

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

Département de Génie de l'Environnement



Projet de Fin d'Etudes

En vue de l'obtention du Diplôme
d'Ingénieur d'Etat en Génie de l'Environnement

THEME

La dégradation biologique d'un sol
contaminé par les hydrocarbures

Proposé par
J. Arrar

Dirigé par
J. Arrar & Aek Namane

Etudié par
Wassila Belhabib

Soutenu le /12/ 2000

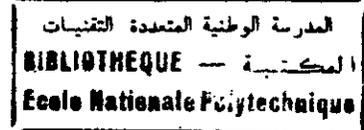
Devant le jury composé de :

Me K.M.MOUSSAOUI
Mle J.ARRAR
M. A. NAMANE
Me N.ABDI
Me .S.BOUCHTAOUI
M. H.GRIB

Présidente
Promotrice
Promoteur
Examinatrice
Examinatrice
Examinateur

1999/2000

Dédicaces



A mes parents

Eux qui se sont sacrifiés corps et âme pour m'offrir le repos et le bonheur .

Eux qui par leur présence à mes côtés ont rendu chaque moment de ma vie un merveilleux passage dans le temps .

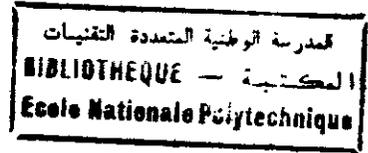
Pour leur éducation qu'ils m'ont inculquée, pour leur soutien moral et matériel dont j'ai bénéficié à chaque fois que j'en ai eu besoin, pour l'amour, la patience et dévouement qu'ils m'ont insufflés, pour leur énorme sacrifice, très chers parents je ne vous remercierai jamais assez pour vos actes .

A mes très chère sœur Assia, ainsi qu'à mes frères Yacine, Nabil, Abdeslam, et surtout à Mehdi.

A tout (es) mes amis (es) et en particulier ceux (celles) de la promotion 2000 .

B.WASSILA.

Remerciement



Nombreux ont été ceux qui m'ont permis par leur aide et leur clairvoyance de mener à bien ce travail, à tous je tiens à exprimer ma totale reconnaissance .

*J'exprime ma profonde gratitude et les remerciements les plus sincères à mes promoteurs Melle **J.ARRAR** et Mr **A.NAMANE** qui m'ont permis de travailler dans les meilleures conditions au laboratoire, et pour avoir été disponibles tout au long de cette étude*

*J'adresse mes remerciements les plus chaleureux à Mme **K.BOUTMEUR** chef de service environnement du C.R.D. SONATRACH qui nous a permis d'effectuer avec toutes facilités nos analyses au sein de leur structure .*

*J'exprime ma profonde reconnaissance à Mr **H.GRIB** et Mr **H.LOUNICI** pour m'avoir fait bénéficier de leur savoir et expérience et de leur soutien scientifique durant mon travail.*

*Un énorme remerciement assez particulier que j'adresse à Mme **N.ABDI** pour son aide, son amabilité, sa gentillesse et surtout pour ses encouragements .*

*J'adresse mes remerciements à Mme **K.M.MOUSSAOUI** pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant de présider le jury de ma soutenance .*

Je remercie également tout le corps enseignant de la spécialité pour avoir contribué à ma formation .

A toutes ces personnes, et à celles que par mégarde j'aurais pu oublier, qu'ils trouvent ici l'expression de ma gratitude et toutes mes considérations les plus sincères .

الهدف من هذه الدراسة يكمن في معالجة التربة الملوثة بالهيدروكربونات بطريقة بيولوجية داخل مفاعل بيولوجي مع تهوية ورج الخليط وتحسين العوامل المحيطة بالتربة مثل : درجة الحرارة ، تركيز الأكسجين ، كمية المواد المغذية (الأوت و الفوسفور). أولا سنقوم بمعالجة التربة الملوثة بالهيدروكربونات بالبكتيريا الأصلية الموجودة في التربة ثانيا سنقوم بالمعالجة بواسطة البكتيريا الأصلية مضاف إليها بكتيريا مخصصة بتدهور الهيدروكربونات

Résumé

le but de ce travail consiste à étudier la biodégradabilité des sols contaminés par les hydrocarbures, dans un réacteur biologique triphasé, aéré et muni d'un agitateur et à optimiser les facteurs critiques régissant l'environnement des micro-organismes dans le sol tels que le pH, la température, la teneur en oxygène, la dose et la nature des nutriments.

En premier lieu, une dégradation a été effectuée par les micro-organismes autochtones du sol, sans aucun apport extérieur, et en deuxième lieu il a été procédé à une biodégradation par les micro-organismes autochtones du sol avec un ajout d'un inoculum bactérien spécifique à dégrader les hydrocarbures et de comparer les performances liées à la bioaugmentation.

Abstract

the object of this work has consisted in the study of the biodegradability of soils which were contaminated by hydrocarbons in an aired bioreactor, provided with agitator and to optimise the critical factors governing the environment of micro-organisms in the soil such as: the pH, the temperature, the content in oxygen, the dose and nature of nutrients.

in a first step, a degradation has been accomplished by autochtones micro-organismes, while in a second step, biodegradability has been conducted by autochtones micro-organismes to which was added a specific to degrade the hydrocarbons.

finally, we compared the performances which are related to biogrowth.



Mots clés

Bioréacteur, COT, biostimulation, bioaugmentation

Keywords

Bioreactor, COT, biostimulation, biogmentation

كلمات المفاتيح

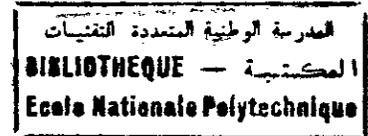
مفاعل بيولوجي، الكربون العضوي الكلي، معالجة بالبكتيريا الأصلية، معالجة بالبكتيريا الأصلية، مضاف إليها. بكتيريا مخصصة في تدهور الهيدروكربونات

ABREVIATIONS



- a : aire interfaciale
- $k_L a$: coefficient de transfert partiel du coté liquide
- $k_g a$: coefficient de transfert partiel du coté gaz
- K : constante de vitesse de dégradation
- X : concentration cellulaire
- X_0 : concentration cellulaire au temps $t=0$
- dX/dt : vitesse de reproduction
- μ : vitesse spécifique de croissance
- μ_m : taux de croissance maximum
- $[HC]$: concentration en hydrocarbures
- $[HC]_0$: concentration en hydrocarbures au temps $t=0$
- $^{\circ}C$: degré CELSUS
- $R1$: premier réacteur
- $R2$: deuxième réacteur
- t : temps en secondes
- Ln : logarithme Népérien
- tr/ min : tours/ minute
- Va : vitesse d'agitation
- C_L : concentration en oxygène dans la phase liquide
- C_0^g : concentration en oxygène à l'instant $t=0$

Liste des figures



- **Figure IV.1 :** Courbe de croissance microbienne
- **Figure IV.2 :** Bioventilation
- **Figure IV.3 :** Epanchage contrôlé
- **Figure IV.4 :** Traitement en biopile
- **Figure V.1 :** Assimilation des n-alcanes
- **Figure V.2 :** Mécanisme de biodégradation d'un aromatique
- **Figure VI.1 :** L'installation expérimentale
- **Figure VI.2 :** L'observation microscopique des deux souches après une coloration de gram
- **Figure VI.3 :** Evolution de la concentration en oxygène dans la phase liquide en l'absence de diffuseur
 - **Figure VI.4 :** Evolution de $\ln(C^*-C_0)/(C^*-C_L)$ en l'absence de diffuseur
 - **Figure VI.5 :** Evolution de la concentration en oxygène dans la phase liquide pour un seul diffuseur
 - **Figure VI.6 :** Evolution de concentration en oxygène dans la phase liquide pour deux diffuseur
 - **Figure VI.7 :** Evolution de $\ln(C^*-C_0)/(C^*-C_L)$ en fonction du temps pour un seul un diffuseur
 - **Figure VI.8 :** Evolution de $\ln(C^*-C_0)/(C^*-C_L)$ en fonction du temps pour deux diffuseurs
 - **Figure VI.9 :** Evolution de la teneur en nitrates dans les deux réacteurs
 - **Figure VI.10 :** Evolution de la teneur en azote ammoniacal dans les deux réacteurs
 - **Figure VI.11 :** Evolution de la teneur en nitrites dans les deux réacteurs
 - **Figure VI.12 :** Evolution de la teneur en phosphore dans les deux réacteurs R1 et R2
 - **Figure VI.13 :** Evolution de la teneur en oxygène dissous dans les deux réacteurs R1 et R2
 - **Figure VI.14 :** Evolution de la croissance microbienne dans les deux réacteurs R1 et R2
 - **Figure VI.15 :** Représentation de $\ln(X/X_0)$ en fonction du temps dans le réacteur R1
 - **Figure VI.16 :** Représentation de $\ln(X/X_0)$ en fonction du temps dans le réacteur R2
 - **Figure VI.17 :** Evolution de la teneur en hydrocarbures dans la phase solide dans les deux réacteurs
 - **Figure VI.18 :** Evolution du rendement d'élimination des hydrocarbures dans la phase solide dans les deux réacteurs
 - **Figure VI.19 :** Evolution de la teneur en hydrocarbures dans la phase liquide dans les deux réacteurs
 - **Figure VI.20 :** Evolution du rendement d'élimination des hydrocarbures contenus dans la phase liquide en % dans les deux réacteurs
 - **Figure VI.21 :** Représentation de $\ln[HC]_0/[HC]$ dans la phase solide dans les deux réacteurs
 - **Figure VI.22 :** Représentation de $\ln[HC]_0/[HC]$ dans la phase liquide dans R1
 - **Figure VI.23 :** Représentation de $\ln[HC]_0/[HC]$ dans la phase liquide dans R2
 - **Figure VI.24 :** L'évolution du carbone organique total dans la phase solide dans les deux réacteurs
 - **Figure VI.25 :** Evolution du carbone organique total dans la phase liquide dans les deux réacteurs

Liste des tableaux



• **Tableau I.1 :** Valeurs maximales des paramètres de rejets des installations de déversement en ALGERIE

- **Tableau I.2 :** Normes hollandaises de qualité des sols
- **Tableau II.1 :** Les effets toxicologiques de quelques familles d'hydrocarbures
- **Tableau III.1 :** Les principales marées noires en Europe
- **Tableau IV.1 :** Les coûts d'exploitation
- **Tableau IV.2 :** Avantages et inconvénients des méthodes thermiques
- **Tableau IV.3 :** Avantages et inconvénients de la méthode de lavage
- **Tableau IV.4 :** Les techniques de traitements physico-chimiques
- **Tableau IV.5 :** Nutriments recommandés
- **Tableau IV.6 :** Avantages et inconvénients des procédés biologiques
- **Tableau IV.7 :** Avantages et inconvénients de la phytoremediation
- **Tableau V.1 :** Analyses granulométrique
- **Tableau V.2 :** Les caractéristiques physico-chimiques
- **Tableau V.3 :** Caractéristiques des souches identifiées dans le sol
- **Tableau V.4 :** Evolution de concentration en oxygène C_L sans aération
- **Tableau V.5 :** Evolution de $k_L a$ en fonction de la vitesse d'agitation sans diffuseur
- **Tableau V.6 :** Evolution de $k_L a$ en fonction de la vitesse d'agitation avec diffuseur

SOMMAIRE

Introduction.	1
Présentation de l'étude.	2

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Généralités sur le sol

I.1 .Définition.	3
I.2. Caractéristiques du sol.	3
I.2.1. Texture.	3
I.2.2. Porosité.	3
I.2.3. Pouvoir absorbant.	3
I.2.4. Activité microbienne des sols.	4
I.3. Les phénomènes de rétention dans le sol.	4
I.4. La pollution du sol.	5
I.5. Les principaux polluants dans le sol.	5
I.5.1. Les éléments traces.	6
I.5.2. Les nitrates et les engrais.	6
I.5.3. Les sels de sodium.	6
I.5.4. Les pesticides.	6
I.6. Normes et réglementations en matières de protection des sols.	7

Chapitre II: Généralités sur les hydrocarbures

II.1. Définition.	10
II.2. Classification des hydrocarbures.	10
II.2.1. Hydrocarbures saturés.	10
II.2.2. Hydrocarbures insaturés.	11
II.2.3. Hydrocarbures aromatiques.	11
II.2.4. Hydrocarbures asphaltiques.	11
II.3. Principales propriétés physico-chimiques des hydrocarbures.	11
II.3.1. Propriétés physico-chimiques.	11
II.3.2. autres paramètres.	11
II.4. Phénomènes de migration des hydrocarbures pétroliers.	11
II.5. Comportement des hydrocarbures déversés dans un milieu aquifère.	11
II.6. Toxicité vis à vis de l'homme.	12

Chapitre III: Exploitation des hydrocarbures

III.1. L'industrie pétrolière et la pollution des sols.	14
III.2. Incidences de l'industrie de l'énergie sur l'environnement.	14
III.2.1. Unité de forage.	14
III.2.2. Traitement des hydrocarbures.	15
III.2.3. Transport des hydrocarbures.	15
III.2.4. Stockage.	15

Chapitre IV: Les techniques de réhabilitation des sols contaminés par les hydrocarbures

IV.1. Procédés thermiques.	17
IV.2. Procédés physico-chimiques.	17
IV.2.1. La stabilisation / solidification.	18
IV.2.2. Le lavage.	18
IV.3. Procédés biologiques.	19
IV.3.1. Principes de bases des bioprocédés : (la bioremediation).	19
IV.3.2. Facteurs influençant la biodégradation des hydrocarbures.	21
IV.3.3. La croissance microbienne.	24
IV.4. Traitements mis en œuvre.	26
IV.4.1. Traitements in-situ.	26
IV.4.2. Traitements ex-situ.	28
IV.5. Traitements en cours de développement.	31
IV.5.1 La phytoremediation.	31

Chapitre V: Assimilation des hydrocarbures

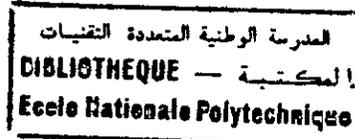
V.1. Assimilation des n-alcanes.	34
V.2. Assimilation des alcanes ramifiés.	34
V.3. assimilation des alcènes.	35
V.4. Assimilation des cycloparaffines.	35
V.5. Assimilation des aromatiques.	35
V.5.1. Caractères généraux.	35
V.5.2. Voies métaboliques.	35

Chapitre VI: Partie expérimentale

VI.1. Description de l'installation expérimentale.	37
VI.1.1. Réacteur.	37
VI.2. Etude du sol.	38
VI.2.1. Echantillonnage.	38
VI.2.2. Analyse granulométrique.	38
VI.2.3. Préparation du sol.	38
VI.3. Caractéristiques du sol.	39
VI.3.1. Caractéristiques physico-chimiques du sol.	39
VI.4. Caractéristiques biologiques du sol.	40
VI.5. Optimisation du débit d'air et de la vitesse d'agitation.	43
VI.6. Résultats expérimentaux et interprétations.	45
VI.6.1. Influence de la vitesse d'agitation.	45
VI.6.2. Influence de l'aération.	47
VI.6.3. Influence de la présence du solide sur le coefficient de transfert.	49
VI.7. Traitement en bioréacteur.	51
VI.8. Evolution de la teneur en azote.	52
VI.9. Evolution de la teneur en phosphore.	55
VI.10. Evolution de la concentration en oxygène dissous.	56

VI.11. Evolution de la croissance bactérienne dans les deux réacteurs R_1 et R_2	
VI.12. Détermination du taux de croissance maximum dans les deux réacteurs.	58
VI.13. Evolution de la teneur en hydrocarbures.	59
VI.14. Détermination de la cinétique de dégradation des hydrocarbures.	62
VI.15. Evolution du carbone organique total.	64
Conclusion	65
Bibliographie	

Introduction



La pollution de la biosphère issue du développement industriel porte atteinte à la pérennité des espèces animales et végétales qui la peuplent et compromet aussi l'avenir de l'humanité en dilapidant des ressources naturelles irremplaçables, et de façon plus perverse à cause de la contamination par les polluants toxiques tels que les hydrocarbures .

L'évolution de la politique d'industrialisation et celle relative à la protection de l'environnement ne suivent pas le même rythme. Parmi les grandes industries polluantes recensées des sols, des eaux souterraines et de surface : c'est l'industrie du pétrole qui pose de grands problèmes à tous les niveaux, depuis son exploitation jusqu'au transport de ce dernier .

Le nombre de sites industriels pollués ne cesse de croître et la réhabilitation de ces sites constitue un souci majeur d'actualité .

Les techniques de réhabilitation des sols utilisées jusqu'à présent concernent principalement des technologies faisant appel à des traitements thermiques et physico-chimiques pour restaurer les sites contaminés. Ces techniques s'avèrent très efficaces mais ne répondent pas à un processus économique viable ..

Enfin d'autres technologies comme les bio-procédés sont utilisés pour la réhabilitation des sols.. Elles ont l'avantage d'une part, de préserver et de restaurer la fertilité du sol et d'autre part, tiennent compte de la protection des écosystèmes .

Malgré la simplicité du procédé, la multiplicité des paramètres à maîtriser impose une démarche spécifique prenant en compte la nature des sols pollués et la biodisponibilité des polluants .

Présentation de l'étude

L'industrie pétrolière est le principal responsable de la pollution ; un nombre important de sites pollués par les hydrocarbures pétroliers n'a cessé d'augmenter où le risque de contamination des nappes phréatiques n'est pas à exclure, vu qu'elles se trouvent à des profondeurs moyennes de 20 à 200 m, donc très exposées aux infiltrations .

Dans le but de préserver ces nappes , notre choix s'est porté sur le traitement des sols contaminés par les hydrocarbures par un bioprocédé.

A cet effet , un réacteur biologique triphasé a été utilisé .

La première partie de notre étude est consacrée à l'optimisation de vitesse d'agitation avec et sans diffuseur d'air à injecter pour permettre une bonne circulation du mélange réactionnel aéré dans le bioréacteur .

En deuxième partie nous avons suivi l'évolution des paramètres environnementaux dans le bioréacteur selon deux essais :

- 1^{er} essai : une biostimulation : c'est la dégradation des hydrocarbures par les micro-organismes autochtones du sol avec apport en nutriments .*
- 2^{eme} essai : une bioaugmentation : c'est la dégradation des hydrocarbures par les micro-organismes autochtones du sol ,avec un ajout d'inoculum de micro-organismes spécifiques à dégrader les hydrocarbures .*

Les objectifs de ces essais sont les suivants :

- 1. Evaluer la capacité de biodégradation des micro-organismes autochtones.*
- 2. Evaluer le potentiel d'augmentation de la vitesse de biodégradation par l'ajout d'inoculum microbien spécifique à la dégradation des hydrocarbures .*

**PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE**

CHAPITRE I
GENERALITES SUR LE SOL

I.1.DEFINITION

Le sol a été défini comme la partie de la croûte terrestre où la géologie et la biologie se rencontrent. Le sol est en effet un milieu vivant sur un support organique et minéral solide. Le sol renferme des matières minérales et organiques, de l'eau libre qui transite dans les espaces interparticulaires ou qui est absorbée à la surface de ces particules, des gaz circulants et enfin une phase biologique constituée de formes végétales et animales supérieures et de micro-organismes [1].

Le sol est défini aussi comme étant le tampon et le filtre entre la phase gazeuse (atmosphère) et la phase liquide (eau). Les caractéristiques du sol varient très largement suivant le lieu, le climat, la profondeur,etc.

I.2. CARACTERISTIQUES DU SOL

Le sol est formé d'éléments solides de taille variée allant de fragments grossier à des particules très fines dites colloïdales, sa structure est définie par l'agencement des éléments les uns par rapport aux autres.

I.2.1. Texture :

La texture d'un sol est lié à son pourcentage en sable grossier et fin, en limons, en argile, en humus et en calcaire et qui se mesure par l'analyse granulométrique.

Quatre grands ensembles de texture de sol sont définis :

- ❖ Texture fine ou argileuse.
- ❖ Texture sableuse.
- ❖ Texture limoneuse.
- ❖ Texture équilibrée.

A titre d'exemple, un sol constitué de 70%de sable, de 20% d'argile et de 10% de limon à une texture argileu-sableuse [2].

I.2.2. Porosité :

C'est le pourcentage d'espace vide par unité de volume du sol. Dans un sol la mobilité des contaminants est affectée par la taille des pores et les propriétés de l'eau et de l'air dans ces pores [3].

I.2.3. Pouvoir absorbant :

Un sol est caractérisé par sa capacité d'adsorption, c'est-à-dire par le pouvoir que possède le complexe argilo-humique de fixer énergiquement à sa surface des ions minéraux provenant de la solution du sol.

Certaines argiles impliquent une grande capacité d'échange ionique selon leurs charges[2]. Ainsi, la nature électrostatique du sol a une influence très importante sur la rétention des constituants organiques.

I.2.4. Activité microbienne des sols :

Les caractéristiques biologiques des sols dépendent de la nature de la matière organique. L'humus, mélange variable et dynamique, représente toutes les étapes de la décomposition de la matière organique dans le sol, il y apporte des micro-organismes et constitue ainsi le substrat idéal qui contribue à leur développement. Il fait ainsi du sol un milieu vivant [2].

I.3. LES PHENOMENES DE RETENTION DANS LE SOL

Les particules élémentaires du sol, généralement liées entre elles par des forces électrostatiques de Van Der waals, forment des agrégats plus ou moins volumineux, groupés en unités structurales de plus grandes dimensions (macro-agrégats ou grumeaux), pour constituer l'édifice structural du sol[3] [4].

La structure du sol est très variée, mais l'unité fondamentale demeure toujours l'agrégat.

En fait, les agrégats tendent à diminuer l'activité microbienne dans le sol de manière indirecte, par un ralentissement de la diffusion de l'oxygène à l'intérieur de l'unité structurale et par la protection mécanique des substrats qu'elle renferme. Toutefois, la réduction des agrégats dans le sol rend l'apport de nutriments et de l'oxygène plus accessible aux micro-organismes.

La capacité de rétention des polluants par le sol est définie comme étant la capacité à retenir, à neutraliser, à adsorber, à atténuer et essentiellement à immobiliser un contaminant véhiculé par un liquide.

La rétention des contaminants est associée à trois mécanismes principaux :

- **adsorption physique :**
 - Adsorption à l'intérieur d'agrégats de fines particules.
 - Adsorption autour de grains individuels.
- **chimisorption**
- **pénétration des ions dans la phase solide du minéral .**

La pénétration des ions dans les réseaux est cependant classée par plusieurs auteurs comme une forme de chimisorption.

I.4. LA POLLUTION DU SOL

Larousse [5] définit la pollution comme étant la dégradation d'un milieu naturel par des substances chimiques, des déchets industriels. On parle de pollution du sol quand, par l'apport d'éléments de l'extérieur, ses caractéristiques changent dans une telle mesure que son utilisation normale est limitée.

Un sol est donc pollué lorsqu'il contient des éléments ou des facteurs nuisibles au sol lui-même ou il contient une substance agissant d'une façon néfaste sur les plantes.

Il existe trois grandes familles de sites pollués [6] :

- Les anciennes décharges, réalisées sans respecter les règles techniques, et notamment celles situées sur des sous-sols fragiles et pour lesquelles une pollution des eaux souterraines peut avoir lieu.
- Les sols pollués à la suite d'infiltrations ou de déversements de substances polluantes liées à l'exploitation passée ou présente d'une installation industrielle ou d'accidents de transport.
- Les dépôts industriels où des déchets et des produits chimiques sont abandonnés suite à des activités industrielles, comme dans le cas des forages pour l'industrie pétrolière.

1.5. LES PRINCIPAUX POLLUANTS DANS LE SOL

Les produits polluants peuvent être de nature variée : les éléments traces, les nitrates, le sel de sodium, le phosphore, les pesticides, les engrais, mais les plus fréquemment rencontrés [7], de l'ordre de 80% des cas, sont des produits hydrocarbonés (pétrole brut, essence, gas-oil, huiles pour moteurs, etc.....).

Nous nous intéresserons plus particulièrement aux hydrocarbures et leur consacrerons un chapitre

1.5.1. Les éléments traces

Il s'agit des minéraux ou métalloïdes tel que le cadmium, le mercure, le plomb, le zinc, ...etc., présents naturellement dans le sol et/ou exogènes. Ils peuvent avoir sur l'homme et sur les animaux des effets toxiques, cancérigènes, [7] tératogènes ou mutagènes.

1.5.2. Les nitrates et les engrais

Les nitrates proviennent essentiellement des engrais et sont à l'origine des problèmes d'eutrophisation ; leur ingestion peut être toxique et cancérigène.

L'utilisation abusive des mélanges d'engrais est de plus en plus importante au cours de ces dernières années [8].

Les quantités résiduelles des différents minéraux constitutifs des engrais non fixées par la plante génèrent tant la pollution du sol que celle de l'eau .

1.5.3. Les sels de sodium

C'est le sodium, présent dans le sol sous forme échangeable qui tend à rendre un sol humide imperméable à l'air et à l'eau [9].

Une quantité excessive de sel de sodium dans un sol réduit sa fertilité et peut dans certains cas le rendre totalement stérile.

1.5.4. Les pesticides

I.5.4. Les pesticides

Ce sont des produits chimiques destinés à lutter contre les parasites animaux et végétaux des cultures. Ils sont classés selon leurs modes d'action en fongicides, herbicides et insecticides.

Les effets des pesticides en tant que sources de pollution dans le sol dépendent principalement de quantités résiduelles qui se trouvent dans le sol, de leur forme chimique et / ou des changements qu'ils subissent dans ce sol.

Les résidus de pesticides les plus fréquents dans le sol sont ceux des insecticides organochlorés. Les pesticides peuvent être dissous dans les solutions du sol et entraînés petit à petit vers les nappes phréatiques, malgré leur fixation plus ou moins forte sur les constituants du sol par adsorption [10] [11].

I.6. NORMES ET REGLEMENTATIONS EN MATIERES DE PROTECTION DES SOLS

En Algérie les grands principes qui régissent la réglementation en matière de protection du sol et du sous-sol sont formulés par les textes suivant :

- La loi n°83-03 du 05/02/1993, prend en considération la pollution du sol. Le législateur définit les déchets et pose les principes et les règles générales de leur gestion. Concernant cette dernière, la loi fait obligation à tout détenteur ou producteur de déchets d'assurer leur élimination en évitant seulement, et non en supprimant les effets néfastes sur le sol, la faune et la flore.
- Le décret exécutif n°93-160 du 10/07/1993, régleme le déversement des huiles et lubrifiants aussi bien dans le milieu naturel que dans le réseau d'assainissement.
- Le décret exécutif n°93-162 du 10/07/1993, fixe les modalités de récupération et de traitement des huiles usagées.
- Le décret exécutif n°94-43 du 10/01/1994, fixe les règles de conversion des gisements d'hydrocarbures et de la protection des aquifères.

L'Algérie a fixé des normes de rejets des eaux industrielles et en particulier des huiles, mais jusqu'à présent les normes et les seuils de contamination des sols et des eaux souterraines n'ont pas été établis (voir tableau n°I.1).

Parmi les normes fixes qui définissent pour chaque polluant une valeur seuil facilitant les prises de décisions et permettant de dire qu'un sol doit être dépollué ou non, ce sont celles établies par les hollandais et présentées dans le tableau n°I.2.

Le problème posé par de telles normes [13] est qu'elles simplifient trop les situations et ne définissent par les méthodes de mesure. Elles ne tiennent pas compte de :

- L'état du sol avant pollution (les bruits de fond géochimiques).
- L'utilisation ultérieure du sol.

- La vulnérabilité du site (la proximité d'une nappe phréatique).

Les avantages de l'approche hollandaise sont :

- La simplicité d'emploi tant pour le diagnostic que pour les objectifs de traitement.
- Sa valeur exécutoire lorsqu'elle est reconnue.

Des valeurs normalisées basées sur une évolution des risques ont également été mises en place aux Etats-Unis. Dans ce cas, les normes prennent en considération les risques toxicologiques dus aux transferts de pollution et des modes d'adsorption. Cette méthode est malheureusement longue et coûteuse et implique une modélisation complexe et difficile, voire impossible à construire du fait de la multiplicité des paramètres

Tableau N°I.1 : Valeurs maximales des paramètres de rejet des installations de déversement en Algérie [14].

PARAMETRES	UNITES	VALEURS MAXIMALES
Température	°C	30
pH	-	5,5 à 8,5
Mes	mg/l	30
DBO 5	mg/l	40
DCO	mg/l	120
Azote	mg/l	40
Phosphore	mg/l	02
Cyanure	mg/l	0,1
Aluminium	mg/l	05
Cadmium	mg/l	0,2
Chrome 3+	mg/l	03
Chrome 6+	mg/l	0,1
Fer	mg/l	05
Manganèse	mg/l	01
Mercurure	mg/l	0,01
Plomb	mg/l	01
Cuivre	mg/l	03
Zinc	mg/l	03

PARAMETRES	UNITES	VALEURS MAXIMALES
Nickel	mg/l	05
Huiles et graisses	mg/l	20
Hydrocarbures	mg/l	20
Phénols	mg/l	0,5
Solvant organique	mg/l	20
Chlore actif	mg/l	01
PCB	mg/l	0,001
Détergents	mg/l	02
Tensioactifs anioniques	mg/l	10

Tableau N°I.2 : Normes Hollandaises de qualité des sols [13]

Mg / kg de matière sèche	A seuil de référence	B seuil de risque	C seuil de danger
Métaux lourds			
As	20	30	50
Cd	1	5	20
Co	20	50	300
Cr	100	250	800
Cu	50	100	500
Hg	0,5	2	10
Ni	50	100	500
Pb	50	150	600
Zn	200	500	3000
Composés aromatiques			
Benzène	0,01	0,5	5
Ethylbenzène	0,05	5	50
Toluène	0,05	3	30
Xylène	0,05	5	50
Phénol	0,02	1	10
Total composés aromatiques	0,1	7	70

Hydrocarbures polycycliques (HAP)			
Naphtalène	0,01	5	50
Anthracène	0,1	10	100
Phénanthrène	0,1	10	100
Fluoranthène	0,1	10	100
Pyrène	0,1	10	100
Benzo(a)pyrène	0,05	1	10
Total HAP	1	20	200
Autres composés			
Pesticides	0,1	2	20
Cyclohexane	0,1	5	60
Styrène	0,1	5	50
Huiles minérales	100	1000	5000
PCB(total)	0,05	1	10

CHAPITRE II
GENERALITES SUR LES
HYDROCARBURES

II.1. DEFINITION

Le terme Hydrocarbure possède deux significations selon le contexte. Au sens strict, il désigne un composé contenant des atomes d'hydrogène et des atomes de carbone, avec parfois quelques atomes d'oxygène ou d'azote ne formant pas de groupements fonctionnels. Au sens large, il désigne un mélange quelconque de composés chimiques du carbone et de l'hydrogène [5]. Dans ce cas, il est synonyme d'huile et de produits pétroliers.

Les pétroles bruts sont des composés extrêmement complexes, comportant des milliers de molécules différentes parmi lesquelles beaucoup ne sont pas identifiées. Ils sont de couleur généralement foncée, voisine du noir pour certains, brunâtre pour d'autres et même verdâtre pour certains pétroles légers[15]. Ils présentent toujours des irisations et ont des odeurs caractéristiques.

II.2. CLASSIFICATION DES HYDROCARBURES

II.2.1. Hydrocarbures saturés:

- a. **Les paraffiniques** : Appelés communément alcanes, ces hydrocarbures sont saturés et répondent à la formule générale C_nH_{2n+2} .

Les alcanes existent en grande majorité sous forme de gisement naturels de gaz ou de pétrole [16]. Dans les conditions normales de température et de pression, les hydrocarbures saturés sont soit sous forme gazeuse (C_1 à C_4) soit sous forme liquide pour n supérieur ou égal à 5.

- b). **Les naphténiques** : ce sont les hydrocarbures dont la chaîne carbonée est cyclique (cyclanes), et appelés communément les naphtés[15]. Ils répondent à la formule générale C_nH_{2n} .

II.2.2. Hydrocarbures insaturés

Les alcènes ou hydrocarbures éthyléniques ou encore oléfines, possèdent une double liaison $C=C$.

Les alcynes ou hydrocarbures acétyléniques possèdent une triple liaison $C\equiv C$, et ont pour formule générale C_nH_{2n-2} .

II.2.3. Hydrocarbures aromatiques

Ces hydrocarbures possèdent un ou plusieurs cycle hexagonal plan à six atomes de carbone. Ils ont souvent une odeur très prononcée, c'est ce qui leur vaut l'appellation de composés aromatiques.

II.2.4. Hydrocarbures asphaltiques

- **Les résines** : constituent 5 à 10% du pétrole brut et sont formées de composés contenant des hétéro-atomes (N, S, O).

- **Les asphaltènes** : représentent moins de 10% de pétrole brut et constituent la fraction la plus lourde. Ce sont des composés hétérocycliques à haut poids moléculaire. Ils sont volatils et solides[17].

II.3. PRINCIPALES PROPRIETES DES HYDROCARBURES

II.3.1. Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques (densité, solubilité, volatilité, réactivité) des composés purs tels que les alcanes, les alcènes et les aromatiques sont bien connues ; elles sont liées à la nature et à l'arrangement dans l'espace des atomes constitutifs de leurs molécules.

Dans le cas des mélanges complexes d'hydrocarbures (déversements accidentels, borbiers, etc...), ces propriétés ne peuvent nous renseigner ni sur la composition du mélange ou son origine .

A titre d'exemple, les alcènes sont insolubles dans l'eau mais solubles dans les autres hydrocarbures. Les HAP sont en général sont peu solubles, et ceci d'autant moins que le nombre de noyaux benzéniques est important.

II.3.2. Autres paramètres

D'autres paramètres sont utilisés pour mieux connaître le risque lié à la présence d'une pollution par les hydrocarbures. Nous citerons :

- ◆ Le point d'ébullition qui permet de définir la volatilité du produit pour le cas des paraffines, il augmente avec le nombre de carbone.
- ◆ Le point éclair qui définit le caractère explosif et combustible du produit permet d'évaluer les risques d'explosion éventuels.
- ◆ La toxicité qui est la fraction intégrant tous les autres paramètres et qui permet de déterminer les éventuelles précautions à prendre sur le plan de l'hygiène et de la sécurité [15].

II.4. PHENOMENES DE MIGRATION DES HYDROCARBURES PETROLIERS

Le profil souterrain d'un point de vue hydrologique peut se diviser en deux parties principales : la zone non-saturée ou **zone vadose** et **la zone saturée** qui sont séparées par **la frange capillaire**.

Suite à un déversement de produits pétroliers, ces derniers s'infiltreront vers le bas dans le sol sous l'influence de la gravité. Au passage, les hydrocarbures vont remplir partiellement ou complètement l'espace poreux jusqu'à atteindre la limite de rétention du sol et continuer la progression vers le bas [19].

La profondeur finale atteinte ainsi que la forme de la zone contaminée dépendront de plusieurs facteurs dont les principaux sont :

- Le volume déversé ;

- Le taux de déversement (fuite ponctuelle d'une conduite ou renversement d'un camion citerne) ;
- La capacité de rétention des sol ;
- L'hétérogénéité des sols ;
- La profondeur de la nappe phréatique et la frange capillaire ;

Tant que la source sera active, la progression se poursuivra jusqu'à éventuellement atteindre la nappe phréatique. Lorsque la source cesse son activité, le sol se draine de ses hydrocarbures sous l'effet de la gravité. L'écoulement des hydrocarbures se poursuivra tant qu'ils seront en quantité suffisante pour assurer un continuum.

Par la suite, une partie de ces hydrocarbures demeurera adsorbés sur les particules de sols pour former ce qu'on appelle la phase résiduelle qui se trouve ainsi dire « figée » en place.

II.5. COMPORTEMENT DES HYDROCARBURES DEVERSES DANS UN MILIEU AQUIFERE :

- Soit l'exemple d'un déversement d'hydrocarbures dans une nappe phréatique.

A partir d'un point de fuite, d'un épandage et sous l'effet de la pesanteur, les hydrocarbures migrent d'abord vers le bas de la zone non saturée entre le point de fuite et le toit de la nappe. Au cours de cette descente, ils ont tendance à être retenus par le terrain dans des proportions variables selon la nature du produit concerné et les propriétés du sol. Il se forme alors une sorte de corps d'imprégnation d'huile dont les contours se stabilisent en fonction du temps jusqu'à ce que la saturation en huile atteigne un seuil appelé " rétention primaire ". Ce corps reste immobile dès qu'une position d'équilibre est atteinte sous l'effet des forces capillaires et présente souvent une forme irrégulière due à l'hétérogénéité du sol. Avant de prendre cette position d'équilibre, l'huile peut atteindre la frange capillaire lorsque la nappe se trouve à une faible profondeur. L'huile s'étale alors en une sorte de galette de produit flottant de faible épaisseur qui se déforme et s'allonge préférentiellement en aval de l'écoulement de l'eau.

De plus, cette huile libre étant sujette aux fluctuations du niveau piézométrique, une certaine quantité de produit à saturation résiduelle peut être piégée sous le toit de la nappe [20]. La surface d'étalement est limitée par les forces capillaires et l'huile libre présente dans la frange capillaire.

Cette saturation résiduelle correspond à un seuil de saturation à partir duquel l'huile est immobile même si l'eau est en mouvement.

II.6. TOXICITÉ VIS À VIS DE L'HOMME :

Les alcanes et cyclanes agissent de manière indirecte en diminuant la quantité d'oxygène nécessaire à l'hématose. À forte concentration, ils agissent [22] comme narcotiques par suite de leur fixation dans les lipides des systèmes nerveux.

Les hydrocarbures aromatiques présentent une dose létale chez les êtres humains de l'ordre de 50 à 500 mg/kg pour le benzène et le xylène et de 0,5 à 5 g/kg pour le toluène.

A forte concentration, le benzène et ses dérivés provoquent des tremblements musculaires, des convulsions et des dilatations de la pupille. A des doses très faibles mais répétées, le benzène est un poison pour la moelle osseuse.

Les hydrocarbures polycycliques aromatiques sont les plus toxiques. Ils présentent une toxicité à long terme aggravée par la présence de tensioactifs qui facilitent leur introduction dans l'organisme. Ils provoquent des cancers cutanés (épithélioma) chez les sujets exposés à leur manipulation.

Tableau n°II.1. Les effets toxicologiques des quelques familles d'hydrocarbures[23]

Familles d'hydrocarbures		Les effets toxicologiques
Les paraffines saturées	méthane, éthane, propane, butane.	Propriétés anesthésiques ; à très forte concentration ils peuvent produire de sérieux troubles.
	Lourds(pentane, hexane, heptane ...)	<ul style="list-style-type: none"> • Effet anesthésique et irritant ; • Provoquent une légère incoordination motrice.
Les paraffines insaturées	Les oléfines	Narcotiques, cette action augmente avec le poids moléculaire
	Les dioléfines	<ul style="list-style-type: none"> • Action sur les organes hématopoïétique(rate, moelle osseuse) • Entraînent l'anémie par exposition prolongée.
Les cycloparaffines	Cyclopropane, cyclobutane, méthyle, éthyle, etc.....	Anesthésiques ou narcotiques par exemple le cyclohexane, en plus de son action narcotique et paralysante, peut détruire les globules rouges .
Les aromatiques	Benzène, toluène, xylène.	Très toxiques, ils provoquent des nausées et des modifications de la formule sanguine.

Le respect et la sauvegarde de l'environnement constituent une préoccupation majeure pour les opérateurs pétroliers dont les champs d'activité se situent généralement au Sahara et quelquefois plus au nord, au niveau de certaines régions des hauts plateaux .

Il n'est pas inutile de rappeler enfin, que l'ensemble des activités pétrolières, de par leur nature, ne sont pas indemnes d'accidents dont les effets sur l'environnement peuvent être considérables .

III.1. L'INDUSTRIE PETROLIERE ET LA POLLUTION DES SOLS

Les principales mission de l'industrie pétrolière sont d'abord la recherche et l'exploitation des bassins sédimentaires dans lesquels le pétrole et le gaz ont pu se former .

S'il y a découverte de pétrole et / ou du gaz alors commence le développement et l'exploitation des gisements, pour ensuite traiter les hydrocarbures soutirés avant de les stocker et de les transporter vers les raffineries. Les hydrocarbures soutirés peuvent être directement commercialisés à l'état brut [26] .

Ces activités peuvent être une source potentielle de pollution des sols et des eaux souterraines par les différents rejets et fuites de produits huileux .

Ces risques, facilement maîtrisables, peuvent être en cas de négligences fort dommageables .

III.2. INCIDENCES DE L'INDUSTRIE PETROLIERE SUR L'ENVIRONNEMENT

Les risques de pollutions engendrés par l'exploitation des hydrocarbures se situent aux niveau des activités suivantes :

III.2.1. Unité de forage :

Le pétrole brut et /ou le gaz sont remontés à la surface de la terre par le biais de puits forés dans le sous-sol .

La réalisation d'un forage nécessite l'implantation d'un appareil de forage et l'élaboration d'un programme de boues constituées d'eau, d'huile, de sels solubles et d'une phase solide constituée de cuttings [26].

Les risques sont dus essentiellement aux rejets volontaires des boues après leurs utilisations (boues à base d'eau et boues à base d'huile), aux rejets des lubrifiants des moteurs , générateurs et autres équipement, et aux rejets involontaires ou accidentels résultants de fausses manœuvres lors des opérations d'approvisionnement ou d'accidents sur les unités de forage.

L'éruption de fluide constitue le plus important risque, au cours des opérations de forage [26] , de dispersion du brut aux alentours du forage .

III.2.2. Traitement des hydrocarbures

Les hydrocarbures (pétrole ou gaz) sortent souvent du puits sous forme de mélange liquide –gaz , accompagnés d'impuretés telles que l'eau , le sel et le sable .Ces hydrocarbures sont collectés par des conduites et évacués vers un centre de traitement . Le traitement comporte d'une part une élimination aussi complète que possible des impuretés et d'autre part, une séparation des hydrocarbures en une phase liquide et une phase gazeuse [26].

Les risques de pollution engendrés par cette activité sont généralement attribués aux :

- rejets des divers produits utilisés pour le traitement des hydrocarbures ;
- déversement et fuites en surface d'hydrocarbures à partir des centres de traitement.

III.2.3 Transport des hydrocarbures

III.2.3.1. Risques liés au transport par canalisations

La phase du transport des hydrocarbures est aussi délicate que la phase de production . En effet, elle contribue à la pollution par le risque élevé de fuites dues à l'état de la pomperie (vétusté), surutilisation des canalisations, et aux divers autres accidents pouvant survenir au cours des opérations de transport des hydrocarbures par canalisation [27].

III.2.3.2. Risques liés au transport maritime

Des études statistiques montrent que l'on peut s'attendre à ce que des déversements de produits pétroliers liés au transport maritime se produisent à moins de 80 Km des terres et en moyenne 01 escale pour 100 escales [28] [29].

La pollution due au transport en mer peut être classée en deux catégories :

- Délibérée ou opérationnelle (rejets de lubrifiants, etc...), rejets issus des lavages des cuves, des résidus pétroliers.
- Accidentelle (intempéries et dommage matériels, incendies et explosions, collisions, etc...) [29].

III.2.4. Stockage

Les techniques de stockage visent, tout au long de la chaîne qui va de la production à la consommation, à emmagasiner le plus économiquement possible toutes sortes de productions gaz ou liquide, soit par un stockage aérien soit par un stockage souterrain [30]

Les risques de pollution engendrés par cette activité sont généralement attribués aux :

- Rejets des eaux de décantation
- Déversements et fuites d'hydrocarbures au niveau des bacs et des conduites
- Risques de résidus de nettoyage des bacs

Tableau n°III.1 : Principales marées noires en Europe [30]

PETROLIER (PAVILLON)	QUANTITE D'HYDROCARBURES DEVERSEE (T)	DATE	LIEU
• <i>Amoco Cadis (libérien)</i>	223000	1978	France
• <i>Haven(chypriote)</i>	144000	1991	Italie
• <i>Torrey Canyon(libérien)</i>	119000	1967	Royaume-Uni
• <i>Urquiola (espagnol)</i>	100000	1976	Espagne
• <i>Braer (libérien)</i>	85000	1993	Royaume-Uni
• <i>Aegean Sea(grec)</i>	74000	1992	Espagne
• <i>Sea empress(libérien)</i>	72000	1996	Royaume -uni
• <i>Tanio (malgache)</i>	6000	1980	France

CHAPITRE IV

LES TECHNOLOGIES DE REHABILITATION DES SOLS CONTAMINES PAR LES HYDROCARBURES

Les méthodes de dépollution sont adoptées en fonction du type de polluants, de leur concentration, du milieu pollué, des sols, de l'accessibilité et des délais de traitement.

Les opérations de traitement des sols pollués peuvent se faire de plusieurs manières ex-situ (hors site), in situ (sur site) et en utilisant trois grands procédés : thermiques, physico-chimiques et biologiques.

Les coûts d'exploitation des procédés cités précédemment sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau n°IV.1 : Coûts d'exploitation [31].

Procédé		Coûts
Thermiques		2000 –6000 FF / Tonne
Physico-chimiques		100- 300 FF / Tonne
Biologiques	Biopiles	100- 200 FF/ Tonne
	Land farming	50- 100 FF/Tonne

IV.1. PROCEDES THERMIQUES

Ce type de procédés consiste en la destruction des polluants organiques par combustion, pyrolyse ou par désorption thermique (tableau n°IV.2). Il s'agit alors d'incinération des contaminants dans des fours à ciments rotatifs, des lits fluidisés, des fours à plasma, des pyrolyseurs ainsi que des fours catalytiques et oxydatifs [4].

Au préalable, le sol est excavé pour être broyé et tamisé afin d'extraire les gros objets (métalliques par exemple), pour être ensuite traité par voie thermique. Le traitement thermique consiste en un :

- ❖ Chauffage direct (dans un centre collectif) : le sol est chauffé à 1000 °C directement en y introduisant de l'oxygène.
- ❖ Chauffage indirect (sur site) : le sol est placé dans un four étanché et n'est pas en contact direct avec la source de chaleur. La température avoisine les 400 à 500 °C, et est suffisante pour extraire les polluants par désorption thermique [4].

IV.2. PROCEDES PHYSICO-CHIMIQUES

Deux catégories de procédés physico-chimiques peuvent être utilisées :

- Les procédés de destruction ou de neutralisation des polluants.
- Les procédés de récupération et de concentration.

Plusieurs techniques sont mises en œuvre tels : la stabilisation /solidification, le lavage, la ventilation, le stripping et l'extraction électrique.

Tableau N°IV.2: Avantages et inconvénients des méthodes thermiques [31]

TECHNIQUE	AVANTAGES	INCONVENIENTS
Incinération	<ul style="list-style-type: none"> - Elimination totale de la pollution - Nécessité de traiter les gaz dégagés 	<ul style="list-style-type: none"> - Demande un grand apport énergétique - Sol traité non réutilisable - Coût onéreux
Désorption	<ul style="list-style-type: none"> - Faibles teneurs résiduelles en polluants - Température assez élevée pour éviter la vitrification - Peu sensible aux variations des teneurs en polluants 	<ul style="list-style-type: none"> - Non recommandée pour les pollutions fortes - Onéreux

IV.2.1. La stabilisation / solidification

C'est une technique qui permet de bloquer durablement les polluants dans une matrice solide. Elle peut se faire à l'aide de liants, mais aussi par apport d'une grande quantité de chaleur : on parle alors de vitrification et de céramisation [32].

Les techniques de stabilisation /solidification ont pour but de :

- Maintenir la pollution dans la matrice solide (stabilisation)
- Minimiser les contacts entre la zone polluée et le sol
- Rendre les sols pollués facilement manipulables(solidification)

IV.2.2. Le lavage

Le lavage des sols consiste en plusieurs opérations :

- Le tri granulométrique préalable des terres permet de séparer les particules grossières des particules les plus fines sur lesquelles la pollution a tendance à se concentrer. Les particules fines sont généralement incinérées [33] ;
- Une élimination des polluants liés aux particules les plus grossières peut se faire selon plusieurs méthodes, dont les plus courantes sont :
 - L'extraction par solvant ;
 - La flottation, qui consiste en une mise en solution du sol dans l'eau contenant un agent chimique ayant des affinités avec les polluants. Un système d'insufflation

d'air facilite la remontée à la surface de l'ensemble agent chimique /polluant, séparé ensuite par écrémage. L'eau subit ensuite un traitement physico-chimique et /ou biologique ;

➤ Les techniques qui utilisent les forces mécaniques pour détacher les polluants des particules de sol (jets d'eau à haute pression, cyclone).

Tableau n°IV.3 : Avantages et inconvénients de lavage.[31]

AVANTAGES	INCONVENIENTS
- Rendement de 80 %	- Ouvrages complexes
- Coûts acceptables	- L'excavation des sols peut augmenter les coûts.

Les autres techniques de traitements physico-chimiques des sols tels la ventilation, le stripping et l'excavation électrique sont résumées dans le tableau n°IV.4.

IV.3. PROCÉDES BIOLOGIQUES

Les sols étant rarement stériles, la microflore en place lorsqu'elle rencontre une pollution va, en fonction des conditions chimiques et physico-chimiques de son environnement, chercher à métaboliser les polluants. L'ensemble de ces phénomènes est désigné sous le terme d'atténuation naturelle,

Les traitements biologiques utilisent et stimulent les capacités qu'ont les micro-organismes à utiliser divers types de composés organiques et minéraux pour leur croissance, leurs besoins en énergie et leur maintien en vie.

Les premiers concernés sont classés en deux sous-groupes, l'un regroupant les traitements in situ, l'autre les traitements ex situ qui impliquent que les terres polluées sont excavées avant d'être décontaminées en surface sur ou hors site.

IV.3.1. Principes de bases des bioprocédés (bioremédiation) :

Définition :

La bioremédiation est un procédé naturel de décontamination, fondé sur la meilleure stimulation biologique possible des micro-organismes adaptés à des contaminants. Des interactions optimales, entre les micro-organismes d'une part, et des substances nutritives d'autre part, avec à un approvisionnement optimal en oxygène, garantissent une décomposition des polluants la meilleure et la plus rapide possible. Pendant le traitement, la structure du sol demeure inchangée et la qualité du sol est maintenue intacte [4].

Processus de biodégradation

Le terme de biodégradation se réfère à la minéralisation complète des composés organiques, en dioxyde de carbone, eau, composés inorganiques et biomasse microbienne

La biodégradation d'un composé organique s'effectue en plusieurs étapes.

La réaction de biodégradation microbienne est la suivante :



Tableau n°IV.4 : Quelques techniques des traitements physico-chimiques.[34]

Techniques	Principes	Avantages	Inconvénients
Ventilation	<ul style="list-style-type: none"> - mise en dépression du sol contaminé par une pompe à vide ; - aspiration de vapeurs polluées qui peuvent être traitées par oxydation , ou par adsorption sur charbon actif . 	<ul style="list-style-type: none"> - technologie simple ; - très fiable ; - performante et faible coût ; - rendement de 95% 	<ul style="list-style-type: none"> - application seulement aux polluants volatils ou - semi-volatils ; - elle perd son efficacité avec des sols argileux - utilisable pour les sols non saturés .
Stripping	<ul style="list-style-type: none"> - injecter de l'air ou de la vapeur sous pression dans le sol grâce à des puits d'injection pour mettre en vapeur les composés volatils ; - récupérer les vapeurs toxiques grâce à des puits d'extraction , qui sont traitées par adsorption sur charbon actif ou autre procédé . 	<ul style="list-style-type: none"> - fiable ; - faible coût . 	<ul style="list-style-type: none"> - applicable pour les polluants volatils ; - sol perméable à l'air - sols non saturés
L'extraction électrique	<p>Un courant électrique circule dans le sol par l'intermédiaire d'électrodes poreuses, ainsi les particules chargées se déplacent vers les électrodes de charges opposées et peuvent être récupérés par pompages</p>	<ul style="list-style-type: none"> - utilisable pour une grande variété de sols (argileux , sableux...). 	<ul style="list-style-type: none"> - il faut que le sol possède une grande teneur en eau et son pouvoir tampon est faible

La biodégradation des contaminants organiques s'effectue sous certaines conditions environnementales (pH, humidité, oxygène, température, nature des polluants, nature du sol et de la microflore ...).

Le ralentissement de biodégradation dans un milieu pollué est principalement attribué au déficit en azote et en phosphore [6].

Ces considérations ont entraîné la stimulation de l'activité bactérienne en enrichissant le sol par des éléments nutritifs en leur favorisant un environnement favorable à leurs développements.

IV.3.2. Facteurs influençant la biodégradation des hydrocarbures

La biodégradation des composés organiques dans un milieu pollué, en l'occurrence par des hydrocarbures est complexe et est liée à plusieurs paramètres environnementaux et autres .

A. Les facteurs physico-chimiques :

1- La structure et la nature du sol

Les bioprocédés s'appliquent à une grande variété de sols, y compris les sols riches en argiles. Cependant, il est important de connaître la structure et la nature du sol à traiter car ces propriétés interfèrent et s'impliquent dans les interactions polluants-sols et les moyens d'y remédier pour améliorer ces propriétés [35].

En règle générale :

- Un sol doit être suffisamment perméable pour permettre l'injection de solutions nutritives et l'insufflation d'air ;
- La composition physico-chimique du sol est également d'une grande importance .
- La biologie du sol est importante à connaître, un sol possédant une microflore adaptée au polluant présent est plus facilement et efficacement traité.

2- Structure et concentration des polluants

Les bioprocédés de traitement des sols s'appliquent à une grande variété de contaminants. Cependant, comme ils sont utilisés par les micro-organismes, les polluants doivent être organiques, constitués principalement de carbone, d'oxygène et d'hydrogène[35].

Les cinétiques d'assimilation et de minéralisation sont dans l'ensemble proportionnelles à la concentration du composé.

Les concentrations des hydrocarbures à dégrader doivent être toutefois relativement faibles et ceci pour les raisons suivantes [35] :

- l'hydrocarbure doit jouer le rôle d'un facteur limitant de croissance afin d'augmenter l'affinité micro-organisme/substrat, et réduire en même temps le taux de croissance.
- Une forte concentration peut inhiber la biodégradation par limitation des apports en nutriments et oxygène.

B. Les facteurs biologiques

1- la charge microbienne

Pour pouvoir dégrader les hydrocarbures les micro-organismes doivent être présents en concentration très importante dans le milieu.

Pour pouvoir dégrader les hydrocarbures les micro-organismes doivent être présents en concentration très importante dans le milieu.

La concentration en micro-organismes intervient aussi dans le phénomène de dispersion. A ce sujet, Rosenberg a montré que certaines souches produisent des agents émulsifiants extracellulaires non dialysables [36]. Lors de leur croissance sur l'héxadécane, l'éthanol ou l'acétate, ces composés émulsifient les pétroles bruts et les gasoils ce qui permet une meilleure biodégradation.

2- Influence de l'oxygène

L'oxygène est un facteur limitant dans le processus de biodégradation des hydrocarbures. L'aération est nécessaire dans la plus part des applications.

L'oxygène est présent dans le sol sous forme gazeuse, mais également dans l'eau où il est dissous et à l'état absorbé sur les particules constituant la phase solide du sol.

La constitution argileuse et la présence de matières organiques affectent la concentration de l'oxygène dans le sol. Un sol argileux a tendance à s'agglomérer, ce qui réduit la diffusion de l'oxygène.

La biodégradation en anaérobie des hydrocarbures demeure un processus controversé et mal connu, de plus, de nombreux auteurs affirment que cette biodégradation est négligeable dans les conditions d'anaérobiose [36].

C. Les paramètres environnementaux

1- L'influence du pH

Les valeurs de pH du sol sont déterminantes quand à l'activité des micro-organismes et à leur sélection. Certains sont prédominants à des pH acides, tels que les fungus qui sont tolérants à l'acidité ($\text{pH} < 5$) alors que d'autres sont actifs à des pH élevés tels que les actinomycètes [37].

Le pH du sol est également important pour la solubilité des éléments nutritifs et leur biodisponibilité.

L'efficacité de la biodégradation des hydrocarbures est généralement plus élevée sous les conditions de pH légèrement alcalin.

La production d'acides organiques et minéraux [37] provenant des diverses voies métaboliques, peuvent fortement abaisser le pH du sol, ce qui peut inhiber le processus de dégradation ou favoriser une espèce prédominante.

2- L'humidité :

L'humidité est un paramètre important dans le processus de biodégradation aérobie des composés organiques simples ou complexes qui est meilleure à des taux de rétention d'eau de 50 à 70 %. On considère qu'il y a inhibition de l'activité biologique à des valeurs plus basses que 50%. Des valeurs plus élevées que 70% peuvent interférer avec l'aération du sol.

L'humidité règle l'activité biologique de plusieurs façons :

L'eau est indispensable au développement des micro-organismes et intervient directement en transportant diverses substances dont les nutriments ou certains éléments de la microflore (cellules végétatives), en modifiant les échanges gazeux [38].

Le degré de saturation en eau des pores influence l'échange gazeux dans le sol, lorsque les pores sont remplis d'eau, la diffusion des gaz est sévèrement restreinte.

3- Température

Ce facteur agit sur la composition, la multiplication, le métabolisme et la croissance de la microflore du sol. Les températures optimales de la croissance et de l'activité des réactions biochimiques des micro-organismes du sol, varient considérablement suivant les espèces [1]. Il existe trois catégories de micro-organismes selon leurs températures optimales de croissance :

- *Psychrophiles* : 00 - 15 °C
- *Mesophiles* : 20 - 40 °C
- *Thermophiles* : 45 - 60 °C

La biodégradation des composés organiques varie en fonction de la température. Une baisse de cette dernière décroît l'activité microbienne.

La température du sol varie en fonction de la profondeur et des différentes couches du sol.

La plupart des espèces microbiennes du sol sont mésophiles. Les espèces Psychrophiles et Thermophiles ne représentent qu'une faible fraction de la population totale.

La température n'est pas souvent un facteur limitant de la biodégradation dans l'environnement mais intervient sur l'état physique des hydrocarbures qui, à l'état liquide, sont disponibles pour la croissance microbienne.

4- Les nutriments

Il a été démontré que les nutriments sont indispensables à l'activité et au développement des micro-organismes [32]. Le tableau IV.5 regroupe les principaux nutriments recommandés à l'exception du carbone, de l'hydrogène, de l'oxygène et de l'eau, les nutriments essentiels aux micro-organismes sont appelés **macronutriments** (azote et phosphore).

Ils doivent être utilisés à des concentrations appropriées et selon un certain rapport de carbone /azote et carbone /phosphore:

Lorsqu'un site est riche en carbone et pauvre en éléments nutritifs (azote, phosphore), les rapports C/N et C/P sont élevés et doivent être ajustés. L'addition de ces éléments sera indispensable pour accélérer le processus de biodégradation des hydrocarbures.

La croissance et l'activité des micro-organismes nécessitent aussi la présence d'autres éléments à l'état de traces appelés **microéléments** (Ca, Co, Mn, etc...). Toutefois, ces derniers existent souvent en quantités suffisantes dans le sol.

Tableau n°IV.4 : Nutriments recommandés [40]

Macronutriment	Micronutriment	Auteurs
Ca, Mg, N,P,K, S	B, CO, Cl, Cu, Fe, Mo, Mn, Na, Si, V, Zn	Dupont et coll , 1988
Ca, Fe, N, Na, Mg, P, S		Atlas ,1977

Les rapports massiques optimums en C/N et C/P préconisés par beaucoup d'auteurs sont respectivement de 10 :1 et de 100 :1.

Les autres macronutriments sont présents en quantité suffisamment élevées dans le sol. Cependant, lorsque cela est nécessaire, l'amendement du sol en nutriments essentiels peut être effectué par l'ajout d'engrais chimiques[41].

En effet, des études ont prouvé que la biodégradation des hydrocarbures est supérieure dans un sol fertilisé. L'ajout d'un fertilisant à base de phosphore et d'azote pourrait surmonter les limitations en nutriment et augmenter la biodégradation des hydrocarbures.

IV.3.3. La croissance microbienne

A. La courbe de croissance microbienne

L'étude d'une cinétique de croissance microbienne consiste à suivre, en fonction du temps l'évolution de la concentration cellulaire (nombre de cellules par unité de volume de culture) ou la concentration en biomasse microbienne (grammes de matière sèche cellulaire microbienne par unité de volume de culture) selon le type de micro-organismes (unicellulaire ou filamenteux) et la méthode choisie pour suivre le phénomène [42]. La figure n°IV.1 donne l'évolution de la concentration cellulaire en fonction du temps.

On peut alors suivre l'évolution de la vitesse de croissance ou le nombre de cellules par unité de volume et unité de temps en fonction du temps et l'évolution de la vitesse spécifique de croissance : ou vitesse de croissance rapportée à l'unité de concentration cellulaire exprimée en h^{-1} appelée encore taux de croissance (μ).

Le phénomène de croissance cellulaire comporte plusieurs phases :

▪ La phase de latence

Elle suit immédiatement l'ensemencement du microbe dans le milieu de culture. Il s'agit d'une période d'adaptation dans laquelle la cellule synthétise en particulier les enzymes qui lui sont nécessaires pour métaboliser le substrat présent. Au cours de cette première phase, il n'y a pas de reproduction cellulaire :

$$X = cte = X_0$$

La vitesse de croissance est nulle ainsi que la vitesse spécifique de croissance. La durée de cette phase varie principalement avec la taille de l'inoculum ayant servi à

l'ensemencement, l'âge des cellules qu'il refferme mais aussi et surtout avec leur état physiologique et biologique [42].

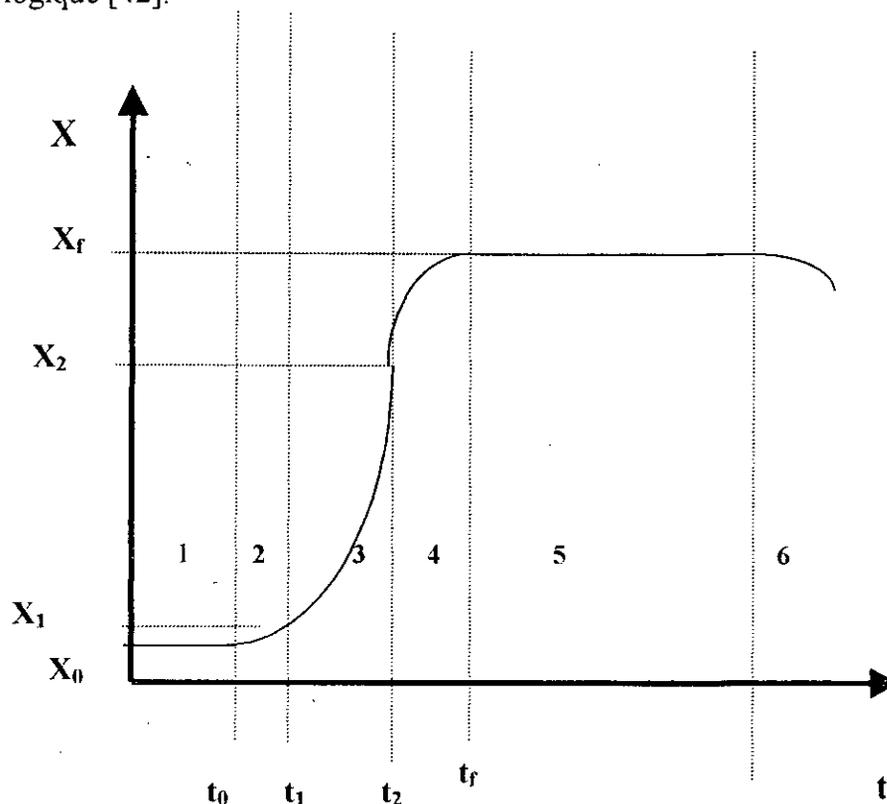


Figure n°IV.1 : Courbe de croissance microbienne.

▪ La phase de départ

Lorsque la phase d'adaptation précédente est alors terminée, on assiste au démarrage de la croissance proprement dite : la reproduction cellulaire commence [42]. La concentration en biomasse (X), augmente, lentement tout d'abord puis plus vite, la vitesse de reproduction augmente, ainsi que la vitesse spécifique de croissance.

▪ La phase exponentielle de croissance

Lorsque la vitesse de reproduction cellulaire atteint son maximum, c'est la phase logarithmique ou exponentielle qui commence et qui dure tant que la vitesse de reproduction est constante. Elle peut être évaluée simplement par le temps de dédoublement de la population microbienne (temps de génération) qui, tout au long de la phase logarithmique, prend sa valeur minimale. Cette valeur varie d'un micro-organismes à un autre et pour un micro-organismes, en fonction des conditions (milieu de culture, température, oxygène, ...etc.) [42].

Au cours de cette phase, la vitesse de croissance (dX/dt) augmente, et ce proportionnellement à X . D'où l'allure exponentielle du phénomène. En coordonnées semi-logarithmiques ($\text{Log } X = f(t)$), cette phase a l'allure d'une droite.

la vitesse spécifique est quant à elle constante et maximale :

$$\frac{dX}{dt} \cdot \frac{1}{X} = \mu_{\max}$$

Au cours de cette phase, la composition cellulaire est constante bien que la composition du milieu de culture varie beaucoup et le taux de croissance est constant. Cette phase correspond particulièrement pour les bactéries à taux de croissance élevé, à un potentiel de multiplication et de synthèse considérable, justifiant à elle seule leur emploi en biotechnologie.

▪ La phase de ralentissement ou de déclin

Il arrive un moment où la courbe tracée en ordonnées ordinaires présente un point d'inflexion. Cela correspond, d'un point de vue biochimique, à l'épuisement du milieu de culture du fait de la disparition d'un ou plusieurs composés nécessaires à la croissance et dans beaucoup de cas à l'accumulation de produits inhibiteurs résultants du métabolisme microbien. La concentration cellulaire (X) continue d'augmenter après le point d'inflexion, la vitesse (dX/dt) diminue et la vitesse spécifique également [42].

▪ La phase stationnaire

La concentration cellulaire (X) atteint son niveau maximal (X_f), son évolution s'arrête. Les cellules conservent une activité métabolique et leur structure biochimique subit des modifications [42].

▪ La phase de décroissance

Le nombre de cellules viables diminue alors, du fait de la mortalité donc le taux augmente progressivement et parallèlement la concentration en biomasse décroît par suite de l'autolyse sous l'action des enzymes des cellules elles-mêmes.

Les deux dernières phases sont extrêmement importantes dans le cas de micro-organismes producteurs de métabolites secondaires tels que les antibiotiques [42].

L'activité biochimique de la cellule est alors considérablement modifiée sous le contrôle de mécanismes spécifiques de régulation.

IV.4. TRAITEMENTS MIS EN ŒUVRE

IV.4.1. Traitements in-situ

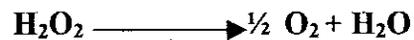
Les traitements in-situ sont mis en œuvre lorsque :

- ◆ Les sites pollués sont construits ou encore en activité.
- ◆ La pollution est profonde, et s'étend sur des grandes surfaces, ces éléments faisant que l'excavation des terres est rendue impossible et /ou trop coûteuse.

Cette technologie est difficilement testée en laboratoire et des expériences doivent s'effectuer sur le site même.

1. Bioventing

Le Bioventing est la technique employée pour accélérer la biodégradation des polluants en apportant, grâce à une aération contrôlée, l'oxygène par d'autres moyens que l'injection d'air, mais par l'introduction dans le milieu poreux d'eau oxygénée.



Les puits d'injection d'air sont situés dans les zones contaminés, là où les besoins en oxygène sont élevés et les puits d'extraction à la périphérie là où les teneurs en polluants volatils sont faibles [43].

Des prélèvements et des analyses chimiques, physico-chimiques et microbiologiques doivent être effectués pour caractériser le site, l'étendue de la pollution et évaluer les chances de réussite liées à l'utilisation d'une telle technique (figure VI.2).

Ce type de procédés est applicable ;

- A différents types de polluants organiques, et principalement aux hydrocarbures légers(essences, gazole, fiouls) ;
- A des sols suffisamment perméables avec une perméabilité moyenne supérieure à 0,1 Darcy. Dans ces conditions, la distribution de l'air dans le sol est uniforme ;
- A des sols suffisamment humides où, la teneur massique en eau doit être au moins supérieure à 5% (aux alentours de 10%) afin de ne pas limiter l'activité microbiologique.

Le rendement de la biodégradation des hydrocarbures légers (essences) par cette méthodes se situe entre 2 et 20 mg/kg du sol /jour [43].

2. Biofiltration

Les effluents gazeux, contenant des polluants volatils, sont épurés par passage à travers un milieu solide (tourbe, compost, charbon actif) sur lequel sont fixés les micro-organismes qui forment un biofilm.

Les composés volatils et l'oxygène, présent dans les gaz à épurer, sont transférés de la phase gazeuse vers le biofilm où la biodégradation est réalisée.

La Biofiltration fonctionne à température et pression ambiante [43]. Elle est adaptée au traitement des hydrocarbures entraînés lors de la ventilation forcée employée par exemple pour la restauration d'un sol contaminé par des essences. Le degré d'humidité du support, qui doit être compris entre 40 et 60 % (en volume), est maintenu entre ces valeurs par des systèmes de pulvérisation d'eau.

3. Bioslurping

C'est la récupération des hydrocarbures en phase liquide, par aspiration sous vide. C'est un procédé d'assainissement utilisé, dans le cas des hydrocarbures liquides flottant sur la nappe phréatique. Ce système permet ainsi la récupération et l'éloignement d'une quantité d'huile en phase libre jusqu'à environ 40% du total [44].

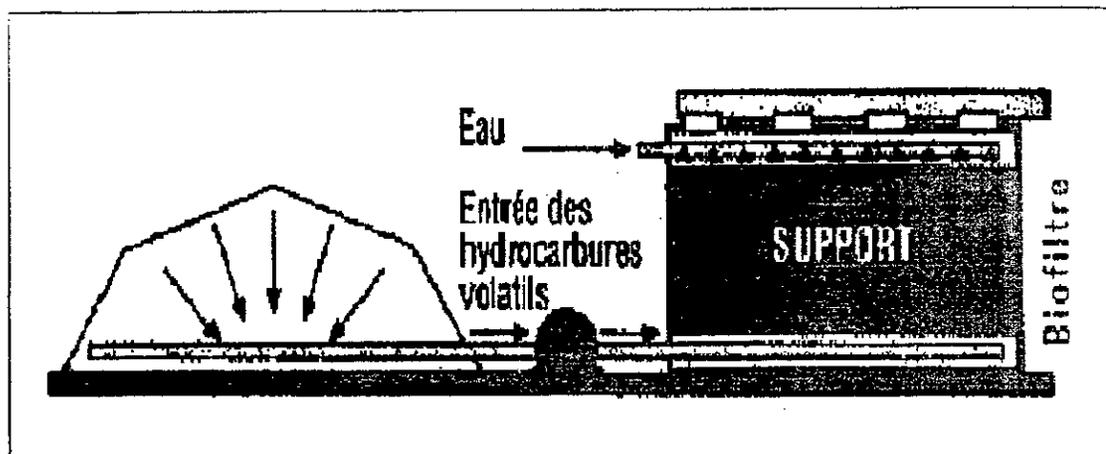


Figure n°IV.2 : Bioventilation

IV.4.2. Traitements ex-situ

Ce type de traitement est envisageable lorsque les terres polluées sont facilement accessibles et leurs volumes de quelques centaines à quelques milliers de mètres cubes ne génèrent pas des coûts exagérément élevés relatifs à leur excavation et leur transport.

Dans certains cas, le traitement est beaucoup plus long que prévu et peut parfois s'étendre sur plusieurs saisons.

1. landfarming (Epanchage contrôlé)

Cette biotechnologie est la plus ancienne des technologies Ex-situ utilisées.

Le landfarming (figure n°VI.3.) consiste en l'épandage en faible épaisseur de l'ordre de quelques dizaines de centimètres des sols pollués par des produits organiques, souvent d'origine pétrolière sur une surface préparée à l'avance, le terrain pouvant être ensuite cultivé [33].

Les micro-organismes présents naturellement dans le sol sont stimulés par la création d'un milieu favorable, grâce à l'ajout de nutriments par le contrôle d'humidité, du pH et de l'oxygène.

Cette technologie peut être utilisée durant toute l'année en utilisant des abris ou des serres ce qui facilite dans ce cas la récupération des polluants volatils. Elle est efficace et économique pour traiter les hydrocarbures non volatils.

2. Traitement en Biopile

Le traitement en biopile comme le montre la figure n°IV.4. est réalisé en excavant le sol contaminé et en le déposant sur une surface imperméable aménagée en cuvette de rétention. Des drains de récupération sont réalisés, afin de recueillir les odeurs des eaux de lixiviation.

L'aération est fournie en soufflant de l'air à travers le sol tandis que, l'eau pour assurer l'humidité adéquate et les éléments nutritifs sont introduits par arrosage.

Cette technologie a l'avantage de permettre le contrôle des émissions dans l'atmosphère.

La durée de traitement varie de deux à quatre semaines pour une contamination à l'essence, et de trois à six mois pour une contamination à l'huile de chauffage [43].

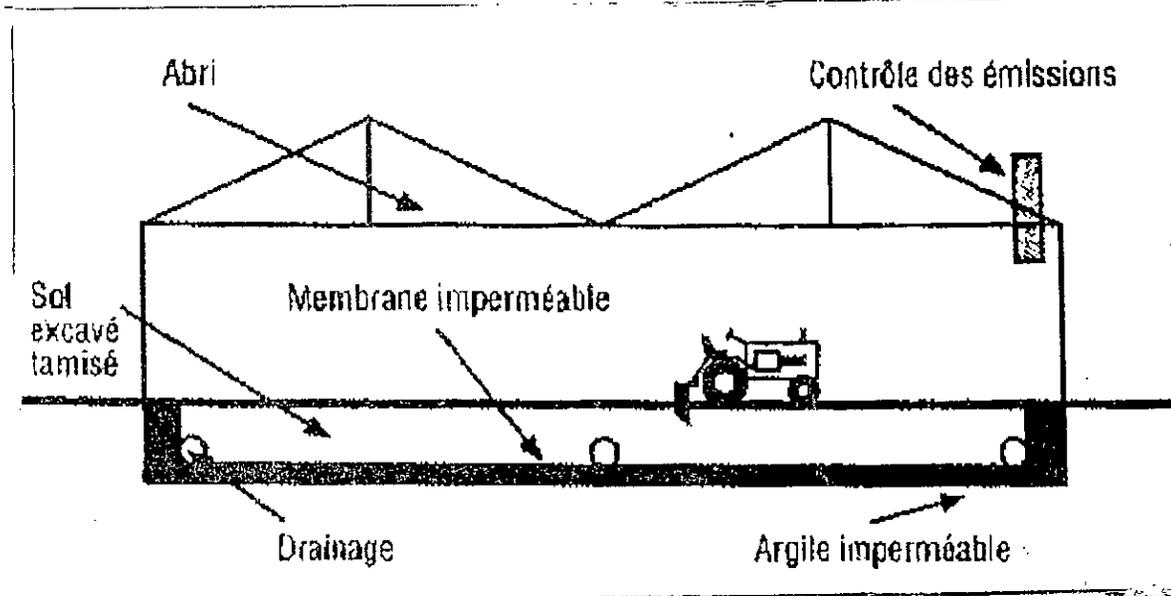


Figure n°VI.3 : épandage contrôlé

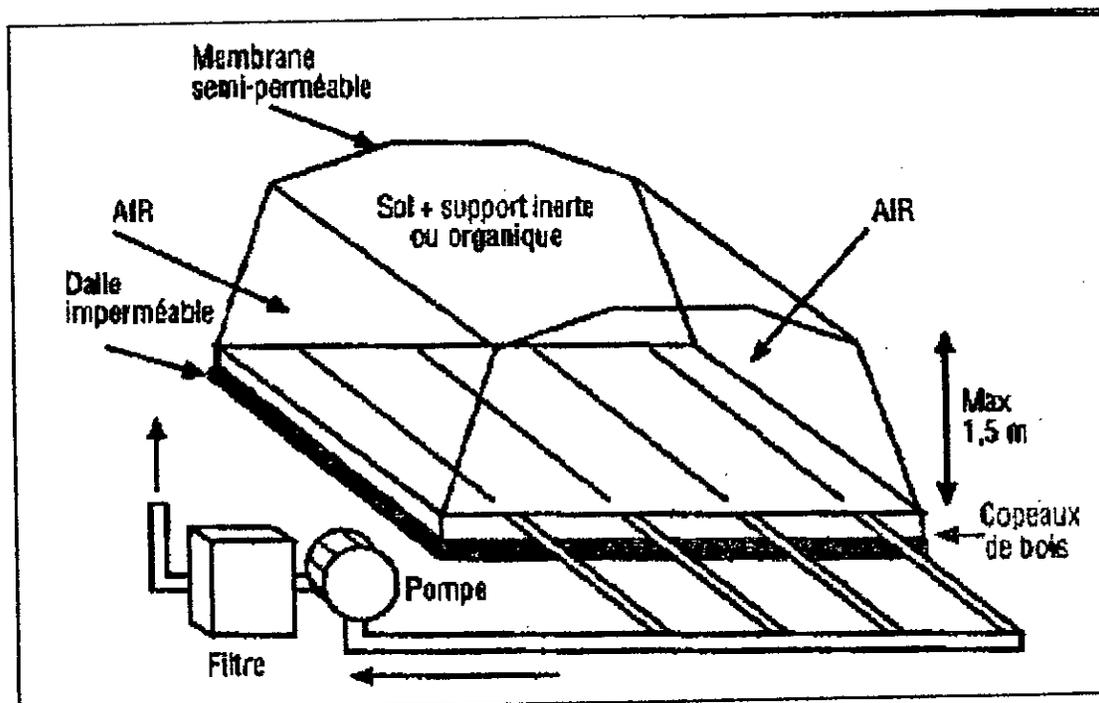


Figure n°VI.4 : traitement en biopile

Lorsque la contamination affecte un sol à texture fine, le temps de traitement peut être multiplié par deux ou trois par rapport à un sol sableux.

Le succès du traitement dépendra du soin apporté à la préparation initiale du sol. Dans les cas des sols argileux ou d'hydrocarbures plus récalcitrants, le traitement doit être prolongé de quatre à huit mois et doit faire l'objet de soins particuliers.

Actuellement, le traitement en biopile Ex situ figure parmi les technologies les plus économiques pour la décontamination des sols pollués par les hydrocarbures.

3. Les bioréacteurs:

Cette technologie consiste à traiter le sol préalablement excavé en phase plus au moins liquide [42], dans un réacteur biologique qui est le cœur de tout procédé mettant en jeu une réaction biologique.

Dans un bioréacteur il y a deux phases :

- Une phase biotique : les micro-organismes, les enzymes
- Une phase abiotique : le milieu de culture, l'eau ...

Les bioréacteurs sont davantage utilisés lorsque la pollution est importante, et dans le cas où les micro-organismes ont des difficultés dans le cas des conditions non contrôlées[42].

3.1. Bases microbiologiques de la conception du bioréacteur

Le bioéacteur, conçu en fonction du type de processus qui doit s'y dérouler et ce quel que soit le type de micro-organismes, doit permettre un contact aussi bon que possible entre les deux phases, biotique et abiotique du système.

Le bon déroulement du procédé est lié aux phénomènes de transfert entre les cellules et le milieu de culture. Il s'agit tout d'abord du transfert de matière, du milieu extérieur vers la cellule pour ce qui est du substrat et des composés du milieu de culture nécessaire à la croissance cellulaire, et dans le sens inverse pour les produits du métabolisme.

Pour que les transferts puissent s'effectuer correctement, la répartition uniforme des cellules dans le milieu de culture doit être la meilleure possible pour éviter tout phénomène de surchauffe locale qui est dangereux étant donné la sensibilité à la chaleur des processus microbiologiques.

3.2. Les différents traitements en bioreacteurs

a. Les bioréacteurs type boues activées

Le sol est extrait puis mélangé avec de l'eau. Les boues formées sont acheminées dans une série de bassins d'aération où sont introduit plusieurs éléments (les éléments nutritifs, des micro-organismes adaptés, etc....) en fonction du polluant à éliminer.

Ces différents éléments sont généralement introduits dans le premier bassin où les composés sont dégradés.

Dans le second bassin, des solutions de surfactants peuvent être introduites pour libérer et dégrader les polluants fortement adsorbés sur les particules. La biodégradation peut éventuellement si nécessaire être terminée dans un troisième bassin avec un nouvel ajout d'éléments.

Cette technologie est intéressante pour le traitement des sols contaminés par des polluants récalcitrants (PCP, HAP...).

b. Extraction et traitement en bioreacteurs

Dans ce système, on extrait les polluants par différents procédés : lavage, extraction à la vapeur, oxydation chimique, ..etc., pour ensuite les traiter par un procédé biologique. Cette étape est réalisée dans un bioréacteur spécifiquement conçu à cet effet. Les bioréacteurs utilisés sont :

- Les réacteurs à biofilm
- Les réacteurs à lit fluidisé
- Les réacteurs mélangés

Cette technologie s'applique dans les cas d'une pollution complexe (métaux lourds, hydrocarbures récalcitrants, ...).

b.1 Les bioréacteurs à sol statique

Il s'agit du traitement direct du sol dans un bioréacteur en l'absence de la phase aqueuse. Le sol est amendé et des agents structurants sont rajoutés.

L'humidité du sol et l'aération de ce dernier augmente la biodisponibilité des polluants et réduit de manière considérable la durée de traitement concernant les polluants récalcitrants.

Le développement des bioréacteurs pour le traitement des solides après excavation est un nouveau concept très prometteur.

IV.5. TRAITEMENTS EN COURS DE DEVELOPPEMENT

IV.5.1 La phytoremediation

La phytoremediation emploie des plantes qui, généralement en association avec les micro-organismes de la rhizosphère, éliminent, dégradent ou fixent les contaminants dans les sols ou les eaux [43]. Parmi les mécanismes d'action des plantes contre la pollution, on distingue :

- **La rhyzofiltration** : absorption des contaminants par les racines.
- **La phytoextraction** : absorption et concentration des polluants dans l'ensemble de la plante.
- **La phytotransformation** : absorption et dégradation des polluants.
- **La phytostabilisation** : réduction de la bioaccessibilité des composés métalliques par leur précipitation grâce à l'action des exsudats racinaires.

Tableau n°IV.6 : Avantages et inconvénients des principaux traitements sur sites et hors sites [45].

Traitements	Avantages	Inconvénients
Biopile	<ul style="list-style-type: none"> - De conception simple - Temps de traitement relativement court - Efficace même sur les produits organiques à faible vitesse de dégradation - Nécessite une superficie plus petite que pour le landfarming . 	<ul style="list-style-type: none"> - Ne peut atteindre des taux d'élimination >95% ou des seuils < 0,1 ppm - Inhibé par de très fortes teneurs en hydrocarbures et métaux lourds - Génère des vapeurs qui peuvent nécessiter un traitement avant leur évacuation - Nécessite une grande superficie .
Landfarming	<ul style="list-style-type: none"> - De conception simple . - Temps de traitement relativement court . - Efficace même sur les produits organiques à faible vitesse de dégradation . 	<ul style="list-style-type: none"> - Ne peut atteindre des taux d'élimination >95% ou des seuils <0,1ppm. - Inhibé par de trop fortes teneurs en H-C et métaux lourds . - Génère des poussières et vapeurs qui posent des problèmes de qualité de l'air. - Nécessite une grande superficie .
Bioventing	<ul style="list-style-type: none"> - De conception simple . - Temps de traitement relativement court . - Peut être utilisé sur des sites inaccessibles en surface (sol bâti) . - Peut facilement être combiné à d'autres techniques . - Ne nécessite pas de traitement onéreux des gaz rejetés . 	<ul style="list-style-type: none"> - Inhibé par de très fortes teneurs en H-C et métaux lourds - Non applicable sur des sols à faible perméabilité et pente . - Ne peut atteindre des seuils d'élimination trop bas .
Biosparging	<ul style="list-style-type: none"> - De conception simple . - Temps de traitement relativement court . - Applicable sur une large gamme de produits pétroliers . - Ne nécessite ni excavation ni pompage . 	<ul style="list-style-type: none"> - Ne s'applique que sur des sols uniformes et imperméables . - Ne s'applique pas au traitement des phases libres d'hydrocarbures . - Certaines interactions entre les processus physiques, chimiques et biologiques restent inexplicées .

□ **La phytovolatilisation** : évaporation de composés métalliques ou organiques volatils. Plusieurs conditions doivent être vérifiées avant que cette technique puisse être appliquée :

- ✓ Le site doit être adapté à la culture des plantes sélectionnées.
- ✓ La pollution doit être accessible au système racinaire.
- ✓ La concentration des polluants en place ne doit pas être toxique pour les végétaux.

Il est envisageable de traiter par cette technique les cas de pollution par les hydrocarbures, les solvants chlorés, les pesticides, les métaux et les explosifs radionucléides.

Les principaux avantages et inconvénients liés à l'emploi de la phytoremediation sont rassemblés dans le tableau suivant :

Tableau n°IV.7 : Avantages et inconvénients de la phytoremediation [43].

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Coûts faibles ▪ Production faible d'effluents et de déchets ▪ Sols en place utilisables après traitement ▪ Bonne image auprès du public 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Mécanismes lents ▪ Limitation aux contaminations superficielles ▪ Possible contamination de la chaîne alimentaire

CHAPITRE V
ASSIMILATION DES HYDROCARBURES

V.1. ASSIMILATION DES N-ALCANES

Les hydrocarbures paraffiniques sont les substrats les plus utilisés par les micro-organismes. En effet, les bactéries se développent plus volontiers sur les n-alcanes de 9 à 16 atomes de carbone. Le faible taux d'assimilation observé sur les fractions de poids moléculaire élevé est dû à la surface de contact réduite entre la molécule et les micro-organismes [46].

• Voie métabolique [06]

La voie majeure de l'attaque enzymatique des n-paraffines se localise à l'extrémité de la chaîne pour donner un alcool, éventuellement un aldéhyde et enfin un acide gras au même nombre d'atomes de carbone. Ce dernier peut être scindé en métabolites assimilables par une α , β et ω Oxydation.

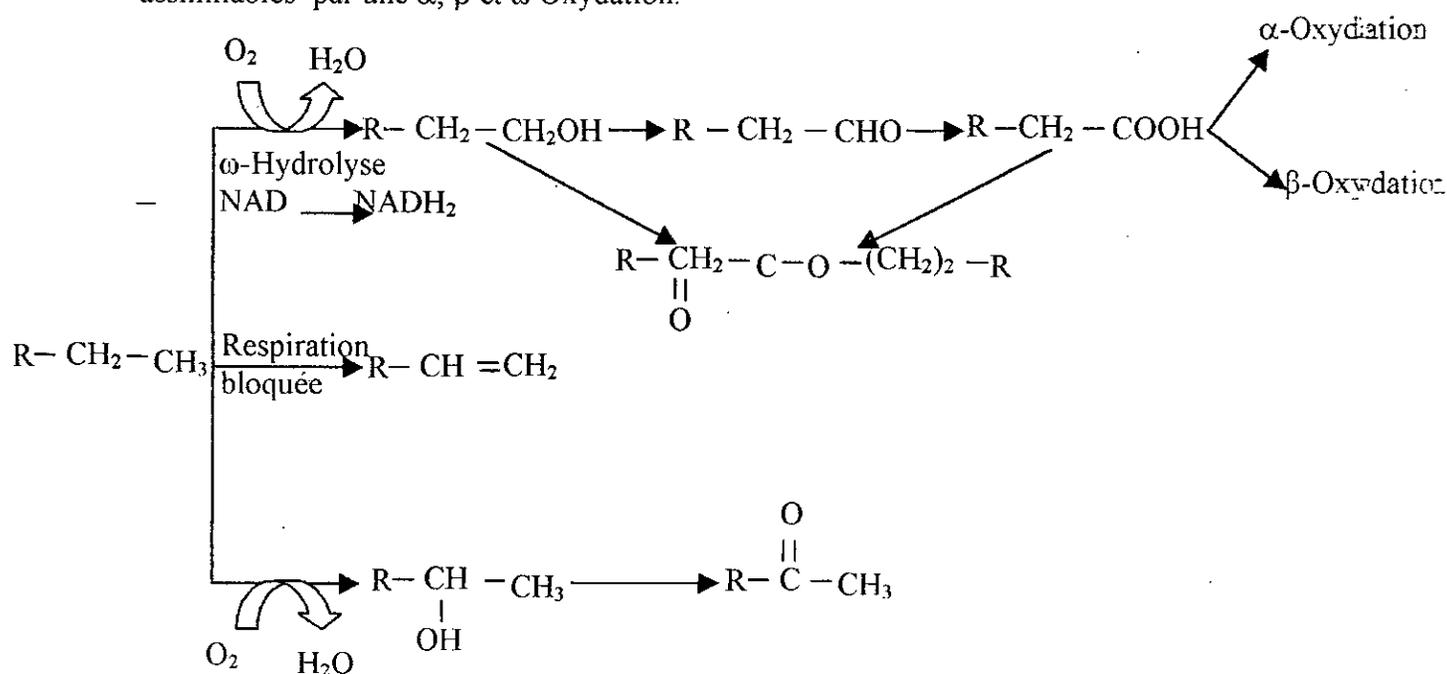


Figure n°V.1 : Assimilation des n-alcanes

Des métabolites intermédiaires, tels les acides dicarboxyliques, les diols, les méthylcétones et des alcools secondaires, montrent qu'il existe d'autres voies métaboliques.

V.2. ASSIMILATION DES ALCANES RAMIFIES

L'assimilation des alcanes ramifiés par les micro-organismes se fait plus lentement que dans le cas des n-alcanes de même nombre d'atomes de carbone. La position, la taille et le nombre de substitués alkylés ont un effet sur la biodégradabilité de la paraffine. Dans ce cas, il y a accumulation de produits extra cellulaires.

En effet, Walker et Colwel 1975 [47] ont constaté, lors de leur étude de l'huile résiduelle des boues de pétroliers, l'apparition durant la dégradation de chaînes d'alcanes

de C₂₄ à C₃₆ malgré cela, le métabolisme n'est pas fondamentalement différent de celui des n-alcanes, bien que l'accumulation de produits extra-cellulaires soit constatée [47].

V.4. ASSIMILATION DES ALCENES

Les alcènes de C₁₀ à C₁₈ sont de moins bons substrats que les alcanes correspondants. Les alcènes à nombre pair d'atomes de carbone subissent une attaque déterminante et donnent un acide gras saturé à (2n-1) atomes de carbone. Les alcènes, à nombre impair de carbone, se transforment en acides (oméga)-insaturés à même nombre d'atomes de carbone [48].

V.5. ASSIMILATION DES CYCLOPARAFFINES

L'idée répandue était que les composés naphthéniques étaient résistants à la dégradation, mais plusieurs souches bactériennes ont montré un développement rapide sur des alcanes cycliques.

De plus, plusieurs cyclo-alcanes non attaqués lorsqu'ils constituent l'unique source de carbone, peuvent être oxydés quand d'autres hydrocarbures sont utilisés comme substrats de croissance. C'est le phénomène de co-oxydation défini par Foster [49].

V.6. ASSIMILATION DES AROMATIQUES

V.6.1. Caractères généraux:

Les aromatiques ont une polarité élevée et, de ce fait, ont une action sur la perméabilité cellulaire. La vitesse de dégradation des aromatiques est fonction du poids moléculaire, de la configuration du cycle et du nombre de cycles.

V.6.2. Voies métaboliques

La biodégradation des hydrocarbures aromatiques implique normalement la formation de diol suivie de l'ouverture du noyau et de la formation de diacides tel que l'acide cis-cis muconique. L'attaque enzymatique s'effectue directement sur le cycle benzénique ou sur un substituant alkyl.

Le noyau aromatique des hydrocarbures s'oxyde par double hydroxylation en positions vicinales qui est suivie par la rupture du cycle, soit entre les deux atomes porteurs des groupements hydroxylés, soit entre un de ces carbones et celui adjacent. De ce fait, il a été observé que le principal produit de dégradation du benzène est le cathéchol dont la conversion en acide cis-cis muconique est généralement faible [15].

Pour le naphthalène, le produit de dégradation est l'acide salicylique.

L'oxydation d'aromatiques methyl ou alkyl-substitués a de nombreux produits de dégradation. Un exemple est illustré sur la figure n°V 2.

La dégradation, par co-oxydation, des aromatiques permet l'attaque d'un grand nombre de composés.

PARTIE EXPERIMENTALE

Dans cette partie nous présentons l'installation utilisée dans les essais de traitements en bioréacteur agité triphasique. Ensuite nous passerons en revue les résultats de l'étude du sol ; l'échantillonnage, l'analyse granulométrique, les caractéristiques physico-chimiques et biologiques du sol étudié.

Nous déterminerons les paramètres environnementaux ; la dose des éléments nutritifs à rajouter dans le réacteur pour réunir les conditions optimales de fonctionnement .

Nous procéderons aussi à une purification d'une souche isolée du sol étudié adaptée à la dégradation des hydrocarbures présents dans le sol.

Les résultats obtenus dans le cas d'un traitement en bioréacteur agité triphasique avec apport d'éléments nutritifs seront présentés et discutés selon que nous utiliseront

1. une microflore autochtone ;
2. une microflore autochtone en présence d'une souche purifiée de *Pseudomonas aeruginosa*.

VI.1. DESCRIPTION DE L'INSTALLATION EXPERIMENTALE

L'installation expérimentale est représentée sur la figure N°VI.1. Elle se compose essentiellement d'un réacteur, d'un système d'agitation mécanique et de diffuseur .

VI.1.1. Réacteur :

C'est un Erlenmeyer d'une capacité de 2 litres, de forme conique à fond plat, muni d'un diffuseur.

VI.1.1.1. Système d'agitation :

Le système d'agitation doit permettre une circulation suffisante du liquide pour .

- Permettre une dispersion homogène de l'oxygène dissous et par la suite une uniformité de la concentration de ce dernier dans tout le réacteur.
- Maintenir les particules solides en suspension et éviter leur dépôts.

a) Modèle d'agitation

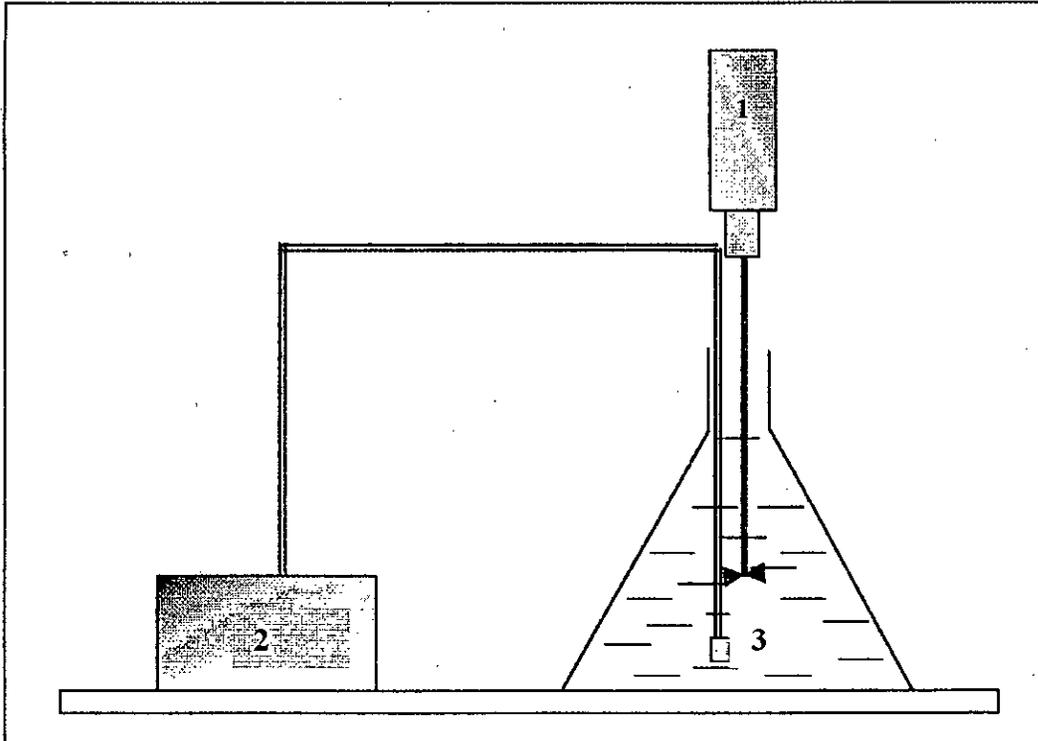
C'est un agitateur à deux pales incurvées qui crée une circulation du liquide verticale parallèlement à l'axe d'agitation. Ce type d'agitateur à vitesse axiale est conçu selon les normes Steel-Miler en acier inoxydable pour résister à la corrosion.

b) Moteur d'agitation

L'agitation du milieu est assurée par un moteur de type IKA-WARK d'une puissance de 600 watts, sa vitesse de rotation varie entre $\omega=60$ et $\omega=500$ tr/min.

VI.1.1.2. système d'aération :

L'aération est assurée par des diffuseurs d'oxygène reliés à une pompe d'aération



VI.2. ETUDE DU SOL

VI.2.1. Echantillonnage

Le sol que nous avons pollué par les hydrocarbures et sur lequel nous avons effectué nos expériences a été prélevé suivant la norme AFNOR 31100. Il s'agit d'un certain nombre de prélèvements élémentaires exécutés à l'aide d'une bêche, et effectués tant au voisinage d'un rejet d'eau usée à Alger plage qu'au niveau de l'école nationale polytechnique

L'échantillon global a été mélangé puis transporté dans des sacs en plastique au laboratoire

An niveau du laboratoire, nous avons procédé au mélange des deux échantillons globaux de sol que nous avons laissé à l'air libre

VI.2.2. Analyse granulométrique

L'analyse granulométrique a été effectuée sur un échantillon du sol à l'aide d'une tamiseuse. Elle représente une gamme de distribution qui s'étend de 5,68 à 1886,64 μm avec 2,41% de fines particules (silts), et 81,17 % de sable. Il ressort des résultats de l'analyse granulométrique que le sol étudié présente une texture sableuse.

VI.2.3. Préparation du sol

Avant de caractériser notre sol, nous avons préparé ce dernier suivant la norme NF X3110, qui consiste à l'étaler à l'air libre pendant quelques heures pour ensuite effectuer un tamisage, avec un tamis de 2 mm, afin d'éviter tout problème d'hétérogénéité.

Tableau n°VI.1. : Analyse granulométrique du sol.

Diamètre	Résultats d'analyse granulométrique en %
2,00	5,55
1,600	5,33
1,00	17,13
0,800	31,47
0,630	16,82
0,400	12,01
0,300	4,97
0,160	3,59
0,053	3,03

VI.3. CARACTERISTIQUES DU SOL

Les résultats d'analyse des caractéristiques physico-chimiques et biologiques du sol que nous avons contaminé par les hydrocarbures au niveau du laboratoire sont consignés dans les tableaux n°VI.2. et n°VI.3.

VI.3.1. Caractéristiques physico- chimiques du sol

Le sol prélevé tamisé conformément aux normes, a été mis en contact avec une solution équimolaire de 1 g/l qui contient les composés suivants : benzène, phénol, nitro-naphtalène, naphtrène. Une masse de 1200 grammes de sol a été introduite dans un litre de cette solution pendant 72 heures.

Après un temps de contact de 72 heures, nous avons filtré le sol que nous avons laissé sécher à l'air libre .

Tableau N° VI.2.: Les caractéristiques physico-chimiques du sol

Paramètres	Résultats
PH	8,68 (19°C)
Humidité	12,8 %
Matière sèche	87,2 %
Matière organique	6,15%
Carbone organique	2,87 %
Azote ammoniacal	0,0075 g/ kg du sol
Phosphore	0,0054 g/kg du sol
Hydrocarbures totaux	48 g /kg du sol
Nitrates	0,0944 g/ kg du sol
Nitrites	0,0039 g/ kg du sol
Azote total	0,1058 g/kg du sol
C/N/P	5314,8 /203,69 /1

VI.4. CARACTERISTIQUES BIOLOGIQUES DU SOL

Pour déterminer les caractéristiques biologiques de notre sol, nous avons réalisé :

- Un isolement et un dénombrement des souches autochtones du sol ;
- Une identification des souches isolées par observation macroscopique et microscopique .

VI.4.1. Isolement et dénombrement des souches autochtones

Pour isoler et dénombrer les bactéries aérobies présentes dans notre sol, nous avons utilisé la méthode de dilution et ensemencement sur boîtes de pétri (gélose nutritive).

VI.4.2. Préparation des dilutions

- On prépare 9 tubes à essais contenant chacun 9 ml d'eau physiologique stérile.
- 1g d'échantillon est mis dans l'un des tubes (solution mère), et pour permettre une bonne diffusion de l'échantillon, la solution est agitée à vitesse maximale pendant deux minutes ;
- A partir de cette suspension on prépare une série de 8 dilutions de 10^{-1} à 10^{-8}
- De la solution mère, est prélevé 1 ml qu'on transfère dans un deuxième tube contenant 9 ml d'eau physiologique pour obtenir une dilution de 10^{-1} .
- Un millilitre est ensuite prélevé de ce deuxième tube pour être transféré dans un troisième tube pour obtenir une dilution de 10^{-2} , et ainsi de suite .

VI.4.3. Ensemencement sur boîtes de pétri

On prélève 0,1 ml de chacune des huit dilutions, on l'étale avec un râteau sur des boîtes pétri qui contiennent de gélose nutritive. Après une incubation de 24 heures à 30 °C, les colonies développées (aérobies) sont dénombrées.

Le nombre de germes autochtones est de $9 \cdot 10^7$ germes / kg de sol.

VI.4.4. Observation macroscopique et microscopique des souches isolées

a). Observation macroscopique

L'observation macroscopique des colonies autochtones du sol développées après 24 heures d'incubation à 30°C, a permis d'étudier la forme, la couleur, l'opacité, l'élévation, et la surface; elle a mis en évidence deux types de colonies (voir fig. N°VI.2.) :

- Une première colonie : circulaire, jaune, opaque, convexe, à surface brillante.
- Une deuxième colonie : circulaire, beige, opaque, plate, à surface brillante.

b). Observation microscopique

L'observation des frottis des deux colonies au microscope photonique de type metallux 3Leitz, après une coloration de Gram a montré que :

- Les bactéries de la première colonie sont **des bacilles gram négatives**.
- Les bactéries de la deuxième colonies sont **des petits cocci gram positives**.

Tableau n°VI.3. : identification macroscopique des colonies bactériennes isolées sur le milieu solide (G.N) après 24 heures d'incubation

SOUCHES	FORME	COULEUR	OPACITE	ELEVATIO N	SURFACE	NOMBRE
Catégorie 1	Circulaire à bord régulier	Beige	Opaque	Convexe	Brillante et lisse	
Catégorie 2	Circulaire à bord non régulier	Jaune	Opaque	Plate	Rugueuse	

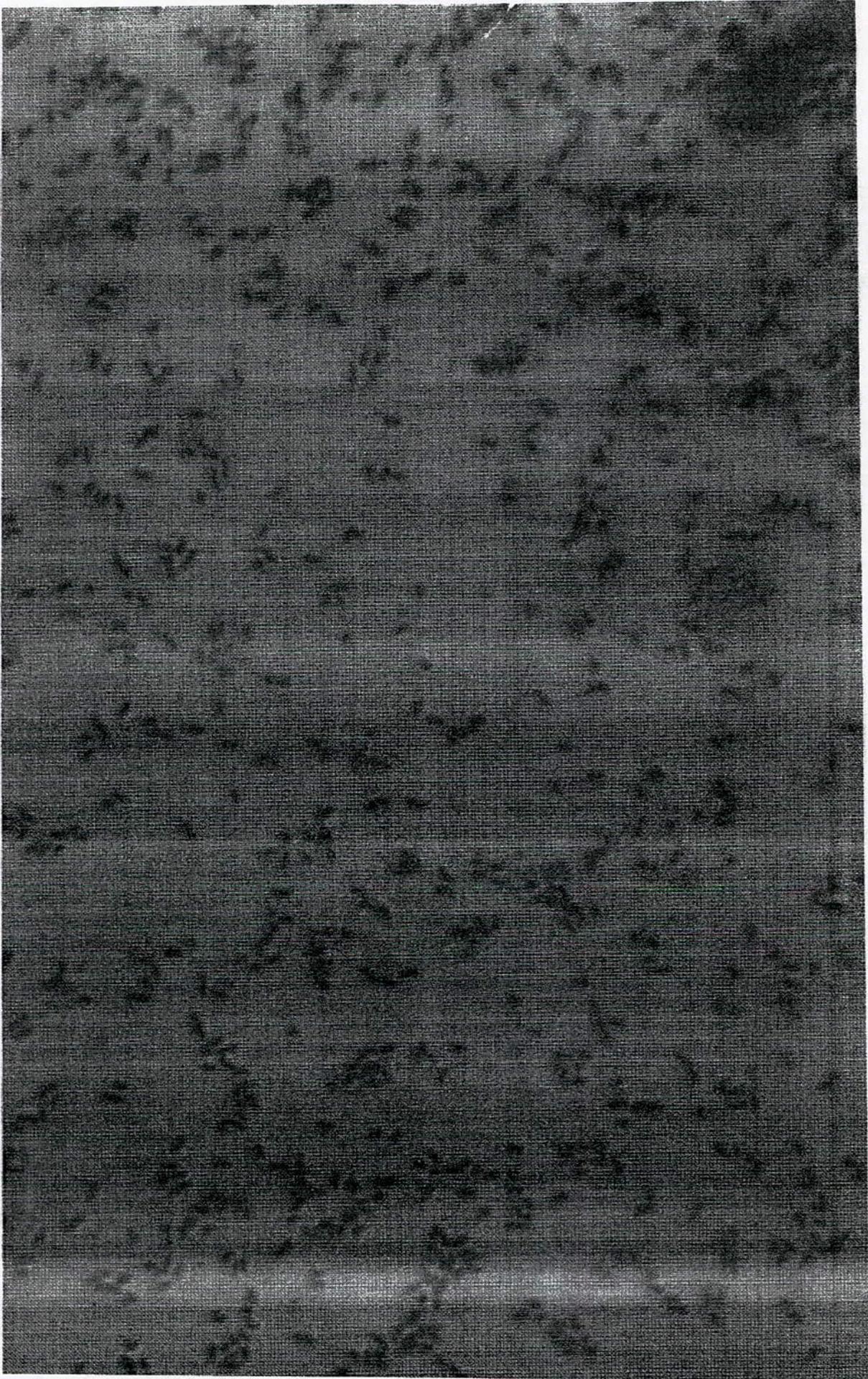


Figure n° VI 2. L'observation microscopique de la 1^{ère} Colonie après
sa coloration de gram

VI.5. OPTIMISATION DU DEBIT D'AIR ET DE LA VITESSE D'AGITATION

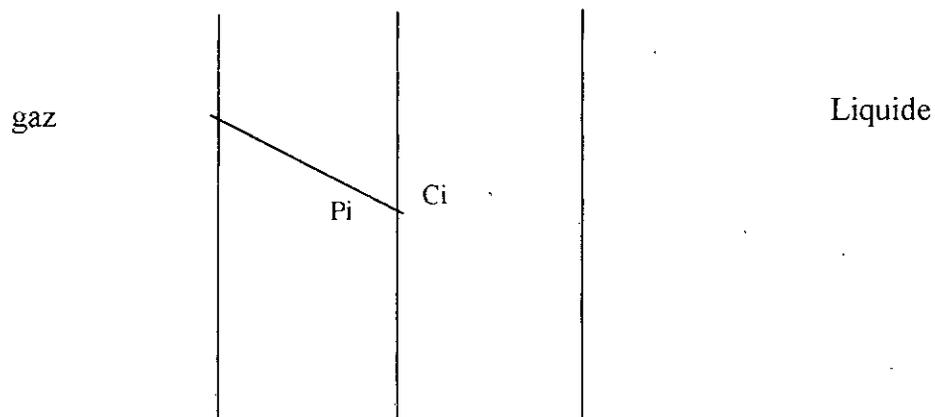
Le bioréacteur doit permettre un transfert d'oxygène optimal et une circulation suffisante du liquide. La mesure du coefficient de transfert ($k_L a$) d'un bioréacteur permet d'évaluer ses capacités à transférer l'oxygène.

A cet effet, nous avons étudié l'influence de la vitesse d'agitation sur le transfert d'oxygène en l'absence et en présence de diffuseurs d'air.

Il ne nous a pas été possible d'étudier l'influence du débit d'air, étant donné les conditions matérielles (la non-disponibilité d'un débitmètre) [50].

VI.5.1. Transfert de matière Gaz-liquide

Dans le cadre de la théorie du double film de Lewis et Withman, la résistance au transfert est supposée localisée dans les deux couches limites respectivement du côté gazeux et du côté liquide avec les coefficients volumiques de transfert partiel ($k_g a$) du côté gaz et ($k_L a$) du côté liquide [51].



L'équation de conservation du flux molaire du soluté transféré par unité de volume depuis la phase gazeuse jusqu'à la phase liquide est donnée par :

$$\phi = k_L a (C_i - C_L) = k_g a (p - p_i) \dots \dots (1)$$

L'étape qui contrôle le transfert est le passage à travers le film liquide et la résistance de transfert gaz-liquide se limite essentiellement à celle du côté liquide, elle est caractérisée par le coefficient de transfert du côté liquide

En admettant que l'équilibre thermodynamique est à l'interface, on peut donc introduire des coefficients volumiques globaux du côté liquide $K_L a$ et du côté gaz

$K_g a$. Le coefficient global volumique $K_L a$ est tel que :

$$\frac{1}{K_L a} = \frac{1}{H k_g a} + \frac{1}{k_L a} \dots (2)$$

Où

H : la constante de Henry du soluté transféré.

Dans le cas d'un gaz peu soluble (l'oxygène), le produit $Hk_{g,a}$ devient plus important que $k_{L,a}$, ce qui permet d'approximer $k_{L,a}$ à $K_{L,a}$. Nous nous limiterons dans ce qui suit à la détermination du coefficient volumique de transfert $k_{L,a}$.

VI.5.1.1. Mesure du coefficient volumique de transfert

Il existe deux types de méthodes pour mesurer le coefficient volumique de transfert ($k_{L,a}$), les méthodes chimiques et physiques selon qu'elles mettent en œuvre ou non une réaction chimique de référence.

- **Méthodes chimiques** : le principe de ces méthodes repose sur une absorption suivie d'une réaction chimique dont la cinétique est connue parfaitement.
- **Méthodes physiques** : ces méthodes sont basées sur l'absorption ou la désorption d'un gaz dans le liquide en l'absence de réaction chimique

VI.5.1.2. Détermination du coefficient de transfert volumique par la méthode d'oxygénation dynamique

Parmi les méthodes physiques les plus utilisées, on peut citer **la méthode d'oxygénation dynamique**.

Cette méthode consiste à suivre la teneur d'oxygène dissous dans le milieu réactionnel (l'eau) en l'absence de substrats, à l'aide d'une sonde à oxygène ; elle permet de déterminer la valeur du coefficient volumique de transfert dans les conditions où se déroulera la réaction.

En général, il est préconisé de saturer le milieu en oxygène, puis d'arrêter l'aération et d'injecter de l'azote dans la solution. La concentration en oxygène dissous diminue et tend vers zéro. On reprend alors l'injection d'air dans les conditions de débit à tester et on enregistre la concentration d'oxygène dissous C_L dans la phase liquide en fonction du temps.

Suite à la faible solubilité de l'oxygène, il en découle que le débit de soluté gazeux transféré par unité de volume peut être exprimé par l'équation suivante :

$$\Phi = k_{L,a} (C_L^* - C_L) \dots \dots \dots (3)$$

et que la masse d'oxygène qui passe de la phase gazeuse à la phase liquide s'exprime alors comme suit :

$$dM/dt = k_L A (C^* - C_L) \dots \dots \dots (4)$$

si on divise l'équation ci dessus par le volume totale, on obtient

$$1/V \, dM/dt = dC_L/dt = k_L A / V (C^* - C_L) \dots (5)$$

$$\frac{dC_L}{dt} = k_L a (C^* - C_L) \dots (6)$$

A : surface à travers laquelle la diffusion se fait ou surface du film liquide .

C* : concentration en oxygène à la saturation en (mg/l)

C_L : concentration en oxygène dans la phase liquide (mg/l)

k_L a : coefficient de transfert volumique (s⁻¹)

On suppose que la concentration en oxygène à la saturation C* est constante.

Il existe diverses méthodes pour déterminer le coefficient de transfert soit :

- A partir du tracé de la courbe des variations de la concentration en oxygène en fonction du temps
- A partir de l'intégration de l'équation (6)

Dans les conditions d'essais, nous n'avons pas saturé la phase liquide en oxygène, ni injecté de l'azote dans la solution . L'intégration de l'équation (6) donne :

$$\ln \frac{C^* - C_0}{C^* - C_L} = k_L a t \dots (7)$$

VI.6. RESULTATS EXPERIMENTAUX ET INTERPRETATIONS

VI.6.1. Influence de la vitesse d'agitation

L'agitation est l'opération qui crée ou accélère le contact entre deux ou plusieurs phases.

Elle a pour but la réduction de la résistance au transfert en réduisant l'épaisseur des films et en augmentant le gradient de concentration mais également le maintien des particules solides en suspension et éviter leurs dépôts.

Dans cette première étape, nous avons réalisé une série d'expériences et avons fait varier la vitesse d'agitation entre 110 et 600 tours par minute sans aération du milieu et avons enregistré l'évolution de la teneur en oxygène dissous dans l'eau en fonction du temps.

Les résultats de mesure en l'absence de diffuseurs sont consignés dans le tableau n°V4. et représentés sur les figures n° VI.3 et VI.4

Tableau n°VI.4 : Evolution de la concentration en oxygène C_L sans aération

t(s)	0	60	120	240	600	900	1200	1500	2400	3000
w=110	7,2	7,2	7,3	7,4	7,8	8	8,2	8,3	8,7	8,7
w=220	7,2	7,2	7,4	7,5	8,1	8,5	8,6	8,8	8,8	-
w=440	7,2	7,2	7,5	7,7	8,5	8,8	9	9,1	-	-
w=600	7,2	7,2	7,7	7,7	8,6	9	9,1	9,1	-	-

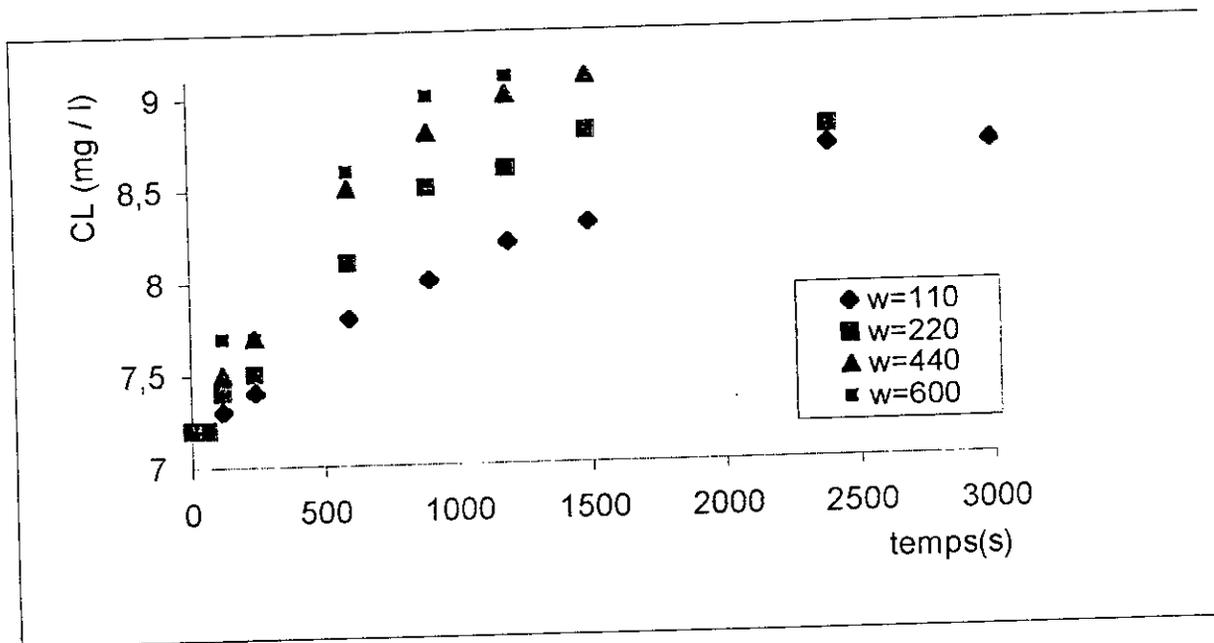


Figure n°VI.3 : Evolution de la concentration en oxygène dans la phase liquide en l'absence de diffuseur .

De façon générale, on constate que la concentration en oxygène C_L augmente avec le temps pour se stabiliser ensuite aux alentours de la concentration de saturation. Dans le cas de la vitesse initiale on remarque qu'il faut beaucoup de temps pour atteindre la saturation.

Enfin nous avons déterminé les coefficients de transfert volumique à partir du tracé de $\ln(C^*-C_0)/(C^*-C_L)$ en fonction du temps (figure n°VI.4). Les résultats sont consignés dans le tableau n°VI.5.

Ces résultats montrent que le coefficient de transfert augmente avec l'augmentation de la vitesse d'agitation. Ceci est probablement lié à la résistance au transfert qui diminue avec l'augmentation de l'agitation mécanique. D'autre part, la turbulence augmente avec l'augmentation de la vitesse d'agitation et génère un taux de renouvellement du film liquide plus important.

Toutefois, à partir d'une vitesse de 600 tours par minute, l'augmentation de la vitesse n'est pas très significative, elle n'engendre qu'un faible accroissement de $k_L a$ et à

accroissement de k_{La} . Par ailleurs, à partir de cette vitesse il y a formation d'un vortex, phénomène à éviter car il peut détruire les amas des micro-organismes.

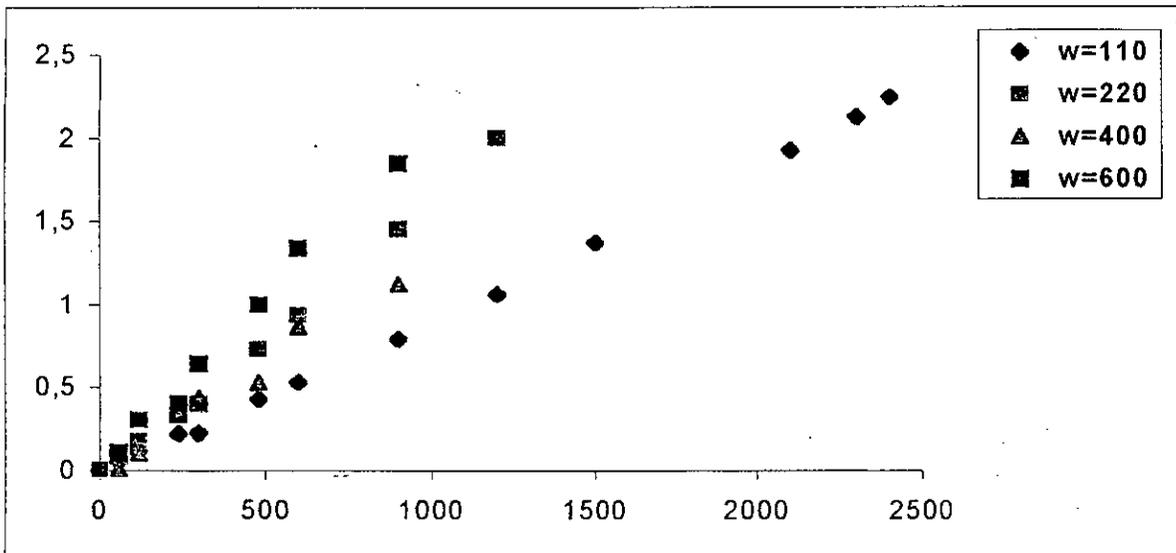


Figure n° VI.4. : Evolution de $\ln(C^* - C_0) / (C^* - C_L)$ en l'absence de diffuseur

Tableau n°VI.5. : Evolution de k_{La} en fonction de la vitesse d'agitation sans diffuseur

ω (tr/min)	110	220	440	600
$K_{La} 10^3$ (s ⁻¹)	1	1,725	2,08	2,2

VI.6.2. Influence de l'aération

Dans cette deuxième étape, nous avons reconduit la même série d'expériences que précédemment mais en présence de diffuseurs d'air.

Les résultats de mesure sont représentés sur les figures n°VI.5 et VI.6

Dans cette série d'expériences, nous avons fait introduire dans notre réacteur un seul diffuseur d'oxygène, puis deux diffuseurs d'oxygène et avons fait varier la vitesse d'agitation.

A partir du tracé de $\ln(C^* - C_0) / (C^* - C_0)$ en fonction du temps comme l'illustre les figures VI.7 et VI.8, nous avons déterminé les différents coefficients de transfert.

Nous remarquons que le coefficient de transfert augmente considérablement avec l'introduction de l'aération. En effet, pour une vitesse d'agitation de 110 tours par minute par exemple nous remarquons que le coefficient k_{La} passe de 10^{-3} s^{-1} en l'absence de diffuseurs à $5,6 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ en présence de deux diffuseurs.

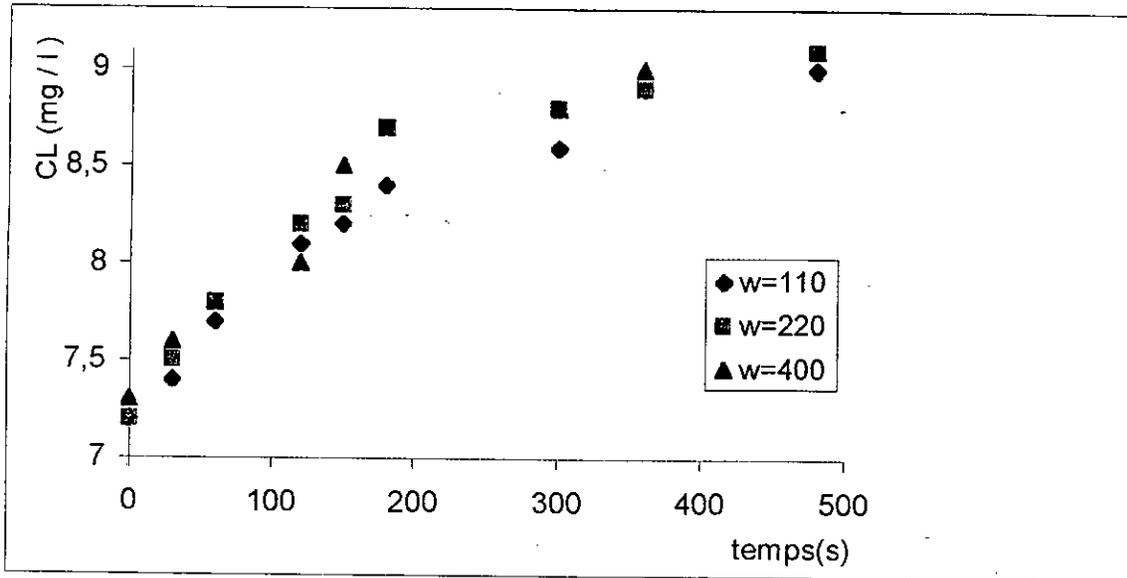


Figure n° VI.5 : Evolution de la concentration en oxygène dans la phase liquide pour un seul diffuseur

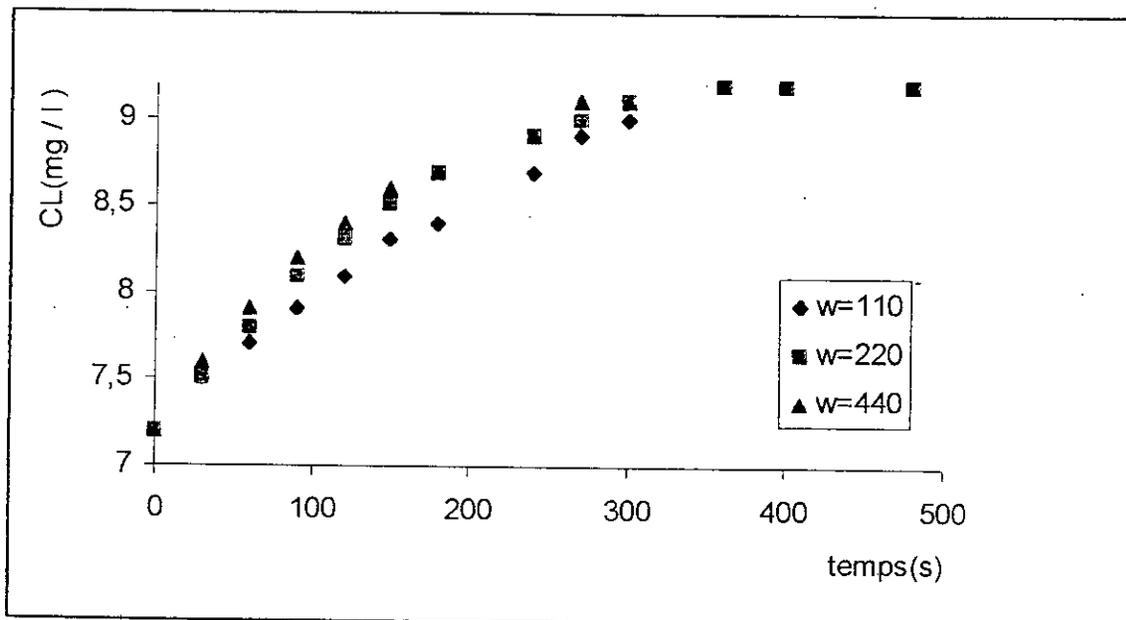


Figure n° VI.6 : Evolution de la concentration en oxygène dans la phase liquide pour deux diffuseurs

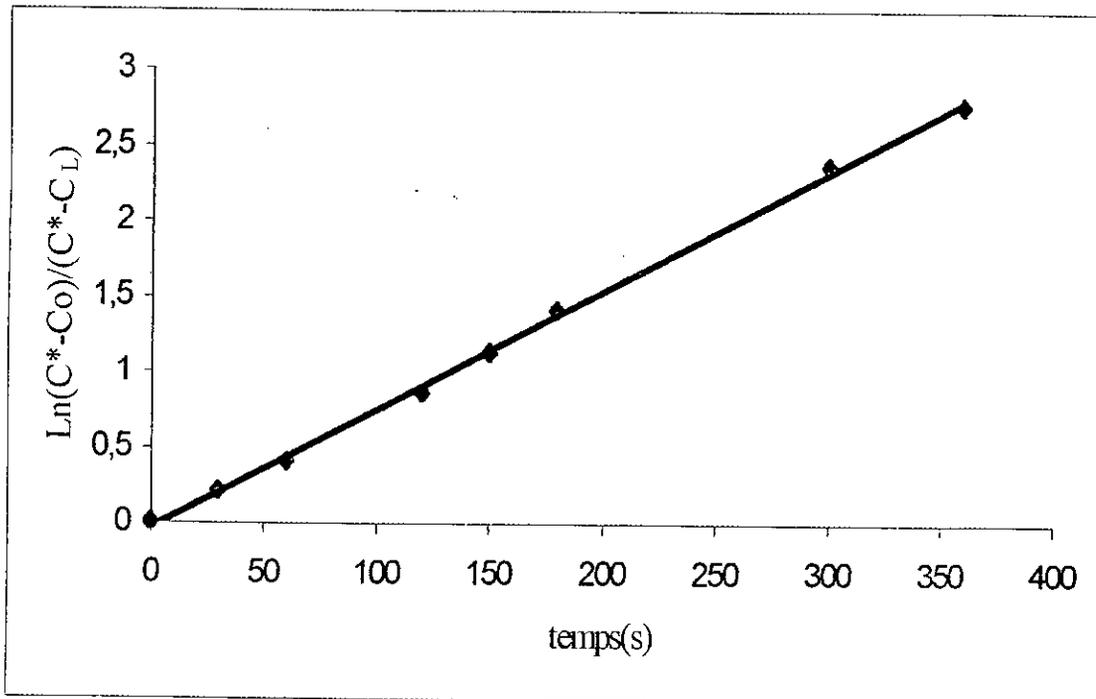


Figure n°VI.7. : Evolution de $\text{Ln}(C^*-C_o)/(C^*-C_L)$ en fonction du temps pour un seul diffuseur

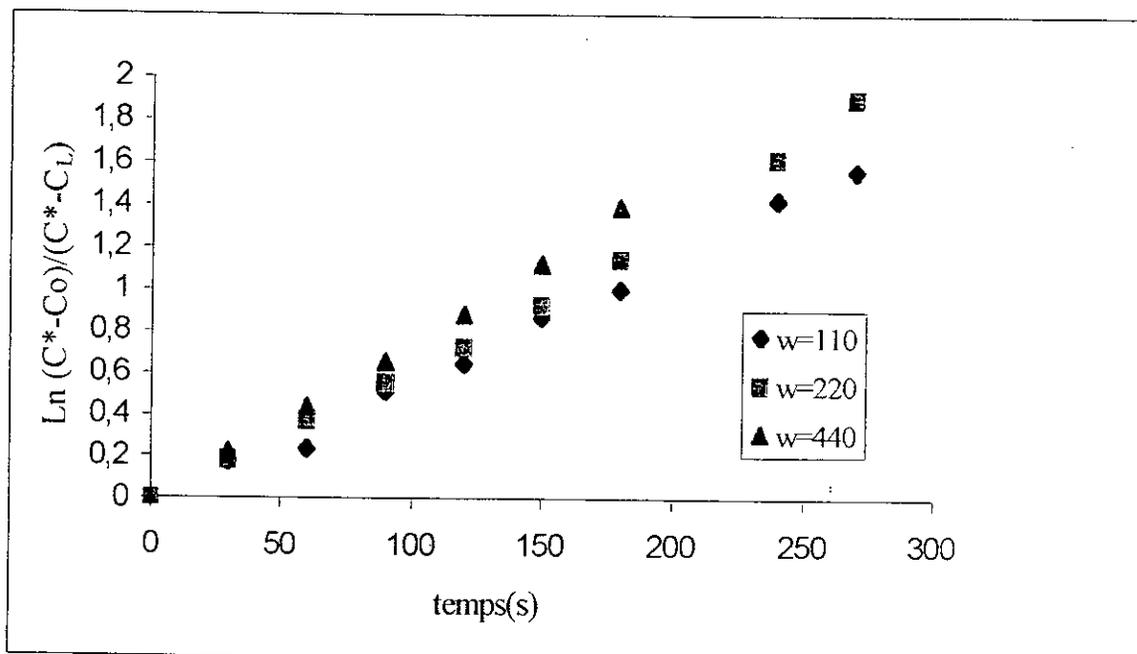


Figure n°VI.8. : Evolution de $\text{Ln}(C^*-C_o)/(C^*-C_L)$ en fonction du temps pour deux diffuseurs

Avec l'utilisation de deux diffuseurs, l'augmentation de la vitesse d'agitation s'accompagne d'une légère augmentation de $k_{L,a}$ comme l'illustre le tableau VI.6.

Tableau n°VI.6. : Evolution de $k_{L,a}$ en fonction de la vitesse d'agitation avec deux diffuseurs

ω (tr/min)	110	220	440
$K_{L,a} 10^3$ (s ⁻¹)	5,9	6,9	7,6

Toutefois, avec l'introduction d'un seul diffuseur, nous remarquons que le coefficient de transfert augmente de façon significative et n'est pas affecté par l'augmentation de la vitesse d'agitation. Il se situe aux environs de $6,5 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$. D'autres essais devront être fait pour vérifier ce résultat. Il faut noter que le diffuseur seul n'est pas stable, il ne conserve pas sa position initiale et est en perpétuel mouvement dans le réacteur sous l'effet de l'agitation.

A partir de ces résultats, nous avons opté de travailler avec un seul diffuseur ($k_{L,a} = 6,8 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$) et avec une vitesse d'agitation de 220 tours par minute.

Notre choix s'est porté sur la vitesse $\omega = 220$ au lieu de 110 tr/min car des essais préliminaires ont mis en évidence que $\omega = 220$ tr/min est la vitesse minimale qui assure le maintien des particules solides en suspension

I.6.3. influence de la présence du solide sur le coefficient de transfert

On a pas effectué de mesures de transfert d'oxygène en présence du sol contaminé par les hydrocarbures, car les agglomérats formés en solution bouchent la membrane de la sonde à oxygène ce qui cause des perturbations au niveau de la diffusion.

La plupart des études ont été consacrées surtout à l'étude des systèmes gaz-liquide. Toutefois, la présence de solide agit surtout sur la rétention gazeuse en modifiant le comportement des bulles [24].

Le coefficient de transfert d'oxygène $k_{L,a}$ diminue avec la rétention de solide Schmitz et Kojima (1987) ont étudié l'influence de la fraction volumique de solide sur le coefficient de transfert et on abouti aux résultats ci-dessous :

$$(k_{L,a}) / (k_{L,a})_0 = 1 - 3,54 (\xi - 0,03) \quad 0,03 < \xi < 0,12 \quad dp = 320 \mu\text{m}$$

- Les particules très fines en faible concentration ou les particules très grosses en forte concentration ont tendance à augmenter la rétention gazeuse et une diminution de la rétention gazeuse et par conséquent une diminution du $k_{L,a}$ pour des particules de taille moyenne et une concentration modérée.
- La présence de particules solides influence énormément la vitesse d'agitation du liquide, cette vitesse diminue par l'ajout de particules ceci du à l'augmentation de la masse volumique et de la viscosité de la suspension

VI.7. TRAITEMENT EN BIOREACTEUR

Nous avons réalisé deux essais de traitements en bioréacteur agité triphasique.

- Un premier essai dans un réacteur mécaniquement agité, aéré, avec ajout d'éléments nutritifs (source d'azote et de phosphore) en présence d'une microflore constituée par les bactéries autochtones.
- Un deuxième essai dans un réacteur avec les mêmes conditions opératoires que celles utilisées dans le premier essai à la différence que nous avons rajouté un inoculum bactérien du genre *pseudomonas aeruginosa*.

Un dosage quantitatif des hydrocarbures, des nitrates, des nitrites, de l'azote ammoniacal, du phosphore et de l'oxygène dissous a été effectué tous les deux jours.

Un dénombrement de la microflore totale a également été déterminé dans le temps afin de suivre la cinétique microbienne.

Pour tout ce qui suit, nous avons considéré :

R1 : le premier réacteur ou le premier essai (apport d'éléments nutritifs).

R2 : le deuxième réacteur ou le deuxième essai (apport d'éléments nutritifs et de bactéries du genre *pseudomonas aeruginosa*).

VI.7.1. Optimisation des paramètres environnementaux

Pour avoir une bonne dégradation et un meilleur pouvoir d'élimination des hydrocarbures en bioréacteur, il est important de maîtriser et de fixer : la température, le pH du milieu, le pourcentage du sol dans le bioréacteur et la quantité des éléments nutritifs (azote, phosphore) à rajouter.

Nous nous sommes référés à la bibliographie pour la détermination de ces paramètres.

1. Le pourcentage de sol adopté dans le bioréacteur est de l'ordre de 20%. Certains auteurs[51] préconisent un pourcentage de solide entre les bioréacteurs entre 10 et 30%.
2. L'efficacité de biodégradation des hydrocarbures est généralement plus élevée à un pH proche de 7 légèrement alcalin [52], aussi le pH de notre milieu a été ajusté au cours des expériences pour être maintenu dans un intervalle de pH de 6,8 – 7,8 (voir annexe).
3. Une très grande partie des micro-organismes adaptés aux hydrocarbures sont mésophiles (20°C à 40°C)[53]. Aussi, la souche du genre *Pseudomonas* utilisée pour la bioaugmentation est mésophile et peut dégrader les hydrocarbures à des températures assez élevées pouvant aller jusqu'à 40 ou 50°C.

4. Il ressort des résultats d'analyse du sol consignés dans le tableau n°VI.2 ; que les teneurs en carbone organique rapportées à celles de l'azote et celle du phosphore sont élevées. Les rapports carbone azote et carbone phosphore sont respectivement égaux à 271,26 et 5314,8 alors que les valeurs du rapport optimale C/N/P données par la littérature se situent au voisinage de 120/10/1

Pour parer au déficit en azote et en phosphore nous avons introduit 652,9mg de NH_4NO_3 et 132 mg de K_2HPO_4 pour 100 gr de sol à traiter .

La plupart des bactéries n'utilisent que l'azote combiné, organique ou minéral. Dans ce travail nous avons également suivi l'évolution des teneurs en nitrates, nitrites et azote ammoniacal durant la période d'incubation.

VI.8. EVOLUTION DE LA TENEUR EN AZOTE

La présence de matières organiques telles que les hydrocarbures et leur assimilation a pour conséquence un accroissement de la biomasse, et corrélativement une variation de différentes formes de l'azote [54].

Il est important de suivre l'évolution de la teneur en azote pendant la période d'incubation et d'en étudier l'influence sur la croissance bactérienne.

Dans notre étude, la variation de trois formes différentes de l'azote a été suivie, et qui sont :

- L'azote nitrique : NO_3^-
- L'azote nitreux : NO_2^-
- L'azote ammoniacal : NH_4^+

VI.8.1. Evolution de la teneur en nitrates

L'évolution de la teneur en nitrates dans les deux réacteurs est représentée sur la figure n° VI.9.

Durant les quatre premiers jours, on enregistre un phénomène de nitrification dans les deux réacteurs. A partir du sixième jours, une régression très importante de la teneur en NO_3^- est observée, qui peut être attribuée à une ammonification assimilatrice, dite aussi dénitrification assimilatrice. Les micro-organismes utilisent les nitrates comme source d'électrons et le réduire par la voie assimilatrice sous forme d'ammonium, pour arriver à la fin de l'incubation à un faible épuisement du milieu en azote nitrique NO_3^- .

L'augmentation de la teneur en nitrates est plus marquée dans le deuxième réacteur R2, on peut attribuer cette différence à l'activité bactérienne qui est plus intense dans le réacteur R2.



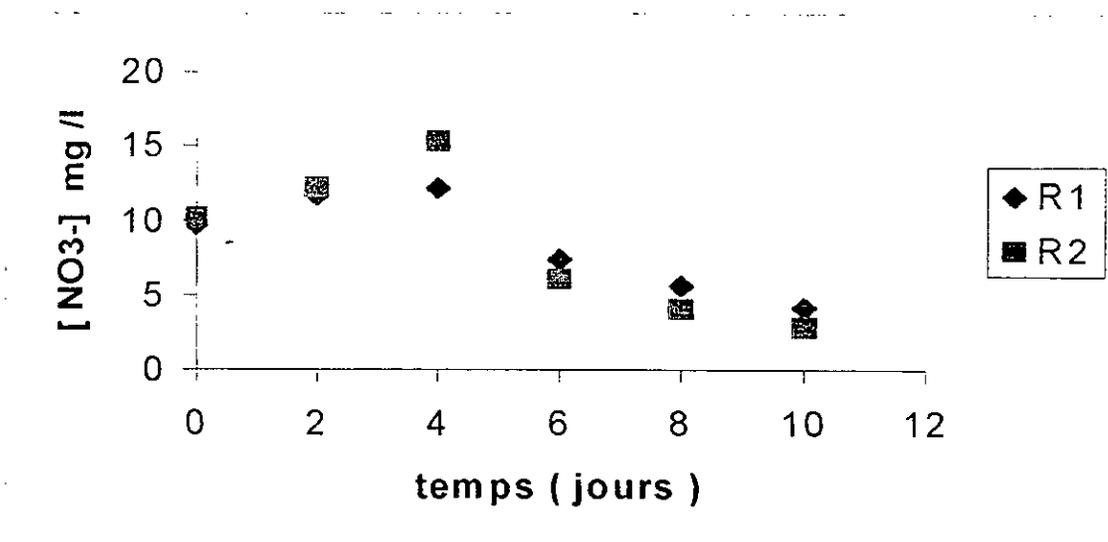


Figure n°VI.9 : Evolution de la teneur en nitrates dans les deux réacteurs

VI.8.2. Evolution de la teneur en azote ammoniacal

L'évolution de la teneur en azote ammoniacal dans les deux réacteurs est représentée par la figure n°VI.10, pendant les quatre premiers jours, une importante régression de la teneur en azote ammoniacal est constatée, avec une vitesse d'assimilation très proche de celle du deuxième réacteur.

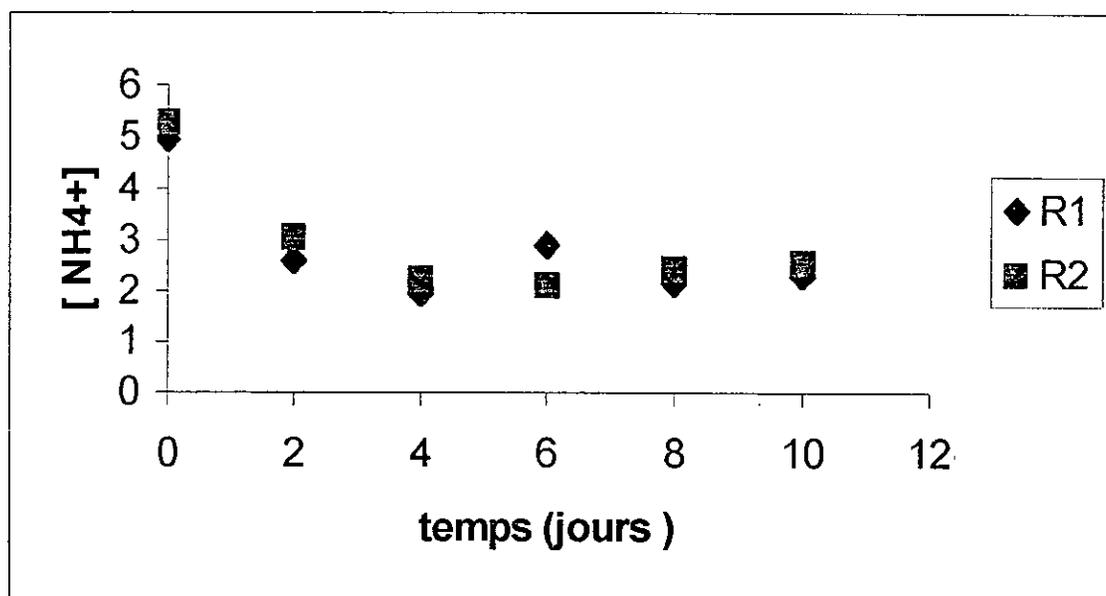
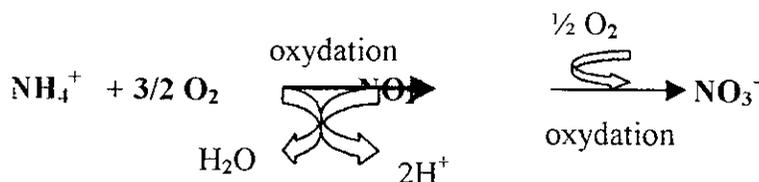


Figure n° VI.10 : Evolution de la teneur en azote ammoniacal dans les deux

Cette assimilation de NH_4^+ est attribuée à une incorporation du NH_4^+ dans la matière organique, à cause de sa forme la plus assimilable, ou à un phénomène de nitrification, comme le précisent Schlesing et Muntz [54]. Ce phénomène s'effectue dans le cas d'un milieu riche en matières organiques, et ions ammoniums NH_4^+ . Cet ion se transforme en nitrates lorsque l'aération est bonne, la température pas trop basse et le milieu plus ou moins alcalin, ces conditions étaient réunies dans les deux réacteurs.



Par le biais de cette oxydation, les micro-organismes arrivent à synthétiser l'ATP nécessaire à leur croissance.

La diminution de la teneur en NH_4^+ est suivie au niveau des deux réacteurs c'est l'assimilation par les micro-organismes pour réduire les NO_3^- .

Cette voie de dénitrification est appelée aussi la réduction analogique des nitrates, assurée par l'enzyme cytoplasmique NBR (pas de synthèse d'ATP), cette enzyme est synthétisée par tous les micro-organismes qu'elles que soient les conditions aérobies ou anaérobies.

VI.8.3. Evolution de la teneur en nitrites

L'évolution de la teneur en nitrites est représentée sur la figure n° VI.11.

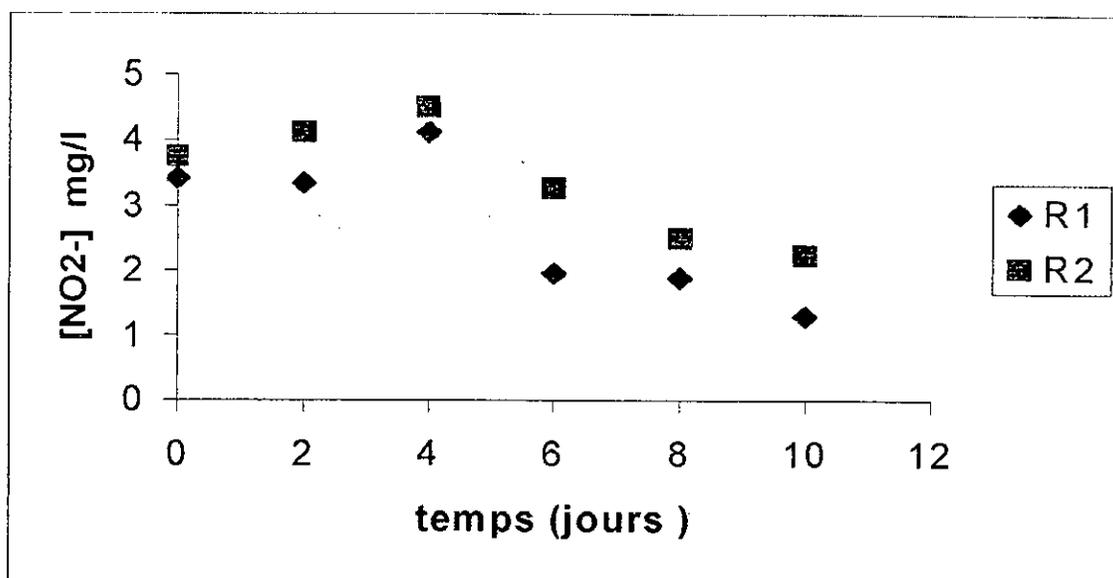


Figure n° VI.11 : Evolution de la teneur en nitrites dans les deux réacteurs

Les nitrites peuvent s'accumuler, et constituer un problème environnemental en participant à la formation de nitrosamines cancérigènes. Les NO_2^- subissent une réduction

plus prolongée arrivant ainsi à l'ion ammonium dans le cas de la dénitrification, et a une oxydation plus prolongée aboutissant ainsi à l'azote nitrique NO_3^- .

Comme il est illustré sur la figure n°VI.11, l'évolution de l'azote nitreux est presque stable les quatre premiers jours, elle diminue suite par un phénomène de dénitrification des NO_2^- en NH_4^+

VI.9. EVOLUTION DE LA TENEUR EN PHOSPHORE

On trouve le phosphore dans certains acides nucléiques, phospholipides, nucléotides comme l'ATP quelques cofacteurs, certaines protéines et dans d'autres composants inorganiques comme source de phosphore, et l'incorporation directe avec synthèse d'ATP, des faibles niveaux de phosphore limitent la croissance.

L'évolution du phosphore en fonction du temps est représentée sur la figureVI.12. On constate, dès le deuxième jours une nette diminution de la concentration en phosphore et elle est notable dans le cas du réacteur R2.

Ce phénomène peut expliquer l'importance de ce composé dans le métabolisme microbien en phase d'adaptation. En effet, le phosphore joue un rôle déterminant dans le métabolisme cellulaire dès les premiers jours.

Contrairement à ce qui a été rapporté par certains travaux, concernant la stabilité du phosphore au cours de la dégradation des hydrocarbures, qui d'après eux le phosphore ne subit pas une grande variation.[55]

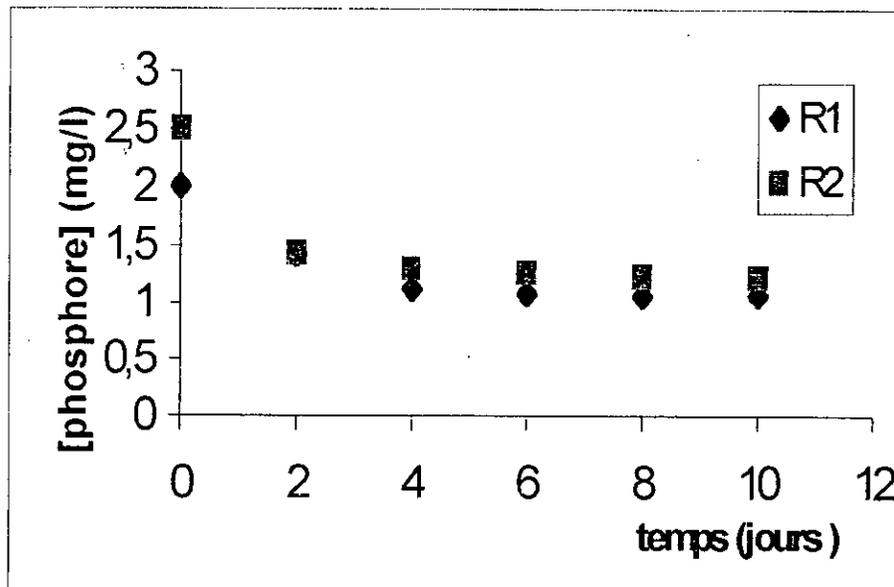


Figure n°VI.12 : Evolution de la teneur en phosphore dans les deux réacteurs R1 et R2

VI.10. EVOLUTION DE LA CONCENTRATION EN OXYGENE DISSOUS

La courbe de consommation de l'oxygène dissous par les bactéries au cours de la période d'incubation dans les deux réacteurs est illustrée par la figure n°VI.13.

L'évolution de la concentration en oxygène dissous est le reflet de la courbe de croissance ou de la productivité.

En présence d'oxygène dissous, les micro-organismes utilisent une partie des composés organiques comme source d'énergie et assimilent une autre partie pour accroître la masse des cellules.

Au début de la phase de déclin (durant le 6^{ème} jours) nous constatons une diminution de la consommation d'oxygène par les bactéries, ceci est du probablement à la mort de certaines bactéries par l'épuisement du milieu en éléments nutritifs .

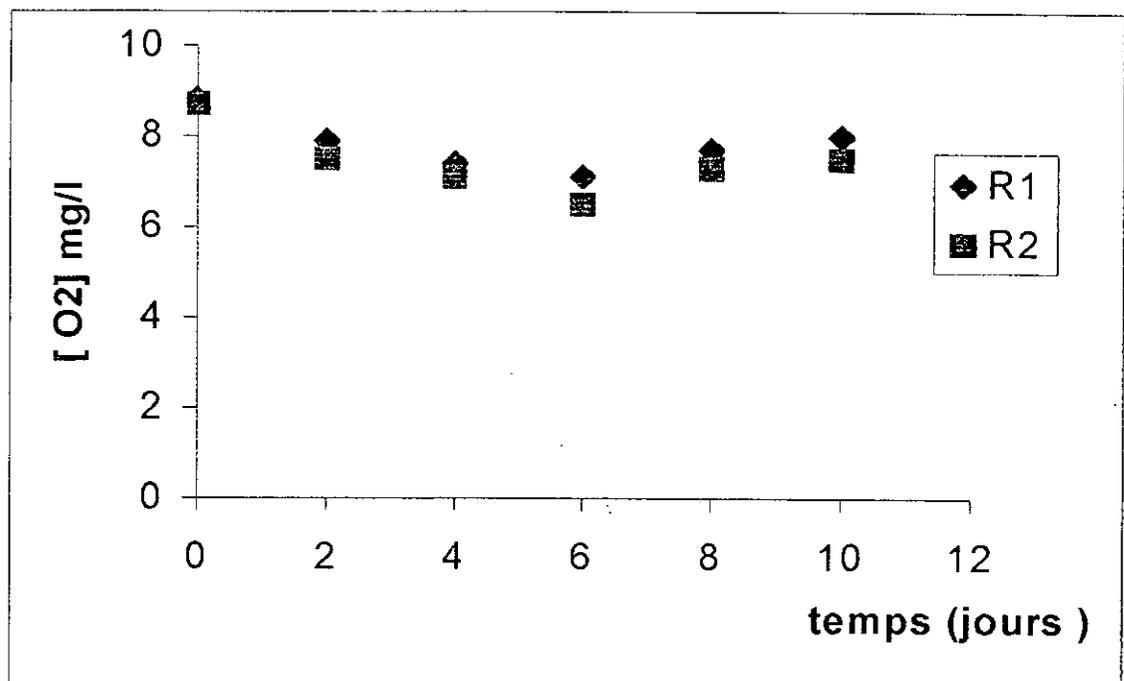


Figure n°VI.13 : Evolution de la teneur en oxygène dissous dans les deux réacteurs R1 et R2.

VI.11. EVOLUTION DE LA CROISSANCE BACTERIENNE DANS LES DEUX REACTEURS R₁ ET R₂

L'évolution de la courbe bactérienne dans les deux réacteurs durant la période d'incubation est représentée sur la figure n°VI.14.

- Dans le réacteur **R1** : la croissance bactérienne, constituée par les bactéries autochtones passe par trois phases.

- Dans le réacteur **R1** la croissance bactérienne, constituée par les bactéries autochtones passe par trois phases.

Une phase exponentielle durant les quatre premiers jours d'incubations, correspond à l'étape de dégradation des hydrocarbures la plus actives et à l'assimilation des éléments nutritifs contenus dans le milieu (azote, phosphore), à ce stade, toutes les bactéries sont vivantes. La biomasse totale atteint le nombre de $9 \cdot 10^7$ germes/ml. Du 4^{ème} au 8^{ème} jours d'incubation la croissance bactérienne est stable, c'est la phase stationnaire correspond au maximum du rendement de la croissance, où les bactéries ont développés toutes leurs structures et ont fini par épuisé le milieu.

Il y a une légère décroissance après le 8^{ème} jour, elle est suivie d'une deuxième phase stationnaire. Ceci est due au milieu qui n'est pas encore totalement épuisé

- Dans le réacteur **R2**, la microflore totale est constituée de bactéries autochtones et d'une souche adaptée isolée, pour enrichir le milieu de culture en bactéries adaptées à la dégradation des hydrocarbures .

Durant les quatre premiers jours nous remarquons un accroissement remarquable de la biomasse totale jusqu'à atteindre un nombre de $8,92 \cdot 10^{10}$ germes/ml, correspondant à la phase exponentielle de croissance. Cette phase est suivie par une stabilisation de la biomasse.

Après le 6^{ème} jour, il y a une décroissance ou un déclin de la population consécutif qui peut être expliquée par la mort de certaines bactéries. Cette dernière est due probablement à l'inhibition de la croissance par les catabolites toxiques des bactéries et /ou au déficit en éléments nutritifs (azote, phosphore).

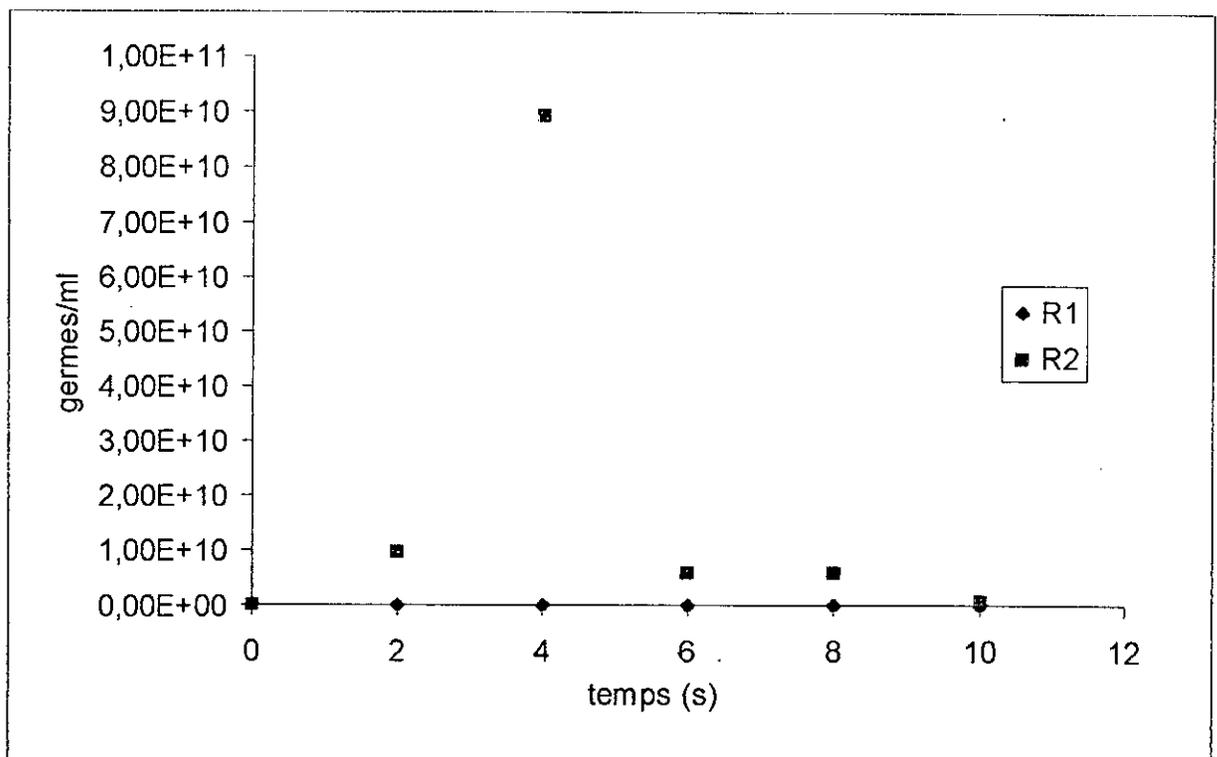


Figure n°VI.14 : Evolution de la croissance microbienne dans les deux réacteurs R1 et R2.

VI.12.DETERMINATION DU TAUX DE CROISSANCE MAXIMUM DANS LES DEUX REACTEURS

La détermination du taux de croissance maximum lors de la phase exponentielle, est illustrée sur les figures VI.15 et VI.16, elle nous permet de comparer les vitesses de croissance bactérienne dans les deux réacteurs.

Les résultats de mesure donnent un taux de croissance maximum de $0,071\text{h}^{-1}$ dans le réacteur R_1 et de $0,111\text{h}^{-1}$ dans le réacteur R_2 .

Il ressort clairement que le taux de croissance bactérien dans le réacteur R_1 est faible et égale presque à $2/3$ que celui observé dans le réacteur R_2 , ceci peut être attribué à l'enrichissement du milieu de culture du réacteur R_2 par la souche adaptée qui a engendrée une intense activité bactérienne.

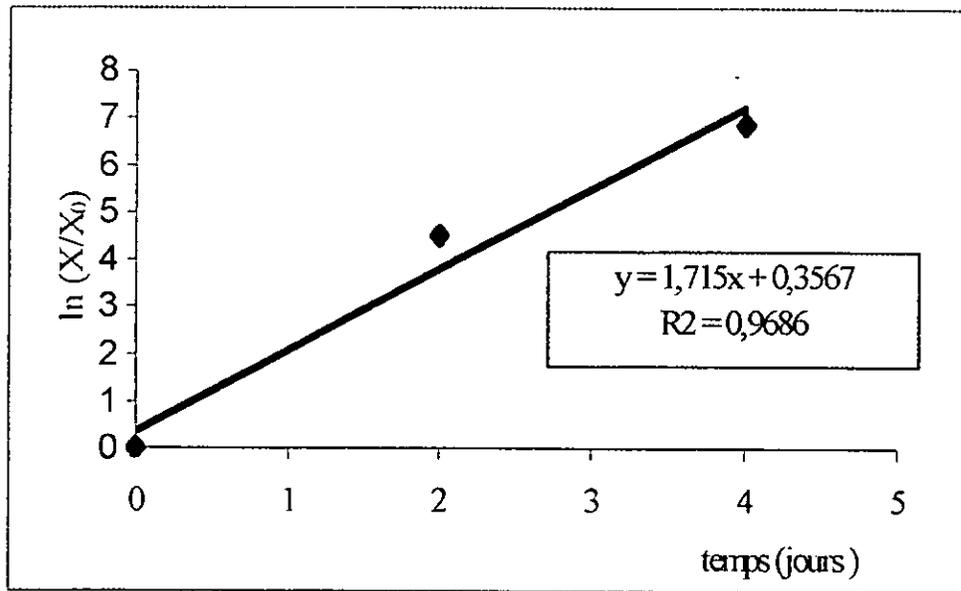


Figure n°VI.15 : Représentation de $\ln(x/x_0)$ en fonction du temps dans le réacteur R_1 .

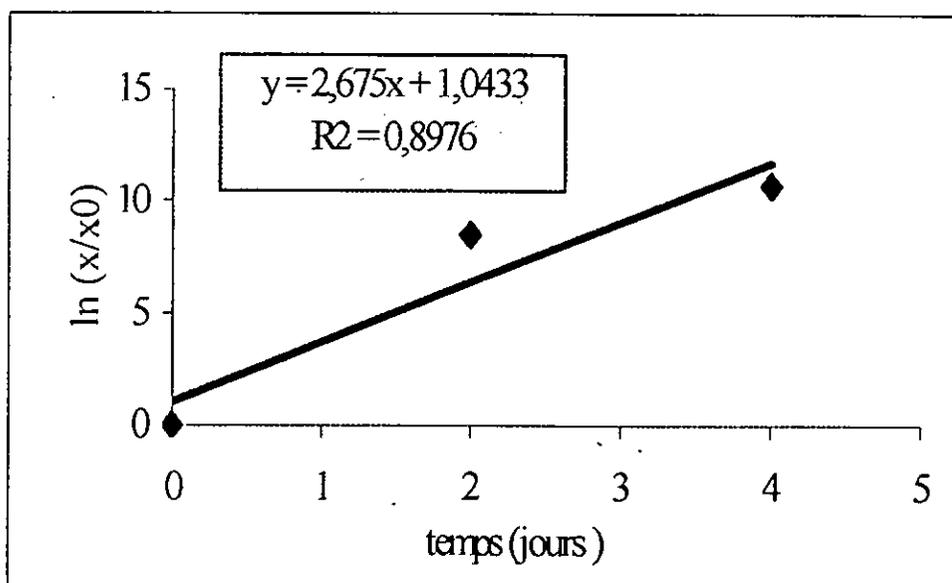


Figure n°VI.16 : Représentation de $\ln(x/x_0)$ en fonction du temps dans le réacteur R_2 .

VI.13.EVOLUTION DE LA TENEUR EN HYDROCARBURES

En contact avec l'eau, le sol relargue une certaine quantité d'hydrocarbure. Pour suivre la biodégradation des hydrocarbures dans les deux réacteurs, ces derniers ont été dosés dans le sol et dans la phase liquide par infrarouge (annexe). En effet une fraction des hydrocarbures reste liée aux particules du sol par les différents phénomènes de rétention, cependant l'autre fraction passe dans la phase liquide. Les résultats obtenus sont représentés par les figures n°VI.17 et VI.18.

VI.13.1. Evolution de la teneur en hydrocarbures dans la phase solide

La dégradation des hydrocarbures dans en terme de vitesse est plus marquée pendant les six premiers jours correspondant à la phase de la reproduction cellulaire et le dédoublement de la population microbienne, pendant cette période on atteint un taux d'élimination (rendement) de 60% pour le premier réacteur, et de 64,37% pour le deuxième réacteur.

Après le sixième jours la vitesse de dégradation des hydrocarbures est relativement moins importante, et faible ceci peut être expliquer par le début de la phase de déclin

VI.13.2. Evolution de la teneur en hydrocarbures dans la phase liquide

La vitesse de dégradation des hydrocarbures dans la phase liquide est importante et elle suit la même évolution tout au long de la période des expériences .

La rendement d'élimination des hydrocarbures dans cette phase atteint 75,35% pour le premier réacteur et de 80,97% pour le réacteur .

A la lumière des résultats ,on constate que le taux d'élimination des produits organiques est plus marquée dans la phase liquide què celle observée dans la phase solide , ceci peut être attribuer à plusieurs raisons tels que;

Comme il a été déjà cité dans la première partie que le transfert d'oxygène était plus important dans le système gaz –liquide que dans celui du solide –liquide donc par voie de conséquence une meilleure

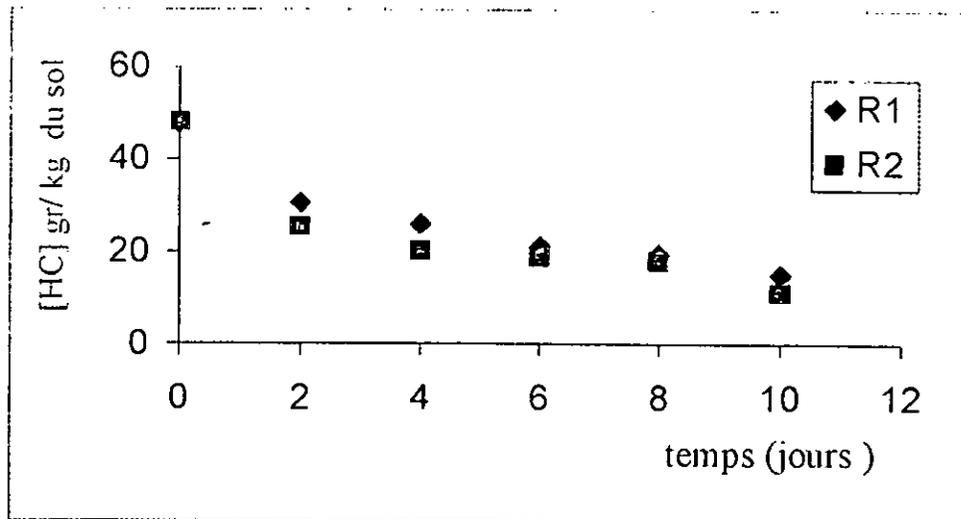


Figure n°VI.17 : Evolution de la teneur en hydrocarbures dans la phase solide dans les deux réacteurs .

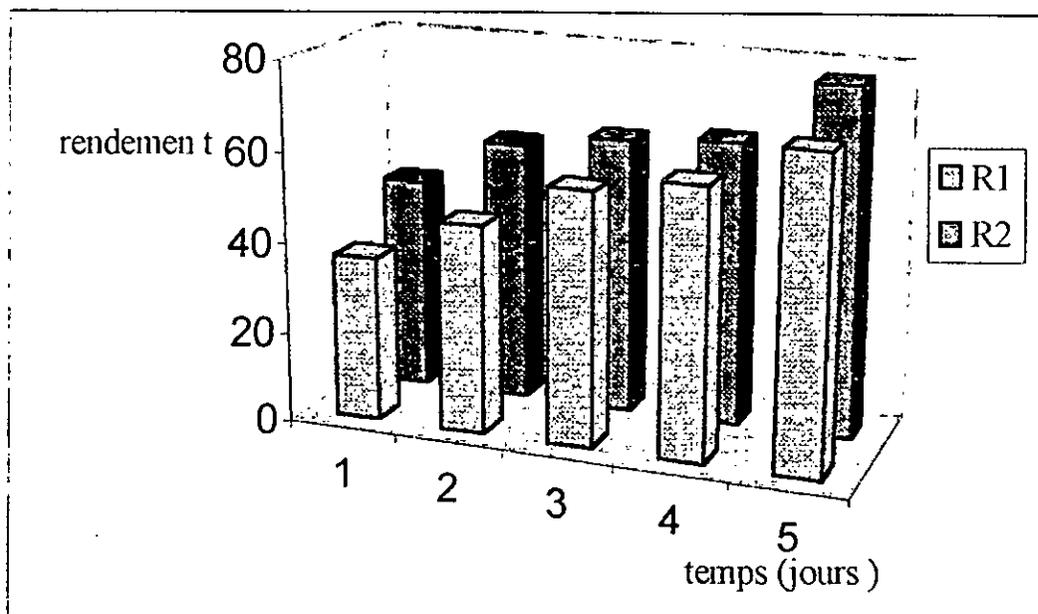


Figure n°VI.18 : Evolution du rendement d'élimination des hydrocarbures dans la phase solide dans les deux réacteurs.

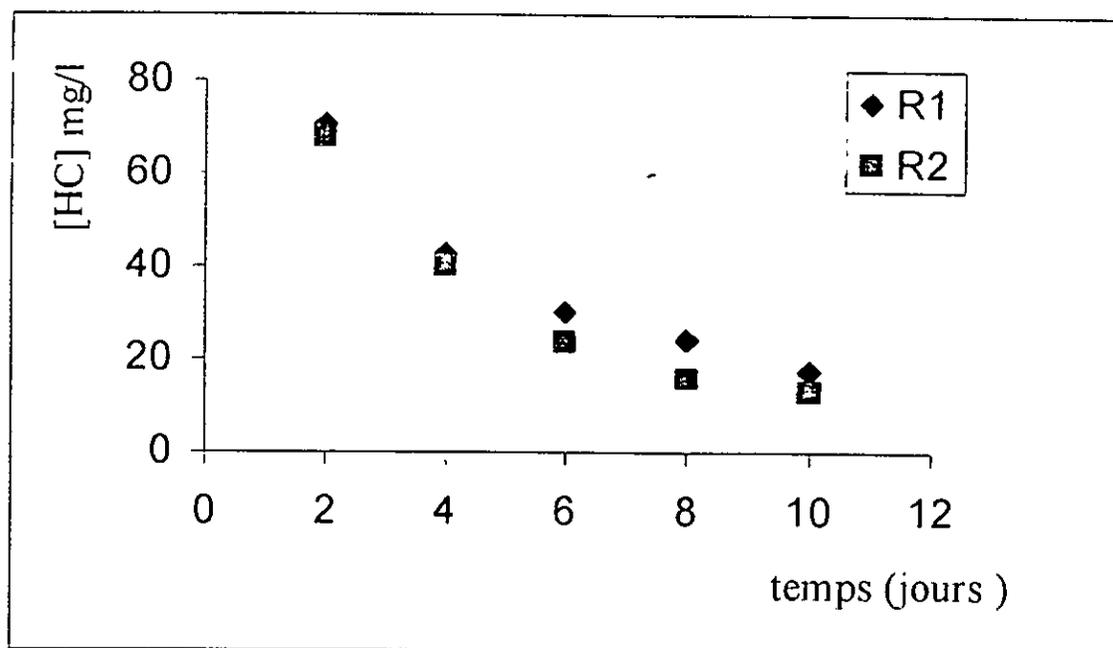


Figure n°VI.19 : Evolution de la teneur en hydrocarbures dans la phase liquide dans les deux réacteurs .

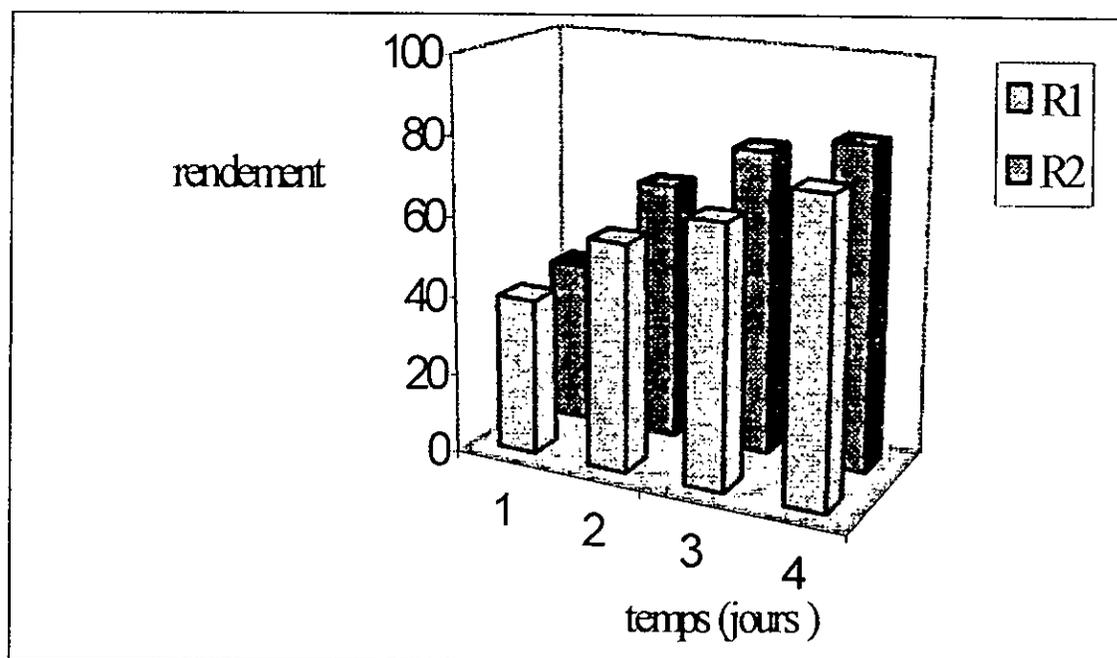


Figure n°VI.20 : Evolution du rendement d'élimination des hydrocarbures contenus dans la phase liquide en % dans les deux réacteurs .

VI.14. DETERMINATION DE L'ORDRE DE LA CINÉTIQUE DEGRADATION DE LA REACTION DE DEGRADATION DES HYDROCARBURES .

Comme il a été déjà cité dans la partie bibliographique, la cinétique de dégradation des hydrocarbures est d'ordre .

Dans notre cas, pour pouvoir déterminer la cinétique de dégradation des hydrocarbures présents dans notre réacteur, que ce soit dans la phase liquide ou dans la phase solide ;

Nous avons dosé les teneurs totales en hydrocarbures par spectroscopie infrarouge .

Les tracés de $\ln [HC]_0/[HC]$ en fonction du temps pour l'ensemble des phases solide et liquide dans les deux réacteurs R1 et R2 sont illustrés par les figures n°VI.21, VI.22, VI.23 que la cinétique de dégradation est du 1^{er} ordre pour le mélange d'hydrocarbures dans la phase solide ne l'est pas.

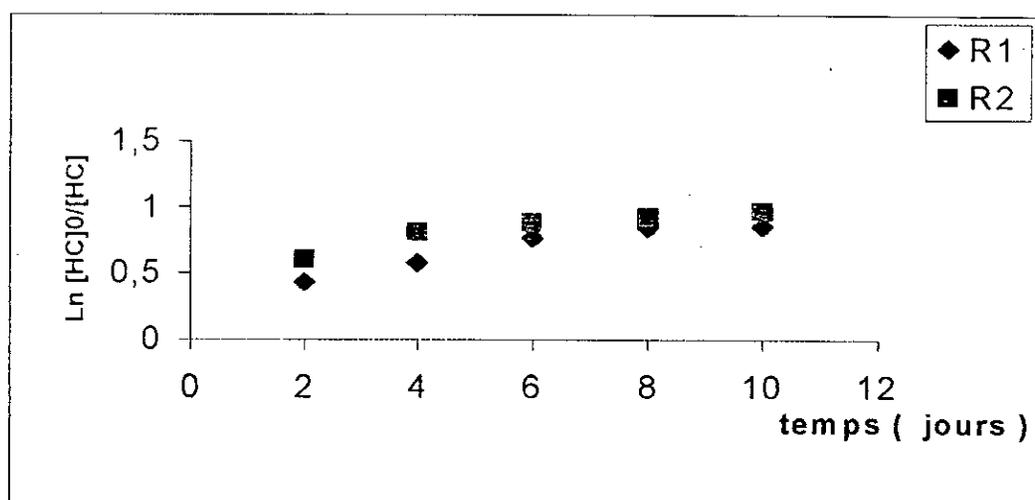


Figure n°VI.21 : Représentation de $\ln [HC]_0/[HC]$ dans la phase solide dans les deux Réacteurs

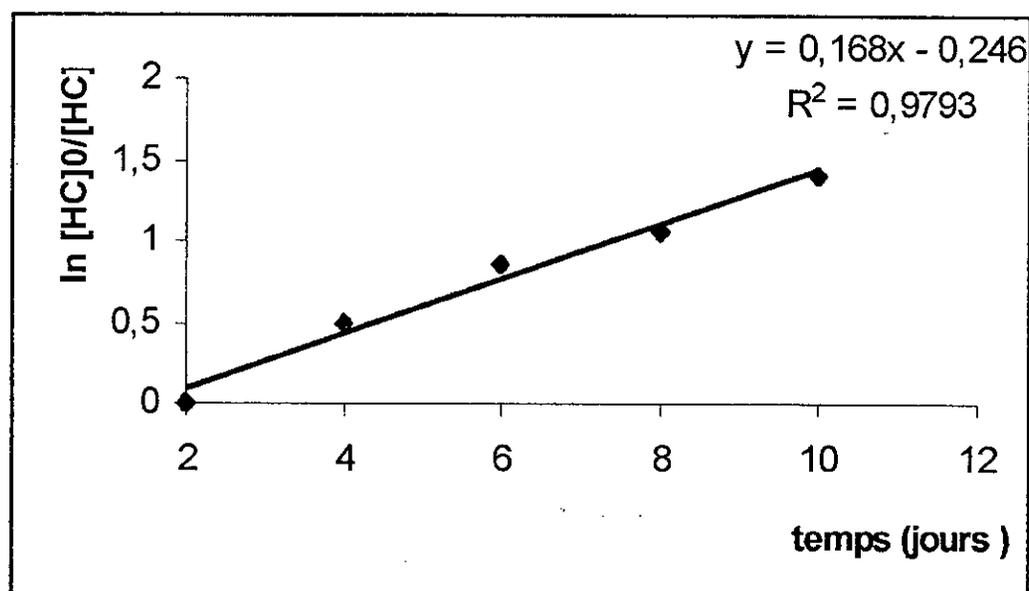


Figure n°VI.22 : Représentation de $\ln [HC]_0/[HC]$ dans la phase liquide dans R1

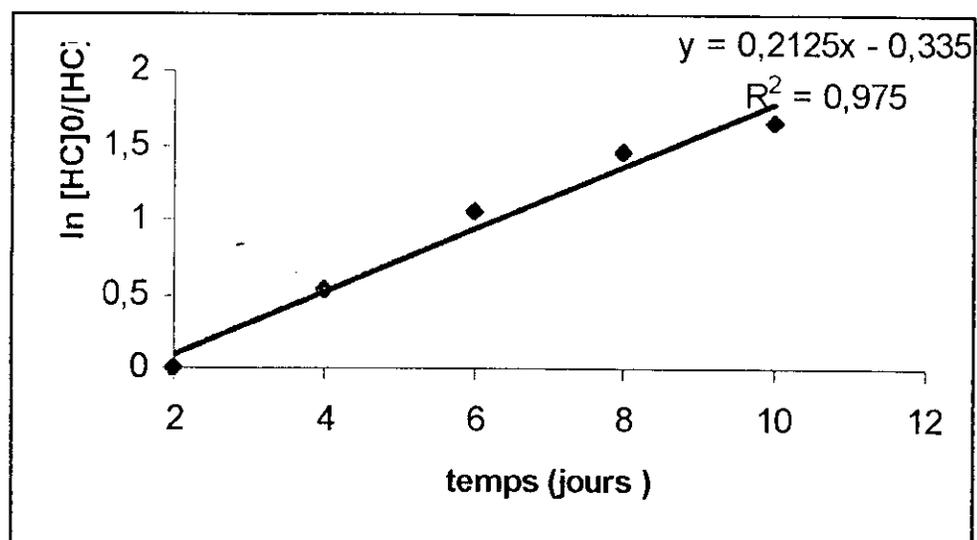


Figure n°VI.23 :Représentation de $\ln [HC]_0/[HC]$ dans la phase liquide dans R2

VI.15.EVOLUTION DU CARBONE ORGANIQUE TOTAL

Le carbone organique total est un paramètre de pollution qui détermine la quantité de matière organique présente dans une phase donnée.

VI.15.1.Evolution du carbone organique total dans la phase solide

L'évolution du carbone organique total dans les deux réacteurs est illustrée sur la figure n°VI.24.

L'évolution du carbone organique total suit pratiquement la même allure que celle des hydrocarbures totaux dans le sol. La pente dans ce cas, est toute fois moins prononcée jusqu'au deuxième jour où la quantité du COT est très faible. Ceci pourrait être attribué au fait que la dégradation des hydrocarbures, même si elle est importante reproduction cellulaire qui atteint son maximum. Le même phénomène est observé dans les deux réacteurs.

VI.15.2. Evolution du carbone organique total dans la phase liquide

L'évolution du carbone organique total dans la phase liquide est représentée dans la figure n°VI.25, met en évidence l'augmentation du COT durant les six premiers jours, contrairement à ce qui a été observé pour les hydrocarbures totaux dans la phase liquide. Cette augmentation pourrait être attribuée à la croissance bactérienne qui atteint son maximum. Au delà du sixième, on enregistre une faible regression de ce paramètre, cette regression est liée tant à la dégradation des hydrocarbures ou à la minéralisation des hydrocarbures qui se poursuit qu'à la lyse des micro-organismes. Le même phénomène est observé dans les deux réacteurs.

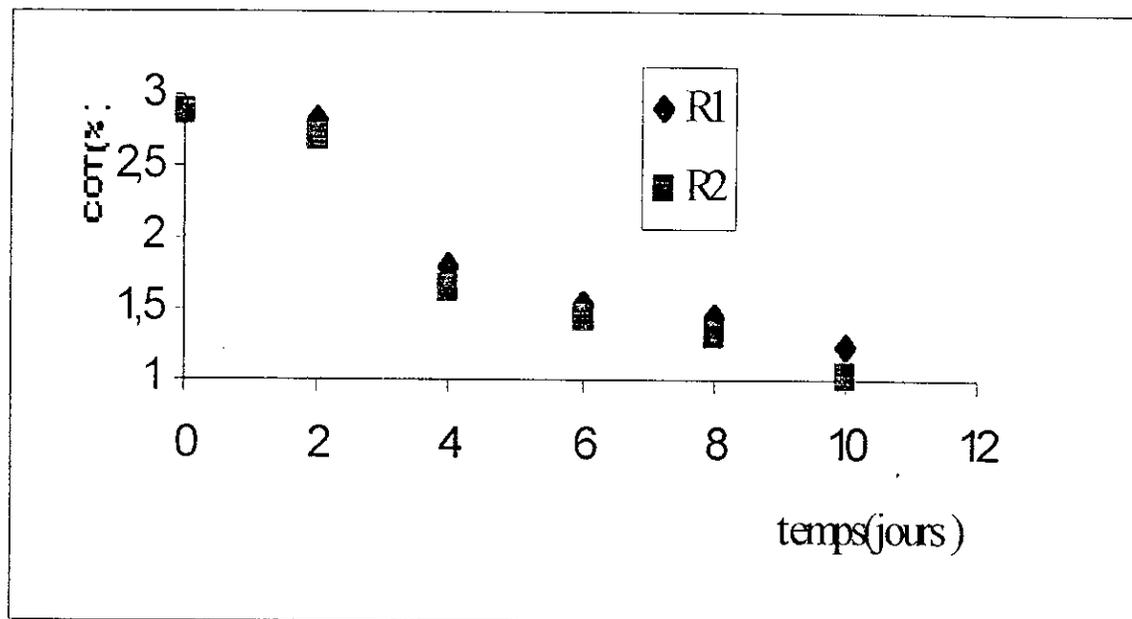


Figure n°VI.24 : L'évolution du carbone organique total dans la phase solide dans les deux réacteurs .

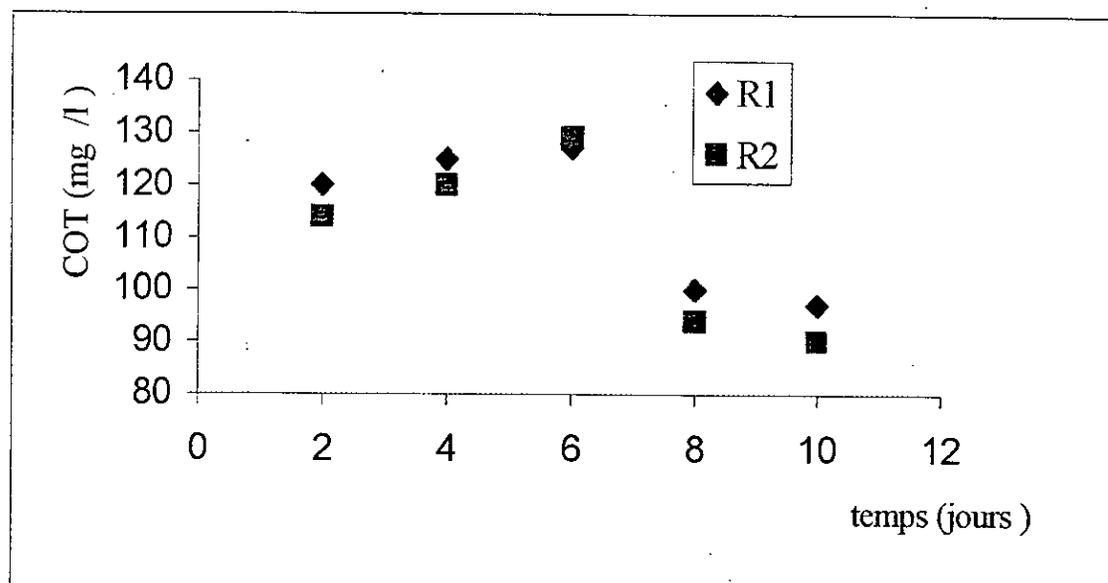


Figure n°VI.25 : L'évolution du carbone organique total dans la phase liquide dans les deux réacteurs

CONCLUSION

Conclusion

L'objectif de ce travail est d'étudier la dégradation des hydrocarbures dans un sol contaminé au laboratoire par un procédé biologique.

Comme il a été déjà cité dans la partie bibliographique, nous pensons que le traitement des sites contaminés par les hydrocarbures, dans un bioréacteur agité triphasé est plus efficace que les autres techniques en terme de rapport temps/efficacité .

Au cours de la première partie de ce travail, une détermination des paramètres hydrodynamique (débit d'air et vitesse d'agitation) qui peuvent interférer dans les phénomènes de transfert de matières est nécessaire afin d'avoir un meilleur pouvoir de dégradation.

La détermination d'une vitesse d'agitation de 220 tours/ minutes avec l'utilisation d'un seul diffuseur a donné un coefficient de transfert d'oxygène de $6,8 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ et une circulation assez suffisante du liquide qui a permis le maintien du sol en suspension dans la phase liquide .

En seconde partie, une optimisation des paramètres environnementaux tels que le pH, la température, le pourcentage de sol et la dose des éléments nutritifs a été réalisé en les ajustant au cours de l'opération de traitement par un ajout à titre d'exemple de sources d'azote et de phosphore pour avoir un rapport C/N/P optimal.

Deux essais ont été réalisés; le premier a consisté en une biostimulation qui repose essentiellement sur l'ajout d'éléments nutritifs et le deuxième a consisté en une bioaugmentation.

La biostimulation nous a permis d'avoir un taux d'élimination des hydrocarbures de 60% dans la phase solide et de 75,35 % dans la phase liquide.

La bioaugmentation au cours duquel nous avons rajouté les éléments nutritifs azote et phosphore selon le rapport C/N/P de 120/10/1 et enrichi le milieu réactionnel en biomasse par addition d'un inoculum bactérien, nous a permis d'avoir un taux de 64,37 % pour la phase solide et de 80,97 % pour la phase liquide .

Enfin, à la lumière des résultats obtenus après 10 jours d'incubation, la phase liquide peut être rejetée dans un milieu naturel récepteur car elle répond aux normes décrétée par la loi n°93-160

- Les teneurs en hydrocarbures dans l'eau sont de 17,3mg/l dans le premier réacteur et de 12,92mg/l pour le deuxième réacteur, tandis que la norme de rejets est fixée à 20mg/l.
- Les teneurs en azotes total sont respectivement de 7,77mg/l et de 7,62mg/l dans le premier réacteur et deuxième réacteur ; ils sont largement en dessous de la norme de rejets qui est fixés à 40 mg/l.
- Les teneurs en phosphore respectivement de 1,06 mg/l et de 1,21 mg/l; sont largement en dessous de la norme de rejets fixée à 2mg/l pour le phosphore .
- Les concentrations en hydrocarbures obtenues dans la phase solide sont respectivement pour le cas de la biostimulation et la bioaugmentation de 19,5gr/kg et 17,2gr/kg .Il nous est impossible actuellement de se prononcer pour affirmer que le sol est encore pollué ou pas étant donné que nous ne disposons pas de normes relatives aux hydrocarbures totaux dans le sol. Il serait alors important de faire une analyse quantitative et qualitative des hydrocarbures présents dans le sol après traitements pour pouvoir comparer les teneurs de différents hydrocarbures avec les normes .

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- [1] : **Y. DOMMERGUES ET E.MANGENOT**,
« Ecologie microbienne du sol » Masson et Cie éditeurs , Paris ,1970.
- [2] : **M' NAKIB**, Cours de 5^{ème} année ; département de génie de l'environnement ;école nationale polytechnique
- [3] : **A.BRUAND**,
« Constitution, structure, et porosité des sols » Université d'Orléans-école supérieure de l'énergie et des matériaux,1996.
- [4] : **S.CHERID**,
« Biodégradation des hydrocarbures ;techniques de bio-réhabilitation des sols pollués » 3^{ème} journée scientifique et technique, Sonatrach,1988.
- [5] : **ROBERT LAROUSSE** ,
Edition 1980,
- [6] : **Y.DOMMERGUES** ,
« La biologie des sols » presses universitaires de France .France 1977.
- [7] : **A.WILD**, « Soils and the environment » Cambridge university press,1993.
- [8] : **A.CHEIKH**,
« Traitements des eaux chargées en nitrates par bioréacteur électrochimiques » projet de fin d'études , ENP 1999.
- [9] : **S.JANKOVIE** ,
« Manuel de chimie de l'environnement» OMS ,Genève 1974.
- [10] : **J.FOURIER**
« Chimie des pesticides ,culture et techniques » Agence de coopération culturelle et technique ; 1^{ère} édition ;Paris 1988.
- [11] : **P.DUCHAUFOR**
« Pédologie, sol, végétation ,environnement abrégés »5^{ème} édition ;Masson 1995.
- [12] : **G.AIT ALI**
« Mesure de réglementation pour la protection de l'environnement dans les activités d'exploitation des hydrocarbures » 3^{ème} journée scientifique et technique, Sonatrach,1988.
- [13] : **C.GATELLIER**
«Protection de l'environnement dans le milieu industriel » ; technique de l'ingénieur ,1992, A8652-7
- [14] : **JOURNAL OFFICIEL** de la république algérienne démocratique et populaire
« Règlement des rejets d'effluents liquides industriels » ,décret exécutif N°93-160, 1993.
- [15] : **F.ABDELMOUMEN et M.SALHI**
« Essai de traitement biologique d'une eau polluée par le gas-oil avec l'utilisation de deux souches appartenant aux genres Bacillus et pseudomonas »
projet de fin d'études USTHB, option génie de l'environnement ,1991

[16] : **F. BENABDELMOUMEN et C. PAOLACCI**

« Performances des techniques industrielles de biodégradation des hydrocarbures pétroliers et des P.C.B. dans les sols »,
maîtrise de spécialisation en Génie de l'environnement, 1997.

[18] : **D.BISKRI**

« Biodégradation du benzène et du toluène par des souches de pseudomonas bacillus »
projet de fin d'études ,Ecole nationale polytechnique, 1990

[19] : **C.OUAHES**

« Chimie organique », OPU, 1988

[20] : **LAVALIN**

« Programme de formation en management environnemental »,
SONATRACH, Volet environnemental phase I, Septembre 1997

[21] : **LACASE**

« La pollution pétrolière en milieu marin »
édition Masson, 1988

[22] : **S.BENJAMIN,S.MAGBANUA et R.BOWERS**

« Affect of recycle and axial mixing on microbial selection in activated sludge »
journal of environmental engineering ,1998

[23] : **J.BONE et F.ZADDOUN**

« Sécurité » publication de l'I.F.P. édition techni, 1990

[24] : **N.BISSAD**

« La contribution à la bioremediation des sols contaminés par les hydrocarbures dans un bioréacteur»,
projet de fin d'études, Ecole nationale polytechnique ,1999

[25] : **ANONYME**

« Faites connaissances avec les hydrocarbures», SONATRACH, 2^{ème} édition 1990.

[26] : **P.MOTTARD**

« La boue de forage»
édition technip 1972

[27] : **M.BELAIFA ,M.ARAB**

« les préoccupations environnementales :quelles conséquences pour SONATRACH »journées scientifiques et techniques , SONATRACH,1998

[28] : **J.C GUIBERT**

« Carburant et moteurs ,technologie, énergie et environnement» édition technip 1997

[29] : Forum sur le commerce international, mars 1996

[30] : **G.DUPUY**

« Pétroliers ; vieillese ennemie »
Express N°2530 ,1999 p-18

[31] : **M.KHAZNADJI et A.HOUARA**

« La bioremediation des sols contaminés par les hydrocarbures»
4^{ème} journées scientifique et techniques, Avril 2000

[32] : **J.M.DESRIBATS, E.PEREZ et B.SOYEZ**

« La dépollution des sols en place » techniques et exemples ,Environnement magazine °1536 1995

[33] : **B.BRUELLE et M.COSTES**

« Les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans l'environnement ;la réhabilitation des anciens sites industriels»

institut Français du pétrole Vol 52,N°4,1997

[34] : **J.S.TERSIER**

« réhabilitation des sols »édition pan France 1995

[35] : **J.L.SIMS, J.E.MATTHEWS**

« Approach to bioremediation of contaminated of contaminated soil »

Hazardous wastes and hazardous materials,1990,117-149

[36] :**G.BERWICK**

« physical and chemical conditions for microbial oil degradation »

Biotech.Bioeng ;26 :1994

[37] : **R.SAMSON et R.ZALOUM**

« La detoxification de sols et de sédiments par l'utilisation combinée de technologies biologiques et non biologiques »

12^{ème} symposium international sur le traitement des eaux usées, Québec,20-21,1989

[38] : **P.BERWICK et D.STRAFFORD**

« waste oil disposal by microbial technology»

process biochemistry, N°20 ;460-475,1988

[39] : **M.AMIALI**

« Biotraitement d'un sol pollué par les hydrocarbures»

projet de fin d'études ,USTHB 1996

[40] : **A.MEYER, H.LECLERC et J.DEINA**

« cours de microbiologie générale » doin éditeurs, Paris 1970

[41] : **R.DUPONT,J.SIMS et L.SORENSEN**

« in situ biological treatment of hazardous waste contaminated soil »

biotreatment system, vol2,éditeur CRC press INC FLORIDA ,1988

[42] : **R.SCRIBAN**

« biotechnologies »

édition Lavoisier ,4eme édition ,1994

[43] : **B.DANIEL ALLERINI**

« traitements biologiques des sols », techniques de l'ingénieur G-2620.

[44] : **G.DOSSENA**

« l'industrie pétrolière et l'environnement»

journées d'études Hamra-Rhourde Nouss ;1996

[45] : **BRAHIMI ABDERRAHMANE**

« l'optimisation de la bioremediation du sol d'un bourbier de HASSI MESSAOUD pollué par les hydrocarbures par l'ajout d'un fertilisant commercial » projet de fin d'études, USTHB 1999

[46] : **STRAWINSKY ,STONE**

« the utilization of hydrocarbon by bacteria »
journ.bacteriol ;40 :461-462

[47] : **WALKER**

« microbial petroleum degradation application of computerized mass spectrometry »
journ.microbio,21 : 1760-1767 ,1975

[48] : **R.MACUŁA , W.FINERTY**

« microbial assimilation of hydrocarbons ,fatty acids derived from n-alkanes »
journ. Bacteriol ; 2108-2111 ,1995

[49] : **A.HUMPHREY**

« artical review of hydrocarbon fermentation and their industrial utilization »
biotechn.bioeng ; 9 ,1967

[50] : **F.CHUNSHENBENG , H.TABAK**

« Stidies on contaminant biodegradation in slurry, wafer, and compacted soil tube reactors »
enviro,sci.technol ;Vol 30n°3 , 1996

[51] : **U.S. EPA**

« bioremediation of contaminated surface soil »
environnemental reseachlaboratory,EPA/ 600/90-89/ 073.Ada, Ok.

[52] : **F.GASSI**

« la bioremediation des sols et des bourbiers contaminés par les hydrocarbures »
projet de fin d'études U.S.T.H.B, option chimie industrielles,1998

[53] : **G.OUALI**

« aptitude du genre Pseudomonas à réduire les nitrates »
projet de fin d'études, U.S.H.B. , option microbiologie

[54] : **J.SPARENT**

« the ecology of nitrogen cycle »
Cambridge university press.

[55] : **M.SADI , G.MAMAN**

« élimination du phosphore par voie biologique »
projet de fin d'études, E.N.P, 1988.

ANNEXES

Résultats des expériences

Tableau n°1. Evolution de la teneur en hydrocarbures dans le sol (gr/kg du sol)

Temps(jours)	0	2	4	6	8	10
R1	48	30,5	25,9	21,1	19,4	19,2
R2	48	25,2	20,1	18,6	17,8	17,1

Tableau n°2. évolution du rendement d'élimination des hydrocarbures contenus dans la phase solide (en %) dans les deux réacteurs .

Temps(jours)	2	4	6	8	10
R1	36,45	46,04	56,04	59,58	60
R2	47,5	58,12	61,25	62,91	64,37

Tableau n°3. évolution de la teneur en hydrocarbures contenus dans la phase liquide

Temps(jours)	2	4	6	8	10
R1	70,20	42,46	29,95	24,14	17,30
R2	67,85	39,81	23,60	15,71	12,92

Tableau n°4. évolution du rendement d'élimination des hydrocarbures contenus dans la phase liquide (en %) dans les deux réacteurs .

Temps(jours)	4	6	8	10
R1	39,51	57,33	65,61	75,35
R2	41,32	65,21	76,84	80,97

Tableau n°5. évolution de la croissance bactérienne (germes/ml) dans les deux réacteurs

Temps(jours)	0	2	4	6	8	10
R1	9,40E+04	8,45 E+06	9 E+07	4,73 E+07	9,70 E+06	7,75 E+06
R2	2E+06	9,71 E+09	8,92 E+10	5,97 E+09	5,79 E+09	7,46 E+08

Tableau n°6. évolution de la teneur en oxygène dissous (en mg/l) dans les deux réacteurs

Temps(jours)	0	2	4	6	8	10
R1	8,8	7,9	7,4	7,1	7,7	8
R2	8,7	7,5	7,1	6,5	7,3	7,5

Tableau n°7. Détermination du taux de croissance maximum dans les deux réacteurs Ln (X/X₀)

Temps(jours)	0	2	4
R1	0	4,50	6,86
R2	0	8,48	10,70

Tableau n°8. Evolution de la teneur en phosphore (mg/l)

Temps(jours)	0	2	4	6	8	10
R1	2	1,41	1,11	1,07	1,05	1,06
R2	2,5	1,43	1,29	1,26	1,23	1,21

Tableau n°9. Evolution de la teneur en nitrites NO₂(mg/l)

Temps(jours)	0	2	4	6	8	10
R1	3,41	3,54	4,12	1,96	1,89	1,30
R2	3,75	4,12	4,50	3,27	2,50	2,24

Tableau n°10. Evolution de la teneur en azote ammoniacal (mg/l)

Temps(jours)	0	2	4	6	8	10
R1	4,94	2,59	1,95	2,90	2,14	2,29
R2	5,27	3,05	2,23	2,11	2,43	2,54

Tableau n°11. Evolution de la teneur en nitrates NO₃(mg/l)

Temps(jours)	0	2	4	6	8	10
R1	9,7	11,67	12,13	7,41	5,60	4,18
R2	10,11	12,18	15,29	6,07	4,01	2,84

Tableau n°12. Evolution du carbone organique total (%) dans la phase solide dans les deux réacteurs

Temps(jours)	0	2	4	6	8	10
R1	2,87	2,83	1,79	1,54	1,43	1,25
R2	2,87	2,80	1,75	1,44	1,38	1,02

Tableau n°13 Evolution du carbone organique total (%) dans la phase liquide dans les deux réacteurs

Temps(jours)	2	4	6	8	10
R1	120	125	127	100	97
R2	114	120	129	94	90

Méthodologie des analyses des paramètres physico—chimiques du sol.

1- pH (NORME NF X 31 103)

5 g de sol sont introduit dans un b cher , on ajuste à 50ml avec l'eau distillée , après une agitation du mélange pendant à h , on effectue la lecture à l'aide d'un pH -mètre.

2- L'HUMIDITE ET MATIERE SECHE (NORME NF T 90 029)

Un échantillon de 50g du sol est introduit dans un creuset , est séché dans l'étuve à 105  C pendant 1h .

$$\text{Hu \%} = (p_1 - p_2) * 100 / \text{PE} .$$

P_1 : poids du sol humide en gramme .

P_2 : poids du sol sec en gramme .

PE : prise d'essai de l'échantillon

Hu : l'humidité en %.

$$\text{MS (\%)} = 100 - \text{Hu (\%)} .$$

MS : matière sèche en %.

3- MATIERE ORGANIQUES (NF X 31 071)

l'échantillon du sol sec (après  tuvation pendant 1h), est introduit dans un four à 550 C pendant 20 minutes .

$$\text{MO} = (P_2 - P_3) * 100 / \text{PE}$$

P_2 : poids du sol sec (après  tuvation pendant 1h) en gramme ;

P_3 : poids du sol après calcination en gramme ;

MO : matière organique en gramme .

4-Dosage des hydrocarbures (hydrocarbures totaux)

4-Dosage des hydrocarbures (hydrocarbures totaux)

Le dosage quantitatif des hydrocarbures totaux est réalisé par spectrométrie infrarouge ,

4-1 –principe

La teneur en hydrocarbures est déterminé par la mesure de l'absorption dans l'infrarouge à une longueur d'onde comprise entre 2650 et 3200 cm^{-1} .

Le dosage est effectué par un spectroscope à transformées de Fourier . selon un logiciel de quantification suivant les normes AFNOR 90114 ou 90203 améliorées par la firme Nicolet pour les sédiments .

4-2 – Extraction des hydrocarbures du sol

l'échantillon du sol est mélangé et broyé avec une quantité suffisante de sulfate de sodium anhydre (un rapport 4/5) . Ensuite l'extraction des hydrocarbures qui enrobe le sol est réalisé dans un extracteur SOXHLET en utilisant le tétrachlorure de carbone comme solvant .

L'extrait est recueilli et filtré sur une colonne qui contient le sulfate de magnésium pour éliminer les composés polaires et dosé ensuite les composés non polaires par spectrométrie infrarouge .

4-3- extraction des hydrocarbures présents dans l'eau

A partir de l'échantillon fraîchement prélevé , on procède à une extraction de la matière organique par un solvant qui est dans notre cas le tétrachlorure de carbone dans un agitateur mécanique .La matière organique extractible est ensuite débarrassées des composés polaires (dans une colonne de silice) et les hydrocarbures sont isolés pour être analyser par spectroscopie infrarouge .

5 – Dosage des Nitrates .

méthode au réactif sulfophénique

Le dosage des nitrates se fait par colorimétrie dans le visible .

Réactifs :

- Acide sulfurique (36 N)
- Ammoniac
- Phénol

Préparation du réactif sulfophénique :

✓ Dissoudre 12 grammes de phénol dans 140 ml d'acide sulfurique dans un bain -marie.

Appareillage :

- Un photomètre UV-visible, pour travailler à $\lambda = 440\text{nm}$.
- Cellule de quartz .

Mode opératoire :

- Prendre 5 ml de l'échantillon à analyser , le faire évaporer à sec .
- Laisser refroidir et ajouter 2 ml du réactif sulfophénique .
- Attendre 10 minutes , puis ajouter 15 ml d'eau déminéralisée et 10 à 15 ml d'ammoniac qui développe la couleur jaune .
- Compléter à 50 ml avec de l'eau déminéralisée.
- Effectuer la lecture sur le photomètre à $\lambda = 440 \text{ nm}$.
- La teneur en nitrates de l'échantillon inconnu est déduite du graphique d'étalonnage .

6-Dosage des nitrites

Méthode au réactif au réactif de diazotation

Réactif de diazotation :

- Acide orthophosphorique (H_3PO_4) .
- Sulfaniamide ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_2\text{N}_2\text{S}$).
- Dichlorure de N-(1-naphtyl) éthylène -diamine ($\text{C}_{10}\text{H}_7\text{HCH}_2\text{CH}_2, 2\text{HCl}$).

Préparation du réactif de diazotation :

1. A 800 ml d'eau déminéralisée , ajouter 100 ml d'acide orthophosphorique concentré , et 40 grammes de Sulfaniamide.
2. Après dissolution , ajouter 2 grammes de dichlorure de N-(1-naphtyl) éthylène - diamine
3. Compléter à 1000 ml avec de l'eau déminéralisée .

Appareillage :

- Un photomètre UV-visible , pour travailler à $\lambda = 537 \text{ nm}$.
- Cellule de quartz .

Mode opératoire :

- Prendre 50 ml de l'échantillon à analyser .
- Ajouter 1 ml de réactif de diazotation .

- Effectuer la lecture sur le photomètre à $\lambda = 537 \text{ nm}$.
- La teneur en Nitrites de l'échantillon est déduite du graphique d'étalonnage

7-Dosage de l'azote ammoniacal

Méthode au réactif de NESSLER

Préparation du réactif de NESSLER

- Dissoudre 50g d'iodure de potassium dans 35 ml d'eau, par une solution de chlorure de mercure, un léger précipité subsiste, ajouter 400ml de solution d'hydroxyde de sodium 9n, diluer à 100ml.
- Tartrate double de potassium et de sodium ($\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_8\text{KNa}, 4\text{H}_2\text{O}$) dans 100ml d'eau chaude.
- Ajouter après refroidissement 50 ml de réactif de NESSLER et laisser reposer et filtrer

Appareillage

- Un spectrophotomètre uv-visible pour travailler à $\lambda=420\text{nm}$
- Cellule de quartz

Mode opératoire

- Prendre 10ml de l'échantillon à analyser
- Ajouter 0,4 ml de la solution de tartrate et mélanger
- Ajouter 0,4 ml de réactif de NESSLER et mélanger à nouveau.
- Compléter au volume avec de l'eau

8- Dosage du phosphore (NF-X 31 160)

Le principe de cette méthode repose sur l'extraction du phosphore soluble par agitation de la prise d'essai dans une solution aqueuse d'acide citrique (20g/l) pendant 16 h.

L'extrait est dosé par un spectrophotomètre type DR2000 à une longueur d'onde 890 nm, après ajout d'une gélule de réactif Phos Ver 3 à 25 ml d'extrait.

L'orthophosphate réagit avec le molybdate en milieu acide pour produire un complexe le phosphomolybdate. l'acide ascorbique réduit le complexe, donnant une coloration intense de bleu de molybdène

II - Méthodologie de la détermination des caractéristiques biologiques .

1- Coloration de Gram

A partir du frottis : une goutte d'eau physiologique dans laquelle on fait étaler notre inoculum bactérien, ensuite on sèche la lame à la flamme ;

On colore le frottis par deux gouttes du violet de Gentiane qu'on laisse agir pendant 1 minute avant de le couvrir avec le Lugol pendant 45 secondes après on jette le surplus et on refait l'opération pour une deuxième fois ; on ajoute de l'alcool qu'on laisse agir pendant 30 secondes, on lave après la lame à l'eau distillée, on recolore la lame à la

flamme.

La composition de la solution tampon utilisée dans le milieu de culture

La solution tampon utilisée pour maintenir le pH du milieu de culture entre 6,8 et 7,8

15,8 ml de KH_2PO_4 0,33 M

Aperçu sur la souche utilisée .

1. La taxonomie

La souche utilisée appartient à la famille des pseudomonaceae .les pseudomonas sont des bacilles à gram négatif . généralement droits , mobiles par un ou plusieurs cils polaires : ils ne forment pas de spores .

Ce sont des aérobies strictes, et chimioorganotrophe.

Elles se développent facilement sur les milieux nutritifs habituels , à une température de 30 °C , certaines espèces sont capables de croître à des températures très élevées .

Elles sont capables d'utiliser une variété impressionnante de substrats comme source de carbone et d'énergie .

Ceux -ci comprennent non seulement les composés biochimiques bien connus tels que glucides, lipides, acides aminés , acides organiques mais aussi un grand nombre de corps aromatiques benzéniques, terpéniques, de stéroïdes etc.

Certaines espèces sont aussi capables de respirer les nitrates en aérobiose ce qui tend à leur conférer un avantage écologique notable et à leur jouer un rôle important dans le processus de dénitrification .

2. Ecologie

Ces micro-organismes sont présents dans l'eau de mer, l'eau douce et le sol, Certains sont pathogènes vis-à- vis de l'homme .d'animaux ou de plantes

3. *Pseudomonas aeruginosa*

Par leur virulence ou une production d'entérotoxine, les pseudomonas aeruginosa sont capables d'induire des syndromes gastro-intestinaux aigus ou subaigus évoquant l'allure des toxi-infections alimentaires, cette notion est relativement récente (1974) .