDÉS E., ROSSELLO-MORA R., AND BOSCH R.,** (2002). *Coexistence of Two Distinct Copies of Naphthalene Degradation Genes in Pseudomonas Strains Isolated from the Western Mediterranean Region,* Applied and Environmental Microbiology, 68, 957 – 962.
- **FINNERTY W.R. ET SINGER M. E.** (1985). *Membranes of hydrocarbon- utilizing microorganisms,* In: *Organization of Prokaryotic Cell Membranes,* B. K. Gosh (ed), Volume III, CRC Press, Boca Raton, Florida, 1985, pp 1- 44.
- **FOGHT J.M., GUTNICK D.L., WESTLAKE D. W.S.** (1989), *Effect of Emulsan on Biodegradation of Crude Oil by Pure and Mixed Bacterial Cultures.* Applied and Environmental Microbiology, 55, 36 – 12.
- **FREDSLUND L., SNEGOWSKI K., WICK L. Y., JACOBSEN C.S., DE MOT R., SPRINGAEL D.** (2008). *Surface motility of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-degrading mycobacteria.* Research in Microbiology 159, 255-262.
- **FREITAS DE OLIVEIRA D.W., FRANÇA I.W., FÉLIX A.K., MARTINS J.J., GIRO M.E., MELO V.M., GONÇALVES LR.** (2013). *Kinetic study of biosurfactant production by Bacillus subtilis LAMI005 grown in clarified cashew apple juice.* Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 101, 34– 43. doi: 10.1016/j.colsurfb.2012.06.011.
- **FU Z., YANG F., ZHOU F., XUE Y.,** (2009). *Control of COD/N ratio for nutrient removal in a modified membrane bioreactor (MBR) treating high strength wastewater.* BioresourceTechnology. 100. 136–141.
- **FUCHEDZHIEVA N., KARAKASHEV D., ANGELIDAKI I.** (2008). *Anaerobic biodegradation of fluoranthene under methanogenic conditions in presence of surface-active compounds.* Journal of Hazardous Materials, 153, 123–127.
- **G.I.E (Groupe conseil G.I.E. Inc)** (2000). *Bioremédiation in-situ à l'aide de puits horizontaux, L'eau, l'industrie, les nuisances,* N° 230, 2000.
- **GALLEGO, J. L. R., SIERRA. C., VILLA, R., PELAEZ, A.I., SANCHEZ, J.,** (2010). *Weathering processes only limit the potential for bioremediation of hydrocarbon-contaminated soils.* Organic Geochemistry. 41, 896-900.
- **GALLEGO, J.L.R., SIERRA C., PERMANYER A., PELAEZ A.I. MENEDEZ- VEGA D., SANCHEZ J.** (2011). *Full-scaleremediation of a jet fuel–contaminatedsoil: Assessment of biodegradation, Volatization, and bioavailability.* Water, Air, and Soil Pollution, 217, 197- 211.



- **GARCIA FRUTOS F. J., ESCOLANO O., GARCÍA S., BABÍN M., FERNÁNDEZ M. D.** (2010). *Bioventing remediation and ecotoxicity evaluation of phenanthrene-contaminated soil.* Journal of Hazardous Materials, 183, 806-813; doi: 10.1016/j.jhazmat.2010.07.098.
- **GARCIA-PENA I., ORTIZ I., HERNANDEZ S., REVAH S.** (2008). *Biofiltration of BTEX by the fungus Paecilomyces variotii.* International Biodeterioration & Biodegradation, 62, 442-447;doi:10.1016/j.ibiod.2008.03.012
- **GARON D., KRIVOBOK S., WOUESSIDJEWÉ D., SEIGLE-MURANDI F.** (2002). *Influence of surfactants on solubilization and fungal degradation of fluorine.* Chemosphere, 47, 303-309;doi: 10.4067/S0718-95162012005000024
- **GEISELBRECHT A.D., HEDLUND B.P., TICHIS M.A., STALEY J.T.,** (1998). *Isolation of Marine Polycyclic Aromatic Hydrocarbon (PAH)- Degrading Cycloclasticus strains from the Gulf of Mexico and Comparison of their PAH Degradation Ability with That of Puget Sound Cycloclasticus Strains.* Applied and Environmental Microbiology, 64, 4703 – 4710.
- **GHADERI A.** (2012). *New predictive tools to estimate diesel oil density and viscosity.* Journal of Petroleum Science and Engineering, 98-99,19-21; doi.org/ 10.1016/j.petrol.2012.08.016
- **GOBAT J.M., ARAGNO M., MATTHEY W.,** (2010). *Le sol vivant Bases de pédologie- Biologie des sols » 3<sup>ème</sup> éditions revue et augmentée.* Presses polytechniques et universitaires romandes. Science de la Terre, 815 pages.
- **GODOY-FAÚNDEZ A., ANTIZAR-LADISLAO B., REYES-BOZO L., CAMAÑO A., SÁEZ-NAVARRETE C.** (2008). *Bioremediation of contaminated mixtures of desert mining soil and sawdust with fuel oil by aerated in-vessel composting in the Atacama Region (Chile).* Journal of Hazardous Materials, 151, 649-657
- **GOGATE P.R., PANDIT A.B.** (2004b), *A review of imperative technologies for wastewater treatment II: hybrid methods.* Advances in Environmental Research 8, 553-597; doi.org/10.1016/S1093-0191(03)00031-5
- **GOGATE P.R., PANDITA.B.** (2004a). *A review of imperative technologies for wastewater treatment I: oxidation technologies at ambient conditions.* Advances in Environmental Research 8, 501-551. doi.org/10.1016/S1093-0191(03)00032-7
- **GOSWAMI P., SINGH H.D.**(1991). *Different modes of hydrocarbon uptake by two Pseudomonas species.* Biotechnology Bioengineering, 37, 1- 11.
- **GOTVAJNA A.Z., TISLER T., ZAGORC-KONCAN J.** (2009). *Comparison of different treatment strategies for industrial landfill leachate.* Journal of Hazardous Materials 162, 1446-1456; doi: 10.1016/j.jhazmat.2008.06.037
- **GOUVÊA C.A.K, WYPYCH F, MORAES S.G, DURAN N, NAGATA N, PERALTA-ZAMORA P.** (2000). *Semi conductor-assisted photocatalytic degradation of reactive dyes in aqueous solution.* Chemosphere 40 : 433-440.
- **GUO C., DANGZ., WONGY., FUNGYEE TAMN.** (2010a). *Biodegradation ability and dioxigenase genes of PAH-degrading Sphingomonas and Mycobacterium strains isolated from mangrove sediments.* International Biodeterioration & Biodegradation, 64, 419-426; doi.org/10.1016/j.ibiod.2010.04.008

- **GUO C., GE M, LIU L, GAO G, FENG Y, WANG A.Y.** (2010b). *Directed Synthesis of Mesoporous TiO<sub>2</sub> Microspheres: Catalysts and Their Photocatalysis for Bisphenol A Degradation.* Environmental Science Technology. 44, 419–425; DOI: 10.1021/es 9019854
- **GUO J.S., ABBASA A.A., CHEN Y.P., LIU Z.P., FANG F., CHEN P.,** (2010c). *Treatment of landfill leachate using a combined stripping, Fenton, SBR, and coagulation process.* Journal of Hazardous Materials 178,699–705; doi: 10.1016/j.jhazmat.2010.01.144.
- **HANSON J.R., MACALADY J.L., HARRIS D., SCOW K.M,** (1999). *Linking Toluene Degradation with Specific Microbial Population in Soil.* Applied and Environmental Microbiology. 65, 5403 – 5408.
- **HARITASH A.K., KAUSHIK C.P.,** (2009). *Biodegradation aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A review.* Journal of Hazardous Materials. 169, 1–15. doi: 10.1016/j.jhazmat.2009.03.137.
- **HASINGER M, SCHERR K.E., LUNDAA T., BRÄUER L., ZACH C., LOIBNER A.P.** (2012). *Changes in iso- and n-alkane distribution during biodegradation of crude oil under nitrate and sulphate reducing conditions.* Journal of Biotechnology 157, 490–498;doi: 10.1016/j.jbiotec.2011.09.027.
- **HEITKAMP M.A., FREEMAN J.P., CERNIGLIA C.E.**(1987). *Naphthalene Biodegradation in Environmental Microcosms: Estimates of Degradation Rates and Characterization of Metabolites.* Applied and Environmental Microbiology, 53, 129 –136.
- **HEJAZI R. F, HUSAIN T., KHAN F.** (2003). *Landfarming operation of oily sludge in arid region— human health risk assessment.* Journal of Hazardous Materials, 99, 287-302;doi:10.1016/S0304-3894(03)00062-1
- **HLAVICAP.** (2013). *Review. Evaluation of structural features in fungal cytochromes P450 predicted to rule catalytic diversification.* Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics.1834, 1205–220. doi: 10.1016/j.bbapap.2012.09.012.
- **HOFFMANN M.R., MARTIN S.T., CHOI W.Y., BAHNEMANN D.W.** (1995). *Environmental applications of semi conductor photocatalysis.* Chemical Reviews 95, 69-96.
- **HOLIGER C., ZEHNDER A.J.B.** (1996). *Anaerobic biodegradation of hydrocarbons,* Current opinion in Biotechnology, 7, 326- 330.
- **HOMLOK R., TAKACS E., WOJNAROVITS L.** (2013). *Degradation of organic molecules in advanced oxidation processes: Relation between chemical structure and degradability.* Chemosphere 91,383-389; doi: 10.1016/j.chemosphere.2012.11.073.
- **HOMMEL R. K.,** (1994). *Formation and function of biosurfactant for dégradation of water-insoluble substrats, In: Biochemistry of microbial dégradation, coordinateur C. Ratledge, Ed Kluwer Academic Publishers,* p. 63- 87.
- **HU Z., DOU J.F., LIU X., ZHENG X.L. DENG D.** (2007). *Anaerobic biodegradation of benzene series compounds by mixed cultures based on optional electronic acceptors.* Journal of Environmental Sciences. 19, 1049–1054.
- **HUCHON R.** (2006). *Activité photocatalytique de catalyseurs déposés sur différents supports «medias». Application à la conception d'un photoreacteur pilote* ». Thèse de doctorat de l'université Claude Bernard - Lyon 1 (France).

- **HUESEMANN M.H.** (2004). *Biodegradation and Bioremediation of Petroleum Pollutants in Soil. In Applied Bioremediation and phytoremediation Soil Biology Volume 1.* Ajay Singh and Owen P.Ward (eds). Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 13-34.
- **IWABUCHI N., SUNAIRI M., ANZAI H., NAKAJIMA M., HARAYAMA S.,** (2000). *Relationships between colony morphotypes and oil tolerance in Rhodococcus rhodochrous.* Applied and Environmental Microbiology, 66, 5037 – 5077.
- **IWABUCHI N., SUNAIRI M., URAI M., ITOH C., H. ANZAI, M., NAKAJIMA S. Harayama** (2002). *Extracellular Polysaccharides of Rhodococcus rhodochrous S-2 Stimulate of Degradation of Aromatic Components in Crude Oil by Indigenous Marine Bacteria.* Applied and Environmental Microbiology, 68, 2337 – 2343.
- **J.O.R.A,** (2006a) Journal officiel de la République algérienne n° 26, 23 avril 2006, p. 4 à 20.
- **J.O.R.A,** (2006b) Journal officiel de la République algérienne n° 37, 4 juin 2006, p. 8 à 14.
- **JEWORSKI M, HENZLE E.** (2000). *Combined chemical–biological treatment of wastewater containing refractory pollutants.* Biotechnology Annual Review . 6:163–96.
- **JOHNSEN R., WICK L. Y., HARMS H.** (2005). *Principles of microbial PAH-degradation in soil,* Environmental Pollution, 133, 71 – 84.
- **JONES, D.M., HEAD I.M., GRAY N.D., ADAMS J.J., ROWAN A.K., AITKEN C.M., BENNETT B., HUANG H., BROWN A., BOWLER B.F.J., OLDENBURG T., ERDMANN M., LARTER S.R.** (2008). *Crude-oil biodegradation via methanogenesis in subsurface petroleum reservoirs.* Nature, 451, 176–180.
- **JORGENSEN K.S., PUUSTINEN J., SUORTTI A.M.,** (2000). *Bioremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil by composting in biopiles.* Environmental Pollution. 107, 245-254.
- **JUHASZ A.L, SMITH E., WALLER N., STEWART R., WEBER J.** (2010). *Bioavailability of residual polycyclic aromatic hydrocarbons following enhanced natural attenuation of creosote-contaminated soil.* Environmental Pollution. 158, 585–591; doi: 10.1016/j.envpol.2009.08.018.
- **JUHASZ A.L., NAIDU R.** (2000). *Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of the microbial degradation of benzo[a]pyrene.* International Biodeterioration & Biodegradation. 45, 57-88;doi.org/10.1016/S0964-8305(00)00052-4
- **JUNG K.H., KIM J.K., NOH J.H., EUN J.W., BAE H.J., KIM M.G., CHANG Y.G., SHEN Q., KIM S.J., KWON S.H., PARK W.S., LEE J.Y., NAM S.W.** (2013). *Characteristic molecular signature for the early detection and prediction of polycyclic aromatic hydrocarbons in rat liver.* Toxicology Letters. 216, 1–8; doi: 10.1016/j.toxlet.2012.11.001
- **KANALY R.A. HARAYAMA S.,** (2000). *Biodegradation of High-Molecular-Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Bacteria minireview.* Journal of Bacteriology, 182, 2059-2067; doi: 10.1128/JB.182.8.2059-2067.2000.
- **KANALY R.A., BARTHA R., WATANABE K., HARAYAMA.,** (2000). *Rapid Mineralization of Benzo[a]pyrene by a Microbial Consortium Growing on Diesel Fuel.* Applied and Environmental Microbiology, 66, 4205 – 4211; doi: 10.1128/AEM.66.10.4205-4211.2000

- **KANALY R.A., HARAYAMA S., WATANABE K. (2002).** *Rhodanobacter sp. Strain BPC1 in a Benzo [a] pyrene-Mineralizing Bacterial Consortium.* Applied and Environmental Microbiology. 68, 5826–5833.
- **KAO C.M., CHEN C.Y., CHEN S.C., CHIEN H.Y., CHEN Y.L. (2008).** *Application of in situ biosparging to remediate a petroleum-hydrocarbon spill site: Field and microbial evaluation.* Chemosphere. 70, 1492-1499;doi.:10.1016/j.chemosphere.2007.08.029
- **KAPPELI O., FINNERTY W.R. (1979).** *Partition of alkane by an extracellular vesicle derived from hexadecane- grown Candida tropicalis.* Journal Bacteriology. 140, 707- 712.
- **KÄSTNER M., BREUER-JAMMALI M.,MAHRO B. (1998).** *Impact of Inoculation Protocols, Salinity, and pH on the Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) and Survival of PAH-Degrading Bacteria Introduced into Soil.* Appliedand Environmental Microbiology.64, 359 - 362.
- **KÄSTNER M., STREIBICH S., BEYRER M., RICHNOW H.H., FRITSCH W. (1999).** *Formation of Bound Residues during Microbial Degradation of [14 C] Anthracene in Soil.* Applied and Environmental Microbiology. 65, 1834–1842.
- **KAZUNGA C., AITKEN M.D. (2000).** *Products from the Incomplete Metabolism of Pyrene by Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-Degrading Bacteria.* Applied and Environmental Microbiology. 66,1917-1922;doi: 10.1128/AEM.66.5.1917-1922.2000
- **KHAN A., WANG R.F., CAO W.W., DOERGE D.R, WENNERSTROM D., CERNIGLIA C.E., (2001).** *Molecular Cloning, Nucleotide Sequence, and Expression of Genes Encoding a Polycyclic Aromatic Ring Dioxygenase from Mycobacterium sp. Strain PYR-1.* Applied and Environmental Microbiology. 67, 3577-3585
- **KIM K.-R., OWENS G. (2011).** *Potential for Enhanced Phytoremediation of Landfills Using Biosolids – A Review* Comprehensive Biotechnology (Second Edition), 6, 239-247; doi: 10.1016/j.jenvman.2009.10.017.
- **KIRAN G.S., ANTO THOMAST., SELVINJ., SABARATHNAM B., LIPTONA. P., (2010).**«*Optimization and characterization of a new lipopeptide biosurfactant produced by marine Brevibacteriumaureum MSA13 in solid state culture*». BioresourceTechnology 101, 2389–2396.
- **KIRAN. G.S., HEMA T.A., GANDHIMATHI R., SELVINJ., ANTO THOMAST., RAJEETHA RAVJI T., NATARAJASEENIVASAN K. (2009).** *Optimization and production of a biosurfactant from the sponge-associated «marine fungus Aspergillus ustus MSF3».* Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 73. 250–256.
- **KIRK P.W., GORDON A.S. (1988).** *Hydrocarbon degradation by filamentous marine higher fungi.* Mycologia. 80, 776- 782.
- **KLOOS K., MUNCH J.C., SCHLOTER M. (2006).** *A new method for the detection of alkane-monooxygenase homologous genes (alkB) in soils based on PCR-hybridization.* Journal of Microbiological Methods. 66,486–496.
- **KOCK K., KAPELLI O., FIECHTER A., KEISER J. (1991).** *Hydrocarbon assimilation and biosurfactant production in Pseudomonas aeruginosa mutants.* Journal of Bacteriology. 173,

4212- 4219.

- **KOH I-O, CHEN-HAMACHER X, HICKE K, THIEMANN W.** (2004). *Leachate treatment by the combination of photochemical oxidation with biological process.* Journal Photochemistry Photobiology. A: Chemistry 162:261–71; doi:10.1016/j.nainr.2003.08.011
- **KOIKE K., ARA K., ADACHI S., TAKIGAWA H., MORI H., INOUE S., KIMURA Y., and ITO S.,**(1999). *Regiospecific Internal Desaturation of Aliphatic Compounds by a Mutant Rhodococcus Strain,* Applied and Environmental Microbiology, 65, 5636-5638.
- **KOLLER E.** (2009). *Traitement des pollutions industrielles. Eau. Air. Déchets. Sols. Boues.* 2<sup>ème</sup> édition DUNOD, 2009, 570 pages.
- **KONISHI M., FUKUOKA T., NAGAHAMA T., MORITA T., IMURA T., KITAMOTO D., HATADA Y.,** (2010). « *Biosurfactant-producing yeast isolated from Calyptogenasoyoe (deep-sea cold-seep clam) in the deep sea* ». Journal of Bioscience and Bioengineering 110,169–175.
- **KRIIPALU M., MARQUES, M., NAMMARI, D. R., HOGLAND W.,** (2007). *Bio-treatment of oily sludge: The contribution of amendment material to the content of target contaminants, and the biodegradation dynamics.* Journal of Hazardous Materials. 148, 616-622;doi:10.1016/j.jhazmat.2007.03.017
- **KUHAD R.C., GUPTA R.,** (2009). *Biological Remediation of Petroleum Contaminants,* In : *Advances in Applied Bioremediation, Soil Biology* 17. Ajay Singh, Ramesh C. Kuhad, Owen P.Ward (eds). DOI 10.1007/978-3-540-89621-0\_15, Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Page 173-187.
- **KURNIAWAN T.A., LO W.H., CHAN G.Y.S.** (2006). *Radicals-catalyzed oxidation reactions for degradation of recalcitrant compounds from landfill leachate.* Chemical Engineering Journal 125, 35–57;doi:10.1016/j.cej.2006.07.006
- **KURNIAWAN T.A., LO W.H.** (2009). *Removal of refractory compounds from stabilized landfill leachate using an integrated H2O2 oxidation and granular activated carbon (GAC) adsorption treatment.* Water Research. 43, 4079–4091.
- **LABRECQUE, M. H.,** (2003). *Study of the capacity of two yeast stocks to degrade xylene.* Master in agricultural microbiology, University of Laval. Quebec
- **LANGWORTHY D.E., STAPLETON R.D., SAYLER G. S., FINDLAY R.H.** (1998). *Genotypic and Phenotypic Responses of a Riverine Microbial Community to Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Contamination,* Applied and Environmental Microbiology, 64, 3422–3428.
- **LAPA N., BARBOSA R., MORAIS J., MENDES B., MEHU J., OLIVEIRA J.F.S.,** (2002). *Ecotoxicological assessment of leachates from MSWI bottom ashes.* Waste Management. 22, 583–593.
- **LAPERTOT M., EBRAHIMI S., OLLER I., MADONADO M.I., GERNJAK W., MALATO S., PULGARIN C.** (2008). *Evaluating microtox as a tool for biodegradability assessment of partially treated solutions of pesticides using Fe<sup>3+</sup> and TiO<sub>2</sub> solar photo-assisted processes.* Ecotoxicol Environ Safty. 69, 546-555.



- **LAURENT C., FEIDT C., LAURENT F.** (2005). *Contamination des sols : transferts des sols vers les animaux*. EDP Sciences/ADEME, 216 pages.
- **LECOMPTE P.** (1995). *Les sites pollués, traitement des sols et des eaux souterraines*, édition Lavoisier, TEC & DOC, p. 198.
- **LEE S.H., OH B., KIM J.G.,** (2008). *Effect of various amendments on heavy mineral oil bioremediation and soil microbial activity*. Bioresources Technology, 99,2578-2587.
- **LEI Y., SHEN Z., HUANG R., WANG W.,** (2007). *Treatment of landfill leachate by combined aged-refuse bioreactor and electro-oxidation*. Water Research, 41, 2417 – 2426.
- **LEMIERE B., SEGUIN J.J., LE GUREN C., GUYONNET D., BARANGER PH., DARMENDRAIL D., CONIL P.** (2001). *Guide sur le comportement des polluants dans le sol et les nappes*, document du BRGM 300, éditions BRGM, 2001, p. 119.
- **LHOMME L.** (2006). *Dégradation de produits phytosanitaires par photocatalyse sur support : application aux effluents agricoles*. Thèse de Doctorat de l'université de Rennes1 (France).
- **LI H., WANG X.L., MUB B.Z., GU J.D., LIU Y.D., LIN K.F., LU S.G., LU Q., LI B.Z., LI Y.Y., DU X.M.** (2013). *Molecular detection, quantification and distribution of alkane-degrading bacteria in production water from low temperature oilfields*. International Biodeterioration & Biodegradation 76,49-57;doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.06.007
- **LI S.H., ZHOUA S.Q, SUN Y.B., FENG P., LI J.D.** (2009). *Advanced treatment of landfill leachate by a new combination process in a full-scale plant*. Journal of Hazardous Materials 172, 408–415; doi: 10.1016/j.jhazmat.2009.07.034
- **LIN S.H., CHANG C.C.,**(2000). *Treatment of landfill leachate by combined electro-fenton oxidation and sequencing batch reactor method*. Water Research, 34, 4243-4249,
- **LIN, T. C., PAN, P. T., CHENG, S. S.,** (2010). *Ex situ bioremediation of oil-contaminated soil*. Journal of Hazardous Materials,176, 27–34.
- **LINDELY N.D., HEYDEMAN M.T.** (1986). *The uptake of n-alkanes from alkane mixtures during growth of the hydrocarbon- utilizing fungus Cladosporium resinae*, Applied Microbiology & Biotechnology, 23, 1988, p. 384- 388.
- **LINDELY N.D., HEYDEMAN M.T.** (1986). *Mecanism of dodecane uptake by whole cells of Cladosporium resinae*, Journal Genetic. Microbiology, 132, 751- 756.
- **LITTLE C.D., PALUMBO A.V., HERBES S. E., LIDSTROM M.E., TYNDALL R.L., GILMER P.J.,** (1988). *Trichloroethylene Biodegradation by a Methane-Oxidizing Bacterium*, Applied and Environmental Microbiology,54. 951-956.
- **LIU C.W., LIANG M.S., CHEN Y.C., SAYAVEDRA-SOTO L. A., LIU H.S.** (2012). *Biodegradation of n-alkanes at high concentration and correlation to the accumulation of H<sup>+</sup> ions in Rhodococcus erythropolis NTU-1*. Biochemical Engineering Journal 63, 124– 128; doi:10.1016/j.bej.2011.11.007
- **LIWARSKA-BIZUKOJC, E., BIZUKOJC, M., LEDAKOWICZ, S.,** (2001). *Kinetic model for the process of aerobic biodegradation of organic fraction of municipal solid waste*. Bioprocess and Biosystems Engineering 24, 195-202.

- **LORS C., DAMIDOT D., PONGE J-F., PÉRIÉ F.** (2012). *Comparison of a bioremediation process of PAHs in a PAH-contaminated soil at field and laboratory scales.* Environmental Pollution, 165, 11-17;doi: 10.1016/j.envpol.2012.02.004.
- **LU, M., ZHANG, Z., SUN, S., WANG, Q., ZHONG, W.,** (2009). *Enhanced degradation of bioremediation residues in petroleum-contaminated soil using a two-liquid-phase bioslurry reactor.* Chemosphere 77, 161–168,doi: 10.1016/j.chemosphere.2009.08.001.
- **MAEDA T., TAKAHASHI Y., SUENAGA H., SUYAMA A., GOTO M., AND FURUKAWA K.** (2001). *Functional Analyses of Bph-Tod Hybrid Dioxygenase, Which Exhibits High Degradation Activity Toward Trichloroethylene.* The journal of Biological Chemistry, 276, 29833 – 29838.
- **MAGALHÃES S.M.C., FERREIRA JORGE R.M., CASTRO P.M.L.** (2009) *Investigations into the application of a combination of bioventing and biotrickling filter technologies for soil decontamination processes—A transition regime between bioventing and soil vapour extraction.* Journal of Hazardous Materials, 170, 711-715;doi: 10.1016/j.jhazmat.2009.05.008.
- **MAKADIA T.H., ADETUTU E.M., SIMONS K.L., JARDINE D., SHEPPARD P.J., BALL A.S.,** (2011). *Re-use of remediated soils for the bioremediation of waste oil sludge.* Journal of Environmental Management, 92, 866-871;doi: 10.1016/j.jenvman.2010.10.059.
- **MARCHAL, R., PENET, S., SOLANO-SERENA, F., VANDECASTEELE, J.P.** (2003). *Gasoline and Diesel Oil.* Oil & Gas Science and Technology, 58, 441-448.
- **MARGESIN R., LABBÉ D., SCHINNER F., GREER C. W., AND WHYTE L. G.** (2003), *Characterization of Hydrocarbon-Degrading Microbial Populations in Contaminated and Pristine Alpine Soils,*Applied and Environmental Microbiology, 69, 3085-3092.
- **MARGESIN R., SCHINNER F.,** (2001). *Bioremediation (Natural Attenuation and Biostimulation) of Diesel-Oil-Contaminated Soil in an Alpine Glacier Skiing Area.* Applied and Environmental Microbiology 67, 3127-3133.
- **MARIN J.A., HERNANDEZ T., GARCIA C.** (2005). *Bioremediation of oil refinery sludge by landfarming in semiarid conditions: Influence on soil microbial activity.* Environmental Research, 98, 185-195.
- **MARTIN F., TORELLI S., Denis LE PASLIER., BARBANCE A., MARTIN-LAURENT F., BRU D., GEREMIA R., BLAKE G., JOUANNEAU Y.,** (2012). *Betaproteobacteria dominance and diversity shifts in the bacterial community of a PAH-contaminated soil exposed to phenanthrene.* Environmental Pollution 162, 345-353. doi:10.1016/ j.envpol.2011.11.032.
- **MATE** (2007). Ministère de l'Aménagement du Territoire, de l'Environnement et du Tourisme. *Etude du schema directeur de collecte et de traitement des dechets solides des 57 communes de la wilaya d'alger, mission 1, « Bilan et diagnostic de la situation existante.*
- **MATE** (2008), Ministère de l'Aménagement du Territoire, de l'Environnement et du Tourisme. *Schéma directeur de collecte et traitement des dechets solides des 57 communes de la wilaya d'alger. Résumé du Rapport de la Mission I,« bilan-diagnostic de la situation actuelle.*
- **MATE** (2008). Ministère de l'Aménagement du Territoire, de l'Environnement et du Tourisme. *Schéma directeur de collecte et traitement des dechets solides des 57 communes de la wilaya d'Alger. Rapport final de la mission I,- bilan-diagnostic de la situation actuelle.*

- **MAZZEO C.D.E., LEVY C.E., DE ANGELIS D.D.F., MARIN-MORALES M.A.** (2010). *BTEX biodegradation by bacteria from effluents of petroleum refinery*. Science of the Total Environment 408, 4334–4340; doi: 10.1016/j.scitotenv.2010.07.004
- **MBADINGA S.M., WANG L-Y., ZHOU L., LIU J-F., GU J.D, MU B.-Z.** (2011). *Microbial communities involved in anaerobic degradation of alkanes Review*. International Biodeterioration & Biodegradation . 65, 1-13; doi: 10.1111/j.1462-2920.2011.02570.x
- **MECKENSTOCK R. U., SAFINOWSKI M., GRIEBLER C.,** (2004). *Anaerobic degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons*. FEMS Microbiology Ecology, 49: 27-36.
- **MEEROFF D. E., BLOETSCHER F., REDDY D.V., GASNIER F., JAIN S., McBARNETTE A., HAMAGUCHI H.,** (2012). *Application of photochemical technologies for treatment of landfill leachate*, Journal of Hazardous Materials. 209– 210 299– 307;doi: 10.1016/j.jhazmat.2012.01.028.
- **MENN F.M., APPLGATE B.M., SAYLER G.S.,** (1993). *NAH Plasmid-Mediated Catabolism of Anthracene and Phenanthrene to Naphthoic Acids*, Applied and Environmental Microbiology, 59, 1938-1942.
- **MESARCH M.B., NAKATSU C.H., NIES L.** (2000). *Development of Catechol 2,3-Dioxygenase-Specific Primers for Monitoring Bioremediation by Competitive Quantitative PCR*. Applied and Environmental Microbiology. 66, 678-683.
- **MEZOUARI-SANDJAKDINE F.** (2011). *Conception et exploitation des centres de stockage des déchets en Algérie et limitation des impacts environnementaux*. Thèse de Doctorat de l'université de limoges (France).
- **MILITON C.** (2007). *Caractérisation des communautés procaryotiques impliquées dans la bioremediation d'un sol pollué par des hydrocarbures et developpement d'outils d'analyse à haut debit: les biopuces ADN*. Thèse de Doctorat, Université Blaise Pascal ,183 pages.
- **MOHANTY G., MUKHERJI S.** (2008). *Biodegradation rate of diesel range n-alkanes by bacterial cultures Exiguobacterium aurantiacum and Burkholderia cepacia*. International Biodeterioration & Biodegradation 61, 240–250;doi.org/10.1016/j.ibiod.2007.06.011
- **MONTEIRO A.S., BONFIM M.R.Q., DOMINGUES V.S., CORREA J.R.A., SIQUEIRA E.P., ZANI C.L., SANTOS V.L.** (2010). *Identification and characterization of bioemulsifier producing yeasts isolated from effluents of a dairy industry*. Bioresource Technology 101, 5186–5193; doi: 10.1016/j.biortech.2010.02.041.
- **MOODY J.D., FREEMAN J.P., DOERGE D.R., CERNIGLIA C. E.,** (2001). *Degradation of Phenanthrene and Anthracene by Cell Suspensions of Mycobacterium sp. Strain PYR-1*, Applied and Environmental Microbiology, 67, 1467 - 1483.
- **MORAVIA W.G., AMARAL M.C.S., LANGE L.C.** (2013). *Evaluation of landfill leachate treatment by advanced oxidative process by Fenton's reagent combined with membrane separation system*. Waste Management 33, 89–101; doi: 10.1016/j.wasman.2012.08.009.
- **MORGAN P., WATKINSON R.J.** (1994). *Biodegradation of components of petroleum*, In: Biochemistry of microbial degradation Edited Ratledge C. by Ed Kluwer Academic Publishers, p. 1-31.



- **MORLETT-CHÁVEZ J.A., ASCACIO-MARTÍNEZ J.Á., RIVAS-ESTILLA A.M., VELÁZQUEZ-VADILLO J.F., HASKINS W.E., BARRERA-SALDAÑA H.A., ACUÑA-ASKAR K.** (2010). *Kinetics of BTEX biodegradation by a microbial consortium acclimatized to unleaded gasoline and bacterial strains isolated from it.* International Biodeterioration & Biodegradation, 64, 581-587;doi.org/10.1016/j.ibiod.2010.06.010.
- **MROSIK A., PIOTROWSKA-SEGET, Z.,** (2010). *Bioaugmentation as a strategy for cleaning up of soils contaminated with aromatic compounds.* Microbiological Research, 165, 363e375.
- **NAMKOONG W., HWANG E.Y, PARK J.S, CHOI J.Y** (2002). *Bioremediation of diesel-contaminated soil with composting.* Environmental Pollution, 119:23-31.
- **NANO G., A BORRONI A., ROTA R.** (2003). *Combined slurry and solid-phase bioremediation of diesel contaminated soils* Journal of Hazardous Materials, 100, 79-94;doi:10.1016/S0304-3894(03)00065-7
- **NARRO M.L.** (1985). *Oxidation of aromatic hydrocarbons by marine cyanobacteria.* Ph.D. thesis. University of Texas at Austin, Austin, 1985.
- **NARRO M.L., CERNIGLIA C.E., VAN BAALEN C., GIBSON D.T. (1992).** *Metabolism of phenanthrene by the marine cyanobacterium Agmenellum quadruplicatum PR-6.* Applied Environmental Microbiology, 58, 1351- 1359.
- **NECZAJ E., KACPRZAK M., LACH J., OKONIEWASKA E.** (2007). *Effect of sonication on combined treatment of landfill leachate and domestic sewage in SBR reactor.* Desalination. 204, 227–233;doi:10.1016/j.desal.2006.02.033.
- **OHKO Y., ANDO I., NIWA C., TATSUMA T., YAMAMURA T., NAKASHIMA T., KUBOTA Y., FUJISHIMA A,** (2001). *Degradation of bisphenol A in water by TiO<sub>2</sub> photocatalyst.* Environmental Science Technology.35, 2365–2368.
- **OLANIRAN A.O., PILLAY D., PILLAY B.,** (2008). *Aerobic biodegradation of dichloroethenes by indigenous bacteria isolated from contaminated sites in Africa.* Chemosphere, 73, 24–29; doi: 10.1016/j.chemosphere.2008.06.003.
- **OLLER, S., MALATO J.A. SANCHEZ-PEREZ.**(2011). *Combination of Advanced Oxidation Processes and biological treatments for wastewater decontamination—A review.* Science of the Total Environment 409, 4141–4166;doi: 10.1016/j.scitotenv.2010.08.061
- **PAGNOUT C., FRACHE G., POUPIN P., MAUNIT B., MULLER J-F, FERARD J-F.**(2007). *Isolation and characterization of a gene cluster involved in PAH degradation in Mycobacterium sp. strain SNP11: Expression in Mycobacterium smegmatis mc 2155.* Research in Microbiology. 158 , 175-186.
- **PANT P., PANT S.,** (2010). *A review: Advances in microbial remediation of trichloroethylene (TCE).* Journal of Environmental Sciences, 22, 116–126. doi: 10.1016/ S1001-0742(09)60082-6.
- **PARALES R.E., DITTY J.L., HARWOOD C.S.** (2000). *Toluene-Degrading Bacteria Are Chemotactic towards the Environmental Pollutants Benzene, Toluene, and Trichloroethylene,* Applied and Environmental Microbiology, 66, 4098 – 4104.
- **PARTOVINIA A., NAEIMPOOR F., HEJAZI, P.,** (2010). *Carbon content reduction in a model reluctant clayey soil: slurry phase n-hexadecane bioremediation». Journal of Hazard Materials, 181, 133-139.*

- **PAZOS M., ROSALES E., ALCANTARA T., GOMEZ J., SANROMAN M.A.** (2009). *Decontamination of soils containing PAHs by electroremediation: A review.* Journal of Hazardous Materials 177,1-11. doi: 10.1016/j.jhazmat.2009.11.055.
- **PENBERTHY, J., WESTON, R. F.,** (2005). *Remediation of Diesel and Fuel Oil Hydrocarbons in high clay content soils: A field comparison of amendment performance conducted at the Mare Island Naval Shipyard.* <http://www.Environmental-expert.com/consulting/weston/penberthy.pdf>.
- **PERELO L.W.,** (2010). *In situ and bioremediation of organic pollutants in aquatic sediments: review.* Journal of Hazardous Materials, 169, 81-89; doi: 10.1016/j.jhazmat.2009.
- **PETIT N.** (2007). *Couplage des procédés d'adsorption sur charbon actif et de photocatalyse TiO<sub>2</sub>/UV pour l'élimination de composés organiques volatils,* 2007. Thèse de Doctorat de l'université de rennes1.
- **PIGNATELLO J.J.** (2009). *Bioavailability of contaminants in soil,* In : *Advances in Applied Bioremediation, Soil Biology* 17. Ajay Singh, Ramesh C. Kuhad, Owen P.Ward (eds). DOI 10.1007/978-3-540-89621-0\_15, Springer-Verlag Berlin Heidelberg Page 35-71.
- **PINEL-RAFFAITINP.** (2006). *Suivi des métaux et métalloïdes dans les effluents de centres de stockage de déchets: Spéciation et devenir des composés de l'arsenic et de l'étain dans les lixiviats et les biogaz.* Thèse de Doctorat Université de Pau et des Pays de l'Adour.
- **POBLETE R., OTAL E., VILCHES L.F., VALE J., FERANDEZ-PEREIRA C.** (2011). *Photocatalytic degradation of humic acids and landfill leachate using a solid industrial by-product containing TiO<sub>2</sub> and Fe.* Applied Catalysis B: Environmental. 102,172-179;doi;10.1016/j.apcatb.2010.11.039.
- **POTIN O., RAFIN C., AND VEIGNIE E.,** (2004a). *Bioremediation of an aged polycyclic aromatic hydrocarbons(PAHs)-contaminated soil by filamentous fungi isolated from the soil.* International Biodeterioration & Biodegradation, 54, 45 - 52; doi: 10.1016/j.ibiod.2004.01.003.
- **POTIN O., VEIGNIE E., RAFIN C.,** (2004b). *Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by Cladosporium sphaerospermum isolated from an aged PAH contaminated soil.* FEMS Microbiology Ecology, 51, 71-78.
- **PRENAFETA-BOLDÚ F.X., VERVOORT J., GROTENHUIS J.T.C, VAN GROENESTIJN J.W.,** (2002). *Substrate Interactions during the Biodegradation of Benzene, Toluene, Ethylbenzene, and Xylene (BTEX) Hydrocarbons by the Fungus Cladophialophora sp. Strain Tl.* Applied and Environmental Microbiology, 68, 2660 - 2665.
- **PULFORD I.D., WATSON C.** (2003). *Phytoremediation of heavy metal-contaminated land by trees—a review.* Environment International, 29, 529-540
- **RADWAN S.** (2009). *Phytoremediation for oily Desert Soils,* In : *Advances in Applied Bioremediation, Soil Biology* 17. Ajay Singh, Ramesh C. Kuhad, Owen P.Ward (eds). DOI 10.1007/978-3-540-89621-0\_15, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.p 279-298.
- **RATELDGE C.** (1978). *Degradation of aliphatic hydrocarbons,* In: *Developments in Biodegradation of Hydrocarbons*, R. J. Watkinson (ed). Applied Science. London, 1, 1- 46

- **RECORD**, (2007). *Devenir des polluants organiques dans les sols lors de la Biodégradation naturelle et après biotraitements Identification des composés « métabolites » et des cinétiques*, pages 126. N°5-01513/1A.
- **REHMANN K., HERTKORN N., KETTRUP A.A.** (2001). *Fluoranthene metabolism in Mycobacterium sp. strain KR20: identity of pathway intermediates during degradation and growth*, Microbiology, 147, 2783 – 2794.
- **RENE E.R., MOHAMMAD B.T., VEIGA M.C., KENNES C.** (2012). *Biodegradation of BTEX in a fungal biofilter: Influence of operational parameters, effect of shock-loads and substrate stratification*. Bioresource Technology, 116, 204–213. doi: 10.1016/j.biortech.2011.12.006.
- **RENOU S., GIVAUDAN J.G., POULAIN S., DIRASSOUYAN F., MOULIN P.** (2008a). *Landfill leachate treatment: Review and opportunity* ». Review Journal of Hazardous Materials 150 468–493;doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.09.077
- **RENOU S., POULAIN S., GAGNAIRE J., MARROT B., MOULIN P.** (2008c). *Lixiviats de centre de stockage : déchet généré par des déchets. L'eau, l'industrie, les nuisances* - 310,37-43.
- **RENOU S., POULAIN S., GIVAUDAN J.G., MOULIN P.** (2008b). *Treatment process adapted to stabilized leachates: Lime precipitation–prefiltration–reverse osmosis* . Journal of Membrane Science 313 9–22;doi.org/10.1016/j.memsci.2007.11.023
- **RIZZO L. (2011)**. *Bioassays as a tool for evaluating advanced oxidation processes in water and wastewater treatment*. Water research, 45 4311-4340; doi.org/ 10.1016/j.watres.2011.05.035.
- **ROCHA E.M.R., VILAR V.J.P., FONSECA A., SARAIVA I., BOAVENTURA R.A.R.,** (2011). *Landfill leachate treatment by solar-driven AOPs*. Solar Energy. 85, 46–56;doi:10.1016/j.solener.2010.11.001
- **RODRIGUEZ M., TIMOKHIN V., FLORIAN M., CONTRERAS S., GIMENEZ J., ESPLUGLASS.** (2002). *The influence of different irradiation sources on the treatment of nitrobenzene*. Catalysis Today 76,291–300.
- **ROJAS-AVELIZAPA, N.G., ROLDAN-CARRILLO, T., ZEGARRA-MARTINEZ, H., MUNOZ-COLUNGA, A.M., FERNANDEZ-LINARES, L.C.,** (2007). *A field trial for an ex-situ bioremediation of a drilling mud-polluted site*. Chemosphere 66, 1595–1600;http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.08.011
- **RUFINO R.D., LUNA J.M., SARUBBO L.A., RODRIGUES L.R.M., TEIXEIRA J.A.C, CAMPOSTAKAKI G.M.** (2011). *Antimicrobial and anti-adhesive potential of a biosurfactant Rufisan produced by Candida lipolytica UCP 0988*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 84, 1–5; doi: 10.1016/j.colsurfb.2010.
- **RUSSELL S.** (1999). *Devenir et effets des hydrocarbures répandus*, Sect 04-fr, Sep 1999, Banque mondiale url : <http://www.worldbank.org/afr/ccproj/environmental/pdfs/f.pdf>.
- **SACK U., HEINZE T.M., DECK J., CERNIGLIA C.E., CAZAU M.C., FRITSCHÉ W.,** (1997). *Novel Metabolites in Phenanthrene and Pyrene Transformation by Aspergillusniger*. Applied and Environmental Microbiology, 63. 2906-2909.
- **SAKAMOTO T., JOERN J.M., ARISAWA A., ARNOLD F.H.**(2001). *Laboratory Evolution of Toluene Dioxygenase To Accept 4-Picoline as a Substrate*, Applied and Environmental Microbiology, 67, 3882 – 3887; doi.org/ 10.1128/AEM.67.9. 3882-3887.2001

- **SALICIS F., KRIVOBOK S., JACK M., BENOIT-GUYOD J.L.** (1999). *Biodegradation of fluoranthene by soil fungi*. Chemosphere, 38, 3031-3039
- **SAMANTA S.K., SINGH O.V., JAIN R.K.**, (2002). *Polycyclic aromatic hydrocarbons: environmental pollution and bioremediation*, TRENDS in Biotechnology, 20, 243 – 248.
- **SAMSON R.** (1994). *Biorestauration des sites contaminés: les technologies in-situ et ex-situ*, Cahier technique réalisé pour le CQVB (centre québécois de valorisation de la biomasse),
- **SANSCARTIER D., REIMER K., ZEEB B., KOCH I.** (2011). *The Effect of Temperature and Aeration Rate on Bioremediation of Diesel-contaminated Soil in Solid-phase Bench-scale Bioreactors*. Soil and Sediment Contamination: An International Journal 20, 353-369; .doi.org/10.1080/15320383.2011.571311.
- **SANSCARTIER, D., ZEEB, B., KOCH, I., KEN REIMER, K.** (2009). *Bioremediation of diesel-contaminated soil by heated and humidified biopile system in cold climates*. Cold Regions Science Technology 55, 167–173;doi.org/10.1016/j.coldregions.2008.07.004
- **SANSEVERINO J., APPLGATE B.M., HENRY K.J.M., SAYLER G.S.** (1993). *Plasmid-Mediated Mineralization of Naphthalene, Phenanthrene, and Anthracene*, Applied and Environmental Microbiology. 59, 1931-1937.
- **SARANTOPOULOS C.** (2007), *Photocatalyseurs à base de TiO<sub>2</sub> préparés par infiltration chimique en phase vapeur (cvi) sur supports microfibreux*. Thèse de Doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse.
- **SARMA S.J., PAKSHIRAJAN K.** (2011). *Surfactant aided biodegradation of pyrene using immobilized cells of Mycobacterium frederiksbergense*. International Biodeterioration & Biodegradation 65, 73-77; doi.org/10.1016/j.ibiod.2010.09.004
- **SCHNEIDER J., GROSSER R., JAYASIMHULU K., XUE W., WARSHAWSKY D.**(1996). *Degradation of Pyrene, Benz[a]anthracene, and Benzo[a]pyrene by Mycobacterium sp. Strain RJGII-135, Isolated from a Former Coal Gasification Site*, Applied and Environmental Microbiology, 62, 13 - 19.
- **SCOTT C. C. L. ET FINNERTY W. R.** (1976b). *Characterisation of intracytoplasmic hydrocarbon inclusions from the hydrocarbon- oxidizing Acinetobacter sp. HO1-N*. Journal Bacteriology, 127, 481- 489.
- **SCOTT C.C.L. ET FINNERTY W.R.** (1976). *A comparative analysis of the ultrastructure of hydrocarbon- oxidizing microorganisms*, Journal General Microbiology, 94,342- 350.
- **SDAGE**, (2002). *Guide technique n°7. Pollution toxique et ecotoxicologique : notions de base*. SDAGE Rhône-Méditerranée-Corse, 82 pages.
- **SEGHAL K.G, ANTO T.T, SELVIN J, SABARATHNAM B., LIPTON A.3P.** (2010). *Optimization and characterization of a new lipopeptide biosurfactant produced by marine Brevibacterium aureum MSA13 in solid state culture*. Bioresource Technology, 101, 2389–2396. doi: 10.1016/j.biortech.2009.11.023
- **SEGHAL K.G., HEMA T.A., GANDHIMATHI R., SELVIN J., THOMAS T.A., RAVJI T.R., NATARAJASEENIVASAN K.** (2009). *Optimization and production of a biosurfactant from the sponge-associated « marine fungus Aspergillus ustus MSF3 »*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.73, 250–256; doi: 10.1016/j.colsurfb.2009.05.025.

- **SHERRY, N.D., GRAY A.K., DITCHFIELD C.M., AITKEN D.M., JONES, W.F.M., RÖLING C., HALLMANN S.R., LARTER, B.F.J., BOWLER I.M. (2012).** *Anaerobic biodegradation of crude oil under sulphate-reducing conditions leads to only modest enrichment of recognized sulphate-reducing taxa*. International Biodeterioration & Biodegradation 1-9. In press, Epub:15 May 2012,doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.04.009
- **SHIM H., SHIN E.B., YANG S.T. (2002).** *A continuous fibrous-bed bioreactor for BTEX biodegradation by a co-culture of Pseudomonas putida and Pseudomonas fluorescens*. Advances in Environmental Research 7,203-216.
- **SHINDO K., NAKAMURA R., OSAWA A., KAGAMI O., KANO H., FURUKAWA K., MISAWA N. (2005).** *Biocatalytic synthesis of monocyclic arene-dihydrodiols and -diols by Escherichia coli cells expressing hybrid toluene/biphenyl dioxygenase and dihydrodiol dehydrogenase genes*. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 35, 134–14.
- **SHUKLA A.K., VISHWAKARMA P., UPADHYAY S.N., TRIPATHI A.K., PRASANA H.C., DUBEY S.K., (2009).** *Biodegradation of trichloroethylene (TCE) by methanotrophic community*. Bioresource Technology,100(9):2469-74.doi: 10.1016/ j.biortech. 2008.12.022.
- **SILLANPAA M. E.T., KURNIAWAN T. A., LO W-H., (2011).** *Degradation of chelating agents in aqueous solution using advanced oxidation process (AOP)*, Chemosphere. 83, 1443–1460;doi:10.1016/j.chemosphere.2011.01.007
- **SILVA I.S., GROSSMAN M., DURRANT L.R. (2009).** *Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (2–7 rings) under microaerobic and very-low-oxygen conditions by soil fungi*. International Biodeterioration & Biodegradation 63, 224–229; doi.org/10.1016/j.ibiod.2008.09.008
- **SINGER M.E., FINNERTY W.R. (1984a).** *Microbial metabolism of straight- chain and branched alkanes*, In: *Petroleum Microbiology*, R. M. Atlas (ed), Macmillan, New York, pp. 1- 59.
- **SINGH A, WARD O.P. (2004).** *Biotechnology and Bioremediation-An Overview*, In *Biodegradation and Bioremediation Soil Biology*, Volume 2. Ajay Singh and Owen P.Ward (eds). Springer-Verlag Berlin Heidelberg. pp, 1-17.
- **SINGH A., KUHAD R.C., WARD O.P., (2009)** *Biological Remediation of soil: An Overview of Global Market and Available Technologies*, In : *Advances in Applied Bioremediation, Soil Biology* 17. Ajay Singh, Ramesh C. Kuhad, Owen P.Ward (eds). DOI 10.1007/978-3-540-89621-0\_15, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2009 pp, 1-19
- **SO C.M., YOUNG L.Y., (2001).** *Anaerobic biodegradation of alkanes by enriched consortia under four different reducing conditions*. Environmental Toxicology and Chemistry 20, 473–478.
- **SOLANO-SERENA F., MARCHAL R., ET VANDECASTEELE J.P. (2001).** *Biodégradabilité de l'essence dans l'environnement : de l'évaluation globale au cas des hydrocarbures récalcitrants*, Oil&Gas Science and Technology 156, 479-498.
- **SOLANO-SERENA, F., MARCHAL, R., VANDECASTEELE, J. P. (2001).** *Biodegradation of Gasoline in the Environment: From Overall Assessment to the Case of Recalcitrant Hydrocarbons*. Oil & Gas Science and Technology156, 479-498.
- **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (1999)** (twentieth ed.) American Public Health Association, Washington, DC.



- **STAPLETON R. D., SAVAGE D. C., SAYLER G. S., AND STACEY G. (1998).** *Biodegradation of Aromatic Hydrocarbons in an Extremely Acidic Environment.* Applied and Environmental Microbiology, 64, 4180 - 4184.
- **SU L., ZHOU H., GUO G., ZHAO A., ZHAO Y. (2012).** *Anaerobic biodegradation of PAH in river sediment treated with different additives.* Procedia Environmental Sciences, 16, 311-319; .doi.org/10.1016/j.proenv.2012.10.044.
- **SUBASHCHANDRABOSES.R, RAMAKRISHNANB., MEGHARAJM., VENKATESWARLUK., NAIDUR. (2013).** *Review Mixotrophic cyanobacteria and microalgae as distinctive biological agents for organic pollutant degradation.* Environment International. 51, 59-72. doi: 10.1016/j.envint.2012.10.007.
- **SUENAGA H., MITSUOKA M., URA Y., WATANABE T., AND FURUKAWA K.(2001).** *Directed Evolution of Biphenyl Dioxygenase: Emergence of Enhanced Degradation Capacity for Benzene, Toluene, and Alkylbenzenes,* Journal of Bacteriology, 183, 5441 - 5444.
- **SUMCKER R.A., COONEY J.J. (1981),** *Cytological responses of Cladosporium resinae when shifted from glucose to hydrocarbon medium,* Canadian Journal of Microbiology, 27, 1209-1218.
- **SUZUKI K., ANEGAWA A., ENDO K., YAMADA M., ONO Y., ONO Y. (2008).** *Performance evaluation of intermediate cover soil barrier for removal of heavy metals in landfill leachate.* Chemosphere. 73, 1428-1435.
- **TANASE A.M., IONESCU R., CHICIUDEAN I., VASSU T., STOICA I. (2012).** *Characterization of hydrocarbon-degrading bacterial strains isolated from oil-polluted soil.* International Biodeterioration & Biodegradation 75, 1-5.doi:10.1016/j.ibiod.2012.05.022 (in Press).
- **TARANEH J. B., RAHMATOLLAH G., HASSAN A., ALIREZA D. (2008).** *Effect of wax inhibitors on pour point and rheological properties of Iranian waxy crude oil.* Fuel Processing Technology, 89, 973-977;doi.org/10.1016/j.fuproc.2008.03.013
- **THAVAMANI, P., MEGHARAJ, M., KRISHNAMURTI, G.S.R., MC FARLAND, R., NAIDU, R., (2011).** *Finger printing of mixed contaminants from former manufactured gas plant (MGP) site soils: Implications to bioremediation.* Environmental International 37, 184-189;doi: 10.1016/j.envint.2010.08.017
- **TIBURTIUS E.R.L., PERALTA-ZAMORA P., EMMEL A. (2005).** *Treatment of gasoline-contaminated waters by advanced oxidation processes.* Journal of Hazardous Materials B126: 86-90;doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.06.003.
- **TOLBA. A., (2008).** *La réhabilitation des décharges en Algérie un objectif double, le cas de la décharge de Oued Smar.* Atelier Régional de renforcement des capacités sur les projets de Mécanisme de Développement Propres (Marché du Carbone), 13 Février 2008, Hôtel Riadh, Alger.
- **TOREN, O.E., PAITAN Y., RON E. Z., ROSENBERG E. (2002).** *The Active Component of the Bioemulsifier Alasan from Acinetobacter radioresistens KA53 Is an OmpA-Like Protein”,* Journal of Bacteriology. 184, 165-170.

- **TREBOUET D., BERLAND A., SCHLUMPF J.P., JAOUEN P. ET QUEMENEUR F.** (1998). *Traitement de lixiviats stabilisés de décharge par des membranes de nanofiltration.* Journal of Water Science, 11, 365-382.
- **TRUDGILL P.V.** (1990). *Microbial metabolism of monoterpenes- recent developments,* Biodegradation, 1, 93-105.
- **TRUFFAUT N., MATER D., HALLIER-SOULIER S., POUPIN P.** (2001), *Outils moléculaires d'évaluation des capacités dégradatives de microflores de l'environnement,* Bulletin de la Société Française de Microbiologie., 16, 190- 196.
- **TSAIJ.C., KUMARM., LINJ.G.** (2009b). *Anaerobic biotransformation of fluorene and phenanthrene by sulfate-reducing bacteria and identification of biotransformation pathway.* Journal of Hazardous Materials.164, 847–855. doi: 10.1016/j.jhazmat. 2008.08.101.
- **TSAI J-C, KUMAR M, CHANG SM, LIN JG.**(2009a). *Determination of optimal phenanthrene, sulfate and biomass concentrations for anaerobic biodegradation of phenanthrene by sulfate-reducing bacteria and elucidation of metabolic pathway.* Journal of Hazardous Materials. 171, 1112–1119.doi: 10.1016/j.jhazmat.2009.06.130.
- **UDI WAL K.H., PATEL V.M.** (2010). *Restoration of oil contaminated soil by bioremediation for ground water management and environment protection* International Journal of Chemical, Environmental and Pharmaceutical Research, 1, 17–26
- **ULFIG, K., PLAZA, G., LUKASIK, K., MANKO, T., WORSZTYNOWICZ, A., TIEN, A., HAZEN, T.C.,** (1998). *Microbiological changes in petroleum-contaminated soil during bioremediation at a polish petroleum refinery.* Fourth International Symposium and Exhibition on Environmental Contamination in Central and Eastern Europe. Warsaw, 15-17.
- **ULFIG, K., PLAZA, G., TIEN, A. J., WORSZTYNOWICZ, A., HAZEN, T. C., ALTMAN, D.,** (2001). *Microbiological Aspects of Bioremediation.* International Containment & Remediation Technology. In Orlando, Florida.
- **URTIAGA A., RUEDA A., ANGLADA A., ORTIZ I.** (2009). *Integrated treatment of landfill leachates including electrooxidation at pilot plant scale.* Journal of Hazardous Materials 166 1530–1534;doi: 10.1016/j.jhazmat.2008.
- **VALENTIN L., LU-CHAU T.A., LOPEZ C., FEIJOO G., MOREIRA M.T., LEMA J.M.** (2007). *Biodegradation of dibenzothiophene, fluoranthene, pyrene and chrysene in a soil slurry reactor by the white-rot fungus Bjerkandera sp. BOS55.* Process Biochemistry 42,641–648.
- **VAN BEILEN, J.B., Li Z., DUETZ, W.A., SMITS, T.H.M., WITHOLT, B.** (2003). *Diversity of Alkane Hydroxylase Systems in the Environment.* Oil & Gas Science and Technology 58, 427-440.
- **VAN GESTEL K., MERGAERT J., SWINGS J., COOSEMANS J., RYCKEBOER J.**(2003). *Bioremediation of diesel oil-contaminated soil by composting with biowaste.* Environmental Pollution,125, 361-368
- **VAN HAMME J.D. ET. WARD O.P,** (2001). *Physical and Metabolic Interactions of Pseudomonas sp. Strain JA5-B45 and Rhodococcus sp. Strain F9-D79 during Growth on Crude Oil and Effect of a Chemical Surfactant on Them,* Applied and Environmental Microbiology, 67, 4874–4879.
- **VANEECHOUTTE M., TJERNBERG I., BALDI F., PEPI M., FANI R., SULLIVAN E.R., VAN DER TOORN J., DIJKSHOORN L.** (1999). *Oil-degrading Acinetobacter strain RAG-1 and strains*

- described as Acinetobacter venetianus sp. nov. belong to the same genomic species. Research Microbiology 150, 69–73.*
- **VIDALI M.**, *Bioremediation: An overview* », <http://eolless.net/Eoless-sampleAllChapter.aspx>. Dernier accès, le 3 mars 2013.
  - **VILA J., LOPEZ Z., SABATE J., MINGUILLON C., SOLANAS A. M., GRIFOLL M., (2001).** *Identification of a Novel Metabolite in the Degradation of Pyrene by Mycobacterium sp. Strain AP1: Actions of the Isolate on Two- and Three-Ring Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. Applied and Environmental Microbiology, 67, 5497-5505.*
  - **VILAR V. J.P, CAPELOA S.M.S, SILVA F.C.V.T, BOAVENTURA R.A.R, (2011b).** *Solar photo-Fenton as a pre-oxidation step for biological treatment of landfill leachate in a pilot plant with CPCs. CatalysisToday. 161: 228–234.*
  - **VILAR V.J, ROCHA E.M., MOTA F.S., FONSECA A., SARAIVA I., BOAVENTURA R.A. (2011a).** *Treatment of a sanitary landfill leachate using combined solar photo-Fenton and biological immobilized biomass reactor at a pilot scale. Water research. 45,2647-2658; doi: 10.1016/j.watres.2011.02.019.*
  - **VOGEL T., BALLERINI D. (2001).** *Biorestoration des sols et des aquifères contaminés par des hydrocarbures et des composés halogénés, Bulletin de la société française de microbiologie, 16,204- 209.*
  - **WANG Q., FENG C., ZHAO Y., HAO C., (2009).** *Denitrification of nitrate contaminated groundwater with a fiber-based biofilm reactor. Bioresource Technology, 100, 2223-2227;doi:10.1016/j.biortech.2008.07.057*
  - **WANG R.F., WENNERSTROM D., CAO W.W., KHAN A.A., CERNIGLIA C.E.,(2000).** *Cloning, Expression, and Characterization of the katG Gene, Encoding Catalase-Peroxidase, from the Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-Degrading Bacterium Mycobacterium sp. Strain PYR-1, Applied and Environmental Microbiology, 66, 4300–4304.*
  - **WANG X., CHEN S., GU X., WANG K. (2009).** *Pilot study on the advanced treatment of landfill leachate using a combined coagulation, Fenton oxidation and biological aerated filter process. Waste Management 29,1354–1358; doi: 10.1016/j.wasman.2008.10.006.*
  - **WANG X., HAN J., CHEN Z., JIAN L., GU X., LIN C.J., (2012).** *Combined processes of two-stage Fenton-biological anaerobic filter–biological aerated filter for advanced treatment of landfill leachate. Waste Management 32 ,2401–2405; doi: 10.1016/ j.wasman.2012.06.022*
  - **WANG, Z., XUA, Y., JIAN ZHAO, J., LI, F., GAO, D., XING, B., (2011).** *Remediation of petroleum contaminated soils through composting and rhizosphere degradation. Journal of Hazardous Materials.190, 677– 685,doi: 10.1016/j.jhazmat.2011.03.103*
  - **WARD O.P., SINGH A. (2004).** *Evaluation of Current Soil Bioremediation Technologies, In Applied Bioremediation and phytoremediation. Soil Biology Volume 1. Ajay Singh and Owen P.Ward (eds). Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2004. pp,187-214.*
  - **WATKINSON R.J. (1980).** *Interaction of microorganisms with hydrocarbons, In: Hydrocarbons in Biotechnology, D. E. F. Harrison, I. J. Higgins and R. J. Watkinson (eds), Heyden, London, pp, 11- 24.*



- **WATKINSON R.J., MORGAN P.**, (1990). Physiology of aliphatic hydrocarbon-degrading microorganisms. Biodegradation, 1, 79-92.
- **WHYTE L. G., HAWARI J. , ZHOU E., BOURBONNIERE L., INNIS W. E., GREER C. W.**, (1998). *Biodegradation of Variable-Chain-Length Alkanes at Low Temperatures by a Psychrotrophic Rhodococcus sp* Applied and Environmental Microbiology, 64, 2578–2584.
- **WU R.J, CHEN C.C, CHEN M.H, LU C.S** (2009). *Titanium dioxide-mediated heterogeneous photocatalytic degradation of terbufos: Parameter study and reaction pathways*. Journal of Hazardous Materials 162,945–953; doi: 10.1016/j.jhazmat.2008.05.121.
- **WU R.R., DANG Z., YI X.Y., YANG C., LU G.N., GUO C.L., LIU C.Q.** (2011). *The effects of nutrient amendment on biodegradation and cytochrome P450 activity of an n-alkane degrading strain of Burkholderia sp. GS3C*. Journal of Hazardous Materials 186, 978–983;doi: 10.1016/j.jhazmat.2010.11.095.
- **WU T., CRAPPER M.** (2009). *Simulation of biopile processes using a hydraulics approach*. Journal of Hazardous Materials, 171, 1103-1111;doi: 10.1016/j.jhazmat.2009.06.131.
- **WU Y., ZHOU S., CHEN D., ZHAO R., LI G., LIN Y.**, (2011a). *Transformation of metals speciation in a combined landfill leachate treatment*. Science of the Total Environment. 409 1613–1620.
- **WU Y., ZHOU S., YE X., CHEN D., ZHENG K., QINA F.** (2011b). *Transformation of pollutants in landfill leachate treated by a combined sequence batch reactor, coagulation, Fenton oxidation and biological aerated filter technology*. Process Safety and Environmental Protection. 89, 112–120; doi.org/10.1016/j.psep.2010.10.005
- **XIA W.J., DONG H.P., L. YU, YU D.F.** (2011). *Comparative study of biosurfactant produced by microorganisms isolated from formation water of petroleum reservoir*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 392 124– 130. doi.org/10.1016/ j.colsurfa. 2011.09.044,
- **XIE B., LV Z., LV B.Y., GU Y.X.** (2010). *Treatment of mature landfill leachate by biofilters and Fenton oxidation*. Waste Management 30, 2108–2112; doi: 10.1016/ j.wasman.2010.06.018.
- **XIN B.P., WU C.H., WU C.H., LIN C.W.** (2012). *Bioaugmented remediation of high concentration BTEX-contaminated groundwater by permeable reactive barrier with immobilized bead*. Journal of Hazardous Materials 15,244-245, doi: 10.1016/ j.jhazmat.2012.11.007
- **XU R., OBBARD J.P.**, (2004). *Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in oil contaminated beach sediments treated with nutrient amendments*. Journal of EnvironmentalQuality, 33, 861-867.
- **YAHIA S.** (2010). *Traitement des perturbateurs endocriniens par un procédé intégré : Photocatalyse-Biodégradation*. Thèse de doctorat de l'Université de Rennes1 p.178.
- **YANG S.Z., JIN H.J., WEI Z., HE R.X., JI Y.J., LI X.M., YUS.P.** (2009). *Bioremediation of Oil Spills in Cold Environments: A Review* Pedosphere, 19, 371-381;doi.org/10.1016/S1002-0160(09)60128-4
- **YANO H, GARRUTO C.E., SOTA M, OHTSUBO Y, NAGATA Y, ZYLSTRA G.J., WILLIAMS P.A., TSUDA M.** (2007). *Complete Sequence Determination Combined with Analysis of Transposition/Site-specific Recombination Events to Explain Genetic Organization of IncP-7 TOL Plasmid pWW53 and Related Mobile Genetic Elements*. Journal Molecule Biology, 369, 11–26..

- **YESSICA G.P., A ALEJANDRO., RONALDO F.C., JUAN JOSE A., ESPERANZA M.R., JESUS SAMUEL C.S., MA. REMEDIOS M.L., ORMENO-ORRILLO E., (2013).** *Tolerance, growth and degradation of phenanthrene and benzo[a]pyrene by Rhizobium tropici CIAT 899 in liquid culture medium.* Applied Soil Ecology, 63, 105–111 ; doi:10.1016/j.apsoil.2012.09.010
- **YEUNG, P. Y., JOHNSON, R. L., XU, J. G., (1997).** *Biodégradation of pétroleum hydrocarbons in soil as affected by heating and forced aeration.* Journal of Environmental Quality 26, 1511-1516.
- **YIN H., QIANG J., JIA Y., YE J., PENG H., QIN H., ZHANG N., HE B. (2009).** *Characteristics of biosurfactant produced by Pseudomonas aeruginosa S6 isolated from oil-containing wastewater.* Process Biochemistry, 44, 302–308;doi.org/10.1016/j.procbio.2008.11.003
- **YOUSSEF N., SIMPSON D.R., MCINERNEY M.J., DUNCAN K.E. (2012).** *In-situ lipopeptide biosurfactant production by Bacillus strains correlates with improved oil recovery in two oil wells approaching their economic limit of production.* International Biodeterioration & Biodegradation, in press , http://dx.doi.org/10.1016/j.ibiod.2012.05.010
- **YU J., TAO R., YU K. (2012).** *Anaerobic biodegradation of benzene in salt marsh sediment of the Louisiana Gulf coast.* Ecological Engineering , 40, 6– 10;doi.org/10.1016/ j.ecoleng.2011.12.025.
- **YU S.H., KE L., WONG Y.S., TAM N.F.Y. (2005).** *Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHS) by a bacterial consortium enriched from mangrove sediments.* Environment International, 31, 149- 154.
- **YU Z., STEWART G.R., MOHN W. W. (2000).** *Apparent Contradiction: Psychrotolerant Bacteria from Hydrocarbon-Contaminated Arctic Tundra Soils That Degrade Diterpenoids Synthesized by Trees,* Applied and Environmental Microbiology, 66, 5148–5154.
- **ZAHED, M.A., AZIZ, H.A., ISA, M.H., MOHAJERI, L., (2010).** *Enhancement biodegradation of n-alkanes from crude oil contaminated seawater.* International Journal of Environment and Research 4, 655-664.
- **ZAHED, M.A., AZIZ, H.A., ISA, M.H., MOHAJERI, L., MOHAJERI, S., KUTTY, S.R.M., (2011).** *Kinetic modelling and half life study on bioremediation of crude oil dispersed by Corexit 9500.* Journal of Hazardous Materials 185, 1027-1031.
- **ZAVISKA F., DROGUI P., MERCIER G., BLAIS J.F. (2009).** *Procédés d'oxydation avancée dans le traitement des eaux et des effluents industriels : Application à la dégradation des polluants réfractaires.* Journal of Water Science, 22,535-564.
- **ZHANG B.Y., ZHENG J.S., SHARPR.G. (2010).** *Phytoremediation in Engineered Wetlands: Mechanisms and Applications.* Procedia Environmental Sciences, 2, 1315-1325
- **ZHANG H., RAN X., WU X., ZHANG D. (2011).** *Evaluation of electro-oxidation of biologically treated landfill leachate using response surface methodology.* Journal of Hazardous Materials 188, 261–268; doi: 10.1016/j.jhazmat.2011.01.097. .
- **ZHANG L., ZHANG C., CHENG Z., YAO Y., CHEN J. (2013).** *Biodegradation of benzene, toluene, ethylbenzene, and o-xylene by the bacterium Mycobacterium cosmeticum byf-4 .* Chemosphere, 90, 1340-1347; doi: 10.1016/j.chemosphere.2012.06.043.
- **ZHANG X.X., CHENG S.P., ZHU C.J., AND SUN S-L., (2006),** *Microbial PAH-Degradation in Soil: Degradation Pathways and Contributing Factors,* Pedosphere, 16(5): 555-565.

- **ZHAO G., PANG Y., LIU L, GAO J., LV B.,** (2010). *Highly efficient and energy-saving sectional treatment of landfill leachate with a synergistic system of biochemical treatment and electrochemical oxidation on a boron-doped diamond electrode.* Journal of Hazardous Materials. 179, 1078–1083;doi: 10.1016/j.jhazmat.2010.03.115.
- **ZHONG Y., T. LUAN, LIN L., LIU H., TAM N.F.Y.** (2011). *Production of metabolites in the biodegradation of phenanthrene, fluoranthene and pyrene by the mixed culture of Mycobacterium sp. and Sphingomonas sp .* Bioresource Technology 102,2965–2972, doi: 10.1016/j.biortech.2010.09.113..
- **ZHOU M.H., FU W.J., GU H.Y., LEI L.C.** (2007). *Nitrate removal from groundwater by a novel three-dimensional electrode biofilm reactor.* ElectrochimicaActa. 52, 6052–6059.
- **ZYLSTRA G.J., GIBSON D.T.** (1989). *Toluene Degradation by Pseudomonas putida F1 Nucleotide Sequence of The TodC1C2BADE Genes and their Expression In Escherichia Coli.* The Journal of Biological Chemistry, 264, 14940-14946.

**Autres références électroniques consultées et citées :**

- <http://rhodia-eco-services.com/>
- <http://strategis.ic.gc.ca/>
- <http://www.biorem.net/>
- <http://www.bordeaux.inra.fr/>
- <http://www.enviroaccess.ca/>
- <http://www.kluyver.stm.tudelft.nl/efb/home.htm>
- <http://www.mine.pollution.sols.free.fr/Eipr/>



الهدف من هذه الدراسة الرئيسي هو اختبار فعالية عملية الأكسدة المتقدمة من خلال تحفيز ضوئي غير المتجانسة ( $TiO_2/UV$ ) على السوائل المرتشحة من مفرغة واد سمار (الموجود في الجزائر العاصمة). وأظهرت تحليلات لهذه العصارة على التلوث العضوي العالي الغير قابل للتحلل. العلاقة بين  $BOD^5/COD$  منخفضة تتراوح ما بين 0.045 و 0.18. والنتائج التي تم الحصول عليها بعد تحفيز ضوئي غير المتجانسة مذهشة، وسجلت انخفاضا قدره 92% من COD في وسط درجة حموضته 5. في المقابل، فإن تركيز  $NH_4^+$  مستقر في هذه الحموضة. نتائج نموذج حركية تحلل الضوئي تشير إلى أن رد فعل النظام هو 0 ومستقلة من العبء الملوثات.

الهدف من دراستنا هو استصلاح التربة الملوثة بوقود الديزل باستعمال تقنية بيولوجية (بيوبيل) ودراسة عن قرب سبل الايض الميكروبية التي ترافق التحلل البيولوجي للمواد الهيدروكربونية. لقد تمكنا من استصلاح التربة الملوثة بديزل باستخدام تقنية بيوبيل حيث المبدأ هو تحسين ظروف التحلل البيولوجي للملوثات في التربة بعد الحفر (خارج الموقع). في الواقع، تمكنا بعد 40 يوما من إزالة التلوث ب 70% على مستوى المخبر. الكائنات الحية الدقيقة المسؤولة عن التحلل البيولوجي هي في الغالب من السكان البكتيرية، لاحظنا التأزر بين الخمائر والبكتيريا لتحليل الديزل، والمعروفة بظاهرة الايض المشترك. نقترح مقارنة جديدة في تفسير نتائج التحليل الميكروبيولوجي لفهم أفضل لسلوك الكائنات الحية الدقيقة في التحلل البيولوجي للمواد الهيدروكربونية في خلية بيوبيل.

**كلمات البحث:** تصريف العصارة، تحفيز ضوئي غير المتجانسة ( $TiO_2/UV$ )، COD، والنموذجية. / تلوث التربة / الأيض الجرثومي / بكتيريا / بيوبيل / استصلاح التربة / الايض المشترك / الخمائر /

## Résumé

Ce mémoire de thèse comporte deux volets, le premier volet consiste à l'étude de biorestauration d'un sol contaminé par du gasoil à l'aide d'un procédé biologique et de suivre le métabolisme microbien qui accompagne la biodégradation des hydrocarbures. Nous avons pu restaurer le sol à l'aide de la technique de la biopile dont le principe consiste à optimiser les conditions de biodégradation du contaminant dans le sol après excavation (ex-situ). En effet, au bout de 40 jours nous avons obtenu une décontamination de l'ordre de 70%. Une nouvelle approche est proposée dans l'interprétation des résultats de l'analyse microbiologique afin de mieux comprendre le comportement des microorganismes dans la biodégradation des hydrocarbures dans une biopile

Le deuxième volet de cette étude concerne l'étude du traitement des lixiviats de la décharge d'Oued Smar par photocatalyse hétérogène ( $TiO_2/UV$ ). Ces lixiviats ont montré une forte pollution organique difficilement biodégradable, le rapport  $DBO_5/DCO$  est faible et varie entre 0.045 et 0.18. Les résultats obtenus après photocatalyse hétérogène sont pertinents, une diminution de 92% de la DCO initiale a été enregistrée à pH maintenu à 5. En revanche, la concentration en  $NH_4^+$  est restée stable à ce pH.

**Mots clés :** lixiviat, photocatalyse hétérogène ( $TiO_2/UV$ ), DCO, modélisation biorestauration, biopile, bactérie, levure, biodégradation des hydrocarbures.

## Abstract

This thesis consists of two parts; the first part of this memory is the study of bioremediation of soil contaminated with diesel fuel with a biological process and monitor microbial metabolism that accompanies biodegradation of hydrocarbons. We were able to restore a diesel contaminated soil using the technique biopile whose principle is to optimize the conditions for biodegradation of contaminants in the soil after excavation (ex-situ). Indeed, after 40 days we got decontamination of the order of 70%. A new approach is proposed in interpreting the results of the microbiological analysis to better understand the behavior of microorganisms in the biodegradation of hydrocarbons in a biofuel cell

The second part involves the study of the treatment of leachate from the landfill of Oued Smar by heterogeneous photocatalysis ( $TiO_2/UV$ ). These leachates showed a strong organic pollution readily biodegradable, the  $BOD_5/DCO$  is low and varies between 0.045 and 0.18. The results obtained after heterogeneous photocatalysis are relevant, a decrease of 92% of the initial COD was recorded at pH maintained at 5. In contrast the concentration of  $NH_4^+$  is stable at this pH.

**Keywords:** landfill leachate, heterogeneous photocatalysis ( $TiO_2/UV$ ), modeling, Bioremediation, Biopile, Bacteria, Yeast, Hydrocarbons biodegradation.