

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Polytechnique



Ecole Doctorale

Science de l'eau et développement durable

MEMOIRE DE MAGISTER

Option

Sciences et Techniques de l'Environnement

Thème

Bioremédiation

d'un sol pollué par le gasoil en réacteur triphasique

Présenté par :

Mr ABISMAIL Mohamed

Ingénieur d'Etat en génie de l'Environnement

Devant le jury :

Président :	Mr R. KHERBACHI	Professeur (E.N.P)
Examineurs :	Mme D. HARIK	Professeur (E.N.P)
	Mme A. HELLAL	Professeur (E.N.P)
	Mme F. BENTAHAR	Professeur (U.S.T.H.B)
Directrice :	Melle J. ARRAR	Maitre de conférence (E.N.P)

2010/2011

ملخص:

تتناول هذه الدراسة، المعالجة البيولوجية للتربة الملوثة بالنفط التربة الملوثة بالديزل بنسبة 10 غ/كغ من التربة تعالج في مفاعل ميكانيكي و في ظروف هوائية، تجارب أولية تمت لتحديد الظروف المثلى من تحريك و تهوية , و ذلك لانتقال مادة أمثل، لقد استخلصنا بان وقت تشبع الوسط بالأكسجين ينقص بوجود التربة، المعالجة البيولوجية للتربة الملوثة بالديزل في المفاعل يعتمد على الكائنات الحية الموجودة أصلا في التربة و التي تم تحفيزها بإضافة الفسفور، الأزوت، حسب التقرير التالي 100/10/1 و 106/16/120,1/10/1.

لقد وجدنا المعامل 100/10/1 يعطي أحسن نمو للبكتريا و يقدر ب 0,478. إن المعالجة البيولوجية للتربة الملوثة بالديزل أدت إلى إزالة جيدة لهيدرو كربونات و قد وصلت الى نسبة 100% في بعضها.

كلمات مفتاحية: التربة , التلوث البيولوجي , انتقال المادة, المعالجة البيولوجية.

Résumé

La présente étude traite de la bioremédiation d'un sol pollué par les hydrocarbures. Le sol pollué par le gasoil à une concentration de 10g/kg du sol, est traité dans un réacteur agité mécaniquement, dans des conditions aérobies.

Des essais préliminaires ont été effectués pour déterminer les conditions optimales d'agitation et d'aération pour un transfert optimal entre les différentes phases en présence dans le réacteur et le maintien en suspension du sol. En eau claire, le coefficient de transfert d'oxygène augmente linéairement avec la vitesse d'agitation et le débit d'aération. La présence de solide affecte le temps de saturation en oxygène, une nette diminution du temps de saturation et par conséquent une diminution du coefficient de transfert K_{La} est observée.

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 nous 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.

Mots clés: sols, polluants organiques, transfert de matière, bioremédiation,

Abstract:

The present study treats of the bioremediation of a ground polluted by hydrocarbons. The ground polluted by the gasoil with a concentration of 10g/kg of the ground, is treated in a mechanically agitated jet engine in aerobic conditions.

Preliminary tests one carried out to determine the optimum conditions of agitation and ventilation for an optimal transfer between the various phases in presence in the jet engine and maintains it in suspension ground. In clear water, the coefficient of transfer of oxygen increases linearly with the stirring velocity and the flow of ventilation. The presence of solid affects the time of saturation oxygen, a net decrease in the time of saturation and by consequence a reduction in the coefficient of K_{La} transfer is observed.

The bioremediation of a ground polluted by gasoil at a rate of 10% in a mechanically agitated jet engine is carried out by getting for the indigenous micro-organisms an environment favorable to their development. The biostimulation reactional rests on the addition of nitrogen and phosphorus following three reports molar C/N/P equal to 100/10/1, 106/16/1 et 120/10/1.

The determination of maximum growth rate enabled us to compare speeds of bacterial growth for the three molar reports, the most important growth rate of 0,478 is found in the case of report C/N/P of 100/10/1.

The output of elimination of hydrocarbons existing in the gas oil is important for the three reports, he reaches the 100% for some.

Keywords: soils, organic pollutants, mass transfer, bioremediation.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au laboratoire des phénomènes de transfert de la faculté de Génie Mécanique et de Génie des Procédés à l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (U.S.T.H.B), sous la direction scientifique du Professeur **F. BENTAHAR**, que je remercie vivement de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire. Qu'elle trouve aussi ici toute ma gratitude pour les conseils qu'elle m'a dispensé tout au long de l'accomplissement de cette recherche ainsi que pour avoir accepté d'en être l'examinatrice. C'est avec son soutien que ce travail a pu aboutir.

Je remercie vivement ma promotrice **Mademoiselle J. Arrar**, maître de conférences à l'ENP, d'avoir proposé le sujet ainsi que pour ses conseils et orientations tout au long de ce travail.

Je remercie **Monsieur R. Kerbachi**, Professeur à l'E.N.P, pour l'honneur qu'il m'a fait en présidant le jury, qui aura à juger le présent travail.

Mes remerciements les plus respectueux vont également à **Madame A. Hellal** Professeur (ENP) et **Madame D. Harik** Professeur (ENP) pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes profondes amitiés et reconnaissances vont à toute l'équipe du laboratoire des phénomènes de transfert.

Enfin, notre pensée pour tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce travail.

LISTE DES FIGURES

- Figure.1** : Perturbation du potentiel de transfert en présence d'entraînement de surface.
Figure.2 : Schéma du montage expérimental.
Figure.3 : Evolution temporelle de la concentration en oxygène.
Figure.4 : Evolution de $-\ln[(C^*-C_L)/(C^*-C_0)]$ en fonction du temps.
Figure.5 : Evolution de $k_L a$ en fonction de la vitesse d'agitation.
Figure.6 : Evolution temporelle de la concentration en oxygène dissous dans le cas de sol S1.
Figure.7 : Evolution temporelle de la concentration en oxygène dissous dans le cas de sol S2.
Figure.8 : Evolution temporelle de la concentration en oxygène dissous dans le cas du sol S2. pour différents débits d'aération et vitesse d'agitation.
Figure.9 : Evolution de $k_L a$ en fonction de la vitesse d'agitation dans le cas de sol S1.
Figure.10 : Evolution de $K_L a$ en fonction de la vitesse d'agitation dans le cas de sol S2.
Figure.11 : Evolution de la rétention gazeuse en fonction de la vitesse.
Figure.12 : Evolution de la biomasse au cours du temps pour différents rapports C/N/P.
Figure.13 : Evolution de la biomasse au cours du temps pour différents rapports C/N/P (sol abiotique).
Figure.14 : Evolution de la concentration réduite des nitrates en fonction du temps.
Figure.15 : Evolution de la concentration réduite des nitrites en fonction du temps.
Figure.16 : Evolution de la concentration réduite des phosphates en fonction du temps.
Figure.17 : Spectre chromatographique de l'échantillon de gasoil.
Figure.18.a : Spectre de l'échantillon liquide à $t=10$ jours (C/N/P=100/10/1).
Figure.18.b : Spectre de l'échantillon liquide à $t=10$ jours (C/N/P=106/10 /1).
Figure.18.c : Spectre de l'échantillon liquide à $t=10$ jours (C/N/P=120/10/1).
Figure.18.d : Spectre de l'échantillon liquide à $t=0$ jour.

LISTE DES TABLEAUX

- Tableau 1** : effets toxicologiques de quelques familles d'hydrocarbures.
Tableau2 : Technique de traitement des sols pollués par les hydrocarbures.
Tableau3 : Exemples de résultats obtenus par bioréacteur.
Tableau4 : Conditions opératoires.
Tableau5 : Caractérisation physico-chimique des sols étudiés.
Tableau6 : Coefficient de transfert de matière en l'absence de solide.
Tableau7 : Coefficient de transfert $K_L a$.
Tableau8 : Rétention gazeuse α .
Tableau9 : Taux de croissance maximum des micro-organismes autochtones.
Tableau10 : Le rendement d'élimination des hydrocarbures dans le réacteur.

Sommaire

	Page
INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE I REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	
I.1. Pollution du sol	3
I.2. hydrocarbures	3
I.2.1. Les hydrocarbures saturés	3
I.2.2. Les hydrocarbures insaturés	4
I.2.3. Hydrocarbures aromatiques	4
I.3. Propriétés	5
I.4. devenir des hydrocarbures dans le sol	6
I.4.1. Evaporation	6
I.4.2. Photo-oxydation	6
I.4.3. Biodégradation	6
I.5. Méthodes de traitement des sols pollués par les hydrocarbures	6
I.5.1. Biodégradation par traitement in situ (bioventing)	8
I.5.2. Biotertre et Landfarming	8
I.5.3. La phytoremédiation	9
I.5.4. Traitement en bioréacteurs	9
I.5.4.1. Bioréacteurs type boues activées	9
I.5.4.2. Bioréacteurs à sol statique	9
I.6. Biodégradation des hydrocarbures	10
I.6.1. Microorganisme dégradeurs	10
I.6.1.1. Biodégradation des hydrocarbures aliphatiques	11
I.6.1.2. Biodégradation des hydrocarbures aromatiques	11
I.6.1.3. Biodégradation du gasoil	12
I.6.2. Facteurs limitant la biodégradation	13
I.6.2.1. Potentiel hydrogène et potentiel redox	13
I.6.2.2. Besoins en nutriments	13
I.6.2.3. Présence d'accepteurs d'électrons	13
I.6.2.4. Température	13
I.6.2.5. Taux d'humidité	14
I.6.2.6. Biodisponibilité	14
I.7. Paramètres hydrodynamiques	14
I.7.1. Taux de rétention	14
I.7.2. Puissance d'agitation	15

I.7.3. Etude de transfert de matière	17
I.7.3.1. Solubilité des gaz en phase liquide	17
I.7.3.2. Flux de matière	17
I.7.3.3. La conductance de transfert	18
I.7.3.4. Le coefficient volumique de transfert	18
I.7.3.4.1. Théorie	18
I.7.3.4.2. $K_{L,a}$ et dimensionnement	19
I.7.3.4.3. Influences physiques, chimiques et mécanique sur $K_{L,a}$	19
a) Effet de la puissance dissipée sur $K_{L,a}$	19
b) Effet du débit d'aération sur $K_{L,a}$	20
c) Effet des agents de surface sur $K_{L,a}$	20
d) Effet de la viscosité sur $K_{L,a}$	21
e) Effet de la température sur $K_{L,a}$	21
f) Effet de la présence de particules solides sur $K_{L,a}$	21

CHAPITRE II INSTALLATION EXPERIMENTALE ET METHODES DE MESURE ET DE CALCULS

II.2. Matériels	24
II.3. Méthodes de mesures	25
II.3.1. Diamètre moyen des particules	25
II.3.2. pH	25
II.3.3. Humidité et matière sèche	25
II.3.4. Matière organique	25
II .3.5. Dosage des hydrocarbures	25
II .3.5.1. Extraction des hydrocarbures de la phase solide	26
II .3.5.2. Extraction des hydrocarbures de la phase liquide	26
II .3.5.3. Analyse par chromatographie en phase gazeuse	26
II.3.6. Dosage des nutriments	26
a) Nitrites	
b) Nitrates	27
c) Azote ammoniacal	27
d) Phosphore	27
II.3.7. Carbone organique	27
II.3.8. Teneur en oxygène	28
II.3.9. Rétention gazeuse	28
II.3.10. Analyse microbiologique	28

CHAPITRE III RESULTATS EXPERIMENTAUX ET DISCUSSION

III.1. Etude du sol	30
III .1.1. Caractéristiques des sols	30
III .1.1.1. Caractéristiques physico-chimiques du sol	31
III.1.1.2. Caractéristiques biologiques du sol	32

III.2. Etude hydrodynamique	32
III.2.1. Etude de transfert de matière	32
III.2.1.1. Coefficient de transfert en eau claire	33
III.2.1.2. Coefficient de transfert en présence de solide	37
III.2.2. Taux de rétention	45
III.3. Traitement en bioréacteur	47
III.3.1. Procédure expérimentale	47
III.3.2. Croissance microbienne	47
a) Système biotique	47
b) Système abiotique	49
c) Taux de croissance μ_{\max}	49
III.3.3. Evolution de la teneur en nutriments	50
III.3.3.1. Evolution des nitrates [NO ₃]	50
III.3.3.2. Evolution des nitrites [NO ₂]	51
III.3.3.3. Evolution des phosphates	52
III.3.4. Biodégradation du gasoil	54
III.3.4.1. description des chromatogrammes de l'échantillon étalon	54
III.3.4.2. influence du rapport C/N/P sur l'élimination du gasoil	56
Conclusion générale	58

Nomenclature

Alphabet francophone

a	aire interfaciale par unité de volume de liquide	m^{-1}
A_p	Pression mesuré.	atm
$C_L(t)$	Concentration en oxygène dissous à l'instant t	$mg.L^{-1}$
C_L^*	Concentration en oxygène dissous à la saturation	$mg.L^{-1}$
D_A	Coefficient de diffusion de l'espèce A.	$m^2.s^{-1}$
D	Coefficient de diffusion	$m^2.s^{-1}$
d	Diamètre des particules	μm
d	Dilution	-
$d_{\text{harmonique}}$	Diamètre harmonique	μm
E	Energie d'activation	cal.g ⁻¹ ou J.mol ⁻¹
H	Hauteur à d'état aéré.	m
H_L	Hauteur à d'état aéré.	m
H	Constante de Henry.	-
k_L	Conductance de transfert en phase liquide.	$m.s^{-1}$
k_G	Conductance de transfert en phase gazeuse.	$mol.bar^{-1}.m^{-2}.s^{-1}$
K_{ow}	Coefficient de partage Octanol /eau.	-
N_A	Densité de flux de transfert (diffusion + transport).	$mol.m^{-3}.s^{-1}$
N_{A0}	Densité de flux molaire à l'interface.	$mol.m^{-2}.s^{-1}$
N	Nombre des microorganismes en	ufc/ mL
n	nombre des colonies dénombrées	
P_0	Puissance d'agitation dissipée par le liquide seul.	W
P_a	Puissance d'agitation dissipée par la dispersion.	W
p_A	Pression partielle.	Atm
p_A	Pression partielle au sein de la phase gazeuse	atm
p_{A0}	Pression partielle à l'interface.	Atm
R	Densité de flux de diffusion.	$mol.m^{-2}.s^{-1}$
T_{eb}	Température d'ébullition.	°C
U	Facteur d'uniformité	-
V	Volume de l'émulsion.	m^3
V_g	Volume occupé par le gaz.	m^3
V'	Volume de la solution de bichromate de potassium (quantité oxydante + excès)	mL
V	volume de la solution de sel de Mohr.	mL
V_0	volume da la solution de sel de Mohr versés pour le témoin	mL
W_A	Le flux transféré par l'ensemble du réacteur	$mol.s^{-1}$
X_A^*	Concentration du gaz A dissous.	$mol.m^{-3}$
X_A	Concentration de l'espèce A.	$mol.m^{-3}$
X_{A0}	Concentration à l'interface.	$mol.m^{-3}$
X_A	Concentration au cœur de la phase liquide.	$mol.m^{-3}$
Cs	Concentration de solide	g solide/g liquide

Alphabet grec

α	Taux de rétention gazeux
σ	Tension de surface
μ	Viscosité dynamique
μ_{\max}	Taux de croissance maximum
ρ	Masse volumique

-
dyne.cm⁻¹
Pa s
h⁻¹
kg.m⁻³

Exposants et indices

in	A l'entrée de réacteur
off	En sortie de phase dispersée
out	En sortie de réacteur
loc	Variable locale

ABBREVIATIONS

ATP	Adénosine triphosphate
BTEX	Benzène, Toluène, Ethylbenzène, Xylène
HAP	hydrocarbures polyaromatiques
EPA	Agence Américaine de protection de l'environnement
UV	ultra violet
PCB	Polychlorobiphényl
CSTR	Bioréacteur agité en phase boueuse

- Introduction générale -

Au fil des années, le nombre de sites contaminés n'a cessé de croître. Leur contamination est la conséquence de déversements accidentels, des rejets industriels ou tout simplement de l'enfouissement de déchets sur les terrains des usines.

La pollution du sol peut s'avérer dangereuse pour la santé humaine et l'environnement et être à l'origine de la contamination du sous sol et des eaux souterraines.

Plusieurs secteurs d'activités génèrent des déchets potentiellement dangereux. L'industrie pétrolière avec sa multitude de réservoirs souterrains contenant des hydrocarbures, constitue la principale source de pollution des sols. C'est un problème d'actualité auquel est confronté l'environnement aujourd'hui.

Il existe une grande variété de procédés disponibles pour la remédiation d'un site. La plupart sont chers et nécessitent l'utilisation de technologies complexes.

La Bioremédiation offre une solution de choix, économique et environnementale sans transfert des polluants. De plus, elle peut être appliquée à une grande variété de contaminants et le sol traité ne perd pas ses propriétés.

Dans le domaine de la bioremédiation des sols, nous nous intéresserons aux traitements ex situ, les bioréacteurs, pour traiter un sol pollué par le gasoil.

Le mémoire comprend deux parties principales :

- ✚ Une synthèse bibliographique, dont une partie est consacrée aux hydrocarbures, à leur toxicité et aux pollutions qui en découlent. Nous aborderons également les différents procédés de traitement des sols contaminés par les hydrocarbures, leurs avantages et inconvénients. La dernière partie, décrit de manière explicite, la bioremédiation, procédé de traitement adopté pour notre étude.

- ✚ Une partie expérimentale, qui comprend principalement trois volets :

Le premier est une présentation, du matériel et réactifs et des méthodes analytiques utilisés pour la réalisation de ce travail expérimental,

Le deuxième volet regroupe les essais préliminaires pour déterminer les conditions optimales d'agitation et d'aération pour assurer un transfert optimal entre les différentes phases en présence dans le réacteur.

Le troisième volet consacré au traitement biologique, vise à déterminer l'influence du rapport carbone/azote/phosphore sur le taux de croissance microbienne et l'élimination du gasoil du sol.

Nous terminons notre étude par une conclusion générale et quelques recommandations.

Partie I

Synthèse

bibliographique

CHAPITRE I

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Dans le sol, 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.

I.1. Pollution du sol

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

Les hydrocarbures sont les polluants organiques les plus fréquents, étant donné le rôle fondamental des produits pétroliers dans l'économie moderne et les quantités énormes utilisées dans le monde, en particulier pour la production d'énergie [1]. C'est pour cela que nous nous intéressons plus particulièrement à la pollution des sols par les hydrocarbures.

I.2. Hydrocarbures

Les hydrocarbures constituent la fraction la plus importante d'un brut pétrolier, ils représentent entre 65 et 95 % de la plupart des pétroles bruts. Les produits pétroliers regroupent quatre familles principales (hydrocarbures saturés, hydrocarbures aromatiques, composés polaires et asphaltènes), qui sont présentes en proportions variables selon leur origine géographique et géologique [2].

I.2.1. Hydrocarbures saturés

On distingue :

- **Les alcanes linéaires (*n*-alcanes, C_nH_{2n+2})**, dont la longueur de la chaîne varie de 7 à 40 atomes de carbone, constituent une des classes les plus abondantes (10 à 40 % des hydrocarbures totaux d'un brut pétrolier).
- **Les alcanes ramifiés**: les plus abondants sont les *iso*-alcanes (groupement méthyle en position 2), les autres composés ramifiés antéiso (groupement méthyle en position 3) ou polyramifiés tels que les isoprénoïdes (exemple: pristane, phytane) sont beaucoup moins nombreux.
- **Les cycloalcanes**, de formule générale C_nH_{2n} , renferment des composés cycliques (à 5 ou 6 atomes de carbone) saturés et le plus souvent substitués et dont l'élimination pose de problèmes car ils sont difficilement dégradables.

A fortes concentrations, les cycloalcanes agissent comme narcotiques du fait de leurs fixations dans les lipides du système nerveux [2].

I.2.2. Hydrocarbures insaturés

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

I.2.3. Hydrocarbures aromatiques

Un hydrocarbure aromatique est une substance dont les molécules possèdent un cycle insaturé à 6 atomes de carbone. On distingue, les aromatiques simples (benzène, toluène, éthyl-benzène et xylène (BTEX)) et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP qui ont été inscrits en 1976 dans la liste des polluants prioritaires établie par l'Agence de protection de l'environnement des Etats-Unis (Environmental Protection Agency, EPA) [3, 4].

Les HAP présentent un risque toxicologique important même à de faibles concentrations. Ils peuvent interagir avec les mécanismes cellulaires soit en se fixant sur les sites lipophiles ou par liaison de leur métabolites hydrophiles avec les structures cellulaires (protéines, ADN) générant des effets à long terme. De plus, les HAP sont peu biodégradables car faiblement biodisponibles, ce qui les rend persistants dans l'environnement.

Le gasoil, l'un des principaux produits de la distillation du pétrole brut, connu par son nom commercial «diesel» et parmi les carburants les plus utilisés dans le monde, ce qui fait de lui une source permanente de pollution du sol et des eaux [5]. Il est composé d'hydrocarbures saturés (n-alcane de 24%, isoalcane et cycloalcane à plus de 46% et de composés aromatiques entre 10 à 30% [6].

Il est classé comme produit cancérigène, il peut provoquer une atteinte des poumons en cas d'ingestion. Toxique pour les organismes aquatiques, il peut entraîner des effets néfastes à long terme pour l'environnement [7].

Le tableau 1 rassemble les effets toxicologiques de quelques familles d'hydrocarbures.

Tableau1 : Effets toxicologiques de quelques familles d'hydrocarbures [8, 9]

Familles d'hydrocarbures		Les effets toxicologiques
Les paraffines saturées	Légers : méthane, éthane, propane, butane	Propriétés anesthésiques à très forte concentration ils peuvent produire des troubles sérieux, digestifs, pneumopathie d'inhalation
	Lourds : pentane, hexane, heptane	-Effet anesthésique irritant ; -Provoquent une légère incoordination motrice.
Les paraffines insaturés	Les oléfines	Effet narcotique, cette action augmente avec le poids moléculaire.
	Les dioléfines	-Action sur les organes hématopoïétiques (rate, moelle) ;
Les cycloparaffines	Cyclopropane, cyclobutane,...etc.	Anesthésiques ou narcotiques. Par exemple le cyclohexane, en plus de son action narcotique et paralysante, peut produire un excès des globules rouges.
Les aromatiques	Benzène, toluène, xylène	Très toxiques ils provoquent des nausées et des modifications de la formule sanguine.
Les aromatiques polycycliques		-Dépression du système nerveux. -Dégénérescence cérébrale pouvant être engendrée par une exposition chronique. -Action irritante sur la peau et les muqueuses

I.3. Propriétés

➤ **Solubilité**

La solubilité peut être un bon indicateur de la tendance d'un produit à être entraîné par les eaux dans un sol. La solubilité des hydrocarbures dans l'eau est très faible. Un hydrocarbure est d'autant plus soluble que sa masse moléculaire est faible et que sa polarité est élevée. Il est important de noter que les hydrocarbures solubles sont parmi les plus dangereux pour l'environnement, ils sont difficiles à éliminer et sont adsorbés par la faune et la flore du sol [10].

➤ **Pression de vapeur**

La pression de vapeur est un indicateur sur la tendance d'un produit à se volatiliser du sol.

➤ **Coefficient de partage octanol /eau (K_{ow})**

Le coefficient de partage octanol-eau K_{ow} correspond au rapport de la concentration d'un hydrocarbure dans deux liquides non mélangés, l'octanol et l'eau. Les composés à forte valeur de K_{ow} s'adsorbent mieux sur les particules solides, et sur la matière organique du sol, qui se traduit par une diminution de la mobilité et de l'accessibilité du polluant [10].

➤ **Densité**

Elle contrôle fortement le comportement des polluants liquides dans la zone saturée si le polluant est immiscible. Le polluant se concentrera en surface de la nappe si la densité est inférieure à 1 et au plancher si celle-ci est supérieure à 1.

➤ **Viscosité**

Plus la viscosité est élevée, plus le déplacement du polluant sera lent. Elle influe sur l'aptitude à l'écoulement et l'infiltration dans le sol.

I.4. Devenir des hydrocarbures dans le sol

Le devenir et la mobilité des hydrocarbures dans l'environnement en général et dans le sol en particulier sont principalement contrôlés par leurs propriétés physico-chimiques et les caractéristiques du sol. Les hydrocarbures dans la nature s'étalent à la surface avant de subir une série de modifications par différents processus dont les plus importants sont :

I.4.1. Evaporation

Ce phénomène touche les fractions de faible poids moléculaire et dépend des conditions atmosphériques (vent, vagues, température,...). Les hydrocarbures les plus légers, ayant de 4 à 12 atomes de carbone ($T_{eb} < 270 \text{ °C}$), sont évaporés rapidement dès les premiers jours, pouvant conduire à une pollution de l'atmosphère [11].

I.4.2. Photo-oxydation

C'est la transformation des hydrocarbures observée à la surface du sol sous l'effet des rayons UV (radiations solaires) [12]. Ce mode de transformation dépend de la nature des hydrocarbures et de la présence de composés non hydrocarbonés [13]. La photo oxydation touche plus particulièrement les composés aromatiques qui sont plus photosensibles que les composés aliphatiques. D'autre part, les composés ramifiés sont plus facilement photo-oxydés que les *n*-alcanes [14].

I.4.3. Biodégradation

La biodégradation est le processus naturel le plus important dans la dépollution des sols contaminés appelé aussi atténuation naturelle. Les microorganismes en sont responsables, en particulier les bactéries [15].

I.5. Méthodes de traitement des sols pollués par les hydrocarbures

Les méthodes de traitements sont nombreuses, on peut les classer en quatre types. Les méthodes physiques consistent à transférer et concentrer les polluants du sol contaminé, sans les modifier ou les détruire [16]. Les méthodes chimiques font appel à un principe réactionnel pour transformer le polluant en un composé moins toxique [17, 18]. Les méthodes thermiques consistent à chauffer le sol contaminé pour en extraire le polluant et le détruire, par incinération ou désorption thermique [19, 20]. Les méthodes biologiques visent à favoriser la biodégradabilité des polluants en accélérant le processus d'atténuation naturelle.

Le principe général de ces méthodes est basé sur la capacité épuratrice des microorganismes [21, 22].

Plusieurs paramètres sont à prendre en compte avant de faire le choix d'une méthode particulière de dépollution : la nature et le degré de pollution du site, la superficie du site et le volume de terre polluée, les objectifs de dépollution et les exigences économiques et administratives [23].

Deux techniques de mise en œuvre Ex-situ ou In situ sont envisageables selon le type de pollution [24, 25]. Les techniques ex-situ consistent en l'excavation des sols contaminés. Ce seront des méthodes hors site si le sol est évacué vers un centre de traitement spécialisé, ou des méthodes sur site si le sol est excavé et redéposé sur le site même pour y être traité. Dans le cas des techniques in situ, la dépollution s'effectue sans excavation du sol.

Le tableau 2 résume les différents types de traitement de sols pollués par les hydrocarbures.

Tableau 2 : Techniques de traitement des sols pollués par les hydrocarbures [18]

Techniques de mise en œuvre	Nature de pollution	Principe de traitement	Type de traitement
In situ	Produits volatils	Extraction des polluants volatils par mise en dépression	Venting (extraction sous vide)
	Hydrocarbures volatils et semi-volatils	Combinaison de la biodégradation et de l'extraction	Bio-venting
Sur site	Hydrocarbures légers et lourds, métaux	Extraction à l'eau ou par ajout d'additifs	Lavage
	Hydrocarbures volatils non chlorés (essences, fuels, kérosènes)	Evaporation et /ou craquage et/ou combustion incomplète	Désorption thermique
Hors site	Hydrocarbures	-Réacteur à boues activées -biopiles -land farming	Biologique
		Calcination	thermique

Les procédés biologiques permettent de dégrader les polluants par l'action de microorganismes (bactéries, champignons...). Ils peuvent être utilisés seuls ou en

complément d'autres techniques. La décontamination par voie biologique consiste donc à stimuler un phénomène naturel pour en augmenter le rendement afin de détruire le polluant organique qui sera utilisé comme source de carbone [26].

La décontamination se fait soit *in situ* en introduisant dans le sol les éléments nécessaires au développement de la biomasse ou bien *ex situ* en traitant le sol excavé. Pour la dégradation des hydrocarbures, différents micro-organismes sont utilisés tels que *Arthrobacter*, *Novocardia* ou *Pseudomonas*. Si la flore locale est inadaptée à la dégradation des polluants ou est peu abondante, des souches bactériennes performantes allochtones peuvent être ajoutées au sol [26].

1.5.1. Biodégradation par traitement in situ (bioventing)

Cette méthode fait appel à des techniques de pompage et d'injection pour fournir de l'oxygène sous forme gazeuse (air, oxygène, ozone), ou liquide (peroxyde d'oxygène) avec injection de nutriments nécessaires à l'activité microbienne. La source d'oxygène est le principal inconvénient de ce système, car l'injection d'eau saturée en air n'est pas suffisante. L'apport d'oxygène s'effectue de plus en plus en phase liquide surtout à partir de peroxyde d'hydrogène. Cependant, cette technique présente trois inconvénients majeurs : son coût, le caractère corrosif de peroxyde d'oxygène, qui attaque les puits d'injection [26], et son pouvoir désinfectant utilisé à de fortes concentrations.

Du fait de la lenteur du processus de dégradation des HAP, notamment attribuable à leur forte adsorption sur le sol, il peut être nécessaire d'augmenter la biodisponibilité des HAP par ajouts de tensioactifs. En effet, Kosaric (2001) [27] a observé une réduction significative de la concentration en HAP après 22 jours de bioremédiation et ajout de bio tensioactifs.

1.5.2. Bioterre et Landfarming

Le bioterre et le landfarming regroupent toutes les applications mettant en œuvre des lots de terres contaminées de différentes hauteurs, y compris ceux auxquels ont été additionnés des matières végétales (composts).

Le sol est étalé après excavation sur une grande surface imperméable, sur une épaisseur de quelques dizaines de centimètres. Ensuite la terre est retournée avec d'éventuels ajouts favorisant la biodégradation. Les coûts sont de l'ordre de 45 à 80 € et la durée du traitement varie de 12 à 24 mois pour les HAP, avec un taux moyen d'élimination de 80 %, le rendement variant selon la molécule [28].

Lorsque le taux d'élimination n'est pas suffisamment élevé, la biostimulation peut être effectuée par ajout de nutriments spécifiques, ou alors la bioaugmentation peut être préconisée par ajout de bactéries adaptées à la pollution. Straube *et al.* (2003) [29], ont constaté une réelle amélioration du taux de dégradation des HAP après avoir ajouté de l'azote (augmentation de 10 % du taux de biodégradation). De même, Juhasz et Naidu (2000) [30], suggèrent que la bio augmentation est une solution pour favoriser la dégradation des hydrocarbures ou le traitement des sols fortement contaminés.

Pour des sols pollués contenant des contaminants volatils en quantités non négligeables, ou dans des pays où la législation interdit le traitement de dépollution à l'air libre (Québec par exemple), l'utilisation de la "**biopile**" est nécessaire. Les réacteurs à l'air libre sont alors

remplacés par des réacteurs où les flux de gaz et de liquide sont parfaitement contrôlés. On réalise une pile de plusieurs mètres de hauteur que l'on place sur une couche drainante. Un système d'aspersion et un système de rigole sont mis en place. Pour les gaz, le procédé utilise le plus souvent un système de ventilation/extraction qui permet d'aspirer les composés émis ou d'injecter de l'air frais. Une couverture étanche (géo membrane) vient recouvrir l'ensemble. Cette technique est également utilisée pour traiter les HAP. Lecomte (1995) [29], indique qu'après 9 mois de traitement, 80 % en masse des HAP ont été dégradés.

I.5.3. Phytoremédiation

Certaines plantes permettent de transformer (phytoremédiation) ou de stabiliser (phytostabilisation) les polluants dans les sols. En effet les racines de celles-ci sont étroitement associées à une microflore bactérienne et fongique qui va aider ou faciliter la dégradation des hydrocarbures [31]. La phytoremédiation était essentiellement appliquée aux métaux lourds, mais de récentes études ont montré que cette technique est également utilisable pour les hydrocarbures [32]. Cependant, les mécanismes mis en jeu sont encore mal connus [33].

La phytoremédiation peut être réalisée à l'aide de diverses espèces végétales comme l'avoine, le lupin, le colza, le ray-grass [31, 33].

Dans la plupart des cas, la phytoremédiation a été étudiée sur des sols riches en argile. Ballerini (1999) [32] indique que le système fibreux racinaire de l'herbe facilite à la fois l'accessibilité des contaminants et le métabolisme microbien.

I.5.4. Traitement en bioréacteurs

Un bioréacteur est un système dans lequel une conversion biologique est effectuée impliquant des enzymes ou des micro-organismes. Ce sont des systèmes généralement composés de réservoirs qui contiennent un milieu fixe ou en suspension de biomasse et qui opèrent de façon aérobie ou anaérobie [34].

Les bioréacteurs sont particulièrement utilisés lorsque la pollution est importante et dans le cas où les microorganismes ont des difficultés à se développer dans des conditions non contrôlées [35].

Ces réacteurs fonctionnent soit en continu soit en discontinu, les temps de séjour variant avec la biodégradabilité des polluants. Ils accélèrent considérablement la vitesse de dégradation des polluants et présentent plusieurs avantages : meilleur contrôle des paramètres de culture (pH, température, nutriments), une oxygénation plus efficace, un contact plus intimes entre les micro-organismes et les polluants, des transferts de matière et thermique accrus, un maintien de conditions optimales de biodégradation par sélection de souches adaptées.

I.5.4.1. Bioréacteurs type boues activées

Le sol contaminé est tout d'abord traité pour séparer les grosses particules de sol et les roches des particules fines (les contaminants adhérant généralement à ces dernières) puis est mélangé avec de l'eau. Les boues sont acheminées dans une série de bassins d'aération où sont introduits différents éléments en fonction de la décontamination à effectuer. L'utilisation

de ce bioréacteur est avantageuse car elle permet d'accélérer considérablement la vitesse de dégradation des polluants, les conditions environnementales étant contrôlées et la biodisponibilité, de ce fait, augmentée [36]. Cette technologie offre donc un potentiel intéressant pour le traitement des polluants récalcitrants (PCB, HAP).

I.5. 4.2. Bioréacteurs à sol statique

Il s'agit du traitement direct du sol dans un bioréacteur en l'absence de la phase aqueuse. Le sol est amendé et des agents structurants sont rajoutés. L'humidité du sol et l'aération de ce dernier augmente la biodisponibilité des polluants et réduisent de manière considérable la durée du traitement [37].

Tableau3 : Exemples de résultats obtenus par bioréacteur [38]

Composé	Cocentration Initiale (mg/kg)	Taux de réduction %	Temps du traitement (jours)
Organiques volatils	500	99	
Phénanthrène (HAP)	46	58	10
Carbone organique total	15900	27	10

Geerdink et coll. [39], se sont intéressés aux réacteurs capables de combiner la remédiation des composés lourds et légers. Ces réacteurs combinent l'injection de l'air et le liquide en bas du réacteur ce qui crée deux zones dans le réacteur, un lit fluidisé principalement pour les grosses particules et une zone en suspension constituée principalement de la fraction fine du sol. Pour tester l'efficacité de ce réacteur, des tests de décontamination ont été effectués sur une vieille pollution persistante de 45 ans et sur une autre pollution artificielle causée par le diesel. Cette dernière donne un taux d'élimination de 70% contrairement à la contamination de 45 ans où le rendement ne dépasse pas 60%.

Dans le même contexte, **Cassidy et coll.** [40] ont suivi pendant 180 jours le traitement d'un sol contaminé par le diesel dans deux réacteurs différents. L'étude comparative entre un réacteur en phase solide en continu (SBR) et un réacteur de type boues activées (CSTR) montre que le traitement dans le réacteur à boues activées atteint un taux de 96% au bout de 15 jours tandis que le réacteur en continu donne un rendement de 75%. De même, la communauté microbienne est 25% supérieure pour le SBR que pour le CSTR.

Okieimen et Okieimen [41] traitent dans un slurry bioréacteur un sol pollué à raison de 50 g d'hydrocarbures/kg de sol. Cette pollution est laissée pendant 5 semaines pour l'adaptation des microorganismes sans oublier de retourner le sol. Plusieurs réacteurs sont mis en place pour pouvoir comparer leur performance en variant la teneur en boues de 0 à 10 % dans ces réacteurs. Les résultats de mesure des teneurs en hydrocarbures au bout de 12 semaines mettent en évidence que plus le pourcentage de boues est important, plus le taux de biodégradation est important. Il atteint 87,3% pour une teneur en boues de 10% tandis que pour des teneurs en boues de 0%, 1% et 5% les taux de biodégradation sont respectivement 41,7%, 43,5% et 69,2%.

I.6. Biodégradation des hydrocarbures

I.6.1. Microorganisme dégradeurs

Les bactéries, les levures et les mycètes sont largement présentes dans les systèmes aqueux, le sol et le sous sol. Les bactéries et les levures semblent être les micro-organismes dominants dans les systèmes aquatiques tandis que les mycètes et les bactéries sont les principaux dégradeurs des hydrocarbures dans le sol [42].

Les principaux genres connus pour être responsables de la dégradation des hydrocarbures sont : *Nocardia*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Corynebacterium*, *Achromobacter*, *Rhodococcus*, *Alcaligenes*, *Mycobacterium*, *Bacillus*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Rhodotorula*, *Candida* et *Sporobolomyces* [42].

Les travaux de **Song et coll.** [43], montrent que 82% de la minéralisation du n-hexadécane est attribuée aux bactéries tandis que 13% aux fungis. La dégradation des hydrocarbures monoaromatiques, est essentiellement le fait de bactéries gram-négatives (*Pseudomonas*) et gram-positives du groupe CMN [44].

Ghazali et coll. [45] ont mis en évidence les performances de l'espèce *P. aeruginosa*, et les genres *Bacillus* et *Micrococcus* pour dégrader et minéraliser les alcanes à moyennes et longues chaînes présents dans le gasoil tandis que **Slaoui et coll.** [46] ont observé que l'espèce *P. aeruginosa* est la plus performante.

Dans les processus de bioremédiation, les micro-organismes issus d'un sol pollué sont en général beaucoup plus adaptés pour métaboliser les HAP que des organismes exogènes issus d'ailleurs.

I.6.1.1. Biodégradation des hydrocarbures aliphatiques

Les alcanes courts (C2-C4) sont connus pour être dégradés par des bactéries appartenant aux genres *Mycobacterium* et *Nocardia* mais aussi par certains champignons (*Graphium sp.*). Les alcanes à chaîne moyenne (C5-C10) sont oxydés notamment par des espèces de bactéries du genre *Pseudomonas* comme *P.aeruginosa*, *P. putida* et *P. oleovorans*.

Les alcanes à chaîne longue (C10-C20) sont plus facilement et rapidement dégradables que les alcanes moyens. Les bactéries remplissant ce rôle appartiennent en particulier aux groupes des *Corynebacterium*, *Mycobacterium* et *Nocardia* (CMN) ; notamment au genre *Rhodococcus*, c'est le cas de la souche *Rhodococcus* Q15 capable d'utiliser une large gamme des alcanes (C10 à C21) et à des températures allant de 0 à 30°C. Il existe également des espèces appartenant à des genres gram-négatifs (*Pseudomonas*, *Alcaligenes*). Les n-alcanes à longue chaîne sont également d'excellents substrats pour plusieurs genres de levures comme *Candida*, *Pichia*, *Yarrowia*, *Torulopsis*. De plus, les alcanes à très longue chaîne (>C20) sont également dégradés par les microorganismes, mais l'utilisation de ces substrats solides à température ambiante a été moins étudiée [47].

Une étude publiée par Churchill et coll. [48] a révélé que la souche CH1 de l'espèce de *Mycobacterium* isolée dans les dépôts d'Alaska a plusieurs potentialités et est capable d'utiliser à l'état liquide les alcanes linéaires (dodécane et décahène), les n-alcanes à chaînes branchées (pristane), ainsi qu'à l'état solide des n-alcanes à longues chaînes (octadécane, docosane, octacosane) comme source unique de carbone et d'énergie à la croissance. Ce résultat a été confirmé par une autre étude menée par Yu et coll. [49], dans laquelle deux souches de *Mycobacterium* ont été isolées à partir des sols arctiques de Toundra canadienne. Il s'agit de la souche DhA-55 capable de se développer sur le dodécane et le pristane, et la souche IpA-13 capable de se développer sur l'octane et le pristane.

I.6.1.2. Biodégradation des hydrocarbures aromatiques

Il est très difficile de traiter certains sols très concentrés en hydrocarbures aromatiques polycycliques de haut poids moléculaires comme ceux possédant plus de 5 anneaux; par exemple le benzo(a)pyrène, les hydrocarbures de haut poids moléculaires (>C₄₀) et les polluants halogénés (Biphenylpolychloré, chlorodioxine, chlorofurane) ainsi que les composés chlorés comme les solvants. Tous ces produits sont encore considérés comme réfractaires à la biodégradation. Leur biotraitement nécessite des microorganismes spécifiquement adaptés à ce type de polluant et dans des conditions environnementales favorables à l'activité de ces derniers.

La dégradation des hydrocarbures monoaromatiques, notamment du benzène, du toluène, de l'éthylbenzène, des *ortho-meta-et para-* xylènes (BTEX) est clairement confirmée. Elle est essentiellement le fait de bactéries gram-négatives (*Pseudomonas*) et gram-positives du groupe CMN[50].

La dégradation est initiée par des monooxygénases (hydroxylases) agissant sur les substituants alkyles du cycle aromatique ou sur le cycle lui-même. Le mode d'attaque dépend des groupements alkyles mais pour un même composé, il dépend également de la souche bactérienne.

Davis et Madsen [51] ont pu atteindre un rendement de 50% au bout de 220 heures pour un sol pollué par le toluène. La biodégradation de ce dernier est meilleure selon **Hubert et coll. [52]** et **Choi et coll. [53]** grâce à une souche adaptée du genre *Pseudomonas Putida*.

La biodégradation du benzène suivi par **Yeom et Daugulis [54]** donne un rendement de 63,8% au bout de 24 h seulement de traitement.

Le résultat de la biodégradation diffère d'un composé à un autre, **Villemur et coll. [55]** ont observé une dégradation complète du pyrène en moins de 15 jours, puisque 80% était minéralisé au bout de 11 jours. Le deuxième composé, le benzo[a]pyrène, a été dégradé en 32 jours à un taux de 65%.

Le chemin de biodégradation des hydrocarbures aromatiques polycycliques est semblable à celui des aromatiques monocycliques. Après la double hydroxylation du premier noyau, une étape d'oxygénation supplémentaire est nécessaire pour chaque ouverture de cycle. Tous les types de HAP (EPA) sont concernés par le traitement biologique, les rendements vont de 76,5 % pour les plus lourds à 98,9% pour les plus légers d'après **Richard et Dumad [56]**.

Cerniglia [57] et **Richard et Dumad [56]** ont observé que la vitesse de dégradation des HAP est inversement proportionnelle à leur poids moléculaire et donc au nombre de cycles aromatiques composant la molécule.

I.6.1.3. Biodégradation du gasoil

Dans le cas du gasoil, la composition en classes structurales d'hydrocarbures explique les taux de dégradation variables. Le taux de dégradation peut être proche de 100% lorsque les alcanes linéaires sont abondants.

C'est ainsi que le taux de biodégradation varie entre 60% et 73% selon **Marchal** et *coll.* [58] et entre 70% et 90% selon **Vandecasteele** et *coll.* [59].

Brinkmann et *coll.* [60] ont observé qu'à la fin d'un traitement biologique, les *n alcanes* sont complètement éliminés et que la concentration des molécules lourdes est considérablement réduite. De même **Ghazali** et *coll* [61] ont constaté que 67 % à 98% d'une fraction du gasoil (C₁₅ – C₂₂) est remédié après 30 jours de traitement.

Selon **Fotinich** et *coll.* [62], l'augmentation du débit d'air ou de la température augmente considérablement le processus de dégradation biologique du diesel. Par ailleurs **Barry et Burton** [63] ont obtenu une atténuation complète du diesel au bout de 74 jours.

I.6.2. Facteurs limitant la biodégradation

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

I.6.2.1. Potentiel hydrogène et potentiel redox

Le pH affecte tant les micro-organismes (fonctions cellulaires, transport au niveau de la membrane) que l'équilibre des réactions catalysées. La majeure partie des bactéries croissent à un pH neutre ou légèrement alcalin [64, 65]. Les activités enzymatiques sont également influencées par les variations de pH. Chaque enzyme travaille plus rapidement à un pH optimal spécifique. Si le pH s'éloigne de la valeur optimale, l'activité enzymatique diminue et l'enzyme peut être endommagée voire dénaturée [66].

I.6.2.2. Besoins en nutriments

Les micro-organismes requièrent pour leur croissance une proportion d'éléments nutritifs majeurs (e.g. carbone, hydrogène, soufre, azote et phosphore) variant en fonction de leur diversité.

Dans les sols contaminés par des composés organiques, le carbone et l'hydrogène ne sont pas limités parce que ceux-ci représentent leurs constituants majeurs, et le soufre est généralement en quantité suffisante pour la croissance. Par contre, l'azote et le phosphore sont les principaux éléments qui limitent la croissance. Le taux carbone /azote/phosphore (C/N/P) ordinairement considéré est de (300 à 100)/ 10/ (1 à 5).

Toutefois, ce taux peut varier en fonction de la nature du contaminant [67].

I.6.2.3. Présence d'accepteurs d'électrons

Une dégradation rapide et complète a lieu en conditions aérobies pour la majeure partie des composés pétroliers [67]. C'est durant l'étape initiale du catabolisme que les micro-organismes incorporent l'oxygène moléculaire dans le substrat par des enzymes de type oxygénase. Le taux de dégradation des hydrocarbures diminue avec la baisse de la concentration en oxygène. Cela engendre une persistance des hydrocarbures beaucoup plus longue dans les couches imperméables que dans les couches aérées d'un milieu poreux [68].

I.6.2.4. Température

La température influence la dégradation des composés pétroliers par son effet tant sur la nature physique et chimique de la composition que sur le métabolisme de la communauté microbienne [68]. Le taux de biodégradation s'accroît avec la température. Les écosystèmes exposés à des basses températures dégradent les hydrocarbures plus lentement. La température optimale pour la biodégradation aérobie des hydrocarbures pétroliers se situe entre 15°C et 30°C [69].

I.6.2.5. Taux d'humidité

La teneur en humidité permet de s'assurer que la phase aqueuse entourant les particules de sol est suffisante pour maintenir une population active de micro-organismes et le transfert entre les différentes phases en présence. Plusieurs réactions biochimiques réalisées par les micro-organismes se produisent dans la phase aqueuse. Les micro-organismes hydrocarbonoclastes agissent à l'interface hydrocarbure-eau [68].

I.6.2.6. Biodisponibilité

La biodisponibilité exprime le potentiel d'interaction entre la matière organique et les microorganismes. Cependant, il a été établi que le bon déroulement du procédé est lié aux phénomènes de transfert entre les cellules et le milieu de culture, constitué dans un sens par rapport aux substrats et aux éléments nécessaires à la croissance microbienne. L'amélioration des performances des réacteurs biologiques passe donc par l'optimisation des facteurs suivants :

- **L'aération** : Dans le cas de processus aérobies, l'efficacité d'un bioréacteur dépend de sa capacité à transférer, à la biomasse microbienne qu'il contient, la quantité d'oxygène dont elle a besoin. Le gaz d'oxygénation permet en outre de créer une turbulence qui aide au maintien des cellules en suspension homogène.
- **L'agitation** : Les deux principaux critères qu'un système d'agitation doit remplir sont le transfert d'oxygène dans le milieu et la dispersion homogène des gaz, de la biomasse, des particules de sol et des polluants.

I.7. Paramètres hydrodynamiques

I.7.1. Taux de rétention

Par définition, le taux de rétention gazeux α est la fraction du volume de l'émulsion occupée par la phase gazeuse :

$$\alpha = \frac{V_g}{V} \quad (1)$$

Il peut être déterminé selon de nombreux auteurs par une simple différence de niveau entre l'état aéré H et l'état non aéré H_L soit:

$$\alpha = \frac{H - H_L}{H} \quad (2)$$

Cette méthode est rapide mais peu précise (10 à 20%), car il est difficile de voir un niveau en agitation perpétuelle ou les vagues et parfois les mousses sont fréquentes.

Linek et mayrhoferova [70], ont apporté une amélioration à cette technique. Elle consiste à faire un relevé planimétrique de la surface de l'émulsion avec une sonde conductimétrique, ce qui donne un niveau moyen par intégration.

Limer-weber et Blass [71], ont développé une sonde à plusieurs branches permettant de déterminer la conductivité et la capacité d'un élément de volume de la dispersion. Ces mesures conduisent à des valeurs locales du taux de rétention.

Shah [72] a utilisé des sondes conductimétriques pour obtenir des taux de rétention locale en comparant la conductibilité de la phase dispersée à celle de la phase continue. Ces deux dernières techniques présentent un inconvénient qui réside dans le fait que les sondes perturbent le phénomène à étudier. Cette perturbation est importante dans le cas des sondes résistives à pointes.

Une autre méthode basée sur la manométrie a été utilisée par divers auteurs. Elle consiste à mesurer la différence de pression entre deux points situés à des niveaux différents de l'émulsion à l'état aéré et à l'état non aéré, ce qui permet d'obtenir directement le taux de rétention

$$\alpha = 1 - (A_p \text{ aéré} / A_p \text{ non aéré}) \quad (3)$$

Ou A_p : pression mesurée.

Cette méthode ne permet d'obtenir qu'une valeur locale, il est donc nécessaire d'intégrer sur tout le volume de réacteur pour obtenir une valeur moyenne du taux de rétention.

Calderbank [73] propose d'extraire un échantillon de la dispersion à l'aide d'une ampoule graduée et d'évaluer le volume de deux phases. Cette technique donne des valeurs locales du taux de rétention.

Calderbank et Rennie [74] ont apporté une autre technique locale utilisant l'absorption des rayons γ qui permet d'obtenir une estimation de la densité apparente d'émulsion.

I.7.2. Puissance d'agitation

La puissance d'agitation est l'un des paramètres hydrodynamiques les plus importants d'un réacteur gaz-liquide-solide agité mécaniquement, car elle est liée au cout énergétique. Elle représente la quantité de puissance nécessaire pour faire tourner un agitateur-mélangeur de forme et de dimension données à une vitesse donnée et dans un réacteur de configuration donnée (dimension de cuve, des chicanes etc.) contenant un fluide avec certaines propriétés physiques [75].

On distingue :

- a- Puissance d'agitation en milieu non aéré P_0 : c'est la puissance d'agitation dissipée par le liquide seul dont la connaissance est nécessaire pour évaluer la puissance propre à installer et à assurer le démarrage du réacteur.
- b- Puissance d'agitation en milieu aéré P_a : c'est la puissance d'agitation dissipée par la dispersion. Cette puissance permet de corréliser les paramètres de transfert de matière

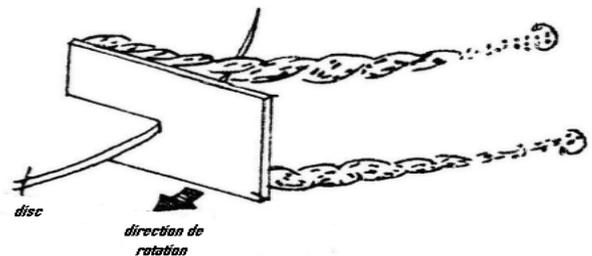
La puissance d'agitation dépend de plusieurs paramètres [76] qui sont liées :

- à l'agitateur :
 - le diamètre et la forme de la turbine ;
 - la géométrie et nombre des pales ;
 - la hauteur de la turbine dans le réacteur ;
 - la vitesse de l'agitation [77].
- au réacteur :
 - le type, la forme de la taille du réacteur
 - la taille et forme de chicanes [77].
- au diffuseur :
 - sa forme et sa position dans le réacteur [77].
- aux fluides utilisés :
 - les débits ;
 - la viscosité [77].

Il en découle trois types de cavités selon les valeurs de la vitesse d'agitation et du débit gazeux utilisé [78].

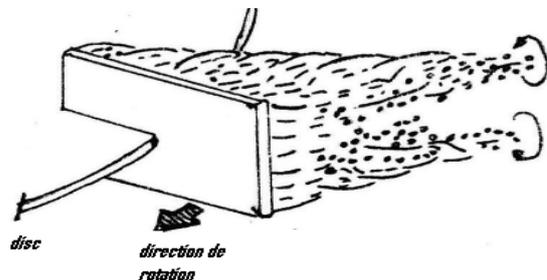
-Cavité vortex :

Pour de faible débit gazeux, deux vortex se développent derrière les bords supérieurs et intérieurs des pales. Il y est aspiré. Cette cavité n'est pas adhérente à la pale et les petites bulles qui la remplissent tournent sur elle-même, le flux est radial.



-Cavité adhérente :

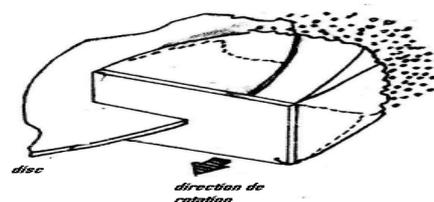
Quand on augmente le débit de gaz à vitesse d'agitation constante, les cavités vortex se rejoignent et leur taille augmente. Cette cavité est également remplie par un nuage de petites bulles. Le flux reste radial. La rotation des bulles est moins importante.



Ces deux types de cavités correspondent à des débits très faibles.

-Grosses cavités :

En augmentant encore le débit de gaz, de grosses cavités se forment, le flux de gaz n'est plus radial mais tangential et les queues des vortex proviennent de la coalescence de petites bulles de la zone de dépression, et ne comportent qu'une seule bulle.



De nombreux auteurs soutiennent que la formation des grosses cavités joue un rôle très important dans la dispersion gaz liquide des réacteurs agités. Elle se reflète sur la puissance P_a et sur les performances du transfert de matière. L'augmentation de la taille des cavités adhérentes fait diminuer P_a . Ce régime étant instable, on passe rapidement au régime stable des grosses cavités plus efficaces au niveau de la dispersion. Si on augmente encore le débit gazeux, il y a recirculation du gaz dans le liquide.

I.7.3. Etude de transfert de matière

L'oxygène est un gaz peu soluble. En ce sens, le transfert d'oxygène apparaît fréquemment comme un facteur limitant les performances des bioprocédés et l'utilisation des hautes densités cellulaires. Au sein du bioréacteur, la concentration en oxygène dissous résulte de la combinaison des dynamiques des phénomènes de transfert (matière, quantité de mouvement) et des phénomènes biologiques (consommation d'oxygène par la réaction microbienne). En condition de forte consommation d'oxygène, l'apport d'oxygène doit être parfaitement maîtrisé.

I.7.3.1. Solubilité des gaz en phase liquide :

A l'interface gaz-liquide, la concentration de l'espèce soluble en phase liquide est généralement décrite par une relation d'équilibre. Dans le cas de gaz peu solubles, comme l'oxygène, la relation d'équilibre est décrite par la loi de Henry

$$X_A^* = H \cdot P_A \quad (4)$$

Où X_A^* est la concentration du gaz A dissous, en équilibre avec sa pression partielle P_A dans le gaz en contact de l'élément de fluide. La constante de Henry, H, décroît en fonction de la température, et est une fonction de la composition du milieu [79].

I.7.3.2. Flux de matière :

Si la concentration en gaz dissous dans le cœur du liquide est différente de celle de l'interface, le réarrangement chaotique des molécules tend à réduire la différence de concentration d'une manière décrite par les lois de diffusion. On dit abusivement que le potentiel de transfert est moteur de la diffusion. La première loi de Fick (1855) indique que la densité de flux de diffusion, R, est proportionnelle au gradient de concentration :

$$\vec{R} = -D_A \text{grad } X_A \quad (5)$$

Où D_A est le coefficient de diffusion de l'espèce A dans la phase d'intérêt.

A partir de la première loi de Fick et de l'équation de continuité relative au constituant A établie sur un volume V, on obtient :

$$-\text{div} \vec{N}_A \pm q_A = \frac{\partial X_A}{\partial t} \quad (6)$$

Où q_A est le terme de réaction, et N_A la densité de flux de transfert (diffusion + transport).

Il est possible de déterminer le profil de concentration en fonction du temps, soit en supposant D_A constant sur l'espace et en négligeant le terme de transport :

$$D_A \Delta X_A \pm q_A = \partial X_A / \partial t \quad (7)$$

Cette équation est fréquemment utilisée en régime instationnaire et en présence de réaction chimique ou biologique. En l'absence de réaction, c'est la seconde loi de Fick [79].

I.7.3.3. Conductance de transfert :

La conductance de transfert est introduite de manière pragmatique pour exprimer que le flux de matière est égal au produit d'un coefficient de proportionnalité par une différence de potentiel d'échange. On peut exprimer la densité de flux molaire à l'interface, N_{A0} ($\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), pour le transfert en phase liquide :

$$N_{A0} = k_L (X_{A0} - X_A) \quad (8)$$

Où k_L est la conductance de transfert partiel coté liquide du composé A (m.s^{-1}), X_{A0} est la concentration à l'interface et X_A la concentration au cœur de la phase liquide. Et pour le transfert en phase gazeuse :

$$N_{A0} = k_p (p_A - p_{A0}) \quad (9)$$

Où

k_p est la conductance de transfert en phase gazeuse ($\text{mol.bar}^{-1}.\text{m}^{-1}.\text{s}^{-1}$).

p_A est la pression partielle au sein de la phase gazeuse et p_{A0} la pression partielle à l'interface.

Notons que les conductances de transfert dépendent aussi d'une contribution liée au mouvement d'ensemble des molécules, qui a lieu indépendamment du gradient de concentration, et qui est en partie générée par la diffusion elle-même. Cette contribution est négligée pour les faibles intensités de transfert, comme par exemple pour la diffusion de l'oxygène dans l'eau.

Les conductances individuelles relatives à chaque phase ainsi que les concentrations interfaciales sont difficiles à mesurer. Une conductance globale de transfert est donc définie par rapport à la phase d'intérêt : la phase liquide :

$$N_{A0} = K_L (X_A^* - X_A) \quad (10)$$

Où

K_L est la conductance globale de transfert du composé A définie par rapport à la phase liquide ;

X_A^* est la concentration du constituant A dans la phase liquide, à l'interface gaz liquide, et donc supposée en équilibre avec sa pression partielle p_A dans la phase gazeuse [79].

I.7.3.4. Coefficient volumique de transfert :

I.7.3.4.1. Théorie :

En pratique, l'aire interfaciale des contacteurs gaz-liquide est souvent inconnue ; la conductance globale de transfert est donc définie sous la forme d'une grandeur volumique, $(K_L a)_{loc}$, directement mesurable par une expérience d'absorption :

$$dW_A = K_{L,loc} a_{loc} \cdot (X_A^* - X_A) \cdot dV \quad (11)$$

Où

dW_A est le flux transféré ($\text{mol} \cdot \text{s}^{-1}$) dans l'élément de volume dV et a_{loc} est l'aire interfaciale incluse dans l'élément de volume dV ;

$K_{L,loc}$ et a_{loc} sont fonctions de la puissance dissipée localement, et donc de la position dans le réacteur [80].

Le problème de leur détermination est simplifié en intégrant sur l'ensemble du réacteur et en proposant un coefficient volumique de transfert global, valeur moyenne définie sur l'ensemble du réacteur :

$$W_A = K_L a \cdot (X_A^* - X_A) \cdot V_L \quad (12)$$

Où

W_A est le flux transféré dans l'ensemble du réacteur ($\text{mol} \cdot \text{s}^{-1}$) ;

V_L le volume de liquide dans le réacteur ;

$K_L a$ (s^{-1}) est le coefficient volumique de transfert global défini par rapport à la phase liquide. Cette équation est valable en l'absence de réaction chimique et pour une température et un coefficient de diffusion à l'interface proche de celui du cœur du liquide.

I.7.3.4.2. Dimensionnement :

Les méthodes classiques de dimensionnement à l'échelle supérieure (scale-up) reposent sur la conservation d'un paramètre essentiel; lorsqu'il s'agit de l'oxygène dissous ce paramètre est souvent la puissance dissipée par unité de volume ou $K_L a$ [81]. Or, on remarque souvent une inadéquation entre la production en réacteur de laboratoire et la production industrielle car ces méthodes de scale-up, considèrent le réacteur comme un système homogène et ne tiennent pas compte des hétérogénéités propres aux réacteurs industriels [82].

I.7.3.4.3. Influences physiques, chimiques, et mécaniques sur $K_L a$:

La valeur de $K_L a$ n'est pas une donnée intrinsèque des échangeurs gaz-liquide car en plus de dépendre de la configuration et des paramètres opératoires de l'échangeur, elle dépend des propriétés des fluides en contact.

Pour identifier et quantifier les paramètres ayant une influence sur $K_L a$, il est nécessaire de dissocier le produit $K_L a$ en ses facteurs : K_L la conductance globale définie par rapport à la phase liquide, et a l'aire interfaciale. K_L et a varient de manière différente en fonction de

l'hydrodynamique (type de réacteur, géométrie, conditions opératoires), des propriétés physiques et chimiques du liquide (présence d'agents de surface, viscosité, ...) et de la température [79].

a) Effet de la puissance dissipée :

Le réacteur agité est, avec la colonne à bulles, le réacteur le plus utilisé en culture microbienne. En réacteur agité la puissance est fournie au liquide par l'intermédiaire des turbines d'agitation. Le réacteur agité est fondamentalement différent de la colonne à bulles car c'est au niveau de l'agitateur que la dispersion gazeuse se forme, et non au niveau du distributeur d'air. La puissance dissipée assure donc la dispersion gazeuse et la mise en contact du gaz avec le liquide. Par contre le système d'apport de gaz (canne ou diffuseur) n'a pas d'importance sur le transfert gazeux en réacteur agité, pourvu que le gaz arrive sous l'agitateur et que celui-ci ait une vitesse assez importante pour disperser tout le gaz. Le réacteur agité est préféré à la colonne à bulles pour privilégier l'homogénéité du mélange et le transfert de matière, en particulier le transfert gazeux, avec l'obtention de surfaces d'échange très importantes entre le gaz et le liquide [79].

b) Effet du débit d'aération :

On distingue l'aération par diffuseur, classiquement employée, de l'aération de surface, généralement ignorée.

➤ **Aération par le diffuseur**

L'augmentation du débit d'aération injecté par le diffuseur peut permettre d'augmenter l'aire interfaciale et donc $K_L a$. Pour cela le choix du débit d'aération doit être envisagé de manière coordonnée avec la puissance dissipée par l'agitation.

Si le gaz impose l'écoulement dans le réacteur il y a engorgement [83] et l'aire interfaciale est considérablement réduite, alors qu'au dessus d'une vitesse d'agitation critique l'aire interfaciale est indépendante du flux de gaz dispersé.

➤ **Aération de surface**

L'aération de surface s'effectue avec ou sans entraînement de bulles. En cuve agitée, l'aération de surface sans entraînement de bulles, c'est-à-dire par diffusion depuis le ciel à travers la surface libre du liquide, peut souvent être négligée devant $K_L a$ [84]. Par contre l'aération de surface avec entraînement de bulles peut générer une large aire interfaciale et devenir significative pour le transfert gazeux.

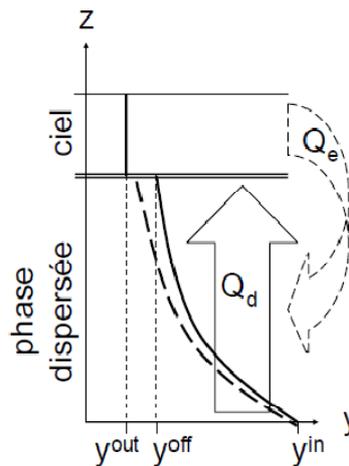


Fig.1: Perturbation du potentiel de transfert en présence d'entraînement de surface.

c) Effet des agents de surface :

De nombreuses substances organiques ont des effets d'agent de surface, comme les Protéines et leurs dérivés, c'est-à-dire qu'elles tendent à s'adsorber aux interfaces liquide-solide, ou gaz-liquide. Ces molécules de surfactants ont une partie polaire et une partie apolaire. La partie polaire, hydrophile, reste en phase liquide tandis que la partie apolaire, hydrophobe, migre vers l'interface [85].

La présence d'agents de surface s'ils ne participent pas à l'absorption du gaz (en le consommant, en étant un solvant) réduit k_L . A ce jour deux propositions permettraient de l'expliquer, l'effet barrière et l'effet hydrodynamique, mais elles ne sont pas satisfaisantes. L'effet barrière suppose que les surfactants forment une monocouche à l'interface, ce qui offre une résistance supplémentaire au transfert des molécules de gaz. Cette résistance dépend de nombreux paramètres liés aux interactions gaz-surfactant-liquide, dont la polarité du groupe hydrophile, sa masse molaire, sa longueur, son organisation à l'interface... L'effet hydrodynamique suppose que les surfactants (et même les électrolytes) tendent à organiser l'interface. Cette organisation crée une barrière énergétique qui va limiter la régénération de l'interface, rendant le transfert plus difficile et donc réduisant la valeur de k_L . Linek et coll. (2005) [85], ont démontré que ni la pression de surface seule, ni la tension de surface seule, ne permettait de corrélérer l'effet des surfactants sur k_L .

A l'opposé, en réduisant la tension de surface σ , les agents de surface ont tendance à réduire le diamètre des bulles et donc à augmenter l'aire interfaciale [79], ceci apparaît clairement dans la loi de Laplace :

$$d = \frac{2\sigma}{\Delta P} \quad (13)$$

Où ΔP représente la différence de pression entre l'intérieur de la bulle et la phase liquide.

d) Effet de la viscosité :

La viscosité est souvent proposée comme la cause principale des limitations de transfert. Mais les effets de la viscosité sont complexes, Il faut distinguer la viscosité d'origine

moléculaire qui affecte principalement les échelles microscopiques, de la viscosité apparente qui affecte principalement l'échelle macroscopique et pas forcément l'échelle microscopique. La viscosité d'origine moléculaire limite la diffusion dans la couche limite et à fortiori aussi, à l'échelle macroscopique. Tandis que la viscosité apparente bloque le mélange convectif. En général l'augmentation de la viscosité apparente réduit le transfert d'oxygène [79].

e) Effet de la température :

$K_L a$ est directement dépendant du coefficient de diffusion et de la viscosité. Or ces deux paramètres sont fortement liés à la température. Le coefficient de diffusion suit la loi d'Arrhénius :

$$D = D_0 \cdot \exp\left(\frac{-E}{RT}\right) \quad (14)$$

Perry et Green (1984) [86], proposent une équation semi empirique qui tient compte de la température et de la viscosité :

$$\varphi = \frac{K_L a(T_1)}{K_L a(T_2)} = \sqrt{\frac{T_1 \mu_2}{T_2 \mu_1}} \quad (15)$$

Où μ_1 est la viscosité à la température absolue T_1 (°K).

Stenstorm et Gilbert (1981) [87] proposent :

$$K_{L,T} = K_{L,293} \cdot \Theta^{T-293} \quad \text{Avec } \theta = 1,024$$

f) Effet de la présence de particules solides :

La présence de particules solides peut modifier l'aire interfaciale ainsi que k_L . Le sens de la modification dépend des propriétés des particules (taille, adhésion ou non sur la bulle), des propriétés du milieu, et aussi du type de contacteur gaz-liquide.

L'effet des particules sur k_L est plus complexe et deux mécanismes sont proposés. L'effet de blocage réduit sa valeur, mais l'effet hydrodynamique l'augmente. Lorsque les particules sont actives chimiquement, des cellules par exemple, les effets peuvent être bouleversés [79].

La présence de cellules diminue la valeur de $K_L a$, par rapport à sa valeur mesurée à même viscosité apparente mais sans cellules. L'effet dépend des cellules utilisées et s'accroît avec la concentration cellulaire. Cette diminution est attribuée (hypothétiquement) au blocage des interfaces gaz-liquide par adsorption de cellules sur les bulles. Dans ces conditions $K_L a$ diminue avec l'agitation.

Ceci est également attribué à l'adhésion cellulaire, favorisée lorsque la dispersion gazeuse devient plus fine à forte agitation. Par contre l'aération a tendance à réduire le blocage des interfaces gaz-liquide et a un effet favorable sur $K_L a$ [88].

Partie II

Etude

expérimentale

CHAPITRE II

INSTALLATION EXPERIMENTALE ET METHODES DE MESURE ET DE CALCULS

L'étude est réalisée au niveau du Laboratoire des phénomènes de transfert de matière de la Faculté de Génie Mécanique et Génie des Procédés, USTHB. Le but de notre travail est d'évaluer l'efficacité du traitement d'un sol pollué par le gasoil dans un bioréacteur. Différents aspects seront abordés, tels que le coefficient de transfert de matière, le coefficient de rétention gazeuse, ainsi que l'influence du rapport (C/N/P) sur le processus de biodégradation.

II.1. Matériels

Le dispositif utilisé à cet effet est représenté par la figure N°2. Il se compose d'un réacteur, de diffuseurs, reliés à des pompes d'aération et d'un système d'agitation mécanique composé d'un moteur et d'une tige munie de pales.

- **Le réacteur** d'une capacité de 20 litres, est de forme cylindrique à fond plat est muni de 4 chicanes qui sont des lames rectangulaires de 30x3cm et d'une épaisseur de quelques mm disposées verticalement le long du réacteur aux quatre points cardinaux .
- **L'instrument agitateur** : L'agitation du milieu est assurée par un moteur de type Heidolph RZR2021. Une puissance fournie à l'arbre d'agitation mesure des vitesses de rotation comprises entre 100 et 1000 tour/mn.
- **Le système d'aération** est assuré par des diffuseurs d'oxygène relié à des pompes d'aération, plongés dans le réacteur.

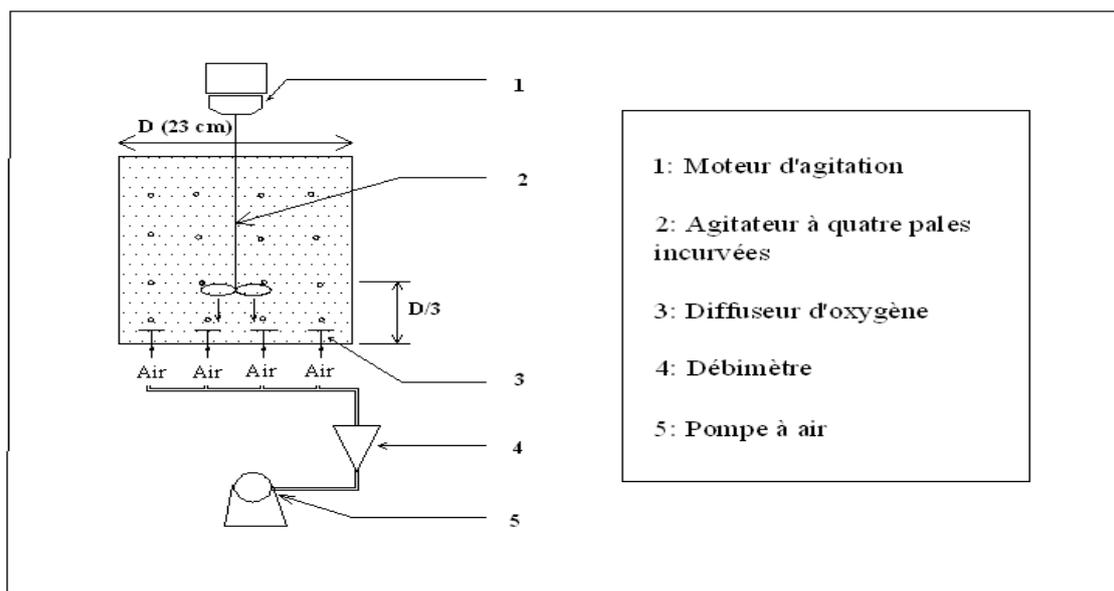


Fig.2: Schéma du montage expérimental

II.2. Méthodes de mesures

II.2.1. Diamètre moyen des particules

Le diamètre moyen des particules solides a été déterminé par tamisage. La méthode consiste à placer une quantité de sol dans une tamiseuse, les tamis étant disposés dans le sens décroissant des ouvertures des mailles et déterminer les refus en masses retenues sur chaque tamis. Le diamètre des particules ainsi retenues sur le tamis de diamètre d_i et donné par :

$$d = \frac{d(i-1) + d_i}{2} \quad (16)$$

Les différentes définitions des diamètres des sphères équivalentes sont données en annexe 1.

II.2.2. pH

Le pH a été déterminé selon la norme (NF X31 103). Dans un bécher on met 5g de sol et on lui ajoute 50ml d'eau distillée. On agite pendant une demi-heure puis on effectue la lecture à l'aide du pH mètre.

II.2.3. Humidité et matière sèche

L'humidité a été déterminée selon la norme T 90 03. Un échantillon de 50g de sol est introduit dans un creuset, est séché dans l'étuve à 105°C pendant 1heure. Elle est calculée à partir de l'équation suivante :

$$Hu(\%) = \frac{P_1 - P_2}{P_1} * 100 \quad (17)$$

Avec :

P₁ : masse du sol humide(g) ;

P₂ : masse du sol sec(g) ;

Hu : humidité en %(Kg eau/Kg de matière humide)

La matière sèche (MS) est calculée à partir de la relation suivante [89] :

$$MS = (100 - Hu(\%)) * P_2 \quad (18)$$

II.2.4. Matière organique

Elle a été déterminée selon la norme NF X31071. L'échantillon du sol sec (après étuvation pendant 1h), est introduit dans un four à 550°C pendant 20 minutes

$$MO = \frac{(P2 - P1)}{P2} * 100 \quad (19)$$

P2 : Poids du sol sec (après étuvation pendant 1h) en gramme

P1 : Poids du sol après calcination en gramme ;

MO : matière organique en %.

II .2.5. Dosage des hydrocarbures

Le dosage des hydrocarbures est réalisé par chromatographie en phase gazeuse, une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. Elle permet ainsi l'analyse de mélanges éventuellement très complexes, de natures et de volatilités très diverses.

II .2.5.1. Extraction des hydrocarbures de la phase solide

Un échantillon de (5g) de sol est mélangé et broyé avec une quantité suffisante de sulfate de sodium anhydre dans un rapport 4/5. L'extraction des hydrocarbures du sol est réalisée dans un bain à ultrason en utilisant le dichlorométhane (CHCl₂) comme solvant pendant une durée de 20 min environ et à une température de 40°C.

L'extrait est recueilli et filtré sur une colonne qui contient du sulfate de magnésium pour éliminer les composés polaires et doser ensuite les composés non polaires par chromatographie en phase gazeuse.

II .2.5.2. Extraction des hydrocarbures de la phase liquide

Pour l'extraction de la matière organique, on procède au prélèvement d'un échantillon frais. Ensuite on met la phase aqueuse en contact avec le solvant tétrachlorure de carbone CCl₄ pendant une durée de 30 min sous agitation magnétique. Le mélange est placé dans une ampoule à décanter car le solvant forme une phase organique piégeant les hydrocarbures présents dans l'eau. Après 15 min de décantation, la phase organique se retrouve dans la partie inférieure de l'ampoule.

II .2.5.3. Analyse par chromatographie en phase gazeuse

La teneur en hydrocarbures est déterminée par injection de 1 µl des produits d'extraction dans un chromatographe séries CG system équipé d'un détecteur FID et d'une programmation linéaire de la température du four. La température du détecteur est maintenue constante à 320°C et l'injecteur utilisé en mode Split avec l'azote comme gaz vecteur à une température de 300°C.

La colonne utilisée est une capillaire CPIL-5CB de 60 m de longueur, 0,25 mm de diamètre interne et 0,25 µm d'épaisseur du film.

La température de la colonne est programmée de la manière suivante :

Température initiale : 45 °C

Température finale : 300°C

Vitesse de montée : 4°C/min

II.2.6. Dosage des nutriments

a) Nitrites selon la norme (ISO 677-NF EN 26777)

La diazotation de l' amino-4-benzènesulfonamide par les nitrites en milieu acide et sa copulation avec le dichlorure de N-(naphtyl-1) diamino-1,2 éthane donne un complexe coloré pourpre susceptible d'un dosage spectrophotométrique UV/Visible.

b) Nitrates selon la norme (ISO 7890-3 et NFT90-045)

En présence de salicylate de sodium, les nitrates donnent du paranitrosouylate de sodium de couleur jaune susceptible d'un dosage colorimétrique.

c) Azote ammoniacal (Méthode spectrophotométrique au réactif de Nessler (norme NF 90-015)

En présence d'hydroxyde de potassium ou de sodium, il se produit une réaction entre les ions NH_4^+ et le réactif de Nessler (iodo-mercure de potassium alcalin avec formation d'un composé de coloration variant du rouge au brun. L'ajout dans le milieu réactionnel de tartrate double de sodium et de potassium a pour rôle d'éviter la formation d'un trouble dû à l'interférence du calcium et du magnésium présents dans l'eau.

d) Phosphore selon la norme (NF EN 1189)

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

II.2.7. Carbone organique

La méthode de détermination du carbone organique est basée sur l'oxydation de ce dernier par le bichromate de potassium ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) en milieu acide sulfurique (source de chaleur). La quantité de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ utilisée excède la quantité nécessaire pour l'oxydation du CO. L'excès qui n'a pas réagi est ensuite dosé en retour par une solution titrée d'un réducteur qui est le sulfate ferreux (sel de Mohr) en présence de ferroïne (indicateur redox). Ce dosage en retour permet donc de calculer la quantité de bichromate qui a été neutralisée par le carbone organique.

$$xg \text{ de carbone} / 100g \text{ de terre} = \frac{0,39(10 - V \cdot N)}{P} \quad (20)$$

P : poids de la prise de terre en g.

$V'=10$: le volume de la solution de bichromate de potassium (quantité oxydante + excès).

V : ml versés de solution de sel de Mohr.

N : la concentration de la solution de sel de Mohr ($N=10/T$).

V_0 : nombre de ml de la solution de sel de Mohr versés pour le témoin.

II.2.8. Teneur en oxygène

L'évolution de la teneur en oxygène est suivie par une sonde à oxygène de type WINLAB, connecté à un oxymètre. On lit directement sur le cadran la concentration en oxygène dissous en mg/L.

II.2.9. Rétention gazeuse

Pour effectuer l'étude hydrodynamique, nous avons mesuré le taux de rétention gazeuse qui est défini par :

$$\alpha = \frac{H_L - H_0}{H_L} \quad (21)$$

Où

H_L est la hauteur du liquide aéré ;

H_0 est la hauteur initiale.

Le taux de rétention gazeuse conditionne le temps de séjour de la fraction du gaz dans la dispersion. Ce paramètre est lié directement au transfert entre deux phases différentes et donc la transformation des polluants.

II.2.10. Analyse microbiologique

II.2.10.1. Méthode de dilutions

Dénombrement de la microflore totale

Afin de dénombrer la microflore existante dans les différents échantillons nous avons procédé à une culture sur gélose nutritive. Pour se faire, une série de dilution variant de 10^{-1} à 10^{-9} a été préparée selon les étapes suivantes [90] :

- **Préparation des dilutions**

Dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique stérilisée, est ajouté 1 ml de la solution mère. Le mélange bien agité représente la dilution à 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} .

- **Ensemencement par étalement sur gélose nutritive**

En milieu stérile, prélever un millilitre de chaque dilution à l'aide d'une Micropipette et verser ensuite la gélose nutritive.

Après une incubation de 48 heures à 37°C , les colonies sont dénombrées manuellement et à l'œil nu.

Le nombre de germes par ml déterminé en calculant la moyenne arithmétique des résultats obtenus et en tenant compte des facteurs de dilution, selon la formule: $\mathbf{N} = \mathbf{n} / \mathbf{d} \cdot \mathbf{v}$

N : nombre des microorganismes en UFC/ ml.

n: nombre des colonies dénombrées.

v: Volume prélevé (1ml).

d: Dilution.

CHAPITRE III

RESULTATS EXPERIMENTAUX ET DISCUSSION

Le traitement d'un sol pollué par le gasoil à 1% dans le réacteur gaz –solide liquide a été précédé par une étude de sol qui consiste à déterminer ses caractéristiques physico-chimiques et biologiques et une étude hydrodynamique dans un réacteur tri-phasique, pour déterminer l'influence de la vitesse d'agitation, l'aération, le pourcentage de solide sur le coefficient de transfert et la rétention.

Le traitement biologique du sol pollué par le gasoil est ensuite étudié pour différents amendements. Nous étudierons ensuite l'influence de l'amendement sur l'efficacité du traitement.

Les différentes conditions opératoires sont regroupées dans le tableau 4.

Tableau 4 : Conditions opératoires pour les différents essais :

Série	Type d'expérience	Conditions opératoires	Paramètres
A	Caractéristiques des sols S1 et S2	10 g du gasoil /Kg de sable	$d_p, \rho_s, pH, Hu, [NO_2], [NO_3], [NH_4^+], [PO_4]$, et [HC]
B	Hydrodynamique des suspensions des sols S1 et S2	Différents teneurs en solide 10% en solide 15% en solide 20% en solide 30% en solide	-Coefficient de transfert de matière $K_L a = f(G_{air}, N)$ (G fixe, N variable) -Rétention gazeuse $\alpha = f(G_{air}, N)$ (G fixe, N variable) .
C	Traitement biologique du sol S1	20% en solide différents rapports des nutriments (C /N/P) a-100/10/1 b-120/10/1 c-106/16/1	-Evolution des paramètres de pollution en fonction du temps. -Evolution de la biomasse en fonction du temps. - Concentration des hydrocarbures dans la phase liquide au début et à la fin de traitement

III.1. Etude du sol

Le sol (S1) est ramené de Ain-Taya au voisinage d'une bouche d'égout pour s'assurer de la présence des micro-organismes. Le sol (S2) est prélevé au niveau de l'Ecole Nationale Polytechnique d'Alger. Le prélèvement des sols a été effectué suivant la norme AFNOR 31100.

Chaque sol a été mélangé puis transporté dans des sacs en plastique au laboratoire puis laissé sécher à l'air libre.

III .1.1. Caractéristiques des sols

Avant de caractériser notre sol, nous avons préparé ce dernier suivant la norme X 31-412, qui consiste en un sous échantillonnage par la méthode des quartiers pour ensuite

effectuer le tamisage, avec un tamis de 0,8 mm, afin d'éviter tout problème d'hétérogénéité au cours du traitement.

III .1.1.1. Caractéristiques physico-chimiques du sol

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

La caractérisation physico-chimique avant contamination du sol par le gasoil est présentée par le tableau 5. Ceci permet d'optimiser les paramètres nécessaires au bon déroulement de la biodégradation tels les nutriments, le pH.

Les sols S1 et S2 sont respectivement de type sableux et argilo-lumineux en référence à leurs compositions en sable, argile et limon (triangle textural, annexe2). La détermination des facteurs d'uniformité met en évidence un spectre granulométrique très large.

Les rapports N/P et C/N sont de 59, 22,5 et 150, 375 dans le cas des sols S1 et S2 respectivement, donc il ressort un déficit en nutriments (N,P) en comparaison avec le rapport de Redfied C/N/P=100/10/1. En outre, l'humidité des sols étudiés est très faible en particulier dans le cas du sol S1, le taux est inférieur à 2% ce qui limiterait le processus métabolique et la vitesse de dégradation. Par ailleurs, le pH du sol est aux alentours de 8 et est donc favorable pour la croissance des micro-organismes [91].

Tableau 5 : Caractérisation physico-chimique des sols S1 (Aintaya) et S2 (ENP).

Caractéristiques	Sol S1	Sol 2
$\rho_s(\text{g/cm}^3)$	2,583	1,718
$d_{\text{harmonique}}(\mu\text{m})$	241,03	185,78
$d_{60}(\mu\text{m})$	374,3	7,2
Facteur d'uniformité (u)	3,45	12
% du sable	92,406	19,039
% du limon	5,140	45,502
% de l'argile	2,454	35,459
pH	8,13	7.89
Hu%	0,86	3,26
Matière org MO (%)	2,34	1,36
PO ₄ (mg /g)	0,0017	0,00179
NO ₃ (mg /g)	0,0 39	0,01575
NO ₂ (mg /g)	$7,24 \cdot 10^{-5}$	$1,192 \cdot 10^{-5}$
NH ₄ (mg /g)	$3,0215 \cdot 10^{-4}$	$1,01 \cdot 10^{-4}$
C/N	150	375

III.1.1.2. Caractéristiques biologiques du sol

Après isolement et dénombrement, l'analyse de la microflore du sol confirme la présence de micro-organismes dans le sol S1 $1,5 \cdot 10^6$ UFC/g avant contamination par le gasoil.

Ce résultat nous permet donc d'avancer que ce sol pourrait être traité par des procédés biologiques en utilisant ses propres microorganismes.

Plusieurs auteurs ont débuté des traitements avec un nombre initial en microorganismes dépassant 10^5 germes / g de sol. C'est le cas de Margesin et Schinner [92], Eriksson et al [93] et Stapleton et al [94] qui ont travaillé avec un nombre de germes initial, respectivement, de $6.5 \cdot 10^7$, 2.310^7 et $1.1 \cdot 10^6$ UFC/g de sol.

III.2. Etude hydrodynamique

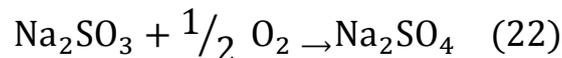
Afin de déterminer les conditions optimales du traitement biologique, une étude hydrodynamique sol/eau/air a été réalisée pour différentes concentrations en solide. Nous avons fait varier les vitesses d'agitation sous débit d'air constant. Le suivi de la concentration en oxygène et l'évolution des hauteurs des émulsions ont permis de déterminer le coefficient de transfert de matière K_{La} et la rétention gazeuse et de suivre leur évolution en fonction de la vitesse d'agitation pour différents teneurs en solide.

III.2.1. Etude de transfert de matière

Coefficient de transfert gaz-liquide

Le coefficient de transfert gaz-liquide k_{La} est déterminé par une méthode dynamique - c'est-à-dire par la mesure au cours du temps de la variation de la concentration en oxygène dissous à l'aide de sonde oxymétrique.

La méthode est basée sur la désoxygénation du milieu en présence de sulfite de sodium (Na_2SO_3), selon le schéma réactionnel suivant



La détermination de coefficient de transfert k_{La} s'appuie sur les hypothèses suivantes [95] :

a- L'addition d'une troisième phase ne change pas la loi d'équilibre (c'est-à-dire la constante de Henry, H_e) entre l'air et l'eau;

b- La concentration d'oxygène à saturation C_{L^*} est constante,

a- Le temps de réponse de la sonde est négligeable par rapport à $1/k_{La}$;

b- Le réacteur est parfaitement agité.

A partir des hypothèses précédentes, le bilan massique en oxygène dans la phase liquide s'écrit :

$$\frac{dC_L(t)}{dt} = K_L a (C_L^* - C_L(t)) \quad (23)$$

Ou $C_L(t)$: La concentration en oxygène dissous à l'instant t (mg.L⁻¹).

C_L^* : La concentration en oxygène dissous à la saturation (mg.L⁻¹).

L'intégration de l'équation précédente en considérant la concentration en oxygène dissous dans la phase liquide au début de l'oxygénation égale à $C_L(0)$ donne :

$$\ln\left(\frac{C_L^* - C_L(t)}{C_L^* - C_L(0)}\right) = -K_L a \times t \quad (24)$$

III.2.1.1. Coefficient de transfert en eau claire

Dans cette série d'expériences nous avons fait varier la vitesse d'agitation entre 0, 300, 500, 600 et 800 tr/min pour deux débits d'aération 104 et 208 mL/s, et suivi la concentration en oxygène dans l'eau en l'absence de solide. Puis à partir du tracé de $-\ln\left(\frac{C_L^* - C_L(t)}{C_L^* - C_L(0)}\right)$ en fonction du temps, nous avons déterminé les différents coefficients de transfert.

Les résultats de mesure de la concentration en oxygène en fonction du temps sont représentés sur les figures 3 tandis que les figures 4 illustrent l'évolution de $-\ln\left(\frac{C_L^* - C_L(t)}{C_L^* - C_L(0)}\right)$ en fonction du temps. L'évolution de $K_L a$ en fonction de la vitesse d'agitation est représentée dans la figure 5. Les différents résultats de mesure du coefficient de transfert $K_L a$ sont regroupés dans le tableau 6.

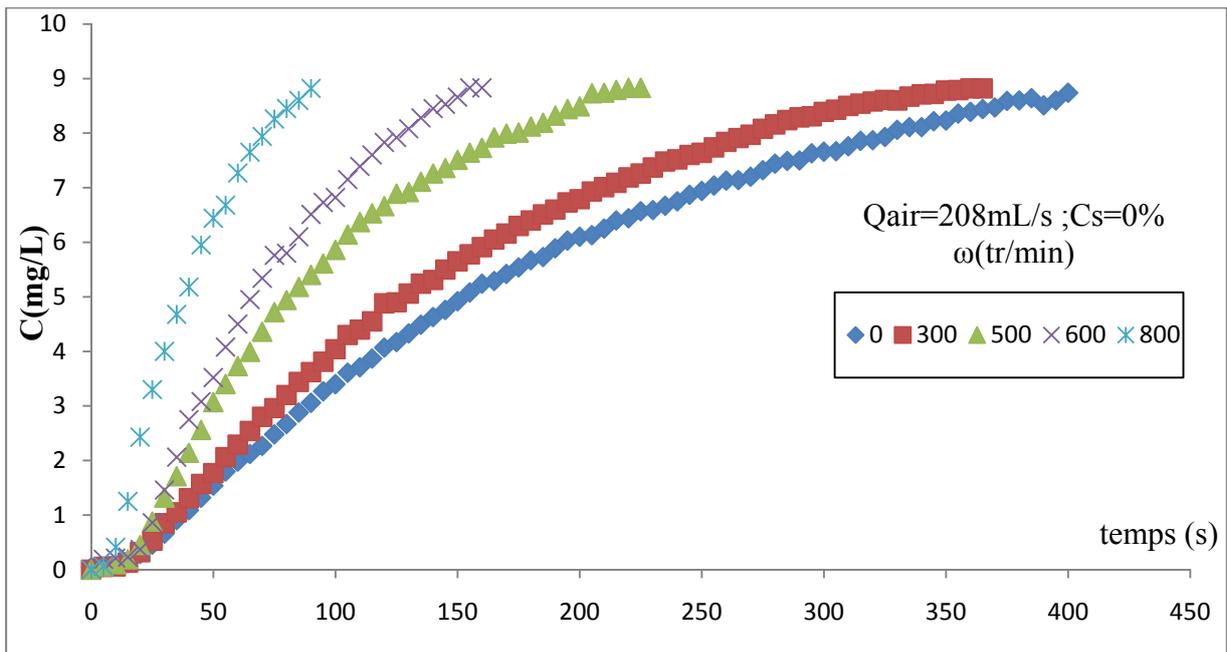
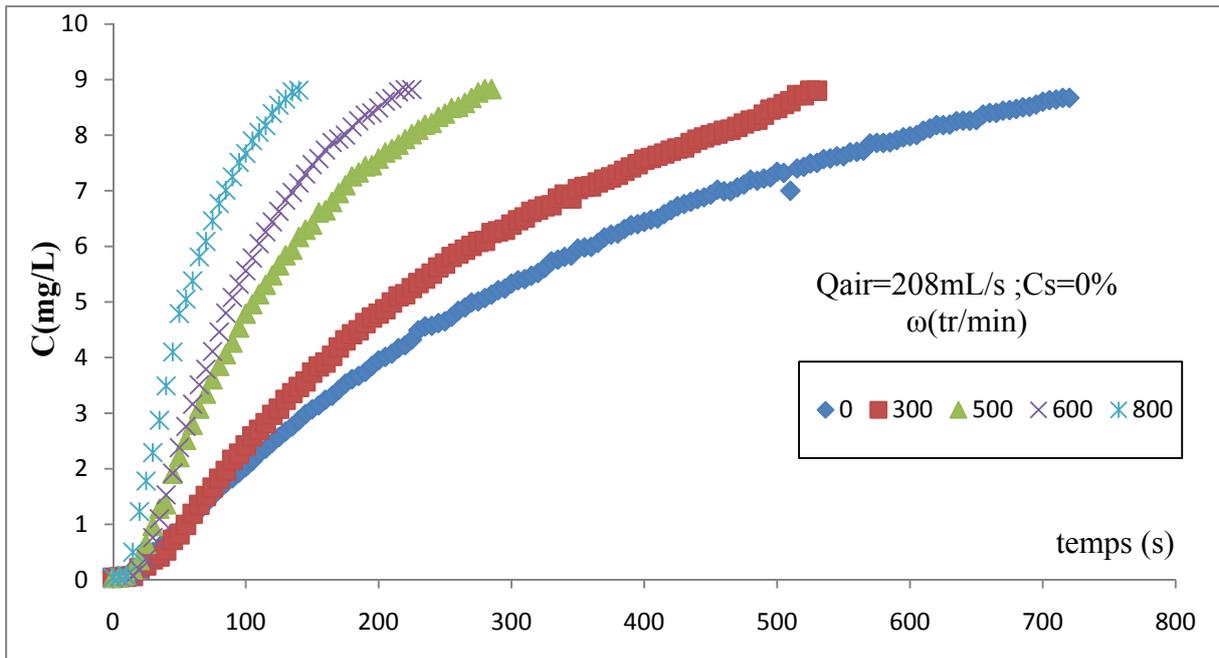


Fig.3 : Evolution temporelle de la concentration en oxygène en l'absence de solide

En maintenant l'aération constante, la concentration de l'oxygène augmente de façon exponentielle jusqu'à atteindre la saturation à un temps t_s qui est fonction du débit d'aération et de la vitesse d'agitation.

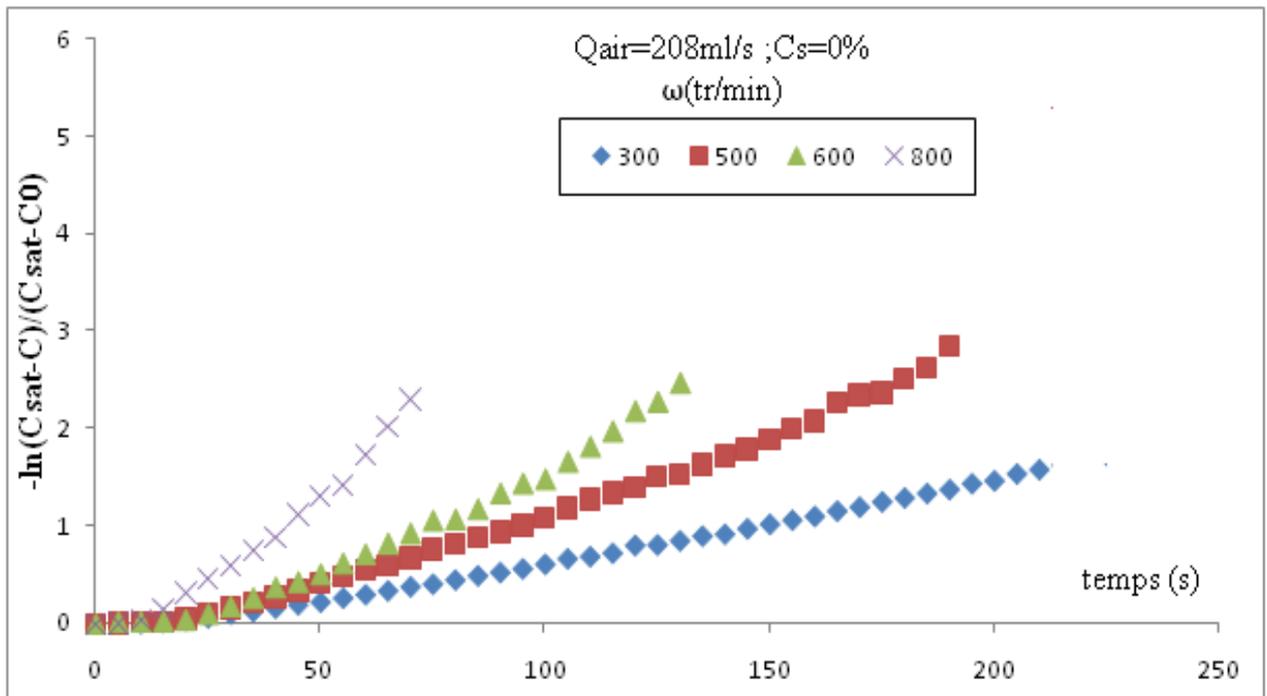
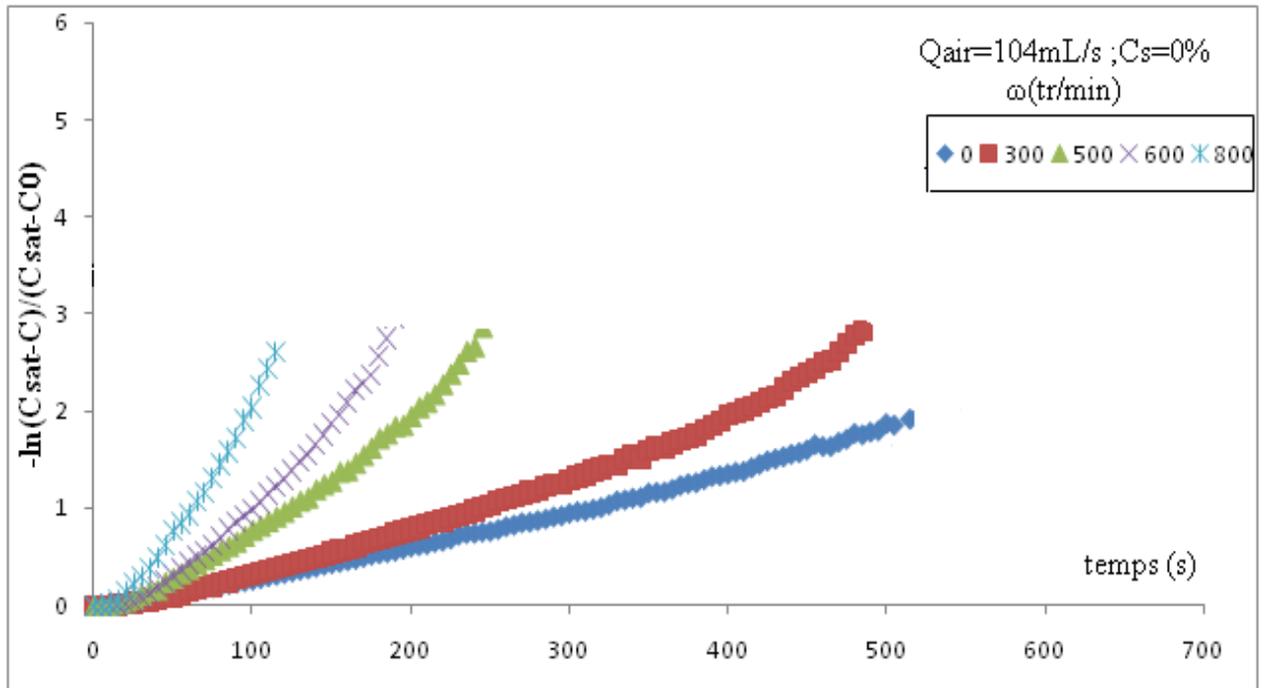


Fig.4: Evolution de $-\ln\left[\frac{C^*-C_L}{C^*-C_0}\right]$ en fonction du temps

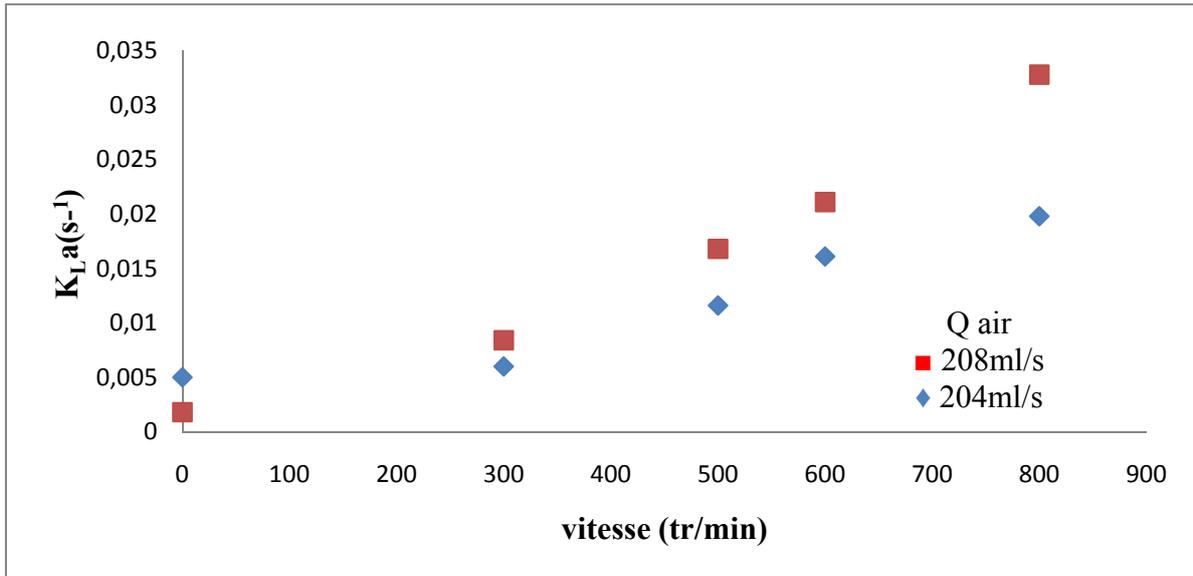


Fig.5: Evolution de K_{La} en fonction de la vitesse d'agitation

Tableau6 : Coefficient de transfert de matière en l'absence de solide :

ω (tr/min)	K_{La} (s ⁻¹)	
	Q=104ml/s	Q=208ml/s
0	0.005	0.0018
300	0.006	0.0084
500	0.0116	0.0168
600	0.0161	0.0211
800	0.0198	0.0328

Il ressort de cette série d'expériences que le coefficient de transfert augmente linéairement avec la vitesse d'agitation pour les deux débits d'aération. Cette augmentation est due au fait que l'intensification de l'agitation accroît l'homogénéité du mélange avec l'obtention de surfaces d'échange très importantes entre le gaz et le liquide

L'augmentation de la vitesse d'agitation augmente la densité du mélange ce qui diminue l'épaisseur du film ou le temps de contact et/ou augmente la vitesse de renouvellement de surface et par conséquent augmente le coefficient de transfert de matière air-liquide K_{La} [96].

L'augmentation du débit d'air a pour conséquence d'augmenter le coefficient de transfert. Ce résultat concorde avec ceux usuellement trouvés dans la littérature [97].

III.2.1.2. Coefficient de transfert en présence de solide

La plupart des études de transfert d'oxygène ont été consacrées surtout à l'étude des systèmes gaz-liquide. Toutefois, la présence de solide affecte le coefficient de transfert de matière mais agit surtout sur la rétention gazeuse en modifiant le comportement des bulles. De plus, la présence des particules solides influence énormément la vitesse d'agitation du liquide, qui tend à diminuer, du fait de l'augmentation de la masse volumique et de la viscosité de la suspension [88].

Influence de la vitesse d'agitation

L'agitation des particules a pour but de réduire la résistance au transfert, mais également de permettre le maintien des particules solides en suspension et d'éviter leur dépôt. Dans cette série d'expériences nous avons fait varier la vitesse d'agitation en maintenant le débit constant.

Les résultats de mesure de la concentration en oxygène dissous sont illustrés dans les figures 6 dans le cas de sol S1 et 7 dans le cas du sol S2.

Les courbes représentant l'évolution temporelle de la concentration en oxygène dissous ont la même allure que celles enregistrées en l'absence de solide. La concentration en oxygène dissous augmente de façon exponentielle puis atteint une valeur constante qui correspond à la saturation de l'émulsion.

Toutefois, le transfert de l'oxygène semble être diminué du fait de la présence de solide comme l'illustre l'exemple de la figure 8. La figure 8 présente les courbes expérimentales obtenues pour un débit d'aération de 208 mL/s et une vitesse d'agitation de 300 et 600 tr/min.

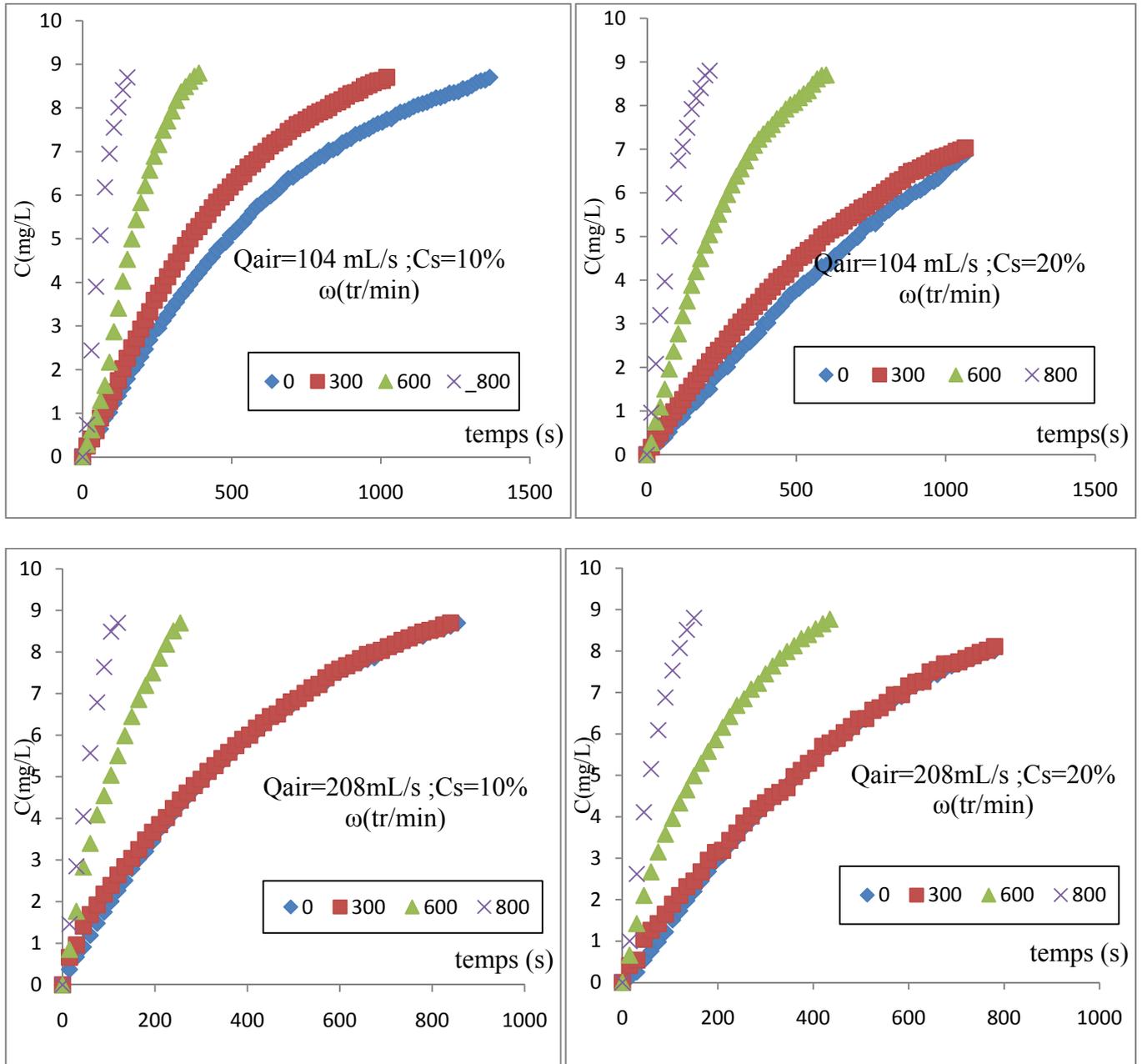


Fig.6: Evolution temporelle de la concentration en oxygène dissous dans le cas du sol S1

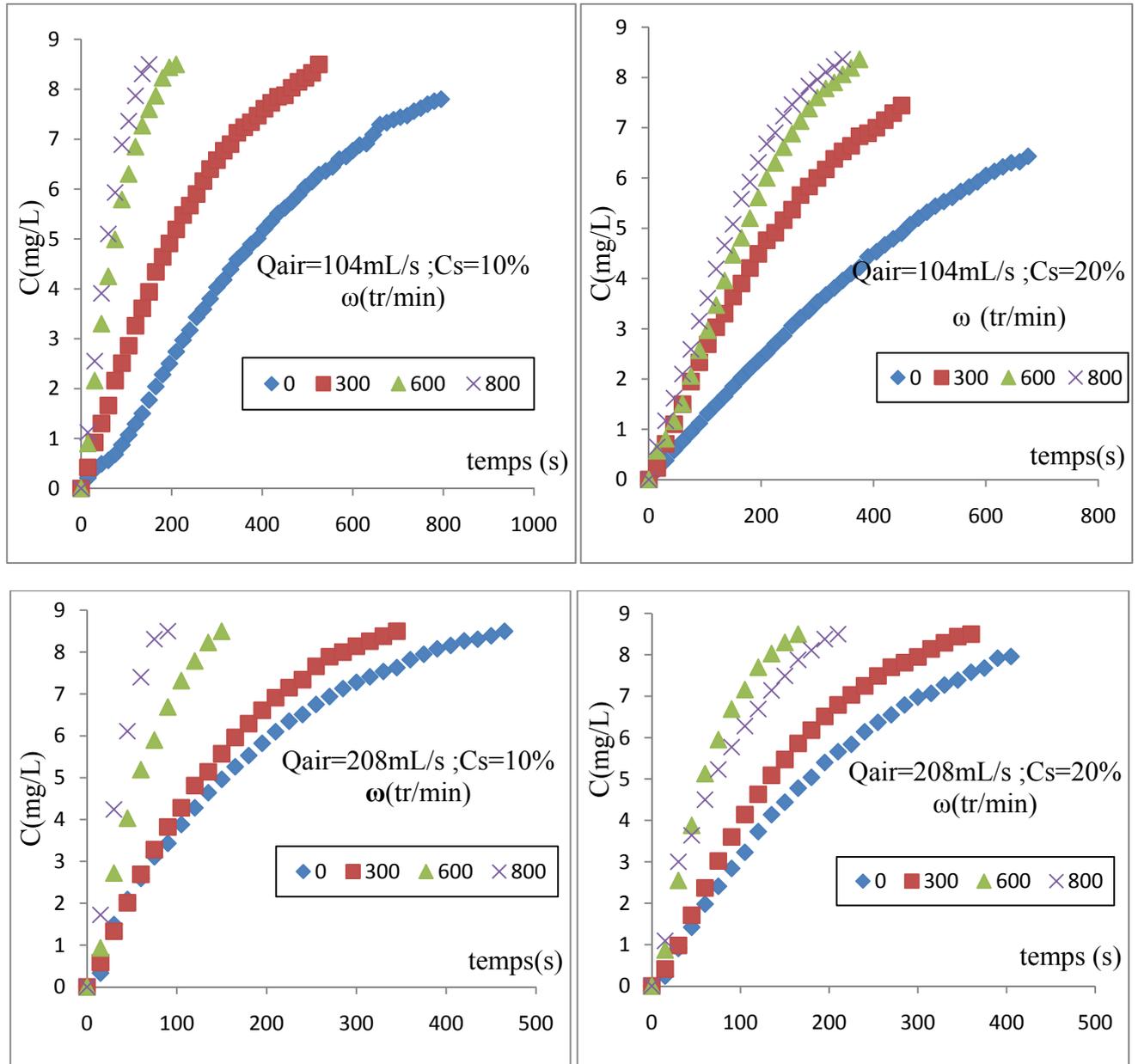


Fig.7 : Evolution temporelle de la concentration en oxygène dissous dans le cas de sol S2

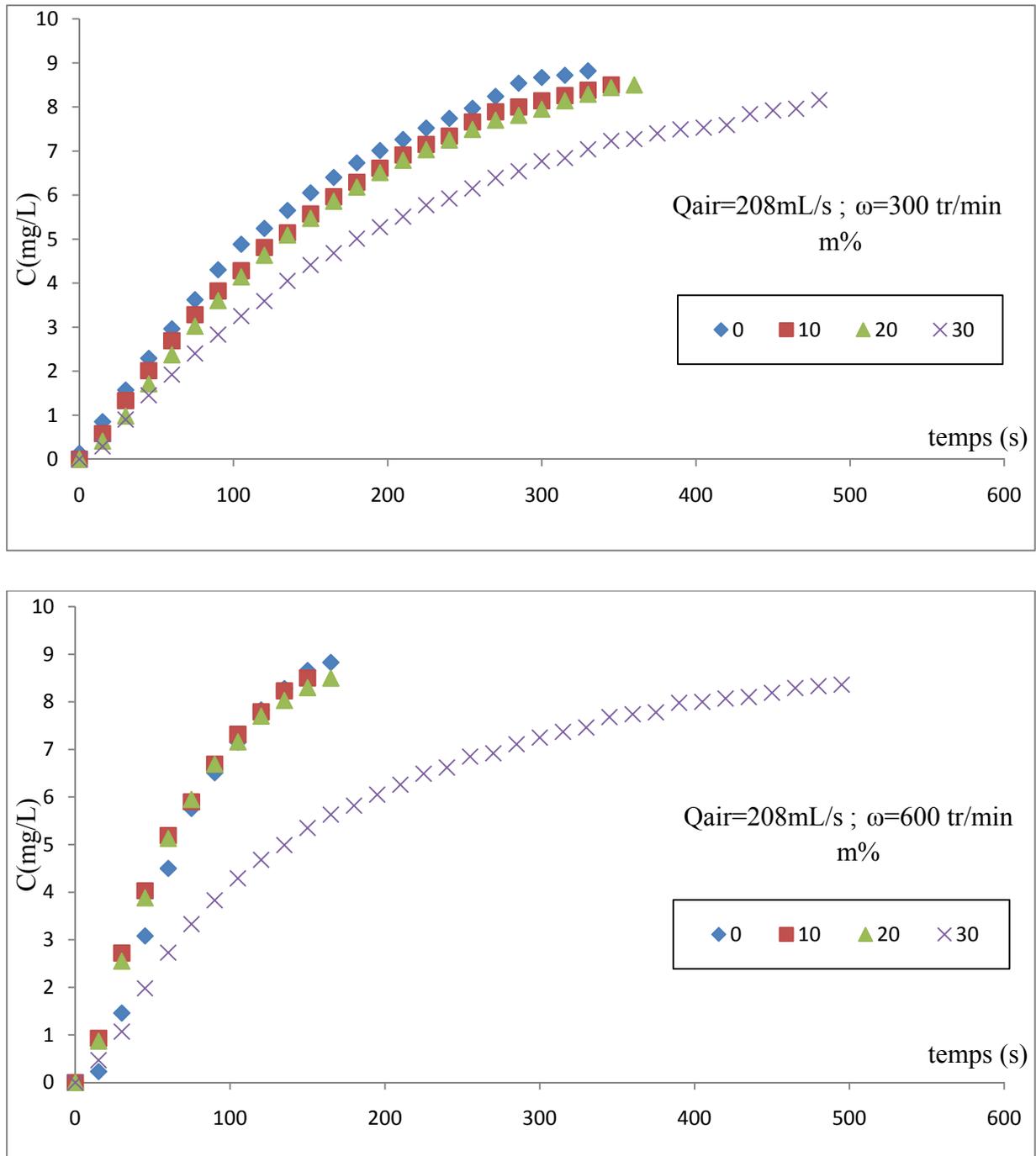


Fig.8: Evolution temporelle de la concentration en oxygène dissous dans le cas du sol S2 pour différents débits d'aération et vitesse d'agitation.

La figure 8 montre que la présence de solide affecte le temps de saturation en oxygène, une nette diminution de ceci est observée en augmentant la masse de sol introduite dans le réacteur. Cette diminution du temps de saturation est d'autant plus importante que la masse de solide est importante (% solide=30) et étroitement liée à la nature de sol.

Pour calculer le coefficient de transfert global K_{La} ; nous nous intéresserons à la partie linéaire des la courbes $C=C(t)$. le tracés de $-\ln[(C^*-C_L)/(C^*-C_0)]$ en fonction du temps pour

les différentes conditions d'essai comme l'illustrent les figures 5-1 pour le sol S1 et 5-2 pour le sol S2. Annexe 5, nous ont permis de déterminer le coefficient de transfert global K_{La} (tableau7)

Tableau 7 : Coefficient de transfert K_{La} pour différents conditions d'essai et pour les deux types de sols S1 (Aintaya) et S2 (ENP) :

		$K_{La}(s^{-1})$			
C_s	ω (tour/min)	$Q_{air}=104mL.s^{-1}$		$Q_{air}=208mL.s^{-1}$	
		Sol S1	Sol S2	Sol S1	Sol S2
10%	0	0.0023	0.0027	0.0037	0.0074
	300	0.0032	0.0057	0.0038	0.0096
	600	0.0082	0.0173	0.0111	0.0202
	800	0.0203	0.0214	0.0253	0.0395
20%	0	0.0013	0.0020	0.0028	0.0059
	300	0.0015	0.0042	0.0029	0.0094
	600	0.0054	0.0076	0.0078	0.0203
	800	0.0196	0.0087	0.0213	0.0161
30%	0	0.0010	–	0.001	0.0014
	300	0.0011	0.0011	0.0027	0.0054
	600	0.0022	0.0023	0.0041	0.0069
	800	0.0114	–	0.0149	–

Le tracé du coefficient de transfert K_{La} en fonction de la vitesse d'agitation (figures 9, 10) met en évidence, une constance ou une légère augmentation du coefficient de transfert pour une vitesse d'agitation entre 0 et 300 tr/min. A partir de 300 tr/min, une augmentation significative du coefficient de transfert global K_{La} est observée. Toutefois, au-delà de 600tr/min il ya formation d'un vortex, phénomène à éviter car il peut détruire les amas des micro-organismes dans le cas des processus biologiques.

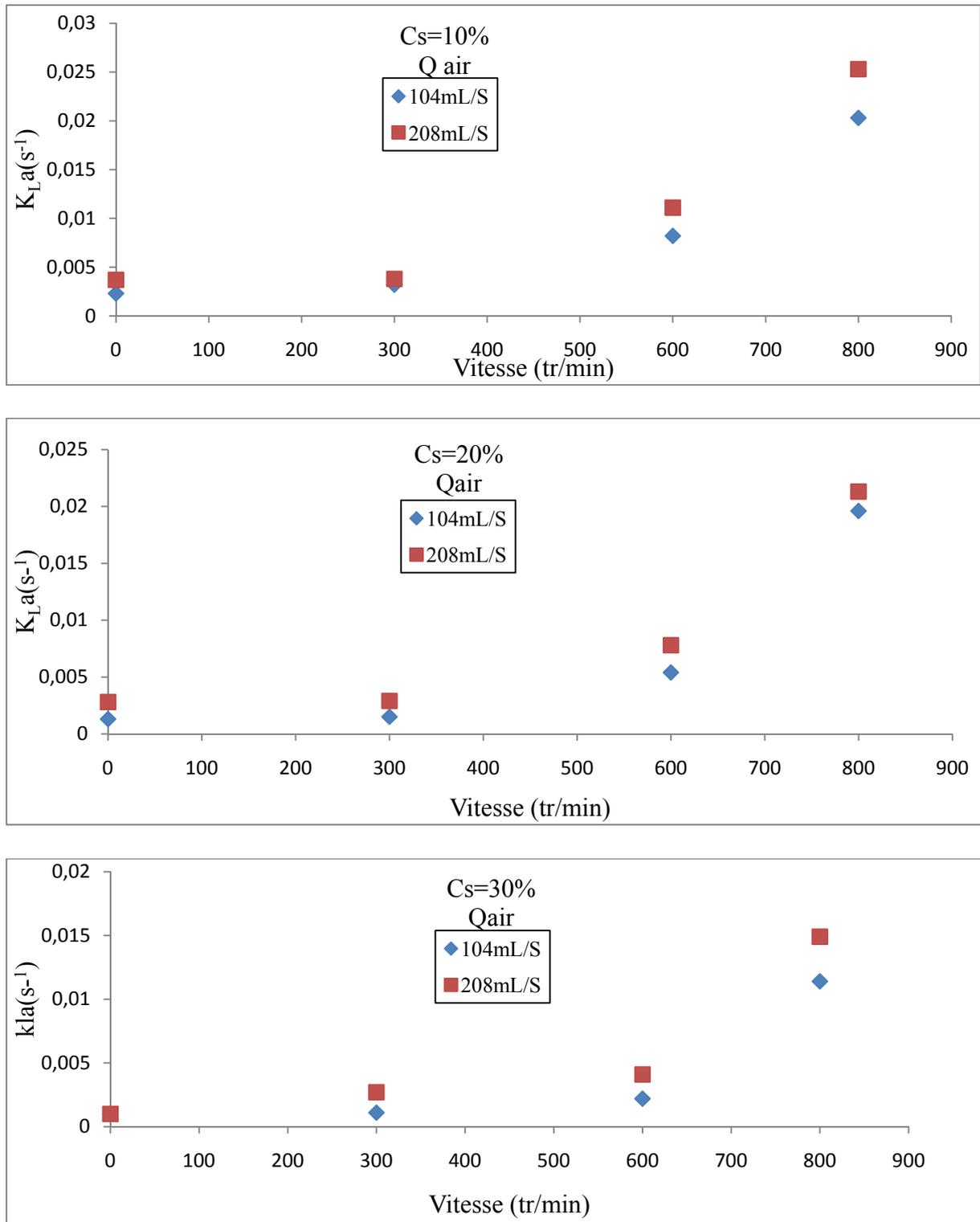


Fig.9: Evolution de k_{La} en fonction de la vitesse d'agitation dans le cas du sol S1

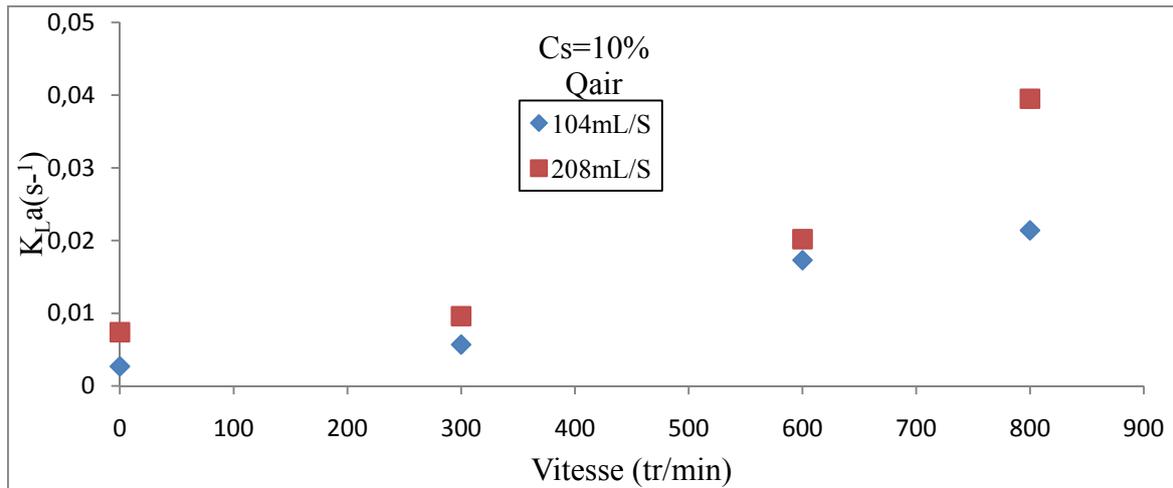


Fig.10 : Evolution de K_La en fonction de la vitesse d'agitation dans le cas du sol S2

On remarque, comme le montrent les figures 9 et 10 que K_La augmente en fonction de la vitesse d'agitation de la même manière pour les deux débits et les deux types de sol, indépendamment de la concentration de solide présent dans le réacteur. Le coefficient de transfert global diminue avec l'augmentation de la concentration du solide. Par ailleurs,

- En augmentant la vitesse d'agitation de 0 à 600 tour/min on observe une augmentation de K_La plus importante dans le sol S2 que dans le cas de S1 quelque soit le débit d'aération et la concentration de solide dans le réacteur.
- En doublant le débit d'aération dans le réacteur le coefficient de transfert K_La augmente de la même valeur dans le cas d'une concentration de solide de 10% pour les deux sols S1 et S2, par contre à des concentrations de solide de 20 et 30%, cette augmentation est plus importante pour le sol S2.

La présence de particules solides affecte le transfert de matière K_La (tableau7) et peut être à l'origine de la modification de l'aire interfaciale a . Le sens de la modification dépend des propriétés des particules (taille, adhésion ou non sur la bulle), des propriétés du milieu [98]. La taille des bulles d'air est donc un paramètre essentiel. Le solide peut augmenter la coalescence des bulles en se comportant comme un fluide visqueux cas de sol S2 dont le d_{60} est de $7,2 \mu\text{m}$ (généralement pour de faible diamètre de particules), ou au contraire «casser» les bulles s'il dispose de l'inertie suffisante (cas des particules de gros diamètres) cas de sol S1 dont le d_{60} est de $374,3 \mu\text{m}$. Ces deux phénomènes à effet antagoniste, peuvent par la suite affecter la géométrie des bulles.

La coalescence, phénomène de réunion des bulles d'air ; contribue à l'augmentation du diamètre des bulles, et ainsi, à la diminution de l'aire interfaciale spécifique. Le cisaillement qui correspond à la division d'une bulle de gaz en de multiples bulles plus petites et qui peut

être la conséquence de la déformation des bulles d'air, entraîne une augmentation de l'aire interfaciale spécifique et par conséquent une augmentation du terme $K_L a$.

Certains auteurs considèrent que la force de tension superficielle tend à garder la bulle sphérique, alors que les forces de cisaillement dues à la turbulence du milieu tendent à la déformer. La déformation peut aller jusqu'à la rupture de la bulle, et ainsi donner naissance à des éléments plus petits. Le cisaillement diminue lorsque la viscosité dynamique du liquide augmente [99].

De façon générale le coefficient de transfert augmente avec le débit et cette augmentation est d'autant plus importante que la vitesse d'agitation est importante.

L'augmentation du débit d'aération injecté par le diffuseur peut permettre d'augmenter l'aire interfaciale selon **Ho et coll [100]** et donc $K_L a$. Pour cela le choix du débit d'aération doit être envisagé de manière coordonnée avec la puissance dissipée par l'agitation.

Si le gaz impose l'écoulement dans le réacteur il y a engorgement (flooding) selon **Nienow et coll [101]** et l'aire interfaciale a est considérablement réduite, alors qu'au dessus d'une vitesse d'agitation critique l'aire interfaciale est indépendante du flux de gaz dispersé [102].

III.2.2. Taux de rétention

Cette mesure a été effectuée à l'aide des relevés de la hauteur de la surface du liquide aéré H et non aéré H_L . Le taux de rétention sera alors calculé à partir de la relation suivante :

$$\alpha = (H - H_L) / H \quad (25)$$

Cette étude a porté sur l'influence de la vitesse d'agitation et de la concentration de solide comme l'illustre la figure 11.

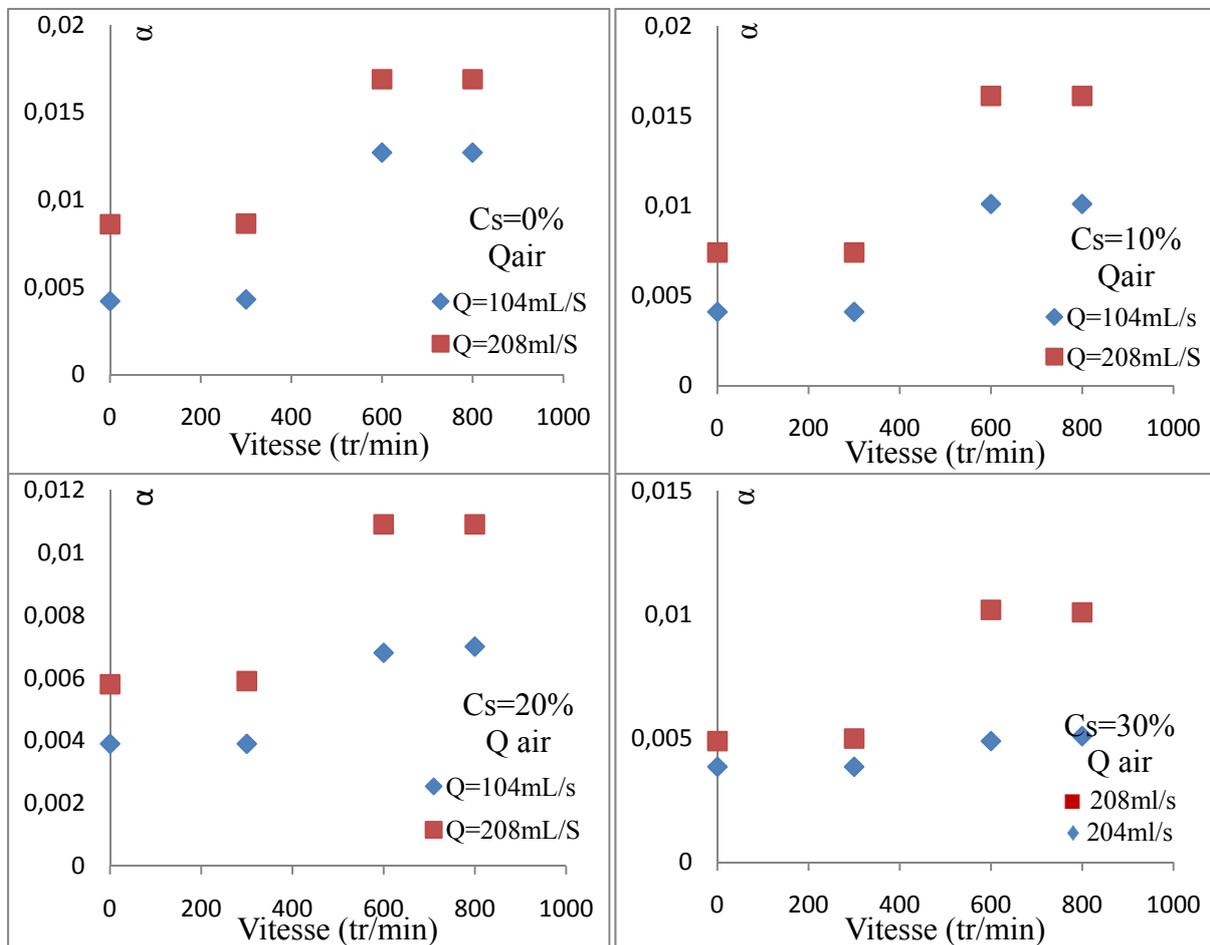


Fig.11 : Evolution de la rétention gazeuse dans le cas de sol S1 pour différents débits d'aération et vitesse d'agitation

Il ressort que la variation de la rétention gazeuse en fonction de la vitesse d'agitation suit la même allure pour les différents débits et concentrations de solide étudiés.

Pour une vitesse d'agitation entre 0 et 300 tr/min, le taux de rétention reste constant. Aux faibles taux de rétention correspondant aux faibles vitesses d'agitation, c'est la zone de court-circuit.

L'augmentation de la vitesse d'agitation entre 300 et 600 tr/min accroît la rétention gazeuse. Cette augmentation est supérieure à 50% pour une fraction de solide de 10%, par exemple. Cela correspond à la zone de charge qui est caractérisée par une bonne dispersion des bulles gazeuses dans le réacteur et une évolution linéaire du taux de rétention avec la vitesse d'agitation.

Au delà de 600 tr/min, la rétention gazeuse est caractérisée par une constante du taux de rétention : c'est la troisième zone d'engorgement ; domaine des grosses cavités adhérentes [103].

Pour la suite de notre travail on va se situer dans la zone de charge afin d'avoir un meilleur contact entre les différentes phases en présence et un transfert de matière optimal soit une vitesse d'agitation comprise entre (300 et 600) tr/min.

On peut reporter, dans le tableau 8, tous les résultats obtenus pour la rétention gazeuse

Tableau 8 : Rétention gazeuse α

	ω (tr /min)	0	300	600	800
$C_s=0$ %	$\alpha(Q_{air}=104\text{mL/s})$	0.004	0.004	0.013	0.013
	$\alpha(Q_{air}=208\text{mL/s})$	0.009	0.009	0.017	0,017
$C_s=10$ %	$\alpha(Q_{air}=104\text{mL/s})$	0.004	0.004	0.010	0,010
	$\alpha(Q_{air}=208\text{mL/s})$	0.007	0,007	0.016	0,016
$C_s=20$ %	$\alpha(Q_{air}=104\text{mL/s})$	0.004	0.004	0.007	0,007
	$\alpha(Q_{air}=208\text{mL/s})$	0.006	0,006	0.011	0,011
$C_s=30$ %	$\alpha(Q_{air}=104\text{mL/s})$	0.004	0.004	0.005	0.005
	$\alpha(Q_{air}=208\text{mL/s})$	0.005	0,005	0,010	0.010

III.3. Traitement en bioréacteur

III.3.1. Procédure expérimentale

Le sol tamisé a été pollué par du gasoil et amendé en azote et en phosphore, pour être ensuite mis en suspension dans l'eau avec un pourcentage de solide de 20% en masse après cinq jours d'incubation.

Pour étudier l'influence du rapport C/N/P sur le taux de biodégradation nous avons réalisé l'amendement en azote sous forme de NH_4Cl et en phosphore sous forme de KH_2PO_4 selon trois rapports molaires de 120/10/1, 100/10/1, et 106/16/1, en référence aux travaux respectifs de **Ghazali et coll [104]**, **Chaîneau et coll [105]** et **Ferguson et coll [106]**.

Le suivi de l'influence des doses des nutriments sur l'enlèvement du gasoil a été réalisé à partir de la détermination temporelle de la biomasse et des teneurs en azote et en phosphore.

Les essais ont porté sur des sols non stérile et stérile dans un réacteur triphasique agité. Le sol a été au préalable lavé et séché à 120°C pendant 24 heures pour ainsi éliminer tous les micro-organismes [107]. Les conditions opératoires adoptées sont

- Un débit d'aération de 208 mL/s ;
- Une vitesse d'agitation comprise entre 300 et 500 tr/min ;

Nous avons travaillé à une température ambiante entre 25 et 27 °C, c'est une température adaptée aux micro-organismes mésophiles (20 à 40°C) [108].

- Pour le suivi de la population microbienne, des prélèvements de 1mL ont été réalisés dans le réacteur tous les deux jours.
- Pour permettre le dosage des nutriments, des prélèvements de 50 mL ont été effectués tous les jours. Le sol en suspension est séparé de la solution à analyser, par centrifugation.
- La détermination des teneurs en gasoil par chromatographie en phase gazeuse a été effectuée avant et à la fin du traitement pour la phase liquide.

III.3.2. Croissance microbienne

a) Système biotique

La figure12 représente les courbes de croissance des micro-organismes au cours du traitement pour les rapports C/N/P fixés à 120/10/1, 100/10/1 et 106/16/1.

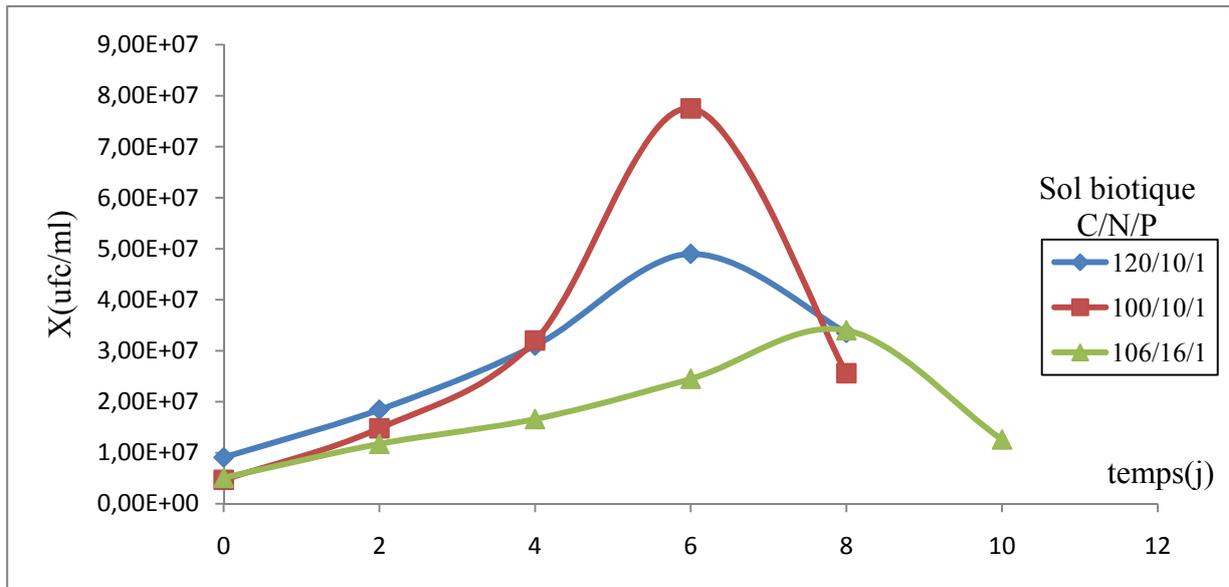


Fig.12 : Evolution de la biomasse au cours du temps pour différents rapports C/N/P

La biodégradation du gasoil ne semble pas nécessiter une phase d'adaptation en particulier pour les rapports C/N/P 120/10/1 et 100/10/1 à ce nouveau milieu.

A partir du 1^{er} jour de traitement, on observe la phase exponentielle où les microorganismes se développent rapidement, étant donné que le milieu est riche en nutriments et en source de carbone (gasoil).

A partir du 6^{ème} jour le nombre des micro-organismes diminue graduellement pour les rapports 100/10/1 et 120/10/1 et à partir de 8^{ème} jour pour le rapport 106/16/1 du fait de l'épuisement des éléments nutritifs et des hydrocarbures du gasoil facilement biodégradables. En fait, les micro-organismes continuent l'assimilation des produits métabolisés.

La croissance microbienne présente la même allure pour les trois rapports et semble plus importante dans le cas du rapport C/N/P=100/10/1.

En effet, la croissance microbienne atteint la valeur maximale de $7,75 \cdot 10^7$ ufc/ml pour un rapport C/N/P de 100/10/1 et de $4,9 \cdot 10^7$ et $3,40 \cdot 10^7$ ufc/ml pour les rapports C/N/P respectifs de 120/10/1 et 106/16/1. C'est une augmentation de 93,4% dans le cas le plus favorable.

Il faut toutefois remarquer que la microflore bactérienne totale, relativement importante en début d'expérience (10^7 ufc/ml) n'a pas véritablement évolué puisqu'elle se situe entre 10^7 et 10^8 ufc/ml.

Dans beaucoup de travaux de bioremédiation la flore microbienne passe de $3,10^7$ UFC/g à 10^8 ufc/g selon Greer et coll.[109] et de 10^5 à 10^7 selon Miicic-Terzic et coll. [110] alors que pour Ghazali et coll. [111] l'échantillon contaminé avec le diesel contient 10^5 ufc/g des microorganismes indigènes et passe à l'ordre de 10^7 ufc/g après addition d'un inoculum.

Mukherji et coll. (2004) [112] trouvent que la croissance microbienne atteint un maximum pour un rapport molaire optimal N/P de 2/1. L'approvisionnement en ces deux éléments essentiels (N, P) en tant que sels hydrosolubles pose plusieurs problèmes dont celui de la sorption, l'assimilation par d'autres bactéries non dégradantes, et les réactions de nitrification dénitrification [113].

b) Système abiotique

Afin de déterminer la quantité de gasoil éliminée dans le réacteur étudié par les processus abiotiques par évaporation et transport, nous avons également suivi l'évolution temporelle de la biomasse dans les systèmes abiotiques pour les mêmes conditions d'essais. La figure 13 montre l'évolution de ces micro-organismes en fonction du temps.

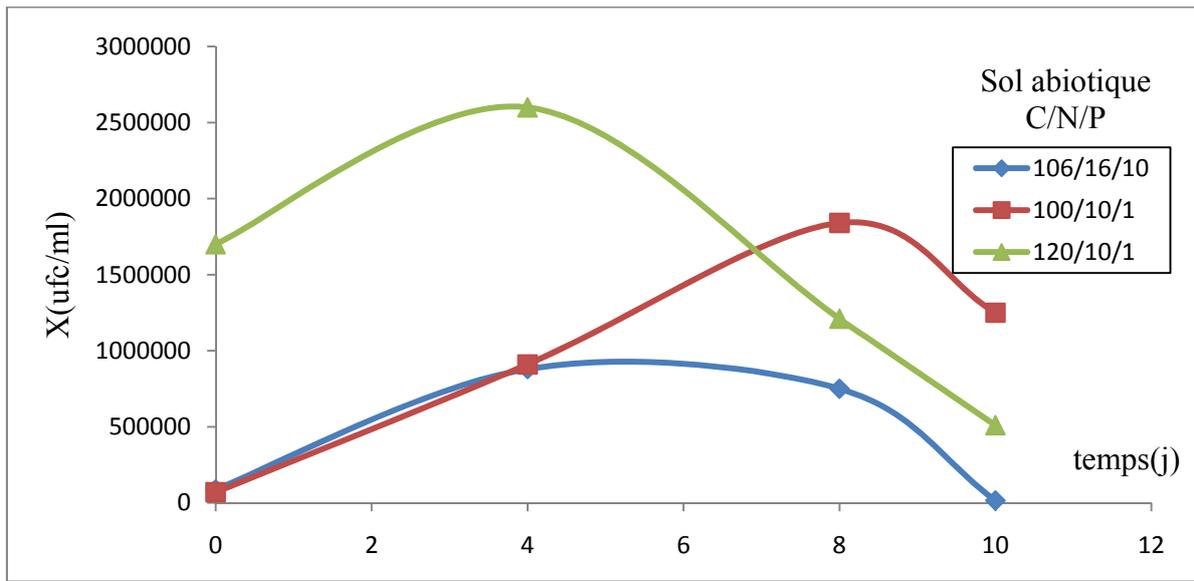


Fig.13 : Evolution de la biomasse au cours du temps pour différents rapports C/N/P (sol abiotique)

Une faible croissance des micro-organismes est constatée en comparaison avec les systèmes biotiques et elle atteint une valeur maximale de $2,6 \cdot 10^6$ ufc/ml pour le rapport C/N/P=120/10/1.

Contrairement aux attentes, après une période de traitement de 4 jours, une flore bactérienne s'est développée dans les systèmes abiotiques. Elle est de $8,80 \cdot 10^5$ ufc/ml pour le rapport 106 /16/1 et de $9 \cdot 10^5$ ufc/ml pour le rapport 100/10/1.

Ces résultats mettent en évidence que la stérilisation du sol par la méthode de séchage ou étuvage à 120°C pendant 24 heures, ne permet pas le maintien d'un sol stérile après pollution, amendement et aération. La présence des micro-organismes dans les systèmes abiotiques est non seulement le fait d'un milieu propice à la croissance microbienne (source de carbone, nutriments, oxygène,.....) mais également le fait de contaminations par l'air ambiant injecté non filtré et par les différentes manipulations (pollution, amendement, prélèvements d'échantillons).

Par conséquent, les systèmes abiotiques étudiés sont le siège de transformations abiotique et biotique du fait de la présence des micro-organismes.

c) Taux de croissance μ_{max}

La détermination du taux de croissance maximum à partir des pentes des droites de l'évolution de la croissance bactérienne en fonction du temps durant la phase exponentielle

nous a permis de comparer les vitesses de croissance bactérienne pour les différents essais. Les différents taux de croissance sont regroupés dans le tableau 8.

Tableau9 Taux de croissance maximum des micro-organismes autochtones

C/N/P	μ_{\max} (jour ⁻¹)	R ²
100/10 /1	0,48	0,99
120/10/1	0,29	0,98
106/16/1	0,28	0,99

D'après le tableau 8 les taux de croissance varient en fonction des rapports C/N/P, on remarque un maximum avec (C/N/P= 100/10/1).

Plusieurs auteurs ont étudiés la bioremédiation des sols pollués par les hydrocarbures dans des bio-slurry c'est le cas de **Gennaro, Franzetti [113]**, **Seung, Woo, Lee [114]**, **Chulhwan, Tak-hyun [115]**, **Sabrina, Luca [116]**, ils ont calculé le taux de croissance maximal et ils ont trouvé des valeurs, respectivement, de **0,657j⁻¹** , **3,78j⁻¹**, **0,245j⁻¹**, et **0,26j⁻¹**.

III.3.3. Evolution de la teneur en nutriments

Il a été démontré que les nutriments sont indispensables à l'activité microbienne. Il est donc important de suivre l'évolution de la teneur de ces éléments pendant toute la période de traitement et d'en étudier l'influence sur la croissance bactérienne.

Nous avons suivi l'évolution de la concentration des nitrites [NO₂⁻], des nitrates [NO₃⁻²] et du phosphore sous forme de [PO₄⁻³].

III.3.3.1. Evolution des nitrates [NO₃]

La teneur en nitrates augmente en début de traitement pour ensuite diminuer. Cette augmentation est due probablement au phénomène de nitrification, comme le suggèrent **Schloesing et Muntz [117]** ; une nitrification peut avoir lieu dans un milieu riche en matières organiques et en ions ammonium. Ces ions se transforment en nitrates lorsque l'aération est élevée, la température pas trop basse et le milieu légèrement alcalin. Ces conditions étaient réunies dans ce bioréacteur avec les trois rapports C/N/P.

D'après **Winogradsky[118]**, le phénomène de nitrification se déroule en deux étapes : la nitritation, transformation d'ion ammonium NH₄ en ion nitrites NO₂⁻ due aux bactéries nitreuses (*Nitrosomonas*, *Nitrosococcus* et *Nitrospira*) et la nitratisation, transformation des ions nitrites en ions nitrates NO₃ due aux bactéries nitriques (*Nitrobacter*, *Nitrocystis*). Le suivi de la concentration en nitrates a été faite pour les différents rapports C/N/P, les résultats étant représentées sur la figure 14.

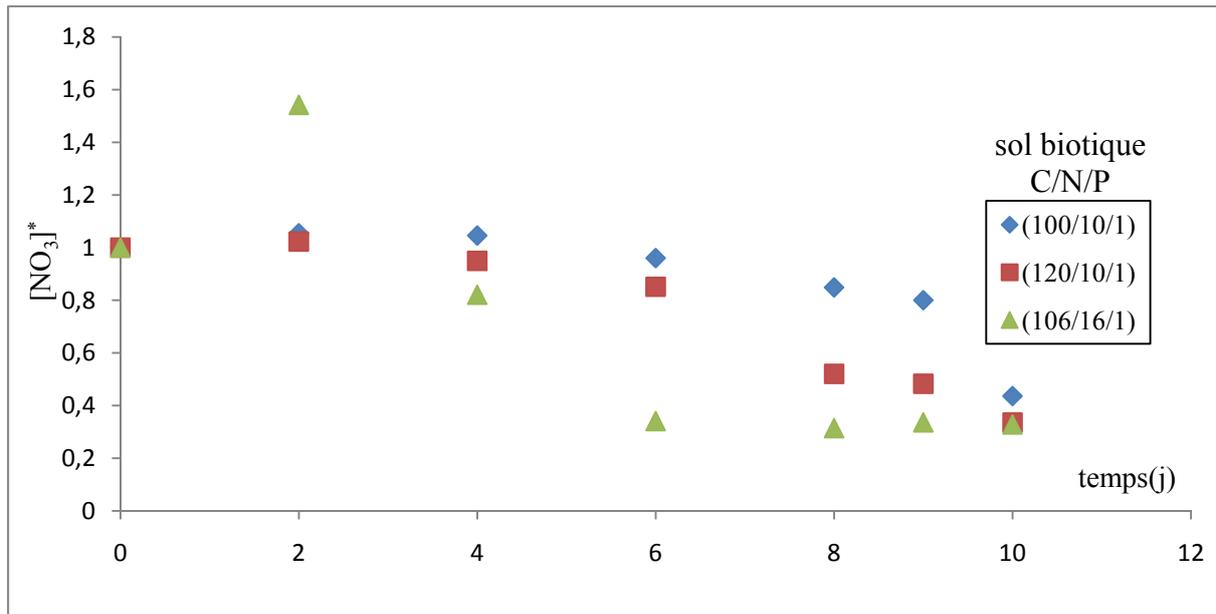


Fig.14 : Evolution de la concentration réduite des nitrates en fonction du temps

Nous avons constaté une diminution de la concentration qui provient probablement du fait de l'épuisement du milieu en ions ammonium indispensables aux bactéries, d'où le phénomène de la réduction assimilatrice, qui consiste à réduire les ions nitrate.

La figure 16 montre que la diminution de la concentration des nitrate est plus importante dans le cas de rapport C/N/P =106/16/1 elle est de 77,30%, cette diminution est de 66,43% et 56,41% pour les rapports 120/10/1 et 100/10/1 respectivement.

III.3.3.2. Evolution des nitrites [NO₂]

Les ions nitrites peuvent s'accumuler et constituer un problème environnemental en participant à la formation de nitrosamines cancérigènes [119].

Les nitrites subissent une réduction arrivant ainsi à l'ion ammonium dans le cas de la nitrification assimilatrice et à une oxydation aboutissant ainsi à l'azote nitrique dans le cas de la nitrification [120].

L'évolution des nitrites NO₂ en fonction du temps pour les différents rapports est représentée dans la figure15.

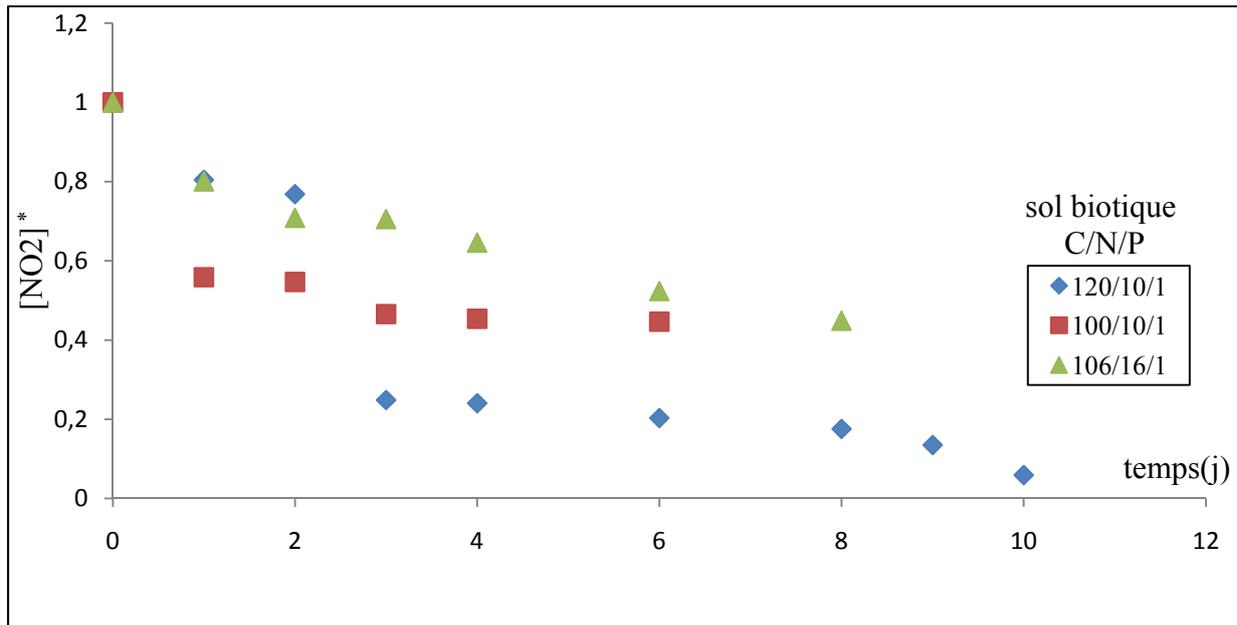


Fig.15 : Evolution de la concentration réduite des nitrites en fonction du temps

On constate une diminution de la teneur en nitrites durant la période de traitement et ce pour les différents rapports des nutriments.

Pour le rapport (C/N/P=120/10/1), la diminution de la teneur en nitrites dans le réacteur est plus favorable, elle a chuté de 75% après trois jours de traitement pour atteindre les 94% après dix jours de traitement.

Par contre pour les rapports 100/10/1 et 106/16/1 la diminution des nitrites est moins importante, elle est de 55,37 et 48% respectivement après six jours de traitement.

III.3.3.3. Evolution des phosphates

Le phosphore joue un rôle important dans le métabolisme cellulaire. Il est présent dans les acides nucléiques, phosphorite, nucléotides comme l'ATP, quelques cofacteurs, certaines protéines et dans d'autres composants inorganiques comme source de phosphore pour la synthèse d'ATP. Une faible disponibilité du phosphore limite la croissance bactérienne [67]. Le phosphore joue le rôle d'une véritable centrale énergétique à l'échelle cellulaire; il permet la récupération, l'accumulation et la distribution de l'énergie dans la cellule [37].

La figure16 représente l'évolution de la concentration en phosphore au cours du temps pour les différents rapports.

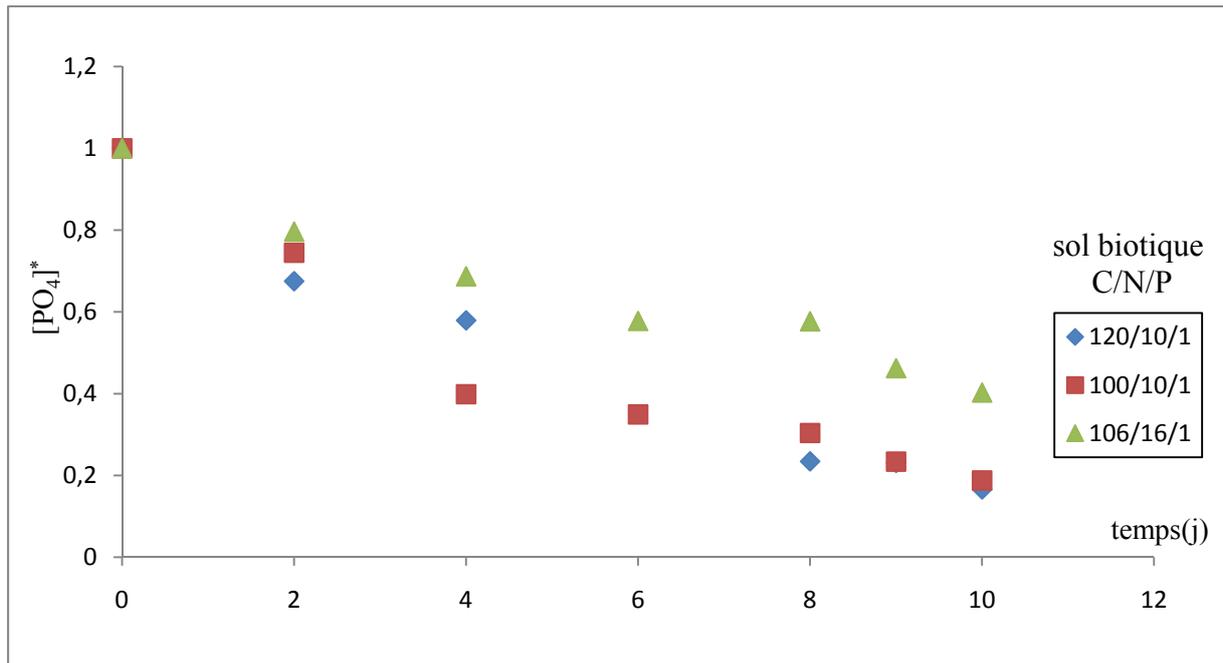


Fig.16 : Evolution de la concentration réduite des phosphates en fonction du temps

Il ressort de la figure que la teneur en phosphore diminue. Cette diminution est plus prononcée les premiers jours de traitement, ce qui confirme l'importance de ce composé dans le métabolisme cellulaire dès les premiers jours.

Nous remarquons que l'assimilation du phosphore est quasi-identique pour les trois rapports molaires après deux jours de traitement, mais à partir de quatrième jours nous constatons que la diminution de la concentration réduite du phosphore est plus importante pour les rapports 120/10/1 et 100/10/1.

III.3.4. Biodégradation du gasoil

III.3.4.1. description des chromatogrammes de l'échantillon étalon

Le gasoil est un mélange complexe d'hydrocarbures qu'on ne peut pas séparer totalement par chromatographie. En fait, seuls les n-alcane et quelques hydrocarbures ramifiés peuvent être identifiés en tant que composés séparés [58]. Le gasoil étudié provient de la station de service d'essence de Bab Ezzouar. Il a été analysé par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse GC/MS au sein du laboratoire de la police scientifique.

Le chromatographe est équipé d'une colonne HP-MS5 (longueur 30 m, diamètre 0,25 mm, épaisseur du film est de 0,25µm).

La température de la colonne est programmée de 60°C jusqu'à 250°C à 2°C/min avec un palier de 60 min. l'Hélium à un débit de 0,5µl/min.

L'injection est réalisée en mode splitless, l'injecteur, la ligne de transfert et le bloc étant portés respectivement aux températures de 250°C, 230°C et 230°C.

Le spectre de masse est obtenu en mode d'ionisation à impact électronique à 70 eV avec un balayage du domaine de 50 à 600 UMA (unité de masse atomique) à 2,83 scan/s.

Nous représentons sur la figure.17, le chromatogramme de référence de gasoil, et sur les figures 18a, 18b, 18c les chromatogrammes des échantillons liquides prélevés après 10 jours de traitement

La figure 18d montre la présence de multiple de pics, qui peuvent être attribués aux constituants du gasoil, présent initialement, qu'on a pu séparer par chromatographie.

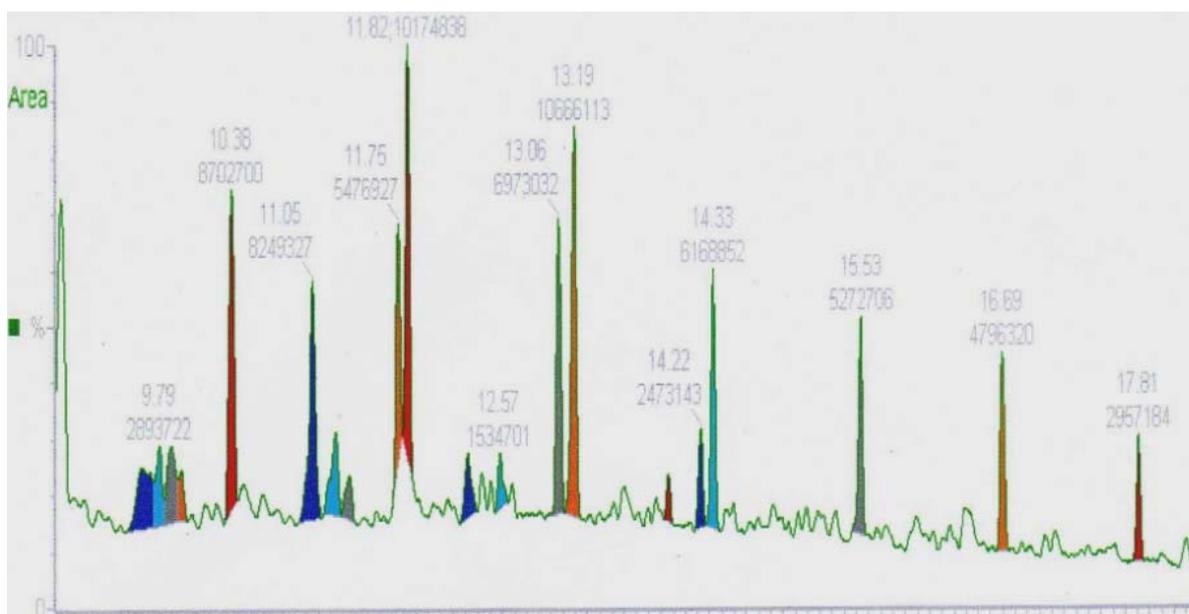


Fig.17 : Spectre chromatographique de l'échantillon de gasoil

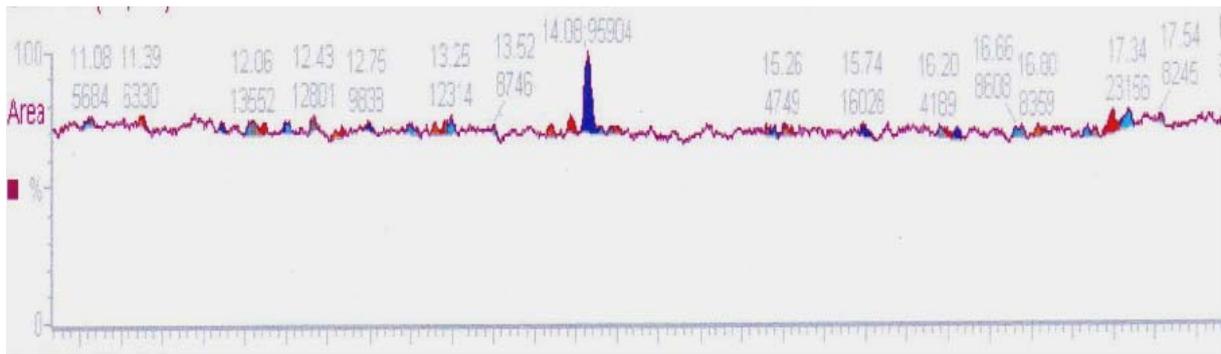


Fig.18.a : Spectre de l'échantillon liquide à t=10jours (C/N/P=100/10/1)

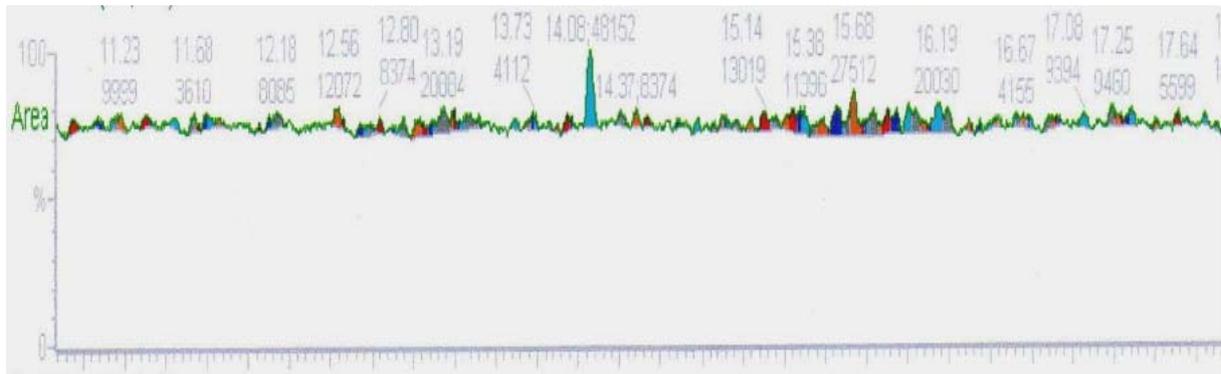


Fig.18.b : Spectre de l'échantillon liquide à t=10jours (C/N/P=106/16/1)

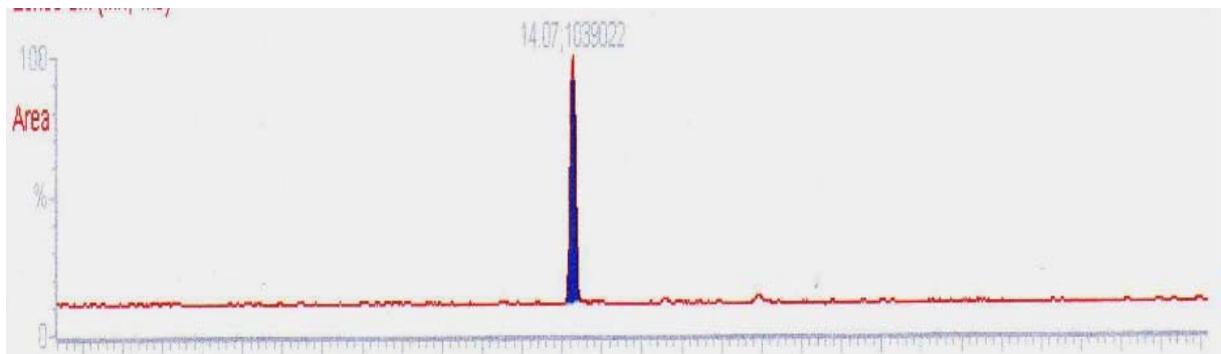


Fig.18.c : Spectre de l'échantillon liquide à t=10jours (C/N/P=120/10/1)

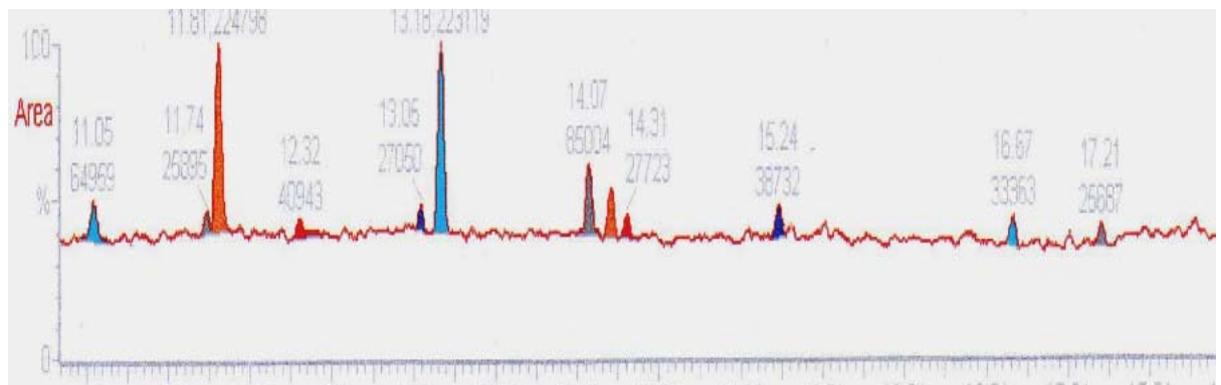


Fig.18.d : Spectre de l'échantillon liquide à t=0 jour

Après dix jours de traitement biologique, les spectres chromatographiques observés mettent en évidence une multitude de pics de faibles amplitudes comparés à ceux du spectre de référence dans le cas des rapports molaires C/N/P 100/10/1 et 106/16/1. D'un point de vue qualitatif on pourrait penser à une dégradation totale du gasoil dans la phase aqueuse dans le cas du rapport C/N/P=120/10/1. Les pics observés sont de deux types

- Des pics existant dans les spectres des échantillons initiaux et de référence sont des hydrocarbures résiduels de gasoil dégradés partiellement.
- Des pics qui n'existent pas dans le spectre de l'échantillon initial qui peuvent être les sous produits du gasoil.

La détermination des surfaces totales des chromatogrammes 18a, 18b 18c et 18d nous a permis de calculer le rendement d'élimination de gasoil dans la phase aqueuse. Ces résultats donnent les rendements de 72,43% et 70,70% pour les amendements suivant les rapports respectifs, 100/10/1 et 106/16/1. Le spectre de l'échantillon (C/N/P=120/10/1) traduit une meilleure élimination du gasoil, la dégradation est quasi-totale. Ce résultat n'était pas prévisible en se référant au taux de croissance microbienne et au nombre de micro-organismes atteint.

III.3.4.2. Influence du rapport C/N/P sur l'élimination du gasoil :

La comparaison des aires des pics, existant dans l'échantillon de référence, des chromatogrammes des deux échantillons liquides finaux pour les amendement 106/16/1 et 100/10/1 avec celui de l'échantillon initial, nous a permis de calculer le rendement d'élimination de quelques constituants de gasoil. Les résultats sont inscrits dans le tableau 10.

Tableau10 : Le rendement d'élimination des hydrocarbures dans le réacteur

Temps de rétention (min)	Rendement d'élimination %	
	Le rapport (C /N/P=106/16/1)	Le rapport (C /N/P=100/10/1)
X ₁ (t=11,05)	91,24	100
X ₂ (t=11,74)	100	86,06
X ₃ (t=12,32)	68,73	80,25
X ₄ (t=13,05)	63,63	69,04
X ₅ (t=13,18)	96,10	90,64
X ₆ (t=14, 31)	100	69,80
X ₇ (t=15,25)	87,74	70,60
X ₈ (t=16,67)	74,20	87,55
X ₉ (t=17,21)	67,45	62,50

Il ressort du tableau 9 que les constituants du gasoil subissent une dégradation lors du processus de la bioremédiation. Le rendement d'élimination des hydrocarbures existant dans le gasoil est important pour les trois rapports, il atteint les 100% pour certains.

Toutes ces résultats mettent en évidence l'efficacité du traitement biologique dans un réacteur sur la dégradation du gasoil.

Il ne nous a pas été possible de procéder à l'identification des composants du gasoil par CG/MS. Ainsi les pics observés pour des temps de rétention de 11.81, 13.17 et 14,08 min pourraient correspondre respectivement

Au héptadécane, 2, 6, 10, 15, Tétra méthyle ($C_{21}H_{44}$), penta décane, 2, 6, 10, 14 Tétra méthyle ($C_{19}H_{40}$) ou héptacosane ($C_{27}H_{56}$) ;

Au 2-Propyledecane($C_{13}H_{28}O$), hexadecane ($C_{16}H_{34}$) , tetracosane $C_{24}H_{50}$, hexatriacontane $C_{36}H_{74}$ ou pentadecane,2,6,10,14,tetramethyle ($C_{19}H_{40}$).

Enfin le pic correspondant à un temps de rétention de 14,08 min pourrait être associé à la présence de phtalate générée par le solvant d'extraction ou l'élastomère d'injection du produit à des températures élevées étant donné qu'il n'existe pas dans le spectre du gasoil.

***CONCLUSION
GENERALE***

CONCLUSION GENERALE

L'objectif de notre travail était la bioremédiation d'un sol pollué par du gasoil dans une cuve mécaniquement agitée en présence de bactéries autochtones et auquel nous avons rajouté les nutriments nécessaires à leur croissance en milieu aérobie suivant différents amendements C/N/P.

Avant de procéder au traitement du sol pollué par du gasoil, une étude préliminaire nous a permis de déterminer les paramètres hydrodynamiques (débit d'air et vitesse d'agitation) optimaux pour notre installation expérimentale, afin de favoriser le transfert de matière et par conséquent le processus de biodégradation proprement dite. Le coefficient de transfert K_La a été obtenu en utilisant une méthode physique qui est la méthode de réoxygénation.

En eau claire, le coefficient de transfert d'oxygène augmente linéairement avec la vitesse d'agitation et le débit d'aération. Cette augmentation est due au fait que l'intensification de l'agitation accroît l'homogénéité du mélange avec l'obtention de surfaces d'échange très importantes entre le gaz et le liquide.

La présence de solide affecte le temps de saturation en oxygène, une nette diminution du temps de saturation et par conséquent une diminution du coefficient de transfert K_La est observée en comparaison avec celui enregistré dans les systèmes gaz-liquide. Cette diminution est d'autant plus importante que la masse de solide introduite dans le réacteur est importante. Le coefficient de transfert global K_La augmente avec le débit d'aération pour les différentes fractions de solide qui est due à l'augmentation de la population de bulles et de la surface totale de contact gaz-liquide.

Les propriétés des particules du sol (taille, répartition granulométrique) ont une grande importance sur le sens de la modification de K_La . En effet les résultats de mesure du coefficient de transfert K_La mettent en évidence que le transfert d'oxygène est plus important dans le cas de sol S2 que dans le cas de sol S1 quelque soient la concentration de solide et la vitesse d'agitation dans le réacteur. Le sol S2 est caractérisé par un facteur d'uniformité plus important par rapport au sol S1.

D'autre part, en introduisant l'agitation 300tr/min dans le réacteur on a constaté que le taux de rétention reste constant quelque soit la fraction de solide, et le débit d'aération dans le réacteur.

En augmentant la vitesse d'agitation à 600tr/min, on observe que la rétention gazeuse a augmenté pour les différents teneurs en solide et pour les deux débits d'aération, cette augmentation dépasse les 50% pour une fraction de solide de 10%, alors que pour des vitesses d'agitation supérieures à 800 tr/min la rétention gazeuse garde une valeur constante .

Afin d'avoir un meilleur contact entre les différentes phases en présence et un transfert de matière optimal on a travaillé dans la zone de charge soit une vitesse d'agitation comprise entre (300 et 600) tr/min et débit d'aire de 208 mL/s.

Dans cette étape nous avons réalisé trois essais de traitement de sol dans le réacteur amendé en nutriments, pour pouvoir comparer l'efficacité de traitement selon le rapport C/N/P

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 croissance microbienne semble plus importante dans le cas du rapport C/N/P=100/10/1. En effet, La croissance microbienne atteint la valeur maximale de $7,75 \cdot 10^7$ ufc/g pour un rapport C/N/P de 100/10/1 et de $4,9 \cdot 10^7$ ufc/ml et $3,40 \cdot 10^7$ ufc/ml pour les rapports C/N/P respectifs de 120/10/1 et 106/16/1, c'est une augmentation de 93,4% dans le cas le plus favorable.

La microflore bactérienne totale, relativement importante en début d'expérience (10^7 ufc/ml), n'a pas véritablement évolué puisqu'elle se situe entre 10^7 et 10^8 ufc/ml.

La détermination du taux de croissance maximum nous 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 suivi de l'évolution des paramètres de pollution tel que, les nitrites, les nitrates et le phosphore révèle une assimilation assez rapide dès les premiers jours du traitement et ce pour les différents essais.

Le rendement d'élimination des hydrocarbures existant dans le gasoil est important pour les trois rapports, il atteint les 100% pour certains.

Le taux d'enlèvement des hydrocarbures ont été effectués par C.P.G couplée à la spectroscopie de masse. L'analyse par CG/MS nous a permis bonne approche pour mettre en évidence la dégradation du gasoil dans le bioréacteur étudié.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1] Ballerini D et Vandecasteele J. P ;

La restauration par voie microbiologique des sols contaminés par les polluants organiques. *In* : Biotechnologie, coordinateur R. Scriban, 5ème édition, *Edition Tech.* 2001.

[2] Tissot B.P et Welte D.H ;

Petroleum formation and occurrence. A new approach to oil and gas exploration. Springer-Verlag, Berlin, 1978, 699 p .

[3] Budzinski H. K, LeMenech K, Bellocq J et Garrigues. P ;

Problématique de l'analyse des contaminants organiques semi volatils dans les matrices environnementales: approches qualitatives et quantitatives" Université Bordeaux, (1995).

[4] Cerniglia C. E;

Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons, *Biodegradation*, vol. 3 (1992). pp 351-368.

[5] Marchal R, Penet S, Solano F et Vandecasteele J.P;

Gasoline and diesel oil biodegradation. *Oil & gas Science and technology-Rev.IFP*, 58, (4) (2003). 441-4.

[6] Brinkmann D, Rohrs J et Schiigerl K;

Bioremediation of diesel fuel contaminated soil in a rotating bioreactor, *Chem. Eng. Technol* , 21 , (1998) 168-172.

[7] Lauwergs R ;

Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles, Edit Masson, (2002).

[8] Hodgson E;

A text book of modern toxicology, Edit John Wiley & Sons, INC (2002).

[9] Côme J.M et Ducreux J ;

Dépollution par injection de tensioactifs d'un forage d'alimentation en eau potable Contaminé par du fioul domestique 240 (2001), 41-47.

[10] Chaîneau C.H, Moreland J.L et Oudot J ;

Biodegradation of fuel oil hydrocarbons in the rhizosphere of maize. *Environmental Quality*, 29(2), (2000) 259-278.

[11] Chaplin B. P, Delin G. N, Baker R. J et Lahvis M. A;

Long-term evolution of biodegradation and volatilization Rates in crude oil contaminated aquifer *Bioremediation Journal*, vol. 6, N°3, (2002) 237-255,

[12] Payne J. R, et Philipps C. R ;

Photochemistry of petroleum in water: Photooxidation causes changes in oil and enhances dissolution of its oxidized products. *Environmental Science and Technology* 19, (1985) 569-579.

[13] Bertrand J.C et Mille G ;

Devenir de la matière organique exogène. Un modèle: les hydrocarbures. *Microorganismes dans les écosystèmes océaniques*. Masson (Paris), Chapitre 13 (1989). 343-385.

[14] Rontani J.F et Giusti G ;

Références bibliographiques

Photosensitized oxidation of pristine in sea water: effect of photochemical reactions on tertiary carbons, *Journal of Photochemistry and Photobiology A*, 40 (1987), 107-120.

[15] Ballerini D.

Traitements biologiques des sols, *Techniques de l'ingénieur*, G2 (1999).

[16] Masten S.J et R Davies S.H ;

Efficacy of in-situ ozonation for the remediation of polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soils *contam. hydrol*, 28(1997) 327-335,.

[17] kawahara F.K , Davila B, Al-Abed S.R, Vesper S.J, Ireland J.C et ROCK S;

polynuclear aromatic hydrocarbon (PAH) release from soil during treatment with Fenton's reagent *Chemosphere*, 31 (9) (1995),4131-4142.

[18] Collin F;

Pollution localisés des sols et des sous-sols par les hydrocarbures et par les solvants chlorés» *Académie des sciences, rapport n°44*, Edit. Tec et Doc (2000).

[19] Lecomte P ;

Les sites pollués: traitement des sols et des eaux souterraines *Edit Tec Lavoisier* (1995).

[20] Kosaric N;

Biosurfactants and their application for soil bioremediation, *Food Technol. biotechnol*, 39, (2001) (4) 295-304.

[21] Dubourguier H.C;

From the laboratory to industrial scale: composting of polluted soils from former coal industry and gas plants: future research needs, *Nato advanced research Workshop the utilization of bioremediation to reduce soil contamination: problems and solutions*. Liblice castle, ezech republic, june 14-19, (2000).

[22] Gabet S ;

Remobilisation d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) présent dans les sols contaminés. université de limoges, thèse de doctorat, (2004).

[23] Ballerini D, Gattellier C. et vogel T ;

Technique de traitement par voie biologique des sols pollués, *Edit Adene*, (1998).

[24] McCray J.E, Bai G, maier R.M et Brusseau M.L ;

biosurfactant-enhanced solubilization of NAPL mixtures. 48 (2001),45-68

[25] philips D.H;

polycyclic aromatic hydrocarbons in the diet. *Mutation Research* (1999) 443,139-147,.

[26] Colin F ;

Pollution localisée des sols et sous sols par les hydrocarbures et par les solvants chlorés, rapport N° 44, *édition TEC et DOC*, p. 417 (2000).

[27] Kosaric N;

Biosurfactants and their application for soil bioremediation, 39 (4) (2001): 295-304.

[28] Lecomte P ;

Les sites pollués, traitement des sols et des eaux souterraines. *Édition Lavoisier, TEC & DOC* p. 198, (1995).

Références bibliographiques

- [29] **Straube W.L, Nestler C.C, Hansen L.D, Ringleberg D, Pritchard P.H et Jones-meehan J;** Remediation of polycyclic hydrocarbons (PAHs) through Landfarming with Biostimulation and Bioaugmentation. *Acta Biotechnol*, 23, (2003) (2-3) :179-196.
- [30] **Juhasz A.L. et Naïdu R;** Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of the microbial degradation of benzo[a]pyrene. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 45(2000) 57-88.
- [31] **Liste H. et Alexander M;** Plant-promoted pyrene degradation in soil. *Chemosphere*, 40 (2000), 7-10,
- [32] **Ballerini D;** Traitements biologiques des sols. *Technique de l'ingénieur*, traité Environnement, G2 620 (1999), pp. 1- 6.
- [33] **Binet P, Portal J.M. et Leyval C ;** Dissipation of 3-6 ring polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere of ryegrass. *Soil Biology & Biochemistry*, 32,(2000).
- [34] **Vogel Timothy M ;** Bioremédiation des sols, Techniques de l'ingénieur, J3, (2001).
- [35] **Costes J. M et V Druelle ;** Les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans l'environnement; la réhabilitation des anciens sites industriels, *Revue de l'institut Français du pétrole*, 52, (1997), 425-440.
- [36] **Samson R ;** Les technologie es situ: biorestauration des sols contaminés" centre québécois de valorisation de la biomasse (CQVB) (1997).
- [37] **Scriban R ;** Biotechnologie, édition Lavoisier, 4^{ème} édition, 1994.
- [38] **Lecomte P ;** Les sites pollués : traitement des sols des eaux souterraines» édition technique et documentaire-Lavoisier 1995.
- [39] **Geerdink M. J, Kleijntjens R. H, Van Loosdrecht M. C. M,et M.Luyben K. A;** Microbial decontamination of polluted soil in a slurry process, *Journal of Environmental Engineering*, (1996) 975-982.
- [40] **Cassidy D. P, Efendiev S et White D. M.** A comparison of CSTR and SBR bioslurry reactor performance" *Wat. Res.* vol. 34, N°18 (2000) 4333-4342.
- [41] **Okieimen C. O, Okieimen F.E.** Effect of natural rubber processing sludge on the degradation on crude oil hydrocarbons in soil, *Bioresource Technology*, vol. 82 (2002) 95-97.
- [42] **Atlas R. M,** Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: An environmental perspective; *Rev. Microbiol.* Rev. Vol. 45 (1981) 180-209.
- [43] **Song H, Pedersen T. A. et Bartha R;**

Références bibliographiques

Hydrocarbon mineralization in soil: Relative bacterial and fungal contribution; *Soil Biol. Biochem.* Vol. 18 N° 1 (1986) 109-111.

[44] **Scriban R ;**

Biotechnologie ; 5^{ème} édition, Technique et documentation, Paris, (1999).

[45] **Ghazali M, Rahman R. N, Salleh A. B. et Basri M ;**

Biodegradation of hydrocarbon in soil by microbial consortium; *International Biodeterioration & Biodegradation*, 54 pp 61- 67 (2004).

[46] **Slaoui M, El m'rabet M, Massoui M. et El yachioui m ;**

Dégradation du carbofuran par une bactérie du genre *Pseudomonas*. SP isolée à partir du sol ; *Science Letters* (2000).

[47] **Ballerini D. et J. P. Vandecasteele ;**

La restauration par voie microbiologique des sols contaminés par les polluants organiques. (1999) p. 835- 865.

[48] **Churchill S. A, Harper J. P. et. Churchill A. F**

Isolation and Characterization of a *Mycobacterium* Species Capable of Degrading Three- and Four-Ring Aromatic and Aliphatic Hydrocarbons. *Applied and Environmental Microbiology*, **65** (2) 1999 549–552..

[49] **Yu Z, Stewart G. R, et Mohn W;**

Apparent Contradiction: Psychrotolerant Bacteria from Hydrocarbon-Contaminated Arctic Tundra Soils That Degrade Diterpenoids Synthesized by Trees. *Applied and Environmental Microbiology*, **66**(12) (2000) 5148–5154,.

[50] **Prenafeta F. X, Vervoort J, Grotenhuis J. T. C et van J. W ;**

Substrate Interactions during the Biodegradation of Benzene, Toluene, Ethylbenzene, and Xylene (BTEX) Hydrocarbons by the Fungus *Cladophialophora* sp. Strain Tl. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 68, No. 6 (2002), pp. 2660 - 2665.

[51] **Davis J. W, Madsen S;**

Factors affecting the biodegradation of toluene in soil" *Chemosphere*, vol 33, N°1, (1996) 107-130.

[52] **Hubert C, Shen Yet Voodrouw G;**

Composition of toluene-degrading microbial communities from soil at different concentrations of toluene" *Applied and Environmental Microbiology*, vol.65, N° 7, (1999) 3064-3070.

[53] **Choi Y. B, Lee J. Y, et Kim H. S;**

A novel bioreactor for the biodegradation of inhibitory aromatic solvents: Experimental results and mathematical analysis" *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 40, (1992) 1403- 1411.

[54] **Yeom S.H, Daugulis A. J;**

Benzene degradation in a two-phase partitioning bioreactor by *Alcaligenes xylosoxidans* Y234", *Process Biochemistry* vol. 36, (2001) 765-722.

[55] **Villemur, E. Déziel, A. Benachenhou, J. M. Authier, F. Lépine, R. Beaudet, et Comeau Y ;**

Liquid-phase slurry Bioreactors to enhance the degradation, molecular-Weight polycyclic Aromatic Hydrocarbons in soil, *Biotechnol. Prog.* vol.16, N° 6, (2000) 966-972.

[56] **Richard J. Y, Dumad K ;**

Références bibliographiques

Traitement biologique des sols pollués par des hydrocarbures aromatiques polycycliques, Première rencontre nationale de la recherche sur les sites et sols pollués : bilan et perspectives, Maison de la chimie, Paris (2002).

[57] Cerniglia C. E;

Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons", *Biodegradation*, vol. 3, (1992) 351- 368

[58] Marchal A, Penet S, Solano- Fet Vandecasteele J. p;

Gasoline and Diesel oil biodegradation *Oil & gas science and technology - Rev IFP*, vol. 58 N° 4 (2003) 441-448.

[59] Vandecasteele J. P, Fayolle F, Marchal R, Chauvaux S, Béguin P, Monot F;

Biodégradation des produits pétroliers. Le cas des essences et des éthers-carburants" *Bulletin de la Société Française Microbiologique*, vol. 16, N°3, (2001) 184-189.

[60] Brinkmann D, Röhrs J et Schügerl K;

Bioremediation of diesel fuel contaminated soil in a rotating bioreactor *Chemical Engineering Technology*, vol. 21, (1998) 168-172.

[61] Geldart D;

Powder technology, (1973) vol. 7, pp285.

[62] Fotinich A, Dhir V. K, et Lingineni S;

Remediation of simulated soils contaminated with Diesel , *Journal of Environmental Engineering*, pp 36-46 (1999).

[63] Berry K. A. T, Burton D. L ;

Natural attenuation of diesel fuel in heavy clay soil *Canadian Journal of soil science* (1997).

[64] RISER-ROBERTS, E;

Bioremediation of Petroleum Contaminated Sites. CRC Press, Inc. (1992).

[65] Liste H. et Alexander M ;

Plant-promoted pyrene degradation in soil. *Chemosphere*, 40, (2000) 7-10.

[66] Vogel Timothy M ;

Bioremédiation des sols, *Techniques de l'ingénieur*, J3, (2001).

[67] Juhasz A.L. et Naïdu R ;

Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of the microbial degradation of benzo[a]pyrene. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 45, 57-88.

[68]Ballerini D ;

Traitements biologiques des sols. *Technique de l'ingénieur*, traité Environnement, G2 620 (2000) pp 1- 6.

[69] Costes J. M. et Druelle V ;

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans l'environnement; la réhabilitation des anciens sites industriels, *Revue de l'institut Français du pétrole*, 52(1997) pp 425-440.

[70]Linek V , Mayrhaferova j;

The kinetics of oxidation of aqueous sodium sulfite solution, *Chemical Engineering. Sci* (1970),vol 25 p 787-792.

[71] **Linuer-weber et Blass weilloud.R.H ;**

The Canadian journal of Chemical Engineering 49 (1971) 761.

[72] **Kulkarni A et Shah Y.T ;**

Gaz phase dispersion in down flow bubble column, Chemical Engineering (1984) Vol 28 p 311-326.

[73] **Figueredo.M; Calderbank P.H**

proced. Int symp. On mixing, faculté polytechnique de mons,Belgique, Fevrier 1978.

[74] **Calderblank et Renie**

[75] **Mhaaisolkar paramasivam.R. et Bhole. A.G**

An innovative technique for determining velocity gradient and coagulation flocculation process wat. Res, vol.. 20, (1986) n°10 pp 1307- 1314.

[76] **midoux.N et Charpentier.J**

Les réacteurs gaz liquid à cuve mécaniquement agité » Partie I : hydrodynamique. Entropie n° 88 (1979).

[77] **Soulami.B.M**

Contribution à l'étude de réacteur gaz-liquide agité mécaniquement, hydrodynamique et transfert de matière en milieu aqueux et organique avec liquide moussant et ne moussant pas» thèse de doctorat institut polytechnique de lorraine (1980).

[78] **Lopes de Figueiredo, M et Calderbank, P ;**

The scale-up of aerated mixing vessels for specified oxygen dissolution rates, Chemical Engineering Science, 34, (1979) 1333-1338.

[79] **Mathias F**

Transfert d'oxygène en condition de culture microbienne intensive , Thèse Doctorat de l'université de Toulouse (2007).

[80] **Lopes de Figueiredo, M. and Calderbank, P;**

The scale-up of aerated mixing vessels for specified oxygen dissolution rates. Chemical Engineering Science, 34, 1333-1338 (1979).

[81] **Junker B.H**

Scale-up methodologies for *Escherichia coli* and yeast fermentation processes. Journal of Bioscience and Bioengineering, 97, (2004) 347-364.

[82] **Bylund, F., Collet, E., Enfors, S.-O., Larsson, G;**

Substrate gradient formation in the large-scale bioreactor lowers cell yield and increases by-product formation, BioprocessEngineering, 18, 171-180 (1998).

[83] **Nienow, A.W, Wisdom, D.J., Middleton, J.C;**

The effect of scale and geometry on flooding, recirculation and power in gassed stirred vessels. 2nd Eur. Conf. on Mixing, 30th March 1977, Cambridge, England, Paper F1 (1977).

[84] **Veljković, V.B., Bicok, K.M., Simonović, D.M;**

Mechanism, onset and intensity of surface aeration in geometrically-similar, sparged, agitated vessels. The Canadian Journal of Chemical Engineering. 69 (1991), 916-926.

[85] **Linek, V, Kordač M et MouchaT;**

Références bibliographiques

Mechanism of mass transfer from bubbles in dispersions: Part II: Mass transfer coefficients in stirred gas-liquid reactor and bubble column, *Chemical Engineering and Processing* 44(2005), 121-130.

[86] Perry R.H et Green D.N ;

Chemical engineer's hand book. Sixth edit, Mc grow-hill new York,(1984),2336p.

[87] Stenstorm M.K et Gilbert R.G;

Review paper: Effects of alpha, beta, and theta factor upon the design, specification and operation of aeration systems, *Water Research*, 15(1981), 643-654.

[88] Galaction, A, Cascaval D, Oniscu C et Turnea M ;

Prediction of oxygen mass transfer coefficients in stirred bioreactors for bacteria, yeasts and fungus broths. *Biochemical Engineering Journal*, 20 (2004), 85-94.

[89] Duchaufour

Introduction à la science du sol (sol, végétation, environnement), 313 p. éd Dunod (2001).

[90] Marchal N et Bourdon J.L ;

Les milieux de cultures pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. *Ed. Doin*, Paris 1982.

[91] Dibble J. T et Bartha R

Effect of environmental parameters on the biodegradation of oil sludge ; *Applied Environmental Microbiology*, 37 (1979) pp 729-739.

[92] Margesin R et Schinner J.L ;

Bioremediation (Natural Attenuation and Biostimulation) of Diesel-Oil-Contaminated Soil in an Alpine Glacier Skiing Area. *Applied and Environmental Microbiology*, 67 (7) (2001): 3127-3133.

[93] Eriksson M. J et Mohn W ;

Effects of Low Temperature and Freeze-Thaw Cycles on Hydrocarbon Biodegradation in Arctic Tundra Soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 67 (11) (2001) 5107 – 5112.

[94] Stapleton R. D, Savage D. C, Sayler G. S, et Stacey G;

Biodegradation of Aromatic Hydrocarbons in an Extremely Acidic Environment. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 64 (11) (1998) 4180 - 4184..

[95] Juclour C, Billet A. M et Delmas H ;

Effet d'une phase solide finement dispersée sur le transfert gaz-liquide en réacteur autoclave et en colonne à bulles , récents progrès en génie des procédés N°95 ,2007.

[96]Bouaifi et Roustan;

Bubble size and mass transfer coefficients in dual impeller agitated reactors. *The Canadian Journal. of chem.Eng* vol76 (1998) p 390-397.

[97]Botton R ;

Dispositif simple et performant pour disperser un gaz dans un liquide en vue d'effectuer des réactions chimiques ou biologique en présence de particules solide. *The canadian journal of chemical Engineering*. (1999) Vol 77, p 637-648.

[98] Djebbar R ;

Contribution à l'étude par des approches globales et locales de l'hydrodynamique des dispersions et du transfert de matière gaz-liquide dans une cuve agitée mécaniquement, thèse de doctorat, INSA Toulouse, 180p (1996).

[99] Akita et Yoshinda F;

Bubble size interfacial area, and liquid phase mass transfer coefficients in bubble columns. *Chemical Engineering*. (1974) Vol 13, p 84-91.

[100] Ho C.S, Stalker M.J, Baddour, R.F

The oxygen transfer coefficient in aerated stirred reactor and its correlation with oxygen diffusion coefficients, *Biotechnology Processes: scale-up and mixing*, Chester et Oldshue éditeurs, (1987) 85-95, AIChE, New York.

[101] Nienow A.W et Lilly M.D;

Power drawn by multiple impellers in sparged agitated vessels, *Biotechnology and Bioengineering*, 21(1979), 2341-2345.

[102] Kordač V. M et Moucha. T ;

Mechanism of mass transfer from bubbles in dispersions: Part II: Mass transfer coefficients in stirred gas-liquid reactor and bubble column. *Chemical Engineering and Processing*, 44(2005), 121-130..

[103] Kundung et Moukherjeed;

Experimental studies on a co-current gaz-liquid downflow bubble column. *Int journal. Multiphase Flow*. Vol 21 N°5(1995) p 893-906.

[104] Ghazali M, Rahman R. N, Salleh A. B et Basri M ;

Biodegradation of hydrocarbon in soil by microbial consortium ; *International Biodeterioration & Biodegradation*, 54 (2004), 61-67.

[105] Chaineau H, Morel J.L et Oudot J ;

Biodegradation of fuel oil hydrocarbons in the rhizosphere of maize; *journal Environment. Quality* (2000) Vol 23 N°2 pp 259-278.

[106] Ferguson S. H, Franzmann P. D, Revilld A. T, Snape I et Rayner J. L ;

The effects of nitrogen and water on mineralisation of hydrocarbons in diesel-contaminated terrestrial Antarctic soils ; *Cold Regions Science and Technology*, 37(2003) pp 197-212.

[108] Leclerc H ;

Microbiologie appliquée, édition Dion, Paris, (1977).

[109] Greer C. W, Fortin N, Roy R, Whyte L. G et Lee K;

Indigenous sediment microbial activity in response to nutrient enrichment and plant growth following a controlled oil spill on a freshwater wetland, *Bioremediation Journal*, 7, (2003) 69-80.

[110] Miicic T , Lopez-Vidal Y, Vrvic M et Saval S ;

Biodegradation potential assessment of microbial consortia isolated from a diesel contaminated soil, *Water science and technology* vol. 42, N°5-6, (2000) 403-406.

[111] Ghazali M. G, Abdulrahman R. N. Z, Salleh A, et Basri M ;

Biodegradation of hydrocarbons in soil by microbial consortium, *International Biodeterioration & biodegradation*, 54, (2004) 61-67.

[112] Mukherji S, Jagadevan S, Mohapatra G et Vijay A;

Biodegradation of diesel oil by an Arabian sea sediment culture isolated from the vicinity of an oil field, *Bioresource Technology*, 95, (2004) 281-286.

[113] Di Gennaro P, Franzetti A, Bestetti G, Lasagni M, Pitea D, Collina E;

Références bibliographiques

Slurry phase bioremediation of PAHs in industrial landfill samples at laboratory scale Department of Environmental Sciences, University of Milano-Bicocca,(2007).

[114] Seung H. W , Min W. L, Jong M. P;

Biodegradation of phenanthrene in soil-slurry systems with different mass transfer regimes and soil contents. Department of Chemical Engineering, Hanbat National University, San 16-1, Dukmyung-Dong, Yuseong-Gu, Daejeon, Republic of Korea, (2004),pp 305-719.

[115] Chulhwan P, Tak-hyun K, Sangyong K, Jinwon L, et Seung-w. K;

Bioremediation of 2,4,6-Trinitrotoluene Contaminated Soil in Slurry and Column Reactors
Industrial Ecology National Research Laboratory, Korea Institute of Industrial Technology, Chonan Korea , (2003) 330-825.

[116] Saponaro S, Luca B, Gianniantonio P, Laura R et Meri B;

Polycyclic aromatic hydrocarbons slurry phase bioremediation of a manufacturing gas plant (mgp) site aged soil Dip. (2001) 32 - 20133.

[117] Ferguson S. H, Franzmann P. D, Revilld A. T, Snape I et Rayner J. L;

The effects of nitrogen and water on mineralisation of hydrocarbons in dieselcontaminated terrestrial Antarctic soils, Cold Regions Science and Technology, 37 (2003) 197-212.

[118] Schloesing et Muntz

The ecology of the nitrogen cycles Cambridge Univ, Press, (1987).

[119]Winogradsky

Le problème de l'azote dans les eaux, Edit Tec et Doc, paris (1979).

[120] Robert M

Le sol: interface dans l'environnement, ressource pour le développement, Edit Masson, Paris, 1996.

ANNEXE

ANNEXE 1

ANALYSE GRANULOMETRIQUE

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

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

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

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

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

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

Avec :

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

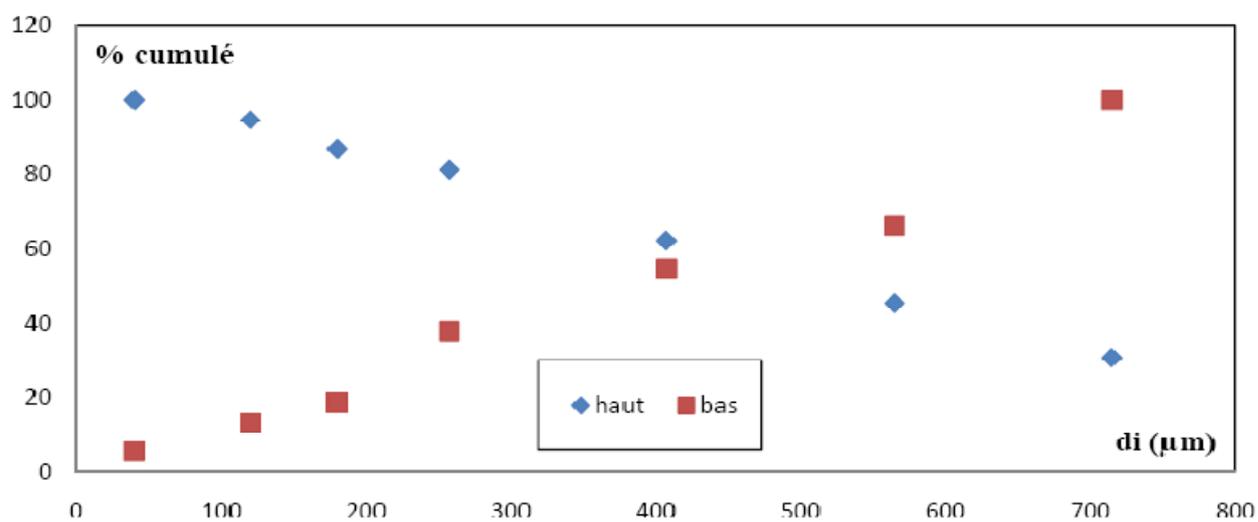
d_i : le diamètre moyen des particules retenues dans le tamis d'ouverture d_{Ai} en (μm).

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

sol sableux

Tableau I.1: La distribution granulométrique des particules du sol(1)

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



da= 441,09 μm

ds=497,02 μm

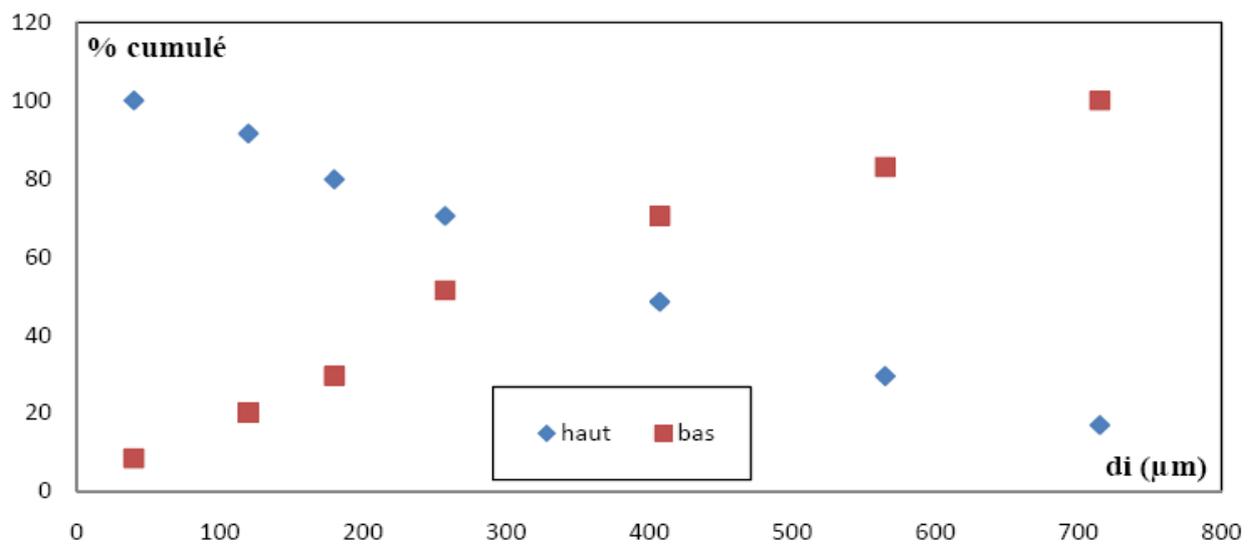
dh=241,03 μm

dv=501,04 μm

le sol argileux

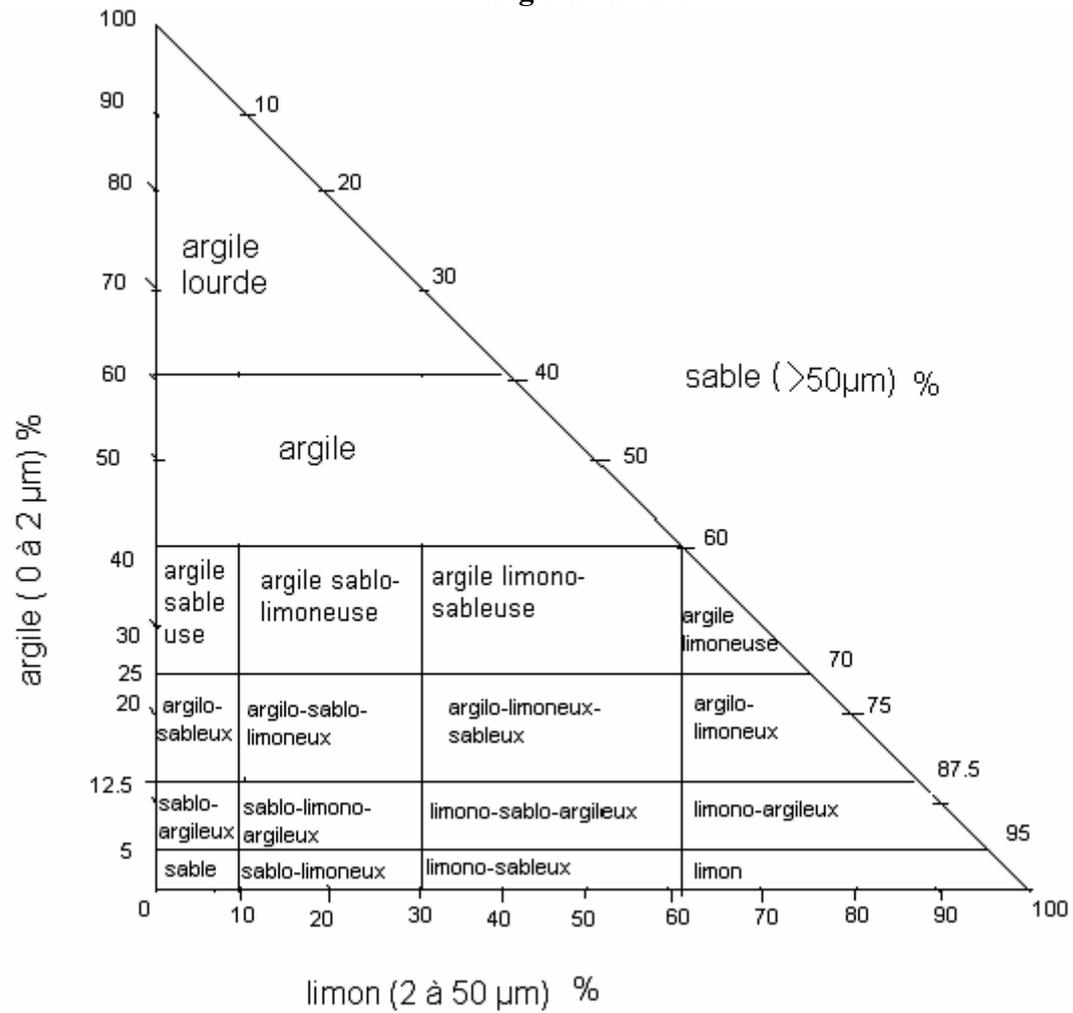
Tableau I.1: La distribution granulométrique des particules du sol (2)

N° du tamis	dAi(μm)	di(μm)	mi(g)	% masse retenus	% massique cumulé en haut	% massique cumulé en bas
1	800	–	–	–	–	–
2	630	715	90,1	17,01	17,01	100
3	500	565	66,2	12,5	29,51	82,99
4	315	407,5	100,7	19,01	48,52	70,49
5	200	257,5	116,4	21,98	70,5	51,48
6	160	180	49,5	9,34	79,84	29,5
7	80	120	62,1	11,72	91,56	20,16
8	0	40	44,6	8,44	100	8,44



$d_a = 360,67 \mu\text{m}$ $d_s = 421,79 \mu\text{m}$
 $d_h = 185,78 \mu\text{m}$ $d_v = 467,47 \mu\text{m}$

Annexe 2 Triangle texturale



Annexe 3

DOSAGE DES NUTRIMENTS

1) Dosage des nitritesa) La gamme d'étalonnage

Dans une série de fiole jaugé de 50ml introduire les volumes suivant :0-1-2,5-5-7,5-10 ml de la solution étalon d'azote nitreux à 1mg/l puis compléter à 50 ml avec de l'eau permutée, la correspondance en (mg/l) d'azote nitreux(NO_2) est respectivement : 0-0,02-0,05-0,1-0,15-0,2 en suite ajouter 1ml de réactif de diazotation dans chaque fiole. Effectuer la lecture au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 543nm,

Préparation de la solution fille étalon

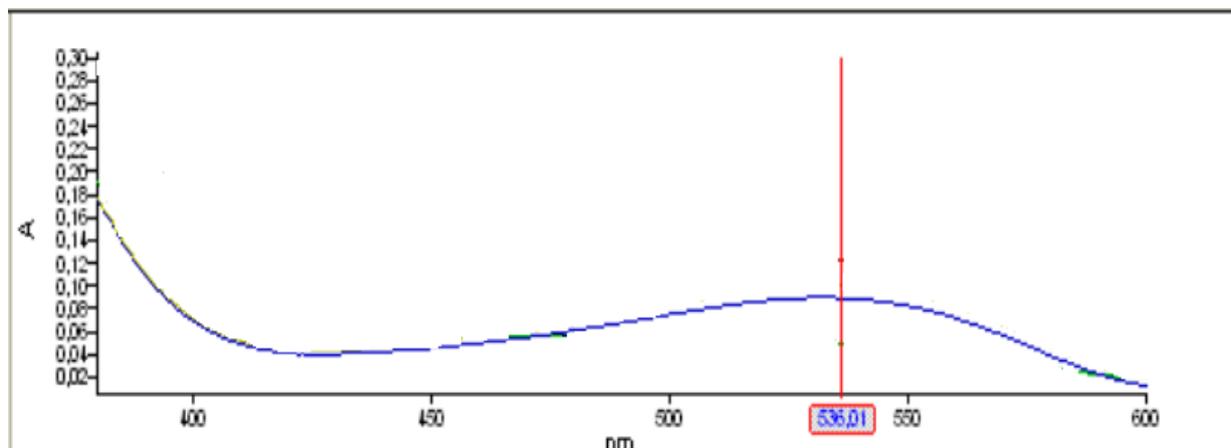
Dissoudre 492,8mg de nitrite de sodium dans 1000ml d'eau distillée, conserver en flacon en verre inactinique , puis prélever 10ml et compléter à 1000ml avec de l'eau distillée.

• **Préparation de réactif de diazotation**

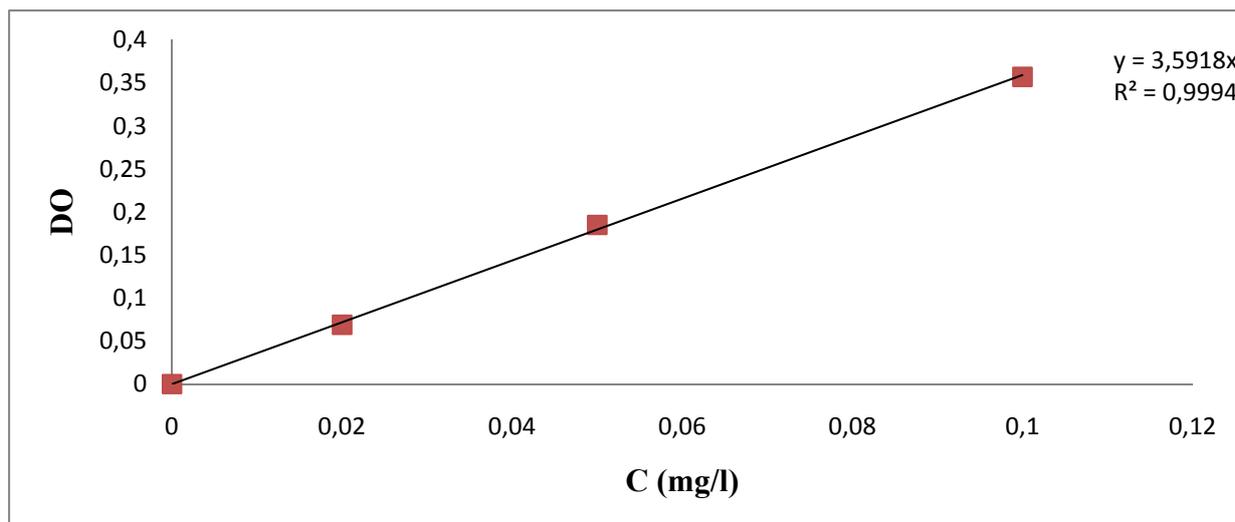
Mélanger dans un bécher 800ml d'eau distillée et 100ml d'acide phosphorique, ajouter 40g de l' amino-4-benzènesulfonamide, après dissolution ajouter 2g de dichlorure de N-(naphtyl-1) diamino-1-2 éthane. Agiter puis transvaser la solution dans une fiole de 1000ml et compléter le volume avec de l'eau distillée,

b) **Analyse de l'échantillon**

- Prélever 40ml de la prise d'essai, l'introduire dans une fiole de 50ml.
- Ajouter 1ml de réactif de diazotation et suivre le même protocole que pour la courbe d'étalonnage.
- Réaliser un essai à blanc en procédant comme précédemment avec de l'eau distillée.



Spectre d'absorption des nitrites en solution



Courbe d'étalonnage des nitrites

2) Dosage du phosphore

a) La gamme d'étalonnage

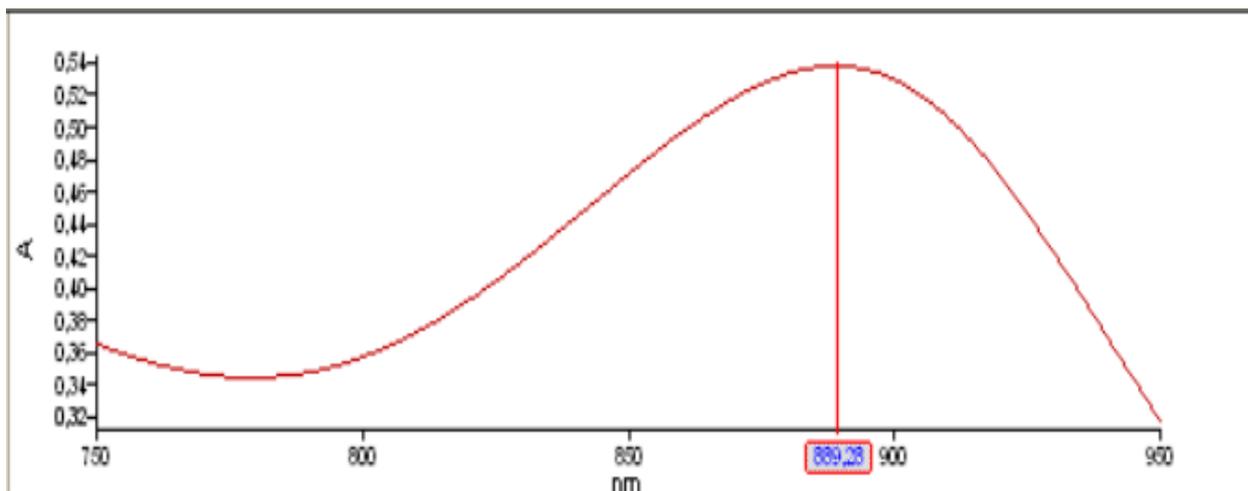
Introduire dans une série de fioles jaugées de 25ml les volumes suivants : 0-1-5-10-15-20ml de la solution étalon de phosphore à 1mg/l , compléter le volume avec de l'eau distillée , les concentrations correspondantes sont :0-0,05-0,25-0,5-0,75-1, en suite ajouter 1ml d'acide ascorbique à(20g/l) et agiter puis 4ml de réactif combiné , mélanger soigneusement, attendre 30min pour la stabilisation de la coloration et effectuer les mesures à la longueur d'onde de 880nm,

Préparation de la solution étalon de phosphore

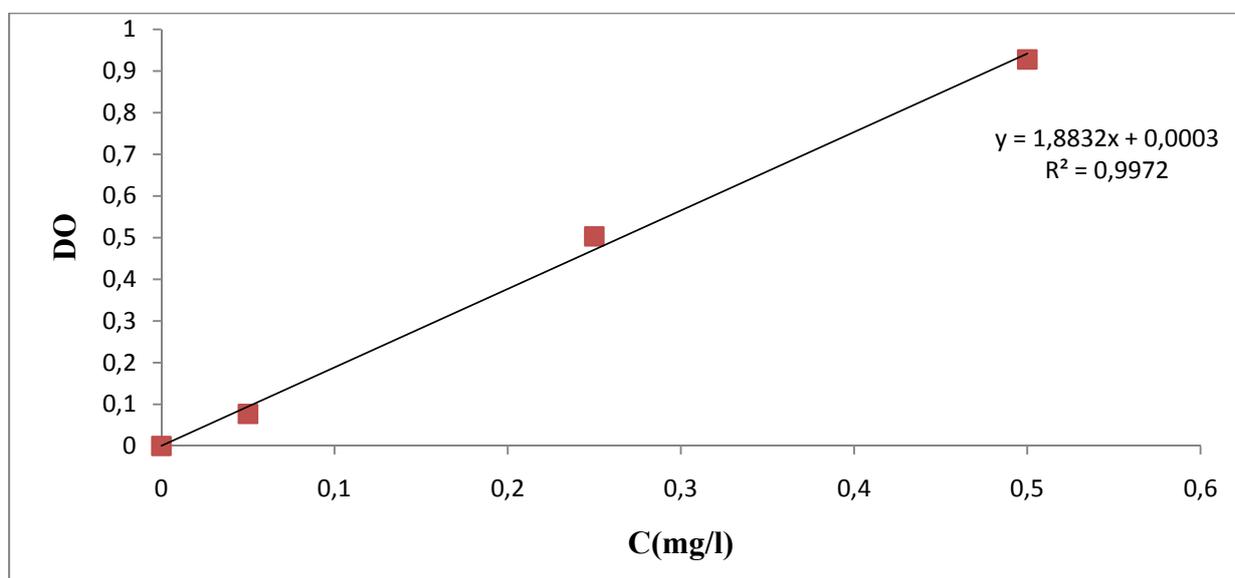
Peser 0,219g de KH_2PO_4 séché à l'étuve à 105 °c pendant 1h , ajouter 1ml d'acide sulfurique dans une fiole de 100ml, puis compléter avec de l'eau distillée .prélever 20ml de cette solution et compléter à 1000ml par l'eau distillée.

- **Préparation du réactif combiné**

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



Spectre d'absorption des phosphates



Courbe d'étalonnage des phosphates

3) Dosage de l'azote ammoniacal

a) La gamme d'étalonnage

Dans une série de fioles de 50ml, introduire de la solution étalon à 100mg/l préalablement diluée au dixième les volumes suivants : 0-1-2-5-10-15-20 ml.

- ✓ compléter à 50ml avec de l'eau distillée et ajouter 2ml de la solution de tartrate double de sodium et de potassium. Mélanger.
- ✓ ajouter 2ml de réactif de Nessler et mélanger à nouveau.
- ✓ attendre 10min et effectuer les mesures spectrophotométriques à la longueur d'onde de 420nm.

- **Préparation des solutions**

Solution étalon de l'azote ammoniacal à 100mg/l : dissoudre 297mg de chlorure d'ammonium dans de l'eau distillée et amener à 1000ml dans une fiole jaugée

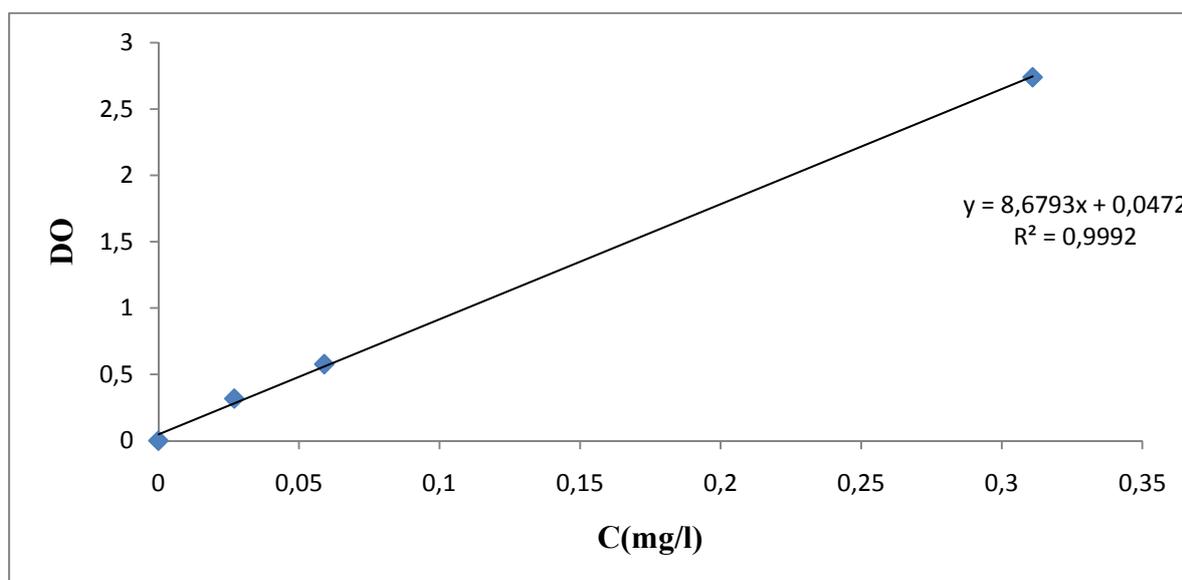
- **Préparation des réactifs**

- ❖ **Réactif de Nessler**

1. Traiter une solution de 50g de iodure de potassium dans 35ml d'eau par une solution saturée de chlorure de mercure (II) jusqu'à ce qu'un précipité subsiste.
2. Ajouter en suite 400ml de solution d'hydroxyde de sodium 9N. diluer à 1000ml en fiole jaugée.
3. Laisser reposer et décanter.

- ❖ **Tartrate double de potassium et de sodium**

1. Dissoudre 500g de tartrate double de potassium et de sodium dans 1000ml d'eau chaude
2. Après refroidissement ajouter 50ml de réactif de Nessler, laisser reposer 2 jours et filtrer ce qui permet d'éliminer les ions ammonium présents dans l'eau ou dans le réacteur



Courbe d'étalonnage de l'azote ammoniacale

4) Dosage des nitrates

- **Le mode opératoire**

- ✓ Prendre 10ml de la solution étalon
- ✓ Ajouter 2à3 gouttes de NaOH à 30%
- ✓ Evaporer à sec au bain marie à 75à88 °c puis laisser refroidir

- ✓ Reprendre le résidu pour 2ml de H₂SO₄, laisser au repos 10min
- ✓ Ajouter 15ml de l'eau distillée et 15ml de tartrate double de sodium et de potassium

- **La gamme d'étalonnage**

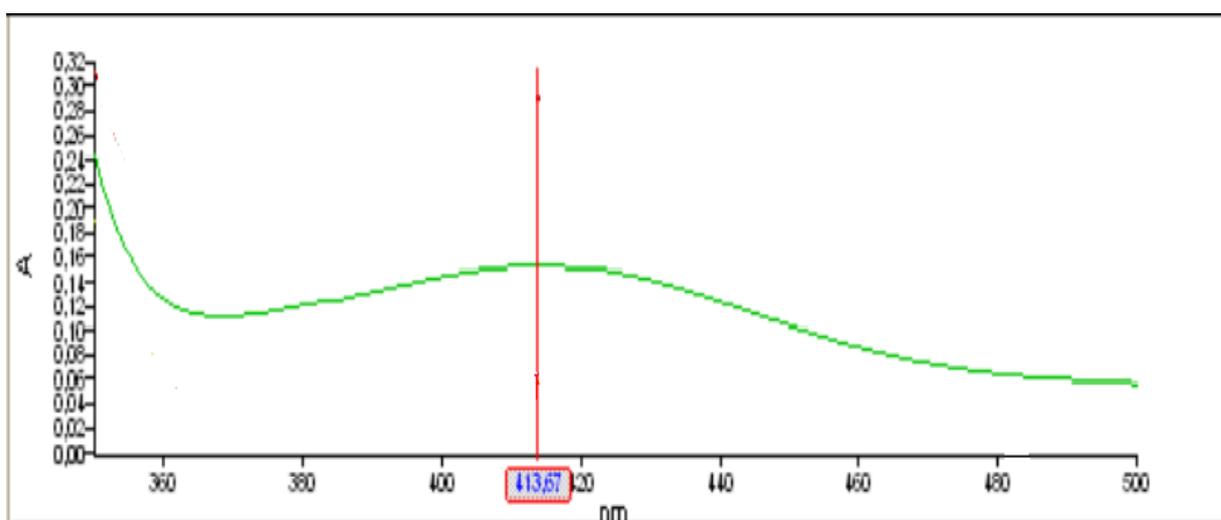
Dans une série de fioles jaugées introduire successivement les volumes suivants des la solution étalon (5mg/l): 0-1-2-3-4-6ml puis ajouter dans chaque fiole les volumes suivants de l'eau distillée : 10-9-8-7-6-4 ml, ensuite ajouter 1ml de la solution de salicylate de sodium dans chaque fiole : les concentrations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

Préparations des réactifs

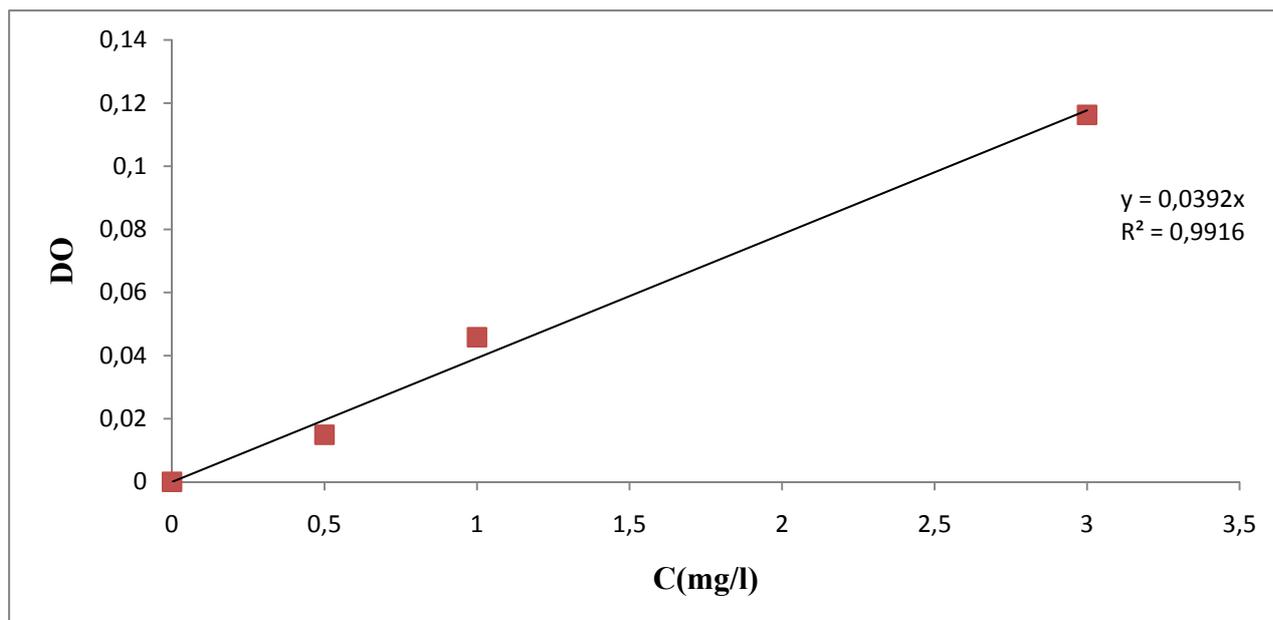
- Solution de salicylate de sodium à 0,5%
- Solution d'hydroxyde de sodium à 30%
- H₂SO₄ concentré
- Tartrate double de sodium et de potassium
- Hydroxyde de sodium.....400g
- Tartrate de sodium et de potassium.....60g
- Eau distillée.....1000ml

Laisser refroidir avant de compléter à 1000ml, cette solution doit être conservée dans un flacon de polyéthylène.

- Solution mère d'azote d'origine nitrique à 100mg/l
 - Nitrate de potassium anhydre.....0,722g
 - Eau distillée.....1000ml
 - Chloroforme.....1ml
 - Solution fille d'azote d'origine nitrique à 5mg/l
- 50ml de la solution mère dans un litre d'eau distillée



- Spectre d'absorption des nitrates en solution



Courbe d'étalonnage des nitrates

5) Dosage du carbone organique

a) **Mode opératoire**

- Peser un poids entre 1g et 5 g de sol et verser dans une fiole conique
- Ajouter 10ml de solution de bichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$) de concentration de $0,1666 \text{ mol.L}^{-1}$ agité la fiole conique d'un mouvement de va-et-vient, doucement
- Verser d'un coup, 20ml d'acide sulfurique dans la suspension. Agiter pendant une minute
- Laisser reposer 30 min,
- Ajouter 150 ml d'eau déminéralisée pour stopper la réaction/
- Ajouter 6 gouttes de ferroïne
- Doser avec le sel de Mhor en laissant couler celui-ci goutte à goutte au centre de suspension à doser, tout en agitant continuellement
- Un échantillon prend une couleur sombre au contact de la ferroïne, et vire finalement au rouge.

b) **Préparation des réactifs**

• **Ferroïne**

Dans une fiole de 100ml contenant environ de 90 ml d'eau déminéralisée, dissoudre 0,974g de sel de Mohr et 1,485g de phénantroline.

Ajuster au volume homogénéiser Dissoudre 0,5 g de diphénylamine dans 60ml de l'acide sulfurique concentré, le verser ensuite dans 40 ml d'eau distillée

• **Solution d'acide sulfurique**

Dans une solution de 2000ml contenant environ 900ml d'eau déminéralisée, ajouter lentement 28ml d'acide sulfurique. Ajuster au volume.

• **Solution de bichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$), $0,1666 \text{ mol.L}$**

Dans une fiole jaugée de 1000ml contenant environ 700ml d'eau déminéralisée dissoudre 49g de bichromate de potassium. Ajuster au volume

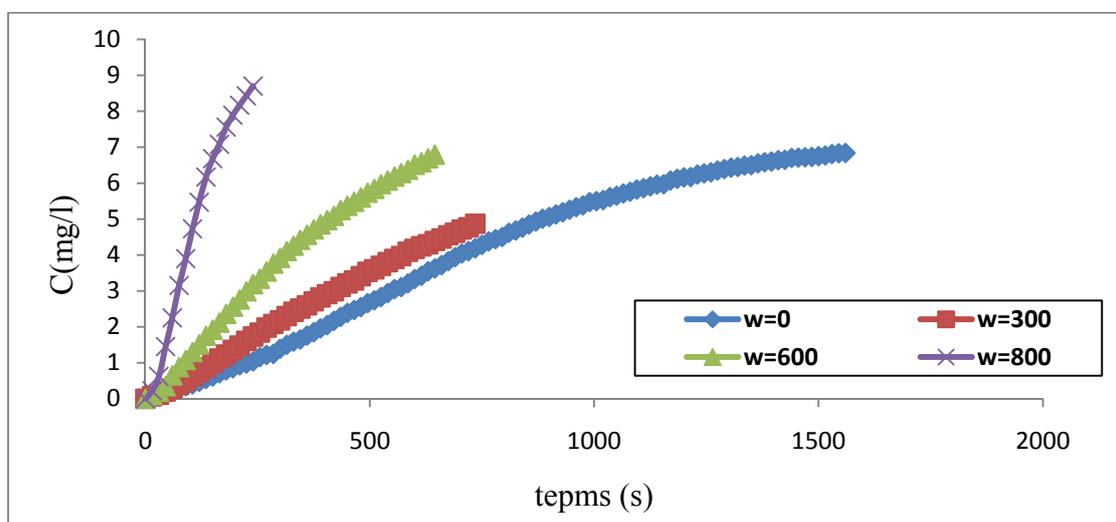
- **Solution de sel de mohr**

Dans une fiole jaugée de 200àml contenant environ 1000ml de la solution d'acide sulfurique, dissoudre 392,160g de sel de Mohr. Ajuster au volume avec la solution d'acide sulfurique. Homogénéiser

Annexe 4

Evolution temporelle de la concentration en oxygène

/Variation de la concentration en oxygène dessous en fonction du temps d'aération
SOL(1)



L'évolution de la concentration en O₂ en fonction du temps d'aération

Q air=104ml/S; m= 30%

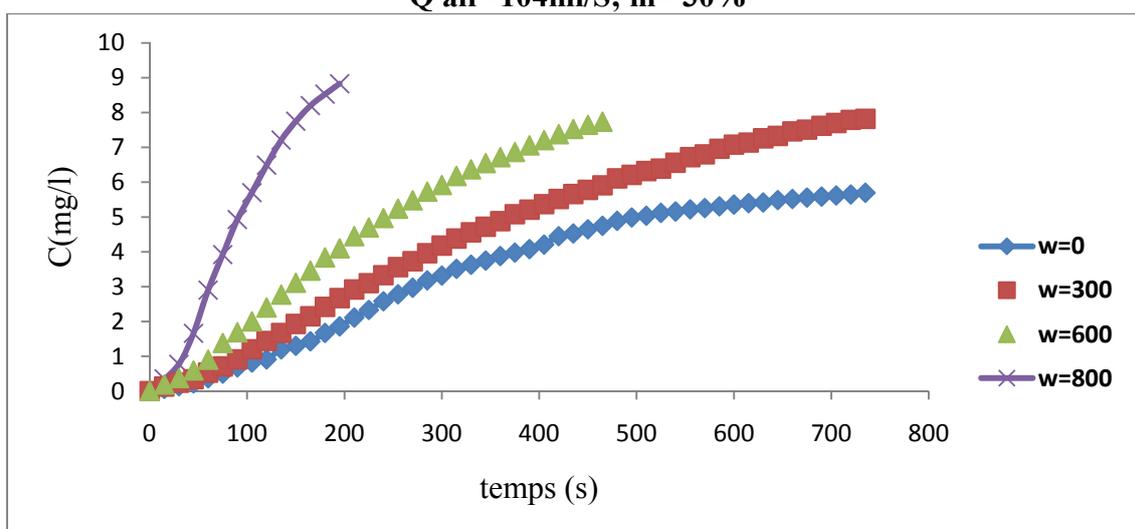
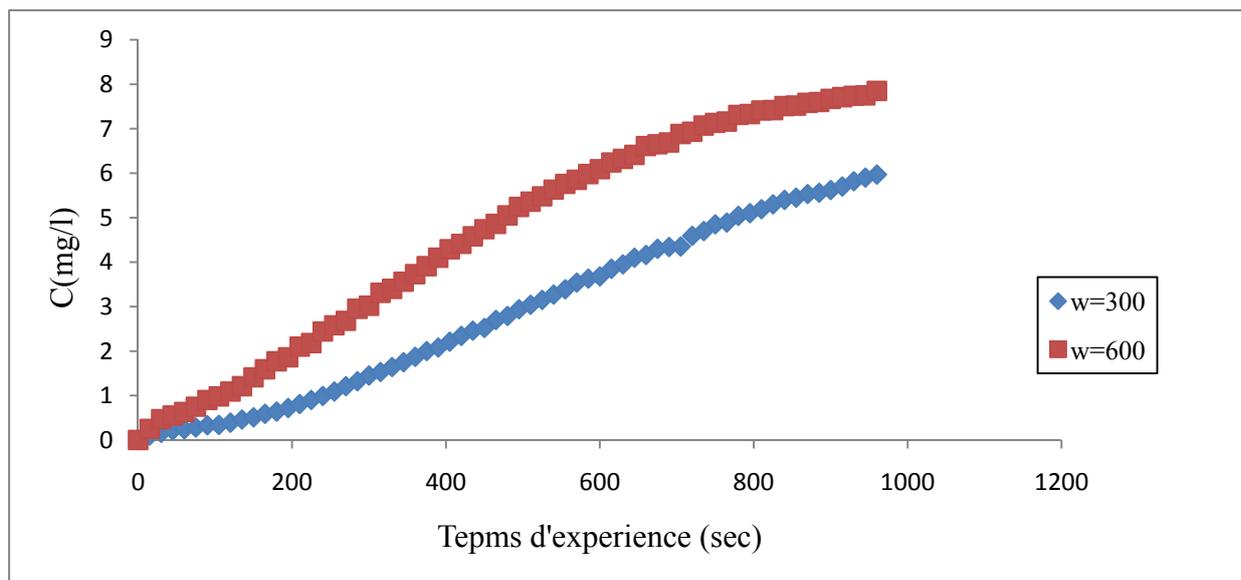
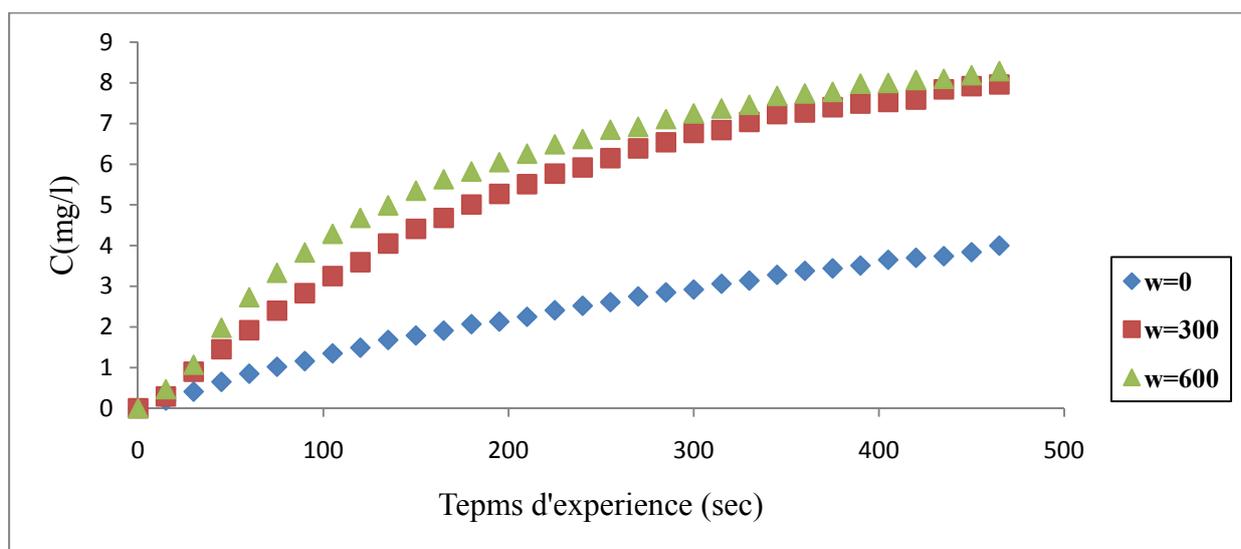


Figure2. : L'évolution de la concentration en O₂ en fonction du temps d'aération
Q air=208ml/S ; m= 30%

SOL(2)

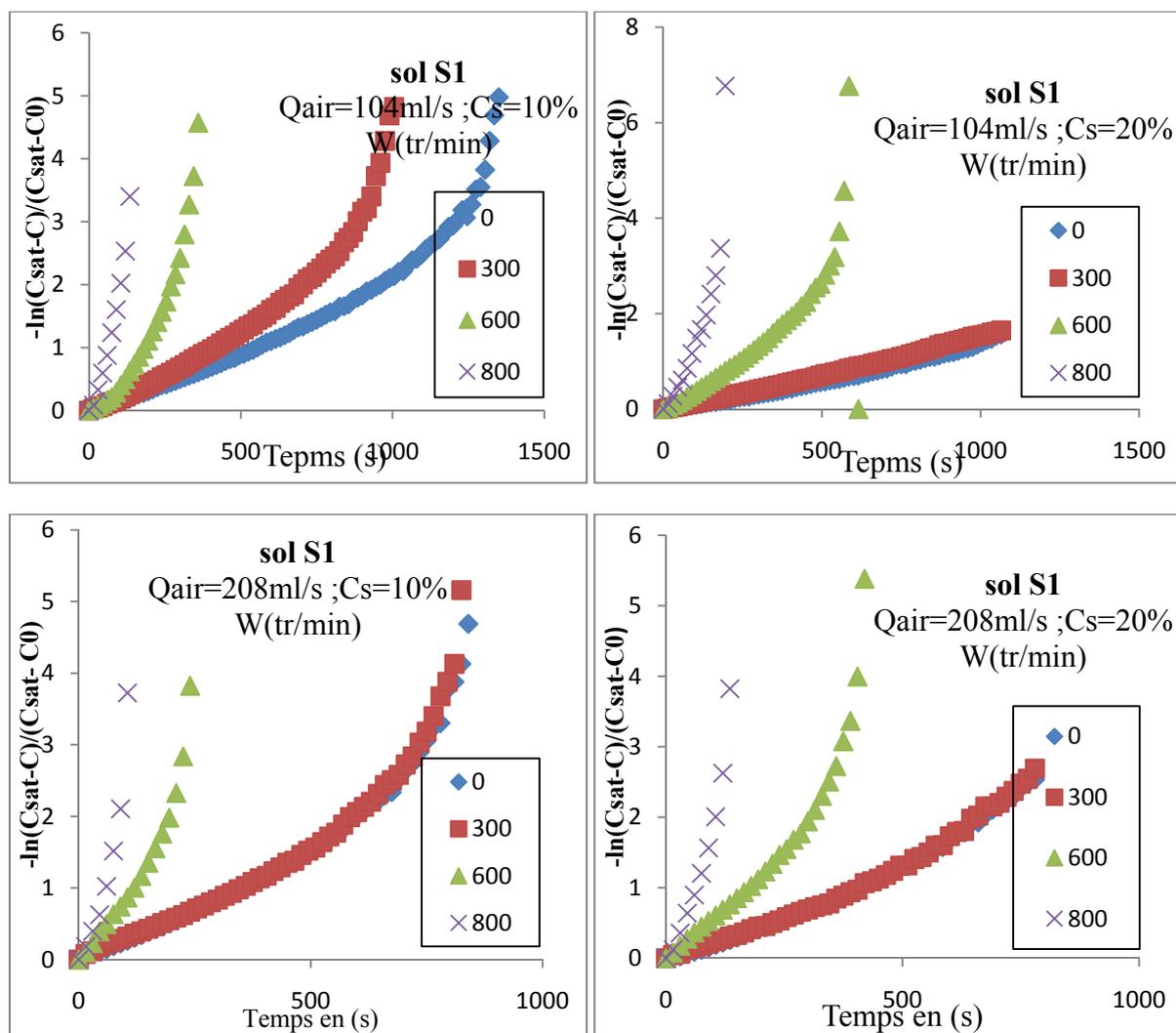


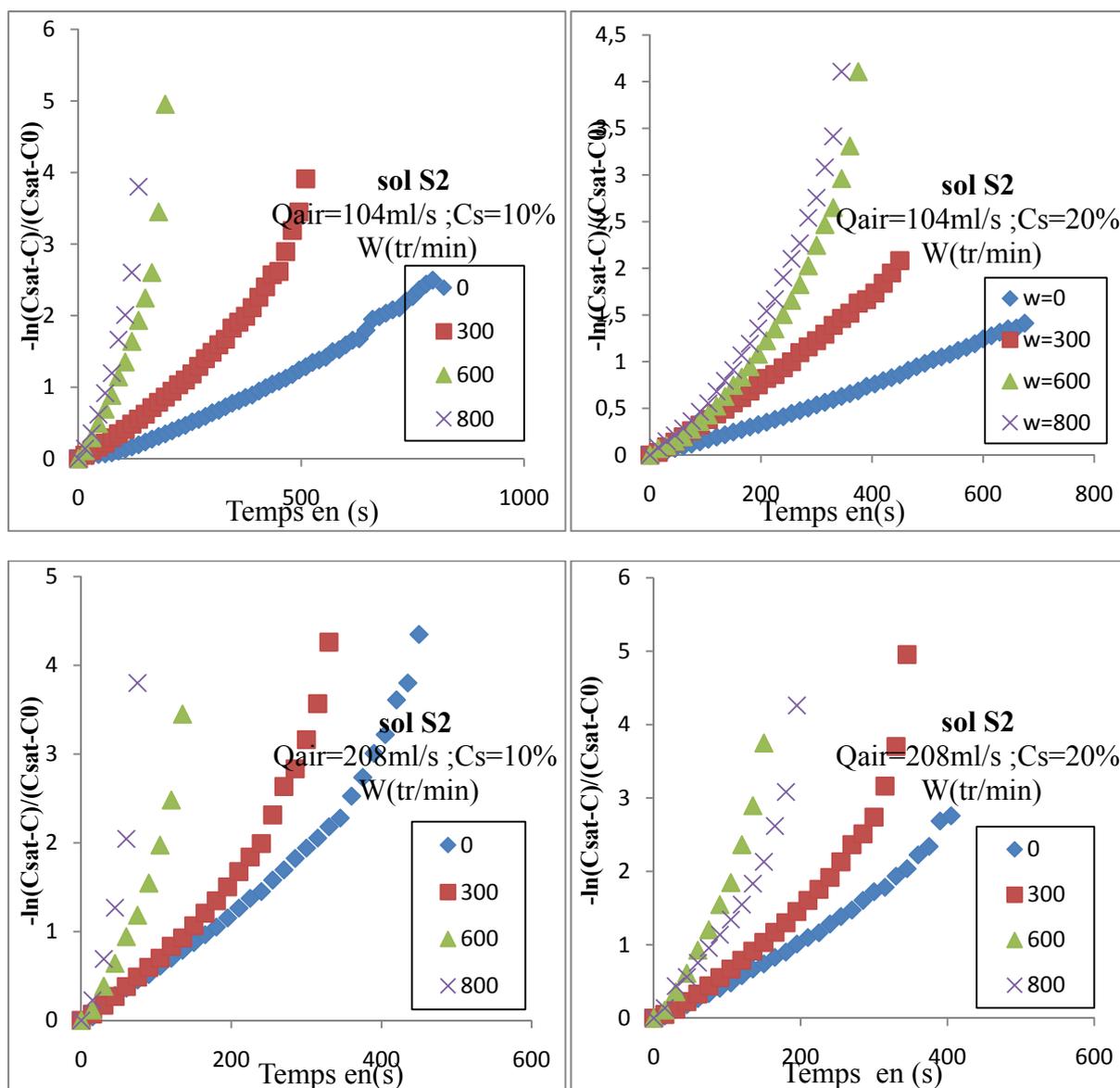
L'évolution de la concentration en O₂ en fonction du temps d'aération
Q air=104ml/s; m= 30%



L'évolution de la concentration en O₂ en fonction du temps d'aération
Q air=208ml/S; m= 30%

Annexe 5

Variation de $-\ln [(C^*-C_L)/(C^*-C_0)]$ en fonction du temps d'aération5-1 Evolution de $-\ln [(C^*-C_L)/(C^*-C_0)]$ en fonction du temps pour (S1)



5-2 Evolution de $-\ln [(C^*-C_L)/(C^*-C_0)]$ en fonction du temps

Annexe 6

Spectre chromatographique du gasoil

