

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediène
Faculté Des Sciences Biologiques



MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de MAGISTER

En SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité : Ecologie Microbienne de la Rhizosphère

Par : BOILATTABI Nesrine

Sujet :

Evaluation du potentiel de quelques légumineuses ligneuses à croissance rapide pour la réduction de la charge en composés organiques toxiques dans des lixiviats de décharges – Aspect végétal et microbien

Soutenu publiquement, le 08 / 12 / 2014, devant le jury composé de :

M. KACI Y.	Professeur	à l'USTHB	Président
M. AMRANI S.	Maitre conférences/A	à l'USTHB	Directeur de mémoire
Mme. Belkebir A.	Professeur	à l'USTHB	Examinatrice
M. Djebbar R.	Maitre conférences/A	à l'USTHB	Examineur

Résumé

L'étude menée sur la phytoremédiation des sols contaminés par les hydrocarbures, a montré que les espèces de légumineuses ligneuses choisies se comportent très différemment vis-à-vis des hydrocarbures. En outre, le choix de ces espèces repose sur leur pouvoir germinatif dans des conditions de concentrations très élevées en HAP, que contiennent les lixiviats de décharge.

Les résultats ont montré que les espèces les plus tolérantes vis-à-vis des HAP, sont ***Albizzia lophanta*** et ***Acacia horrida*** avec des taux de germination et de croissance en concentration maximale de lixiviat qui ont pu atteindre un seuil très élevé. Ceci vient consolider l'approche de leur pouvoir phytoremédiateur qui se conjuguerait avec la microflore rhizosphérique jouant ainsi un rôle très important dans la transformation du substrat initial en le rendant moins toxique afin qu'il soit assimilé par les racines des plantes en passant par des mécanismes très complexes faisant intervenir une multitude de facteurs enzymatiques et d'exsudats racinaires.

Mots clés : Phytoremédiation, Lixiviats, Hydrocarbures, Légumineuses ligneuses

Remerciements

Ce travail, sans l'aide et la collaboration de certaines personnes n'aurait jamais pu aboutir, C'est pour cela que je tiens à remercier chaleureusement toutes les personnes qui ont contribué de près comme de loin à l'élaboration de ce mémoire.

Tout d'abord, j'adresse ma reconnaissance et gratitude à Mr. Amrani S., mon directeur de thèse, d'avoir accepté mon encadrement, par ses grandes compétences, son partage de savoir et de connaissance, ainsi et surtout pour sa grande sympathie, son soutien à mon égard.

Mes remerciements s'adressent également à Mme Belkabir A. d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Je remercie aussi Mr. Kaci Y. d'avoir accepté d'honorer le jury par sa présidence.

Je remercie également Mr. Djebbar R. d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Je remercie énormément le laboratoire de biologie des sols pour son énorme aide et sa grande sympathie

Je remercie Mr. Djbairia L. chef du laboratoire central de l'intendance/ MDN de m'avoir permis d'effectuer mon stage au sein de cet établissement.

Je remercie également Mr. Miloudi A. chef de service du laboratoire d m'avoir aidé et encouragé dans mon travail.

J'adresse aussi mes remerciements à mon amie Djemouai N., pour son énorme aide et soutien, ces années nous ont permis de nouer une relation d'amitié sans précédent, je la remercie pour sa disponibilité tout au long de mon cursus.

Dédicaces

Je rends grâce à Allah le Tout Puissant de m'avoir donné la santé, le courage et la force pour mener ce travail à bout.

A ma mère

Toujours présente, toujours de bonne humeur, disponible et attentive.

Ce travail est sans doute le résultat de ton encouragement pour continuer mes études. Merci de m'avoir accompagné dans mes études. Que Dieu t'accorde longue vie et santé pour que tu sois heureuse et très fière de moi.

A mon père

Qui m'a toujours soutenu dans les moments critiques auxquels j'ai été confronté, ma force et ma persévérance à me battre c'est à toi papa que je les dois. Tu es ma fierté et mon plaisir est de te voir fier de moi.

A mes deux frères et à ma sœur que j'aime énormément.

À mes deux sœurs et amies Naila et Assia qui ont toujours été à mes côtés et m'ont encouragé depuis le début de mon cursus.

Liste des figures

Figure 1 :	Structure des 16 HAP jugés à risques par l'EPA	10
Figure 2 :	Les phénomènes contrôlant le devenir des polluants dans les différentes phases de sols	13
Figure 3 :	Types de phytoremédiation	15
Figure 4 :	Schéma de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse	25
Figure 5 :	Taux de germination des graines des quatre espèces de légumineuses à différentes concentrations de lixiviat	31
Figure 6 :	Taux de croissance des quatre espèces de légumineuses à différentes concentrations de lixiviat	32
Figure N°7 :	Résultats de l'effet de la croissance des légumineuses sur la microflore	33
Figure N°8 :	Capacité de remédiation du sol par les plants vis-à-vis des hydrocarbures	34

Liste des tableaux

Tableau N° 1 : Composition physicochimique du lixiviat et quantification des HAP **28**

Tableau N° 2 : Analyse granulométrique du sol **29**

Liste des abréviations

°C : degré Celsius

DBO₅ : Demande biologique en Oxygène pendant 5 jours

DCO : Demande Chimique en Oxygène

EPA : Environment Protection Agency

g : gramme

mg : milligramme

GC/MS : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

h : heure

HAP : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques

min : minute

O₂ : oxygène

Sommaire

Introduction	1
I. Partie théorique	3
1. Pollution des sols	3
1.1. Les risques sanitaires liés à la contamination des sols	3
1.2. Evaluation de l'exposition aux substances polluantes	4
1.3. Sources de pollution	4
1.4 Toxicité de pollution	5
1.5. Décontamination et biodisponibilité	6
2. Les polluants organiques	7
2.1. Les hydrocarbures	8
2.1.1. Les hydrocarbures aliphatiques	8
2.1.2. Les hydrocarbures aromatiques	9
2.2. Structure et propriétés des HAP	9
2.3. Devenir des HAP dans l'environnement	11
3. Phytoremédiation	13
3.1. Les différents types de phytoremédiation	13
3.1.1. Rhizodégradation	13
3.1.2. Phytostabilisation	14
3.1.3. Phyto ou rhizofiltration	14
3.1.4. Phytoextraction	14

3.1.5 Phytovolatilisation	14
3.2. Approche de phytoremédiation des sols contaminés par les HAP	15
3.3. Facteurs physiques et chimiques influençant l'accumulation des polluants par les plantes	15
3.4. Transfert, mécanismes d'entrée et facteurs influençant l'accumulation des plantes par les plantes	17
II. Matériels et méthodes	18
1. Le lixiviat	18
2. Les plantes candidates	18
2.1. <i>Acacia horrida</i>	18
2.2. <i>Acacia saligna</i>	18
2.3. <i>Leucaena leucocephala</i>	18
2.4. <i>Albizia lophanta</i>	19
3. Dispositifs expérimentaux	19
4. Analyse du lixiviat	19
4.1. Caractéristiques physiques et chimiques du lixiviat	20
4.2. Composition en HAP du lixiviat des puits de la CET d'Oued Smar	22
4.2.1. Principe de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS)	23
5- Analyse granulométrique du sol	26
6- Etude du comportement des légumineuses ligneuses	27
III- Résultats et discussion	28
1. Résultats	28

1.1. Analyse du lixiviat	28
1.2. Analyse du sol	29
1.3. Germination des graines	30
1.4. Croissance des légumineuses sur le sol contaminé	31
1.5. Effet de croissance sur la microflore	32
1.6. Résultats de la capacité de remédiation	33
2. Discussion	36
IV. Conclusion	38
VI. Références bibliographiques	39
Annexes	

Introduction

La contamination des sols est un phénomène actuellement en expansion et qui touche les sols agricoles situés à proximité des usines industrielles et les sites de décharges urbaines, menaçant ainsi la santé humaine. Cette contamination peut être diffuse à grande échelle et touchera dans ce cas une très grande partie de terre, ou elle peut être intense et localisée c'est-à-dire occupant une surface moindre.

La contamination diffuse est peut-être la plus grave car elle est difficilement gérable étant donné que les concentrations des polluants sont relativement faibles, quoique significatives ; ils peuvent se concentrer le long des chaînes alimentaires ce qu'on appelle en outre le phénomène de bioamplification et créer donc de graves problèmes en fin de chaîne. En revanche, les volumes de sol concernés sont beaucoup trop importants, et les teneurs trop faibles pour qu'un traitement soit envisageable (Gobat et *al.*, 2010).

Une contamination intense et localisée résulte souvent d'activités industrielles et du déversement incontrôlé des déchets industriels dangereux. Elle peut aussi résulter d'un évènement accidentel ou d'un acte de guerre. La concentration des contaminants y est élevée, tandis qu'elle concerne en général un petit nombre d'espèces chimiques, ce qui permet d'envisager des processus de traitements spécifiques (Amirad, 2011).

Cependant, on peut envisager une remédiation des sols par des moyens physiques, chimiques ou biologiques. L'incinération et l'extraction chimique sont très coûteuses et conduisent souvent à la déstructuration du sol, en plus elles génèrent aussi d'autres composés qui pourraient être encore plus récalcitrants vu qu'ils résultent d'interactions chimiques généralement mal connues. Les méthodes chimiques exigent des investissements importants de l'économie et des technologies, de plus ces méthodes même sont considérées toxiques pour l'environnement. Dans cette optique, les méthodes biologiques semblent la solution ultime émergente à l'encontre de ce problème.

Par contre, le procédé biologique dit de bioremédiation permet en général de récupérer les sols traités, au moins pour certaines applications. Globalement ses

coûts sont en principe moins élevés. Ce procédé consiste à mettre à profit, pour le traitement des sites pollués, des activités biologiques en les stimulant, en les améliorant, voire en les modifiant. C'est une solution alternative puisque le contaminant est intercepté par des microorganismes qui le transforment, le détoxifient ou l'assimilent dans leur métabolisme (Menager et *al.*, 2009).

Parmi les méthodes biologiques qui visent à dépolluer le sol, la phytoremédiation qui est fondée sur le pouvoir de la plante à assimiler, détoxifier, stabiliser ou volatiliser les substances toxiques du sol.

Pour la phytoremédiation, on doit tenir compte de plusieurs facteurs : l'enzyme utilisée pour la transformation des polluants et la plante utilisée pour l'expression et la libération de l'enzyme.

La plante idéale pour une utilisation dans la phytoremédiation devrait avoir des caractéristiques spécifiques comme la mise au point d'un système racinaire qui a la capacité de sécréter une quantité substantielle de l'enzyme qui peut rendre les polluants inoffensifs, la tolérance aux polluants à une concentration trouvée dans le sol, une croissance rapide et une biomasse relativement élevée (Forbes et Forbes, 1997).

Dans cette optique, nous avons adopté pour notre recherche la remédiation via des plantes qui sont des légumineuses ligneuses à croissance rapide. Les espèces candidates sont *Leucaena leucocephala*, *Albizia lophanta*, *Acacia saligna* et *Acacia horrida*.

Les perspectives envisageables sont de trouver une espèce végétale à croissance rapide créant un environnement rhizosphérique favorable à l'installation d'une microflore capable d'établir une translocation des substances polluantes du sol vers la plante, ainsi donc de jouer le rôle de facteur de captation et de dégradation de ces substances toxiques en les transférant à la plante sous une forme moins toxique et libérer ainsi le sol de ces contaminants.

1. Pollution des sols

Le terme polluant, selon Moriarty (1983), se rapporte aux substances présentes dans l'environnement en partie à cause des activités humaines et qui ont des effets délétères sur les organismes vivants.

Toutefois, le terme pollution désigne une multitude d'actions qui altèrent le milieu naturel (Kinne et *al.*, 1968). Parmi les nombreuses définitions nous retenons celle donnée par Environment Protection Agency, USA (EPA) : « La pollution est une modification défavorable du milieu naturel qui apparaît en totalité ou en partie comme le sous-produit de l'action humaine, au travers d'effets directs ou indirects altérant les modalités de répartition des flux d'énergie, des niveaux de radiation, de la constitution physicochimique du milieu naturel et de l'abondance des espèces vivantes. Ces modifications peuvent affecter l'homme directement ou au travers des ressources en produits agricoles, en eau et autres produits biologiques. Elles peuvent aussi l'affecter en altérant les objets physiques qu'il détient, les possibilités créatrices du milieu ou encore en enlaidissant la nature » (Forbes et Forbes, 1997).

1.1. Les risques sanitaires liés à la contamination des sols

La contamination des sols engendre des effets non négligeables et qui touchent à la fois l'homme ainsi que son environnement, car il est à noter que les polluants liés aux particules solides du sol sont plus ou moins mobiles et c'est ce qui leur confère un certain degré de contamination. La fraction mobile est désignée fréquemment par le qualificatif de « biodisponible » bien que cette biodisponibilité n'est que potentielle.

On peut ainsi estimer cette biodisponibilité des polluants présents dans le sol pour nous indiquer l'éventuel degré de contamination des végétaux croissant sur ces sols (Laurent et *al.*, 2006).

Les sols sont considérés comme des réservoirs de la plupart des polluants, la contamination des sols étant la résultante des activités humaines pour ce qui est des polluants organiques (Laurent et *al.*, 2006). Cette contamination entraîne souvent pour les hommes une exposition directe aux polluants par inhalation d'air pollué ou par contact cutané avec un sol trop riche en matière de polluants, Néanmoins, l'exposition cutanée demeure négligeable vis-à-vis de tous les polluants, une

exposition indirecte peut survenir lors de l'ingestion de produits liquides tels que l'eau ou solides comme les cultures agricoles et qui sont contaminés par le sol.

Le transfert des polluants du sol vers les végétaux est lié à différents mécanismes complexes et qui dépendent de plusieurs facteurs liés au sol, à la plante, aux microorganismes du sol, au climat, aux techniques culturales, aux caractéristiques de l'élément ainsi qu'aux interactions entre éléments (Tremel-Schaub et Feix, 2005).

Pour les polluants organiques, l'ingestion de sol contaminé par les animaux montre que l'absorption est limitée par une liaison forte entre polluants et composants de la matrice et par une augmentation du degré de chloration ou du nombre de cycles congénères (Laurent et *al.*, 2006).

1.2. Evaluation de l'exposition aux substances polluantes

Lorsqu'une substance toxique entre en contact avec l'homme ou de son environnement, surgit un risque potentiel et qui deviendra réel si la substance du fait de sa dispersion imprègne l'organisme par une ou plusieurs voies de pénétration.

Afin de limiter au maximum ce risque d'exposition, des préventions collectives doivent être mises en œuvre. Lorsque le risque d'exposition existe, en plus des préventions collectives prises viennent s'ajouter des techniques de préventions individuelles pour se protéger ainsi que limiter au maximum les risques d'intoxication.

L'exposition externe à une substance toxique ne signifie pas nécessairement accumulation de la substance au sein de l'organisme car des barrières naturelles existent comme les membranes biologiques, ou artificielles telles que le port de gants, masques etc...

1.3. Sources de pollution

Les activités humaines sont à l'origine de nombreuses contaminations localisées ou diffuses au niveau des sols et sous-sols (Pansu et *al.*, 1998 ; Bliefert et Perraud, 2004).

Les activités industrielles suite à des accidents, incidents ou anomalies divers lors de l'extraction, du stockage, de la transformation et du transport des matières

premières, des produits ou de déchets dangereux ou lors de la distribution des produits dangereux. Des dépôts de déchets sur les sites en activités agricoles.

- Les ordures ménagères sont une source de contamination de l'environnement, lorsque ces ordures sont traitées par incinération, la pollution devient alors atmosphérique et certains résidus comme les mâchefers et les déchets ultimes encombreront les décharges. Mais lorsque ces ordures sont traitées par le compostage ou la lixiviation, ils sont susceptibles de contaminer les sols. Cependant les rejets atmosphériques peuvent être transférés vers les sols.
- Les activités urbaines ont aussi quant à elles un impact de pollution et sont en lien avec les activités artisanales et commerciales utilisant ou engendrant des produits et déchets dangereux (Barriuso et *al.*, 1996).

Ceci dit, il reste que le niveau de pollution chimique est corrélé avec le niveau d'industrialisation.

1.4. Toxicité des polluants

En général, les polluants exercent une toxicité pour l'homme et son environnement et cette toxicité peut être extrême, c'est-à-dire conduisant à la mortalité, ou alors elle engendre des effets d'ordre physiologique, morphologique ou comportemental et qui interfèrent directement avec le fonctionnement de l'organisme.

Cependant, pour qu'un polluant devienne toxique, il faudrait qu'il dépasse le seuil de toxicité au-delà duquel il devient nocif voire menaçant pour l'environnement, c'est la raison pour laquelle les organismes de réglementation et de normalisation ont établis des textes régis par la législation en vigueur caractérisant ainsi les doses émises dans l'environnement et qui ne doivent pas dépasser car les propriétés chimiques intrinsèques d'une substance toxique conditionnent son devenir et son comportement dans les organismes et les écosystèmes.

La toxicité des polluants repose sur plusieurs facteurs comme leur solubilité dans l'eau, leur densité, leur stabilité ainsi que leur polarité ou leur hydrophobicité (Bliefert et Perraud, 2004).

1.5. Décontamination et biodisponibilité

Avant d'envisager les types de contamination et les processus biologiques permettant de les contrôler, il faudrait traiter un aspect important, quoique souvent négligé quelque peu superficielles de « la pollution » : la biodisponibilité des polluants. En effet, la présence d'un polluant ne suffit pas à définir sa toxicité actuelle : celle-ci dépend de la concentration active du polluant vis-à-vis des récepteurs biologiques susceptibles d'être atteints, mais aussi vis-à-vis de ceux pouvant intervenir dans le processus de décontamination.

La biodisponibilité est une notion très complexe et difficile à mesurer. Par rapport à la concentration totale d'un contaminant, elle dépend fortement de la solubilité et de la fugacité du polluant, ainsi que les caractéristiques du milieu pollué, en particulier dans les sols. S'ajoutent à ça des paramètres physicochimiques, comme le pH ou le potentiel redox.

La présence d'ions ou de ligands de toutes sortes peut bloquer ou neutraliser un polluant. La nature du polluant, par exemple son hydrophobicité, est importante, elle peut être modulée par la présence d'agents surfactants, certains pouvant être engendrés par des microorganismes.

La microstructure du sol (microporosité) intervient aussi : des polluants piégés dans des micro-agrégats peuvent être rendus de ce fait indisponibles. On a parfois observé que la toxicité et la biodisponibilité d'un polluant dans un sol, à concentration totale égale, diminuent avec le temps, indépendamment d'une éventuelle dégradation : cela provient de son intégration de plus en plus intime dans des microstructures stabilisées du sol (piégeage dans le complexe argilo-humique, par exemple).

Ce peut être un luxe de chercher à éliminer un polluant dangereux, car non disponible : pour évaluer la nécessité d'opérer un traitement de remédiation on fera appel aux toxicologues qui utilisent une série de tests normalisés par l'utilisation d'algues, de plantes, d'invertébrés comme les daphnies ou encore à des vertébrés. Ils utilisent aussi des bactéries modifiées qu'ils nomment biosenseurs, celles-ci produisent un signal détectable en présence de substance disponible, même à très faible concentration. (Gobat et *al.*, 2010).

2. Les polluants organiques

Les polluants organiques sont des substances chimiques carbonées et qui ont un pouvoir néfaste sur l'environnement, ils peuvent par exemple augmenter la turbidité des eaux et créer ainsi un phénomène d'eutrophisation lié en général à un apport excessif de substances nutritives comme l'azote provenant surtout des nitrates agricoles et des eaux usées et qui s'accompagne généralement avec une diminution de l'oxygène dissous. Ces modifications environnementales ont de vastes conséquences comme la disparition des espèces, ou la prolifération d'autres espèces. Ces polluants peuvent être biodégradables ou persistants et donc menaçant pour l'environnement (Lemiere et *al.*, 2008).

Il existe néanmoins différentes catégories de composés organiques pouvant être considérés comme des polluants des sols ; ceux que l'on considère naturels comme le pétrole ou d'autres artificiels comme les xénobiotiques.

Les composés organiques dits naturels sont en général biodégradables au moins sous certaines formes moins toxiques c'est-à-dire que leur internalisation au sein d'une matrice les transforme, cependant on les considère comme polluants lorsque leur concentration est trop élevée et engendre un stress important sur la biocénose du sol car ceci peut conduire à l'inactivation des mécanismes de biodégradation, ainsi qu'à la perte des propriétés homéostatiques du sol.

Les xénobiotiques quant à eux, sont très différents dans leur structure chimique et sont synthétisés par l'homme ; ils peuvent alors être inertes non biodégradables et non toxiques, c'est-à-dire qu'ils n'interagissent pas avec les organismes vivants et sont considérés comme un ballast comme les plastiques. Leur deuxième état est qu'ils soient toxiques, plus ou moins biodégradables, ils passent par la barrière cellulaire lors de la nutrition de la plante et de là on observe le phénomène de bioamplification (Gobat et *al.*, 2010).

Il est possible de distinguer ces trois sources car elles sont à l'origine de compositions moléculaires typiques entraînant une « empreinte » caractéristique de chaque source (Wang et Fingos, 2003).

2.1. Les Hydrocarbures

C'est un groupe de polluants organiques qui renferme à lui seul plus de 100 composés organiques différents constitués de plusieurs anneaux de benzène, certains d'eux sont persistants et cancérigènes.

Les hydrocarbures sont fréquemment retrouvés dans l'environnement, ils sont quant à eux d'origine naturelle entre autre les hydrocarbures pétrogéniques, mais aussi et surtout d'origine anthropique ce qu'on appelle aussi des hydrocarbures pyrogéniques ; ils proviennent alors de processus de pyrolyse ou de combustion incomplète de matériels organiques.

Les HAP constituent la fraction la plus importante d'un brut pétrolier, ils représentent entre 65 et 95% de la plus part des pétroles bruts, ils sont notamment présents dans les déchets engendrés par les rejets industriels et même domestiques.

La principale source des hydrocarbures est le pétrole brut, la seconde source est le charbon. Le gaz naturel que l'on peut rattacher au pétrole brut par leur origine géologique, constitue lui aussi une ressource importante en hydrocarbures (Lefebvre, 1978).

Leur classification est basée sur le nombre de noyaux aromatiques qu'ils contiennent. Une classification basée sur leur toxicité à l'égard de l'homme a été proposée par l'IARC et a été reprise par Tremblay et *al.*, 2000.

2.1.1. Les hydrocarbures aliphatiques

- ✓ Les hydrocarbures aliphatiques saturés

Ce sont des composés à chaînes ouvertes linéaires ou ramifiées de formule générale C_nH_{2n+2} . Leur nom vient du grec *aleiphar* qui signifie huile ou graisse. Cette nomenclature vient du fait que les graisses sont des composés à chaîne ouverte (Lefebvre, 1978).

- ✓ Les hydrocarbures aliphatiques insaturés

Ce sont les alcènes de formule générale C_nH_{2n} , ils sont principalement issus du craquage du pétrole brut, et les alcynes qui constituent la troisième grande famille

d'hydrocarbures aliphatiques et ont pour formule générale C_nH_{2n-2} (Lefebvre, 1978).

2.1.2. Les hydrocarbures aromatiques

- ✓ Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)

Les HAP sont constitués d'atomes de carbone et d'hydrogène formant au moins deux anneaux aromatiques condensés (Menzie et *al.*, 1992 ; Li et Chen, 2002).

Le terme aromatique sert à déduire la classe des composés qui comportent des cycles de type benzénique (Richards et *al.*, 1984). Le plus simple des HAP est le benzène C_6H_6 , il fut découvert par Faraday en 1825 dans le gaz d'éclairage. En 1845, Hofmann l'isola du goudron de houille (Potapov et Tatarintchik, 1988).

A l'état pur, les HAP sont des solides souvent colorés et cristallins à température ambiante. Leurs propriétés physico-chimiques varient avec leur masse molaire et leur structure (Gabet, 2004). Les HAP résultent de la combustion incomplète de la matière organique (EPA, 2008) qui peut provenir de sources naturelles (feux de forêt, éruptions volcaniques, etc.) ou anthropogéniques (usines à gaz, industries du bois et pétrolières, fumées de cigarettes, utilisation de combustibles, lixiviats, etc.) (Wilcke, 2000).

2.2. Structure et propriété des HAP

Les HAP sont des molécules organiques, neutres, non polaires, constituées de deux ou plusieurs cycles benzéniques liés dans des arrangements linéaires, angulaires ou en grappe. Les propriétés physico-chimiques des HAP dépendent de leur structure. Leur stabilité résulte de l'arrangement des cycles, comme le cas des HAP angulaires, qui sont les plus stables comparativement aux HAP linéaires et qui sont par conséquent moins stables.

Les HAP sont fréquemment retrouvés dans l'environnement (Samanta et *al.*, 2002). Ils ont une affinité pour les particules du sol sur lesquelles ils adsorbent facilement et notamment sur le carbone organique. Leur persistance dans l'environnement augmente en fonction de leur poids ; plus il y a de cycles aromatique, plus ils sont récalcitrants (Liu et *al.*, 2007 ; Haritach et Kaushik, 2009).

Les HAP présentent une forte hydrophobicité, car leurs molécules forment des liaisons plus ou moins stables avec les régions hydrophobes de matière organique, et ainsi ils deviennent récalcitrants dans l'environnement (Bocard, 2006).

Les HAP se subdivisent en deux groupes

- Les légers : dont la masse molaire est comprise entre 128 et 180 g. mol⁻¹ (HAP moins de quatre cycles).
- Les lourds : (au moins quatre cycles), dont la masse molaire varie de 200 et 280 g. mol⁻¹.

Les HAP ont un point de fusion supérieur ou égale à 80°C, ainsi qu'un point d'ébullition très élevé et compris entre 200° et 500°C, ce sont des composés semi volatiles et leur solubilité décroît très rapidement avec l'augmentation du nombre de cycles aromatiques. Il en va de même en ce qui concerne leur volatilité. (LCPE, 1994).

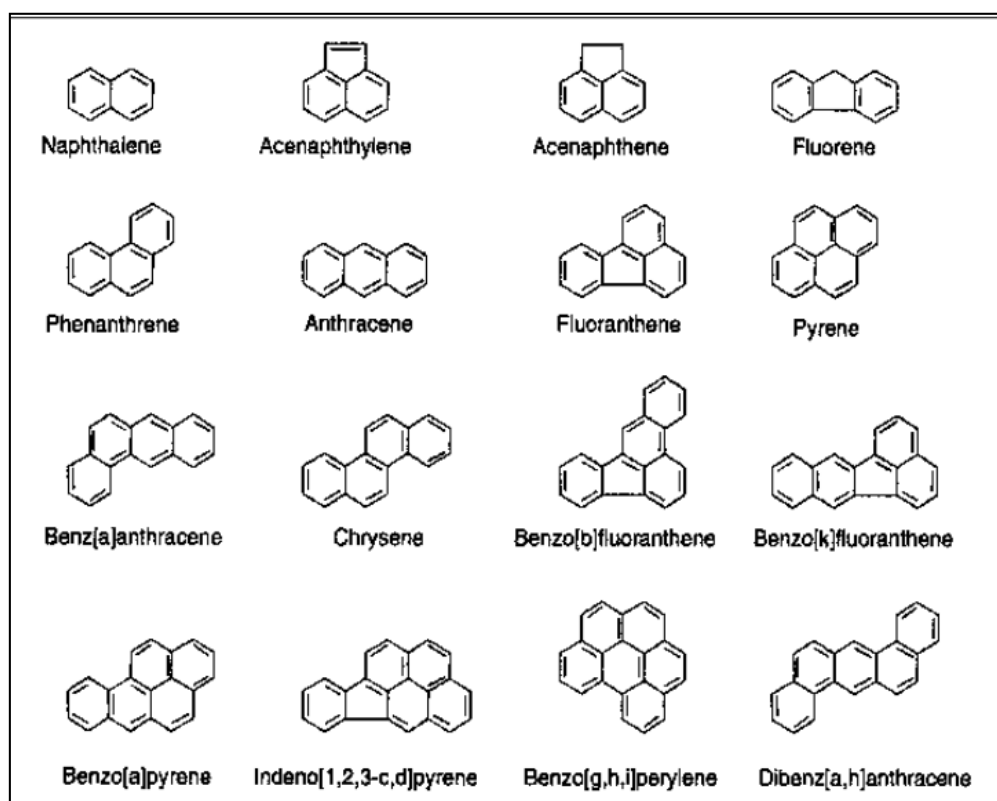


Figure 1 : Structure des 16 HAP jugés à risques par l'EPA (2008)

2.3. Devenir des hydrocarbures dans l'environnement

Les hydrocarbures adsorbés aux particules de sol ou associés à la matière organique sont peu mobiles. Le transport des hydrocarbures dans les différentes phases de sols fait principalement intervenir les phénomènes suivants :

➤ La solubilisation

Le partage du polluant entre la phase organique et la phase aqueuse du sol est contrôlé par sa solubilité dans l'eau. Cette caractéristique a une grande influence sur la mobilité des polluants dans les sols (McCray et *al.*, 2001).

➤ La convection

Elle dépend de mouvement des molécules organiques les plus facilement solubles par la phase aqueuse mobile. Ce mécanisme dépend notamment des caractéristiques géotechniques du milieu filtrant (McCray et Dugan, 2002), il est possible aussi d'entraîner ces polluants par des particules fines.

➤ L'adsorption

L'adsorption c'est un phénomène dynamique de partition d'un soluté d'une phase liquide vers une phase solide constituée par l'ensemble des particules solides du sol. Lorsque la concentration de matière organique dans les sols est supérieure à 1%, l'adsorption est très couramment décrite comme un simple équilibre de partage du composé organique entre la phase aqueuse et la matière organique du sol (Karichhoff et *al.*, 1979, Chiou et *al.*, 1986 ; Chiou, 1989). Ce phénomène fait intervenir des autres phénomènes très complexes résultant à plusieurs types de liaisons adsorbant/polluant (Calvet et *al.*, 1989).

➤ La diffusion

C'est un phénomène physique lié à l'agitation moléculaire où il y a un gradient de concentration et les molécules en mouvement se déplaceront de la zone la plus concentrée vers la moins concentrée. La diffusion est le mécanisme de transport le plus important dans les zones à faible perméabilité que ce soit à l'échelle

macroscopique, dans le cas des argiles par exemple, ou à l'échelle microscopique, dans les agrégats poreux et au sein des particules.

Les zones à faible perméabilité qui ont accumulé des polluants organiques sur de longues périodes peuvent se conduire à des sources secondaires de polluants (Lee et *al.*, 1992).

➤ **L'incorporation**

Elle consiste en l'emprisonnement physique des molécules polluantes diffusant dans le sol et plus précisément au sein de la matière organique naturelle poreuse. La diffusion au sein de la matière organique du sol est le second mécanisme qui influe sur le comportement des polluants organiques dans les sols au cours du temps (Farrel et Reinhard, 1994).

➤ **La volatilisation**

Elle concerne essentiellement les composés organiques volatils. Ce phénomène dépend principalement de la constante de Henry, qui est de même une fonction de la température (Hanna, 2004).

➤ **L'hydrolyse**

C'est un processus de dégradation des molécules par l'action de l'eau, il est fortement influencée par le pH et la température du sol (Hanna, 2004).

➤ **La biodégradation**

Elle caractérise la décomposition des molécules organiques par les microorganismes présents dans le sol. Elle dépend principalement de la présence suffisante de microorganismes adaptés, de la température, et de la quantité

Le schéma suivant présente ces phénomènes de transport des HAP dans les différentes phases de sols.

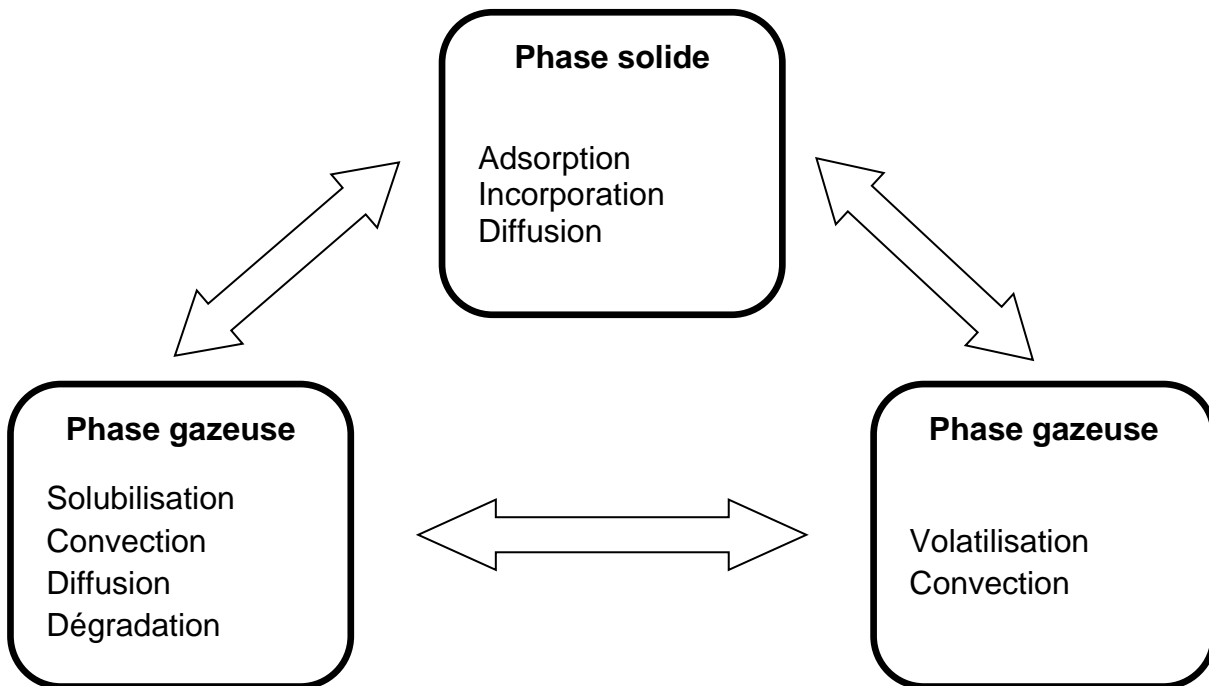


Figure 2 : Les phénomènes contrôlant le devenir des polluants dans les différentes phases de sols (Mahjoub et *al.*, 1999)

3. Phytoremédiation

La phytoremédiation est un processus biologique visant à nettoyer les sols contaminés par les polluants organiques et métalliques, donc à remédier le sol. Ce processus utilise essentiellement des plantes, mais aussi des microorganismes rhizosphériques qui leur sont associés ainsi que leur interaction avec le sol (Newman, 1995).

Selon le type de polluant et l'espèce végétale choisie, plusieurs techniques de phytoremédiation peuvent être développées, telles que présentées en figure 3 (Dubourguier et al., 2001).

3.1. Les différents types de phytoremédiation

3.1.1. Rhizodégradation

Il s'agit de la dégradation enzymatique de polluants organiques en molécules moins ou non-toxiques par les plants et/ou de leur microflore rhizosphérique, car certaines plantes produisent au niveau racinaire des enzymes qui catalysent la transformation

des substances toxiques absorbées. Ce processus est activé par la production d'exsudats racinaires qui vont favoriser les activités microbiennes ; ce qu'on appelle entre autre phytostimulation (Ward et Singh, 2004. ; Kvesitadze et al., 2006 ; Roy et al., 2007).

3.1.2. Phytostabilisation

Cette technique ne dégrade pas le substrat contaminant, mais plutôt elle permet de le capter et le stocker dans les parties aériennes de la plante, afin d'empêcher sa dispersion dans le sol et par conséquent dans les nappes phréatiques (Kvesitadze et al., 2006). Cependant, cette méthode concerne les polluants inorganiques, tels que les ions métalliques.

3.1.3. Phyto- ou rhizofiltration

La plante utilise dans ce cas ses racines pour absorber, concentrer et précipiter les polluants du sol. (Kvesitadze et al., 2006) . Cependant, certaines plantes aquatiques utilisent cette technique pour dépolluer les eaux de surface.

3.1.4. Phytoextraction

Les végétaux absorbent les minéraux et les nutriments par leur système racinaire, puis les transfèrent aux parties aériennes qui sont généralement plus importantes que les parties souterraines. Par un mécanisme similaire ils le font pour les substances toxiques.

Il existe des plantes qui s'avèrent naturellement hyperaccumulatrices pour certains éléments, cette accumulation peut dépasser 1mg/ g de matière sèche. Donc si les plantes sont récoltées et incinérées il est possible de récupérer dans les cendres les polluants intéressants pour les valoriser (phytomining).

3.1.5. Phytovolatilisation

Certains contaminants peuvent être transformés en leurs formes volatiles et évaporés dans l'atmosphère via les stomates des feuilles. Mais il se trouve que ce type de phytoremédiation ne soit pas toujours satisfaisant, car la plupart des formes volatiles des polluants sont très toxiques. Le cas le plus répandu de son utilisation est celui du sélénium car il se porte sans conséquences pour l'environnement.

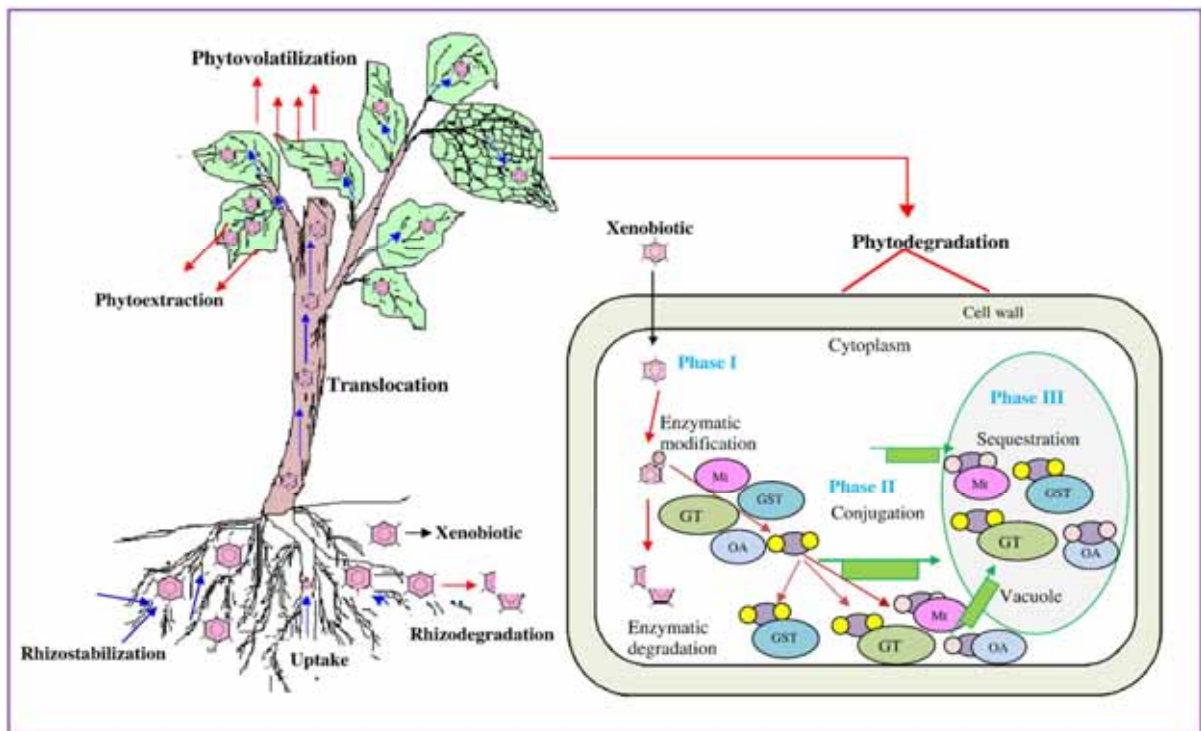


Figure 3 : Types de phytoremédiation (Newman, 2004; Pilon-Smits, 2005)

3.2. Approche de phytoremédiation des sols contaminés par les HAP

Utiliser le terme de phytoremédiation concernant les hydrocarbures ne peut être objectif que lorsqu'il soit associé avec bioremédiation, ça sous-entend donc que la plante à elle seule ne peut parvenir à une dépollution sans l'aide et l'association symbiotique d'une flore rhizosphérique et qui détient un consortium de mécanismes enzymatiques ; souvent le chemin le plus adapté à capter, transformer et dégrader les substrats polluants. La plante quant à elle, offre à cette microflore un environnement favorable à son développement, en lui conférant une multitude de sources vitales à sa croissance ; c'est donc une relation assez particulière qui règne entre les deux formes de vie ; à savoir plante-microorganisme, une relation symbiotique indissociable, où chacun trouve intérêt, et dont le sol en sera le principal bénéficiaire de cette association qui vise primordialement à le décontaminer.

3.3. Facteurs physiques et chimiques modulant la biodégradation des hydrocarbures

La biodégradation est le phénomène qui donc vise à transformer les polluants en produits moins toxiques, ou voire même à les volatiliser, et par conséquent disparaissent du sol. Cependant, cette biodégradation dépend de facteurs aussi bien

physiques que chimiques et qui jouent donc un rôle de facteur déterminant pour la dégradation des polluants.

Ces facteurs physico-chimiques qui influent sur la dégradation microbienne sont : la température, l'oxygène disponible, le pH, la salinité, les éléments nutritifs, l'osmose et la pression hydrostatique (Atlas., 1981 ; Leahy et Colwell, 1990).

➤ Teneur en oxygène et aération

L'oxygène est généralement nécessaire pour l'activité microbienne, il peut être fourni sous forme d'oxygène atmosphérique, pur, ou encore sous forme d'eau oxygénée « H₂O₂ ». (Lecomte, 1995). L'aération du sol permet d'augmenter le volume d'oxygène dans le sol, ainsi créer une atmosphère aérobie (Jestin-Hurst et al., 1996).

➤ Humidité du sol

L'eau est la source vitale pour le développement des microorganismes, en dessous d'une certaine teneur en eau le microorganisme mourra (Lallemand- Barres, 1995). L'eau transporte les nutriments dont les microorganismes ont besoin vers les cellules et favorise la catalyse des enzymes et maintient également la pression osmotique des cellules (Vogel, 2001).

➤ pH du sol

Le pH est un des paramètres les plus importants dans le sol, car les bactéries ont une gamme de Ph qui favorisent leur croissance et développement, donc pourront par la suite accomplir de activité de dégradation, cette gamme de pH est selon Lecomte (1995) comprise entre 5,5 et 8,5.

➤ Température

La température est aussi un paramètre essentiel à l'activité microbienne. (Vogel, 2001). Ainsi les communautés microbiennes sont très sensibles aux variations de températures qui les entourent, leur croissance en dépend, leur activité également.

➤ Biodisponibilité des polluants

A l'égard des facteurs cités, la biodisponibilité des polluants représente à elle seule un critère fondamental pour la biodégradation, car elle signifie que le polluant doit

être sous une forme assimilable par la communauté microbienne. Le polluant dissout en présence d'une quantité suffisante d'eau pénètre plus rapidement dans les micropores du sol, les molécules hydrophobes des polluants créent avec la matière organique du sol de fortes liaisons d'énergie, éventuellement covalentes en présence d'une activité microbienne (Gourdon et Barriuso, 2002).

3.4. Transfert, mécanismes d'entrée et facteurs influençant l'accumulation des polluants par les plantes

L'étude des transferts des contaminants aux plantes caractérise les conditions environnementales. Suivant leur origine, leur voie d'entrée dans l'écosystème ou leur dépôt, les polluants peuvent pénétrer dans les organismes végétaux selon deux voies de transfert qui sont normalement empruntés par les nutriments nécessaires à leur développement.

Les polluants présents dans le sol suivent la voie racinaire en pénétrant par les racines, ceux émis dans l'atmosphère suivent la voie foliaire en pénétrant par les feuilles, une fois la pénétration effectuée à travers les barrières constituées par les épidermes, les polluants sont redistribués dans les différents organes du végétal par les canaux xylémiens (sève brute) et phloémiques (sève élaborée) puis essentiellement compartimentés à l'intérieur des cellules.

Les plantes prélèvent la majeure partie de leurs nutriments sous forme d'ions libres présents dans la solution du sol. Les éléments d'intérêt, parfois isotopes radioactifs d'éléments essentiels et / ou présents sous forme stable dans le sol pénétrant dans la racine en empruntant les mêmes voies que les éléments nutritifs.

Le transfert racinaire est le résultat de processus successifs qui contribuent à l'internalisation finale de l'élément en solution dans la racine (absorption *sensu stricto*), une fois internalisé, l'élément est transloqué dans le reste du végétal. Le transfert racinaire en fonction de l'élément, des conditions physico chimiques du sol et de l'espèce végétale ainsi que l'ensemble des paramètres climatiques, anthropiques qui agissent sur les différents composants du système (Forbes et Forbes, 1997).

II. Matériel et méthodes

1. Le lixiviat

La décharge publique de la ville d'Oued Smar (13 Km de la ville d'Alger) d'une superficie de 37.5 hectares a été prise comme modèle pour mener l'étude d'impact des lixiviats sur l'environnement, c'est-à-dire examiner leur contenu en composés organiques toxiques, ainsi que leur internalisation au niveau des plantes candidates visant à réduire cette charge toxique, et ainsi remédier le sol contaminé.

Pour cela des prélèvements de lixiviats ont été effectués, et des analyses instrumentales ont été réalisées.

2. Les plantes candidates

2.1. *Acacia horrida*

C'est un arbuste de taille variant entre 4 et 6m de hauteur, cette espèce est répandue en Afrique et notamment en Algérie, car très tolérante à la sécheresse ainsi qu'à la salinité. Elle est dotée d'épines stipulaires sur les tiges et les rameaux

Les feuilles sont bipennées, de couleur vert pâle, glauques, composées, alternes, avec de nombreux folioles.

Les glomérules de fleurs jaunes groupées en courtes grappes donnent ensuite des gousses aplaties et oblongues, contenant des graines de couleur noire.

2.2. *Acacia saligna*

Communément appelée Mimosa, arbuste originaire d'Australie, a su trouvé sa place sur les sols calcaires et sableux. Mesure jusqu'à 5 mètres de hauteur. Cette espèce est connue pour ses grandes facultés à noduler et donc très utilisée pour la fixation de l'azote.

2.3. *Leucaena leucocephala*

Originaire du Mexique, cet arbuste est appelé « Faux Mimosas ». Possède de longues feuilles alternes et bipennées. Ses fruits sont de longues gousses plates (10 à 15 cm) vertes translucides virant au brun à maturité qui laissent voir par transparence des petites graines,

2.4. *Albizzia lophanta*

Originnaire d'Australie, cet arbuste appartient à la famille des Fabacées, peut atteindre jusqu'à 5 mètres de hauteur et devient très envahissant. Cependant, sa durée de vie est très courte.

3. Dispositifs expérimentaux

A l'insu des croissances escomptées, nous avons procédé à l'étude de la germination des graines des quatre espèces étudiées.

Afin d'accélérer la germination des graines, deux traitements préliminaires sont préconisés, à savoir : la scarification et l'imbibition.

- Scarification : étape qui consiste à briser l'enveloppe naturelle de la graine à l'aide d'un couteau ou du papier de verre.
- Imbibition : il s'agit d'imbiber nos graines avec de l'eau, une incubation de 7 jours à 22°C et à l'abri de la lumière a été établie. Seules les graines ayant germés, c'est-à-dire dont la radicule a pointé sont utilisées pour la suite de nos expériences.

Les graines germées, ont été introduites dans des pots contenant 200 g de sol, et sont par la suite irriguées de différentes concentrations de lixiviat.

La mise en culture a pris une durée de 12 semaines, les plants sont déterrés, une pesée de leur poids secs est effectuée après un séjour de 48h à 86°C.

Les différents plants sont finement broyés, et acheminés vers le laboratoire d'analyse chromatographique où ils subiront une préparation en vue d'obtenir un échantillon prêt pour analyse par GC/MS.

4. Analyse du lixiviat

Le lixiviat qui a servi d'échantillon en vue d'analyse et qui provient du puits de forage N°8 de la zone de décharge d'Oued Smar a été transporté dans une glacière et dans un flacon en verre borosilicaté stérilisé au préalable.

4.1. Caractéristiques physiques et chimiques du lixiviat

Les analyses préliminaires qui visent à caractériser le niveau de pollution général du lixiviat, elles englobent : le pH, la DCO, la DBO5, la turbidité, l'azote total.

➤ Le pH

Mesure électrométrique à l'aide d'un pH mètre de marque METTLER TOLEDO modèle SevenEasy™ S20. Il s'agit d'introduire l'électrode du pH-mètre dans le lixiviat, et d'en noter le résultat.

➤ DCO

Est la consommation en O₂ par les oxydants chimiques forts pour oxyder les substances organiques et minérales de l'eau. Elle permet d'évaluer la charge polluante des eaux usées.

La DCO est une des mesures principales des effluents pour les normes de rejet.

La mesure de la DCO a été effectuée selon la norme ISO 6060.1989

- Prélever 10ml d'échantillon d'eau à l'aide d'une pipette jaugée et les mettre dans le tube à réaction.
- Sous la hotte aspirante, ajouter 5ml de solution de dichromate de potassium et de la pierre ponce et agiter doucement.
- Ajouter 15ml de sulfate d'argent et mettre immédiatement les tubes à condensation.
- Porter la température de la réaction (148-3°C) durant 10min et continuer de chauffer pendant 10min.
- Faire refroidir jusqu'à 60°C et rincer le réfrigérant avec un petit volume d'eau.
- Enlever le réfrigérant et diluer les tubes à réaction avec 75ml d'eau et refroidir.
- Titrer l'excès de dichromate avec le sulfate de fer(II) ammonium, utiliser 1 à 2 gouttes de l'indicateur Ferroin, le virage de fait du bleu-vert au rouge-marron.

Le calcul se fait selon la formule :

$$DCO = (V_0 - V_1) \times C \times 8000 / V_e$$

Où :

C : Concentration du sulfate d'ammomium ferreux (II) en mol/l

V_e : volume d'échantillon

V_0 : volume consommé du sulfate d'ammomium ferreux (II) de l'échantillon témoin

V_1 : volume consommé du sulfate d'ammomium ferreux (II) de l'eau

8000 : masse molaire de $1/2 O_2$ mg/l

➤ **DBO₅**

Correspond à la quantité d'O₂ nécessaire aux micro-organismes aérobies de l'eau pour oxyder les matières organiques, dissoutes ou en suspension dans l'eau. Il s'agit donc d'une consommation potentielle de dioxygène par voie biologique. Ce paramètre constitue un bon indicateur de la teneur en matières organiques biodégradables d'une eau.

Le protocole suivi est selon la norme ISO 5815-1989 :

- Préparer la solution à blanc qui est considéré comme le témoin
- Ajuster le pH de l'échantillon entre 6 et 8.
- Prélever 10ml de l'échantillon et mettre dans une fiole de 100 ml puis ajuster (dilution de 1/10).
- Prélever respectivement 7, 15 et 30ml de l'échantillon dilué et les mettre dans des fioles spéciales DBO₅.
- Préparer en parallèle 2 fioles de DBO pour les blancs.
- Transvaser 350 ml de l'eau de dilution dans une éprouvette d'un litre et agiter 20 secondes puis remplir respectivement les fioles des blancs

ainsi que les autres fioles contenant les différentes dilutions.

- Doser l'O₂ dissout de ces dernières sous agitation. La valeur est indiquée par l'oxymètre est DBO₁.
- Mettre les fioles dans l'incubateur à 20°C pendant 5 jours et puis mesurer la DBO₅ une deuxième fois ; la valeur est la DBO₂.

Le calcul de la valeur de DBO₅ est comme suit :

$$DBO_5 = (DBO_1 - DBO_2) \times F \times V_t / V_e \quad (\text{mg/l})$$

DBO₁ : concentration initiale de l'O₂ dissous en mg/l

DBO₂ : concentration de l'O₂ dissous après 5 jours en mg/l

V_t : volume total de l'échantillon

V_e : volume prélevé de l'échantillon

F : le facteur de dilution

4.2. Composition en HAP du lixiviat de puit de la CET d'Oued Smar

Pour déterminer la composition en HAP des lixiviats de la décharge d'Oued Smar, nous avons fait appel à la GC-MS.

Dans notre cas, nous avons utilisé une GCMS de marque Varian Saturn 2100T, équipé d'une colonne en silice. La séparation des analytes est réalisée après injection à 123° isotherme ou programmation avec un débit de 50 Flow (ml/min). Le gaz vecteur étant l'He. A la sortie de la colonne, le spectromètre de masse est utilisé comme méthode de détection. Les résultats sont acquis par l'ordinateur de qui après interrogation d'une base de données locale identifient les molécules. Pour répondre à nos besoins, une base de données a été enrichie par une analyse étalon de 50 Flow (ml/min). plusieurs composés organiques.

4.2.1. Principe de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS)

Cette méthode a pour but de réunir deux appareillages qui sont la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et la spectrométrie de masse (MS) afin de permettre une analyse qualitative et quantitative de l'échantillon à la fois.

La CPG a pour rôle de séparer tous les composés volatils se trouvant dans un mélange. Donc il est nécessaire avant d'entreprendre une CPG de soumettre l'échantillon à une préparation visant à écarter au maximum les molécules insuffisamment volatiles. Pour ce fait, il a fallu traiter l'échantillon avec de l'hexane ; un solvant pour éliminer les traces d'eau. Mettre dans un dispositif de distillation afin de récupérer le distillat sensé contenir les molécules de notre recherche, à savoir ; le phénol, le crésol, le toluène, le benzène et le cyclohexane.

Dispositif de distillation

Une fois l'échantillon préparé et prêt à être injecté par une microseringue dans la colonne de la CPG, un gaz est utilisé comme vecteur, dans notre cas nous avons utilisé de l'Helium (He) ; gaz inerte et qui sert à véhiculer les analytes qui se trouvent dans la colonne analytique. Chaque composé a une température d'ébullition qui dépend de son poids moléculaire ainsi que de sa polarité, donc un composé est d'autant plus volatile et donc migre plus vite dans la colonne que son point d'ébullition est faible.

- Le Benzène est de masse molaire de 78,11 g/mol, ainsi qu'une température d'ébullition de 80,1 °C.
- Le phénol est de masse molaire de 94,11124 g/mol, ainsi qu'une température d'ébullition de 181,7 °C.
- Le toluène est de masse molaire de 92,14 g/mol, ainsi qu'une température d'ébullition de 110,6 °C.
- Le cyclohexane est de masse molaire de 84,16 g/mol, ainsi qu'une température d'ébullition de 80,74 °C.

- Le crésol est de masse molaire de 108,14 g/mol, ainsi qu'une température d'ébullition de 203 °C.

Les analytes sont donc détectés à leur sortie de la colonne et chaque molécule est caractérisée par un temps de rétention « TR ». On peut facilement l'identifier en comparant ce temps de rétention à celui l'étalon qui est enregistré préalablement dans le système.

Une fois les analytes détectés qualitativement par la CGP, vient ensuite le rôle de la spectrométrie de masse de les quantifier par dénombrement d'ions.

Le spectromètre de masse permet l'identification et la quantification des analytes. Il existe de nombreux types de spectromètres de masse ; tous ont en commun trois éléments : une source, un analyseur et un détecteur.

A la sortie de la colonne de CPG, l'intégralité des analytes entrent dans une chambre d'ionisation qui est la source où il y'a formation d'ions gazeux. La nature de la source utilisée dépend de l'état physique de la substance à analyser. En couplage avec un chromatographe en phase gazeuse, les composés élués arrivent au spectromètre à l'état gazeux. Les sources utilisées sont dites à "ionisation électronique" ou à "ionisation chimique"; on parle d'"EI" pour "Electron Ionization", de "CI" pour "Chemical Ionization". Leur usage est réstervé à l'analyse des composés gazeux ou facilement volatilisables (point d'ébullition n'excédant pas 400°C). La source est maintenue à une température élevée (généralement comprise entre 100 et 250°C) pour éviter la condensation des analytes.

L'ionisation électronique consiste à "bombarder" les molécules par un faisceau d'électrons de haute énergie. Les électrons sont alors produits par le chauffage d'un filament métallique comme le tungstène pour notre cas, ainsi, les électrons sont accélérés par une différence de potentiel de 70 V par une électrode chargée positivement vers l'analyseur qui va séparer les ions dans une enceinte où règne le vide, qui permet de déterminer le rapport masse sur charge de l'ion en question. Ainsi, la trajectoire des ions peut être stabilisée ou non en fonction de leur rapport masse/ charge et seuls les ions qui ont une trajectoire stable qui pourront atteindre le détecteur qui va recueillir ces ions séparés et un système d'acquisition par

production de signal, va traiter les données et fournir un spectre de masse de chaque analyte.

Ce spectre de masse est représenté par une courbe de Gauss ou un diagramme en bâtonnet.

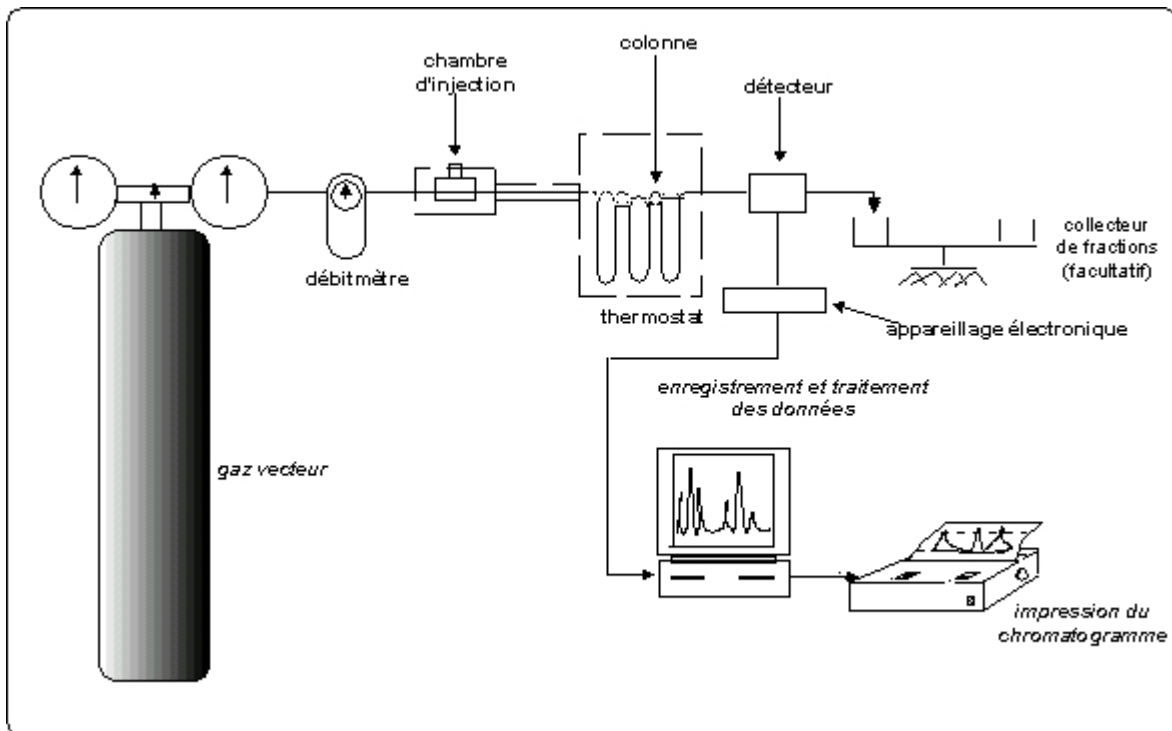


Figure 4 : Schéma de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

5- Analyse granulométrique du sol

Pour les besoins de l'étude expérimentale sur la dépollution des sols, une analyse granulométrique a été réalisée et qui consiste à classer les éléments du sol selon leur grosseur, et ainsi déterminer le pourcentage de chaque fraction. La disposition des différents pourcentages de chaque fraction définit la texture du sol (Jacobsan, 2001).

L'analyse granulométrique s'effectue sur une prise d'essai de terre fine (élément <2mm). Une portion d'échantillon est séparée par vibration sur une série de tamis superposés, par suite, le contenu de chaque tamis est pesé et la fraction d'échantillon recueillie par tamis est rapportée sur la quantité d'échantillon totale. Son principe est le suivant :

- Détruire la matière organique par addition d'eau oxygénée.
- Utiliser l'hexametaphosphate de sodium ; un dispersant énergétique et agiter mécaniquement.
- Effectuer des prélèvements à l'aide d'une pipette Robinson, dans des flacons à sédimentation à des profondeurs et à des moments déterminés.

Mode opératoire de l'analyse granulométrique du sol

- ✓ Introduire 5 g de terre fine ($\Phi < 2\text{mm}$) et séchée, dans un becher de 600ml.
- ✓ Verser dans le becher 50 ml d'eau oxygénée à 20%.
- ✓ Recouvrir le becher avec un morceau de verre afin d'éviter toute projection en dehors du becher pendant la durée d'effervescence.
- ✓ Mettre le becher sur un bain de sables dont la température ne doit pas dépasser 85°C.
- ✓ La durée de l'effervescence dépend de la teneur en matières organiques (24 à 48h).

- ✓ S'assurer que toute l'eau oxygénée ait disparue en versant quelques gouttes du liquide chaud dans une solution de permanganate de potassium. En présence d' H_2O_2 de permanganate de potassium se décolore.
- ✓ Verser dans le flacon, 20ml d'hexametaphosphate de sodium (50g/l). cette solution alcaline a pour rôle de disperser les particules qui ont tendance à s'agglomérer.
- ✓ Agiter le flacon pendant une heure sur un agitateur mécanique.
- ✓ Compléter avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge à 1000ml.
- ✓ Porter le flacon à proximité de la pipette Robinson qui doit être placée dans une pièce à température constante.

Les résultats de l'analyse granulométrique sont représentés par la figure x.

6- Etude du comportement des légumineuses ligneuses

L'expérimentation est menée avec les quatre espèces à savoir *Acacia horrida*, *Acacia saligna*, *Leucaena leucocephala* et *Albizzia lophanta*.

Afin de connaître la tolérance des quatre espèces vis-à-vis du lixiviat un test de germination a été effectué sur 100 graines de chaque espèce qui ont été imbibées à des concentrations différentes de lixiviat, et ce pendant 48 h.

Le lixiviat a été dilué au nombre de quatre fois (04), chaque dilution représente un dixième de la précédente (1/10).

L'effet des concentrations du lixiviat sur la germination des plants est représenté par la figure X.

Dans un deuxième temps, nous avons testé la croissance des plants exprimée en poids secs des plants après 10 semaines et soumis au lixiviat.

III. Résultats et discussion

1. Résultats

1.1. Analyse du lixiviat

L'analyse du lixiviat nous a permis d'identifier les hydrocarbures présents dans ce dernier et aussi de les quantifier.

Le tableau suivant présente la composition du lixiviat en hydrocarbures ainsi que les paramètres physicochimiques mesurés.

Tableau N°1 : Composition physicochimique du lixiviat et quantification des hydrocarbures

Parametres	Unité	lixiviat	Normes
pH	/	6.93	6.5 – 8.5
DCO	mg/l	1663	< 300
DBO5	mg/l	375	<120
Phénol	µg/l	2,6	<0,2
Crésol	µg/l	3,2	<0,2
Benzene	µg/l	9,2	<0,2
Toluene	µg/l	7,2	<0,2
Cyclohexane	µg/l	1,6	<0.2

Nous remarquons d'abord que le pH du lixiviat est neutre, et que dans ce spectre les bactéries peuvent se développer, par contre il n'aide pas les composés organiques à caractère hydrophobe à se solubiliser.

En fait les lixiviats sont formés par la solubilisation de composés dans les eaux qui percolent à travers les déchets (Callace et al., 2001). Ces composés sont présents initialement ou ils résultent de réactions chimiques et biologiques. De nombreux éléments chimiques et constituants organiques vont se retrouver dans les lixiviats. La constitution de ces liquides va dépendre du degré d'avancement de décomposition,

de la composition initiale des déchets, des procédures opérationnelles et de la toxicité des résidus. D'une façon générale, leurs concentrations diminuent avec le temps, car la plupart d'entre eux sont dégradés par des micro-organismes aérobies ou anaérobies. Cependant, leur présence peut devenir toxique envers certains organismes et annihiler plusieurs métabolismes bactériologiques. De plus, beaucoup de ces composés ont des propriétés acido-basiques et vont influencer sur le pH.

Ainsi, des valeurs extrêmes (1,5 et 9,5) ont déjà été mesurées dans des sites (El-Fadel *et al.*, 1997), degrés d'acidité ou de basicité pour lesquels les développements bactériens ont été complètement bloqués.

Nous notons des valeurs élevées de DCO et DBO₅, ce qui concorde avec les fortes teneurs en HAP obtenues et qui ont dépassé les normes. La présence de ces composés résulte du mélange de déchets provenant à la fois des ordures ménagères mais aussi des sites industriels situés à proximité, il faut savoir que la zone d'Oued Smar est une zone à activité industrielle.

En effet, au niveau des composés organiques xénobiotiques rencontrés dans les lixiviats, les plus fréquents sont le benzène et le toluène. Ces composés sont difficiles à mesurer mais ils font partie des matières révélées par les tests de demande chimique en oxygène (DCO) (Kennedy et Everett, 2001).

Le benzène et les composés phénoliques (phénol, o-crésol, dichlorophénol) ont tendance à rester constants, en conditions réductrices et ne sont absolument pas dégradés (Christensen *et al.*, 2001).

1.2. Analyse du sol

1.2.1. Analyse granulométrique du sol

L'analyse granulométrique du sol d'expérimentation a fourni les données suivantes :

Tableau N°2 : Analyse granulométrique du sol

Paramètres analysés	Sables grossiers	Sables fins	Limons	Argiles
résultats	07	10	26.70	62,30

Le sol est classé selon le triangle des textures des sols comme un sol argileux limoneux (U.S.D.A 1986).

Cette texture permet un bon développement des racines, et rend le sol suffisamment perméable pour permettre une bonne rétention en eau, ce qui favorise le transfert entre les différentes phases du sol.

La proportion d'argile élevée fournit aux bactéries l'environnement favorable pour leurs activités car l'argile se comporte comme entrepôt dans lequel serait mise en réserve une partie des ressources nutritives et de l'eau (Davet, 1996).

1.2.2. Analyses microbiologiques du sol

L'analyse microbiologique du sol a révélée un taux de croissance bactérienne de l'ordre de 10^9 germes/g de sol, ce dénombrement exprime l'abondance des germes telluriques. Il faut noter que cette partie d'analyse a pour but de quantifier les microorganismes susceptibles à contribuer à la bioremédiation. Ainsi la norme pour toute biodégradation du sol exige au moins une teneur de 10^6 germes/g de sol (Battle et Nfesc, 1996).

Quand aux champignons, le dénombrement est de l'ordre de 10^4 par g de sol.

Ces résultats nous montrent qu'il y a une forte activité bactérienne et fongique dans le sol.

1.3. Germination des graines

Dans le cadre de cette étude, nous avons réalisé une germination des quatre type de graines de légumineuses avec une imbibition au préalable à différentes concentrations de lixiviat, en commençant par le lixiviat pur (5/5), puis nous avons procédé à des dilutions au 1/10 à chaque fois. Cette étape a pour but de poursuivre l'étude dans la mesure où nous saurons ainsi si ces graines sont tolérantes ou pas quant au lixiviat, c'est-à-dire que si elles arrivent à germer dans ces conditions cela nous rendra optimiste quant à la croissance ultérieure.

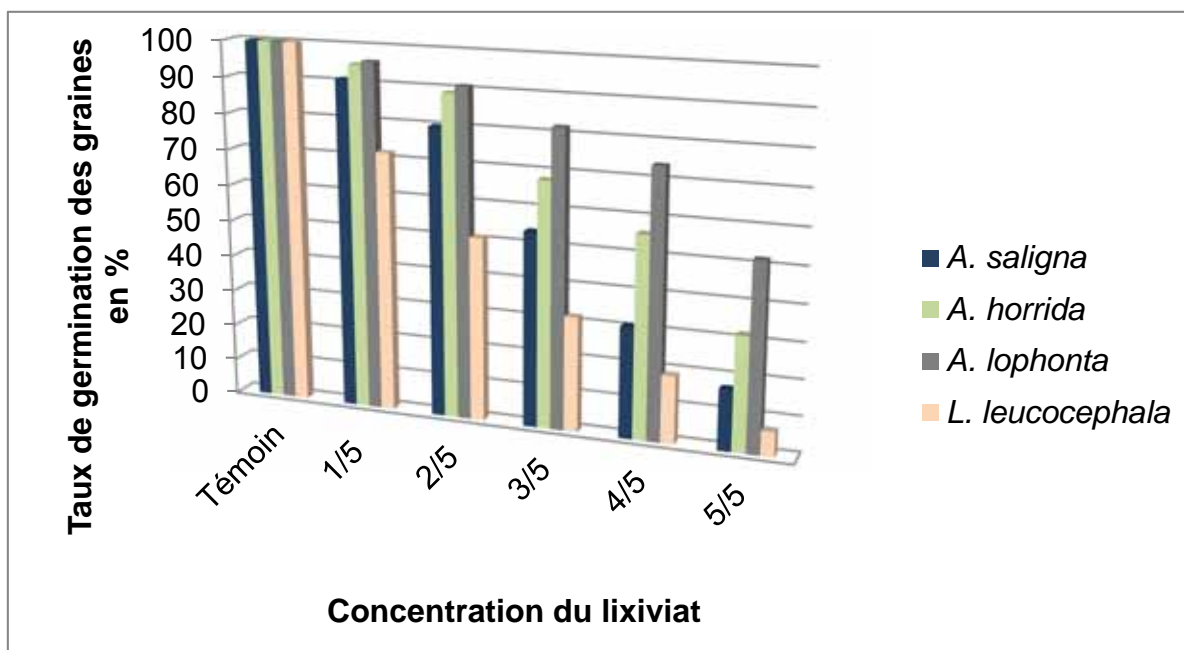


Figure N° 5 : Taux de germination des graines des quatre espèces de légumineuses à différentes concentrations de lixiviat

Ces résultats montrent que les concentrations de lixiviat ont des incidences sur la germination des graines des quatre espèces comparativement aux témoins dans lesquels toutes les graines ont germé. Même à l'état pur du lixiviat, plus de la moitié du nombre de graines d'*Albizzia lophanta* a pu germer.

L'espèce *Acacia horrida* vient en seconde position et dont le taux de germination des graines soumises au lixiviat pur a atteint le tiers. Ceci laisse entendre que ces deux espèces à savoir *Albizzia lophanta* et *Acacia horrida* sont tolérantes aux composés organiques toxiques ; hydrocarbures dans notre cas, contenus dans le lixiviat.

Les espèces *Acacia saligna* et *Leucaena leucocephala* sont beaucoup moins tolérantes vis-à-vis du lixiviat, et ce n'est qu'à partir de la troisième dilution du lixiviat que la tolérance des graines prend le dessus sur de la moitié du nombre de graines total.

1.4. Croissance des légumineuses sur le sol contaminé

Dans cette partie d'expérimentation où la croissance végétale des quatre espèces de légumineuses a été testée vis-à-vis du lixiviat qui a été source de nutriments pour la graine, nous remarquons que face à la composition en polluants organiques du

lixiviat, les plants ont quand même pu croître, certaines plus tolérantes que d'autres ; dans ce cas *Albizzia lophanta* s'est montrée très tolérante vis-à-vis des hydrocarbures contenus dans le lixiviat.

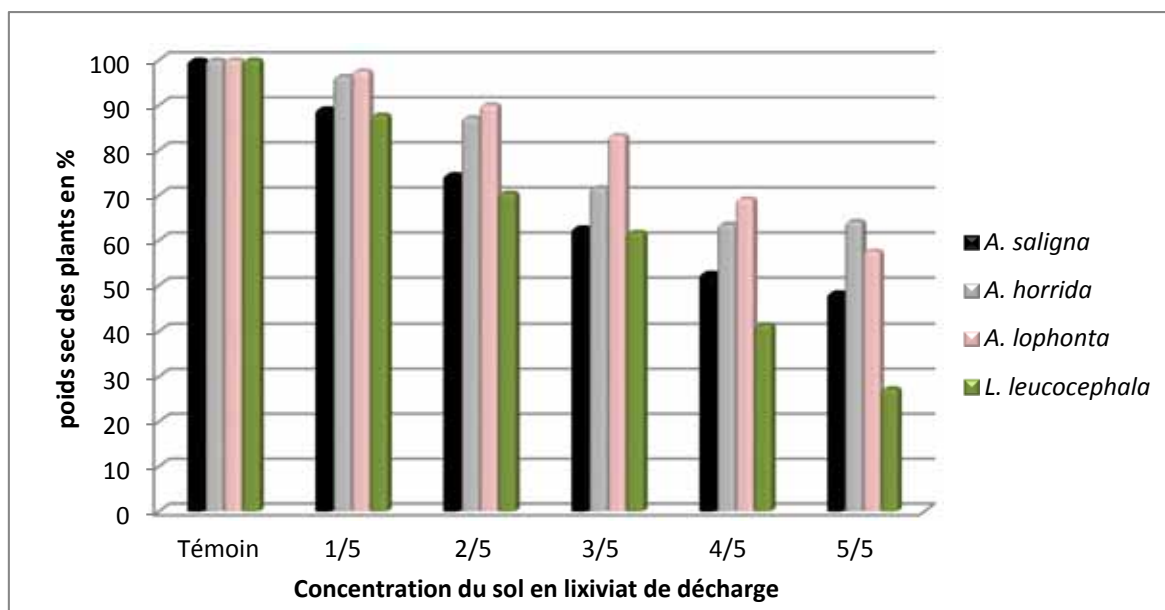


Figure N° 6 : Taux de croissance des quatre espèces de légumineuses à différentes concentrations de lixiviat

Ces résultats présentent une certaine positivité quant à l'assimilation des hydrocarbures contenus dans le sol par les plants, étant donné que le lixiviat en contient beaucoup. Les différentes dilutions du lixiviat ont permis la croissance des plants ; *Acacia horrida* a montré des résultats très prometteurs avec un taux dépassant la moitié du nombre initial de plants.

Albizzia lophanta s'est également révélée positive quant à sa croissance dans un milieu qui comporte des taux très élevés de polluants.

Pour *Acacia saligna* et *Leucaena leucocephala* ce, les résultats sont plus ou moins satisfaisants, mais il y 'a eu quand même croissance, ceci prétend donc dire qu'elles ont également un pouvoir dépolluant, certes moindres par rapports à leurs prédécesseurs, mais elles ont pu résister et croître dans ces conditions.

1.5. Effet de croissance sur la microflore

Le tableau suivant nous montre le dénombrement de la microflore totale et des champignons totaux dans le sol ayant servi de support pour la croissance des différents plants et ce après 5 semaines de végétation.

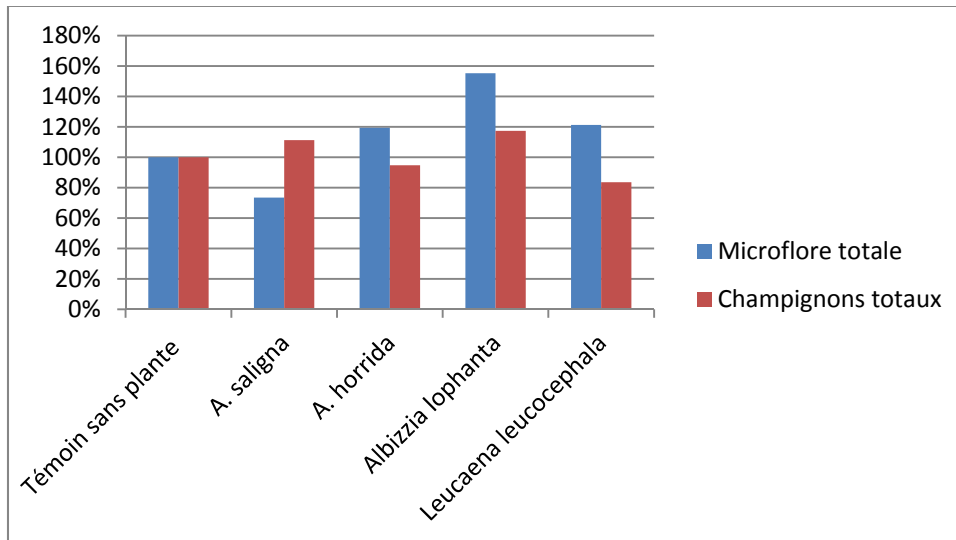


Figure N°7 : Résultats de l'effet de la croissance des légumineuses sur la microflore

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que la croissance des plants a de l'effet sur le nombre des microflore bactériennes et fongiques du sol, en comparant ce dénombrement exprimé en pourcentage ; toutes les espèces, à savoir **Albizzia lophanta**, **A. horrida**, **Leucaena leucocephala** et **A. saligna** se sont montrées positives quant à la prolifération bactérienne. Cette augmentation désigne que les plants stimulent cette prolifération ; ceci est expliqué par le fait que les plants de par leur exsudats racinaires fournissent aux bactéries le carbone nécessaire à la croissance de la microflore rhizosphérique via son exsudation racinaire et permet l'aération du sol (Reilley et *al.*, 1996).

Cette exsudation racinaire est différente d'une plante à une autre, car du point de vue quantitatif, nous remarquons une différence entre le nombre de germes ayant proliféré par rapport à chaque plant ; **A. saligna** s'est montrée moins stimulante quant au développement de la microflore bactérienne, par contre en ce qui concerne les champignons il y a eu une très bonne stimulation, ceci est due à la différence de métabolisme entre les bactéries et les champignons.

1.6. Résultats de la capacité de remédiation

Les résultats portent sur la capacité des plants à dépolluer le sol des HAP qui le contaminent, et ce, en présence des bactéries et champignons dénombrés précédemment.

Le tableau suivant nous montre les résultats des HAP exprimés en % restant dans le sol après croissance des plants.

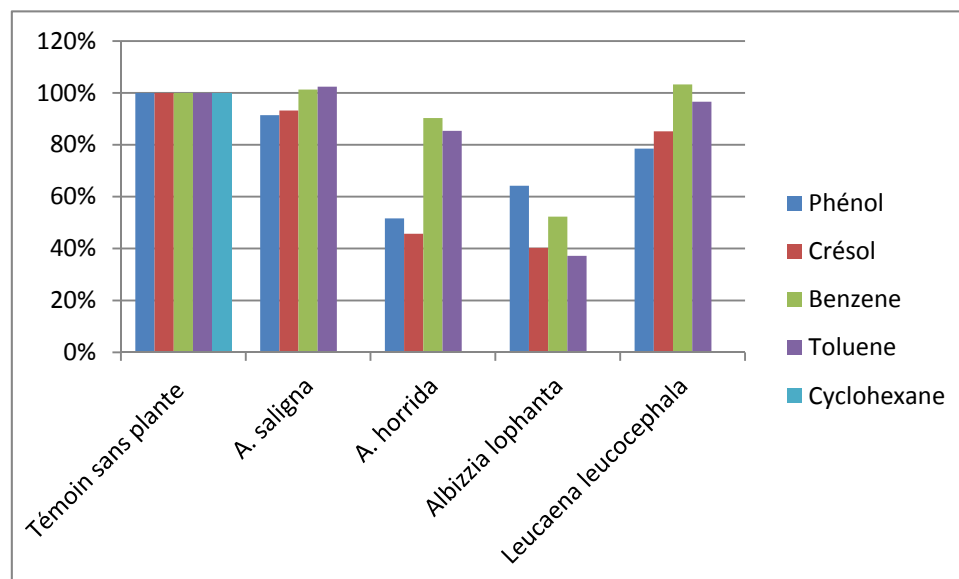


Figure N°8: Capacité de remédiation du sol par les plants vis-à-vis des hydrocarbures

Les résultats obtenus, nous indiquent que les plants ont pu dégrader les hydrocarbures présents dans le sol vu que la quantité initiale a diminué. Ce pouvoir dépolluant des légumineuses ligneuses est différent d'une espèce à une autre, dans ce cas nous notons que les espèces **Albizzia lophanta**, **A. horrida** sont les espèces les mieux adaptés à la dégradation des hydrocarbures, tandis que **A. saligna** a montré des résultats très faibles quant à la remédiation du sol contaminé par les hydrocarbures, pour **Leucaena leucocephala** ; sa capacité de remédiation demeure beaucoup moins que les précédentes.

Cependant, l'élimination des hydrocarbures étudiés suit des mécanismes très différents, nous remarquons pour le cas du cyclohexane une élimination complète, effectivement, ce composé est très volatil, de plus, ce composé est accumulé préférentiellement au niveau de la membrane phospholipidique des bactéries (Sikkema *et al.* 1994).

Pour le cas du benzène et le toluène, leur dégradation s'est avérée difficile, en effet, différentes études montrent, que ce sont des substances faiblement volatiles et que

la biodégradation entre en compétition avec le phénomène de volatilisation (Farhadian *et al.*, 2008).

Il a été signalé que les plantes transforment le benzène en métabolites tels les acides aminés (Dumishidze et Ugrekhelidze, 1969), ce qui porte à croire qu'elles participent peut-être aussi à l'élimination du benzène des sols (Cross *et al.*, 1979). Les facteurs de bioaccumulation variaient de 4,6 à 17 et de 1,9 à 10 pour l'orge (*Hordeum sp.*) et le cresson (*Cruciferae sp.*), respectivement (Topp *et al.*, 1989). Des facteurs de bioaccumulation ≥ 10 ont été déterminés après de courtes expositions (12 j), tandis que des expositions plus longues (>33 j) se traduisaient par des facteurs moins élevés (<5), qui correspondaient à une augmentation des résidus fixés dans les plantes et des métabolites polaires.

Le phénol et le crésol sont les hydrocarbures les mieux dégradés par ***Albizzia lophanta*** et ***A. horrida*** ; des études sur ces deux composés ont montré qu'ils sont facilement dégradés par les champignons du genre *Aspergillus* ainsi que par les bactéries du genre *Bacillus* (Duffner *et al.*, 2000).

L'existence d'une corrélation entre le poids moléculaire du composé et sa résistance à la dégradation constitue un principe général permettant d'expliquer les comportements des diverses molécules aromatiques face au processus de dégradation (Goodine et Webber, 1995; Potter *et al.*, 1999). Plus les molécules sont de petites tailles, plus elles sont considérées sujettes aux processus de biodégradation (Feix and Wiart, 1995).

Nous constatons qu'il existe une corrélation entre le nombre de la microflore présente dans le sol et le pourcentage des hydrocarbures qui ont été dégradés, cette association microflore/ plante offre un avantage quant à la dégradation des hydrocarbures. Plus le % de microflore augmente, moins de % des hydrocarbures est retrouvé dans le sol.

En effet, les systèmes microbiens transforment le benzène en catéchol par hydroxylation. Les bactéries peuvent soit convertir le catéchol en pyruvate et en acétaldéhyde par un métaclivage, soit convertir le catéchol en bêta-cétoadipate par un orthoclivage (Smith, 1990). Les bactéries anaérobies ont très peu de capacité à métaboliser le benzène. Les bactéries anaérobies méthanogènes peuvent transformer un faible pourcentage du benzène en phénol, en cyclohexanone et en

d'autres acides aliphatiques mais elles ne produisent que peu de méthane ou de dioxyde de carbone en utilisant le benzène comme substrat (Grbić-Galić et Vogel, 1987). Les métabolites intermédiaires du benzène dans les bactéries sont transformés rapidement et ne persistent pas (Gibson, 1977).

Attaway and Schmidt (2002) montrent par exemple l'efficacité de dégradation du benzène et du toluène par les souches de *Pseudomonas putida*. Une étude de Prenafeta-Boldu et al. (2002) sur la dégradation du benzène et du toluène par un champignon (*Cladophialophora sp.*, souche T1) montrent l'aptitude de cet organisme, tout comme celle des bactéries, à dégrader ces molécules, mis à part le benzène, par assimilation et cométabolisme. Le toluène et l'éthylbenzène servent alors de source de carbone et d'énergie (Attaway and Schmidt, 2002).

La dégradation des cycles aromatiques peut être définie en deux phases :

- ✓ Dihydroxylation du cycle aromatique, différente selon le type de cellule (par une cellule eucaryote ou procaryote).
- ✓ Clivage du cycle aromatique dihydroxyle par une oxygénase avant d'être assimilé sous forme de pyruvate et d'acétaldehyde ou sous la forme de succinate.

2. Discussion

Les polluants organiques peuvent être extraits par les plantes et accumulés, métabolisés ou volatilisés. Plusieurs plantes, notamment les herbacées, les légumineuses ou certaines espèces ligneuses ont été décrites pour leur tolérance et leurs capacités à participer à la dissipation des polluants organiques du sol (Green et Hoffnagle, 2004 ; Pilon-Smits, 2005 ; Sterckman et al., 2012 ; Wessels Perelo, 2010). De ce fait, plusieurs mécanismes assez complexes expliquent les phénomènes qui se produisent au niveau de la plante et qui mènent à la phytoremédiation.

Nous pouvons expliquer le passage du composé organique toxique du sol vers la plante par les phénomènes suivants :

La transformation : Il s'agit de la transformation du substrat initial qui est le polluant organique dans notre cas, cette transformation est sujette à de nombreuses réactions différentes grâce à des enzymes que contient la plante. Les

transformations qui peuvent avoir lieu sont l'oxydation, l'hydroxylation, la déhalogénéation, la réduction, l'estérification et l'hydrolyse du polluant.

Les principales réactions rencontrées au niveau des racines des plants sont :

- L'oxydation, en particulier avec les composés lipophiles, ceci permet d'augmenter leur solubilité afin qu'ils deviennent mieux assimilables.
- L'hydroxylation, soit l'ajout de la fonction alcool (-OH) à la molécule polluante en question.

Les enzymes prédominantes qui assurent cette phase sont, chez la plupart des plantes, des cytochromes P-450 et des peroxydases.

La conjugaison : A la suite de la transformation, une étape de conjugaison survient. C'est la conjugaison primaire qui a lieu avec plusieurs molécules telles que l'acide malonique, le D-glucose, le glutathion, la cystéine ou encore d'autres acides aminés. Des enzymes utilisent les groupes fonctionnels ajoutés lors de la transformation pour lier les molécules entre elles. Au final, on obtient un composé conjugué plus soluble dans l'eau et moins toxique que le produit initial. Il est alors soit déposé dans la vacuole soit incorporé dans les tissus structurels.

La séquestration : Si le composé n'est pas complètement métabolisé ou libéré par la plante après la conjugaison, une dernière étape est souvent observée. Il s'agit de la séquestration. L'objectif est de rendre les polluants inertes et non extractibles. Ils sont alors stockés dans des tissus non métabolisables comme la paroi de cellules. Pour cela, les produits conjugués sont liés à des molécules structurelles comme la lignine ou l'hémicellulose dans les feuilles. Dans les tiges, par contre, les polluants sont associés à la pectine et la lignine.

Donc nous pouvons dire que le rôle de la plante sur la dégradation des HAP est fortement corrélé aux racines des plants. Les enzymes les plus fréquentes impliquées dans la biodégradation sont des déhalogénases, laccases, peroxydases, nitrilases, nitroréductases (Surarla et *al.*, 2002 ; Gerhardt et *al.*, 2009 ; Ndimele, 2010). Ceci dit, la microflore de la rhizosphère peut accélérer la biodégradation de ces composés (Lee et Banks, 1993), car certains microorganismes dégradent les HAP (Alkorta et Garbisu, 2001 ; Shann, 1995 ; Sung et *al.*, 2001 ; Yoshitomi et Shann, 2001).

Conclusion

Nous pouvons conclure au terme de cette étude que la phytoremédiation semble être une méthode très efficace à l'encontre de la dépollution biologique qui fait intervenir ainsi des procédés qui visent à réduire la charge en composés qui polluent l'environnement.

Cependant, nous remarquons des différences significatives au niveau de la tolérance ainsi qu'à l'assimilation des composés organiques toxiques contenus dans les lixiviats de décharge par les plants étudiés.

Nous avons choisi le lixiviat de par sa composition chargée en hydrocarbures ainsi qu'une multitude d'autres polluants organiques, inorganiques et même métalliques, de ce fait, ces polluants enfouis dans les puits de lixiviats rejoignent les nappes phréatiques et donc constituent un danger potentiel pour l'homme et l'environnement.

Dans notre cas, *Albizzia lophanta* s'est montrée très tolérante quant la concentration du lixiviat en hydrocarbures, et a donnée de très bon résultats de germination ainsi qu'un nombre très élevé de plants qui a pu croître dans une enceinte où le taux des hydrocarbures était élevé.

Acacia horrida a aussi donné des résultats satisfaisants sur la phytoremédiation, en présence d'une forte teneur du sol par la microflore, cette plante a pu résister à la quantité élevée en hydrocarbures, et une symbiose plant/ microflore a été observée en fournissant des teneurs en hydrocarbures moindres dans le sol après implantation.

Pour conclure, cette étude nous a permis de faire le point sur la phytoremédiation et le pouvoir de la microflore rhizosphérique à s'associer avec les plant afin de fournir un résultat très prometteur quant à la pollution engendrée par les hydrocarbures qui contaminent notre environnement.

Références bibliographiques

- Abhilash P.C., Jamil S. & Singh N. 2009. Transgenic plants for enhanced biodegradation and phytoremediation of organic xenobiotics. *Biotechnology advances* **27 (4)** : 474-488.
- Alkorta I. & Garbisu C. 2001. Phytoremediation of organic contaminants in soils. *Bioresour Technol* **79** : 273–276.
- Alkorta I., Garbisu C. 2001. Phytoremediation of organic contaminants in soils. *Bioresources Technol.* **79** : 273-276.
- Amiard, J-C. 2011. Les risques chimiques environnementaux. Tec & Doc Lavoisier.p 30-46, 392-394.
- Attaway H.H. and Schmidt M.G. 2002. Tandem biodegradation of BTEX components by two *Pseudomonas* sp. *Curr. Microbiol* **45** : 30–36.
- Badr T., Hanna K, &De Brauer C. 2004. Enhanced solubilization and removal of naphthalene and phenanthrene by cyclodextrins from two contaminated soils. *Journal of hazardous materials* **112 (3)** : 215-223.
- Barriuso E., Calvet R., Schiavon M. & Soulas G. 1996. Les pesticides et les polluants organiques des sols : transformation et disparition. Forum « le sol un patrimoine menacé ? ». **3** : 279-295.
- biological membranes.**11**:8022–8028.
- Bliefert C. & Perraud R. 2004. Chimie de l'environnement : air, eau, sol ; déchets. De Boeck, Bruxelles. 271-284 p.
- Bocard C. 2006. Marées noires et sols pollués par des hydrocarbures « Marine Oil Spills and Soils Contaminated by Hydrocarbons». Editions TECHNIP. 295 p.
- Callace et al., 2001. « Characteristics of different molecular weight fractions of organic matter in landfill leachate and their role in soils sorption of heavy metals » ; *Environmental Pollution* **113**: 331-339.

Calvet. 1989. Adsorption of organic chemicals in soils. *Environ. Health Persp.* 83:145-177.

Chiou C.T., Malcolm R.L., Brinton T.I., & Kile D.E. 1986. Water Solubility Enhancement of Some Organic Pollutants and Pesticides by Dissolved Humic and Fulvic Acids. *Environmental Science and Technology* **20**:502-508.

Chiou, C.T. 1989. Theoretical considerations of the partition uptake of nonionic organic compounds by soil organic matter. Reactions and movement of organic chemicals in soils. B. L. Sawhney and K. Brown. Madison, WI, Soil Science Society of America. Inc, 1-29.

Christensen et al., 2001. « Biogeochemistry of landfill leachate plumes » ; *Applied Geochemistry* **16** : 659-718.

Corgie S.C., Beguiristain T., Leyval C. 2004 - Spatial distribution of bacterial communities and phenanthrene degradation in the rhizosphere of *Lolium perenne* L. *Appl. Environ. Microbiol* **70** : 3552-3557.

Criquet S., Farnet A. M., Tagger S., Le Petit J. 2000. Annual variations of phenoloxidase activities in an evergreen oak litter: influence of certain biotic and abiotic factors. *Soil Biology & Biochemistry* **32**: 1505-1513.

Cross, A.J., J.C. McFarlane et C.W. Frank. 1979. Benzene vapor depletion in the presence of plants. EPA-600/3-79-096. U.S. Environmental Protection Agency, Monitoring Systems Research and Development Division, Environmental Monitoring and Support Laboratory, Las Vegas, NV.

Davet P., 1996. Vie microbienne du sol et production végétale. INRA ed. 383 p.

Debiane D., Garçon G., Verdin A., Fontaine J., Durand R., Grandmougin-Ferjani A., Shirali P., Lounès-Hadj Sahraoui A. 2008. In vitro evaluation of the oxidative stress and genotoxic potentials of anthracene on mycorrhizal chicory roots. *Environ Exp Bot* **64** :120—127.

Debiane D., Garçon G., Verdin A., Fontaine J., Durand R., Shirali P., Grandmougin-Ferjani A., Lounès-Hadj Sahraoui A. 2009. Mycorrhization alleviates benzo[a]pyrene-induced oxidative stress in an in vitro chicory root model. *Phytochem* **70** :1421-1427.

Drapaud A et Jancovic S. 1977. Manuel de microbiologie de l'environnement. OMS. p 246

Dubourguier H.C., Petit D., Deram A. & Logeay C. 2001. Le phytomanagement Eléments de synthèse. Pôle de compétence sites et sédiments pollués, Lille, 49- 53p.

Dumishidze, S.V. et. Ugrekhelidze, D.S.H. 1969. Degradation of benzene in tea plants. *Doklady Akademii Nauk SSSR* 184:228

El-Fadel AN., Findikakis et Leckie J. 1997. « Environmental Impacts of Solid Waste Landfill » ; *Journal of Environmental Management* **50**:1- 25.

Farhadian M., Vachelard C., Duchez D., Larroche C., 2008. In situ bioremediation of monoaromatic pollutants in groundwater. *Bioresource Technology* **99**: 5296-5308.

Farrel J. & Reinhard M. 1994. Desorption of halogenated organics from model solids, sediments, and soil under unsaturated conditions. *Isotherms. Environmental Science and Technology* **28** : 53-62.

Feix, I. et Wiart, J. (1995). Les micropolluants organiques dans les boues résiduares des stations d'épuration urbaines. ADEME.

Forbes V.E. & Forbes T.L. 1997. Ecotoxicologie. Théorie et applications. Edition INRA. 256p.

Gabet S. 2004. Remobilisation des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) présents dans le sol contaminé à l'aide d'un tensioactif d'origine biologique. Thèse de doctorat. Université de Limoges.

Gerhardt K.E., Huang X.D., Glick B.R. & Greenberg B.M. 2009. Phytoremediation and Rhizoremediation of Organic Soil Contaminants: Potential and Challenges. *Plant Science* **176** (1): 20–30.

Gobat J.M., Aragno M. & Matthey W. 2010. Le sol vivant: bases de pédologie, biologie des sols, PPUR Presses polytechniques. 817 p.

Goodin J.D. and Webber M.D. 1995. Persistence and fate of anthracene and benzo(a)pyrene in municipal sludge treated soil. *J. Environ. Qual* **24** :271-278.

Green Cynthia, and Hoffnagle Ana. 2004. Phytoremediation Field Studies Database for Chlorinated Solvents, Pesticides, Explosives, and Metals. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency.

Gueguen Y., Simon O., Souidi M., Lestaevel P., Gagnaire B. 2009. Effet sur le système endocrinien. In : Goyffon M, Menager MT, Garnier-Laplace J, Toxicologie nucléaire environnementale et humaine. Lavoisier, Editions Tec&Doc, Paris, 309-322p.

Jestin Hurst C., Sims R.C., Sims J.L., Sorensen D.L., McLean J.E., Huling S. 1996. Polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation as a function of oxygen tension in contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials* **51** (1–3) : 193–208.

Joner E.J. and Leyval C. 2003. Rhizosphere gradients of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) dissipation in two industrial soils, and the impact of arbuscular mycorrhiza. *Environmental Science & Technology* **37** : 2371-2375.

Karickhoff S.W., Brown D.S. & Scott T.A. 1979. Sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments. *Water Res* **13** : 241 248.

Kennedy L.G., Everett J.W., 2001. « Microbial degradation of simulated landfill leachate : solid iron/sulfur interactions »; *Advances in Environmental Research* **5**:103-116.

Kvesitadze G., Khatishash vili G., Sadumishvili T. & Ramsden J.J. 2006. The ecological importance of plants for contaminated environments. Dans : Biochemical Mechanisms of Detoxification in Higher Plants Basis of Phytoremediation. Springer. 167-204.

Lallemand-barres A. & Roux J.C. 1995. Méthodes de dépollutions des eaux souterraines. Edition B.R.G.M., Manuel et Méthodes, n° 27. 180 p.

Laurent C., Feidt C. & Laurent F. 2006. Contamination des sols, transfert des sols vers les animaux. EDP Sciences/ADEME. 216p.

Leahy J.G. & Colwell R.R. 1990. Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. *Microbiol Rev* **54** (3): 305–315.

Lecomte P. 1995. Les sites pollués : Traitement des sols et des eaux souterraines. Edition Tec& Doc, paris. 204p.

Lee C.-L., Iyengar G. & Kota S. 1992. Automated Configuration Design of Hydraulic Systems. In: Artificial Intelligence in Design '92, (Ed) J. S. Gero, Kluwer Academic Publishers, 61-82p.

Lee E., Banks M.K. 1993. Bioremediation of petroleum contaminated soil using vegetation: a microbial study. *J. Environ. Sci. Health.* **28** :2187–2198.

Lee J.J., von Kessler D.P., Parks S., Beachy P.A. 1992. Secretion and localized transcription suggest a role in positional signaling for products of the segmentation gene hedgehog. *Cell* **71** (1) :33-50.

Lefebvre G. 1978. Chimie des hydrocarbures. Ed Technip. 277p.

Lemière, B., Seguin J.J., Le Guern C., Guyonnet D., Baranger P., Darmendrail D., et Conil P. 2008. Guide sur le comportement des polluants dans les sols et les nappes. Applications dans un contexte d'Evaluation Détaillée des Risques pour les ressources en eau. 121p.

Li J. & Chen B.H. 2002. Solubilization of model polycyclic aromatic hydrocarbons by nonionic surfactants. *Chemical engineering Science.* **57**(14) : 2825-2835.

Liu J., Dietz T., Carpenter S.R., Alberti M., Folke C., Moran E., Pell A.N., Deadman P., Kratz T., Lubchenco J., Ostrom E., Ouyang Z., Provencher W., Redman C.L., Schneider S.H., & Taylor W.W. 2007. Complexity of Coupled Human and Natural Systems, *Science* **317** : 1513-1516.

Loiseau L. & Barriuso E. 2002. Characterization of the Atrazine's Bound (Nonextractable) Residues Using Fractionation Techniques for Soil Organic Matter. *Environmental Science & Technology* **36** (4) : 683-689.

Mahjoub B. 1999. Comportement dans les sols de polluants aromatiques issus du goudron de houille. Etude du partage goudron/eau et de l'effet du vieillissement sur

la mobilité des polluants. Thèse sciences et techniques du déchet : Institut national des sciences appliquées de Lyon. 262 p.

McCray J.E. et Dugan P.J. 2002. Nonideal equilibrium dissolution of trichloroethene from a decane-based nonaqueous phase liquid mixture: Experimental and modeling investigation. *Water resources research* **38 (7)**: 1029-2001.

Menzie C.A., Potocki B.B. & Santodonato J. 1992. Exposure to carcinogenic PAHs in the environment *Environmental Science and Technology* **26** : 1278-1284.

Moriarty F. 1983. *Ecotoxicology : the Study of Pollutants in Ecosystems*. Academic Press. London.

Ndimele P.E. 2010. The phytoremediation of petroleum hydrocarbon. *Pakistan J. of Biol.Sci.* **13** : 715-722.

Newman M.C. 1995. *Quantitative methods in aquatic ecotoxicology*. CRC Press, Boca Raton.

Ould rebah, N. 2012. Essai de phytoremédiation des sols contaminés par les hydrocarbures.p 115.

Pansu M., Gautheyrou J. & Loyer J.Y. 1998. *L'analyse du sol, échantillonnage, instrumentation et contrôle*. Edition Masson, Paris. 489 p

Pilon-Smits E. 2005. Phytoremediation. *Annu Rev Plant Biol* **56**:15–39.

Pilon-Smits E. 2005. Phytoremediation. *Annu Rev Plant Biol.* **56** : 15-39.

Potter C.L., Glaser J.A., Hermann R., Dosani M.A. (1999). Remediation of contaminated East River sediment by composting technology. In: Leeson A., Alleman BC (eds) *Bioremediation Technologies for Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Compounds*. The Fifth International In-situ and On-site Bioremediation Symposium. Battelle Press: Columbus, 31-36p.

Prenafeta-Boldú F.X., Vervoort J., Grotenhuis J.T.C., van Groenestijn W.J., 2002. Substrate interactions during the biodegradation of benzene, toluene, ethylbenzene,

and xylene hydrocarbons by the fungus *Cladophialophora* sp. Strain T1., *Appl. Environ. Microbiol* **68** : 2660-2665.

Reilley K.A., Banks M.K. & Schwab A.P. 1996. Organic Chemicals in the environment: Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere. *Journal of environmental Quality* **25** : 212-219.

Roy S., Khasa D.P., Greer C.W. 2007. Combining alders, frankiae, and mycorrhizae for the revegetation and remediation of contaminated ecosystems. *Canadian journal of botany* **85** : 237-251.

Samanta S. K. 2002. Polycyclic aromatic hydrocarbons : environmental pollution and bioremediation, *Trends in Biotechnology* **20 (6)**: 243-248.

Schwitzguébel J.P., Comino E., Plata N., Khalvati M. 2011. Is phytoremediation a sustainable and reliable approach to clean-up contaminated water and soil in Alpine areas? *Environmental Science and Pollution Research International* **18** : 842–856.

Shann J.R. 1995. The role of plants et plant/microbial systems in the reduction of exposure. *Environmental Health Perspectives*. **103** :13-15.

Sikkema, J., De Bont, J., Poolman, B. 1994. Interactions of cyclic hydrocarbons with

Sterckeman T., Ouvrard S., Legize P. 2012. Phytoremédiation des sols, Dossier techniques de l'ingénieur, Bioprocédés dans le domaine de l'énergie et de l'environnement, Bio5300 1-10.

Surarla S., Medina F., McCutcheon S.C. 2002. Phytoremediation : an ecological solution to organic chemical contamination. *Ecol.Eng.* **18** : 647-658.

Topp, E., I. Scheunert et Korte, F. 1989. Kinetics of the uptake of ¹⁴Clabelled chlorinated benzenes from soil by plants. *Ecotoxicol. Environ.* **17**:157–166.

Tremel-Schaub A. & Feix I. 2005. Contamination des sols, transfert des sols vers les plantes. 2^e Edition EDP Sciences/ADEME. 413 p.

Vogel D. 2001. The new politics of risk regulation in Europe. London: centre for analysis of risk and regulation at the London school of economics and political science.

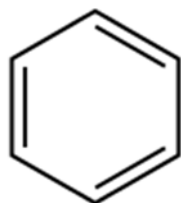
Wessels Perelo L. 2010. In situ and bioremediation of organic pollutants in aquatic sediments. *J. haz. Mat.* **177** : 81-89.

Wilcke W. 2000. SYNOPSIS Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in soil- a review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science.* **163 (3)**: 229-248.

Wild E., Dent J., Thomas GO. & Jones KC. 2005. Direct observation of organic contaminant uptake, storage, and metabolism within plant roots. *Environ Sci Technol.* **39** : 3695–3702.

Yoshitomi K. J. and Shann J. R. 2001. Corn (*Zea mays* L.) root exudates and their impact on ¹⁴C-pyrene mineralization. *Soil Biology and Biochemistry* **33** : 1769-1776.

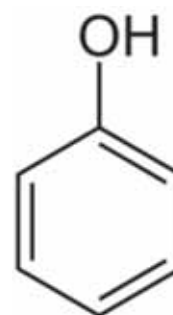
Annexe 1 : Structure des hydrocarbures étudiés



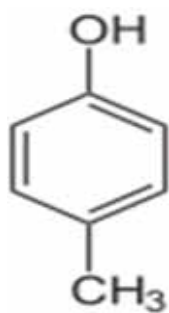
Benzène



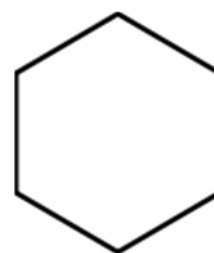
Toluène



Phénol



Crésol



Cyclohexane

Annexe 2 : Appareillage, produits chimiques et instruments

1- Verrerie et instruments

1-1 Verrerie

On utilise les appareils suivants, en verre au borosilicate de haute qualité:

- Ballons ronds: volumes 100 et 500 ml, rodage 24/29.
- Ballons ronds: volume 100 ml avec tubes à centrifuger de 5 ml, rodage 24/29.
- Pipettes Pasteur: longueurs 150 et 250 mm.
- Bouteilles en verre à large col: de différents volumes, p. ex. 0.5-1 L (couvercle en polypropylène GL 45) pour la conservation des échantillons.
- Tubes à centrifuger: coniques, volumes 15 à 20 ml, gradués, avec bouchon en verre
- Bêchers: 50 ml.
- Ballons jaugés avec bouchon en verre: 10 et 25 ml (verre brun), qualité A, précision respectivement de ± 0.025 ml et ± 0.04 ml à 20 °C.
- Erlenmeyers: 250 ml avec bouchon en verre.
- Dessiccateur: diamètre 300 mm, avec couvercle rodé (sans graisse!) – sans agent déshydratant.
- Entonnoir en verre: diamètre 100 mm.
- Colonne de chromatographie: longueur 250 mm, diamètre 12.5 mm.
- Nacelle à pesée.
- Verres de montre: diamètre 60 mm

1-2 Appareils divers pour la préparation de l'extrait

- Capsules en porcelaine: diamètres 180 et 250 mm.
- Réducteur de pression: anneau métallique d'étanchéité, réglage fixe sur 3-5 bar.
- Evaporateur rotatif: avec régulation automatique de la pression de marque Turbovap 500: appareil de concentration avec récipient de concentration correspondant (Zymark).
- Etuve: plage de températures 50-300 °C, précision ± 3 °C.
- Four tubulaire: plage de températures 50-1'100 °C, précision ± 5 °C.

- Balance analytique: plage de pesée 0-160 g, précision ± 0.001 g.
- Balance à plateau: 0-1'200 g, précision ± 0.1 g.
- Microbalance: plage de pesée 0-3'000 mg, précision ± 1 g.
- Millipore MilliQ: installation d'épuration de l'eau.
- Four en céramique: 200-1'030 °C, précision ± 10 °C.

1-3 Seringues de dosage

- Avec aiguilles moulées et ballons en acier rodé: 10, 25, et 1'000 mL.
- Pipette volumétrique: 1 ml, précision ± 0.01 ml.
- Pipettes à baguette: 5 et 10 ml, graduées, précision ± 0.03 ml.
- Micropipettes étalonnées: 10, 20, 50 et 100 ml, précision ± 0.25 .

1-4- Autres équipements

- Gants résistants aux solvants.
- Gants en polyéthylène à usage unique.
- Anneaux en liège.
- Pierres à distiller: prélavées.

1-5 Nettoyage de la verrerie

Après chaque préparation d'extrait, plonger tous les ballons ronds, béchers, tubes à centrifuger et colonnes de chromatographie pendant 24 h dans une solution à 2.5 % (v/v) de RBS 25, puis les rincer deux fois à l'eau chaude et deux fois à l'eau distillée provenant d'une installation Millipore MilliQ. Après séchage à l'air, chauffer la verrerie pendant 6 h dans un four à céramique à 350-450 °C. Les résidus organiques éventuels seront ainsi éliminés. Avant l'emploi, rincer les pipettes Pasteur avec le solvant que l'on utilisera ensuite.

2- Produits chimiques, adsorbants et gaz

2-1 Solvants

Tous les solvants sont de qualité « pour analyse des résidus » et sont utilisés sans lavage préalable:

- - cyclohexane
- n-hexane;
- méthanol;
- toluène;
- Helium

2-2 Préparation de l'étalon de base

L'étalon de base contient les composés répertoriés dans le tableau 2, selon leur ordre d'élution sur la colonne de séparation utilisée en chromatographie en phase gazeuse.

On sort du congélateur le ballon jaugé avec la solution de base et on décongèle le cyclohexane. On le place ensuite pendant 5 min dans le bain à ultrasons et on vérifie que tout est dissous. Si ce n'est pas le cas, il faut répéter le traitement aux ultrasons. On porte ensuite le ballon à température ambiante et on contrôle son poids. On compense les pertes de solvant jusqu'à la dernière pesée de contrôle.

On transfère des volumes variables de l'étalon de base dans un ballon jaugé de 10 ml et on le remplit avec du cyclohexane jusqu'au trait de jauge. Cinq solutions titrées doivent couvrir une plage de concentrations de chaque composé de 0.1 à 20 ng/mL environ. Le cas échéant, on dilue à nouveau. On marque les ballons jaugés, on les pèse et on les conserve au congélateur à -20 °C. La durée de conservation est de 12 mois. On reporte toutes les données ainsi que les pertes de poids survenues lors du prélèvement, dans le répertoire des étalons.

On porte les ballons jaugés à température ambiante et on contrôle leur poids. On compense les pertes de solvant jusqu'à la dernière pesée de contrôle. On transfère chaque fois 1 ml, comme étalon de travail, dans un tube à essais de 1.5 ml avec une ouverture capillaire (CERTAN®), que l'on conserve au réfrigérateur à 4-6 °C. On remplace ces solutions de travail tous les six mois.

3- Milieux de culture

3-1 Gélose nutritive

- extrait de viande 1,0g/L
- extrait de levure 2.5g/L
- peptone 5,0g/L
- chlorure de sodium 5,0g/L
- Agar 15,0g/L
- pH = 7,0

3-2 Gélose MEA

- extrait de malt 20,0 g
- Agar 15,0 g

3-3 Additifs

- Chloramphénicol à raison de 5 mg / 100 ml de gélose MEA

Annexe 3 : photos du lixiviats, de la germination des graines et le dispositif expérimentale



Lixiviat de décharge



Germination des graines



Ensemencement des graines



Croissance des plants

ملخص

أثبتت الدراسة حول إزالة تلوث التربة من الهيدروكربونات بواسطة النباتات أن البقوليات الخشبية التي اختيرت تتفاعل بصفة مختلفة اتجاه هذه الهيدروكربونات. علاوة على ذلك لقد تم اختيار هذه النباتات من حيث قدرتهم الإنشائية في شروط التراكيز العالية من الهيدروكربونات التي تحويها عصارة النفايات للمفرغة العمومية لواد السمار.

بينت النتائج المتحصل عليها أن الأنواع الأكثر تحملا لوجود الهيدروكربونات هي **A. horrida** و **Albizia lophanta**

اللواتي؛ وبالرغم من النسب المرتفعة من الهيدروكربونات، استطاعت أن تنتش و تنمو بصفة كبيرة، هذا ما يعانق نظرية إزالة تلوث التربة بواسطة النباتات و التي تتعامل مع الكائنات المجهرية الجذرية التي تلعب دورا هاما في تحويل المادة الأولية إلى مادة أقل سمية لكي تصبح قابلة للامتصاص من جذور البقوليات الخشبية و ذلك مرورا بآليات معقدة بواسطة عوامل إنزيمية و الإفرازات الجذرية.

Abstract

The study undertaken on the phytoremediation of the grounds contaminated by hydrocarbons, showed that the selected woody leguminous plant species behave very differently with respect to hydrocarbons concentration. Moreover, the choice of these species has rests on their germinatif capacity under conditions of very high concentrations in hydrocarbons contained in the lixivats of the dump area.

The results showed that the most tolerant species are **Albizzia lophanta** and **Acacia horrida** with rates of germination and growth which are good in maximum concentration of lixiviat and could reach a very high threshold. This comes to consolidate the approach to be able to decontaminate by plants combine with the microorganisms of the rhizosphere, thus playing a very significant role in the transformation of the initial substrate while making it less toxic so that it is assimilated by the roots of the plants while passing by very complex mechanisms using multiple enzymatic factors and root exsudats.