



Ecole Nationale Polytechnique
Département de Génie de l'Environnement
Laboratoire des Sciences et Techniques de
l'Environnement



Mémoire de Magister en Génie de l'Environnement

Option : Sciences et Techniques de l'Environnement

Présenté par :

MERABET Hamza

Ingénieur d'état en Génie de l'Environnement ENP

Intitulé

Influence des nutriments sur la biodégradation d'un sol contaminé par du gasoil

Soutenu publiquement le **30 juin 2012** devant le jury composé de :

Présidente :	M ^{me} .	BELHANECHÉ Naima	Professeur	ENP
Rapporteur :	M ^{lle} .	ARRAR Jazia	Maître de conférences A	ENP
Examineurs :	M ^{me} .	MOUSSAOUI Khadidja	Professeur	ENP
	M ^{me} .	HARIK Djamila	Professeur	ENP
	M ^{me} .	ZBOUDJ Saliha	Maître de Conférences A	ENP

ENP 2012

Résumé

ملخص

تلوث التربة بالمحروقات هي مشكلة بيئية ذلك لتلويثها للتربة و المياه الجوفية و تأثيرها على الحيوانات، النباتات و صحة الإنسان.

الهدف من هذه الدراسة هو معالجة تربة ملوثة بالمازوت 1% و ذلك في مفاعلات بيولوجية غاز-صلب بسطح ثابت، و في ظروف تهوية و ارتفاع التربة (16 سم) و تدفق هواء 16,4 سم³ د⁻¹ مثالين. دراسة تأثير المغذيات محققة بتغيير النسب المولية للمغذيات.

قمنا أولاً بدراسة تأثير ارتفاع السطح و تدفق الهواء على تدهور المازوت. لهذا الغرض، قمنا بمتابعة التطور الزمني للمادة الحية و الهيدروكربونات الكلية (HTG) المتواجدة في المازوت و الاكسجين اللازم DCO في مفاعلات حيوية و معقمة و درسنا مدى قدرة الكائنات الجزيئية المحلية لتدهور المازوت في تربة رملية طمية عضارية. لقد أجريت أيضاً دراسة لحركية التحلل البيولوجي للمازوت.

الكلمة المفتاحية : المواد المغذية ، المازوت ، المعالجة البيولوجية للتربة، مفاعل حيوي هوائي.

RESUME

La contamination des sols par les hydrocarbures pétroliers constitue un problème environnemental du fait de la pollution des sous-sols et des eaux souterraines et de son impact sur la faune, la flore et la santé humaine.

L'objectif de ce travail est de traiter un sol pollué par du gasoil 1% dans des bioréacteurs gaz-solide à lit fixe sous des conditions aérobies, une hauteur de sol (16 cm) et un débit d'aération (16,4 cm³ min⁻¹) optimums.

L'étude de l'influence des nutriments est réalisée en variant les rapports molaires C/N/P.

Nous avons d'abord étudié l'influence de la hauteur du lit et le débit d'aération sur la dégradation du gasoil.

A cet effet, nous avons suivi l'évolution temporelle de la biomasse, des hydrocarbures totaux du gasoil (HTG) et de la DCO dans des systèmes biotiques et abiotiques et étudié la capacité des organismes autochtones à dégrader le gasoil dans le cas d'un sol argilo-sablo-limoneux.

Une étude de la cinétique de dégradation du gasoil a également été effectuée.

Mot clé: Nutriments, gasoil, bioremédiation de sol, bioréacteur aéré.

ABSTRACT

Soil contamination by petroleum hydrocarbons is a widespread problem in the environment because of soil and groundwater pollution, and its impact about the flora, fauna and human health.

The aim of this work is to treat soil contaminated with diesel fuel 1% in gas-solid fixed bed bioreactors under aerobic conditions with an optimum height of soil (16cm) and flow rate of aeration (16,4cm³ min⁻¹).

Nutrients influence is studied by varying the molar ratio C/N/P.

In first, we have studied the influence of the bed height and the flow rate of aeration on the diesel fuel degradation for a molar ratio C/N/P of 100/10/1.

To this end, we followed the temporal evolution of biomass, of total hydrocarbons of diesel fuel (TPH) and of DCO in abiotic and biotic systems and have studied the capacity of indigenous degraded diesel in the case of a loamy-sandy-clay soil and the influence of nutrients on the rate of biodegradation.

A degradation kinetic study of gasoil was also made.

Keywords: Nutrients, diesel fuel, bioremediation of soil, aerated bioreactor.

Dédicaces

A ma chère mère

A la mémoire de mon père

A Mes frères et sœurs

Ma fiancée

*Toute ma famille spécialement Zi Mouh sa
femme et ses enfants (Amine et Dodo)*

A mes amis

Remerciements

Ce travail a été réalisé au Laboratoire des Sciences et Techniques de l'Environnement de l'Ecole Nationale Polytechnique.

Je tiens d'abord à exprimer ma gratitude à M^{lle} J. Arrar Maître de Conférences A à l'ENP, pour son encadrement pendant 3 ans, ses conseils et sa patience.

Un remerciement particulier à Mme N. Belhanèche, Professeur à l'Ecole nationale Polytechnique qui m'a honoré en présidant le jury de ma soutenance.

Je remercie également Mme K.M. Moussaoui, Professeur à l'Ecole Nationale Polytechnique pour avoir accepté d'examiner mon mémoire.

Je tiens aussi à remercier Mme D. Harik, Professeur à l'Ecole nationale Polytechnique, examinatrice lors de ma soutenance.

Mes remerciements vont aussi à Mme S. Zebboudj, Maître de Conférences A à l'Ecole Nationale Polytechnique pour avoir examiné mon travail et été membre du jury.

Je remercie mon employeur Mr C. Christian pour sa compréhension pendant plus d'une année de pratique au laboratoire de l'Ecole Nationale Polytechnique.

Je remercie Mr Nacer du Laboratoire Central des travaux Publics, ainsi que Mr Boutiche Directeur à l'ENAVA pour l'aide qu'ils m'ont apportée.

Pour finir, je remercie toutes les personnes qui ont collaboré de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Sommaire

	INTRODUCTION GENERALE.....	13
I	DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES.....	14
I.1	Propriétés du sol.....	14
a	Texture.....	14
b	Structure.....	15
c	Porosité.....	15
d	Perméabilité à l'air.....	15
e	Capacité d'échange.....	16
f	Acidité du sol.....	16
g	Pouvoir tampon.....	17
I.2	Pollution des sols.....	17
I.2.1	Type de pollution.....	17
I.2.2	Pollution du sol et du sous sol par les hydrocarbures.....	18
I.2.3	Hydrocarbures / gasoil.....	19
a	Hydrocarbures aliphatiques.....	19
b	Hydrocarbures aromatiques.....	20
c	Gasoil.....	20
I.3	Remédiation des sols.....	21
I.4	Méthodes biologiques de traitement des sols (Bioremédiation).....	22
•	Atténuation naturelle.....	23
•	Biostimulation.....	24
•	Bioaugmentation.....	24
•	Bioventing.....	24
•	Land farming.....	25
•	Compostage.....	25
•	Biopile.....	25
•	Bioréacteurs.....	26
•	Bioréacteurs à boues activées.....	26
•	Bioréacteurs en phase solide.....	27
I.5	Conditions optimales de biodégradation des hydrocarbures.....	27
•	pH.....	28
•	Température.....	28
•	Oxygène.....	29
•	Humidité.....	29
•	Nutriments.....	29
•	Microorganismes.....	30
II	MATERIEL ET METHODES.....	32
II.1	Bioréacteur gaz-solide.....	32
II.2	Caractéristiques physico-chimiques.....	33
II.2.1	Granulométrie.....	33
II.2.2	Masse volumique et porosité.....	34

Sommaire

II.2.3	Perméabilité.....	35
II.2.4	pH.....	36
II.2.5	Humidité.....37.....	37
	
II.2.6	Matière Organique.....	37
II.2.7	Détermination de l'azote ammoniacal (NH_4^+)	37
II.2.8	Dosage des nitrites (NO_2^-).....	37
II.2.9	Dosage des nitrates (NO_3^-):.....	37
II.2.10	Détermination des phosphates (PO_4^{3-}).....	38
II.2.11	Carbone organique.....	38
II.2.12	Argile et limons.....	38
II.2.13	Biomasse.....	39
	a Dénombrement.....	39
	b Méthode gravimétrique.....	40
II.2.14	Gasoil.....	40
	a Extraction du gasoil	40
	b DCO	41
III	RESULTATS ET DISCUSSIONS.....	42
III.1	Caractérisation des sols	42
III.2	Traitement biologique du sol	45
III.2.1	Influence du débit d'aération et la hauteur du sol	45
III.2.1.1	Croissance microbienne	46
	a Méthode de dénombrement.....	46
	b Méthode gravimétrique.....	48
III.2.1.2	Dégradation du gasoil.....	49
	• Enlèvement des hydrocarbures totaux du gasoil.....	49
	• Biodégradation du gasoil.....	54
III.2.2	Influence des nutriments.....	55
	• Microcosmes.....	55
	• Colonnes de sol.....	58
III.2.2.1	Croissance bactérienne.....	59
	• Méthode de dénombrement.....	59
III.2.2.2	Enlèvement du gasoil.....	60
	• biodégradation du gasoil.....	63
	• Cinétique d'enlèvement du gasoil.....	66
	CONCLUSION GENERALE :.....	69
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	71
IV	ANNEXES.....	76

Liste des tableaux

Tableau I.1	Capacité d'échange de différents types de sols.....	16
Tableau I.2	Différentes techniques de traitements des sols contaminés.....	22
Tableau III.1	Caractéristiques physico-chimiques des sols étudiés.....	43
Tableau III.2	Les différents systèmes utilisés pour le même rapport C/N/P pour les deux sols.	46
Tableau III.3	Les différents systèmes utilisés pour différents rapports C/N/P.....	58
Tableau III.4	Constantes cinétiques d'enlèvement du gasoil à différents rapports C/N/P.....	68
Tableau A.1.1	Granulométrie du sol sableux.....	76
Tableau A.1.2	Coefficient d'uniformité du sol S1.....	77
Tableau A.1.3	Dosage des nitrites.....	83
Tableau A.1.4	Dosage des nitrates.....	84
Tableau A.1.5	Azote ammoniacal.....	86
Tableau A.1.6	Phosphore.....	88
Tableau A.II.1	La distribution granulométrique des particules du sol mélange.....	90
Tableau A.II.2	Coefficient d'uniformité du sol mélange.....	90
Tableau A.II.3	Dosage des nitrites.....	95
Tableau A.2.4	Dosage des nitrates.....	96
Tableau A.2.5	Azote ammoniacal.....	97
Tableau A.2.6	Phosphore.....	97
Tableau A.2.7	DCO.....	98
Tableau A.2.8	Comparaison entre la DCO et la concentration en gasoil du sol à différentes concentration de gasoil.....	99
Tableau A.2.9	Comparaison entre la concentration de gasoil dans l'eau et sa DCO.....	100
Tableau A.2.10	Comparaison entre la concentration de gasoil extraite du sol et la DCO du sol.....	101
Tableau A.2.11	Cinétique de séchage du sol.....	102
Tableau A.3.1	Débits des pompes.....	103
Tableau A.3.2	Concentration du gasoil en fonction du temps dans les systèmes à différents rapports C/N/P.....	104
Tableau A.3.3	DCO des systèmes à différents rapports C/N/P en fonction du temps.....	104
Tableau A.3.4	Evolution de la biomasse au cours du temps dans les systèmes à différents rapports C/N/P.....	104
Tableau A.3.5	Evolution de la matière sèche pour les systèmes à différents rapports C/N/P au cours du temps.....	105

Liste des figures

Figure I.1	Interaction entre le polluant et les différentes fractions du sol.....	19
Figure II.1	Dispositif expérimental.....	33
Figure II.2	Détermination de la masse volumique et de la porosité.....	34
Figure II.3	Dénombrement par ensemencement sur des boîtes pétri.....	36
Figure II.4	Appareil à ultrason utilisé pour l'extraction de gasoil.....	40
Figure III.1	Evolution de la biomasse pour les différents systèmes étudiés - cas des sols S1 et S2.....	46
Figure III.2	Evolution de la matière sèche des différents systèmes étudiés - cas des sols S ₁ et S ₂	48
Figure III.3	Evolution de la concentration de gasoil (HTG) dans les différents systèmes - cas du sol S1.....	50
Figure III.4	Evolution de la concentration de gasoil (HTG) dans les différents systèmes - cas du sol S2.....	50
Figure III.5	Rendement d'enlèvement des HTG du sol S1 pour les différents systèmes...	52
Figure III.6	Rendement d'enlèvement des HTG du sol S2 pour les différents systèmes ...	52
Figure III.7	Rendement d'enlèvement du gasoil (DCO) du sol S1 des différents systèmes	53
Figure III.8	Rendement d'enlèvement du gasoil (DCO) du sol S2 des différents systèmes	53
Figure III.9	Rendement de biodégradation des HTG pour les différents systèmes	54
Figure III.10	Rendement de biodégradation du gasoil (DCO) pour les différents systèmes..	55
Figure III.11	Evolution de la biomasse dans le sol S2 dans les différents microcosmes	57
Figure III.12	Evolution du pH du sol dans les différents microcosmes	57
Figure III.13	Evolution de la biomasse dans les différents systèmes dans le cas du sol S2...	59
Figure III.14	Evolution de la matière sèche des différents systèmes étudiés dans le cas du sol S2 à différents rapports C/N/P	60
Figure III.15	Evolution des HTG des systèmes étudiés dans le cas du sol S2 à différents rapports C/N/P	61
Figure III.16	Influence des rapports C/N/P sur l'enlèvement des HTG du sol S2.....	62
Figure III.17	Influence des rapports C/N/P sur l'enlèvement du gasoil (DCO) du sol S2	63
Figure III.18	Influence des rapports C/N/P sur la biodégradation des HTG du sol S2.....	64
Figure III.19	Influence des rapports C/N/P sur la biodégradation du gasoil (DCO) du sol S2.....	65
Figure III.20	Cinétique d'ordre 1 d'enlèvement des HTG dans le sol S2 à différents rapports C/N/P	67
Figure III.21	Cinétique d'ordre 2 d'enlèvement des HTG dans le sol S2 à différents rapports C/N/P	67
Figure A.1.1	Triangle des textures.....	77
Figure A.1.2	Relation entre la perméabilité et le type de sols.....	78
Figure A.1.3	La distribution granulométrique des particules du sol S ₁	78
Figure A.1.4	Courbe d'étalonnage des nitrites.....	83
Figure A.1.5	Courbe d'étalonnage des nitrates.....	85
Figure A.1.6	Courbe d'étalonnage de l'azote ammoniacal.....	87
Figure A.1.7	Courbe d'étalonnage du phosphore.....	88
Figure A.II.1	La distribution granulométrique des particules du sol.....	91
Figure A.II.2	Schéma du processus opératoire de l'analyse granulométrique par tamisage à sec après lavage.....	92
Figure A.II.3	Courbe d'étalonnage des nitrites.....	95
Figure : A.2.4	Courbe d'étalonnage des nitrates.....	96
Figure A.2.5	Courbe d'étalonnage de l'azote ammoniacal.....	97

Liste des figures

Figure A.2.6	Courbe d'étalonnage du phosphore.....	98
Figure A.2.7	Courbe d'étalonnage de la DCO.....	99
Figure A.2.8	Comparaison entre la concentration de gasoil injectée et celle extraite dans le sol à différentes concentration de gasoil.....	100
Figure A.2.9	Comparaison entre la concentration de gasoil dans l'eau et sa DCO.....	100
Figure A.2.10	Comparaison entre la concentration de gasoil extraite du sol et la DCO du sol.....	101
Figure A.2.11	Cinétique de séchage aux différentes hauteurs du sol à 20°C.....	102
Figure A.3.1	Systèmes utilisés pour le traitement des sols.....	103
Figure A.3.2	Evolution temporelle du taux de croissance bactérien pour le système H1Q1 avec le sol S1.....	105
Figure A.3.3	Evolution temporelle du taux de croissance bactérien pour le système 2H1Q1 avec le sol S1.....	106
Figure A.3.4	Evolution temporelle du taux de croissance bactérien pour le système 2H1 2Q1 avec le sol S1.....	106
Figure A.3.5	Evolution temporelle du taux de croissance bactérien pour le système 3H1 2Q1 avec le sol S1.....	107
Figure A.3.6	Evolution temporelle du taux de croissance bactérien pour le système H1Q1 avec le sol S2.....	107
Figure A.3.7	Evolution temporelle du taux de croissance bactérien pour le système 2HQ avec le sol S2.....	108
Figure A.3.8	Evolution temporelle du taux de croissance bactérien pour le système 2H 2Q avec le sol S2.....	108
Figure A.3.9	Evolution temporelle du taux de croissance bactérien pour le système 3H 2Q avec le sol S2.....	109
Figure A.3.10	Evolution temporelle du taux de croissance bactérien pour le sol S2 biotique 100/10/1.....	109
Figure A.3.11	Evolution temporelle du taux de croissance bactérien pour le sol S2 biotique 100/20/1.....	110
Figure A.3.12	Evolution temporelle du taux de croissance bactérien pour le sol S ₂ biotique 100/5/1.....	110
Figure A.3.13	Evolution temporelle du taux de croissance bactérien pour le sol mélange biotique 60/2/1.....	111

Liste des symboles

C°	Degré Celsius
C	Carbone
N	Azote
P	Phosphore
DCO	Demande chimique en oxygène
[TPH]	Concentration résiduelle de gasoil (g/kg sol)
[TPH₀]	Concentration initiale de gasoil (g/kg sol)
H	Hauteur du sol dans le bioréacteur
Q	Débit d'air
d	Diamètre des particules de sol
Hu	Humidité du sol
MO	Matière organique
CO	Carbone organique
UFC	Nombre de colonies par gramme de sol
X	Biomasse
X₀	Biomasse initiale
R	Rendement
R_{bio}	Rendement de biodégradation
R²	Coefficient de détermination
M	Masse
Ms	Matière sèche
T°	Température
v	Vitesse de réaction
k₁	Constante de vitesse d'enlèvement 1 ^{er} ordre (j ⁻¹)
k₂	Constante de vitesse d'enlèvement 2 ^{ème} ordre (g/kg.j).
C°	Degré Celsius
C	Carbone
N	Azote
P	Phosphore
DCO	Demande chimique en oxygène
[TPH]	Concentration résiduelle de gasoil (g/kg sol)

Introduction générale

Le sol est une ressource non renouvelable qui joue un rôle clé dans le fonctionnement de la biosphère continentale et la dynamique des écosystèmes (**Arrar, 2007**). Sa contamination constitue un danger permanent pour la santé publique, les différents écosystèmes et l'environnement de façon générale. Cette contamination du sol peut être de source naturelle, anthropique ou accidentelle.

Depuis plusieurs décennies, les activités humaines engendrent une production de plus en plus importante de produits chimiques, potentiellement toxiques, pouvant être déversés accidentellement ou non dans l'environnement. Ainsi, les risques pour la santé publique et le bon fonctionnement des écosystèmes sont de plus en plus importants et préoccupants. Les événements accidentels recensés en France ou ailleurs qui ont ou auraient pu porter atteinte à la santé, à la sécurité publique, à l'agriculture et à l'environnement sont dus essentiellement aux activités industrielles et agricoles, aux transports de matières dangereuses, et auraient touchés plus de 32 000 sites (**Aria, 2006**). Sur l'ensemble de ces accidents, 40 % d'entre-eux auraient entraîné la contamination de sites terrestres ou aquatiques (**Milton, 2007**).

Parmi les contaminants, les hydrocarbures et huiles constituent la principale source de pollution des sols, sous sols et eaux souterraines (**Milton, 2007**). Plusieurs techniques de traitement physico-chimiques, thermiques et biologiques existent pour le traitement des sites et sols pollués. La bioremédiation ou traitement biologique est de plus en plus envisagé étant donné son coût concurrentiel comparativement aux méthodes chimiques ou physiques, sa mise en œuvre relative simple et son caractère environnemental. En outre, le traitement n'affecte pas la faune et la flore.

Plusieurs paramètres affectent l'efficacité de la bioremédiation tel le pH, la température, les nutriments, les accepteurs d'électrons (oxygène, nitrates,...), les microorganismes...etc.

Nous nous intéressons en particulier à l'influence des nutriments dans le cas de sols pollués par du gasoil, polluant majoritaire des hydrocarbures et huiles concentrés. Le traitement du sol contaminé est réalisé dans des bioréacteurs aérobies gaz-solide.

Le mémoire s'articulera autour de quatre parties :

La première partie constitue la synthèse bibliographique où nous définirons le sol, ses caractéristiques, sa pollution et sa bioremédiation.

La deuxième partie présentera le matériel et les méthodes utilisées pour la caractérisation et le traitement du sol.

Le troisième chapitre sera consacré aux résultats expérimentaux et leurs interprétations.

Nous terminerons par une conclusion et perspectives.

Selon la définition de l'organisation internationale de normalisation (ISO), le sol correspond à la couche supérieure de la croûte terrestre. D'une épaisseur de 30 cm en moyenne, il est constitué de particules minérales, de matières organiques, d'eau, d'air et d'organismes vivants (racines, faune et microorganismes) (**Galileo, 2005**). Selon la nature des roches initiales, de l'action des climats et des activités biologiques et humaines, les couches successives qui le composent ont des caractéristiques physiques, chimiques et biologiques variables.

Le sol remplit de multiples fonctions complexes, interdépendantes et essentielles à la vie. Selon la FAO (Organisation des nations-unies pour l'alimentation et l'agriculture), 15% de la surface émergée de la terre est dégradée (**Galileo, 2005**).

I.1. Propriétés du sol

Les constituants du sol interagissent pour lui conférer ses propriétés. Leurs proportions, leurs variabilités spatio-temporelles, la vitesse des flux qui les relie influencent le fonctionnement du système (**Kaufmann, 2004**).

a. Texture

La texture d'un sol est déterminée sur la base de la répartition granulométrique et par conséquent des pourcentages en sables grossiers et fins, en limons et argiles comme l'illustre l'exemple du triangle de textures (**Annexe I.1**). Les blocs (>20 cm), les cailloux (de 20 à 2 cm), les graviers (de 2 cm à 2 mm) sont exclus de l'analyse qui ne prend en compte que la fraction inférieure à 2mm (terre fine) :

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

La texture ne permet de connaître précisément les propriétés du sol mais cette connaissance permet d'en connaître les tendances :

- Si les éléments « sables grossiers » dominent, le sol sera filtrant ;
- Si aux sables grossiers s'ajoutent des éléments fins (sables fins et limons) le sol sera battant ;
- Si aux éléments fins s'ajoutent des argiles (et de la matière organique), le sol aura une bonne structure garantissant une bonne perméabilité (**Engels, 2002**).

La texture conditionne directement l'état du sol ou sa structure et le régime hydrique.

b. Structure

C'est le mode d'assemblage ou l'organisation et l'agglomération des particules du sol. On distingue des structures particulières, fragmentaires et compactes.

Des changements affectant la structure du sol modifient la circulation de l'eau, très rapide dans les structures particulières et grossières, moyenne dans les formes grumeleuses et presque nulle en cas de forte compaction (**Kaufmann, 2004**).

c. Porosité

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

Dans de nombreuses situations le volume de la porosité est constant. Ainsi, les deux fluides sont en compétition. Tout volume occupé par l'eau n'est pas accessible aux échanges gazeux. Les sols dont la porosité est saturée d'eau se caractérisent par une faiblesse des échanges gazeux avec l'atmosphère, ce qui se traduit souvent par des états anoxiques plus ou moins marqués (**Valles, 2006**). On distingue :

- la macroporosité ($d_p > 75 \mu\text{m}$) ;
- la méso porosité ($75 > d_p > 30 \mu\text{m}$) ;
- la microporosité ($30 > d_p > 5 \mu\text{m}$) (**Badin, 2009**).

La porosité renseigne sur la capacité hydrique ou atmosphérique d'un sol, en volume ou en flux (**Duchaufour, 1998**).

d. Perméabilité à l'air

La perméabilité à l'air est une grandeur macroscopique qui mesure l'aptitude du sol à être traversé par un gaz. C'est l'un des paramètres qui détermine la faisabilité d'un traitement par venting ou par extraction sous pression réduite. On distingue la perméabilité intrinsèque (indépendante des caractéristiques du fluide) et la perméabilité de DARCY (dépend du poids spécifique de l'eau ρ_g et de sa viscosité μ) (**Boudouch, 2009**).

e. Capacité d'échange :

La capacité d'échange mesure la quantité d'éléments échangeables qu'un sol peut retenir. Elle est fonction de la teneur en argile, du type d'argile et de la teneur en humus (Tableau 1). Dans la pratique on détermine la capacité d'échange pour les cations (CEC ou T) mais on peut aussi déterminer la capacité d'échange pour les anions (CEA) (Engels, 2002).

Tableau I.1 : capacité d'échange de différents types de sols

Matériaux	Types	CEC (még/100g)
Argiles	Kaolinite	3-15
	Illite	30-40
	Montmorillonite	60-150
Humus		100-600
Sols (horizons)	Ap (Culture-Hesbaye)	15-25
	O (Forêt-Ardenne)	60-100
	Ah (idem)	20-50
	Bw (idem)	10

f. Acidité du sol

L'acidité d'un sol traduit la concentration en ions H^+ . Les sources d'ions H^+ dans le sol sont de deux types : organiques (dissolution des acides organiques, des phénols, des alcools, etc.) et minérales (dissociation des radicaux OH^- aux faces de rupture des argiles et dissociation des molécules d'eau) (Engels, 2002). L'acidité varie en fonction :

- Des conditions climatiques générales et locales ;
- De la nature de la roche-mère ;
- Des prélèvements d'éléments nutritifs ;
- Des processus d'humification ;
- Des pratiques culturales (Engels, 2002).

Le pH influence sur la nature des organismes vivants (Engels, 2002).

g. Pouvoir tampon

Le pouvoir tampon est l'aptitude des sols à s'opposer aux variations de pH, lorsqu'on lui incorpore soit des acides soit des bases. C'est la capacité des constituants de la phase solide des sols à maintenir le pH constant. Pour un pH élevé (> 8), il s'agit des carbonates et pour un pH acide (< 4), ce sont les réactions de dissolution des aluminosilicates qui tamponnent le pH. Le pouvoir tampon est également défini par le rapport entre la quantité de bases apportées sur la variation de pH (Engels, 2002).

I.2. Pollution des sols

L'apparition d'une pollution résulte le plus souvent d'accidents industriels (déversements accidentels), de dépôts, de rejets et d'anciennes pratiques, de ruptures d'oléoducs ou du transport de matières dangereuses (Eweis, 1998).

I.2.1. Types de pollution

La source de pollution constitue un élément de classification.

La pollution peut être **diffuse**, résultant de l'activité du site. Le polluant se répand dans le milieu par petites quantités mais de façon régulière et parfois sur de très longues périodes (des années voire plus). La pollution diffuse se disperse sur une grande surface.

La pollution peut être brutale, «**en masse**», correspondant à un rejet de polluant important dans un temps court; on parle alors de pollution accidentelle ou ponctuelle avec une introduction à un endroit plus précis et restreint dans l'espace. Ainsi, le renversement d'un camion-citerne, l'explosion d'une cuve ou d'un réacteur entrent dans cette catégorie (Boudouch, 2009).

Les principaux polluants de ces sols, constatés seuls ou en mélange, sont : les hydrocarbures, les huiles, les pesticides, le plomb, le zinc, les solvants halogénés, le chrome, le cuivre, l'arsenic, le nickel et le cadmium.

Les hydrocarbures font partie des polluants organiques majoritaires au niveau de ces écosystèmes (Militon, 2007) et auxquels nous nous intéresserons. De nombreux hydrocarbures présentent des risques toxicologiques, mutagènes voire même cancérigènes pour de nombreux organismes dont l'homme (Militon, 2007).

I.2.2. Pollution du sol et du sous sol par les hydrocarbures

Certaines fractions du sol sont largement impliquées dans les comportements que peuvent adopter les hydrocarbures au niveau de ces écosystèmes. Du fait de leurs caractéristiques physico-chimiques, la majorité d'entre eux ne sont pas forcément volatilisables ou lessivables, et peuvent se retrouver immobilisés au niveau des sols. Leur sorption (**Figure 1**) se fait majoritairement sur les fractions organique et minérale du sol, les rendant moins disponibles à l'assimilation biologique (**Militon, 2007, Mukherji, 2004**).

Dans le milieu souterrain, l'évolution des polluants est très lente, comparativement à ce qui se passe en surface. La migration de la pollution diffère entre la zone saturée et non-saturée.

La zone non saturée est la première zone rencontrée à partir de la surface. Les pores y sont partiellement remplis d'eau. Un liquide s'y infiltrant la traversera, sous l'effet de la pesanteur, selon une composante essentiellement verticale. La composante horizontale est liée à la capillarité et aux hétérogénéités (**Arrar, 2007**).

Une fois la zone saturée franchie, la propagation du polluant dans la zone saturée (frange capillaire et aquifère) ne rencontre pratiquement plus d'obstacles. La vitesse de propagation du polluant dépend du type de polluant, en particulier de sa viscosité, et de sa concentration (phénomène de diffusion) (**Arrar, 2007**).

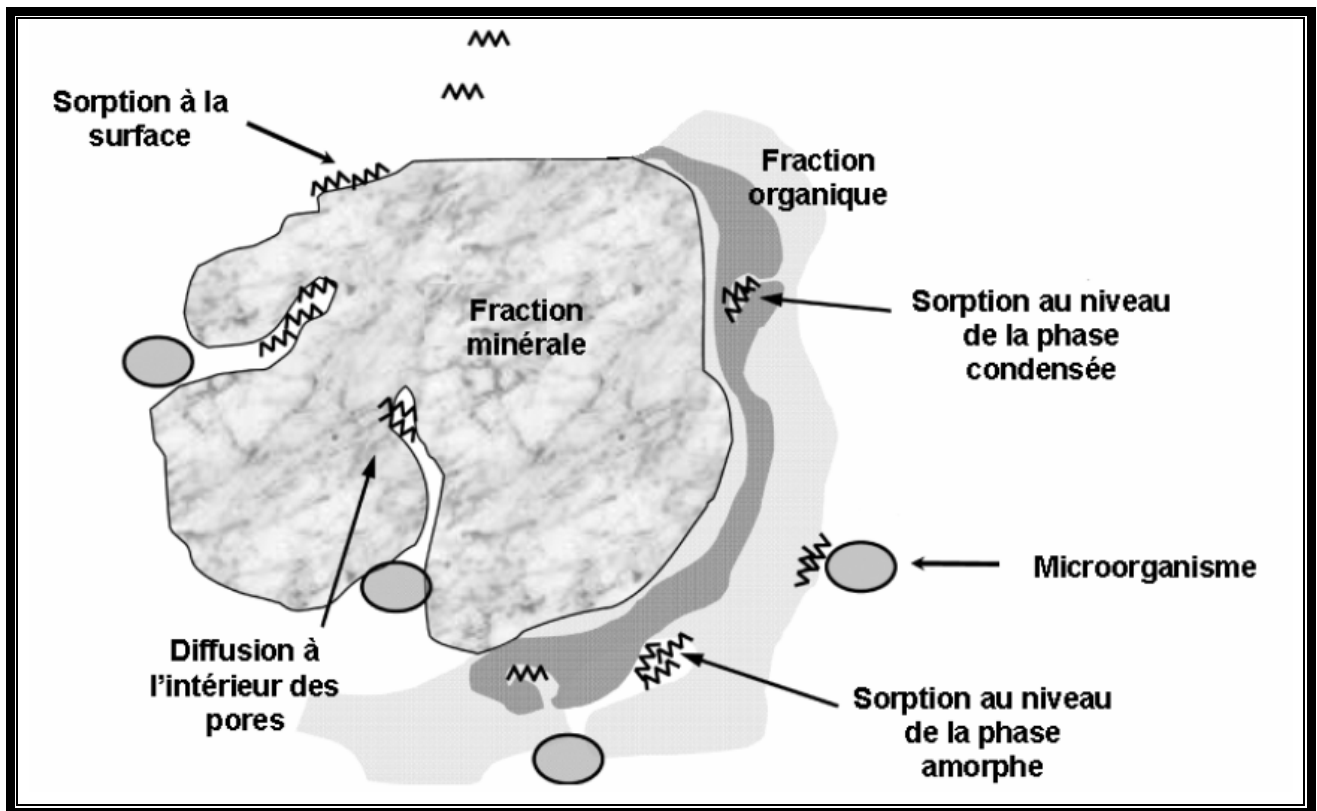


Figure I.1: Interaction entre le polluant et les différentes fractions du sol (Militon, 2007).

I.2.3. Hydrocarbures / gasoil

Les hydrocarbures sont constitués essentiellement de carbone et d'hydrogène mais contiennent également de faibles quantités d'oxygène, d'azote et de sulfures comme le phénol, l'indole, le thiophène, ... (Scriban, 1999). On distingue les hydrocarbures aliphatiques linéaires, ramifiées et cycliques et les hydrocarbures aromatiques.

a. Hydrocarbures aliphatiques

Les hydrocarbures aliphatiques comprennent les alcanes (C_nH_{2n+2}), les alcènes (C_nH_{2n}), les alcynes (C_nH_{2n-2}), les isoalcanes et les cycliques. Les alcanes n'ont que des liaisons simples entre les carbones. Les alcènes présentent une liaison double entre les carbones. Les alcynes ont une liaison triple carbone-carbone.

On y rencontre donc des alcanes gazeux (méthane, éthane, propane, ...), et des alcanes liquides dans les fuels, mazout, essence, et kérozène.

Ils sont insolubles (ou très peu solubles) dans l'eau comme la majorité des hydrocarbures, en revanche, ils sont solubles dans les autres hydrocarbures, les liquides organiques et les graisses.

De manière générale, les hydrocarbures aliphatiques présentent une toxicité moindre que les hydrocarbures aromatiques, bien que cela dépende aussi des organismes récepteurs. **(Martinelli, 1999).**

b. Hydrocarbures aromatiques

Les hydrocarbures aromatiques se distinguent des autres par un rapport C/H très élevé. Ils sont constitués d'au moins un cycle hexagonal de carbone, chacun étant lié à un unique atome d'hydrogène (cycle benzénique). Le plus simple d'entre eux est le benzène (C₆H₆). On peut citer aussi le naphthalène (accolement de deux noyaux de benzène), le toluène, le cumène, le xylène ou le styrène **(Martinelli, 1999).**

Les hydrocarbures aromatiques sont d'excellents solvants pour les laques et les peintures et sont en majorité toxiques et parfois même cancérigènes **(Martinelli, 1999).**

c. Gasoil

Le gasoil est un carburant constitué d'un mélange complexe de paraffines, d'oléfines, d'hydrocarbures aromatiques ainsi que de faibles quantités de soufre, d'azote, métaux et d'oxygène **(Berry, 1997).**

Les gasoils contiennent 2000 à 4000 hydrocarbures différents, dont le nombre d'atomes de carbone varie entre 11 et 25 **(Saada et al, 2005).** Ces fuels sont distillés à des températures entre 180 et 380°C et ont une densité de 0,82 à 0,86. Ils sont plus lourds que les essences et moins volatils. Ils ne contiennent pas d'alcènes et sont majoritairement constitués de n-alcane et cycloalcane **(Saada et al, 2005, Hecq, 2007).**

I.3. Remédiation des sols

Afin d'éviter les contacts entre les contaminants des sols et leurs cibles potentielles, il est nécessaire d'éliminer les polluants ou de les rendre moins toxiques. C'est pourquoi de nombreuses méthodes de réhabilitation ont été développées en fonction de la nature du site pollué, du type de polluant et du caractère *in situ* ou *ex-situ* (*sur site et hors site*) de la dépollution (Militon, 2007). Il existe plusieurs techniques de traitement de sol (Tableau 1):

- **Méthodes physiques** : dans cette technique le traitement se fait soit par excavation du sol ou par piégeage de la pollution (stabilisation du sol, confinement).
- **Méthodes chimiques ou électrochimiques** : la pollution est traitée par réaction avec un acide, un solvant ou une électrolyse (Choi et al, 2002).
- **Méthodes thermiques** : les procédés thermiques comportent deux étapes principales, le chauffage du solide jusqu'à volatilisation des polluants puis le traitement des vapeurs dans une unité de post-traitement qui dépend des caractéristiques des gaz à traiter (condensation et/ou adsorption sur charbon actif, combustion, oxydation catalytique, filtres, etc. (Sarkar, 2005).
- **Méthodes biologiques** : c'est une méthode de traitement on fait appel aux microorganismes pour dégrader complètement les contaminants en produits inoffensifs ou moins polluants et moins toxiques. Les coûts d'opération d'un traitement biologique sont généralement bas comparés à ceux des processus physiques et chimiques (Choi et al, 1992).

Tableau I.2: Différentes techniques de traitements des sols contaminés (Arrar, 2007).

Catégorie de Traitement	Nature du Traitement		Efficacité sur les groupes de contaminant
Confinement			
In situ	Physiques	Venting / Extraction sous vide	Solvants chlorés Volatils
		Stripping Injection d'air ou de vapeur	
		Extraction électrique	
	Biologiques	Bioventing	Volatils résiduels, Huiles et Lubrifiants du gasoil
		Biosparging	
		Biofiltration	
		Bioslurping	
Phytoremédiation			
Ex situ	Lavage		
	Thermiques	Désorption thermique Chauffage direct ou indirect	Volatiles, Semi-volatiles, Polychlorobiphényles, Phénols chlorés, Pesticides, Herbicides, Dioxines/Furanes, Cyanides
		Pyrolyse Chauffage direct ou indirect	
	Chimiques	Extraction par solvant	Semi-volatiles halogénés, Volatiles et Semi-volatiles non halogénés, PCB, Pesticides
		Immobilisation	
		Oxydation	
	Biologiques <i>Biostimulation et/ou Bioaugmentation</i>	Compostage	Peu volatils
		Landfarming	Peu volatils
		Biopile	Gasoils, PCB
		Bioréacteur	

I.4. Méthodes biologiques de traitement des sols (Bioremédiation) :

Les techniques biologiques de dépollution des sols sont nombreuses. Selon la nature de la pollution à traiter, elles sont mises en œuvre seules ou combinées à d'autres procédés, physiques, chimiques ou thermiques.

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

L'identification des techniques biologiques existantes ou émergentes et l'analyse des procédés impliqués met en évidence l'existence de deux catégories principales : les techniques de bioremédiation qui utilisent essentiellement des bactéries et les techniques de phytoremédiation qui exploitent les propriétés de certaines espèces végétales (strates herbacées, plantes, arbustes, arbres, algues) à interagir avec des composés chimiques organiques ou minéraux pour dépolluer un terrain contaminé *in situ*. Le plus souvent, ce sont les microorganismes de la rhizosphère qui dégradent les composés organiques. Il arrive que les produits issus de la dégradation, qui peuvent ou non être accumulés par le végétal, soient plus dangereux que le polluant d'origine. La biomasse produite peut contenir le polluant (tiges, feuilles) et doit être traitée d'une façon adéquate, qui revient souvent à récolter les végétaux pour les incinérer (**Huang, 2000**).

Elles peuvent être classées en fonction de leur degré d'innovation :

- les techniques innovantes qui font l'objet de travaux de recherche et développement poussés et d'essais pilotes sur site en vue d'améliorer les conditions d'utilisation et d'optimiser les performances, d'autres n'ont pas dépassé le stade expérimental et sont étudiées soit en laboratoire, soit dans des serres, ou font l'objet d'essais sur le terrain (chantiers expérimentaux, sites pilotes);
- les techniques plus anciennes, qui n'évoluent plus vraiment, à l'exception d'ajustements mineurs pour optimiser leur rendement et gagner en efficacité (**Ademe, 2006**).

Les techniques de bioremédiation utilisent les propriétés dépolluantes de microorganismes (des bactéries essentiellement, mais également des champignons) endogènes ou exogènes au terrain contaminé et peuvent être subdivisées en plusieurs catégories selon le principe biologique ou mode de dépollution mis en œuvre. Elles reposent essentiellement sur :

- **Atténuation naturelle** : repose sur le développement naturel des bactéries présentes dans le sol sans stimulation. Une diminution significative des teneurs en polluants est alors incertaine et ne peut être envisagée que sur un très long terme (**Huang, 2000**).

- **Biostimulation** : elle consiste à modifier les paramètres intrinsèques d'un site pour stimuler l'activité microbienne. Un apport de nutriments pour rééquilibrer les rapports carbone/azote/phosphore et d'agents correcteurs du milieu est généralement nécessaire (Mills, 2003). La biostimulation implique également des apports d'eau pour assurer un taux d'humidité suffisant et d'oxygène (conditions aérobies) ou autres éléments accepteurs d'électrons (conditions anaérobies), et parfois l'amélioration des conditions physico-chimiques du sol pollué (Chaplin, 2002).
- **Bioaugmentaion** : c'est l'adjonction des micro-organismes et d'enzymes spécifiquement élevés et adaptés pour digérer un type précis de polluants en vue d'améliorer le taux de bioremédiation du sol. Elle s'avère particulièrement intéressante dans les cas de bioremédiation de polluants très récalcitrants (Chaplin, 2002).

Parmi les méthodes de traitements in-situ, le **Bioventing** consiste à aérer (aération forcée) la zone non saturée pour stimuler les micro-organismes du sol. L'injection d'air favorise le développement de la biomasse et la volatilisation des produits organiques volatils. Selon la nature des polluants (Vogel, 2001), ce traitement permet d'atteindre des rendements d'élimination de 90% toutefois les temps de 15 biorestauration peuvent s'étaler sur plusieurs mois voire même dans certains cas sur deux - trois ans (Arrar, 2007).

Les méthodes de traitements in-situ comportent :

- **Bioventing**: la zone non saturée est aérée (aération forcée) pour stimuler les micro-organismes du sol. L'injection d'air favorise le développement de la biomasse et la volatilisation des produits organiques volatils. Selon la nature des polluants (Vogel, 2001), ce traitement permet d'atteindre des rendements d'élimination de 90% toutefois les temps de 15 biorestauration peuvent s'étaler sur plusieurs mois voire même dans certains cas sur deux - trois ans (Arrar, 2007).

Les méthodes ex-situ regroupent :

- **Land farming** : consiste à traiter le matériau pollué comme un sol agricole, le traitement étant effectué sur de minces couches d'environ 0,4m d'épaisseur.

Donc, de larges surfaces sont nécessaires si on dispose de grandes quantités de sol à traiter, et ce dernier est placé sur des couches en béton, en argile ou même sur des feuilles métalliques pour éviter la contamination des nappes phréatiques. Cette technique nécessite l'ajout de fertilisants et un labourage à des intervalles réguliers (Chaplin, 2002).

- **Compostage**

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

- **Biopile** :

Les biopiles sont une variante améliorée du procédé par épandage. La biodégradation par biopile agit dans un milieu où la température, l'oxygène et les nutriments sont contrôlés. Les matières solides contaminées sont disposées sur une surface imperméable en piles de 2 à 3 mètres d'épaisseur. Les piles sont aussi recouvertes d'une toile étanche. Un système de tuyauterie, placé à l'intérieur des piles, distribue les nutriments et les substances nécessaires à la dégradation des contaminants. Un autre système de tuyauterie sert à capter les composés organiques volatils pour un traitement secondaire.

Les biopiles permettent de traiter efficacement les sables et les graviers contaminés par des hydrocarbures légers à moyennement lourds (Cloutier, 1998).

Le tas à traiter sera recouvert d'une membrane imperméable, et la gestion des entrées/sorties des phases liquides et gazeuses devra être parfaitement maîtrisée. A la base du tas, un système de tuyauterie est installé dans une couche drainante (gravier), il permet une aération efficace selon une répartition régulière.

Au sommet du tas, un dispositif d'aspersion est mis en place ; il servira à humidifier et, éventuellement, à ajouter des nutriments et/ou des micro-organismes. Enfin, l'ensemble est isolé de l'extérieur par une membrane imperméable (**Jourdain, 2007**).

- **Bioréacteurs :**

Ce sont des systèmes généralement composés de réservoirs contenant une biomasse fixe ou en suspension et qui opèrent en conditions aérobies ou anaérobies. Les matières contaminées peuvent être mélangées avec de l'eau pour réduire la charge contaminante ou former une boue.

De l'air et des nutriments sont ajoutés pour amorcer la biodégradation. L'ajout de produits chimiques est parfois utile pour déloger les contaminants fixés aux particules. Le contrôle de la biomasse par l'addition de micro-organismes est nécessaire pour maintenir un niveau optimal d'enlèvement.

Les bioréacteurs peuvent traiter des liquides, des boues et des sols contaminés par des composés de poids moléculaires élevés, tels que l'essence, le diesel et les huiles lubrifiantes. Les biomasses ont même la capacité d'adsorber les métaux par le biais de la bioadsorption/bioaccumulation (**Cloutier, 1998**).

- **Bioréacteurs à boues activées**

Dans les bioréacteurs à boues, le sol tamisé au préalable est mis en suspension dans l'eau moyennant une agitation mécanique, avec des pourcentages de solide compris entre 20 et 70% en masse (**Barooah, 1999**). Les vitesses d'agitation utilisées doivent être réduites mais suffisantes pour maintenir le sol en suspension et réduire le cisaillement du floc microbien.

En général, l'aération est assurée par de l'air comprimé à partir des diffuseurs situés au fond du réacteur. L'air est saturé en eau au préalable pour réduire les pertes par évaporation et les débits d'air sont ajustés pour maintenir une teneur en oxygène dans le réacteur proche de celle de saturation, c'est-à-dire approximativement de 6,5 mg/L, la teneur en oxygène étant directement liée au débit d'aération (**Nano, 2003**).

La circulation d'air et la vitesse d'agitation sont des facteurs importants affectant l'efficacité de la biodégradation dans les bioréacteurs à boues. L'aération combinée à un système d'agitation vise à améliorer les transferts d'oxygène et les contacts entre les phases biotiques et abiotiques.

Des études ont comparé l'influence de deux méthodes d'aération (labourage, aération forcée) en présence et en l'absence d'agents de tassement utilisés pour augmenter la porosité dans le cas d'un sol pollué à 10% d'hydrocarbures totaux de pétrole (TPH) durant 30 semaines.

La teneur en TPH diminue dans tous les cas tandis que la présence d'agents de tassement accélère le processus de bioremédiation. La cinétique est beaucoup plus importante durant les 12 premières semaines du traitement où les TPH ont diminué de 82% dans le cas le plus favorable comparé à 33% dans le cas le plus défavorable (Nano, 2003).

- **Bioréacteurs en phase solide**

Dans les bioréacteurs en phase solide, l'eau est introduite pour maintenir un taux d'humidité suffisant et constant. Ce type de bioréacteur est peu coûteux, il exige une faible quantité d'énergie pour l'aération forcée ce qui rend la bioremédiation en phase solide plus attrayante car plus rentable même lorsque les durées de traitement sont très longues. Toutefois, l'enlèvement non uniforme des hydrocarbures, les faibles cinétiques et taux de biodégradation ; attribués à une distribution non homogène des nutriments et des micro-organismes dans le sol ; réduisent souvent l'efficacité de traitement en phase solide (Samson, 1997).

I.5. Conditions optimales de biodégradation des hydrocarbures

La biodégradation des hydrocarbures dans le sol peut être limitée par plusieurs facteurs, par exemple: le type de micro-organisme, les éléments nutritifs, le pH, la température, l'humidité, les propriétés du sol en oxygène et la présence de contaminants (Fonitich, 1999).

La biodégradation des composés du pétrole diminue généralement selon l'ordre suivant :
n-alcanes > alcanes ramifiés > alcènes ramifiés > aromatiques n-alkyl de bas poids moléculaire > mono aromatiques > cyclo-alcanes > les hydrocarbures aromatiques polycycliques-asphaltène (Tyagui, 2010).

- **pH**

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

- **Température :**

Elle influence profondément la multiplication cellulaire et le métabolisme microbien. Les températures optimales de la croissance et de l'activité des réactions biochimiques des micro-organismes du sol varient considérablement suivant les espèces. Selon la température optimale de développement, on distingue : les microorganismes psychrophiles (0 – 15°C) ; les micro-organismes mésophiles (20 - 40°C) et les micro-organismes thermophiles qui se multiplient préférentiellement entre 45 et 60°C (Gabet, 2004). Le métabolisme microbien et la biodégradation des composés organiques augmentent avec l'augmentation de la température (Abul-Kassim et Simoneit, 2001).

L'évaporation peut être responsable de la perte d'un à deux tiers de la masse d'un déversement en l'espace de quelques heures ou d'une journée. La perte initiale rapide des fractions plus volatiles est suivie par une perte progressivement plus lente de composés moins volatils. En général, les molécules de faible poids moléculaire s'évaporent plus rapidement que celles de poids moléculaire élevé qui persistent dans le sol (Abul-Kassim et Simoneit, 2001). La décontamination d'un sol induit un pourcentage de volatilisation non négligeable situé entre 14% et 35% (King, 1996) et entre 48% et 97% (Atlas, 1981) dans des conditions précises.

Les alcanes comprenant au minimum cinq atomes de carbone s'évaporent à partir de 35°C (Abbassi et Shquirat, 2007).

- **Oxygène :**

L'oxydation par l'oxygène semble être le mécanisme primaire dans la biodégradation des hydrocarbures (**Gabet, 2004**). Cette étape initiale du catabolisme des hydrocarbures par les microorganismes implique l'intervention des hydroxylases et d'oxygénases, pour lesquelles l'oxygène est indispensable (**Ferguson, 2003**). La teneur en oxygène doit être supérieure à 10% pour stimuler la dégradation par voie aérobie (**Atagana, 2003**).

- **Humidité :**

Les processus métaboliques des micro-organismes requièrent un taux d'humidité minimal supérieur à 2% en masse. Des taux d'humidité du sol inférieurs à 2% limitent la croissance microbienne et les vitesses de biodégradation (**Gibb, 2001**).

- **Nutriments :**

La biodégradation des hydrocarbures est limitée par la disponibilité de l'azote et du phosphore nécessaires aux micro-organismes présents en quantités insuffisantes dans les hydrocarbures. En général, c'est le rapport molaire de Redfield considéré comme optimal (C/N/P) = (106/16/1) qui est préconisé (**Abbassi et Shquirat, 2007**).

Le rapport molaire C/N est étroitement lié à la composition en minéraux naturels. Ce rapport doit être compris entre 10 /1 et 40 /1 selon Brinkmann et al (**1998**). Si le rapport est supérieur à 40/1, il doit être réduit par un ajout de chlorure d'ammonium ou d'urine.

Dans le cas d'un déficit en azote, les microorganismes subissent alors une limitation dans leur croissance (**Juteau, 2003**).

Pour stimuler la biodégradation des hydrocarbures dans les microcosmes, les bioréacteurs et les biopiles, l'addition de boues activée des stations d'épuration des eaux usées rejetées par une raffinerie est souvent préconisée. Cette dernière étant un bon milieu pour l'anabolisme et pour le métabolisme, elle contient un rapport molaire C/N/P=100/2,07/1,65 (**Juteau, 2003**).

D'autres chercheurs trouvent que la croissance microbienne atteint un maximum pour un rapport molaire optimal N/P de 2/1 (**Ying, 2011**). Au-delà de 5/1, la croissance microbienne est inhibée pour devenir négligeable lorsque le rapport N/ P est supérieur à 10 (**Ying, 2011**).

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 (**Ying, 2011**).

Depuis une dizaine d'années, la présence de résidus organiques dans le sol comme le fumier, les déchets de jardins, les boues des eaux usées ainsi que les déchets ménagers ont toujours été ajoutés au sol contaminé pour la stimulation de l'activité microbienne par addition de dérivés azotés et phosphorés minéraux demeure privilégiée.

Le fait qu'ils contiennent une richesse en nutriments (Azote, phosphore) leur assure une place privilégiée dans l'amendement de sols. Ils peuvent servir comme stimulants dans le domaine du traitement de sols contaminés par les hydrocarbures, mais le fait qu'ils contiennent des pathogènes ainsi que des métaux lourds les rend dangereux sur l'environnement (**Espinoza, 2003**).

- **Microorganismes :**

Le sol constitue un réservoir très important de microorganismes : bactéries et champignons. La densité bactérienne est estimée à $10^6 - 10^9$ par gramme de sol sec des horizons superficiels présentant une biomasse de 1500 kg par hectare pour une profondeur de 20 cm. Les champignons, pour leur part, peuvent former une biomasse atteignant 3500 kg par hectare (**Girard et al, 2005**).

Ce chapitre est consacré à la description des dispositifs expérimentaux utilisés pour la décontamination d'un sol pollué par le gasoil et les méthodes utilisées pour déterminer les caractéristiques physico-chimiques et biologiques du sol et les paramètres de suivi de la décontamination.

Selon leurs besoins pour leur alimentation, on distingue :

- Les micro-organismes hétérotrophes qui ont besoin pour se développer de substances organiques telles que les hydrocarbures. C'est ce groupe qui intervient principalement dans les techniques de dépollution biologiques.

- Les micro-organismes autotrophes qui utilisent le mono oxyde de carbone CO, le dioxyde de carbone CO₂ et les composés non organiques réduits.

Selon le type d'accepteur d'électron, on distingue :

- Les micro-organismes aérobies qui ont besoin d'oxygène comme accepteur d'électron pour dégrader les substances organiques.
- Les micro-organismes anaérobies ou aérobies facultatifs, qui peuvent dégrader les substances organiques en présence d'oxygène. En l'absence d'oxygène, le métabolisme est anaérobie.

Parmi les microorganismes dégradeurs des HAP, nous citerons les bactéries prédominantes *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Actinobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus* et les principaux fongicides : *Trichoderma*, *Penicillium*, *Asperigillus* (**Colin, 2000**).

Ce chapitre est consacré à la description des dispositifs expérimentaux utilisés pour la décontamination d'un sol pollué par le gasoil et les méthodes utilisées pour déterminer les caractéristiques physico-chimiques et biologiques du sol et les paramètres de suivi de la décontamination.

II.1. Bioréacteurs gaz-solides

Ce sont des colonnes de 5,6 cm de diamètre et de 40 cm de hauteur. Le sol de hauteur et de masse volumique apparente donnée repose sur une couche de billes d'aquarium recouverte d'une toile perméable. Un diffuseur poreux relié à une pompe d'aquarium est disposé au fond de la colonne et est immergé dans la couche de billes d'aquarium (Figure 2).

Afin de maintenir la température constante, les colonnes sont placées dans un bac thermostaté moyennant un thermoplongeur et un thermostat.

Dans le but d'étudier l'influence des microorganismes dans la dégradation du gasoil, nous avons réalisé des systèmes biotiques et abiotiques.

Les essais ont été réalisés dans des microcosmes où 100g de sol à traiter sont placés dans des cristallisoirs recouverts de papier aluminium.

Afin de maintenir une humidité suffisante pour les microorganismes et assurer les différents transferts, un ajout d'eau se fait quotidiennement.

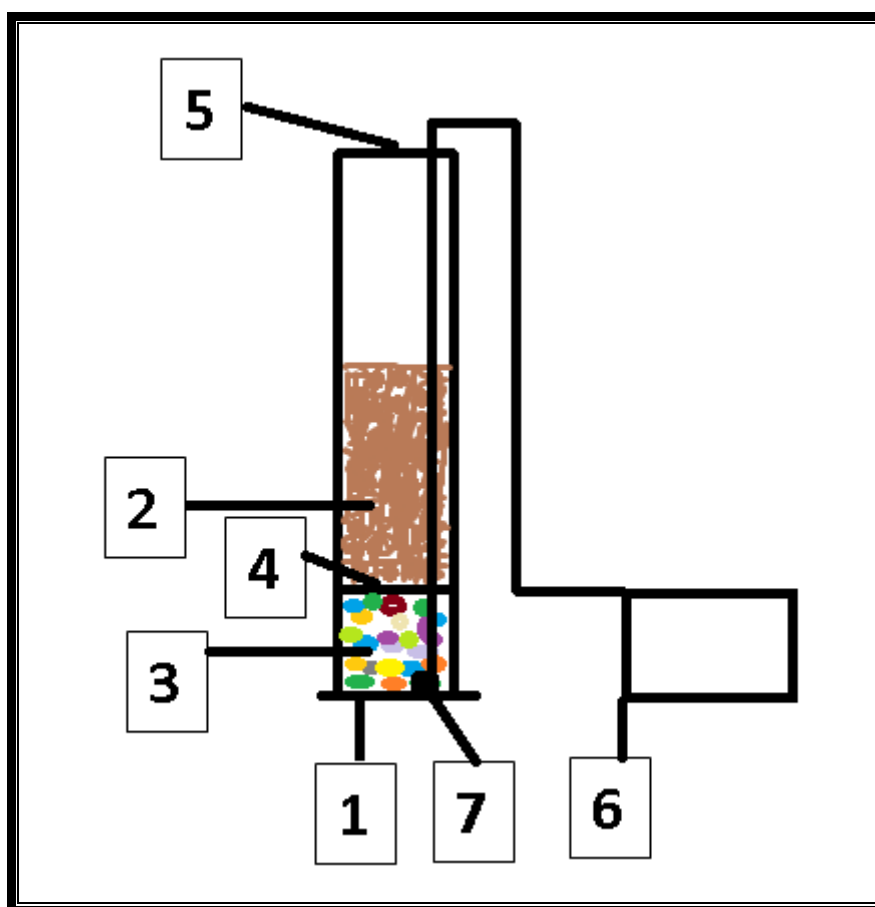


Figure II.1 : Dispositif expérimental

1 : Colonne en verre ; 2 : Sol pollué à traiter ; 3 : Billes d'aquarium ; 4 : Toile perméable, 5 : Papier sylofane ; 6 : Pompe à air ; 7 : Diffuseur d'air.

II.2. Caractéristiques physico-chimiques des sols

II.2.1. Granulométrie

Le diamètre moyen des particules est déterminé par la méthode de tamisage. L'opération de tamisage consiste à placer un échantillon représentatif de particules solides dans un appareil de tamisage comportant plusieurs tamis de diamètres déterminés disposés dans le sens des diamètres décroissant de bas en haut.

Différents diamètres moyens peuvent être alors déterminés :

- Diamètre arithmétique :
$$d_A = \frac{\sum m_i d_i}{\sum m_i}$$
- Diamètre harmonique (diamètre de Sauter) :
$$d_H = \frac{\sum m_i d_i^3}{\sum \frac{m_i}{d_i}}$$

m_i étant la masse du solide recueilli dans le tamis i (en gramme), et d_i le diamètre moyen des deux tamis consécutifs de diamètre $dT(i)$ et $dT(i-1)$ (en μm), avec :

$$d_i = \frac{dT(i-1) + dT(i)}{2}$$

II.2.2. Masse volumique et Porosité

Pour le calcul de la porosité on a suivi la méthode du pycnomètre qui consiste à combler les interstices du sol par de l'eau.

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

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

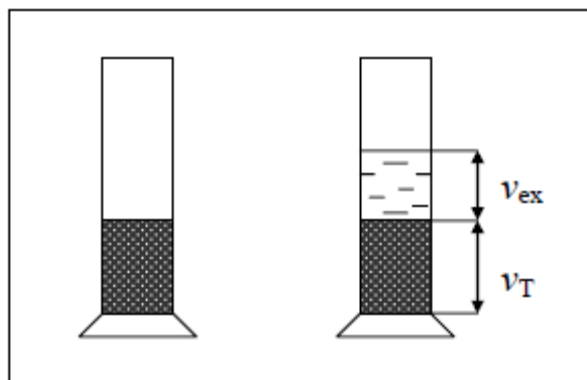


Figure II.2 : Détermination de la masse volumique et de la porosité

$$m_T = m_s + m_p + m_{ex}$$

Et le volume total du solide immergé est : $V_T = V_s + V_p$

$$\rho_s = m_s/V_s \quad ; \quad V_p = m_p/\rho_{eau}$$

$$\rho_s = m_s/(V_T - V_p) \quad ; \quad V_p = (m_T - m_s - m_{ex})/\rho_{eau}$$

$$\varepsilon = \frac{V_p}{V_T} \quad \text{Avec :}$$

m_T : masse totale (g) ;

m_s : masse du solide (g) ;

m_{ex} : masse d'eau en excès (g);

m_p : masse de l'eau dans les pores (g) ;

V_p : volume d'eau emprisonné dans les pores (cm³);

V_s : volume du solide (cm³);

V_T : volume apparent du solide (cm³);

ε : porosité du sol.

II.2.3. Perméabilité

Cet essai a été réalisé au sein du LCTP (Laboratoire Central des Travaux Publics) d'Hussein Dey à Alger. Selon la loi de Darcy, un échantillon est placé dans un moule cylindrique de section "S" et de hauteur "L", qui est en contact d'une part d'un tube gradué de section "s", et qui sert à alimenter l'échantillon par l'eau, et d'autre part d'un tube de collecte de l'eau dégagée du moule. L'échantillon est saturé au préalable par l'eau. L'eau dans le tube circule dans l'échantillon et on mesure le temps "t" nécessaire pour une baisse du niveau d'eau dans le tube de "h", qui est d'ailleurs la perte de charge. On remarque que le niveau d'eau baisse avec une vitesse suffisamment lente, ce qui permet de supposer que le régime d'écoulement est permanent et d'appliquer ainsi la loi de Darcy. En mesurant les niveaux d'eau par rapport à celui du tube de sortie, aux instants t_1 et t_2 , soient h_1 et h_2 , on aura la perméabilité β qui est égale à :

$$\beta = \frac{s \times L}{S \times t} \ln \left(\frac{h_1}{h_2} \right)$$

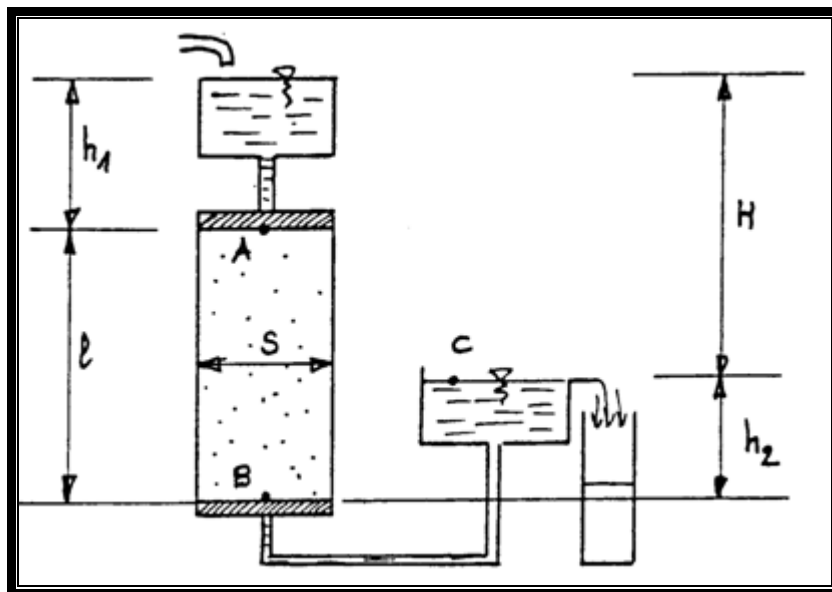


Figure II.3: Schéma de principe d'un perméamètre à charge constante

II.2.4. pH

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

II.2.5. Humidité

Le principe est basé sur le séchage de 5 g d'échantillon du sol pendant une heure (une durée optimum obtenue à partir des essais préliminaires) dans l'étuve à 105°C selon la norme **Afnor (X 31-102, 1981)**.

II.2.6. Matière Organique

L'échantillon de sol d'une masse donnée est introduit dans l'étuve pendant une heure à la température de 105°C puis dans un four à 550°C pendant vingt minutes (**Nfx31071**). La matière organique est déterminée comme suit :

$$\text{MO}(\%) = (m_1 - m_2) / m_0$$

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

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

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

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

II.2.7. Détermination de l'azote ammoniacal (NH_4^+)

Mesure spectrométrique à environ 655nm du composé bleu formé par réaction de l'ammonium avec les ions salicylate et hypochlorite en présence de nitroprussiate de sodium (**ISO N°7150**).

II.2.8. Dosage des nitrites (NO_2^-)

Les nitrites réagissent avec le Sulfanilamide pour former un composé diazoïque qui, après copulation avec le N1 Naphtyléthylènediamine dichlorure donne naissance à une coloration rose mesurée à 543nm (**ISO 5667**).

II.2.9. Dosage des nitrates (NO_3^-): Méthode au salicylate de sodium :

En présence de salicylate de sodium, les nitrates donnent du paranitrosoulate de sodium coloré en jaune et susceptible d'un dosage colorimétrique (**T90-012**).

II.2.10. Détermination des phosphates (PO_4^{3-})

Formation en milieu acide d'un complexe avec le molybdate d'ammonium et le tartrate double d'antimoine et de potassium. Réduction par l'acide ascorbique en un complexe coloré en bleu qui présente deux valeurs maximales d'absorption l'une vers 700nm, l'autre plus importante à 880 nm (ISO N° 6878).

II.2.11. Carbone organique

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

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

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

où :

y : quantité en ml de sel de mohr ayant servi à réduire tout le volume de bichromate de potassium du témoin ;

x : quantité en ml de sel de mohr ayant servi à réduire l'excès de bichromate de potassium de l'essai ;

(y - x) : quantité en ml de sel de mohr ayant servi à réduire le volume du bichromate de potassium qui a servi à oxyder le carbone organique ;

P : prise d'essai en g.

II.2.12. Argile et limons

La distribution granulométrique du sol a été faite par la méthode de tamisage qui reste très utilisée (NF P 94-056) pour déterminer le diamètre des particules ainsi que la teneur en argile, en limons et en sables.

II.2.13. Biomasse

La détermination de la biomasse a été réalisée par la méthode de dénombrement et celle de gravimétrie.

a. Dénombrement

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

- Préparer des tubes à essais contenant chacun neuf millilitres d'eau physiologique stérile ;
- Préparer la solution mère en mélangeant un gramme de sol sec avec dix millilitres d'eau physiologique stérile ;
- Agiter la solution à l'aide d'un vortex ;
- Préparer, à partir de cette suspension, une série de dilutions (**Fig II.3**) ;
- Prélever à l'aide d'une micropipette un millilitre de la solution mère et la transférer dans un deuxième tube contenant neuf millilitres d'eau physiologique, pour obtenir une dilution de 10^{-1} ;
- Prélever ensuite un millilitre de ce deuxième tube pour être transféré dans un troisième tube pour obtenir une dilution de 10^{-2} , et ainsi de suite.
- En milieu stérile, prélever un millilitre de chaque dilution à l'aide d'une Micropipette et verser ensuite dans la gélose nutritive.
- Après une incubation de 48 heures à 37°C, les colonies sont dénombrées manuellement et à l'œil nu. (**Bourgeois, 2003**).

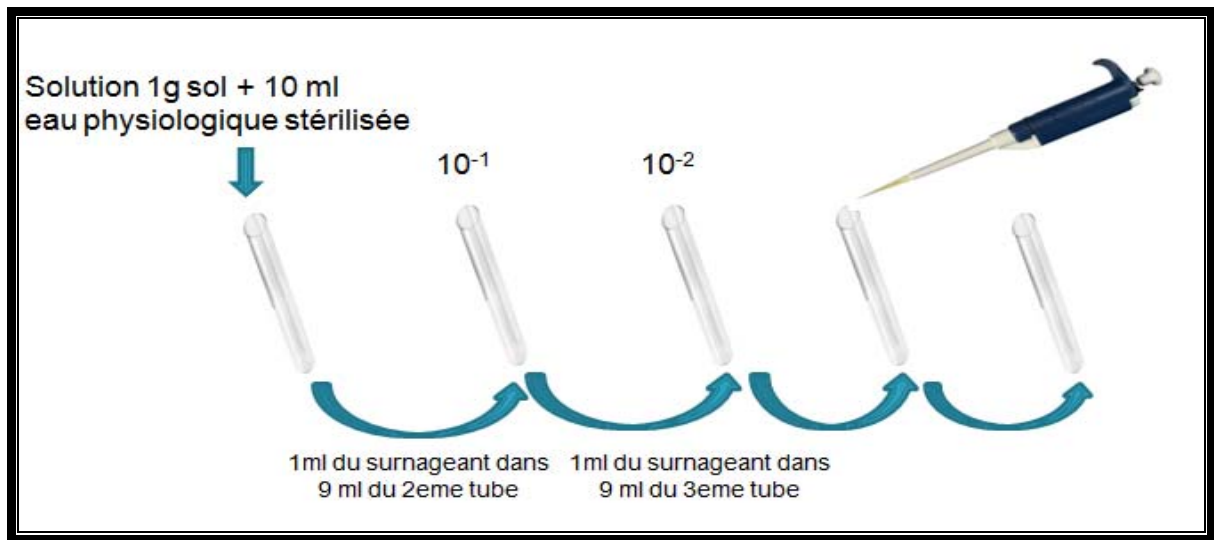


Figure II.4: Dénombrement par ensemencement sur des boîtes pétri

b. Méthode gravimétrique

Cette méthode est utilisée pour déterminer la masse des micro-organismes présents dans le sol. Une quantité de 1g de sol est mise dans 10ml d'eau physiologique, la solution est ensuite agitée pendant 1h à l'aide d'une centrifugeuse, puis laissée à décanter. Un volume de 1ml est prélevé, pesé, puis mis dans l'étuve à 105°C jusqu'à obtention d'un poids constant (Moller, 1995).

II.2.14 : Gasoil

Le gasoil utilisé dans l'étude provient de la station de service à coté de l'Ecole Nationale Polytechnique. La détermination de la concentration en gasoil a été réalisée par gravimétrie et à partir de la détermination de la DCO après extraction des hydrocarbures du gasoil de la matrice du sol.

a. Extraction du gasoil

L'extraction des hydrocarbures du sol est réalisée dans un extracteur (Ultrason de type Bioblock Scientifique 88155) à 35°C, en utilisant le dichlorométhane comme solvant. Le mélange (dichlorométhane, extrait) est filtré au préalable. La détermination des hydrocarbures totaux du sol est réalisée par pesée de l'extrait recueilli après évaporation du solvant en utilisant un rotavapeur.

- Des échantillons de 2g chacun de sol sont mélangés et broyés dans des Erlens avec une quantité suffisante de sulfate de sodium anhydre dans un rapport 3/4 ;

- Ajouter 12 ml de dichlorométhane et mettre les flacons dans un bain d'eau distillée contenue dans la cuve de l'ultrason ;
- Régler l'ultrason de telle manière à obtenir une durée d'extraction de 10 minutes à une température de 35°C;
- Rajouter 6ml de dichlorométhane pour chaque échantillon et remettre à l'ultrason pour une deuxième extraction.

b. DCO

La mesure de la DCO a été effectuée selon la norme du Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec : MA-315 DCO 1.0.

Les solutions étalons et les échantillons sont traités de la même façon.

Mode opératoire :

- ✓ Introduire dans un tube à fond plat de DCO 2,5 ml de l'échantillon à analyser.
 - ✓ Ajouter 1,5 ml de dichromate de potassium $K_2Cr_2O_7$ (qui contient 0,4g de $HgSO_4$).
 - ✓ Ajouter lentement et avec précaution 3,5 ml d'acide sulfurique-sulfate d'argent en agitant soigneusement le tube et en refroidissant sous un courant d'eau froide de façon à éviter toute perte de substances organiques volatiles.
 - ✓ Porter à l'ébullition dans un bloc chauffant pendant 2 h.
- Effectuer la lecture de la mesure de la densité optique au spectrophotomètre à $\lambda = 600$ nm.

Ce travail s'inscrit dans le domaine de la bioremédiation des sols contaminés par les huiles ou hydrocarbures dans des biopiles ou in situ par biostimulation.

Nous nous intéressons, dans le cadre de ce travail, à l'influence des nutriments et plus particulièrement au rapport molaire C/N/P sur l'enlèvement et la biodégradation du gasoil dans le sol. Le sol est contaminé à l'échelle laboratoire par du gasoil à 10 g/kg de sol sec.

Après prélèvement, le sol est analysé pour déterminer l'ensemble des caractéristiques physico-chimiques et biologiques.

Les échantillons de sol sont ensuite pollués, amendés et humidifiés avant traitement des échantillons de sol de référence (systèmes abiotiques) sont ensuite stérilisés par du dichlorométhane (HgCl_2) à 2g/kg de sol sec (**Namkoong et al, 2001**).

Des essais préalables de traitement permettront de déterminer les conditions optimales de débit d'aération et de hauteur de sol en adoptant le rapport molaire C/N/P de 100/10/1.

L'étude de l'influence des nutriments porte d'une part sur des essais en microcosmes et d'autre part sur des essais en colonnes.

Les interprétations de ces résultats seront faites en se basant sur les différents facteurs influençant le traitement de sol contaminé par du gasoil (température, pH, humidité, débit d'aération, stérilisation, microorganismes, HTG, DCO).

III.1. Caractérisation des sols :

Les échantillons de sol ont été prélevés au voisinage d'une bouche d'égout au niveau de Oued El Harrach et au niveau de l'ENP à proximité du magasin de produits chimiques.

Les prélèvements ont été effectués selon la norme (**NF X 31-100**) dont le principe consiste à exécuter un certain nombre de prélèvements élémentaires dans une zone présumée homogène et une couche de profondeur donnée.

Le sol a été séché à l'air libre puis tamisé à travers un tamis de 0,8mm de diamètre, seules les particules inférieures à 0,8 mm ont été prises en considération. Il a été ensuite homogénéisé par la méthode des quartiers selon la norme (**NF X 31-412**).

Chapitre III : Résultats et discussion

Les sols étudiés et considérés sont :

- Le sol S1 issu à coté d'une bouche d'égout au bord de Oued EL-Harrach;
- Le sol S2 est un mélange équimassique entre le sol S1 et un sol issu du jardin de l'Ecole Nationale Polytechnique.

Les caractéristiques physico-chimiques des sols S1 et S2 avant contamination par le gasoil sont présentées dans le tableau III.1. La détermination de ces caractéristiques est d'une grande importance puisqu'elle nous renseigne sur le volume du sol à extraire, sur les performances de l'aération et sur le comportement du sol vis-à-vis de l'eau mais également sur l'évolution de la biomasse en fonction des teneurs intrinsèques en nutriments, humidité, acidité,... des sols étudiés.

Tableau III.1 : Caractéristiques physico-chimiques des sols étudiés

Paramètre	S1	S2
d_p (μm)	294	283
% sable (*)	100	48,00
% argiles (*)	0	24,00
% limons (*)	0	28,00
Texture	Sableux	Argilo-sablo-limoneux
ρ (g/cm^3)	2,08	1,94
ε	0,38	0,36
β (cm/h) (*)	15,13	9,18
pH	7,82	8,00
Hu (%)	0,12	1,50
NO_2^- (g/kg) $\times 10^6$	16,9	1,2
NO_3^{2-} (g/kg) $\times 10^5$	3,2	13,46
NH_4^+ (g/kg) $\times 10^6$	5,3	9,6
P (g/kg) $\times 10^6$	17,2	1,87
MO (%)	1,13	1,31
CO (%)	0,738	1,84
X (UFC/g)	3.10^3	3.10^3

(*) : Analyse effectuée au niveau du Laboratoire Centrale des Travaux Publics.

Les résultats de l'analyse granulométrique par tamisage et sédimentométrie mettent en évidence une texture sableuse pour le sol S1 et limoneux-argilo-sableuse pour le sol S2 en référence au triangle de texture (**Annexe A.1.1**). Cette différence dans la texture devrait engendrer une différence dans la perméabilité.

Les résultats de mesures de la perméabilité mettent en évidence une forte perméabilité pour les deux sols S1 et S2 étudiés favorable à l'écoulement de l'eau et de l'air dans les couches de sol. En effet, ces résultats corroborent les résultats de la sédimentométrie dans le cas du sol S1. A l'inverse, dans le cas du sol S2 très fin ; de texture argilo-sablo-limoneuse et qui additionné à de l'eau génère une structure massive compacte ; il n'existe pas de relation entre la perméabilité et la texture du sol (**ftp.fao.org**) (**annexe A.1.2**).

Nous remarquons que, le taux d'humidité est très faible pour les deux sols (inférieur à 2%) et peut constituer par conséquent un facteur limitant de la croissance microbienne et les vitesses de biodégradation (**Choi, 2002**).

Le pH des deux sols est légèrement alcalin et appartient à l'intervalle optimal $5 < \text{pH} < 9$, il est donc favorable pour la croissance des bactéries autochtones dégradantes des hydrocarbures (**Gray, 2000**).

Les teneurs intrinsèques des sols en nutriments indispensables à l'activité et au développement des micro-organismes sont très faibles. En effet, les rapports molaires C/N/P sont de 1110108/2/1 pour le S1 et 25843007/10/1 pour le sol S2 mettent en évidence un déficit en azote et en phosphore. Par ailleurs, le rapport molaire C/N/P serait de l'ordre de 2408243/2/1 pour le sol S1 et de 37354892/10/1 pour le sol S2 dans le cas d'une pollution par le gasoil à 1%, comparé aux rapports optimum donnés par la littérature de 100/10/1 (**Bouchez, 1995, Brinkmann, 1996, Ghazali, 2004**) et de Redfield 106/16/1 (**Choi, 2002**), Aussi, l'ajout de l'azote et du phosphore (**Leclerc, 1977**) est indispensable pour permettre la biodégradation des polluants (**Gray, 2000, Arrar, 2007**).

L'analyse biologique des deux sols montre que la présence de bactérie par gramme de sol est très faible (3.10^3 UFC/g). L'absence ou le nombre de microorganismes relativement faible ; en particulier dans le cas du sol S1 prélevé au voisinage d'une bouche d'égout ; pourrait être attribué aux mauvaises conditions de conservation et au faible taux d'humidité.

Beaucoup de chercheurs (**King, 1996, Battelle, 1996.**) considèrent que l'activité bactérienne ne peut se développer qu'avec un minimum de 10^6 UFC/g de sol dans le cas d'un traitement biologique.

III.2. Traitement biologique du sol

Le sol a été pollué par du gasoil au niveau du laboratoire de l'ENP à raison de 10g de gasoil/kg de sol sec (systèmes biotiques et abiotiques). Dans les systèmes abiotiques, le sol est stérilisé avec un biocide ($HgCl_2$ à raison de 2g/kg sol sec) (**Fonitich, 1999**). L'ajout de nutriments sous forme de KH_2PO_4 et NH_4Cl est effectué selon un rapport C/N/P donné optimal à l'activité et la croissance microbienne et l'ajout d'eau afin de maintenir une teneur en humidité suffisante pour assurer les différents transferts.

Pour les différents systèmes, le sol est agité manuellement à température ambiante pendant sept jours pour favoriser l'adaptation des microorganismes.

Après sept (7) jours d'incubation, le traitement biologique est entamé pour suivre l'efficacité du traitement biologique. Les prélèvements d'échantillons de sol sont effectués dans les différents réacteurs tous les cinq jours pour mesurer la biomasse, les hydrocarbures totaux du gasoil (TGH).

Le suivi de la teneur en eau est réalisé quotidiennement afin de maintenir le taux d'humidité constant (10-15%) par aspersion d'eau du robinet dans le cas des systèmes biotiques, et d'une solution de 1g/L de $HgCl_2$ (**Namkoong et al., 2001**) pour les systèmes abiotiques.

III.2.1. Influence du débit d'aération et de la hauteur du sol

Les essais portent sur des colonnes de sol (S1 et S2) de différentes hauteurs polluées par du gasoil à 1% et amendées en azote et en phosphore suivant un rapport molaire C/N/P = 100/10/1 et une teneur en humidité de 10÷15%.

Le tableau suivant présente les systèmes utilisés pour l'optimisation des conditions de traitement (hauteur et débit), dans le cas des deux sols à un seul rapport C/N/P = 100/10/1.

Tableau III.2 : Les différents systèmes utilisés pour le même rapport C/N/P pour les deux sols.

Systèmes	Biotiques (S1, S2)				Abiotiques (S1, S2)			
	H Qbio	H Qbio	2H 2Qbio	3H 2Qbio	H Qabio	2H Qabio	2H 2Qabio	3H 2Q
Dénomination	H Qbio	H Qbio	2H 2Qbio	3H 2Qbio	H Qabio	2H Qabio	2H 2Qabio	3H 2Q
Hauteur (cm)	8	16	16	24	8	16	16	24
Masse (g)	205	410	410	615	205	410	410	615
Débit (cm ³ /s)	8,04	16,10	16,72	16,03	8,04	16,10	16,72	16,03

III.2.1.1. Croissance microbienne

a. Méthode de dénombrement

La figure III.1 représente les courbes de croissance bactérienne au cours du traitement pour les différents systèmes biotiques pour les deux sols étudiés S1 et S2.

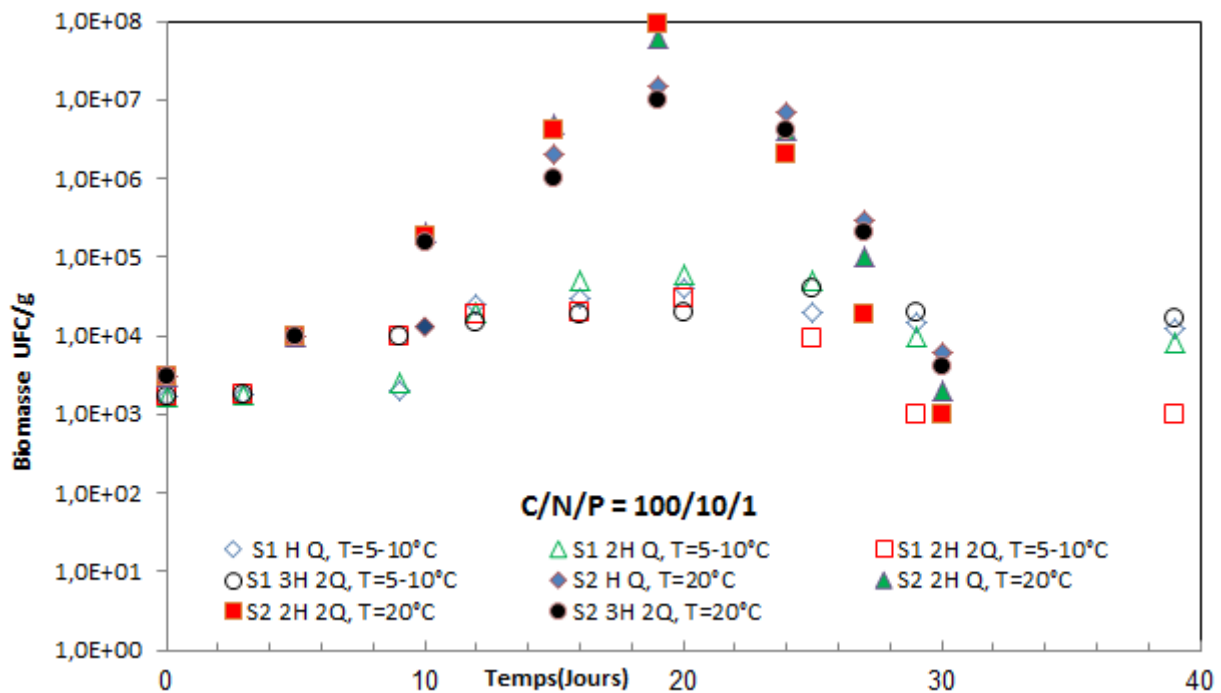


Figure III.1 : Evolution de la biomasse pour les différents systèmes étudiés - cas des sols S1 et S2

Au début du traitement (t = 0 à t = 7 jours), on observe une faible augmentation de la biomasse de $1,7 \times 10^3$ à 10^4 dans le cas du sol S₁ et de 3×10^3 à 10^4 UFC/g dans le cas du sol S₂.

Cela pourrait être attribué à la toxicité du polluant (gasoil) et correspondre à la phase d'adaptation des microorganismes mais également aux conditions de température ($5\pm 10^{\circ}\text{C}$) défavorables à la croissance bactérienne en particulier dans le cas du sol S1.

Il ressort des résultats de mesure de la biomasse, une phase de latence, une phase exponentielle suivie d'une phase de déclin dans le cas du sol S2 pour les différents systèmes. Après une phase d'adaptation des bactéries de sept jours, le nombre de microorganismes augmente de façon linéaire de 10^4 UFC/g à 10^8 UFC/g, la croissance bactérienne est plus importante dans le cas des systèmes 2Q 2H et 2H Q que dans les systèmes H Q et 3H 2Q dans le cas du sol S2.

Coulon et al. (2005), **Sarkar et al. (2005)** et **Arrar (2007)** n'observent pas de phase de latence dans le cas de la bioremédiation d'un sol pollué par du gasoil. **Ghazali et al. (2004)** trouvent que l'amendement du sol génère un accroissement de la flore microbienne qui passe de 3×10^7 à 10^8 UFC/g après quatre semaines de traitement. Dans le cas de la bioremédiation d'un sol contaminé par du gasoil (1,4%), **(Ghazali et al. (2004))** mettent en évidence une augmentation du nombre des micro-organismes indigènes de 99,5% après 60 jours d'inoculation. **Sarkar et al. (2005)** enregistrent un accroissement de la biomasse après une semaine de traitement de 57% en l'absence de fertilisant et de $124\pm 140\%$ avec l'ajout de fertilisant ($1,2 \times 10^9$ UFC/g).

Après 20 jours de traitement, la croissance bactérienne diminue, ce qui s'explique par l'épuisement des nutriments dans le sol ainsi que la fraction de substrat facilement biodégradable.

Dans le cas du sol S1, les résultats de mesure de la biomasse mettent en évidence une faible croissance bactérienne qui pourrait correspondre à une phase d'adaptation des microorganismes aux conditions de température. Pour l'ensemble des systèmes, la biomasse n'a pas atteint 10^5 UFC/g et de fait, seuls les phénomènes physico-chimiques (évaporation, photo-oxydation, et transport seront responsables de l'enlèvement du gasoil.

Pour un même débit d'aération, la croissance microbienne est plus importante lorsque la hauteur du sol augmente. Au delà de 16 cm, la croissance microbienne diminue. Pour une même hauteur de sol, c'est le débit d'aération le plus fort qui génère l'accroissement optimal de la biomasse (système 2H 2Q).

b. Méthode gravimétrique

Dans le cadre de l'étude de la croissance bactérienne, nous avons également suivi l'évolution de la matière sèche en fonction du temps pour les différents systèmes étudiés. La figure III.2 représente l'évolution temporelle de la matière sèche.

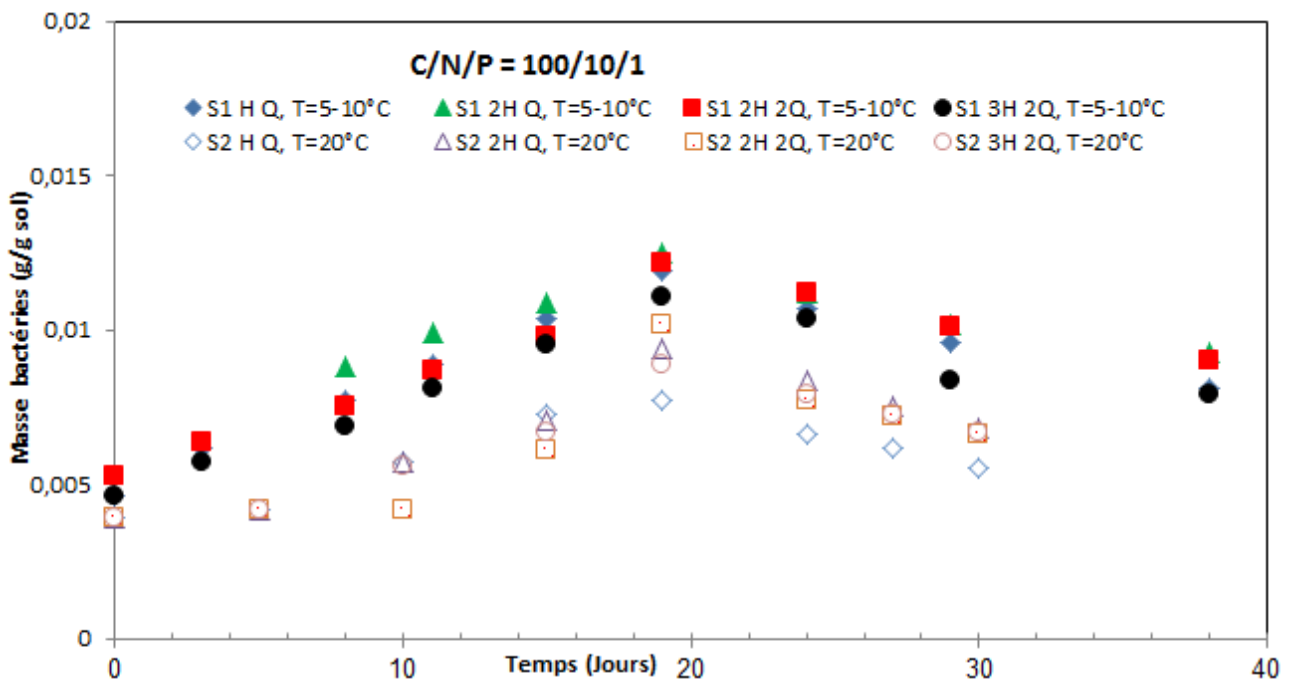


Figure III.2 : Evolution de la matière sèche des différents systèmes étudiés - cas des sols S₁ et S₂

L'évolution de la matière sèche suit la même allure pour l'ensemble des systèmes indépendamment de la nature des sols (S₁, S₂). Elle augmente graduellement pour ensuite diminuer à partir du dix-neuvième jour. L'optimum de la matière sèche enregistré au dix-neuvième jour correspond à la biomasse la plus élevée déterminée par la méthode de dilution et dénombrement.

Toutefois, les résultats de la matière sèche ne corroborent pas ceux obtenus par la méthode du dénombrement durant tout le traitement. Les résultats de mesure de la matière sèche mettent en évidence une biomasse dans le sol S₂ inférieure à celle dans le sol S₁.

III.2.1.2. Dégradation du gasoil

L'étude de l'efficacité du traitement biologique du sol contaminé par du gasoil dans les réacteurs en phase solide biotiques et abiotiques pour les différents systèmes et les deux sols étudiés est réalisé à partir du suivi de la teneur résiduelle en gasoil après extraction de la matrice du sol par les méthodes gravimétrique (HTG) et oxydation chimique (DCO).

Les taux d'enlèvement et de biodégradation du gasoil sont déterminés à partir des équations suivantes :

$$\text{Taux d'enlèvement du gasoil} = ([\text{gasoil}]_0 - [\text{gasoil}]_{\text{bio}}) / [\text{gasoil}]_0$$

$$\text{Taux de biodégradation} = ([\text{gasoil}]_{\text{abio}} - [\text{gasoil}]_{\text{bio}}) / [\text{gasoil}]_0$$

Avec :

$[\text{gasoil}]_0$: la concentration initiale du gasoil (g/kg sol);

$[\text{gasoil}]_{\text{bio}}$: la concentration du gasoil à l'instant t pour le système biotique (g/kg sol);

$[\text{gasoil}]_{\text{abio}}$: la concentration du gasoil à l'instant t pour le système abiotique (g/kg sol).

- **Enlèvement des hydrocarbures totaux du gasoil**

Il ressort de la mesure des hydrocarbures totaux du gasoil (HTG) (**Fig III.3 et III.4**), une faible réduction de la teneur en HTG pour les différents systèmes étudiés. La dégradation du gasoil est due aux phénomènes abiotiques tels l'évaporation, le transport des polluants, à la photo oxydation... et aux phénomènes biotiques : la biodégradation des polluants par les microorganismes autochtones.

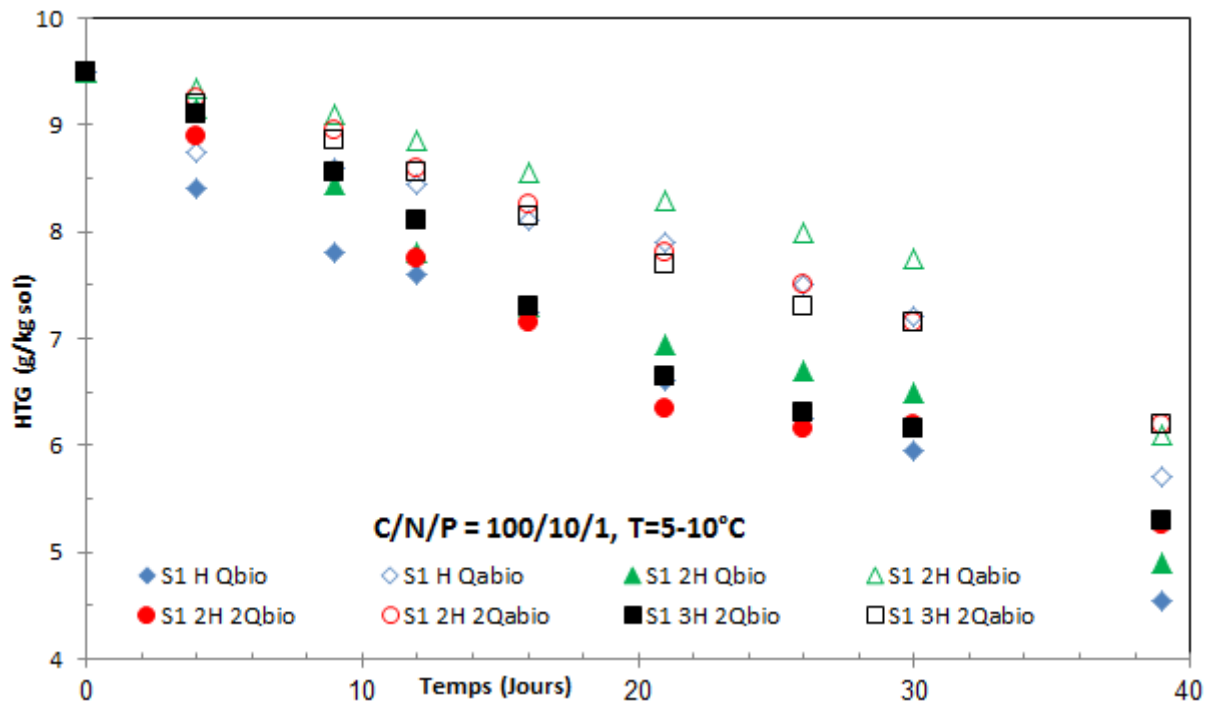


Figure III.3 : Evolution de la concentration de gasoil (HTG) dans les différents systèmes - cas du sol S1

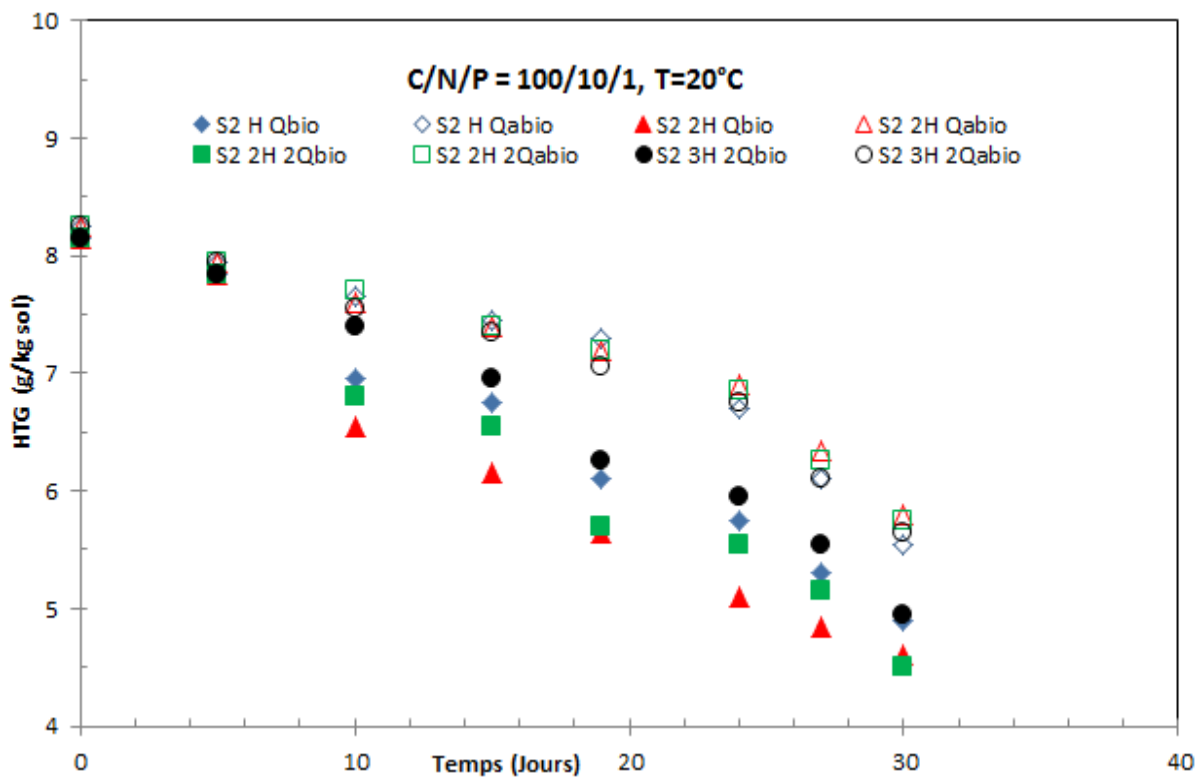


Figure III.4 : Evolution de la concentration de gasoil (HTG) dans les différents systèmes - cas du sol S2

Dans le cas du sol S1, cette réduction semble plus importante au-delà du trentième jour pour les systèmes 2H Q et H Q. L'enlèvement du gasoil dans le sol S1 est dû essentiellement aux phénomènes abiotiques d'évaporation, de transport et de photo oxydation vu l'évolution de la biomasse régie par les conditions défavorables de température.

Le taux d'enlèvement du gasoil dans le sol S1 (Figure III.5 III.7) augmente de façon exponentielle jusqu'au vingtième jour pour se stabiliser ensuite et augmenter à nouveau à partir du trentième jour. Les taux d'enlèvement du gasoil obtenus à la fin du traitement pour les systèmes S1 H Q, S1 2H Q, S1 2H 2Q et S1 3H 2Q égalent respectivement 52,1%, 48,4%, 44,8% et 44,2% dans le cas des HTG et 52,3%, 45,3%, 45,3% et 43,8% dans le cas de la DCO. Les taux d'enlèvement optimums sont enregistrés dans les systèmes S1 H Q abiotiques et biotiques.

Dans le cas du sol S2, les taux d'enlèvement du gasoil obtenus après 30 jours de traitement pour les systèmes H Q, 2H Q, 2H 2Q et 3H 2Q sont respectivement de 37,6%, 41,4%, 42,7% et 36,9% dans le cas des HTG et égalent respectivement 52,9%, 54,4%, 55,9% et 48,5 dans le cas de la DCO. Les taux d'enlèvement optimums sont enregistrés dans les systèmes 2H Q biotiques. A l'inverse, la hauteur de sol et le débit ne semblent pas affecter le taux d'enlèvement abiotique. Dans tous les cas, les taux d'enlèvement des HTG sensiblement identiques (Figure III.6) ; suivent une évolution linéaire.

Il ressort des résultats de mesure du taux d'enlèvement du gasoil pour les sols S1 et S2 des allures similaires pour les résultats de mesure obtenus à partir de la détermination de la DCO ou des HTG en particulier pour les systèmes biotiques. Toutefois, les taux d'abattement de la DCO sont sur estimés dans le cas du sol S2 limoneux-argilo-sableux avec des écarts allant jusqu'à 30% entre les systèmes biotiques et abiotiques, contrairement à la méthode gravimétrique qui présente des écarts de 10%. Les rendements finaux d'enlèvement de la DCO des systèmes abiotiques dans le cas du sol S1 étaient de 35% contre 20% dans le cas du sol S2, cela s'explique par la nature du sol S1 (sableuse) qui favorise l'entraînement du gasoil ainsi que la flore bactérienne morte qui aurait pu augmenter la DCO résiduelle. L'écart entre les différents rendements d'enlèvement de gasoil HTG et DCO des systèmes abiotiques est du aux imprécisions de mesure de la masse de l'extrait de gasoil issu de 1g de sol.

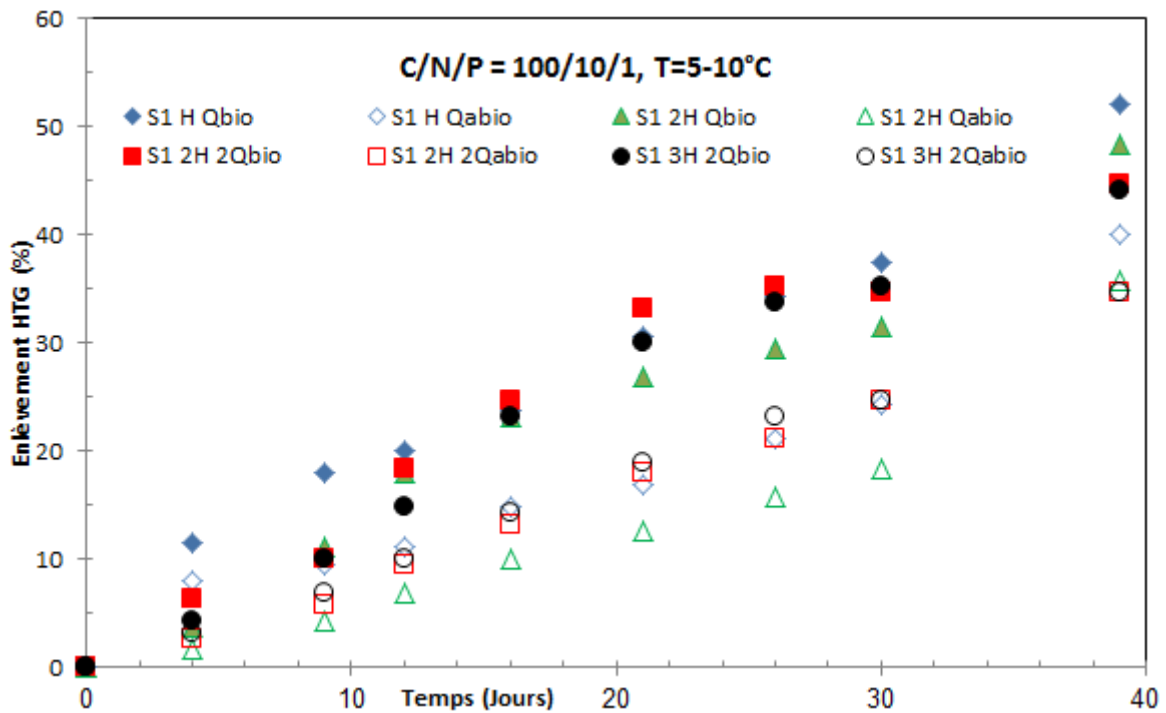


Figure III.5 : Rendement d'enlèvement des HTG du sol S1 pour les différents systèmes

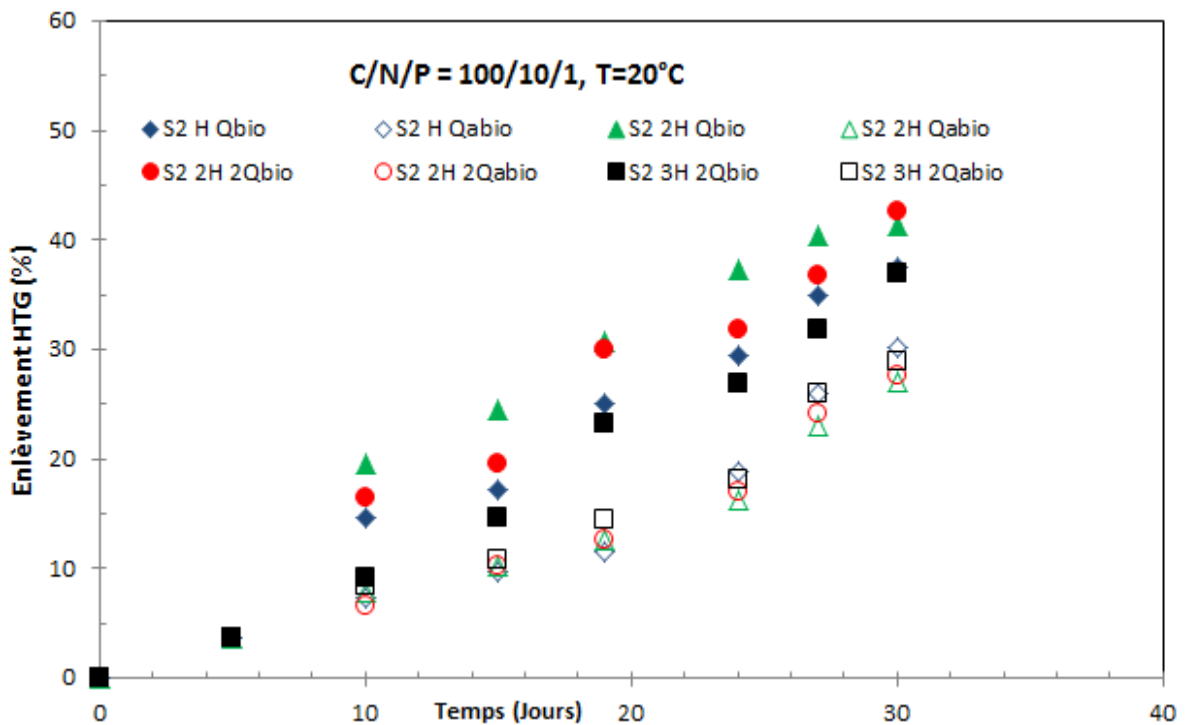


Figure III.6 : Rendement d'enlèvement des HTG du sol S2 pour les différents systèmes

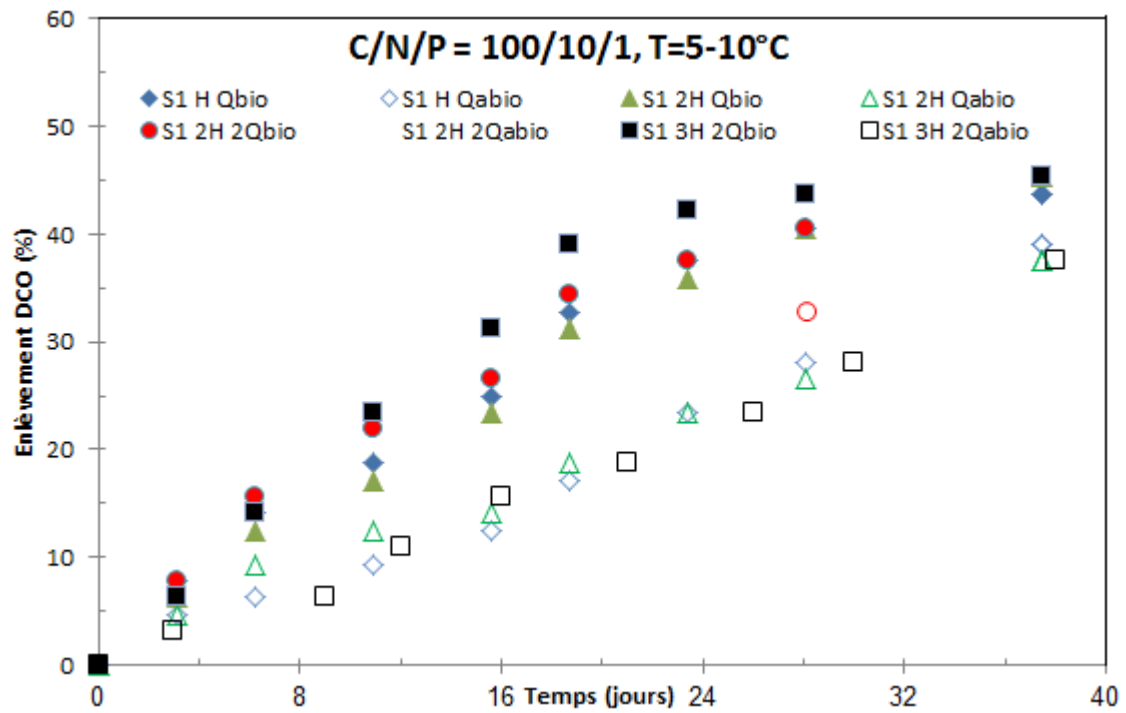


Figure III.7 : Rendement d'enlèvement du gasoil (DCO) du sol S1 des différents systèmes

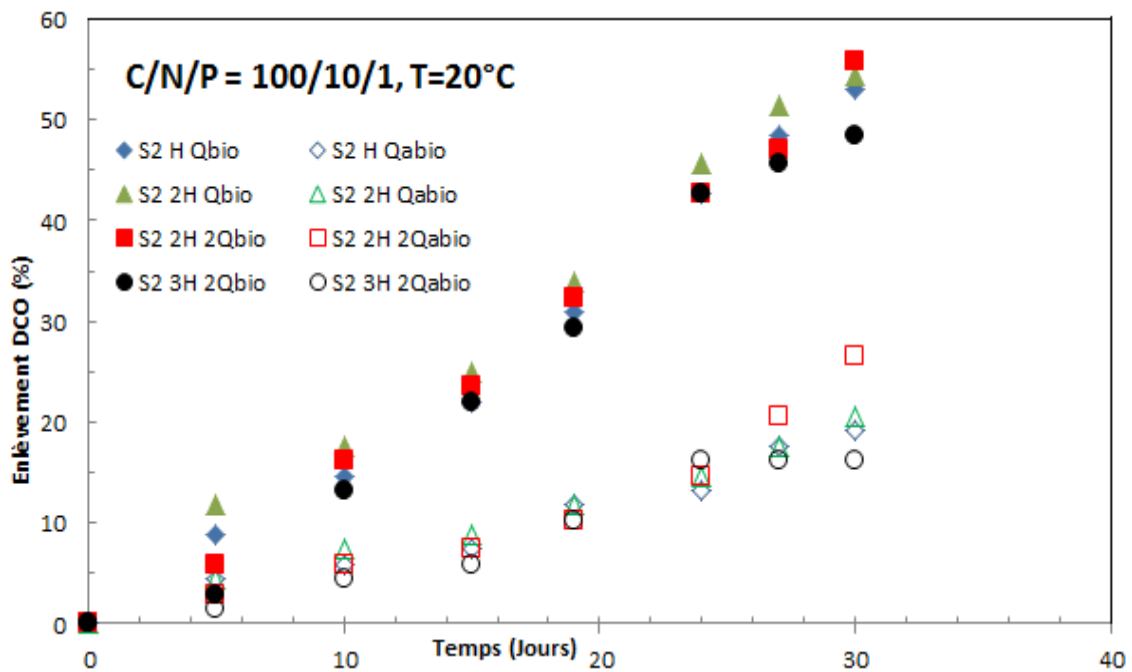


Figure III.8 : Rendement d'enlèvement du gasoil (DCO) du sol S2 des différents systèmes

- **Biodégradation du gasoil**

Dans le cas du sol S1, le taux de biodégradation augmente graduellement et est très faible à la fin du traitement ne dépassant pas 15% et 19% (Figure III.9, Figure III.10) dans le cas respectivement des HTG et de la DCO pour tous les systèmes étudiés avec un optimum pour le système 2H Q.

Dans le cas du sol S2, le taux de biodégradation des HTG augmente en particulier pour les deux systèmes 2H Q et 2H 2Q en accord avec les résultats de la croissance bactérienne. Le rendement de biodégradation des HTG maximal est de 22%. A l'inverse, l'évolution temporelle de la biodégradation du gasoil (DCO) ne coïncide pas avec celle de biodégradation des HTG pour tous les systèmes étudiés. Les rendements de biodégradation du gasoil (DCO) se situent entre 32,8% et 37,1%.

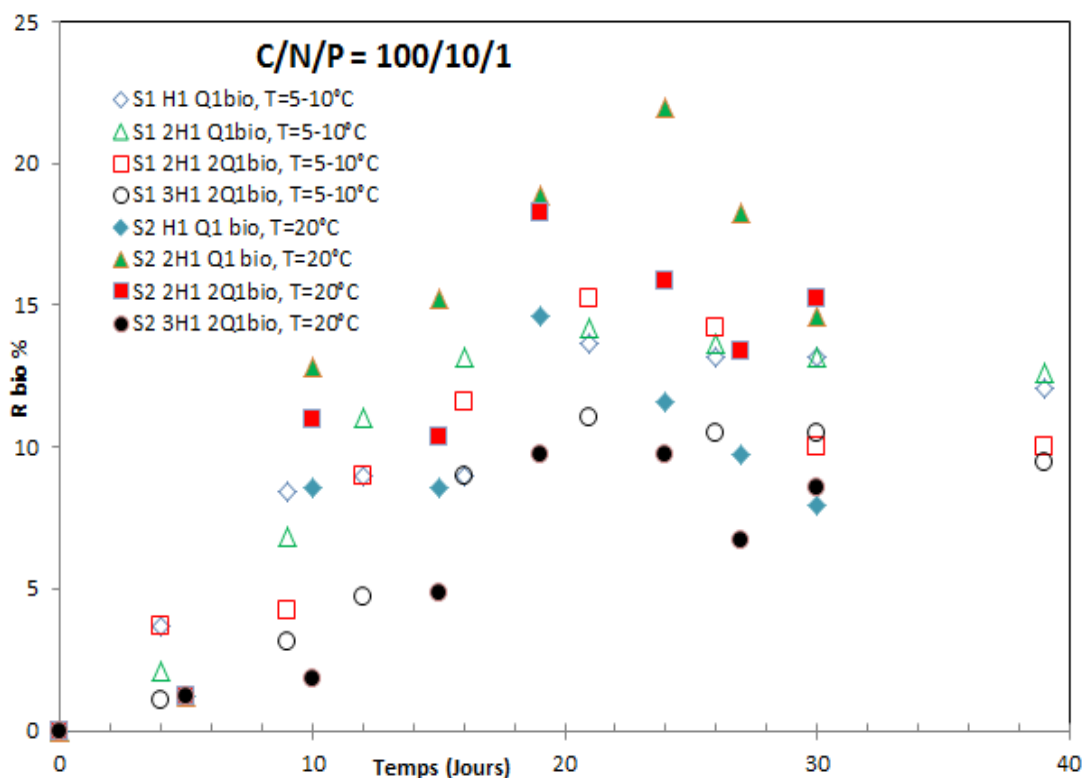


Figure III.9 : Rendement de biodégradation des HTG pour les différents systèmes

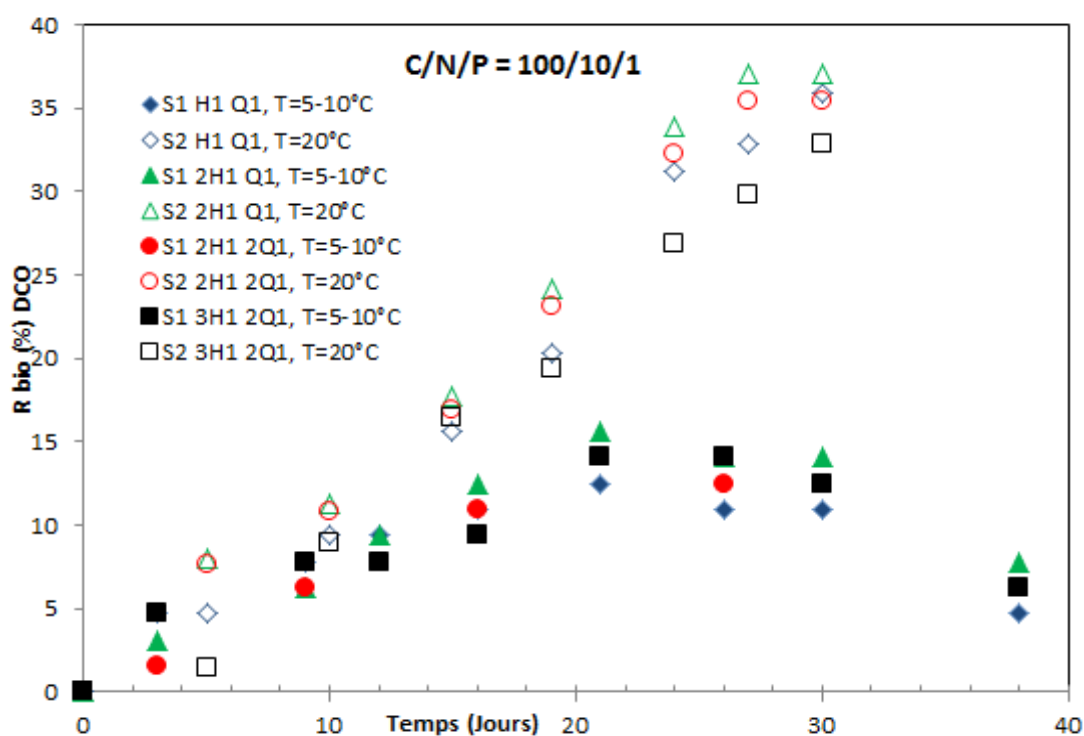


Figure III.10 : Rendement de biodégradation du gasoil (DCO) pour les différents systèmes

III.2.2. Influence du rapport C/N/P

- **Microcosmes**

Dans le but d'étudier l'influence du rapport molaire C/N/P, nous avons suivi l'évolution de la biomasse, le pH ainsi que la concentration en gasoil dans le sol S2 contaminé par du gasoil à 1% à une température et un taux d'humidité maintenus constants et égaux respectivement à 20°C et 15%. Des échantillons de sols (410g) sont après pollution amendés en azote et phosphore suivant différents rapports à l'exception d'un qui servira de témoin. Les rapports utilisés sont : 100/10/1, 100/20/1, 100/5/1 et 60/2/1. L'échantillonnage de sol pour analyse a été effectué tous les cinq (05) jours.

La biomasse dans les microcosmes (Fig III.11) augmente de façon linéaire jusqu'au dix-neuvième jour où elle atteint son optimum, puis diminue. Cette diminution peut être due à l'épuisement des nutriments.

Chapitre III : Résultats et discussion

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

Les résultats de la biomasse dans les différents systèmes étudiés sont cent (100) fois plus grands que ceux dans le cas du sol non amendé. Toutefois, les résultats de mesure de la biomasse mettent en évidence des différences peu significatives pour les différents rapports molaires étudiés, en particulier pour C/N/P égaux à 100/10/1, 100/5/1 et 60/2/1. A la fin du traitement, après 22 jours, la biomasse diminue pour l'ensemble des systèmes et le témoin probablement du fait de l'épuisement des nutriments qui devient un facteur limitant pour la croissance bactérienne.

Le pH dans les microcosmes pour les différents rapports C/N/P augmente au cours du temps. Il demeure toutefois compris entre $7,1 \div 7,4$ et $7,4 \div 7,7$ domaine de pH favorable à la croissance bactérienne.

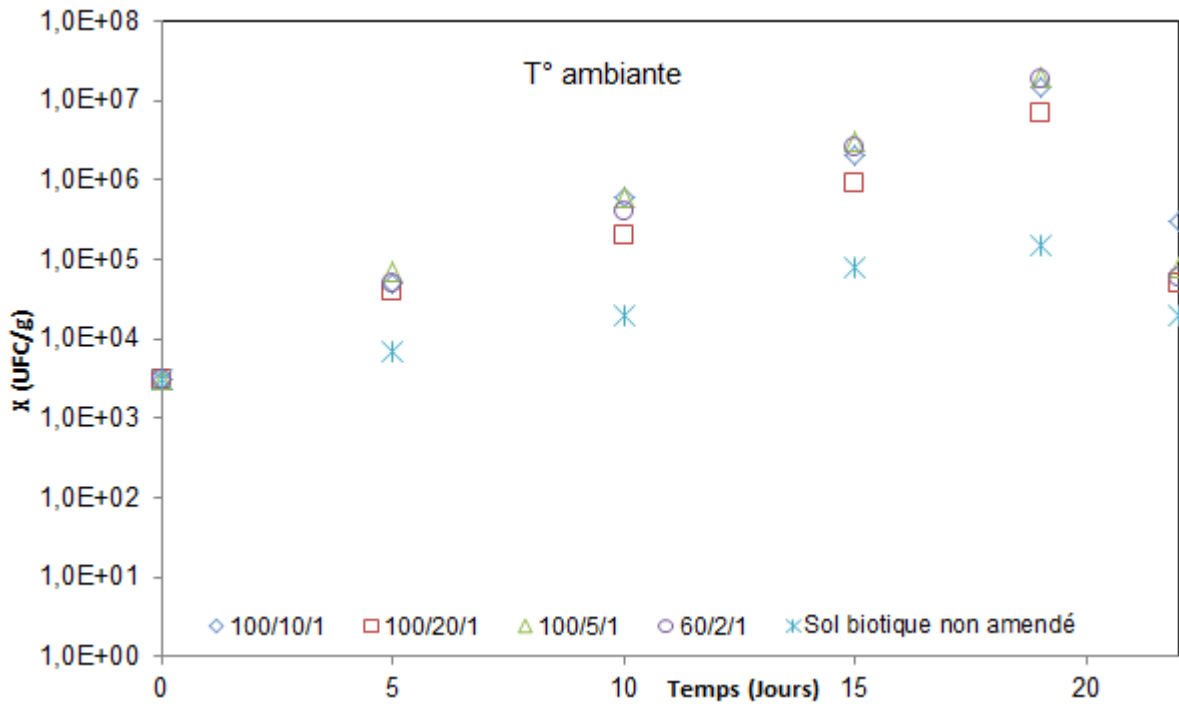


Figure III.11 : Evolution de la biomasse dans le sol S2 dans les différents microcosmes

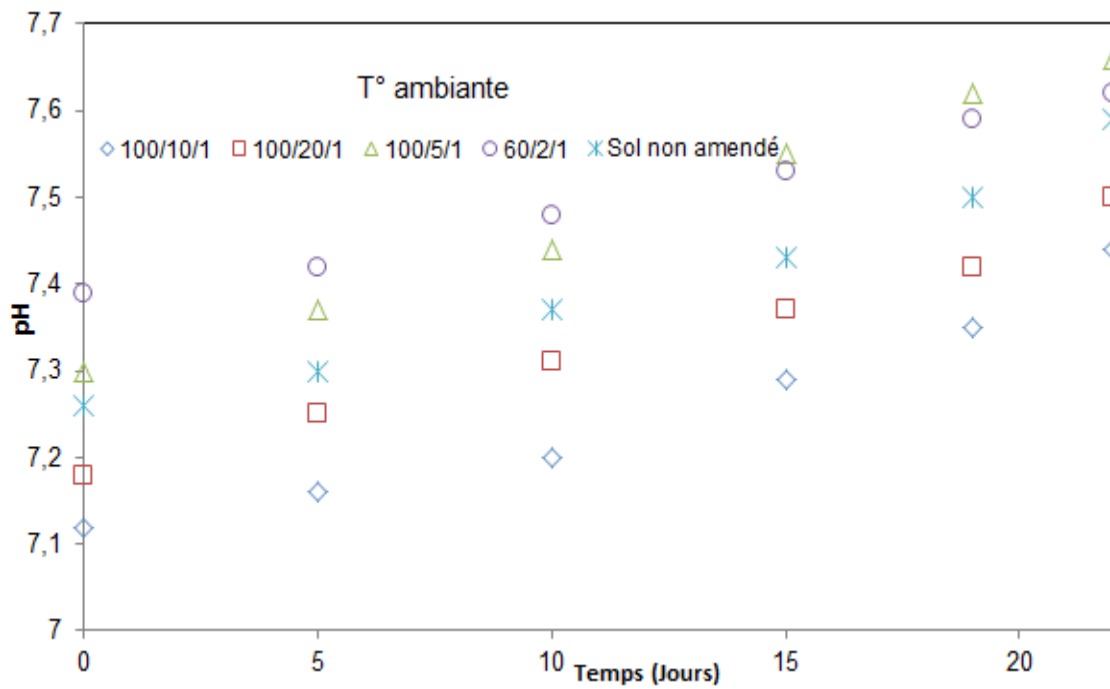


Figure III.12 : Evolution du pH du sol dans les différents microcosmes

• Colonnes de sol

L'étude de l'influence des nutriments dans la biodégradation d'un sol contaminé par du gasoil à 10 g/kg de sol, a été réalisée dans les mêmes réacteurs à lit fixe précédemment utilisés. Dans cette partie, nous avons également utilisé le sol S2 à une température et un taux d'humidité maintenus constants et égaux respectivement à 20°C et 15%.

Les mêmes rapports molaires C/N/P de 100/10/1, 100/20/1, 100/5/1 et 60/2/1 ont été utilisés. Pour chaque rapport nous avons utilisé deux colonnes : une avec un sol biotique et une autre avec du sol stérilisé grâce au biocide HgCl₂ (2g/kg). La détermination de la biomasse et de la concentration du gasoil dans le sol a été effectuée tous les cinq (05) jours.

L'étude préliminaire des conditions de traitement du sol pollué par du gasoil dans des bioréacteurs gaz-solide à lit fixe, nous a amené à choisir une hauteur de sol (H) de 16cm et un débit d'aération (Q) de 16,4 cm³/min. Ce choix tient compte du développement bactérien dans le sol S2.

Les différents rapports C/N/P utilisés dans cette partie de traitement sont donnés dans le tableau III.3 suivant :

Tableau III.3 : Les différents systèmes utilisés pour différents rapports C/N/P.

Système	Biotique				Abiotique				
	C/N/P _{mol}	100/10/1	100/20/1	100/5/1	60/2/1	100/10/1	100/20/1	100/5/1	60/2/1
Hauteur (cm)	16	16	16	16	16	16	16	16	16
M(g)	410	410	410	410	410	410	410	410	410
Débit (cm ³ /s)	16,42	16,10	16,72	16,03	16,42	16,10	16,72	16,03	16,03

III.2.2.1. Croissance bactérienne

- **Méthode de dénombrement**

La biomasse ; par la méthode de dénombrement (Figure III.13) ; enregistre une croissance bactérienne très rapide dès le début du traitement jusqu'au dix-neuvième jour, et une phase de déclin ensuite. Le rapport C/N/P optimal ; favorable au développement de la flore bactérienne autochtone est de 100/5/1 (4×10^7 UFC/g), suivi du 100/10/1 puis du 100/10/1 et enfin 60/2/1, avec quelques points qui font l'exception ce qui peut être du aux erreurs pratiques.

L'évolution de la matière sèche (Méthode gravimétrique) dans les différents systèmes (Figure III.14) diffère de celle de la biomasse déterminée par dénombrement. La matière sèche évolue de façon similaire pour les différents rapports C/N/P excepté celui de 100/5/1 qui enregistre la plus grande masse bactérienne au dix-neuvième jour et se caractérise par deux phases exponentielle et de déclin.

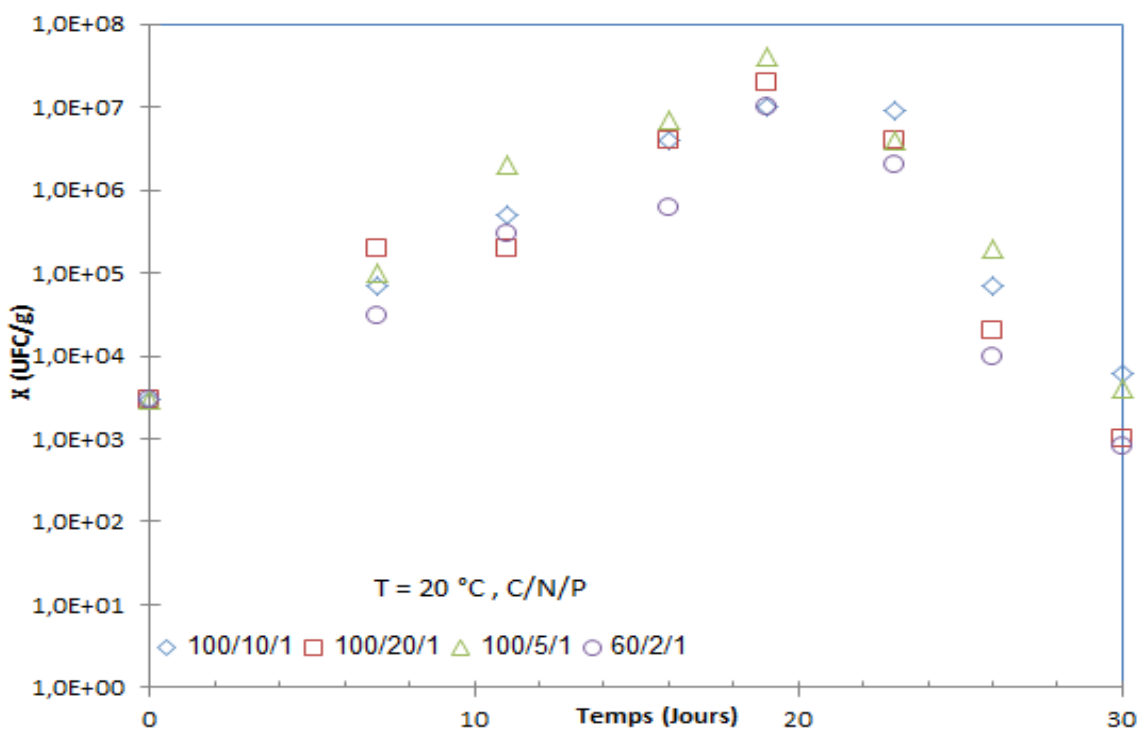


Figure III.13 : Evolution de la biomasse dans les différents systèmes dans le cas du sol S2

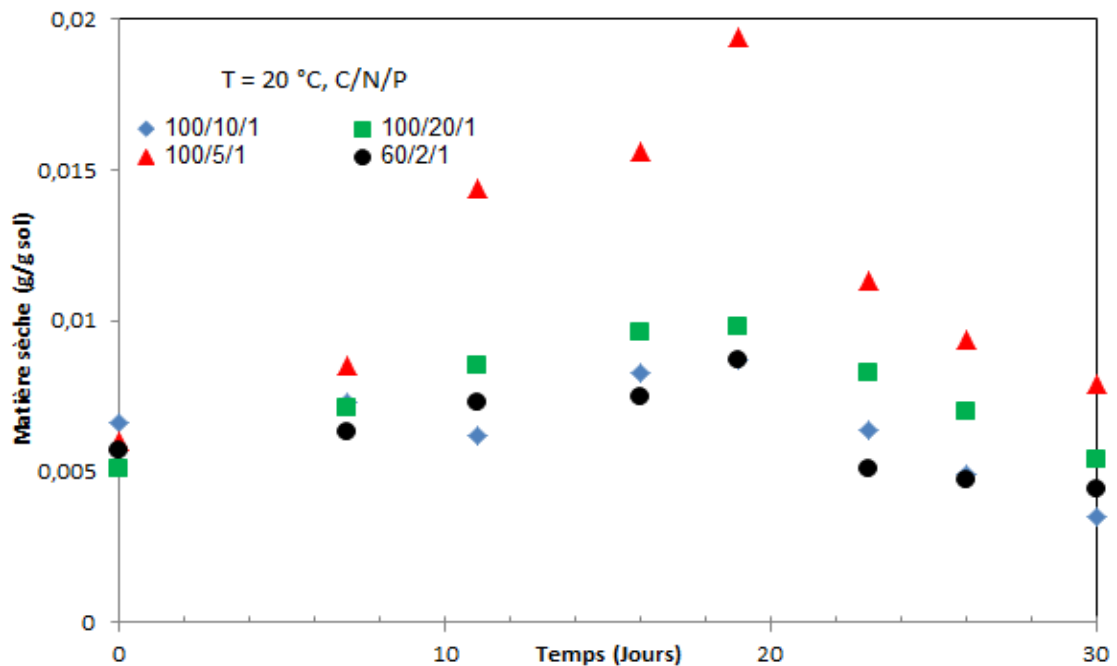


Figure III.14 : Evolution de la matière sèche des différents systèmes étudiés dans le cas du sol S2 à différents rapports C/N/P

III.2.2.2. Enlèvement du gasoil

Il ressort de la figure III.15 une diminution constante les premiers jours pour l'ensemble des systèmes biotiques et abiotiques et les différents rapports C/N/P étudiés les onze (11) premiers jours. Cette diminution des HTG est due principalement aux facteurs physiques ou chimiques (évaporation, transfert et photo oxydation). Au-delà, l'enlèvement des HTG s'accroît et des différences sont observées entre les systèmes biotiques et abiotiques liées à l'activité des microorganismes.

Les plus faibles teneurs en HTG sont enregistrées pour les rapports 60/2/1 (3,9 g/kg de sol) et 100/5/1 (4,0 g/kg de sol). Ce dernier rapport optimal corrobore les résultats de la biomasse.

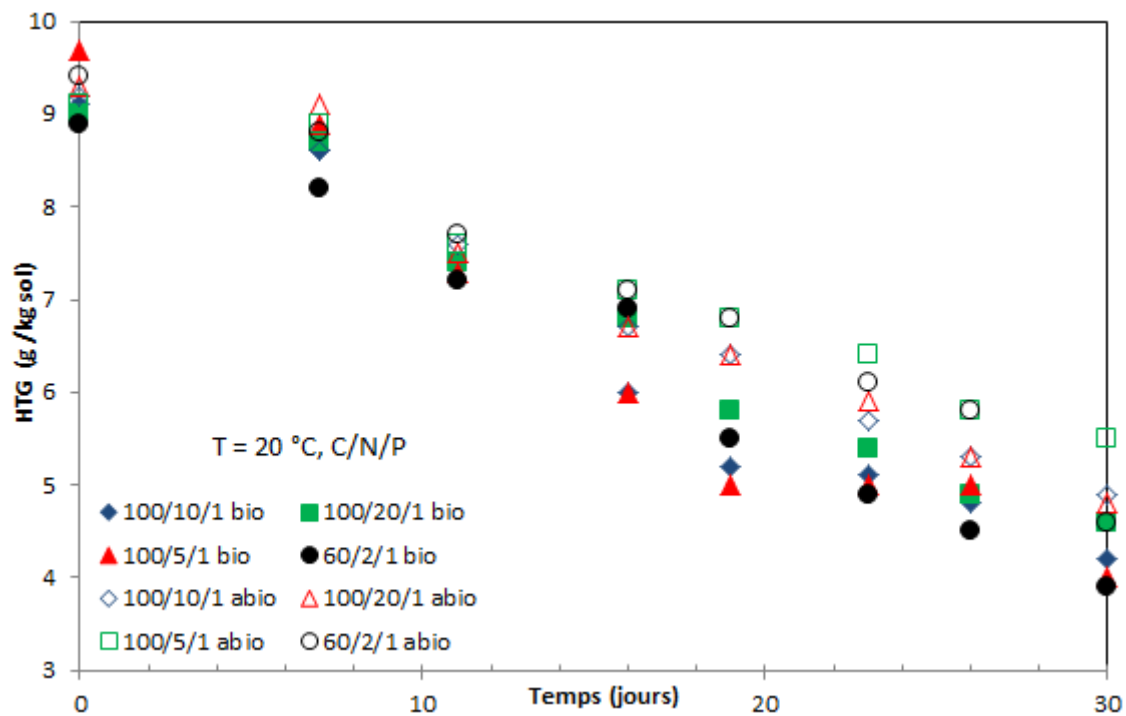


Figure III.15 : Evolution des HTG des systèmes étudiés dans le cas du sol S2 à différents rapports C/N/P

Le taux d'enlèvement du gasoil (**Figure III.16**) augmente de façon linéaire les sept premiers jours puis de façon exponentielle jusqu'à la fin du traitement. Par contre, pour les systèmes abiotiques, le rendement d'enlèvement du gasoil croît de façon linéaire pendant tout le traitement.

Après trente jours de traitement, le rendement d'enlèvement des HTG atteint 61% pour le rapport 60/2/1, 60% pour le rapport 100/5/1 dans les systèmes biotiques contre 58% pour le rapport 100/2/1 et 54% pour le rapport 100/20/1. La partie non dégradée de gasoil peut être due aux composés récalcitrants de haut poids moléculaire et des composés poly-aromatiques présents dans le gasoil.

Les rendements d'enlèvement des HTG dans les systèmes abiotiques se situent entre 45% et 54% pour les mêmes conditions de température, d'aération, de hauteur de sol et de compaction. Ces différences sont dues aux erreurs de précision de mesure de la masse de gasoil après extraction de la matrice du sol et séparation par Rotavapor.

Mohn et al, 2001, ont montré dans le cas d'un sol limoneux-sableux contaminé artificiellement par du gasoil à 2109 (mg/kg) et amendé en azote (NH_4Cl) et en phosphore (Na_2HPO_4) avec un taux d'humidité de 43%, que le taux d'enlèvement de gasoil arrive jusqu'à 90% après trois cent-soixante-cinq (365) jours de traitement.

Molina et al, 2004, trouvent un rendement d'enlèvement de gasoil de 67% pour les systèmes biotiques et 12% pour les systèmes abiotique avec un sol argilo-limoneux-sableux avec une humidité de 20 à 30% dans le cas d'un sol contaminé par du gasoil à 40 (g/kg), en utilisant des bactéries autochtones après cent-neuf (109) jours de traitement pour un rapport C/N de 100/10.

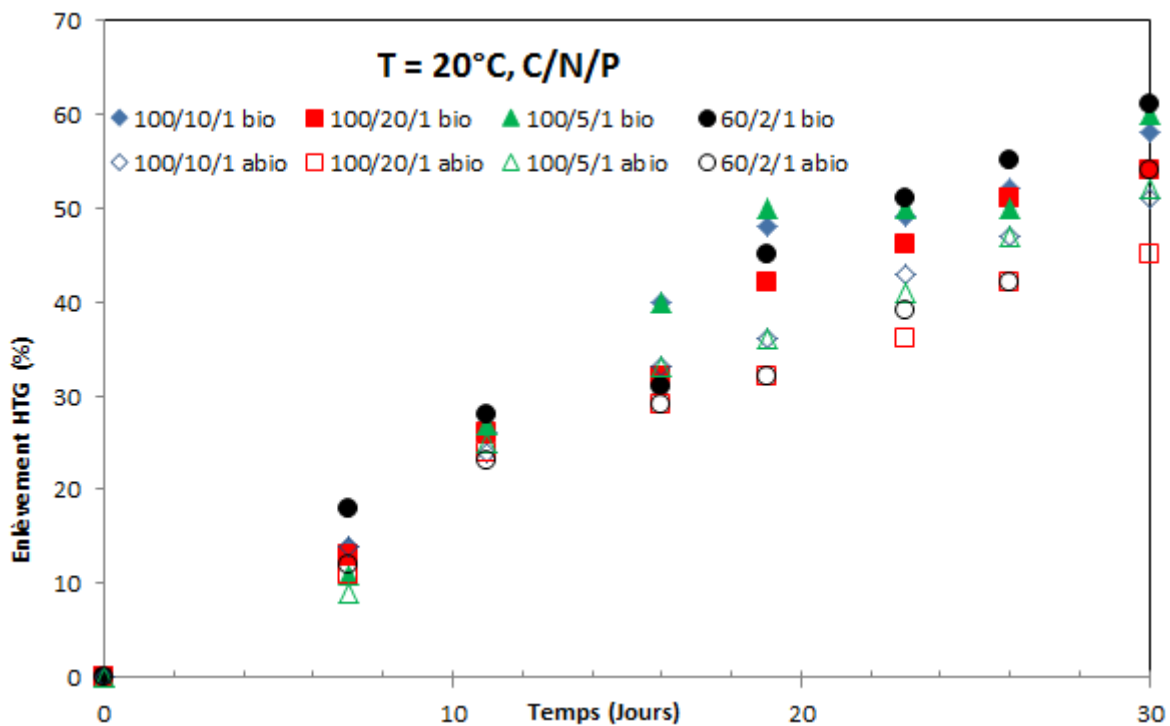


Figure III.16 : Influence des rapports C/N/P sur l'enlèvement des HTG du sol S2

Le taux d'enlèvement de la DCO (Figure III.17) met en évidence ; comme pour les HTG ; une augmentation linéaire les onze premiers jours puis exponentielle pour les systèmes biotiques. Des différences significatives de rendement d'enlèvement de la DCO entre les systèmes biotiques et abiotiques de l'ordre de 29÷33% à la fin du traitement mettent en évidence le phénomène de biodégradation de façon très nette comparé aux résultats des HTG.

La présence d'un palier pour le rendement C/N/P de 100/20/1 alors que pour les différents rapports C/N/P, le taux de dégradation suit une allure croissante. Ces résultats sont confirmés pour le 100/10/1 où on observe une augmentation continue du taux de dégradation alors que pour les autres rapports en particulier le 100/5/1, des différences non significatives du taux de dégradation sont observés à partir du vingt-sixième jour.

Les rendements d'enlèvement de la DCO obtenus à la fin du traitement sont compris entre 56% - 58% pour les différents rapports C/N/P étudiés. Ces différences non significatives ne permettent pas de déterminer le rapport C/N/P optimal.

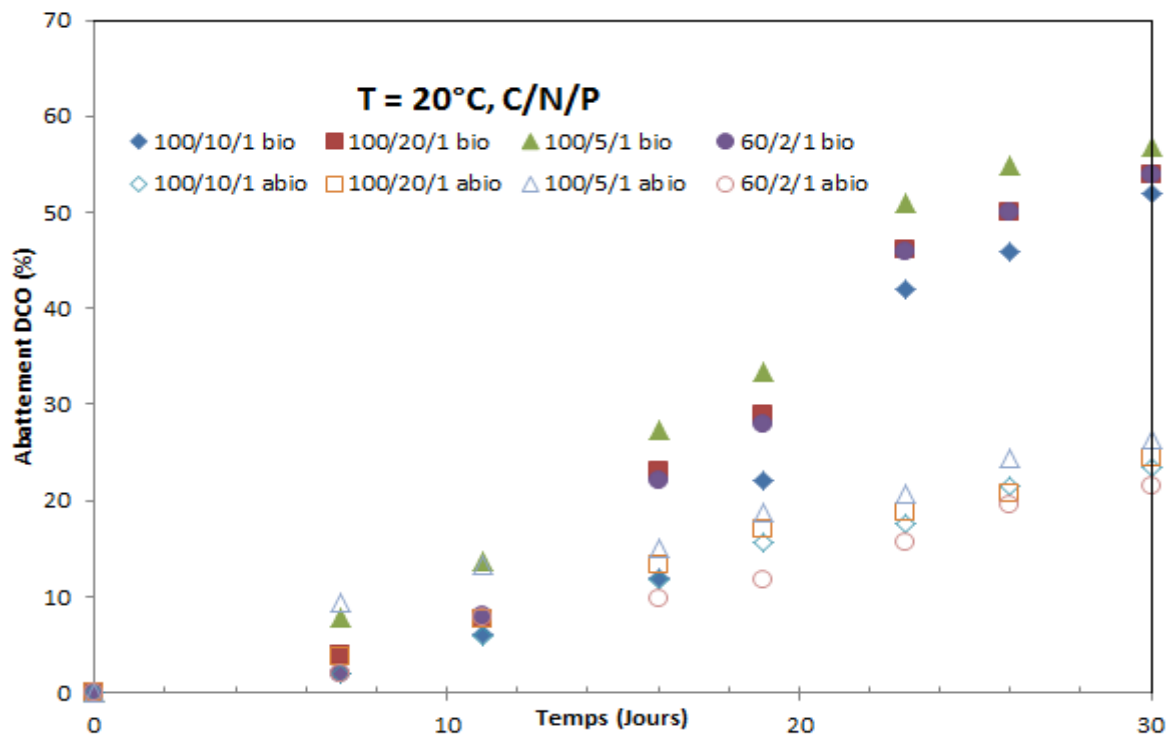


Figure III.17 : Influence des rapports C/N/P sur l'enlèvement du gazoil (DCO) du sol S2

• Biodégradation du gazoil

Les résultats de mesure des HTG dans les différents systèmes biotiques et abiotiques étudiés par gravimétrie montrent que les rendements de biodégradation de gazoil se situent entre 10 et 14%. Le rapport molaire C/N/P de 60/2/1 est le plus favorable à la biodégradation du gazoil durant tout le traitement.

Chapitre III : Résultats et discussion

A l'inverse, les rendements de biodégradation de gasoil (DCO) obtenus sont de 33% pour les rapports C/N/P 100/5/1 et 60/2/1, suivi du rapport 100/20/1 avec 31% et enfin le rapport 100/10/1 avec 29%.

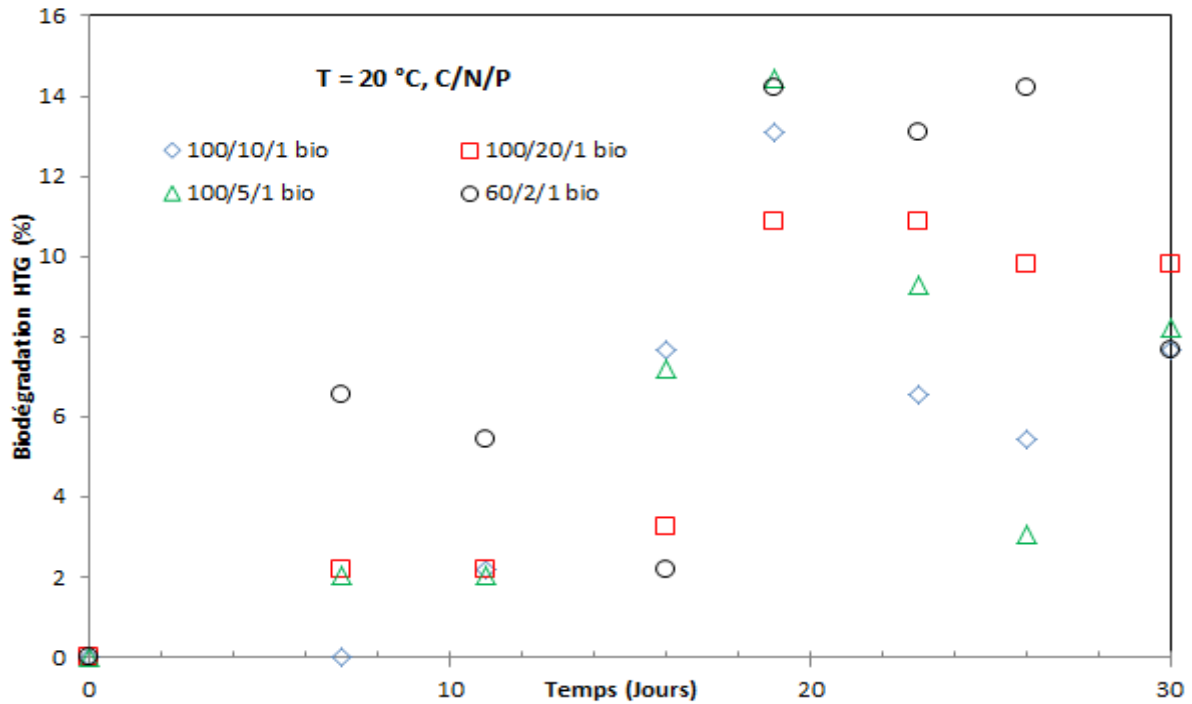


Figure III.18 : Influence des rapports C/N/P sur la biodégradation des HTG du sol S2

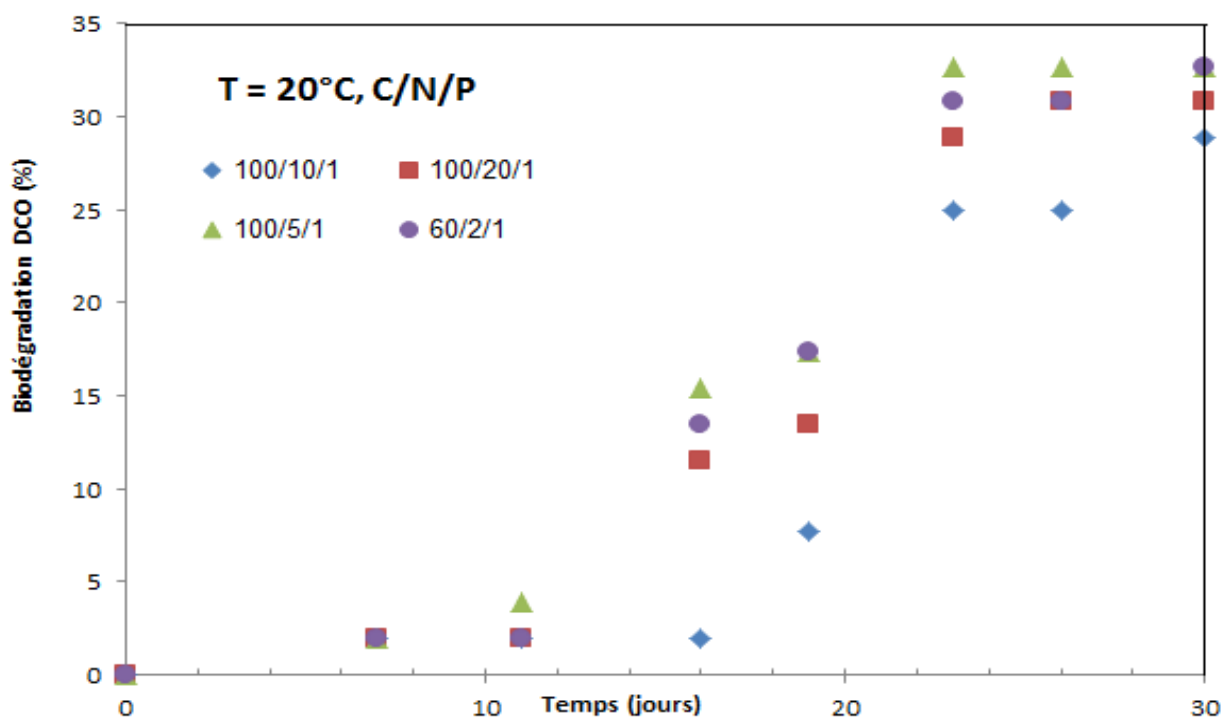


Figure III.19 : Influence des rapports C/N/P sur la biodégradation du gasoil (DCO) du sol S2

Il ressort de l'étude de la DCO et des HTG que ce sont les rapports molaires C/N/P de 600/2/1 et 100/5/1 qui sont les plus favorables à la croissance microbienne et la biodégradation du gasoil dans le cas d'un sol argilo-limoneux-sableux traité par biopiles.

Seunghun et al, 2008, ont étudié un sol amendé avec un rapport massique C/N/P de 200/10/1, et une humidité de 50 à 60%. Après quatre-vingt jours d'incubation, 70% du gasoil a été biodégradé. Kauppi et al, 2011, ont étudié la biodégradation de gasoil dans un sol amendé avec un rapport molaire C/N/P de 100/10/1. Après soixante-un jours de traitement, 56% du gasoil est dégradé. Dellile al, 2007, montrent que la biodégradation de gasoil dans un sol en Antarctique amendé selon un rapport C/N/P de 62/7,4/0,7 et une température allant de 10 à -20°C, le rendement optimal de biodégradation de gasoil était de 90% à une température de 10°C. Anders et al, 2011, ont étudié la biodégradation de gasoil dans un sol avec un rapport molaire C/N/P de 117/11/1, avec une humidité de 12% et une température de 25°C. Après un traitement de 391 jours, le rendement de biodégradation d'une partie de gasoil (phénanthrène) est de 71%. William et al, 2000, ont étudié la biodégradation de gasoil dans un sol amendé avec un rapport C/N/P de 100/15/1, une température de 7°C, le rendement de dégradation de gasoil était de 50%.

- **Cinétique d'enlèvement du gasoil**

Plusieurs études indiquent que la biodégradation des hydrocarbures est régie par un modèle cinétique du premier ordre (Ying, 2011). D'autres études ont montré que la cinétique de dégradation des hydrocarbures du gasoil peut également suivre une cinétique du deuxième ordre (Sarkar, 2005).

Nous supposerons la réaction d'enlèvement du gasoil comme étant respectivement du premier et du deuxième ordre. Les vitesses de dégradation du gasoil sont données par les équations 1 et 2 suivantes :

$$v = - d[\text{HTG}]/dt = k_1 * [\text{HTG}] \quad (1.a)$$

$$[\text{HTG}] = [\text{HTG}]_0 * \exp (- k_1 * t) \quad (1.b)$$

$$v = - d[\text{HTG}]/dt = k_2 * [\text{HTG}]^2 \quad (2.a)$$

$$1/[\text{HTG}] - 1/[\text{HTG}]_0 = k_2 * t \quad (2.b)$$

Sachant que :

v : vitesse de la réaction (g/kg.j);

[HTG] : concentration résiduelle du gasoil dans le sol (g/kg);

[HTG]₀ : concentration initiale du gasoil dans le sol (g/kg);

k_1 : constante de vitesse d'enlèvement 1^{er} ordre (j⁻¹) ;

k_2 : constante de vitesse d'enlèvement 2^{ème} ordre (g/kg.j).

Le tracé de $\ln ([\text{HTG}]_0 / [\text{HTG}])$ en fonction du temps (figures III.20) ainsi que $1/[\text{HTG}] - 1/[\text{HTG}]_0$ en fonction du temps (figure III.21) donnent des droites passant par l'origine, et nous renseigne sur la cinétique d'enlèvement du gasoil qui peut être d'ordre 1 ou d'ordre 2 suivant le coefficient de régression (tableau III.4).

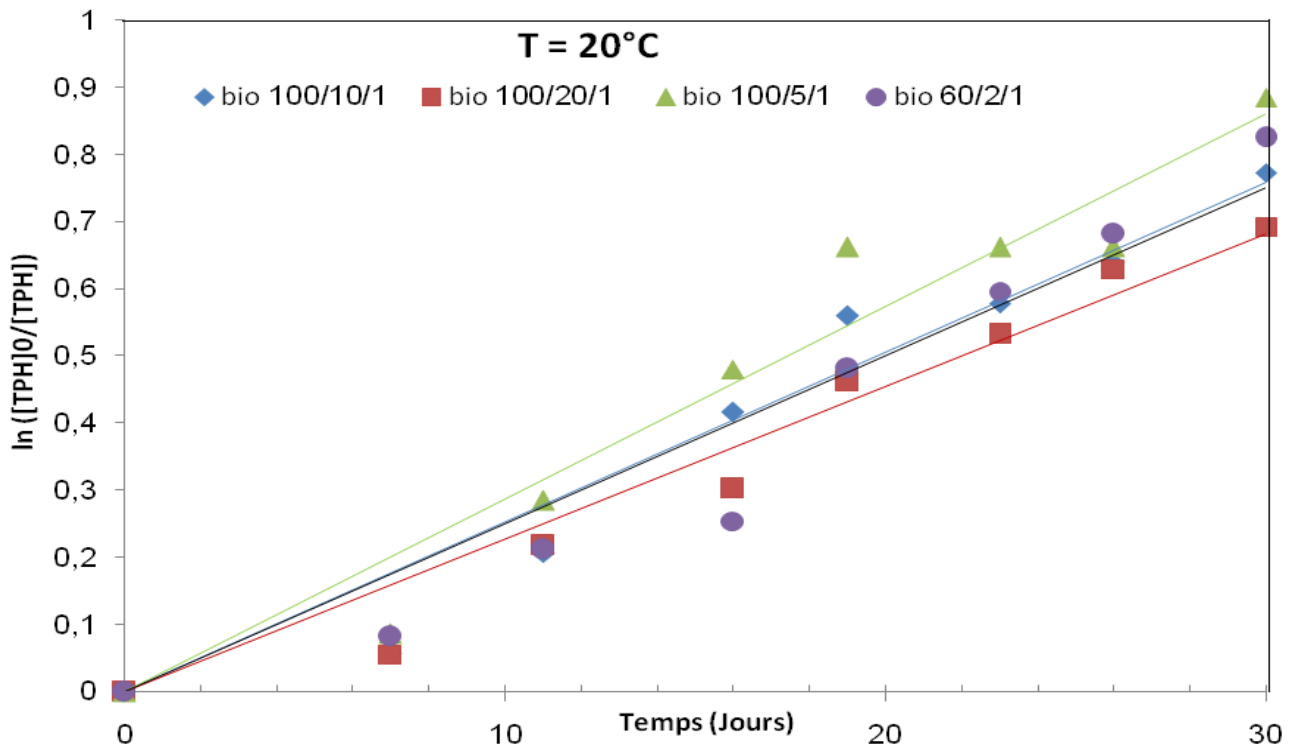


Figure III.20 : Cinétique d'ordre 1 d'enlèvement des HTG dans le sol S2 à différents rapports

C/N/P

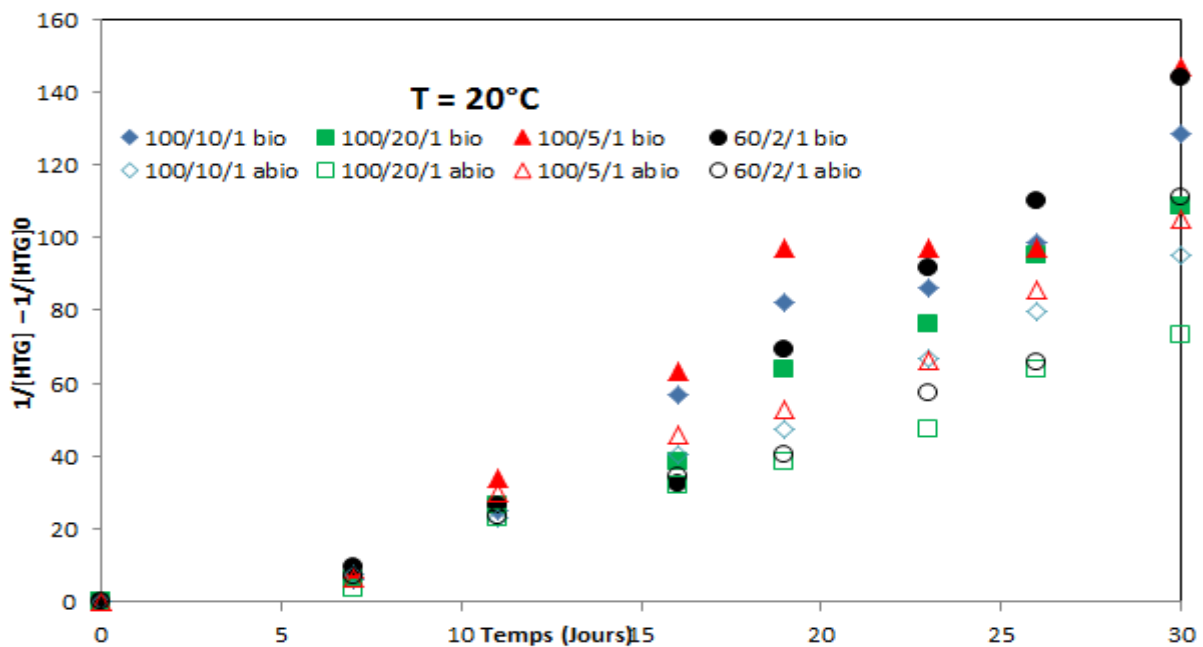


Figure III.21 : Cinétique d'ordre 2 d'enlèvement des HTG dans le sol S2 à différents rapports C/N/P.

Tableau III.4 : Constantes cinétiques d'enlèvement du gasoil à différents rapports C/N/P.

Système	Cinétique du premier ordre		Cinétique du deuxième ordre	
	k_1 (j^{-1})	R^2	k_2 (g/g.j)	R^2
100/10/1	0,0253	0,95	3,8675	0,93
100/20/1	0,0218	0,95	3,2297	0,92
100/5/1	0,0287	0,95	4,3056	0,92
60/2/1	0,025	0,93	3,9721	0,88

D'après les résultats du Tableau III.4, les coefficients de régression proches de 1, sont supérieurs dans le cas de la cinétique de premier ordre que celle de deuxième ordre. Aussi, on pourrait considérer que la cinétique d'enlèvement du gasoil suit l'ordre 1.

Hwang et al, 2001, ont étudié la bioremédiation d'un sol amendé et contaminé par du gasoil, les expériences ont donné une cinétique de premier ordre avec une constante de vitesse moyenne de $0,099 J^{-1}$. **Bonaventura et al, (1996)**. **Bassim et al, (2007)**, trouvent que la cinétique de dégradation des hydrocarbures suit une vitesse de premier ordre avec une constante de vitesse comprise entre $0,0071$ et $0,041$ (j^{-1}).

La vitesse de dégradation du gasoil est plus rapide dans le cas du rapport 100/5/1 ($k=0,0287 j^{-1}$), suivi du 100/10/1 ($k=0,0253 j^{-1}$), puis le 60/2/1 ($0,025 j^{-1}$) et enfin le 100/20/1 ($k=0,0218 j^{-1}$).

Conclusion générale

Le but du travail était d'étudier l'influence des nutriments sur la biodégradation d'un sol contaminé par du gasoil à 1%, dans des bioréacteurs gaz-solides à lit fixe en variant les rapports C/N/P et en considérant un sol limoneux-argilo-sableux.

Des essais préalables sur deux sols sableux S1 et limoneux-argilo-sableux S2, avec un rapport C/N/P = 100/10/1 et différentes hauteurs (H=8cm, 16cm et 24cm) ont porté sur l'influence du débit (lit fixe où $v_{\text{aération}} \ll v_{\text{mf}}$) et la hauteur de sol sur la croissance microbienne et la dégradation du gasoil.

Des colonnes de sol biotiques et abiotiques pollué à 1% et amendé en azote et phosphore selon le rapport molaire C/N/P. A l'issue des résultats obtenus, nous avons opté pour un débit de $16,0 \div 18,7 \text{ cm}^3/\text{min}$ (2Q) et une hauteur de 16 cm (2H).

L'influence du rapport C/N/P sur l'efficacité de l'élimination du gasoil du sol a porté uniquement sur le sol S2. Les essais sont réalisés en microcosmes à la température ambiante et en bioréacteurs à lit fixe à 20°C. Les colonnes de sol biotiques et abiotiques ont été utilisées après avoir fixé la hauteur et le débit adéquats. Le traitement du sol S2 dans des systèmes biotiques et abiotiques a été réalisé avec un taux d'humidité de 10%, une température de 20 °C et différents rapports molaires C/N/P (100/10/1, 100/20/1, 100/5/1 et 60/2/1).

Pour un rapport C/N/P=100/10/1, une hauteur de 16cm et un débit d'aération de $16,4 \text{ cm}^3/\text{min}$, le taux d'enlèvement du gasoil optimal observé dans le cas du sol limoneux-argilo-sableux était de 42% contre 52% pour le sol sableux. Il est dû à la biodégradation d'une part et aux phénomènes physico-chimiques de (évaporation, transport et photo oxydation) d'autre part. Toutefois, le rendement de biodégradation dans le cas du sol sablo-argilo-limoneux était de 22% contre 15% pour le sol sableux. Ce faible rendement est probablement lié à l'absence de flore bactérienne autochtone due au faible taux d'humidité et aux mauvaises conditions de conservation.

La biomasse optimale trouvée dans l'étude de l'influence des nutriments a été de 4×10^7 UFC/g pour le rapport molaire C/N/P de 100/5/1, suivi du rapport 100/20/1 avec 2×10^7 UFC/g et enfin les deux rapports 100/10/1 et 60/2/1 avec 10^7 UFC/g.

Ces résultats corroborent avec deux trouvés avec la méthode gravimétrique, ce qui prouve la fiabilité de la méthode gravimétrique.

Conclusion générale

Dans le cas de l'étude de l'influence des nutriments, le rapport C/N/P qui a donné un taux d'enlèvement optimal a été le 60/2/1 avec 61% contre 60% pour le 100/5/1, suivi du 100/10/1 avec 58% et enfin le 100/20/1 avec 54%. Les rendements de biodégradation des HTG varient entre 10% et 14% et est optimal pour le rapport C/N/P de 100/5/1 (Ce qui aurait pu donner un rendement meilleur avec un autre sol riche en microorganismes).

Le suivi de la DCO nous a permis de confirmer les résultats de la dégradation des HTG de gasoil par extraction avec la méthode des pesées.

Le rendement optimal d'enlèvement de gasoil (DCO) obtenu avec le rapport 100/5/1 (54%), suivi du 100/20/1 (53%) et le 60/2/1 (53%) et enfin le 100/10/1 (52%). Ce qui montre que les rapports 100/5/1 et 60/2/1 sont optimaux pour l'enlèvement du gasoil par les deux méthodes.

Les rendements de biodégradation de gasoil (DCO) obtenus sont 33 % pour les rapports C/N/P 100/5/1 et le 60/2/1 0/20/1, suivis du rapport 100/20/1 avec 31% et enfin le 100/10/1 avec 29%.

On déduit que les rapports C/N/P = 100/5/1 et 60/2/1 sont optimaux pour la biodégradation du gasoil dans le cas de notre système par les deux méthodes.

La présence d'un palier dans le cas de la dégradation de gasoil (HTG) avec seulement le rapport C/N/P de 100/20/1 prouve que pour les autres rapports la dégradation peut continuer malgré la diminution de la biomasse.

La dégradation de gasoil (DCO) a suivi un palier avec les trois rapports C/N/P de 100/20/1, 100/5/1 et 60/2/1, contrairement au rapport 100/10/1 où le traitement se poursuit même après le trentième jour.

Comme perspective, on pourra faire le même travail, soit avec le même sol mais en effectuant une bioaugmentation, ou en travaillant avec un autre sol contenant des bactéries autochtones de l'ordre de 10^6 UFC/g au départ.

Pour être plus précis, au lieu de continuer avec la méthode des pesées qui est très délicate, l'utilisation de la CPG sera d'une très grande importance pour confirmer ou corriger les résultats de ce travail.

Références bibliographiques

- J. Arrar**, Etude d'un réacteur fluidisé à jet central ascendant gaz-solide. Application au traitement d'un sol pollué par du gasoil, Thèse de doctorat, Ecole nationale polytechnique, Alger, (2007).
- K. Kaufmann**, Microbial community response to petroleum hydrocarbon contamination in the unsaturated zone at the experimental field site Værløse, Denmark (2004).
- Eweis, J. B.**, S. J. Ergas, D. P. Y. Chang, and E. D. Schroeder, (1998).
- L. Molina-Barahona**, R. Rodriguez-Vázquez, M. Hernández-Velasco, C. Vega-Jarquín, O. Zapata-Pérez, A. Mendoza-Cantú, A. Albores, 2004.
- G. Nano**, A. Borroni et R. Rota, Combined slurry and solid-phase bioremediation of diesel contaminated soils, Journal of Hazardous Materials, Vol.B 100 (2003) P79-94.
- Duchauffour.P**, Introduction à la science du sol, Paris, Eds Dunod, (1998).
- William W. Mohn**, Gordon R. Stewart, Limiting factors for hydrocarbon biodegradation at low temperature un Artic soils, (2000).
- Anders P. Jonsson**, Tomas L. Ostberg, The effects of carbon sources and micronutrients in whey and fermented whey on the kinetics of phenanthrene biodegradation in diesel contaminated soil, (2011).
- R. Samson**, Les technologie ex situ : biorestauration des sols contaminés, Centre quebecois de valorisation de la biomasse (CQVB), (1997).
- A. Fotinich**, V. K. Dhir et S. Lingineni, Remediation of simulated soils contaminated with Diesel, Journal of Environmental Engineering, (1999) P36-46.
- ftp://ftp.fao.org/fi/CDrom/FAO_Training/FAO_Training/General/x6706f/x6706f09.ht
- R. Scriban** et coordonnateurs, Biotechnologie, 5eme édition, Paris, Eds Technique et documentation, (1999).
- Bonaventura, C.** and F.M. Hohnson, 1996. Healthy environment for healthy people: Bioremediation now and tomorrow, 105: 5-21.
- Walter Hecq**, La pollution ponctuelle des sols: Le cas des stations-service dans la Région de Bruxelles-Capitale, (2007).
- Recous, S.**, Robin, D., DArwis, D., Mary, B., Soil inorganic N availability: effect on maize residue decomposition. Soil Biol. Biochem. 27, 1529-1538, (1995).
- A. Saada**, C. Nowak et N. Coquereau, Etat des connaissances sur l'atténuation naturelle des hydrocarbures, (2005).

Références bibliographiques

- Daniel Dellile**, Emlien Pelletier, Frederic Coulon, The influence of temperature on bacterial assemblages during bioremediation of diesel fuel contaminated subAntarctic soil, (2007).
- Seunghun Hyun**, Mi-Young Ahn, Andrew R. Zimmerman, Minhee Kim, Jeong-Gyu Kim, Implication of hydraulic properties of bioremediation diesel-contaminated soil, (2008).
- S. Gabet**, Remobilisation d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) présents dans les sols contaminés à l'aide d'un tensioactif d'origine biologique, Thèse de doctorat, université de Limoges (2004).
- M. J. Jourdain** et A. M. Charissou, Etat des connaissances sur le devenir de polluants organiques dans les sols lors de la biodégradation naturelle et après biotraitements : Identification des composés métabolites et des cinétiques, Record N°05-0513/1A, (2007).
- S. C. Choi**, K. K. Kwon, J. H. Sohn et S. J. Kim, Evaluation of fertilizer additions to stimulate oil biodegradation in sand seashore mesocosms, *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 12 (2002) P431-436.
- T. A. T. Abul-Kassim** et B. R. T. Simoneit, Pollutant-solid phase interaction, Mechanisms, chemistry and modeling, Germany, Edt spring, (2001).
- M. Barooah** et H. P. Borthakur, Biodegradation of hydrocarbon in soil of upper Assam, *Journal of the Indian Society of Soil Science*, Vol.47 N°1 (1999) P62-67.
- K. A. T. Berry** et D. L. Burton, Natural attenuation of diesel fuel in heavy claysoil, *Canadian Journal of Soil Science*, Vol.77 (1997) P469-477.
- Battelle et NFESC**, Biopile operations and maintenance manual, Technical Memorandum TM-2190-ENV, (1996) P 65.
- Choi Y. B., Lee J. Y., et Kim H. S.**, A novel bioreactor for the biodegradation of inhibitory aromatic solvents: Experimental results and mathematical analysis, *Biotechnology and Bioengineering*, 40, (1992), pp 1403-1411.
- Wan Namkoong**, *, Eui-Young Hwangb. W. Cong-Ying, W. Fang, W. Tao, Y. Xing-Lun, B. Yong-Rong, F. O. Kengara, L. Zeng-Bo et J. Xin, Effects of autoclaving and mercuric chloride sterilization on PAHs dissipation in a two-liquid-phase soil slurry, *Pedosphere*, Vol.21 N°1 (2011) P56-64.
- M. R. Gray**, D. K. Banerjee, M. J. Dudas et M. A. Pickard, Protocols to enhance biodegradation of hydrocarbon contaminants in soil, *Bioremediation Journal*, Vol.4 N°4 (2000) P249-257.
- Scriban R.** et Coordonnateur., *Biotechnologie, Technique et documentation*, Paris, 5ème édition, (1999).
- D. Brinkmann**, J. Rohrs et K. Schugerl, Bioremediation of diesel contaminated soil in a rotating bioreactor, Influence of oxygen saturation, *Chemical Engineering Technology*, 21 (2) (1998) P168-172.
- Vogel Timothy M.**, *Bioremédiation des sols, Techniques de l'ingénieur*, J3, (2001).

Références bibliographiques

- Coulon F.**, Pelletier E., Gourhant L. et Dellile D.; Effects of nutrient and temperature on degradation of petroleum hydrocarbons in contaminated sub- Antarctic soil ; *Chemosphere*, 58 (2005) pp 1439-1448.
- A. Fotinich**, V. K. Dhir et S. Lingineni, Remediation of simulated soils contaminated with Diesel, *Journal of Environmental Engineering*, (1999) P36-46.
- Li G.**, Huang W., Lerner D. N. et Zhang X., Enrichment of degrading microbes and bioremediation of petrochemical contaminants in polluted soil, *Water Research*, 34, (2000), pp 3845-3853.
- Colin F.**, " Pollution localisée des sols et des sous-sols par les hydrocarbures et par les solvants chlorés ", Édition Tec & Doc, Paris, (2000).
- Harrison Ifeanyichukwu Atagana**, *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 19, (2003), pp 571–58, (2003).
- F. Coulon**, E. Pelletier, L. Gourhant et D. Delille, Effects of nutrient and temperature on degradation of petroleum hydrocarbons in contaminated sub-Antarctic soil, *Chemosphere*, 58 (2005) P439–1448.
- D. Sarkar**, M. Ferguson, R. Data et S. Birnbaum, Bioremediation of petroleum hydrocarbons in contaminated soils: Comparison of biosolids addition, carbon supplementation, and monitored natural attenuation, *Environmental Pollution*, Vol.136 (2005) P187-195.
- J. Arrar**, N. Chekira et F. Bentahar, Treatment of diesel fuel contaminated soil in jet–fluidized bed, *Biochemical Engineering Journal*, Vol. 37 N°.2 (2007) P131-138.
- S. Mukherji**, S. Jagadevan, G. Mohapatra et A. Vijay, Biodegradation of diesel oil by an Arabian sea sediment culture isolated from the vicinity of an oil field, *Bioresource Technology*, 95 (2004) P281-286.
- M. Ghazali**, R. N. Z. A. Rahman, A .B. Salle et M. Basri, Biodegradation of hydrocarbon in soil by microbial consortium, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 54 (2004) P61-67.
- Bouchez M.** "La biodégradation des hydrocarbures aromatiques polycycliques : métabolisme de substrats non conventionnels", Thèse de doctorat, école nationale supérieure des industries agro-alimentaires, Paris, (1995).
- C.M. Bourgeois** – T.Y. LEVEAU, *Techniques d’Analyses et de Contrôle dans les Industries Agro-alimentaires*, volume 3, LAVOISIER – TEC et DOC.
- T. A. T. Abul-Kassim**, B. R. T. Simoneit, "Pollutant-solid phase interaction, Mechanisms, chemistry and modeling", edt spring, Gernany (2000).
- R. M. Allen-King**, R. W. Gillham, J. F. Barker, et E. A. Sudicky "Fate of dissolved toluene during steady infiltration through unsaturated soil: Biotransformation under Nutrient-limited conditions" *J. Environ. Qual.* vol. 25 pp 287-295 (1996).
- J. Møller**, H. Gaarn, T. Steckel, E. B. Wedebye et P. Westermann, Inhibitory effects on degradation of diesel oil in soil-microcosms by a commercial bioaugmentation product, *Bulletin Environmental Contaminant Toxicology*, 54 (1995) P913-918.

Références bibliographiques

- B. P. Chaplin**, G. N. Delin, R. J. Baker, and M. A. Lahvis, "Long-term evolution of biodegradation and volatilization Rates in crude oil contaminated aquifer» *Bioremediation Journal*, vol 6, (2002).
- Galileo**, le sol: un capital vivant à entretenir, Veolia (2005).
- Y. Rivera-Espinoza**, L. Dendooven, Dynamics of carbon, nitrogen and hydrocarbons in diesel-contaminated soil amended with biosolids and maize, Laboratory of Soil Ecology, Department of Biotechnology and Bioengineering, Mexico, (2003).
- Girard M.C., Walter C., Remy J.C., Bertheline J., Morel J.L.** "Sol et environnement, cours, exercices et études des cas", Edition Dunod, Paris, (2005).
- Cécile Milton**, Caractérisation des communautés procaryotiques dans la bioremédiation d'un sol pollué par des hydrocarbures et développement d'outils d'analyse à haut débit : Les biopuces ADN, (2007).
- Otmane Boudouch**, Etude de la dépollution des sols par extraction sous pression réduite. Application au traitement des COV, (2009).
- ADEME**, Traitement biologique des sols pollués : recherche et innovation, (2006).
- Isabelle Martinelli**, Infiltration des eaux de ruissellement pluvial et transfert de polluants associés dans le sol urbain vers une approche globale et pluridisciplinaire, (1999).
- Vincent Valles**, Cours de pédologie, (2005-2006).
- Patrick Engels**, PEDOLOGIE, (2002).
- Anne-Laure Badin**, Répartition et influence de la matière organique et des microorganismes sur l'agrégation et le relargage de polluants dans des sédiments issus de l'infiltration d'eaux pluviales urbaines, (2009).
- M. A. Mills**, J. S. Bonner, T. J. McDonald, A. C. Page et R. L. Autenrieth, Intrinsic bioremediation of a petroleum-impacted wetland, *Marine Pollution Bulletin*, Vol.46 (2003) P887-899.
- Hwang, E**, W. Namkoong and J. Park, 2001. Recycling of remediated soil for effective composting of diesel-contaminated soil. *Compost science and utilization*, pp: 143-149.
- B. P. Chaplin**, G. N. Delin, R. J. Baker, and M. A. Lahvis, "Long-term evolution of biodegradation and volatilization Rates in crude oil contaminated aquifer» *Bioremediation Journal*, vol 6, (2002).
- ADEME**, Traitement biologique des sols pollués, (2006).
- Otmane Boudouch**, Etude de la dépollution des sols par extraction sous pression réduite application au traitement des COV, (2009).
- Walter Hecq**, La pollution ponctuelle des sols: Le cas des stations-service dans la Région de Bruxelles-Capitale, (2007).

Références bibliographiques

Marie Paule-Norini, Ecodynamique des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) et des communautés microbiennes dans des sols à pollution mixte (HAT, métaux), avant et après traitement par biopile et par désorption thermique : Influence de la Rhizosphère et de la mycorhization, (2007).

Mohn, W.W., Radziminski, C.Z., Fortin, M.C., Reimer, K.J., 2001. On-site bioremediation of hydrocarbon-contaminated Arctictundra soils in inoculated biopiles. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 57, 242–247.

ANNEXE I : Caractérisation du sol S1

Sol S1

Granulométrie:

Tableau A.1.1 : granulométrie du sol sableux

N° de Tamis	dAi (µm)	di (µm)	mi(g)	% masse retenue en haut sol 2	% masse cumulé en bas sol 2	da (µm)	dh (µm)	ds (µm)	dv (µm)
1	800		150	100	0				
2	630	715	139.35	92.90	7.10	448.05			
3	500	565	138.01	92.01	7.99		294.69		
4	315	407.5	134.39	89.59	10.41			492.43	
5	200	257.5	87.52	58.35	41.65				524.76
6	160	180	52.05	34.70	65.30				
7	100	130	21.55	14.37	85.63				
8	80	90	14.86	9.91	90.09				
9	50	65	8.25	5.50	94.50				
10	0	25	4.55	3.03	96.97				

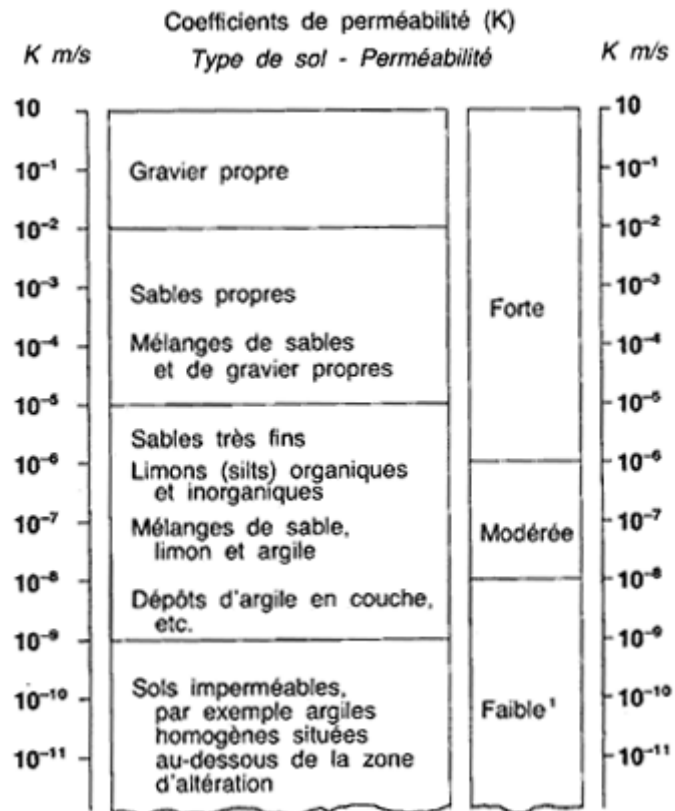


Figure A.1.2 : Relation entre la perméabilité et le type de sols

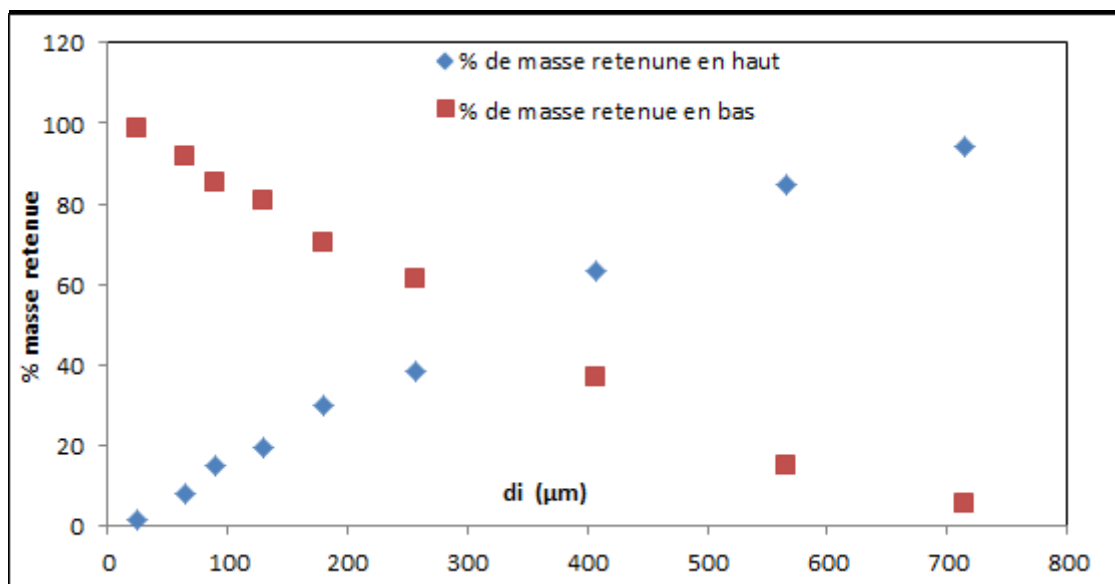


Figure A.1.3 : La distribution granulométrique des particules du sol S1

Le diamètre moyen (de Sauter) déterminé à partir de la figure qui correspond à un pourcentage de 50 % est égal à 294 μm .

$$d_{60} = 380 \mu\text{m}. \quad d_{10} = 60 \mu\text{m}.$$

$$d_{60}/d_{10} = 6,33$$

$U > 2$ donc la granulométrie est étalée.

Facteur de sphéricité

Le facteur de sphéricité est défini comme le rapport de surface de la particule sur celle de la sphère équivalente ayant le même volume que le grain. Il est déterminé à partir de la relation réduite d'**Ergun** en régime laminaire :

Au minimum de fluidisation, l'équation établie par Ergun donnant la vitesse minimale de fluidisation en fonction des caractéristiques du solide et du gaz ainsi que l'accélération de la pesanteur est la suivante :

$$(1 - \varepsilon_{mf})(\rho_p - \rho_g)g = \frac{150(1 - \varepsilon_{mf})^2 \mu_g}{\varepsilon_{mf}^3 (\phi_p \cdot d_p)^2} U_{mf} + 1,75 \cdot \frac{1 - \varepsilon_{mf}}{\varepsilon_{mf}^3} \cdot \frac{\rho_g}{\phi_p \cdot d_p} U_{mf}^2$$

En tenant compte des simplifications faites sur les petites particules dont $Re_p < 20$, la relation devient :

$$U_{mf} = \frac{(\rho_p \cdot d_p)^2}{150} \cdot \left(\frac{\rho_p - \rho_g}{\mu_g} \right) \cdot g \cdot \frac{\varepsilon_{mf}^5}{(1 - \varepsilon_{mf})}$$

Tel que :

U_{mf} : vitesse minimale de fluidisation (cm/s) ;

d_p : diamètre des particules (cm) ;

μ_g : viscosité du gasoil (kg/m.s) ;

ρ_p : masse volumique des particules (g/cm^3) ;

ρ_g : masse volumique du gazoil (g/cm^3) ;

ε_{mf} : porosité du solide ;

g : force gravitationnelle (N/kg) ;

\varnothing_p : sphéricité des particules.

Application numérique :

U_{mf} : 37,15(cm/s) ;

d_p : 294 (μm) ;

μ_g : $1,8 \times 10^5$ (kg/m.s) ;

ρ_p : 1,94 (g/cm^3) ;

ρ_g : 2,08 (g/cm^3) ;

ε_{mf} : 0,38;

g : 9,8(N/kg) ;

\varnothing_p : 0,8.

Perméabilité :

Il s'agit de l'aptitude d'un sol, d'un sédiment, d'un réservoir à se laisser entraîner par l'eau, sous l'effet d'un gradient hydraulique. Elle exprime la résistance d'un milieu à l'écoulement de l'eau qui le traverse. Elle dépend de la structure et de la texture du sol.

La perméabilité du sol sableux est de 15,13 cm/h.

Taux d'argiles :

Le taux d'argile du sol sableux est de 2.5 %.

Masse volumique :

$$m_T = 8,4986 \text{ g} , V_T = 3,9 \text{ ml} , m_s = 5 \text{ g} .$$

$$m_{ex} = V_{ex} * \rho_{eau}$$

$$; m_{ex} = 2 * 1 ; m_{ex} = 2 \text{ g}$$

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

$$V_p = \frac{m_p}{\rho_{eau}} = \frac{m_T - m_s - m_{ex}}{\rho_{eau}}$$

$$V_p = 1,4986 \text{ ml}$$

$$\rho_s = 2,08 \text{ g/ml} ;$$

$$\epsilon = \frac{V_p}{V_T} , \epsilon = 0,38$$

Le pH :

Le pH déterminé du sol sableux à 20 °C est de 7,82.

Humidité :

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

$$H_s (\%) = 100 * (5 - 4.42) / 5$$

$$H_s (\%) = 0,12 \%$$

Matières minérales et matières organiques :

M_0 : Masse de la prise d'essai avant séchage (à l'étuve).

M_1 : Masse de la prise d'essai après séchage (à l'étuve).

M_2 : Masse de la prise d'essai après calcination (au four).

$$M_{org} = \frac{M_0 - M_1}{M_0}$$

$$M_{\text{org}} = \frac{66.096 - 65.828}{66.096}$$

$$M_{\text{org}} = 0.0040 = 0.4 \%$$

$$M_{\text{min}} = \frac{M_1 - M_2}{M_1}$$

$$M_{\text{min}} = \frac{65.828 - 65.720}{65.828}$$

$$M_{\text{min}} = 0.0016 = 0.16 \%$$

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.

• **Mode opératoire**

Dans une série de fioles jaugées de 50mL ;

- Introduire les volumes suivant : 0 – 1 - 2,5 – 5 - 7,5 - 10 ml de la solution étalon d'azote nitreux à 1mg/L ;
- Compléter à 50 mL avec de l'eau permutée ;
- Ajouter 1mL de réactif de diazotation dans chaque fiole ;
- Effectuer la mesure de la D.O par le spectrophotomètre à la longueur d'onde de

543 nm. Les résultats sont regroupés dans un tableau représentant la concentration des nitrites en fonction de la densité optique.

• **Solution étalon**

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

• **Réactif de diazotation**

- Mélanger dans un bécher, 800 mL d'eau distillée et 100 mL d'acide phosphorique
- Ajouter 40 g de l' amino-4-benzènesulfonamide ;
- Après dissolution, ajouter 2 g de dichlorure de N-(naphtyl-1) diamino-1-2 éthane ;

- Agiter puis transvaser la solution dans une fiole de 1000 mL et compléter le volume avec de l'eau distillée.

Tableau A.1.3 : Dosage des nitrites

DO	0	0,031	0,06	0,1	0,316	0,668
NO2 en mg/l	0	0,02	0,04	0,1	0,4	0,8

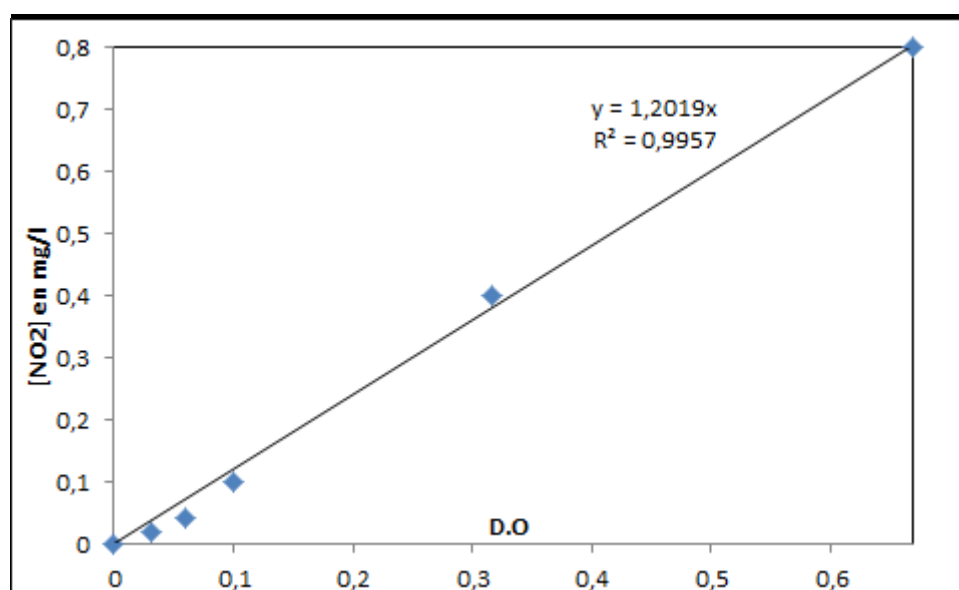


Figure A.1.4 : Courbe d'étalonnage des nitrites

- Pour notre sol on a (DO=0.141) ce qui donne une concentration en nitrites C=0.169 mg/l.

Nitrates :

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

- **Mode opératoire**
 - Prendre 10 mL de la solution étalon diluée (5 mg/L) ;
 - Ajouter 2 à 3 gouttes de NaOH à 30%,
 - Evaporer à sec au bain marie à 75 à 88°C, puis laisser refroidir.
 - Reprendre le résidu pour 2 mL de H₂SO₄, laisser au repos 10 min ;
 - Ajouter 15 mL d'eau distillée et 15mL de tartrate double de sodium et de potassium.

- Effectuer les mesures de la D.O par le spectrophotomètre à une longueur d'onde de 400 nm.

- **Dilutions**

Dans une série de fioles jaugées ;

Introduire successivement les volumes suivants de la solution étalon (5mg/l): 0-1-2-3-4-6ml puis ajouter dans chaque fiole les volumes suivants de l'eau distillée : 10-9-8-7-6-4 ml, ensuite ajouter 1ml de la solution de salicylate de sodium dans chaque fiole.

- **Préparation 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 (400 g) ;
 - ✓ Tartrate de sodium et de potassium (60 g) ;
 - ✓ Eau distillée (1000mL) ;
 - ✓ Laisser refroidir avant de compléter à 1000ml, cette solution doit être conservée dans un flacon de polyéthylène.
- **Solution étalon** : diluer la solution mère de nitrite de potassium (100 mg/L) à 5 mg/L.

Tableau A.1.4 : Dosage des nitrates

DO	0	0.08	0.185	0.577	1.12
NO₃⁻ en mg/l	0	0.5	1	2.5	5

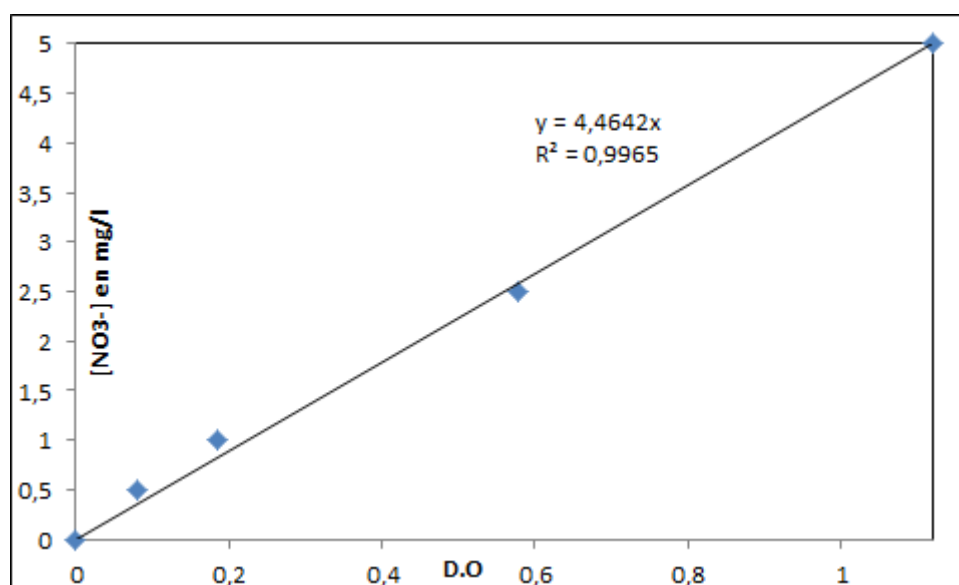


Figure A.1.5 : Courbe d'étalonnage des nitrates

- Pour notre sol on a (DO = 0.717) ce qui donne une concentration en nitrates C = 3,2 mg/l.

Azote ammoniacal :

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

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

Mode opératoire
Dans une série de fioles de 50ml ;

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

- **Préparation des solutions**

- Solution étalon: dissoudre 297g de chlorure d'ammonium dans de l'eau distillée et amener à 1000 mL dans une fiole jaugée.

- **Réactif de Nessler :**

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

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

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

Tableau A.1.5 : Azote ammoniacal

DO	0	0.102	0.366	0.48	2.099	3.15
[NH₄⁺] en mg/l	0	0.02	0.05	0.1	0.5	0.8

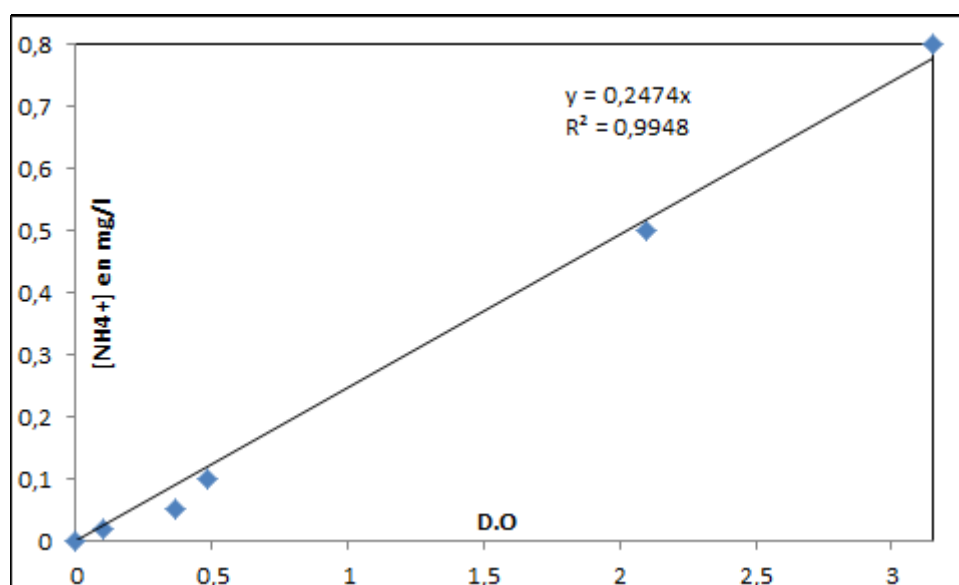


Figure A.1.6 : Courbe d'étalonnage de l'azote ammoniacal

- Pour notre sol on a (DO=0.214) ce qui donne une concentration en azote ammoniacal $C=0.053$ mg/l.

Phosphore :

➤ Réactifs utilisés

- Acide ascorbique $C_6H_8O_6$;
- Acide sulfurique H_2SO_4 (9M) ;
- Tartrate d'antimoine et de potassium ;
- Paramolybdate d'ammonium ;
- Dihydrogèno phosphate de potassium KH_2PO_4 .

➤ Préparation de la solution molybdate acide

- Dissoudre 13g de tartrate d'antimoine et de potassium dans 100mL d'eau distillée ;
- Diluer 230mL de H_2SO_4 (9M) dans 70mL d'eau distillée, puis l'ajouter à la solution précédente ;
- Ajouter au mélange la solution suivante : dissoudre 0,35g de paramolybdate d'ammonium dans 100mL d'eau distillée.

➤ Préparation de la solution acide ascorbique

Dissoudre 10g d'acide ascorbique dans 100mL d'eau distillée.

➤ **Préparation de la solution étalon**

- Dissoudre 0,2197g de KH_2PO_4 dans 800mL d'eau distillée, ajouter 10mL d'acide sulfurique (4,5M) puis compléter à 1000mL avec de l'eau distillée (solution mère 50 mg/L de P) ;
- Préparer une solution fille à 2mg/L.

➤ **Courbe d'étalonnage**

- Dans une série de fioles jaugées de 50mL, faites une dilution de la solution fille (2mg/L) correspondant aux concentrations suivantes : 0 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,3 ; 0,4 ; 0,5 mg/L.
- Ajuster à 50mL avec de l'eau distillée, puis prélever de chaque fiole un volume équivalent à 40mL.
- Ajouter 1mL de la solution acide ascorbique + 2mL de la solution molybdate acide.
- Une couleur bleue apparaitre, attendre 30 minutes, la lecture des densités optiques peut s'effectuer à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde égale à 880 nm.

Tableau A.1.6 : Phosphore

DO	0	0,041	0,126	0,27	0,506	0,912
P en mg/l	0	0,015	0,03	0,06	0,12	0,24

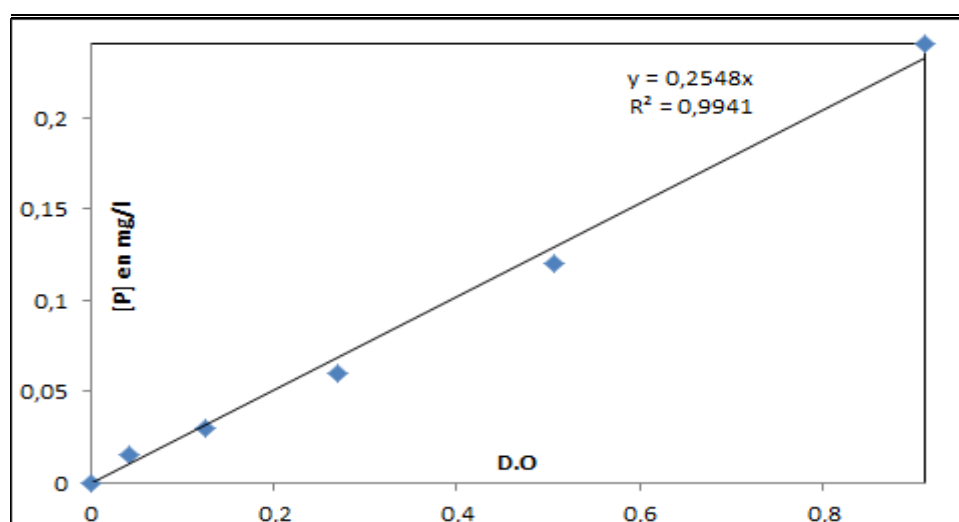


Figure A.1.7 : Courbe d'étalonnage du phosphore

- Pour notre sol on a (DO=0.676) ce qui donne une concentration en phosphore C=0.172 mg/l.

Carbone organique :

Une prise d'essai de masse connue (entre 0,1 et 1 g) d'un échantillon de sol est mélangée à une solution de dichromate de potassium additionnée d'acide sulfurique.

Les matières organiques se trouvant dans la prise d'essai sont oxydées par la solution. Le dichromate de potassium restant après la phase d'oxydation est dosé par une solution de sulfate double d'ammonium et de fer.

Mode opératoire :

On ajoute à la prise d'essai contenue dans un ballon, 10 ml de la solution de dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$ à 4%) puis un volume de 15 ml d'acide sulfurique.

Après agitation, on met le ballon sur un chauffe-ballon puis on raccorde à une colonne réfrigérante.

Après chauffage, on maintient une ébullition franche et douce pendant 5 mn après condensation et chute de la première goutte.

On transvase le contenu du ballon dans un bécher et on ajoute 200 ml d'eau distillée, 7 à 8 ml d'acide orthophosphorique et 5 à 10 gouttes de diphénylamine.

On titre le contenu par une solution de sulfate double d'ammonium et de fer 0,2 N jusqu'au virage violet, au bleu puis au vert émeraude.

- Le virage du blanc se passe après un volume de 8 ml de la solution à titrer. ($y = 8$ ml).
Le virage pour le sol sableux a eu lieu à 7.4 ml de la solution ($x_2 = 7.4$).

La concentration en carbone organique est $C_2 = \frac{(8 - 7.4) \times 0.615}{0.5} = 0.738 \%$

ANNEXE II : Caractérisation du sol S2 :

Granulométrie :

Tableau A.II.1 : La distribution granulométrique des particules du sol mélange

N° de Tamis	dAi (µm)	di (µm)	mi(g)	% masse retenue en haut	% masse cumulé en bas	da (µm)	dh (µm)	ds (µm)	dv (µm)
1	800		150	100	0				
2	630	715	141.59	94.39	5.61	453.62			
3	500	565	127.37	84.91	15.09		283.18		
4	315	407.5	94.65	63.1	36.90			503.29	
5	200	257.5	57.76	38.51	61.49				537.16
6	160	180	44.72	29.81	70.19				
7	100	130	29.12	19.41	80.59				
8	80	90	22.31	14.87	85.13				
9	50	65	12.27	8.18	91.82				
10	0	25	2.24	1.49	98.51				

Coefficient d'uniformité du sol :

Tableau A.II.2 : Coefficient d'uniformité du sol mélange

di (µm)	% masse retenue en haut sol Mél	% masse cumulé en bas sol Mél
715.00	94.39	5.61
565.00	84.91	15.09
407.50	63.1	36.9
257.50	38.51	61.49
180.00	29.81	70.19
130.00	19.41	80.59
90.00	14.87	85.13
65.00	8.18	91.82
25.00	1.49	98.51

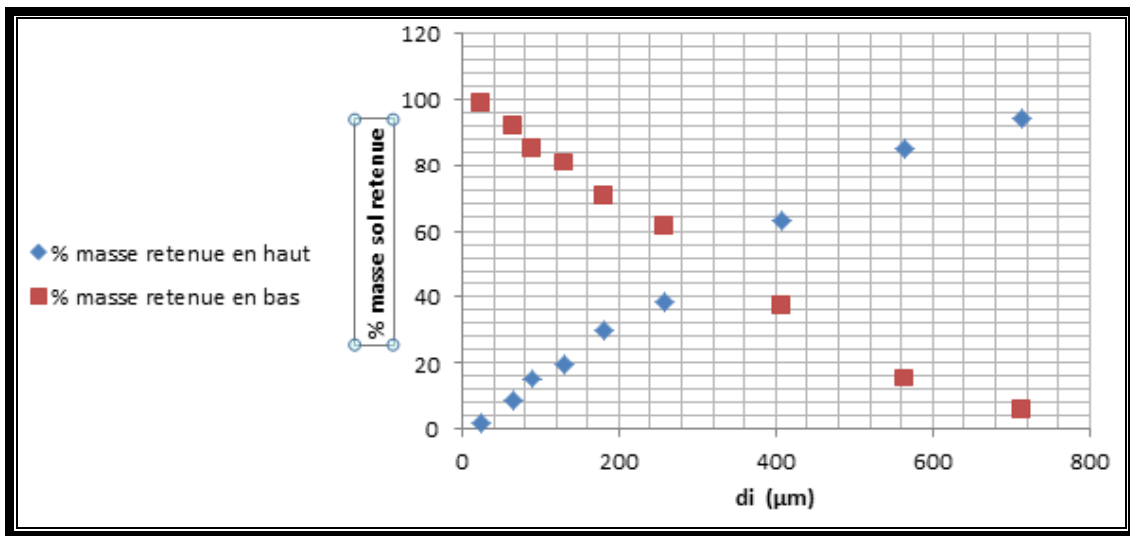


Figure A.II.1 : La distribution granulométrique des particules du sol

Le diamètre moyen (de Sauter) déterminé à partir de la figure qui correspond à un pourcentage de 50 % est égal à 300 µm.

$$d_{60} = 380 \text{ µm. } d_{10} = 80 \text{ µm.}$$

$$d_{60}/d_{10} = 4,75$$

Remarque :

Si $U < 2$: la granulométrie est serrée ;

Si $U > 2$: la granulométrie est étalée.

Dans notre cas la granulométrie est étalée.

Sédimentométrie : elle a été effectuée en suivant les étapes suivantes :

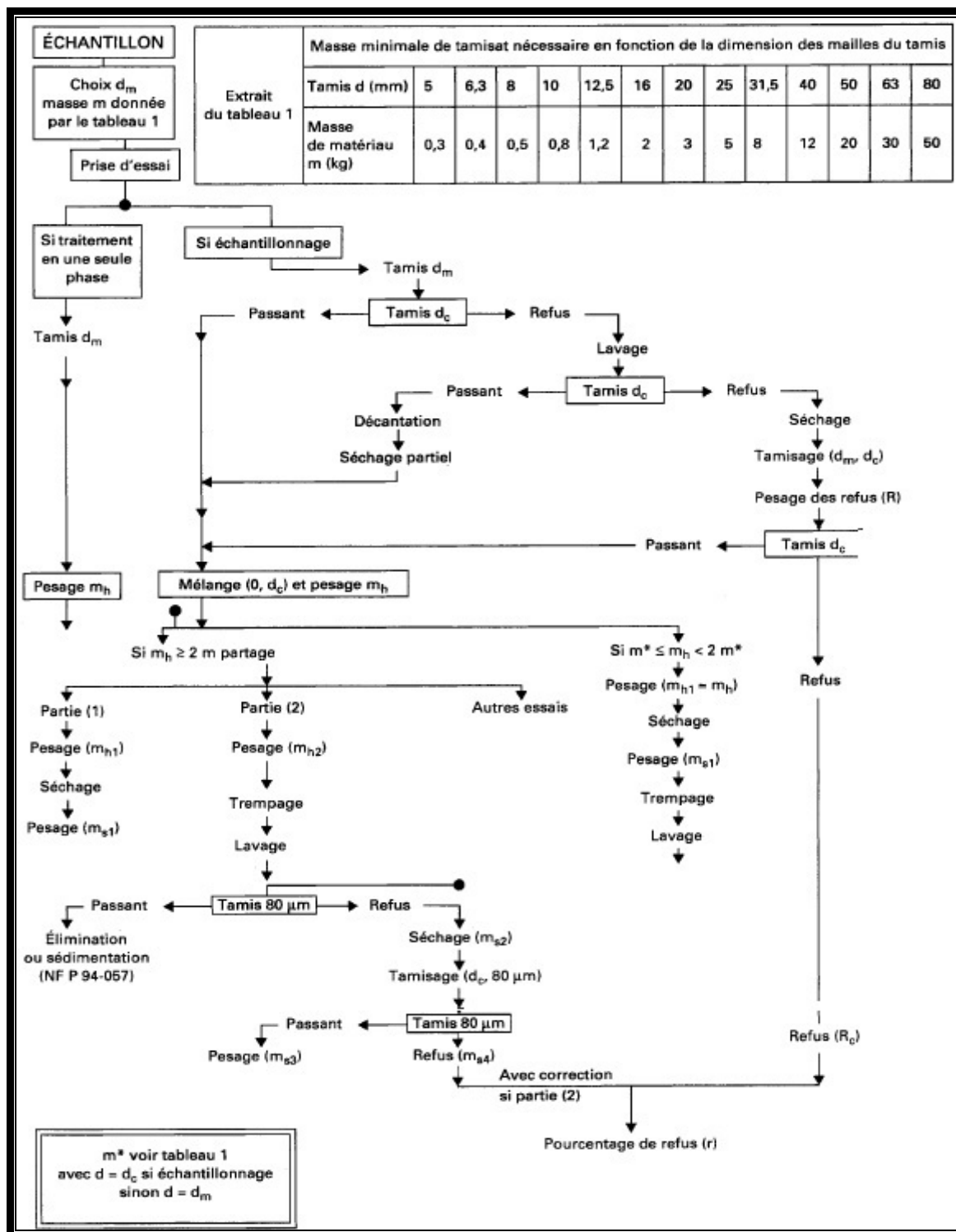


Figure A.II.2 : Schéma du processus opératoire de l'analyse granulométrique par tamisage à sec après lavage.

La sédimentométrie comprend les étapes suivantes :

- Lavage : laver le refus, recueillir tout le tamisât dans un récipient de capacité suffisante et rassembler dans un autre les éléments de dimension d_c .
- Séchage : sécher les éléments de dimension supérieure à d_c .
- Tamisage à sec : verser la matière séchée au sommet d'une colonne d'au moins 3 tamis d'ouverture de maille décroissante entre d_m et d_c et ayant à sa base un fond de tamis.
- Ajouter le tamisât obtenu durant l'opération de partage.
- Pesage des refus : peser le refus du premier tamis d'ouverture inférieure à d_m . Ajouter le refus du tamis immédiatement inférieur et peser le total.
- Procéder ainsi de suite jusqu'au tamis d_c . R_c est le refus cumulé au tamis d_c .
- Laisser décanter le tamisât provenant du lavage des refus au tamis d_c .
- Soutenir l'eau claire et faire évaporer l'eau en excès à une température ne dépassant pas les 50°C .
- Ajouter le matériau, encore humide, aux tamisât du tamis d_c obtenus précédemment, malaxer la totalité des tamisât puis peser M_h .
- Prélever et peser une masse M_{h1} afin de connaître les masses des matériaux secs utilisés.
- Sécher et peser m_{s1} .
- Trempage : prélever et peser M_{h2} dans un récipient à une température inférieure à 50°C , puis procéder au lavage en déversant le contenu sur une colonne d'au moins 2 tamis et surmonter d'un dispositif arroseur.
- Séchage : sécher les éléments de classe ($80\ \mu\text{m}$, d_c) et peser M_{s2} .

Masse volumique :

$$m_T = 8,42 \text{ g}, V_T = 4 \text{ ml}, m_s = 5 \text{ g}.$$

$$m_{ex} = v_{ex} * \rho_{eau}$$

$$m_{ex} = 2 * 1 ; m_{ex} = 2 \text{ g}$$

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

$$V_p = \frac{m_p}{\rho_{eau}} = \frac{m_T - m_s - m_{ex}}{\rho_{eau}}$$

$$V_p = 1,42 \text{ ml}$$

$$\rho_s = 1,94 \text{ g/ml} ;$$

$$\varepsilon = \frac{V_p}{V_T} , \quad \varepsilon = 0,36.$$

Le pH :

Le pH déterminé du sol mélange est 8,06.

Humidité :

L'humidité du sol est définie comme étant la différence entre la masse de la prise d'essai de l'échantillon du sol avant et après séchage rapportée à la masse initiale.

$$H\% = (m_i - m_f) * 100 / m_i$$

Où

m_i : la masse, en gramme, de la prise d'essai avant séchage

m_f : la masse, en gramme, de la prise d'essai après séchage

Le principe est basé sur le séchage de 5 g d'échantillon du sol pendant une heure (une durée optimum obtenue à partir des essais préliminaires) dans une étuve réglée à 105°C selon la norme **AFNOR (X 31-102, 1981)**.

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

$$Hu (\%) = (5 - 4,925) * 100 / 5$$

$$Hu (\%) = 1.50 \%$$

Matières Organiques :

$$MO (\%) = \frac{m1 - m2}{m0} * 100$$

$$MO (\%) = (43.777 - 43.274) * 100 / 44.443$$

$$MO (\%) = 1.13$$

Nitrites :

Tableau A.II.3 : Dosage des nitrites

DO	0	0,031	0,045	0,11	0,32	0,64
NO₂⁻ en mg/l	0	0,02	0,04	0,1	0,4	0,8

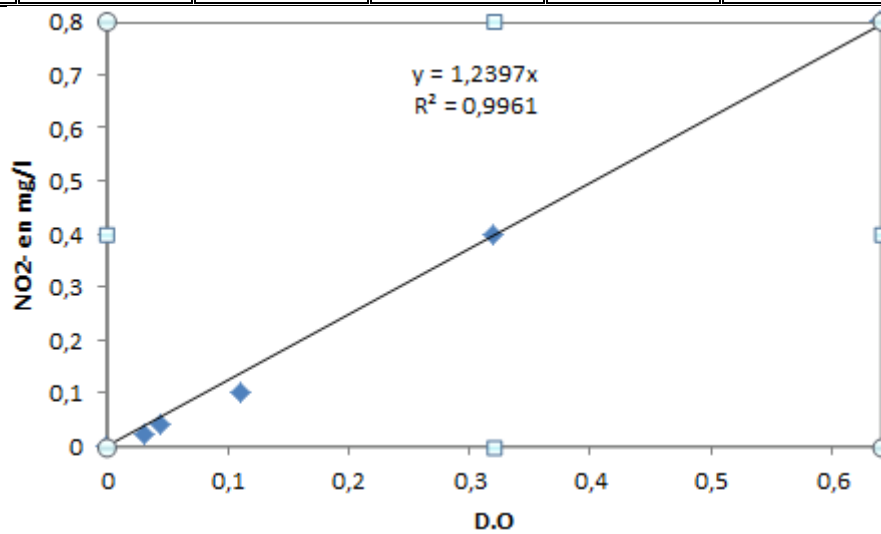


Figure A.II.3 : Courbe d'étalonnage des nitrites

- Sol mélange (DO=0.104) ce qui donne une concentration $C=0.13\text{mg/l}$.

Nitrates :

Tableau A.2.4 : Dosage des nitrates

DO	0	0,08	0,185	0,577	1,12
NO₃⁻ en mg/l	0	0,5	1	2,5	5

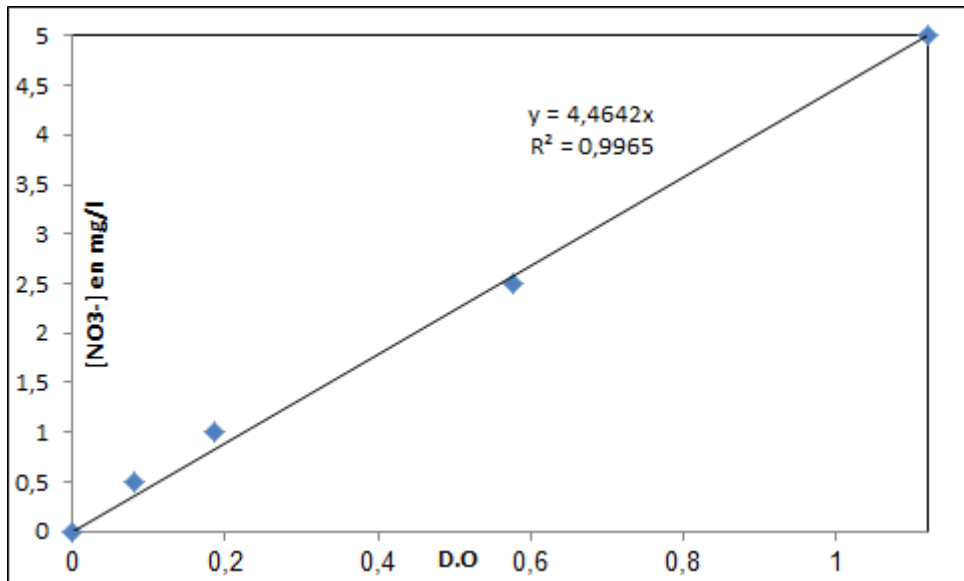


Figure : A.2.4 : Courbe d'étalonnage des nitrates

- Pour notre sol on a (DO=2.785) ce qui donne une concentration en nitrates C=13.46 mg/l.

Azote ammoniacal :

Tableau A.2.5 : Azote ammoniacal

DO	0	0,11	0,3	0,51	2,13	3,19
NH₄⁺ en mg/l	0	0,02	0,05	0,1	0,5	0,8

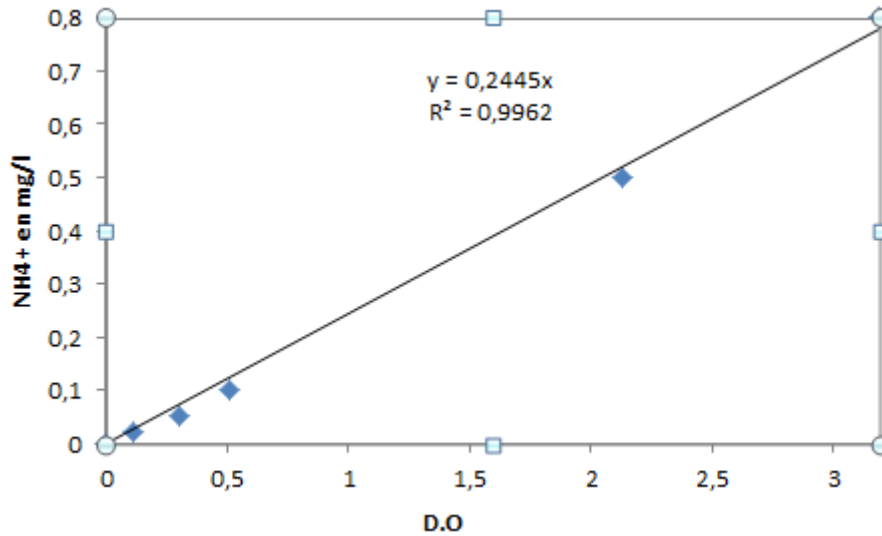


Figure A.2.5 : Courbe d'étalonnage de l'azote ammoniacal

- Pour notre sol on a (DO=0.392) ce qui donne une concentration en NH₄⁺ C=0.096 mg/l.

Phosphore

Tableau A.2.6 : Phosphore

DO	0	0,033	0,13	0,2	0,45	0,84
P en mg/l	0	0,015	0,03	0,06	0,12	0,24

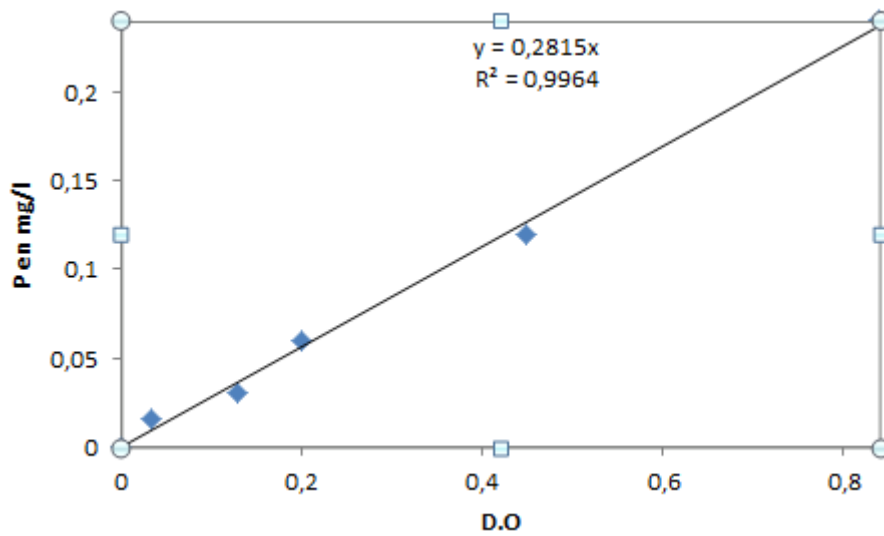


Figure A.2.6: Courbe d'étalonnage du phosphore

- Pour notre sol on a (DO=0.664) ce qui donne une concentration en phosphore $C=0.187$ mg/l.

Carbone organique

- Le virage du blanc se passe après un volume de 7 ml de la solution à titrer. ($y = 7$ ml).
- Le virage pour notre sol se passe à 5,5 ml de la solution ($x = 5,5$ ml).

La concentration en carbone organique est $C \% = (7-5,5)*0,615/0,5 = 1,84 \%$.

DCO :

Tableau A.2.7 : DCO

C (mg/l)	0	100	150	300	500	650	800
DO	0	0,55	1,1	1,65	2,3	3,2	4

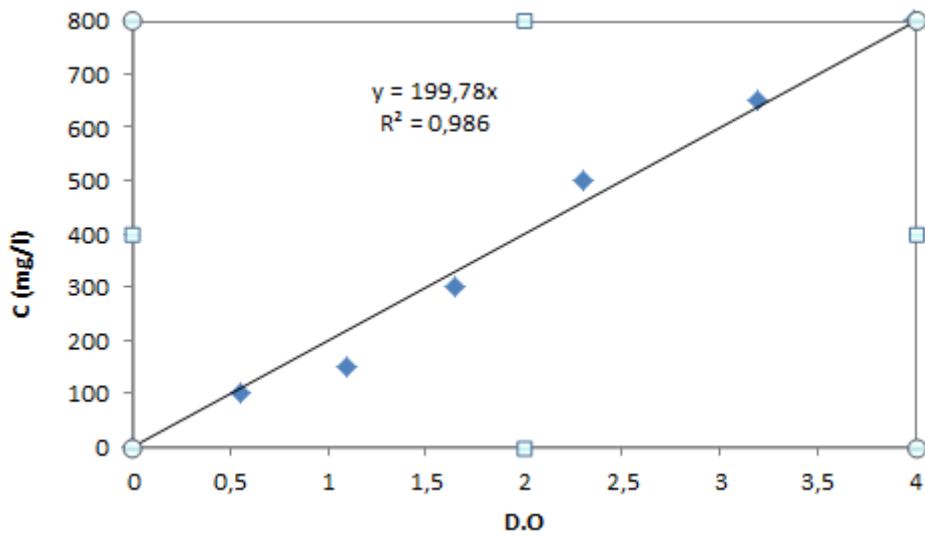


Figure A.2.7 : Courbe d'étalonnage de la DCO

Tableau A.2.8 : Comparaison entre la DCO et la concentration en gasoil du sol à différentes concentration de gasoil

	Gasoil + sol						
M gasoil injectée (g/Kgsol)	0	1	2	4	6	8	10
M1 Ballon	108,3	107,1	114,3	105,7	105	108,9	105,17
M0 Ballon	108,3	107,1	114,3	105,7	105	108,9	105,15
M gasoil/2 g sol	0	0,002	0,004	0,007	0,011	0,017	0,0185
M gasoil extraite (g/ kg sol)	0	0,85	1,75	3,45	5,55	8,35	9,25

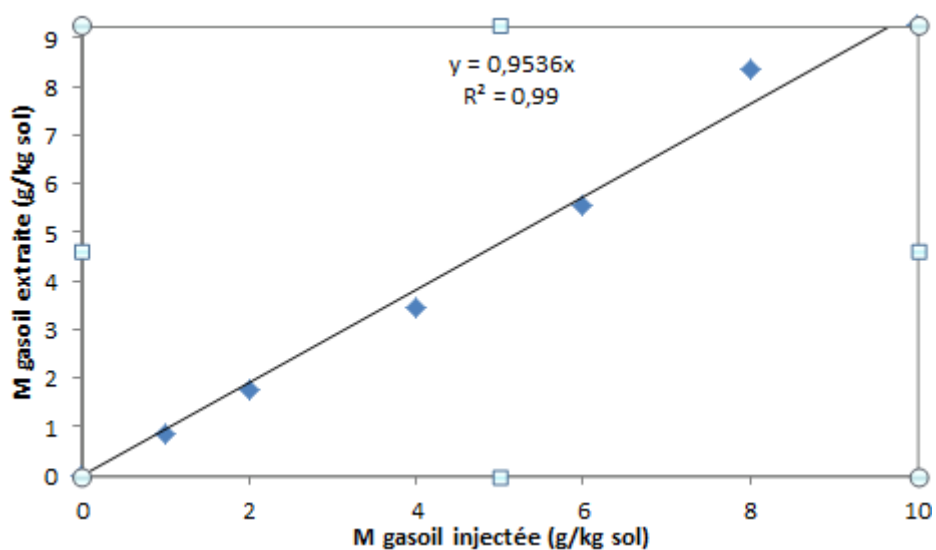


Figure A.2.8 : Comparaison entre la concentration de gasoil injectée et celle extraite dans le sol à différentes concentration de gasoil

Tableau A.2.9 : Comparaison entre la concentration de gasoil dans l'eau et sa DCO

Gasoil + eau							
M (g gasoil/l eau)	0	1	2	4	6	8	10
DCO (g O ₂ / l eau)	0	0,8	1,7	3,6	5,3	7,4	9,2

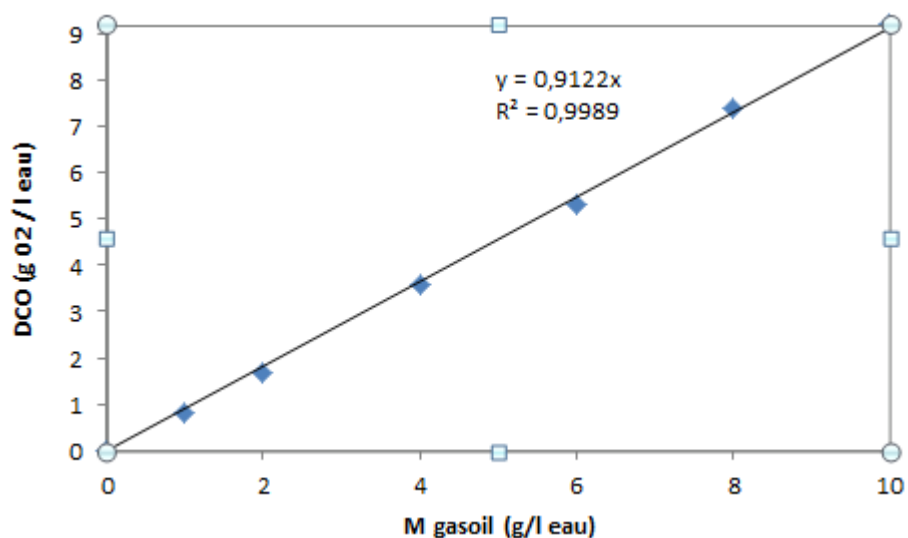


Figure A.2.9 : Comparaison entre la concentration de gasoil dans l'eau et sa DCO

Tableau A.2.10 : Comparaison entre la concentration de gasoil extraite du sol et la DCO du sol

GASOIL/DCO							
M gasoil injectée (g/Kg sol)	0	1	2	4	6	8	10
DCO (g O₂ / 100g sol)	1,63	1,79	1,86	1,98	2,14	2,32	2,49
M gasoil Extraite (g/2g sol)	0	0,002	0,004	0,007	0,011	0,015	0,0185
M gasoil Extraite (g/100g sol)	0	0,085	0,175	0,345	0,555	0,735	0,925

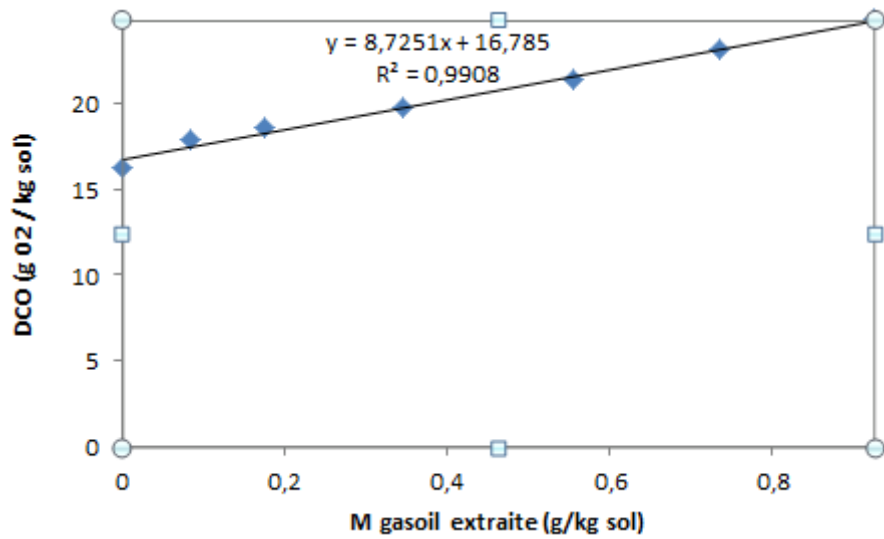


Figure A.2.10: Comparaison entre la concentration de gasoil extraite du sol et la DCO du sol

Cinétique de séchage aux différentes hauteurs du sol

Tableau A.2.11 : Cinétique de séchage du sol

T (min)	Hu%(H=0)	Hu%(H=10)	Hu% (H=20)
0	10	10	10
20	4,375	9,1	9,265
50	7,52	7,895	8,165
90	5,59	5,935	6,36
140	4,975	5,025	5,255
180	4,17	4,45	4,54
1440	2,545	2,6	2,75

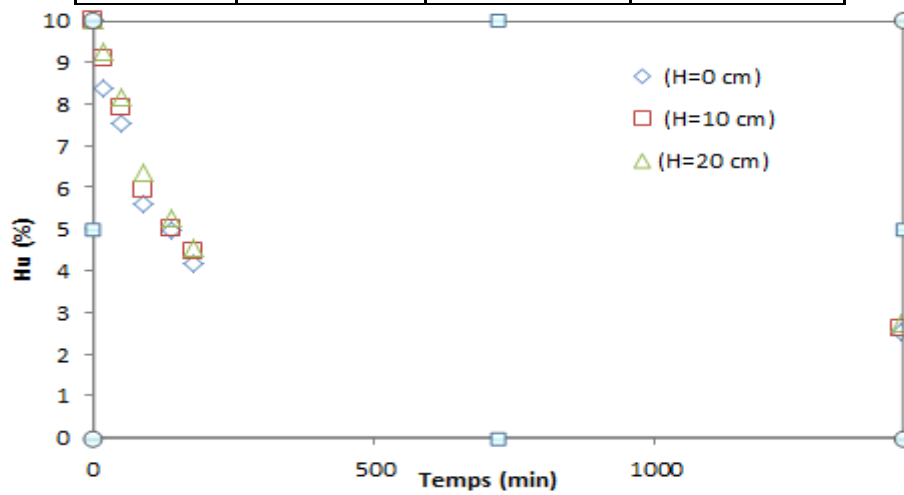


Figure A.2.11: Cinétique de séchage aux différentes hauteurs du sol à 20°C

ANNEXE 3 : Traitement des sols

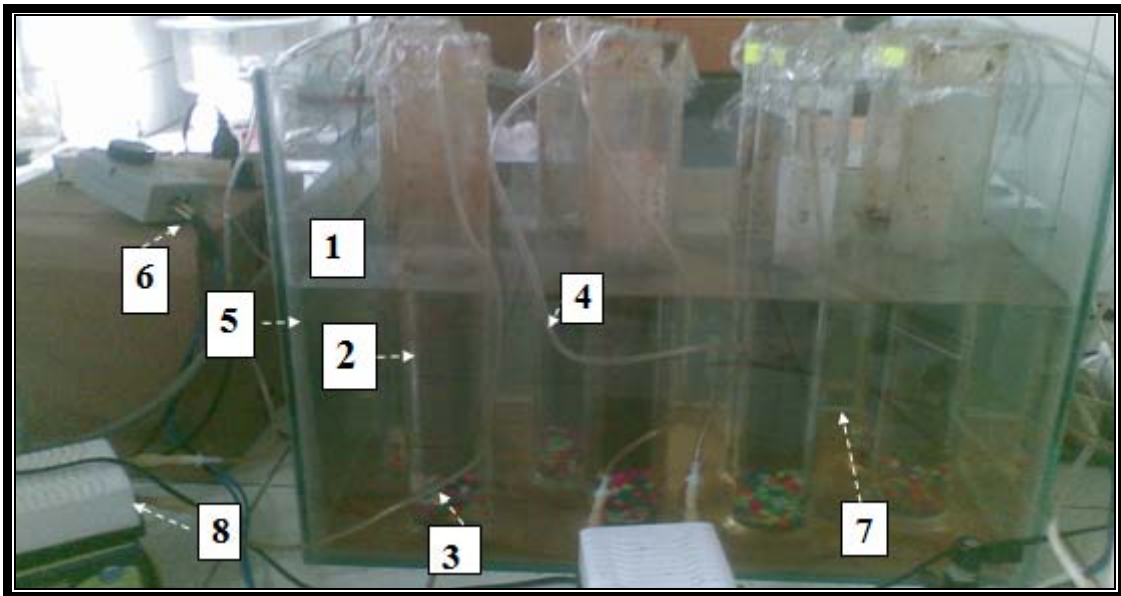


Figure A.3.1 : Systèmes utilisés pour le traitement des sols

Débits des pompes :

Tableau A.3.1 : Débits des pompes

Pompe	Q _{BAT} (cm ³ /min)		Q _{MOY} (cm ³ /min)		Q _{HAUT} (cm ³ /min)	
1	8,87	17,96	17,01	32,85	25,30	50,40
2	8,29	16,76	16,00	32,20	23,80	41,35
3	10,23	21,70	16,69	33,45	23,51	39,75
4	8,33	17,46	16,08	32,06	23,35	40,54

Annexes

Tableau A.3.2: Concentration du gasoil en fonction du temps dans les systèmes à différents rapports C/N/P.

JOURS	100/10/1 bio	100/20/1 bio	100/5/1 bio	60/2/1 bio	100/10/1 abio	100/20/1 abio	100/5/1 abio	60/2/1 abio
0	0,0091	0,009	0,0097	0,0089	0,0092	0,0091	0,0093	0,0094
7	0,0086	0,0087	0,0089	0,0082	0,0086	0,0089	0,0091	0,0088
11	0,0074	0,0074	0,0073	0,0072	0,0076	0,0076	0,0075	0,0077
16	0,006	0,0068	0,006	0,0069	0,0067	0,0071	0,0067	0,0071
19	0,0052	0,0058	0,005	0,0055	0,0064	0,0068	0,0064	0,0068
23	0,0051	0,0054	0,005	0,0049	0,0057	0,0064	0,0059	0,0061
26	0,0048	0,0049	0,005	0,0045	0,0053	0,0058	0,0053	0,0058
30	0,0042	0,0046	0,004	0,0039	0,0049	0,0055	0,0048	0,0046

Tableau A.3.3 : DCO des systèmes à différents rapports C/N/P en fonction du temps.

jour	100/10/1 bio	100/20/1 bio	100/5/1 bio	60/2/1 bio	100/10/1 abio	100/20/1 abio	100/5/1 abio	60/2/1 abio
0	2,5	2,6	2,55	2,5	2,45	2,65	2,5	2,45
7	2,45	2,5	2,35	2,45	2,4	2,55	2,4	2,4
11	2,35	2,3	2,2	2,3	2,3	2,45	2,3	2,35
16	2,2	2	1,85	1,95	2,25	2,3	2,25	2,3
19	1,95	1,85	1,7	1,8	2,15	2,2	2,15	2,25
23	1,45	1,4	1,25	1,35	2,1	2,15	2,1	2,15
26	1,35	1,3	1,15	1,25	2	2,1	2	2,05
30	1,2	1,2	1,1	1,15	1,95	2	1,95	2

Tableau A.3.4 : Evolution de la biomasse au cours du temps dans les systèmes à différents rapports C/N/P

jour	100/10/1bio	100/20/1bio	100/5/1bio	60/2/1bio
0	3×10^3	3×10^3	3×10^3	3×10^3
7	7×10^4	2×10^5	10^5	3×10^4
11	5×10^5	2×10^5	2×10^6	3×10^5
16	4×10^6	4×10^6	7×10^6	6×10^5
19	10^7	2×10^7	4×10^7	10^7
23	9×10^6	4×10^6	4×10^6	2×10^6
26	7×10^4	2×10^4	2×10^5	10^4
30	6×10^3	10^3	4×10^3	8×10^2

Tableau A.3.5 : Evolution de la matière sèche pour les systèmes à différents rapports C/N/P au cours du temps

jour	100/10/1 bio	100/20/1 bio	100/5/1 bio	60/2/1 bio	100/10/1 abio	100/20/1 abio	100/5/1 abio	60/2/1 abio
0	0,0066	0,0051	0,006	0,0057	0,0023	0,0019	0,002	0,0007
7	0,0073	0,0071	0,0085	0,0063	0,0026	0,007	0,0021	0,0013
11	0,0062	0,0085	0,0144	0,0073	0,001	0,0028	0,0013	0,004
16	0,0083	0,0096	0,0156	0,0075	0,0012	0,004	0,0036	0,0009
19	0,0087	0,0098	0,0194	0,0087	0,0032	0,0019	0,0029	0,0033
23	0,0064	0,0083	0,0113	0,0051	0,0014	0,0023	0,0012	0,002
26	0,0049	0,007	0,0094	0,0047	0,0024	0,0011	0,0014	0,0016
30	0,0035	0,0054	0,0079	0,0044	0,0012	0,0025	0,002	0,0021

Taux de croissance maximal

Le taux de croissance maximal est déterminé à partir des pentes des droites moyennes représentées par $\ln(X/X_0) = f(t)$ de la phase exponentielle de la croissance bactérienne.

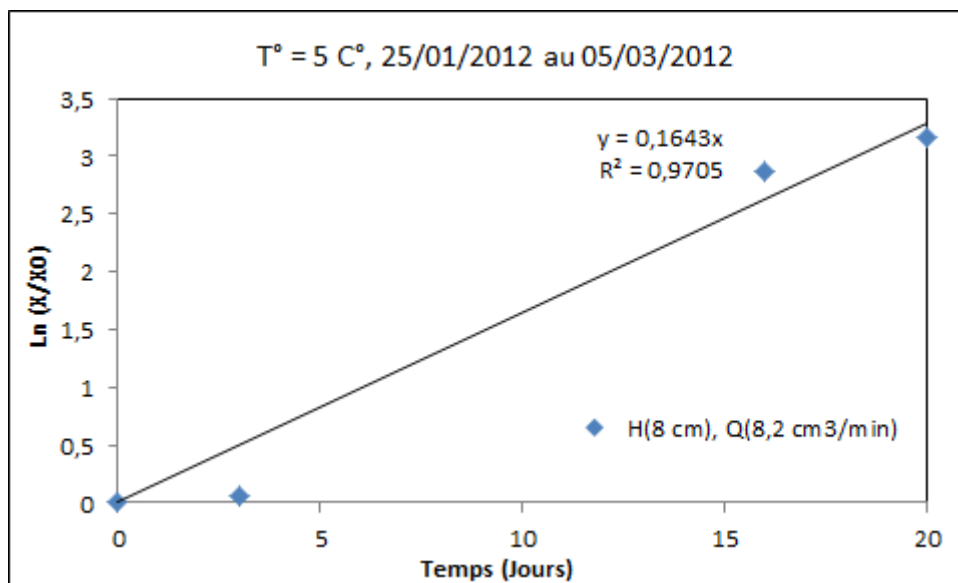


Figure A.3.2: Evolution temporelle du taux de croissance bactérien pour le système H Q avec le sol

S1

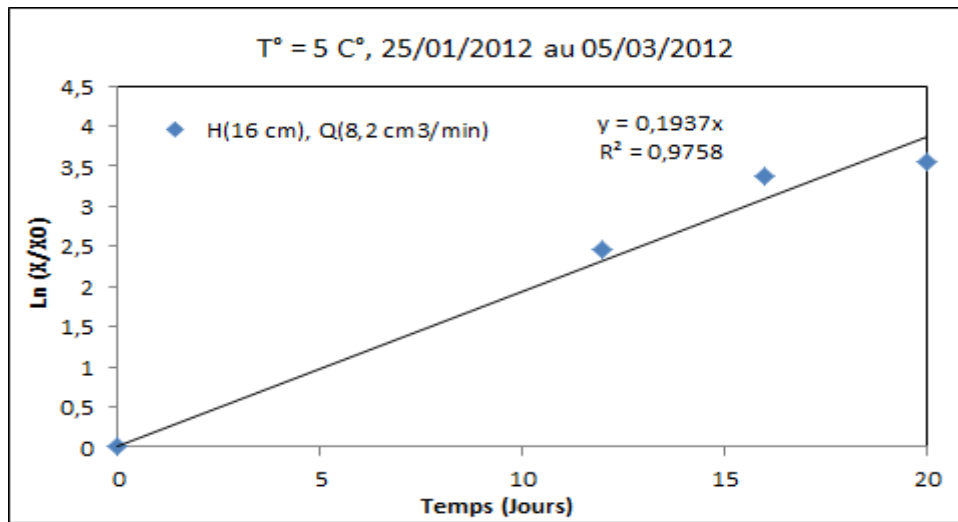


Figure A.3.3: Evolution temporelle du taux de croissance bactérien pour le système 2H Q avec le sol S1

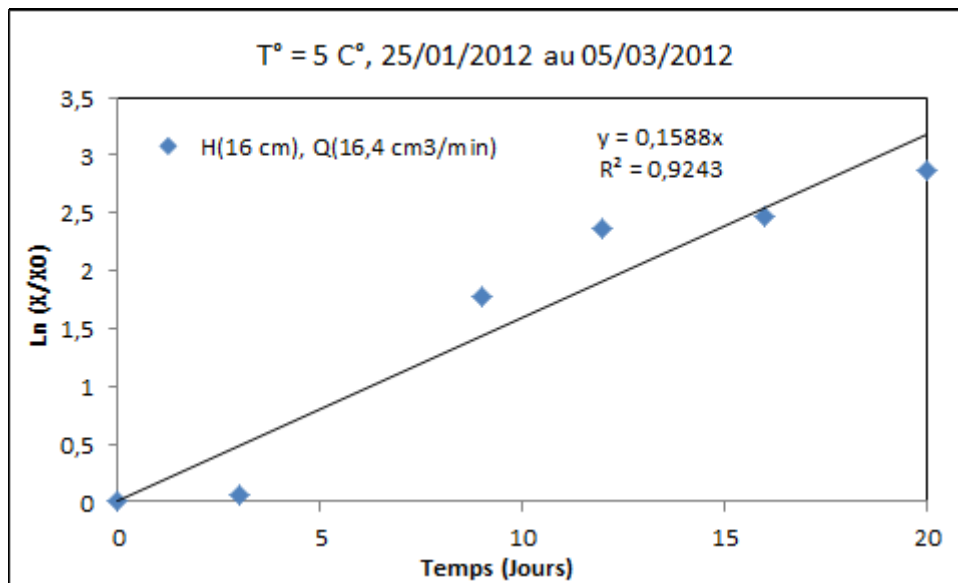


Figure A.3.4 : Evolution temporelle du taux de croissance bactérien pour le système 2H 2Q avec le sol S1

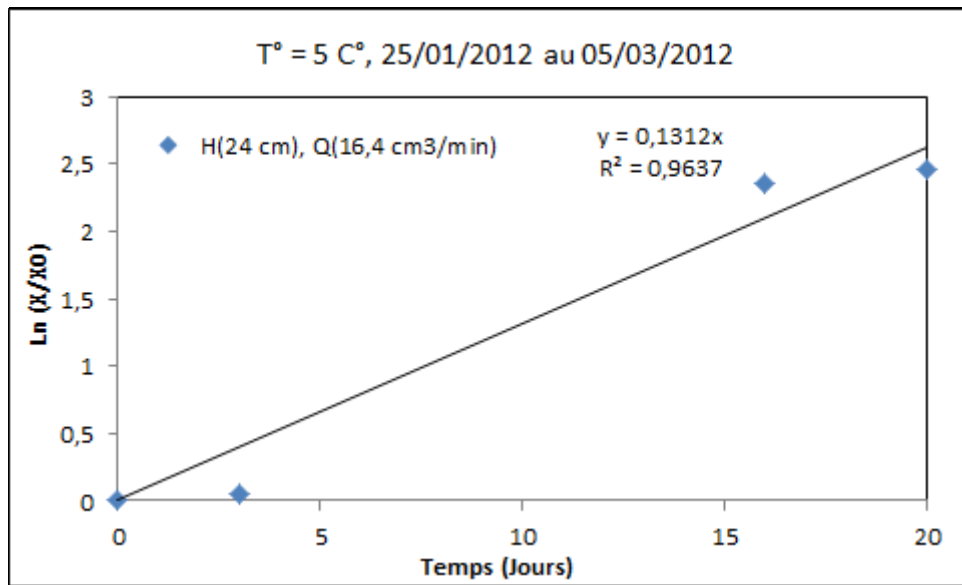


Figure A.3.5: Evolution temporelle du taux de croissance bactérien pour le système 3H 2Q avec le sol S1

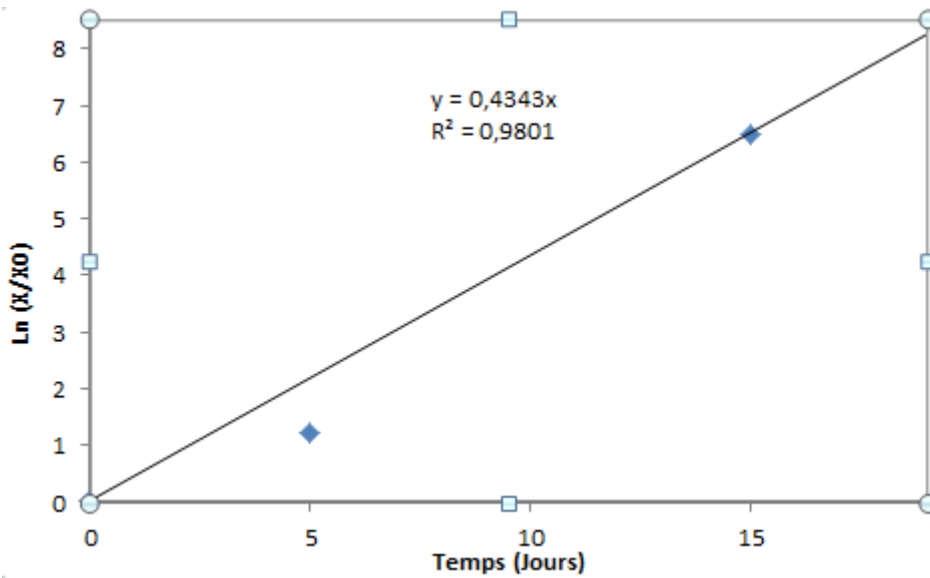


Figure A.3.6: Evolution temporelle du taux de croissance bactérien pour le système HQ avec le sol S2.

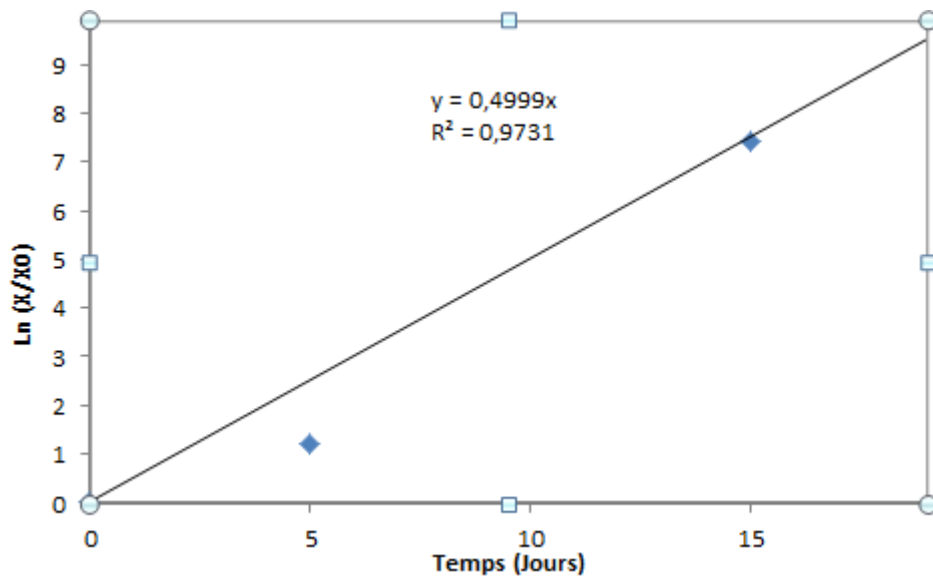


Figure A.3.7: Evolution temporelle du taux de croissance bactérien pour le système 2H Q avec le sol S2

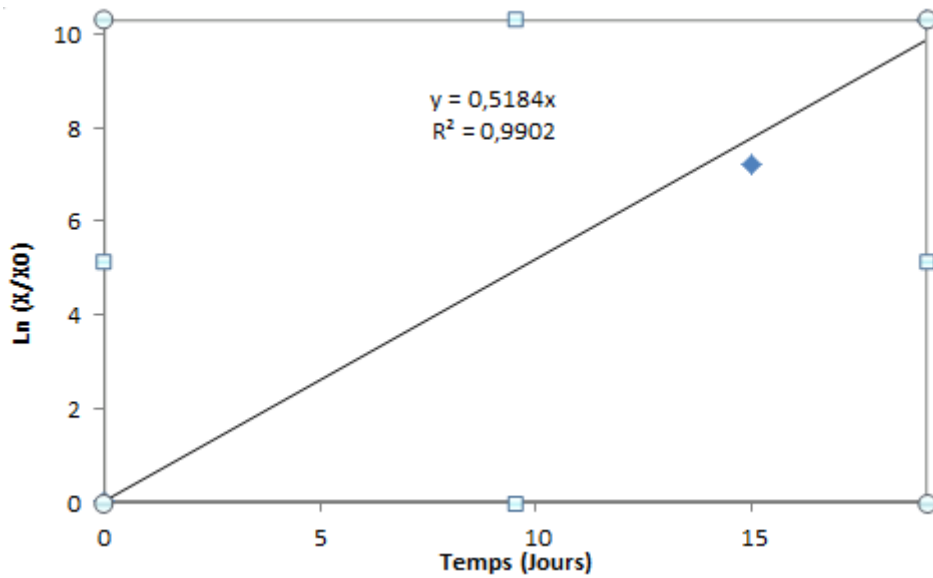


Figure A.3.8: Evolution temporelle du taux de croissance bactérien pour le système 2H 2Q avec le sol S2.

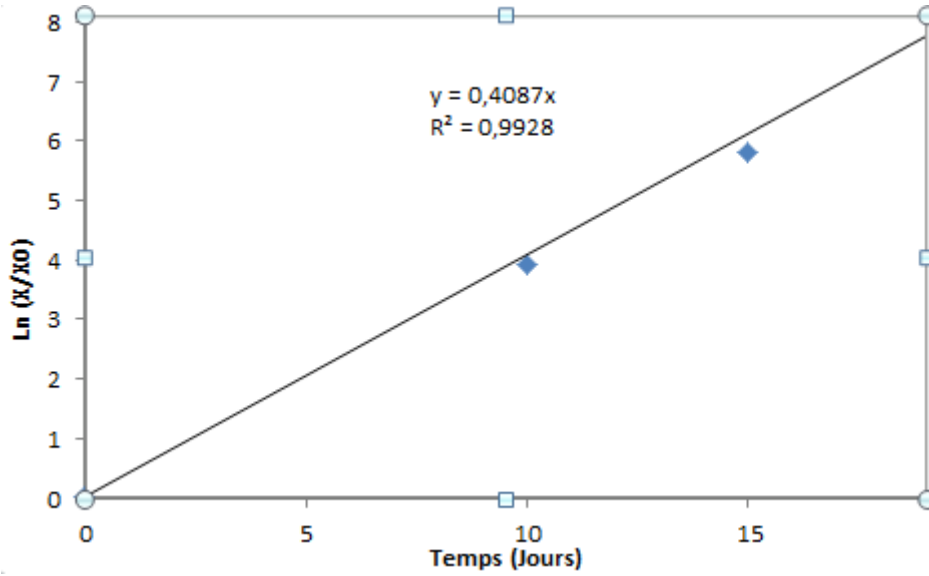


Figure A.3.9: Evolution temporelle du taux de croissance bactérien pour le système 3H 2Q avec le sol S2.

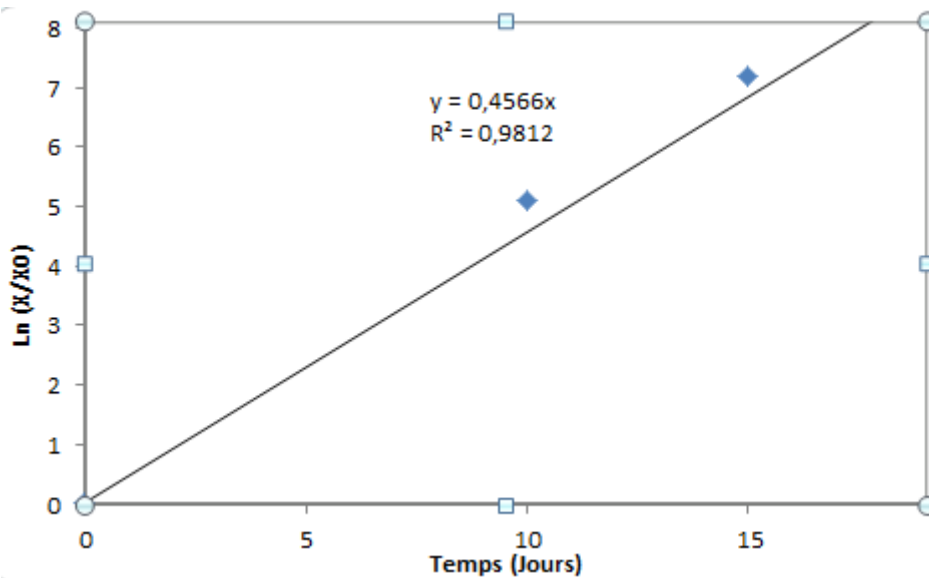


Figure A.3.10: Evolution temporelle du taux de croissance bactérien pour le sol S2 biotique 100/10/1.

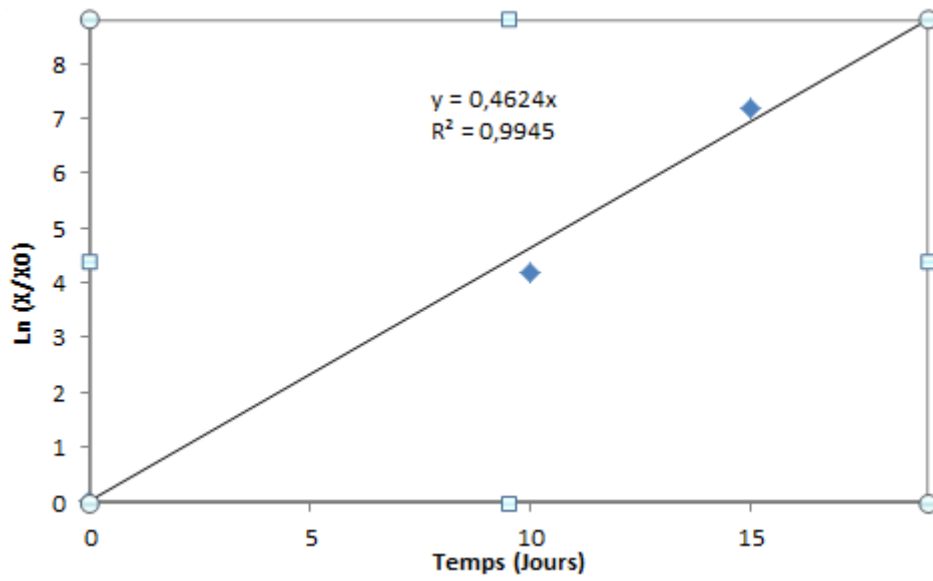


Figure A.3.11: Evolution temporelle du taux de croissance bactérien pour le sol S2 biotique 100/20/1.

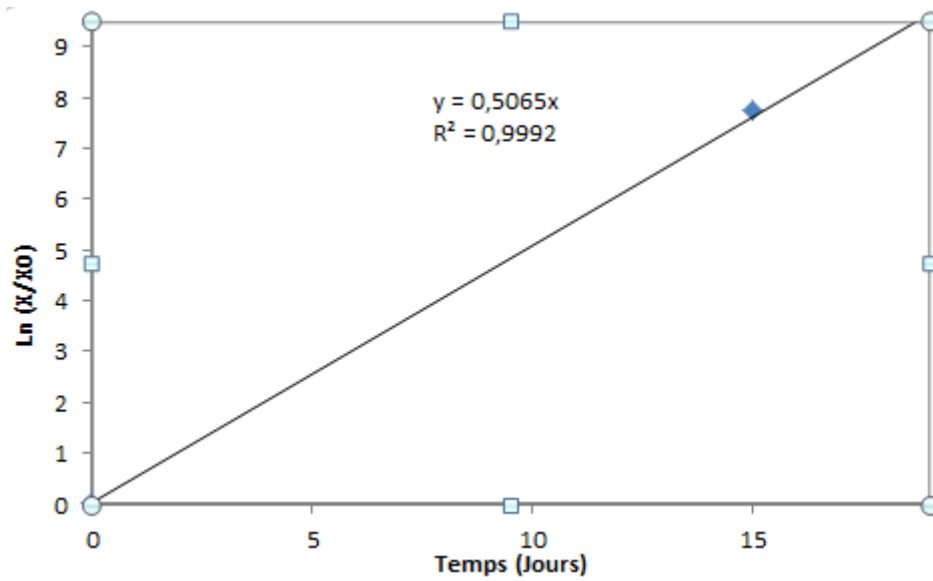


Figure A.3.12: Evolution temporelle du taux de croissance bactérien pour le sol S2 biotique 100/5/1.

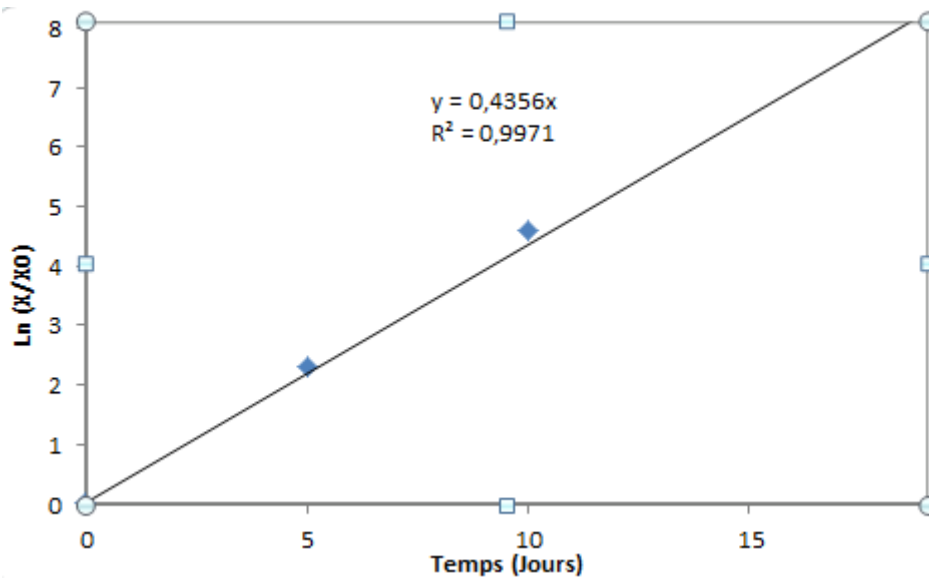


Figure A.3.13: Evolution temporelle du taux de croissance bacterien pour le sol mélange biotique 60/2/1.