

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Polytechnique



Département de Génie de l'Environnement

laboratoire des biotechnologies et génie des procédés

Division laboratoire (EX CRD), SONATRACH

Mémoire de projet de fin d'études

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

**Bioremédiation d'un sol contaminé par les hydrocarbures :
recherche des modes de la biostimulation
(site de forage Hassi Messaoud)**

Présenté par :

Mr. AIT OUMERACI Mohamed

Sous la direction de Mr. N. MAMERI Professeur à l'école nationale polytechnique et Mme.
N. MIMOUNI cadre d'étude technique à SONATRACH

Présenté et soutenu le (28/10/2020)

Composition du Jury :

Président	Mr M. DROUCHE	Professeur, ENP
Promoteur	Mr N. MAMERI	Professeur, ENP
Encadreur	Mme N. MIMOUNI	Cadre d'étude (DLAB, SONATRACH)
Examineur	Mr H. GRIB	Professeur, ENP
Examineur	Mr Y. KERCHICH	MCA, ENP

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Polytechnique



Département de Génie de l'Environnement

laboratoire des biotechnologies et génie des procédés

Division laboratoire (EX CRD), SONATRACH

Mémoire de projet de fin d'études

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

**Bioremédiation d'un sol contaminé par les hydrocarbures :
recherche des modes de la biostimulation
(site de forage Hassi Messaoud)**

Présenté par :

Mr. AIT OUMERACI Mohamed

Sous la direction de Mr. N. MAMERI Professeur à l'école nationale polytechnique et Mme.
N. MIMOUNI cadre d'étude technique à SONATRACH

Présenté et soutenu le (28/10/2020)

Composition du Jury :

Président	Mr M. DROUCHE	Professeur, ENP
Promoteur	Mr N. MAMERI	Professeur, ENP
Encadreur	Mme N. MIMOUNI	Cadre d'étude (DLAB, SONATRACH)
Examineur	Mr H. GRIB	Professeur, ENP
Examineur	Mr Y. KERCHICHE	MCA, ENP

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تحقيق تقنية المعالجة الحيوية (الاستزراع الأرضي) لتربة مستنقع تابع لبئر بترول ملوث بسوائل الحفر (وقود الديزل هو الملوث الرئيسي). أظهر التحليل الفيزيائي الكيميائي للمستنقع أنه يوفر بيئة مواتية لنمو البكتيريا. أظهرت الدراسة الفيزيائية والكيميائية لسماذ الأبقار والدواجن وثقل الزيتون والثيروت أنه يمكن استخدامها كتعديلات عضوية وغير عضوية للسلاطات المحلية من المستنقع بسبب ثراءها بالكربون والمعادن والعناصر القليلة. أعطت المعاملة البيولوجية (الاستزراع الأرضي)، لمدة 82 يوماً، أفضل نتيجة للخزان المحتوي على ثقل الزيتون المنشط بنشارة الخشب، مع تحلل TPH بنسبة 96.11%. كما أعطت جميع الخزانات ماعدا الشاهد والخزان المعالج بثقل الزيتون غير النشط نتائج مرضية للغاية تراوحت بين 93.92% و95.84%.
الكلمات المفتاحية: تحلل حيوي، استزراع أرضي، مفاعل حيوي، وقود الديزل، تعديل النفايات العضوية، الهيدروكربونات البترولية، التربة الملوثة.

Abstract:

The objective of this study is to treat via a bioprocess (landfarming) of an oil well quagmire polluted by drilling fluids (diesel being the major pollutant). Physicochemical analysis of the quagmire revealed that it could provide a favorable environment for the growth of bacteria.

The physicochemical characterization of cow and broiler manure, olive pomace and potting soil has shown that they can be used as organic and inorganic amendments for native strains of the quagmire due to their carbon, mineral and trace element richness.

Biological treatment (landfarming), for 82 days, gave the best result for the tank containing activated olive pomace with sawdust, with a TPH degradation yield of 96.11%. All the tanks except the control and the tank treated with unactivated olive pomace also gave very satisfactory results in the 93.92% 95.84% range.

Keywords: *Bioremediation, landfarming, bioreactor, diesel, Biostimulation, organic waste amendment, petroleum hydrocarbon, contaminated soil*

Résumé :

Cette étude a pour objectif la réalisation d'une technique de biotraitement (landfarming) d'un borbier de puits pétrolier pollué par des fluides de forage (le gasoil étant le polluant majoritaire). L'analyse physicochimique du borbier a révélé que ce dernier constitue un environnement favorable à la croissance des bactéries.

La caractérisation physicochimique des fumiers de vache et de volaille, des grignons d'olive et de terreau a montré qu'ils pouvaient être utilisés comme amendements organiques et inorganiques pour les souches autochtones du borbier vu leurs richesses en carbone, minéraux et oligoélément.

Le traitement biologique (landfarming), pendant 82 jours, a donné le meilleur résultat pour le bac contenant le grignon d'olive activé avec la sciure de bois, avec un rendement de dégradation de TPH de 96.11%. Tous les bacs sauf le témoin et le bac traité par le grignon d'olive non activé ont donné également des résultats très satisfaisants compris entre 93.92% et 95,84%.

Mots clés : *Bioremédiation, landfarming, bioréacteur, gasoil, Biostimulation, amendement de déchets organiques, hydrocarbures pétroliers, sol contaminé.*

Dédicaces

Au nom de Dieu le tout puissant qui m'a donné la volonté, la patience et qui m'avait mis sur le bon chemin pour arriver à ce jour-là, je dédie ce modeste travail

A la mémoire de mon grand-père qui est toujours présent dans mon cœur.

A ma chère maman,

Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection, tu n'as cessé de me soutenir et m'encourager tout au long de mon parcours. En ce jour mémorable, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

A mon papa,

Tu as su m'inculper le sens de la responsabilité, tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite, je te dois ce que je suis aujourd'hui. Merci infiniment et que dieu te garde.

A ma chère sœur Imene,

Ton encouragement permanent et ton soutien moral m'ont été d'une grande aide.

A ma chère amie Yasmine,

A ma chère Fella,

Tu étais toujours à mes côtés et tu n'as jamais cessé de me soutenir et de m'encourager. Autant d'expressions éloquentes soient-elles ne sauraient exprimer mes remerciements.

A toute ma famille sans exception.

A tous mes amis

Ainsi qu'à tout qui me sont chers.

AIT'OU MERACI Mohamed

Remerciements

D'abord nous tenons à remercier, le bon Dieu

De nous avoir donné la force afin d'accomplir ce travail

*Nous exprimons nos remerciements à notre promotrice Professeur **Nabil MAMERI** et à notre encadreur Madame **Naima MIMOUNI**, qu'en plus du savoir scientifique acquis auprès d'eux, on a tenté de nous positionner à l'interface, entre l'expérience d'une biologiste et les compétences d'un chimiste, Avec ces deux encadrements, le temps nous a semblé trop court, sans bénéficier pleinement de leurs expertises respectives.*

*Nos remerciements s'adressent également au l'institut **AYT**, à tous les membres de jury : le président Professeur **Madani Drouiche**, ainsi que les examinateurs Professeur **Hocine GHRIJ** et Docteur **Yacine KERCHICHE**, d'avoir accepté d'examiner ce travail et de nous avoir honoré par leur présence le jour de la soutenance.*

Une thèse est une période avec de bons moments et d'autres qui le sont moins. Ce sont dans ces derniers que l'on reconnaît le véritable soutien des individus qui méritent d'être chaleureusement remerciés.

*Nous tenons également à remercier M^r. **Noureddine KOUDJAOUI**, Professeur **Abd Imalek CHERGUI**, Docteur **Ouiza KITOUS**, M^{elle} **Ibtissame OGAB**, M^{me} **Feriel KHENE**, M^r **Abderrazak SAOUDI**, M^r **Mohamed KHERAT** de leur aide et surtout pour leurs gentillesse.*

Nous remercions tout particulièrement nos familles pour leur patience, leur soutien et leur encouragement durant ce parcours.

Enfin, il nous serait difficile d'omettre de remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à ce travail ne serait-ce que par un sourire ou un encouragement. Qu'ils trouvent dans ces quelques lignes l'expression de nos sincères remerciements.

TABLE DE MATIERES

Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	

INTRODUCTION GENERALE	18
------------------------------------	----

Chapitre 1 : GÉNÉRALITÉS SUR LE SOL

1.1 Introduction.....	22
1.2 Les constituants du sol.....	22
1.2.1 Phase liquide.....	22
1.2.2 Phase gazeuse.....	22
1.2.3 Phase solide.....	22
1.3 Propriétés physico-chimiques de sol.....	22
1.3.1 Texture	22
1.3.2 Structure.....	23
1.3.3 Porosité.....	23
1.3.4 Perméabilité.....	23
1.3.5 Capacité de rétention.....	23
1.3.6 PH.....	24
1.3.7 Potentiel redox.....	24
1.4 Microbiologie du sol.....	24
1.4.1 Bactéries.....	25
1.4.2 Actinomycètes.....	25
1.4.3 Champignons.....	25

Chapitre 2 : GÉNÉRALITÉ SUR LES FLUIDES DE FORAGE

2.1 Introduction.....	27
2.2 Classification.....	27
2.2.1 Fluide de forage à base d'eau.....	27
2.2.2 Fluide de forage à base d'huile.....	27

TABLE DE MATIERES

2.2.3	Fluide de forage gazeux	27
2.3	Pollution due aux rejets des fluides de forage.....	27
2.4	Le devenir des rejets de fluide de forage.....	28

Chapitre 3 : POLLUTION DE L'ENVIRONNEMENT LIÉE AUX HYDROCARBURES

3.1	Introduction.....	30
3.2	Définition des Hydrocarbures.....	30
3.2.1	Classifications des hydrocarbures.....	30
3.2.2	Le gasoil.....	30
3.3	Devenir des hydrocarbures pétroliers dans le sol.....	31
3.3.1	Volatilisation.....	31
3.3.2	Biodégradation.....	31
3.3.3	Adsorption.....	31
3.4	Propriétés physico-chimiques des hydrocarbures.....	31
3.4.1	Viscosité.....	31
3.4.2	Solubilité.....	31
3.4.3	Pression de vapeur.....	31
3.4.4	Densité.....	31
3.4.5	Teneur en aromatique.....	31
3.5	Ecotoxicité des hydrocarbures.....	33

Chapitre 4 : RÉHABILITATION DES SOLS

4.1	Introduction.....	35
4.2	Confinement.....	35
4.2.1	Confinement hydraulique.....	35
4.2.2	Confinement physique.....	35
4.3	Traitement in-situ.....	35
4.3.1	Procédés physicochimiques.....	36
4.3.1.1	Venting.....	36
4.3.1.2	Slurping.....	36
4.3.1.3	Lessivage.....	36

TABLE DE MATIERES

4.3.1.4 Venting passif.....	36
4.3.1.5 Sparging.....	36
4.3.2 Procédés thermiques.....	37
4.3.2.1 Désorption thermique.....	37
4.3.2.2 Solidification-Vitrification.....	37
4.3.3 Procédés biologiques.....	37
4.3.3.1 Bioventing.....	37
4.3.3.2 Biosparging.....	37
4.3.3.3 Phytoremédiation.....	37
4.4 Traitement ex-situ.....	38
4.4.1 Procédés physicochimiques.....	38
4.4.1.1 Extraction par solvant.....	38
4.4.2 Procédés thermiques.....	38
4.4.2.1 La Désorption thermique.....	38
4.4.2.2 L'incinération.....	38
4.4.3 Procédé d'oxydation avancée.....	38
4.4.4 Procédé biologique (La bioremédiation).....	39
4.4.4.1 Le bioréacteur.....	39
4.4.4.2 La biorestauration.....	39

Chapitre 5 : BIOREMÉDIATION DES SOLS CONTAMINÉS PAR LES HYDROCARBURES

5.1 Introduction.....	42
5.2 Les micro-organismes dégradant les hydrocarbures.....	42
5.2.1 Les microorganismes dégradant les hydrocarbures aliphatiques.....	43
5.2.1.1 Les n-alcanes.....	43
5.2.1.2 Les iso-alcanes.....	43
5.2.2 Les microorganismes dégradant les cycloalcanes.....	44
5.2.3 Les microorganismes dégradant les hydrocarbures aromatiques.....	44
5.3 Mécanismes anaérobie des hydrocarbures.....	45
5.4 Mécanismes aérobie des hydrocarbures.....	45
5.4.1 Métabolisme des alcanes.....	45
5.4.2 Métabolisme des iso-alcanes.....	46

TABLE DE MATIERES

5.4.3 Métabolisme des cycloalcanes.....	46
5.4.4 Métabolisme des hydrocarbures aromatiques.....	46
5.5 Cinétique de la croissance microbienne.....	47
5.6 Différentes techniques de bioremédiation.....	47
5.6.1 L'atténuation naturelle.....	47
5.6.2 Bioaugmentation.....	48
5.6.3 Biostimulation.....	50
5.6.4 Combinaison Biostimulation et Bioaugmentation.....	51
5.7 Les facteurs influençant la biodégradabilité des hydrocarbures.....	52
5.7.1 La structure du sol.....	53
5.7.2 La température.....	53
5.7.3 Le PH.....	53
5.7.4 Teneur en humidité.....	53
5.7.5 Nutriments.....	54
5.7.6 Oxygène.....	54
5.7.7 Salinité.....	54
5.7.8 Biodisponibilité des contaminants.....	54
5.7.9 Concentrations des contaminants.....	54
5.8 Les déchets valorisants la stimulation.....	55
5.8.1 Grignons d'olive ou tourteaux.....	55
5.8.2 Fumier de poulet de chair.....	55
5.8.3 Sciure de bois.....	56
5.9 Types de bioremédiation.....	57
5.9.1 Compostage.....	57
5.9.2 Biopile.....	57
5.9.3 Landfarming.....	58
5.9.3.1 Définition de landfarming.....	58
5.9.3.2 Impacts environnementaux de landfarming.....	58

Chapitre 6 : MATÉRIEL ET MÉTHODES

6.1 Matériel.....	61
6.1.1 Matériel non biologique.....	61
6.1.2 Matériel biologique.....	61

TABLE DE MATIERES

6.2 Méthode.....	62
6.2.1 Méthode d'échantillonnage.....	64
6.2.2 Méthodes d'analyse physicochimiques.....	64
6.2.2.1 Dosage des hydrocarbures.....	66
6.2.2.2 Hygrométrie (humidité à 105°C).....	72
6.2.2.3 Préparation du lixiviat.....	73
6.2.2.4 Mesure des paramètres indicateurs de la pollution organique.....	74
6.2.2.5 Dosage des minéraux.....	82
6.2.2.6 Dosage des minéraux par adsorption atomique.....	85
6.2.2.7-Dosage des minéraux par Diffractométrie des rayons x.....	85
6.2.3 Méthodes microbiologiques.....	86
6.2.3.1 Le dénombrement après culture de la microflore totale.....	86
6.2.3.2 Observation des bactéries.....	87
6.2.4 Le traitement biologique du borbier pendant 82 jours.....	88
6.2.4.1. Le choix de la méthode de traitement.....	88
6.2.4.2 Préparation de l'échantillon et des bacs de traitement.....	88
6.2.4.3 Répartition des lots dans les bacs.....	89
6.2.4.4 Préparation des bacs.....	90
6.2.4.5 Le suivi du biotraitement.....	91

Chapitre 7 : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

7.1 Résultat des études physicochimiques.....	95
7.1.1 Résultats des teneurs du borbier B en hydrocarbures.....	95
7.1.2 Résultats de la composition des grignons d'olive.....	96
7.1.3 Identification du polluant contenu dans le borbier B par chromatographie en phase gazeuse CPG.....	96
7.1.4 Caractérisation physicochimique du borbier, et des deux fumiers (vache et volaille), du terreau, des grignons d'olive, du la sciure de bois, utilisés dans le biotraitement.....	98
7.1.5 Résultats de la diffraction par rayons X (DRX).....	103
7.2 Analyses microbiologiques.....	104
7.2.1 Dénombrement de la microflore totale du borbier.....	104
7.2.2 Etude morphologique	106
7.2.2.1 Etude macroscopique.....	106
7.2.2.2 Etude microscopique.....	107

TABLE DE MATIERES

7.3 Le traitement biologique par la méthode de landfarming pendant 82 jours.....	108
7.3.1 Le suivi de biotraitement.....	108
CONCLUSION GENERALE.....	124
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	127
ANNEXES.....	149

LISTES DES TABLEAUX

Tableau 1.1 : communautés microbiennes de sol (Bonneau et souchier, 1994).....	24
Tableau 5.1 : Estimation des couts des stratégies de remédiation des sols pollués par les hydrocarbures.....	42
Tableau 5.2 : les microorganismes dégradant les hydrocarbures aromatiques.....	44
Tableau 5.3 : Recherches spécifiques de bioaugmentation.....	48
Tableau 5.4 : Bioaugmentation réalisée dans différents pays.....	50
Tableau 5.5 : Thérapie combinée la bioaugmentation et la biostimulation.....	51
Tableau 5.6 : quantité des déchets des grignons et des fientes considérés en Algérie pour la période 2005-2010 (REME, 2011).....	55
Tableau 5.7 : biostimulation à l'aide d'organique nutriments.....	56
Tableau 6.1 : Les différents méthodes physicochimiques effectuées.....	65
Tableau 6.2 : conditions opératoires.....	69
Tableau 6.3 : Valeurs d'évaluation de la DBO5.....	78
Tableau 7.1 : Résultats des teneurs du borbier en hydrocarbures.....	95
Tableau 7.2 : Résultats de la composition des grignons d'olive.....	96
Tableau 7.3 : Tableau complémentaire de lecture de la CPG.....	97
Tableau 7.4 : Mesure des différents paramètres de pollution.....	101
Tableau 7.5 : Résultats des métaux lourds en ($\mu\text{g/l}$).....	101
Tableau 7.6 : Résultats des métaux lourds en (mg/kg).....	101
Tableau 7.7 : Résultats du DRX de l'échantillon du borbier et des deux types du fumier...103	
Tableau 7.8 : Etude macroscopique des souches sélectionnées.....	106
Tableau 7.9 : Aspect microscopique des souches observées à l'état frais.....	108
Tableau 7.10 : Humidité de l'endroit lequel le biotraitement est effectué.....	111
Tableau A.I.1 : Valeurs guide des paramètres de rejets des installations de déversement en Algérie.....	149
Tableau A.I.2 : Normes hollandaises de qualité des sols (Lecomte, 1999).....	149
Tableau A.I.3 : Seuils de référence pour les métaux lourds.....	150
Tableau A.1.4 : Produits et matériel utilisés.....	150
Tableau A.II.1 : Composition de gélose nutritive.....	155
Tableau A.II.2 : Caractéristiques physico-chimiques du gasoil.....	156
Tableau A.IV.1 : données climatologiques enregistrées au niveau de la station météorologique d'Ouargla (2007-2018).....	161

LISTES DES TABLEAUX

Tableau A.V.1 : les compositions physico-chimiques de fumier.....	166
Tableau A.V.2 : Composition physico-chimique des grignons d'olives (Mennane et al, 2010).....	166
Tableau A.V.3 : La composition de grignons d'olives en hémicellulose, cellulose et lignine dans la littérature.....	166

LISTES DES FIGURES

Figure 2.1 : Photo d'un bourbier à Hassi Messouad.....	28
Figure 3.1 : la composition du gasoil (Marchal et al, 2003).....	31
Figure 3.2 : Devenir d'un polluant organique au niveau du sol Tirée de Pernot (2012).....	31
Figure 4.1 : processus général de dégradation des contaminants organiques (Rockne et Reddy, 2003).....	40
Figure 6.1 : Les différents bourbiers étudiés.....	61
Figure 6.2 : Terreau utilisé.....	62
Figure 6.3 : grignon d'olive utilisé.....	62
Figure 6.4 : sciure de bois utilisée.....	62
Figure 6.5 : fumier de volaille utilisé.....	62
Figure 6.6 : fumier de vache utilisé.....	62
Figure 6.7 : grignon d'olive activé utilisé.....	62
Figure 6.8 : Diagramme représentant l'enchaînement des méthodes utilisées.....	63
Figure 6.9 : Schéma représentant les points de prélèvement à partir des bourbiers.....	64
Figure 6.10 : le distillateur.....	68
Figure 6.11 : ultrason.....	68
Figure 6.12 : centrifugeuse.....	68
Figure 6.13 : rota vapeur.....	69
Figure 6.14 : Ballon contenant les hydrocarbures.....	69
Figure 6.15 : CPG couplée à un détecteur à ionisation de flamme (GC-FID).....	70
Figure 6.16 : L'extraction des hydrocarbures par l'hexane.....	71
Figure 6.17 : dessiccateur utilisé.....	73
Figure 6.18 : l'étuve utilisé pour l'humidité.....	73
Figure 6.19 : Lixiviation du sol.....	74
Figure 6.20 : Lixiviation des amendements.....	74
Figure 6.21 : PH mètre utilisé.....	75
Figure 6.22 : Dosage de COT.....	75
Figure 6.23 : spectrophotomètre.....	75
Figure 6.24 : filtration sous vide.....	79

LISTES DES FIGURES

Figure 6.25 : mesure de la conductivité électrique des échantillons.....	80
Figure 6.26 : thermo-réacteur utilisé dans l'analyse de DCO et Ntotal.....	80
Figure 6.27 : Les LCK utilisés pour les analyses.....	81
Figure 6.28 : LCK de la DCO utilisé.....	81
Figure 6.29 : thermo-réacteur.....	81
Figure 6.30 : doseur de chlorure.....	84
Figure 6.31 : doseur de calcium.....	85
Figure 6.32 : la haute microbiologique.....	86
Figure 6.33 : Autoclave.....	86
Figure 6.34 : l'échantillon de borbier.....	89
Figure 6.35 : L'échantillon de borbier réparti en 20 bacs.....	90
Figure 6.36 : valeurs moyenne maximale et minimale d'humidité des quatre dernières années (2015/2018).....	91
Figure 6.37 : valeur moyenne maximale et minimale d'humidité de 2015 jusqu'à 2018.....	92
Figure 7.1 : teneur de borbier en huile/eau/solide.....	95
Figure 7.2 : chromatogramme des hydrocarbures détectés dans le borbier.PH : Phytane (Hydrocarbure saturé ramifié C20).....	96
Figure 7.3 : les paramètres PH, T° et humidité des 6 échantillons.....	98
Figure 7.4 : Le dosage des paramètres nitrate, nitrite et phosphore des 6 échantillons.....	99
Figure 7.5 : Le dosage des paramètres sulfate, COT et azote totale des 6 échantillons.....	100
Figure 7.6 : Le dosage des paramètres Bicarbonate, Calcium et Chlorure des 6 échantillons.....	101
Figure 7.7 : Résultats du dénombrement de la microflore totale du borbier à 2% gasoil....	105
Figure 7.8 : vue de la dilution 10-9 sous un compteur de colonies.....	105
Figure 7.9 : Aspect macroscopique des Souches sélectionnées.....	107
Figure 7.10 : Boites de pétri dans l'incubateur.....	107
Figure 7.11 : Résultats du suivi du taux d'humidité dans les bacs A étudiés.....	110
Figure 7.12 : Résultats du suivi du taux d'humidité dans les bacs B étudiés.....	110
Figure 7.13 : résultats du suivi du pH dans les bacs A étudiés.....	112
Figure 7.14 : résultats du suivi du pH dans les bacs B étudiés.....	112
Figure 7.15 : résultats du suivi de la température dans les bacs A étudiés.....	113
Figure 7.16 : résultats du suivi de la température dans les bacs B étudiés.....	113

LISTES DES FIGURES

Figure 7.17 : Résultats du suivi du nitrate dans les bacs A durant le biotraitement.....	114
Figure 7.18 : Résultats du suivi du nitrate dans les bacs B durant le biotraitement.....	114
Figure 7.19 : Suivi du dénombrement dans les bacs A étudiés pendant 82 jours.....	115
Figure 7.20 : Suivi du dénombrement dans les bacs B étudiés pendant 82 jours.....	115
Figure 7.21 : humidificateur utilisé dans le suivi d'humidité de l'endroit de traitement.....	116
Figure 7.22 : Suivi de la température des bacs.....	116
Figure 7.23 : Évolution de la teneur en TPH dans les bacs A pendant 82 jours.....	119
Figure 7.24 : Évolution de la teneur en TPH dans les bacs B pendant 82 jours.....	119
Figure 7.25 : Évolution du rendement d'élimination des hydrocarbures dans les bacs A pendant les 82 jours.....	120
Figure 7.26 : Évolution du rendement d'élimination des hydrocarbures dans les bacs B pendant les 82 jours.....	120
Figure A.III.1 : Diffractogramme de l'échantillon du bourbier.....	158
Figure A.III.2 : Analyse minéralogique par DRX d'un sol non contaminé à HMD.....	158
Figure A.III.3 : Diffractogramme de l'échantillon du fumier vache.....	159
Figure A.III.4 : Diffractogramme de l'échantillon du fumier de volaille.....	159
Figure A.V.1 : structure chimique de cellulose.....	167
Figure A.V.2 : structure chimique de α -D-xylose.....	167
Figure A.V.3 : Structure des trois alcools phénoliques.....	168

LISTES DES ABRÉVIATIONS

Acétyl COA : Acétyl-coenzyme A
ADEME : Agence de l'environnement et la maîtrise de l'énergie
CAR/PP : Centre d'activités régionales pour la production propre
CIT : Carbone inorganique total
CMC : Carboxyméthylcelluloses
COT : Carbone organique total
COV : Composé organique volatil
CPG : Chromatographie en phase gazeuse
CT : Carbone total
DBO5 : Demande biologique en oxygène pendant 5 jours
DCM : Dichlorométhane
DCO : Demande chimique en oxygène
DRX : Diffraction des rayons X
E24 : L'index d'émulsion
GC-FID : Chromatographie phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme
GN : Gélose nutritive
H : Humidité
HAP : Hydrocarbure aromatique polycyclique
HMD : Hassi Messaoud
MS : Matière sèche
N_{total} ou N : Azote total
OOC : Pourcentage massique d'huile
PAC : Cellulose poly anionique
PH : Potentiel hydrogène
REME : réseau des entreprises Maghrébines pour l'environnement
T : Température
TPH : hydrocarbures pétroliers totaux
UFC : Unités formants colonies
US-EPA : United States Environmental Protection Agency

INTRODUCTION



GENERALE

La protection de l'environnement est actuellement la préoccupation majeure du monde entier face au développement des activités industrielles (Soltani, 2004).

Le développement de l'industrie pétrolière a engendré de nombreux problèmes environnementaux qui contribuent à la dégradation des écosystèmes naturels tels que les nappes d'eaux souterraines. Les lois de l'environnement exigent des traitements adéquats de ces déchets industriels afin d'éviter une éventuelle dégradation des milieux naturels.

Le nombre important de sites industriels pollués à réhabiliter suite à des problèmes associés au rejet du pétrole lors des opérations de forage, d'exploitation et du transport des hydrocarbures, constitue depuis quelques années un souci majeur pour l'entreprise SONATRACH, vu les réglementations de protection de l'environnement de plus en plus strictes et rigoureuses et qui exigent un traitement adéquat et efficace de tout rejet potentiellement polluant, avant son évacuation.

La majorité de ces sites sont dotés de systèmes de traitements thermiques associés aux voies d'élimination physicochimique des rejets. Ces techniques sont coûteuses et non respectueuses des écosystèmes (Martin, 2006).

La solution la moins coûteuse et la plus efficace est la bioremédiation qui offre une alternative par l'utilisation de bactéries, de champignons et de plantes naturellement résistantes à certains polluants qui sont utilisées pour confiner ou éliminer des substances potentiellement toxiques. Certaines bactéries peuvent dégrader plusieurs hydrocarbures ou toute une classe d'hydrocarbures. L'action combinée de la communauté bactérienne peut dégrader la quasi-totalité des composants du pétrole (ATLAS, 2011).

Nous vous proposons à travers ce travail à étudier la bioremédiation des sols contaminés par les hydrocarbures de la région de Hassi Messaoud, en utilisant leur microflore autochtone, ainsi qu'à la mise au point d'un biotraitement par la valorisation de déchets de différentes sources dans le but de résoudre le problème de la pollution engendré par les fluides de forage.

Pour réaliser ce travail nous avons suivis les étapes suivantes :

- ✓ Caractérisation physicochimique d'un borbier pollué par les fluides de forage

- ✓ Démontrer l'efficacité du « landfarming » en utilisant un fumier de volaille, un fumier de vache, de la sciure de bois, du terreau, et des grignons d'olive.

Le présent travail s'articule autour de sept chapitres, les cinq premiers sont dédiés aux généralités. Le sixième chapitre concerne la méthodologie adoptée durant l'expérimentation. Les résultats et leur discussion sont insérés dans le dernier chapitre.

Ce travail est achevé par une conclusion accompagnée de perspectives.

SYNTHÈSE



BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1

GÉNÉRALITÉ SUR LE SOL

1.1 Introduction

Le sol est une entité naturelle, superficielle et souvent meuble résultant de la transformation au contact de l'atmosphère et des êtres vivants. Issue le plus souvent d'une roche sous-jacente, sous l'influence des processus physiques, chimiques et biologiques (Girard et al, 2005).

Un sol est un système hétérogène et dynamique, composé de particules minérales, de matière organique, d'eau, d'air et d'organismes vivants (**Eldor, 2007**). Il possède un pouvoir auto-épurateur et peut être assimilé à un réacteur chimique et biologique dans lequel de nombreuses réactions auront lieu (Fadel, 2014).

1.2 Les constituants du sol

Les constituants du sol sont dans un état de division assez fine et intimement entremêlés et il est difficile de les séparer les uns des autres d'une manière satisfaisante (Buckman et Brady, 1965).

1.2.1 Phase liquide :

Les constituants liquides forment la solution du sol. Ils comprennent l'eau de sol et les éléments solubles dissous dans l'eau (corps organique ou minéraux) (Koller, 2002).

La teneur en eau d'un sol dépend fortement de sa texture donc de sa capacité de rétention, des facteurs climatiques tels que les précipitations, température et taux d'évaporation (**Koller, 2009**).

1.2.2 Phase gazeuse :

Les principaux constituants de l'atmosphère du sol sont les composés de l'air (azote, oxygène, gaz carbonique) et les gaz issus de la décomposition organique et l'activité biologique (Koller, 2002).

1.2.3 Phase solide :

Les constituants solides sont formés d'une fraction minérale et d'une fraction organique

➤ Fraction minérale :

Cette partie du sol est constituée de sels (des carbonates de calcium ou de magnésium), de silicates (micas), et de colloïdes comme les hydroxydes de fer ou d'aluminium (**Duchaufour, 1998**).

➤ Fraction organique :

Cette fraction du sol comprend la matière biologique (biomasse) et la matière organique (Koller, 2009).

1.3 Propriétés physico-chimiques de sol

1.3.1 Texture :

La texture dépend de la taille des particules qui le constitue, Le triangle des textures (sable – argile – limon) indique à quel type appartient le sol considéré. Cette analyse se fait par granulométrie qui est restreinte à un diamètre < 2mm, les fractions supérieures à ce diamètre sont considérées comme étant des cailloux ou gravier

La détermination de la texture du sol se fait par référence à :

- Les sables fins : de 2 mm à 50 μm ;
- Les limons : de 50 μm à 2 μm ;
- La fraction argileuse : < à 2 μm

Les textures ont été définis comme suit :

- Argileuse.
- Argilo-limoneuse.
- Argilo-sableuse.
- Limoneuse.
- Limono-sableuse.
- Sableuse (Duchaufour, 1998).

1.3.2 Structure :

Le sol présente une structure granuleuse, contient des cavités vides remplies d'eau ou d'air. La structure traduit la façon dont les particules terreuses sont disposées les unes par rapport aux autres. Lorsque celles-ci s'agglutinent en agrégats, elles sont à l'état floculé et la structure est grumeleuse (Davet, 1996).

1-3-3 Porosité :

Les particules élémentaires et les agrégats que renferme le sol laissent des espaces lacunaires causés par des fissurations spontanées. On désigne sous le nom de porosité le volume des espaces lacunaires remplis d'eau ou d'air exprimé en % du volume total du sol (**Robert et Varet, 1996**).

1.3.4 Perméabilité :

La perméabilité est l'aptitude d'un sol à laisser passer l'eau vers les couches inférieures ; elle dépend de la texture et de la structure du sol. Ce sont les colloïdes du sol argileux et l'humus qui ont le pouvoir absorbant le plus élevé et donc la moindre perméabilité d'où le nom du complexe absorbant attribué au complexe argilo-humique (Koller, 2009).

1.3.5 Capacité de rétention :

Elle représente l'humidité du sol, donc il représente la quantité totale d'eau retenue par le sol, elle se calcule par la différence de poids avant et après séchage à 105°C, elle permet aussi de calculer le taux d'humidité pondérale qui ne comprend pas l'eau fixée par les argiles qui va

s'évaporer à 500°C par la méthode de distillation.

1.3.6 **PH:**

D'après (Duchaufour, 1998) le PH du sol concerne l'eau interstitielle, selon sa valeur on distingue :

- Les sols acides dont le $\text{PH} < 7$.
- Les sols neutres dont le $\text{PH} = 7$.
- Les sols basiques dont le $\text{PH} > 7$.

1.3.7 **Potentiel redox :**

Il est réparti en quatre domaines selon Duchaufour (1998)

- 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.

1-4 **Microbiologie du sol**

La microbiologie du sol dépend de la matière organique. Le terme général qui désigne le mélange complexe de matière organique dans le sol est l'humus (Davet, 1996).

Le sol aéré et humide est un milieu particulier qui de nombreux êtres vivants. Les sols constituent un réservoir biologique considérable, importants pour la biodiversité des écosystèmes terrestres et abritent une grande diversité microbienne (Calvet, 2003 ; Girard et al, 2005).

Les organismes vivants dans le sol sont essentiellement des bactéries, des actinomycètes, des champignons, des algues, des protozoaires (Tableau 1.1).

Tableau 1.1 : communautés microbiennes des sols (Bonneau et souhier, 1994).

Microorganismes	Nombres (UFC/g de sol sec)
Bactéries	10^8
Actinomycètes	10^5 à 10^6
Champignons	10^5
Algues	10^4 à 10^5
Protozoaires	10^4

Selon Fernandez-Luqueno et al. (2010), parmi ces microorganismes, les bactéries, les actinomycètes et les champignons sont les plus nombreux et ils jouent un rôle essentiel dans la biodégradation des hydrocarbures pétroliers.

1-4-1 Bactéries :

Les bactéries sont des organismes de quelques micromètres. Ce sont les plus abondants de la flore microbienne. On estime que pour 1 g de sol, le nombre de bactéries est en moyenne de 10^8 parmi lequel 10^4 espèces différentes seraient présentes (Bonneau et Souchier, 1994 ; Wackett et Hershberger, 2000). Les plus représentés sont des bactéries aérobies telles que l'Arthorobacter (5 à 60% des UFC), les pseudomonas (3 à 20%) et le genre Bacillus (7 à 67%) (Alexander, 1977). On les trouve majoritairement dans les sols à granulométrie fine (2 à 20 μm), car les micropores représentent une niche écologique d'environ 80% de microorganismes (Militon, 2007).

1-4-2 Actinomycètes :

Les actinomycètes sont des organismes de quelques micromètres, ils appartiennent à la famille des bactéries. Ils rivalisent en complexité morphologique avec certains types de champignons. Ils supportent mal la chaleur et agissent plus tardivement que les bactéries. Les actinomycètes sont d'une grande variété et jouent un rôle essentiel dans la minéralisation des matières organiques et dans la formation de l'humus. Ils prennent le relais des bactéries lorsque l'activité de celles-ci diminue et s'attaque particulièrement aux structures plus résistantes comme la cellulose, la lignine, l'hémicellulose et les composés organiques plus récalcitrants. Ils sont responsables de l'odeur caractéristique de la terre humide. Les plus répandus sont saprophytes (Waksman, 1959).

1.4.3 Champignons :

Les champignons sont des organismes à caractère polaire et lipophile, de quelques micromètres à quelques millimètres, moins nombreux que les bactéries et les actinomycètes. Ils ont un fort pouvoir oxydant, riches en azote, qui préfèrent vivre dans un environnement acide, et qui par co-métabolisme excrètent des enzymes solubles (peroxyde d'hydrogène, lignine-peroxydases) capables de dégrader les hydrocarbures pétroliers lourds (Cerniglia, 1997 ; Boonchan et al., 2000).

Ils ne résistent pas à des températures supérieures à 50°C et ont la capacité de dégrader les composés organiques les plus complexes (cellulose, lignine, etc.) et les plus récalcitrants (HAP, etc.) (Haritash et kaushik, 2009).

CHAPITRE 2

GÉNÉRALITÉ SUR
LES FLUIDES DE
FORAGE

2.1 Introduction

Le forage pétrolier fait partie de l'ensemble des opérations nécessaires pour localiser et extraire de la roche réservoir les hydrocarbures présents dans le sous-sol (Garcia et parigo, 1968).

Le fluide de forage, appelé aussi boue de forage, est un système composé de différents constituants liquides (eau, huile) et/ou gazeux (air, gaz naturel) contenant en suspension d'autres additifs minéraux et organiques (argiles, polymères, tensioactifs, déblais, ciments, etc.), ces produits doivent conférer à la boue des propriétés qui permettent d'obtenir des rendements élevés au cours des forages (Darley *et al.*, 1988).

2.2 Classification

Les boues de forage sont classées en trois catégories selon le fluide de base utilisé dans leur préparation : l'air, l'eau ou l'huile (Ryan *et al.*, 1996), on distingue :

2-2-1 Fluide de forage à base d'eau :

Ces fluides sont souvent désignés par "Water-Based Muds" ou WBM. Ils sont dans la plupart des cas constitués par des suspensions de bentonites dans l'eau (30 à 60 g/L) (Herzhaft, 2001 ; Peysson, 2004).

2.2.2 Fluide de forage à base d'huile :

Les fluides à base d'huile généralement dénommés "Oil-Based Muds" ou OBM, sont des fluides dont la phase continue est une huile minérale (pétrole brut, fuel, gasoil, etc.), et la phase dispersée est de l'eau. La phase continue la plus utilisée jusqu'à ces dernières années était le gasoil (Lummus *et al.*, 1986).

2.2.3 Fluide de forage gazeux :

Ce sont des fluides dont la phase continue est un gaz, mélangé avec de l'eau en proportions variables, le gaz peut être de l'air ou du gaz naturel, et peut être retrouvé sous forme de mousse ou de brouillard (Abid, 1995).

2.3 Pollution due aux rejets des fluides de forage

Sur le champ pétrolier, les systèmes à base d'eau (WBM) sont généralement utilisés pour le forage de la première phase, pour le reste du puits, on utilise des systèmes à base d'huile (OBM).

L'utilisation du gasoil comme constituant majeur dans une formulation de boue à base d'huile, varie en fonction du rapport huile/eau : pour 1 m³ de boue formulée ce dernier varie de 50 % à plus de 90 % par rapport au volume total de la boue formulée [Khodja, 2008]. À la sortie du puits, le fluide de forage remonte, chargé de déblais. Ces derniers séparés du fluide de forage par tamisage, sont généralement stockés dans une grande excavation, réalisée à cet effet, appelée : bourbier (Fig.2.1) (Lounis *et al.*, 2005).



Figure 2.1 : Photo d'un bourbier à Hassi Messouad

2-4 Le devenir des rejets de fluide de forage

Une panoplie des produits chimiques est employée dans la formation des boues de forage, ces composés de natures différentes sont cependant déversés dans la nature, en plus des hydrocarbures, ainsi que d'une variété d'autres produits et additifs spéciaux. Ces rejets sont généralement stockés dans un bourbier. Ce dernier affecte avant tout la santé de l'homme, la faune et la flore, De ce fait, le bourbier, en tant que collecteur des produits liquides et solides issus du forage, représente une source dangereuse de pollution (Khodja, 2008).

CHAPITRE 3

POLLUTION DE
L'ENVIRONNEMENT
LIÉE AUX
HYDROCARBURES

3.1 Introduction

Ces molécules ont la particularité d'être présentes dans les différents compartiments des écosystèmes, dans l'eau, l'air, le sol. Une des principales sources d'hydrocarbures dans l'environnement est le pétrole brut (Lefebvre, 1978), ainsi les moteurs de combustion.

3.2 Définition des Hydrocarbures

Le mot hydrocarbure désigne un composé contenant des atomes de carbone et des atomes d'hydrogène avec parfois des atomes d'azote ou d'oxygène ne formant pas des groupements fonctionnels (Bocard, 2006 ; Lefebvre, 1978).

3.2.1 Classifications des hydrocarbures :

On peut les classer en trois familles principales, compte tenu de la tétravalence de l'atome de carbone et de la monovalence de l'atome d'hydrogène :

- **Les hydrocarbures saturés** : ce sont des composés de chaîne linéaire (n-alcane), de chaîne ramifiée (iso alcane), de chaîne cyclique (Cyclo alcane).
- **Les hydrocarbures insaturés** : Ce sont des composés contenant une double liaison(alcène), triple liaison (alcyne). Ils sont issus de la distillation de certains composés
- **Les hydrocarbures aromatiques** : ce sont des composés contenant un ou plusieurs noyaux benzéniques, ils ont une odeur spécifique. Ils constituent les hydrocarbures aromatiques monocycliques tels que les BTEX et les hydrocarbures aromatiques polycycliques tels que les HAP.

3.2.2 Le gasoil :

Le gasoil est un produit issu du raffinage du pétrole brut, il représente un mélange complexe d'hydrocarbures, de couleur jaune pale.

Le gasoil est un produit peu volatil, qui était autrefois employé dans la production de gaz d'éclairage par pyrogénéation, d'où son nom (Gas-oil). Aujourd'hui, c'est le combustible par excellence des moteurs diesel rapides, et un composant de formulation des fluides de forage (Normand, 1956).

Selon Vendeure et al (2007), le gasoil est essentiellement constitué de quatre classes structurales d'hydrocarbures (Fig.3.1)

- n-alcane ou n-paraffines (hydrocarbures linéaires) ;
- isoalcane ou isoparaffines (hydrocarbures ramifiés saturés) ;
- cycloalcane ou naphthène (alcane cyclique saturés) ;
- Aromatique (hydrocarbures cycliques insaturés) mono, bi, et tri-aromatique.

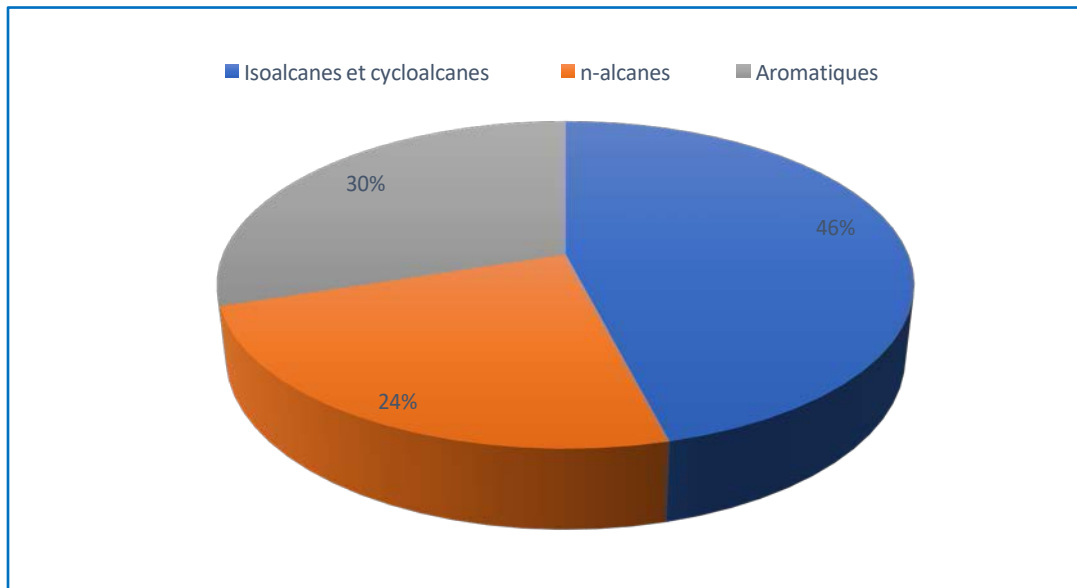


Figure 3.1 : la composition du gasoil (Marchal et al, 2003)

3.3 Devenir des hydrocarbures pétroliers dans le sol

À la suite d'un déversement des hydrocarbures au niveau du sol, ceux-ci sont soumis à différents processus d'altération physique, chimique et biologique qui vont fixer leur devenir dans le milieu (Fingas, 2013). Il n'est pas évident de déterminer le comportement d'un polluant au niveau du sol, car celui-ci est un grand système dynamique et hétérogène, ce dynamisme vivant dépend des propriétés intrinsèques du sol, des propriétés physiques et de la composition chimique des hydrocarbures. D'après Pernot (2012), les différents processus naturels d'altération des hydrocarbures sont la volatilisation, la biodégradation, l'adsorption, (Figure 3.2).

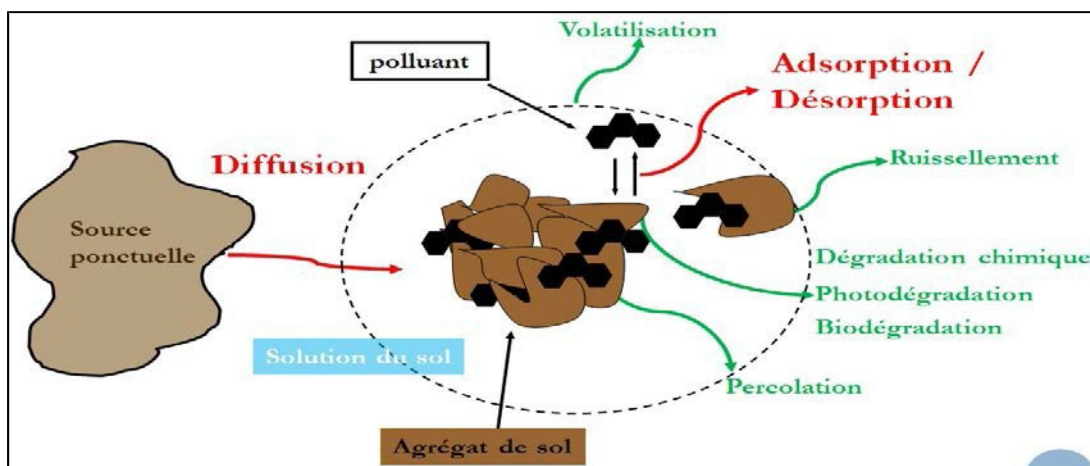


Figure 3.2 : Devenir d'un polluant organique au niveau du sol Tirée de Pernot (2012)

3.3.1 Volatilisation :

C'est un processus qui induit la plus grande perte de masse pour les hydrocarbures légers (Neff *et al.*, 2000 ; Fingas, 2013). Ce processus d'évaporation est influencé par la température.

3.3.2 Biodégradation :

D'après Fritsche et Hofrichter (2000) ainsi que Thiem et Schulze (2003), la biodégradation est le processus le plus énergétique et le plus efficace pour rompre les liaisons des hydrocarbures. C'est un processus de dépollution de sol qui utilise les capacités épuratrices naturelles des microorganismes. Cependant, la présence des contaminants de type métaux lourds à fortes concentrations en solution peuvent ralentir, voire inhiber les processus métaboliques des bactéries (ATSDR, 1995 ; Hurst *et al.*, 1996).

3.3.3 Adsorption :

L'adsorption est un procédé physico-chimique, naturel et passif d'accumulation des matières organiques, ce phénomène se fait par les interactions qui retiennent l'adsorbant sur la surface de l'adsorbant, qui peut être réversible (si adsorption physique) ou irréversible (si adsorption chimique).

C'est un phénomène qui dépend des conditions environnementales (pH, Température, taux d'humidité, etc.), des caractéristiques du polluant (solubilité, masse moléculaire, l'ancienneté du polluant, etc.), de la nature du sol (granulométrie, sa charge en matière organique, etc.). Elle se fait préférentiellement au niveau de la fraction organique du sol (Ehlers et Loibner, 2006) ou sinon, au niveau de la fraction minérale (Schwarzenbach et Westall, 1981).

3.4 Propriétés physico-chimiques des hydrocarbures

3.4.1 Viscosité : c'est une information sur la résistance à l'écoulement, plus la viscosité est faible, plus le déplacement de polluant sera rapide. Elle influe donc sur la mobilité de polluant et l'infiltration dans le sol.

3.4.2 Solubilité :

La solubilité est un indicateur sur la tendance de composé à se dissoudre. Les hydrocarbures sont entraînés par les eaux dans le sol, ils sont faiblement solubles dans l'eau, mais ceux qui sont solubles sont les plus dangereux pour l'environnement (Chaineau, Moreland et Oudot, 2000).

3.4.3 Pression de vapeur :

La pression de vapeur est un indicateur sur la tendance de composé à s'évaporer.

3.4.4 Densité :

La densité est un indicateur sur la tendance de composé à flotter, dans la zone saturée les hydrocarbures se flottent au-dessous de la nappe si leurs densités sont supérieures à celle de l'eau, ou bien au-dessus si leurs densités inférieures à celle de l'eau.

3.4.5 Teneur en aromatique :

La teneur en aromatique est un indicateur sur la toxicité de produit.

3.5 Ecotoxicité des hydrocarbures

L'émission des hydrocarbures dans l'environnement conduit à une pollution de l'air, du sol, de la nappe phréatique et surtout à une contamination de la chaîne alimentaire des êtres vivants (Bachelier, 1973 ; Arafa, 2003 ; Morelli et al, 2005 ; Savadogo , Zein et al, 2006 ; Vandermeer, 2007).

La présence du fluide de forage dans le bournier, n'est pas en soi, un danger, le risque apparait dès lors que ce polluant, soit mobilisé et agit comme un vecteur de la pollution, pouvant atteindre les eaux souterraines, la végétation de surface et les espèces animales vivant aux alentours, en permanence ou temporairement (José, 1999).

En pénétrant dans les sols poreux, le polluant hydrocarboné se déplace verticalement sous l'effet de la pesanteur (Bocard, 2006), et horizontalement, et pouvant provoquer à long terme une contamination de la nappe phréatique, et rendre les eaux souterraines impropres à l'utilisation humaine, comme source en eau potable et dans le domaine de l'irrigation (Bertrand, 1971 ; Scriban, 1999).

Plusieurs effets sur la santé peuvent être associés aux fluides de forage, et leurs toxicités selon leurs structures, leurs propriétés physicochimiques, leurs qualités et leurs quantités (Lefebvre, 1978).

La contamination peut avoir un impact économique sur les industries du tourisme et de l'extraction des ressources marines. Par exemple, la marée noire de Deepwater Horizon a eu un impact sur le tourisme balnéaire et la pêche le long de la côte du Golfe, et les parties responsables devaient indemniser les victimes économiques (Yang et al., 2009).

CHAPITRE 4

<p>RÉHABILITATION DES SOLS</p>

4.1 Introduction

Pour faire face à la pollution des sols plusieurs techniques de traitement sont recommandées, mais chacune d'elles a été critiquée à cause de son coût ou de son efficacité (Khodja, 2008).

Le choix d'une méthode adéquate de dépollution va dépendre au préalable de certains paramètres, citons en premier lieu, le diagnostic de l'état du site, qui comprend essentiellement l'identification des polluants (nature, concentration, origine, etc.), et la détermination des conditions géologiques, physicochimiques du site (Thomas, 1997 ; Gabet, 2004). Dans un second temps, il s'agit d'évaluer les risques encourus par la population et l'écosystème.

Finalement, la technique convenable choisie, doit être économique et de courte durée, et quand le traitement est mis en œuvre, un suivi du traitement s'impose (Thomas, 1997).

Il existe trois méthodes de réhabilitation des sols :

4.2 Confinement

Le confinement est une méthode de piégeage et immobilisation de la pollution. Elle a pour but de contenir les polluants à l'intérieur d'un périmètre et d'empêcher leurs dispersions. Elle consiste à isoler la terre à dépolluer grâce à une barrière étanche (généralement une géomembrane) (Gabet, 2004). Il est préconisé lorsque les traitements in-situ et ex-situ doivent être écartés à cause de leurs coûts.

Plusieurs types de confinement existent, on cite :

4.2.1 Confinement hydraulique :

Elle concerne toute pollution de la nappe, les eaux souterraines forment un panache de pollution, la combinaison de puits d'injection et d'extraction permet de réduire la taille du panache, soit en bloquant ou en inversant le sens de l'écoulement, pour que l'eau circulant de l'extérieur vers l'intérieur ne soit pas contaminée par le lessivât échappé de la zone polluée (Koller, 2009).

4-2-2 Confinement physique :

Il vise à empêcher l'écoulement des eaux souterraines hors des lieux contaminés, en utilisant des murs des boues ou des rideaux, soit par injection d'un coulis de boue ou l'introduction de palplanches.

4.3 Traitement in-situ

Le traitement in-situ se fait sans excavation du sol, avec possibilité de pompages des eaux souterraines, Donc c'est l'un des moyens les plus économiques et moins perturbateurs pour décontaminer le sol. Il ne nécessite ni matériel lourd pour enlever le sol, ni de grands espaces pour l'utilisation de matériel de traitement.

Cette méthode est souvent choisie pour traiter des sites en activité ou si la zone à excaver est trop étendue (Ballerni 1999).

Le traitement in-situ a ses limites, et est inopérant dans des conditions défavorables (faible perméabilité, hétérogénéité du sol).

4.3.1 Procédés physicochimiques

4.3.1.1 Venting :

Ce procédé repose sur la mise en dépression de la zone vadose contaminée, par l'utilisation des fluides présents dans le sol, ou les fluides injectés pour favoriser la volatilisation des composés organiques, et faire véhiculer la pollution vers des puits d'extraction.

Ce procédé permet de récupérer les composés volatils comme l'essence, fioul, ou les solvants chlorés, il faudra prendre en considération le risque de remontée de la nappe phréatique, dans ce cas, l'installation doit être équipée d'un dispositif de séparation eau/vapeur pour éviter toute dépression pouvant engendrer une aspiration des eaux souterraines (Koller, 2009).

4.3.1.2 Slurping :

Le slurping est aussi appelé l'extraction double phase, il consiste à traiter simultanément les gaz du sol et l'eau de la nappe, cette extraction vise les produits flottants surnageants issus de l'équilibre liquide/gaz de la phase dissoute superficielle et les gaz du sol.

Le gaz aspiré par la pompe à vide passe dans un séparateur de condensats qui diminue la teneur en eau, puis est conduit vers un appareil d'absorption des polluants volatils, en général un échangeur à charbon actif ou un four à catalyse dans lequel le gaz est brûlé (Hamadache, 2012). Le liquide est quant à lui, dirigé vers un décanteur et l'eau décantée passe dans un filtre à charbon actif avant son rejet dans le milieu naturel. S'agissant souvent d'hydrocarbures, les liquides restant de la décantation sont évacués vers un traitement ultérieur (Koller 2009).

4.3.1.3 Lessivage :

C'est un procédé adapté pour la dépollution des sols perméables suivant le schéma "infiltration-extraction", il consiste à injecter des fluides de lessivage comme de l'eau avec des agents d'extractions (tensioactifs) pour favoriser la désorption. L'introduction de ces solutions peut engendrer des conséquences et des effets toxiques sur l'équilibre physico-chimique du sol traité (Koller, 2009).

Le lessivage du sol présente plusieurs avantages notamment le déplacement et l'enlèvement des contaminants de façon permanente durant toute la période de traitement.

4.3.1.4 Venting passif :

Ce traitement est réalisé sans injection d'air, et sans mise en dépression, le transfert de gaz qui se fait par différence de pression s'opère naturellement avec la remontée des nappes.

4.3.1.5 Sparging :

Le sparging est un processus d'élimination des gaz dissous dans un solvant, elle consiste à l'injection d'air en dessous de la nappe, l'air injecté va se propager et favoriser la volatilisation

des polluants. Les polluants seront extraits au niveau de la zone vadose, ensuite seront ramenés au niveau de la plateforme pour être traités.

4.3.2 Procédés thermiques

4.3.2.1 Désorption thermique :

Ce procédé consiste à appliquer de la chaleur par injection de d'air chaud ou de la vapeur, ou bien par résistance électrique au moyen d'électrodes placées de part et d'autre du sol à traiter. Ce procédé est efficace même pour des sols peu perméables.

La désorption vise l'extraction des composés organique volatiles (COV), ils subiront par la suite un des traitements des effluents gazeux déjà cités (Koller, 2009).

4.3.2.2 Solidification-Vitrification :

Ce procédé vise la solidification du sol par augmentation de la température, les polluants sont volatilisés, alors ils sont récupérés à la surface pour être traités, la migration des composés volatilisés hors du périmètre traité constitue un risque majeur. Le sol contaminé est quant à lui, transformé en matériau fondu qui, une fois refroidi se vitrifie et encapsule les polluants, il est alors stable chimiquement (Koller, 2009).

4.3.3 Procédés biologiques

4.3.3.1 Bioventing :

Le Bioventing est un procédé qui consiste à faire circuler de l'air de la zone contaminée de manière à en extraire les polluants, tout en assurant un apport d'oxygène pour permettre une dégradation biologique. Il consiste à appliquer un débit d'aspiration très faible, il est bien adapté aux sols de perméabilité élevée, il est particulièrement adapté pour le traitement de certains hydrocarbures lourds et peu volatils (Kérosène, gasoil, les fiouls domestiques), le facteur limitant de cette technique est la vitesse de biodégradation. Le rendement de ce procédé varie avec les polluants, mais peut atteindre plus de 90% (Coulon et Delille, 2003).

4.3.3.2 Biosparging :

C'est une technique de barbotage qui favorise la biodégradation et bioventilation, les débits d'air par puits d'injection sont moindres par apport au sparging, l'injection d'air se fait en dessous de la nappe, l'enrichissement en oxygène se fait par injection de peroxyde (H_2O_2). Un apport de nutriments peut être préconisé pour accélérer les processus biologiques de la dégradation (Ambrosoli et al, 2005). Les nutriments sont mélangés à l'eau, soit injectés dans la nappe en avant de la zone à traiter, soit injectés par aspersion ou lagunage.

4.3.3.3 Phytoremédiation :

Elle est basée sur l'utilisation des plantes avec un attribut génétique qui leurs permet de transformer, de dégrader ou de concentrer les polluants soit dans leurs racines, soit dans leurs feuilles. Les racines de celles-ci sont associées à une microflore bactérienne qui va aider pour la dégradation des hydrocarbures (Liste et Alexander, 2000). La phytoremédiation était

essentiellement appliquée aux métaux lourds, mais de récentes études ont montré que cette technique est également utilisable pour les hydrocarbures (Ballerini, 1999). Elle est appliquée à des profondeurs faibles, et pour des grandes superficies à conditions que la pollution soit faible. La phytoremédiation peut être réalisée à l'aide de diverses espèces végétales comme l'avoine, le lupin, le colza, le ray-grass (Liste et Alexander, 2000 ; Binet, Portal et Leyval, 2000).

4.4 Traitement ex-situ

Elle consiste en l'excavation des sols contaminés. On parlera de méthode « hors-site » si le sol est évacué vers un centre de traitement spécialisé, ou de méthode « sur-site » si le sol excavé est redéposé sur le site pour être traité ;

4.4.1 Procédés physicochimiques

4.4.1.1 Extraction par solvant :

C'est un procédé de lavage, il utilise des solvants pour extraire les contaminants du sol, il ne détruit pas la pollution, mais c'est un transfert des contaminants de la phase solide vers la phase liquide. Ce procédé doit être suivi d'un traitement ultérieur de solvant qui est enrichi de polluants (Koller, 2009). L'extraction est un procédé de solubilisation sélective, qui dépend des propriétés physiques du polluant et du solvant.

4.4.2 Procédés thermiques :

Il consiste à chauffer le matériel contaminé pour en extraire le polluant et le détruire. Deux techniques sont employées pour la décontamination des sols pollués par les produits organiques, la désorption thermique et l'incinération. Ces technologies consistent à utiliser de hautes températures pour détruire les polluants en CO₂ et H₂O, et différents autres résidus de combustion (Lecomte, 1998).

4.4.2.1 La Désorption thermique :

Ce procédé est basé sur le fait que les pressions de vapeur des polluants augmentent avec la température. Le chauffage du sol jusqu'à volatilisation des polluants entraîne un transfert de la phase solide vers la phase gazeuse, ces vapeurs sont traitées dans des unités de traitement.

4.4.2.2 L'incinération :

Ce procédé s'adapte à tous types de polluants, volatils, semi-volatils, ou peu-volatils, il nécessite une température plus élevée que celle de la désorption thermique (>1,000°C) (Scullion, 2006).

4.4.3 Procédé d'oxydation avancée :

La photo-oxydation est basée sur l'utilisation de rayonnement ultra-violet associé à un photocatalyseur ou oxydant pour détruire les polluants, le plus utilisé est le TiO₂ /UV. Cette méthode a toutefois un désavantage majeur, elle conduit parfois à la formation de produits secondaires plus toxiques que le produit de départ.

4.4.4 Procédé biologique (La bioremédiation)

4.4.4.1 Le bioréacteur :

Cette méthode consiste à réaliser la biodégradation dans un réacteur (contenant), elle est utilisée lorsque les microorganismes ont des difficultés à se développer dans des conditions non contrôlées.

Le bioréacteur permet de gérer précisément le processus de biodégradation par le contrôle du pH, de la température, de l'humidité et des teneurs en nutriments, mais il revient cher par rapport aux autres techniques (Singh et al., 2012). Le sol qui sera excavé et traité sous forme de boue ou des phases gazeuses, En fonction du polluant on peut ajouter des microorganismes adaptés pour le traitement qu'il s'agisse de souches autochtones ou allochtones (Ali Ahmed, 2011). Ces réacteurs peuvent être munis d'une injection d'air centrale pour assurer un débit d'air plus important.

On remarque qu'il existe deux types de bioréacteurs ;

- **Bioréacteur à phase liquide, liquid phase reactor (LPR) :** ces réacteurs fonctionnent soit en continu, soit en discontinu, les temps de séjours sont en fonction de la biodégradabilité des polluants, de la concentration initiale, et de la concentration finale voulue.
- **Bioréacteur en phase solide, solid phase reactor (SPR) :** à l'inverse des bioréacteurs à boue activé, le prix de revient de ce procédé est moins cher mais il présente un rendement moindre.

4.4.4.2 La biorestauration :

La biorestauration est un processus qui utilise des micro-organismes pour retirer les contaminants du sol (USEPA 2000, 2012 ; Leung, 2004). Elle utilise les propriétés dépolluantes des microorganismes (des bactéries essentiellement, mais également des champignons) endogènes ou exogènes au terrain (ADEME, 2006 ; Vázquez, 2009).

En particulier, les micro-organismes natifs du sol jouent un rôle clé dans la biorestauration du sol en tant qu'agents biogéochimiques pour transformer des composés organiques complexes en composés inorganiques simples ou en leurs éléments constitutifs (Scullion, 2006). Ce processus est appelé minéralisation. Les micro-organismes sont adsorbés sur les particules du sol par un mécanisme d'échange ionique. En général, les particules du sol ont une charge négative, et le sol et les bactéries peuvent se maintenir ensemble par une liaison ionique impliquant des cations polyvalents (Killham, 1994).

La biorestauration est décrite comme l'utilisation de micro-organismes pour détruire ou immobiliser les déchets (Shanahan, 2004). Ce processus de détoxification cible les produits chimiques nocifs par minéralisation, transformation ou altération (Shannon et Unterman, 1993). Pendant des siècles, les civilisations ont utilisé la biorestauration naturelle dans le traitement des eaux usées, mais l'utilisation intentionnelle pour la réduction des déchets dangereux est un développement plus récent.

La biorestauration implique la production d'énergie lors d'une réaction redox au sein des cellules microbiennes. Ces réactions incluent la respiration et d'autres fonctions biologiques nécessaires au maintien et à la reproduction des cellules. Un système de distribution qui fournit un ou plusieurs des éléments suivants est généralement requis : une source d'énergie (donneur d'électrons), un accepteur d'électrons et des nutriments. Différents types d'accepteurs d'électrons microbiens peuvent être impliqués dans la biorestauration, comme la réduction de l'oxygène, du nitrate, du manganèse, du fer (III), du sulfate ou du dioxyde de carbone (Rokne et Reddy, 2003) (Figure 4.1).

Selon Venosa (1998), la présence de micro-organismes possédant les capacités métaboliques appropriées est la condition la plus importante pour la biorestauration des déversements d'hydrocarbures. Les communautés exposées aux hydrocarbures s'adaptent et présentent un enrichissement sélectif et des modifications génétiques (Leahy et Colwell 1990 ; Atlas et Bartha, 1998). Les communautés microbiennes adaptées peuvent répondre à la présence de polluants hydrocarbonés en quelques heures (Atlas, 1984) et présenter des taux de biodégradation plus élevés que les communautés sans antécédents de contamination par les hydrocarbures (Leahy et Colwell, 1990).

Étant donné que le pétrole brut est composé d'un mélange de composés et que les micro-organismes individuels ne métabolisent qu'une gamme limitée de substrats hydrocarbonés, la biodégradation des hydrocarbures pétroliers nécessite un mélange de différents groupes bactériens ou consortiums fonctionnant pour dégrader une plus large gamme d'hydrocarbures (AL-Saleh, 2009, Bordenave, 2007). Ce processus dépend de la disponibilité des nutriments et de la présence optimale d'autres facteurs qui soutiennent les fonctions biologiques.

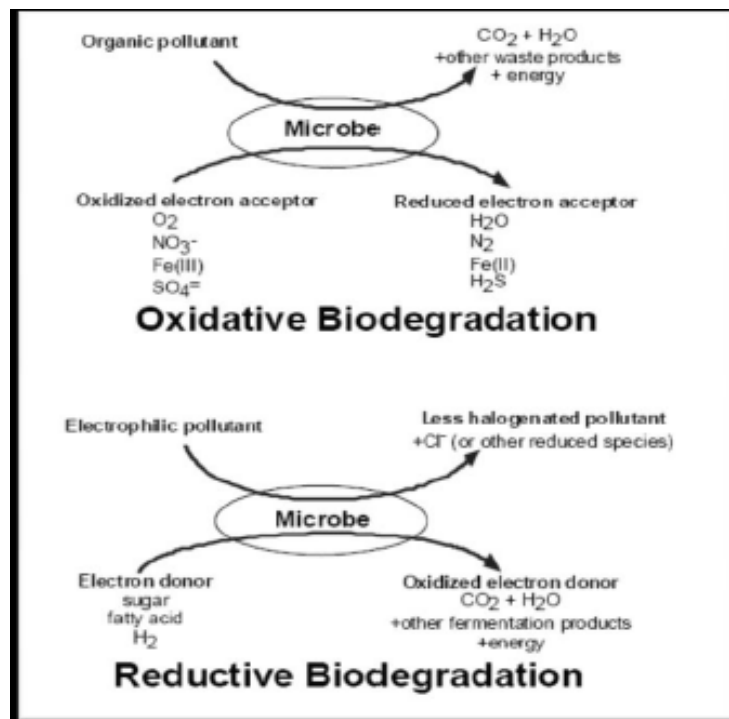


Figure 4.1 : processus général de dégradation des contaminants organiques (Rockne et Reddy, 2003)

CHAPITRE 5

BIOREMÉDIATION DES
SOLS POLLUÉS PAR
LES HYDROCARBURES

5.1 Introduction

La bioremédiation est le processus naturel le plus important dans la dépollution de l'environnement (Vogel et Billerini, 2001 ; Crawford, 2013). Ce phénomène peut s'effectuer à n'importe quel milieu : ainsi que dans différentes phases du polluant (Lecomte, 1998). C'est la technique la plus économique (Riffaldi et al., 2006 ; Lin et al., 2011) (tableau 5.1). Mais elle nécessite beaucoup de temps pour ce faire (Pacwa-Płociniczak et al., 2014).

Les microorganismes responsables de ce processus naturel, possèdent des capacités génétiques d'oxyder une grande partie de contaminant, et des produits associés, en utilisant dans la plupart des cas, une fraction de ce substrat comme source d'énergie (Saada et al., 2005).

Tableau 5.1 : Estimation des coûts des stratégies de remédiation des sols pollués par les hydrocarbures

Stratégie de remédiation	Traitement de site	Coût (US \$/m ³)
Biostimulation	In situ	30-100
Bioaugmentation	In situ	30-100
Bioventing	In situ	79-970
Biopiles	Ex situ	130-260
Compostage	Ex situ	630-757
Landfarming	Ex situ	30-70
Venting	In situ	405-1485
Desorption thermique	Ex situ	44-252

Donnés de US Federal Remediation Technologies Roundtable (2014). Les coûts supplémentaires pour les expériences en laboratoire et à l'échelle pilote ne sont pas inclus.

5.2 Les micro-organismes dégradant les hydrocarbures

Les sols étant rarement stériles, la microflore en place lorsqu'elle rencontre une pollution pétrolière va, en fonction des conditions chimiques et physico-chimiques de son environnement, chercher à métaboliser les polluants pour se maintenir en vie (Jemal; 2002). Ces microorganismes

«hydrocarbonoclastes » sont les principaux agents d'atténuation naturelle des hydrocarbures (Soltani, 2004), leur nombre est beaucoup plus important dans les zones polluées de façon chronique et s'accroît après un apport d'hydrocarbures dans les sites dépourvus de contamination (Bartha *et al.*, 1977).

Cependant, en se basant sur la fréquence d'isolement, les bactéries restent qualitativement et quantitativement prépondérantes, pour métaboliser ces substrats (Bertrand *et al.*, 1989 ; MacNaughton *et al.*, 1999).

La capacité de se développer sur les hydrocarbures ne se limite pas uniquement aux bactéries, certains sites contaminés contiennent également de nombreux champignons et levures capables de les dégrader (Davies *et al.*, 1979 ; Yamada-Onodera *et al.*, 2002).

La plupart des micro-organismes hydrocarbonoclastes sont des aérobies mésophiles, isolées à partir des sols des régions tempérés (Champagnat, 1974 ; Vandecasteele, 2005), quelque anaérobie qui s'observent chez certain sulfato-réducteur sont moins bien connus (Pelmont, 2005).

Chaque espèce microbienne a des exigences spécifiques et une spécialisation nette selon la longueur de chaîne, les ramifications et l'insaturation (Vandecasteele, 2005).

5.2.1 Les microorganismes dégradant les hydrocarbures aliphatiques :

Les microorganismes capables d'oxyder les hydrocarbures aliphatiques sont essentiellement des bactéries et diverses levures présentes en abondance dans les sols (Pelmont, 2005).

5.2.1.1 Les n-alcane :

Les hydrocarbures paraffiniques sont les substrats les plus utilisés par les microorganismes (Scriban, 1999), leur dégradation par les microorganismes alcanotrophes, fait apparaître une spécialisation selon la longueur de chaîne hydrocarbonée (Guermouche, 2015 ; Fuentes, 2014).

Dans le cas du gasoil, les alcanes à longue chaîne (C10 et C20), sont très bien utilisés par les microorganismes, plus rapidement que les alcanes moyens (Pelmont, 1994). Les bactéries capables de dégrader ce substrat, appartiennent en particulier aux genres : *Corynebacterium*, *Mycobacter* et *Nocardia*, notamment au genre *Rhodococcus*, mais aussi à des groupes Gram-négatifs tels que *Pseudomonas* et *Alcaligenes* (Vandecasteele, 2005).

Les levures connues pour leur pouvoir métabolique des chaînes d'alcane à plus de 10 atomes de carbone (Champagnat, 1974 ; Riviere, 1975), appartenant aux genres *Candida*, *Pichia*, et *Torulopsis*.

5.2.1.2 Les iso-alcane :

La dégradation des iso-alcane est habituellement effectuée par les bactéries (Vandecasteele, 2005), les chaînes ramifiées des isoparaffines sont moins facilement attaquées, et leur caractère récalcitrant augmente avec le nombre de ramifications, et les positions des groupement alkyles (Pelmont, 2005).

En effet de nombreuses espèces dégradant les n-alcane, dégradent aussi les isoalcanes méthylés en position paire, la méthylation en position impaire nécessitant des bactéries spécialisées beaucoup moins communes (Vandecasteele, 2005).

5.2.2 Les microorganismes dégradant les cycloalcanes :

La dégradation des cyclohexanes dans l’environnement est un cas intéressant, de rares souches de *Nocardia* et *Pseudomonas* sont capables de le minéraliser directement (Vandecasteele, 2005).

5-2-3 Les microorganismes dégradant les hydrocarbures aromatiques :

La capacité de dégrader les hydrocarbures aromatiques, ne peut pas être clairement assignée à un genre microbien particulier, ceci est dû à la présence chez une même souche d’une ou de plusieurs voies cataboliques. Cette diversité microbienne peut être liée à plusieurs facteurs écologiques (Vandecasteele, 2005).

Les microorganismes dégradant les hydrocarbures aromatiques sont cités dans le tableau 5.2.

Tableau 5.2 : les microorganismes dégradant les hydrocarbures aromatiques.

Microorganisme	Embranchement	Classe	Genre	Références
Les bactéries	Protéobactéria (Gram négatif)	α -protéobactéries	<i>Sphingomonas</i>	Soltani, 2004
		β -protéobactéries	<i>Alcaligenes</i>	Vandecasteele, 2005
			<i>Burkholderia</i> <i>Ralstonia</i>	
	γ -protéobactéries	<i>Pseudomonas</i>	Arodi, 2005	
	Gram positif	(G+C) élevé	<i>Nocardia</i> <i>Rhodoccus</i> <i>Mycobacterium</i>	Vandecasteele, 2005
(G+C) faible		<i>Bacillus</i>		
Levures			<i>Rhodotorula</i> <i>Candida</i> <i>Saccharomyces</i> <i>Kluyveromyces</i>	Chablain <i>et al.</i> , 2001 Hamidi, 2007 Arrar, 2007

Champignons	<i>Aspegillus</i>	Soltani, 2004
	<i>Cunninghamella</i>	Hamidi, 2007
	<i>Pinicillium</i>	Arrar, 2007
	<i>Exophiala</i>	

5.3 Mécanismes anaérobies des hydrocarbures

La dégradation des hydrocarbures par les microorganismes dans des conditions aérobies, est bien connue depuis plus d'un siècle, alors que l'utilisation de ces composés dans des conditions anoxiques (sédiments profonds et réservoirs de pétrole) n'a été étudiée que durant la dernière décennie.

L'absence de l'oxygène moléculaire dans les environnements anoxiques, nécessite un nouveau mode d'activation biochimique, pour convertir les hydrocarbures apolaires en des composés comportant des groupements fonctionnels (hydroxyle, carbonyle ou carboxyle), qui sont indispensables pour toute réaction d'oxydation ultérieure (Spormann *et al.*, 2000 ; Soltani, 2004).

Les bactéries capables de dégrader les hydrocarbures en anaérobiose utilisent le nitrate, le fer (III) ou le sulfate comme accepteurs d'électrons. Cependant, en absence de ces derniers ainsi que l'oxygène, un mécanisme de dégradation par méthanogenèse peut avoir lieu (Zengler *et al.*, 1999). En revanche, la biodégradation anaérobie des hydrocarbures beaucoup moins connue, peut avoir lieu dans les couches les plus profondes du bourbier, elle se caractérise par sa lenteur d'action.

5.4 Mécanismes aérobie des hydrocarbures

La capacité des micro-organismes à biodégrader naturellement les hydrocarbures se traduit par la présence de métabolismes spécialisés, de co-métabolisme et de coopération entre les souches bactériennes, sous le contrôle d'enzymes spécifiques, qui sont les moteurs de toute dégradation organique (Jemal, 2002).

La dégradation des hydrocarbures ne peut se faire que par l'action des oxygénases d'où la forte prédominance d'un métabolisme aérobie (Champagnat, 1974).

5.4.1 Métabolisme des alcanes :

L'attaque aérobie des hydrocarbures aliphatiques commence par l'action des oxygénases (hydrolase), qui introduit une molécule d'oxygène, transformant l'alcane en alcool (Vandecasteele, 2005 ; Wentzel, 2007). La dégradation communément admise se fait selon trois voies ; l'oxydation terminale amène à la formation d'acide gras, entrant dans le mécanisme de β oxydation, et qui a pour produit final l'acétyl CoA, qui intègre le cycle de Krebs (Bousseboua, 2002 ; Record, 2007).

Alternativement, l'acide gras final, peut subir une nouvelle oxydation à l'autre extrémité de la chaîne aliphatique, c'est l'oxydation diterminal ou ω -oxydation (Vandecasteele, 2005).

Dans certains cas, l'oxydation subterminale peut avoir lieu pour les alcanes lourds (C₁₀-C₂₄), comme c'est le cas du gasoil (Soltani, 2004 ; Record, 2007), ce qui conduit à la formation d'un alcool secondaire qui est oxydé en cétones ; une monooxygénase de Baeyer-Villiger, convertit les cétones en esters qui sont clivés par une estérase en alcool est acide gras (Record, 2007).

5.4.2 Métabolisme des iso-alcanes :

Les alcanes ramifiés sont difficilement dégradés que les alcanes linéaires, leur métabolisme, ne peuvent intervenir que dans les cultures de microorganisme sur fraction de pétrole du type gasoil. Les alcanes linéaires constituent une source préférentielle des microorganismes, que les alcanes ramifiés. Ces derniers, ne jouent qu'un rôle mineur et peuvent participer de façon modeste à la production de masse cellulaire, lorsqu'ils comprennent, une chaîne carbonée linéaire assez longue, qui est alors dégradée en tronçons acétiques comme une chaîne d'alcane linéaire.

Une ramification en position α , n'empêche pas une β -oxydation, par contre, les ramifications sur l'avant-dernier carbone vont bloquer cette dernière (Schaeffer *et al.*, 1979 ; Rontani *et al.*, 1986 ; Saada, 2005).

L'oxydation des alcanes ramifiés commence généralement par le groupement méthyle terminal, le plus éloigné de la ramification et l'acide gras formé est ensuite incorporé dans les lipides cellulaires. La dégradation peut se poursuivre jusqu'à la ramification où une ω -oxydation sera alors nécessaire pour une minéralisation complète de l'alcane (Soltani, 2004).

5.4.3 Métabolisme des cycloalcanes :

Plusieurs auteurs s'accordent que les paraffines cycliques ne peuvent être dégradées que par cométabolisme impliquant des cultures mixtes, vu que les oxygénases intervenant pour l'oxydation initiale et pour la rupture du cycloalcane, sont rarement trouvées dans la même bactérie [Soltani, 2004 ; Saada, 2005]. L'étape remarquable dans cette voie est l'étape d'oxygénation du cycle pour donner le ϵ -caprolactone, qui a pour produit final l'acide adipique, qui à son tour suit une β oxydation (Scriban, 1999).

5.4.4 Métabolisme des hydrocarbures aromatiques :

La biodégradation aisée des hydrocarbures monoaromatiques est dû à leur solubilité élevée, qui les rend facilement accessibles aux microorganismes.

Les bactéries oxydent initialement les hydrocarbures aromatiques par l'incorporation de deux atomes d'oxygène moléculaires dans le substrat pour former des dihydrodiols de configuration cis (Gibson et al, 1975). Cette réaction est catalysée par une enzyme, la dioxygénase. L'oxydation des cis-dihydrodiols conduit à la formation de catéchols (Gibson et al, 1968). Généralement, l'oxydation se poursuit par une rupture ortho (rupture de la liaison entre les deux groupements hydroxyle) ou méta (rupture d'une liaison entre un carbone portant un groupement hydroxyle et le carbone immédiatement voisin ne portant pas de groupement hydroxyle) du cycle qui est assuré par une autre dioxygénase (Dagley, 1971 ; Soltani 2004).

Les aromatiques alkylés et les aromatiques di et polycycliques sont dégradés de façon analogue avec ouverture d'un cycle [Champagnat, 1974]. Le mode d'attaque des BTEX, dépend à la fois des groupements alkyle substituant et de la souche bactérienne (Ballerini et Vandecasteele, 1999 ; Akmouci, 2009).

Cependant, il n'en résulte jamais une croissance cellulaire comparable à celle obtenue avec les alcanes linéaires (Champagnat, 1974).

Les termes finaux de la dégradation aboutissent à des produits (pyruvates, succinates, acétate) sont facilement minéralisés par les réactions du cycle des acides tri-carboxyliques.

5.5 Cinétique de la croissance microbienne

D'après Larpent (1997), la courbe de croissance microbienne suit les phases suivantes ;

➤ **Phase de latence ou lag-phase**

Elle s'étend depuis le temps t_1 de l'inoculation jusqu'à le temps initial du début de la croissance exponentielle. Elle se divise elle-même en phase de croissance nulle correspondant au temps d'adaptation enzymatique de l'inoculum au milieu de culture, et en phase d'accélération du taux de croissance correspondant aux premières divisions de durée variable. Cette phase peut être raccourcie par les facteurs de stimulation (Larpent, 1997).

➤ **Phase exponentielle ou logarithmique**

Elle correspond au temps pendant lequel le taux de croissance devient constant et où les cellules se multiplient à une vitesse proportionnelle à la densité de la culture.

➤ **Phase de stabilisation ou maximale**

Le taux de croissance diminue puis s'arrête ; c'est la disparition d'un ou plusieurs facteurs limitants qui est la cause principale de cette stabilisation.

➤ **Phase de décroissance ou déclin**

Cette phase est dite encore de mortalité logarithmique en général lente. Elle correspond à l'autolyse des corps microbiens morts, la densité optique de la culture diminue progressivement (Larpent, 1997).

5.6 Différentes techniques de bioremédiation

Dans tous les cas, les traitements biologiques font appel, soit à la bioaugmentation, soit à la biostimulation, soit les deux à la fois.

5.6.1 L'atténuation naturelle :

L'atténuation naturelle, définie comme la dégradation des sols contaminés par un ensemble de processus chimiques, biologiques ou physiques naturels, est connue pour prendre beaucoup de temps aux basses températures de l'Arctique (Kulkarni et al. 2012 ; Rike et al. 2001 ; Agarry,

2012). Par conséquent, les effets néfastes chroniques des polluants d'hydrocarbures sur l'environnement arctique pourraient persister encore plus de 20 ans (Naseri et al. 2014 ; Prince et al. 2002 ; Braddock et al. 2003). En conséquence, d'autres stratégies peuvent être mises en œuvre pour augmenter efficacement à la fois le taux et l'étendue du processus de biodégradation. La biostimulation et la bioaugmentation sont les stratégies les plus courantes (Whyte et al. 1999 ; Kalantary, 2014). Ceux-ci sont discutés dans cette section.

5.6.2 Bioaugmentation :

La bioaugmentation implique l'introduction des micro-organismes isolés du site contaminé, d'un site historique ou soigneusement sélectionnés et génétiquement modifiés pour soutenir la biodégradation des sols contaminés par les hydrocarbures (Godleads et al., 2005). Les microorganismes ajoutés peuvent être allochtone ou autochtone (Vogel, 1996). La bioaugmentation consiste à ensemercer des souches spécifiques de microorganismes exogènes dans le sol afin d'optimiser l'activité microbienne indigène responsable de la biodégradation des polluants organiques (Colombano , 2010 ; Xu et Zhou, 2017).

Les traitements de bioaugmentation réussis dépendent de l'utilisation d'inoculum constitués de souches microbiennes ou de consortiums microbiens bien adaptés au site à décontaminer. Des micro-organismes étrangers (ceux inoculés) ont été appliqués avec succès mais leur efficacité dépend de leur capacité à concurrencer les micro-organismes indigènes, les prédateurs et divers facteurs abiotiques (Godleads et al., 2005) (tableau 5.3, tableau 5.4).

Tableau 5.3 : Recherches spécifiques de bioaugmentation

Type de Contaminant	Concentration Initial de TPH	Microorganismes ajoutés	Source de Microorganismes	Durée De la recherche	réduction TPH (%)	Commentaire	Références
TPH (Huile brute)	4200mg / kg	Acinetobacter baumannii T30C	Tapis contaminé par le pétrole brut d'une raffinerie de pétrole	35 jours	43%	La réduction observée n'était pas significativement différente du témoin	Chang et al, (2011)
TPH (Huile brute)	> 100 mg / kg	Serratia Sp BF40	Sols salins contaminés par l'Huile brute	Inconnu	> 60%	La souche BF40 de Serratia a montré un potentiel élevé de biodégradation des sols salins contaminés par le pétrole brut en raison de sa haute activité de surface et de sa tolérance au sel	Wu et al (2012)

TPH, Contaminé par camions de stationnement, (activités humaines et diesel)	10000 mg / kg	Bacillus cereus, Gordoni rubripertinct a, Kociria, rosea, Bacillus, subtilis, (Strains 7A and 9A), Aspergillus terreus, Aspergillus carneus	Isolé des sites pré contaminés	90 jours	52,0%	La dégradation du TPH dans le sol n'était pas significativement différente de la réduction observée chez le témoin,	Diaz- Ramirez et al (2013)
TPH (diesel)	16,300 mg / kg	Candidatropi calis S K 21	Sol contaminé par le pétrole	120 jours	83%	L'inoculation de levure a entraîné une élimination de 83% du TPH contre 61% utilisent des autochtones microorganismes	Fan et al, 2014
TPH (Diesel d'un accident de réservoir)	> 5 000 mg / kg	Pseudomona s fluorescens	Isolé de sol précédemmen t contaminé	270 jours	> 60%	Les acides gras phospholipidiqu es (PLFA) libérés ont été mesurés Comme indication de la Biomasse microbienne vivante. L'augmentation de dernier, a favorisé la biodégradation par rapport aux échantillons reposant sur des Microbes autochtones	Kurmar et al (2011)

Tableau 5.4 : Bioaugmentation réalisée dans différents pays

Pays	Systèmes biologiques utilisés
Etats-Unis	Cultures pures ou mixtes de Bacillus, Clostridium, Pseudomonas, et bâtonnets à Gram négatif ; cultures mixtes de bactéries dégradant les hydrocarbures ; cultures mixtes de bactéries de source marine ; suspension de spores de Clostridium ; microflore stratale indigène ; bactéries formant des boues ; ultramicrobactéries.
Russie	Cultures pures de C. tyrobutiricum; cultures mixtes de bactéries; bactéries de boues activées; microbiote naturel des déchets industriels (alimentaires)
Chine	Cultures bactériennes enrichies mixtes de Bacille, Bacteroides, Eubacterium, Fusobacterium, Pseudomonas; bactéries formant des boues: Brevibacterium viscosum, Corynebacterium gumiforme, Xanthomonas campestris
Australie	Ultramicrobactéries avec tensioactifs
Canada	Culture pure de Leuconostoc mesenteroides
Angleterre	Souche anaérobie d'origine naturelle, générateur élevé d'acides ; bactéries familiales spéciales, bons producteurs d'exopolymères
Allemagne	Cultures mixtes de thermophiles Bacille et Clostridium de brin microflora indigène
Hongrie	Cultures mixtes de bactéries de boues d'épuration (prédominantes : Clostridium, Desulfovibrio, Pseudomonas)
Norvège	Bactéries réductrices de nitrate naturellement présentes dans l'eau de la mer du Nord
Oman	Bactéries autochtones sporulées provenant de puits de pétrole et de sols contaminés par le pétrole
Pologne	Cultures de bactéries mixtes (Arthrobacter, Clostridium, Mycobacterium, Peptococcus, Pseudomonas)
Roumanie	Cultures d'enrichissement mixtes adaptées (Bacille, Clostridium, Pseudomonas, et autres Gram-négatives)
Arabie Saoudite	Inoculum bactérien adéquat selon les exigences de chaque technologie
Les Pays-Bas	Bactéries formant de la boue (Betacoccus d'extranicus)
Venezuela	Cultures d'enrichissement mixtes adaptées

Source : Lazar et al 2007 ; Al-Wahaibi et al 2013 ; Al-Bahry et al 2013 ; Al Sulaimani 2010, Alsulaimani, 2011.

5.6.3 **Bioaugmentation :**

Elle consiste à stimuler aux moyens d'adjuvant chimique ou biochimique l'activité de la microflore indigène du sol. Parmi ces composés, des nutriments principalement l'azote, le phosphore, le potassium et des conditions de milieu (potentiel d'oxydoréduction, humidité ...) (Mazziotti, 2017 ; Miyasaka et al, 2006).

L'ajout de ces catalyseurs accélère la vitesse de la biodégradation des hydrocarbures, c'est l'une des techniques les plus utilisées du fait du coût très bas de mise en œuvre (Vogel, 1996).

Certains paramètres doivent être contrôlés et optimisés pour réussir la biodégradation. Dans le cas inverse La dégradation est partielle et dans certains cas forment des produits intermédiaires qui ont une toxicité supérieure aux contaminants initiaux (Bégin, 1999 ; Duchesne, 2013).

Dans la pratique, le choix de substrat organique dépend généralement de la valeur de son ratio C:N (la fraction carbonée sur la fraction azotée) . Une bonne combinaison de ce ratio apporte un équilibre nutritionnel de matières hétérogènes, riches en carbone et en azote, dans le développement des microorganismes (Fokou Mbogne, 2017). C’est la raison pour laquelle les auteurs tels que Larsen et Mc Cartney (2000), Amir *et al.* (2005), Mbuligwe *et al.* (2002), Sadaka et Taweel (2003), Cassidy *et al.* (2000), ainsi qu’Antizaz-Ladislao *et al.* (2004) recommandent un rapport C:N optimal compris entre 25-30.

5.6.4 Combinaison Biostimulation et Bioaugmentation :

Il est possible de combiner la bioaugmentation avec la biostimulation (ex : ensemencement et ajout de fumier).

Les scientifiques ont essayé d'exploiter une base combinée pour les deux mécanismes pour atteindre des taux de dégradation plus élevés. Tant que les nutriments ne sont pas toxiques et nuisent à la survie microbienne, une technologie combinée est possible (Godleads *et al.*, 2005).

Plusieurs études ont montré que la biostimulation par ajout de nutriments et la bioaugmentation par inoculation de bactéries renforcent le taux de dégradation de l’hydrocarbure pétrolier dans les sites contaminés (Louati, 2013 ; ESSABRI, 2019).

Le tableau ci-dessous (tableau 5.5) présente un résumé des stratégies de combinaison

Tableau 5.5 : Thérapie combinée la bioaugmentation et la biostimulation

Type de contaminant	concentration Initial TPH	Microorganismes et nutriments ajoutés	Source de Microorganismes	Durée De la recherche	TPH réduction (%)	Commentaire	Références
TPH à partir de diesel	Non indiqué	UN consortium isolé de sol précédemment contaminé et (NH ₄) ₂ SO ₄ et K ₂ HPO ₄	Sol précédemment contaminé	84 jours	45% et 72,7% Pour la biostimulation et la bioaugmentation respectivement	Bioaugmentation et biostimulation ont augmenté la souche autochtone	Bento <i>et al.</i> , 2004
TPH à partir d'huile de moteur usée	14,100 mg / kg	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Bacillus subtilis</i> et engrais; NPK 20: 10: 10	Culture mère obtenue à partir d'un institut de recherche	70 jours	75% de réduction	La disponibilité des nutriments (azote, phosphore et potassium) était	Abdusalam <i>et al.</i> , 2009

						optimale pour la durée totale de la recherche	
TPH du brut enrichi artificiellement	50 000 mg/kg	Actinobactérien halotolérant souches et sodiumchlorure. Rhodococcus Sp., Gordonia rubripectinata, Rhodococcus Sp., G. Alkanivorans, R..équi,et Rhodococcus Sp	Sol précédemment contaminé	Non indiqué	36,2% pour échantillon A, et 51% pour échantillon B	Cette recherche a indiqué une dégradation plus élevée pour les n-alcanes que pour les hydrocarbures pétroliers totaux ; 67,7% 77,3% pour les échantillons A et B contre 36,2%, 51% respectivement	Alvarez <i>Et al</i> , 2011
TPH du diesel contaminer le site	30 000 mg/kg	Rhodococcus Sp. EH 831 et Tween 80 surfactant	Isolé de sol précédemment contaminé	46 jours	> 50% de Réduction	L'ajout de surfactant semblait pour améliorer la disponibilité du diesel pour les microbes, améliorant ainsi la dégradation du TPH	Eun Hee <i>et al</i> , 2011

5.7 Les facteurs influençant la biodégradabilité des hydrocarbures

La biodégradation des hydrocarbures dépend de nombreux paramètres. L'apport de nutriments ainsi que la disponibilité en oxygène peuvent faciliter la biodégradation des hydrocarbures

(Gaudu, 2014). D'autres Conditions environnementales du site importantes à considérer pour les applications de bioremédiation incluent le pH avec un optimum dans la plage de 6-8 (ICSS 2006), la structure du sol, la température, la teneur en eau, la salinité, l'oxygène, la disponibilité des nutriments et le potentiel redox (ESTCP, 2005 ; Ward et al., 2003).

5.7.1 La structure du sol :

Selon Lecomte (1998) et Gabet (2004), la structure du sol influe sur le transport des nutriments et de l'oxygène, qui seront plus accessibles à la flore indigène responsable de la biodégradation, d'autant que le milieu est perméable.

5.7.2 La température :

Affecte directement le taux de métabolisme microbien et par conséquent l'activité microbienne dans l'environnement. Le taux de biodégradation, dans une certaine mesure, augmente avec l'augmentation de la température et ralentit avec la diminution de la température (ESTCP 2007 ; FARZADKIA, 2019 ; Chandra, 2013).

La température est un paramètre pouvant modifier l'état physique, et la composition chimique des hydrocarbures ainsi que l'activité physiologique des microorganismes, par conséquent la nature et la concentration des espèces microbiennes présentes et donc la vitesse de dégradation des hydrocarbures (Atlas, 1984 ; Leahy *et al.*, 1990 ; Iqbal, 2007).

La température (entre 20 et 37°C) (Bouderhem, 2011).

5.7.3 Le PH :

Le pH du milieu peut affecter l'activité microbienne et sa sélection. En effet, tout microorganisme possède une zone de pH dans laquelle sa vitesse de croissance est optimale. En dessous et au-dessus de cette zone la croissance peut diminuer considérablement voir être inhibée (Scriban 1999), la production des acides organiques et minéraux provenant des diverses voies métaboliques, peut fortement abaisser le pH du sol, ce qui peut inhiber le processus de dégradation et favoriser une espèce prédominante (Berwick, 1984). L'efficacité de la biodégradation des hydrocarbures est généralement plus élevée sous des conditions de pH légèrement alcalin (Pelment, 1994 ; Lecomte, 1998).

Le potentiel redox est influencé par la présence d'accepteurs d'électrons tels que le nitrate, les oxydes de manganèse, les oxydes de fer et le sulfate (ICSS 2006).

Le PH entre 5 et 9 (optimum 7) (Gabet, 2004). Le pH acide favorise la solubilisation des métaux lourds (Bouderhem, 2011).

5.7.4 Teneur en humidité :

L'eau est indispensable à la vie des microorganismes, elle améliore le contact microorganismes/polluants, comme elle favorise le processus de dégradation enzymatique (Cooney et al., 1980 ; Leclerc *et al.*, 1995). La croissance microbienne nécessite une présence optimale d'eau dans la matrice environnementale. Pour une croissance et une prolifération optimale, les microorganismes nécessitent 12% à 25% d'humidité (Mukherjee et al., 2005).

5.7.5 Nutriments :

Sont nécessaires à la croissance et à la division des cellules microbiennes (ESTCP 2007). Des quantités appropriées d'oligo-éléments pour la croissance microbienne sont généralement présentes, mais les éléments nutritifs peuvent être ajoutés sous une forme utilisable ou via un amendement de substrat organique (Perfumo et al., 2007), qui sert également de donneur d'électrons, pour stimuler la bioremédiation.

La disponibilité des éléments nutritifs influe sur la population microbienne présente dans le sol. Les nutriments nécessaires pour la croissance des cellules sont N, P, K, S, Mg, Ca, Mn, Fe, Zn et Cu. N et P sont les nutriments les plus déficitaires dans les environnements contaminés par les hydrocarbures (Sims et al., 1989). L'apport d'azote et de phosphore doit être suffisant pour établir des rapports C/N et C/P optimaux (Miller 2004).

5.7.6 Oxygène :

L'oxygène moléculaire est un facteur limitant dans la biodégradation aérobie des hydrocarbures, puisque l'étape initiale de ce processus est l'oxydation de la fraction pétrolière par les monooxygénases (Scribani, 1999) l'oxygène nécessaire à la croissance microbienne doit être fourni au cours de l'aération (Riviere, 1975).

Selon Lecomte (1995), l'oxygène peut être fourni sous plusieurs formes : l'oxygène pure, l'air atmosphérique, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou eau oxygénée.

5.7.7 Salinité :

La salinité diminue le nombre de micro-organismes dans le sol (Li, 2016). Elle ralentit les processus de l'humidification et de la minéralisation des matières organiques. En effet, de tous les processus biologiques, la nitrification est la plus touchée, ainsi que le dégagement de CO_2 (Mollahi, 1989). Les fortes salinités constituent donc une barrière naturelle pour la biodégradation (Bertrand et al., 1971).

5.7.8 Biodisponibilité des contaminants :

La biodisponibilité des réactions microbiennes est plus faible pour les contaminants qui sont plus fortement absorbés par les solides, enfermés dans des matrices de molécules dans des milieux contaminés, plus largement diffusés dans les macropores du sol et des sédiments, ou qui sont présents sous forme de phase liquide non aqueuse (ICSS 2006).

5.7.9 Concentrations des contaminants :

Influence directement l'activité microbienne. Lorsque les concentrations sont trop élevées, les contaminants peuvent avoir des effets toxiques sur les bactéries présentes. En revanche, une faible concentration de contaminants peut empêcher l'induction d'enzymes de dégradation bactérienne (Godleads et al., 2005).

D'une façon générale, la biodégradation des hydrocarbures aliphatiques est d'autant plus faible que la chaîne est longue et ramifiée. Celle des hydrocarbures aromatiques est significative lorsqu'ils ne contiennent pas plus de deux cycles (Saada et al., 2005).

5.8 Les déchets valorisants la stimulation

Les industries agroalimentaires oléicoles et avicoles en Algérie sont considérées génératrices de déchets causant de sérieux problèmes environnementaux auxquels des solutions optimales doivent être trouvées où la valorisation de ces déchets organiques présente me double intérêt de résoudre un problème environnemental mais aussi et surtout subvenir aux besoins nationaux en matière organique.

Le tableau ci-dessous illustre en moyenne les quantités des déchets recensés en Algérie pour la période 2005-2010.

Tableau 5.6 : quantité des déchets des grignons et des fientes considérés en Algérie pour la période 2005-2010 (REME, 2011)

Secteur	Nature	Unité	Algérie
Secteur oléicole	Grignons		40.000
Secteur avicole	Fientes	t/ha	125.000
	Lisier des pondeuses	t/ha	1.314.000
	Total	t/ha	1.439.000

5.8.1 Grignons d'olive ou tourteaux :

Le grignon est un déchet de l'industrie de transformation des olives pour l'extraction des huiles, il est composé d'un ensemble de grains de différentes dimensions issu du broyage des olives. Ces différents grains contiennent un résidu d'huile après le processus de broyage et de compactage. Le grignon utilisé pour la confection des éprouvettes d'essais n'a subi aucun traitement au préalable (Dahli et Toubal, 2010). La composition chimique des grignons d'olive varie dans de très larges limites selon le stade de maturité. Les teneurs en matières grasses et en cellulose brute présentent les variations les plus importantes. Ces variations se répercutent directement sur la valeur nutritive du produit (REME, 2011).

5.8.2 Fumier de poulet de chair :

Le terme fumier est souvent utilisé pour désigner à la fois le fumier solide (le mélange des injections et de litière), le lisier (fumier présent sous forme liquide dû à la faible quantité ou à l'absence de litière), le purin (le liquide noirâtre qui s'écoule des amas de fumier solide) (CPVQ, 1992).

Les fientes sont des déjections solides des volailles contenant de l'azote, du phosphore et u potassium, les ratios de production de fientes varient selon le type d'élevage et vont de 2 Kg/an pour le poulet de chair, 12 Kg/an pour les poulettes, et jusqu'à 65 Kg/an pour les poules pondeuses et les reproducteurs (Guillouais et Couronne, 2003).

5.8.3 Sciure de bois :

Lorsque l'on examine le bois d'un point de vue microscopique, on s'aperçoit qu'il est constitué de microfibrilles de cellulose liée entre elles par des hémicelluloses et de la lignine, cette dernière donnant la résistance mécanique de l'ensemble, pour former des fibrilles qui-mêmes forment les fibres du bois.

Les hémicelluloses et cellulose forment l'holocellulose, ils sont constitués de polysaccharides de natures variés. La lignine a une structure poly-phénolique très complexe et variable (Letellier et Fleurent, 2012).

Le comportement hygroscopique du bois est par exemple lié à l'absorption d'eau sur les groupements alcools des microfibrilles de cellulose et des hémicelluloses. En effet, ces molécules d'eau vont rentrer dans les micropores des parois cellulaires (interstices entre la matrice et les fibrilles) et faire gonfler celles-ci. Ce qui par la même occasion peut faciliter la dégradation du bois par l'entrée de micro-organismes ou de liquides (Letellier et Fleurent, 2012).

Le tableau ci-dessous (tableau 5.7) illustre les recherches dans la biostimulation

Tableau 5.7 : biostimulation à l'aide d'organique nutriments

Nutriment ajouté	Type de contaminant	TPH initiale	Rendement d'élimination	Duration	Commentaire	Références
La sciure de bois et boues d'épuration	Hydrocarbure de pétrole - pétrole brut	38,000 mg/kg	Élimination à 100%	570 jours	Une élimination de 100% sur une période de 19 mois avec une croissance de la population microbienne	Atagana 2008
Brasserie grains usés, la peau de banane, compost de champignon	Hydrocarbures pétroliers - huile lubrifiante usée	Non indiqué	36% à 55% de réduction	84 jours	84 jours ont montré une suppression importante de TPH en utilisant les sources de nutriments organiques	Abioye et al. 2012
Fumier de volaille	Hydrocarbures pétroliers - sédiments marins contaminés	116 mg/kg TPH, 106 mg/kg HAP	95,35% pour TPH et 98,92% pour HAP	56 jours	Dégradation significative des HAP et TPH dans un bioréacteur utilisant 20g de litière de volaille et 1 litre d'eau de mer	Chikere et al. 2012

Fumier de vache	Marais de mangrove pollué par les hydrocarbures	Non indiqué	62,96%	70 jours	Réduction observée des hydrocarbures	Orji et al. 2012
Le thé des feuilles, gâteau de soja et peau de pomme de terre.	Hydrocarbure de pétrole - carburant diesel	100000 mg/kg jusqu'à 200 g/kg	Entre 25% et 82%	126 jours	Montré importante dégradation du TPH pour le traitement au tourteau de soja	Dadrasnia et agamuth. 2013
La bagasse de canne à sucre, Grappe De Fruits De Palmier À Huile De Palme Brute	Pétrole brut d'hydrocarbures pétroliers	Non indiqué	100% pour la bagasse de canne à sucre et jusqu'à 97% pour la grappe de fruits de palmier	20 jours	Montrés importante biodégradation en utilisant ces suppléments pour stimuler la croissance microbienne	Hamzah et al. 2014

5.9 Types de bioremédiation

5.9.1 Compostage :

Le compostage consiste à mélanger des sols excavés avec des amendements organiques (compost), qui agissent sur la biostimulation (apport de nutriment, carbone, azote, etc.), ainsi, que sur la bioaugmentation (apport de bactérie) et sur l'aération (apport d'agent structurants et d'éléments rigides augmentant la porosité) (Colombano *et al.*, 2010 ; Golodyaev, 2009). Après le mélangeage, cette méthode consiste à faire des andains de 1m de hauteur qui sont déposés sur une géomembrane pour empêcher toute infiltration possible, l'élévation naturelle de la température qui favorise la croissance des bactéries et la biodégradation des polluants. Pour favoriser le processus, il est préconisé d'utiliser un composte grossier (pour permettre une meilleure aération). La durée du traitement est en général estimée à un ou deux ans au dépend des conditions de biodégradation (Koller, 2009).

Cette méthode présente un grand nombre de niches écologiques contenant une grande diversité microbienne et, pouvant assurer des séquences métaboliques complètes de dégradation des contaminants (Vecchioli *et al.*, 1990).

5.9.2 Biopile :

Cette technique est un compostage élaboré sur un sol excavé, les andains sont légèrement en pente, avec une hauteur de 2 à 4m, recouvert d'une membrane imperméable, où les paramètres physico-chimiques et biologiques sont contrôlés ; des nutriments et des microorganismes sont ajoutés pour améliorer le rendement. La technique consiste à aspirer les gaz volatils, puis à injecter de l'air frais (Singh *et al.*, 2012 ; Dias *et al.*, 2015). L'efficacité de ce traitement est de 70% à 90%, et il s'applique à tous les polluants organiques y compris les HAP. Cette technique a permis d'ouvrir

le marché biologique, à de nouvelles pollutions plus difficiles, toutefois, elle est limitée par son coût, très chère, la nécessité du temps et de la place (Gabet, 2004 ; Record, 2007).

5.9.3 Landfarming

5.9.3.1 Définition de landfarming:

Landfarming est une technique simple dans laquelle le sol contaminé est excavé et placé sur une surface plane imperméable (géomembrane), afin d'éviter toute pollution des sols et des eaux souterraines, l'épaisseur de l'étalement est de quelque dizaine de centimètres (Semenyuk et al., 2014 ; Rubinos, 2007), afin de permettre une interaction entre la matrice polluée et l'atmosphère ; elle est périodiquement contrôlée jusqu'à ce que les polluants soient dégradés (Vidali, 2001 ; Bocard, 2006 ; Colombano et al., 2010). C'est une technique de traitement efficace et relativement peu coûteuse pour les sols arctiques contaminés (Walworth et al. 2008 ; McCarthy et al. 2004 ; Paudyn et al. 2008, Semenyuk, 2014 ; Maila et al., 2004).

Le sol excavé peut être modifié à l'aide d'eau, d'engrais et de tensioactifs, des co-substrats pour stimuler le métabolisme microbien, des inoculations bactériennes pour accélérer le processus d'assainissement peuvent également être ajoutés au sol excavé (Naseri et al., 2014). Le sol est ensuite labouré périodiquement pour créer un mélange plus homogène de nutriments, d'eau et de sol contaminé, ainsi que pour favoriser l'aération (McCarthy et al. 2004 ; Paudyn et al. 2008 ; Sanscartier et al. 2009).

Pendant le processus de landfarming, les hydrocarbures pétroliers totaux (TPH) sont réduits grâce à la combinaison de deux processus : la biodégradation et la volatilisation, qui sont généralement intensifiées par l'ajout de nutriments et d'eau, et le labour périodique pour mélanger et aérer le sol (McCarthy et Al. 2004, Ortega et al., 2018 ; Lin et al, 2011). Le rendement de cette technique peut atteindre 90%, elle s'applique pour des polluants facilement biodégradables et peu volatils (ex : Gasoil), pour éviter les risques de contamination de l'air par évaporation (Colombano et al, 2010).

Les techniques de compostage et landfarming ont un rendement meilleur en été lorsque la température est élevée. Ainsi le taux d'humidité doit être maintenu constant pour avoir un rendement de dégradation maximale (Miller et al., 2004).

5.9.3.2 Impacts environnementaux de landfarming :

L'inconvénient environnemental majeur de ce processus de la bioremédiation de ces déchets huileux concerne les grandes quantités de carbones organiques volatils présents dans ces déchets. La surveillance et le confinement de ces composés sont importants en raison de leur impact dangereux sur la santé et de leur rôle dans la production d'ozone troposphérique (Field et al., 1992 ; Moseley et al., 1992 ; Coppock, 1995). Dans le processus de landfarming, les COV sont généralement transférés dans l'atmosphère plutôt que biodégradés. Ceci est facilité par la pratique consistant à pulvériser d'abord les déchets sur le sol, puis à labourer régulièrement le sol pour favoriser le transfert de gaz (Ward et al., 2003). Bien que le transfert de gaz prévu soit l'oxygène de l'atmosphère vers le sol, le processus est également efficace pour favoriser la volatilisation des COV. Même lors du déversement d'Exxon Valdez, 15 à 20% du pétrole auraient été perdus dans l'atmosphère par volatilisation (Prince, 1993). De toute évidence, dans les climats plus chauds du sud des États-Unis, de l'Amérique du Sud, du Moyen-Orient et de la Malaisie, des taux plus élevés de volatilisation des COV sont attendus (Ward et al, 2003).

*MATÉRIEL
ET MÉTHODES*

*RÉSULTATS
ET DISCUSSION*

CHAPITRE 6

MATÉRIEL ET MÉTHODES

6.1 Matériel

6.1.1 Matériel non biologique :

L'appareillage, la verrerie, les solutions et réactifs ainsi que les milieux de cultures utilisés sont représentés dans le tableau A.I.4.

6.1.2 Matériel biologique :

Pour la réalisation de nos expériences, nous avons utilisé des échantillons qui sont prélevés à partir des différents bourbiers (40 bourbiers) pollués par des rejets de forage au niveau des puits du champ de HMD.

Le gisement de HMD, est l'un des plus grands champs pétroliers au monde, dont on compte plus de 1500 puits. Sa superficie est de 2000 Km².

Le champ de HMD se situe à 650 km au Sud-Est d'Alger, et à 80 Km au Sud-Est d'Ouargla, à 142 m au-dessus du niveau de la mer.

Le climat désertique caractérise cette région. Les températures varient de 0°C jusqu'à plus de 47°C, et les vents dominants sont NNE.



1- l'un des bourbiers de Hassi Messaoud

2- prélèvement des échantillons

Figure 6.1 : Les différents bourbiers étudiés.

Afin de mettre en évidence le rôle de l'utilisation de différents déchets dans la biodégradation des hydrocarbures, c'est-à-dire : le biotraitement des bourbiers de forage, nous avons utilisé (Fig.6.1)

- Le fumier de volaille provenant d'un poulailler de la région de Bordj Menaiel, Boumerdès le 29/02/2020
- Le fumier de vache issu de la ferme de Bordj Menaiel, Boumerdès le 29/02/2020.
- Les grignons d'olives prélevés dans une huilerie (maâsra) traditionnelle de la région de Bordj Menaiel à Boumerdès le 29/02/2020
- La sciure de bois ramassée d'une menuiserie à Boumerdès ville le 04/03/2020

- Le terreau récupéré d'un fleuriste de la région de Isser à Boumerdès le 07/03/2020



Figure 6.2 : Terreau



Figure 6.3 : grignon d'olive



Figure 6.4 : sciure de bois



Figure 6.5 : fumier de volaille



Figure 6.6 : fumier de vache



Figure 6.7 : grignon d'olive activé

6.2 Méthode

Le diagramme de la figure 6.8, représente l'enchaînement de méthodes utilisées lors de la réalisation de nos expériences.

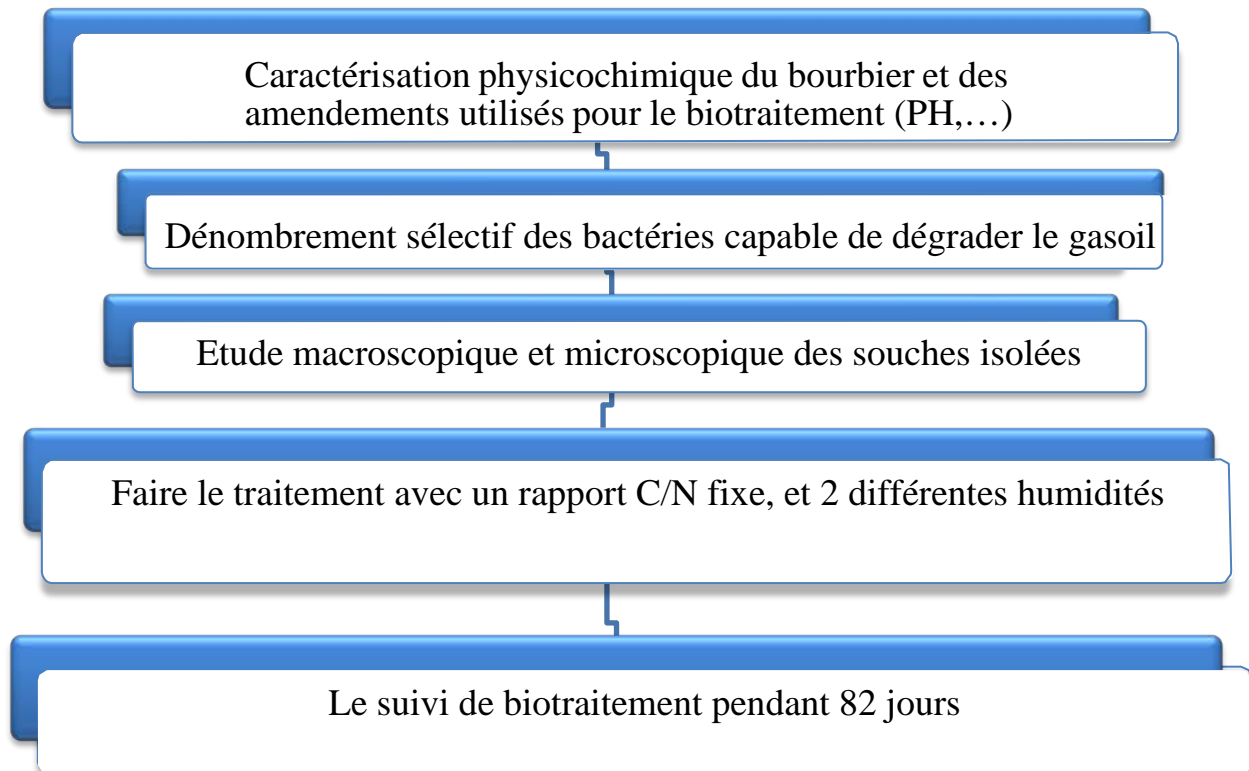


Figure 6.8 : Diagramme représentant le nouvel enchainement des méthodes utilisées

6.2.1 Méthode d'échantillonnage :

La méthode utilisée est l'échantillonnage à faible profondeur qui s'effectue à moins de 1 mètre de profondeur (Modulo *et al.*, 2008).

Les échantillons ont été prélevés à partir des bourbiers à 50 cm de profondeur, en utilisant un récipient en matière inerte, propre et suffisamment grand.

Il s'agit d'abord de prélever des sous-échantillons de 5 points différents, selon la même méthode d'échantillonnage, de bien mélanger pour n'en former qu'un seul (Fig.6.9). Par la suite, l'échantillon composé est transféré dans une bouteille de conservation à l'abri de la lumière à 4°C. La bouteille est bouchée par le coton, afin d'assurer une bonne respiration des microorganismes (Modulo *et al.*, 2008).

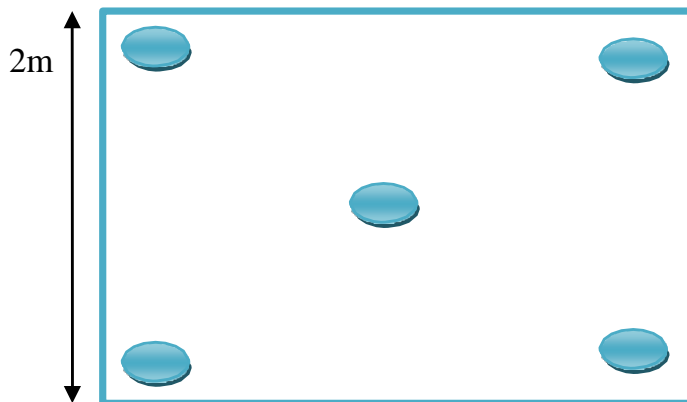


Figure 6.9 : Schéma représentant les points de prélèvement à partir des bourbiers.

6.2.2 Méthodes d'analyse physicochimiques :

Dans un premier temps, on a mesuré les paramètres physicochimiques qui permettent d'estimer le degré de pollution du bourbier étudié, ainsi qu'une multitude d'analyses effectués sur le bourbier et les deux types de fumiers utilisés dans le biotraitement.

Les méthodes nécessitant des échantillons liquides, sont réalisées à partir des lixiviats préparés selon les normes **NFX 31 160**.

La caractérisation physicochimique a été réalisée à partir de techniques normalisées, illustrées dans le tableau 6.1.

Tableau 6.1 : Les différents méthodes physicochimiques effectuées.

Paramètres		Normes	
Dosage des Hydrocarbures	Caractérisation des Hydrocarbures par chromatographie en phase gazeuse CPG.	-	
	Teneur en hydrocarbures totaux (TPH).	méthode de Soxhlet modifiée	
	Teneur en eau	La distillation (teneurs eau/huile /solide)	API 13B2
		Hygrométrie (humidité à 105°C)	Norme NF ISO 1146
Dosage des paramètres indicateurs de la pollution organique	Mesure de pH par électrométrie	Norme NF ISO 10390	
	Dosage de carbone organique total COT	Méthode TEST EN CUVE	
	Dosage de nitrate	Méthode HACH	
	Dosage des nitrites		
	Dosage du phosphore		
	Détermination de la demande chimique en oxygène DCO		
	Evaluation de la demande biologique en oxygène pendant 5 jours DBO ₅ par respirométrie		
	Détermination de Matières en suspension MES	Norme NF T 90 105	
Dosage de l'oxygène dessous		-	
Détermination de la conductivité		Méthode HACH	
Dosage des anions	Dosage du sulfate par turbidimétrie	Méthode HACH	
	Détermination de l'alcalinité (carbonates et bicarbonates)	API	

Dosage des minéraux		Dosage de chlorure par volumétrie	Recommended practice for analysis of oil field waters.
	Dosage des cations	Dosage du calcium par complexométrie	
		Dosage de la somme calcium-magnésium par complexométrie	
		Dosage de l'azote ammoniacal par calorimétrie	Méthode HACH
	Détermination du fer total par turbidimétrie		
	Dosage des métaux lourds et d'autres minéraux	Dosage des minéraux par absorption atomique (Effectué par le laboratoire de géochimie minéral, DLAB).	Norme NFX 31-151
Dosage des minéraux cristallisés	Diffraction des rayons X (effectué par le département de sédimentologie, service rayon X et fluorescence X, DLAB)	-	

(-) : Absence de norme

6.2.2.1 **Dosage des hydrocarbures :**

❖ **Caractérisation du polluant par chromatographie en phase gazeuse CPG : (effectué par le laboratoire de géochimie organique, DLAB).**

La caractérisation du polluant du borbier est réalisée par chromatographie en phase gazeuse.

Principe de la (CPG) :

Le polluant est d'abord extrait à l'aide d'un solvant (dichlorométhane) et un volume de 1µl de l'extrait sera utilisé pour l'injection dans une chambre requise à cet effet, où il va se

vaporiser rapidement sous l'effet de la haute température du four. Il est ensuite emporté par le gaz vecteur qui est l'hélium, à travers la colonne d'analyse.

Une fois l'injection faite, les différents constituants du mélange passent dans la colonne, où ils seront plus ou moins retenus par l'adsorbant (phase stationnaire).

Les composants les moins retenus traversent rapidement la colonne alors que ceux plus fortement retenus y séjournent plus longtemps.

Résultat :

Les résultats vont s'afficher sous la forme d'un chromatogramme où la variation des résultats obtenus est proportionnelle à la quantité des substances présentes.

❖ La distillation :

Cette méthode a pour but de savoir le pourcentage eau/huile dans le borbier, elle s'effectue à l'aide d'un distillateur OFIIT selon la norme API 13B2.

• Mode opératoire :

- La détermination de OOC % se fait avec un distillateur dont le volume de la cellule V_0 est de 50 ml.
- Peser la cellule avec son couvercle à vide et noter le poids W_1 .
- Peser la cellule avec son couvercle et l'échantillon à distiller préalablement sécher et broyer et noter son poids W_2 .
- Peser l'éprouvette graduée vide et noter son poids W_4 .
- Placer la cellule dans la chambre de chauffage après l'avoir connecté au condenseur.
- Allumer le distillateur ($T=500^\circ\text{C}$) pendant 1h.
- Après refroidissement, noter le volume de distillat (V_1) qui est constitué d'un volume d'eau (V_2) et d'un volume d'huile (V_3).
- Peser l'éprouvette avec le distillat récupéré et noter le poids W_5 .

• Expression des résultats :

- Le poids de l'échantillon W_3 : $W_3=W_2-W_1$
- Le poids de distillat W_6 : $W_6=W_5-W_4$
- Le poids de l'huile W_7 : $W_7=W_6-V_2$ (volume d'eau= son poids)
- Le pourcentage massique d'huile OOC% : $\text{OOC}\% = (W_7/W_3) \times 100$



Figure 6.10 : le distillateur

❖ **Teneur en hydrocarbures Totaux (TPH : Total Petroleum Hydrocarbons) (méthode de Soxhlet modifiée)** (effectué dans le laboratoire BIOGEP, ENP).

• **Principe :**

L'extraction de l'échantillon se fait en continue par un solvant extracteur « dichlorométhane » qui dissout graduellement la matière organique. Le solvant s'évapore et la matière organique qui s'accumule est pesée, c'est une méthode gravimétrique.

• **Expression des résultats :**

- Poids de ballon vide : **P0**
- Poids de ballon remplis : **P1**
- Teneur en hydrocarbure totale (%) :

$$\text{TPH (\%)} = \frac{(P1 - P0)}{P1} \cdot X100$$



Figure 6.11 : ultrason



Figure 6.12 : centrifugeuse



Figure 6.13 : rota vapeur

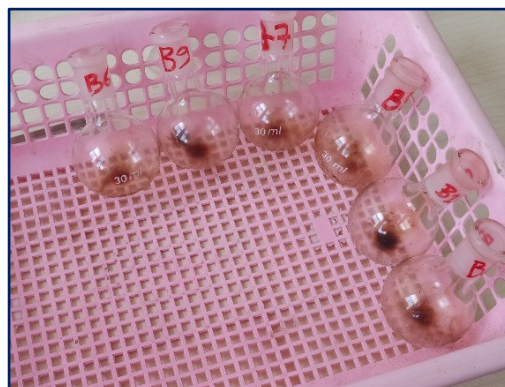


Figure 6.14 : Ballon contenant les hydrocarbures

❖ **Détermination de l'indice d'hydrocarbure C10-C40 par chromatographie en phase gazeuse (CPG) : Norme ISO 9377-2**

• **Principe :**

- L'extraction des hydrocarbures de l'échantillon se fait par l'hexane.
- La Purification sur la colonne avec le sulfate de sodium (déshydratant) et de Florisil.
- La mesure de l'aire totale du pic se fait entre le n-décane ($C_{10}H_{22}$) et le n-tétracontane ($C_{40}H_{82}$).
- La Quantification de la concentration en huile minérale par rapport à un étalon extrême composé de gasoil et d'huile minérale.
- Calcul de l'indice d'hydrocarbure.

• **Analyseur des hydrocarbures CPG :**

Pour la quantification de la concentration d'hydrocarbures totaux, on utilise l'analyseur d'hydrocarbure CPG CLARUSE 580.

Tableau 6.2 : conditions opératoires

Analyse	
Température maximale	300°C
Mode d'injection splitless	320°C
Volume injecté	1µL
Temps d'analyse	23 min
Four	

Température initial	40°C pendant 25min
Température finale	300°C
Vitesse de programmation	20°/min
Détecteur FID	
Température FID	300°C
Débit de H ₂	45ml/min
Débit d'air	450ml/min
Gaz vecteur	
Débit de gaz vecteur	2,5 ml/min



Figure 6.15 : CPG couplée à un détecteur à ionisation de flamme (GC-FID)

- **Solutions préparées :**

- **Solution mère du solvant d'extraction :**

- Dissoudre 20 mg de n-tétra octane dans l'hexane.
- Ajouter 20 μ L de n-décane et diluer avec l'hexane jusqu'à 1000ml.
- Conserver la solution dans un réfrigérateur (4°C à 8°C) pendant six mois au maximum.

- **Solution fille du solvant d'extraction :**

- Diluer la solution mère dix fois avec l'hexane.

➤ **Étalon de contrôle OC :**

- Préparer une solution étalon de Diesel/huile minérale à 5mg/l, chacune dans de l'acétone à une concentration massique de 1 mg/l.
- Conserver l'étalon dans un réfrigérateur (4°C à 8°C) pendant six mois au maximum.

• **Mode opératoire :**

1) **Extraction :**

- Acidifier l'échantillon à pH=2 en ajoutant de l'acide HCl. Si cela n'a pas été fait sur le lieu de prélèvement.
- Ajouter 50 ml de solution fille du solvant d'extraction et un barreau aimanté, fermer la bouteille et agiter vigoureusement au minimum pendant 30 minutes à l'aide d'un agitateur magnétique.
- Retirer le bouchon et le remplacer par le micro-séparateur.
- Ajouter suffisamment d'eau pour permettre la récupération de la couche d'agent d'extraction du micro-séparateur.



Figure 6.16 : L'extraction des hydrocarbures par l'hexane

2) **Purification :**

- Transférer la phase d'agent d'extraction dans une petite colonne remplie de 2g de Florisil et recouvrir d'une couche de 2g de sulfate de sodium.

- Laisser percoler la phase d'agent d'extraction, suivi par 10 ml supplémentaire d'hexane à travers la colonne, dans une ampoule à décanter.
- Rincer la colonne avec environ 10 ml d'hexane.

Un pré rinçage de la colonne avec quelques millilitres d'hexane peut être utile pour éviter la formation de cannelures.

3) **Concentration :**

- Concentrer l'extrait purifié jusqu'à l'obtention d'un volume environ 6 ml avec le rotavapeur.
- Concentrer l'extrait de 6 ml jusqu'à l'obtention d'un volume de 1ml à l'aide d'un léger courant azote.
- Transférer un aliquote de l'extrait final dans un vial pour l'analyse par chromatographie en phase gazeuse.

6.2.2.2 **Hygrométrie (humidité à 105°C) :** (Norme NF ISO 1146)

Nous avons procédé à la détermination de la teneur pondérale en eau du sol par la méthode gravimétrique qui s'exprime en pourcentage d'humidité par rapport à la matière sèche.

• **Mode opératoire :**

- Tarer les creusets après refroidissement dans un dessiccateur ;
- Peser dans chaque creuset 1g d'échantillon ;
- Placer les creusets ensuite dans l'étuve à 105°C pendant 3 heures ;
- Retirer les capsules de l'étuve, les placer dans le dessiccateur jusqu'à l'obtention d'un poids constant (en réduisant la durée de séchage à 30 minutes, pour éviter la carbonisation de l'échantillon).

• **Résultat**

Le taux d'humidité s'exprime en % selon la formule suivante :

$$H\% = \frac{(P1 - P2). 100}{P0}$$

P₀ : masse de la prise d'essai ;

P₁ : poids du creuset + matière fraîche avant séchage en g ;

P_2 : poids de l'ensemble après séchage en g.

La matière sèche est calculée par la formule suivante :

$$MS\% = 100 - H\%$$



Figure 6.17 : Le dessiccateur



Figure 6.18 : L'étuve utilisée pour l'humidité

6.2.2.3 Préparation du lixiviat :

- Mode opératoire :

Selon la norme (**Normes NFX 31 160**), l'extraction est réalisée selon le protocole suivant :

- Introduire 10 g d'échantillon de sol dans un bêcher contenant 100 ml d'eau distillée ;
- Agiter pendant 24 heure (15tr/min) et laisser décanter
- Filtrer (à l'aide d'un papier filtre plissé) pour les métaux lourds, et ne procéder pas à la filtration pour les autres analyses. Le liquide obtenu représente le lixiviat à analyser.

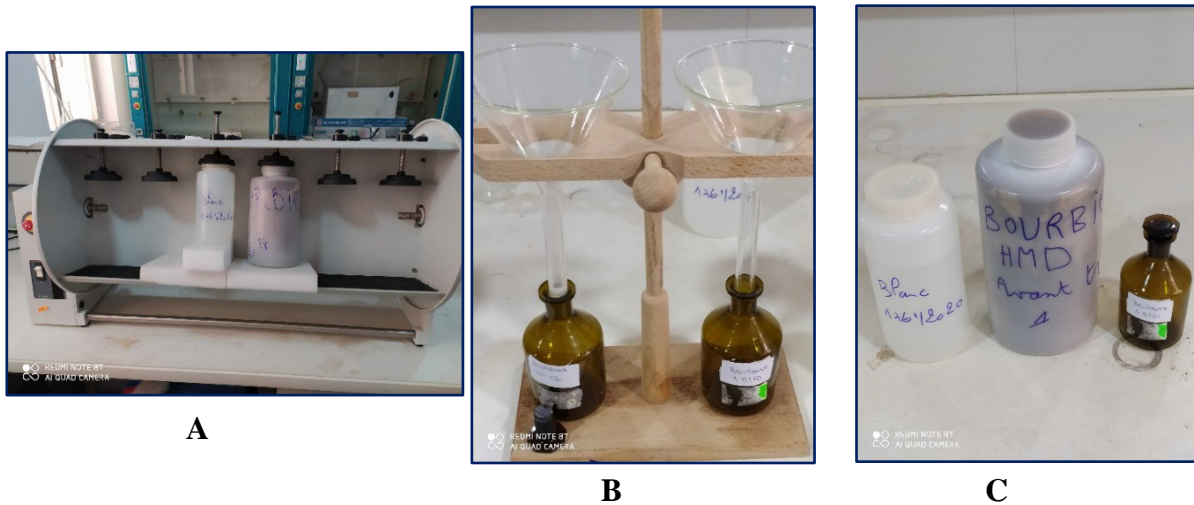


Figure 6.19 : Lixiviation du sol

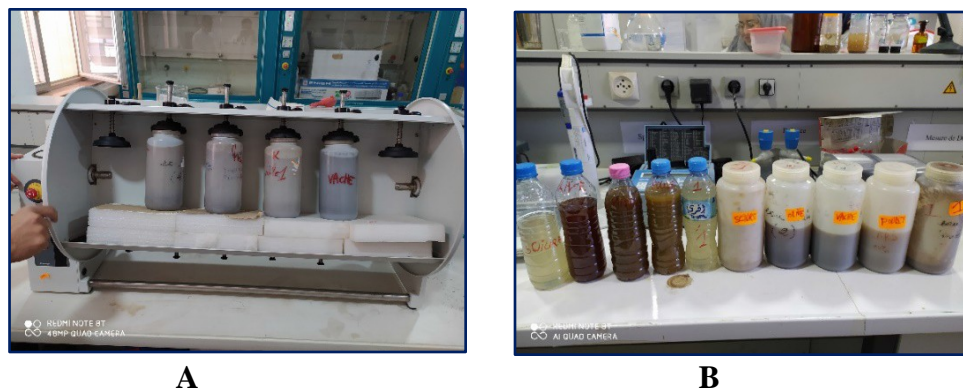


Figure 6.20 : Lixiviation des amendements

6.2.2.4 Mesure des paramètres indicateurs de la pollution organique :

❖ Mesure de pH par électrométrie : (Norme NF ISO 10390) :

• Principe :

La détermination de la valeur du pH, consiste en la mesure d'une différence de potentiel électrochimique. Elle s'effectue à l'aide d'un dispositif potentiométrique.

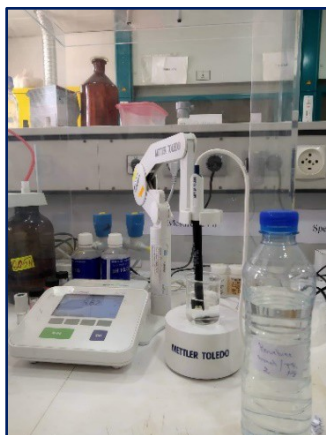


Figure 6.21 : pH mètre

❖ **Dosage de carbone organique total COT**
(Méthode TEST EN CUVE)

Cette méthode de dosage porte sur l'évaluation de la teneur en carbone organique dans un échantillon d'eau. Elle est appliquée aux eaux usées, eaux de surface, sols ; ainsi pour les échantillons de forte alcalinité dont le pH est proche de 10 telles les eaux de lixiviation des boues de forage après un traitement adéquat.

Pour cette méthode le pH doit être compris entre 4 et 10.



Figure 6.22 : Dosage du COT

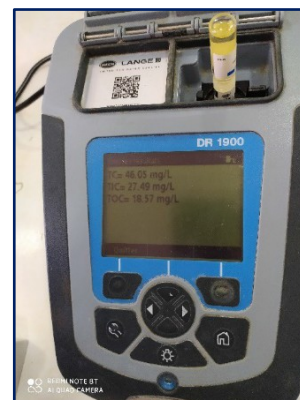


Figure 6.23 : spectrophotomètre

• **Principe**

Le Carbone Total (CT) et le Carbone Inorganique Total (CIT) sont transformés en dioxyde de carbone (CO_2) par oxydation (pour CT) ou acidification (CIT). Le CO_2 quitte la cuve d'analyse,

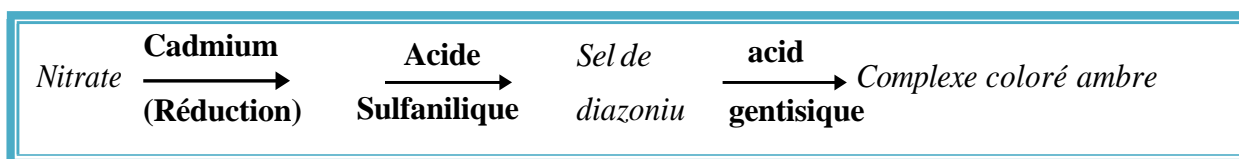
lorsqu'il traverse une membrane pour pénétrer dans la cuve indicatrice. La variation de couleur de l'indicateur est soumise à une évaluation photométrique. Le COT (Carbone Organique Total) est la différence entre les valeurs CT et CIT.

Le dosage du COT a été effectué à l'aide des kits LCK 380 et LCK 381 (HACH)

❖ Dosage de nitrate (Méthode HACH) :

• Principe :

Le dosage des nitrates a été réalisé à l'aide de kits de dosage HACH, ce dosage nécessite une mise en œuvre préliminaire d'une réaction coloré spécifique de l'élément recherché selon la réaction



suivante :

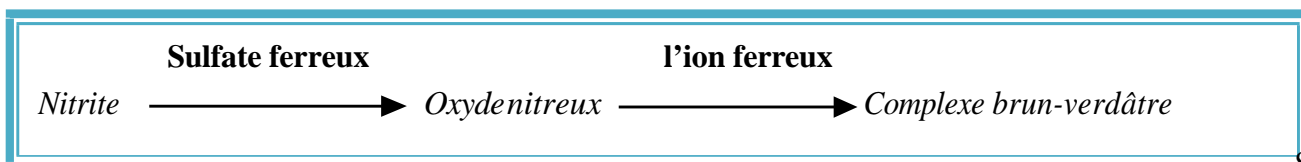
Le cadmium métallique contenu dans les gélules de réactifs réduit le nitrate présent dans l'échantillon en nitrites ; les nitrites réagissent en milieu acide avec l'acide sulfanilique pour former un sel diazonium. Ce sel réagit avec l'acide gentisique pour former un complexe coloré ambre. L'intensité de la coloration sera proportionnelle à la concentration en nitrate

Ce dosage par spectrophotomètre DR 2000 est effectué à une longueur d'onde de 500 nm.

❖ Dosage des nitrites (méthode HACH) :

• Principe :

Le dosage se fait par une méthode colorimétrique à l'aide de kits de dosage de la marque HACH. La réaction impliquée dans le dosage est la suivante :



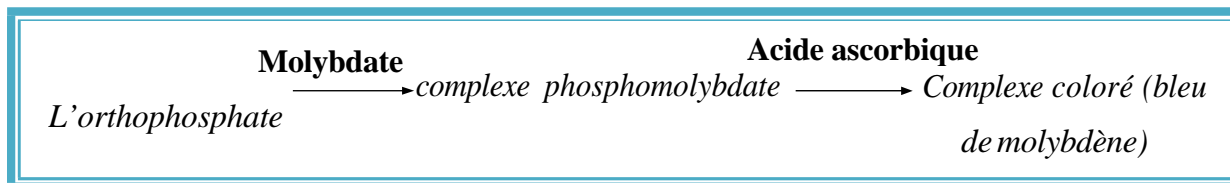
L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en nitrites.

❖ Dosage du phosphore (Méthode HACH) :

• Principe :

Le phosphore en solution se trouve sous forme de phosphates. La seule forme de phosphate pouvant être détectée est l'orthophosphate. Toutes les autres formes doivent subir un prétraitement

afin d'être transformées en orthophosphate avant analyse. Le dosage de ce dernier se fait par dosage colorimétrique selon la réaction suivante :



Le dosage s'effectue à l'aide d'un spectrophotomètre (DR 2000) à une longueur d'onde de 890 nm ; l'intensité de la coloration sera proportionnelle à la concentration en phosphore.

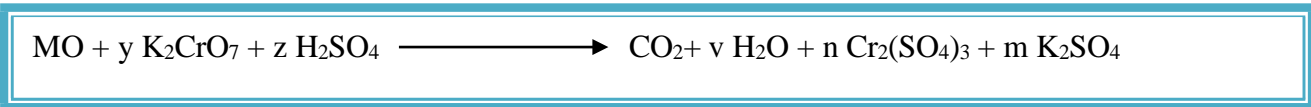
❖ Détermination de la demande chimique en oxygène DCO (Méthode HACH)

- Principe :

Le test de la DCO consiste en la mesure de l'oxygène équivalent à la quantité de matière organique oxydable par le dichromate de potassium (KCr_2O_7), dans une solution d'acide sulfurique à 50%. Un composé à base d'argent est ajouté comme catalyseur, un autre composé mercurique est ajouté pour réduire les interférences dues à l'oxydation des ions chlorures par le dichromate.

L'oxydation s'effectue à une température de 150 °C pendant 2h ; la lecture se fait par colorimétrie

- Reaction:



❖ Evaluation de la DBO5 par respirométrie (Méthode HACH) :

En fonction de la valeur de la DCO mesurée et de la valeur de DBO suspectée, on introduit une quantité connue de lixiviat dans un flacon de mesure qui est relié à un système manométrique.

Tableau 6.3 : Valeurs d'évaluation de la DBO₅.

Marge de DBO	Volume d'eau en ml	Coefficient de conversion
0 - 40	432	1
0 - 80	365	2
0 - 200	250	5
0 - 400	164	10
0 - 800	97	220
0 - 2000	43,5	50
0 - 4000	22,7	100

L'oxygène qui est absorbé par les microorganismes pour dégrader la matière organique, est remplacé par l'air au-dessus de l'échantillon dans le flacon. Le CO₂ produit est absorbé par la soude.

La différence de pression est directement affichée à l'échelle manométrique en mg/l de DBO.

❖ Matières en suspension (Norme NF T 90 105)

- Principe :

Le lixiviat est filtré et le poids des matières retenues sur le filtre est déterminé par différence de pesée.

Le taux de matières en suspension exprimé en mg/l est donné par la formule :

$$\text{MES (mg/l)} = \frac{(m_2 - m_1)}{PE} \cdot 10^3$$

m₁ = la masse du filtre vide (en mg)

m₂ = la masse du filtre plein (en mg)

PE = le volume de la prise d'essai d'eau à analyser (en ml)



Figure 6.24 : filtration sous vide

❖ **Dosage de l'oxygène dissous (Méthode de HACH)**

• **Principe :**

Le dosage de l'oxygène dissous a été réalisé à l'aide des kits Accu Vac HRDO. Le dosage fait intervenir la réaction colorée spécifique de l'élément recherché selon la réaction suivant :



Lorsque la pointe de l'ampoule Accu vac est cassé dans un échantillon contenant de l'oxygène dissous, il se forme une coloration jaune qui vire au violet, l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de l'échantillon en oxygène dissous.

Le dosage d'effectue à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 535 nm.

❖ **Détermination de la conductivité électrique :**
(Méthode HACH) :

• **Principe :**

La conductivité électrique mesure le pouvoir conducteur d'une eau. Le courant est produit par les ions inorganiques présents à l'état dissous. La détermination de la conductivité s'effectue par la mesure de la résistance d'une colonne d'eau délimitée par deux électrodes. Une différence de potentiel est appliquée entre les électrodes immergées dans la solution et la chute de potentiel engendrée par la résistance de la solution est inversement proportionnelle à la conductivité de l'eau.



Figure 6.25 : mesure de la conductivité électrique des échantillons

❖ **Phosphore total : LCK 350 (2.0–20.0 mg/L PO₄-P):**

• **Résumé de la méthode :**

Les ions phosphate réagissent en solution acide avec les ions molybdate et antimoine pour donner un complexe de phosphore molybdate d'antimoine. Celui-ci est réduit par l'acide ascorbique en bleu de phosphoremolybdène.

❖ **Azote total: LCK 138 LATON, (1-16 mg/l TN)**

• **Résumé de la méthode**

L'azote de composition organique et inorganique s'oxyde en présence de peroxydisulfate et se transforme donc en nitrate. Les ions nitrates réagissent dans une solution d'acides sulfurique et phosphorique avec du diméthylphénol-2.6 en formant du nitrophénol.



Figure 6.26 : thermo-réacteur utilisé dans l'analyse de DCO et N_{total}

❖ **Nitrates LCK 340. (5–35 mg/L NO₃-N):**

• **Résumé de la méthode :**

Dans une solution d'acide sulfurique et phosphorique, les ions nitrate réagissent avec le 2.6-diméthylphénol pour donner du 4-nitro-2.6-diméthylphénol.



Figure 6.27 : Les LCK utilisés pour les analyses

❖ **Nitrites LCK 342. (0.6–6.0 mg/L NO₂-N):**

• **Résumé de la méthode :**

Les nitrites réagissent en solution acide avec les amines primaires et aromatiques pour donner des sels diazonium. Ceux-ci forment avec des composés aromatiques, contenant un amino-groupe ou un hydroxyle, un colorant azoïque de couleur intense.

❖ **Demande Chimique en Oxygène (DCO) LCK 514. (100–2000 mg/L O₂):**

• **Résumé de la méthode :**

Les substances oxydables réagissent avec le bichromate de potassium sulfurique, en présence de sulfate d'argent. Le chlorure est masqué avec du sulfate de mercure. La coloration verte du Cr³⁺ sera déterminée photométriquement.



Figure 6.28 : LCK de la DCO utilisé



Figure 6.29 : thermo-réacteur

❖ **Sulfate LCK 153. (40–150 mg/L SO₄):**

• **Résumé de la méthode :**

Les ions sulfate réagissent en solution aqueuse avec le chlorure de baryum pour donner du sulfate de baryum difficilement soluble. La turbidité en résultant est mesurée par photométrie.

6.2.2.5 Dosage des minéraux

❖ **Dosage des anions:**

➤ **Dosages des sulfates par turbidimétrie: (Méthode HACH):**

• **Principe :**

Les ions sulfates présents dans l'eau réagissent avec le baryum contenu dans le réactif Sulfa Ver 4 et produisent une turbidité due aux sulfates de baryum insoluble. La quantité de turbidité formée est proportionnelle à la concentration en sulfate.

➤ **Détermination de l'alcalinité (carbonates et bicarbonates):**

• **Principe:**

Ce mode opératoire décrit une méthode volumétrique pour la détermination de l'alcalinité du lixiviat préparé, par la mesure des ions carbonates (CO₃⁻) et bicarbonates (HCO₃⁻) avec utilisation d'un pH-mètre et d'une solution d'acide chlorhydrique à normalité connue.

La méthode consiste en la détermination du volume d'acide nécessaire pour neutraliser à pH= 8.3 puis à pH =4.3 le lixiviat à analyser.

- Le volume d'acide (HCl à 0.05N) nécessaire à la neutralisation à pH=8.3 est proportionnel à la concentration en carbonates CO₃⁻ dans le lixiviat.
- Le volume d'acide nécessaire à la neutralisation à pH=4.3 est proportionnel à la concentration en ions bicarbonates HCO₃⁻ dans le lixiviat.

Les concentrations en carbonates et bicarbonates exprimées en mg/l sont données par les expressions suivantes :

$[\text{CO}_3^-]$ en mg/l=	$\frac{V.N.60.1000}{PE}$
$[\text{HCO}_3^-]$ en mg/l =	$\frac{Vr.N.61.1000}{PE}$

N : normalité de la solution d'acide.

60.10³ : masse (en mg) de CO₃²⁻.

61.10³ : masse (en mg) de HCO₃⁻.

V : volume d'acide (en ml) nécessaire à la neutralisation à pH= 8.3.

V' : volume d'acide (en ml) nécessaire à la neutralisation à pH= 4.3.

PE : volume de la prise d'essais en ml.

- **Dosage de chlorure par volumétrie:** API (American Petroleum Institut)
Recommended practice for analysis of oil field waters.

- **Principe :**

Il consiste à doser les ions chlore combinés à l'état d'argent (AgCl) par le nitrate d'argent (AgNO₃) et en présence d'un indicateur coloré : le chromate de potassium (K₂CrO₄).

La concentration en ion Cl⁻ est donnée par la formule :

$$[\text{Cl}^-] \text{ en mg/l} = \frac{\text{V.N.35,457.1000}}{\text{PE}}$$

V : volume en ml d'AgNO₃ nécessaire à la titration.

N : normalité de la solution d'AgNO₃ (0.1).

35,457 .103 : est la masse atomique du chlore en milligramme.

PE : prise d'essai de l'eau à analyser en ml.



Figure 6.30 : doseur de chlorure

❖ Dosage des cations

➤ Dosage du calcium par complexométrie:

• Principe :

Il consiste en la formation d'un complexe des ions Ca^{2+} par l'acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA) en présence d'un indicateur colorée dans une zone de pH comprise entre 12 et 13.

La concentration en ions calcium est exprimée par :

$$[\text{Ca}^{2+}] \text{ en mg/l} = \frac{V1.40,08.1000}{PE}$$

V1 : volume d'EDTA versé en ml.

N : Normalité de la solution d'EDTA (0.1 N).

40,08 .1000 = masse volumique de calcium en mg.

PE : prise d'essai en ml.



Figure 6.31 : doseur de calcium

6.2.2.6 Dosage des minéraux par adsorption atomique : (Norme NFX 31-151) :(Effectué par le laboratoire de géochimie minéral, DLAB).

- **Principe :**

Le dosage des minéraux présents dans la fraction minérale du sol nécessite l'élimination de la fraction minérale par l'attaque acide et chauffage plusieurs fois. La solution finale sert à doser les minéraux par absorption atomique.

6.2.2.7-Dosage des minéraux par Diffractométrie des rayons x : (effectué par le département de sédimentologie, service rayon X et fluorescence X, DLAB)

- **Principe d'analyse :**

La technique d'analyse par diffractométrie des rayons X (DRX) est utilisée pour la détermination du pourcentage semi-quantitatif des minéraux non argileux, et de la fraction fine extraite représentée par les minéraux argileux, qui généralement inférieure à deux microns.

Tout matériau solide cristallisé peut être soumis à l'investigation par cette technique d'étude ; cependant, les substances amorphes lui échappent. Cette technique est basée sur la diffusion d'un faisceau de rayons X monochromatique par les plans réticulaires des cristaux contenus dans l'échantillon finement broyé.

Des diffractogrammes sont obtenus à l'aide d'un diffractomètre à rayon X. Les positions et les intensités de pics observés sont comparés aux fichiers de référence PDF-ICDD (Powder Diffraction File - International Center for Diffraction Data) pour l'identification des phases minéralogiques présentes et l'utilisation de RIR (Reference Intensity Ratio) inclus dans le logiciel *High Score Plus* du fichier PDF-ICDD pour l'estimation semi quantitative des phases correspondantes quand cela est possible.

6.2.3 Méthodes microbiologiques

6.2.3.1 Le dénombrement après culture de la microflore totale :

Afin de dénombrer la microflore existante dans les différents échantillons contaminés par les déversements des hydrocarbures et les fluides de forage, nous avons procédé à une culture sur gélose nutritive additionné au gasoil à 2% (Tazdaït et al, 2018 ; Zajic et Seffens, 1984 ; Banat et al.,2000 ; zajic et al., 1977 ; Zajic et al., 1997 ; Banat et al., 1991). (Pour ce faire, une série de dilutions variant de 10^{-1} à 10^{-9} a été préparée (Marchal et Bourdon, 1982).

Le gasoil utilisé, comme source de carbone est apporté de l'appareil de distillation, du département de géochimie organique LAB (voir ses caractéristiques dans le tableau A.II.2)

Le gasoil est stocké dans une bouteille en verre brune, pour éviter son oxydation par la lumière. Sa stérilisation est faite par filtration sous vide, en utilisant un papier-filtre à $0,2 \mu\text{m}$ de diamètre (Roy et al, 2002 ; Pavitran et al, 2004).

Après avoir coulé le gasoil en boîtes de Pétri, on procède alors, à l'ensemencement par étalement de chaque dilution sur une boîte Pétri.

❖ Préparation de la solution mère :

A partir d'un échantillon de sol destiné à l'analyse microbiologique, 1 g de sol est pesé puis introduit dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique. Le tube est ensuite agité énergiquement, à l'aide d'un vortex pendant 2 minutes. Le contenu du tube représente la solution mère.

➤ Preparation des dilutions:

Un tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique stérile, est ajouté 1 ml de la solution mère. Le mélange bien agité représente la dilution 10^{-1} . 1 ml de cette dilution mélangé à 9 ml d'eau physiologique, correspondra à la dilution 10^{-2} . On continue ainsi jusqu'à l'obtention de la dilution 10^{-9} (Marchal et Bourdon, 1982).



Figure 6.32 : la haute microbiologique



Figure 6.33 : Autoclave

❖ Ensemencement par étalement sur gélose nutritive (GN) :

0.1ml de chaque dilution est étalé sur toute la surface du milieu GN à raison de 3 répétitions par dilutions. Après 48 h à 72h d'incubation à 30°C, les colonies développées sont dénombrées à l'aide d'un compteur de colonies (Meyer et al., 2008).

Le nombre de germes par gramme de sol est déterminé en calculant la moyenne arithmétique des résultats obtenus et en tenant compte du facteur de dilution, (Marchal et Bourdon, 1982).

Selon la formule suivante :

$$N = \frac{n}{d \cdot v}$$

N : nombre des microorganismes en UFC/ ml.

n: 30 < nombre des colonies dénombrées > 300.

V: Volume prélevé (0.1ml).

d: Dilution.

6.2.3.2 Observation des bactéries :

L'identification des souches sélectionnées d'après les études macroscopiques, microscopiques.

❖ Etude macroscopique :

L'observation de l'aspect macroscopique des colonies permet d'effectuer une première caractérisation, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification. D'après les auteurs Delarras (2006) et Meyer (2008), les éléments d'identifications macroscopiques sont :

- La forme des colonies : circulaire, punctiforme, dentelé, ondulée.etc.
- La taille des colonies par la mesure du diamètre.
- La chromogénèse : couleur de la colonie.
- L'élévation : convexe, concave, plate.
- L'opacité : opaque, translucide ou transparente.
- La surface: lisse, rugueuse.
- La consistance : Visqueuse, élastique, sèche.etc.

❖ Etude microscopique :

Cette étude est effectuée à l'aide d'un microscope optique à fond clair, elle est réalisée par :

- Un examen à l'état frais
- Une coloration au bleu de méthylène

➤ **L'examen à l'état frais :**

Ce test permet de déterminer la forme, l'arrangement et la mobilité des bactéries. Il consiste en l'observation d'une goutte de suspension bactérienne, préparée avec de l'eau physiologique et placée entre lame et lamelle.

Pour passer à l'observation au microscope, on fait

- Couler la solution de bleu de méthylène Sur un frottis bactérien correctement fixé à la chaleur jusqu'à ce que toute la lame soit couverte.
- Attendre un temps de réaction d'une minute.
- Rincer abondamment à l'eau distillée jusqu'à la disparition de la couleur bleu.
- Sécher le frottis bactérien
- Observer au microscope optique au grossissement (X40), puis au grossissement (X100).

6.2.4 Le traitement biologique du borbier pendant 82 jours:

Pour des conditions de biotraitement optimales, il est important de connaître les caractéristiques du site contaminé avant d'entamer le traitement. Des informations de base, comme la concentration de l'hydrocarbure résiduel, la densité de la population microbienne dégradative du polluant, et le potentiel de biodégradation, sont les facteurs clés, pour une bioremédiation.

6.2.4.1. Le choix de la méthode de traitement :

Dans un essai pilote au laboratoire, tout en essayant de se rapprocher des conditions climatiques rencontrées au sud algérien, nous avons utilisé la méthode de landfarming, pour ces avantages et sa facilité de mise en œuvre. Elle est de conception simple, ne nécessitant pas un appareillage encombrant, ni une intervention importante de main d'œuvre (Khodja, 2008).

6.2.4.2 Préparation de l'échantillon et des bacs de traitement :

D'abord nous avons mélangé plusieurs échantillons prélevés des différents borbiers de la zone de HASSI MESSAOUD, pour obtenir un seul échantillon bien homogénéisé, Nous avons choisi de travailler avec des échantillons qui sont séparés de leurs nappe huileuse flottante, puisque dans les sites de forage ils attendent l'élimination de cette nappe par évaporation, infiltration, adsorption...etc., avant d'entamer une technique de traitement.



Figure 6.34 : l'échantillon de borbier

L'échantillon est réparti dans 20 bacs qui sont numérotés de 1 à 10 et étiquetés selon leur contenu, où sont répartis les lots d'échantillon. Chaque lot contient environ 600 g de sol

6.2.4.3 Répartition des lots dans les bacs :

Afin d'évaluer le rendement de la dégradation des hydrocarbures dans le sol contaminé par les fluides de forage, ainsi qu'une évaluation comparative de différents phénomènes, Les 10 traitements utilisés avec leurs objectifs sont :

- 1- Un bac témoin contenant un échantillon du sol pollué (atténuation naturelle) ;
- 2- Un bac enrichi par l'addition de fumier de vache (bioaugmentation et amendement organique) ;
- 3- Un bac additionne de fumier de volailles ;
- 4- Un bac additionne de terreau ;
- 5- Un bac stimulé (addition de grignon d'olive activé) ;
- 6- Un bac contenant, en plus des grignons d'olive activé, de la sciure de bois qui est aussi activée ;
- 7- Un bac perfectionné par l'ajout de grignon d'olive activé + fumier vache + fumier de volaille ;
- 8- Un bac contenant terreau + fumier de volaille ;

9- Un bac stimulé par l'ajout des grignons d'olive activé+ fumier de vache + fumier de volaille + terreau ;

10- Un bac stimulé (addition de grignon d'olive non activé)



Bacs B



Bacs A

Figure 6.35 : L'échantillon de borbier réparti en 20 bacs

De ce fait, notre recherche actuelle a pour but d'estimer le rôle de l'addition des deux fumiers, des grignons d'olive, de terreau et de la sciure de bois dans la décontamination du borbier pollué par les fluides de forages, ceci par la séparation des hydrocarbures qui sont liée avec les agrégats du sol.

6.2.4.4 Préparation des bacs :

Dans notre travail, on a choisi de travailler avec un rapport C/N égale à 30, qui est recommandé par plusieurs auteurs parmi eux, Larsen et Mc Cartney (2000), Amir *et al.* (2005), Sadaka et Taweel (2003)

- **Le bac (2)** : borbier + 50g de fumier de vache ;
- **Le bac (3)** : borbier + 55g de fumier de volaille ;
- **Le bac (4)** : borbier + 55g de terreau ;
- **Le bac (5)** : borbier + 40g de grignon d'olive ;
- **Le bac (6)** : borbier + 40g de grignon d'olive + 4g de sciure de bois ;
- **Le bac (7)** : borbier + 10g de grignon d'olive + 15g de fumier de vache + 15g de fumier de volaille ;
- **Le bac (8)** : borbier + 20g de fumier de volaille + 20g de terreau ;
- **Le bac (9)** : borbier + 10g de grignon d'olive + 10g de fumier de volaille + 10g de fumier de vache + 10g de fumier de volaille + 10g de terreau ;
- **Le bac (10)** : borbier + 40g de grignon d'olive ;

6.2.4.5 Le suivi du biotraitement :

Les bacs sont retournés chaque deux jours pour une meilleure aération et homogénéisation de ces constituants, arrosés d’eau de robinet, chaque quatre jours.

Nous avons choisi de travailler avec deux différentes humidités (volume d’eau rajouté au sol) selon l’humidité qui se trouve à Ouargla (voir l’annexe 05).

Selon le tableau A.IV.1, nous remarquons que dans les quatre dernières années (2015-2018), l’humidité a déminué surtout durant la période Mai-Juin-Juillet, par contre la valeur maximale se situe dans la saison octobre-Novembre-décembre

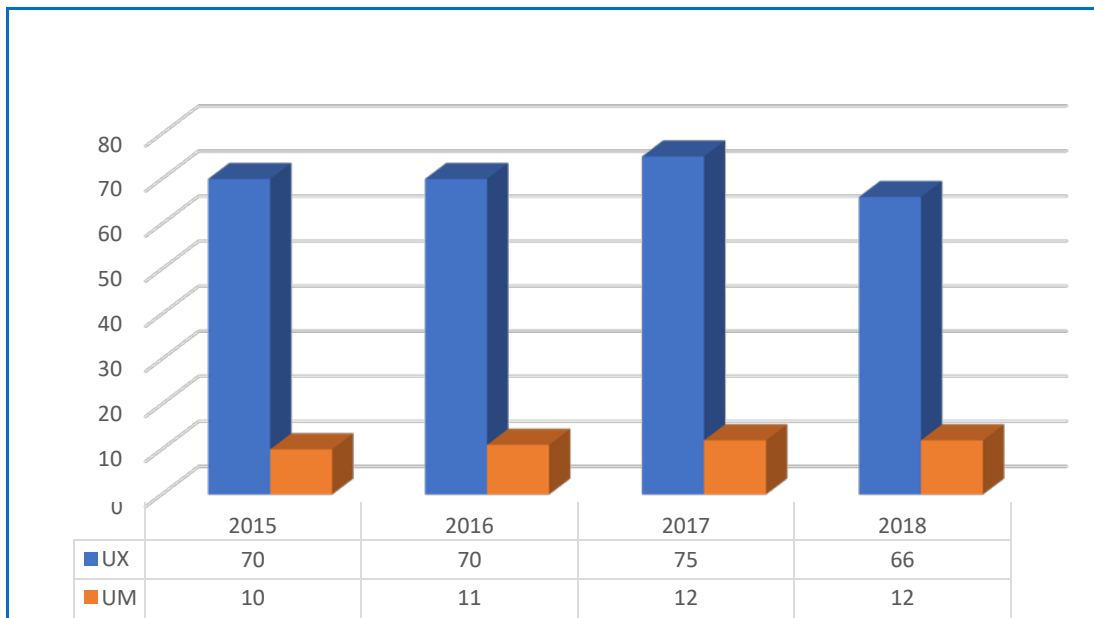


Figure 6.36 : valeurs moyenne maximale et minimale d’humidité des quatre dernières années (2015/2018)

UX : valeur moyenne maximale d’humidité

UM : valeur moyenne minimale d’humidité

La figure 6.37 représente la valeur moyenne maximal d’humidité qui est de 70%, et la valeur moyenne minimale qui est de 11%.

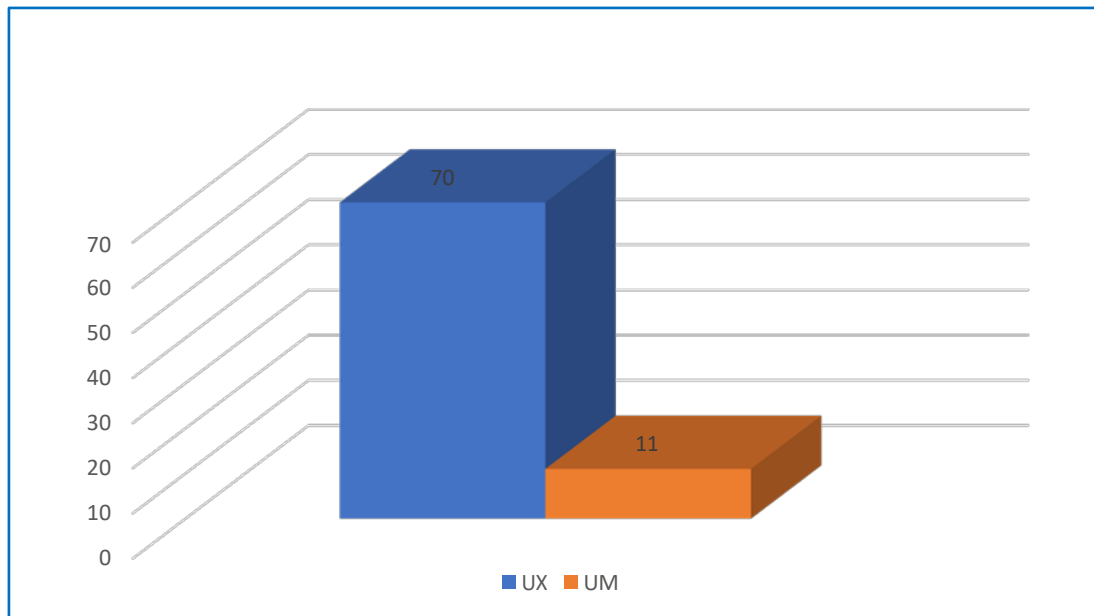


Figure 6.37 : valeur moyenne maximale et minimale d'humidité de 2015 jusqu'à 2018

UX : valeur moyenne maximale d'humidité

UM : valeur moyenne minimale d'humidité

Des échantillons sont prélevés à partir des bacs une fois tous les 20 jours, pendant la durée du traitement, avec un suivi régulier de la concentration bactérienne évaluée par le dénombrement sur le milieu GN, et un suivi des nitrates, de la température, du pH et de l'humidité.

❖ **Dénombrement sur milieu gélose nutritive GN :**

- Prélever un volume de 0,1ml à partir des dilutions 10^{-1} jusqu'à 10^{-9} et faire ensemencer une boîte pour chaque dilution ;
- Etaler l'inoculum sur toute la surface de la boîte ;
- Incuber les boîtes à 30°C pendant 24h à 48h ;
- Faire le dénombrement des boîtes contenant entre 30 à 300 colonies.

❖ **Le suivi des TPH :**

Un suivi à la fin de traitement des taux en hydrocarbure totaux (TPH) se fait par la méthode de Soxhlet modifiée (méthode gravimétrique).

Après 82 jours de traitement le rendement de dégradation des hydrocarbures est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Rendement de dégradation des hydrocarbures} = \frac{C_i - C_f}{C_i}$$

C_i : Concentration initiale

C_f : Concentration finale

CHAPITRE 7

RÉSULTATS
ET DISCUSSIONS

7.1 Résultat des études physicochimiques

7.1.1 Résultats des teneurs du bourbier B en hydrocarbures :

Dans le but d'évaluer la teneur de bourbier en hydrocarbures totaux (TPH), nous avons évalué la teneur en huile, les résultats de la distillation obtenus sont représentés dans le tableau 7.1.

Tableau 7.1 : Résultats des teneurs du bourbier en hydrocarbures

	Paramètres	Valeurs %
Bourbier	Teneur en huile	7,87
	Teneur en eau	3,41
	Teneur en solide	88,72
	Total %	100

D'après les résultats obtenus du tableau 7.1, nous constatons que :

La teneur en huile dans le bourbier est élevée (7,87%), il en est de même pour la teneur en hydrocarbures totaux, dont la valeur obtenue 7,87 % (78,7 g/Kg de sol) est largement supérieur à la valeur fixée par la norme hollandaise (0.1g/kg du sol) (Annexe A.I.1). Ce résultat confirme bien une pollution par les hydrocarbures. Ce résultat confirme bien une pollution par les hydrocarbures. Cette pollution causée par les rejets de boues de forages constitue une source de carbone importante pour les microorganismes du sol. Ce taux de pollution trop élevé nécessite donc un procédé de traitement du bourbier (Khodja, 2008).



Figure 7.1 : teneur de bourbier en huile/eau/solide

7.1.2 Résultats de la composition des grignons d'olive :

Nous avons effectué une distillation des grignons d'olive à l'aide de l'appareil de distillation, afin de déterminer leur composition, les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 7.2.

Tableau 7.2 : Résultats de la composition des grignons d'olive

	Paramètres	Valeurs %
Grignons d'olive	Teneur en huile	8,10
	Teneur en eau	55,56
	Teneur en solide	36,34
	Total %	100

D'après les résultats on remarque que le déchet contient une teneur en eau élevée. L'importante teneur en eau est en relation avec la forte consommation d'eau lors de l'extraction d'huile d'olives, elle atteint un total approximatif de 100-130 L pour 100 Kg d'olives. (CCAR/PP, 2000)

On remarque aussi une quantité donnée d'huile résiduelle qui apparaisse à la fin de l'extraction, donc il est impossible de l'extraire par les méthodes physiques, et qu'elle peut être extraite par d'autres méthodes.

7.1.3 Identification du polluant contenu dans le borbier B par chromatographie en phase gazeuse CPG :

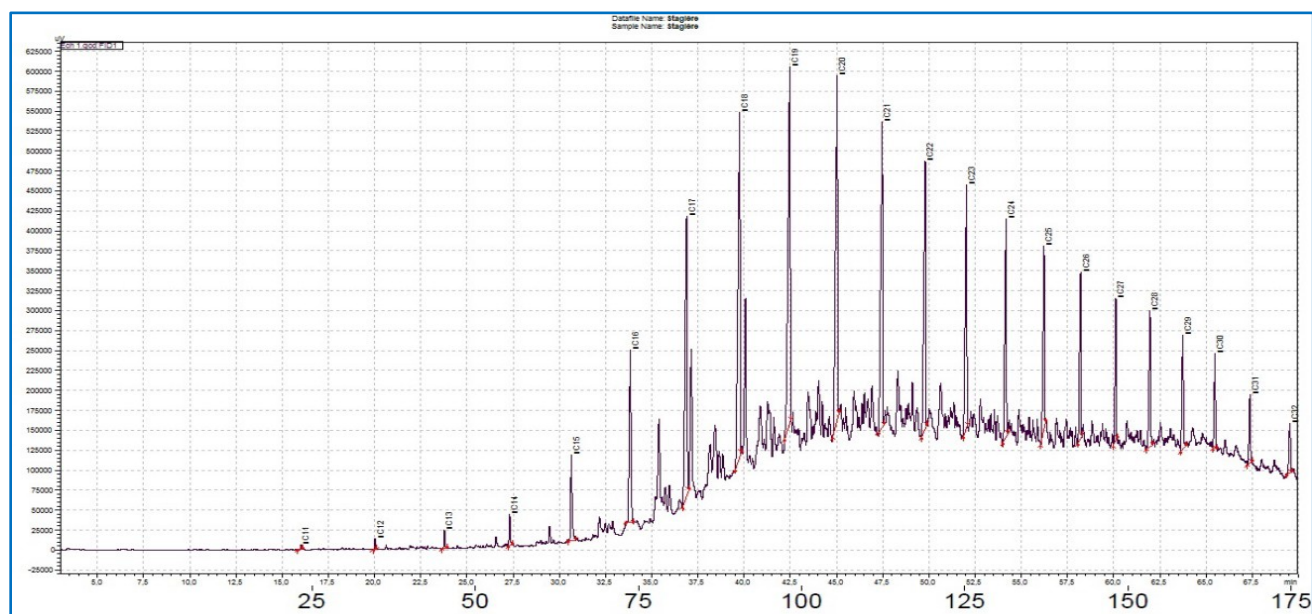


Figure 7.2 : chromatogramme des hydrocarbures détectés dans le borbier.
 PH : Phytane (Hydrocarbure saturé ramifié C20)

Tableau 7.3 : Tableau complémentaire de lecture de la CPG

Nom des pics	Temps de rétention	Surface	% Surface
nC11	16,06	17312	0,06
nC12	20,07	44645	0,15
nC13	23,83	79213	0,27
nC14	27,36	155757	0,52
nC15	30,69	573936	1,93
nC16	33,88	1388666	4,67
nC17	36,93	2817132	9,48
Ph	39,80	3298996	11,10
nC19	42,52	3613629	12,16
nC20	45,08	3220176	10,84
nC21	47,52	2662922	8,96
nC22	49,85	2266347	7,63
nC23	52,08	1825889	6,14
nC24	54,22	1547994	5,21
nC25	56,28	1216028	4,09
nC26	58,26	1067508	3,59
nC27	60,16	861057	2,90
nC28	62,01	894944	3,01
nC29	63,79	781071	2,63
nC30	65,53	573302	1,93
nC31	67,42	435740	1,47
nC32	69,58	376694	1,27
	Total	29718960	100,00

D'après la Fig.7.2 et le tableau de lecture 7.3, On note la présence des pics d'hydrocarbures allant de C11 jusqu'au C32.

Selon Vogel et Ballerini (1998), les hydrocarbures d'un gasoil sont lourds et peu volatiles avec un nombre de carbones variant de 12 à 25.

Dans l'échantillon du bourbier, on signale l'absence des fractions légères qui peut être expliquée par une éventuelle volatilisation et/ou photooxydation (Van Gestel et al., 2003 ; Khodja, 2008).

Ces résultats montrent que le contaminant majeur de ce bourbier est du gasoil, ce qui était prévisible du fait qu'à l'exception de la première phase, la totalité du forage des puits du champ de HMD utilise des fluides à base d'huile (OBM) (Khodja, 2008).

Ces profils concordent parfaitement avec ceux trouvés par Geerdink et al, (1996), Haeseler et al, (2001) et Marchal et al, (2003).

7.1.4 Caractérisation physicochimique du bourbier, et des deux fumiers (vache et volaille), du terreau, des grignons d'olive, de la sciure de bois, utilisés dans le biotraitement :

L'échantillon du bourbier a été choisi pour un diagnostic physico-chimique détaillé qui permet de vérifier si le sol constitue un environnement favorable à la croissance des microorganismes (Samson, 1994).

Les analyses physicochimiques des deux types de fumier, de grignons d'olive, de tirot et de la sciure de bois renseignent sur la disponibilité des éléments minéraux indispensables à la croissance des microorganismes (Leclerc, 1995).

Les analyses physicochimiques réalisés, ont donné les résultats notés dans les figures 7.3, 7.4, 7.5 et 7.6.

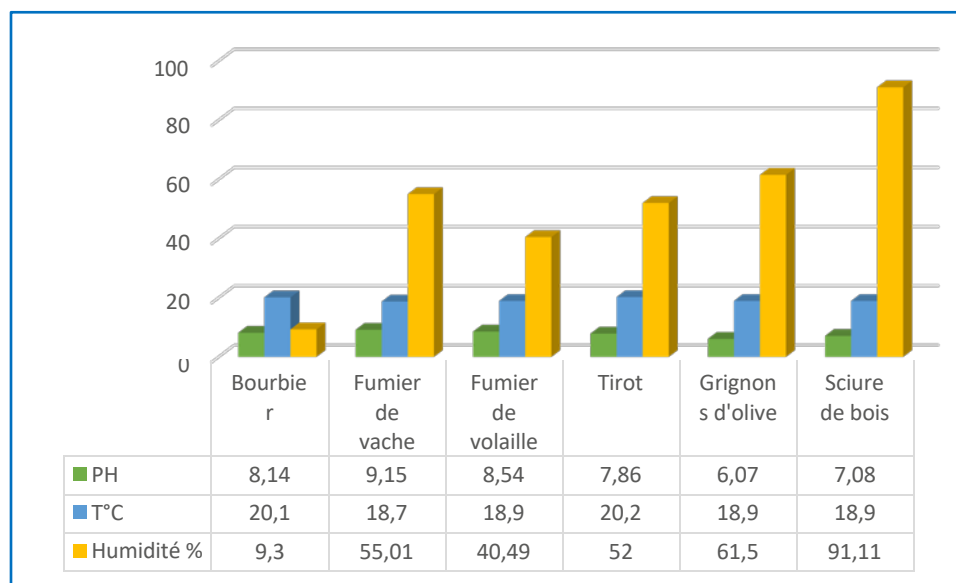


Figure 7.3 : les paramètres PH, T° et humidité des 6 échantillons

Les résultats obtenus dans la figure 7.3, montrent que :

La température du borbier est en moyenne de 20,1°C, ce qui constitue un environnement favorable pour la croissance des souches mésophiles.

Le taux d'humidité du sol est de 9,3%, valeur relativement faible mais suffisante pour un sol de Sud. La présence de cette humidité peut être due à plusieurs facteurs, on site : la composition des fluides de forages, et les déversements des eaux lors des opérations d'exploitation (Khodja, 2008).

Toutefois, il est à noter que ce faible taux d'humidité peut avoir un effet négatif sur l'activité microbienne, en réduisant le contact microorganisme / polluant (Lecomte, 1995), D'où la nécessité d'un apport d'eau lors du traitement.

Toutefois l'humidité élevée du fumier de volaille (40,49) correspond au contenu de ce dernier en 20 à 40% d'eau, en fonction du type de matériel absorbant, de la concentration en volailles, de l'équipement d'abreuvement et du système de ventilation (Ritz et Merka, 2009).

Pour les autres amendements qui présentent un taux d'humidité élevé, il est à noter qu'un fort taux d'humidité peut avoir un effet positif sur l'activité microbienne en limitant le contact microorganisme / polluant, pour cela, Gabet (2004) a signalé que pour une meilleure activité de biodégradation, l'humidité doit être de 25 à 90%.

Le borbier présente un pH fortement basique (8,14). L'alcalinité du milieu est due au pH des fluides de forage généralement maintenu entre 9,5 et 10,5 afin d'éviter la corrosion (Khodja, 2008). Selon Leahy et Colwell (1990), ce pH proche de la neutralité, favoriserait la croissance des bactéries et des champignons et par conséquent assurait un déroulement efficace de la biodégradation des hydrocarbures.

Autrement le pH du fumier de volaille est de 8,54 et selon Itavi (1997) les fermentations ne peuvent se produire avec un maximum d'intensité qu'à un pH faiblement basique variant entre 7,8 et 8,8 et en présence d'une quantité suffisamment importante de déjections dans ou sur la litière.

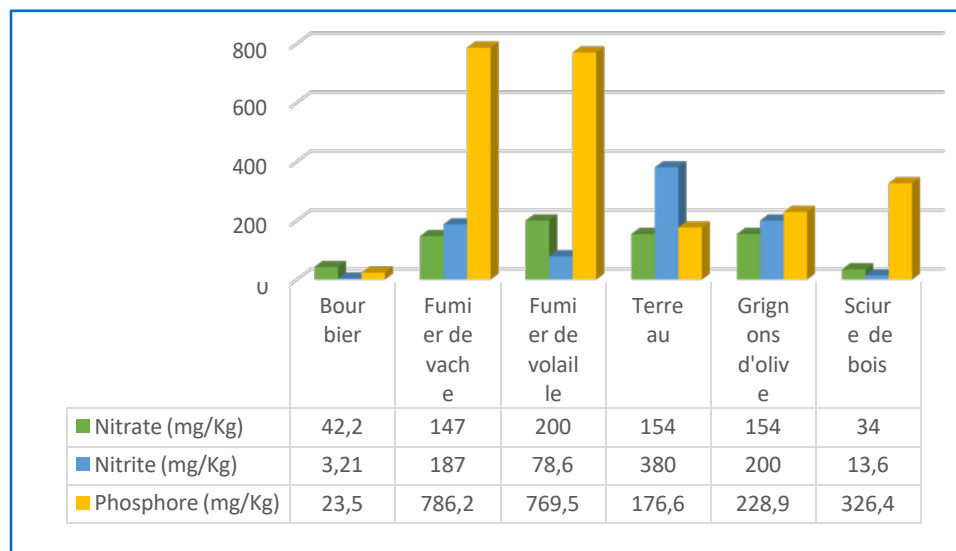


Figure 7.4 : Le dosage des paramètres nitrate, nitrite et phosphore des 6 échantillons

D'après la figure 7.4, le borbier contient également une certaine concentration en nitrate, nitrite et phosphore, considéré comme indicateur de la pollution organique. Cependant le nitrate peut provoquer un appauvrissement en oxygène, en servant d'accepteur d'électrons en anaérobiose (Belhadj, 2001).

Selon Eckford et al, (2002), la pollution des sols par les hydrocarbures (diesel, carburant) provoque un déficit en azote par rapport au carbone, ce qui nécessitant un apport nutritif lors du biotraitement afin de stimuler la biodégradation microbienne.

Par ailleurs, il est connu que la flore microbienne a besoin des nutriments, en particulier d'azote et de phosphore, dont les proportions optimales, généralement admises, sont de 1g de phosphore et 10g d'azote pour 100g de carbone, (C/N/P) et de (100/10/1), (Ballerini, 1999).

Selon Scow et al, (2003), les éléments limitants dans les environnements aérobies sont l'azote et le phosphore, donc il est probable que la biodégradation soit limitée.

La teneur importante en nitrate et nitrite dans le fumier correspond à l'excrétion combinée des urines et des fèces chez les volailles. L'excrétion urinaire contribue à environ 70% de l'azote total et les 30% restants proviennent des matières fécales. L'acide urique représente 88% de l'azote urinaire (Bujoczek et al, 2000).

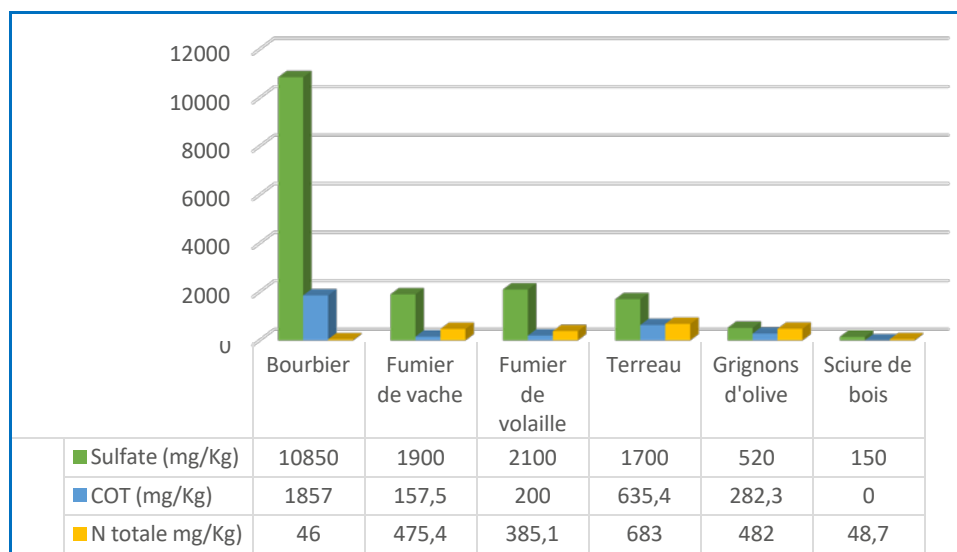


Figure 7.5 : Le dosage des paramètres sulfate, COT et azote totale des 6 échantillons

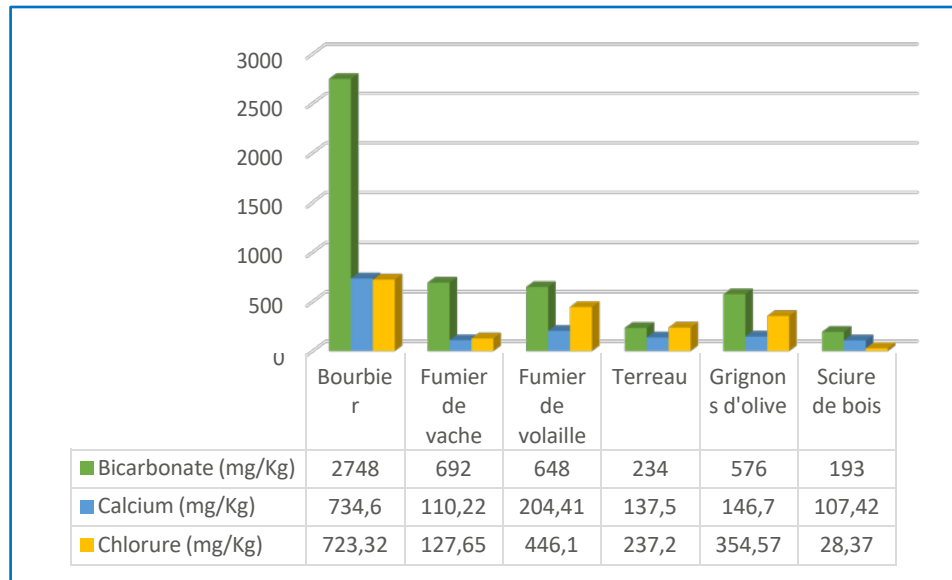


Figure 7.6 : Le dosage des paramètres Bicarbonate, Calcium et Chlorure des 6 échantillons

Tableau 7.4 : Mesure des différents paramètres de pollution.

Analyse	Valeur (mg/kg)
DCO	5990
DBO5	3920
MES	2282

Tableau 7.5 : Résultats des métaux lourds en (µg/l)

Eléments (µg/l)	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	As	Se	Cd	Pb	Hg
Bourbier	0,64	3,26	16,94	2,40	3,87	16,85	5,20	8,45	0,35	0,05	4,63	0.20

Tableau 7.6 : Résultats des métaux lourds en (mg/kg)

Eléments (mg/kg)	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	As	Se	Cd	Pb	Hg
Bourbier	<0,01	0,03	0,17	0,02	0,04	0,17	0,05	0,08	<0,01	<0,01	0,05	<0,01

Les résultats du dosage des sels minéraux dans le borbier montrent que le sol à analyser est très minéralisé, on y trouve une diversité :

Des ions dominants sont : Cl^- , Ca^{+2} , SO_4^{-2} , on signale aussi la présence d'autres minéraux à des concentrations moyenne comme Na^+ et le K^+ . Ces oligo-éléments constituent des éléments nécessaires au métabolisme bactérien pouvant jouer un rôle de cofacteurs ou d'activateurs enzymatique (Sanjeet *et al.*, 2001).

La teneur élevée en chlorures de borbier (723.32 mg/Kg de borbier) est expliquée par l'utilisation d'une salinité importante dans les fluides de forage ou par la présence de sels dans les formations traversées durant le forage (Okpokwasili *et al.*, 1990).

Le carbone minéral est présent en abondance dans le borbier sous forme de bicarbonate (HCO_3^-), au dépend des ions carbonates CO_3^{3-} qui sont totalement absents. La présence de carbone d'origine organique (COT) confirme l'importance de la contamination (Rike *et al.*, 2003).

D'après les figures 7.4, 7.5, nous pouvons déduire que l'amendement le plus riche en azote, nitrite et nitrate est le terreau, le fumier de vache prend la deuxième place. Selon Barrington, (1997), l'azote total des excréments frais d'animaux se présentent sous 2 formes principales, l'ammonium sous forme de sels dissous qui représente la fraction minérale, ainsi que peu de nitrates et de nitrites.

Par ailleurs, le dosage des minéraux a indiqué que le fumier de volaille est le plus riche en Cl^- , SO_4^{-2} , Ca^{2+} et celui de vache est plus fertile en ions : PO_4^{-3} , HCO_3^- et le grignons d'olive est riche aussi en NO_3^- , Cl^- et NO_2^- .

Le carbone minéral est le plus abondant dans tous les amendements, sauf le terreau qui présente un COT élevé par rapport au carbone minérale.

Le rapport de DBO5/DCO, nous permettra de classer notre échantillon comme déchet biodégradable ou non.

Dans notre cas (tableau 7.4), ce rapport est de 0,7, d'après Lefebvre (1978) un rapport supérieur à 0,6 admet que le sol étudié est biodégradable, ce qui suggère qu'il existe une flore indigène capable de dégrader la matière organique polluante.

Cependant des teneurs élevées en MES (2282 mg/kg) peuvent empêcher la pénétration de la lumière, diminuer l'oxygène dissous et créer des déséquilibres entre diverses espèces.

Ces analyses des MES permettent donc de connaître la quantité de matière non dissoutes, quelles soient organiques ou minérales, présentes dans un échantillon.

Cependant, on constate, comme on pouvait s'y attendre, que plus l'oxygène dissout est faible (90,2 mg/kg de sol), plus la demande chimique en oxygène (DCO) est élevée (211 mg/kg de sol), indiquant une pollution forte au niveau du site étudié (Belhaj, 2001).

L'analyse chimique du borbier a démontré la présence en faible proportion du Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Cd, Pb. Ces derniers sont indispensables pour les microorganismes, mais à l'état de trace (oligoélément).

Cependant ces teneurs en métaux lourds sont inférieures à celle requises par la réglementation algérienne (J. O. République Algérienne, 1993) (tableau A.I.3).

Durant la période 2005-2008, l'analyse de plus de 100 borbiers de forage à la région de HMD a montré que la totalité des borbiers renfermaient une concentration en métaux lourds inférieure à la norme, en fait, dans la majorité des cas, la concentration initiale en métaux avant traitement était déjà inférieure à la norme (Khodja, 2008).

7.1.5 Résultats de la diffraction par rayons X (DRX) :

L'analyse minéralogique par radiocristallographie (annexes A.III) a mis en évidence les phases représentées dans le tableau 7.7 :

Tableau 7.7 : Résultats du DRX de l'échantillon du borbier et des deux types du fumier

Nature des minéraux	Résultats d'analyse DRX			
	Borbier	Fumier vache	Fumier volaille	Structure chimique
Les minéraux non argileux	Quartz	Quartz	Quartz	SiO ₂
	Calcite	Calcite	Calcite	Ca(CO ₃)
	Barite	-	-	BaSO ₄
	Dolomite	-	-	CaMg(CO ₃) ₂ en trace
	Gypse	-	-	CaSO ₄ .2H ₂ O
	Anhydrite	-	-	CaSO ₄
	Albite	-	-	Na AlSi ₃ O ₈
	Orthoclase	Orthoclase	-	K (Si,Al) ₄ O ₈
	-	-	Sylvite Farringtonite	KCl Mg ₃ (PO ₄) ₂
Argiles en faible concentration	Illite	Illite	-	K (Al ₄ Si ₂ O ₉ (OH) ₃)
	Kaolinite	Kaolinite		Al ₂ Si ₂ O ₅ (OH) ₄
Phase amorphe	-	Une phase amorphe importante	Une phase amorphe importante	Non identifié

(-) absence

Selon les pics des diffractogrammes (Fig. A.III.1), on constate que les minéraux présents dans le borbier sont sous forme cristallisée avec une prédominance du quartz, baryte et le gypse. On note également la présence de minéraux non argileux qui sont : barite, dolomite, gypse, anhydrite, albite.

Par comparaison à l'analyse minéralogique d'un sol non contaminé dans la région de HMD (fig. A.III.1 et A.III.2), a montré une prédominance de quartz, ainsi que la présence de microcline et du gypse (Khodja, 2008).

Ce qui explique que les autres minéraux observés dans le borbier sont apportés par la pollution due aux fluides de forage.

D'après Khodja (2008), les analyses des borbiers prélevés en 2005 et 2006 au niveau de la région de HMD, ont montré la prédominance de quartz (95%), barite, calcite, dolomite, de et minéraux argileux sous forme de kaolinite, de basanite, d'illite et de microcline.

Pour les deux échantillons de fumiers (Fig.A.III.3 et A.III.4), on remarque la présence d'une phase amorphe importante, imbriqué de façon complexe, son identification échappe à la méthode DRX, qui peut être identifié par la méthode de fluorescence par RX.

Markewich *et al.*, (2010), ont identifié cette phase amorphe en cellulose et en lignine.

Lors de la comparaison des 3 diffractogrammes, on remarque la présence en commun du quartz et de calcite.

L'échantillon du borbier contient en commun avec le fumier de la vache, les orthoclases, ainsi que des minéraux sous forme d'argiles à faible concentration, représenté par l'illite et la kaolinite.

A la différence de l'échantillon du borbier et du fumier de vache, le fumier de volaille contient la sylvite et la farringtonite.

Nos résultats concordent parfaitement avec Xinde *et al.*, (2010) et Zhenhu (2011), qui ont remarqué la présence du quartz, calcite, dans les fumiers des bétails et des poules, ainsi que la présence de la sylvite et d'une phase amorphe.

Selon ces auteurs, la présence de calcite est compatible avec l'alcalinité du fumier, qui est constitué d'une grande variété de sels minéraux, ce qui fait de lui un bon amendement pour la bioremédiation du borbier étudié.

Nous concluons suite à cette analyse minéralogique, que les deux fumiers peuvent être utilisés comme sources de carbone et suppléments nutritionnels, dans le borbier, facilitant ainsi la biodégradation (Namkoong *et al.*, 2002).

7.2 Analyses microbiologiques

7.2.1 Dénombrement de la microflore totale du borbier :

Les résultats obtenus du dénombrement sur gélose nutritive additionnée à 2% de gasoil pour l'échantillon étudié, sont représentés par la figure 7.7.

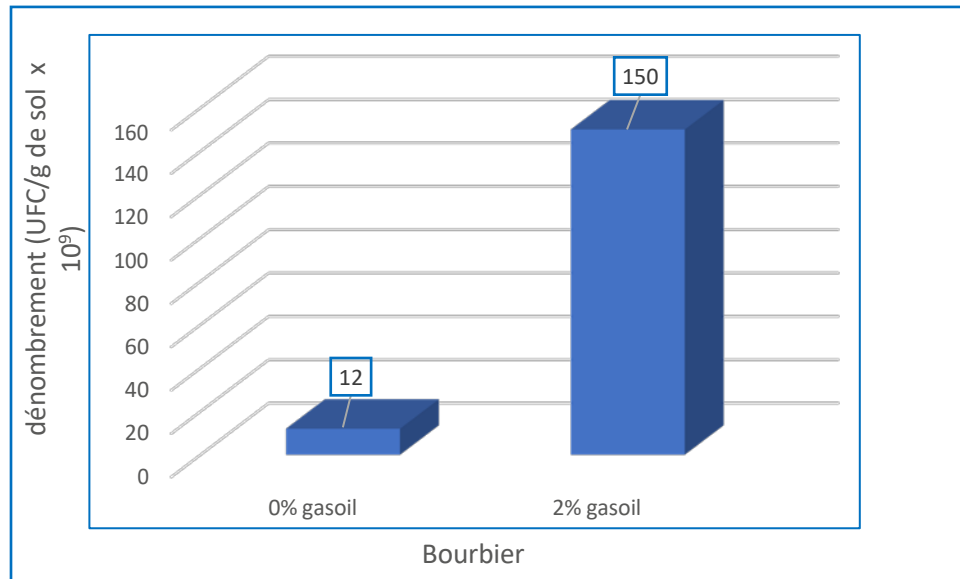


Figure 7.7 : Résultats du dénombrement de la microflore totale du bourbier à 2% gasoil



Figure 7.8 : vue de la dilution 10⁻⁹ sous un compteur de colonies

Le dénombrement de la microflore totale, dans ce bourbier pollué par les hydrocarbures, a été effectué sur une gélose nutritive standard et une gélose nutritive additionnée de 2% de gasoil. Les résultats sont montrés sur la figure 7.7. Sur gélose nutritive standard, nous avons pu dénombrer $12 \cdot 10^9$ UFC/g, par contre, sur la gélose contenant 2% de gasoil, le nombre de colonies était de $150 \cdot 10^9$ UFC/g. Ceci s'explique par le fait que les microorganismes présents dans le bourbier pollué se sont adaptés à la dégradation des hydrocarbures, ainsi, une supplémentation en gasoil a permis de leur apporter des nutriments qu'ils peuvent dégrader plus facilement.

Les résultats confirment qu'il y a une corrélation positive entre la concentration en teneurs des hydrocarbures et la présence d'une microflore importante. Ces observations concordent avec celle de l'auteur Atlas (1984), qui a noté qu'un apport d'hydrocarbure dans un sol est suivi d'une augmentation de la population microbienne.

L'importance de la microflore autochtone du sol suggère la possibilité de cette dernière à assurer la biodégradation des hydrocarbures, sachant que selon Margesin et Schinner (2001), une teneur $\geq 10^6$ germes /g de sol est suffisante pour procéder à la biodégradation de ces composés.

Ces résultats nous permettent donc de dire que cet échantillon pourrait être traité par des procédés biologiques en utilisant ces propres microorganismes déjà existant.

7.2.2 Etude morphologique

7.2.2.1 Etude macroscopique :

Après 72 heures d'incubation à 30°C, les résultats de l'observation macroscopique des colonies développées sont consignés dans le tableau 7.8.

Tableau 7.8 : Etude macroscopique des souches sélectionnées

Souche	Forme	Taille	Couleur	L'élévation	Opacité	Surface
1(1)	P	3mm	Blanche	Concave	Opaque	S
1(2)	P	4mm	Blanche	Concave	Opaque	S
1(3)	P	2mm	Blanche	Plate	Opaque	S
1(4)	C	3mm	Blanche	Plate	Tr	S
3(1)	P	2mm	Blanche	Plate	Opaque	R
3(2)	P	3mm	Blanche	Concave	Opaque	S
3(3)	C	3mm	Blanche	Plate	Opaque	S
9(1)	C	3mm	Crème	Plate	Opaque	S
9(2)	P	5mm	Crème	Plate	Opaque	S
9(3)	P	2mm	Blanche	Plate	Opaque	S
9(4)	C	2mm	Blanche	Plate	Opaque	S

9(5)	P	<1mm	Blanche	Plate	Tr	S
9(6)	Dentelé	<1mm	Blanche	Plate	Tr	S

P : punctiforme ; **C** : circulaire ; **S** : lisse brillante type smooth ; **R** : rugueuse ; **Tr** : Translucide

L'examen macroscopique des souches a montré une variabilité, où la majorité des colonies sont punctiformes ; les colonies ont un diamètre qui varie entre 1 et 5 mm. La pigmentation est variable d'une souche à l'autre, elle est blanche, crème.

Par ailleurs, la totalité des colonies sont caractérisées par une surface lisse brillante, elles sont plates sauf pour les bactéries 1(1), 1(2) et 3(2).

Certaines colonies sont opaques, d'autres sont translucides, avec une opacité et consistance variable. (Fig.7.9)

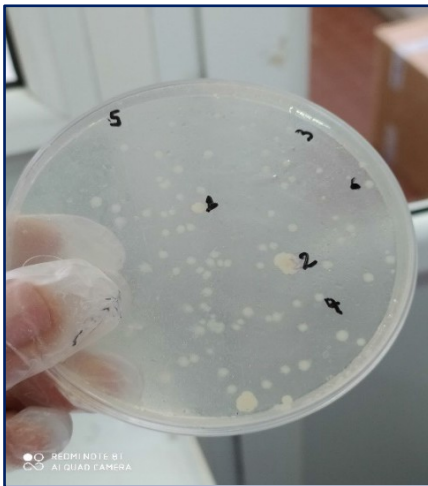


Figure 7.9 : Aspect macroscopique des Souches sélectionnées



Figure 7.10 : Boîtes de pétri dans l'incubateur

7.2.2.2 Etude microscopique :

A raison de la non disponibilité de microscope on a pu passer seulement quatre souches.

Les résultats des études microscopiques sont portés sur le tableau 7.9.

Tableau 7.9 : Aspect microscopique des souches observées à l'état frais.

La souche	frottis frais	Coloration au bleu de méthylène	
	Mobilité	La forme	Mode de groupement
1(2)	Immobile	Bacille	En chaînette
1(1)	Mobile	Cocobacille	Isolé
3(4)	Immobile	Cocci	En chaînette
9(1)	Immobile	Bacille	Isolé

L'étude microscopique a montré des cellules en forme de bacille, coccobacille et cocci, isolées ou en chaînette. La majorité des cellules sont immobiles.

Les observations microscopiques des souches isolées après une coloration de Gram, montrent qu'il existe les deux types de bactéries dans notre sol :

- Bactéries à Gram positif
- Bactéries à Gram négatif

7.3 Le traitement biologique par la méthode de landfarming pendant 82 jours

7.3.1 Le suivi de biotraitement :

Selon US-EPA (United States Environmental Protection Agency), le biotraitement a pour but de réduire la concentration du polluant.

Nous avons commencé le biotraitement avec deux taux d'humidité différents (11% et 70%). Avec 70% d'humidité, tous les bacs ont devenu boue, ils n'ont pas supporté ce taux d'humidité élevé à l'exception de deux bacs (B5, B6), c'est dû aux faites que le sol est amendé par le grignon d'olive activé et la sciure de bois qui ont absorbé cette grande quantité d'eau ; pour les 8 bacs restants, on a testé différents taux d'humidité, (60%, 40%, jusqu'à 20%), par la suite on a trouvé que les 8 bacs (B1-B4 et B7-B10) supporte une humidité maximale de 20% seulement, c'est pour ça on a recommencé le traitement avec un taux d'humidité de 11% pour 10 bacs (A1-A10), et un taux de 20% pour 8 bacs (B1-B4 et B7-B10), et 70% d'humidité pour B5 et B6.

Nous avons entamé le biotraitement avec une concentration microbienne de 150×10^9 UFC/g de sol. Plusieurs auteurs ont débuté des traitements avec un nombre initial en microorganismes dépassant 10^6 germes/g de sol. C'est le cas des Margesin et al, (2001), Eriksson et al, (2001) qui ont travaillé avec un nombre de germes initial, respectivement de $6,5 \times 10^7$ UFC/g de sol et de $2,3 \times 10^7$ UFC/g de sol.

Les bactéries aérobies de sol convertissent la matière organique en dioxyde de carbone, en eau et en cellules microbiennes. Cependant, les bactéries anaérobies du fumier convertissent la matière organique en gaz, tels que le dioxyde de carbone, l'ammoniac, des composés à base de soufre,

des composés organiques volatils (COV) et le méthane comptent parmi les sous-produits de ce processus. Selon Ghazali et al, (2004), le retournement périodique des sols pollués a pour but d'assurer une provision adéquate d'oxygène aux microorganismes.

Les résultats du suivi de l'humidité durant la période du biotraitement sont représentés par la figure 7.11, 7.12 et par le tableau 7.10.

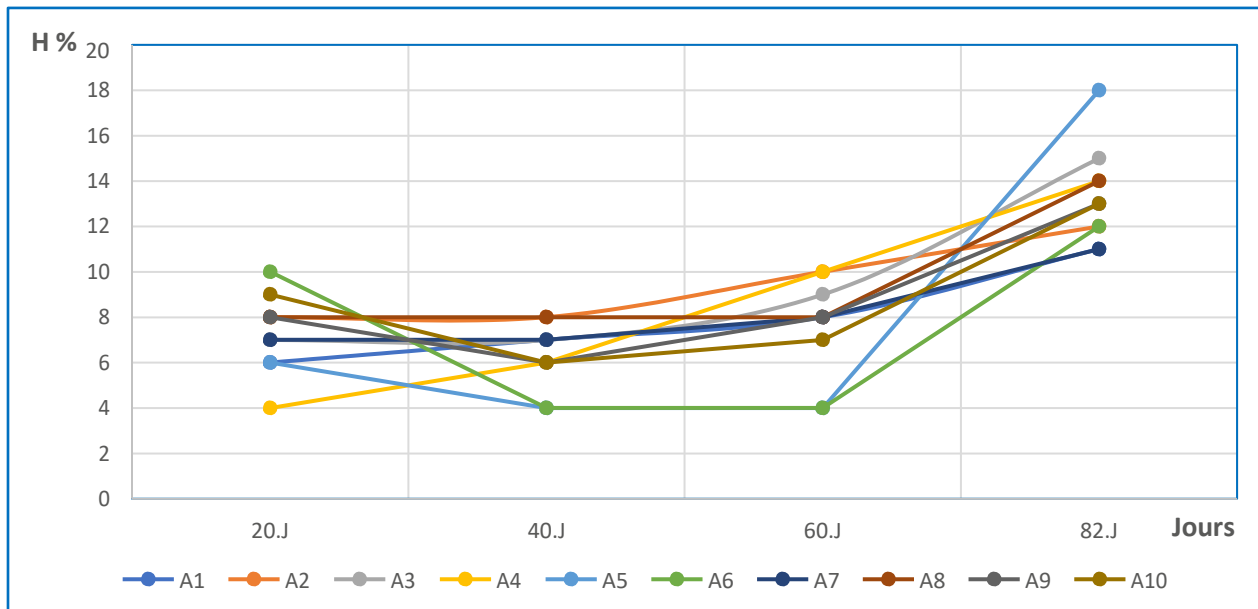


Figure 7.11 : Résultats du suivi du taux d’humidité dans les bacs A étudiés.

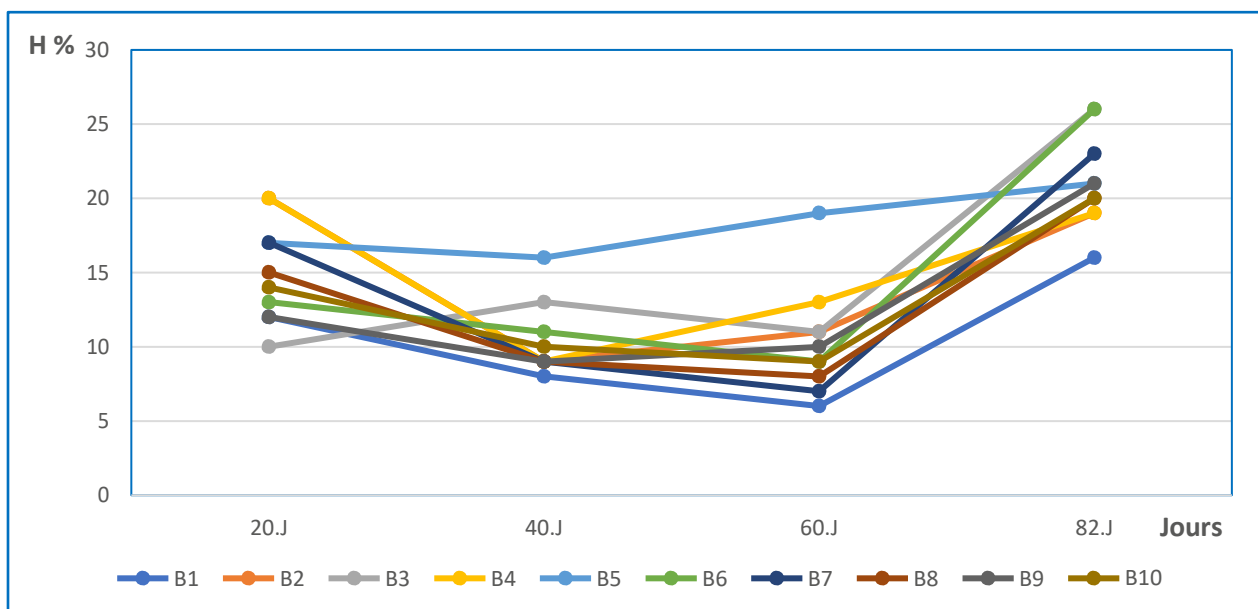


Figure 7.12 : Résultats du suivi du taux d’humidité dans les bacs B étudiés.

A1/B1 (11%/20%) : témoin ; **A2/B2** (11%/20%) : fumier de vache ; **A3/B3** (11%/20%) : fumier de volaille ; **A4/B4** (11%/20%) : terreau ; **A5/B5** (11%/70%) : grignon d’olive activé ; **A6/B6** (11%/70%) : grignon d’olive activé + sciure de bois ; **A7/B7** (11%/20%) : Grignon d’olive activé + fumier de vache + fumier de volaille ; **A8/B8** (11%/20%) : Fumier de volaille + terreau ; **A9/B9** (11%/20%) : Grignon d’olive activé + fumier de vache + fumier de volaille + terreau ; **A10/ B10** (11%/20%) :Grignon d’olive non activé

Tableau 7.10 : Humidité de l'endroit le quel le biotraitement est effectué.

Jour	Humidité (%)	Jour	Humidité
01/07/2020	59	11/08/2020	54
02/07/2020	58	12/08/2020	51
03/07/2020	62	13/08/2020	48
04/07/2020	60	14/08/2020	49
05/07/2020	57	15/08/2020	47
06/07/2020	57	16/08/2020	44
07/07/2020	55	17/08/2020	42
08/07/2020	59	18/08/2020	45
09/07/2020	60	19/08/2020	47
10/07/2020	63	20/08/2020	50
11/07/2020	60	21/08/2020	56
12/07/2020	57	22/08/2020	57
13/07/2020	55	23/08/2020	49
14/07/2020	54	24/08/2020	52
15/07/2020	62	25/08/2020	44
16/07/2020	61	26/08/2020	40
17/07/2020	59	27/08/2020	46
18/07/2020	56	28/08/2020	48
19/07/2020	58	29/08/2020	40
20/07/2020	60	30/08/2020	59
21/07/2020	59	31/08/2020	55
22/07/2020	62	01/09/2020	54
23/07/2020	61	02/09/2020	53
24/07/2020	58	03/09/2020	51
25/07/2020	60	04/09/2020	59
26/07/2020	51	05/09/2020	52
27/07/2020	54	06/09/2020	56
28/07/2020	59	07/09/2020	57
29/07/2020	66	08/09/2020	64
30/07/2020	62	09/09/2020	73
31/07/2020	58	10/09/2020	70
01/08/2020	55	11/09/2020	71
02/07/2020	47	12/09/2020	65
03/07/2020	57	13/09/2020	59
04/08/2020	54	14/09/2020	56
05/08/2020	50	15/09/2020	57
06/08/2020	53	16/09/2020	59
07/08/2020	54	17/09/2020	57
08/08/2020	51	18/09/2020	58
09/08/2020	44	19/09/2020	60
10/08/2020	50	20/09/2020	57

Les figures 7.13 et 7.14 représentent les résultats des PH durant la période du traitement.

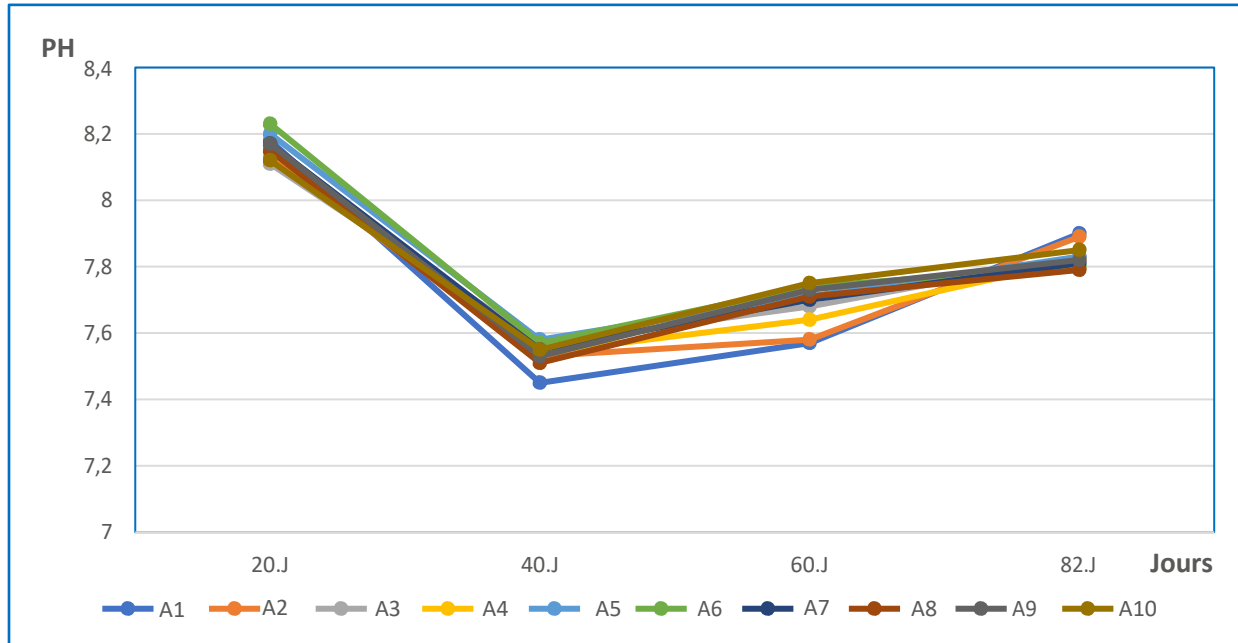


Figure 7.13 : résultats du suivi du pH dans les bacs A étudiés

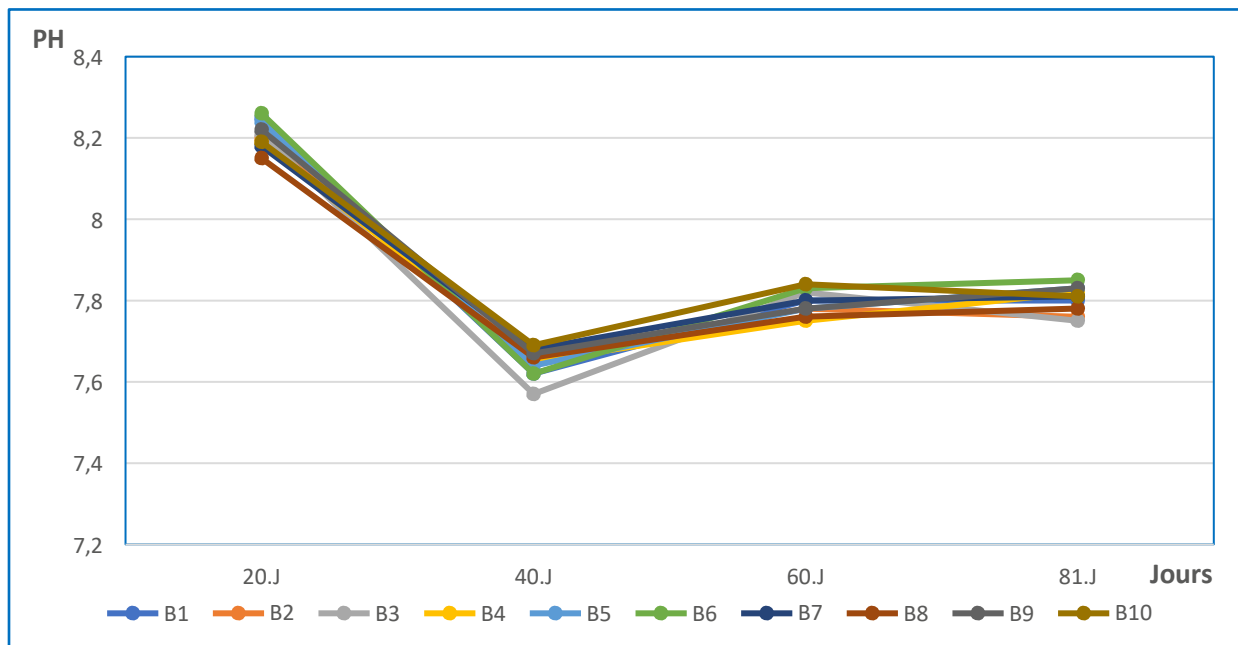


Figure 7.14 : résultats du suivi du pH dans les bacs B étudiés

A1/B1 (11%/20%) : témoin ; **A2/B2** (11%/20%) : fumier de vache ; **A3/B3** (11%/20%) : fumier de volaille ; **A4/B4** (11%/20%) : terreau ; **A5/B5** (11%/70%) : grignon d'olive activé ; **A6/B6** (11%/70%) : grignon d'olive activé + sciure de bois ; **A7/B7** (11%/20%) : Grignon d'olive activé + fumier de vache + fumier de volaille ; **A8/B8** (11%/20%) : Fumier de volaille + terreau ; **A9/B9** (11%/20%) : Grignon d'olive activé + fumier de vache + fumier de volaille + terreau ; **A10/ B10** (11%/20%) : Grignon d'olive non activé.

Les résultats du suivi de la température dans les bacs sont regroupés dans la figure 7.15 et 7.16.

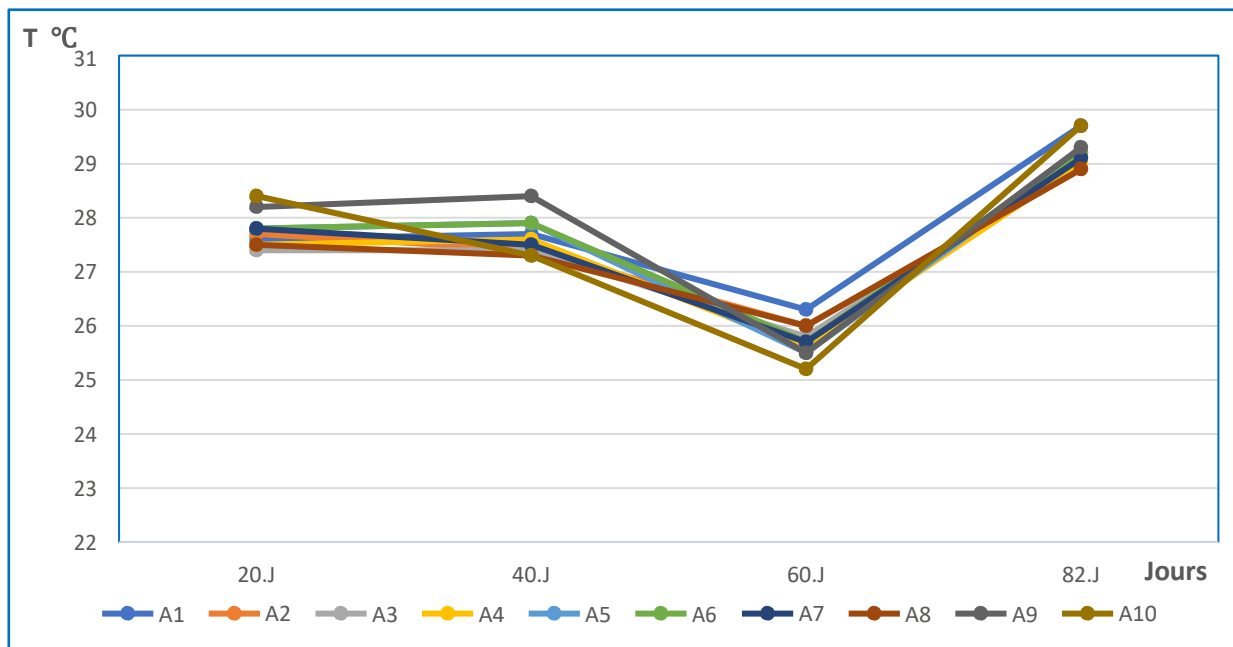


Figure 7.15 : résultats du suivi de la température dans les bacs A étudiés

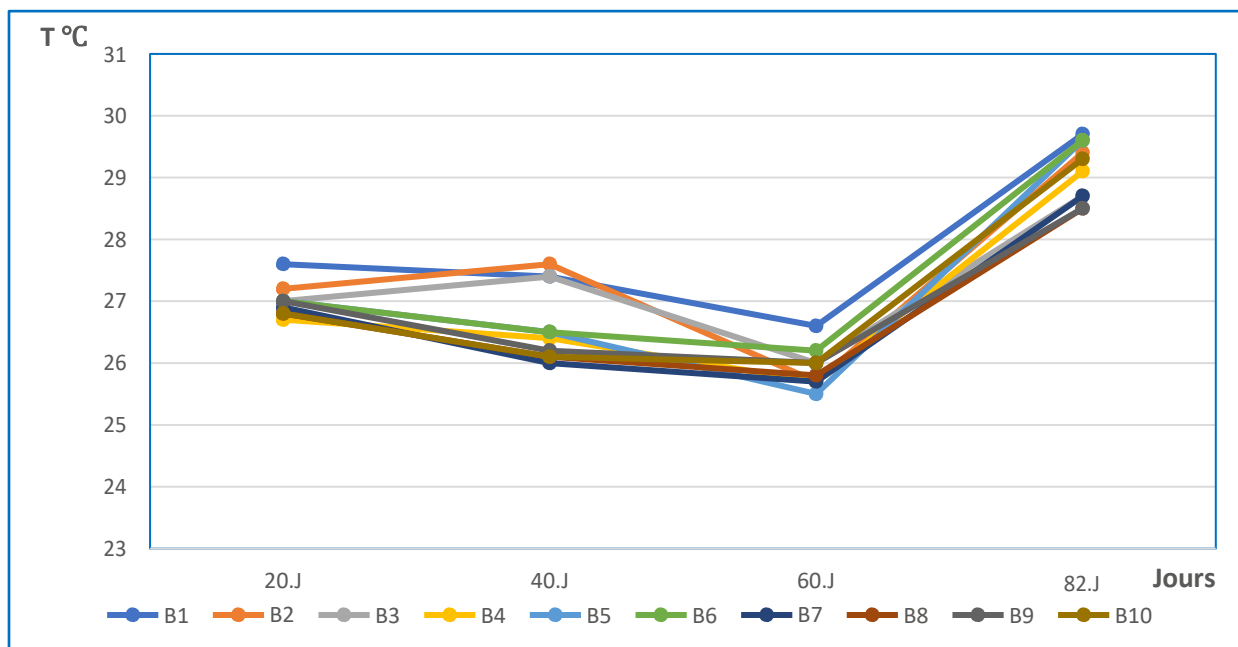


Figure 7.16 : résultats du suivi de la température dans les bacs B étudiés

A1/B1 (11%/20%) : témoin ; **A2/B2** (11%/20%) : fumier de vache ; **A3/B3** (11%/20%) : fumier de volaille ; **A4/B4** (11%/20%) : terreau ; **A5/B5** (11%/70%) : grignon d'olive activé ; **A6/B6** (11%/70%) : grignon d'olive activé + sciure de bois ; **A7/B7** (11%/20%) : Grignon d'olive activé + fumier de vache + fumier de volaille ; **A8/B8** (11%/20%) : Fumier de volaille + terreau ; **A9/B9** (11%/20%) : Grignon d'olive activé + fumier de vache + fumier de volaille + terreau ; **A10/ B10** (11%/20%) : Grignon d'olive non activé.

Les résultats du suivi du nitrate sont regroupés dans la figure 7.17 et 7.18.

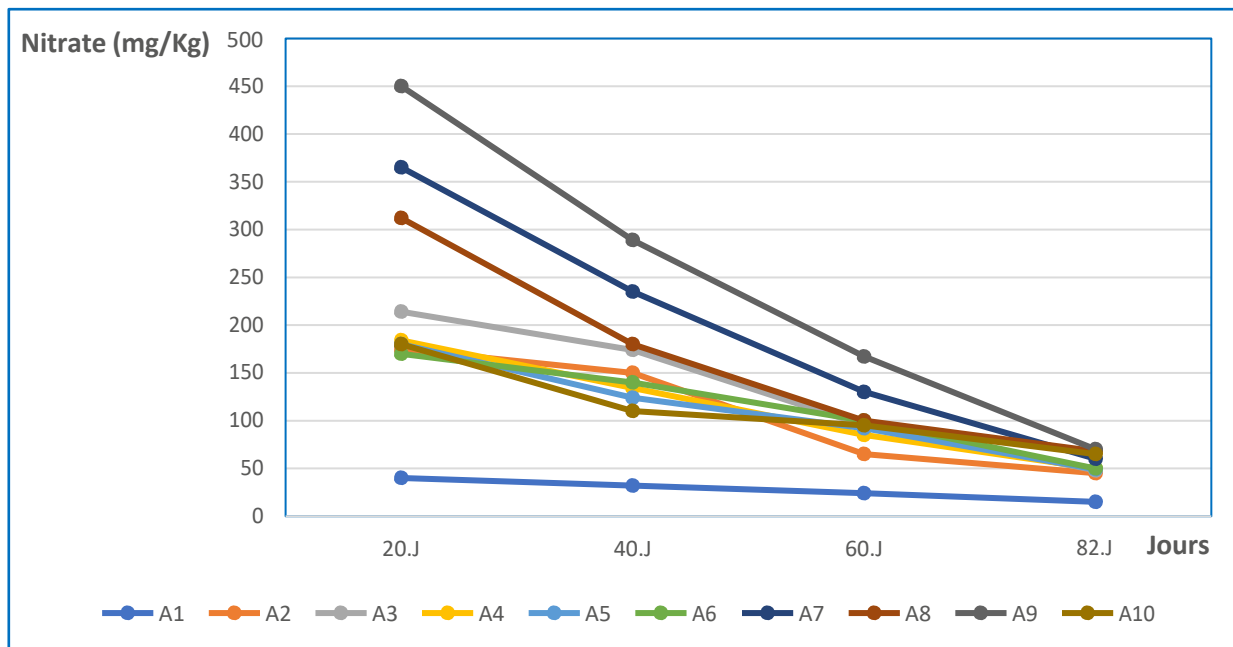


Figure 7.17 : Résultats du suivi du nitrate dans les bacs A durant le biotraitement

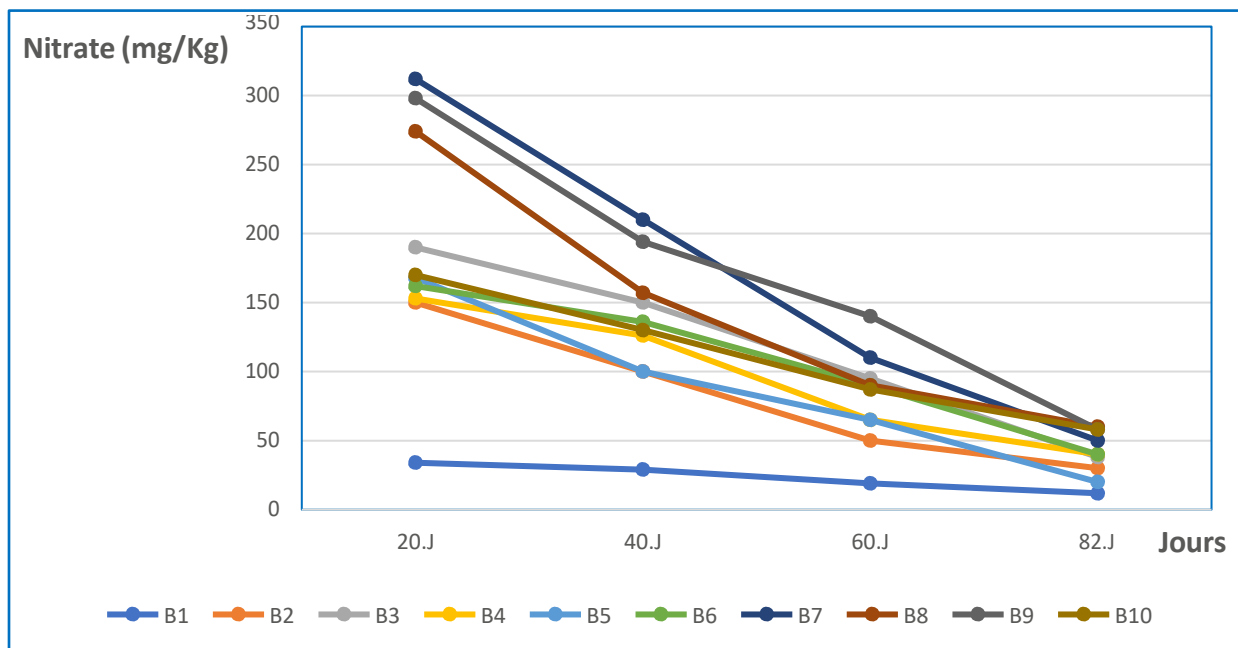


Figure 7.18 : Résultats du suivi du nitrate dans les bacs B durant le biotraitement

A1/B1 (11%/20%) : témoin ; **A2/B2** (11%/20%) : fumier de vache ; **A3/B3** (11%/20%) : fumier de volaille ; **A4/B4** (11%/20%) : terreau ; **A5/B5** (11%/70%) : grignon d'olive activé ; **A6/B6** (11%/70%) : grignon d'olive activé + sciure de bois ; **A7/B7** (11%/20%) : Grignon d'olive activé + fumier de vache + fumier de volaille ; **A8/B8** (11%/20%) : Fumier de volaille + terreau ; **A9/B9** (11%/20%) : Grignon d'olive activé + fumier de vache + fumier de volaille + terreau ; **A10/ B10** (11%/20%) : Grignon d'olive non activé.

Le dénombrement effectué chaque 20 jours tout au long du biotraitement, nous a permis d’obtenir les résultats mentionnés dans la figure 7.19 et 7.20.

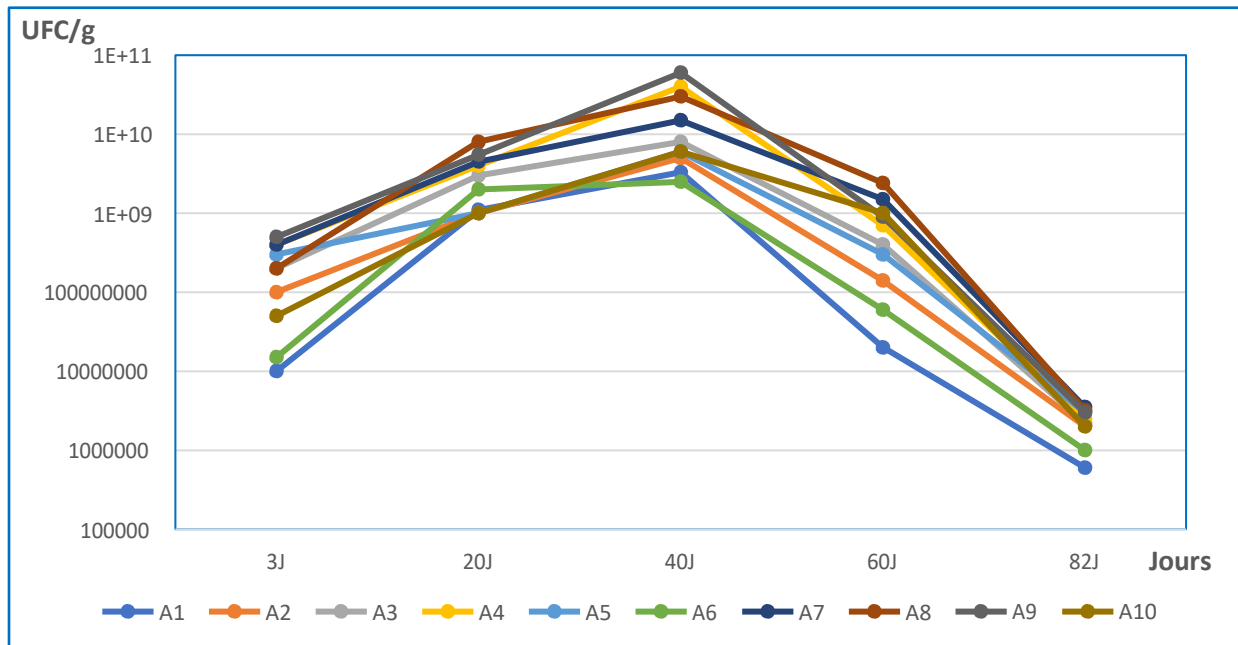


Figure 7.19 : Suivi du dénombrement dans les bacs A étudiés pendant 82 jours

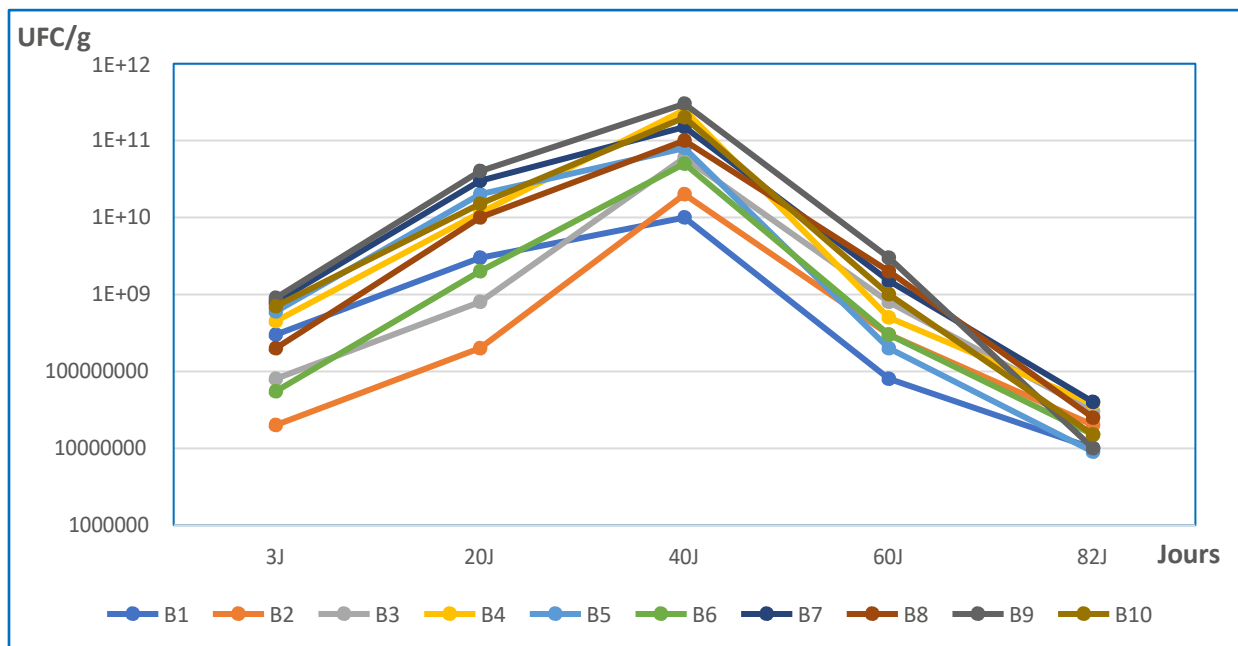


Figure 7.20 : Suivi du dénombrement dans les bacs B étudiés pendant 82 jours

A1/B1 (11%/20%) : témoin ; **A2/B2** (11%/20%) : fumier de vache ; **A3/B3** (11%/20%) : fumier de volaille ; **A4/B4** (11%/20%) : terreau ; **A5/B5** (11%/70%) : grignon d’olive activé ; **A6/B6** (11%/70%) : grignon d’olive activé + sciure de bois ; **A7/B7** (11%/20%) : Grignon d’olive activé + fumier de vache + fumier de volaille ; **A8/B8** (11%/20%) : Fumier de volaille + terreau ; **A9/B9** (11%/20%) : Grignon d’olive activé + fumier de vache + fumier de volaille + terreau ; **A10/ B10** (11%/20%) : Grignon d’olive non activé.



Figure 7.21 : humidificateur utilisé dans le suivi d'humidité de l'endroit de traitement



Figure 7.22 : Suivit de la température des bacs

Le suivi de la concentration microbienne durant les 82 jours (fig.7.19 et 7.20), montre une certaine diminution de la concentration dans le bac témoin, qui était au début du traitement 1×10^7 UFC/g de sol pour le bac A, arrivant à 6×10^5 UFC/g de sol à la fin du traitement. Pour le bac B, la concentration au début du traitement était 3×10^8 UFC/g de sol, arrivant à 1×10^7 UFC/g de sol à la fin du traitement, signalant que la concentration avant le traitement était de 150×10^9 UFC/g de sol.

Cette perturbation peut être due aux différents constituants du gasoil, qui probablement ont amplifié la concentration de la biomasse par la dégradation de chaîne linéaire d'hydrocarbures (les saturés et les aromatiques), comme ces sources carboniques assimilables ont diminué, des populations microbiennes ont dû utiliser des hydrocarbures plus récalcitrants (les résines).

Il est aussi possible que la dégradation d'hydrocarbures de poids moléculaires plus hauts puisse produire les intermédiaires toxiques qui peuvent réduire la masse microbienne dégradant le gasoil (Bento *et al.*, 2005).

D'après Khodja (2008), en plus de la biodégradation aérobie, et la biodégradation anaérobie (très lente), les hydrocarbures peuvent subir une série de modification par photo-oxydation, évaporation (< C15), solubilisation, émulsion et décantation, intervenant dans la décontamination naturelle du borbier.

La différence de biomasse bactérienne des deux différents bacs témoins A1 et B1, correspond à la différence d'humidité.

Quand au suivi des autres bacs les courbes représentées dans la figure 7.19 et 7.20, ont l'allure d'une courbe de croissance classique des bactéries.

D'après ces deux figures, nous remarquons l'absence totale de la phase de latence, ce résultat est dû aux faites que les bactéries utilisées dans la bioremédiation sont des bactéries du sol lui-même.

D'après les courbes de croissance, nous pouvons observer, d'une part, que la concentration microbienne du biotraitement augmente dès le 3ème jour jusqu'à atteindre des valeurs maximales (40 jours) ; et que cette augmentation correspond à la phase exponentielle, durant laquelle la dissolution du substrat (hydrocarbure) et les nutriments ajoutés suffisaient aux besoins métaboliques.

D'autre part lorsque la concentration microbienne augmente durant les 40 jours, le niveau des exigences nutritionnelles s'accroît. Ceci est observé par un abaissement des nutriments tout au long du suivi (fig.7.17 et 7.18).

Les différents constituants du gasoil sont intrinsèquement biodégradables, mais à des degrés et à des vitesses variables. Les alcanes normaux ainsi que les dérivés n-alkyl aromatiques et les molécules aromatiques simples en C₁₀-C₂₂, sont les plus facilement dégradables. Les n-alcanes à longues chaînes sont lentement dégradés en raison de leur hydrophobicité et du fait qu'ils sont visqueux ou solides à la température ambiante (30°C). Les alcanes ramifiés et les cycloalcanes et les HAP sont résistants à la décomposition biologique (United Nations Environnement Programme, 1996).

La microflore de tous les bacs atteint la phase exponentielle après 40 jours, la phase stationnaire est absente, la phase de déclin commence après les 40 jours à raison de manque de nutriment, ce qui est représenté dans la (fig.7.17 et 7.18) par un grand abaissement durant la période (40-82 jours).

La concentration microbienne dans les bacs B est plus grande que les bacs A, ceci est observé dans la (fig.7.19 et 7.20), et un abaissement plus rapide des nutriments dans les bacs B contrairement aux bacs A qui subissent à un abaissement moins rapide, ceci est due au manque d'humidité dans les bacs A (fig.7.11).

A la fin du traitement, nous observons que les bacs A ont plus du nutriment que les bacs B (fig.7.17 et 7.18), c'est dû au manque d'humidité dans les bacs A qui n'a pas permis aux bactéries de se multiplier et de consommer les nutriments, donc les bactéries vont manger d'autres bactéries pour survivre, c'est le phénomène d'autolyse.

Le changement de la biomasse bactérienne dans les deux bacs A5, A6 et B5.B6 est due à l'effet de la sciure de bois qui est un absorbant, donc une partie était retenue par les bactéries pour la prolifération bactérienne et d'autre partie était absorbée par la sciure de bois.

Exclusivement, les deux bacs A5 et A10 présentent un changement dans la concentration microbienne, ce qui est peut-être expliqué par l'activation chimique avec la soude qui a tué certaines bactéries, ce qui observé ainsi dans les bacs B5 et B10.

Les deux bacs A9 et B9 représentent la phase exponentielle la plus lente comparativement aux autres bacs, ainsi la concentration microbienne maximale est attribuée aux deux bacs A9 avec 6×10^{10} UFC/g de sol, et B9 avec une concentration de 3×10^{11} UFC/g de sol.

Les bactéries aérobies du sol convertissent la matière organique en dioxyde de carbone, en eau et en cellules microbiennes.

Cependant, les bactéries anaérobies du sol convertissent la matière organique en gaz, tels que le dioxyde de carbone, l'ammoniac, des composés à base de soufre, des composés organiques volatils (COV) et le méthane comptent parmi les sous-produits de ce processus.

La température des bacs est mesurée à l'aide d'un thermomètre professionnelle qui est utilisé dans l'échelle industrielle pour déterminer la température du solide et du liquide, il résiste à une température plus de 300°C.

Au début de traitement et avec la disponibilité des nutriments, la température des bacs B était dans l'intervalle [26,7-27,6 °C] (fig.7.16), et [27,4-28,4°C] pour les bacs A (fig.7.15), durant les derniers 22 jours du biotraitement la température a augmenté [28.5-29.7 °C] pour les bacs B, et [28.9-29.7 °C] pour les bacs A, malgré que les nutriments ont diminué, cette augmentation est due au faite que l'humidité a augmenté dans ces derniers 22 jours, elle a atteint un maximum de 18% pour les bacs A, et 26% pour les bacs B, ce qui est provoqué par l'augmentation d'humidité dans l'air (l'endroit du traitement) (tableau 7.10).

Les facteurs qui influencent sur la température des bacs (du sol) sont l'intensité métabolique des microorganismes, les nutriments et l'humidité.

D'après les figures 7.19 et 7.20, nous remarquons que les courbes de l'ensemble des bacs ont la même allure avec une phase exponentielle lente, la phase de latence et la phase stationnaire sont absentes, après 40 jours de croissance, la phase de déclin commence et elle correspond à la mort cellulaire.

Les bacs 4A et 4B (contiennent de terreau) représentent la meilleure croissance microbienne après les deux bacs 9A et 9B, avec 4×10^{10} UFC/g de sol pour 4A et 2×10^{11} UFC/g de sol pour le 4B, donc le tirot représente l'un des meilleurs amendements qui peut être utilisé dans la bioremédiation.

L'humidité joue un rôle principal dans la bioremédiation ceci est remarqué dans les courbes de croissance (fig.7.19 et 7.20), ainsi la disponibilité des nutriments et l'apport d'oxygène.

Les résultats des TPH après 82 jours du biotraitement dans les 20 bacs sont représentés dans les figures 7.23, 7.24, 7.25 et 7.26.

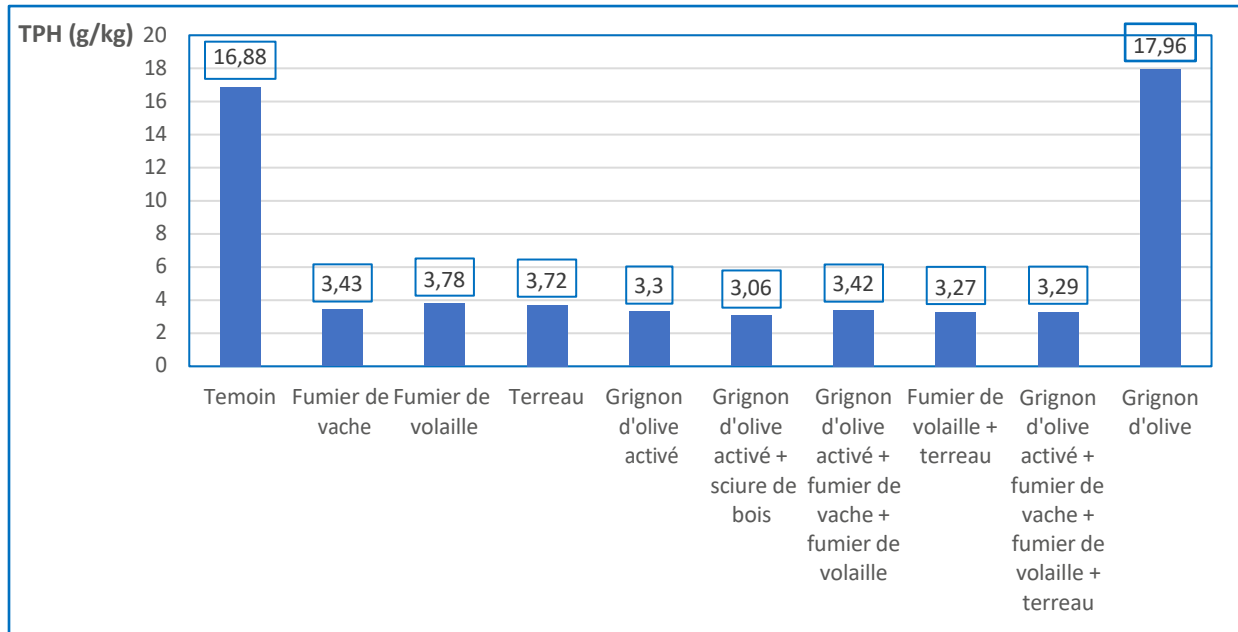


Figure 7.23 : Évolution de la teneur en TPH dans les bacs A pendant 82 jours

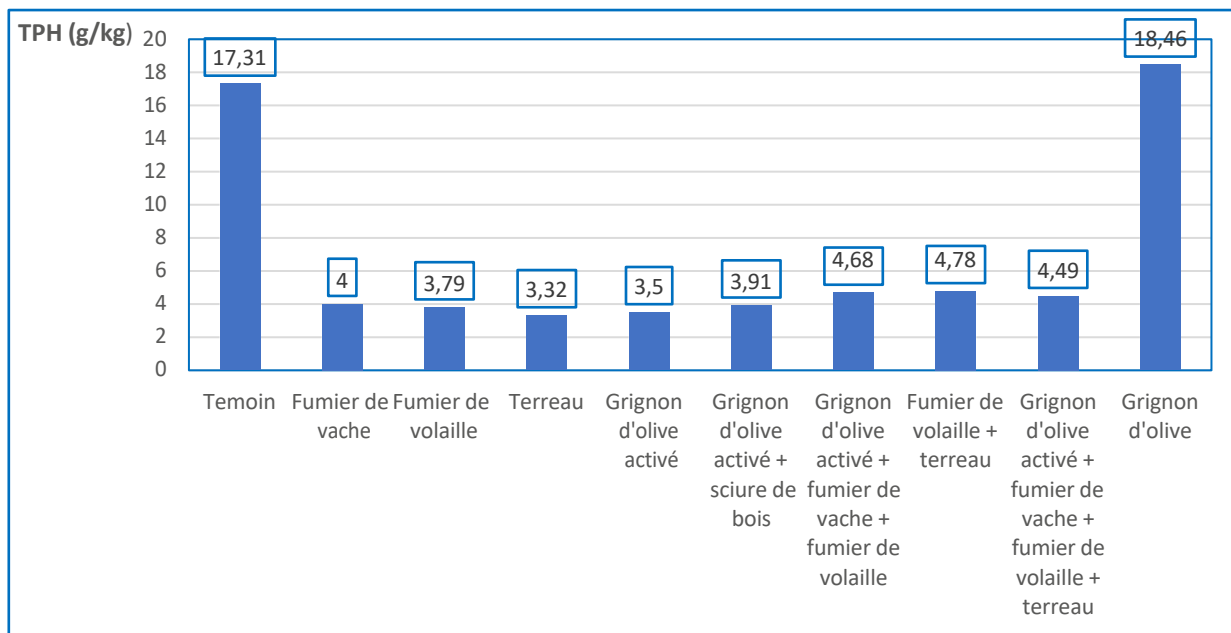
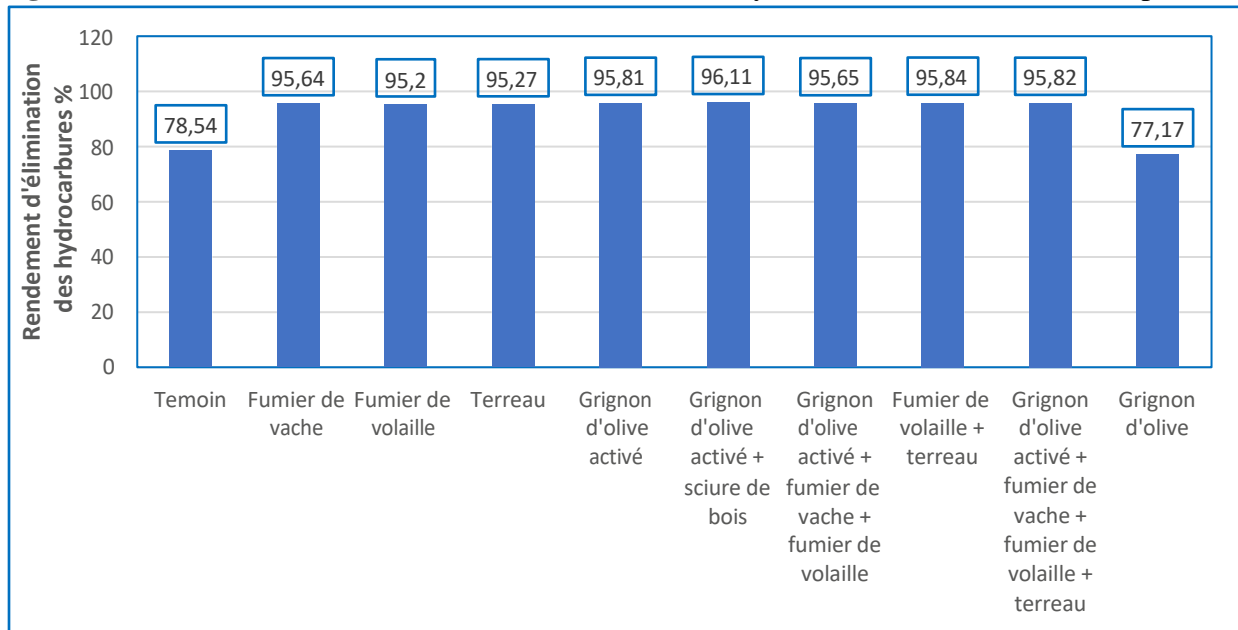


Figure 7.24 : Évolution de la teneur en TPH dans les bacs B pendant 82 jours

Figure 7.25 : Évolution du rendement d'élimination des hydrocarbures dans les bacs A pendant



les 82 jours

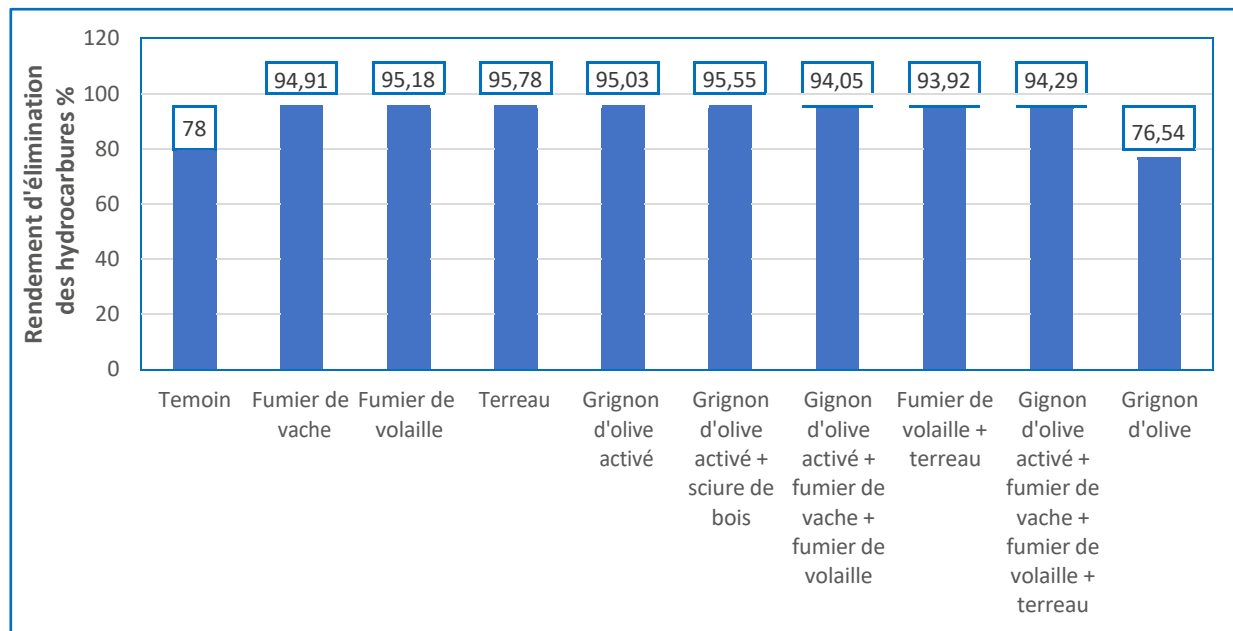


Figure 7.26 : Évolution du rendement d'élimination des hydrocarbures dans les bacs B pendant les 82 jours

La teneur en TPH avant d'entamer le traitement était de 78,7 g/kg de sol, Cette valeur diminue progressivement durant la période d'essai dans les bacs.

Par comparaison des rendements d'élimination des hydrocarbures dans les bacs, on remarque que les bacs utilisés dans un but d'accélérer la bioremédiation ont donné des résultats nettement supérieurs à celle de l'atténuation naturelle dans le bac témoin. Ce qui confirme l'utilité de l'utilisation de la méthode biologique pour le traitement du borbier.

La bioremédiation connue par son inconvénient (lenteur d'action) où le traitement par le landfarming peut donner des résultats fiables après plusieurs mois (Colombano *et al.*, 2010). C'est la raison pour laquelle nous avons choisi de poursuivre notre traitement pour 82 jours.

Khodja, 2008, a prouvé d'après plusieurs résultats obtenus dans les conditions du chantier de HMD, que le traitement par la bioremédiation est efficace, mais il est souvent critiqué par sa lenteur (80 % de dégradation des hydrocarbures après 5 mois).

Cependant, ces valeurs restent relativement proches vues la durée de traitement si longue.

Par ailleurs, on constate que le rendement d'élimination des hydrocarbures le plus important est observé dans le bac A6 (96,11%) contenant du grignon d'olive activé additionné de la sciure de bois (Fig. 7.25). Pour les bacs B, l'addition du terreau a donné le rendement d'élimination le plus élevé (95,78%) en 82 jours (Fig. 7.26).

Les bacs A10 et B10 ont donné un rendement d'élimination proche et plus élevé à celle de bac témoin (77,17% pour A10 et 78,54% pour le témoin ; 76,54% pour B10 et 78% pour le témoin), cela prouve et confirme que le grignon d'olive non activé est un inhibiteur, il n'a pas stimulé la bioremédiation.

Les bacs 5 et 6 pour A et B, contenant respectivement le grignon d'olive activé et le grignon d'olive activé additionné de sciure de bois, ont donné un rendement de (95,81% et 96,11% pour les bacs A), et (95,03% et 95,55% pour les bacs B). Cela est expliqué par le phénomène observé ci-dessous.

Comme la sciure de bois a un rapport élevé (matière riche en carbone à décomposition assez lente), le grignon d'olive a un rapport faible (matière riche en azote facilement décomposée). Il sera préférable donc de mélanger judicieusement les deux types de matériaux pour avoir un bon rapport Carbone/Azote.

L'addition du mélange fumier de volaille additionné au terreau a fait augmenter le rendement d'élimination des hydrocarbures (95,84%). Ceci est due à la richesse du fumier de volaille et de terreau en minéraux, en carbone et oligoéléments démontrée par les études physicochimiques de ces derniers.

Le mélange constitue un véritable amendement organique pour le borbier, comblant ainsi le déficit nutritionnel des microorganismes autochtones du borbier.

Le compostage des sous-produits de l'oléiculture, grignons d'olive, de fumier de volaille et de fumier de vache a fait l'objet de plusieurs travaux de recherche (Gueury, 2011).

Selon la fig.7.25, on remarque aussi un rendement important dans le 7^{ème} bac (95.65%) lié à la présence de matières grasses du grignon qui peuvent constituer un apport d'énergie important aux microorganismes.

L'augmentation de la densité microbienne par l'addition du fumier de vache et de volaille, de terreau et des grignons d'olive dans les bacs ont accéléré l'élimination de la pollution.

L'équipe d'Emilio Benitez Leon (Estacion Experimental del Zaidin – CSIC – Granada), a découvert que le traitement par lombricompostage de grignon d'olive permettait la décontamination rapide des sols pollués par les hydrocarbures.

Gastel *et al.*, (2005), ont obtenu une élimination des hydrocarbures à 86% après un traitement par compostage du fumier.

Par ailleurs, Namkoong *et al.*, (2002) et Gestel *et al.*, (2003), ont montré que les pourcentages d'élimination des hydrocarbures en utilisant le fumier dépendent des proportions sol/fumier. Namkoong *et al.*, (2002) ont obtenu les proportions 1 : 0,5 et 1 : 1.

Bento *et al.*, (2005), ont obtenu un rendement d'élimination du polluant de 84% après 12 semaines.

Quant aux bacs 2 et 3, contenant respectivement le fumier vache, et le fumier de volaille, avec un rendement de 95,64% et 95,20% pour les bacs A, et 94,91% et 95,18% pour les bacs B. Ce rendement qui est proche est expliqué par la richesse des deux fumiers en nutriments.

D'un côté les bacs 8A et 9A contenant respectivement de Fumier de volaille + terreau, et Grignon d'olive activé + fumier de vache + fumier de volaille + terreau, avec un rendement de 95,84% et 95,82%, plus élevé à celle de bac 2A, 3A, 4A contenant respectivement 95,64%, 95,20% et 95,27%.

Le rendement d'élimination des hydrocarbures des bacs A et B sont très proches, ce rendement varie de 77,17% à 96,11% pour les bacs A, et 76,54% à 95,78% pour les bacs B, cela prouve que l'utilisation de 11% d'humidité qui représente l'humidité minimale à Ouargla a pu satisfaire le besoin métabolique des microorganismes en humidité, il faut signaler que le sol est sableux avec une humidité de 9% au départ, donc il n'a pas besoin beaucoup d'eau, les bactéries ont été adaptées avec l'humidité minimale cela peut être la cause pour laquelle on a trouvé des rendements d'éliminations proches. On a pu remarquer la différence de rendement d'élimination entre tous les bacs A et B, avec les différents taux d'humidité, si on a arrêté le biotraitement après 7 semaines (la période pour laquelle on a observé la diminution des microorganismes).

Pour prouver la relation d'humidité avec le rendement d'élimination des hydrocarbures, il faut peut-être utiliser un sol argileux avec des teneurs d'humidité largement supérieures et qui ne sont pas proches, ou bien un sol sableux mais surtout travailler dans un système fermé et contrôlé dont laquelle l'humidité ne varie pas.

Il est bien clair que l'addition de la sciure de bois au grignon d'olive activée avec 11% d'humidité a donné le meilleur résultat (96.11%) lors de l'essai pilote à l'échelle du laboratoire.

CONCLUSION



GENERALE

L'objectif fixé par notre travail est de stimuler la biodégradation d'un borbier pollué par les boues de forage dans la région de Hassi Messaoud et la valorisation des déchets organiques oléicoles et avicoles.

Dans une première partie, nous avons procédé à des caractérisations physicochimiques du borbier pour confirmer sa pollution par le dosage des TPH avec les indicateurs de pollution organique. Les déchets utilisés ont également été caractérisés pour certifier leurs amendements.

Les dosages des TPH ont montré une valeur initiale de 78.7 g/kg de sol et l'analyse avec CPG a prouvé que le gasoil était le polluant majoritaire du borbier. L'analyse de la DBO₅ et la DCO a montré que le sol est biodégradable. L'analyse minéralogique effectuée a révélé que le borbier constitue un environnement favorable à la croissance microbienne par la présence d'une hétérogénéité minéralogique et une importante source de carbone.

Dans la deuxième partie de notre travail, le traitement biologique pendant 82 jours a permis la comparaison de plusieurs biotraitements relativement à la biostimulation par le fumier de vache, le fumier de volaille, les grignons d'olive, la sciure de bois et le terreau.

La stimulation de la biodégradation en additionnant le mélange (grignons d'olive et sciure de bois) a donné le meilleur résultat avec un rendement d'élimination des TPH de l'ordre de 96,11%, les autres amendements ont donné un rendement situé entre 87,17% et 95,84%. Ces pourcentages sont très élevés par rapport aux résultats obtenus par les autres chercheurs.

Le choix de travailler avec un rapport C : N constant 30 :1 a donné des résultats satisfaisants.

Les trois taux d'humidité 11%, 20%, 70% ont donné des rendements d'élimination très proche, pour prouver la relation d'humidité avec la dégradation des hydrocarbures il sera nécessaire d'effectuer de nouvelles expériences en travaillant dans un système fermé.

De ce fait, la présente étude nous a permis de percevoir que la méthode de traitement biologique s'avère une solution prometteuse, pour lutter contre le problème de pollution causé par les fluides de forage.

Cette technique de dépollution présente un double avantage écologique : celui d'éliminer la contamination des sols en hydrocarbures, et celui de valoriser des résidus industriels générés en quantités prodigieuses dans notre pays.

Enfin, ce travail nous aura permis d'apporter une solution concrète pour un type de pollution environnementale importante consistant en l'élimination accélérée des hydrocarbures d'un sol pollué.

A la lumière des résultats obtenus, il est souhaitable de compléter cette étude par des approches plus approfondies, à savoir :

Effectuer l'isolement des souches du borbier et la purification, puis procéder à la détermination de l'indice E24.

Sélectionner des souches qui ont la capacité à dégrader les hydrocarbures à partir des grignons d'olive, de fumier de vache, de fumier de volaille et de terreau.

Etudier le pouvoir des isolats bactériens identifiés à produire des biosurfactants dans le but de déterminer de nouveau polymère afin de les utiliser dans la remédiation des sols pollués par les hydrocarbures.

Nous recommandons en dernier lieu, de compléter cette étude par une identification des levures et des moisissures présentes dans les deux fumiers, dans le terreau et les grignons d'olive, en déterminant leurs capacités à dégrader les hydrocarbures.

BIBLIOGRAPHIE



A

1. Abbassene T, 2001. Contribution à la biorestauration des sols contaminés par les hydrocarbures dans une biopile. Mémoire de Fin d'Etude, spécialité : Génie de l'Environnement. Ecole Nationale Polytechnique. 60 p.
2. Abdulsalam, S. and Omale, A.B. (2009). Comparison of Biostimulation and Bioaugmentation Techniques for the Remediation of Used Motor Oil Contaminated Soil. *Brazilian Archives of biology and technology*. Vol.52, n. 3: pp. 747-754.
3. Abid D., 1995. Synthèse sur les fluides de forage. Sonatrach/CRD, Boumerdès, Algérie, rapport 419/94.
4. Abioye, O.P., Agamuthu, P., Abdul-Aziz, R.A. (2012). Biodegradation of used motor oil using organic waste amendment. *Biotechnology Research International*.
5. ADEME., 2006. Traitement biologique des des sols pollués : recherche et innovation. Etude réalisée pour le compte de l'ADEME par l'ADIT – Société Nationale d'Intelligence Stratégique. France, 93 p.
6. Agarry, S.E., Ogunleye, O.O. 2012. Box-Behnken design application to study enhanced bioremediation of soil artificially contaminated with spent engine oil using biostimulation strategy. *Int J Energy Environ Eng*, Vol 3, 31p. doi : <https://doi.org/10.1186/2251-6832-3-31>
7. Akmouci-Toumi S., 2009. Contribution à l'étude des boues de forage. Isolement et évaluation de la capacité de quelques souches microbiennes à dégrader le gasoil. Mémoire de magister Biologie, Option Biochimie et Microbiologie appliquée, np.159.
8. Al-Bahry, A. Elshafie, Y. Al-Wahaibi. 2013. Microbial consortia in Oman oil fields: a possible use in enhanced oil recovery, *Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 23, no. 1, pp. 106-117
9. Alexander M.1977. *Introduction to Soil Microbiology*. Published by John Wiley and Sons, New York. 467 p.
10. Ali Ahmed Samira, 2011. Essai de réhabilitation d'un sol contaminé par les hydrocarbures à l'aide de tension actifs obtenus par voie Biologique. Thèse de magistère. Ecole Nationale Supérieure Agronomique. 135 p.
11. Al-Sulaimani, S., Joshi, Y. Al-Wahaibi, S. N. Al-Bahry, A. Elshafie, and A. Al-Bemani, 2011. Microbial biotechnology for enhancing oil recovery: current developments and future prospects. *Biotechnology, Bioinformatics and Bioengineering Journal*, vol. 1, no. 2, pp. 147-158.
12. Al-Sulaimani, Y. Al-Wahaibi, S. N. Al-Bahry et al., 2010. Experimental investigation of biosurfactants produced by *Bacillus* species and their potential for MEOR in Omani oil field, In: *Proceedings of the SPE EOR Conference at Oil and Gas West Asia 2010 (OGWA '10)*, pp. 378-386.

13. Alvarez, V. M., Marques, J. M., Korenblum, E., & Seldin, L. 2011. Comparative bioremediation of crude oil-amended tropical soil microcosms by natural attenuation, bioaugmentation, or bioenrichment. *Applied and Environmental Soil Science*.
14. Al-Wahaibi, H. Al-Hadrami, S. Al-Bahry, A. Elshafie, A. Al-Bemani, et S. Joshi. 2013. Residual oil recovery via injection of biosurfactant and chemical surfactant following hot water injection in Middle East heavy oil field, In Proceeding of the SPE Heavy Oil Conference, Alberta, Canada. pp. 1794-1805
15. Amir S., Hafidi M., Merlina G., Hamdi H., Revel J.C. 2005. Fate of polycyclic aromatic hydrocarbons during composting of lagooning sewage sludge. *Chemosphere*, Elsevier, vol 58. 458 p.
16. Arafa M. A. 2003. Biodegradation of some aromatic hydrocarbons (BTEXs) by a bacterial consortium isolated from polluted site in Saudi Arabia. *Pak. J. Biol. Sci.* 6 (17), pp 1482 – 1486.
17. Arrar J., 2007. Etude d'un réacteur fluidisé à jet central ascendant gaz-solide. Application au traitement d'un sol pollué par du gasoil. Thèse de Doctorat d'état, spécialité : Génie de l'environnement, Ecole Nationale Polytechnique, np. 215.
18. Arrar J., Chekir N., Bentahar F., 2007. Treatment of diesel fuel contaminated soil in jet-fluidized bed. *Biochemical Engineering Journal* 37: pp 131-138.
19. Arodi B-M., 2005. Elimination des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques présents dans les Boues d'épuration par couplage ozonation-degestion anaérobie. Thèse de doctorat, université Montpellier II. 231 p.
20. Atagana, H. I. (2008). Compost bioremediation of hydrocarbon-contaminated soil inoculated with organic manure. *African Journal of Biotechnology*, 7(10), pp 1516-1525.
21. Atlas, R. M. (1984) *Petroleum Microbiology*. Ed Macmillan Publishing Company. London, 685 p.

B

22. Bachelier G. 1973. Activité biologique des sols et techniques simples qui permettent l'évaluation. *cah. ORSTOM, série Pédol.* 11 (1), pp 65 – 77.
23. Ballerini D., 1998. Traitements biologiques des sols. *Technique de l'ingénieur, traité Environnement*. G2 620, pp 1- 6.
24. Ballerini D. et J. P. Vandecasteele., 1999. La restauration par voie microbiologique des sols contaminés par les polluants organiques. In : *Biotechnologie*, coordinateur R. Scriban, 5ème édition, Edition Tech et Doc. pp. 835- 865.
25. Banat I., Makkar M., Cameotra S.S., 2000. Potential commercial applications of microbial surfactants. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 53 pp. 495–508.

26. Banat, I. M., Samarah, N., Murad, M., Horne, R., & Banerjee, S. (1991). Biosurfactant production and use in oil tank clean-up. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 7(1), pp 80-88.
27. Bartha R., Atlas R.M., 1977. The microbiology of aquatic oil spills. *Advances in Applied Microbiology*. Vol 22: pp 225-266.
28. Bégin R., Prus A. 1999. « Lignes directrices pour le traitement de sol par biodégradation, bioventilation, ou volatilisation (Direction des politiques du secteur industriel service des lieux contaminés) ». Québec, Ministère de l'Environnement.
29. Bento F.M., Camargo F.A.O., Okeke B.C., Frankenberger W.T., 2005. Diversity of biosurfactant producing microorganisms isolated from soils contaminated with diesel oil Brazil, *Bioresource Technology*. Science directe. 96 : 1049- 1055.
30. Bertrand A.R.V., Briant J., Castela A., Degobert P., Gatellier C., Masson M., Oudin J., Pottier J., 1971. Prévention et lutte contre la pollution au cours des opérations de forage et de production en mer, ed TECHNIP, France .823 p.
31. Berwick G., 1984. Physical and Chemical condition of microbial oil degradation; *Biotechnology, Bioenergy*, pp.1294-1305.
32. Bocard C., 2006. Marées noires et sols pollués par les hydrocarbures : enjeux environnementaux et traitement des pollutions. Ed Technip. 291 p.
33. Bodour A.A., Gerrero-Barajas C., Maier M., 2004. Structure and characterization of Flavolipids, a novel class of Biosurfactants produced by Flavolipid sp. Strain MTN11. *App. and Env. Microbiol.* 10(6): pp. 1114-20.
34. Bonneau M., Souchier B., 1994. Constituants et propriétés des sols. *Pédologie*. 2ème édition. Masson, paris. 665p.
35. Boonchan S., Britz F.L., Stanley G.A. 2000. Degradation and mineralization of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by defined fungal-bacterial cocultures. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol 66. 1007-1019 p.
36. Bordenave, M. S. Goñi-Urriza, P. Caumette, and R. Duran, (2007). "Effects of heavy fuel oil on the bacterial community structure of a pristine microbial mat," *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 73, no. 19, pp. 6089-6097.
37. BOUDERHEM, A. (2011). Utilisation des souches bactériennes telluriques autochtones dans la biodétection et la bioremédiation des sols pollués par les hydrocarbures. Mémoire magister en Microbiologie appliquée. Université Kasdi Merbah Ouargla Ouargla. 130 P.
38. Bousseboua H., 2002. Element de microbiologie générale. Edition de l'université Mentouri. Constantine.
39. Braddock JF, Lindstrom JE, Prince RC (2003). Weathering of a subarctic oil spill over 25 years: the Caribou-Poker Creeks Research Watershed experiment. *Cold Reg Sci Technol* 36(1-3), 11-23 p. Doi: 10.1016/S0165-232X(02)00076-9
40. Buckman H. O. et Brady N. C., 1965. Les sols nature et propriétés précis d'édaphologie. Intercontinental éditions, INC, New York. 498 p.

C

41. Calvet R., 2003. Le sol : propriétés et fonctions. Ed France agricole. 457p.
42. 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.
43. Cerniglia, C.E. 1997. Fungal metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons: past, present and future applications in bioremediation. *J. Ind. Microbiol. Biot.* 19, 324 p.
44. Chaîneau C.H, Moreland J.L et Oudot J ; 2000. Biodegradation of fuel oil hydrocarbons in the rhizosphere of maize. *Environmental Quality*, 29(2). 259-278 p.
45. Chandra, S., Sharma, R., Singh, K. *et al.* 2013. Application of bioremediation technology in the environment contaminated with petroleum hydrocarbon. *Ann Microbiol*, Vol 63, pp 417–431. doi : <https://doi.org/10.1007/s13213-012-0543-3>
46. Chang, K.L., Ibrahim, D. and Ibrahim, C.O. (2011). A laboratory scale bioremediation of Tapis crude oil contaminated soil by bioaugmentation of *Acinetobacter baumannii* T30C. *African Journal of Microbiology Research* Vol. 5(18), pp. 2609-2615.
47. Chikere, C.B. 2012. Culture-Independent Analysis of Bacterial Community Composition during Bioremediation of Crude Oil-Polluted Soil. *British Microbiology Research Journal* 2(3): pp 187- 211.
48. Colombano S. 2010. Quelles techniques pour quels traitements – Analyses coûts-bénéfices, Rapport final BRGM-RP-58609-FR. Bureau de recherches géologiques et minières, Orléans. 399 p.
49. Colombano S.A., Saada V., Guerin P., Bataillard G., Bellenfant S., Beranger D., Hube C., Blanc C., Zornig I., Girardeau., 2010. Quelles techniques pour quels traitements - Analyse coûts-bénéfices. Rapport final BRGM-RP-58609-FR. pp. 1-399.
50. Conseil des productions végétales du Québec., 1992. Gestion de la matière organique à la ferme. Comité agriculture biologique. Canada, 36p.
51. Cooney J.J., Siporin C., Smucker R.A., 1980. Physiological and cytological responses to hydrocarbons by the hydrocarbon- using fungus *Cladosporium resinae*. *Bot.* pp. 227- 232.
52. Cooper D.J., Zajic J.E., Gerson D.F., 1979. Production of surface-active lipids by *Corynebacterium lepus* *Appl. Environment, Microbiol.* 37(1), pp. 4-10.
53. Coppock RW, Monstrom MS. 1995. Toxicology of oil-field pollutants in cattle: a review. *Vet Hum Toxicol* Vol 37: pp 569–576.
54. Coulon F. et Delille D., 2003. Effects of biostimulation on growth of indigenous bacteria in sub-antracitic soil contaminated with oil hydrocarbons, *Oil Gas Science and Technology-Rev. French Institute of Petroleum.* 469-479 p.
55. Crawford R.L., Rosenberg E. (2013) Bioremediation. In: Rosenberg E., DeLong E.F., Lory S., Stackebrandt E., Thompson F. (eds) *The Prokaryotes*. Springer, Berlin, Heidelberg. pp 295-307. doi : https://doi.org/10.1007/978-3-642-31331-8_30

D

56. Dadrasnia, A. and Agamuthu, P. (2013). Potential biowastes to remediate diesel contaminated soils. *Global NEST Journal*, Vol 15, No 4, pp 474-484.
57. Dagley S., 1971. Catabolism of aromatic compounds by microorganisms. *Advences in Microbiology Physiology*. Vol 6. pp 1-46.
58. Dahli M., Toubal R. 2010. Matériau isolant thermique à base de déchets ménagers et oléicoles. *Revue des Energies Renouvelables*, Vol 13, N°2, Algérie, pp 339-346.
59. Darley F.C.H. Gray G.R., 1988. Composition and properties of drilling and Completion fluids. 5th Ed, Gulf professional publishing, Houston, 630 p.
60. Davet P., 1996. Vie microbienne du sol et production végétale. Ed Elsevier, Amesterdam, 383p.
61. Davies J.S & Westlake D.W.S., 1979. Crude oil utilization by fungi. *Canadian Journal of Microbiology* 25. pp 146-156.
62. Delarras C., 2006. Microbiologie pratique du laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Édition TEC & DOC., pp. 83-462.
63. Díaz-Ramírez, I., Escalante-Espinosa, E., Schroeder, R.A., Fócil-Monterrubio, R and Hugo Ramírez-Saad (2013). Hydrocarbon Biodegradation Potential of Native and Exogenous Microbial Inocula in Mexican Tropical Soils. *Biodegradation of Hazardous and special products*. Pp 155-178. doi: <http://dx.doi.org/10.5772/56233>.
64. Dias, R.L., Ruberto, L., Calabro, A. *et al.* 2015. Hydrocarbon removal and bacterial community structure in on-site biostimulated biopile systems designed for bioremediation of diesel-contaminated Antarctic soil. *Polar Biol*, Vol 38, pp 677–687. doi :<https://doi.org/10.1007/s00300-014-1630-7>
65. Duchaufour P., 1998. Pédologie, Sol, Végétation, Environnement abrégé. Masson, 5eme édition
66. Duchesne. 2013. Recommandation pour la réhabilitation des sols contaminés d'un ancien site de traitement du bois. Maître en environnement, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada. 71 p.

E

67. Ehlers and Lobner, 2006. Linking organic pollutant (bio)availability with geosorbent

- properties and biomimetic methodology: A review of geosorbent characterization and (bio)availability prediction. *Environmental Pollution*. 141 p
68. Environmental Security Technology Certification Program (ESTCP), (2007). In situ substrate addition to create reactive zones for treatment of chlorinated Aliphatic hydrocarbons. ESTCP Cost and Performance report. 93 p.
69. Eriksson M., Ka J.O., Mohn W.W., 2001. Effects of Low Temperature and Freez-Thaw Cycles on Hydrocarbon Biodegradation in Arctic Tundra Soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 67 (11) : pp. 5107 – 5112.
70. ESSABRI, Abduelbaset MA, AYDINLIK, Nur Pasaogululari, et WILLIAMS, Ndifreke Etuk. 2019. Bioaugmentation and biostimulation of total petroleum hydrocarbon degradation in a petroleum-contaminated soil with fungi isolated from olive oil effluent. *Water, Air, & Soil Pollution*, vol. 230, no 3, p. 76.
71. Eun-Hee, L., Kang, L.K. and Kyung-Suk Cho (2011). Bioremediation of Diesel-Contaminated Soils by Natural Attenuation, Biostimulation and Bioaugmentation Employing *Rhodococcus* sp. EH831. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* Vol. 39, No. 1, pp 86-92.

F

72. Fadel, D., 2014. Environnement en milieu urbain. Ed Al-Djazair, 35p.
73. Fan, M. Y., Xie, R. J., & Qin, G. (2014). Bioremediation of petroleum-contaminated soil by a combined system of biostimulation–bioaugmentation with yeast. *Environmental technology*, vol 35(4), pp 391-399.
74. FARZADKIA, Mahdi, ESRAFILI, Ali, GHOLAMI, Mitra, *et al.* 2019. Effect of immature and mature compost addition on petroleum contaminated soils composting : kinetics. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, vol. 17, no 2, pp. 839-846.
75. Fernandez-Luqueno F., Valenzuela-Encinas C., Marsch R., Martinez-Suarez C., Vazquez-Nunez E., Dendooven L. 2010. Microbial communities to mitigate contamination of PAHs in soil – possibilities and challengers: *Environmental Pollution Science Research*, 30p.
76. Field RA, Goldstone ME, Lester JN, Perry R (1992) The sources and behavior of tropospheric anthropogenic volatile hydrocarbons. *Atmos Environ*, Vol26: pp 2983–2996
77. Fingas, 2013. *The Basics of oil Spill Cleanup*. Troisième édition, Boca Raton. CRC Press, États-Unis, 266 p.
78. Fokou Mbogne P., 2017. BIORÉMÉDIATION AUGMENTÉE DE SOLS CONTAMINÉS AUX HYDROCARBURES LOURDS PAR AJOUT DE SUBSTRATS ORGANIQUES. Mémoire de Maitrise, spécialité : Génie de l'Environnement. École de Technologie Supérieure, Université du Québec. 73 p.
79. Fritsche and Hofrichter, 2000. Aerobic degradation by microorganisms. *Biotechnology. New York: John Wiley & Sons*, vol : 11, pp 146-164.
80. Fuentes, S., Méndez, V., Aguila, P. *et al.* 2014. Bioremediation of petroleum hydrocarbons: catabolic genes, microbial communities, and applications. *Appl Microbiol Biotechnol*, vol 98, pp 4781–4794. doi : <https://doi.org/10.1007/s00253-014-5684-9>

G.

81. Gabet S ., 2004. Remobilisation d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) présents dans les sols contaminés à l'aide d'un tensioactif d'origine biologique. Thèse de Doctorat de l'université de Limoges, spécialité : Chimie et microbiologie de l'Eau, np. 186.
82. Ganesh A & Lin J ., 2009 . Diesel degradation and biosurfactant production by Gram-positive isolates, School of biochemistry, Genetics and Microbiology, University of KwaZulu-Natal (Westville), Private Bag X 54001, Durban, South Africa, African Journal of biotechnology Vol. 8 (21): pp 5847-5854.
83. Garcian C., Parigot P. 1968. Boues de forage. Institut Français du Pétrole (I.F.P). Société Ed Technip, France, 193 p.
84. Gaudu F., 2014. bioremediation des sols pollués aux hydrocarbures. Biologie gestion marketing. Université de rennes.26p
85. Gestel K.V., Mergaert J., Swings J., Coosemans J., Pyckeboer J., 2003. Bioremediation of diesel oil-contaminated soil by composting with biowaste. Environmental pollution. science direct. 125(3) : pp 361-368
86. Ghazali F.M., Zaliha R.N., Rahman A., Salleh A.B., Basri M., 2004. Biodegradation of hydrocarbons in soil by microbial consortium., International biodeterioration & biodegradation 54: pp 61-67.
87. Geerdink M.J., Kleijntjens R.H., Van Loosdrecht M.C.M., Luyben K.C.A.M., 1996. Microbial decontamination of polluted soil in a slurry process. Journal of environmental engineering. pp. 975- 982.
88. Gibson D.T., Koch J.R., Callio R.E., 1968. Oxidative degradation of aromatic hydrocarbons by microorganisms. Enzymatic formation of catechol from benzene. Biochemistry 1, pp. 2653-2662.
89. Gibson D.T., Mahadevan V., Jerina D.M., Yagi H., Yeh H.J.C., 1975. Oxidation of the carcinogens benzo(a)pyrene and benz(a)anthracene to dihydrodiols by a bacterium. Science. 189(4199) :295-297.
90. Girard M. C., Walter C., Remy J.C., Berthelin J., Mrel J.L., 2005. Sols et environnement. Ed Dunod, France, 487p
91. Godleads Omokhagbor Adams, Prekeyi Tawari Fufeyin, Samson Eruke Okoro, and Igelenyah

- Ehinomen, 2015. "Bioremediation, Biostimulation and Bioaugmentation: A Review." International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation, vol. 3, no. 1. pp 28-39. doi: 10.12691/ijebb-3-1-5.
92. Golodyaev, G.P., Kostenkov, N.M. & Oznobikhin, V.I. 2009. Bioremediation of oil-contaminated soils by composting. *Eurasian Soil Sc.* Vol 42, pp 926–935. doi :<https://doi.org/10.1134/S1064229309080110>
93. Guermouche M'rassi, A., Bensalah, F., Gury, J. et al. 2015. Isolation and characterization of different bacterial strains for bioremediation of n-alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environ Sci Pollut Res* Vol 22, pp 15332–15346. doi : <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4343-8>
94. Guillouais S et Couronne M., 2003. Essais de compostage rustique des fumiers volailles ; intérêts et limites. *Sciences et technique avicoles*, N°43, Espagne, pp 27-34.

H

95. Hach. Mode opératoire LCK [en ligne]. [Consulté le 14/05/2020]. Disponible à l'adresse : <https://fr.hach.com>
96. Haeseler F., Blanchet D., Le Thiez P., 2001. Réhabilitation des sites contaminés par hydrocarbures-de l'évaluation des risques à la dépollution : une approche intégrée. *Bull.Soc.Fr.Microbiol*, 16 (3) :pp 197-203.
97. Hamadache L.A., 2012. Bioremédiation d'un sol pollué par les hydrocarbures par procédé biopile. Projet de fin d'étude. Spécialité : Génie de l'Environnement. Ecole National Polytechnique. 46 p.
98. Hamdi H., 2007. La biodégradation des hydrocarbures : activité de la microflore des eaux polluées. Thèse de magistère. Spécialité : Génie de l'environnement. Ecole National Polytechnique. np.117.
99. Hamzah, A., Chia-Wei, P., Pek-Hoon, Y. and Nurul, H. (2014). Oil Palm Empty Fruit Bunch and Sugarcane Bagasse Enhance the Bioremediation of Soil Artificially Polluted by Crude Oil. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 23(7), pp 751-762.
100. Haritash A., Kaushik C. 2009. Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): a review. *Journal of hazardous materials*. 15 p.
101. Herzhaft B., 2001. Les fluides de forage : un exemple de fluides complexes industriels. 36^{ème}. Colloque annuel du Groupe Français de Rhéologie (GFR 2001). Marne-la-Vallée. France, 377 p.

I

102. International Centre for Soil and Contaminated Sites ICSS. (2006). Manual for biological remediation techniques. 81p.
103. Iqbal, J., Metosh-Dickey, C. & Portier, R.J. 2007. Temperature effects on bioremediation of PAHs and PCP contaminated south Louisiana soils: A laboratory mesocosm study. *J Soils Sediments* 7, pp 153–158.

J

104. Jemal F., 2002. La bioremediation, Revue H.T.E. N°122, Tunisie. 37 p.
105. Jose.,1999. Essais de la biodégradabilité sur des sols contaminés par les hydrocarbures lourds, tranche montagne, rapport de recherche présenté comme exigence partielle de la maîtrise en science de l'environnement. 138 p.
106. Journal officiel de la République Algérienne (1993) décret exécutif N° 93-160,10/07

K

107. Kalantary, R.R., Mohseni-Bandpi, A., Esrafil, A. *et al.* 2014. Effectiveness of biostimulation through nutrient content on the bioremediation of phenanthrene contaminated soil. *J Environ Health Sci Engineer*, vol 12, 143 p. doi: <https://doi.org/10.1186/s40201-014-0143-1>
108. Khodja M., 2008. Les fluides de forage : étude des performances et considérations environnementales. Thèse de doctorat, spécialité : Génie des Procédés et de l'environnement. Institut National Polytechnique de Toulouse. 288 p.
109. Killhm, K. (1994). Soil Ecology. Cambridge University Press U.K. Koller E., 2009. Traitement des pollutions industrielles. Ed Dunod, Paris.
110. Kulkarni S, Palande A, Deshpande M (2012) Bioremediation of petroleum hydrocarbons in soils. In: Satyanarayana T, Johri BN (eds) *Microorganisms in Environmental Management*. Springer, pp 589 - 606. doi: 10.1007 / 978-94-007-2229-3_26
111. Kumar, A., Bisht, B. S., Joshi, V. D., & Dhewa, T. (2011). Review on bioremediation of polluted environment: a management tool. *International journal of environmental sciences*, Vol 1(6), pp 1079-1093.

L

112. Lansing M.P., Harley J.P., Klein D.A., Traduit par Bacq-Calberg C.M., Dusart J., 2003. Microbiologie Édition2 Éditeur De Boeck Supérieur. p.1164
113. Larpent J.P., Larpent-Gourgaud M., 1997. Mémento technique de microbiologie, 3^{ème} édition Lavoisier Tec & Doc. pp. 59-107.
114. Larsen and McCartney, 2000. Effect of C:N ratios on microbial activity and N retention: bench-scale study using pulp and paper biosolids. *Compost Science & Utilization* 12 p.
115. Lazar, I. G. Petrisor, and T. F. Yen. 2007. Microbial enhanced oil recovery. *Petroleum Science and Technology*, vol. 25, no. 11. pp 1353-1366.
116. Leahy, J.G & Colwell, R.R. (1990) Microbial Degradation of hydrocarbons in the environment. *Microbial Reviews*,53(3), pp 305-315.
117. Leclerc H., Mossel D.A.A., Bernier J.J., 1995. Microbiologie générale : la bactérie et le monde bactérien, Ed Doin, Paris.535 p.
118. Lecomte P., 1998. Les sites pollués : Traitement des sols et des eaux souterraines, 2^{ème} éditions, Lavoisier, Paris, pp. 130-160.
119. Lefebvre G., 1978. Chimie des hydrocarbures, Société des éditions Technip. Publication I.F.P, 1978ISBN2710803429, 9782710803423. 284 p.
120. Letelier M et Fleurent Didier V., 2012. Caractérisation chimique, physique et mécanique de pieux anciens. Mémoire d'Ingénieur. Université de Lorraine. France. 70p.
121. Leung M, 2004. Bioremediation: techniques for cleaning up a mess, *Journal of Biotechnology*, vol. 2, pp. 18-22.
122. LI, Jinghua, GUO, Chuling, LU, Guining, *et al.* 2016. Bioremediation of petroleum-contaminated acid soil by a constructed bacterial consortium immobilized on sawdust: influences of multiple factors. *Water, Air, & Soil Pollution*, vol. 227, no 12, p 444.
123. Lin, T., Pan, P., Young, C. *et al.* 2011. Evaluation of the optimal strategy for ex situ bioremediation of diesel oil-contaminated soil. *Environ Sci Pollut Res*, Vol 18, pp 1487–1496. doi :<https://doi.org/10.1007/s11356-011-0485-5>
124. Liste H.H., Alexander M. 2001. Butanol extraction to predict bioavailability of PAH in soil. *Chemosphere* 46. pp 1011-1017.
125. Lounis S., Daoud I., 2005. Analyse microbienne et physico-chimique des sols contaminés par les hydrocarbures à Hassi-Messaoud. Mémoire ingénieur d'état, écologie, option:

pathologie des écosystèmes, 63 p.

126. Lummus J.L., Azar J.J., 1986. Drilling fluids optimization, a practical field approach, penn well books, Tulsa, Oklahoma, pp.3-5.

M

127. MacNaughton S.J., Stephen J.R., Venosa A.D., Davis G.A., Chang Y.J., White D.C., 1999. Microbial population changes during bioremediation of an experimental oil spill. *Applied and Environmental Microbiology*, vol 65. Pp 3566-3574.
128. Maila, M.P., Cloete, T.E. 2004. Bioremediation of petroleum hydrocarbons through landfarming : Are simplicity and cost-effectiveness the only advantages?. *Rev Environ Sci Biotechnol*, vol 3, pp 349–360.
129. Margesin R., Schinner F., 2001. Bioremediation (Natural Attenuation and Biostimulation) of Diesel-Oil-Contaminated Soil in an Alpine Glacier Skiing Area. *Applied and Environmental Microbiology*, 67 (7): pp 3127-3133.
130. Marchal N., Bourdon J.L., 1982. Les milieux de cultures pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Ed. Doin, Paris.
131. Marchal R.S., Penet F., Solano-Serena., et Vandecasteele J.P., 2003. Gasoline and Diesel Oil Biodegradation. *Oil & Gas Science and Technology - Vol 58, N°4*, pp 441-448.
132. Martinneau B., 1996. Systématique bactérienne, guide d'identification des bactéries aérobies. Ed Declaire. Canada, 158p.
133. MAZZIOTTI, M. (2017). Impact des exsudats racinaires de *Miscanthus x giganteus* sur les microorganismes impliqués dans la bioremédiation d'un sol contaminé au benzo (a) anthracène. Thèse de doctorat. Université de Lorraine, Collegium Sciences et Technologies Ecole Doctorale RP2E « Ressources, Procédés, Produits, Environnement». P 89
134. Mbuligwe S. E., Kassenga G. R., Kaseva M., Chaggu E.J. 2002. Potential and constraints of composting domestic solid waste in developing countries: findings from a pilot study in Dar es Salaam, Tanzania. *Resources, Conservation and Recycling*, 14 p.
135. McCarthy K, Walker L, Vigoren L, Bartel J. 2004. Remédiation of spilled petroleum hydrocarbons by in situ landfarming at an arctic site. *Cold Reg Sci Technol* 40(1):31-39. doi: 10.1016/j.coldregions.05.001
136. Meyer A., Deiana J., Bernard A., 2008. Cours de microbiologie général, avec problèmes et

- exercices corrigés, 2ème Ed Doin, p.430.
137. Militon C., 2007. Caractérisation des communautés procaryotiques impliquées dans la bioremédiation d'un sol pollué par les hydrocarbures et développement d'outils d'analyse à haut débit. Protistologie. Université Blaise Pascal – Clermont-Ferrand II ; Université d'Auvergne – Clermont-Ferrand I. 206 p.
138. Miller, M.N., Stratton, G.W. & Murray, G.2004. Effects of Nutrient Amendments and Temperature on the Biodegradation of Pentachlorophenol Contaminated Soil. Water, Air, & Soil Pollution, Vol 151, pp 87–101. doi : <https://doi.org/10.1023/B:WATE.0000009903.22105.30>
139. MIYASAKA, T., ASAMI, H., WATANABE, K. (2006). Impacts of bioremediation schemes on bacterial population in naphthalene-contaminated marine sediments. Biodegradation. pp 227-235
140. Modulo .inc., 2008. Guide d'échantillonnage à des fins d'analyses environnementales, échantillonnage des sols, cahier 5, Centre d'expertise en analyse environnementales du Québec. pp 23, 40,44.
141. Mollahi N., 1989. Etude de la dynamique de la matière organique dans les sols affectés par la salinité. Tropicultura, Vol 7, N°03, pp 90-97.
142. Morelli I. S., Del Panno M. T., De Antoni G. L., Paineira M. T. 2005. Laboratory study on the bioremediation of petrochemical sludge-contaminated soil. International Biodeterioration & Biodegradation. Vol 55, pp 271 – 278.
143. Moseley CL, Meyer MR. 1992. Petroleum contamination of an elementary school: a case history involving air, soil-gas, and groundwater monitoring. Environ Sci Technol, Vol 26: pp 185–192.
144. Mukherjee, A.K., Das, K. (2005): Correlation between diverse cyclic lipopeptides production and regulation of growth and substrate utilization by *Bacillus subtilis* strains in a particular habitat. FEMS Microbiology Ecology, vol 54: pp 479-489.

N

145. Namkoong, W., Hwang, E. Y., Park, J. S., & Choi, J. Y. (2002). Bioremediation of diesel-contaminated soil with composting. *Environmental pollution*, 119(1), pp 23-31.

146. Naseri, M., Barabadi, A. & Barabady, J. 2014. Bioremediation treatment of hydrocarbon-contaminated Arctic soils: influencing parameters. *Environ Sci Pollut Res* 21, pp 11250–11265. doi : <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3122-2>
147. Neff J. M., Ostazeski S., Gardiner W., Stejskal I. 2000. Effects of weathering on the toxicity of three offshore Australian crude oils and a diesel fuel to marine animals. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 12 P.
148. Normand X., 1956. Leçon sommaire sur l'industrie du raffinage du pétrole, Tome II, Ed Technip.

O

149. Orji, F.A., Abiye, A. I and Dike, E.N. (2012). Laboratory scale bioremediation of petroleum hydrocarbon - polluted mangrove swamps in the Niger Delta using cow dung. *Malaysian Journal of Microbiology*, Vol 8(4), pp. 219-228.
150. Ortega, M.F., Guerrero, D.E., García-Martínez, M.J. et al. 2018. Optimization of Landfarming Amendments Based on Soil Texture and Crude Oil Concentration. *Water Air Soil Pollut*, pp. 229-234. doi: <https://doi.org/10.1007/s11270-018-3891-1>

P

151. Pacwa-Płociniczak, M., Płaza, G.A., Poliwoda, A. et al. 2014. Characterization of hydrocarbon-degrading and biosurfactant-producing *Pseudomonas* sp. P-1 strain as a potential tool for bioremediation of petroleum-contaminated soil. *Environ Sci Pollut Res*, Vol 21, pp 9385–9395. doi : <https://doi.org/10.1007/s11356-014-2872-1>
152. Paudyn K, Rutter A, Kerry Rowe R, Poland JS. 2008. Remediation of hydrocarbon contaminated soils in the Canadian Arctic by landfarming. *Cold Reg Sci Technol* 53(1): pp 102-114. doi: 10.1016/j.coldregions.2007.07.006
153. Pavitran S., Balasubramanian S., Kumar P., Bisen P.S. 2004. Emulsification and utilization of high-speed diesel by a *Brevibacterium* species isolated from hydraulic oil. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* Vol 20. pp 811–816.

154. Perfumo, A., Banat, I. M., Marchant, R. and Vezzulli, L. 2007. Thermally enhanced approaches for bioremediation of hydrocarbon-contaminated soils. *Chemosphere* 66(1): pp 179-184.
155. Pelmont J., 1994. Bactérie et environnement : Adaptation physiologique ; Ed OPU, Paris, p.512.
156. Pelmont J., 2005. Biodégradations et métabolismes : les bactéries pour les technologies de l'environnement, Ed EDP Science, p. 798.
157. Pernot A. 2012. Soil structure and organic matter repartition as controlling factors of PAH-type compounds availability in a former industrial soil. Université de Lorraine, UMR 1120 LSE Sols et Environnement de Nancy.
158. Perry J.J., Staley T.J., Lory S., 2004. Microbiologie, Ed Dunod, pp .115-884.
159. Peysson Y., 2004. Solid/Liquid Dispersions in Drilling and Production. *Oil and Gas Science and Technology-Rev. IFP*, Vol 59. Pp 11-21.
160. Prince RC, Owens EH, Sergy GA (2002). Weathering of an arctic oil spill over 20 years: the BIOS experiment revisited. *Mar Pollut Bull* 44(11): pp 1236-1242. doi: 10.1016/S0025-326X(02) 00214-X
161. Prince RC. 1993. Petroleum spill bioremediation in marine environments. *Crit Rev Microbiol* Vol 19: pp 217-242.

R

162. Record., 2007. Etat des connaissances sur le devenir de polluants organiques dans les sols lors de la biodégradation naturelle et après biotraitements : Identification des composés « métabolites » et des cinétiques, n°05-0513/1A, p 148.
163. REME., 2011. Gestion des déchets organiques : valorisation des déchets dans le secteur agroalimentaire au Maghreb. Ed REME-GIZ, Tunisie, 17p.
164. Riffaldi, R., Levi-Minzi, R., Cardelli, R. *et al.* 2006. Soil Biological Activities in Monitoring the Bioremediation of Diesel Oil-Contaminated Soil. *Water Air Soil Pollut* Vol 170, pp 3-15. doi : <https://doi.org/10.1007/s11270-006-6328-1>

165. Rike A, Børresen M, Instanes A (2001). Response of cold-adapted microbial populations in a permafrost profile to hydrocarbon contaminants. *Polar Rec* 37 (202): pp 239 - 248. doi : 10.1017/ S0032247400027261
166. Riviere J., 1975. Les applications industrielles de la microbiologie, Ed, Masson, Paris.203 p.
167. Rockne, Karl and Reddy, Krishna. (2003) *Bioremediation of Contaminated Sites*. University of Illinois at Chicago.
<http://tigger.uic.edu/~krockne/proceeding9.pdf#search=%22bioremediation%20of%20pesticides%20and%20herbicides%22/pdf>.
168. Rontani J.F & Giusti G., 1986. Study of the biodegradation of poly-branched alkanes by a marine bacterial community. *Marine Chemistry*. 20: pp 197-205.
169. Roy S., Hens D., Biswas. Kumar R ., 2002. Survey of petroleum-degrading bacteria in coastal waters of Sunderban Biosphere Reserve., *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. Vol 18. pp 575–581.
170. Rubinos, D.A., Villasuso, R., Muniategui, S. et al.2007. Using the Landfarming Technique to Remediate Soils Contaminated with Hexachlorocyclohexane Isomers. *Water Air Soil Pollut* 181, pp 385–399. doi: <https://doi.org/10.1007/s11270-006-9309-5>
171. Ryan J.N., Elimelech M., 1996. *Colloids Surfs A. Physico chem Eng. Asp*, Vol 107, PP 1-57.

S

172. Saada A., Nowak C., Coquereau N., 2005. Etat des connaissances sur l'atténuation naturelle des hydrocarbures Rapport intermédiaire Résultat de la phase 1. Rapport BRGM/RP-53739-FR, Étude réalisée dans le cadre des opérations de Service public du BRGM 2004 POL A16, p.107.
173. Sadaka S. and El Taweel A. 2003. Effects of aeration and C: N ratio on household waste composting in Egypt - *Compost science & utilization*.4 p.
174. Sanscartier D, Zeeb B, Koch I, Reimer K. 2009. Bioremediation of diesel-contaminated soil by heated and humidified biopile system in cold climates. *Cold Reg Sci Technol* 55(1):167-173. Doi:10.1016.j.coldregions.2008.07.004
175. Savadogo P.W., Traoré O., Topan M., Tapsoba K. H., Sedogo M. P., Bonzi-Coulibaly L. Y. 2006. Variation de la teneur en résidus de pesticides dans les sols de la zone cotonnière du

- Burkina Faso. Journal Africain des Sciences de l'Environnement. Vol 1, pp 29 – 39.
176. Schwarzenbach R. P. and Westall J. 1981. Transport of nonpolar organic compounds from surface water to groundwater. Laboratory sorption studies. Environmental Science and Technology. 15(11), pp 1360-1367.
177. Schaeffer T.L., Cantwell S.G., Brown J.L., Watt D.S., Fall R.R., 1979. Microbial growth on hydrocarbons: terminal branching inhibits biodegradation. Applied and Environmental Microbiology. 38: pp 742-746.
178. Scriban R., 1999. Biotechnologie. 5ème Edition, TEC&DOC, Paris, pp. 96-865.
179. Scullion, J. 2006. Remediating polluted soils. *Naturwissenschaften* vol 93, pp 51–65.
doi: <https://doi.org/10.1007/s00114-005-0079-5>
180. Semenyuk, N.N., Yatsenko, V.S., Strijakova, E.R. *et al.* 2014. Effect of activated charcoal on bioremediation of diesel fuel-contaminated soil. *Microbiology* 83, pp 589–598.
doi : <https://doi.org/10.1134/S0026261714050221>
181. Shanahan, Peter. (2004) Bioremediation. Waste Containment and Remediation Technology, Spring, Massachusetts Institute of Technology, MIT OpenCourseWare.
<http://ocw.mit.edu/NR/rdonlyres/Civil-and-Environmental-Engineering/1-34Spring2004/335613D5-6D6F-413F-9098-453E8AC20BC2/0/lecture12.pdf>
182. Shannon, M.J. and Unterman, R. 1993. Evaluating bioremediation: distinguishing fact from fiction. Annual Review of Microbiology vol 47(1). pp 715-736.
183. Sims, J. L., Sims, R. C., & Matthews, J. E. 1989. Bioremediation of contaminated surface soils (No. PB-90-164047/XAB; EPA--600/9-89/073). Environmental Protection Agency, Ada, OK (USA). Robert S. Kerr Environmental Research Lab.
184. Singh, A., Singh, B. & Ward, O. 2012. Potential applications of bioprocess technology in petroleum industry. *Biodegradation* vol 23, pp 865–880. doi : <https://doi.org/10.1007/s10532-012-9577-2>
185. Soltani M., 2004. Distribution lipidique et voies métaboliques chez quatre bactéries Gram-négatives hydrocarbonoclastes. Variation en fonction de la source de carbone. Thèse de doctorat de l'université de Paris 6, spécialité chimie analytique, p.284.
186. Spormann, A.F & Widdel F., 2000. Metabolism of alkylbenzenes, alkanes, and other hydrocarbons in anaerobic bacteria. *Biodegradation*, vol 11: pp 85-105.

T

187. Tazdaït, D., Salah, R., Mouffok, S., Kabouche, F., Keddou, I., Abdi, N., ... & Mameri, N. (2018). Preliminary evaluation of a new lowcost substrate (amurca) in production of biosurfactant by *Pseudomonas aeruginosa* isolated from fuel-contaminated soil. *J. Mater. Environ. Sci*, 9(3), pp 964-970.
188. Thomas O., 1997. Une méthodologie expérimentale de bioremédiation des sols contaminés par les HAP, école des mines d'Alès.
189. Tiehm A. et Schulze S. 2003. Intrinsic aromatic hydrocarbon biodegradation for groundwater remediation. *Oil & Gas Science and Technology*. 13P.

U

190. United Nations Environment Programme., 1996 International labour organisation, World Health Organization International Programme on Chemical safety environmental health criteria 171. Diesel fuel and exhaust emissions. World Health Organization. Geneva.
191. USEPA Mine Waste Technology Program. (2002). Activity III, Project 12: sulfatereducing bacteria reactive wall demonstration. Final Report. doi: [http:// www.epa.gov/ORD/NRMRL/std/mtb/mtbdocs/actiiproj12.pdf](http://www.epa.gov/ORD/NRMRL/std/mtb/mtbdocs/actiiproj12.pdf);

V

192. Vandecasteele J.P., 2005. Microbiologie pétrolière : Concepts implication environnementales, Applications industrielles, Ed Technip. Vol 1.np 412. Vol 2. pp. 516-786
193. Vandermeer K. D., Daugulis A. J.2007. Enhanced degradation of a mixture of polycyclic aromatic hydrocarbons by defined microbial consortium in two-phase partitioning bioreactor. *Biodegradation*. Vol 18, pp 211 – 221.
194. Van Gestel K., Mergaet J., Swings J., Coosemans J., Ryckeboer J., 2003. Bioremediation of diesel oil-contaminated soil by composting with biowaste, *Environmental pollution*, Elsevier. Vol 125 : pp 361-368.

195. Vázquez, S., Nogales, B., Ruberto, L. *et al.* 2009. Bacterial Community Dynamics during Bioremediation of Diesel Oil-Contaminated Antarctic Soil. *Microb Ecol* 57, 598 p. doi : <https://doi.org/10.1007/s00248-008-9420-9>
196. Vecchioli G. I., Del Panno M. T., Paineira M. T. 1990. Use of selected autochthonous soil bacteria to enhance degradation of hydrocarbons in soil. *Environmental Pollution*. 67(3),pp 249-258.
197. Vendeure C., Ruiz-Guerreo R., Bertoncini F., Duval L., Thiebaut D. 2007. Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography for Detailed Characterisation of Petroleum Products, Ed. Oil & Gas Technology, Rev. IFP. 62(1), pp 43-55.
198. Venosa, A.D. 1998. Oil spill bioremediation on coastal shorelines: a critique. In: S.K. Sikdar & R.I. Irvine(Eds.), *Bioremediation: Principles and Practice*. Vol. III. *Bioremediation Technologies*. Technomic, Lancaster, PA, pp 259-301.
199. Vidali M. 2001. Bioremediation. *An Overview Pure Appl Chem* 73 (7): pp 1163 – 1172.
200. Vogel T.M., 1996. Bioaugmentation as a soil bioremediation approach. *Curr Opin Biotechnol*. Vol 7, pp 311-316.
201. Vogel T et Billerini D., 2001. Biorestauration des sols et des aquiferes contaminés par les hydrocarbures et des composés halogènes. *Bull.soc.fr. microbial*. Vol 16, 204p.
202. VOGEL T. M ; 1998. Bioremédiation des sols, *Technique de l'ingénieur, traité de génie des procédés*, J3, p. 982.

W

203. Wackett L., Herchberger D. C. 2000. Microorganisms genomics and prediction. *Nucleic Acids research*. The University of Minnesota Biocatalysis. 2 p.
204. Waksman, S.A., 1959. The actinomycètes. *Microbiology Volume I. Nature, Occurrence and activities*. Williams and Wilkins Co., Baltimore, Maryland. 327 p.
205. Wentzel A, Ellingsen TE, Kotlar H-K, Zotchev SB, Throne-Holst M. 2007. Bacterial metabolism of long-chain n-alkanes. *Appl Microbiol Biotechnol*, vol 76: pp. 1209–1221. doi :10.1007/s00253-007- 1119-1
206. Whyte LG, Bourbonnière L, Bellerose C, Greer CW. 1999. Bioremediation assessment of hydrocarbon-contaminated soils from the high Arctic. *Bioremediation J* 3(1): 69-80 p.

doi: 10.1080/10889869991219217.

207. Walworth J, Pond A, Snape I, Rayner J, Ferguson S, Harvey P. 2007. Nitrogen requirements for maximizing petroleum bioremediation in a sub-Antarctic soil. *Cold Reg Sci Technol* 48(2): 84-91p. doi: 10.1016/S0165-232X(00) 00020-3
208. Ward, O., Singh, A. & Van Hamme, J. 2003. Accelerated biodegradation of petroleum hydrocarbon waste. *J IND MICROBIOL BIOTECHNOL* vol 30, pp 260–270. doi: <https://doi.org/10.1007/s10295-003-0042-4>
209. Wu, T., Xie, W.j., Yi, L., Li, X.B. Yang, B.H. and Wang, J. 2012. Surface activity of salt-tolerant *Serratia* spp. and crude oil biodegradation in saline soil. *Plant Soil Environ.*,58, (9): pp 412-416.

X

210. Xu, Y., Zhou, N.2017. Microbial remediation of aromatics-contaminated soil. *Front. Environ. Sci. Eng.* 11(1). pp 1-9. doi : <https://doi.org/10.1007/s11783-017-0894-x>

Y

211. Yamada-Onodera K., Mukumoto H., Katsuyama Y., Tani Y. 2002. Degradation of long-chain alkanes by a polyethylene-degrading fungus, *Penicillium simplicissimum* YK. *Enzyme and Microbial Technology* 30. p.828.
212. Yang, S. Z., Jin, H. J., Wei, Z., He, R. X., Ji, Y. J., Li, X.M. (2009). Bioremediation of Oil Spills in Cold Environments: A Review. *Pedosphere*, vol 19, pp 371-381.

Z

213. Zajic J., Gignard H., Gerson D.F. 1977. Propertis and biodegradation of bioemulsier from corsum bacterium hydrocarbonoclastes, *biotechnol biofig.* Vol19. pp 1303-1320.
214. Zajic J., Margaritis JE., Gerson D. 1997. Chemical and biochemical en gineering, faculty of ingeneering science; the university of Wostern Ontaria, London. 302 p.
215. Zajic J., Seffens W. 1984. Biosurfactant *CRC.Crit. Rev. Biotechnol* Vol 1(87). 107 p.

216. Zein M. M., Pinto P. X., Garcia-Blanco S., Suidan M. T., Venosa A. D. 2006. Treatment of groundwater contaminated with PAHs, gasoline hydrocarbons, and methyl tert-butyl ether in a laboratory biomass-retaining bioreactor. *Biodegradation*. Vol 17, pp 57 – 69.
217. Zengler K., Richnow H.R., Rossello-Moro R., Michaelis W., Widdel F. 1999. Methane formation from long chain alkanes by anaerobic microorganisms. *Nature* 401, pp 266-269.

ANNEXES



ANNEXE I



❖ Aspect normatif :

Tableau A.I.1: Valeurs guide des paramètres de rejets des installations de déversement en Algérie

Paramètres	Valeurs maximales
Huiles et graisses	20 mg/l
Hydrocarbures	20 mg/l
Phénols	0.5 mg/l
Solvant organique	20 mg/l
Chlore actif	0.1 mg/l
PCB	1.1 mg/l
Détergents	1.2 mg/l
Tensioactifs anioniques	10 mg/l

Source : J.O.R.A, 1993

Tableau A.I.2 : Normes hollandaises de qualité des sols (Lecomte, 1999).

mg/Kg de matière sèche	A Seuil de référence	B Seuil de risque	C Seuil de danger
COMPOSES AROMATIQUES			
Benzène	0.01	0.5	5
Ethylbenzène	0.05	5	50
Toluène	0.05	3	30
Xylène	0.05	5	50
Phénol	0.02	1	10
Total composés aromatiques	0.1	7	70
HYDROCARBURES POLYCYCLIQUES (HAP)			

Naphtalène	0.01	5	50
Anthracène	0.1	10	100
Phénanthrène	0.1	10	100
Fluoranthène	0.1	10	100
Pyrène	0.1	10	100
Benzo(a)pyrène	0.05	1	10
Total HAP	1	20	200

Tableau A.I.3 : Seuils de référence pour les métaux lourds.

Métaux lourds	Seuil de référence (mg/kg de sol)	Seuil de risque (mg/kg de sol)	Seuil de danger (mg/kg de sol)
AS	20	30	50
Cd	1	5	20
Co	20	50	300
Cr	100	250	800
Cu	50	100	500
Hg	0,5	2	10
Ni	50	100	500
Pb	50	150	600
Zn	200	500	3000

Source : J.O.R.A, 1993

❖ **Matériel non biologique**

Tableau A.1.4 : Produits et matériel utilisés

Appareillages et équipements	Verreries et différents matériel	Solutions et réactifs
------------------------------	----------------------------------	-----------------------

Agitateur –plaque chauffante (VELP scientifica)	Anse de platine	Acide sulfurique 5 %
Appareil de distillation	Ballon 30ml, 50ml	AgNO ₃
Autoclave (SANA CLAV)	Bêcher de 25ml, 50ml, 500 ml, 1000 ml	Bleu de bromothymol;
Bain-marie thermostat	Boite de Pétri en plastique	Bleu de methylene;
Balance analytique (SCALTEC)	Cellules en verre de 25 ml de capacité	Dichlorométhane
Bec Bunsen (Fisher)	Coton	E.D.T.A
Centrifugeuse (SIGMA)	Creuset en verre pyrex	Ethanol 96°
Chromatographe de type 6890 séries	Cuvettes de spectrophotomètre	Fushine
Compteur de colonie	Disques filtrants en fibre de verre type AP 20	Gasoil
Dessiccateur en verre	Entonnoir en verre	Hexane
Distillateur OFIIT	Eprouvette graduée	HR Nitra (HACH)
Diffractomètre	Erlen Meyer 100 ml, 200 ml, 250 ml, 500 ml	Huile à immersion
Dispositif de filtration sous vide	Etiquettes	K ₂ CrO ₄
Etuve (Incucell)	Fiole 100ml, 200ml, 500 ml, 1000ml, 2000ml	LCK 350 Phosphate

Hotte bactériologique	Flacons	LCK 138 Laton
Microscope optique	Lames et lamelles	LCK 340 Nitrate
Oxymètre	Micropipettes	LCK 342 Nitrite
Incubateur-agitateur (Nonotron HT)	micro-séparateur	LCK 380 COT
PH mètre (HANNA instruments)	Papier aluminium	LCK 381 COT
Réfrigérateur	Papier filtre	LCK 153 Sulfate
Rota vapeur	Papier transparent	LCK 514 DCO
Spectrophotomètre type DR/1900	Pincés (en bois et métallique)	Lugol
Spectrophotomètre UV / visible (SHIMADZU)	Pipette pasteur	Nitrite LR (HACH)
Thermo réacteur	Pipette graduée 5ml, 10ml, 20ml, 50ml	Pastilles NaOH (HACH)
Ultrason	Scotch	Phosphate RGH
Vortex (VELP scientifica)	Seringues 1ml, 10ml	Réactifs T.D.A
	Spatule métallique	Rouge de methyl
	Tube à essai	Solution HCl
	Verre à montre	Solution NaOH

		sulfate de sodium
		Sulfate (HACH)
		T.E.A
		Violet de GENTIANE

ANNEXE II



- **Gélose nutritive**

Tableau A.II.1: Composition de gélose nutritive.

Constituants	Quantités	Rôles
NaCl	5,0g	Source de minéraux
Extrait de levure	2,0g	Source d'azote, et de de facteur de croissance
Extrait de viande	1,0g	Source de carbone, d'azote, de sels minéraux et de facteurs de croissance
Peptone	5,0g	Source d'azote, de carbone et d'énergie
Agar	18g	Solidifiant/ Gélifiant
Eau	1000ml	Solvant
PH	7,4	Neutralisant

Autoclaver à 120°C pendant 15 minutes

- **Eau physiologique**

Eau distillée.....1000ml
 NaCl.....9g

Autoclaver à 120°C pendant 2heures

❖ **Caractéristiques physico-chimiques du gasoil**

Tableau A.II.2: Caractéristiques physico-chimiques du gasoil

Caractéristiques physico-chimiques	Gasoil Algérien	asoil sans soufre NF EN 590 : 2004	Spécifications du gasoil Norme Algérienne NA 8110-1992
Densité à 15 °C, g/c _m ³ °API	0.8321 38.4	De 0.820 à 0.85	De 0.810 0 0.860
Viscosité Cinématique en cSt, à :			g/c _m ²
• 20°C	4.615		
• 37.8°C	2.960		
• 40°C	2.001	De 2.00 à 4.50 m ² / s	9 cSt Max
Point d'écoulement, °C	-29		
Point de congélation, °C	-32		
Point d'éclair, °C	89.8		
Indice d'acidité, mg KOH/g	0.859		Hiver -12 °C max Eté -7 °C Max 55°C min
Teneur en soufre	734 ppm	10.0 mg/kg max	
Teneur en eau de sédiments, BSW, % Vol	<0.1		2500 ppm Max
Teneur en eau par extraction, % Vol Couleur ASTM	Nulle 4.5 L	Max 200 mg/kg	Traces non dosables
Corrosion à la lame de cuivre (3h à 50°C)	1 a	Classe 1	2.5 Max
Indice de Cétane	55.3	min 51.0 (mesuré) min 46.0 (calculé)	48 Min
Température Limite de Filtrabilité, °C	-16	Classe E (max-15°C) Classe B (max°C)	
Facteur de caractérisation, Kuop Poids moléculaire, g/mole	11.90 208		
Pouvoir Calorifique Supérieur, Kcal/Kg	10 940		
Distillation ASTM			
• Point initial, °C	207.9		
5 % Vol	222.7		
10 "	230.1		
20 "	239.9	% (v/v) récupéré à	
30 "	249.5	350 °C :	
40 "	259.6	85% min	
50 "	270.8		65 % Vol 250° Min
60 "	282.5		90% Vol 350° Max
70 "	296.2		Point Final 390° Max
80 "	312.7		
90 "	336.2		
95 "	355.8		
Point Final, °C	362.9		
Distillat, % Vol	98.5		
Résidu "	0.6		
Perte "	0.9		

Source: Khodja, 2008

ANNEXE III



A.III.1-Diffractogrammes issus par analyse DRX du bourbier et des deux fumiers

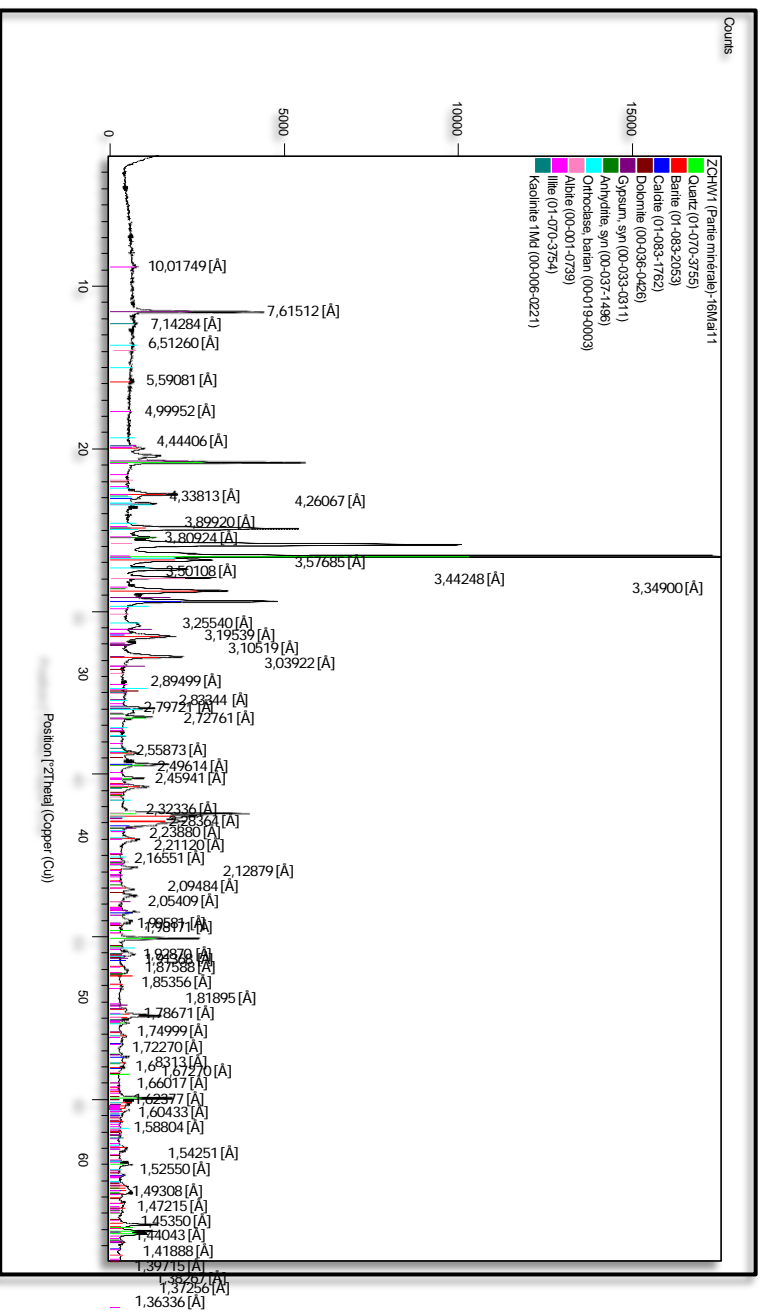


Figure A.III.1 : Diffractogramme de échantillon du bourbier

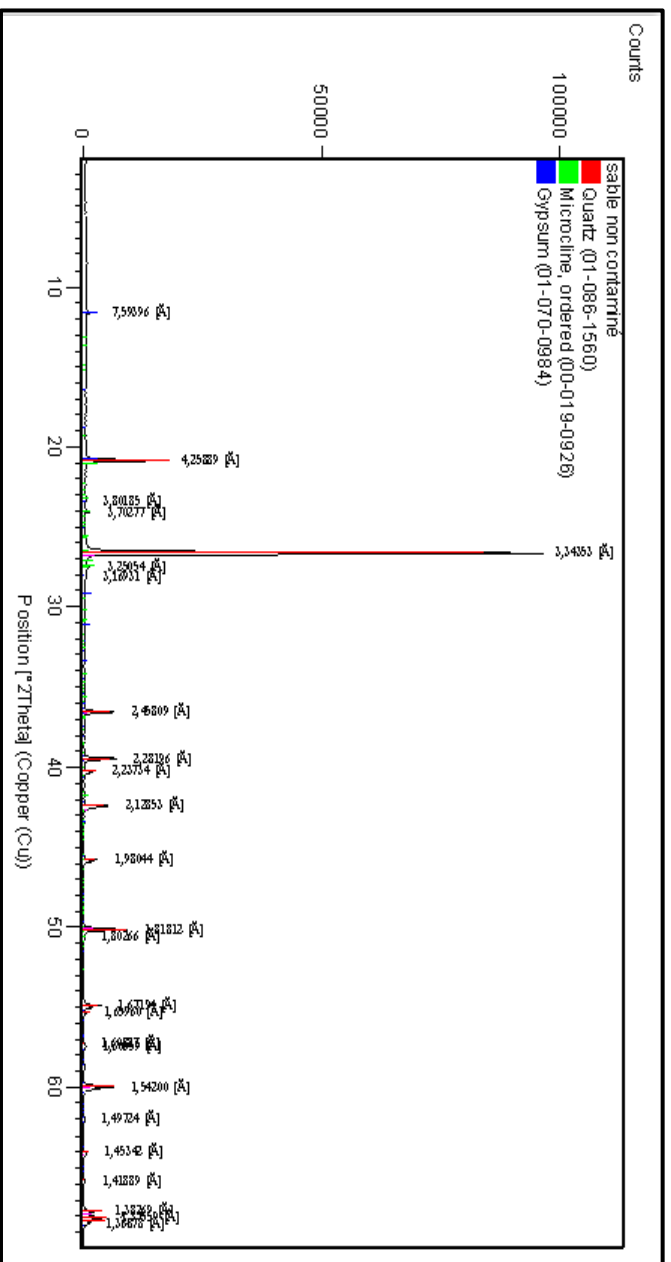


Figure A.III.2 : Analyse minéralogique par DRX un sol non contaminé à HMD

Source : Khadija, 2008

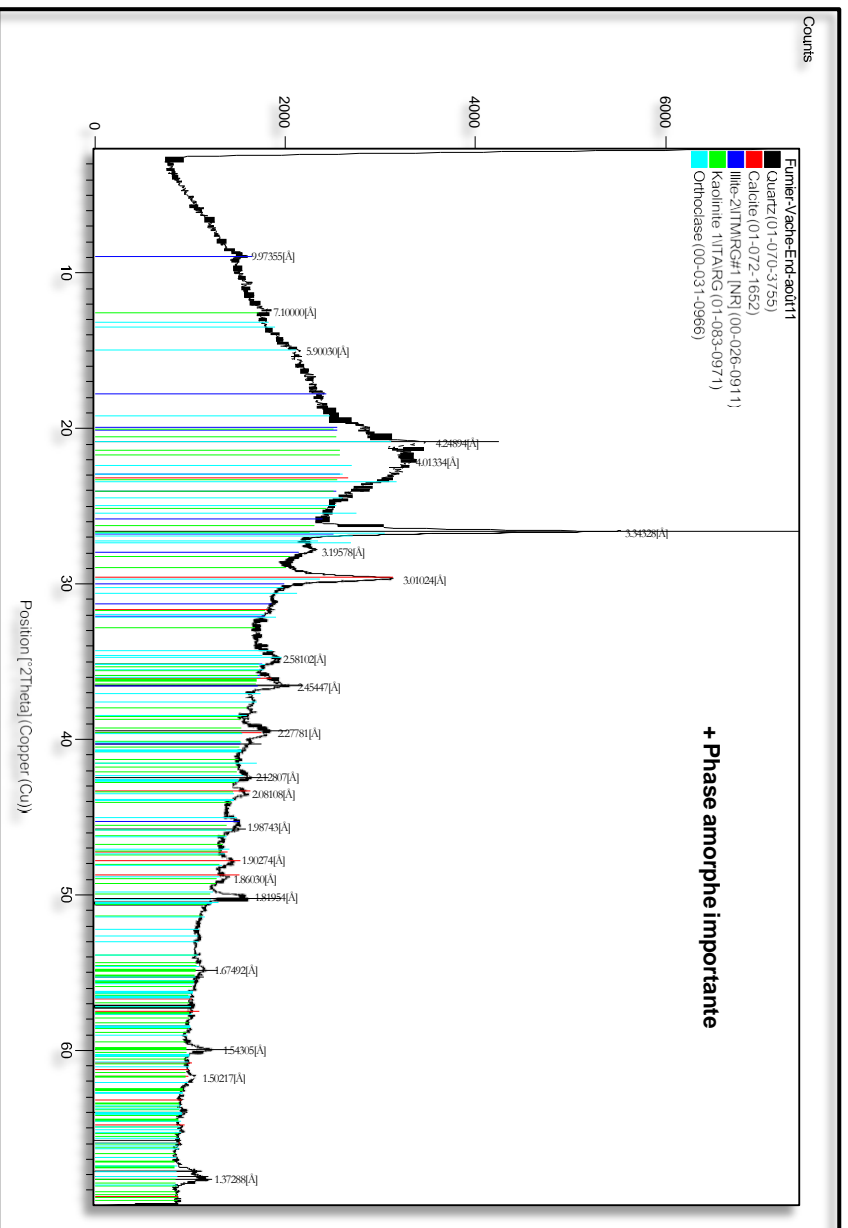


Figure A.III.3: Diffractogramme de l' échantillon du fumier

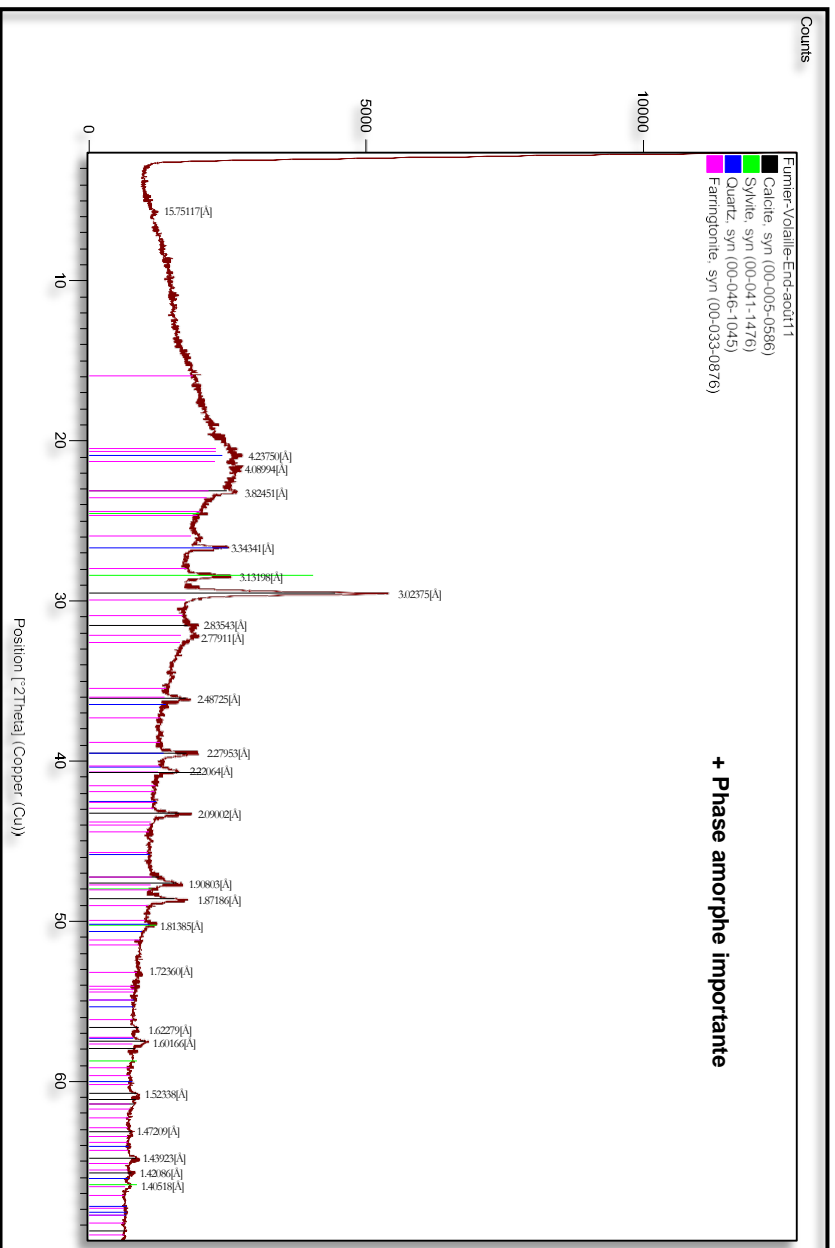


Figure A.III.4 : Diffractogramme de l' échantillon du fumier

ANNEXE IV



Tableau A.IV.1 : données climatologiques enregistrées au niveau de la station météorologique d'Ouargla (2007-2018)

Année	Mois	TN en °C	TX en °C	UN en %	UX en %
2007	Janvier	4,8	20,0	37	85
	Février	9,2	22,7	28	69
	Mars	10,1	24,3	22	62
	Avril	14,9	28,6	26	69
	Mai	19,8	35,0	19	50
	Juin	25,5	42,0	14	41
	Juillet	26,5	41,4	17	42
	Août	27,6	42,6	17	44
	Septembre	25,6	39,1	21	51
	Octobre	18,4	32,1	25	60
	Novembre	9,2	23,9	30	70
	Décembre	4,8	18,2	38	79
2008	Janvier	5,5	18,3	44	86
	Février	6,1	21,3	31	79
	Mars	10,9	26,3	26	64
	Avril	15,7	31,9	19	49
	Mai	21,1	36,0	19	48
	Juin	23,9	39,1	21	49
	Juillet	29,0	44,9	16	38
	Août	28,0	43,3	19	45
	Septembre	24,6	38,5	25	55
	Octobre	18,7	30,1	39	79
	Novembre	9,8	22,1	39	85
	Décembre	5,4	18,6	38	85
2009	Janvier	6,8	17,8	48	91
	Février	7,2	20,3	32	80
	Mars	10,1	24,7	27	74
	Avril	12,1	27,5	25	67
	Mai	18,5	34,4	24	60
	Juin	25,4	40,9	17	45
	Juillet	28,7	44,6	15	39
	Août	27,2	43,0	16	43
	Septembre	22,1	36,1	28	69
	Octobre	15,7	30,8	28	67
	Novembre	9,4	25,5	36	79
	Décembre	7,7	22,9	30	72

Année	Mois	TN en °C	TX en °C	UN en %	UX en %
2010	Janvier	6,6	21,6	31	75
	Février	9,6	25,4	30	66
	Mars	12,9	28,1	23	57
	Avril	17,1	31,3	26	60
	Mai	18,7	33,6	21	53
	Juin	25,3	41,3	19	45
	Juillet	28,4	43,9	18	42
	Août	28,2	43,6	20	46
	Septembre	22,8	36,9	29	63
	Octobre	16,2	30,7	26	68
	Novembre	9,7	24,9	34	74
	Décembre	6,6	21,3	29	67
2011	Janvier	4,8	20,5	40	80
	Février	5,6	20,5	33	72
	Mars	9,7	23,9	30	76
	Avril	14,8	30,7	24	62
	Mai	18,6	33,7	24	55
	Juin	23,2	38,3	23	51
	Juillet	27,7	44,0	18	45
	Août	26,3	42,3	20	44
	Septembre	25,1	40,3	21	49
	Octobre	15,1	29,1	37	78
	Novembre	10,2	24,3	36	80
	Décembre	5,2	19,7	47	90
2012	Janvier	3,5	18,0	44	86
	Février	3,4	17,3	38	79
	Mars	8,8	24,5	33	74
	Avril	14,5	30,4	24	59
	Mai	19,6	35,5	19	47
	Juin	27,4	43,2	17	43
	Juillet	28,6	44,8	15	37
	Août	27,0	43,1	15	41
	Septembre	21,7	38,2	18	48
	Octobre	18,2	33,4	22	55
	Novembre	11,9	26,3	33	74
	Décembre	3,7	19,9	35	80

Année	Mois	TN en °C	TX en °C	UN en %	UX en %
2013	Janvier	4,9	20,2	35	80
	Février	5,3	21,2	30	70
	Mars	11,9	28,6	29	70
	Avril	15,4	30,9	21	58
	Mai	19,1	35,5	11	39
	Juin	23,4	39,8	11	35
	Juillet	27,8	43,5	10	30
	Août	26,1	40,7	13	36
	Septembre	23,2	38,3	16	47
	Octobre	19,5	35,8	16	44
	Novembre	10,0	23,4	26	66
	Décembre	6,3	17,3	47	92
2014	Janvier	6,2	19,4	34	81
	Février	8,2	22,8	21	63
	Mars	10,1	23,8	22	58
	Avril	15,1	31,4	13	42
	Mai	20,2	35,2	14	43
	Juin	23,8	39,7	11	40
	Juillet	28,5	44,6	10	27
	Août	27,9	44,1	10	33
	Septembre	25,8	40,6	13	39
	Octobre	17,0	32,9	16	48
	Novembre	12,1	25,7	24	68
	Décembre	5,9	19,0	33	79
2015	Janvier	4,0	18,3	26	72
	Février	6,9	18,8	26	63
	Mars	10,1	24,6	17	59
	Avril	16,3	32,1	12	41
	Mai	20,7	37,0	11	33
	Juin	24,7	39,8	10	33
	Juillet	26,5	42,0	10	32
	Août	29,1	42,8	13	39
	Septembre	23,9	37,9	17	50
	Octobre	17,6	31,8	22	56
	Novembre	10,9	24,3	30	72
	Décembre	4,8	20,0	34	81

Année	Mois	TN en °C	TX en °C	UN en %	UX en %
2016	Janvier	6,5	21,2	25	63
	Février	8,1	22,7	20	57
	Mars	9,7	25,7	14	45
	Avril	16,7	32,8	14	49
	Mai	21,3	36,0	11	35
	Juin	24,9	41,0	11	32
	Juillet	27,4	42,6	10	30
	Août	26,9	41,3	12	32
	Septembre	24,3	38,0	17	49
	Octobre	19,4	34,2	19	56
	Novembre	10,5	24,5	25	67
	Décembre	8,1	19,5	41	87
2017	Janvier	3,4	17,5	27	72
	Février	8,5	23,1	22	58
	Mars	11,5	26,1	18	57
	Avril	15,2	29,9	17	50
	Mai	22,9	37,5	12	37
	Juin	25,5	40,4	12	35
	Juillet	27,3	43,1	11	27
	Août	27,1	42,9	10	32
	Septembre	21,9	36,6	18	56
	Octobre	16,1	29,4	25	68
	Novembre	9,4	22,9	29	76
	Décembre	5,4	18,2	33	80
2018	Janvier	5,5	20,7	25	71
	Février	6,9	19,7	26	73
	Mars	11,9	26,8	14	49
	Avril	16,4	30,6	15	47
	Mai	20,2	34,9	14	48
	Juin	24,5	39,7	12	37
	Juillet	30,5	47,4	9	22
	Août	26,8	40,4	16	46
	Septembre	24,7	38,5	17	49
	Octobre	16,9	30,1	22	56
	Novembre	10,4	24,1	27	68
	Décembre	4,9	20,5	30	75

TN : température moyenne minimale en °C

TX : température moyenne maximale en °C

UN : humidité relative minimale en %

UX : humidité relative maximale en %

ANNEXE V



Critères des échantillons utilisés au cours de l'étude

1/ Fumier de poulet de chair

Matière organique constituée d'un mélange plus ou moins décomposé de litière carbonée (essentiellement des copeaux de bois) et de déjections de volailles.

Ce fumier est issu des élevages intensifs de poulets de chair. Le mélange des fientes avec le substrat évolue au fur et à mesure sous les animaux puis après raclage des bâtiments et mise en cas.

Tableau A.V.1 : les compositions physico-chimiques de fumier

	C/N	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
Poulet de chair	9 à 13	15 à 38	12 à 39	14 à 27

Evolution bactérienne des litières

Lorsqu'il s'agit de produits correctement conservés, les pailles, copeaux et sciure sont très peu chargés en micro-organismes. Dans le cas contraire la contamination est majoritairement assurée par des moisissures qui peuvent se révéler très nocives pour la litière et les animaux mais dont la présence et l'action peuvent être combattues par certains Bacillus (Guinebert et pénaud, 2005)

II/ Grignons d'olive

Ou résidu solide constitué de la pulpe, de noyau et du tégument d'olive ; leur niveau d'humidité oscille entre 25 et 40% et leur teneur en gras est d'environ 3-7% selon le procédé d'extraction employé (CAR/PP, 2000)

Tableau A.V.2 : Composition physico-chimique des grignons d'olives (Mennane et al, 2010)

	Matière sèche	Cendre	Matière d'azote total	Matière grasse	Fibre	Cellulose brut	ADL
Grignons d'olive	65%	4,16%	5,8%	9,4%	59%	35%	36,17%

Plus simplement, on peut considérer que le grignon est composé d'une fraction riche en lignine provenant des fragments de noyaux, et l'autre renfermant principalement des glucides, comme la cellulose et l'hémicellulose (tableau A.V.3)

Tableau A.V.3 : La composition de grignons d'olives en hémicellulose, cellulose et lignine dans la littérature

	Lignine%	Hémicellulose%	Cellulose%
Grignons d'olive	38	21,5	24,3

III-La sciure de bois

Les copeaux et sciure de bois (bran de scie) sont très riches en carbone. Ils doivent donc être bien mélangés avec des matériaux riches en azote. On ne doit pas en intégrer plus de 10% de la masse

totale des matières organiques. La sciure de bois a tendance à se compacter et à créer une isolation entre les couches de matières déposées dans le composteur. Le bois contient de la cellulose (une molécule hydrophile) et est poreux, il est vulnérable à l'humidité. Lorsqu'il fait humide, le bois absorbe l'eau et gonfle légèrement, lorsqu'il fait plus sec, l'eau se dégage du bois et celui-ci rétrécit.

➤ Cellulose

La cellulose est un homopolymère composé de très nombreuses unités de DAnhydroglucopyranose reliées entre elles par des liaisons glycosidiques β -(1-4) (fig.A.V.1). Le motif de répétition est le dimère cellobiose (Frassoldati et al, 2006)

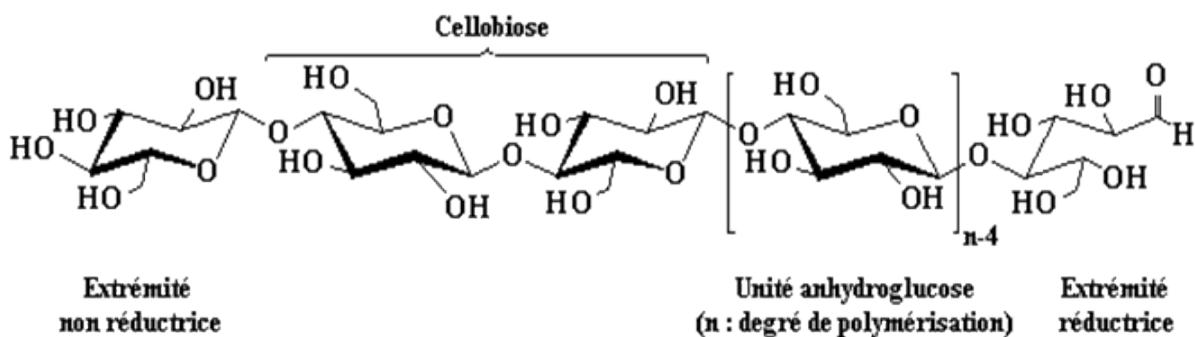


Figure A.V.1 : structure chimique de cellulose

➤ Hémicellulose

La structure chimique d'hémicellulose est considérée comme un polymère d'xylose $n(C_5H_8O_4)$.

L'hémicellulose est une matrice de différents polysaccharides. Il contient des acides mannuroniques et galacturoniques. Les monomères typiques sont le glucose, l'oxylose, le mannose, le galactose, le rhamnose, et l'arabinose.

L'hémicellulosique est faite majoritairement de D-pentoses, parfois de petites quantités d'oses levogyres (L). Les hémicelluloses incluent les polyosides suivants : xylane, glucuronoxylane, arabinoxylane, glucomannane, et xyloglucane.

Par rapport à la cellulose, l'hémicellulose ne contient que des glucoses anhydres (Frassoldati et al, 2006)

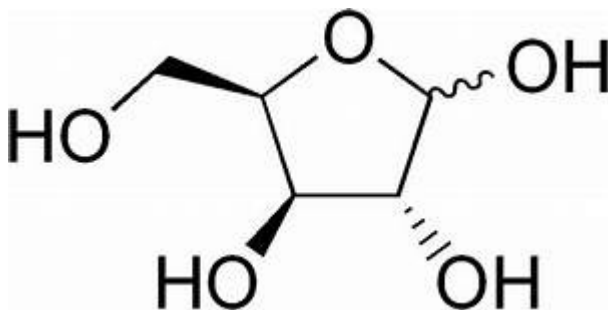


Figure A.V.2 : structure chimique de α -D-xylose

➤ La lignine

La lignine est un mélange de différentes structures du carbone. Elle a la plus haute teneur en énergie des trois composants en bois. Environ 60% de la masse de lignine correspond au carbone et 30% à l'oxygène. La lignine est une structure amorphe et hautement réticulée (Frassoldati et al, 2006).

Elle résulte de la polymérisation de trois alcools phénoliques (Fig. A.V.3)

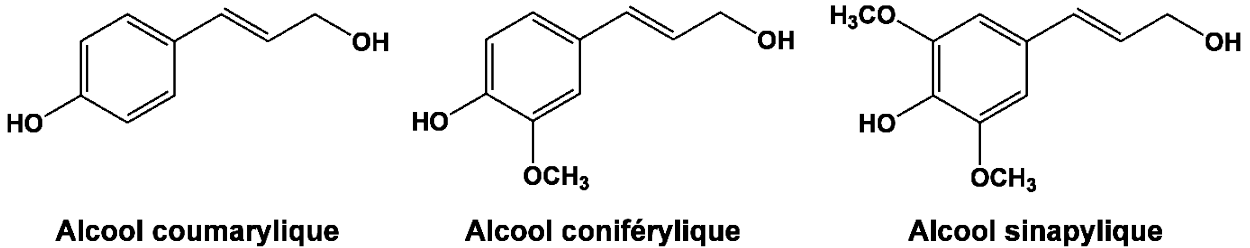


Figure A.V.3 : Structure des trois alcools phénoliques