

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
Sciences et Techniques de l'Environnement Mémoire de
master

En vue de l'obtention du diplôme de master en génie de l'environnement

Thème:

**Les différents rapports C/N/P dans
le cas de la bioremédiation des sols**

Présenté par : Mr. TALAH Amir

Sous la direction de M^{lle} ARRAR Jazia Maitre de conférences A

Soutenu publiquement le 16 novembre 2016 devant le jury composé de :

Président :	M ^r . Rabah KERBACHI	Professeur	ENP
Rapporteur :	M ^{lle} . ARRAR Jazia	Maitre de conférences A	ENP
Examinatrice :	Mme. F. KIES	Maitre de conférences B	ENP

موجز:

يتناول هذا العمل إلى معالجة التربة الحيوي التحفيز من الكائنات الحية الدقيقة مع مختلف C / N / P الموصى بها.

تحفيز حيوي، والتي تنطبق في الغالب لجميع تقنيات إزالة التلوث البيولوجي، هو تفعيل وتنشيط العملية الطبيعية من التدهور من الملوثات من خلال الجمع بين الظروف المثلى للتنمية والنمو الميكروبي. تقتصر هذه العملية إزالة التلوث عن طريق عدة عوامل منها: توافر المواد الغذائية، ودرجة حرارة متوسطة، ودرجة الحموضة والرطوبة والأكسجين.

التحلل البيولوجي للمواد الهيدروكربونية محدودة بسبب توفر النيتروجين والفسفور ضروري للكائنات المجهرية موجودة بكميات كافية في التربة، ويتم إعطاء القيم المثلى مختلفة من C / N / P لعدد من المؤلفين. بشكل عام، فإن نسبة المولي ريدفيلد تعتبر المثلى = (106/16/1) (C / N / P) التي يوصى.

كلمات البحث: تحفيز حيوي والمعالجة البيولوجية، والمغذيات، والهيدروكربونات، والكائنات الدقيقة.

Summary :

This work deals with the remediation of soils by biostimulation of microorganisms with the different C / N / P ratios recommended.

Biostimulation, which is mostly applicable to all biological decontamination techniques, involves activating and stimulating the natural degradation process of contaminants by bringing together the optimal conditions for microbial growth and development. This decontamination process is limited by several factors including: nutrient availability, medium temperature, pH, moisture and oxygen.

The biodegradation of hydrocarbons is limited by the availability of nitrogen and phosphorus necessary for microorganisms and present in insufficient quantities in the soil, the various optimal values of the C / N / P ratios are given by several authors. In general, the Redfield molar ratio considered optimal (C / N / P) = (106/16/1) is recommended.

Key words: biostimulation, bioremediation, nutrients, hydrocarbons, microorganisms.

Résumé :

Le présent travail traite de la remédiation des sols par biostimulation des micro-organismes avec les différents rapports C/N/P préconisés.

La biostimulation, qui est la plupart du temps applicable à toutes les techniques de décontamination biologique, consiste à activer et à stimuler le processus de dégradation naturelle des contaminants en réunissant les conditions optimales de développement et de croissance microbienne. Ce processus de décontamination est limité par plusieurs facteurs dont : la disponibilité des nutriments, la température du milieu, le pH, le taux d'humidité et de l'oxygène.

La biodégradation des hydrocarbures est limitée par la disponibilité de l'azote et du phosphore nécessaires aux micro-organismes et présents en quantités insuffisantes dans le sol, les différentes valeurs optimales des rapports C/N/P sont données par plusieurs auteurs. En général, c'est le rapport molaire de Redfield considéré comme optimal (C/N/P) = (106/16/1) qui est préconisé.

Mots clés : biostimulation, bioremédiation, nutriments, hydrocarbures, microorganismes.

Dédicaces

A ma chère mère

A mon père

A Mes frères : Ahmed et Said

A Toute ma famille

A mes amis : Wafik, Islam ,Ramzi

Amir

Remerciements

Je tiens à remercier chaleureusement, ma promotrice Dr. J. ARRAR maître de conférences au département de Génie de l'environnement à l'E.N.P, pour son encadrement tout d'abord, sa patience, sa gentillesse, de ses conseils et de ses remarques avisés pour que ce travail puisse être mené à terme.

SOMMAIRE :

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION GÉNÉRALE.....9

CHAPITRE 1 – Techniques de traitements

1. Principe de la bioremédiation.....	11
2. Biostimulation.....	12
2.1. Les limites de la biostimulation.....	13
3. Facteurs influençant la bioremédiation	14
3.1. pH.....	14
3.2. Température.....	14
3.3. Humidité.....	14
3.4. L'oxygène.....	15
3.5. La disponibilité des microorganismes.....	15
3.6. Nutriments.....	15

CHAPITRE 2 – Influence des nutriments

1. Nutriments.....	17
2. Les différents rapports C/N/P.....	18
2.1. Rapport 106/16/1(concept de Redfield)	19
2.2. Rapport 120/10/1.....	21
2.3. Rapport 100/10/1.....	21
2.4. Rapport 100/5/1.....	21
2.5. Rapport 150/10/3.....	21
3. Effet de différents rapports C/N/P sur la croissance microbienne.....	22

CONCLUSION GÉNÉRALE25

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....26

Liste des Tableaux:

Tableau 2.1: Rapports C/N/P recommandées.....19

Liste des Figures :

Figure 1.1 : Les techniques de Bioremédiation.....12

Figure 1.2 : Principe de la biodégradation.....13

Figure 2.1 : Evolution de la biomasse dans le sol dans les différents microcosmes.....23

Liste des Abréviations :

°C	Degré Celsius
C	Carbone
N	Azote
P	Phosphore
Hu	Humidité du sol
MO	Matière organique
UFC	Unités formant colonies
COV	Composés organiques volatils
COSV	Composés organiques semi-volatils
LNAL	liquide non aqueux light
PCB	Polychlorobiphényles
HAP	Hydrocarbure aromatique polycyclique

Introduction :

Dans les sols, les polluants se répartissent en fonction de leur densité, de leur solubilité dans l'eau, de leur volatilité et de leur capacité à s'adsorber sur la matrice solide du milieu poreux, entre la zone insaturée, qui correspond à la couche de sol située au-dessus du niveau piézométrique, et la zone saturée qui constitue l'aquifère.

Les composés rencontrés dans les sites pollués sont d'origine minérale ou organique. Les principaux polluants d'origine minérale sont des composés à base de métaux lourds tels que le plomb, le mercure, le zinc et le cadmium. Les polluants organiques sont des hydrocarbures (carburants et combustibles) et des produits halogénés (solvants chlorés, PCB, polychlorophénols) (**Chaouki et al, 2014**).

La forte dépendance au pétrole comme principale source d'énergie dans le monde, a engendré la contamination des sols par les hydrocarbures qui, généralement constituent les principaux contaminants des écosystèmes aquatiques et des écosystèmes terrestres. Ainsi, les fuites des carburants des réservoirs de stockage, les installations de distribution et de diverses opérations industrielles.....etc représentent une source importante de contamination du sol et de l'aquifère.

Parmi les techniques de traitements disponibles pour éliminer ces polluants dans le sol et dans les eaux souterraines, les processus de bioremédiation sont souvent préconisés en raison de leur simplicité, grande efficacité et de leur coût (**Vidali, 2001**) mais aussi car elles s'adressent à un grand nombre de polluants. Ces techniques se sont largement développées ces dernières années même si le traitement est souvent plus long que par les techniques conventionnelles et ne peut s'appliquer qu'à des concentrations modérées en polluants (**Charissou et Lejeune, 2009**).

La biostimulation est à la base de toute technique biologique. Elle repose sur la capacité naturelle de micro-organismes pour effectuer la dégradation partielle ou complète des différents polluants quel que soit leur nature. Les stratégies pour accélérer la décomposition biologique des hydrocarbures dans le sol incluent la stimulation des micro-organismes indigènes en optimisant les éléments nutritifs et l'apport d'oxygène ainsi que les conditions de température et de pH. Nous nous intéressons en particulier à l'influence des nutriments sur la croissance microbienne et sur la biodégradation dans le cas de sols pollués par les hydrocarbures, ainsi que les différentes valeurs optimales des rapports C/N/P qui sont donnés par plusieurs auteurs.

CHAPITRE 1 :

Techniques de traitement

Selon le degré de pollution des sols et du risque qu'ils représentent directement pour la santé humaine et les écosystèmes, des techniques particulières de dépollution doivent être mises en œuvre pour éliminer les polluants ou de les rendre moins toxiques. Il n'existe aucune méthode de remédiation «universelle» applicable à tous les sols pollués (**Gan et al, 2009**).

Les différentes techniques de dépollution peuvent être classées en fonction de la nature des procédés employés. Il existe quatre classes de techniques (**Colombano et al., 2010**) :

- a. **Les procédés physiques** : qui consistent en l'immobilisation ou en l'extraction du polluant du milieu contaminé.
- b. **Les procédés chimiques ou électrochimiques** : qui utilisent les propriétés chimiques des polluants afin les rendre inertes (précipitation, etc.), les détruire (oxydation, ...etc.) ou les séparer du milieu pollué (surfactants, ...etc.).
- c. **Les procédés thermiques** qui utilisent la chaleur pour détruire le polluant (incinération), l'isoler (désorption thermique), ou le rendre inerte (vitrification).
- d. **Les procédés biologiques (bioremédiation)** : qui utilisent l'action des micro-organismes (bactéries, champignons, ...etc.) et des plantes pour éliminer les polluants organiques ou minéraux, présents dans les sols, les boues, les sédiments ou les effluents liquides.

Nous nous intéresserons à celles faisant appel à la bioremédiation et plus particulièrement à la biostimulation.

1. Principe de la bioremédiation:

La bioremédiation est une des options les plus valables pour l'assainissement des sols contaminés par les composés organiques. Elle repose sur l'utilisation de micro-organismes /plantes pour détoxifier ou enlever les xénobiotiques organiques et inorganiques de l'environnement. Son principal avantage est son coût réduit par rapport aux techniques classiques. Outre sa rentabilité, c'est une solution permanente, qui peut conduire à une minéralisation complète des polluants. En outre, il s'agit d'une technique non invasive, laissant l'écosystème intact et permettant le maintien des propriétés physico-chimiques, voire biologiques des sols (**Perelo, 2010**).

La bioremédiation n'est efficace que si les conditions environnementales permettant la croissance et l'activité microbienne sont réunies elle est d'autant plus efficace si les micro-organismes dégradent par voie enzymatique les polluants et les convertis en produits inoffensifs. (**Vidali, 2001**).

Ces techniques se sont largement développées ces dernières années car elles sont efficaces, peu coûteuses et s'adressent à un grand nombre de polluants organiques ou non, même si le traitement est souvent plus long que par les techniques conventionnelles, et ne peut s'appliquer qu'à des concentrations modérées en polluants (**Charissou et Lejeune, 2009**).

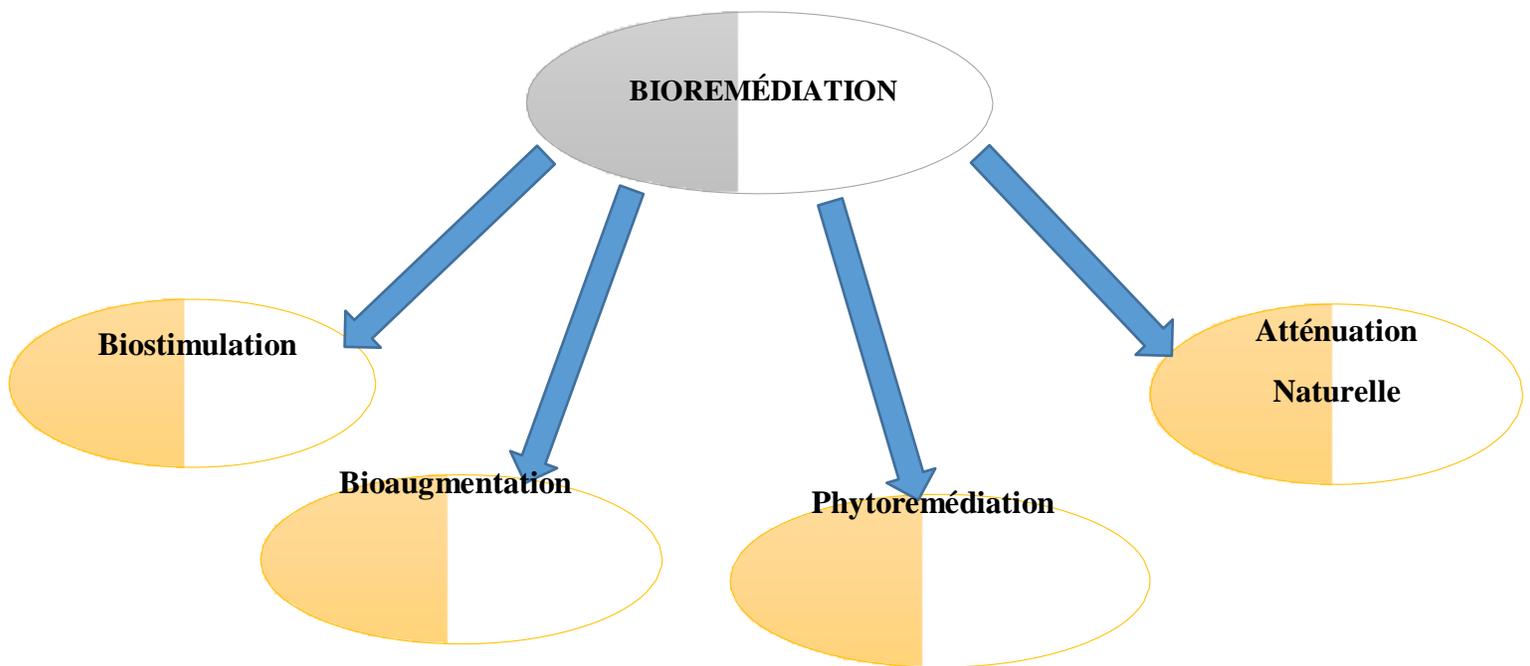


Figure 1.1 : Les techniques de Bioremédiation

2. Biostimulation :

La biostimulation a largement été étudiée et c'est une technique qui a maintenant fait ses preuves. Le principal avantage provient de l'origine indigène des micro-organismes, qui sont donc déjà présents et bien adaptés au milieu (**Charissou et Lejeune, 2009**).

Le concept de biostimulation est que, en ajoutant plus d'éléments nutritifs et par ajustement des conditions du milieu telles le potentiel d'oxydo-réduction, l'humidité, la température ..., les micro-organismes se répliquent, augmentation du nombre, rapidité de croissance et donc augmentation de la vitesse de biodégradation (**Mariano et al, 2007**).

Elle consiste à stimuler au moyen d'adjuvants chimiques ou biochimiques la dégradation des polluants par les micro-organismes indigènes (**ROUDIER Pascal, 2005**), en effet cette opération est effectuée pour augmenter le taux de biodégradation du contaminant, et ce par optimisation des conditions du milieu à savoir :

- la mise au point de l'aération et de l'humidité.
- l'ajout de nutriments de croissance (azote et phosphore) à la microflore dégradante.

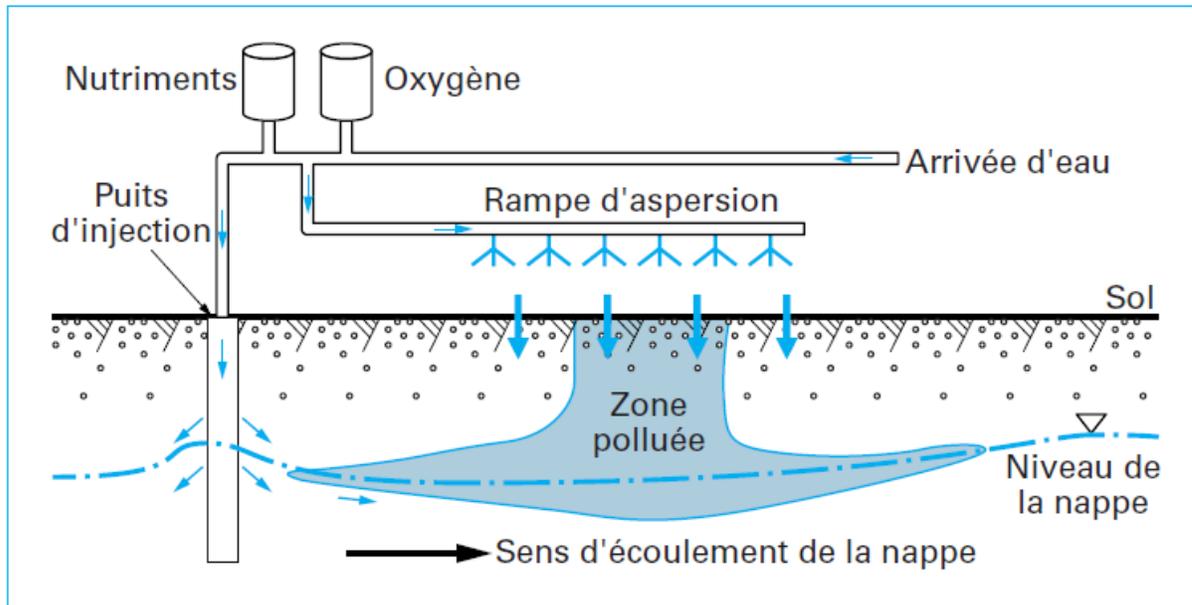


Figure 1.2 : Principe de la biodégradation

La biostimulation vise à renforcer les activités des micro-organismes autochtones qui sont capables de dégrader les polluants dans le sol, elle est souvent appliquée pour le traitement des sols contaminés par les hydrocarbures (Tannee et Kinako, 2008), où les quantités de carbone sont très importantes, ce qui provoque un épuisement des principaux nutriments inorganiques disponibles, tel que N et P (Mariano et al., 2007). Ainsi un enrichissement en éléments nutritifs, aussi appelé fertilisation, est une approche de bioremédiation dans laquelle les engrais comme le phosphore et l'azote sont ajoutés au milieu contaminé pour stimuler la croissance des micro-organismes indigènes qui peuvent dégrader les polluants (Sang-Hwan et al. 2007). La bioremédiation, accomplie par l'application des engrais afin d'améliorer la capacité des bactéries indigènes utilisant des hydrocarbures, était appliquée avec succès pour le traitement du déversement de pétrole en 1989 du « Prince William Sound », Alaska (Atlas, 1995).

2.1. Les limites de la biostimulation

Certaines études révèlent que la correction de l'azote et du phosphore peut avoir aucun effet sur la décontamination, ou même peuvent représenter un inhibiteur par addition excessive.

L'azote, lorsqu'il est ajouté en tant que sels d'ammonium, peut être toxique pour les micro-organismes en raison de la production d'ammoniac dans le sol, qui peut être mortel à des concentrations élevées.

Certaines sources de phosphore (phosphate et ortho-phosphate) peuvent avoir divers effets sur la biodégradation en fonction de leur toxicité et de leur solubilité.

Les effets contradictoires de la biostimulation, positif ou négatif, ont été expliqués par Smith et autres (1998) qui ont proposé une théorie de ressource-rapport pour prévoir comment la concurrence pour les ressources limitant- croissance a influencé la diversité et la fonction biologique au sein d'une communauté biologique. La théorie fait deux grandes prédictions au sujet de l'apport d'éléments nutritifs et de la biodégradation des hydrocarbures :

- les changements des rapports d'alimentation de l'azote (N) et de phosphore (P) modifieront sensiblement les taux de biodégradation et que ces changements du rapport N/P va entraîner des changements importants dans la composition de la communauté microbienne.
- les changements dans les niveaux d'approvisionnement en éléments nutritifs, modifiera la biomasse total responsable de la dégradation des hydrocarbures ce qui a pour effet de modifier les taux de biodégradation.

3. Facteurs influençant la bioremédiation

Plusieurs paramètres affectent l'efficacité de la bioremédiation tel que : le pH, la température, l'humidité, les nutriments, les accepteurs d'électrons (oxygène, nitrates,...), les microorganismesetc. (Fotinich, 1999)

3.1. pH

La plupart des micro-organismes sont capables de se développer dans un intervalle de pH allant de 5 à 9 avec un optimum se situant aux alentours de 7 légèrement alcalin (Gabet, 2004). Dibble et Bartha (1979) ont mis en évidence que la dégradation des hydrocarbures est maximale pour des pH compris entre 7,5 et 7,8 et est inhibée pour des valeurs inférieures (Arrar, 2007).

3.2. Température

La température a un effet considérable sur la capacité des microorganismes à dégrader les hydrocarbures. Iqbal et al. (2007) ont mis en évidence que la dégradation des HAP et PCP du sol est plus importante à 42°C et est accélérée de 19% par rapport à un traitement à température ambiante (21°C). Outre l'augmentation de l'activité et de la croissance des organismes avec la température, la dégradation plus intense des hydrocarbures à plus forte température est étroitement liée à la solubilité des hydrocarbures qui augmente avec la température, les rendant plus biodisponibles.

3.3. Humidité

L'humidité est un paramètre important dans le processus de biodégradation des composés organiques simples ou complexes. Il est connu que des faibles taux d'humidité du sol inférieurs à 2 % (Ballerini, 1999 ; Davis et Madsen , 1996) limitent les vitesses de biodégradation. Inversement, des teneurs trop élevées vont influencer sur la perméabilité des sols aux gaz et générer des conditions de limitation de transfert de l'oxygène et donc de limitation du métabolisme microbien aérobie (Ballerini, 1999).

Les taux d'humidité préconisés dans la littérature, varient selon les auteurs, Ballerini, (1998) propose 10%, Davis et Madsen, (1996) proposent 14%, Nano et al. (2003) proposent un taux

d'humidité supérieur à 15% tandis que **Sabaté et al. (2004)** suggèrent qu'il soit ajusté à 60% de la capacité de rétention d'eau du sol. L'eau est le principal transporteur et distributeur des nutriments et des micro-organismes dans le sol, ce qui lui confère une grande importance dans les processus de biodégradation.

3.4. L'oxygène

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

Le processus biologique aérobie est spécialement souhaitable pour la remédiation des sols contaminés par le diesel (**Brinkmann et al, 1998**). Lorsque l'oxygène est consommé par les micro-organismes, une nouvelle biomasse est synthétisée (**Ledakowicz et Solecka, 2000**) ainsi la respiration aérobie semble être le mécanisme primaire pour la biodégradation des hydrocarbures (**Greer et al, 2003**). La concentration en oxygène doit être supérieure à 10% pour stimuler la dégradation par voie aérobie (**Vogel Timothy, 2001**). Plusieurs auteurs ont montré que la biodégradation anaérobie est plus lente que la biodégradation aérobie (**Li et al, 2000**).

3.5. La disponibilité des microorganismes

Un sol non pollué constitue un réservoir très important de microorganismes (bactéries et champignons). La densité bactérienne est estimée à 10^{+6} - 10^{+9} UFC par gramme de sol sec des horizons superficiels présentant une biomasse de 1500 kg par hectare pour une profondeur de 20 cm. Les champignons, pour leur part, peuvent former une biomasse atteignant 3500 kg par hectare (**Girard et al, 2011**).

3.6. Nutriments

Les besoins nutritionnels des microorganismes sont très élevés et ne sont le plus souvent pas couverts par l'azote et le phosphore déjà présent dans le sol, se manque en nutriment est plus apparent en présence d'une pollution. Il est donc important d'amender le milieu en élément nutritif tout en respectant les rapports molaire préconisés et ainsi de permettre une croissance optimale des microorganismes et donc une meilleure dégradation des polluants.

Les teneurs en azote et phosphore exprimées en rapport massique de carbone organique diffèrent selon plusieurs auteurs. Elles dépendent essentiellement de la quantité de carbone présente préalablement dans le sol contaminé.

Dans le cadre de notre étude nous nous intéressons en particulier à l'influence des nutriments dans le cas de sols pollués par des hydrocarbures.

CHAPITRE 2 :

Influence des nutriments

1. Nutriments

L'importance des nutriments pour les processus microbiens est connue depuis longtemps. L'azote (N) composé vitale pour la synthèse des acides aminés et les bases azotées, tandis que le phosphore (P) est impliqué dans le transport d'énergie comme l'adénosine triphosphate. L'analyse de la composition de la biomasse microbienne indique que le carbone (C), l'azote et le phosphore sont présents dans le rapport de 106/16/1 respectivement (**Redfield et al, 1963**).

Les sols contaminés où les teneurs intrinsèques en N et P sont faibles, nécessitent l'addition de nutriments pour permettre une augmentation suffisante de biomasse et par conséquent un taux de dégradation significatif des hydrocarbures.

Dans la pratique, les rapports C/N allant de 14/1 jusqu'à 560/1 ont été proposés comme approprié ou optimal pour la biodégradation. D'autres chercheurs trouvent que la croissance microbienne atteint un maximum pour un rapport molaire optimal N/P de 2/1 (**Ying, 2011**). Au-delà de 5/1, la croissance microbienne est inhibée pour devenir négligeable lorsque le rapport N/ P est supérieur à 10 (**Ying, 2011**).

Dans certains cas, lorsque les niveaux d'éléments nutritifs intrinsèques sont déjà suffisants pour la biodégradation, l'amendement en nutriments n'a pas un effet significatif sur le taux de la remédiation (**Schinner Margesin et, 1997**).

Différents niveaux d'amendement d'éléments nutritifs découle dans une gamme de taux de dégradation en raison de la relation intime entre les concentrations des nutriments et de l'eau dans la matrice du sol. Les éléments nutritifs sont connus pour devenir toxiques pour les micro-organisme du sol à haut potentiel osmotique (**Walworth et al., 1997**), il est donc important non seulement de maintenir une quantité suffisante de N et P (et d'autres micronutriments), mais aussi de veiller à ce que l'humidité du sol soit également adéquate.

D'autres études, y compris ceux par Bossert et Bartha (1984), Fayad et Overton (1995), Manilal et Alexander (1995), Raymond et al. (1976), trouvent que la biodégradation peut être inhibée par l'addition de nutriments cité par (Susan et al, 2003). Yu et al (2005), ont proposé que le taux de biodégradation devrait être optimisé par un rapport nutritif spécifique, car les différents micro-organismes dégradeurs exigent différents rapports en nutriments.

Une approche qui est théoriquement possible pour subvenir aux besoins en azote est l'isolation ou le génie génétique des micro-organismes qui offre la possibilité de fixer l'azote et oxyder l'hydrocarbure. L'introduction de gènes de fixation d'azote dans les dégradeurs d'hydrocarbures ne va pas à elle seule résoudre le problème car le gène « nitrogénase » produit est très sensible à l'oxygène qui lui-même est essentiel pour une dégradation efficace des hydrocarbures. Cependant certains micro-organismes aérobiques tel que azotobacter et cyanobacter arrivent à protéger leur nitrogénase de l'oxygène. Il est à préciser que la fixation d'azote est très coûteuse, la croissance bactérienne pendant la fixation semble être très lente. Récemment, on a constaté que l'acide urique, qui est très peu soluble dans l'eau et qui constitue une bonne source d'azote, peut être une bonne alternative aux adjuvants classiques (**Ron et Rosenberg,2010**). En addition

à cela, l'acide urique est disponible est moins couteux ce qui en fait un excellent stimulant pour les microorganismes.

2. Les différents rapports C/N/P

Les nutriments sont indispensables à l'activité et au développement des micro-organismes (**Abismail ,2011**). Ce sont des corps simples qui peuvent être assimilés, sans transformation digestive par les organismes, et favoriser la croissance des populations bactériennes. Les plus importants sont l'azote et le phosphore (N, P) et ils doivent être utilisés à des concentrations appropriées selon un certain rapport de carbone/azote et carbone/phosphore.

Dans les terres, où le carbone se trouve en excès par suite d'une pollution, les bactéries consomment, durant les phases de fermentation aérobie active, 15 à 30 fois plus de carbone que d'azote, selon que l'hydrocarbure est plus ou moins biodégradable (**Schultz, 1998**). Les facteurs limitant de la biodégradation sont alors les nutriments en déficit, l'azote pour l'essentiel, puis le phosphore parmi les éléments moyens, et à un degré moindre le soufre et le potassium. Il est possible de limiter cet effet par apport des éléments déficitaires de façon à rétablir les conditions optimales pour le fonctionnement bactérien. Schultz, (1998). Des études ont prouvé que la biodégradation des hydrocarbures est supérieure dans un sol fertilisé (**Chaîneau et al, 2000 ; Rosenberg et al, 1992**). En effet, **Greer et al.2003** et **Venosa et al.2002**, ont noté que l'activité microbienne augmente en réponse à l'application de l'azote et du phosphore.

Le tableau (2.1) regroupe les rapports C/N/P recommandés par les différents auteurs dans le cas de la biodégradation des hydrocarbures.

Tableau 2.1 : Rapports C/N/P recommandés.

Rapport C/N/P	Auteurs
106/16/1	(Redfield et al., 1963) cité par Susan et al,2003.
100/15/3	Rosenberg et al. (1992)
100/10/1	Hyman et Dupont, (2001) cité par(venny et al,2004) Berry (1997). Vankemenade et al. (1996)
60/2/1	Cassidy et al. (2000)
150/10/3	Venosa et al. (2002)
120/10/1	Ghazali et al. (2004) Gabet (2004) Thomass et al (1992)
100/5/1	Nano et al. (2003) Gibb et al (2001). Potter et al. (1999)
1000/10/1	Brinkmann (1998)
100/50/10	Chaînerau (2000)

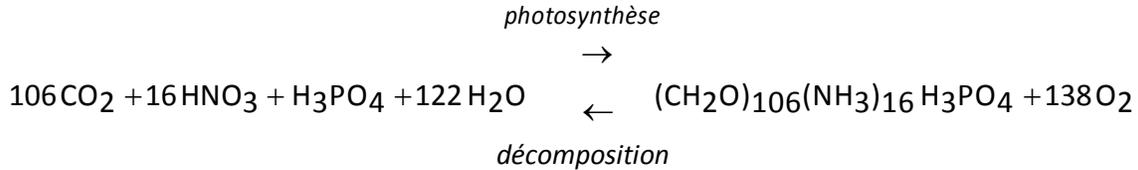
2.1. Rapport 106/16/1 (concept de Redfield)

Les besoins fondamentaux des microorganismes en éléments nutritifs sont souvent approchés par l'observation de leur composition interne. C'est ce que Redfield a montré a travers son étude :

Le rapport de Redfield a été initialement dérivé empiriquement à partir de mesures de la composition élémentaire de plancton plus de la teneur en nitrate et le phosphate prélevés de l'eau de mer dans un petit nombre de stations dans l'océan Atlantique. En effet, Redfield avait observé que, quelles que soient les concentrations, il existait un rapport sensiblement constant entre le contenu en nitrate et en phosphate des eaux de mer, que ces éléments étaient apparemment extraits du milieu ambiant par le plancton dans les proportions ou ils se trouvaient et qu'ils retournaient en solution simultanément à la mort des organismes. Ces vues se trouvaient confortées et précisées en 1940, par les analyses de plancton réalisées par Flemming, analyses montrant que le plancton marin possédait un rapport C/N/P voisin de 106/16/1. Mais c'est surtout

un article publié en 1963 par Redfield, Ketchum et Richards qui a contribué à populariser le concept de Redfield dans la communauté des océanographes.

Selon les vues de Redfield, la photosynthèse (ou la décomposition) du plancton produit (ou consomme) 138 moles de O₂ par mole de P, selon le bilan réactionnel :



L'activité biologique des organismes doit donc modifier la teneur en oxygène, en carbone inorganique, en azote et en phosphore des eaux de mer selon les proportions :

$$\Delta P / \Delta N / \Delta C / \Delta \text{O}_2 = 1 / 16 / 106 / - 138$$

A la lumière des innombrables mesures de phosphate, de nitrate et d'oxygène qui ont été réalisées dans les 30 dernières années, il apparaît que les rapports de Redfield seraient quelque peu différents des valeurs initialement proposées par l'auteur, ce qui n'enlève rien à l'intérêt du concept.

Le rapport entre phosphate et nitrate étant le même dans l'eau de mer et dans le plancton, soit N / P ≈ 16, il s'ensuit que le prélèvement ou la restitution de nutriments dans un rapport ΔN / ΔP ≈ 16 ne modifient pas la valeur de ce rapport. Il est ainsi admis pour l'azote et le phosphore que le phytoplancton présents en eau douce comme en eau marine, auront une tendance naturelle à utiliser ces sels nutritifs dans les mêmes proportions que celles de leur biomasse, c'est à dire dans un rapport N/P qui est de 16/1.

Par rapport à ces besoins d'équilibre, le rapport des éléments N et P présents dans l'eau sous une forme minérale assimilable, sera considéré comme exprimant une limitation de la croissance par le phosphore quand il est supérieur à 10 (N/P > 10) et une limitation de la croissance par l'azote quand il sera inférieur à 5 (N/P < 5).

Ce rapport de 106/16/1 est souvent cité comme un rapport optimale C/N/P ciblé afin d'estimer la quantité d'amendement nutritif nécessaire à la croissance microbienne et donc à l'élimination des hydrocarbures du sol. Bien que cela détermine théoriquement les nutriments nécessaires pour la conversion des hydrocarbures totaux en biomasse, l'application du rapport de Redfield pour les expériences de minéralisation ignore que la majorité du carbone qui est minéralisée est généralement converti en CO₂ et est alors perdu du système. Aussi, les espèces inorganiques de l'azote peuvent être perdues à partir du système grâce à des processus nitrification-dénitrification. **(Susan et al. 2003).**

2.2. Rapport 120/10/1

Thomas et al. (1992) ont suggéré que le rapport C/N/P favorable doit être maintenu à 120/10/1 pour permettre la croissance et l'activité microbienne de se produire et donc une meilleure élimination des hydrocarbures.

2.3. Rapport 100/10/1

Le rapport carbone/azote/ phosphore (C/N/P) de 100/10/1 a été fréquemment rapporté comme un niveau de référence pour les approches de biostimulation (**Cheng et Mulla 1999**). Cependant, ce rapport devrait être considéré uniquement comme valeur guide. La concentration optimale des nutriments devraient être testé chaque fois qu'un processus de biorestauration est considéré, comme des solutions universellement applicables ne sont pas valables pour les systèmes biologiques aussi complexes que les sols (**Ruberto et al. 2013**). Par exemple, Liu et al. (2011) ont rapporté une meilleure efficacité d'élimination des hydrocarbures en utilisant un rapport C/N/P qui étaient très différents de ceux qui sont considérés comme référence. Pour ces raisons, l'optimisation de cette stratégie est une opération clé avant l'application sur le terrain à grande échelle.

2.4. Rapport 100/5/1

Potter et al. (1999) ont utilisé le fumier de vache et boues activées comme source de nutriment, gardant ainsi un rapport C/N/P de 100/5/1 pour étudier la dégradation des HAP sous conditions de compostage à l'échelle laboratoire. Des études antérieures ont indiqué que la température et le rapport sol / amendement par les déchets biologiques sont des paramètres de fonctionnement importants pour le traitement compostage-bioremediation des sols contaminés.

Depuis une dizaine d'années, la présence de résidus organiques dans le sol comme le fumier, les déchets de jardins, les boues des eaux usées ainsi que les déchets ménagers ont toujours été ajoutés au sol contaminé pour la stimulation de l'activité microbienne par addition de dérivés azotés et phosphorés minéraux demeure privilégiée. Le fait qu'ils contiennent une richesse en nutriments (Azote, phosphore) leur assure une place privilégiée dans l'amendement de sols. Ils peuvent servir comme stimulants dans le domaine du traitement de sols contaminés par les hydrocarbures, mais le fait qu'ils contiennent des pathogènes ainsi que des métaux lourds les rend dangereux sur l'environnement (**Espinoza, 2003**).

2.5. Rapport 150/10/3

La biostimulation par l'enrichissement en éléments nutritifs et la phytorestauration ont été étudiées pour la restauration d'une terre humide d'eau douce subissant un stress aigu expérimentalement exposés à du pétrole brut.

L'étude a permis de déterminer l'efficacité de l'addition de fertilisants dans l'amélioration du taux de biodégradation du pétrole résiduelle, ainsi que la durée du traitement en présence et en absence d'engrais inorganique et le rôle des éléments nutritifs dans l'amélioration de la restauration des zones humides en l'absence de plantes de terres humides saines.

Le phosphore a été fourni en excès selon le rapport de C/ P de 50 / 1, tandis que l'amendement en azote a été suivant un rapport molaire de 15/1. (Venosa et al, 2002)

3. Effet des différents rapports C/N/P sur la croissance microbienne et l'enlèvement des hydrocarbures

Le rapport C/N/P a une influence directe sur la croissance des micro-organismes responsables de la biodégradation des polluants. La pollution par le gasoil en est un exemple :

a- La biostimulation (aérobie) a été suivie selon 3 rapports C/N/P de 60/2/1, 100/10/1, et 106/16/1 pour différents taux d'humidité (Hu) 10%, 15%, 25% (Boukoucha.2009) L'amendement en azote a été réalisé sous forme de NH_4Cl et en phosphore sous forme de KH_2PO_4 . Il a été constaté qu'une croissance optimale est obtenue pour un rapport C/N/P = 60/2/1 et un taux d'humidité de 10% avec un rendement d'élimination des hydrocarbures totaux du gasoil plus important qui atteint une valeur maximale de 82,0%.

b- Une autre étude traite de la bioremédiation d'un sol pollué par du gasoil à raison de 10% dans un réacteur mécaniquement agité est réalisée en procurant aux micro-organismes indigènes un environnement favorable à leur développement. La biostimulation réactionnel repose sur l'addition d'azote et de phosphore suivant trois rapports molaire C/N/P égal à 100/10/1, 106/16/1 et 120/10/1. La détermination du taux de croissance maximum a permis de comparer les vitesses de croissance bactérienne pour les trois rapports molaires, le taux de croissance le plus important est de 0,478 trouvé dans le cas de rapport C/N/P de 100/10/1. Le rendement d'élimination des hydrocarbures existant dans le gasoil est important pour les trois rapports, il atteint les 100% pour certains (Abismail ,2011).

c- Dans le but d'étudier l'influence du rapport molaire C/N/P : l'évolution de la biomasse, la concentration en gasoil ont été suivie dans le cas d'un sol contaminé à raison de 1% à une température et un taux d'humidité maintenus constants et égaux respectivement à 20°C et 15%. Des échantillons de sols (410g) sont après pollution amendés en azote et phosphore suivant différents rapports à l'exception d'un qui servira de témoin. Les rapports utilisés sont : 100/10/1, 100/20/1, 100/5/1 et 60/2/1. L'échantillonnage de sol a été effectué tous les cinq jours.

Les rapports les plus favorables à la croissance bactérienne dans des microcosmes sont le 100/5/1 (8.10^7 UFC/g) et le 60/2/1 (4.10^7 UFC/g) bien que les différences soient peu significatives.

Les résultats de la biomasse dans les différents systèmes étudiés sont cent (100) fois plus grands que ceux dans le cas du sol non amendé. A la fin du traitement, après 22 jours, la biomasse diminue pour l'ensemble des systèmes et le témoin probablement du fait de l'épuisement des nutriments qui devient un facteur limitant pour la croissance bactérienne. (Merabet, 2012)

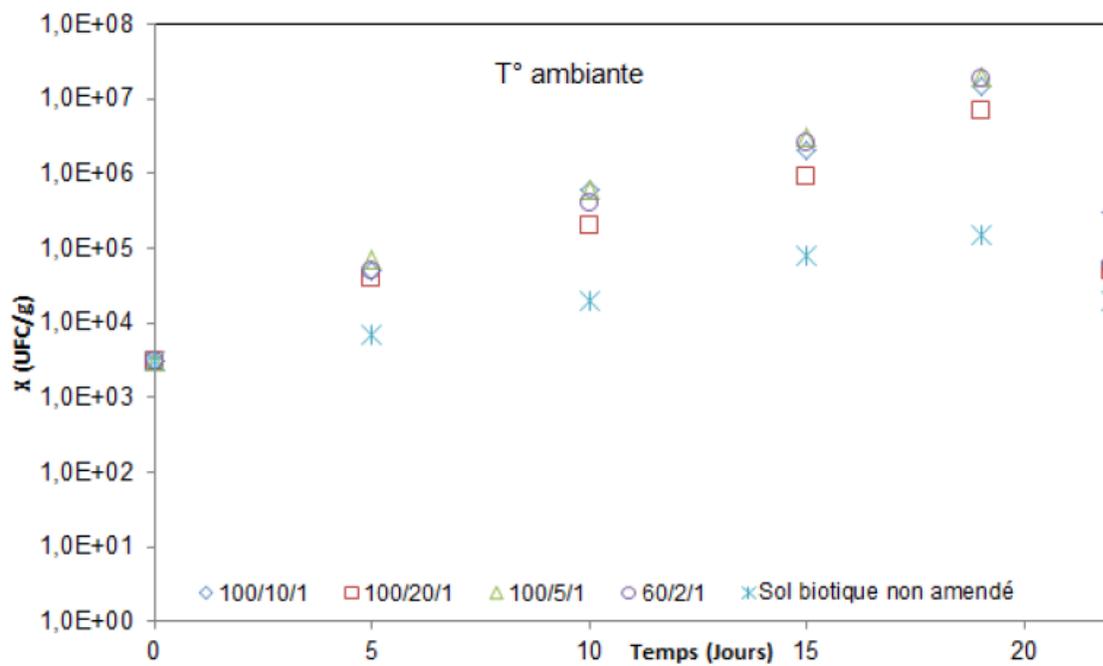


Figure 2.1 : Evolution de la biomasse dans le sol dans les différents microcosmes (Merabet, 2012)

Conclusion générale

Conclusion générale

La performance des méthodes biologiques pour le traitement d'une grande variété de composés organiques et inorganiques est prouvée depuis déjà plusieurs années. Leur développement et leur utilisation à l'échelle industrielle croît de façon exponentielle. Le traitement biologique est devenu populaire en tant que méthode simple et non coûteuse pour la réduction des hydrocarbures.

L'objectif principal de ce travail est d'étudier l'influence des nutriments sur la biodégradation des sols contaminés par des produits pétroliers en se référant aux différents rapports C/N/P préconisés par les différents auteurs.

Plusieurs études ont porté sur la relation entre l'apport d'azote et du phosphore, fournis par les fertilisants, qui sont toujours des facteurs limitants pour la biodégradation dans les sols pollués et l'élimination des hydrocarbures dans les sols. En effet, selon Tane et Kinako (2008), les hydrocarbures ont une forte teneur en carbone et les microorganismes utilisent ou immobilisent les éléments nutritifs disponibles (N et P) pour dégrader ces derniers, et créent donc un déficit en nutriments.

Les carences nutritionnelles causées par la contamination aux hydrocarbures du sol peuvent cependant être compensées par l'apport d'engrais. Lee et al. (2011) ont étudié l'effet de la biostimulation sur la biodégradation du gasoil dans le sol et ont constaté que l'adjonction d'éléments nutritifs a fortement augmenté l'activité des micro-organismes par rapport au sol non traité.

L'effet de la modification des éléments nutritifs indique que la non disponibilité des nutriments est un important facteur limitant, pour la bioremédiation naturelle du sol contaminé considéré dans ce travail. La biostimulation avec addition d'engrais (N et P) a été signalée comme un facteur important pour améliorer la bioremédiation des sols (Mariano et al, 2007).

Et donc la disponibilité des nutriments en quantités et proportions suffisantes est très importante, ce qui revient à trouver les rapports C/N/P optimaux.

Références Bibliographiques :

- Abismail M,(2011).** Bioremédiation d'un sol pollué par le gasoil en réacteur triphasique, thèse de magister, Ecole Nationale Polytechnique.
- 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, Ecole nationale polytechnique, Alger.
- Atlas R. M.(1995).**Bioremediation of Petroleum Pollutants. International Biodeterioration et Biodegradation 311-32.
- Ballerini.D (1999).**Traitements biologiques des sols ''Techniques de l'ingénieur''.
- Berry K. A. T., Burton D. L., (1997).**Natural attenuation of diesel fuel in heavy clay soil, Canadian Journal of soil science, 77, pp 469-477.
- Blanca Antizar-Ladislao, Joe Lopez-Real, Angus J. Beck ,(2004).**In-vessel composting–bioremediation of aged coal tar soil: effect of temperature and soil/green waste amendment ratio , Environment International.
- Brinkmann.D, J. Röhrs.J , Schügerl.K. (1998).** "Bioremediation of diesel fuel contaminated soil in a rotating bioreactor" Chem. Eng. Technol, vol. 21, pp168-172 .
- Boukoucha. A,(2009).** Bioremédiation d'un sol pollué par le gasoil sous des conditions aérobies, thèse d'ingénieur, Ecole Nationale Polytechnique.
- BRGM - Saada A., Nowak C., Coquereau N. (2005).** Etat des connaissances sur l'atténuation naturelle des hydrocarbures- rapport intermédiaire : 107p.
- Baker, K. H. et. Herson D. S.,(1994).** Bioremediation, McGraw Hill, New York, U.S.A.
- Carolyn A.David ,(2014).** The feasibility of enhancing petroleum hydrocarbon biodegradation under high salinity through selective biostimulation, Degree of master of engineering, McGill University Montreal.
- Chaîneau C. H. , Morel J. L., and Oudot J.(2000).** "Biodegradation of fuel oil hydrocarbons in the rhizosphere of maize", Journal of Environmental Quality, vol. 29 N° 2, pp 259-278.
- Costes J.M., Druelle V. (1997).** Les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans l'environnement : la réhabilitation des anciens sites industriels. Revue de l'institut français du pétrole vol 52 n°4. 16p
- Claudia M. Walecka-Hutchison & James L. Walworth (2006).** Assessment of C:N Ratios and Water Potential for Nitrogen Optimization in Diesel Bioremediation, Bioremediation Journal, 10:1-2, 25-35,

Colombano .S, Saada .A, Guerin .V, Bataillard .P, Bellenfant .G, Beranger .S, Hube .D , Blanc .C, Zornig .C et Girardea .I.,(2010). Quelles techniques pour quels traitements - Analyse coûts-bénéfices, Rapport BRGM/RP, 399p.

Cheng H, Mulla DJ (1999). The Soil Environment in: Bioremediation of contaminated soils. Adriano, D.C. et al.(Ed.) Madison: ASA/CSSA/SSSA. p.1-13.

Charissou A-M., Lejeune Ph. (2009). Etat de l'art sur les potentialités des techniques de bioaugmentation dans le traitement des déchets, sédiments et sols pollués, 100 p.

Che, M.-D,(2002). "Conservative Cost Estimate Including Investigation and Monitoring Expenses," In: Soil and Groundwater Remediation Conference Proceeding, Taipei, Taiwan, p. 73 .

Chaouki M , Zeddouri A. Siboukeur H, (2014). Study of Mineral and Organic pollution of the unsaturated zone (UZ) of the bowl Ouargla, Southeast Algerian. Energy Procedia 50 p :567 – 573

Cassidy D. P., Efendiev S. et White D. M.(2000), A comparison of CSTR and SBR bioslurry reactor performance, Wat. Res, 34, p 4333-4342.

Dimitrios P. Komilis & Aggeliki-Eleni K. Vrohidou & Evangelos A. Voudrias, (2010). Kinetics of Aerobic Bioremediation of a Diesel-Contaminated Sandy Soil: Effect of Nitrogen Addition, Water Air Soil Pollut 208:193–208

Davis .J. W., Madsen. S, (1996) "Factors affecting the biodegradation of toluene in soil" Chemosphere, vol 33, N°1, pp 107-130.

EPA.U.S (2004). How to evaluation alternative cleanup technologies for underground storage tank sites : a guide for corrective action plan reviewers (EPA 510-R-04-002).

Espinoza .Y. Rivera, Dendooven L.,(2003). Dynamics of carbon, nitrogen and hydrocarbons in diesel-contaminated soil amended with biosolids and maize, Laboratory of Soil Ecology, Department of Biotechnology and Bioengineering, Mexico.

Fotinich. A. Dhir .V. K , Lingineni. S.(1999) . Remediation of simulated soils contaminated with Diesel, Journal of Environmental Engineering, P36-46.

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, université de Limoges .

Ghazali M. G., Abdulrahman R. N. Z, Salleh .A., Basri .M.(2004) «Biodegradation of hydrocarbons in soil by microbial consortium" International Biodeterioration and biodegradation, vol. 54 p 61-67 .

Greer .C. W, Fortin .N, Roy. R, Whyte. L. G, and Lee .K .(2003).«Indigenous Sediment microbial activity in response to nutrient enrichment and plant Growth Following a controlled oil spill on a Freshwater wetland", Bioremediation Journal, vol. 7, N°1, p 69-80 .

Gibb A., Chu A., Chik Kwong Wong R., et Goodman R. H.,(2001).“Bioremediation kinetics of crude oil at 5°C”, *Journal of Environmental Engineering*, p 818-823 .

Girard .M.-C, Walter .C, Rémy . J.-C, Berthelin .J, Morel. J.-L, (2011).Sols et environnement. (Dunod).

Gan .S, Lau.E, (2009) Ng, Remediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Journal of Hazardous Materials* 172, 532 .

Iqbal, J., Metosh-Dickey, C. and Portier, R. J., (2007)."Temperature effects on bioremediation of PAH and PCB contaminated south louisiana soils: a laboratory mesocosm study." *Journal of Soils and Sediments* 7(3): 153-158.

Jeannot R., Lemièrè B., Chiron S. Augustin F. et Darmendrail D.,(2000). Guide méthodologique pour l'analyse des sols pollués. Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement. France.

Ledakowicz S. et Solecka M. (2000). "Impact of advanced oxidation processes on the biodegradation kinetics of industrial wastewater", *Water science and technology* vol. 41, N°12, pp157-164.

Li.G, Huang.W, Lerner.D.N et Zhang.X,(2000). "Enrichment of degrading microbes and bioremediation of petrochemical contaminants in polluted soil" *Water Research* vol. 34, N°15, pp 3845-3853 .

Mariano A.P., Kataoka A.P., De Angelis D.F., Bonotto D.M. (2007) . Laboratory study on the bioremediation of diesel oil contaminated soil From a petrol station. *Brazilian Journal of Microbiology* 38: p346-353.

Merabet H,(2012). Influence des nutriments sur la biodégradation d'un sol contaminé par du gasoil, thèse de magister, Ecole Nationale Polytechnique.

Potter CL, Glaser JA, Chang LW, Meier JR, Dosany MA, Herrmann RF,(1999). Degradation of polynuclear aromatic hydrocarbons under bench-scale compost conditions. *Environ Sci Technol* ;33:1917– 25.

Perelo, L.W. (2010). Review: In situ and bioremediation of organic pollutants in aquatic sediments. *J. Hazard. Mater.*P:81-89.

Ruberto L, Vázquez SC, Mac Cormack WP (2003). Effectiveness of the natural bacterial flora, biostimulation and bioaugmentation on the bioremediation of a hydrocarbon contaminated Antarctic soil. *International Biodeterioration and Biodegradation* 52:p 115–125.

Rosenberg E., Legman R., Kushmaro A., Adler E., Abir H. et Ron E. Z,(1996).Oil bioremediation using insoluble nitrogen source, *Journal of Biotechnology*, 5, p 273-278.

ROUDIÈRE Pascal,(2005). Techniques de réhabilitation des sites et sols pollués, Techniques de l'ingénieur, c5582.

Roger P. et Jacq V.,(2000). Introduction à la bioremédiation des sols, des eaux et de l'air. Université de Provence Aix-Marseille 1. 99p.

Ron .E, Rosenberg. E,(2010). Role of fertilizers : biostimulation, Springer Reference

Susan H. Ferguson^{a,b}, Peter D. Franzmann^c, Andrew T. Revill^d, Ian Snape^b, John L. Rayner^c,(2003). The effects of nitrogen and water on mineralisation of hydrocarbons in diesel-contaminated terrestrial Antarctic soils, *Cold Regions Science and Technology* 37 ,p 197– 212.

Schultz., Christian.(1998), Method for the rehabilitation of soil contaminated by hydrocarbons and other substances, (301, coteau de guindalos, Gélou, F-64110, France), Publication de 30/09/1998.

Sang-Hwan, I., Seokho, I., Dae Yaeon, K., Jeong-gyu, K., (2007). Degradation characteristics of waste lubricants under different nutrient condition. *J. hazard. mater.*, 143: 65-72.

Thomas, J.M., Ward, C.H., Raymond, R.L., Wilson, J.T., Loehr, R.C., (1992). Bioremediation. *Encyclopedia of Microbiology* 1, 369–385.

Tarayre. C,(2012). Bioremédiation de sols pollués aux hydrocarbures. Editions Universitaires Européennes. 116p

Tanee F. B. G., Kinako P.D.S. (2008). Comparative Studies of Biostimulation and Phytoremediation in the Mitigation of Crude Oil Toxicity in Tropical Soil *J. Appl. Sci. Environ. Manage.* Vol. 12(2) 143 – 147.

Vidali M. (2001). Bioremediation. An overview. *Pure Appl. Chem.*, Vol. 73, No. 7, p. 1163–1172.

Vogel Timothy M., (2001). Bioremédiation des sols, Techniques de l'ingénieur, J3.

Venosa A. D., Lee K., Suidan M. T., Garcia-Blanco S., Cobanli .S, Moteleb .M, Haines. J. R, Tremblay. G, Hazelwood .M,(2002) «Bioremediation and biorestitution of Crude oil contaminated Freshwater wetland on the St. Lawrence River", *Bioremediation Journal* vol. 6, N°3, p261-281.

Venosa A. D., Lee K., Suidan M. T., Garcia-Blanco S., Cobanli S., Moteleb M., Haines J. R., Tremblay G. et Hazelwood M.,(2002). Bioremediation and biorestitution of Crude oil contaminated Freshwater wetland on the St. Lawrence River, *Bioremediation Journal*, 6, p 261-281.

Venny a, Suyin Gan a, Hoon Kiat Ng,(2012). Current status and prospects of Fenton oxidation for the decontamination of persistent organic pollutants (POPs) in soils, *Chemical Engineering Journal* 213 , 295-317.

Williams, RT, Keehan, RK,(1993). Hazardous and industrial waste composting Hoitink, HAKeeper, HMeds. *Science and Engineering of Composting: Design, Environmental, Microbiological and Utilization Aspects* Ohio State University, Renaissance Publication Worthington, p 363-382.

Yaron B., Calvet R., Prost R., (1996). Soil pollution : Processes and Dynamics. Springer, 313 p.

Ying.w, Namkoong Wan, Eui-Young Hwangb., W. Fang, W. Tao, Y. Xing-Lun, B. Yong-Rong, F.O. Kengara, L. Zeng-Bo et J. Xin (2011), Effects of autoclaving and mercuric chloride sterilization on pahs dissipation in a two-liquid-phase soil slurry, *Pedosphere*, Vol.21 N°.1 P56–64.

Yu S.H., Wong Y.S., Yau K.W.Y, Tam N.F.Y. (2005).Natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation on biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in mangrove sediments.*Marine pollution Bulletin* 51: 1071-1077