

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



**ECOLE NATIONALE SUPERIEURE POLYTECHNIQUE**  
**DEPARTEMENT GENIE DE L'ENVIRONNEMENT**

PROJET DE FIN D'ETUDES

**Bioremédiation d'un sol pollué par  
le gasoil sous des conditions  
aérobies**

Présenté par :

**Mr. BOUKOUCHA Ammar.**

**Mr. DJERRAH Abdelouhab.**

*Soutenus le 08 juillet devant le jury :*

Présidente :	<b>M<sup>me</sup> N. BELHANECHÉ</b>	<b>Professeur (ENSP).</b>
Examineurs :	<b>Mr H. GRIB</b>	<b>Maître de conférences (ENSP).</b>
	<b>M<sup>elle</sup> A. CHEIKH</b>	<b>Maître de conférences (UMMTO).</b>
Directrice de projet :	<b>M<sup>elle</sup> J. ARRAR</b>	<b>Maître de conférence (ENSP).</b>

*Année universitaire 2008/2009*

## **Remerciements**

*Le présent travail a été réalisé au laboratoire de pédagogie du département de génie de l'environnement de l'Ecole Nationale Supérieure Polytechnique. Durant cette période on a côtoyé plusieurs personnes qui ont participé de près ou de loin à l'aboutissement de ce travail.*

*On exprime toute nos reconnaissances et nos gratitude à mademoiselle **Arrar. J.**, maitre de conférences à l'Ecole Nationale Supérieur Polytechnique d'Alger qui nous a guidé tout le long de ce projet de fin d'études. On ne saurait jamais la remercier assez d'avoir mis à notre disposition son savoir et sa patience.*

*On remercie également madame **Belhaneche. N.**, professeur à l'Ecole Nationale Supérieur Polytechnique qui nous a accompagné durant trois ans de cursus avec son savoir et sa modestie. On ne trouve pas de mots pour qualifier cette étoile qui nous a fait l'honneur de présider l'honorable jury.*

*On remercie les membres du jury qui nous ont fait l'honneur d'examiner ce modeste travail, monsieur **Grib. H.**, maitre de conférences à l'Ecole Nationale Supérieur Polytechnique, mademoiselle **Cheikh. A.**, maitre de conférences à l'université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou.*

*Nos remerciements s'adressent aussi à tous les enseignants de l'Ecole, en particulier nos enseignants.*

*On ne saurait terminer, sans oublier de remercier nos parents, nos frères, nos sœurs, nos amis et tous ceux qui nous ont encouragé et supporté tout au long de ce travail.*

## **LISTE DES FIGURES**

<b>Figure III.1</b>	: Evolution de la biomasse au cours du temps pour les différents rapports C/N/P et pour les différents taux d'humidité.....	32
<b>Figure III.2.a</b>	: Evolution temporelle de la matière sèche dans les différents microcosmes.....	34
<b>Figure III.2.b</b>	: Evolution du nombre des micro-organismes en fonction de la matière sèche .....	35
<b>Figure III.3</b>	: Evolution du nombre des micro-organismes allochtones en fonction du temps à des différents rapports C/N/P et différents taux d'humidité..	36
<b>Figure III.4</b>	: Evolution de la biomasse au cours du temps à des différents taux d'humidité et différents rapports.....	40
<b>Figure III.5</b>	: Evolution temporelle de la biomasse dans le bioréacteur pour les deux sols.....	42
<b>Figure III.6</b>	: Rendement d'élimination de gasoil aux cours du temps.....	43
<b>Figure III.7</b>	: Evolution de $\ln ([HC]_0 / [HC])$ en fonction du temps.....	45
<b>Figure III.8</b>	: Variation de $\ln ([HC]_0 / [HC])$ en fonction du $(t/m)$ .....	47
<b>Figure III.9</b>	: Evolution temporelle de la concentration du gasoil pour les différentes approche théoriques.....	48

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I.1</b>	: Rapports C/N/P recommandés .....	14
<b>Tableau III.1</b>	: Caractéristiques physiques des sols.....	29
<b>Tableau III.2</b>	: La caractérisation physico-chimique.....	30
<b>Tableau III.3</b>	: Taux de croissance maximal-Sol1 .....	37
<b>Tableau III.3.a</b>	: Taux de croissance bactérienne relatifs aux vitesses d'aération.....	37
<b>Tableau III.4</b>	: Les teneurs des nutriments après traitement.....	38
<b>Tableau III.5</b>	: Rendement d'élimination du gasoil-Sol1.....	38
<b>Tableau III.6</b>	: Taux de croissance maximal-Sol2.....	41
<b>Tableau III.7</b>	: Taux d'élimination du gasoil-Sol2.....	42
<b>Tableau III.8</b>	: Les constantes de vitesse de dégradation du gasoil.....	45
<b>Tableau III.9</b>	: Comparaison des constantes cinétiques de biodégradation du gasoil et des n- alcanes étudiés.....	46

# Sommaire

**RESUME**

**NOMENCLATURE**

**INTRODUCTION GENERALE.....1**

**CHAPITRE I : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES**

**I.1. Hydrocarbures .....3**

I.1.1. Classification des hydrocarbures.....3

a- Hydrocarbures aliphatiques saturés.....3

b- Hydrocarbures aliphatiques insaturés.....3

c- Hydrocarbures aromatiques.....3

I.1.2. Gasoil.....4

**I.2. Sol.....4**

I.2.1. Composition du sol.....4

I.2.1.1. Constituants inertes.....4

a- Constituants minéraux.....4

b- Constituants organiques.....5

c- Solution du sol.....5

d- Atmosphère du sol.....5

I.2.1.2. Etres vivants du sol .....6

a- Faune et flore.....6

b- Micro-organismes.....6

I.2.2. Propriétés du sol.....6

a- Texture.....6

b- Structure.....7

c- Porosité.....7

d- Capacité de rétention d'eau.....7

e- pH .....	7
f- Potentiel rédox.....	8
I.2.3. Pollution du sol.....	8
I.2.3.1. Définition et origines.....	8
I.2.3.2. Types de pollution .....	8
a- Pollution ponctuelle ou accidentelle.....	8
b- Pollution diffuse.....	9
I.2.3.3. Risques éventuels sur l'environnement .....	9
<b>I.3. Biodégradation des hydrocarbures .....</b>	<b>9</b>
I.3.1. Biodégradation du gasoil.....	9
I.3.2. Facteurs influençant la biodégradation .....	10
a- pH. ....	10
b- Température.....	10
c- Oxygène.....	11
d- Humidité.....	12
e- Nutriments.....	12
<b>I.4. Dépollution des sols.....</b>	<b>14</b>
I. 4.1. Procédés physiques par évacuation de la pollution.....	14
I.4.2. Procédés physiques par piégeage de la pollution.....	14
I.4.3. Procédés chimiques ou électrochimiques.....	14
I.4.4. Procédés thermiques.....	15
I.4.5. Procédés biologiques .....	15
I.4.5.1. Bioremédiation.....	15
a- Atténuation naturelle .....	16
b- Biostimulation .....	16
c- Bioaugmentaion .....	16
I.4.5.2. Applications in situ.....	17
a- Biosparging et bioventing.....	17
b- Phytoremédiation.....	17
I.4.5.3. Applications ex situ.....	17

a- Land farming.....	18
b- Compostage.....	18
c- Biopiles.....	18
d- Bioréacteurs.....	19
1- Bioréacteurs à boues activées.....	19
2- Bioréacteurs en phase solide.....	19

## **CHAPITRE II : INSTALLATION EXPERIMENTALE ET METHODES DE MESURES**

<b>II.1. Microcosmes.....</b>	<b>21</b>
<b>II.2. Bioréacteur.....</b>	<b>21</b>
<b>II.3. Caractéristiques du sol.....</b>	<b>22</b>
II.3.1. Caractéristiques physico-chimiques.....	22
II.3.1.1. Granulométrie.....	22
II.3.1.2. Masse volumique.....	23
II.3.1.3. pH. ....	24
II.3.1.4. Humidité.....	24
II.3.1.5. Matière organique ....	24
II.3.2. Analyse bactériologique du sol.....	25
II.3.2.1. Méthode des dilutions.....	25
II.3.2.2. Méthode gravimétrique.....	25
<b>II.4. Dosage des nutriments.....</b>	<b>26</b>
II.4.1. Nitrites.....	26
II.4.2. Nitrates.....	26
II.4.3. Azote ammoniacale.....	26
II.4.4. Phosphore.....	26
<b>II.5. Carbone organique.....</b>	<b>27</b>
<b>II.6. Hydrocarbures de sol.....</b>	<b>27</b>

<b>II.7. Densité du gasoil.....</b>	<b>27</b>
-------------------------------------	-----------

## **CHAPITRE III : RESULTATS EXPERIMENTAUX ET DISCUSSIONS**

<b>III.1. Etude de sol.....</b>	<b>28</b>
---------------------------------	-----------

III.1.1. Prélèvement de sol.....	28
----------------------------------	----

III.1.2. Caractéristiques physiques des sols.....	28
---	----

III.1.3. Caractéristiques physico-chimiques .....	29
---	----

III.1.4. Analyse bactériologique .....	30
--	----

<b>III.2. Traitement biologique dans des microcosmes.....</b>	<b>30</b>
---	-----------

III.2.1. Sol 1.....	30
---------------------	----

III.2.1.1. Evolution des micro-organismes.....	31
--	----

a- Courbe de croissance bactérienne.....	31
--	----

b- Le taux de croissance $\mu_{\max}$ .....	36
---	----

III.2.1.2. Dosage des nutriments après traitement .....	37
---	----

III.2.1.3. Rendement d'élimination des hydrocarbures totaux du gasoil.....	38
--	----

III.2.2. Sol 2 .....	39
----------------------	----

III.2.2.1. Evolution de la biomasse .....	39
---	----

III.2.2.2. Taux de croissance.....	41
------------------------------------	----

III.2.2.3. Rendement d'élimination des hydrocarbures.....	41
---	----

III.2.3. Bioréacteur aéré.....	42
--------------------------------	----

III.2.3.1. Evolution de la biomasse au cours du temps. ....	42
---	----

III.2.3.2. Evolution de rendement d'élimination du gasoil.....	43
--	----

III.2.3.3. Cinétique de dégradation du gasoil.....	44
--	----

III.2.3.3.1. La réaction de dégradation et la constante de vitesse.....	44
---	----

a- Influence de la biomasse.....	46
----------------------------------	----

b- Influence de la fraction labile du gasoil.....	47
---	----

<b>CONCLUSION GENERALE.....</b>	<b>50</b>
---------------------------------	-----------

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

## **ANNEXES**

- A.I.** : Analyse granulométrique du solide
- A.II.** : Détermination de la masse volumique du solide et du polluant
- A.III.** : Dosage des nutriments
- A.IV.** : Taux de croissance maximum

## NOMENCLATURE

### LETTERES LATINES

C	: Différentes concentrations de la gamme étalon de la courbe d'étalonnage...mg/l
CO	: Carbone organique .....(%)
$d_a$	: Diamètre arithmétique..... $\mu\text{m}$
$d_h$	: Diamètre harmonique..... $\mu\text{m}$
$d_s$	: Diamètre de surface..... $\mu\text{m}$
$d_v$	: Diamètre de volume..... $\mu\text{m}$
$d_p$	: Diamètre moyen des particules ..... $\mu\text{m}$
[HC]	: Concentration résiduelle du gasoil .....g/kg
[HC] <sub>0</sub>	: Concentration initiale du gasoil.....g/kg
Hu	: Taux d'humidité (kg eau/kg de matière humide) ..... (%)
$K_1$	: Constants de la vitesse de dégradation du gasoil pour le sol 1.....( $\text{j}^{-1}$ )
$K_2$	: Constants de la vitesse de dégradation du gasoil pour le sol 2.....( $\text{j}^{-1}$ )
$K'_1$	: Constante de la cinétique en tenant compte de la masse microbienne..... ( $\text{j}^{-1}$ ) pour le sol 1
$k'_2$	: Constante de la cinétique en tenant compte de la masse microbienne..... ( $\text{j}^{-1}$ ) pour le sol 1
$m_{\text{ex}}$	: La masse d'eau en excès.....g
$m_p$	: La masse de l'eau dans les ports.....g
$m_t$	: La masse totale.....g
MO	: Matière organique (kg de MO/ kg de solide. ....(%)
$[\text{NH}_4^+]$	: Azote ammoniacal.....mg/g
$[\text{NO}^{-2}]$	: Azote nitrique .....mg/g
$[\text{NO}^{-3}]$	: Azote nitreux .....mg/g
$[\text{PO}_4^{-3}]$	: Orthophosphate .....mg/g
t	: Temps..... j
T	: Température .....°C
V	: Vitesse de la réaction de dégradation du gasoil
$v_p$	: Volume de l'eau dans les ports .....mL
$v_s$	: Volume du solide.....mL
$v_t$	: Volume total .....mL
X	: Nombre de bactérie .....ufc/g
$X_0$	: Nombre initial de bactérie.....ufc/g
(Y-X)	: volum de sel de mohr qui a servi à réduire le volume de .....mL Bichromates de potassium qui a oxydé le carbone organique

### LETTRES GRECQUES

$\alpha$	: fraction des hydrocarbures facilement dégradables du gasoil
$\varepsilon$	: Porosité du solide
$\mu_{\text{max}}$	: Taux de croissance maximum..... $\text{j}^{-1}$
$\rho_g$	: Masse volumique du gasoil..... $\text{g}/\text{cm}^3$
$\rho$	: Masse volumique des particules solides..... g/cm

## **ABREVIATIONS**

- ATP : Adénosine triphosphate
- BTEX : Benzène, Toluène, Ethylbenzène, Xylène
- EPA : Environmental Protection Agency,
- HAP : hydrocarbures aromatiques polycycliques
- TPH : hydrocarbures totaux de pétrole

INTRODUCTION  
GENERALE

## INTRODUCTION GENERALE

Le sol est un milieu complexe, il se rapporte à la couche extérieure de la surface terrestre qui s'est fragmentée par altération au cours des âges. Il s'est formé initialement par désintégration et décomposition des roches suivant des processus physiques et chimiques et est influencé par l'activité et l'accumulation des résidus de nombreuses espèces biologiques. Il constitue le support physique, chimique et biologique de la production primaire des écosystèmes terrestres et a une influence considérable sur le transfert des polluants organiques et minéraux, leur rétention et leur transformation. La dégradation des sols, soit au travers de l'érosion, soit de l'altération des propriétés physico-chimiques (contraction, salinisation, pollution) a pris de l'ampleur ces dernières années et suscite un intérêt grandissant pour une conservation des sols à l'échelle mondiale [55].

La pollution des sols par les hydrocarbures pose d'importants problèmes d'élimination. En effet, parmi les grandes industries polluantes, celle du pétrole, de l'exploitation au transport, constitue la source la plus importante de contamination des sols, des eaux souterraines et de surface.

Les voies d'élimination chimique et physique ont leurs limites du fait de leur coût ou de leur impact secondaire sur l'environnement. A l'heure actuelle, la principale méthode de décontamination consiste à faire confiance aux micro-organismes naturellement présents dans le milieu pour dégrader les hydrocarbures. Les micro-organismes sont capables d'atteindre les composés organiques quelque soit leur localisation dans la matrice des sols, car ils possèdent des systèmes enzymatiques exocellulaires et intracellulaires. Ainsi le procédé biologique de décontamination du sol est basé sur la capacité de ces microorganismes à utiliser les polluants organiques comme substrat pour leur croissance. Ce processus de biodégradation naturelle est généralement accéléré en procurant aux bactéries un environnement favorable pour leur développement. Un intérêt particulier est porté sur le développement des techniques biologiques mises en œuvre hors site étant donné qu'elles offrent une solution économique bien adaptée au traitement de grands volumes de sols souillés par une pollution organique moyennement concentrée. A ce niveau, les bioréacteurs interviennent comme une alternative envisageable.

Les bioréacteurs apparaissent à travers la littérature plus efficace que les autres techniques (in situ et sur site). Cependant, cette dernière est encore au stade de développement, et des recherches sont en cours pour optimiser son efficacité et son coût dans le cadre d'une utilisation routinière [3].

Le mémoire comprend essentiellement trois chapitres. Le premier chapitre sera consacré à une revue bibliographique regroupant les études antérieures sur les principaux phénomènes liés à notre thème.

Dans le deuxième chapitre, nous avons présenté l'installation expérimentale utilisée au cours de cette étude, les méthodes de mesures des différents paramètres étudiés.

Les résultats expérimentaux ont fait l'objet du troisième chapitre où des essais sont menés dans les microcosmes et le bioréacteur gaz-solide et ont permis de suivre l'évolution de la biomasse et de la concentration réduite des hydrocarbures en fonction du temps ainsi que les différents paramètres de pollution (azote ammoniacal, nitrites, nitrates et phosphore).

CHAPITRE I  
DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

## CHAPITRE I

### REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

De grands problèmes de pollution sur l'environnement et en particulier sur le sol ont été créés par des déversements accidentels ou volontaires des polluants tels les PCB, les métaux lourds, les pesticides (utilisation intensive), ...etc. Et à un degré plus élevé, les hydrocarbures. Ces derniers sont considérés comme étant plus toxiques.

#### I.1. Hydrocarbures

Les hydrocarbures sont des composés organiques constitués essentiellement de carbone et d'hydrogène. Ils présentent une grande importance commerciale : on les utilise comme carburants, comme combustibles, comme huiles lubrifiantes et comme produits de base en synthèse pétrochimique.

##### I.1.1. Classification des hydrocarbures

On distingue trois grandes catégories d'hydrocarbures :

###### a- Hydrocarbures aliphatiques saturés

Ce sont des molécules linéaires ou ramifiées à longues chaînes. On distingue les alcanes linéaires de formule générale  $C_nH_{2n+2}$ , qui sont facilement dégradables. Contrairement aux alcanes linéaires, les alcanes ramifiés (isoalcanes) se caractérisent par des branchements qui les rendent résistants à la dégradation.

###### b- Hydrocarbures aliphatiques insaturés

Les alcènes, composés issus principalement du craquage du pétrole, ont pour formule générale  $C_nH_{2n}$ . Les molécules contiennent une seule double liaison  $C=C$ . Les alcynes constituent la troisième grande famille d'hydrocarbures aliphatiques. Ils ont pour formule générale  $C_nH_{2n-2}$  ; une molécule d'alcyne contient une triple liaison  $C\equiv C$ .

###### c- Hydrocarbures aromatiques

Un hydrocarbure aromatique est une substance dont les molécules possèdent un cycle insaturé à 6 atomes de carbone. On distingue, les aromatiques simples (benzène, toluène,

éthyl-benzène et xylène (BTEX)) et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) qui ont été inscrits en 1976 dans la liste des polluants prioritaires établie par l'Agence de protection de l'environnement des Etats-Unis (EPA) [1, 2, 3].

### **I.1.2. Gasoil**

C'est l'un des principaux produits de distillation du pétrole brut. Il est composé d'hydrocarbures saturés (n-alcanes, naphènes) à plus de 60% et de composés aromatiques entre 10 et 30% selon l'origine. C'est un produit jaune clair, légèrement visqueux, distillé habituellement entre 190°C et 300°C et utilisé comme combustible dans les moteurs Diesels rapides [4].

Le gasoil est soumis à des contraintes qui lui sont spécifiées. Sa densité par exemple ne doit pas trop s'écarter d'une valeur moyenne fixée à 0,850 car dans le cas contraire il résulterait un mauvais fonctionnement des moteurs. Les principales caractéristiques de gasoil sont [5] :

- La densité à 15,5°C :  $0,820 < d < 0,860$  ;
- Teneur en soufre  $\leq 0,9$  % en poids ;
- Teneur en eau  $\leq 0,9$  % en poids ;
- Acidité minérale est nulle.

## **I.2. Sol**

Le sol représente la couche superficielle, meuble, de la croûte terrestre. C'est un complexe organo-minéral résultant de la transformation de la roche mère enrichie par des apports organiques [6].

### **I.2.1. Composition du sol**

#### **I.2.1.1. Constituants inertes**

##### **a) Constituants minéraux**

Les constituants minéraux du sol sont soit primaires, hérités directement de la roche mère, soit secondaires issus de la transformation physique et/ou chimique des précédents. Ce

complexe final résultant comporte des sels (des carbonates de calcium ou de magnésium), des silicates (micas), et des colloïdes comme les hydroxydes de fer ou d'aluminium. Ainsi, ils confèrent au sol une texture et une structure étroitement liées à la répartition de la taille des grains [6].

#### **b) Constituants organiques**

La mort des êtres vivants, leurs déchets et leurs sécrétions apportent au sol sa matière organique qualifiée de fraîche avant qu'elle ne se transforme en humus, les fractions organiques qui coexistent sont :

- Matières organiques fraîches ;
- Des macromolécules héritées ;
- Les matières organiques héritées ;
- Les matières organiques humifiées [6].

#### **c) Solution du sol**

Très mobile, la fraction liquide du sol est un carrefour fonctionnel, grâce à sa capacité de transporter les substances ; elle est le siège de nombreux processus dont celui de solubilisation. La teneur globale en eau d'un sol est soumise à des changements rapides, fonction des précipitations, de l'évapotranspiration et des remontées capillaires et de la texture du sol. En outre, une eau libre de nappe a souvent des qualités chimiques différentes de celles d'une eau retenue [6].

#### **d) Atmosphère du sol**

Dans le sol, l'air occupe les pores libres abandonnés par l'eau lors de son retrait, d'abord les plus grossiers puis les plus fins. La quantité de gaz dans le sol est étroitement lié à la texture, la structure et le taux d'humidité du sol, mais également des échanges avec l'atmosphère extérieure. La production moyenne de gaz carbonique dans le sol est estimée à 15t/hectare, les deux tiers issus de l'activité microbienne [6].

### **I.2.1.2. Etres vivants**

#### **a) Faune et flore**

Elle représente l'ensemble des organismes vivants tels les vers de terre, les arthropodes et les différents types de plantes qui jouent un rôle très importants dans :

- Amélioration de la porosité ;
- Mélangeage des granulats et construction d'agrégats stables ;
- Remontée en surface d'éléments lessivés [6].

#### **b) Micro-organismes**

On trouve des bactéries, des protozoaires, des champignons, d'actinomycètes, ... etc. Leur principal rôle est la dégradation de la matière organique sous des conditions environnementales adéquates [6].

### **I.2.2. Propriétés du sol**

Les constituants du sol interagissent pour lui conférer ses propriétés. Leurs proportions, leurs variabilités spatio-temporelles, la vitesse des flux qui les relient influencent le fonctionnement du système [6].

#### **a- Texture**

La texture d'un sol est son pourcentage en sables grossiers et fins, en limon en argile, en humus et en calcaire. Elle se mesure par l'analyse granulométrie. En fait, les blocs (>20 cm), les cailloux (de 20 à 2 cm), les graviers (de 2 cm à 2 mm) sont exclus de l'analyse qui ne prend en compte que la fraction inférieur à 2mm (terre fine) :

- Les sables fins : de 2 mm à 50  $\mu\text{m}$  ;
- Les limons : de 50  $\mu\text{m}$  à 2  $\mu\text{m}$  ;
- La fraction argileuse : < à 2  $\mu\text{m}$ .

Elle conditionne directement la structure du sol et donc la porosité et le régime hydrique [6].

## **b- Structure**

C'est l'état du sol, variant à court terme, par exemple selon la saison. Elle dépend directement de la texture et aussi des fines particules (argiles, colloïdes,...etc.), du taux d'humidité et dans une large mesure de l'activité de faune. On distingue la macrostructure et la microstructure. Des changements affectant la structure du sol modifient la circulation de l'eau, très rapide dans les structures particulières et grossières, moyenne dans les formes grumeleuse et presque nulle en cas de forte compaction [6].

## **c- Porosité**

Les vides du sol sont occupés en majeure partie soit par l'eau, soit par l'air, leur ensemble représente la porosité, cette dernière donne une bonne idée de l'état structurale du sol, on distingue [6] :

- la macroporosité ;
- la méso porosité ;
- la microporosité.

La porosité renseigne sur la capacité hydrique ou atmosphérique d'un sol, en volume ou en flux [6].

## **d- Capacité de rétention d'eau**

Elle dépend directement des trois propriétés précédentes. La quantité totale de l'eau retenue par le sol est la différence de poids d'un échantillon avant et après dessiccation à 105°C. Elle permet de calculer le taux d'humidité pondéral qui ne comprend pas l'eau fixée par les argiles qui doit être évaporée à 500°C.

Le taux d'humidité est en réalité pauvre en renseignement écologiques en raison de son extrême sensibilité à la précipitation, au drainage, ou au couvert végétal [6].

## **e- pH**

Les valeurs du pH du sol sont déterminantes quand à l'activité des micro-organismes et à leur sélection. Certains sont prédominants à des pH bas, tels que les fungis qui sont très tolé-

rants à l'acidité alors que d'autres sont actifs à des pH élevés tels que les actinomycètes. Le pH du sol est également important pour la solubilité des éléments nutritifs et leurs biodisponibilités [6]. En effet, tous les auteurs s'accordent sur la nécessité de maintenir un pH supérieur à 6,5 pour permettre la biodégradation des hydrocarbures.

#### **f- Potentiel redox**

Il est réparti en quatre domaines selon [6] :

- de 800 à 450 mv : L'oxygène est fortement présent et la nitrification est active ;
- de 450 à 0 mv : Le milieu devient pauvre en oxygène, ce qui ralentit la décomposition de la matière organique ;
- de 0 à -200 mv : Le milieu est anoxique, la matière organique se décompose par fermentation anaérobie et les sels ferreux s'accumulent ;
- de -200 à -300 mv : La réduction de sulfure d'hydrogène est totale, la matière organique fermente avec dégagement de méthane.

### **I.2.3. Pollution des sols**

#### **I.2.3.1. Définition et origines**

La pollution est la contamination de l'air, de l'eau ou du sol par des substances qui altèrent le fonctionnement naturel des écosystèmes, ainsi que la qualité de vie et la santé humaines. Les polluants organiques des sols proviennent principalement de trois ensembles d'activités : industrielles (l'industrie pétrochimique, la fabrication des peintures, etc.), urbaines (le secteur de transport, la gestion et le traitement des déchets, etc.), et agricoles (utilisation des pesticides) [7].

#### **I.2.3.2. Types de pollution**

En fonction du mode d'apports des polluants au sol et de leur occupation de l'espace, on distingue :

##### **a) Pollution ponctuelle ou accidentelle**

Elle se caractérise par des déversements très localisés (pollution localisée), dans l'espace et dans le temps, d'un nombre limité de produits à des concentrations élevées.

## b) Pollution diffuse

Elle implique des polluants à faibles concentrations sur de grandes surfaces. C'est le cas par exemple de la pollution des sols par les polychlorobiphényles (PCB) et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) provenant de dépôts atmosphériques ou des pollutions dues aux pesticides lors de leur usage agricole.

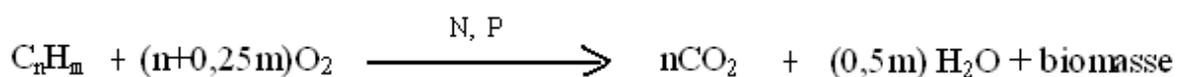
### I.2.3.3. Risques éventuels sur l'environnement

Un sol pollué représente trois types de risques environnementaux:

- Mise en contact direct des polluants avec l'occupant du sol (Hommes, animaux, plantes, etc.) ;
- Acheminement des polluants par les eaux d'infiltration ou de ruissèlement vers les eaux souterraines et/ou superficielles ;
- L'introduction des polluants dans la chaîne alimentaire par les végétaux et les organismes vivants du sol [8].

## I.3. Biodégradation des hydrocarbures

Certains organismes peuvent utiliser les hydrocarbures comme source de carbone. La biodégradation des composés organiques se produit en condition aérobie ou anaérobie selon la structure moléculaire et les conditions environnementales. on peut résumer ce processus dans cette équation :



Le potentiel de biodégradation permet de classer les composés en trois catégories [9] :

- les composés dégradables ;
- les composés persistants qui ne changent pas d'état spontanément ;
- les composés récalcitrants.

### I.3.1. Biodégradation du gasoil

Les différentes compositions du gasoil en classes structurales d'hydrocarbures selon son origine expliquent les taux de dégradation variables. En effet, le taux de biodégradation

peut être proche de 100% lorsque les alcanes linéaires sont abondants.

C'est ainsi que le taux de biodégradation varie entre 60% et 73% selon **Marchal et coll.** (2003) [10] et varie entre 70% et 90% selon **Vandecasteele et coll.** (2001) [11].

**Brinkmann et coll.** (1998) [12] ont observé qu'à la fin d'un traitement biologique, les *n- alcanes* sont complètement éliminés alors que la concentration des molécules lourdes est considérablement réduite. De même **Ghazali et coll.** (2003) [10] ont constaté que 67 à 98% d'une fraction du gasoil (C15 – C22) est oxydée après 30 jours de traitement.

Selon **Fotinich et coll.** (1999) [13], l'augmentation du débit d'air ou de la température augmente considérablement le processus de dégradation biologique du gasoil.

Par ailleurs **Berry et Burton.** (1997) [14] ont obtenu une atténuation complète du gasoil au bout de 74 jours.

### **I.3.2. Facteurs influençant la biodégradation**

De nombreux paramètres influent sur l'efficacité des procédés de traitements biologiques et sont à contrôler tels :

#### **a- pH**

L'activité microbienne est largement affectée par le pH. Il doit se situer entre 5 et 9 avec un optimum aux alentours de 7 [15]. Si le pH est acide, il peut favoriser la solubilisation des métaux lourds qui sont très toxiques pour les bactéries [16].

**Dibble et Bartha.** (1979) [17] ont mis en évidence que la dégradation des hydrocarbures est maximale pour des pH compris entre 7,5 et 7,8 et est inhibée pour des valeurs inférieures. Une telle préférence de pH est spécifique ou typique des bactéries tandis que les mycètes sont plus tolérants aux conditions de pH.

#### **b- Température**

Elle influence profondément la multiplication cellulaire et le métabolisme microbien. Les températures optimales de la croissance et de l'activité des réactions biochimiques des micro-organismes du sol varient considérablement suivant les espèces. Selon la température optimale de développement, on distingue : les microorganismes psychrophiles (0 – 15°C) ; les micro-organismes mésophiles (20 - 40°C) et les micro-organismes thermophiles qui se multiplient préférentiellement entre 45 et 60°C [18].

Le métabolisme microbien et la biodégradation des composés organiques augmentent

avec l'augmentation de la température [19, 20, 21].

**Coulon et coll.** (2003) [22] observent que l'augmentation de la température (4°C - 20°C) ne semble pas avoir un effet marqué sur l'abondance des micro-organismes totaux et hétérotrophes mais induit une légère augmentation des micro-organismes spécifiques de la dégradation des hydrocarbures.

Dans le cas particulier des mésophiles, la vitesse de biodégradation est dédoublée pour une augmentation de 10°C, dans la gamme de température non inhibitrice de la croissance de 10 à 40°C [20, 21, 23].

**Gray et coll.** (2000) [24] observent que l'augmentation de la température de 21°C à 30°C accélère la cinétique initiale d'enlèvement des hydrocarbures mais le taux d'enlèvement ultime reste inchangé. Cela suggère que c'est le phénomène de désorption qui limite le taux d'enlèvement des hydrocarbures et non l'activité biologique.

**Gibb et coll.** (2001) [20] montrent que le taux de dégradation des hydrocarbures diminue avec la diminution de la température de 20 à 5°C quand la population microbienne est en phase de croissance. En revanche, le taux de dégradation est indépendant de la température en phase stationnaire.

Par ailleurs, les faibles températures réduisent l'activité microbienne jusqu'à un certain point. Cependant, d'autres facteurs limitent la biodégradation, telle la disponibilité de l'eau et des nutriments.

### **c- Oxygène**

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

L'oxydation par l'oxygène semble être le mécanisme primaire dans la biodégradation des hydrocarbures [25]. Cette étape initiale du catabolisme des hydrocarbures par les micro-organismes implique l'intervention d'hydroxylases et d'oxygénases, pour lesquelles l'oxygène est indispensable [26, 27].

La teneur en oxygène doit être supérieure à 10% pour stimuler la dégradation par voie aérobie [21, 28].

Une texture argileuse et la présence de matières organiques affectent la teneur de l'oxygène dans le sol.

La dégradation anaérobie des composés hydrocarbonés par les micro-organismes peut se produire et être optimisée mais les cinétiques sont généralement très lentes [29].

En général, les taux de conversion et les cinétiques de biodégradation dans des conditions aérobies sont considérablement plus élevés que ceux dans des conditions anaérobies [12, 29, 30, 31].

#### **d- Humidité**

L'eau contribue à la masse d'une bactérie pour 80% ou plus, et au cours de leur croissance les substances nutritives est les déchets pénètrent et quittent respectivement la cellule, en solution. Par conséquent, les bactéries ne peuvent croître que dans ou sur des matières contenant suffisamment de l'eau libre.

Les différentes espèces de bactéries tolèrent, à divers degrés, un fort déficit en eau (desiccation), beaucoup d'espèces ne peuvent pas survivre longtemps [32].

Les processus métaboliques des micro-organismes requièrent un taux d'humidité minimal supérieur à 2% en masse. Des taux d'humidité du sol inférieurs à 2% limitent la croissance microbienne et les vitesses de biodégradation [33, 34].

Les taux d'humidité préconisés dans la littérature, varient selon les auteurs, **Ballerini**, (1998) [33] propose 10%, **Davis et Madsen**, (1996) [34] proposent 14%, **Nano et coll.** (2003) [35] proposent un taux d'humidité supérieur à 15% tandis que **Sabaté et coll.** (2004) [36] suggèrent qu'il soit ajusté à 60% de la capacité de rétention d'eau du sol. L'eau est le principal transporteur et distributeur des nutriments et des micro-organismes dans le sol, ce qui lui confère une grande importance dans les processus de biodégradation.

#### **e- Nutriments**

L'élimination des hydrocarbures contenus dans les sols est essentiellement le fait de bactéries aérobies naturellement présentes dans la terre et qui trouvent l'unique source de leur nourriture hydrocarbonée dans ces hydrocarbures. La biodégradation des hydrocarbures est donc un phénomène naturel dont la vitesse dépend de beaucoup de facteurs, dont principalement la concentration des hydrocarbures et les caractéristiques de leur chaîne hydrocarbonée,

mais aussi des autres nutriments dont les micro-organismes ont besoin pour accomplir leurs fonctions vitales.

Dans les terres, où le carbone se trouve en excès par suite d'une pollution, les bactéries consomment, durant les phases de fermentation aérobie active, 15 à 30 fois plus de carbone que d'azote, selon que l'hydrocarbure est plus ou moins biodégradable [37]. Les facteurs limitant de la biodégradation sont alors les nutriments en déficit, l'azote pour l'essentiel, puis le phosphore parmi les éléments moyens, et à un degré moindre le soufre et le potassium. Il est possible de limiter cet effet par apport des éléments déficitaires de façon à rétablir les conditions optimales pour le fonctionnement bactérien. Aussi, **Schultz**, (1998) [37] a fixé les rapports pondéraux C/N, N/P, C/P et C/S respectivement entre 20 et 70, 2 et 10, 75 et 150 et 100 et 300.

Le rapport C/N dépend largement des minéraux naturels. Ce dernier n'est pas clairement défini, de ce fait, on ajoute des composés pour l'équilibrer dans le cas d'un composte ou dans le traitement biologique des sols. Ce rapport est légèrement variable et doit être compris entre 10 /1 et 40 /1 [37]. Si le rapport est supérieur à 40/1, il doit être réduit par

un ajout de chlorure d'ammonium ou d'urine. Dans le cas de déficit en d'azote, les micro-organismes subissent alors une limitation dans leur croissance [38].

Pour stimuler la biodégradation des hydrocarbures dans les microcosmes, les bioréacteurs et les biopiles, l'addition de boues activées des stations d'épuration des eaux usées rejetées par une raffinerie est souvent préconisée. Cette dernière étant un bon milieu pour l'anabolisme et pour le métabolisme, elle contient comme rapport C/N/P=100/2,07/1,65 [38]. Dans le cas d'un traitement d'un sol pollué par la technique de « land farming » à l'échelle pilote, **Harrison**, (2003) [39] en utilisant du phosphate d'ammonium comme fertilisant une fois par mois, a remarqué un changement du rapport C/N/P de 250/1/4 à 180/1/2.

Le tableau I.1 regroupe les différents rapports C/N/P selon différents auteurs.

**Tableau I.1** : Rapports C/N/P recommandés.

C/N/P	AUTEURS	REFERENCE
100/15/3	E. Rosenberg et <i>coll.</i> (1992)	[44]
100/5/1	J. W. Davis et S. Madsen (1996)	[34]
100/10/1	K. Z. T. Berry (1997)	[14]
1000/10/1	D. Brinkmann (1998)	[12]
60/2/1	D. P. Cassidy et <i>coll.</i> (2000)	[52]
100/5/1	A. Gibb et <i>coll.</i> (2001)	[20]
150/10/3	A. D. Venosa et <i>coll.</i> (2002)	[51]
120/10/1	F. M. Ghazali et <i>coll.</i> (2004)	[9]

#### I.4. Dépollution des sols

Indépendamment de la technologie utilisée, on peut concevoir trois modes de fonctionnement des opérations de dépollution, qui seront appelées « principe d'application ». Ceux-ci ont chacun leurs points forts et leurs limitations, et s'accordent parfois de façon spécifique à telle situation plutôt qu'à une autre, ces principes d'applications sont [40] :

##### I.4.1. Procédés physiques par évacuation de la pollution

Le principe consiste à extraire par voie physique la pollution du milieu où elle se trouve. On distingue l'excavation du sol et le pompage de l'eau.

##### I.4.2. Procédés physiques par piégeage de la pollution

La pollution est immobilisée physiquement sur place, soit en la confinant, soit en la stabilisant. On distingue le confinement par encapsulation, la stabilisation, l'inertage et le confinement par piégeage hydraulique.

##### I.4.3. Procédés chimique ou électrochimique

Ils font appel à un principe réactionnel (action d'un acide, d'un solvant, d'une électrolyse) pour enlever ou transformer la contamination. On distingue :

- Méthodes destructives par réaction ;
- Méthodes d'immobilisation.

#### **I.4.4. Procédés thermiques**

Le traitement thermique des sols (désorption thermique, incinération) consiste à transférer les polluants de la matrice du sol à la phase gazeuse par l'introduction de l'énergie thermique. Le chauffage peut être direct ou indirect et le sol aura subi au préalable quelques pré-traitement (homogénéisation, broyage, démottage, tamisage, etc.). Les procédés thermiques comportent deux étapes principales, le chauffage du solide jusqu'à volatilisation des polluants puis le traitement des vapeurs dans une unité de post-traitement qui dépend des caractéristiques des gaz à traiter (condensation et/ou adsorption sur charbon actif, combustion, oxydation catalytique, filtres, etc.) [41].

#### **I.5.5. Procédés biologiques**

Comparées aux technologies physico-chimiques où le contaminant est quelques fois tout simplement transféré d'une phase à l'autre, les procédés de traitement biologiques présentent la possibilité de dégrader complètement les contaminants en produits inoffensifs ou moins polluants et moins toxiques. De plus, les coûts d'opération d'un traitement biologique sont généralement bas comparés à ceux des processus physiques et chimiques [42].

Lorsqu'ils sont applicables, les procédés biologiques peuvent traiter une large gamme de polluants organiques et autres. Les groupes de composés qui sont de bonnes cibles [40] sont :

- composés pétroliers tels que le gasoil, le fuel, essence et kérosène ;
- produits et résidus organiques de l'industrie ;
- composés plus complexes de type aromatique ;
- Nitrates, sulfates, pesticides.

##### **I.4.5.1. Bioremédiation**

La bioremédiation consiste à exploiter cette capacité naturelle des microorganismes à dégrader les substances organiques dangereuses en la stimulant et l'optimisant. C'est une technique de choix en raison de sa simplicité, son efficacité, son faible coût, la possibilité d'être couplée à d'autres méthodes de traitement pour une destruction complète des polluants [42]. Il existe plusieurs types de bioremédiation :

### *a) Atténuation naturelle*

Elle repose sur le développement naturel des bactéries présentes dans le sol. Cette approche est passive et le processus de biodégradation dépend uniquement des conditions naturelles du site. Une diminution significative des teneurs en polluants est alors incertaine et ne peut être envisagée que sur un très long terme. Des études s'accordent pour estimer que l'atténuation naturelle est lente, avec un temps de demi-vie d'au moins deux ans selon **Vandecasteele et coll.** (2001) [11] et un rendement d'élimination de 1,7% selon **Li et coll.** (2000) [29].

### *b) Biostimulation*

La biostimulation consiste à modifier les paramètres intrinsèques d'un site pour stimuler l'activité microbienne. Un apport de nutriments pour rééquilibrer les rapports carbone/azote/phosphore et d'agents correcteurs du milieu est généralement nécessaire [28].

La biostimulation implique une augmentation de la teneur en oxygène, un ajustement des teneurs en éléments nutritifs tels que l'azote et le phosphore [43], et dans certains cas l'amélioration des conditions physico-chimiques du sol pollué.

### *c) Bioaugmentation*

La bioaugmentation est l'adjonction des micro-organismes et d'enzymes spécifiquement élevés et adaptés pour digérer un type précis de polluants en vue d'améliorer le taux de bioremédiation du sol. Elle s'avère particulièrement intéressante dans les cas de bioremédiation de polluants très récalcitrants [43].

**Rosenberg et coll.** (1996) [44] montrent que l'injection d'une culture de bactéries tels que : *A. Calcoaceticus*, *Acinetobacter* et *Pseudomonas* augmente l'élimination des hydrocarbures à 45% comparé à 8% sans ajout de bactéries.

**Yerushalmi et coll.** (2003) [45] ont mis en évidence une résistance particulière à la biodégradation des hydrocarbures totaux de pétrole (TPH), en dépit d'une capacité élevée pour la minéralisation des hydrocarbures aromatiques. La biostimulation n'a pas amélioré le rendement d'élimination des hydrocarbures de pétrole, alors que la bioaugmentation du sol avec une culture adaptée a augmenté l'efficacité d'enlèvement des hydrocarbures qui est passée de 20,4% à 49,2%.

La bioremédiation inclut les applications *in situ* ou les applications *ex situ*.

#### **I.4.5.2. Applications in situ**

Ce type de traitement offre la particularité de travailler directement dans le milieu naturel pollué. L'action curative est appliquée en place, en installant sur le site même les systèmes de dépollution et en quelque sorte en les faisant agir directement dans le sous sol. Il est moins coûteux.

##### **a) Biosparging et bioventing**

Il s'agit de techniques qui allient deux principes de décontamination ; la biodégradation et la ventilation [40]. La première consiste en l'injection d'air dans la zone saturée en dessous du niveau de la nappe d'eau souterraine à traiter en utilisant des puits verticaux ou horizontaux. Le rendement de ce procédé peut atteindre 99% [43].

La deuxième est un procédé permettant d'aérer la zone insaturée afin que les micro-organismes indigènes du sol puissent mieux respirer et dégrader les polluants [43]. Ainsi, le bioventing permet de stimuler la biodégradation aérobie de certains contaminants.

Ce traitement permet d'atteindre des rendements d'élimination de 90% selon la nature des polluants [43]. Ce procédé est particulièrement efficace pour le traitement des polluants volatils résiduels, des huiles, des lubrifiants et du gasoil. Les temps de biorestauration peuvent s'étaler sur plusieurs mois et même dans certains cas sur deux à trois ans [40].

##### **b) Phytoremédiation**

Ce sont des processus qui utilisent les végétaux comme épurateur du milieu, des végétaux sont plantés sur la zone à traiter, les familles de polluants concernés sont les métaux lourds et les hydrocarbures [40].

**Gallegos-Martinez et coll.** (2000) [46] ont proposé la phytoremédiation comme moyen de décontamination d'un site contaminé depuis 40 ans avec du pétrole. La microflore identifiée a été capable de dégrader 70% des hydrocarbures au bout de 30 jours.

#### **I.4.5.3. Applications ex situ**

Ce deuxième type d'applications inclut les opérations de traitement sur le site même (sur site) ou en dehors du site contaminé (hors site) après excavation du sol à dépolluer [40].

Les applications ex situ sont en général plus efficaces du fait du contact intime entre les microorganismes et les polluants comparées aux applications in situ. Elles nécessitent toutefois des opérations d'homogénéisation, de broyage, de démottage, de tamisage, etc du sol excavé.

#### **a) Land farming**

Le land farming consiste à traiter le matériau pollué comme un sol agricole, le traitement étant effectué sur de minces couches d'environ 0.4m d'épaisseur. Donc, de larges surfaces sont nécessaires si on dispose de grandes quantités du sol à traiter, et ce dernier est placé sur des couches en béton, en argile ou même sur des feuilles métalliques pour éviter la contamination des nappes phréatiques.

Cette technique nécessite l'ajout de fertilisants et un labourage à des intervalles réguliers [47].

#### **b) Compostage**

Le compostage consiste à mélanger les déchets à du compost et du fumier. Le tout est ensuite labouré afin de permettre le contact entre toutes les composantes et de conserver des conditions aérobies. Après le mélange, la matrice est recouverte par une membrane pour protéger la pile et encourager la croissance des bactéries.

#### **c) Biopiles**

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. A la base du tas, un système de tuyauterie est installé dans une couche drainante (gravier), il permet une aération efficace selon une répartition régulière.

Au sommet du tas, un dispositif d'aspersion est mis en place ; il servira à humidifier et, éventuellement, à ajouter des nutriments et/ou des micro-organismes. Enfin, l'ensemble est isolé de l'extérieur par une membrane imperméable [21].

Cette technique est fortement utilisée pour les sols hétérogènes contaminés par des gazoils ou des PCB, et permet une meilleure gestion du traitement que les techniques in situ [28]. Le rendement de ce procédé peut atteindre 99% si le temps de traitement est suffisamment long. Les coûts unitaires varient en fonction des volumes de sols mis en jeu.

#### **I.4.5.4 Bioréacteurs**

Un bioréacteur est un système dans lequel une conversion biologique est effectuée impliquant des enzymes ou des micro-organismes. Ce sont des systèmes généralement composés de réservoirs qui contiennent un milieu fixe ou en suspension de biomasse et qui opèrent de façon aérobie ou anaérobie [28]. Les bioréacteurs sont particulièrement utilisés lorsque la pollution est concentrée et dans le cas où les microorganismes ont des difficultés à se développer dans des conditions non contrôlées [3]. Ces réacteurs fonctionnent soit en continu soit en discontinu, les temps de séjour variant avec la biodégradabilité des polluants.

Ils accélèrent considérablement la vitesse de dégradation des polluants et présentent plusieurs avantages : meilleur contrôle des paramètres de culture (pH, température, nutriments), une oxygénation plus efficace, un contact plus intime entre les micro-organismes et les polluants, des transferts de matière et thermique accrus, un maintien de conditions optimales de biodégradation par sélection de souches adaptées.

Deux types de réacteurs sont en général utilisés.

##### **a) Bioréacteurs à boues activées**

Le sol contaminé est tout d'abord prétraité pour séparer les grosses particules du sol et les cailloux des particules fines (les contaminants adhèrent généralement à ces dernières) puis est mélangé avec de l'eau à des pourcentages de solide compris entre 20 et 70% en masse [48, 49]. Les boues sont acheminées dans une série de bassins d'aération où sont introduits différents éléments en fonction de la décontamination à effectuer. Une agitation mécanique est préconisée et les vitesses de celle-ci doivent être réduites mais suffisantes pour maintenir le sol en suspension et réduire le cisaillement du floc microbien.

L'utilisation de ce bioréacteur est avantageuse car elle permet d'accélérer considérablement la vitesse de dégradation des polluants, les conditions environnementales étant contrôlées et la biodisponibilité, de ce fait, augmentée. Les bioréacteurs à boues activées offrent donc un potentiel intéressant pour le traitement des polluants récalcitrants (PCB, HAP). [48, 49].

##### **b) Bioréacteurs en phase solide**

Contrairement aux bioréacteurs de type à boues activées, ces bioréacteurs permettent le traitement du sol en l'absence d'une phase aqueuse. Le sol est amendé avec des nutriments

(azote et phosphore) et son humidité est également ajustée tandis que le brassage occasionnel de ce dernier augmente la biodisponibilité des polluants. Le traitement des sols dans les bioréacteurs en phase solide est peu coûteux, il exige une faible quantité d'énergie pour l'aération forcée. Toutefois, l'enlèvement non uniforme des hydrocarbures, les faibles cinétiques et les faibles taux de biodégradation attribués à une distribution non homogène des nutriments et des micro-organismes dans le sol réduisent souvent l'efficacité de ces derniers [49].

**CHAPITRE II**  
**INSTALLATION EXPERIMENTALE**  
**ET METHODES DE MESURES**

## CHAPITRE II

### MATERIEL ET METHODES DE MESURES

Dans ce chapitre nous allons décrire les systèmes utilisés dans le cadre du traitement d'un sol pollué par du gasoil et des méthodes adoptées pour déterminer les caractéristiques physico-chimique et biologique du sol et le suivi de certains paramètres.

L'étude de la bioremédiation d'un sol pollué par du gasoil a été réalisée dans une première partie dans des microcosmes et dans une deuxième partie dans un bioréacteur gaz–solide.

#### II.1. Microcosmes

Ce sont des cristallisoirs de diamètre de 9cm et d'une hauteur de 5cm contenant un sol non stérile (sableux ou plus ou moins argileux) pollué par du gasoil à 10%, amendé en nutriments (azote et phosphore) selon différents rapports C/N/P et aspergés d'eau pour varier les taux d'humidité qui sont contrôlés pratiquement chaque deux à trois jours et maintenus constants. Un mélangeage est effectué pour assurer l'homogénéisation et l'aération des différents systèmes.



**Figure II.1** : Microcosme utilisé pour le traitement.

#### II.2. Bioréacteur

C'est un béccher d'une capacité d'un litre à l'intérieur duquel une couche de gravier est surmontée d'un distributeur sur lequel repose 300g ou 350g selon le sol à traiter. La couche de gravier y est introduite afin d'uniformiser la répartition de l'air. L'alimentation en air

(aération forcée) est assurée à l'aide d'une pompe d'aquarium. Le débit d'air mesuré est de  $35,4 \text{ cm}^3/\text{s}$  (figure II.2) :

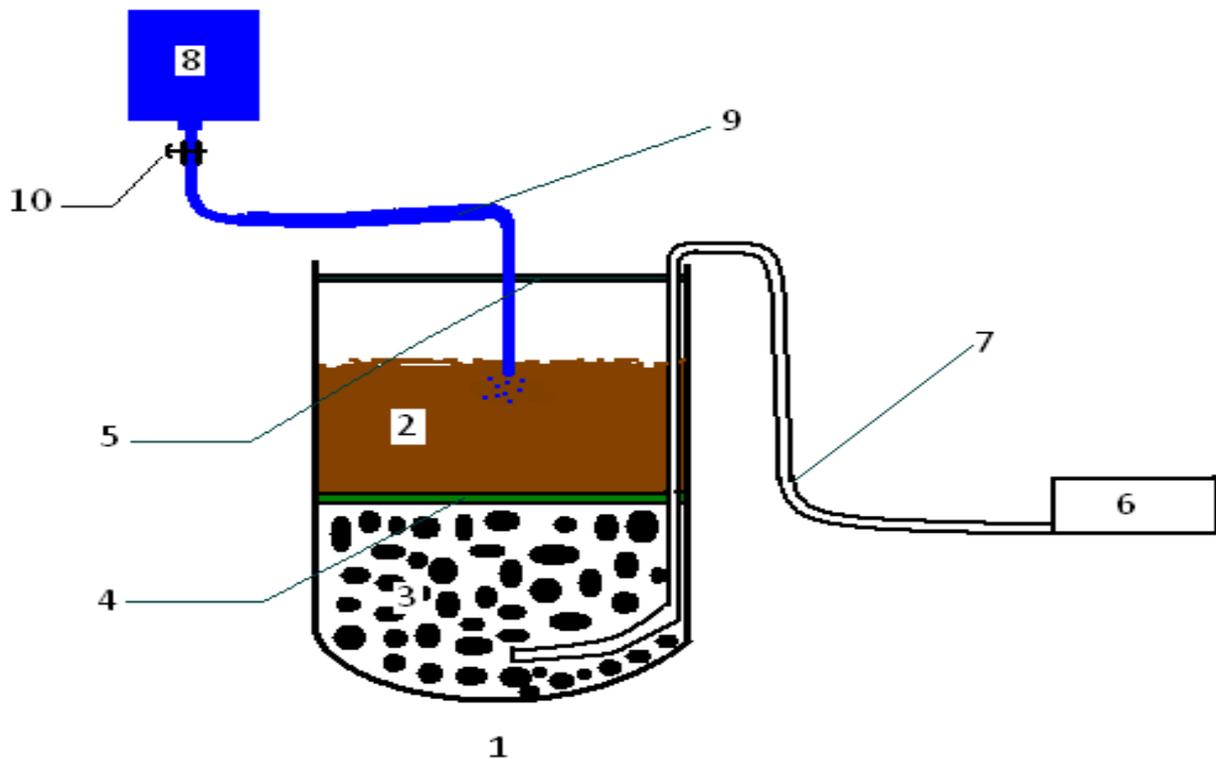


Figure II.2 : Bioréacteur aéré.

### Légende :

- |                   |                                      |
|-------------------|--------------------------------------|
| 1- Bêcher de 1 L. | 6- Pompe d'aération.                 |
| 2- Sol à traiter. | 7- Diffuseur d'air.                  |
| 3- Gravier        | 8- Poche à perfusion.                |
| 4- Distributeur   | 9- Perfuseur d'eau.                  |
| 5- Couvercle.     | 10- Vanne de contrôle du débit d'eau |

## II.3.Caractéristiques du sol

### II.3.1. Caractéristiques physico-chimiques

#### II.3.1. 1. Granulométrie

Le diamètre des particules a été déterminé par la méthode de tamisage. Seules les particules de diamètre inférieur à  $0,8 \text{ mm}$  sont prises en considération. Les résultats sont donnés en annexe I.

L'opération du tamisage consiste à placer un échantillon représentatif de particules solides dans un appareil de tamisage comportant plusieurs tamis d'ouvertures déterminées. Les

particules dont les dimensions sont inférieures à celles des ouvertures traversent le tamis lorsqu'il est mis en vibration, alors que les plus grosses particules sont retenues.

Différents diamètres moyens peuvent être alors déterminés :

- Diamètre arithmétique : 
$$d_A = \frac{\sum_i m_i \cdot d_i}{\sum_i m_i} \quad (1)$$

- Diamètre harmonique (diamètre de Sauter) : 
$$d_H = \frac{\sum_i m_i}{\sum_i \frac{m_i}{d_i}} \quad (2)$$

- Diamètre de surface : 
$$d_s = \sqrt{\frac{\sum_i m_i \cdot d_i^2}{\sum_i m_i}} \quad (3)$$

- Diamètre de volume : 
$$d_v = \sqrt[3]{\frac{\sum_i m_i \cdot d_i^3}{\sum_i m_i}} \quad (4)$$

$m_i$  étant la masse du solide recueilli dans le tamis  $i$  (en gramme), et  $d_i$  le diamètre moyen des deux tamis consécutifs de diamètre  $d_{T(i)}$  et  $d_{T(i-1)}$  (en  $\mu\text{m}$ ), avec :

$$d_i = \frac{d_{T(i-1)} + d_{T(i)}}{2} \quad (5)$$

### II.3.1.2. Masse volumique

La masse volumique du solide est définie comme le rapport de sa masse sur son volume. Elle a été déterminée par la méthode pycnométrique qui consiste à combler les interstices du sol par de l'eau.

La détermination masse volumique du sol consiste à introduire une masse ( $m_s$ ) connue du sol dans une éprouvette graduée qu'on remplit par la suite avec de l'eau jusqu'à un certain volume.

La masse totale  $m_t$  pesée est la somme de la masse du solide, de la masse de l'eau dans les pores et de celles en excès.

$$\rho_s = \frac{m_s}{V_s} = \frac{m_s}{V_T - V_p}$$

$$V_p = \frac{m_p}{\rho_{H_2O}} = \frac{(m_t - m_s - m_{ex})}{\rho_{H_2O}}$$

soit :

$m_t$ : masse totale avec  $m_t = m_s + m_{ex} + m_p$

$m_s$  : masse du solide  $m_{ex}$  : masse d'eau en excès

$V_p$  : volume d'eau emprisonné dans les pores

$V_s$  : volume du solide

$V_T$  : volume apparent du solide avec  $V_T = V_s + V_p$

$\rho_s$ : masse volumique du solide

$m_p$  : masse de l'eau dans les pores.

### II.3.1.3. pH

Le pH du sol est déterminé à l'aide d'un pH-mètre selon la norme (NF X 31 103). 50 mL d'eau distillée sont mélangés avec 5g d'échantillon de sol qu'on agite pendant une demi-heure. La lecture du pH est ensuite effectuée.

### II.3.1.4. Humidité

L'humidité a été déterminée selon la norme (NF X 31-102), le principe repose sur un séchage à l'étuve de 105°C d'une masse connue d'un échantillon de sol jusqu'à une masse constante. L'humidité exprimée en pourcentage est égale à :

$$H(\%) = \frac{m_0 - m_1}{m_0} 100$$

ou

$m_0$  : masse de la prise d'essai avant séchage (g) ;

$m_1$  : masse de la prise d'essai après séchage (g) ;

H : taux d'humidité (%) (kg eau/ kg de matière humide).

### II.3.1.5. Matière organique.

Selon la norme (NF X 31 071), l'échantillon du sol d'une masse donnée est introduit dans une étuve pendant une heure à la température de 105°C puis dans un four à 550°C pendant vingt minutes. La matière organique est déterminée comme suit :

$$MO(\%) = \frac{m_1 - m_2}{m_0} 100$$

$m_0$  : masse de la prise d'essai avant séchage (g) ;

$m_1$  : masse de la prise d'essai après séchage (dans l'étuve) (g) ;

$m_2$  : masse de la prise d'essai après calcination (g) ;

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

### **II.3.2 Analyses bactériologique du sol**

L'étude d'échantillon de sol nécessite une étape préalable de mise en suspension en milieu aqueux, seul le surnageant après décantation étant ensuite utilisé (**Bouchez, 1995**).

Pour isoler et dénombrer les bactéries autochtones (aérobies) du sol, la méthode utilisée est celle de dilution et d'ensemencement en profondeur sur boîtes de Pétri.

#### **II.3.2.1. Méthode de dilutions**

- Préparer des tubes à essais contenant chacun neuf millilitres d'eau physiologique stérile ;
- Préparer la solution mère en mélangeant un gramme de sol sec avec dix millilitres d'eau physiologique stérile ;
- Agiter la solution à l'aide d'un vortex ;
- Préparer, à partir de cette suspension, une série de dilutions ;
- Prélever à l'aide d'une micropipette un millilitre de la solution mère et la transférer ; dans un deuxième tube contenant neuf millilitres d'eau physiologique, pour obtenir une dilution de  $10^{-1}$  ;
- Prélever ensuite un millilitre de ce deuxième tube pour être transféré dans un troisième tube pour obtenir une dilution de  $10^{-2}$ , et ainsi de suite.

#### **Dénombrement :**

- En milieu stérile, prélever un millilitre de chaque dilution à l'aide d'une Micropipette et verser ensuite dans la gélose nutritive.
- Après une incubation de 48 heures à  $37^{\circ}\text{C}$ , les colonies sont dénombrées manuellement et à l'œil nu.

#### **II.3.2.2. Méthode gravimétrique**

Cette méthode est utilisée pour déterminer la masse des micro-organismes présents dans le sol.

Une quantité de 1g de sol est mise dans 9ml d'eau physiologique, la solution est ensuite agitée pendant 1h, puis laissée à décanter. Un volume de 1ml est prélevé, pesé, puis mis dans l'étuve à 105°C à sécher jusqu'à obtention d'un poids constant [50].

## **II.4.Nutriments**

Les différents principes des réactions de dosage des nutriments sont donnés comme suit (voir annexe III) :

### **II.4.1. Nitrites**

Selon la norme (ISO 677-NF EN 26777), la diazotation de l' amino-4-benzènesulfonamide par les nitrites en milieu acide et sa copulation avec le dichlorure de N-(naphtyl-1) diamino-1,2 éthane donne un complexe coloré pourpre susceptible d'un dosage spectrophotométrique.

### **II.4.2.Nitrates**

Selon la norme (ISO 7890-3 et NFT90-045), en présence de salicylate de sodium, les nitrates donnent du paranitrosoulate de sodium de couleur jaune susceptible d'un dosage colorimétrique.

### **II.4.3. Azote ammoniacal**

#### **(Méthode spectrophotométrique au réactif de Nessler selon la norme (NF 90-015))**

En présence d'hydroxyde de potassium ou de sodium, il se produit une réaction entre les ions  $\text{NH}_4^+$  et le réactif de Nessler (iodo-mercurate de potassium alcalin avec formation d'un composé de coloration variante du rouge au brun. L'ajout dans le milieu réactionnel de tartrate double de sodium et de potassium a pour rôle d'éviter la formation d'un trouble dû à l'interférence du calcium et du magnésium présents dans l'eau.

### **II.4.4.Phosphore**

Selon la norme (NF EN 1189), en milieu acide et en présence de molybdate d'ammonium, les ortho phosphates donnent un complexe phosphomolybdique qui, réduit par l'acide ascorbique, développe une coloration bleue susceptible d'un dosage spectrophotométrique . Le développement de la coloration est accéléré par l'utilisation d'un catalyseur, le tartrate double d'ammonium et de potassium.

## II.5. Carbone organique

Selon la norme (NF P 94-055), le principe consiste à déterminer, par un procédé chimique, la teneur en carbone d'un échantillon de sol. Une prise d'essai est mélangée à une solution oxydante (bichromate de potassium) de quantité connue. Une fois l'oxydation réalisée, il est procédé au dosage par le sel de Mohr en présence de diphénylamine.

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

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

Où :

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

x : Quantité en mL de sel de Mohr ayant servi à réduire l'excès de bichromate de potassium de l'essai ;

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

P : Prise d'essai en g.

## II.6. Hydrocarbures du sol

L'extraction des hydrocarbures du sol est réalisée dans un extracteur (ultrason) à température ambiante en utilisant le dichlorométhane comme solvant. Le mélange (dichlorométhane, extrait) est filtré au préalable. La détermination des hydrocarbures totaux du sol est réalisée par pesée de l'extrait recueilli après évaporation du solvant en utilisant un rotavapor.

## II.7. Densité du gasoil

La mesure de la densité du gasoil a été effectuée à l'aide d'un densimètre à une température de 15,5°C (annexe II).

CHAPITRE III  
RESULTATS EXPERIMENTAUX ET  
DISCUSSIONS

## CHAPITRE III

### Résultats expérimentaux et discussions

Les problèmes actuels de déversement des hydrocarbures en mer et au niveau des champs pétroliers, nous ont amené à choisir deux types de sol (sableux (sol 1) et plus au moins argileux (sol 2)). Le polluant utilisé est du gasoil, un mélange complexe d'hydrocarbures.

Le but de notre travail est le traitement d'un sol pollué par du gasoil (commercial pris d'une station de services) dans un bioréacteur. Son application nécessite la connaissance de certains paramètres environnementaux tels le pH, le taux d'humidité et les teneurs en nutriments (azote, phosphore). Les expériences sont alors réalisées dans des microcosmes (biotiques et abiotiques) et dans des bioréacteurs à aération continue à température ambiante et avec différents rapports C/N/P et différents taux d'humidité pour suivre l'évolution de la biomasse par dénombrement et par mesure de la matière sèche, les hydrocarbures totaux et l'épuisement des nutriments. En outre, l'utilisation d'un échantillon témoin (sol pollué sans ajout de nutriments) s'avère nécessaire pour connaître l'avantage de la biostimulation.

#### III.1. Etude du sol

##### III.1.1. Prélèvements de sol

Les sols étudiés proviennent dans le cas :

- Sol(1) : est du sable provenant d'une plage à l'est d'Alger (Ain Taya), prélevé au voisinage d'une bouche d'égout.
- Sol(2) : à caractère argileux est prélevé au niveau de l'Ecole Nationale Polytechnique d'Alger.

Le sol a été séché à l'air libre, et passé à travers un tamis de 0,8mm de diamètre, seules les particules inférieures à 0,8mm ont été prises en considération. Puis il a été homogénéisé par la méthode des quartiers (NF : X 321-412) et conservé à l'abri de la lumière.

##### III.1.2. Caractéristiques physiques des sols.

La détermination des caractéristiques présentées dans le tableau III.1 est d'une grande importance car elles donnent une idée préliminaire sur le volume du sol, sur son occupation de l'espace pendant le traitement, sur les performances de l'aération et sur son comportement vis-à-vis de l'eau.

**Tableau III.1** : Caractéristiques physiques des sols.

Solide	dp ( $\mu\text{m}$ )	$\varepsilon$	$\rho$ ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )
Sol 1	449,41	0,302	1,593
Sol 2	320,62	0,263	1,718

### III.1. 3. Caractéristiques physico-chimiques

La caractérisation physico-chimique avant contamination du sol par le gasoil est présentée par le tableau III.2. Ceci permet d'optimiser les paramètres nécessaires au bon déroulement de la biodégradation tels les nutriments, le pH et l'humidité.

En effet, dans le cas du sol (1) il ressort un déficit en nutriments (N, P) en comparaison avec le rapport de Redfield. A l'inverse le sol (2) est caractérisé par un excès d'azote. En outre, l'humidité des deux sols (1 et 2) est très faible en particulier dans le cas du sol 1, le taux est inférieur à 2% ce qui limite le processus métabolique et la vitesse de dégradation.

Par ailleurs, le pH du sol est aux alentours de 8 et il est favorable pour la croissance des micro-organismes [15]. L'addition de gasoil n'affecte pas la valeur de pH qui demeure constant.

**Tableau III.2** : Caractérisation physico-chimique des sols étudiés.

<b>Caractéristiques</b>	<b>Sol 1</b>	<b>Sol 2</b>
$P_{\text{Total}} (\%) \times 10^3$	0,972	1,70
$\text{NO}_3^- (\%) \times 10^3$	0,141	0,310
$\text{NO}_2^- (\%) \times 10^3$	0,022	0,150
$\text{NH}_4^+ (\%) \times 10^3$	3,650	9,200
$N_{\text{Total}} (\%) \times 10^3$	3,808	9,660
Carbone total (%)	0,30100	1,04000
C/N/P	81/9/1	158/13/1
Matière organique (%)	3,260	8,426
Hu (%)	1,62	3,00
pH	7,9	8,1

#### **III.1.4. Analyse bactériologique**

Après isolement et dénombrement, l'analyse microbienne du sol confirme la présence de micro-organisme dans le sol 1 ( $6,6 \times 10^6$  ufc/g) et dans le sol 2 ( $1,8 \times 10^6$  ufc/g) avant contamination par le gasoil. Les données bibliographiques mentionnent la présence minimale de  $10^6$  ufc/g de sol dans le cas d'un traitement biologique (**Battle et NFESC, 1996**). L'analyse microbienne met en évidence la faisabilité d'un traitement par les micro-organismes autochtones du sol.

### **III.2. Traitement biologique dans les microcosmes.**

#### **III.2.1. Sol 1.**

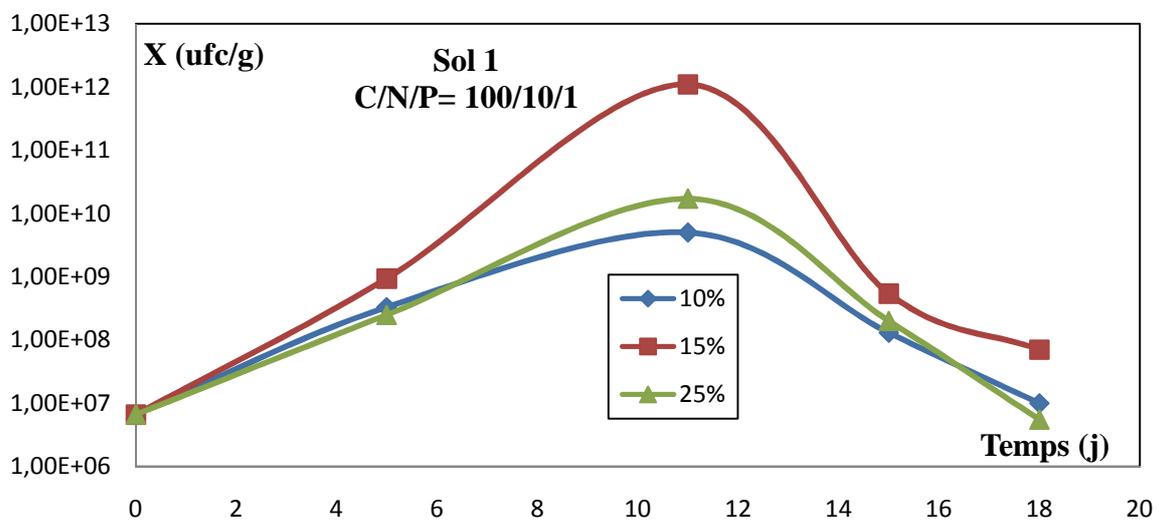
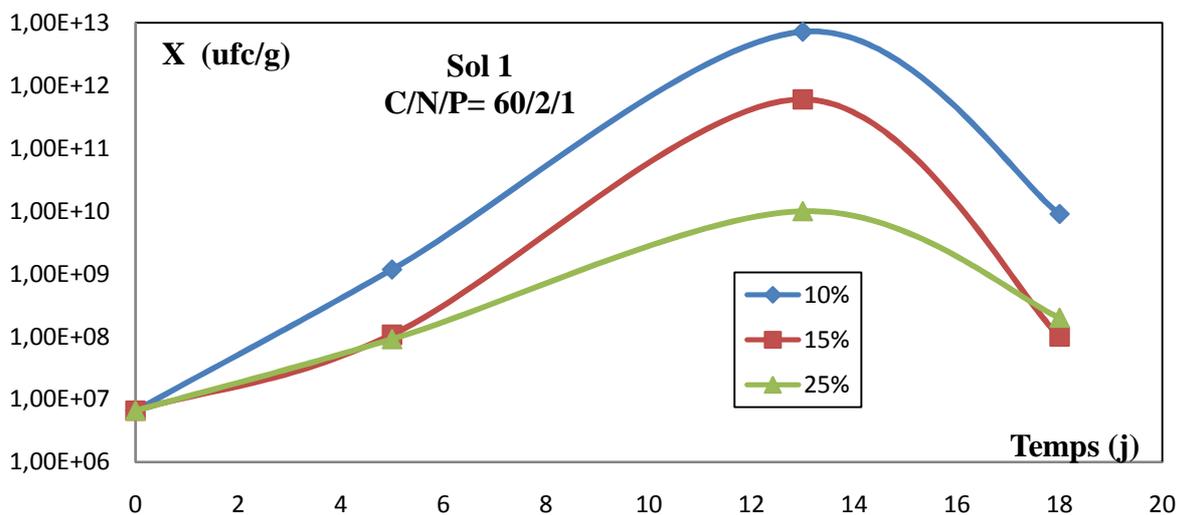
Le sol 1 contaminé par le gasoil (10g/kg), soit 11,86mL/kg est amendé en azote sous forme de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  et en phosphore sous forme de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  selon trois rapports C/N/P de 60/2/1, 100/10/1 et 106/16/1 et maintenu à différents taux d'humidité de 10%, 15%, et 25%, le sol ainsi pollué, amendé en azote et phosphore et humidifié est placé dans des cristallisoirs.

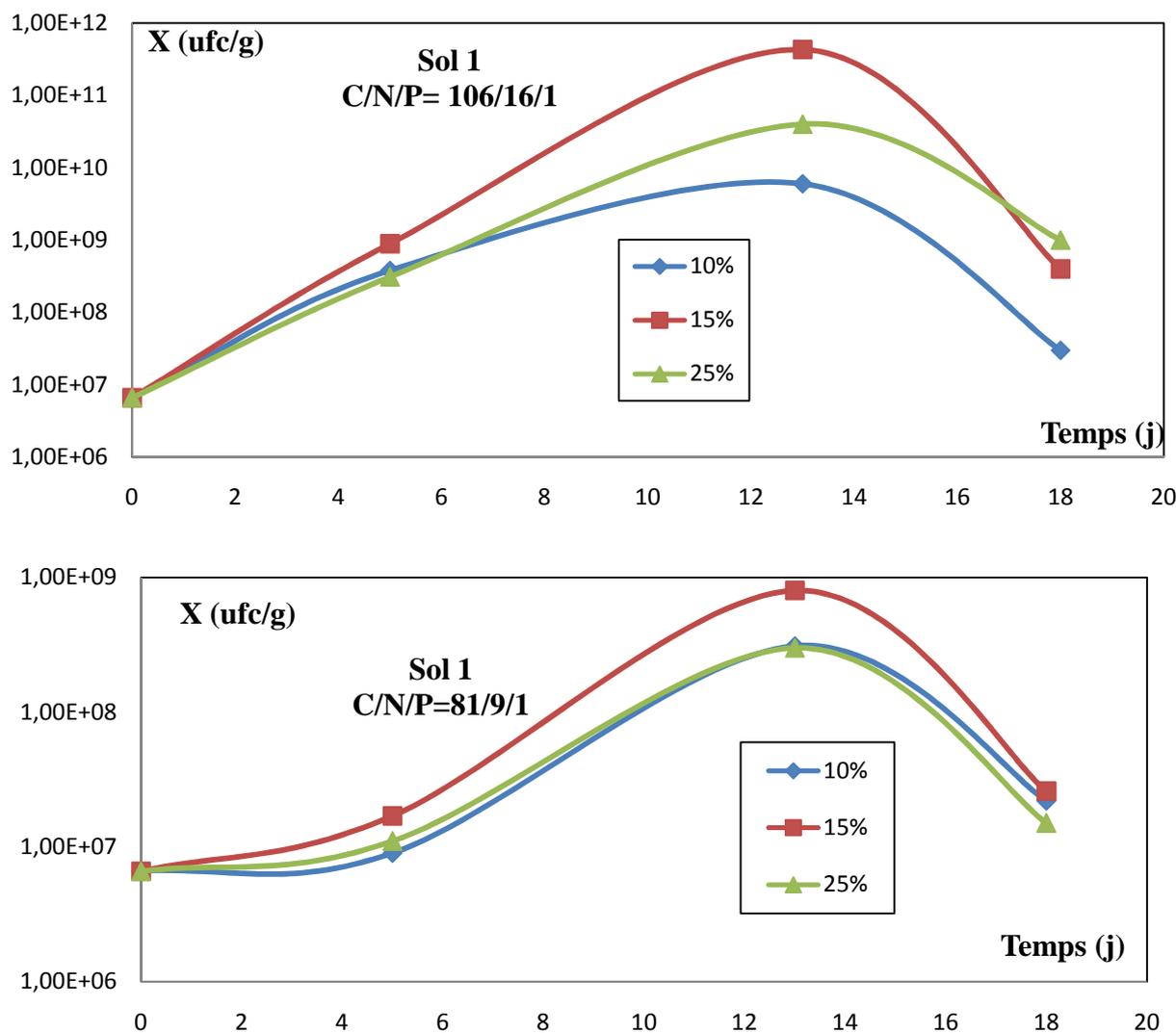
Le suivi de la population microbienne du sol est effectué à partir de prélèvements réalisés dans les microcosmes tous les 5 jours. La détermination des teneurs en gasoil est effectuée avant et à la fin du traitement (18 jours).

### III.2.1.1. Evolution des micro-organismes

#### a) Courbe de croissance bactérienne

La figure III.1 représente les courbes de croissance des micro-organismes au cours du traitement relatives aux rapports C/N/P fixés à 60/2/1, 100/10/1 et 106/16/1 pour les différents taux d'humidité de 10%, 15% et 25%. Ces courbes montrent en général les différentes phases de croissance habituelle [66].





**Figure III.1** Evolution de la biomasse au cours du temps pour différents rapports C/N/P et différents taux d'humidité.

D'après les graphes précédents, la biodégradation du gasoil ne semble pas nécessiter une phase d'adaptation à ce nouveau milieu.

A partir du 1<sup>er</sup> jour de traitement on observe la phase exponentielle où les micro-organismes se développent rapidement, étant donné que le milieu est riche en nutriments et en source de carbone (gasoil).

A partir du 12<sup>eme</sup> jour le nombre des micro-organismes diminue graduellement du fait de l'épuisement des éléments nutritifs et des hydrocarbures de gasoil facilement biodégradables. En fait, les micro-organismes continuent l'assimilation des produits métabolisés.

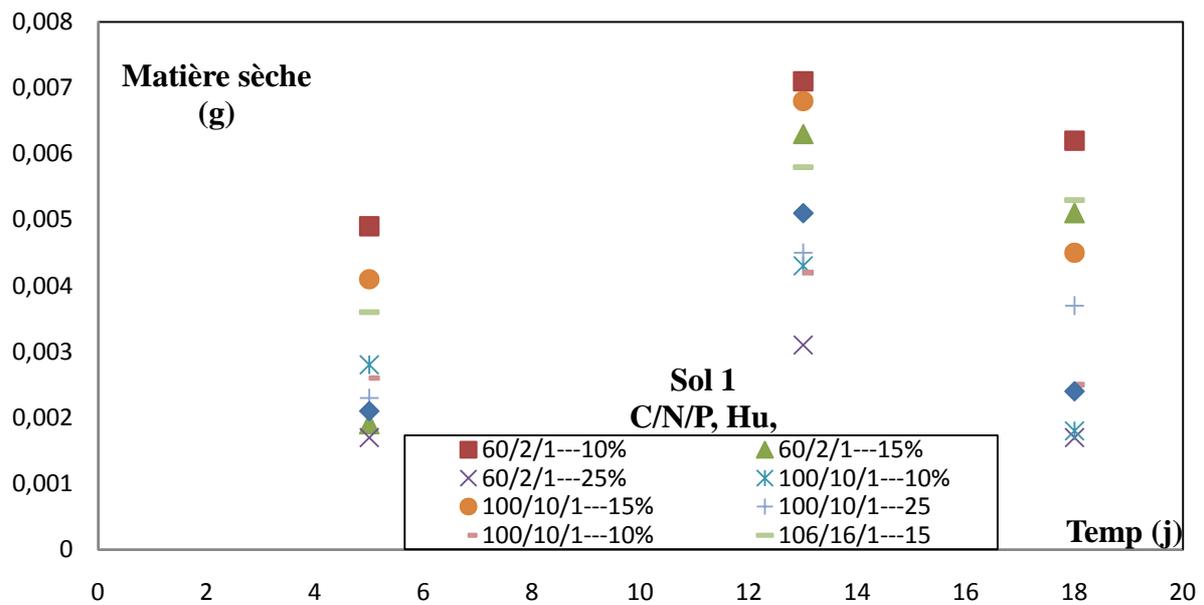
La croissance microbienne atteint la valeur maximale de  $7,2 \times 10^{12}$  ufc/g pour un rapport C/N/P de 60/2/1 et un taux d'humidité de 10%. Pour le même rapport, l'augmentation du taux d'humidité inhibe la croissance microbienne qui accuse une réduction de 91% pour un taux d'humidité de 15% et de 99% pour un taux d'humidité de 25%.

Pour un même taux d'humidité de 10% on remarque que c'est le rapport 60/2/1 qui favorise d'avantage la croissance microbienne, dont le nombre de micro-organismes dans ce cas est supérieure de 99% par rapport à 100/10/1 et 106/16/1.

Dans le cas d'un échantillon témoin d'un rapport C/N/P de 81/9/1 (non amendé en azote et en phosphore), la croissance microbienne est maximale pour un taux d'humidité de 15%, elle atteint  $8 \times 10^8$  ufc/g. Il ressort clairement de ces résultats que la biostimulation sans l'adjonction d'azote et de phosphore selon un rapport C/N/P approprié ne favorise pas la croissance microbienne. Le rapport C/N/P= 81/9/1 est inadapté pour stimuler les micro-organismes du sol (S 1).

**Mukherji et coll.** (2004) [30] trouvent que la croissance microbienne atteint un maximum pour un rapport molaire optimal N/P de 2/1. L'approvisionnement en ces deux éléments essentiels (N, P) en tant que sels hydrosolubles pose plusieurs problèmes dont celui de la sorption, l'assimilation par d'autres bactéries non dégradantes, et les réactions de nitrification dénitrification [53].

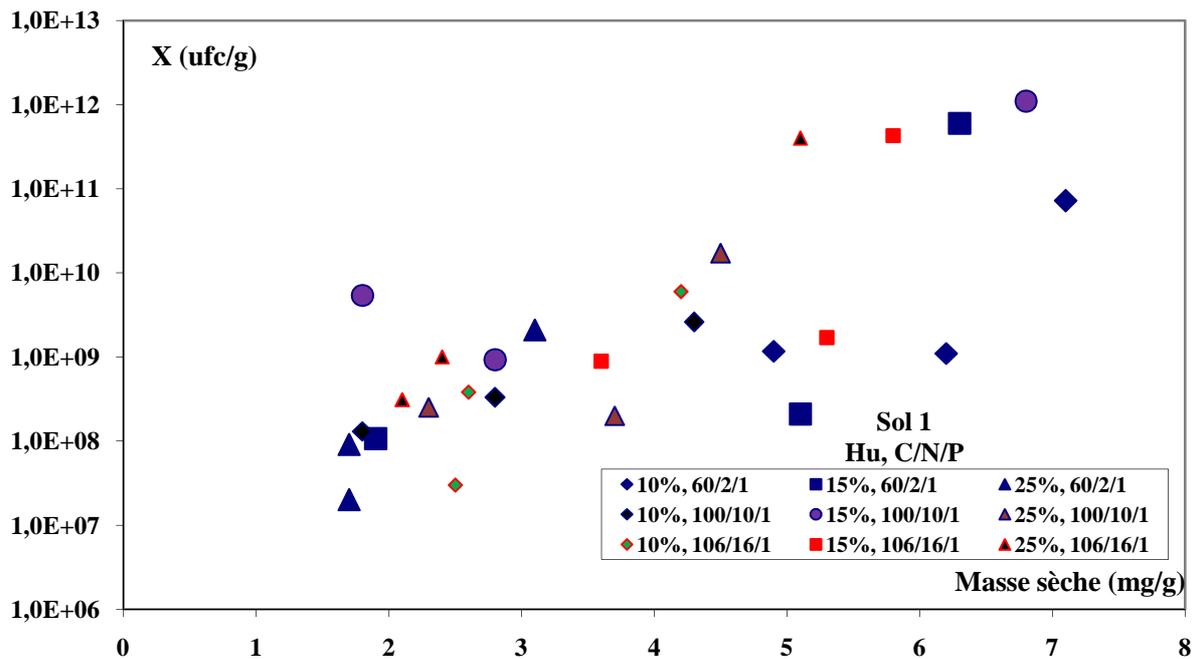
Nous avons également suivi dans le cadre de la croissance microbienne l'évolution de la matière sèche pour les différents microcosmes étudiés. Dans la figure III.3.a, la matière sèche illustre bien l'évolution de la croissance microbienne.



**Figure III.2.a** : Evolution temporelle de la matière sèche dans les différents microcosmes.

Une bonne corrélation entre le nombre et la matière sèche des micro-organismes est également observée dans la figure III.3.b. En effet, il est plus simple de suivre l'évolution de la biomasse à partir de la détermination de la matière sèche que celle de dénombrement qui nécessite 48 heures d'incubation.

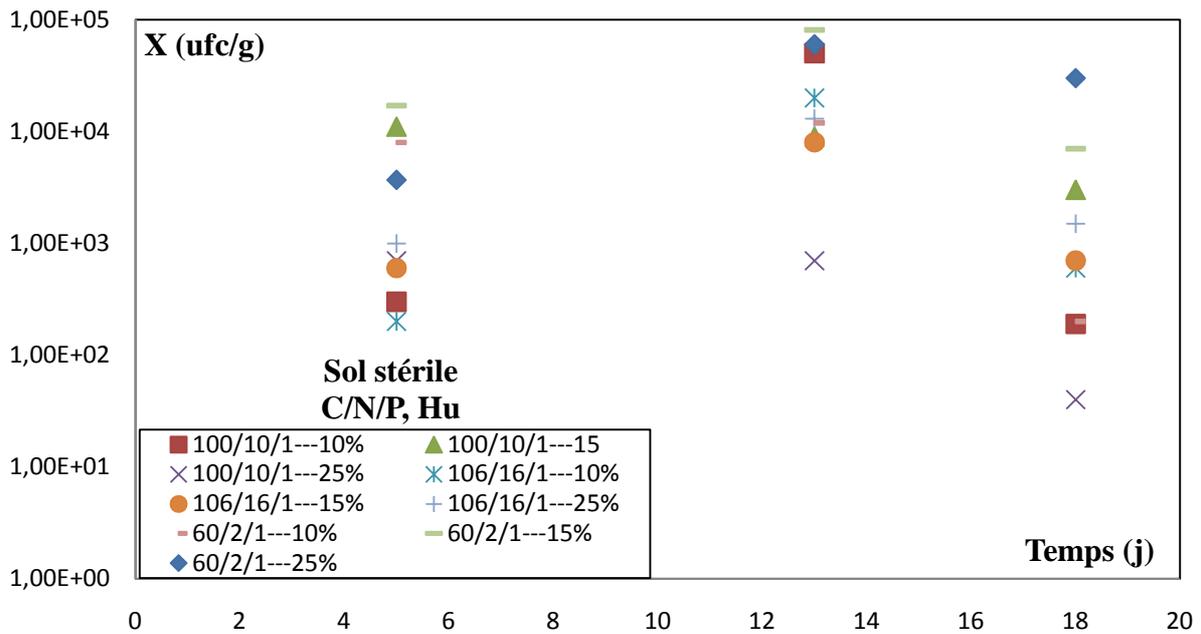
Toutefois, les mesures de la matière sèche nécessitent une centrifugation préalable et des balances d'une grande précision (0,01 mg).



**Figure III.2.b :** Evolution du nombre des micro-organismes en fonction de la matière sèche

Afin de déterminer la quantité de gasoil éliminée dans les microcosmes abiotiques, des expériences sur un sol stérile ont été faites. Ce dernier a été lavé et séché à 105°C pendant 24 heures pour éliminer tous les micro-organismes autochtones. La figure III.4 montre l'évolution de ces micro-organismes en fonction du temps.

La contamination du sol par l'air et l'ajout régulier de l'eau sont les principales sources d'un développement microbien.



**Figure III.3** : Evolution du nombre des micro-organismes allochtones en fonction du temps à des différents rapports C/N/P et différents taux d'humidité.

Une faible croissance des micro-organismes est constatée en comparaison avec les systèmes biotiques et elle atteint une valeur maximale de  $8,1 \times 10^4$  pour le rapport C/N/P= 60/2/1 et 15% d'humidité.

Cette faible croissance est peut être également le fait de l'assimilation du carbone organique par les micro-organismes.

Par conséquent, l'élimination abiotique du gasoil n'a pas eu lieu seule de fait de la présence des micro-organismes.

#### b) Taux de croissance $\mu_{max}$

Les différents taux de croissance obtenus sont regroupés dans le tableau III.5. Les représentations graphiques sont données en annexe (IV).

**Tableau III.3 : Taux de croissance maximal-Sol 1**

C/N/P	Humidité(%)	$\mu_{\max}$ ( $j^{-1}$ )	R <sup>2</sup>
60/2/1	10	1,071	0,999
	15	0,698	0,975
	25	0,437	0,991
100/10/1	10	0,440	0,908
	15	0,920	0,999
	25	0,596	0,992
106/16/1	10	0,507	0,952
	15	0,888	0,998
	25	0,851	0,998
Echantillon témoin	10	0,301	0,955
	15	0,379	0,962
	25	0,305	0,978

D'après le tableau III.5 les taux de croissance varient entre 0,301 et 1,071 ( $j^{-1}$ ) en fonction des rapports C/N/P et des taux d'humidité. Il atteint une valeur maximale pour le rapport C/N/P=60/2/1 à 10% d'humidité.

**Chekir N.**, (2005) [56] a calculé les taux de croissance bactérienne  $\mu_{\max}$  dans différents bioréacteurs avec différentes vitesses d'aération, les résultats sont donnée par le tableau III.5.1

**Tableau III.3.a : Taux de croissance bactérienne relatifs aux vitesses d'aération (pollution à 4%, C/N/P= 100/10/1 et Hu= 15%).**

Vitesse d'aération (cm/s)	$\mu_{\max}$ ( $j^{-1}$ )
9,9	0,275
13,4	0,589
18	0,434

Les taux se situent entre 0,275 et 0,589 ( $j^{-1}$ ). Ces valeurs sont inférieures au moins de moitié par rapport à celles trouvées dans cas de notre traitement.

### III .2.1.2. Dosage des nutriments après traitement

A la fin de traitement, l'azote et le phosphore ont été dosés et leurs teneurs sont données dans le tableau III.6

**Tableau III.4 : Les teneurs des nutriments après traitement.**

Rapport	Humidité (%)	P <sub>total</sub> (10 <sup>+3</sup> mol/200g)	N <sub>total</sub> (10 <sup>+3</sup> mol/200g)	N/P
60/2/1	10	0,180	0,748	4,149
	15	0,310	1,03	3,322
	25	0,259	-	-
100/10/1	10	0,481	1,35	2,808
	15	0,127	1,192	9,430
	25	0,35	-	-
106/16/1	10	0,28	0,96	3,424
	15	0,053	0,25	4,716
	25	0,098	0,657	6,711
Echantillon témoin	10	0,11	0,429	3,906
	15	0,04	0,18	4,504
	25	0,093	0,331	3,558

Les valeurs affichées ci-dessus montrent que les micro-organismes épuisent et assimilent des quantités considérables en nutriments en particulier de phosphore. Ces valeurs correspondent à la phase du déclin et donc les éléments (N et P) sont des facteurs limitant de la biodégradation.

### III .2.1.3. Rendement d'élimination des hydrocarbures totaux du gasoil

Après traitement, l'extraction du gasoil par l'appareil « Ultrason » permet de déterminer les meilleurs rendements selon les rapports C/N/P et différentes humidités, les résultats de calcul sont inscrit dans le tableau III.7

**Tableau III.5 : Rendement d'élimination du gasoil-Sol 1**

Sol	Taux d'humidité	Rapport des nutriments	Rendement
Sol 1	10%	60/2/1	82,0%
	15%	100/10/1	77,5%
	15%	106/16/1	70,5%

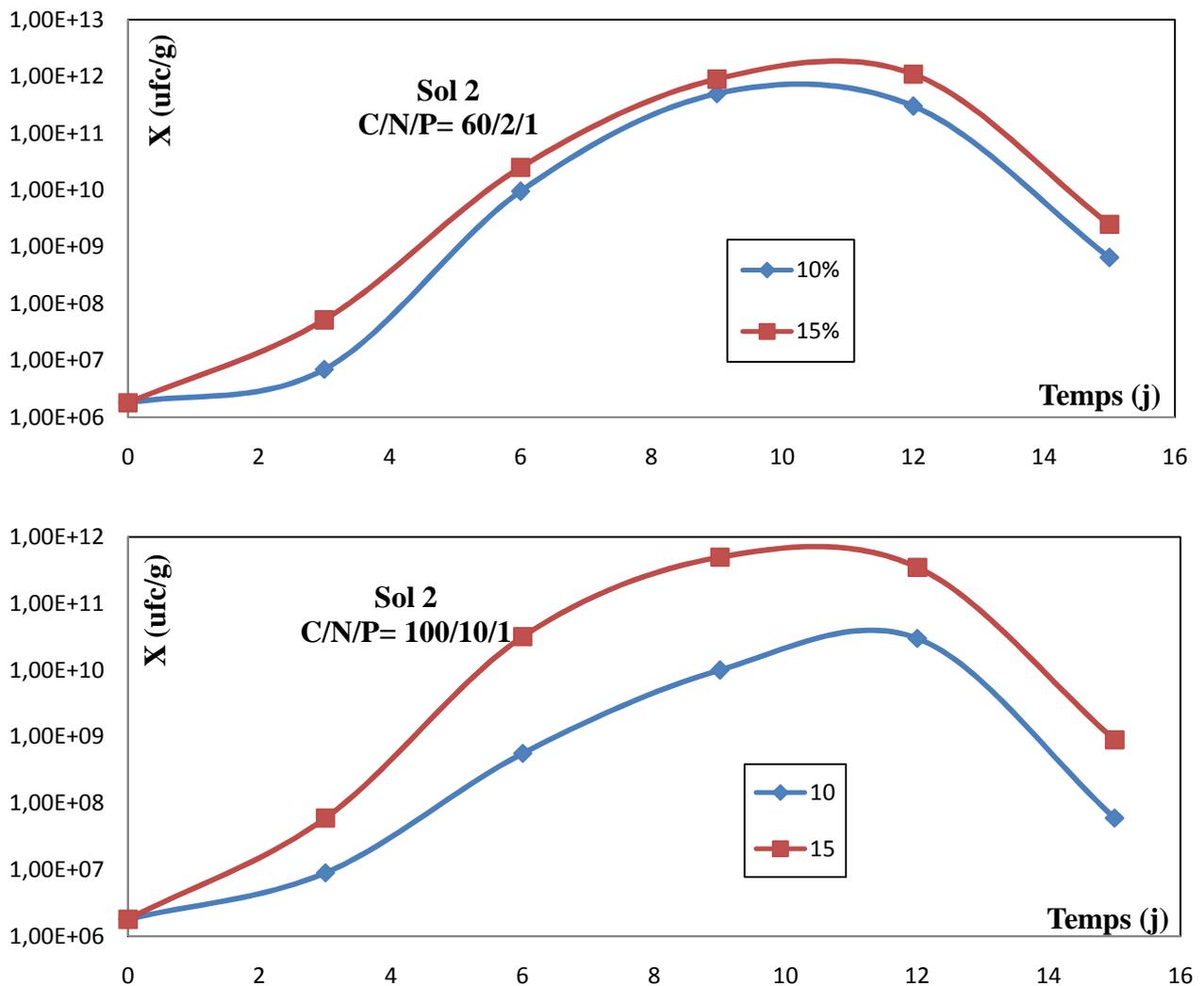
Il ressort du tableau précédent que le rendement d'élimination est important pour les trois rapports, mais dans le cas du rapport C/N/P=60/2/1 et 10% d'humidité il atteint une valeur maximale de 82,0% ce qui était prévisible en se référant au taux de croissance microbienne et au nombre de micro-organismes atteint.

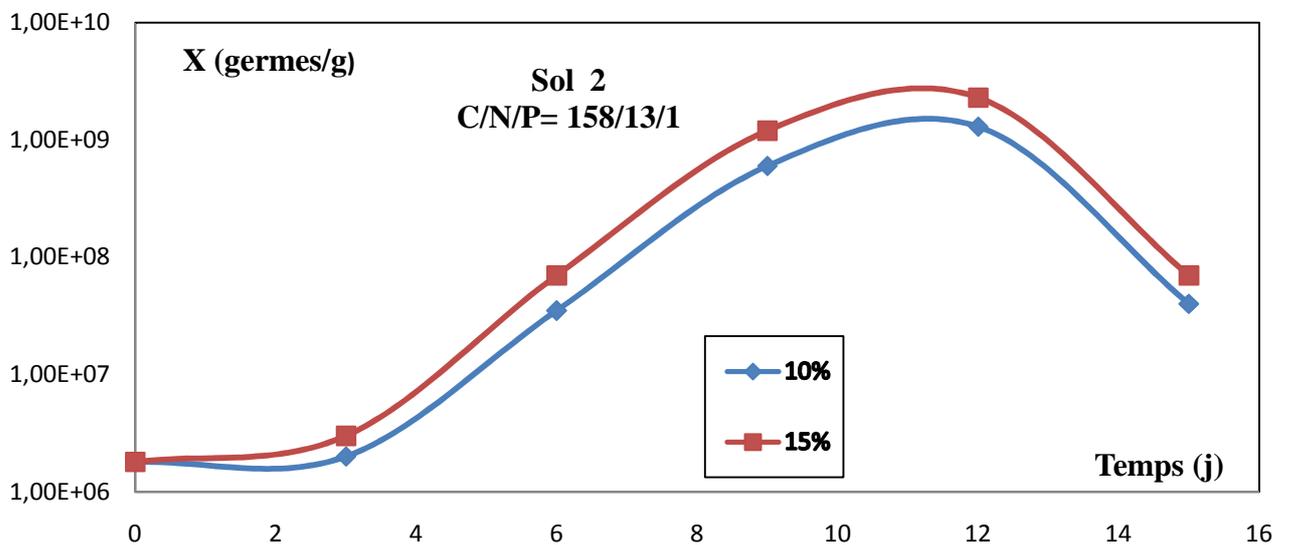
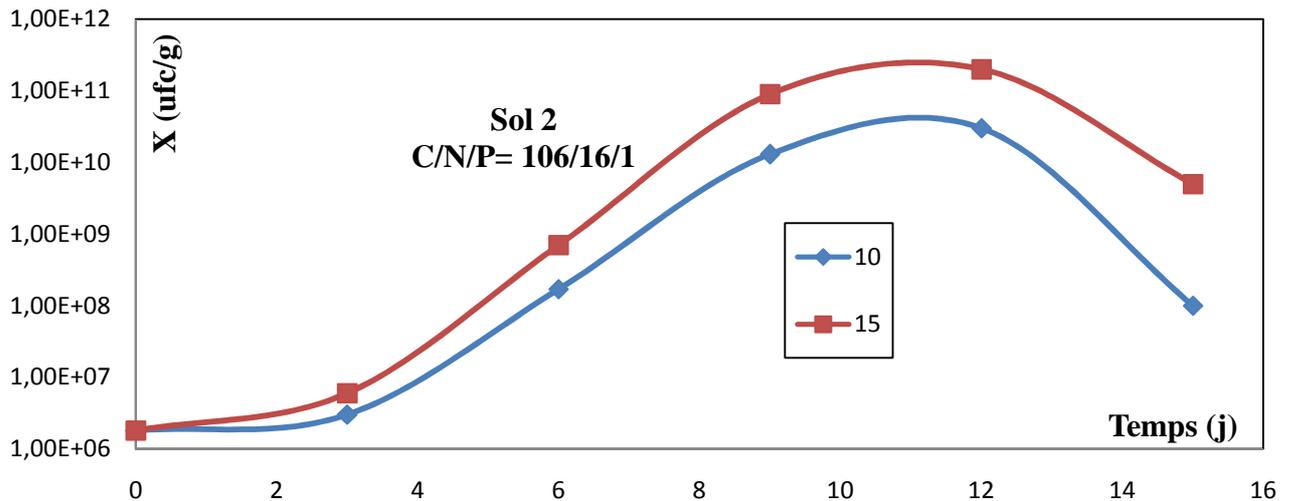
### III.2.2. Sol 2

Le sol a été pollué et amendé de la même façon que pour le sol sableux, l'humidité a été fixée à 10% et 15% seulement, car les taux trop élevés vont influencer la perméabilité de sol aux gaz et générer des conditions de limitation de transfert de l'oxygène et donc de limitation du métabolisme microbien aérobie [54].

#### III.2.2.1. Evolution de la biomasse

Le suivi de l'évolution de la biomasse à partir des échantillons prélevés chaque 3 jours a permis de tracer les courbes de croissance bactérienne au cours du temps (figure III.6).





**Figure III.4 :** Evolution de la biomasse au cours du temps à des différents taux d'humidité et différents rapports.

A partir des graphes précédents, on remarque que la phase d'adaptation dure 3 jours, ensuite la phase exponentielle dure 9 jours dans laquelle la croissance est maximale. En fin, le nombre des micro-organismes commence à diminuer à partir du 12<sup>ème</sup> jours.

Pour un même rapport de 60/2/1, la croissance microbienne atteint une valeur maximale de  $1,1 \times 10^{12}$  ufc/g pour un taux d'humidité de 15% tandis qu'elle est de  $3 \times 10^{11}$ .

Pour le même taux d'humidité de 15%, la croissance microbienne est plus importante pour le rapport 60/2/1. Elle est supérieure de 77%, 82% et 99% dans le cas des rapports 100/10/1, 106/16/1 et 158/13/1 (échantillon témoin) respectivement.

Il est à noter que la croissance microbienne dans le cas du sol 2 est moins importante par rapport au sol 1. En effet, le sol 2 accuse un accroissement maximal de  $1,67 \times 10^5$  tandis que le sol 1, c'est un accroissement de  $1,09 \times 10^6$  du nombre de micro-organismes. Donc le rapport 60/2/1 demeure optimal.

### III.2.2.2. Taux de croissance maximum

Il permet de comparer les vitesses de croissance bactérienne pour les différents essais. Les différents taux de croissance maximum obtenus sont regroupés dans le tableau III.6. Les représentations graphiques sont données en annexe (IV).

**Tableau III.6 :** Taux de croissance maximal-Sol 2.

<b>C/N/P</b>	<b>Humidité(%)</b>	<b><math>\mu_{\max}</math> (j<sup>-1</sup>)</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
<b>60/2/1</b>	10	1,128	0,982
	15	1,276	0,999
<b>100/10/1</b>	10	1,17	0,989
	15	1,35	0,97
<b>106/16/1</b>	10	1,395	0,999
	15	0,845	0,997
<b>Echantillon témoin</b>	10	0,99	0,999

D'après le tableau III.9, le taux de croissance varie entre 0,845 et 1,276 en fonction des rapports de C/N/P et de taux d'humidité. Il atteint une valeur maximale pour le rapport C/N/P=60/2/1 et taux d'humidité de 15%.

Le taux de croissance varie en fonction de l'humidité dont il est beaucoup plus important à 15% (C/N/P=100/10/1) et à 10% (C/N/P=106/16/1).

Le taux de croissance est plus élevé au sol 2 qu'au sol 1. En effet, il est plus élevé par rapport à ceux trouvés par CHEKIR (2005).

### III.2.2.3. Rendement d'élimination des hydrocarbures

Après extraction des hydrocarbures du gasoil de la matrice du sol 2 et pesée, les résultats de rendement d'élimination des hydrocarbures sont résumés dans le tableau ci-dessous

**Tableau III.7 : Taux d'élimination de gasoil-Sol 2**

Sol	Taux d'humidité	Rapport des nutriments	Rendement
Sol 2	15%	60/2/1	72,4%
	15%	100/10/1	60%
	15%	106/16/1	48%

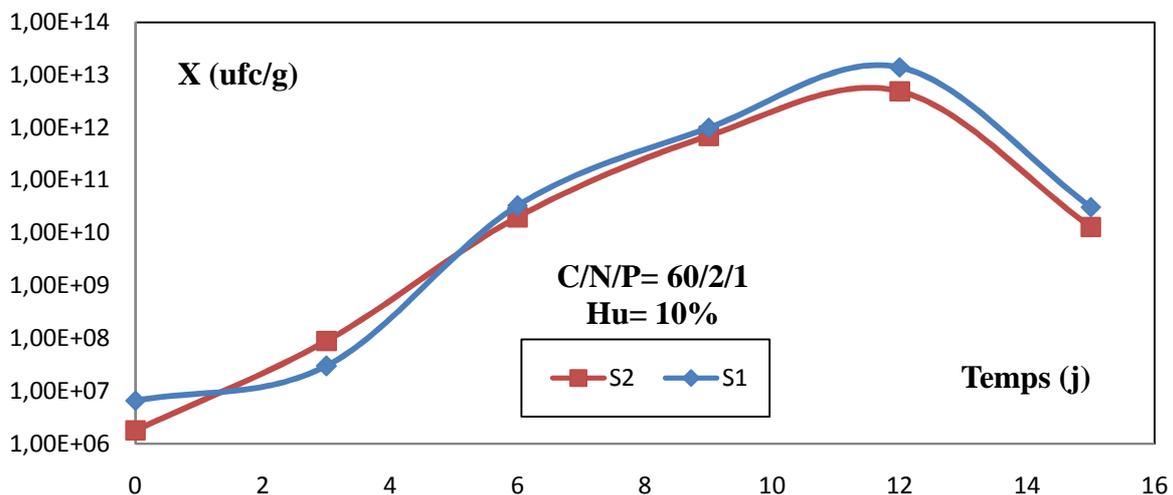
Il ressort des résultats obtenus que le rendement d'élimination est plus important pour le rapport C/N/P=60/2/1 et 15% d'humidité, il atteint une valeur maximale de 72,4%. Il reste toutefois inférieur à celui trouvé dans le cas du sol 1(82%).

### III.2.3. Bioréacteur aéré

Un essai de traitement a été réalisé dans un bioréacteur avec un débit d'aération de (35,4 cm<sup>3</sup>/s). Le sol pollué a été amendé par les nutriments selon le rapport de C/N/P=60/2/1 et de 10% d'humidité qui a donné de meilleurs résultats pour les essais précédents de sol 1.

#### III.2.3.1 : Evolution de la biomasse au cours du temps.

Le suivi de l'évolution de la biomasse à partir des échantillons prélevés chaque 3 jours a permis de tracer les courbes de croissance bactérienne au cours du temps (figure III.5).



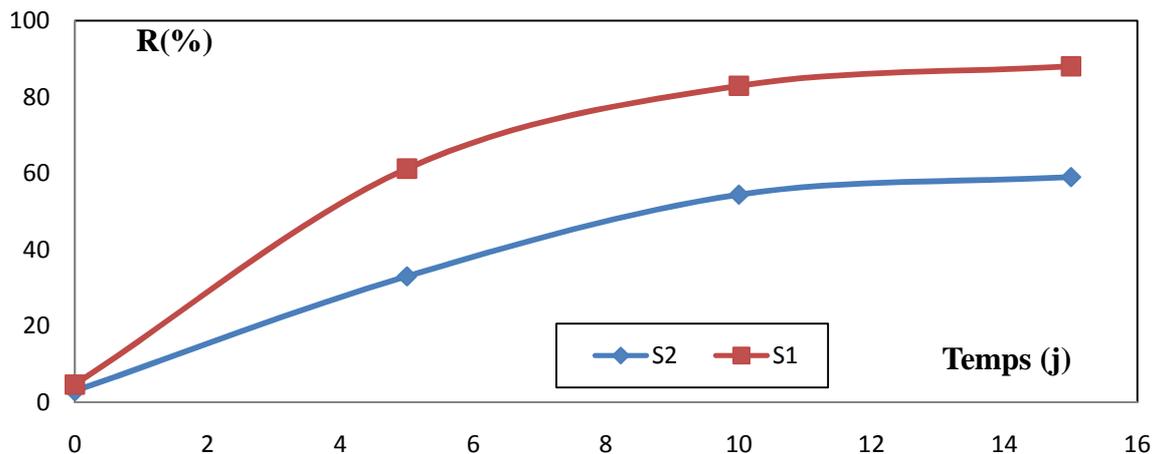
**Figure III.5 : Evolution temporelle de la biomasse dans le bioréacteur pour les deux sols**

La figure ci-dessus montre que le développement de la biomasse passe par deux phases, exponentielle et de déclin. Pour les deux sols, la croissance est plus importante par rapport à celle trouvée dans le cas des microcosmes, cela est dû à l'aération continue qui

favorise la multiplication microbienne. Par rapport aux deux sols, la biomasse est plus élevée pour le sol (S1) où elle atteint  $14 \times 10^{12}$  ufc/g et  $49 \times 10^{11}$  ufc/g pour le sol (S2), cette différence peut être expliquée par les caractéristiques de la texture des deux sols.

### III.2.3 .2 : Evolution de rendement d'élimination de gasoil

La figure suivante représente les rendements de dégradation aux cours du temps, dans le bioréacteur aéré pour les deux sols étudiés.



**Figure III.6 :** Rendement d'élimination de gasoil aux cours du temps

Le suivi de la concentration des hydrocarbures totaux du gasoil durant la période du traitement biologique pour les deux essais révèle une importante dégradation dont elle passe par deux étapes, une rapide et une deuxième correspond à la dégradation de la fraction difficilement dégradable du gasoil, le rendement est important dans le cas de sol (S1), qui atteint 88,4% contre 59% pour le sol (S2). Ceci s'explique par la différence de granulométrie, sachant que les autres paramètres ont été pris les mêmes pour les deux types du sol tels l'aération, le taux d'humidité et le rapport C/N/P.

Le rendement de ce procédé peut atteindre 99% si le temps de traitement est suffisamment long [28]

Les travaux de **Nano et coll [35]** ont montré que la décontamination en biopiles, est un procédé moins onéreux puisqu'il exige une faible énergie pour l'aération, ce qui rend la bioremédiation plus rentable même si elle exige une longue période de traitement.

### III.2.3.3 Cinétique de dégradation du gasoil

#### III.2.3.3.1. La réaction de dégradation et la constante de vitesse

Dans une première étape nous considérons la cinétique durant l'étape rapide et ensuite la cinétique qui tient compte des deux étapes de dégradation. Pour la première étape, la réaction est supposée comme étant de premier ordre, donc l'équation de la vitesse de dégradation s'écrit comme suit :

$$v = - \frac{d[HC]}{dt} = k[HC] \dots\dots\dots \text{III.1}$$

$$\int_{[HC]_0}^{[HC]} \frac{d[HC]}{[HC]} = -k \int_0^t dt \dots\dots\dots \text{III.2}$$

$$\text{Ln}\left(\frac{[HC]_0}{[HC]}\right) = kt \dots\dots\dots \text{III.3}$$

$$[HC] = [HC]_0 \exp(-kt) \dots\dots\dots \text{III.4}$$

Sachant que :

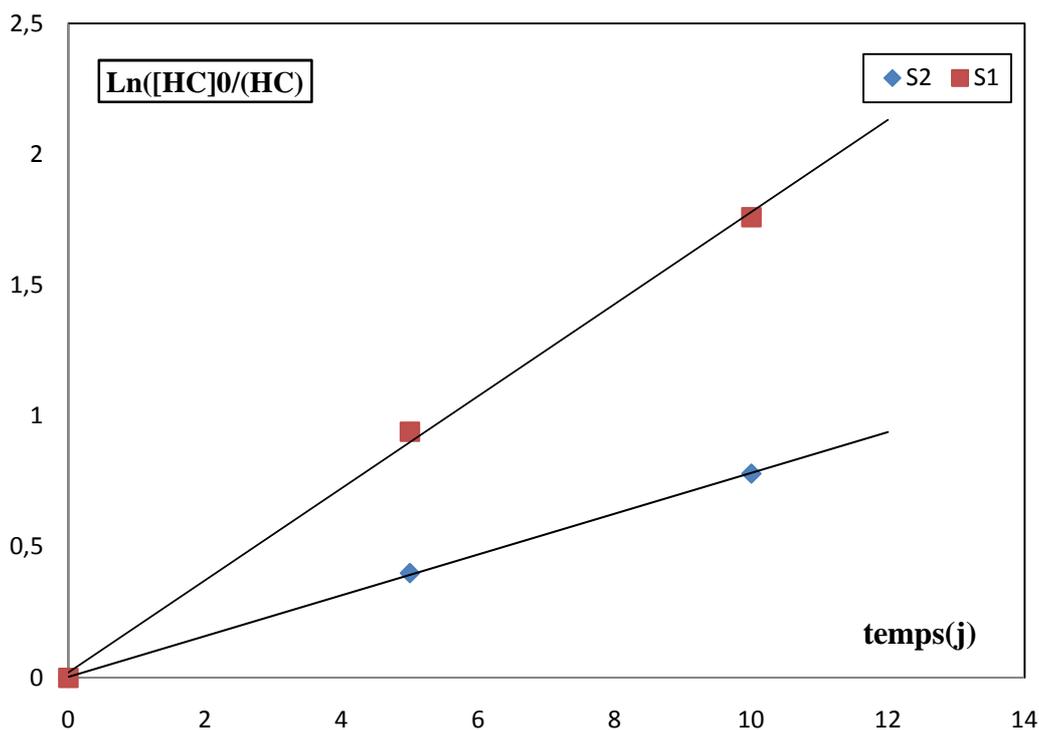
v: vitesse de la réaction.

[HC] : concentration résiduelle du gasoil.

[HC]<sub>0</sub> : concentration initiale du gasoil.

En traçant la courbe présentée par  $\text{Ln}\left(\frac{[HC]_0}{[HC]}\right)$  en fonction du temps, si cette courbe est une droite, alors la réaction est du premier ordre et la constante k est donnée par la sa pente

La figure (III.8) montre l'allure du tracé  $\text{Ln}\left(\frac{[HC]_0}{[HC]}\right)$  en fonction du temps.



**Figure III.7 :** Evolution de Ln ([HC]₀ / [HC]) en fonction du temps.

Les courbes sont des droites, ce qui affirme que l'ordre de la réaction est égal à 1 pour les deux sols dont les constantes de vitesse sont résumées dans le tableau ci-dessous:

**Tableau III.8 :** Les constantes de vitesse de dégradation du gasoil

Type de sol	K (j <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>
S1	0,176	0,961
S2	0,077	0,953

Avec :

$k_1$  : la constante de vitesse de dégradation pour le sol (S1)

$k_2$  : la constante de vitesse de dégradation pour le sol (S2)

Pour les deux types du sol la réaction de dégradation du gasoil est de premier ordre et la vitesse de la réaction dans le sol (S1) est plus importante par rapport au sol (S2).

**Arrar J.,** (2007) [55] a montré que la cinétique de dégradation des hydrocarbures de gasoil peut suivre une cinétique de deuxième ordre, le tableau suivant présente une comparaison des constantes cinétiques de biodégradation du gasoil et des n-alcanes étudiés.

**Tableau III.9** Comparaison des constantes cinétiques de biodégradation du  
gasoil et des n-alcanes étudiés

Gasoil/n-alcanes	Modèle 1er ordre		Modèle 2ème ordre	
	$k_{bio}$ (jour <sup>-1</sup> )	r	$k_{bio}$ (g kg.jour <sup>-1</sup> )	r
gasoil	0,108	0,964	0,002	0,913
<b>nC<sub>10</sub>-nC<sub>24</sub></b>	<b>0,180</b>	<b>0,968</b>	<b>0,012</b>	<b>0,907</b>

La constante de vitesse trouvée (0,108 j<sup>-1</sup>) par **Arrar J.**, (2007) [55] dans le cadre d'un traitement de sol contaminé par le gasoil (réacteur fluidisé à jet) est inférieure à celle trouvée dans le cas d'un réacteur à aération continue (0,176 j<sup>-1</sup>).

Dans une deuxième étape, nous prendrons en considération les deux phases rapide et lente de dégradation.

**a. Influence de la biomasse :**

L'importante multiplication cellulaire que traduit l'évolution de la matière sèche nous amène à considérer l'équation III.5.

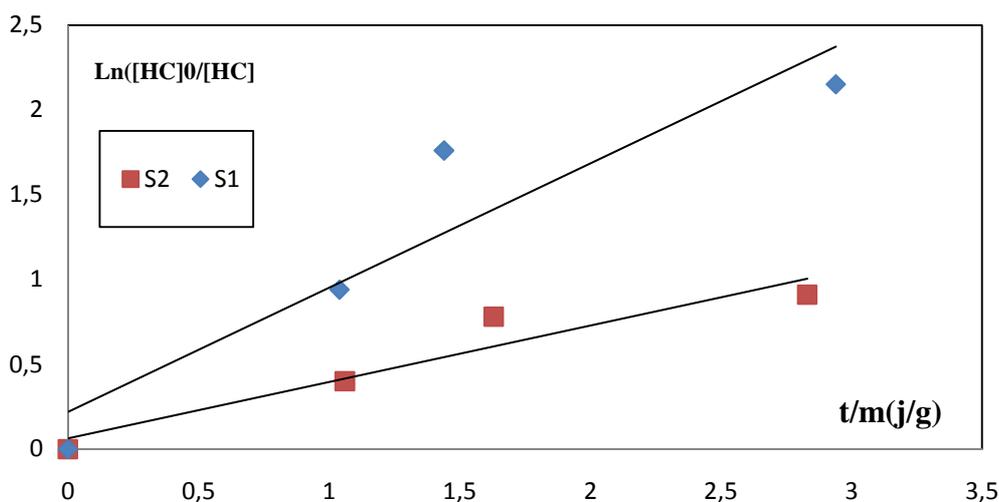
Elle découle de l'équation III.4, en posant que la constante cinétique k est inversement proportionnelle à la matière sèche par gramme de sol.

$$[HC] = [HC]_0 \exp(-k' t_i / m_i) \dots\dots\dots \text{III.5}$$

Avec :

$m_i$  : La masse microbienne à  $t_i$

La figure suivante représente le tracé de Ln ([HC]<sub>0</sub>/[HC]) en fonction du( t/m) :



**Figure III.8 :** Variation de  $\text{Ln} ([\text{HC}]_0/[\text{HC}])$  en fonction du  $(t/m)$

Les valeurs de  $k'$  sont :

$k'_1=0,078 \text{ (j}^{-1}\text{)}$  pour le sol (S1).

$k'_2=0,038 \text{ (j}^{-1}\text{)}$  pour le sol (S2).

Les nouvelles constantes de vitesse sont inférieures de 55% pour (S1) et de 50,6% pour (S2) à celles trouvées auparavant par ce que l'équation III.4 concerne seulement la fraction facilement dégradable de gasoil où la vitesse de la réaction est importante, par contre l'équation III.5 prend en charge aussi la fraction difficilement biodégradable.

**b. Influence de la fraction labile du gasoil :**

Le modèle suivant peut être utilisé dans le but de déterminer la fraction ( $\alpha$ ) des hydrocarbures facilement biodégradable et celle qui est difficilement biodégradable ( $1-\alpha$ ).

$$[\text{HC}]=\alpha \exp (-k_1 \times t) + (1- \alpha) \exp (-k_2 \times t) \dots\dots\dots\text{III.6}$$

Avec :

$k_1$ : constante de vitesse pour la fraction facilement dégradable.

$k_2$  : constante de vitesse pour la fraction difficilement dégradable.

$\alpha$  : fraction des hydrocarbures facilement dégradable.

En supposant que  $k_2$  tend vers 0, la dégradation des hydrocarbures du gasoil étant négligeable à ce stade, l'équation III.6 devient :

$$[\text{HC}] = [\text{HC}]_0 \alpha \exp (-k \times t) + (1- \alpha) [\text{HC}]_0 \dots\dots\dots\text{III.7}$$

$$[HC] - [HC]_0 = -\alpha [HC]_0 (1 - \exp(-k \times t))$$

Et en fin  $1 - ([HC] / [HC]_0) = \alpha (1 - \exp(-k \times t))$  .....**III.8**

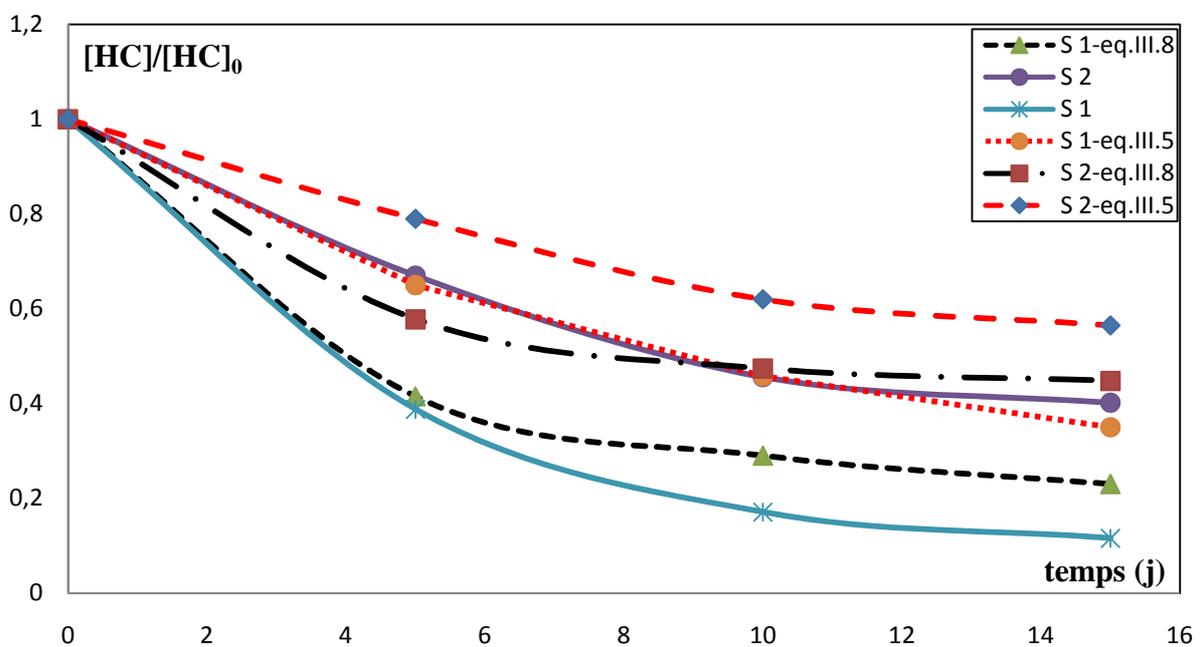
La résolution de l'équation III.8 par la progression non linéaire ou par les approximations mathématiques donne les résultats suivants :

$k_1 = 0,74 \text{ (j}^{-1}\text{)}$  et  $\alpha = 0,62$  pour le sol (S1)

$k_2 = 0,28 \text{ (j}^{-1}\text{)}$  et  $\alpha = 0,56$  pour le sol (S2)

Remarquons que les valeurs de ( $k_1$  et  $k_2$ ) sont supérieures de 72,5% pour (S1) et de 76,2% pour (S2) à celles trouvées par l'équation III.4 et cela veut dire que les micro-organismes utilisent rapidement les fractions facilement dégradables et ces dernières sont de 62% pour (S1) et 56% pour (S2), les différences peuvent être attribuées à la différence de biodisponibilité des hydrocarbures facilement biodégradables dans les sols de texture différente.

La représentation de l'évolution de  $[HC] / [HC]_0$  en fonction du temps à partir des résultats expérimentaux et des modèles théoriques étudié (III.5, III.8) pour les deux types de sols est donnée par la figure III.9.



**Figure III.9 :** Evolution temporelle de la concentration du gasoil pour les différentes approches théoriques

D'après ce graphe, une constante de vitesse assez grande est observée dans le cas de la cinétique qui tient compte que de la fraction facilement biodégradable ( $k=0,74 \text{ j}^{-1}$ ), par ailleurs la constante déterminée à partir des résultats expérimentaux est inférieure à celle citée précédemment, car dans ce cas on tient compte de la fraction facilement biodégradable et celle difficilement biodégradable (phase de croissance exponentielle). Par contre, la constante de vitesse est moindre ( $k=0,078 \text{ j}^{-1}$ ) dans le cas où la matière sèche est prise en compte, car ce modèle considère les deux parties de biodégradation (rapide et lente).

Il ressort des résultats obtenus que l'équation III.8 dans le cas du sol 1 (à caractère sableux) surestime les teneurs en TPH dans la deuxième phase de biodégradation. A l'inverse, il n'existe pas une bonne corrélation entre les résultats expérimentaux et ceux donner par l'équation III.5.

CONCLUSION  
GENERALE

L'objectif principal de ce travail est d'évaluer le potentiel de dégradation du gasoil dans des microcosmes et des bioréacteurs aérés et la cinétique de dégradation par des micro-organismes autochtones du sol qui ont été stimulés par les nutriments nécessaires à leur croissance en milieu aérobie.

Avant de procéder au traitement du sol pollué par du gasoil (10 g/kg de sol), amendé en nutriments selon les rapports C/N/P : 100/10/1, 60/2/1, 106/16/1 à des taux d'humidité différents maintenus à 10%,15% et 25% pour le sol (S1) et à 10% et 15% pour le sol (S2), nous avons déterminé les différents paramètres physico-chimiques et biologiques du sol avant la contamination.

Dans le cas des microcosmes :

La flore microbienne est passée de  $10^{+6}$  ufc/g à  $10^{+12}$  ufc/g pour le sol (S1) dans le cas d'un C/N/P=60/2/1 et de 10% d'humidité et de  $10^{+6}$  ufc/g à  $10^{+11}$  ufc/g pour le sol (S2) dans le cas d'un C/N/P=60/2/1 et de 15% d'humidité au cours du traitement.

Dans le cas de cette étude le taux de dégradation du gasoil est important dans le cas de sol(S1) où il atteint une valeur maximale de 82% pour un C/N/P=60/2/1 et de 10% d'humidité, par contre pour le sol (S2) il atteint 74% pour un C/N/P=60/2/1 et de 15% d'humidité.

La corrélation trouvée entre le nombre des micro-organismes et leurs matière sèche met en évidence que l'évolution de la biomasse peut être suivi à partir de la détermination de la matière sèche que celle de dénombrement qui nécessite 48h d'incubation.

Dans le cas de bioréacteur aéré :

La population microbienne est passée de  $10^{+6}$  ufc/g à  $10^{+13}$  ufc/g pour le sol (S1) dans le cas d'un C/N/P=60/2/1 et de 10% d'humidité et de  $10^{+6}$  ufc/g à  $10^{+12}$  ufc/g pour le sol (S2) pour le même C/N/P et de 10% d'humidité

Le rendement d'élimination de gasoil atteint une valeur de 88,4% pour le sol (S1) contre seulement 59% pour le sol (S2).

La cinétique de dégradation des hydrocarbures suit une loi du 1er ordre. Les constantes cinétiques de dégradation du gasoil étudiée mettent en évidence que la dégradation des hydrocarbures totaux du gasoil passe par deux étapes, une rapide qui concerne la fraction

facilement biodégradable et une deuxième lente concerne la fraction difficilement assimilable du gasoil.

L'élimination du gasoil est plus rapide dans le cas de sol (S1) qui est supérieure de 56,2% par rapport au sol (S2).

Le suivi de la cinétique en tenant compte de la matière sèche des micro-organismes montre que la vitesse de dégradation est moins importante, car il tient compte des deux étapes de dégradation celles rapide et ralentie.

La fraction facilement biodégradable du gasoil est de 62% pour le sol (S1) et de 56% pour le sol (S2).

REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Budzinski H. K., LeMenech K., Bellocq J., et Garrigues P.,** Problématique de l'analyse des contaminants organiques semi volatils dans les matrices environnementales: approches qualitatives et quantitatives, Université Bordeaux, (1995).
2. **Cerniglia C. E.,** Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons, *Biodegradation*, 3, (1992), pp 351-368.
3. **Costes J. M. et Druelle V.,** Les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans l'environnement; la réhabilitation des anciens sites industriels, *Revue de l'institut Français du pétrole*, 52, (1997), pp 425-440.
4. **Wauquier J. P.,** Pétrole brut : produits pétroliers, schémas de fabrication, édition Technip, Paris, (1994).
5. **Chitour C. E.,** Propriétés physiques des hydrocarbures et des fractions pétrolières, Office des Publications Universitaires d'Alger, (1999).
6. **Duchaufour P.,** Pédologie, Sol, Végétation, Environnement abrégé, Masson, (1998), 5<sup>ème</sup> édition.
7. **Barriuso E. R., Calvet R., Schiavon M. et Soulas G.,** Les pesticides et les polluants organiques des sols, transformation et dissipation, *Etude et gestion de sols*, 3, (1996), pp 279-295.
8. **Riviere J.,** Evaluation du risque écologique des sols pollués, Edition Fleur Noir, Paris, (1979).
9. **Ghazali M. G., Abdulrahman R. N. Z., Salleh A., et Basri M.,** Biodegradation of hydrocarbons in soil by microbial consortium, *International Biodeterioration & biodegradation*, 54, (2004), pp 61-67.
10. **Marchal A., Penet S., Solano-Serena F. et Vandecasteele J. P.,** Gasoline and Diesel oil biodegradation, *Oil & gas science and technology – Rev French Institute of petroleum*, 58, (2003), pp 441-448.
11. **Vandecasteele J. P., Fayolle F., Marchal R., Chauvaux S., Béguin P., et Monot F.,** Biodégradation des produits pétroliers. Le cas des essences et des éthers-carburants, *Bulletin de la Société Française Microbiologique*, 16, (2001), pp 184-189.

12. **Brinkmann D., Röhrs J., et Schügerl K.,** Bioremediation of diesel fuel contaminated soil in a rotating bioreactor, *Chem. Eng. Technol*, 21, (1998), pp 168-172.
13. **Fotinich A., Dhir V. K., et Lingineni S.,** Remediation of simulated soils contaminated with Diesel, *Journal of Environmental Engineering*, (1999), pp 36-46.
14. **Berry K. A. T., et Burton D. L.,** Natural attenuation of diesel fuel in heavy clay soil, *Canadian Journal of soil science*, 77, (1997), pp 469-477.
15. **Gabet S.,** Remobilisation d'hydrocarbures aromatiques polycycliques présents dans les sols contaminés à l'aide d'un tensioactif d'origine biologique, Thèse Doctorat de l'université de Limoges, (2004).
16. **Abul-Kassim T. A. T., et Simoneit B. R. T.,** Pollutant-solid phase interaction, Mechanisms, chemistry and modeling, spring edition, Germany, (2001).
17. **Dibble J. T. et Bartha R.,** Effect of environmental parameters on the biodegradation of oil sludge, *Applied Environmental Microbiology*, 37, (1979), pp 729-739.
18. **Leclerc H.,** Microbiologie appliquée, édition Dion, Paris, (1977).
19. **Atlas R. M.,** Microbial degradation of petroleum an environmental perspective, *Microbial Review*, (1981).
20. **Gibb A., Chu A., Chik Kwong Wong R. et Goodman R. H.,** Bioremediation kinetics of crude oil at 5°C, *Journal of Environmental Engineering*, ASCE 127, (2001), pp 818-823.
21. **Scriban R. et Coordonnateur.,** Biotechnologie, Technique et documentation, Paris, 5<sup>ème</sup> édition, (1999).
22. **Coulon F., Pelletier E., Gourhant L. et Dellile D.;** Effects of nutrient and temperature on degradation of petroleum hydrocarbons in contaminated sub-Antarctic soil ; *Chemosphere*, 58 (2005) pp 1439-1448.
23. **Delille D., Coulon F. et Pelletier E.,** Effects of temperature warming during a bioremediation study of natural and nutrient-amended hydrocarbon-contaminated sub-Antarctic soil, *Cold Regions Science and Technology*, 40, (2004), pp 61-70.
24. **Gray M. R., Banerjee D. K., Dudas M. J. et Pickard M. A.,** Protocols to enhance biodegradation of hydrocarbon contaminants in soil, *Bioremediation Journal*, 4, (2000), pp 249-257.

25. **Greer C. W., Fortin N., Roy R., Whyte L. G. et Lee K.,** Indigenous sediment microbial activity in response to nutrient enrichment and plant growth following a controlled oil spill on a freshwater wetland, *Bioremediation Journal*, 7, (2003), pp 69-80.
26. **Reardon K. F., Mosteller D. C. et Rogers J. D. B.,** Biodegradation kinetics of benzene, toluene, and phenol as single and mixed substrates for *Pseudomonas putida* F1, *Biotechnology and Bioengineering*, 69, (2000), pp 385– 400.
27. **Van Beilen J. B., Li Z., Duetz W. A., Smith T. H. M. et Witholt B.,** Diversity of alkane hydroxylase systems in the environment, *Oil and Gas Science Technology*, 58, (2003), pp 427-440.
28. **Vogel Timothy M.,** Bioremédiation des sols, *Techniques de l'ingénieur*, J3, (2001).
29. **Li G., Huang W., Lerner D. N. et Zhang X.,** Enrichment of degrading microbes and bioremediation of petrochemical contaminants in polluted soil, *Water Research*, 34, (2000), pp 3845-3853.
30. **Mukherji S., Jagadevan S., Mohapatra G. et Vijay A.,** Biodegradation of diesel oil by an Arabian sea sediment culture isolated from the vicinity of an oil field, *Bioresource Technology*, 95, (2004), pp 281-286.
31. **Zappi E., Rogers B. A., Teeter C. L., Gunnison D. et Bajpai R.,** Bioslurry treatment of soil contaminated of total petroleum hydrocarbons, *Journal of Hazardous Materials*, 46, (1996), pp 1-12.
32. **Singleton P.,** *Bactériologie*. Dunod, (1999), 4<sup>ème</sup> édition.
33. **Ballerini D.,** *Traitements biologiques des sols*, *Techniques de l'ingénieur*, G2, (1999).
34. **Davis J. W. et Madsen S.,** Factors affecting the biodegradation of toluene in soil, *Chemosphere*, 33, (1996), pp 170-130.
35. **Nano G., Borroni A., Jacomelli A., et Rota R.,** Bioremediation of polluted soils with slurry and solid-phase bioreactors, *Chemical Engineering Transactions*, 3, (2003), pp 853-858.
36. **Sabaté J., Vinãs M., et Solanas A. M.,** Laboratory-scale bioremediation experiments on hydrocarbon-contaminated soils, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 54, (2004), pp 19-25.
37. **Schultz., Christian.,** Method for the rehabilitation of soil contaminated by hydrocarbons and other substances, (301, coteau de guindalos, Gélols, F-64110, France), Publication de 30/09/1998.

- 38. Pierre Juteau, Jean-Guy Bisailon, François Lepine, Valerie Ratheau, Rejean Beaudet, et Richard Villemur**, *Biodegradation*, 14, (2003), pp 31–40.
- 39. Harrison Ifeanyichukwu Atagana**, *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 19, (2003), pp 571–581.
- 40. Lecomte P.**, *Les sites pollués; traitement des sols et des eaux souterraines*, édition Lavoisier, Paris, (1995).
- 41. Micheal Koning, Karsten Hupe, et Rainer Stegmann.**, *Environmental Biotechnology. Concepts and Applications*. Edited by H. Jördening and J. Winter. Copyright © 2005. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Weinheim. ISBN: 3-527-30585-8.
- 42. Choi Y. B., Lee J. Y., et Kim H. S.**, A novel bioreactor for the biodegradation of inhibitory aromatic solvents: Experimental results and mathematical analysis, *Biotechnology and Bioengineering*, 40, (1992), pp 1403-1411.
- 43. Coulon F. et Delille D.**, Effects of biostimulation on growth of indigenous bacteria in sub-antarctic soil contaminated with oil hydrocarbons, *Oil & Gas Science and Technology – Rev. French Institute of Petroleum*, 58, (2003), pp 469-479.
- 44. Rosenberg E., Legman R., Kushmaro A., Adler E., Abir H. et Ron E. Z.**, Oil bioremediation using insoluble nitrogen source, *Journal of Biotechnology*, 51, (1996), pp 273-278.
- 45. Yerushalmi L., Rocheleau S., Cimpoia R., Sarrazin M., Sunahara G., Peisajovich A., Leclair G. et Guiot S. R.**, Enhanced Biodegradation of Petroleum Hydrocarbons in Contaminated Soil, *Bioremediation Journal*, 7,( 2003), pp 37-45.
- 46. Gallegos Martinez M., Gémoz Santos A., González Cruz L., Montes de Oca Garcia M. A., Yanez Trujilio L., Zermeno Eguia Lis J. A., et Gutiérrez-Rojas M.**, Diagnostic and resulting approaches to restore petroleum contaminated soil in a Mexican tropical swamp, *Water Science and Technology*, 42, (2000), pp 377-384.
- 47. Cookson J. T. Jr.**, *Bioremediation Engineering: Design and Application*. McGraw-Hill Edition. New York. (1995).
- 48. Barooah M. et Borthakur H. P.**, Biodegradation of hydrocarbon in soil of upper Assam, *Journal of the Indian Society of Soil Science*, 47, (1999), pp 62-67.
- 49. Samson R.**, *Les technologies ex situ: biorestauration des sols contaminés*, centre québécois de valorisation de la biomasse (CQVB), (1997).

- 50. Abbassi E. A. et Shquirat W. D.,** Kinetics of indigenous isolated bacteria used for ex situ bioremediation of petroleum contaminated soil, *American-Eurasian J. Agric & Environ. Sci.*, 2, (2007), pp 761-766.
- 51. Venosa A. D., Lee K., Suidan M. T., Gercia-Blanco S., Cobanli S., Moteleb M., Haines J. R., Tremblay G. et Hazelwood M.,** Bioremediation and biorestitution of Crude oil contaminated Freshwater wetland on the St. Lawrence River, *Bioremediation Journal*, 6, (2002), pp 261-281.
- 52. Cassidy D. P., Efendiev S. et White D. M.,** A comparison of CSTR and SBR bioslurry reactor performance, *Wat. Res.*, 34, (2000), pp 4333-4342.
- 53. Ferguson S. H., Franzmann P. D., Revilld A. T., Snape I. et Rayner J. L.,** The effects of nitrogen and water on mineralisation of hydrocarbons in diesel-contaminated terrestrial Antarctic soils, *Cold Regions Science and Technology*, 37 (2003), pp 197-212.
- 54. Ballerini D.,** Traitements biologiques des sols, *Techniques de l'ingénieur*, G2 (1999).
- 55. Arrar J.,** Etude d'un réacteur fluidisé à jet central ascendant gaz-solide. Application au traitement d'un sol pollué par du gasoil, Thèse de doctorat, Ecole Nationale Polytechnique, (2007).
- 56. Chekir N.,** Bioremédiation d'un sol pollué par les hydrocarbures (gasoil) dans un bioréacteur fluidisé à jet, Mémoire de magister, Ecole Nationale Polytechnique, (2005).

# ANNEXES

## ANNEXE I

### ANALYSE GRANULOMETRIQUE

La répartition granulométrique d'un solide peut être obtenue par tamisage. Le tamisage s'opère selon des normes bien précises. A la fin de l'opération, on pèse le solide recueilli sur chacun des tamis et on porte les résultats sous forme de pourcentage pondéral retenu ou pourcentage cumulatif.

Le tamisage permet de caractériser l'échantillon par l'un des diamètres suivants :

Diamètre arithmétique : 
$$d_a = \frac{\sum m_i \times d_i}{\sum m_i}$$

Diamètre harmonique : 
$$d_h = \frac{\sum m_i}{\sum \frac{m_i}{d_i}}$$

Diamètre de surface : 
$$d_s = \sqrt{\frac{\sum m_i d_i^2}{\sum m_i}}$$

Diamètre de volume : 
$$d_v = \sqrt[3]{\frac{\sum m_i d_i^3}{\sum m_i}}$$

**Avec :**

$m_i$ : la masse du solide recueillie dans le tamis (i) en (g) ;

$d_i$  : le diamètre moyen des particules retenues dans le tamis d'ouverture  $d_{Ai}$  en ( $\mu\text{m}$ ).

Il se calcule comme suit : 
$$d_i = (d_{ai-1} + d_{ai})/2$$

#### I.1. le sol argileux

**Tableau I.1:** La distribution granulométrique des particules du sol argileux

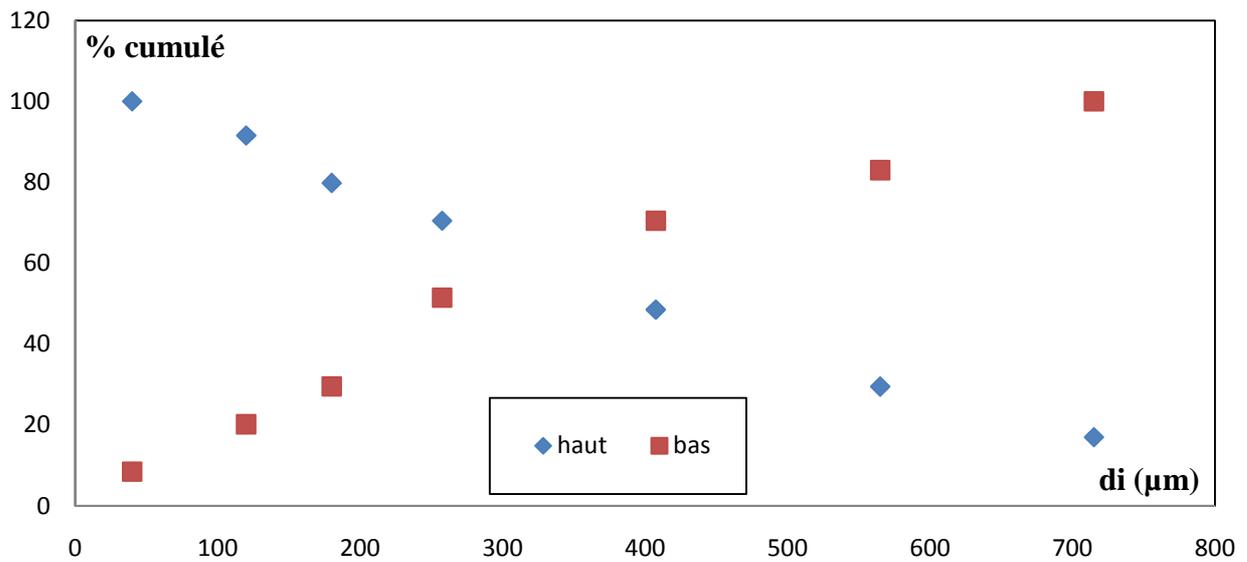
N ° du tamis	$d_{Ai}$ ( $\mu\text{m}$ )	$d_i$ ( $\mu\text{m}$ )	$m_i$ (g)	% masse retenue	% massique cumulé en haut	% massique cumulé en bas
1	800	-	-	-	-	-
2	630	715	90,1	17,01	17,01	100
3	500	565	66,2	12,50	29,51	82,99
4	315	407,5	100,7	19,01	48,52	70,49
5	200	257,5	116,4	21,98	70,5	51,48
6	160	180	49,5	9,34	79,84	29,5
7	80	120	62,1	11,72	91,56	20,16
8	0	40	44,6	8,44	100	8,44

$d_a = 360,67 \mu\text{m}$

$d_s = 421,79 \mu\text{m}$

$d_h = 185,78 \mu\text{m}$

$d_v = 467,47 \mu\text{m}$



**Figure I.1:** La distribution granulométrique des particules du sol argileux.

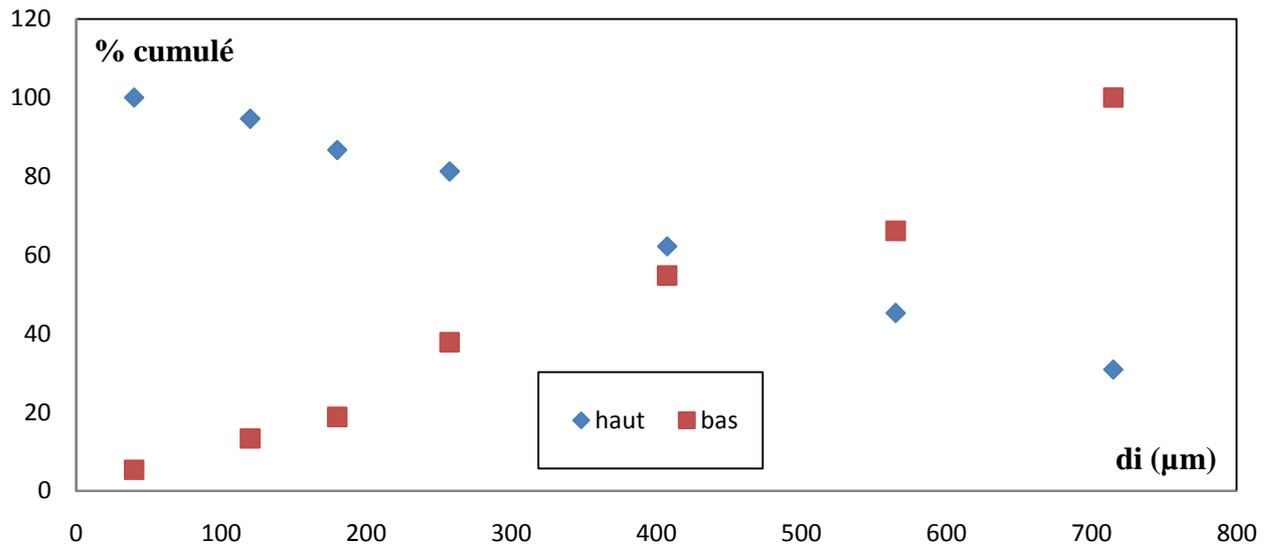
A partir de la figure I.1 le diamètre des particules de l'argile est  $d_p = 320,62 \mu\text{m}$

## I.2. le sol sableux

**Tableau I.2 :** La distribution granulométrique des particules du sable

N° du tamis	dAi (µm)	di (µm)	mi (g)	% masse retenue	% massique cumulé en haut	% massique cumulé en bas
1	800	-				
2	630	715	235,2	30,86	30,86	99,99
3	500	565	109,6	14,38	45,24	66,11
4	315	407,5	129,2	16,95	62,19	54,73
5	200	257,5	145,1	19,04	81,23	37,78
6	160	180	41,5	5,44	86,67	18,77
7	80	120	60,6	7,95	94,62	13,3
8	0	40	40,8	5,35	99,99	5,35

$d_a = 441,09 \mu\text{m}$        $d_s = 497,02 \mu\text{m}$   
 $d_h = 241,03 \mu\text{m}$        $d_v = 501,04 \mu\text{m}$



**Figure I.2 :** La distribution granulométrique des particules du sable

A partir de la figure I.2 le diamètre des particules du sable est :  $d_p = 449,41 \mu\text{m}$

## ANNEXE II

### DETERMINATION DE LA MASSE VOLUMIQUE DU SOLIDE ET DU POLLUANT

La masse volumique du solide a été déterminée par la méthode dite du pycnomètre, qui consiste à introduire une masse « m » connue du solide dans une éprouvette gradué qu'on remplit par la suite avec de l'eau jusqu'à un certain volume.

La masse totale pesée est la somme de la masse du solide, de la masse de l'eau dans les pores et de celles en excès.

$$\rho_s = m_s / v_s = m_s / (v_t - v_p)$$

$$v_p = m_p / \rho_{H_2O} = (m_t - m_s - m_{ex}) / \rho_{H_2O}$$

soit :

$m_T$ : masse totale

$m_s$  : masse du solide

$m_{ex}$  : masse d'eau en excès

$m_p$  : masse de l'eau dans les pores.

$V_p$  : volume d'eau emprisonné dans les pores

$V_s$  : volume du solide

$V_T$  : volume total avec  $V_T = V_s + V_p$

$\rho_s$ : masse volumique du solide et elle est définie comme étant le rapport de la masse du solide sur son volume.

$$m_{ex} = V_{ex} \times \rho_{H_2O} \quad \text{avec } \rho_{H_2O} = 1 \text{ g/cm}^3$$

$$D'où : m_{ex} = V_{ex}$$

### Calcul d'erreur sur la détermination de la masse volumique du solide

$$\frac{\Delta \rho}{\rho_s} = \frac{\Delta m_s}{m_s} + \frac{\Delta V_t}{V_t - V_p} + \frac{\Delta V_p}{V_t - V_p}$$

$$\frac{\Delta V_p}{V_p} = \frac{\Delta m_p}{m_p} + \frac{\Delta \rho_{H_2O}}{\rho_{H_2O}} = \frac{\Delta m_p}{m_p} \quad \text{car } \frac{\Delta \rho_{H_2O}}{\rho_{H_2O}} = 0$$

$$m_p = m_t - m_s - m_{ex} \rightarrow \frac{\Delta m_p}{m_p} = \frac{\Delta m_t}{m_t} + \frac{\Delta m_s}{m_s} + \frac{\Delta m_{ex}}{m_{ex}}$$

$$\Delta V_p = V_p \times \frac{\Delta m_p}{m_p} = V_p \left[ \frac{\Delta m_t}{m_t} + \frac{\Delta m_s}{m_s} + \frac{\Delta m_{ex}}{m_{ex}} \right]$$

Finalement

$$\frac{\Delta \rho_s}{\rho_s} = \frac{\Delta m_s}{m_s} + \frac{\Delta V_t}{V_t - V_p} + \frac{V_p \left[ \frac{\Delta m_t}{m_t} + \frac{\Delta m_s}{m_s} + \frac{\Delta m_{ex}}{m_{ex}} \right]}{V_t - V_p}$$

Sol 1

$$m_T = 77,46 \text{ g}$$

$$m_s = 20,02 \text{ g}$$

$$\begin{aligned}m_{\text{ex}} &= 52 \text{ g} \\V_{\text{T}} &= 18 \text{ cm}^3 \\ \Delta V_{\text{p}} &= 0,011 \text{ cm}^3\end{aligned}$$

$$\rho = (1,593 \pm 0,024) \text{ et la porosité } \varepsilon = 0,302$$

Sol 2

$$\begin{aligned}m_{\text{T}} &= 25,02 \text{ g} \\m_{\text{S}} &= 6,6 \text{ g} \\m_{\text{ex}} &= 16,47 \text{ g} \\V_{\text{T}} &= 7,53 \text{ cm}^3 \\ \Delta V_{\text{p}} &= 0,01 \text{ cm}\end{aligned}$$

$$\rho = (1,718 \pm 0,012) \text{ et la porosité } \varepsilon = 0,263$$

La masse volumique du gasoil a été déterminée en utilisant un pycnomètre (d'une capacité de 25 mL) et un densimètre.

Dont :

$m_{\text{p}}$  = la masse de pycnomètre vide = 24,8754 g ;

$m_{\text{e}}$  = la masse de pycnomètre rempli d'eau = 45,9504 g ;

$m_{\text{g}}$  = la masse de pycnomètre rempli de gasoil = 49,7504 g ;

$\rho_{\text{g}}$  : la masse volumique de gasoil ;

$d_{\text{g}}$  : la densité de gasoil ;

$$\rho_{\text{g}} = 0,843 \text{ g/cm}^3 \text{ et } d_{\text{g}} = 0,847$$

la mesure directe donne :  $d = 0,848$

## ANNEXE III

### DOSAGES ET COURBES D'ETALONNAGE DES NUTRIMENTS

Dans tout ce qui suit, la solution de sol a été préparée en mettant 10g du sol dans 100 mL d'eau distillée pour chaque dosage.

Pour le dosage des éléments ( $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{PO}_4^-$ ) existants dans le sol, on procède de la même manière qu'en étalonnage sauf qu'à la place de mettre la solution étalon, on met la solution de sol.

#### III.1. Nitrites

- **Mode opératoire**

Dans une série de fioles jaugées de 50mL ;

- Introduire les volumes suivant : 0- 1- 2,5- 5- 7,5 -10 mL de la solution étalon d'azote nitreux à 1mg/L ;
- Compléter à 50 mL avec de l'eau permutée ;
- Ajouter 1mL de réactif de diazotation dans chaque fiole ;
- Effectuer la mesure de la D.O par le spectrophotomètre à la longueur d'onde de 543 nm. Les résultats sont regroupés dans le tableau (3.a)

- **Solution étalon**

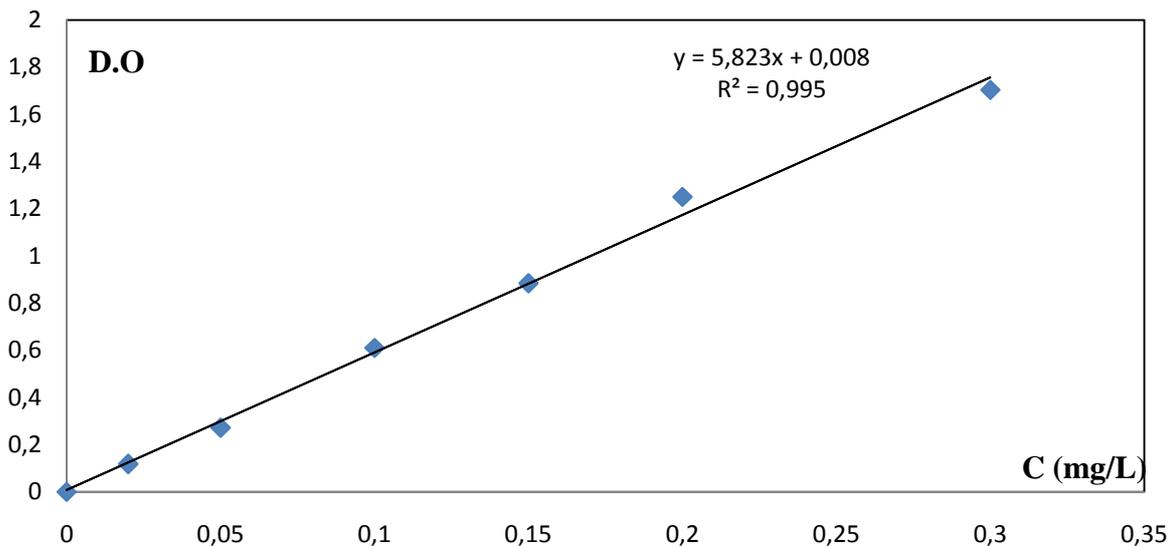
- Dissoudre 492,8 g de nitrite de sodium dans 1000 mL d'eau distillée ;
- Conserver dans un flacon en verre inactinique ;
- Prélever 10 mL et compléter à 1000 mL avec de l'eau distillée.

- **Réactif de diazotation**

- Mélanger dans un bécher, 800 mL d'eau distillée et 100 mL d'acide phosphorique ;
- Ajouter 40 g de l' amino-4-benzènesulfonamide ;
- Après dissolution, ajouter 2 g de dichlorure de N-(naphtyl-1) diamino-1-2 éthane ;
- Agiter puis transvaser la solution dans une fiole de 1000 mL et compléter le volume avec de l'eau distillée.

**Tableau III.1** : Courbe d'étalonnage des nitrites

C(mg/l)	0	0,02	0,05	0,1	0,15	0,2	0,3
D0	0	0,118	0,272	0,61	0,884	1,25	1,703



**Figure III.1 :** Courbe d'étalonnage des nitrites

### III.2. Azote ammoniacal

- **Mode opératoire**

Dans une série de fioles de 50ml ;

- Introduire de la solution étalon d'azote ammoniacal (100 mg/L) préalablement diluée au dixième, les volumes suivants : 0- 1- 2- 5-10- 15- 20 mL ;
- Compléter à 50ml avec de l'eau distillée et ajouter 2ml de la solution de tartrate double de sodium et de potassium. Mélanger ;
- Ajouter 2mL de réactif de Nessler et mélanger à nouveau ;
- Attendre 10 min et effectuer les mesures par le spectrophotomètre à la longueur d'onde de 420 nm. Les résultats sont regroupés dans le tableau (3.c)

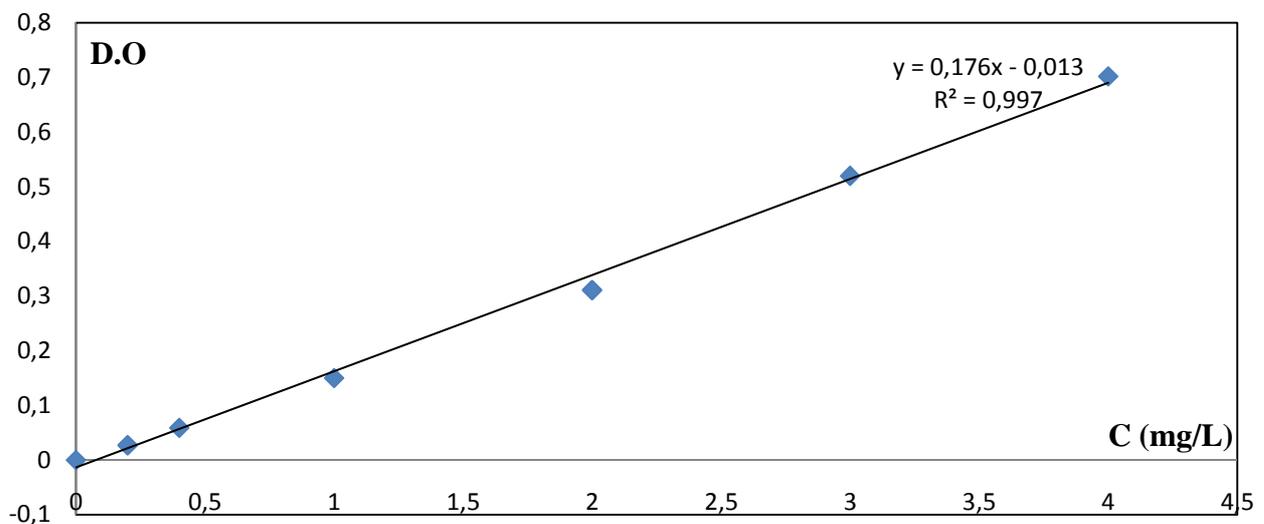
- **Préparation des solutions**

- Solution étalon: dissoudre 297g de chlorure d'ammonium dans de l'eau distillée et amener à 1000 mL dans une fiole jaugée.
- Réactif de Nessler :
  - Traiter une solution de 50g de iodure de potassium dans 35mL d'eau par une solution saturée de chlorure de mercure (II) jusqu'à ce qu'un précipité subsiste ;
  - Ajouter en suite 400mL de solution d'hydroxyde de sodium 9N. Ajuster à 1000 mL dans une fiole jaugée ;
  - Laisser reposer et décanter.

- Tartrate double de potassium et de sodium :
  - Dissoudre 500g de tartrate double de potassium et de sodium dans 1000mL d'eau distillée chaude ;
  - Après refroidissement, ajouter 50mL de réactif de Nessler. Laisser reposer 2 jours et filtrer ce qui permet d'éliminer les ions ammonium présents dans l'eau ou dans le réactif.

**Tableau III.2** : Courbe d'étalonnage de l'azote ammoniacal

C(mg/l)	0	0,2	0,4	1	2	3	4
DO	0	0,027	0,059	0,150	0,311	0,520	0,702



**Figure III.2** : Courbe d'étalonnage d'azote ammoniacal.

### III.3. Nitrates

- **Mode opératoire**

- Prendre 10 mL de la solution étalon diluée (5 mg/L) ;
- Ajouter 2 à 3 gouttes de NaOH à 30%,
- Evaporer à sec au bain marie à 75 à 88°C, puis laisser refroidir.
- Reprendre le résidu pour 2 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, laisser au repos 10 min ;
- Ajouter 15 mL d'eau distillée et 15mL de tartrate double de sodium et de potassium.
- Effectuer les mesures de la D.O par le spectrophotomètre à une longueur d'onde de 400 nm.

- **Dilutions**

Dans une série de fioles jaugées ;

introduire successivement les volumes suivants de la solution étalon (5mg/l): 0-1-2-3-4-6ml puis ajouter dans chaque fiole les volumes suivants de l'eau distillée : 10-9-8-7-6-4 ml, ensuite ajouter 1ml de la solution de salicylate de sodium dans chaque fiole : les concentrations correspondantes sont respectivement : 0-0,5-1-1,5-2-3 en (mg/l). Les résultats sont regroupés dans le tableau ().

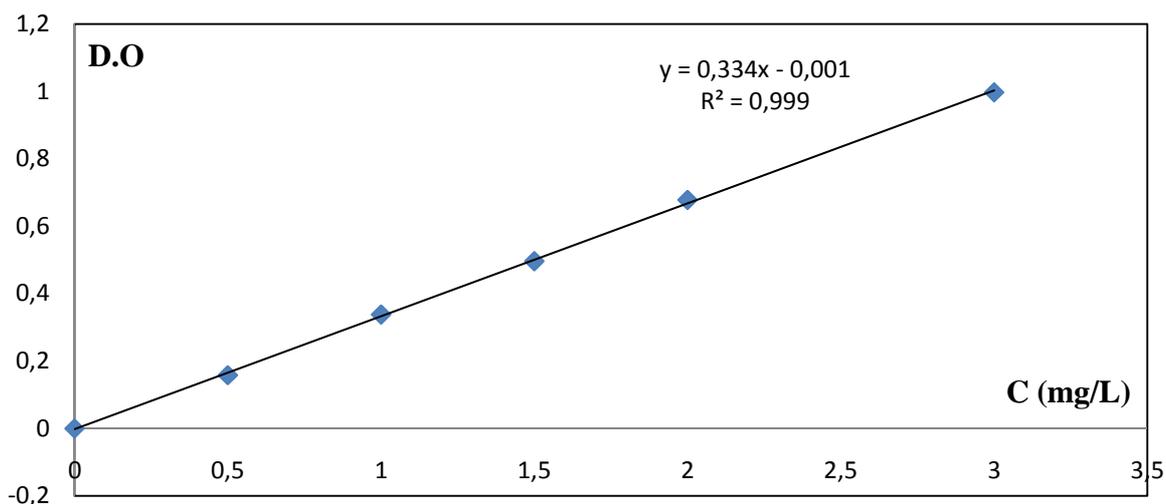
- **Préparation des réactifs**

- Solution de salicylate de sodium à 0,5% ;
- Solution d'hydroxyde de sodium à 30% ;
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré ;
- Tartrate double de sodium et de potassium ;
  - ✓ Hydroxyde de sodium (400 g) ;
  - ✓ Tartrate de sodium et de potassium (60 g) ;
  - ✓ Eau distillée (1000mL) ;
  - ✓ Laisser refroidir avant de compléter à 1000ml, cette solution doit être conservée dans un flacon de polyéthylène.

- **Solution étalon** : diluer la solution mère de nitrite de potassium (100 mg/L) à 5 mg/L.

**Tableau III.3** : Courbe d'étalonnage des nitrates

C (mg/l)	0	0,5	1	1,5	2	3
DO	0	0,158	0,338	0,496	0,678	0,997



**Figure III.3 :** Courbe d'étalonnage des nitrates

#### III.4. Phosphore

- **Mode opératoire**

- Introduire dans une série de fioles jaugées de 25mL les volumes suivants : 0- 1- 5- 10- 15- 20 mL de la solution étalon de phosphore à 1mg/L ;
- Compléter le volume avec de l'eau distillée ;
- Ajouter 1mL d'acide ascorbique à (20g/L) et agiter ;
- Puis 4ml de réactif combiné, mélanger soigneusement, attendre 30min pour la stabilisation de la coloration ;
- Effectuer les mesures à la longueur d'onde de 880nm, les résultats sont regroupés dans le tableau (3.b).

- **Solution étalon**

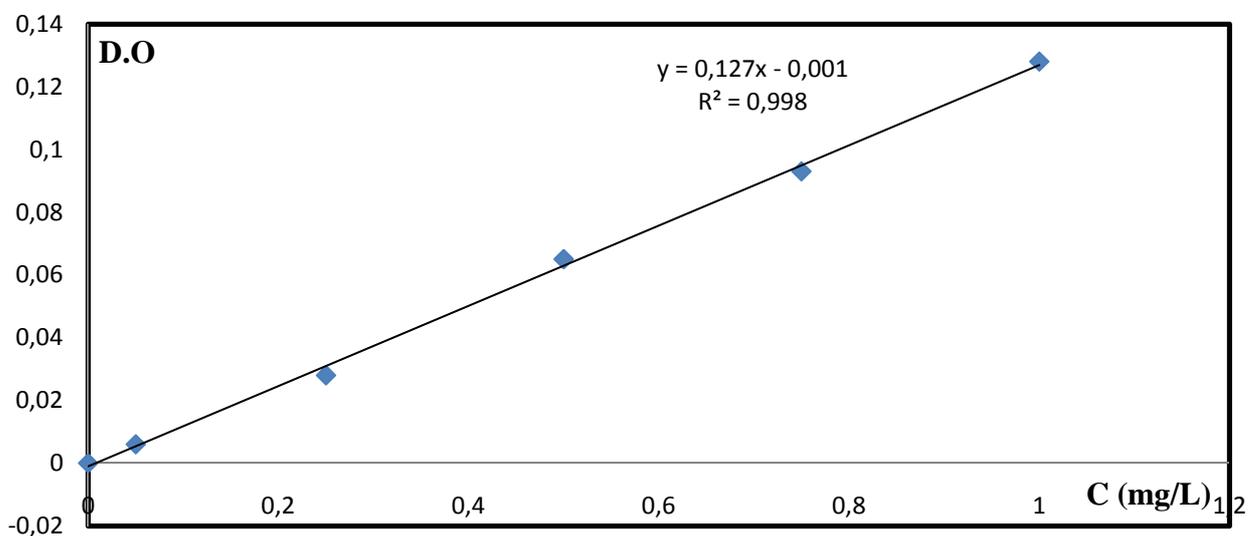
Peser 0,219g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  séché à l'étuve à 105 °c pendant 1h , ajouter 1mL d'acide sulfurique dans une fiole de 100 mL, puis compléter avec de l'eau distillée . Prélever 20 mL de cette solution et compléter à 1000 mL par l'eau distillée.

- **Réactif combiné**

Dans une fiole de 100 mL, introduire 50 mL d'acide sulfurique à 15% en volume, 5mL de solution de tartrate double d'antimoine et de potassium à 2,8g /L, 15mL de solution de molybdate d'ammonium à 40g/L, puis compléter le volume par de l'eau distillée.

**Tableau III.4 : Courbe d'étalonnage du phosphore**

C (mg/l)	0	0,05	0,25	0,5	0,75	1
DO	0	0,006	0,026	0,065	0,093	0,128



**Figure III.4 : Courbe d'étalonnage du phosphore**

### III.5. Carbone organique

- **Mode opératoire**

- Peser entre 0,25 et 1 g de sol ;
- Introduire cette terre dans un ballon de 100 mL avec 10 mL de solution de bichromate de potassium ( $K_2Cr_2O_7$ ) à 8% et 15 mL de l'acide sulfurique concentré, puis porter à l'ébullition pendant 5min ;
- Transférer dans une fiole de 100 mL et compléter avec les eaux de lavage du ballon ;
- Prélever 20 mL et diluer à 150 mL÷200 mL ;
- Ajouter une pincée de NaF et quelques gouttes de diphénylamine ;
- Titrer avec une solution de sel de mohr au virage bleu vert.

- **Préparation des réactifs**

- ✓ **Diphénylamine**

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

### ✓ **Le sel de mohr**

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

### **III.6. Extraction des hydrocarbures par ultrason**

L'appareil utilisé pour effectuer les extractions, dont les étapes citées ci-dessous, est un ultrason de modèle Bioblock Scientifique (88155).

- **Mode opératoire**

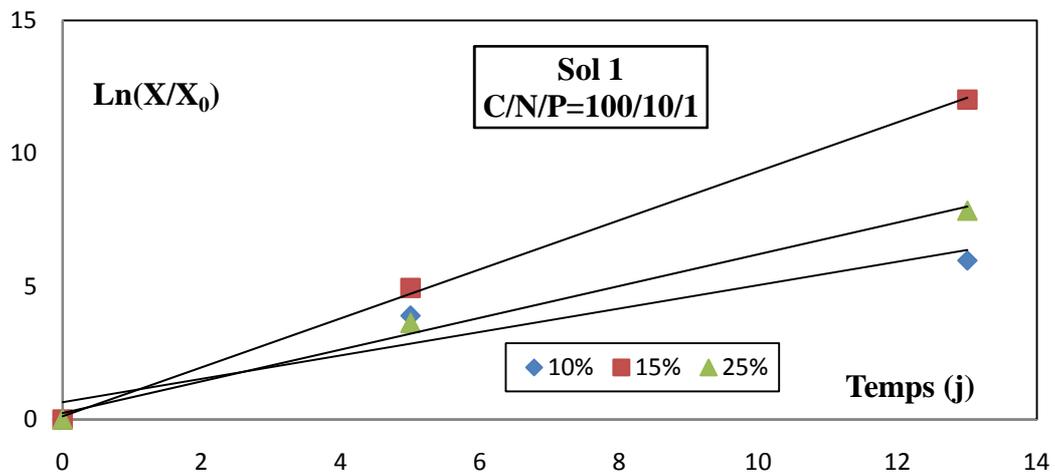
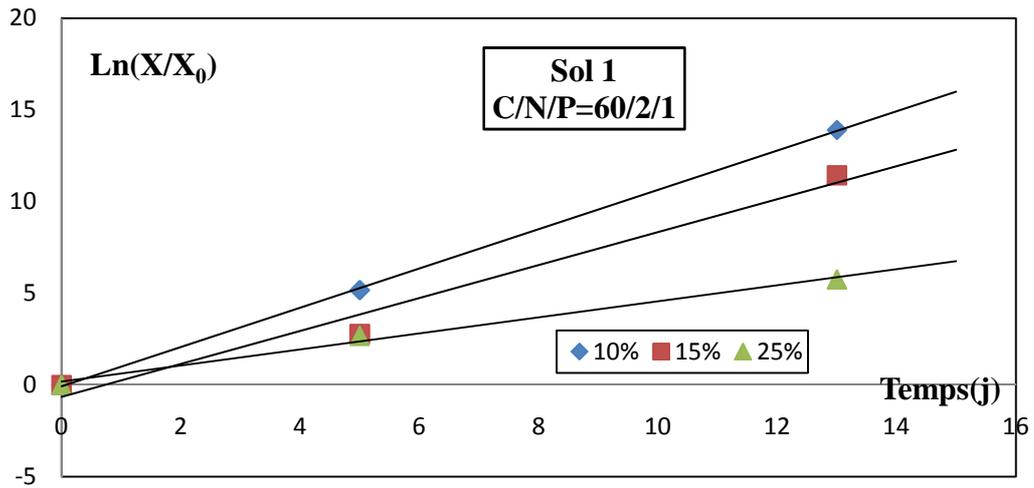
- Des échantillons de 5g chacun de sol sont mélangés et broyés dans des flacons avec une quantité suffisante de sulfate de sodium anhydre dans un rapport 5/5 ;
- Ajouter 30 mL de dichlorométhane et mettre les flacons dans un bain d'eau distillée contenue dans la cuve de l'ultrason ;
- Régler l'ultrason de telle manière à obtenir une durée d'extraction de 10 minutes à une température de 35°C;
- Filtrer le contenu des flacons à l'aide d'un papier filtre ordinaire, ensuite ajouter 15 mL de dichlorométhane aux résidus de sol et remettre les flacons pour une deuxième extraction.

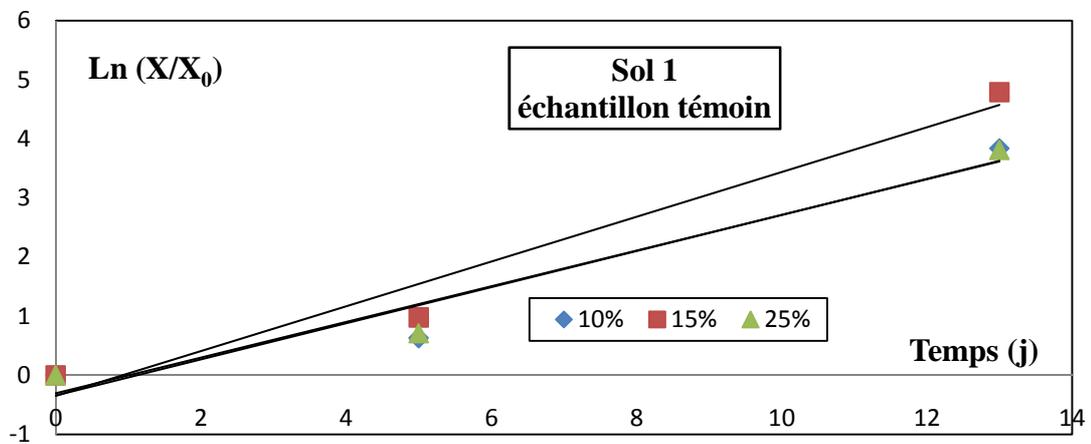
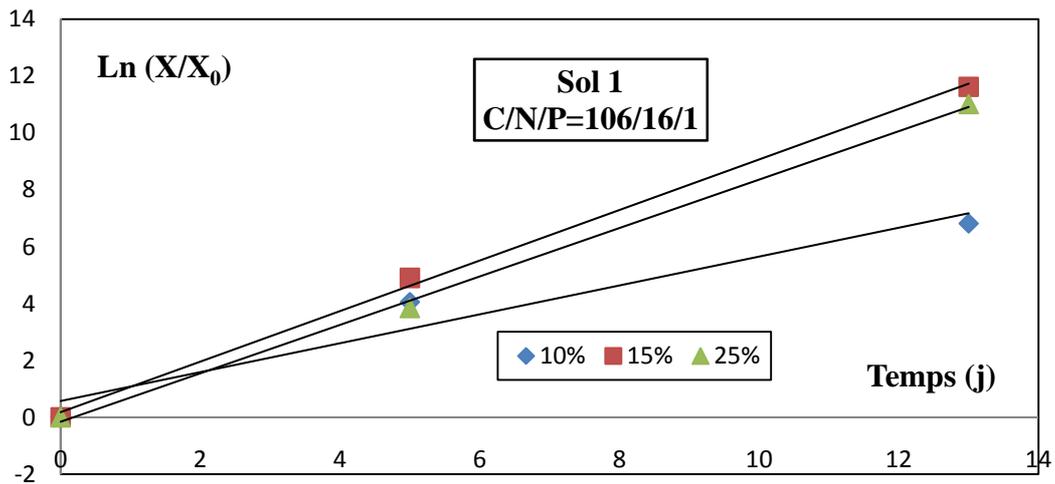
## Annexe IV

### Taux de croissance maximum.

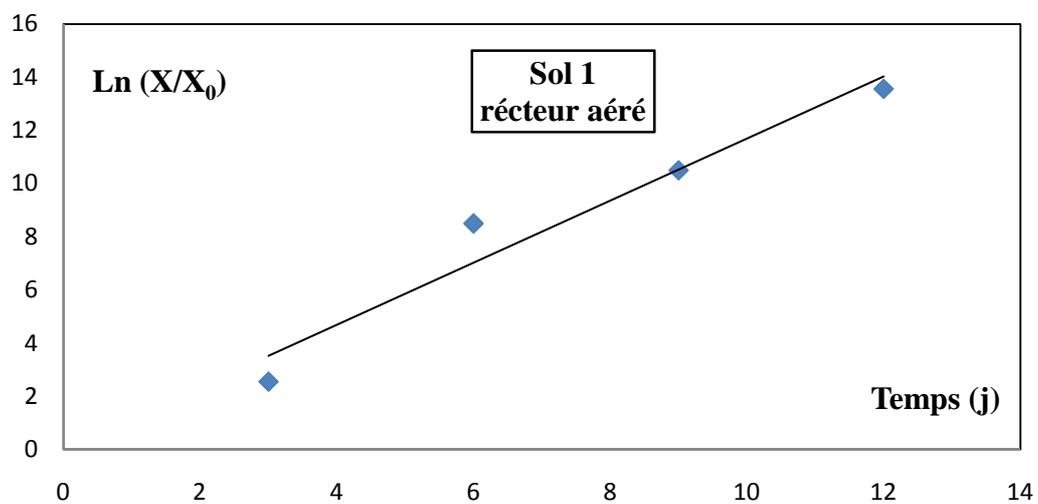
#### 1- Sol 1

Le taux de croissance maximum a été déterminé à partir des pentes des droites moyenne représentée par  $\ln(x/x_0)=f(t)$  pendant la phase exponentielle de croissance bactérienne.



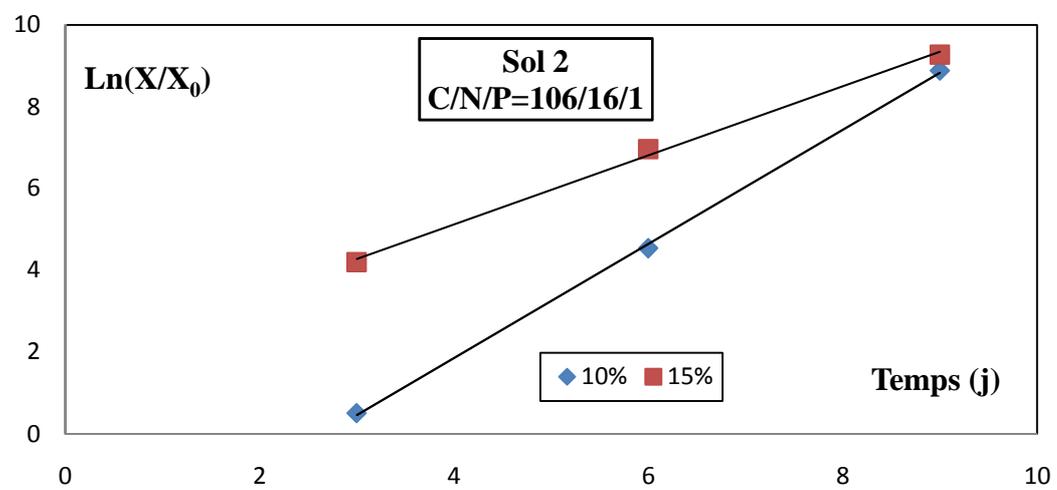
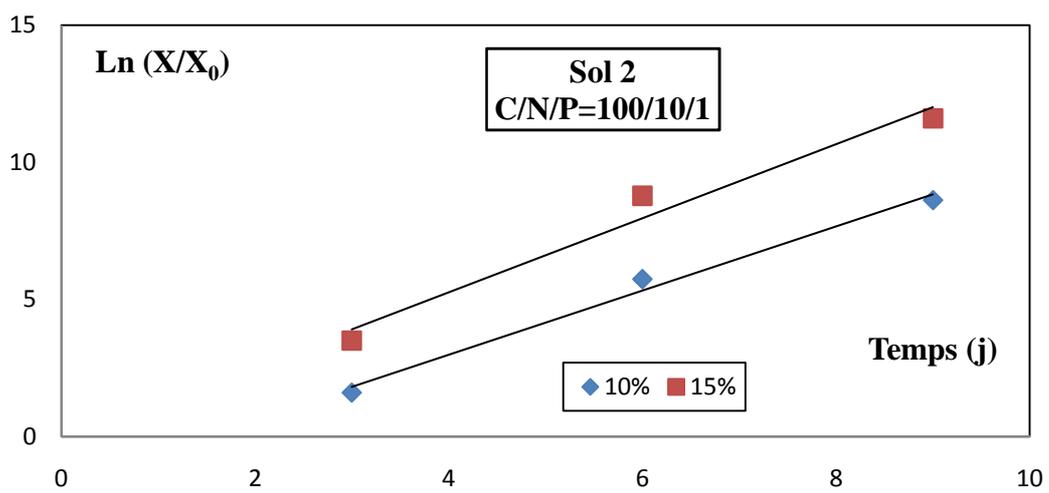
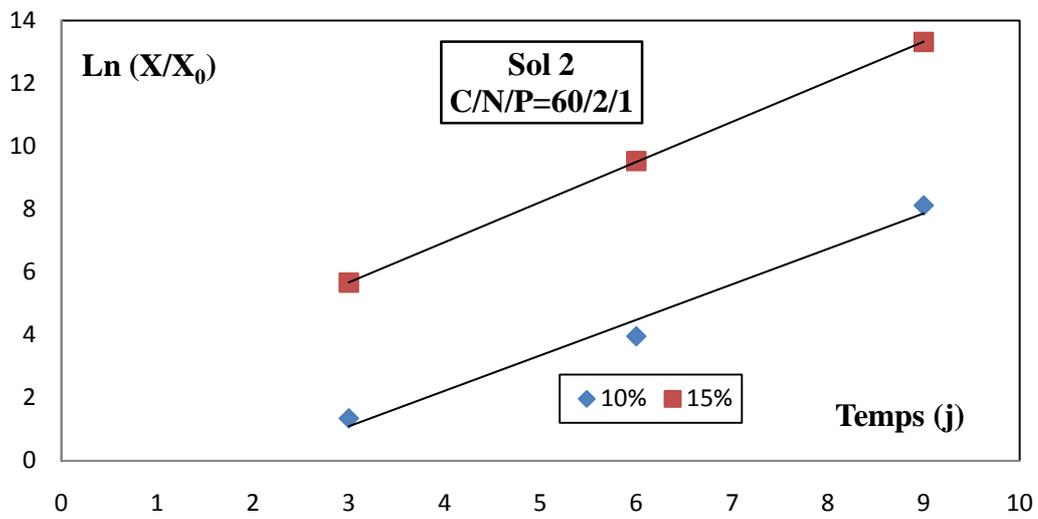


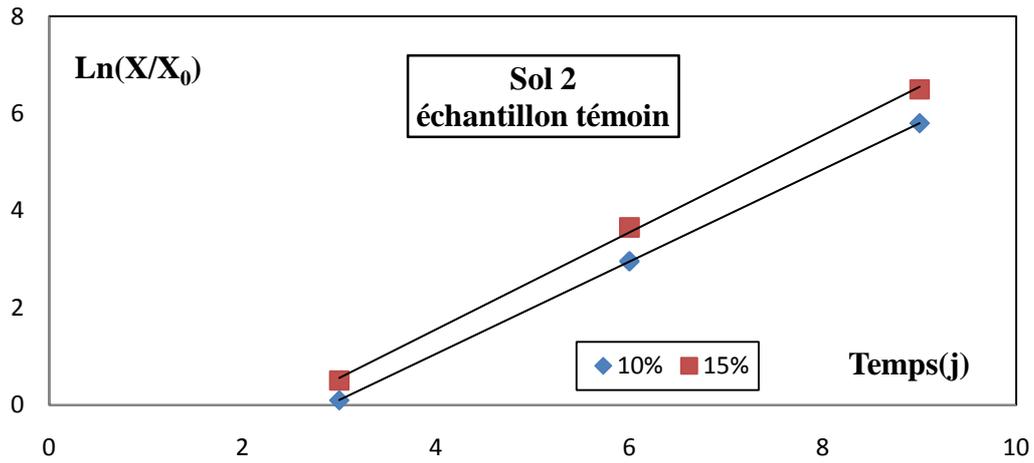
**Figure IV.A .1** : Evolution temporelle de taux de croissance pour des différents C/N/P et des différents taux d'humidité.



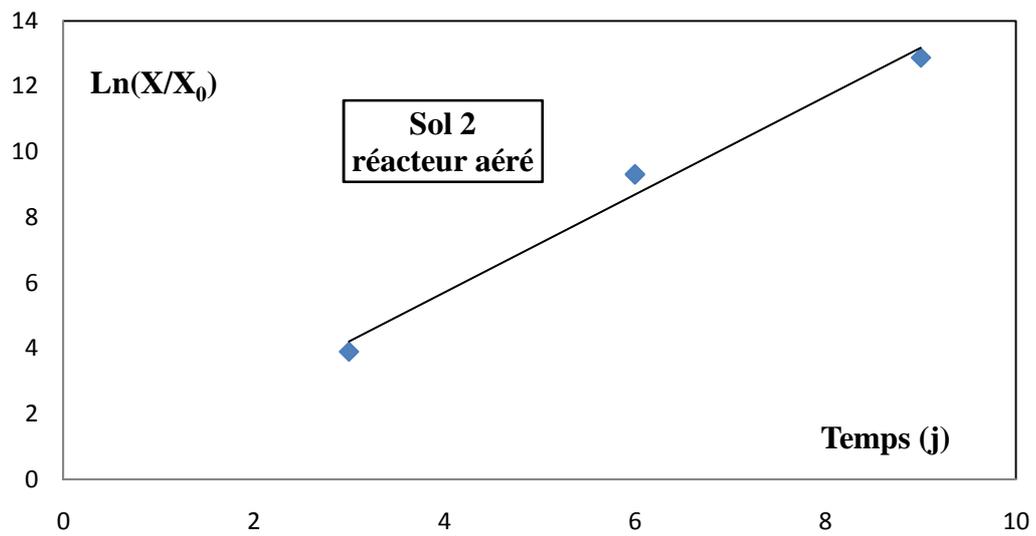
**Figure IV.A.2** : Evolution temporelle de Ln(X/X<sub>0</sub>) pour le réacteur aéré

## 2- Sol 2





**Figure IV.B.1 :** Evolution temporelle de  $\text{Ln}(X/X_0)$  pour différents C/N/P à différents taux d'humidité



**Figure IV.B.2 :** Evolution temporelle de  $\text{Ln}(X/X_0)$  pour un bioréacteur aéré

## ملخص

لتجنب كل تلوث للمياه الباطنية و للتقليص من تأثير نفايات الصناعات البترولية على البيئة فانه من المهم القيام بمعالجة التربة الملوثة بالهيدروكربونات.

من خلال هذا العمل حاولنا اتخاذ منهجية تساعدنا على تقييم المعالجة البيولوجية للمازوت في وسط هوائي. تعتمد هذه الطريقة على قياس تركيز المازوت المتبقي بعد استخلاصه من التربة في نهاية المعالجة البيولوجية في "الميكروكوزم" و في مفاعل بيولوجي ذو تهوية مستمرة.

تابعنا تطور نمو البكتيريا, تركيز المازوت و سرعة تحلله في التربة.

**كلمات مفتاحية :** معالجة بيولوجية, هيدروكربونات, تلوث التربة, مفاعل بيولوجي, تهوية.

## Résumé

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

Durant ce travail, nous avons développé une méthodologie permettant d'évaluer la biodégradation du gasoil en conditions aérobies. Elle consiste à mesurer la concentration résiduelle de gasoil après extraction à la fin de traitement biologique dans des microcosmes ou bioréacteurs à aération continue.

Nous avons suivi l'évolution de la croissance microbienne, la concentration du gasoil et la cinétique de biodégradation.

**Mots clé :** Bioremédiation, hydrocarbures, contamination des sols, bioréacteurs, aération.

## Abstract

To avoid any contamination of the ground water, and to minimize of hydrocarbon discharges on the environment, it is imperative to treat the soil polluted by hydrocarbons.

During this work, we developed a methodology allowing to evaluate the biological breakdown of the gas oil in aerobic conditions. It consists in measuring of residual concentration of gas oil, after extraction at the end of the biological treatment in the microcosmes and countinus aerated bioreactor.

We followed ths evolution of the microbial growth, gas oil concentration and kinetic of biodegradation.

**Key words:** Biodegradation, hydrocarbons, contaminated soils, bioreactors, aeration.