

1/04
République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Polytechnique

Département de Génie de l'Environnement
Laboratoire des Biotechnologies

Projet de Fin d'Etude

En vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'Etat en génie de
l'environnement

Thème

المعهد الوطني للتكنولوجيا
البيئية
Ecole Nationale Polytechnique

**Contribution à la Biorestauration
des sols contaminés par les
hydrocarbures dans une biopile**

Proposé par :
D. MAMERI

Dirigé par :
D. MAMERI

Etudié par :
T.ABBASSENE

Soutenu devant le jury

M^{elle} J. ARRAR
M^{eme} D. MAMERI
M^{eme} N. ABDI
M^r H. LOUNICI

Présidente
Promotrice
Examinatrice
Examineur

Promotion : 2000/2001

E.N.P : 10, Avenue Hassen Badi EL Harrach, Alger.

المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات
المكتبة — BIBLIOTHEQUE
Ecole Nationale Polytechnique

remerciements

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier Monsieur le Professeur N. MAMERI pour m'avoir accepté au sein de son laboratoire des biotechnologies de l'Ecole Nationale Polytechnique. Qu'il trouve ici toute ma reconnaissance.

J'exprime ma profonde reconnaissance envers M^{me} MAMERI, ma promotrice qui m'a permis de travailler dans les meilleures conditions au laboratoire, et pour avoir été disponible tout au long de cette étude.

Je remercie chaleureusement M^r H.Grib et M^r H.Lounici pour leur aide si précieuse qui m'ont apporté tout au long de ce travail.

J'adresse mes remerciements aussi à M^{me} H. Belhocine ainsi que tous les gens qui travaillent à URBAL pour leur accueil chaleureux et l'aide surtout de M^{me} Belhocine pour la réalisation de quelques analyses.

J'adresse aussi mes remerciements aux gens du Laboratoire du BEN AKNOUN, ainsi que les gens de l'INA du département pédologie pour l'aide qui m'ont offert pour effectuer les analyses.

Je tien à remercier chaleureusement M^{elle} J.ARRAR pour l'honneur qu'elle me fait en présidant le jury de ma soutenance, ainsi que M^{me} ABDI et M^r H LOUNICI qui m'honorent de leur présence et d'avoir accepté de juger mon travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à : mes très chers parents : que je remercie infiniment de m'avoir tout donné, la tendresse, la gentillesse et le calme, pour la réalisation de ce travail. Je ne peut vous rendre jamais ce que vous avez fait pour moi, que dieu vous gardent.

Pour toutes ma famille :

Mes cher frères et sœurs, mes beaux frères, mes neveux et nièces.

Ma chère grand mère.

A tout mes amies : Assira, fella, Naïma, Amina, Hakima, Radia, Aïcha, Bahia, Dalila, Isma, Mounia, Karima et la liste est grande qu'elles me pardonnent celles que j'ai oublié.

SOMMAIRE

| | |
|-------------------|---|
| INTRODUCTION..... | 1 |
|-------------------|---|

PARTIE THEORIQUE

CHAPITRE I : Généralités sur le sol

| | |
|---|---|
| I. LE SOL..... | 3 |
| 1-Définition du sol..... | 3 |
| 2- Classification des sols..... | 3 |
| 3- PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DES SOLS..... | 4 |
| 3-1- La texture du sol..... | 4 |
| 3-2- La structure du sol..... | 4 |
| 3-3- La porosité..... | 5 |
| 3-4- Le pouvoir adsorbant..... | 5 |
| 3-5- Phénomène de rétention dans le sol..... | 5 |
| 4- L'EAU DANS LE SOL..... | 6 |

CHAPITRE II : Généralités sur les hydrocarbures

| | |
|---|----|
| 1- DEFINITION DES HYDROCARBURES..... | 7 |
| a) Les hydrocarbures saturés..... | 7 |
| b) Les hydrocarbures insaturés..... | 7 |
| c) Les hydrocarbures aromatiques..... | 7 |
| 2- CLASSIFICATION DES HYDROCARBURES..... | 8 |
| 3-PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DES HYDROCARBURES..... | 10 |
| 4-COMPORTEMENT DES HYDROCARBURES DANS LES SOLS..... | 10 |
| 4-1-Processus d'altération..... | 11 |
| 5- EFFET TOXIQUE DES HYDROCARBURES SUR L'HOMME..... | 13 |
| 5-1-Les hydrocarbures paraffiniques (saturés)..... | 13 |
| 5-2-Les hydrocarbures insaturés..... | 13 |
| 5-3-Les hydrocarbures cycloparaffiniques..... | 13 |

| | |
|---|----|
| 5-4-Les hydrocarbures aromatiques..... | 14 |
| CHAPITRE III : Problématique de la biorestauration du sol contaminé | |
| I-INTRODUCTION | 15 |
| II- SOURCES DE CONTAMINATION..... | 16 |
| III- NORMES ET REGLEMENTATIONS EN MATIERE DE PROTECTION DES SOLS | 17 |
| IV-LES TECHNIQUES DE DECONTAMINATION..... | 20 |
| 1- L'excavation | 20 |
| 2- Le pompage de l'eau..... | 20 |
| 3- Venting | 21 |
| 4- Confinement | 22 |
| 5- Stabilisation | 22 |
| 6- Lavage du sol | 22 |
| 7- La mobilisation et l'extraction | 24 |
| 8- Biréacteur..... | 25 |
| 9- Compostage, landferming..... | 25 |
| 10- Traitement par les champignons | 26 |
| 11- Bioventing, biosparging | 27 |
| 12- Traitement en biopile..... | 27 |
| CHAPITRE IV : Généralité sur la biodegradation et les micro-organismes | |
| I- INTRODUCTION..... | 31 |
| I-1- Processus biologique..... | 31 |
| I-2- Rappel concernant les micro-organismes..... | 32 |
| I-3-Métabolisme microbien..... | 32 |
| II- INTERACTION SOL – CONTAMINANTS –MICRO-ORGANISMES..... | |
| II-1 Devenir des contaminants dans l'environnement..... | 36 |
| III-LES VOIES METABOLIQUES DE DEGRADATION..... | 37 |
| IV - EXEMPLES DU PROCESSUS DE DEGRADATION DES HYDROCARBURES..... | 39 |

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE V: Introduction sur la partie expérimental

INTRODUCTION.....40

L'EXPERIMENTATION.....40

CHAPITRE VI : Matériels et Méthodes

MATERIELS ET METHODES.....41

1-le sol.....41

1-1-echantillonnage.....41

1-2- Préparation de l'échantillon41

1-3- analyse granulométriques41

1-4- Détermination des paramètres physico-chimiques41

1.4.1 Le potentiel d'hydrogène (pH)41

1.4.2 L'humidité.....41

1.4.3. La mesure d'oxygène dissous42

1.4.4 La matière organique42

1.4.5 La conductivité.....42

1.4.6 Dosage du phosphore.....42

1.4.7 Dosage des éléments du cortège azotés.....43

a) Dosage de l'azote ammoniacal43

b) Dosage des nitrates43

c) Dosage des nitrites43

Dosage des hydrocarbures44

Diagnostic bactériologique.....44

La flore44

dénombrement des souches44

Techniques de dénombrement44

Méthode de dilution44

Ensemencement en surface44

Ensemencement en profondeur.....45

CHAPITRE VI : Résultats et Discussions

RESULTATS ET INTERPRETATION.....46

| | |
|---|----|
| I-CARACTERISATION DU SOL..... | 46 |
| 1-1 Granulometrie..... | 46 |
| 1-2 Caracterisation physico-chimiques et microbiologiques | 47 |
| 1- II- TRAITEMENT PAR BIOPILE | 48 |
| 2- influence du pH sur l'évolution microbienne en fonction du temps | 48 |
| 3- évolution de la concentration en oxygène dissous en fonction du temps..... | 49 |
| 4- évolution de la concentration en phosphore en fonction du temps..... | 49 |
| II 4. Evolution de la concentration en azote de | 50 |
| II 4.1. Evolution de l'azote ammoniacal en fonction du temps | 51 |
| II 4-2. Evolution de la teneur en nitrate NO_3^- en fonction du temps | 52 |
| II 4. 3. Evolution de la concentration en nitrite NO_2^- en fonction du temps..... | 53 |
| II 5. Evolution de la concentration des hydrocarbures en fonction du temps | 54 |
| II 6. Evolution du rendement d'élimination des hydrocarbures en fonction du temps..... | 54 |
| CHAPITRE VII : Conclusion | |
| CONCLUSION..... | 55 |
| BIBLIOGRAPHIE..... | 57 |
| ANNEXES..... | 60 |
| Annexe 1 : Mode opératoire des analyses | |
| Annexe 2 : tableaux et schemas | |

résumé

Pour éviter toute contamination des nappes phréatiques, et minimiser au maximum l'impact des rejets d'hydrocarbures sur l'environnement, il est impératif de traiter les sols pollués par les hydrocarbures.

Notre étude consiste à traiter un sol provenant d'une zone de oued smar (chantier cosider) ou le dépôt des sols pollués des autres entreprises appartenant à cette société se trouve dans cette zone par un procédé biologique, en biopile.

Ce traitement en biopile est réalisé en excavant le sol contaminé. L'aération est fournie en aspirant l'air à travers le sol. Tandis que l'eau servant à assurer une humidité adéquate et les éléments nutritifs sont introduits par arrosage.

Mots clé : Biorestauration, bioremediation, biopile, contamination, excavation, flore autochtone, traitement biologique.

abstract

To avoid all contamination of aquiferous and to minimize the impact of hydrocarbon rejections on the environment, it's impérative to treat soils polluted by hydrocarbons.

Our study, consist in treating a soil polluted by hydrocarbons using biologic process. In the biopile, The process consist to the biodegradation from the flore autochthone of the soil without no outside contribution and the biodegradation by soil autochthons flore in the biopile. Soil is excavated and piled in mounds. Organisms already living in the soil are used to degrade contaminants. Air is piped through the soil, and sometimes nutrients, minerals and/or moisture are added to speed degradation.

Key words: Biorestauration, bioremediation, biopile, excavation, flor autochthon, treatment biologique.

ملخص :

لتجنب كل تلوث المياه الباطنية و للتقليل من تأثير نفايات الصناعات البترولية على البيئة، فإنه من المهم القيام بمعالجة التربة الملوثة بالهيدروكربونات.

يهدف هذا العمل إلى معالجة أتربة الموحل القادمة من المركز الصناعي بواد السمار بطريقة بيولوجية، داخل بيوبيل مع تهوية و رج الخليط، و ذلك لزيادة كثافة البكتيريا المتواجدة في التربة.

كلمات مفتاحية : الهيدروكربونات، المعالجة بيولوجية، بيوبيل، البكتيريا.

INTRODUCTION

Introduction générale

Depuis le milieu du XIXe siècle, les effets de l'industrialisation ont rompu l'équilibre existant pour le recyclage naturel des éléments. Le rejet brutal et massif de résidus toxiques dans l'environnement a peu à peu conduit à l'apparition de risques nouveaux, encore mal évalué, pour les équilibres des écosystèmes. La dégradation de l'environnement est, en faite, générale et concerne tous les milieux (air, eau et sol). [1]

En effet de nombreux cas de contamination du sol et de l'eau souterraine par les hydrocarbures sont découverts et la majorité de ceux-ci ont des incidences importantes sur l'environnement, tant du point de vue de la qualité des ressources en eau potable, que de point de vue de la sécurité (risque d'explosion).

Lorsqu'on parle de qualité des sols et dans le cas des aquifères et de la vulnérabilité de nappes phréatiques, il faut se référer au comportement des produits qui sont infiltrés dans le sol.[2]

Les hydrocarbures peuvent exister dans le sol sous forme d'une phase huileuse, mais aussi à l'état de dissous dans l'eau (il s'agit principalement des aromatiques) et enfin sous forme de phase gazeuse dans le milieu poreux, pour les plus légers. La phase huileuse peut être mobile au niveau de la frange capillaire ou elle se trouver piégée à l'état résiduel, soit dans la zone saturée, soit dans la zone insaturée. L'huile résiduelle constitue une source continue d'hydrocarbures solubles susceptibles de contaminer la nappe pendant de longue périodes.

En effet, le nombre important de sites industriels pollués à réhabiliter constitue, depuis quelques années un souci majeur et donc un marché lucratif. Les recherches dans ce domaine ont ainsi été dynamisées et de nombreuses techniques de dépollution ont été élaborées.

Un nombre croissant de sociétés propose de mettre en application ces techniques. [3]

Les solutions de traitement varient en fonction du degré et du volume de contamination, de l'usage auquel on destine le terrain et surtout en fonction des coûts de traitement proposé à la clientèle.

Les procédés font appel à différents traitements biologiques, thermiques, physiques ou chimiques.[3]

Les technologies qui font appel à des traitements thermiques ou physico-chimiques, utilisées pour restaurer les sites contaminés, ont largement été pratiquées et s'avèrent très efficaces mais reviennent à des coûts très élevés.

La problématique reste donc posée: comment l'industrie pétrolière protégera-t-elle son environnement des pollutions qu'elle induit, sans que cela n'engendre un surcoût qui limitera la compétitivité des entreprises ?

C'est pour cela que la recherche de nouvelles technologies de traitement moins coûteux, ont été envisagées et surtout celles qui utilisent les micro-organismes comme agents de dépollution.[2]

Notre étude consiste à traiter ces sols par la bio pile utilisant les bactéries autochtones du sol, la bio pile à pour objectif d'optimiser les facteurs critiques régissant l'environnement du sol (à savoir : le pH, l'humidité et les nutriments) afin d'augmenter l'activité microbienne et la biodégradation, pour cela deux essais ont été réalisés :

1^{er} essai : auto-biodégradation :

La dégradation des hydrocarbures par la flore autochtone du sol sans aucun apport extérieure.

2^{ème} essai : avec traitement en bio pile :

Les objectifs de ces essais sont les suivants :

- Evaluer la capacité de la biodégradation des micro-organismes autochtones.
- Evaluer le potentiel d'augmentation de la vitesse de dégradation en ajoutant les nutriments (N, P), assurant l'aération, l'humidité et la température.

Ces techniques ont l'avantage à l'élimination de la pollution contrairement aux procédés physico-chimiques qui consistent souvent en un transfert de la pollution d'un milieu à un autre ou encore à son confinement.

PARTIE THEORIQUE

CHAPITRE I

Généralités sur le sol

I. LE SOL :

1- DEFINITION DU SOL :

Une définition pédologique du sol est : [4], [5]

Le sol est une formation naturelle superficielle, meuble, de l'écorce terrestre, résultant de la transformation, au contact de l'atmosphère et des être vivants, de la roche mère sous-jacente, sous l'influence de processus physique, chimique et biologique. [6]

C'est donc un milieu complexe et dynamique évoluant sous l'influence des facteurs externes, hydrosphère, atmosphère et biosphère. Ses propriétés s'acquièrent progressivement sous l'action de ces facteurs.

2- Classification des sols [4], [5]

Les types de sol sont décrits selon trois classifications : USCS (unified soil classification system), USDA 1938 (U.S. department of agriculture system) et USDA 1960, 1968. L'ancienne classification USDA est basée sur la genèse du sol alors que la classification USDA récente (en constante révision) est largement basée sur les propriétés physiques et chimiques mesurables dans une perspective agricole et de plus large question des sols.

La classification USDA est sous-divisée en 7 niveaux (ordre, sous ordre, grand groupe, sous-groupe, famille, série et type) selon les aspects spécifiques.

La classification canadienne des sols présente 3 niveaux : ordre, grand groupe et sous-ordre (Agriculture Canada, 1972). Huit ordres sont présentés ci-dessous:

- 1- chernozémique
- 2- solonchique
- 3- luvisolique
- 4- podzolique
- 5- brunisolique
- 6- régosolique
- 7- gleysolique
- 8- organique

Il n'y a pas de correspondance directe avec les ordres de sols de l'USDA.

3- PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DES SOLS :

Les propriétés du sol varient selon la profondeur, changement abrupts de texture ou de structure qui affecteraient la percolation de l'eau par des canaux préférentiels.

La profondeur du sol offre une zone tampon contre la migration des contaminants dans le sol relativement peu perméable.

3-1- La texture du sol :

La texture du sol réfère à son pourcentage de sable, argile et silt. Selon L'USDA, la dimension 2mm sépare le gravier et le sable, 50 μ m le sable et le silt et 2 μ m le silt et l'argile.

Quatre grands ensembles de texture de sol sont définis : [6]

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

3-2- La structure du sol : [7]

La structure du sol a trait à la manière dont les particules de sable, de limon et d'argile se rassemblent, avec la matière organique, pour former des agrégats. Les pores du sol, situés entre les agrégats et à l'intérieur de ceux-ci, contiennent de l'air et de l'eau et fournissent des réseaux par lesquels les racines des plantes peuvent se développer. Il faut maintenir un niveau adéquat de matière organique dans le sol pour conserver une bonne structure de sol et ainsi éviter des problèmes de compactation et de durcissement de la surface du sol.

facteurs ayant une incidence sur la structure [7]

- Infiltration de l'eau et drainage;
- Rétention de l'eau;
- Aération;
- Potentiel d'érosion du sol;
- Germination des semences;
- Croissance des racines;

3-3- La porosité : [8]

On appelle porosité d'un système le rapport du volume non occupé par la matière solide au volume total. C'est l'espace vide par unité de volume du sol.

3-4- Le pouvoir adsorbant : [6]

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

Certains argiles impliquent une grande capacité d'échange ionique selon leur charges. Ainsi, la nature électrostatique du sol à une influence très importante sur la rétention des constituants organiques..

3-5- Phénomène de rétention dans le sol : [8], [9]

Les particules élémentaires du sol, généralement liées entre elles par des forces électrostatiques de VANDER WALS, formant des agrégats plus ou moins volumineux, groupés en unités structurales de plus grandes dimensions pour constituer l'édifice structural du sol. 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 structure 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 absorber, à atténuer et essentiellement à immobiliser un contaminant véhiculé par un liquide.

La rétention des contaminant est associée à trois mécanismes principaux :

- Adsorption physique :
 - Adsorption a l'intérieure d'agrégats de fines particules.
 - Adsorption autours de grains individuels.
- chimisorption
- Pénétration des ions dans la phase solide du minéral.

4- L'eau dans le sol [4], [5]

L'eau joue un rôle central dans le transport des contaminants et l'activité microbienne. Les propriétés et conditions hydrauliques caractérisant l'écoulement et la rétention de l'eau dans les sols.

Le volume total d'un sol fin est composé d'environ 50% de pores(gaz et liquide) et 50% de matière solide(inorganique et organique).

L'eau qui s'infiltre remplit les pores en déplaçant l'air et saturant le sol d'eau. Après drainage, une quantité d'eau adhère au sol à cause de la tension de surface de l'eau, la cohésion des molécules d'eau, l'adhésion de l'eau aux particules et d'autres forces électriques. Des pores de petites dimensions retiendront mieux l'eau dans le sol.

La quantité d'eau qui demeure dans le sol après drainage est appelée capacité au champ et correspond au potentiel de rétention d'eau de -0.3bar .

La profondeur, selon les saisons, jusqu'à la nappe phréatique, la roche mère ou une couche imperméable est importante pour indiquer si la lixiviation des contaminants vers la nappe phréatique pose des problèmes aigus et pour limiter la migration de contaminants.

La fréquence d'inondation indique le potentiel de perte des contaminants par ruissellement. Le risque sera faible, modéré ou élevé en fonction de la fréquence bisannuelle d'inondation ; 0-10%, et 10-50% par deux ans, respectivement.

Le potentiel de ruissellement des contaminants avec l'eau pourra être réduit par des mesures de contrôle de ruissellement. Les polluants pourront s'être échappés selon leur affinité avec le sol par :

1. Un entraînement avec les particules ou de matière organique. (Composés fortement adsorbés).
2. Entraînement avec l'eau qui dissous les composés faiblement adsorbés (la plupart des pesticides).
3. Par infiltration souterraines(composés solubles).

CHAPITRE II

Généralités sur les hydrocarbures

1- DEFINITION DES HYDROCARBURES : [10], [11], [12]

Le mot hydrocarbure désigne un composé contenant des atomes d'hydrogène et des atomes de carbone avec parfois des atomes d'oxygènes ou d'azote ne formant pas des groupements fonctionnels.

On peut les classer en quatre familles principales qui sont présentes en proportions variables selon l'origine de l'hydrocarbure et son vieillissement : [13]

- Les hydrocarbures saturés : alcanes, cycloalcanes (30 à 70%)
- Les hydrocarbures aromatiques et poly aromatiques (20 à 40%)
- Les hydrocarbures polaires (5 à 25%)
- Les asphaltènes (0 à 10%)

a) Les hydrocarbures saturés : [10], [11], [12]

- Hydrocarbures paraffiniques (alcanes), ils répondent à la formule générale C_nH_{2n+2} .
- Hydrocarbures naphtheniques(cyclanes),ils répondent à la formule générale C_nH_{2n} .

b) Les hydrocarbures insaturés : [10], [11], [12]

Ces hydrocarbures entrent peu dans la composition des pétroles bruts, mais ils sont issus de la distillation de certains composés du brut :

- Les alcènes possèdent une double liaison $C=C$, de la formule générale C_nH_{2n} .
- Les alcynes possèdent une triple liaison $C\equiv C$, de la formule générale C_nH_{2n-2} .

c) Les hydrocarbures aromatiques : [10], [11],[12]

Ce sont des composés contenant un ou plusieurs noyaux benzéniques (cycle hexagonal à six atomes de carbones).

Ils ont souvent une odeur très prononcée, c'est ce qui leur vaut l'appellation de composés aromatiques.

Les hydrocarbures asphaltiques : Sont des résines de la distillation pétrolière, ces dernières constituent 5 à 10% du pétrole brut, de plus ce sont des composés hétérocycliques à haut poids moléculaire.

2- CLASSIFICATION DES HYDROCARBURES :

On distingue les pétroles bruts et les pétroles raffinés. [14]

1 -Pétroles bruts : [14]

Le pétrole se trouve à l'Etat naturel dans les gisements naturels décelés par des techniques de prospection et d'où on l'extrait, par le forrage des puits pour servir de matières premières aux industries de raffinage et de la pétrochimie et ce sont des hydrocarbures présentant des substances volatiles et des cires complexes et visqueuses qui peuvent contenir des éléments tels que l'oxygène, le vanadium, le nickel, et les sels minéraux en quantités infimes.[13]

2- Pétroles raffinés :[14]

a) Gaz liquéfiés :

Dans les industries, à des pressions de plusieurs atmosphères et à des températures inférieures à 25°C, on liquéfie les gaz C₃ et C₄. On obtient le propane commercial, le butane commercial, et un mélange des deux vendus sous le nom de propo.

Ces gaz liquéfiés sont contenus dans des bouteilles métalliques, sous pression et sont généralement utilisés pour la cuisine et le chauffage domestique.

b) Essences (C₄-C₁₂) : [14]

Cette gamme de produits comprend les carburants pour automobiles. Deux types de carburants sont commercialisés.

c) Kérosènes : (C₁₀-C₁₄) : [14]

Appelés aussi pétrole lampans ou carburateurs. Il y a deux qualités de carburateurs le TRO et le TR4. Ce dernier est réservé à l'aviation militaire.

d) Gas-oils (C₁₄-C₂₀) : [14]

Le gaz, dont les limites de distillation sont 190 et 360°C, est un combustible utilisé dans les moteurs diesel rapides pour certaines voitures, les camions et les cars.

La propreté, la combustion et la fluidité se retrouvent parmi les qualités requises pour le gas-oils.

Le tableau suivant représente les caractéristiques générales et la composition du gas-oil.

Tableau N°1 : Caractéristiques générales et composition du gas-oil : [15]

| | |
|---|------------|
| Densité à 15°C | 0.810-0860 |
| Intervalle de distillation à pression atmosphérique | |
| point initial (°C) | 160-180 |
| Point final (°C) | 340-370 |
| Nombre d'atome de carbone | 10-20 |
| Rapport H/C atomique | 1.9-2.1 |
| Composition structurale (% volume) | |
| Paraffines | 50-65 |
| Naphtènes | 20-30 |
| Oléfine | 0 |
| Aromatiques | 10-30 |

e) Fuel-oils : [14]

Le fuel-oil est un gaz dont le point final de distillation est plus élevé que celui d'un gas-oil normal.

Ces combustibles sont utilisés dans l'industrie et la marine pour la chauffe de fours et des chaudières ainsi que pour le moteur diesel lourd monté sur les navires.

f) Lubrifiants (huile de graissage) : [14]

Extrêmement divers suivant leur destination, les produits les plus importants dans cette catégorie sont : les huiles moteurs, les huiles machines, et les huiles isolantes. Ils sont utilisés dans les moteurs, les machines, les turbines, etc...

g) Les paraffines (cires de pétrole) : [14]

Ce sont les dérivés solides résultant respectivement du déparaffinage effectué sur les distillats légers et lourds. Leur caractéristique principale est leur point de fusion qui doit être suffisamment élevé pour éviter tout ramollissement des bougies et tout collage des assemblages paraffinés.

3- PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DES HYDROCARBURES : [16], [17], [18]

Il est essentiel de connaître les propriétés physiques et chimiques des hydrocarbures pour être capable d'en déduire leurs comportements une fois qu'ils seront soumis à l'environnement. On citera :

Le point d'écoulement (température limite entre la phase liquide et semi-solide).

Viscosité (renseigne sur la résistance à l'écoulement).

Point éclair (renseigne sur la température où le produit s'enflammera).

Densité (Renseigne si le produit va flotter ou couler).

Point d'ébullition (Renseigne si le produit va s'évaporer).

Adhérence (renseigne si le produit va coller au sédiment de la plage).

Solubilité (renseigne sur la tendance du composé à se dissoudre).

Teneur en aromatique (renseigne si le produit est toxique).

4- COMPORTEMENT DES HYDROCARBURES DANS LES SOLS : [16], [17], [18]

Une fois déversée sur le sol, les hydrocarbures y pénètrent. Ils migrent alors sous l'influence de la gravité

Ils se divisent alors en plusieurs phases :

- **Résiduelle** : Hydrocarbures(souvent liquide) qui sont présents soit dans la zone vadose (non saturés en eau), soit dans les pores.
- **Vapeur** : Volatilisation des composés légers, ils deviennent alors très mobiles.
- **Liquide ou flottante** : Les liquides qui ne sont pas restés dans la zone vadose vont atteindre la nappe (ou une surface imperméable) et se disperser latéralement sur la nappe.
- **Dissoute** : Certains composés sont solubles et alors ils sont dissout au contact de l'eau, ce qui complique et rend quasi-impossible leur récupération.

Dans cette étude nous allons nous limiter à la décontamination de la phase résiduelle.

4-1-Processus d'altération :

Il existe 3 principaux processus d'altération des hydrocarbures qui sont en phase résiduelle :

A-Volatilisation :

Importante pour les composés légers, elle est inexistante pour ceux qui ont plus de 22 atomes de C. La composition du sol peut jouer un rôle sur le taux de volatilisation. Plus le sol sera pauvre en humus plus il y aura de volatilisation car, si l'humidité est réduite, il y aura une quantité plus importante d'hydrocarbures exposés à l'atmosphère. Une augmentation de la température aura, bien entendu, une influence positive sur la volatilisation.

B-Solubilité et lixiviation : [16], [17], [18]

La lixiviation est la dissolution de certains composés dans l'eau par percolation du liquide à travers le sol. Plus un composé sera soluble moins il s'adsorbera aux particules de sol et il sera alors plus mobilisable. Leahy et Colwell (1990) mentionnent que le taux de minéralisation des hydrocarbures est influencé par leur solubilité, ce qui fait que les plus solubles sont plus facilement accessibles pour la biodégradation.

C-Biodégradation : [14], [4]

Certains organismes peuvent utiliser les hydrocarbures comme source de carbone. La grande partie de ces organismes sont des bactéries, mais certains champignons peuvent en faire autant. Cela consiste à transformer les hydrocarbures en dioxyde de carbone (CO_2), en eau (H_2O) et en ions, nitrates, phosphates ou sulfates.

L'ajout de groupe fonctionnels à un composé a pour effet d'accélérer la dégradation du nouveau composé si les groupes sont de type alcool (-OH) ou carboxyle (-COOH) et d'en ralentir la dégradation si les groupes sont de type halogéné (Cl, Br) ou nitro (-NO₂) [4]. De même, les composés aliphatiques seront plus faciles à dégrader que les aromatiques qui le seront encore moins s'ils sont chlorés.

5- EFFET TOXIQUE DES HYDROCARBURES SUR L'HOMME : [19]

5-1- Les hydrocarbures paraffiniques (saturés) :

- Le méthane, l'éthane, le propane et le butane ont des propriétés anesthésiques. Il faut qu'ils soient à très forte concentration pour produire des troubles sérieux et il est déconseillé d'une façon générale de respirer l'air contenant plus de 500 ppm d'hydrocarbure.
- Le pentane, l'octane, le nonane et le décane ont un effet anesthésique et irritant, ils provoquent une légère incoordination motrice, des troubles de l'activité comparable à ceux observés lors de l'ivresse éthylique.
- Les fortes concentrations peuvent causer l'asphyxie par arrêt de respiration.
- Les hydrocarbures paraffiniques encore plus lourds, ne sont pas suffisamment volatils à la température ordinaire pour qu'il ait un risque sérieux d'inhaler leurs vapeurs.

5-2- Les hydrocarbures insaturés : [19]

- Les oléfiniques sont narcotiques, cette action semble augmenter avec le poids moléculaire.
- Les hydrocarbures diooléfiniques ont une action anesthésique, narcotique marquée et une action sur les organes hématopoétiques (rate, moelle) qui entraîne l'anémie par exposition prolongée.

5-3- Les hydrocarbures cycloparaffiniques : [19]

- Le cyclopropane, le méthylecyclopropane, les di et triméthylecyclopropane, le cyclobutane, etc... ont tous des propriétés anesthésiques ou narcotiques. Le cyclopropane est employé comme anesthésique médicale. Le cyclohexane, en plus de son action narcotique et paralysante à une action destructrice sur les globules rouges.

5-4 Les hydrocarbures aromatiques : [19]

- Les hydrocarbures passent dans l'organisme à travers la peau, et peuvent à la suite des contacts prolongés ou répétés, produire les mêmes effets que l'inhalation de leurs vapeurs.

- Les HC polycycliques aromatiques sont les plus toxiques, ils présentent une toxicité à long terme aggravée par la présence de tension actif qui facilitent leur introduction dans l'organisme. Ils peuvent provoquer aussi des cancers cutanés (épithélioma) chez les sujets exposés à leur manipulation.

CHAPITRE III

PROBLEMATIQUE DE LA RESTAURATION DES SOLS CONTAMINES

I-INTRODUCTION

La plupart des industries utilisent plusieurs composés d'hydrocarbures pour diverses tâches et toutes les automobiles utilisent encore de l'essence. Toutes ces utilisations entraînent un énorme réseau de transport, qui, malheureusement, n'est pas infaillible. Il y a souvent des accidents qui font déverser ces produits néfastes pour l'environnement dans les sols. Souvent ces déversements sont dus à un manque de vigilance de la part des industries sur la condition de leur équipement. [20]

En effet, la pollution des sols quelle que soit sa nature, chronique ou accidentelle, représente une menace pour les personnes et l'environnement par son action sur :

- Les eaux superficielles (entraînement par précipitation) ;
- Les eaux souterraines (infiltration) ;
- La végétation (phytotoxicité, bio accumulation). [21]

Dans le but de préserver ces nappes, une nouvelle technologie est utilisée pour la dégradation et la détoxification des hydrocarbures contaminant les sols : La bioremediation.

Les principaux avantages des biotechnologies de décontamination des sols sont :

- 1- Une conservation de l'intégrité de la ressource.
- 2- Un faible coût d'application.

II- SOURCES DE CONTAMINATION : [4],[5]

- Les sources de contamination peuvent être naturelles telles que la salinité, le nitrate, le fluor, l'iode, l'arsenic, le fer, le manganèse, H₂S, radioactivité par l'uranium ou le radon.
- Les sources accidentelles tel que le déversement de produits chimiques toxiques ont été largement médiatisés et ont grandement contribué à l'éveil de la conscience environnementale.

Il existe trois grandes familles de sites pollués :[22]

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

III- NORMES ET REGLEMENTATIONS EN MATIERE DE PROTECTION DES SOLS : [22]

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

- 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 ou de faire assurer leur élimination en évitant seulement, et non en supprimant, les effet néfaste sur le sol, la faune, la flore, etc...[22]

- Le décret exécutif n°93-160 du 10/07/01993, réglemente le déversement des huiles et lubrifiants aussi bien dans le milieu naturelle 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 30/01/1994, fixe les règles de conservation des gisements d'hydrocarbures et de 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. (voire le tableau N°4)

Parmi les normes fixées qui définissent pour chaque polluant une valeur seuil facilitant les prises de décision et permettant de dire qu'un sol doit être dépollué ou non, sont celles établies par la Hollande représentés par le tableau N°5.

Le problème posé par de telle normes est qu'elles ne tiennent pas compte de :

- L'Etat 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 : [23]

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

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

Tableau N°2 : valeurs limites maximales des paramètres de rejets des installations de déversement en Algérie [24]

| Paramètres | Unités | Valeurs maximales |
|-------------------------|--------|-------------------|
| Température | °C | 30 |
| pH | - | 5.5 à 8.5 |
| MES | mg/l | 30 |
| DBO5 | mg/l | 40 |
| DCO | mg/l | 120 |
| Azote | mg/l | 40 |
| Phosphore | mg/l | 02 |
| Cyanure | mg/l | 0.1 |
| Aluminium | mg/l | 05 |
| Cadimium | mg/l | 0.2 |
| Chlore3+ | mg/l | 03 |
| Chrome6+ | mg/l | 0.1 |
| Fer | mg/l | 05 |
| Manganéise | mg/l | 01 |
| Mercuré | mg/l | 0.01 |
| Plomb | mg/l | 01 |
| Cuivre | mg/l | 03 |
| Zinc | mg/l | 05 |
| Nickel | mg/l | 05 |
| Huiles et graisses | mg/l | 20 |
| Hydrocarbures | mg/l | 20 |
| Phénols | mg/l | 20 |
| Solvant organique | mg/l | 0.5 |
| Chlore actif | mg/l | 01 |
| PCB | mg/l | 0.001 |
| Detergents | mg/l | 02 |
| Tensioactifs anioniques | mg/l | 10 |

Tableau N°3 : normes hollandaises de qualité des sols.[23]

| mg/Kg de matière sèche | A Seuil de référence | B Seuil de risque | C Seuil de danger |
|--|-------------------------|----------------------|----------------------|
| METAUX 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 |
| COMPOSES AROMATIQUES | | | |
| Benzène | 0.01 | 0.5 | 5 |
| Ethylbenzène | 0.05 | 5 | 50 |
| Toluène | 0.05 | 3 | 30 |
| Xylène | 0.05 | 5 | 50 |
| Phénol | 0.02 | 1 | 10 |
| Total composés aromatiques | 0.1 | 7 | 70 |
| HYDROCARBURES POLYCYCLIQUES (HAP) | | | |
| Naphtalène | 0.01 | 5 | 50 |
| Anthracène | 0.1 | 10 | 100 |
| Phénanthrène | 0.1 | 10 | 100 |
| Fluoranthène | 0.1 | 10 | 100 |
| Pyrène | 0.1 | 10 | 100 |
| Benzo(a)pyrène | 0.05 | 1 | 10 |
| Total HAP | 1 | 20 | 200 |
| AUTRES COMPOSES | | | |
| 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 |

IV-LES TECHNIQUES DE DECONTAMINATION :

Les principales techniques de décontamination (excavation, stabilisation...) que nous présentons ici sont résumées dans les tableaux N°5

1- L'excavation : [25]

C'est une méthode très simple à mettre en œuvre, rapide et radicale.

Elle pose néanmoins deux gros problèmes :

- Problèmes du transport et du stockage des terres excavées (sur site, hors site suivant la place disponible)

- Il y a risque d'étendre la pollution.

Une fois les terres excavées, une des solutions habituellement proposée est de les envoyer vers un centre de traitement spécialisé ou vers un centre d'enfouissement technique. La filière devra être organisée avant le démarrage de l'excavation, et la solution retenue en fonction des différentes contraintes techniques doit être acceptée par tous les intervenants.

2- Le pompage de l'eau : [25]

Le pompage :

Cette méthode peut être très longue car pendant le traitement de l'eau, la nappe phréatique peut être alimentée en polluants par l'intermédiaire du sol.

L'efficacité du pompage dépend des caractéristiques du milieu et du comportement du polluant : il faut tenir compte entre autres des mouvements de l'eau pour choisir où implanter le pompage.

Il faut empêcher le polluant de se déplacer ou de se disperser : on implante le pompage plutôt au centre de la zone contaminée et plutôt vers l'aval.

Le pompage-écrémage : [25]

Cette technique est surtout utilisée pour les phases contaminantes liquides organiques de densité < ou > à 1 non soluble la surface de la nappe phréatique.

Cette méthode est efficace (30% à 50%) si elle est mise en œuvre rapidement, elle permet de récupérer une phase libre, pure.

S'il y a une épaisseur importante (supérieure à quelques décimètres), on procède à un pompage direct ; Si l'épaisseur est faible, on fait deux forages contigus.

3- Venting : [25]

Les techniques de ventilation in-situ sont très efficaces (65% à 90%) pour les hydrocarbures légers (essence) et tous les produits volatils récupérables sous forme gazeuse.

Largement utilisée à l'étranger, et notamment aux Etats-Unis depuis 20 ans, la technique du venting consiste à aspirer les polluants contenus dans un sol non saturé. On envoie dans le sol un flux d'air par l'intermédiaire d'une série de forages localisés en bordure de la zone à traiter, et à pomper au sein de la zone contaminée l'air chargé des gaz polluants. En sortie, les gaz polluants sont traités à leur tour avant leur rejet dans l'atmosphère, soit par combustion (forte concentration), soit par passage sur charbon actif (faible concentration).

Le succès du venting repose sur les caractéristiques du sol (composition lithographique, perméabilité).

Cette méthode est très efficace pour une pollution étendue, pour des grandes profondeurs (jusqu'à 15m) ou encore sous des bâtiments ou des surfaces inamovibles.

4- Confinement : [25]

Le confinement est une technique qui consiste à isoler la source de pollution pour empêcher la migration des substances polluantes. Elle est principalement utilisée pour les anciennes décharges ou d'anciens sites industriels couvrant une zone étendue. Il y a plusieurs méthodes de confinement :

- Le confinement en décharge
- La couverture par géomembranes
- Le confinement en parois moulés

Le confinement est surtout utilisée dans l'industrie nucléaire et pour traiter l'amiante. On a remarqué que les techniques de confinement et de stabilisation combinée donne de très bons résultats pour la décontamination des métaux lourds .

5- Stabilisation : [25]

On mélange le produit polluant à différents adjuvants pour en faire un matériau composite solide, peu perméable et non réactif.

Avantages: pas de risque de migration, peu de suivi dans le temps et peu onéreux. La méthode la plus utilisée : ciment + eau + polluant. C'est une méthode dure et stable dans le temps. Elle est préconisée pour les métaux lourds comme Zn, Pb, Cu ou Cd. Autre possibilité : chaux en cendre + polluant. Préconisé pour les solvants chlorés et les composés hydrocarbonés.

6- Lavage du sol : [25], [26]

L'opération consiste à injecter de l'eau directement dans le milieu, en amont de la pollution, et à la pomper en aval, chargée de polluant.

On peut remplacer l'eau chaude par de la vapeur lorsqu'on a affaire à des produits peu solubles, plus denses que l'eau.

Cette méthode doit toutefois être utilisée avec le plus grand soin. En effet, il faut faire très attention car elle comporte le risque de disperser la pollution et de l'entraîner rapidement vers l'aval en dehors de la zone de traitement prévue. Il y a ainsi deux précautions principales à prendre :

- il faut installer des piézomètres pour contrôler que la pollution ne sort pas de la zone
- il faut placer le puits de récupération pas trop loin du puits d'injection

a- Le lavage ex-situ : [25], [26]

Efficacité : 80 à 99%

Ce lavage est utilisé dans le cas de fortes concentrations (de 50 000 ppm à 150 000 ppm en hydrocarbures, pesticides, cyanures et métaux). Son efficacité est de 80 à 99%. Cette voie est extrêmement large puisqu'elle englobe tous les types de lavage : à l'eau, seule ou avec des tensioactifs ou avec des solvants. D'une manière générale, cette technique ne s'applique que si le taux de particules fines n'est pas trop important.

b- Le lavage in-situ : [25], [26]

Le lavage in-situ est très efficace (50 à 80%) utilisé dans les cas de grandes quantités. Ce procédé consiste à lessiver un sol pour récupérer l'effluent pollué par pompage dans la nappe située au-dessous.

Sur une très forte pollution très profonde, cette solution a été privilégiée en concurrence avec le confinement du site qui coûtait beaucoup plus cher. Elle a en outre l'avantage de s'intégrer parfaitement à l'exploitation du site, les effluents récupérés étant traités par la station d'épuration de l'industriel. Le traitement est en revanche relativement long.

7- La mobilisation et l'extraction : [25], [26]

Communément assimilée à un lavage, la mobilisation d'un polluant par une solution et son transfert à l'extérieur du milieu pollué peut s'appliquer à quasiment tous les contaminants.

a- Application in-situ

Le principe est simple : le sol est aspergé par une solution, qui s'infiltré dans le sol et mobilise le polluant. La solution chargée du polluant mobilisé sera ramenée à la surface par pompage.

Cette méthode a pour principaux avantages d'être relativement peu chère et facile à mettre en place. En revanche, elle a les mêmes inconvénients que le lavage, à savoir un risque de dispersion. Il faut aussi faire très attention à l'état du sol après traitement : les solutions réactives ou toxiques peuvent sérieusement dégrader le sol.

b- Application sur-site

Le matériau excavé est au préalable criblé (pour éliminer les pierres et les morceaux grossiers) puis est ensuite mis en contact avec la solution dans une machine pendant un temps suffisamment long pour assurer un contact sol-solution parfait pour provoquer la mobilisation et le lessivage du produit contaminant.

La mobilisation peut être obtenue par formation d'une émulsion, par stabilisation ou par transformation chimique.

Plusieurs types de produits peuvent être utilisés :

- l'eau pure* : c'est le moins cher ; elle est utilisée pour des contaminants solubles

□ *les tensioactifs* : ils sont utilisés pour des produits hydrophobes ; ils cassent les grosses molécules, ils favorisent le maintien du contaminant dans la solution

□ *les solvants organiques* : au cas par cas

□ *les acides-bases* : pour les métaux lourds et les composés organiques

□ *un fluide supercritique* (le dioxyde de carbone) : il a un très grand pouvoir solvant (μ faible et D élevé) à haute température et basse pression. Cependant, cette méthode est trop chère pour le moment mais est une solution d'avenir.

8 - Biréacteur [25], [26], [27].

Le traitement biologique du sol en réacteur a eu lieu dans des enceintes close équipé de système d'agitation mécanique. Les bio réacteurs sont plus particulièrement utilisés lorsque la pollution est concentrée et dans le cas où les microorganismes ont des difficultés à se développer dans des conditions non contrôlées. Le bio réacteur présente plusieurs avantages :

- Meilleur contrôle des paramètres de cultures (t, pH, nutriments) ;
- Oxygénation plus efficace,
- Contact entre organismes et polluants plus intimes ;
- Transfert de matière et thermiques accrus.

On réalise la biodégradation du polluant dans un contenant installé sur le site. On distingue les trois cas suivants :

- **Traitement des matériaux solides** : on réalise des opérations d'homogénéisation puis on mélange avec de l'eau pour former de la boue. Les réacteurs mélangent ensuite la boue avec les micro-organismes et de l'air pulsé par le fond des réacteurs est récupéré en sommet de cuve puis est traité avant d'être rejeté. La boue passe enfin dans un séparateur : la terre est remise en place, l'eau est recyclée.

- **Traitement de l'eau** : le principe est le même que pour les solides. Les réacteurs sont remplacés par des colonnes dans lesquelles l'eau est mise en contact avec un matériau neutre qui sert de support aux micro-organismes fixés.

- **Traitement des gaz** : l'emploi d'un bio filtre est la solution la plus répandue, qui est efficace et peu onéreuse. Le filtre biologique est formé de compost, milieu idéal pour la croissance des bactéries. Le rendement du bio filtre est directement dépendant de la hauteur

de compost filtrant, et aussi de la vitesse du flux gazeux injecté. Le maintien de bonnes conditions d'utilisation permet d'obtenir un taux de dégradation des polluants au-delà de 90%.

9 - Compostage, landfarming [25], [26]

C'est une méthode sur site : on excave le sol et on cherche à favoriser le mécanisme aérobie naturel. Trois facteurs sont déterminants : l'aération, le taux d'humidité et l'apport en nutriments.

10- Le compostage : [25], [26]

On fait plusieurs tas de quelques mètres de circonférence et d'un mètre de hauteur. On mélange la terre extraite à un substrat organique qui favorisera l'aération au cours du temps. Les rendements obtenus étant généralement très faibles, il vaut mieux réserver cette technique pour des contaminant aisément biodégradables.

12- Le landfarming : [25], [26]

On traite ici le matériau pollué comme une surface agricole :

- On étale le sol pollué sur de grandes surfaces planes qui doit être imperméable
- On ajoute ensuite du fertilisant (nutriments) et on le mélange avec le sol
- On travaille enfin régulièrement le sol pour l'aérer

Les techniques de compostage et de landfarming ont un rendement meilleur l'été, lorsque la température est élevée. De même, le taux d'humidité doit être maintenu constant, ni trop sec, ni trop humide, pour permettre un rendement maximal.

13- Traitement par les champignons : [25], [26]

" On a constaté récemment que les HAP ont des structures proches de celles des écorces de pin qui sont attaquées par des champignons filamenteux. Ces micro-organismes présentent aussi l'intérêt de travailler dans des pH plus acides que les bactéries et d'être moins exigeants en oxygène " affirme Pascal Roudier, directeur chez ATE.

L'utilisation des champignons est très efficace sur les HAP (>60%) reste cependant encore très limitée. Sur un chantier en 1998, 10 000 tonnes de terre polluée ont été traitées

pour 500 000 Francs : les pollutions de départ atteignaient 10000 ppm et on a obtenu à la fin des pollutions de 10 ppm, soit un prix défiant toute concurrence pour un résultat exceptionnel ! Il y a ainsi eu quelques réussites sur des pilotes mais la méthode n'est pas encore complètement au point. Une société américaine a enregistré l'an passé des premiers résultats positifs sur les HAP, et l'on espère pouvoir traiter prochainement également les PCB.

Même si elle n'est pas encore parfaitement au point, le traitement par champignons est sans aucun doute une des grandes technologies de demain.

14- Bioventing, biosparging : [25], [26]

Polluants : hydrocarbures peu volatils

Concentration : quelques centaines de ppm

Efficacité : 70 à 90%

Limite : traitement lent, seuil résiduel de 100 à 300 ppm

C'est un mélange de 2 techniques : la biodégradation et la ventilation. On réalise une aération forcée.

Le flux d'air est récupéré par aspiration, mais le débit d'injection/aspiration doit être faible pour laisser le temps à la biodégradation. De plus, cette technique ne requiert pas de traitement des effluents gazeux à la sortie, contrairement au venting.

Cette technique est souvent choisie comme technique complémentaire au venting ou au sparging. On insuffle des nutriments et de l'air pour activer dans le sol les micro-organismes naturellement présents. Ainsi, le bioventing permet de traiter les pollutions associées moins volatiles

15- Traitement en bio pile : [25], [26], [27], [28]

Le traitement en bio pile est réalisé en excavant le sol contaminé et en le déposant sur une surface imperméable. Celle-ci est aménagée en cuvette de rétention avec drain de récupération afin de recueillir les eaux de lixiviation qui seront éventuellement recyclées. Une toile semi perméable est appliquée sur la pile empêchant l'eau de pluie de percoler à travers l'andain et réduisant de ce fait les quantités de lixiviats à récupérer et à traiter.

L'aération est fournie en aspirant l'air à travers le sol. Tandis que l'eau servant à assurer une humidité adéquate et les éléments nutritifs sont introduits par arrosage.

Donc la bio pile est une technique qui prévoit la mise en tas du sol excavé. Pour satisfaire les contraintes techniques et/ ou législatives, le tas à traiter sera recouvert d'une membrane imperméable, et la gestion des entrées sorties des phases liquides et gazeuses devra être parfaitement maîtrisée. Pour améliorer le rendement (70 à 90%), on ajoute si possible des nutriments et des micro-organismes à la terre à traiter.

Le fonctionnement du dispositif est le suivant :[26]

- La quantité de nutriments nécessaire peut être ajoutée à la terre à traiter avant la mise en tas (et éventuellement des micro-organismes). Dans le cas contraire, les nutriments en solution sont ajoutés par le système d'aspersion sommital.
- Percolant au travers du tas, les effluents liquides sont récupérés via le réseau de rigole, envoyés dans une cuve et recyclés avant d'être injectés à nouveau. La concentration en nutriments est au besoin réajustée, et en cas de baisse de l'activité bactériennes, des ajouts de micro-organismes peuvent être effectués directement dans la cuve.
- Au démarrage de l'opération, une aspiration des gaz est réalisée par le système de drainage du fond. Dans un premier temps, cette aspiration permet de récupérer un maximum de composés polluants volatils. Ceux –ci sont traités dans l'atmosphère.

Lorsque le dégazage des produits volatils diminue, l'aspiration des gaz peut être arrêtée et le dispositif de pompage des gaz inversé. Au lieu d'aspirer, on injecte au contraire de l'air frais par la base du tas, provoquant ainsi une augmentation significative de la vitesse de dégradation.

Pendant l'aspiration des volatils, le pompage maintient un débit du flux gazeux important. Par contre, pendant l'injection d'air frais, un débit faible est conservé au niveau du pompage.

Le dispositif est aménagé de façon à permettre d'une part l'échantillonnage de terre traitée, et d'autre part la mesure en continu d'un ensemble de paramètres déterminants pour le bon fonctionnement du système, tels le pH , la température, le taux d'humidité, la teneur en gaz polluants de l'air ambiant... les échantillons sont prélevés à l'intervalles réguliers et analysés pour les nutriments, les produits polluants à dégrader et éventuellement certains métabolites intermédiaires. La gestion de l'ensemble de ces résultats est effectuée par le poste central du contrôle.

Tableau N°4 : représente différentes techniques de décontamination du sol pollué[25]

| Type | Méthode | Cible | Avantages | Inconvénients |
|--------------------|-----------------------------|--|--|---------------------------------------|
| Excavation | Excavation Mise en décharge | Matériaux solides | Simple, rapide, radicale | Transport, étendue pollution possible |
| | Pompage | Phase libre, pure dans la nappe | Très efficace si mise en oeuvre rapidement | Dispersion possible du polluant |
| | Venting | Produits volatiles, hydrocarbures légers | Traite des milieux peu favorables | Dispersion possible du polluant |
| Piègages | confinement | Tout polluant | Radical | |
| | Stabilisation | Métaux lourds et solvants chlorés | Radical | |
| Chimiques | Lavage | Presque tous les polluants | Simple | Risque de dispersion |
| | Mobilisation | Presque tous types | Très simple | Gros risques de dispersion |
| | Réaction chimique | Produits organiques | Très efficace | Risque de repollution |
| Thermiques | Incinération hors-site | Tous les polluants | Radical | |
| | Vitrification in-situ | Tous les polluants | Très stable dans le temps | Encore expérimental |
| Biologiques | bio réacteur | Solides, eau, gaz | Simple | Excaver ou pomper |
| | Compostage landferming | Produits hydrocarbonés peu volatiles | Assez efficace | Rejets volatils et pollution possible |
| | Bio pile | Produits volatiles | Efficace | Long |
| | Champignons | Produits hydrocarbures | Efficace | Stade expérimental |
| | Bioventing, biosparting | Produits volatiles | Très efficace | Fortes contraintes pour le sol |

CHAPITRE V

Généralités sur la biodegradation et les micro-organismes

I- INTRODUCTION : [4]

Le sol renferme une grande variété de micro-organismes incluant des bactéries, champignons, moisissures et levures qui peuvent dégrader les composés organiques toxiques en produits non toxiques. La biodégradation de molécules chimiques dans l'environnement consiste habituellement en une série complexe de réactions biochimiques exécutées par une combinaison de plusieurs micro-organismes.

I-1- PROCESSUS BIOLOGIQUE : [27], [29]

Parmi les techniques de dégradation des hydrocarbures, nous citons la biodégradation. Le principe de cette technique est d'exploiter le pouvoir d'auto-épuration naturelle des micro-organismes.

L'association de plusieurs populations bactériennes permet de dégrader des polluants complexes comme les hydrocarbures aromatiques au cours des multiples étapes de biodégradation. La biodégradation met en jeu des processus d'oxydation qui aboutissent à la formation d'hydrocarbures légers c'est à dire de faible poids moléculaire, du CO₂, de l'eau et de la biomasse.

Les réactions de biodégradation des hydrocarbures catalysées par les enzymes des bactéries sont complexes et dépendent des conditions physico-chimiques du milieu, de la nature de substrat hydrocarboné et de la souche bactérienne mise en jeu.

Le mécanisme de biodégradation se résume à :

Hydrocarbures \longrightarrow alcools \longrightarrow acides \longrightarrow CO₂ + H₂O.

Chaque étape est sous le contrôle d'une enzyme spécifique.

On peut généralement classer les processus de bio restauration en trois grandes catégories : [30], [31]

- 1- la molécule -cible est utilisée comme substrat (surtout par les bactéries),
- 2-la molécule -cible est co-métabolisée (mode principal de dégradation utilisé par les champignons), et
- 3-la molécule-cible ne subit aucune modification mais est concentrée dans l'organisme (bioaccumulatio ; surtout par les plantes).

Afin de faciliter la compréhension concernant la biodégradation, il nous semble intéressant de rappeler les facteurs de croissance.

I-2- RAPPEL CONCERNANT LES MICRO-ORGANISMES : [28], [29]

Les micro-organismes se multiplient à partir des aliments ou nutriments que l'on met à leur disposition dans les milieux de cultures. Elles peuvent être représentées par : des bactéries, des champignons, des actinomycètes, des levures.

Ces organismes exigent un certain nombre de besoins communs à savoir : l'eau, une source d'énergie, une source de carbone, une source d'azote et des éléments minéraux (figure 1). Pour pouvoir croître et se multiplier.

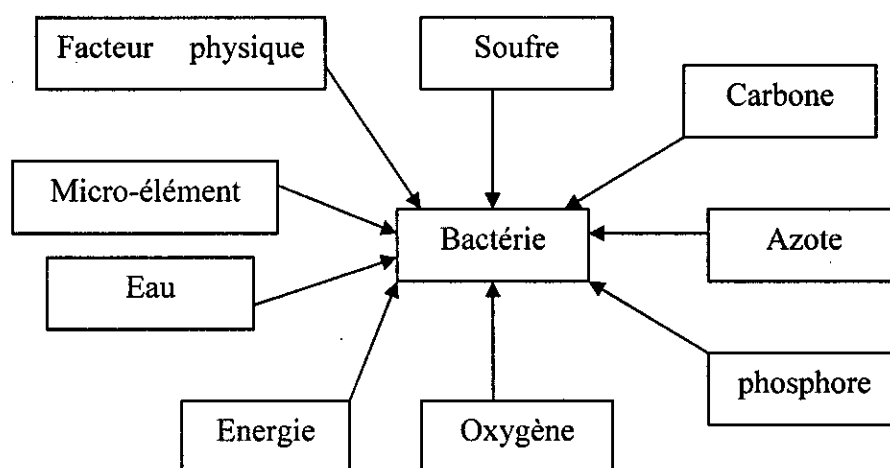


Figure N°1 : exigence des bactéries pour leur croissance (d'après Wood. M. ; 1995) [32]

1-3-Nutrition et synthèse : [4], [5]

Le métabolisme bactérien est composé de deux grandes activités cellulaires qui sont le catabolisme et l'anabolisme. Le catabolisme consiste à préparer les molécules disponibles à l'organisme et à le convertir en intermédiaires utilisables. Par l'anabolisme, l'organisme réalise la synthèse cellulaire et la production d'autres composés essentiels.

Les procédés biologiques sont classés selon le type d'accepteur d'électrons. On y retrouve, notamment et par ordre d'efficacité énergétique, la respiration aérobie (avec l' O_2), la nitrification (avec NO_3^-), la déshalogénéation réductive (avec, par exemple, les solvants chlorés), la sulfato-réduction (avec SO_4^{2-}), l'acidogénèse (molécules organiques) et la méthanogénèse (HCO_3^- ou acétate).

Le tableau suivant présente les différents accepteurs d'électrons

Tableau 7 : Accepteur d'électron terminaux [33]

| Processus microbien | Accepteur d'électrons | Produits de réaction | Micro-organismes |
|----------------------------|---|---------------------------|--|
| Respiration aérobie | O_2 | H_2O, CO_2 | Aérobies stricts ou facultatifs |
| dénitrification | NO_3^- | $NO_2^- ; N_2O ; N_2$ | Aérobies facultatifs et anaérobies strict |
| fermentation | Carbone organique | Acides org ; $H_2 ; CO_2$ | Variété |
| acétogénèse | $CO_2 ; HCO_3^-$ | CH_3COOH | Acétogèneses (anaérobies stricts) |
| Réduction de métaux | Mn^{4+}, Fe^{3+} | Mn^{2+}, Fe^{2+} | Variété |
| Sulfatoréduction | SO_4^{2-} | S_2^- | Anaérobies strict |
| Deshalogénéation réductive | EX .PCE | EX. 1,2- DCE | Aérobies facultatifs et anaérobies stricts |
| methanogénèse | $HCO_3^- ; H_2 ; CO_2 .$ CH_3COO^- | CH_4 | Methanogenes (anaérobies stricts) |

1-4 - Facteurs importants limitant la biodégradation : [30], [31]

Pour optimiser le processus naturel de biodégradation, il est indispensable de bien connaître les différents facteurs influençant sur son bon déroulement, à savoir :

a) Présence de micro-organismes : [30], [31]

Des micro-organismes adaptés (acclimatés) et possédant les capacités métaboliques nécessaires pour dégrader les polluants doivent être présents. Habituellement, plus la concentration de la durée de l'exposition aux contaminants est élevée, plus la proportion de

micro-organismes adaptés augmente (cependant, ceci n'est vrai que pour les molécules organiques pouvant servir de substrat).

b) Conditions environnementales favorables : [27]

Les paramètres environnementaux doivent favoriser la croissance des micro-organismes impliqués dans la biodégradation des hydrocarbures. Puisque l'importance de ces facteurs varie d'un site à un autre, chaque site à contaminer doit être évalué individuellement. Rappelant quelques facteurs importants :

b-1)-La composition granulométrique de la fraction solide qui caractérise la texture du sol.

b-2)-La composition chimique caractéristique de la phase minérale et organique

- Caractéristique physique : conductivité électrique et hydraulique,... etc
- Caractéristique géotechnique : teneur en eau, porosité, densité et indice de plasticité.
- Caractéristique biologique : nombre de germes par gramme de sol (UFC : unité formant colonie par gramme du sol) genre microbien des dégradeurs des HAP.

b-3)- La distribution de la pollution dans le sol (HAP) : [27]

- NAPL (phase liquide non aqueuse) : Gouttelettes plus ou moins solidifiées
- Adsorption à l'intérieur d'agrégats de fines particules,
- Adsorption autour de grains individuels ;

b-4)- La concentration, la structure et les caractéristiques physico-chimiques de la pollution, notamment la fraction aromatique.

- Proportion de 2, 3, 4,5 et 6 cycles aromatiques (le nombre de cycles influence sur les propriétés physico-chimiques des polluants : solubilité dans l'eau, pression de vapeur, dégradabilité, etc..)
- Densité et viscosité des goudrons contenant des HAP ;
- Importance des fractions lourdes de ces goudrons associées aux HAP (résine, asphalthènes).[27]

c) Les facteurs environnementaux :

- **La température : [34]**

On peut classer les bactéries selon leurs comportements à l'égard de la température comme suit :

Psychrophiles : la température de croissance est comprise entre 0 et 15°C.

Mesophiles : la température de croissance est comprise entre 20 et 40 °C .

Thermophiles : la température de croissance est comprise entre 45 et 60°C

La biodégradation des composés organiques diminue 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 plus part des espèces microbiennes du sol sont mesophiles.

Les espèces psychrophiles et thermophiles ne représentent qu'une faible fraction de population totale.

- **pH : [34]**

Les valeurs de pH du sol sont déterminantes quant à l'activité des microorganismes et à leur sélection. Certains sont prédominants à des pH bas, tels que les champignons qui sont plus tolérants à l'acidité (pH 5) alors que d'autres sont actifs à des pH élevés tels que les actinomycètes.

Le pH du sol est également important pour la solubilité des éléments nutritifs et leurs bio disponibilité.

La production des acides organiques et minéraux provenant des diverses voies métaboliques peuvent fortement abaisser le pH du sol, ce qui inhibe le processus de dégradation ou favoriser une espèce prédominante.

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

- **L'humidité : [34]**

L'humidité est un facteur important dans le processus de la dégradation, elle règle l'activité biologique de plusieurs manières :

L'eau intervient directement puisqu'elle est indispensable aux développements des microorganismes. Elle intervient indirectement en transportant diverses substances dont les nutriments ou certains éléments de la microflore (cellule végétative ou spores), en modifiant les échanges gazeux.

La biodégradation aérobie des composés organiques est meilleure à des taux de retentions d'eau de 50 à 70% et pour un pourcentage d'humidité qui est de 5 à 13%.

- **Les éléments nutritifs : [34]**

Comme tous les être vivants, les microorganismes responsables de l'épuration ont besoin d'éléments minéraux indispensables à leurs croissances, en particulier d'azote et de phosphore dont les teneurs sont sous certains rapport carbone/azote, carbone/phosphore.

Les proportions C/N/P recommandées pour la dégradation des HC sont de 100/10/1 selon Dupon et Coll. [33]

- **Oxygène : [19], [34]**

L'oxygène est un facteur limitant dans le processus de biodégradation des HAP. L'aération est dépendante de la qualité d'air présente dans les pores du sol. Par conséquent, la saturation des pores en eau, réduit considérablement le transfert de l'oxygène dans le sol.

L'oxygène est consommé plus rapidement qu'il ne peut être remplacé par diffusion à partir de l'atmosphère et à travers le sol, sous ces conditions l'anaérobiose s'installe.

La biodégradation des HAP demeure un processus controversé et mal connu.

De plus, de nombreux auteurs affirment que cette biodégradation est négligeable dans les conditions d'anaérobiose.

Bio disponibilité du substrat : [30], [31]

les contaminants doivent être accessibles aux micro-organismes afin de servir de substrat. Toutefois, pour que les micro-organismes soient adaptés et les conditions de croissance favorables soient présentes, certains contaminants ne seront pas dégradés.

Les propriétés structurales et chimiques du sol et celles des substances polluantes elles-mêmes vont affecter leur bio disponibilité.

II- Interaction sol – contaminants –micro-organismes [30], [31]

Plusieurs sorts possibles attendent les contaminants dans l'environnement. Il s'agit d'un domaine très complexe faisant interagir les caractéristiques des polluants et de l'environnement dans lequel il se retrouvent. De plus, les contaminants organiques se rencontrent habituellement dans des mixtures hétérogènes, ce qui complique davantage la prédiction de leur destinée.

Les principaux paramètres des polluants à considérer incluent leurs caractéristiques physico-chimiques et leur réactivité chimique et biologique.

Les principaux procédés de dispersion des contaminants dans l'environnement sont :

- **Le transport** : lixiviation, écoulement capillaire, par eaux souterraines, par ruissellement, volatilisation, ré suspension avec les particules (et redéposition ailleurs ou inhalation).

- **L'immobilisation** : par les plantes et animaux (bio accumulation), par adsorption et adhérence aux particules de sol (organique [humus] ou inorganique [argile montmorillonite et vermiculite ; ou oxyde hydraté]), et
- **La dégradation** : chimique (oxydation, réduction, hydrolyse), photochimique, biologique, détoxification par les plantes.

Un contaminant sera réparti entre ces différentes phases :

- phase libre
- phase dissoute
- phase vapeur, et
- phase sorbée.

La phase vapeur ne représentera qu'une proportion négligeable du contaminant dans la zone saturée.

III-LES VOIES METABOLIQUES DE DEGRADATION : [35]

Les bactéries semblent constituer les populations microbiennes prédominantes dans la dégradation des HC.

1- Voies bactériennes : [35]

On considère généralement que chez les bactéries l'attaque initiale des HAP se fait par l'intermédiaire d'une dioxygénase, qui conduit à la formation de cis-dihydrodiols, la formation de trans dihydrodiols.

Le mécanisme de dioxygénase est détaillé ci-dessous dans le cas bien étudié du naphthalène. La généralité d'un tel mécanisme n'a cependant pas été démontrée.

2- Voies fongiques : [35]

Parmi les voies d'attaque des HAP chez les champignons, il faut distinguer celles existant chez les champignons lignolytiques de celles existant chez les champignons non lignolytiques.

2-1-Cas des champignons non lignolytiques : [36]

Chez les champignons non lignolytiques, l'attaque initiale des HAP est catalysée par une monooxygénase. Par cette enzyme, un atome d'une molécule d'oxygène est incorporé dans un cycle aromatique du HAP impliqué qui forme alors un aéroxyde. L'autre atome de la molécule d'oxygène est réduit en eau. L'attaque initiale des HAP pouvant se faire en

différentes positions, à partir d'un même HAP, de très nombreux isomères peuvent être formés.

Le champignon *Cunninghamella elegans* a été particulièrement bien étudié. Il est capable de métaboliser un certain nombre de HAP allant du naphthalène au benzo(a) pyrène.

2-2-Cas des champignons lignolytiques : [36]

Lorsqu'ils sont dans des conditions limitant en azote, en carbone ou en soufre, les champignons lignolytiques produisent des enzymes extra-cellulaires, les lignines peroxydases et les ligninases.

Ces enzymes permettent l'oxydation de certains composés aromatiques. Un certain nombre de champignons de la pourriture blanche possèdent des activités lignolytiques (*Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor*, *Phlebia brevispora*, *Bjerkandera adusta*) mais c'est *Phanerochaete chrysosporium* qui a été le mieux étudié. Un certain nombre de HAP peuvent être oxydés : l'anthracène, le pyrène, le pérylène, le benz(a) anthracène et le benz(a) pyrène, ce qui confirme la faible spécificité des enzymes impliqués.

Les HAP sont alors transformés en une large variété de métabolites dont notamment les quinones.

D'autres enzymes doivent également coexister chez *Phanerochaete chrysosporium* puisque ce micro-organisme oxyde également le phénanthrène.

Toutes ces voies sont différentes de celles suivies par les champignons non lignolytiques puisqu'elles peuvent conduire à une ouverture des cycles aromatiques.

3 - Voies de dégradation chez les algues et les cyanobactéries : [36]

Les voies de dégradation des HAP chez les algues et les cyanobactéries ne sont étudiées que depuis peu et elles restent encore très mal élucidées...

La cyanobactérie *Oxillatoria* poussée sur naphthalène oxyde de manière prédominante en 1-naphtol après réarrangement non enzymatique d'un arène oxyde.

Poussée de manière photo-autotrophe sur phénanthrène, elle l'oxyde principalement en trans dihydrodiol.

Ces résultats suggèrent une voie de dégradation plus proche de celle des champignons que celle des autres procaryotes.

Cependant, certaines cyanobactéries poussées sur naphthalène, l'oxydent en 1-naphtol mais également en cis-naphthalène dihydrodiol. Un second type d'attaque a également été observée

chez l'algue verte *Selenastrum apricornutum* qui, pousse de manière photo-autotrophe..

4 -Comparaison entre les différentes voies métaboliques : [36]

Comme nous venons de le décrire, l'attaque initiale des HAP diffère selon les micro-organismes. Les bactéries sont capables d'attaquer l'ensemble des HAP étudiés et la dégradation conduit à la minéralisation pour les HAP contenant jusqu'à quatre cycles.

Le cométabolisme et certaines impasses métaboliques dans les voies de dégradation utilisées pour la croissance laissent la possibilité d'accumuler les métabolites.

Chez les champignons, l'attaque par cométabolisme est la règle. Dans le cas des champignons non lignolytiques, l'attaque des HAP conduit à une accumulation de métabolites avec detoxification. L'intérêt de tels champignons est donc fiable contrairement à celui des champignons lignolytiques.

En effet, bien que l'utilisation des HAP par le champignon lignolytiques se fasse par cométabolisme, leur mécanisme d'attaque par des enzymes extra-cellulaires, les ligninases, est à souligner. Ce mécanisme confère au système enzymatique une accessibilité aux substrats bien supérieure à celle des enzymes intracellulaires. Ce point peut donner aux champignons lignolytiques un intérêt dans la dégradation des HC.

En conclusion, les voies bactériennes seront prioritaires pour la dégradation des HC.

IV - Exemples du processus de dégradation des hydrocarbures

a) - dégradation des hydrocarbures aliphatiques linéaires et cycliques : [4], [5]

La voie métabolique de dégradation aérobie des alcanes procède par la formation d'un acide gras, lequel est ensuite dégradé par oxydation bêta. Il s'agit essentiellement d'insérer des molécules d'oxygène afin de couper la chaîne pour obtenir des molécules d'acétyl CoA (qui entrent ensuite dans le cycle de KREBS). Les alcanes linéaires saturés sont généralement considérés résistants à la biodégradation en condition anaérobies.

b)-dégradation des aliphatiques halogènes : [4], [5]

Le PCE peut être deshalogéné de façon réductive sous conditions anaérobies, jusqu'au chlorure de vinyle(CV), et même jusqu'à l'éthane par des bactéries acetogènes. Les solvants servent alors d'accepteurs d'électrons. La cinétique de réaction croît selon le nombre d'atomes de chlore sur la molécule. Dans des aquifères anaérobies contaminés par du PCE ou du TCE, il est fréquent de mesurer du CV dans la phase aqueuse. Ce composé est très mobile (soluble et volatil) et très toxique. Afin d'éviter l'accumulation de CV, il existe des bactéries

s'arrêtant au DCE ; elles pourraient être utiles dans un traitement séquentiel anaérobie-aérobie.

Sous les conditions aérobies, aucun micro-organisme n'a encore été découvert qui pouvait dégrader le PCE jusqu'au TCE. Le TCE et DCE peuvent cependant être dechlorés par co-métabolisme (discuté plus loin) par des bactéries possédant des oxygénases non spécifiques.

Par exemple, les méthylotrophe (qui consomment du méthanol ou du CH₄) produisent une enzyme extracellulaire « méthane » monooxygénase. On connaît aussi des propane monooxygénases, des toluène dioxygénases, etc., qui affectent la deshalogénéation « fortuite » du TCE. Le chlorure de vinyle est ensuite dégradé en présence d'oxygène par métabolisme régulier par des bactéries hétérotrophes (surtout des *Mycobacterium* sp).

c)-dégradation des composés aromatiques monocycliques : [4], [5]

La plupart des aromatiques passent par le catéchol avant d'être complètement dégradées par les voies ortho ou meta, mais plus rarement le protocatechuate constitue l'intermédiaire commun.

Un tel catabolisme permet de garder en abondance les enzymes centraux alors que les enzymes servant à la dégradation de produits plus exotiques ne sont produits que sur demande. Bien sur, les enzymes ne pourront être synthétisés que si les micro-organismes possèdent l'information génétique nécessaire à leur production soit sur son chromosome, soit sur des plasmides.

d)-dégradation des composés aromatiques monocycliques halogènes : [4], [5]

La biodégradation des mona-aromatiques chlorés s'effectue, en générale, par la formation d'un chlorocatéchol, et la dechloration fortuite lors de réactions d'oxydation, de deshalogénéation réductive ou hydrolytique. Plusieurs bactéries pouvant effectuer la deshalogénéation du pentachlorophénol (PCP) en condition aérobie ont été isolées. Ces bactéries croissent sur le PCP comme seul substrat et il y a une accumulation d'ions chlorures.

Les composés aromatiques chlorés sont parfois dégradés en chlorophénols avant d'être oxydés en chlorocatéchols.

e)-dégradation des composés poly aromatiques : [4], [5]

La biodégradation des hydrocarbures polycycliques (HAP) a été énormément étudiée et la biodégradation du plus simple, le naphthalène a été élucidé. Le catéchol est encore l'intermédiaire de dégradation commun, mais comme vu auparavant le protocatechuate est

parfois formé. Aucune bactérie capable de dégrader un HAP en conditions sulfato-réduction a récemment été découverte dans des sédiments sous-marins.

Le catéchol constitue un composé central de la dégradation des BTEX et HAP. La bactérie *Sphingomonas* est un bon exemple de versatilité métabolique et de convergence des voies métaboliques. Les biphenyles polychlorés (PCB) sont parmi les molécules organiques les plus difficiles à dégrader (récalcitrantes). Plus le nombre de chlore est élevé, moins il est possible d'isoler des micro-organismes capables de dégrader la molécule. Il est généralement considéré qu'une bactérie ne peut pas croître avec un PCB comme seul substrat si les deux cycles aromatiques contiennent des chlores (seul le cycle aromatique non chloré sera dégradé). On observe donc plutôt un cométabolisme effectué par un consortium doit alors aussi le biphenyle comme substrat. Le consortium doit alors aussi contenir des bactéries utilisant les chlorobenzoates et les acides chloroaliphatiques.

PARTIE EXPERIMENTALE

INTRODUCTION :

La partie expérimentale consiste en :

UNE ETUDE DE FAISABILITE

Afin de choisir la méthode de réhabilitation la mieux adaptée au site, il est nécessaire d'effectuer une étude de faisabilité pour le choix de traitement biologique.

En effet plusieurs questions s'imposent pour la vérification de la faisabilité de ce type de traitement :

- Quel type de contaminant est à l'origine de la pollution ?
- Quel est le degré de contamination ?
- Quelle est la capacité maximale de rétention d'eau du sol ?
- Quel est le nombre des CFU (Colony Forming Units) par gramme du sol ?
- Quel est le nombre de micro-organismes dégradeurs du HAP ?
- Quelle est la part du limon du sol ?

Pour répondre à ces questions, on a opté pour le procédé de biopile. De même, il a été effectué une caractérisation physico-chimique, microbiologique et granulométrique afin d'estimer le pouvoir auto-épurateur du sol.

L'EXPERIMENTATION

Elle repose sur la préparation des essais suivants :

Essai témoin : B1

Une cuve contenant 1Kg de sol contaminé par les gas-oil, avec une flore autochtone, sans aucun apport extérieur : auto-biodégradation.

Essai en biopile : B2

Une cuve contenant 1Kg de sol contaminé par le gas-oil, avec une flore autochtone, avec :

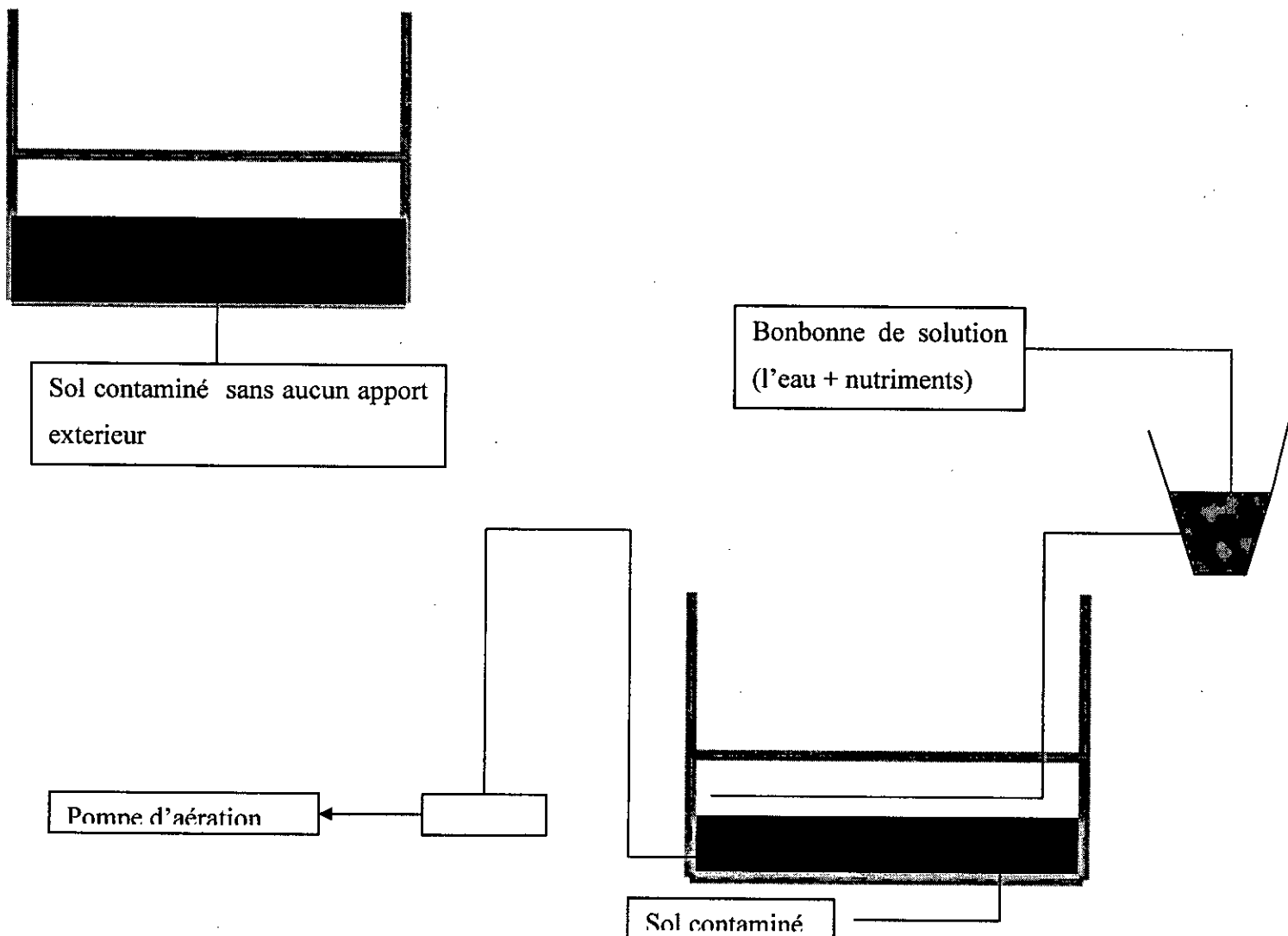
- Un système d'aération toute au long de la surface de la cuve. Cette aération est asservie par une pompe d'aquarium en continu.
- Apport d'humidité et de nutriments par le biais d'un système d'arrosage qui est de goutte à goutte par gravité.

Dans cet essai nous avons procédé au calcul de la quantité de produits ($(\text{NH}_4)\text{NO}_3$, K_2HPO_4) ajoutés au sol. Les quantités de chaque entité sera évaluée sur la base du rapport C/N/P fixé à 100/10/1.

Pour respecter ce rapport, après les calculs, nous avons rajouté :

- 1.39g de NH_4NO_3^-
- 0.021g de K_2HPO_4

Le dispositif est aménagé de façon à permettre la mesure en continu d'un ensemble de paramètres déterminants pour le bon fonctionnement du système, tels le pH, l'oxygène dissous, la teneur en gas-oil, phosphore... les échantillons sont prélevés à l'intervalles réguliers (chaque fin de semaine jusqu'à la huitième semaine) et analysés pour les nutriments, les produits polluants à dégrader.



CHAPITRE V

Matériels et Méthodes

Matériels et méthodes:**1-le sol:****1-1-l'échantillonnage** (suivant la norme:NFTX3110)

La démarche proposée par cette méthode permet d'obtenir un échantillon moyen pour la zone.

Donc on a multiplié les points de prélèvement même si la zone semble être homogène.

Le prélèvement de l'échantillons du sol à étudié est ramené d'une zone ou se trouve des dépôts du sol contaminé par du gasoil de différentes entreprises (cosider qui se trouve à ouedsmar), c'est des remblais des sols contaminés par le gas-oil.

Cet échantillon est par la suite acheminé au laboratoire ou il est stocké à température ambiante en vue d'être étudié.

1-2- Préparation de l'échantillon : (suivant la norme NFX3110)

Une fois les échantillons mélangés, séchés à l'air libre, tamisés(maille de 2mm) avant l'essai, pour éliminer les débris rocailleux, les analyses sont effectuées sur cette fraction fine, car les hydrocarbures ont tendance à se concentrés sur cette fraction.

1-3- analyse granulométriques :

La composition granulométrique du sol varie latéralement et verticalement. Lorsque l'on s'intéresse au premier décimètre du sol, on prendra soin d'adapter la méthode d'échantillonnage à l'objectif poursuivi.

L'analyse granulometrique a été effectuée sur un échantillon du sol à l'aide d'un granulomètre à laser de type Mastersizetz. Elle représente une gamme de distribution qui s'étend de 5.69 à 1885.64um avec 2.72% de fines particules (silts), et 97.28% de sable.

1-4- Détermination des paramètres physico-chimiques :

Un suivi de la biodégradation des hydrocarbures par les micro-organismes nécessite plusieurs analyses, et un suivi de leur évolution au cours de la période d'incubation.

Le potentiel d'hydrogène (pH) par la méthode adaptée à la norme:NFT90008)

C'est une méthode de détermination du pH par électrométrie, Le principe est basé sur la différence de potentiel entre une électrode de référence (calomel KCL saturé) plongeant à l'aide d'un dispositif potentiométrique, et cette différence est en fonction linéaire du pH de solution. (annexe 1)

L'humidité: (par la méthode adaptée a la norme NFT9002)

La mesure de l'humidité est basée sur la différence de poids avant et après l'étuvation à 105°C rapportée à la prise d'essai.

La mesure d'oxygène dissous :

La mesure de l'oxygène dissous est effectuée grâce à un oxymètre et sous agitation magnétique. (annexe 1)

La matière organique totale (COT) (méthode adaptée à la norme: NFX31071)

La méthode la plus courante de dosage de la matière organique totale est fondée sur le dosage de l'élément constitutif majeur de la matière organique: le carbone, sa proportion pouvant être considéré comme insuffisamment stable, en général, on estime que la teneur en matière organique d'un sol est 2 fois sa teneur en carbone.

La détermination du pourcentage de la matière organique est basée sur la différence du poids, avant et après un passage dans un four à température très élevée, rapportée à la prise d'essai.

La différence du poids s'explique par la transformation complète de la matière organique en CO₂. (annexe1)

La conductivité (méthode de HACH)

La conductivité électrique mesure le pouvoir conducteur d'une eau.

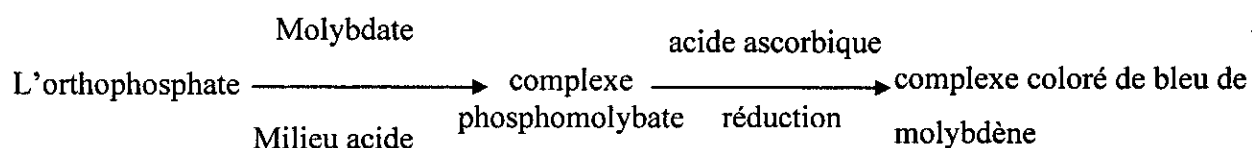
La détermination de la conductivité s'effectue par la mesure de la résistance d'une colonne d'eau délimitée par deux électrodes. La différence de potentiel est appliquée entre les électrodes immergées dans la solution. La résistance est inversement proportionnelle à la conductivité. (Annexe1)

Dosage du phosphore: (méthode d'OLCEN)

Le phosphore est extrait du sol avec une solution de NaHCO₃ a 0.5N après 1h d'agitation. (annexe 1)

Le dosage s'effectue chaque semaine par la méthode de HACHE grâce à un spectromètre d'une longueur d'onde 890nm.

La réaction est la suivante :



L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en phosphate. (annexe 1)

Dosage des éléments du cortège azotés :

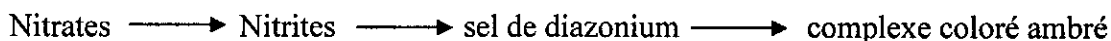
L'azote ammoniacal, les nitrates et les nitrites sont extraits du sol par dissolution dans l'eau distillée, après une heure d'agitation. (annexe 1)

Dosage de l'azote ammoniacal (méthode adoptée à la norme NFT90045)

Cette méthode consiste à la distillation, et donc entraînement à la vapeur en milieu alcalin de l'ammoniaque libre ou salifié, puis un dosage acidimétrique du distillat. (annexe 1)

Dosage des nitrates (méthode de HACH)

Le dosage des nitrates nécessite la mise en œuvre préliminaire d'une réaction colorée spécifique de l'élément recherché :

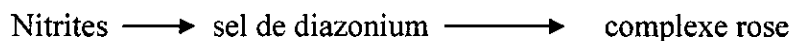


Ce dosage est effectué grâce à un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 400nm pour les faibles concentrations, et 500nm pour les fortes concentrations. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en nitrates. (annexe 1)

Dosage des nitrites (méthode de HACH)

Le dosage s'effectue grâce à un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 507nm pour les faibles concentrations, et 585nm pour les fortes concentrations, ce dosage nécessite une mise en œuvre préliminaire d'une réaction colorée spécifique de l'élément recherché, et la réaction de ce cas dépend de la teneur en nitrites. (annexe 1)

Pour la faible concentration on a les réactions suivantes :



Pour la forte concentration, on a les réactions suivantes :



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

Dosage des hydrocarbures par gravimétrie

Cette méthode consiste à pratiquer une extraction par un solvant organique, puis une pesée du résidu après évaporation du solvant. Dans notre dosage on a employé le tétrachlorure de carbone.

Les pourcentages de récupération étant différents, selon le solvant utilisé. (annexe 1)

Diagnostic bactériologique

La flore

dénombrement des souches :

La gélose nutritif est le milieu de culture. Après une incubation de 24 à 48 heure à 30°C , les boîtes de pétries sont examinées, le dénombrement des colonies se fait à l'aide d'un compteur de particules.

Techniques de dénombrement :

Pour dénombrer les micro-organismes existant dans le sol en présente cette méthode :

Méthode de dilution

On prépare neuf tubes à essai contenant chacun 9ml d'eau physiologique stérile.

On met 1g du sol dans 10ml d'eau stérile (= solution mère). Pour permettre une bonne diffusion de l'échantillon, la solution est agitée à une vitesse maximale pendant 2 minutes.

A partir de cette suspension au 1/10 on prépare une série de 9 dilutions (10^{-1} 10^{-9}).

Dans le premier tube on verse la suspension 10^{-1} en agitant et en faisant soin d'entraîner la terre.

Avec une pipette (stérile) on prélève 1ml de la solution du 1^{er} tube en homogénéisant bien la suspension, et transposer dans le 2^{em} tube.

En prenant les mêmes précautions d'homogénéisation des suspensions dans chaque transfert.

Méthode d'ensemencement sur boîtes de pétri

L'ensemencement se fait sur un milieu de culture à partir d'un inoculum à l'aide d'une pipette pasteur. Il existe deux types d'ensemencement :

Ensemencement en surface

Le milieu solide (gélose nutritive) est mis au bain-marie pour pouvoir mieux le couler dans des boîtes de petrie.

Avec la même pipette, on prélève 0.1 ml de chacune des dilutions, puis on étale avec un râteau sur toute la surface de boîte de pétrie, en renverse les boîtes pour éviter l'asphyxie des bactéries et on incube à 30°C pendant 24 heures.

Insemencement en profondeur

Contrairement à l'insemencement en surface, l'insemencement en profondeur consiste à insemencer en premier 1ml de chaque dilution ensuite couler le milieu de culture toute en tournant avec des mouvement circulaire afin d'homogénéiser le milieu de culture et le prélèvements, et cela avant que le milieu de culture se solidifie. Dans notre travail nous avons opté pour cette dernière technique afin de permettre le développement des anaérobies.

CHAPITRE VI

Resultats et Discussions

I. CARACTERISATION DU SOL

I.1 Granulométrie

Les résultats obtenus lors de l'analyse granulométrique du sol sont présentés ci-dessous:

Tableau 8: Analyse granulométrique du sol

| DIAMETRE DES PARTICULES EN μm | RESULTATS D'ANALYSE GRANULOMETRIQUE EN % | | CLASSE | |
|---|---|-------|-----------------|----------------|
| | | | | |
| 4000 | 0.89 | 0.89 | Très fin | <i>gravier</i> |
| 2000 | 89.11 | 5.45 | Très grossier | <i>sable</i> |
| 1000 | | 18.56 | Grossier | |
| 500 | | 13.4 | Moyen | |
| 250 | | 28.7 | Fin | |
| 125 | | 23 | Très fin | |
| 62 | | 10.89 | 5.7 | |
| 31 | 3.22 | | Grossier | |
| 16 | 1.4 | | Moyen | |
| 8 | 0.57 | | Fin | |
| 4 | - | | <i>Très fin</i> | |
| 2 | | | | |

Il apparaît d'après les résultats obtenus que le sol présente une texture sableuse avec 10.89% de silt (fines particules) et 89.11% du sable. Ce dernier est suffisamment perméable permettant le transfert de matières nutritives et une bonne oxygénation.

I.2 Caractérisation physico-chimique et microbiologique

Le tableau suivant présente les résultats d'analyses physico-chimiques et microbiologiques de notre échantillon du sol à traiter.

Tableau N°9 : Récapitulatif des résultats d'analyses physicochimiques et microbiologiques du sol à étudier.

| PARAMETRES | VALEURS |
|--|--------------------------------------|
| Nombres de germes | 34 *10 ⁷ germes/Kg de sol |
| Hydrocarbures | 35.6 g/Kg du sol |
| Azote ammoniacal (NH ₄ ⁺) | 16 *10 ⁻³ g/Kg du sol |
| Nitrate (NO ₃ ⁻) | 7.2 *10 ⁻³ g/Kg du sol |
| Nitrite (NO ₂ ⁻) | 0.1 g/Kg du sol |
| Oxygène dissous | 3.78 g/Kg du sol |
| pH | 8.95 |
| Humidité (%) | 10,7 |
| Matière sèche | 89,3 |
| Capacité maximale de rétention d'eau | 45ml d'eau/100g de matière sèche |
| Conductivité | 3.14 ms/cm |
| Matière organique | 4,86 % |
| COT | 2,43 % |
| Phosphore | 1.9 *10 ⁻³ g/Kg du sol |

Les résultats physico-chimiques indiquent un déficit en éléments azote et phosphore. Ce qui nécessitera un enrichissement du sol avec ces éléments pour tout traitement biologique.

Le taux d'humidité du sol est satisfaisant sachant que pour une bonne dégradation biologique celui-ci doit être compris entre 5 et 13 %.

Les résultats de l'analyse microbiologique permettent d'affirmer que ce sol présente une flore autochtone qui est de 34 *10⁷ germes/Kg de sol. La norme pour toute biodégradation du sol exige au moins 107 germes/g de sol. Cela nous permet d'affirmer que ce sol pourra être traité par procédé biologique en utilisant les micro-organismes déjà existants.

II. TRAITEMENT

Un suivi de l'évolution de la teneur en hydrocarbures totaux, ainsi que les autres paramètres physico-chimiques a été réalisé. Cela nous a permis d'évaluer :

- La capacité de biodégradation des micro-organismes autochtones.
- La vitesse de biodégradation en traitant ce sol par le procédé biopile.

II.1 évolution du pH en fonction du temps

Le pH du sol est déterminant, quant à l'activité des micro-organismes et à leur sélection. Le pH préjudiciable aux micro-organismes lors d'une dégradation des substrats hydrocarbonés est de l'ordre 9 à 9,5 [38,39].

Au cours de l'essai, le pH du sol était de 8.95; restant dans les limites fixées pour une bonne biodégradation (pH alcalin) des hydrocarbures. Ce pH chute progressivement pour se stabiliser à une valeur moyenne de l'ordre 7,2 (voir annexe2, tableau).

Cette baisse de pH qui tend vers la neutralité permet de confirmer la présence d'une activité microbienne dans les 2 bacs.

Cela est dû aux différentes réactions biochimiques qui entraînent la synthèse des métabolites intermédiaires (composés acides). Ces composés sont les principaux produits de dégradation des HC avant la minéralisation complète par les microorganismes.



La Figure 1, présentant l'évolution du pH en fonction du temps, montre une décroissance du pH au cours de l'expérience indiquant une activité microbienne dans le sol donc une assimilation des composés organiques (hydrocarbures). La décroissance du pH est plus rapide dans le bac 2 où le sol est enrichi en éléments nutritifs et permet d'obtenir une meilleure croissance des germes.

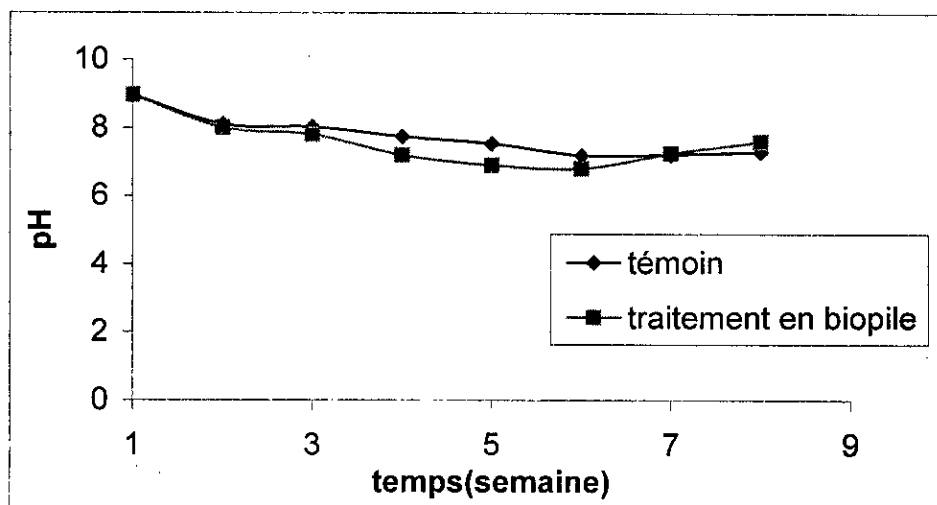


Figure N°1 : Evolution du pH en fonction du temps

II 2. Evolution de la concentration en oxygène dissous en fonction du temps

Il est bien connu qu'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.[42]

L'évolution de la concentration en oxygène dissous représente une indication approximative des besoins en O_2 nécessaire aux micro-organismes présents pour l'oxydation de la matière organique polluante du sol. [40],[42].

Les courbes présentant l'évolution de la concentration en oxygène dissous en fonction du temps (Figure 2) indiquent que la concentration en oxygène dissous durant la période d'incubation présente la même allure dans les deux bacs. La consommation de O_2 par les bactéries est plus importante dans le bac 2 car l'activité bactérienne y est plus intense.

Ces courbes présentent deux phases distinctes; une phase avec une pente importante relative à une grande assimilation de l'oxygène dissous attribuée à une intense activité bactérienne et qui correspond à la phase exponentielle de la croissance microbienne. Cet oxygène est consommé par les bactéries du milieu pour leur développement et leur activité métabolique (oxydation de divers substances minérales ou organiques). Suivi d'une phase où la concentration en oxygène augmente et cela est probablement due à la phase de déclin de la croissance et par conséquent une diminution des besoins en O_2 . (voir annexe 2, tableau)

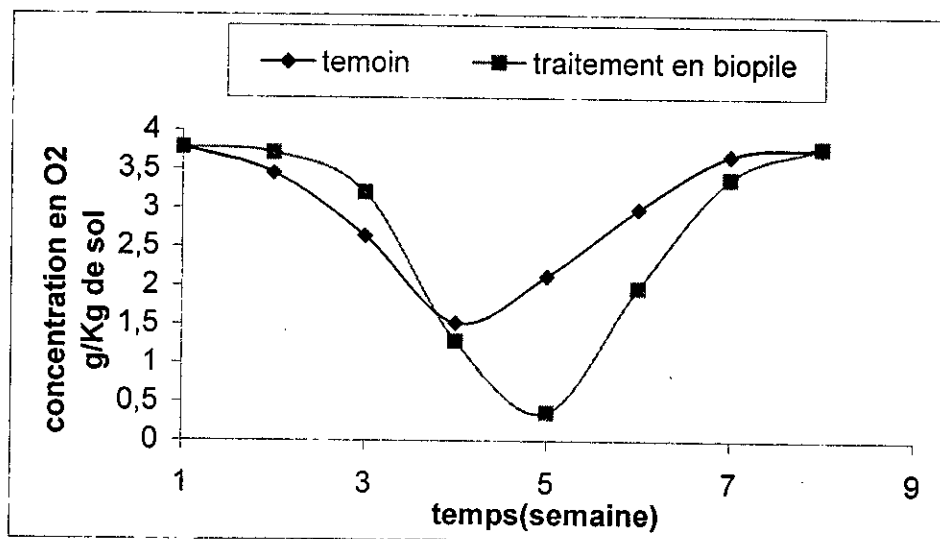


Figure N°2 : Evolution de la concentration en oxygène dissous en fonction du temps

II 3. Evolution de la concentration en phosphore en fonction du temps

Le phosphore joue un rôle important dans le métabolisme (microbien) cellulaire. Il est présent dans les acides nucléiques, phosphorite, nucléotides comme l'ATP, quelques co-facteurs, certaines protéines et dans d'autres composants inorganiques comme source de phosphore pour la synthèse d'ATP. Une faible disponibilité du phosphore limite la croissance bactérienne [43],[44].

La Figure 3 présente la cinétique de la concentration en phosphore. Les résultats obtenus montrent que dans les deux bacs il y a une importante assimilation du phosphore au cours des premières semaines d'incubation. Cela représente probablement la phase exponentielle de croissance bactérienne. Contrairement à ce qui a été rapporté par certains travaux concernant la stabilité du phosphore au cours de la dégradation des hydrocarbures, les résultats obtenus montre une évolution non négligeable de cet élément en fonction du temps (voir annexe 2, tableaux).

La valeur de la concentration en phosphore dans le bac témoin avant d'entamer l'essai était de $1.9 \cdot 10^{-4}$ g/Kg de sol, mais plus élevée au niveau du bac traité ou on avait rajouté les nutriments en respectant le rapport C/N/P qui est de 100/10/1.

Une nette diminution de cette valeur est constatée durant les 3 premières semaines dans les deux bacs, ce qui confirme l'importance de ce composé dans le métabolisme cellulaire dès les premières semaines.

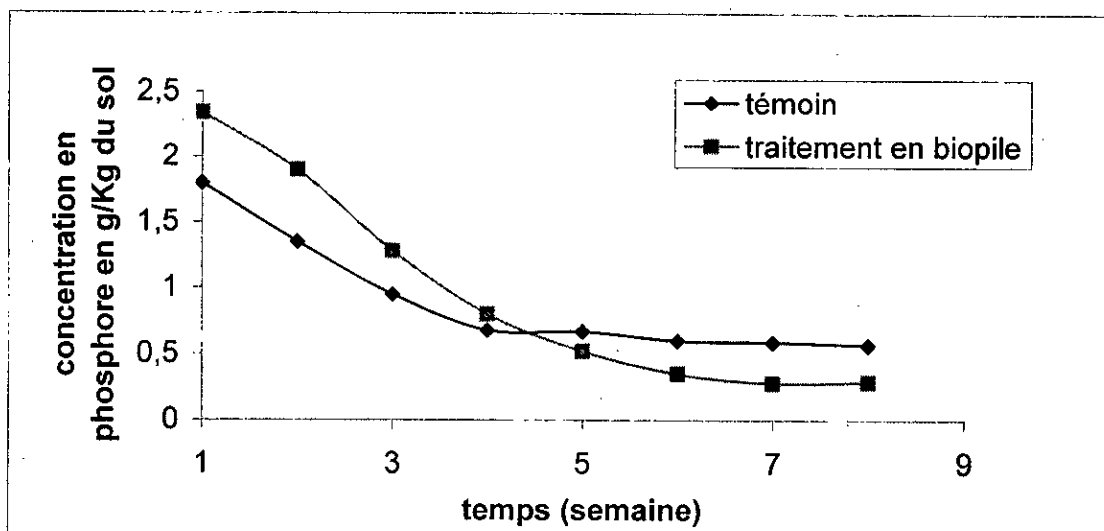


Figure N°3 : Evolution de la concentration du phosphore en fonction du temps

II 4. Evolution de la concentration en azote

La présence de la matière organique telle que les hydrocarbures et son assimilation à pour conséquence un accroissement de la biomasse et corrélativement une variation de plusieurs paramètres [38].

Parmi ces paramètres on a l'azote qui est l'un des constituants majeurs de la matière vivante, il représente 10 à 15% du poids sec des cellules, c'est un élément indispensable à la constitution des molécules de protéines (acides aminés), des purines, des pyrimidines, de certains glucides et lipide, de cofacteurs enzymatique et d'autres substances.

De nombreux microorganismes utilisent l'azote des acides aminés grâce à l'action de certains enzymes telles que le glutamate dèshydrogénase.

.Il est donc important de suivre la teneur en azote pendant la période d'incubation.

Dans notre test, la variation des 3 formes différentes d'azote à été suivie, et qui sont

-l'azote ammoniacal: NH_3^+

-l'azote nitrique: NO_3^-

-l'azote nitreux : NO_2^-

II 4.1. Evolution de l'azote ammoniacal en fonction du temps

L'évolution de la teneur en azote ammoniacal dans les bacs est représentée par la Figure 4.

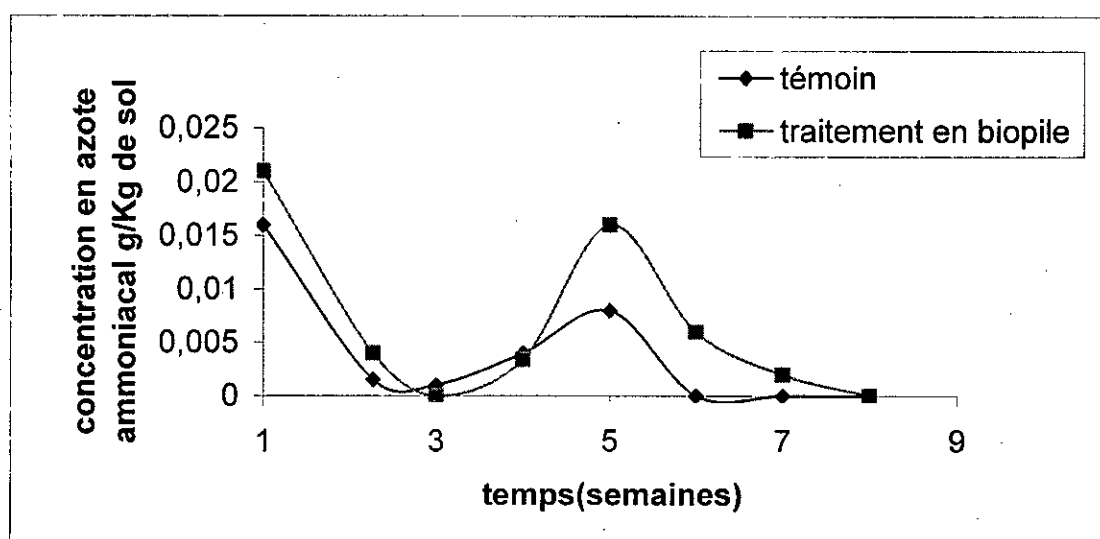


Figure 4 : Evolution de la concentration en azote ammoniacal en fonction du temps

Durant les deux premières semaines une importante régression de la teneur en azote ammoniacal a été constatée avec une vitesse d'assimilation qui diffère dans les deux bacs. (voir annexe 2) Cette régression peut être attribuée à la transformation d'une fraction de l'azote ammoniacal en nitrate par le phénomène de nitrification, par contre l'autre fraction est assimilée par les cellules bactériennes.

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

La diminution de la teneur en NH_4^+ durant la première phase est suivie au niveau des deux bacs par une augmentation de cette teneur, qui est due probablement à une dénitrification assimilatrice (ou phénomène de la réduction-assimilation) pendant la phase stationnaire et à la destruction des cellules bactériennes et de l'azote protéique durant la phase de déclin; Cette hypothèse a été déjà avancée dans la littérature (G.W.Sewell, D.A. Kovacs [47]).

L'augmentation de la teneur en NH_4^+ dans le bac traité est plus importante que celle observée dans le bac témoin. On peut attribuer cette différence à l'activité microbienne qui est plus intense dans le bac traité.

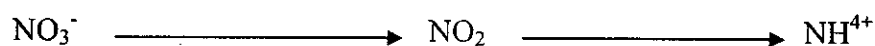
II 4-2. Evolution de la teneur en nitrate NO_3^- en fonction du temps

Le phénomène de nitrification est enregistré durant les 1^{ère} semaines d'incubation dans les 2 bacs (Figure 5), ce qui a été constaté par Schloesing et Muntz[45].

D'après Winogradsky (1980), le phénomène de nitrification se déroule en deux étapes : la nitrosation, transformation d'ion ammonium NH_4^+ en nitrite NO_2^- due aux bactéries nitreuses (nitrosomonas, nitrosococcus) et la nitratisation, transformation de l'ion nitrite en nitrate NO_3^- due aux bactéries nitriques (nitrobacter, nitrocystis).

Comme il a été mentionné auparavant une nette consommation du NO_2^- est remarquée à partir de la 2^{ème} semaine. Ceci se traduit par une régression très importante de la teneur en nitrate NO_3^- , qui peut être attribuée à une ammonification assimilatrice, dite aussi dénitrification assimilatrice. (voir annexe2)

L'accumulation des nitrates, d'une part, atteint une concentration plus élevée que les besoins des bactéries et d'autre part le déficit en ions ammonium, ion indispensables aux bactéries (hypothèse déjà avancée par S.R. Hutchins, G.A. Smith [44]) se traduit par une réduction-assimilation qui consiste à réduire l'azote nitrique en ion ammonium :



La réduction des nitrates est plus importante dans le bac2, compte tenu de l'activité plus intense des micro-organismes.

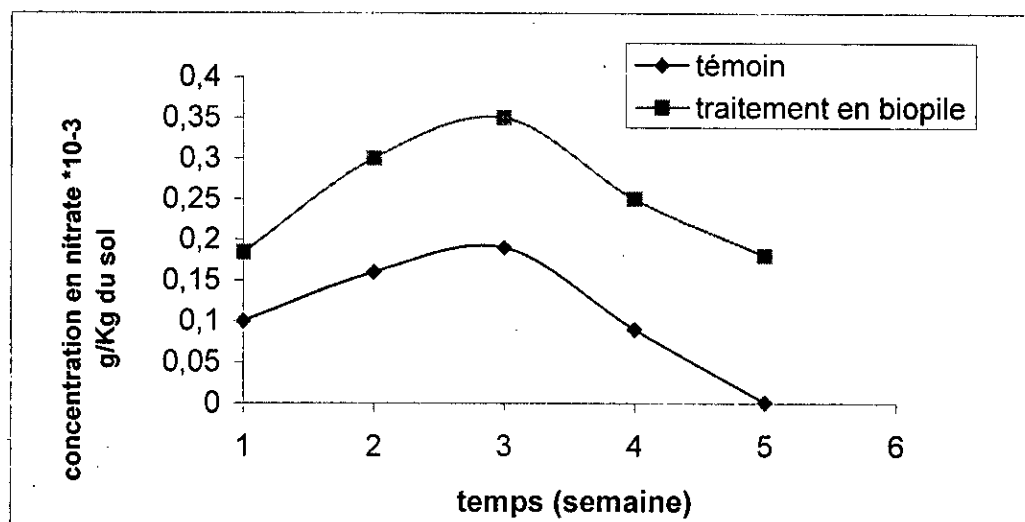


Figure N°5 : Evolution de la concentration des nitrates en fonction du temps

II 4.3. Evolution de la concentration en nitrite NO_2^- en fonction du temps

L'évolution de la concentration en nitrite NO_2^- en fonction du temps est représentée sur la Figure 6. 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 nitrification assimilatrice, et à une oxydation plus prolongée aboutissant ainsi à l'azote nitrique NO_3^- , dans le cas de la nitrification.[43],[45].

On constate que cette teneur est relativement stable durant la période d'incubation dans les deux bacs. Ceci est attribué à la transformation immédiate, des nitrites en nitrate dans le cas d'une nitrification, et en azote ammoniacal dans le cas d'une réduction-assimilation des NO_2^- en NH_4^+ .

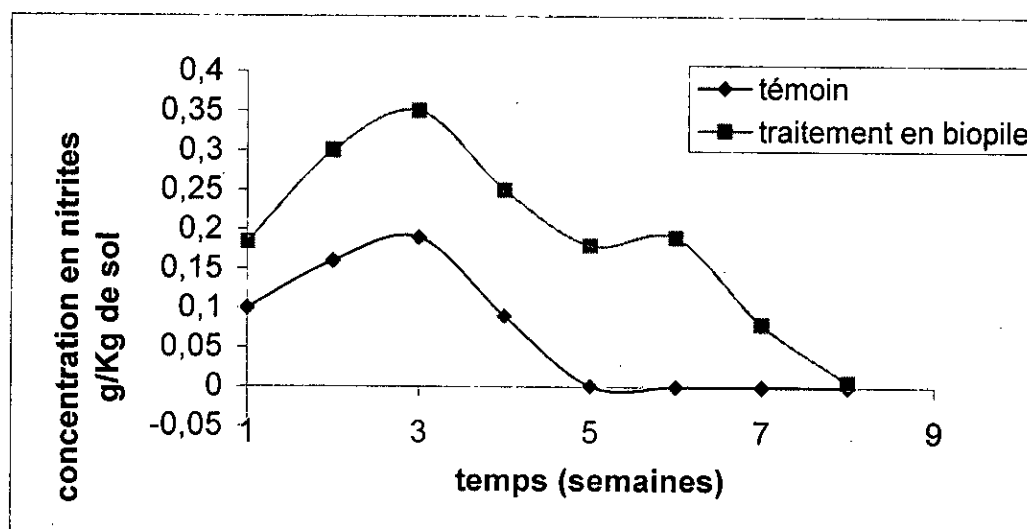


Figure N°6 : Evolution de la concentration des nitrites en fonction du temps

II 5. Evolution de la concentration des hydrocarbures en fonction du temps

L'évolution de la concentration des hydrocarbures en fonction du temps est représentée sur la Figure 7. Les résultats obtenus montrent une élimination rapide des hydrocarbures dès les premières semaines pour l'essai en biopile, contrairement à l'essai témoin. (voir annexe 2, tableaux)

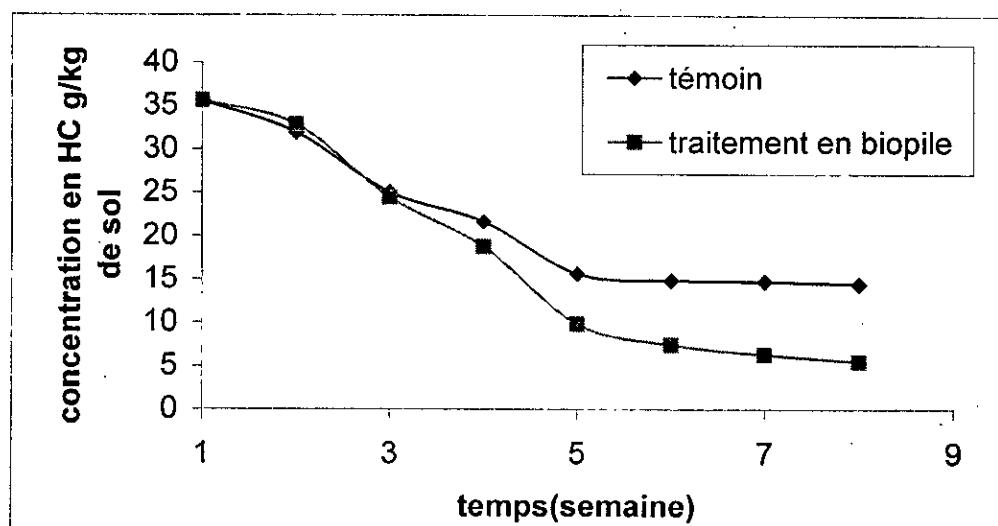


Figure 7 : Evolution de concentration des hydrocarbures en fonction du temps

Ceci est du à une activité microbienne importante de l'essai en biopile.[49]

Toute fois pour les deux essais, l'allure des courbes obtenus dans les deux cas est pratiquement identique. Une dégradation rapide de la pollution organique durant les trois premières semaines, correspondrait à la phase exponentielle de la croissance microbienne. Elle est suivie par une stabilisation de la teneur en hydrocarbures durant les quatre semaines suivantes, pour arriver à la fin de la septième semaine à des concentrations respectives de 14.4 et 5.4 g/kg de sol dans les bacs 1 et 2. (voir annexe2, tableaux)

II 6. Evolution du rendement d'élimination des hydrocarbures en fonction du temps :

L'évolution du rendement d'élimination des hydrocarbures en fonction du temps est représentée sur la Figure 8. La dégradation des hydrocarbures s'effectue pendant les premières semaines et tend vers un palier à partir de la 4^{ème} semaine. Elle est plus importante dans la biopile à cause de l'activité bactérienne plus intens. Des rendements maximaux d'élimination des HC de 59.46% pour le bac témoin et 84.26% pour le bac en biopile ont été atteints. (Voir annexe 2, tableau)

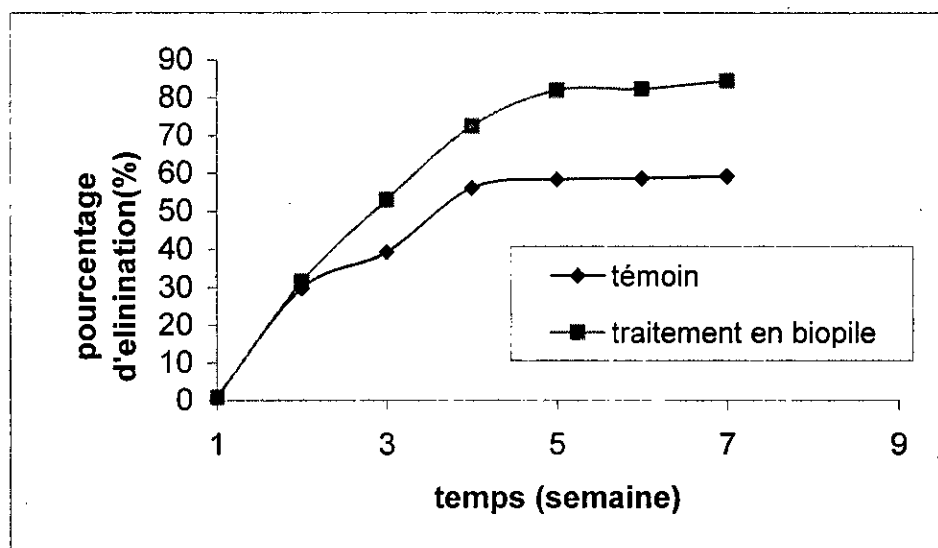


Figure 8 : Evolution du rendement d'élimination des hydrocarbures en fonction du temps

CONCLUSION

CONCLUSION GENERALE

La contamination des sols par les hydrocarbures et les répercussions néfastes qui en résultent nécessitent, pour y remédier une élimination de ces composés xénobiotiques.

Cette élimination passe impérativement par la microflore et son activité dans le sol.

Notre but donc consiste à réaliser une expérience de bioremediation des sols contaminés par les hydrocarbures afin de minimiser l'impact de ces derniers sur l'environnement en termes de pollution du sol et des nappes phréatiques.

Pour cela on a opté pour le procédé en biopile. Notre expérience a porté sur le traitement d'un sol contaminé par le gas-oil, cette étude se base

- **Sur une dégradation naturelle (auto- biodégradation) :**

Cette étude a permis d'évaluer la capacité de biodégradation des micro-organismes autochtone du sol. Ce sol a été réhydraté et aéré quotidiennement tout le long de l'étude pour assurer l'humidité et l'oxygène nécessaire pour le métabolisme bactérien.

Le suivi des analyses physico-chimique, et bactériologiques a révélé que les microorganismes autochtones sont capables de dégrader les hydrocarbures, le pourcentage de réduction des hydrocarbures atteint la valeur maximale de 59.26% au cours de huit semaines. Le pourcentage est peu satisfaisant sachant que le gas-oil est considéré comme une substance facilement biodégradable.

- **Une dégradation par le procédé d'une bio pile :**

Cette étude se base sur les critères suivants :

- Système en pente pour la récupération des eaux de lixiviation ;
- $10 < \text{rapport C/N} < 20$;
- $10\% < \text{humidité} < 20\%$;
- $15^{\circ}\text{C} < \text{température} < 40^{\circ}\text{C}$;
- $\text{pH} < 8.0$;
- Amendement du sol par des nutriments. Dans notre cas, on a utilisé le mélange de produits NH_4NO_3 et K_2HPO_4 en respectant le rapport C/N/P de 100/10/1.

Le suivi d'analyses physico-chimiques et microbiologiques ont révélé qu'il y a eu une augmentation de la dégradation du gas-oil par rapport au sol témoin. Le taux de dégradation est proportionnel au taux d'oxygénation. Le pourcentage de réduction d'hydrocarbures atteint la valeur maximale de 84.55% après huit semaines.

A la lumière des résultats obtenus, considérés acceptables pour un premier essai pour une étude préliminaire de bioremediation des sols pollués. L'objectif était d'évaluer en premier temps la capacité de biodégradation des microorganismes autochtones, en second lieu d'évaluer le potentiel d'augmentation de la vitesse de biodégradation des hydrocarbures et de faire ensuite une comparaison de ces résultats. Ces derniers ont révélé que les microorganismes autochtones sont capables de dégrader les hydrocarbures et que le procédé en biopile a permis d'induire une augmentation de l'activité microbienne, ce qui se produit par la décontamination plus importante des sols pollués par les hydrocarbures.

Pour l'optimisation de ce procédé en biopile nous recommandons des essais à l'échelle semi-pilotes pour confirmer les résultats à l'échelle laboratoire.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

- [1] : R. Scriban, « Biotechnologies », édition lavoisier tec et doc, 3^{ème} édition, 1993.
- [2] : J. Pelmont, Bactéries et environnement, presses universitaire de Grenoble, 1993.
- [3] : J.M. Deshibat, E. Perez et B.Soyez, « la dépollution des sols en place » ;
Techniques et exemples ; série environnement et génie urbain, EG10, édition laboratoire
central des ponts et chaussées, 1994.
- [4] : J. Lafleur, « Introduction à la géotechnique ». Edition de l'Ecole polytechnique,
Montréal, 1991.
- [5] : G.W Gee et J.W. Bauder. « particle-size analysis ». American Society of Agronomy,
Madison, 1986. WI, 383-412.
- [6] : NAKIB, cours de 5eme année ; Département de Génie de l'Environnement ; Ecole
Nationale Polytechnique. 2001.
- [7] : Gestion des propriétés du sol / [http:// www..qfa.ql. ca /agrenv/fr/ compaction.html](http://www.qfa.ql.ca/agrenv/fr/compaction.html).
- [8] : A. Bruand, « Constitution, structure et porosité des sols », Université d'Orléans-Ecole
supérieure de l'énergie et des matériaux, 1996.
- [9] : S. Cherid.« Biodégradation des hydrocarbures ». Techniques de bio-réhabilitation des sols
pollué », journées scientifiques et techniques3, Sonatrach,1998.
- [10] : Y. Dommergues., « La biologie des sols », presse Universitaire de France, 1988.
- [11] : N. Newman. et Coll “ Composition and propeties of petroleum” Haltis et press New-
york wileytd, chichister, 1977.
- [12] : P. Arnaud., « Cours de chimie organique », 15^{ème} édition, Dunod, 1980.
- [13] : <http://www.degradation> des hydrocarbures d'origine pétrolier par voie micro
biologique.
- [14] : Latrous, « Analyse des hydrocarbures dans l'eau du port d'Alger ». PFE, Génie de
l'Environnement, ENP. 1992
- [15] : G. Lefebvre, « Notion de chimie du pétrole », société des éditions technip, publication
de I.F.P, 1978.
- [16] : « Essais de biodégradabilité sur des sols contaminés par des hydrocarbures lourds ». Tranchemontagne, rapport de recherche présenté comme exigence partielle de la maîtrise en science de l'environnement, 1999.

- [17] : Biotechnology volume 11b Environmental processes II, édité par H.-J Rehm et G.Reed en coopération avec A.Pühler et P.Stadler, éditeur du volume : J.Klein, 2000, Wiley-vch [18] : Géochimie des milieux sédimentaires,, Harnois, Luc, Hiver 2001, Coop uqam
- [19] : GACI, « La bioremediation des sols et des bourbiers contaminés par les hydrocarbure », PFE, option chimie industrielle.USTHB. 1998.
- [20] : Anonyme : “How to evaluate alternative clean up technologies for underground storage tank sites” ; a guide for corrective action plan reviewers, EPA (united states environmental protection agency)] ; 1994.
- [21]: P. Mac. Conley et J. Glazer, « Slurry bioreaction for cantamination soils, sludgs and sediments”. Séminaire, 1996.
- [22] : G.Ait.Ali, « Mesure de réglementation pour la protection de l’environnement dans les activités d’exploration et d’exploitation des hydrocarbures », Ministère de l’énergie et des mines, 1998.
- [23] : G. Gatelier, « protection de l’environnement dans le milieu industriel » technique de l’ingenieur, 1992, A8652-7.
- [24] : Journal Officiel de RADP, « Réglementation des rejets d’effluents liquides industriels », décret exécutif N°93-160, 1993.
- [25] : <http://www.mines.pollution.sol.free/eipr/solution 2.htm/>
- [26] : J.M. Costes et B. Druelle, « les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans l’environnement » ; la reabilitation des anciennes sites industruel. Institut français du pétrole vol 52, N°4, 1997.
- [27] : <http://www.enviroacces.ca/fiches/>
- [28] : Paul Lecomte, « Les sites pollués », traitement des sols et des eaux souterraines, Lavoisier tec doc , 2^{eme} édition. 1998.
- [29] : C.M. Chaineau “Land traitement of oil based drill cutting in agricultural soil”, J.Envi. quali; vol25 p:858-867, 1996.
- [30] : Alexander, “biodegradation and bioremediation”. Academic press, San Diego, CA, 1994.
- [31]: R.M. Atlas. et R.Bartha. « Microbial ecology” -Fundamental and application.3eme edition. Benjamin Cummings, Redwood City, CA, 1993.
- [32]: M. Wood, “enviromental soil biology” –end edition blackies A and P, paris, 150p, 1995.
- [33] : YVES COMEEAU, CIV6216 « biorestauration des sols contaminés », Ecole Polytechnique de Montréal, Etudes supérieures en génie de l’environnement. 1999

- [34] : A. Touzi, « Bionettoyage et lutte biologique contre la pollution engendrée par les hydrocarbures », JST31/1430, Sonatrach. 1986,
- [35] : Y. Dommergues. « La biologie des sols ». Presses universitaires de France, 1997
- [36] : RB. Groubbs. "Enhanced biodegradation of aliphatic and aromatic hydrocarbons through bioaugmentation" presented at the 4th annual hazardous materials. Management conference exhibit, atlantic city. June 2-4 16, 1986.
- [37] : F. Benabdelmoumene, 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'étude, USTHB. Alger, 1991.
- [38] : F. Benabdelmoumen. et C. Paolacci, « Performances des techniques industrielles de biodégradation des hydrocarbures pétroliers et des PCB dans les sols », 1997.
- [39] : M. Biri, « Etude de la biodégradabilité des rejets de forage des puits de pétroles, cas de HASSI-MESSAOUD », PFE, USTHB; 1996.
- [40] : U.S.E.P.A. "Microbial decomposition of chlorinated aromatic compounds". Hazardous Waste Engineering research laboratory, office of research and development, U.S.EPA, Cincinnati, OH.EPA/600/2-86/090, 1986.
- [41]: J.R. Boulding,. "Practical Handbook of soil, Vadose Zone, And Ground-Water contamination"— assessment, prevention, and remediation. Lewis publishers, Boca Raton, 1995.
- [42] : U.S.EPA. "Séminaires: bioremediation of contaminated surface soils", Environmental research laboratory, EPA/625/K-96/001, 1996.
- [43] : N. Bissad. « La contribution à la bioremediation des sols contaminés par les hydrocarbures dans un bioreacteur ». PFE, Ecole National Polytechnique, 1999.
- [44] : A. Benkara-Mostefa,
"protection de l'environnement dans le domaine du forage, une tâche d'envergure et des objectifs volontaires". Journées scientifiques et techniques 3, sonatrach, 1998.
- [45] : P. Douzou et G. Siclet. « Les biotechnologies » que sait-on 2^{ème} édition 1990.
- [46]: Leclerc H et coll, « Microbiologie » édition de Boeck université, 1995.
- [47] : M. Amaili: « Biotraitabilité d'un sol pollué par les hydrocarbures » ; mémoire de fin d'étude ; Génie de l'environnement ; USTHB 1996.
- [48] : M.Sadi et K.G..Maman , « Elimination du phosphore par voie biologique », PFE, Ecole Nationale polytechnique, Alger, 1988.
- [49]: M.S. Subba Rao "Biological nitrogen fixation", Gordon breach, NEW-YORK. 1988.

[50]: N. Mimouni: « Sélection de souche microbienne productrices de bio surfactants à partir de sols contaminés », 1987

ANNEXES

PH (norme NFX31103)

5g de sol est introduit dans un bêcher, on ajuste à 50ml avec de l'eau distillée et après une agitation du mélange pendant 1/2 h. on effectue la lecture à l'aide d'un potentiomètre.

L'humidité et matière sèche (norme: NFX90029)

Un échantillon de 50g du sol est introduit dans un creuse et il est séché dans l'étuve à 105°C pendant 1h.

$$HU(\%) = \frac{P1-P2}{PE} * 100$$

P1: poids du sol humide en g

P2: poids du sol sec en g

PE: prise d'essai de l'échantillon (50g)

HU: humidité en %

$$MS(\%) = 100 - HU(\%)$$

MS: matière sèche en %

Matière organique (norme: NFX31071)

L'échantillon du sol sec (après étuvation pendant 1h), est introduit dans un four à 550°C pendant 20 minutes.

$$MO(\%) = \frac{P2-P3}{PE} * 100$$

P2: poids sec du sol (après étuvation pendant 1h) en g

P3: poids du sol après calcination en g

MO: matière organique en g

Dosage de l'oxygène dissous:

Une gamme du sol (3 à 5g) est diluée jusqu'à 250ml dans de l'eau distillée.

La mesure de l'oxygène dissous est effectuée par un oxymétrie menu d'une électrode sous agitation magnétique.

Dosage du phosphore:

Le principe de cette méthode repose sur l'extraction du phosphore soluble par agitation de la prise d'essai dans une solution aqueuse de NaHCO_3 5g dans 250ml de cette solution pendant 1/2h.

L'extrait est dosé par un spectrophotomètre type DR2000 à une longueur d'onde 890nm.

Après l'ajout d'une gélule de réactif phosver3 à 20ml d'extrait.

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

Dosage des éléments du cortège d'azote:

Une lixiviation doit être effectuée pour doser ces éléments. 20g d'échantillon du sol sont introduit dans un bêcher contenant 100ml d'eau distillée.

Après agitation pendant 1h et filtration, on procède comme suit pour doser ces éléments:

Dosage des nitrates (normes: HACH8152)

Le dosage des nitrates est effectué à l'aide d'un spectrophotomètre type DR2000 à une longueur d'onde 400nm. Après ajout d'une gélule de réactif NITRA vr5 dans l'échantillon en nitrites par le cadmium métallique sulfanilique pour former un sel de diazonium. Ce complexe coloré ambre. L'intensité de cette coloration est proportionnelle à la concentration en nitrates.

Dosage des nitrites (normes: HACH8153)

Le dosage des nitrites est effectué à l'aide d'un spectrophotomètre type DR2000 à une longueur d'onde 507nm, après l'ajout d'une gélule de réactif NITRI ver2 au lixiviat.

La méthode utilise le sulfate ferreux en milieu acide pour réduire les nitrites en oxyde nitreux.

L'ion ferreux se combine avec l'oxyde nitreux pour former un complexe brun-verdatre dont la coloration est proportionnelle aux nitrites présents.

Dosage de l'azote ammoniacal(norme: NFT90015)

Le principe de cette méthode repose sur l'entraînement à la vapeur en milieu alcalin, l'ammoniaque libre ou salifiée et le dosage acidimétrie du distillat.

On fait introduire le lixiviat dans l'éprouvette adaptable à l'unité de distillation, on ajoute ensuite du carbonate de sodium. Par ailleurs, on prépare le bêcher qui doit recueillir le distillat on introduisant de l'acide borique avec quelques gouttes de l'indicateur mixte (rouge de méthylène + vert de cromosol).

Lorsque la distillation est achevée on effectue la titration, du distillat recueilli dans le bêcher à l'aide d'une solution d'acide sulfurique à 0.0025N jusqu'au virage de la couleur du bleu au jaune orange.

Mesure de la conductivité**Principe:**

La mesure est basée sur le principe du pont de WHEATSTON. En utilisant comme appareil type HACH modèle 44600, muni d'un élément de mesure qui est une sonde comportant deux électrodes recouverte de noir de platine.

Mode opératoire

Prise d'essai : 5g/100ml d'eau distillée

Rincer plusieurs fois la cellules à conductivité, d'abord avec de l'eau distillée puis en la plongeant dans un récipient contenant de la solution à examiner. En prenant soin que les électrodes de platine soient complètement immergées.

Lecture.

La capacité maximal de retentions d'eau**Mode opératoire**

Un échantillon du sol (100 à 200g) est pesé dans un verre cylindrique fritte, il est ensuite placé dans un compartiment plein d'eau pendant une heure. Le niveau de fluide doit être à peu près le même que la hauteur du sol dans le verre cylindrique. Une fois l'une heure achevée le verre cylindrique contenant le sol saturé d'eau est pesé une deuxième fois, et la différence du poids représente le volume d'eau absorbé par le sol selon le phénomène de capillarité.

D/ mettre du bouchon de coton au top de l'échantillon et placer les cosses dans leur support attaché à l'étau. Utiliser la manne des cosses.

E/ insérer les cosses dans les condensateurs. Remonter l'étau dans le condensateur.

A noter que, les six boutons doivent être dans la position haute ou bien élevée.

F/ mettre chaque bouton à la position ébullition.

L'aimant devra maintenant être sceller à l'adaptation de cosse.

Rabaisser le bouton à la position de rinçage les cosses doivent être suspendu juste au dessous de la vanne du condensateur.

G/ enlever les supports des cosses.

H/insérer les six tasses d'extraction, tarées avec l'ébullition et remplis avec 25-50ml de solvant à utiliser. Utiliser la retenue des tasses. Abaisser la manne assurant la sécurité. Les tasses sont maintenant bloqués ou serrés dans les condensateurs.

I/ mettre le bouton du mode d'extraction dans la position ébullition. Les cosses devraient être immergés dans le solvant.

J/ bouillire avec les cosses immergées.(le temps dépend de l'échantillon et de type de solvant). S'assurer que les vannes du condenseur sont ouvertes.

K/ mettre le bouton du mode d'extraction dans la position « rinçage » les cosses doivent être suspendues au dessus de la surface du solvant.

Récupération du solvant, enlèvement des cosses et extraction des tasses

A/ après rinçage, fermer les vannes du condenseur en tournant un quart de tour.

B/ lorsque presque la totalité du solvant est récupéré dans le condenseur, appuyer sur le bouton « air » de l'unité de service, et ouvrir la valve « évaporation » sur l'unité d'extraction : les dernières traces du solvant vont être récupérées dans le condenseur.

C/ fermer la vanne « évaporation ».

Détacher les tasses d'extraction avec le crochet de sécurité. Enlever les tasses avec les manettes de tasses.

D/ placer les supports des cosses (dans les manettes dans le plat chaud et abaisser la manette.

E/ déplacer les boutons mode d'extraction pour laisser les glissières des cosse »s dans les supports des cosses.

F / détacher la manette, suivre le mouvement vers le haut avec le support.

Plier le support d'étau, et enlever les cosses.

G/ si une autre extraction est à réaliser immédiatement, insérer un nouvel échantillon de cosses et de tasses et ouvrir les vannes du condenseur.

fermeture

A/ éteindre le « MAIN »

B/ fermer l'eau froide.

C/ vérifier que tous les condenseurs ne contiennent pas de solvant.

Tableau 1 : Evolution de pH en fonction du temps

| Temps(emaine) | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 | T7 | T8 |
|---------------|------|------|------|------|------|------|------|-----|
| témoin | 8.98 | 8.11 | 8.02 | 7.75 | 7.54 | 7.2 | 7.23 | 7.3 |
| Sol traité | 8.98 | 8.01 | 7.8 | 7.2 | 6.9 | 6.81 | 7.25 | 7.6 |

Tableau 2 : Evolution de la concentration de O2 dissous en fonction du temps en g/Kg du sol

| Temps(emaine) | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 | T7 | T8 |
|---------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| témoin | 3.78 | 3.45 | 2.64 | 1.52 | 2.12 | 2.99 | 3.68 | 3.78 |
| Sol traité | 3.78 | 3.71 | 3.2 | 1.28 | 0.36 | 1.57 | 3.38 | 3.79 |

Tableau 3 : Evolution de la concentration du phosphore en fonction du temps en g/Kg du sol

| Temps(emaine) | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 | T7 | T8 |
|---------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| témoin | 1.8 | 1.35 | 0.98 | 0.68 | 0.67 | 0.6 | 0.59 | 0.57 |
| Sol traité | 2.34 | 1.9 | 1.28 | 0.8 | 0.52 | 0.36 | 0.28 | 0.29 |

Tableau 4 : Evolution de la concentration de l'azote ammoniacal en fonction du temps en g/Kg du sol

| Temps(semaine) | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 | T7 | T8 |
|-----------------|-------|-------|----|--------|-------|-------|-------|----|
| Témoin | 0.016 | 0 | 0 | 0.004 | 0.008 | 0 | 0 | 0 |
| Sol traité | 0.021 | 0.004 | 0 | 0.0034 | 0.016 | 0.006 | 0.002 | 0 |

Tableau 5 : Evolution de la concentration de nitrite en fonction du temps en g/Kg du sol

| Temps(semaine) | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 | T7 | T8 |
|-----------------|-------|------|------|------|-------|------|------|------|
| Témoin | 0.1 | 0.18 | 0.19 | 0.09 | 0.001 | 0 | 0 | 0 |
| Sol traité | 0.184 | 0.3 | 0.35 | 0.25 | 0.18 | 0.19 | 0.08 | 0.06 |

Tableau 6 : Evolution de la concentration de nitrate en fonction du temps en g/Kg du sol

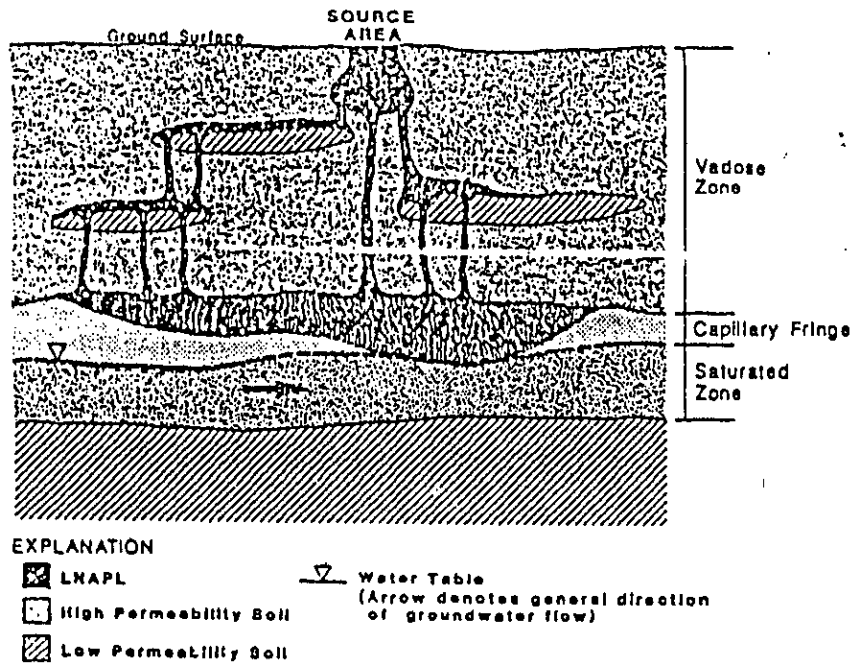
| Temps(semaine) | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 | T7 | T8 |
|-----------------|-------|------|------|-----|-----|-----|------|----|
| Témoin | 7.2 | 10.2 | 12.1 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Sol traité | 10.23 | 14.9 | 13.6 | 8.5 | 2.8 | 1.4 | 0.18 | 0 |

Tableau 7 : Evolution de la concentration d'hydrocarbure en fonction du temps en g/Kg du sol

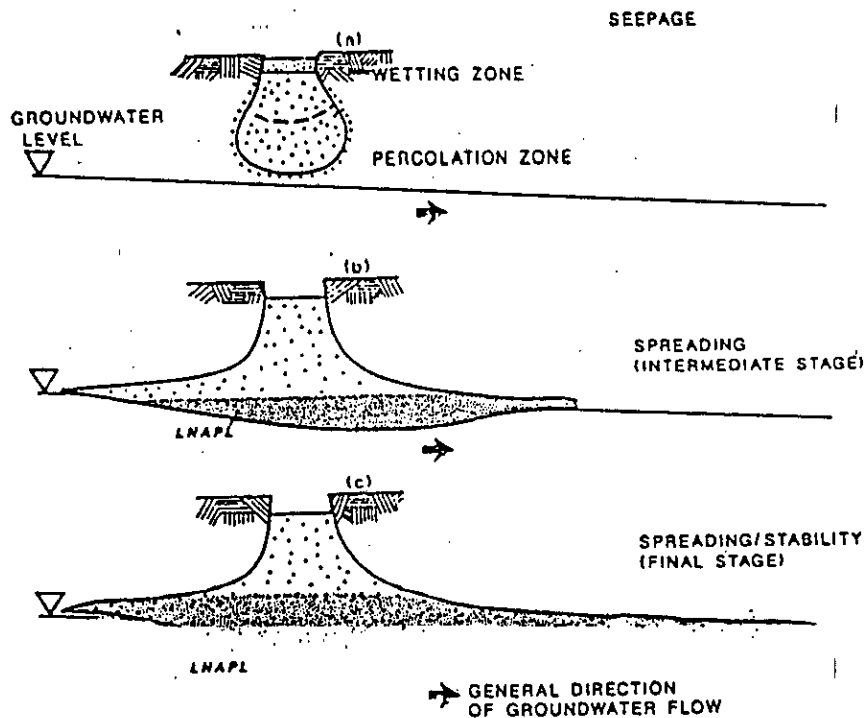
| Temps(semaine) | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 | T7 | T8 |
|-----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Témoin | 35.6 | 31.9 | 25 | 21.6 | 15.6 | 14.8 | 14.7 | 14.4 |
| Sol traité | 35.6 | 32.8 | 24.4 | 18.7 | 9.8 | 7.4 | 6.3 | 5.5 |

Tableau 8 : Evolution du rendement d'élimination d'hydrocarbures en % en fonction du temps

| Temps(semaine) | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 | T7 |
|-----------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Témoin | 1.04 | 29.77 | 39.33 | 56.18 | 58.43 | 58.71 | 59.26 |
| Sol traité | 0.78 | 31.46 | 53.08 | 72.47 | 82.02 | 82.30 | 84.55 |

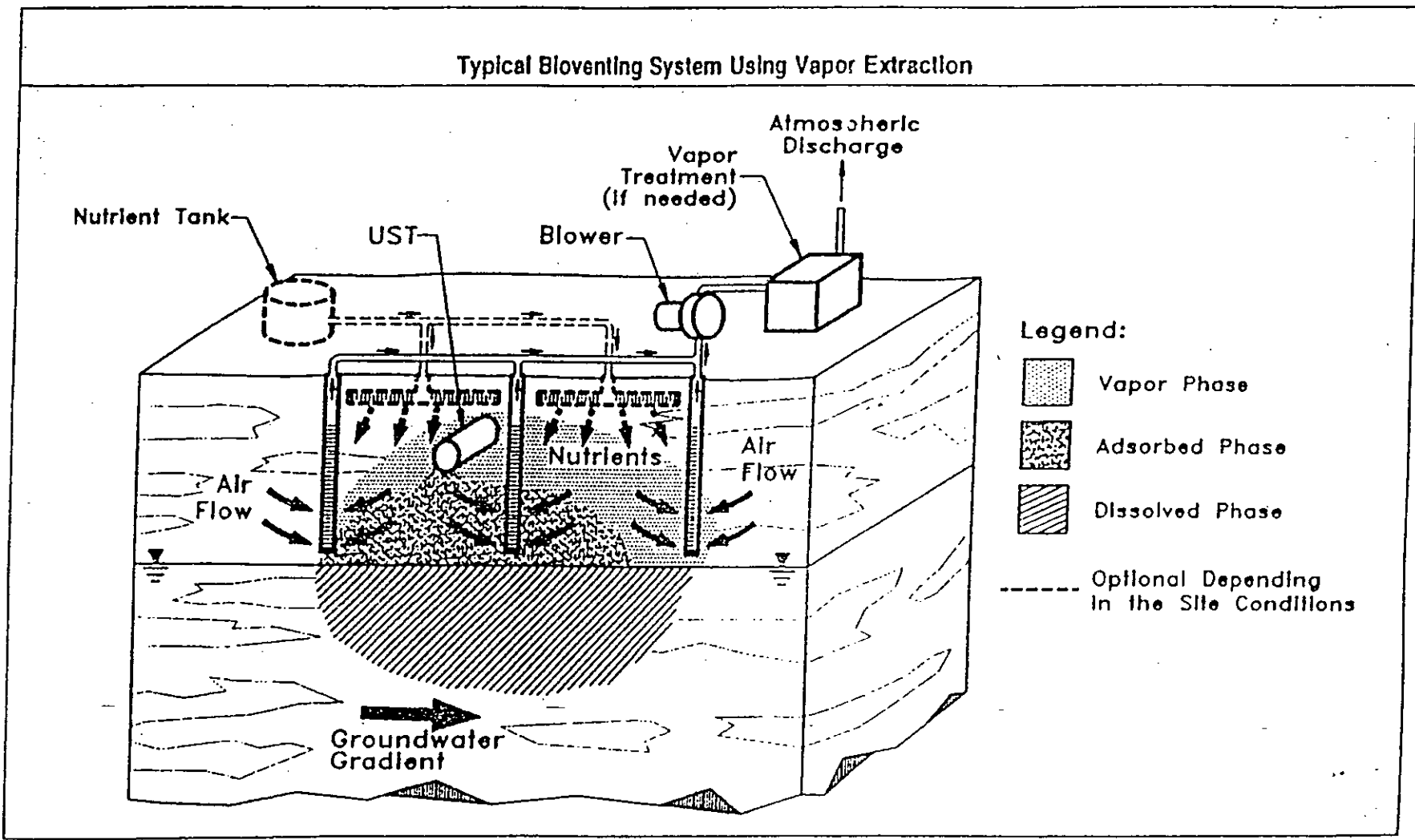


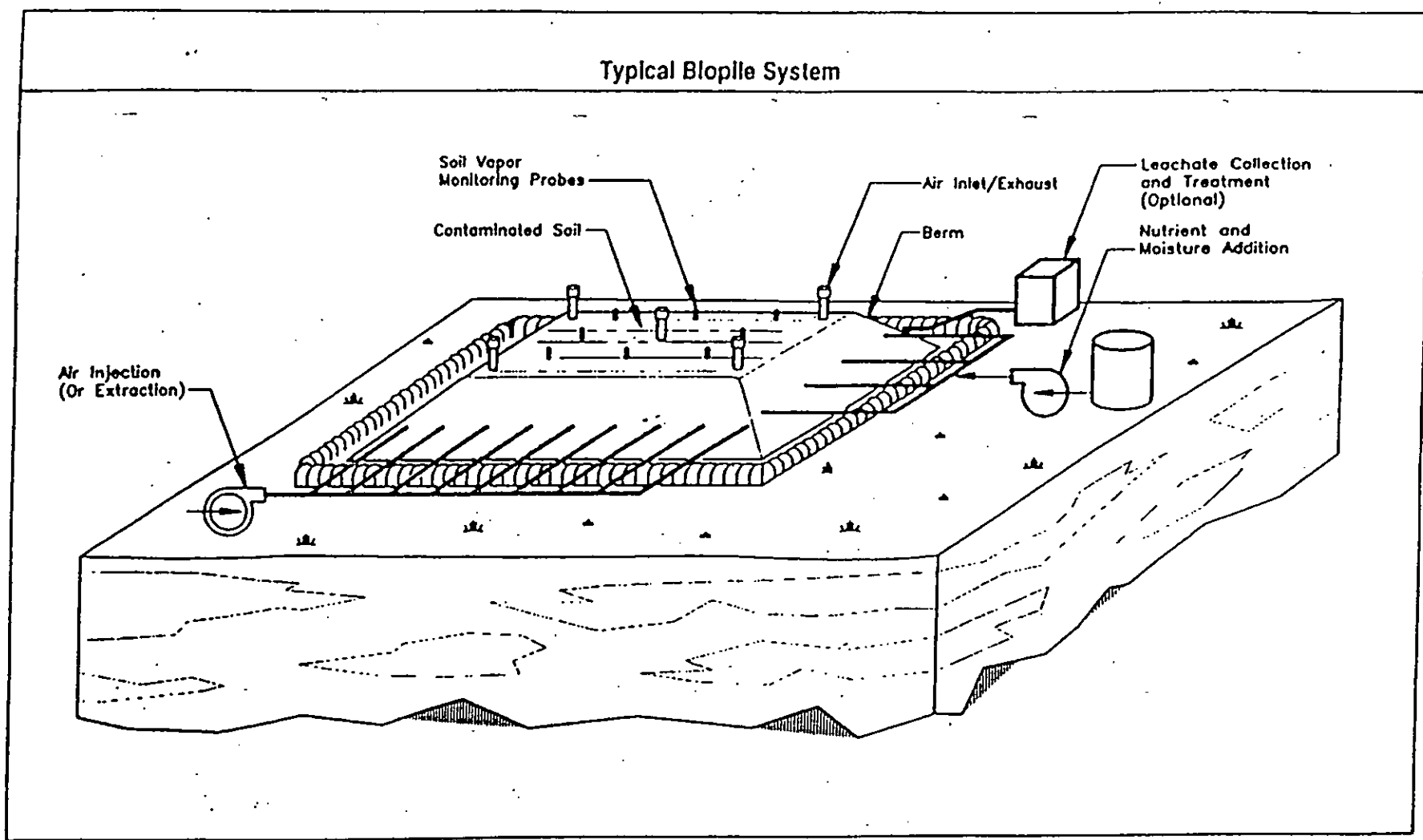
Exemple de distribution d'hydrocarbures pétroliers lors d'un déversement



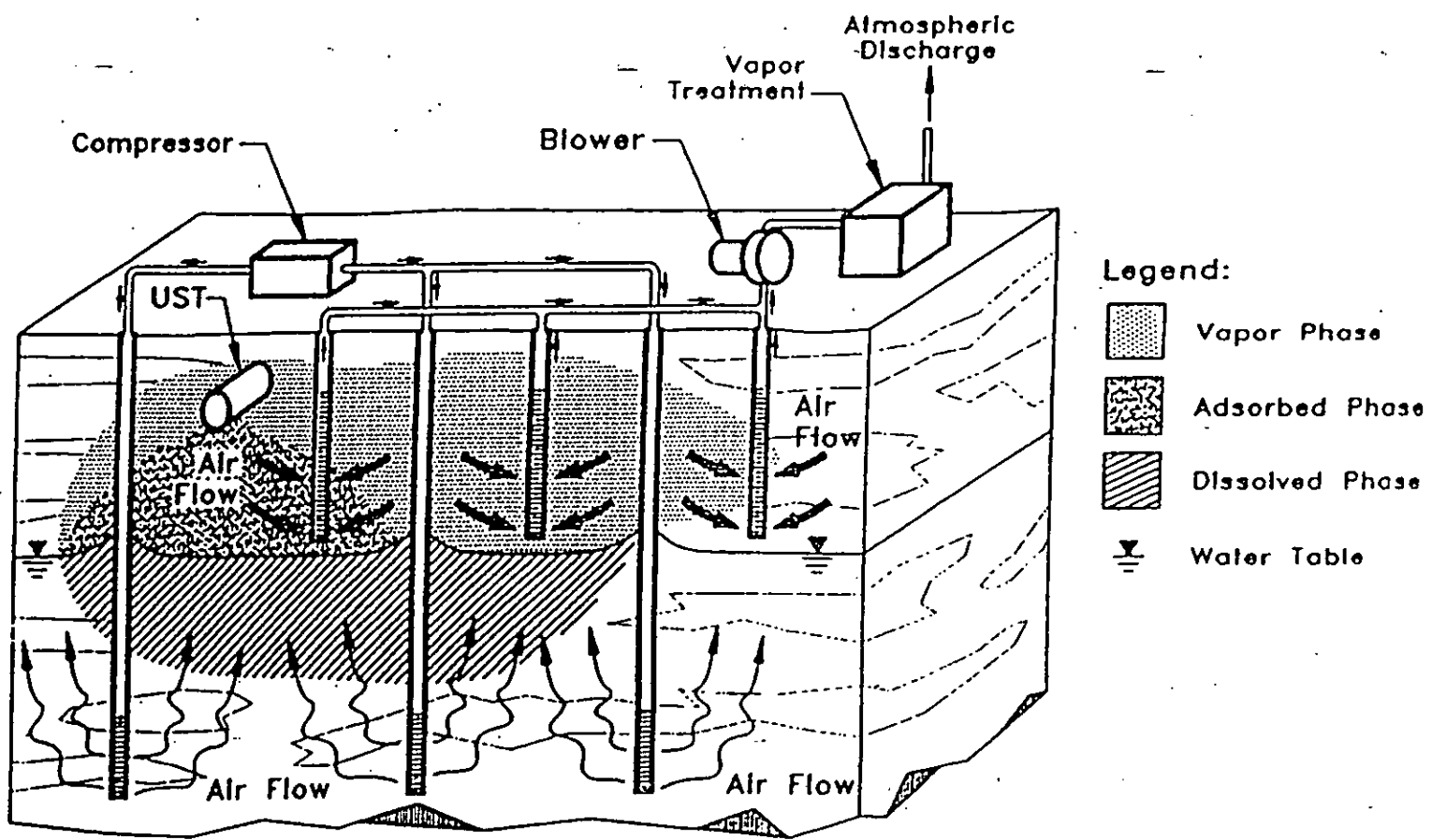
Étapes de migration des hydrocarbures pétroliers.

Typical Bioventing System Using Vapor Extraction





Biosparging System (Used With Soil Vapor Extraction)



Typical Landfarming Operation

