

N° d'ordre : 180/2024-C/GP

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediène

Faculté de Génie Mécanique et de Génie des Procédés



THESE DE DOCTORAT

Présentée pour l'obtention du **grade de Docteur**

En : GENIE DES PROCEDES

Spécialité : GENIE DES PROCEDES INDUSTRIELS

Par : MOUMED Imane

Sujet

Application du Bioventing pour le traitement de sols pollués par des produits pétroliers

Soutenu publiquement, le 26/05/2024, devant le jury composé de :

M. BELMADANI Mohamed	Professeur à l'USTHB	Président
Mme. ARRAR Jazia	Professeur à l'ENP	Directrice de thèse
Mme. BENTAHAR Fatiha	Professeur à l'USTHB	Co-Directrice de thèse
Mme. CHEKIR Nadia	Maitre de Conférence/A à l'USTHB	Examinatrice
M. LOUNICI Hakim,	Professeur à l'Université de Bouira	Examineur
Mme. SALEM Zineb	Professeur à l'USTHB	Invitée

Résumé

Ce travail vise la détermination des conditions optimales de biostimulation des microorganismes du sol et de mobilisation et solubilisation des hydrocarbures pétroliers HPs du sol pour la mise en œuvre de traitements in situ (bioventing, lavage assisté par surfactant) dans le cas d'une ancienne et forte pollution par des produits pétroliers.

Les essais de lavage du sol en batch ont mis en évidence que la solubilisation des HPs augmente avec la dose de Tween 80 et est peu affectée par l'intensité de l'agitation. La bioremédiation du sol en microcosmes, phase solide, par biostimulation avec l'ajout de nutriments, de H_2O_2 et/ou de Tween 80 durant 90 jours a montré que l'ajustement du rapport C/N/P_{molaire} à 100/10/1 génère un taux d'élimination des HPs de 59,6% tandis que l'addition conjointe des trois facteurs de biostimulation améliore significativement la dégradation des HPs jusqu'à 71,9% pour un rapport N/P_{molaire optimal} de 100/10/1 et des concentrations optimales de 0,6g Tween80/kg de sol et de 1,3 mole H_2O_2 /kg de sol. L'optimisation par plan d'expériences a corroboré les résultats expérimentaux et a mis en évidence que le rapport C/N/P et le H_2O_2 sont les facteurs influents.

La simulation de traitements in situ a donné des résultats très prometteurs, jusqu'à 85,2 et 55,62% d'enlèvement et de biodégradation des HPs respectifs après 90 jours de traitement dans le cas du bioventing et jusqu'à 94,1% d'élimination des HPs du sol et une réduction de la durée du traitement à quelques heures (< 20h) dans le cas du lavage mettant en évidence la faisabilité et la possibilité d'améliorer l'efficacité du traitement d'un sol sujet à une ancienne pollution.

Mots clés :

Biostimulation, Oxydation, Agent tensioactif, Biodégradation, Aération, Lavage.

Abstract

The aim of this study was to determine the optimal conditions for the biostimulation of soil microorganisms and the mobilisation and solubilisation of soil petroleum hydrocarbons for the implementation of in situ treatments (bioventing and surfactant soil washing) in the case of old and heavy contamination by petroleum products.

Batch soil washing assays have shown that the solubilisation of petroleum hydrocarbons increases with Tween 80 concentration and is slightly affected by agitation intensity. Soil bioremediation on microcosms, solid phase, by biostimulation with the addition of nutrients, H_2O_2 and/or Tween 80 for 90 days showed that adjusting C/N/P_{molar ratio} to 100/10/1 generates a removal efficiency of 59,9%, while the addition of three biostimulation factors simultaneously improves degradation significantly up to 71,9% for an optimal C/N/P_{molar ratio} to 100/10/1, optimal concentrations of 0,6g Tween 80/kg de sol and

1,3 mole H_2O_2/kg de sol. Optimisation using factorial design corroborated the experimental results and highlighted N/P_{ratio} and H_2O_2 as influential factors.

Simulations of in situ treatments have yielded very promising results, with up to 85,2 et 55,62% respective removal and biodegradation efficiency of petroleum hydrocarbons after 90days of treatment in the case of bioventing and up to 94,1% petroleum hydrocarbon removal and a reduction in treatment time ($<20h$) in the case of surfactant washing. These results highlight the feasibility and potential of improving the efficiency of treatment of soil subjected to old pollution.

Keywords :

Biostimulation, Oxidation, Surfactant, Biodegradation, Aeration, washing.

ملخص

الهدف من هذا العمل هو تحديد الظروف المثلى للتحفيز الحيوي للكائنات الحية في التربة وتعبئة وذوبان الهيدروكربونات البترولية لتنفيذ المعالجات على الموقع (التهوية والغسل ب TW80) في حالة تلوث قديم وكثيف للتربة بالمنتجات البترولية.

أظهرت نتائج الغسل بمحلول TW80 على أن ذوبان الهيدروكربونات البترولية يزداد مع زيادة تركيز TW80 ولا يتأثر كثيرا بسرعة التقلب. أظهرت نتائج المعالجة البيولوجية للتربة في عوالم مصغرة عن طريق التحفيز الحيوي بإضافة المغذيات و H_2O_2 و TW80 لمدة 90 يوم أن ضبط الكربون/النيتروجين/الفسفور بنسب مولية إلى 1/10/100 أدى إلى نسبة إزالة عالية للهيدروكربونات البترولية بنسبة 59,6%، في حيث أن الإضافة المشتركة لعوامل التحفيز الحيوي الثلاثة مجتمعة حسنت بشكل كبير من تحلل الهيدروكربونات إلى 71,9% لنسبة الكربون/النيتروجين/الفسفور إلى 1/10/100 و تركيزات مثالية تبلغ 0,6 غ من TW80 /كغ من التربة و 1,3 مول H_2O_2 /كغ من التربة. أيد التحسين عن طريق التصميم التجريبي النتائج التجريبية وأظهر أن العوامل المؤثرة هي N/P و H_2O_2 .

أعطت محاكاة المعالجات الموضعية نتائج واعدة للغاية، حيث تمت إزالة ما يصل إلى 85,2% شاملا و 55,6% بالتحلل الحيوي، فيما يخص غسيل التربة ب TW80 أدى إلى إزالة 94,1% وتقليل مدة المعالجة إلى أقل من 20 ساعة.

هذه النتائج تبرز مدى جودة وإمكانية تحسين فعالية معالجة التربة المعرضة لتلوث قديم.

الكلمات المفتاحية

التحفيز الحيوي، الأكسدة، مادة أيونية، التحلل الحيوي، التهوية، الغسيل

Dédicaces

Je dédie ce travail à ;

*La mémoire de ma très chère mère, qui m'a toujours aidé et
guidé et a toujours cru en moi*

Mon cher père, mon protecteur

Ma très chère sœur

Mes chers frères

Mes nièces et ma belle sœur

Mes ami(e)s

Remerciements

Je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donné le courage, la persévérance et la patience pour finaliser et accomplir ce travail.

Ce travail a été réalisé au Laboratoire des Phénomènes de Transfert au sein de l'équipe « Technologie des suspensions et bioremédiation des effluents » de la faculté de Génie Mécanique et de Génie des Procédés à l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene.

Je tiens à remercier en premier lieu ma directrice de thèse **M^{lle} J. ARRAR** Professeur à l'ENP de m'avoir suivi et dirigé tout au long de cette thèse. Aussi, pour sa disponibilité, sa patience et ses conseils judicieux et son aide inestimable.

Je tiens à rendre hommage à ma co-directrice de thèse Feu Professeur **F. BENTAHAR** qui m'a accueilli dans son laboratoire, pour ses conseils, ses encouragements et sur les critiques qu'elle m'a prodigué durant la période de thèse. Que Dieu l'accueille dans son vaste Paradis.

Je remercie également la directrice actuelle de l'équipe Professeur **R. RIHANI** pour son aide, son soutien, sa sympathie et ses conseils tout au long de ce travail.

J'exprime mes respectueux remerciements au Professeur **M. BELMADANI**, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider le jury de soutenance.

Je suis reconnaissante à **M^{me} N. CHEKIR** Maître de conférences A à l'USTHB, **Mr H. LOUNICI** Professeur à l'Université de Bouira et **Mme Z. SALEM** Professeur à l'USTHB, d'avoir accepté d'examiner ce travail et de me faire part de leurs appréciations et remarques.

Mon estime et ma considération vont à Mr **A. NAMANE**, Professeur à l'ENP de m'avoir aidé et d'avoir collaborer à ce travail.

Mes remerciements vont aussi à tous les enseignants membres de l'équipe, **Mme A. DJOUADI**, **Mme S. KRIM**, **Mme N. BENAOUAG**, **Mme W. LIMANE**, **Mlle F. ZOUBIRI**, **Mr Y. BAGHDADI** pour leurs conseils, et leur sympathie.

Je tiens à remercier notre ingénieur de laboratoire **Mlle S. BENTURKI** pour son aide et son soutien moral tout au long de cette thèse.

Je tiens à témoigner ma profonde reconnaissance aux personnes suivantes pour leur soutien indéfectible, leur conseil et leur encouragement **Mme S. ZARA**, **Mlle H. OURIACHE**, **Mr A. BAIT**, **Mr N. MOUDOUD** et **Mr A. BEROUAKEN**.

Je tiens à remercier les doctorants **Hadjer, Ikram, Lisa, Yacine, Rekaia**.

Enfin, merci à tous ceux qui m'ont aidé et m'ont toujours soutenu de près ou de loin durant toute la période de réalisation de ce travail.

Sommaire

Résumé	
Abstract.....	
ملخص.....	
Dédicaces	
Remerciements.....	
Sommaire	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Abréviation	
Introduction générale.....	1
CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....	4
I.1. Pollution des sols	4
I.1.1. Pollution des sols par les hydrocarbures.....	5
I.1.2. Impact des hydrocarbures sur l'environnement.....	5
I.1.3. Généralités sur les hydrocarbures	6
I.1.4. Différentes altérations des hydrocarbures dans l'environnement.....	8
I.1.5. Biodégradation des hydrocarbures	9
I.1.6. Facteurs influençant la biodégradation des hydrocarbures.....	9
I.2. Traitement des sols pollués par produits pétroliers	12
I.2.1. Choix d'une technique de remédiation.....	12
I.2.2. Techniques de traitement.....	13
I.2.3. Bioremédiation	14
I.2.4. Les agents tensioactifs et la bioremédiation.....	16
I.2.5. L'oxydation chimique et la bioremédiation.....	17
I.3. Techniques de traitement in situ dans le cadre d'un développement durable	19
I.4. Etat de l'art des travaux antérieurs	20
CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES	25
II.1. Dispositifs expérimentaux	25
II.1.1. Etude en microcosmes phase solide-liquide	25
II.1.2. Etude en microcosmes phase solide.....	25
II.1.3 Etude en colonne en phase solide	26

II.1.4. Etude en colonne en phase solide-liquide	29
II.2. Caractérisation du sol	30
II.2.1. Analyse granulométrique	30
II.2.2. Masse volumique	30
II.2.3. pH.....	30
II.2.4. Taux d'humidité	30
II.2.5. Carbone organique	31
II.2.6. Demande chimique en oxygène DCO.....	31
II.2.7. Teneur en hydrocarbures pétroliers totaux HPT	32
II.2.8. Fractionnement des hydrocarbures	32
II.2.9. Microorganismes totaux.....	33
II.2.10. Dosage des nutriments	33
II.2.11. Fer	34
II.2.12. Surface spécifique BET	34
II.2.13. Dosage du CO ₂ dégagé.....	34
Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSION	36
III.1 Echantillonnage et caractérisation du sol.....	37
III.1.1 Préparation et stockage de l'échantillon.....	37
III.1.2 Caractérisation physico-chimique et biologique du sol.....	38
III.2. Lavage du sol en batch	39
III.3. Bioremédiation par biostimulation à l'échelle de microcosmes	46
III.3.1. Dégradation des hydrocarbures pétroliers du sol	48
III.3.2. Evolution de la biomasse	53
III.3.3 Evolution de la teneur des nutriments	56
III.4 Influence de l'action combinée des facteurs de biostimulation	59
III.4.1. Enlèvement des HPs du sol	59
III.4.2. Croissance microbienne.....	62
III.4.3. Evolution de la teneur des nutriments	64
III.5 Optimisation par plan d'expériences	66
III.5.1 Test statistique et régression du modèle	67
III.5.2 Test t-student.....	68
III.5.3. Analyse de la variance (ANOVA).....	69
III.5.4 Effets des facteurs et leurs interactions	69

III.5.5. Optimisation de la fonction de désirabilité	70
III.6 Bioremédiation par bioventing à l'échelle de microcosmes	73
III.6.1. Effet de l'aération continue	74
III.6.2. Effet de l'aération discontinue.....	80
III.7 Remédiation par lavage du sol en colonnes	87
Conclusion générale	95
Références bibliographiques	99
Annexes	115

Liste des figures

Figure I. 1 : Principaux constituants du pétrole brut (Jabbar et al., 2022).....	6
Figure I. 2 : Processus de sélection d'une technique de remédiation (Kuppusamy et al., 2020)	12
Figure II. 1 : Système de lavage en batch.....	25
Figure II. 2 : Schéma du réacteur utilisé pour l'étude en microcosmes.	26
Figure II. 3 : Dispositif expérimental de l'étude en colonne. 1 : Colonne ; 2 : Débit mètre ; 3 : Pompe à air ; 4 : Solution de NaOH (4N) ; 5 : Support ; 6 : Point d'injection d'eau ; 7 : Points d'échantillonnage ; 8 : Sol pollué ; 9 : Points d'injections.	27
Figure II. 4 : Photo du dispositif expérimental de l'étude en colonne.....	28
Figure II. 5 : Courbe type de neutralisation de NaOH par HCl.....	35
Figure III. 1 : Opération de quartage.....	37
Figure III. 2 : Influence de la vitesse d'agitation sur l'extraction des hydrocarbures du sol dans le temps.	41
Figure III. 3 : Influence de la vitesse d'agitation sur l'extraction des hydrocarbures pétroliers du sol pour une concentration de Tween 80 de 1CMC (A) et 400CMC (B).....	42
Figure III. 4 : Influence de la concentration du Tween 80 sur l'extraction des HPs du sol pour des vitesses d'agitation de 50trs/min (A), 100trs/min (B) et 150trs/min (C).	44
Figure III. 5 : Rendement d'élimination des HPT à la fin du traitement en fonction de la concentration de Tween 80 à différentes vitesses d'agitation.	45
Figure III. 6 : Influence du rapport molaire C/N/P (A), des concentrations de Tween 80 (B) et de H ₂ O ₂ (C) sur l'évolution temporelle du taux d'enlèvement des HPT.	49
Figure III. 7 : Evolution de l'enlèvement des HPT dans les systèmes abiotiques B3, O1 et O3.	51
Figure III. 8 : Influence des nutriments, du Tween 80 et du H₂O₂ sur la biodégradation des HPs du sol	52
Figure III. 9 : Influence de la biostimulation sur l'évolution temporelle des microorganismes, (A) : rapport molaire C/N/P, (B) : Tween 80, (C) : H ₂ O ₂	54
Figure III. 10 : Influence de la biostimulation sur l'évolution temporelle de l'azote.	57
Figure III. 11 : Influence de la biostimulation sur l'évolution temporelle du phosphore.	58
Figure III. 12 : Influence des traitements combinés sur l'évolution temporelle du taux d'enlèvement des HPT.	60
Figure III. 13 : Influence de l'effet combiné des facteurs de biostimulation sur le taux de biodégradation des HPT.	61
Figure III. 14 : Influence de l'effet combiné des agents biostimulants sur l'enlèvement des fractions aromatiques et aliphatiques.	62

Figure III. 15 : Influence de l'effet combiné des agents biostimulants sur l'évolution temporelle des microorganismes.	63
Figure III. 16 : Influence de l'action combinée des facteurs de biostimulation sur l'évolution temporelle de l'azote total minéral.	64
Figure III. 17 : Influence de l'action combinée des facteurs de biostimulation sur l'évolution temporelle du phosphore.	65
Figure III. 18 : Valeurs expérimentales en fonction des valeurs estimées du taux d'enlèvement des HPT.	67
Figure III. 19 : Diagramme de Pareto.	68
Figure III. 20 : Effets des interactions rapport C/N/P-Tween80-H ₂ O ₂ sur le taux d'élimination des HPT.	70
Figure III. 21 : La fonction de désirabilité pour l'optimisation du taux d'enlèvement des HPT.	71
Figure III. 22 : Influence de la variation du débit d'aération sur l'évolution temporelle du taux d'enlèvement des HPT dans les systèmes abiotiques (A) et des taux d'enlèvement et de biodégradation dans les systèmes biotiques (B)	74
Figure III. 23 : Influence de la variation du débit d'aération sur l'évolution temporelle des microorganismes.	77
Figure III. 24 : Influence de la variation du débit d'aération sur l'évolution temporelle du dioxyde de carbone.	78
Figure III. 25: Influence de la variation du débit d'aération sur l'évolution temporelle de l'azote.	79
Figure III. 26 : Influence de la variation du débit d'aération sur l'évolution temporelle du phosphore.	80
Figure III. 27: Influence du mode d'aération sur l'évolution temporelle du taux d'enlèvement des HPT dans les systèmes abiotiques (A) et du taux d'enlèvement et de biodégradation des HPT dans les systèmes biotiques (B)	81
Figure III. 28: Influence du mode d'aération sur l'évolution temporelle des microorganismes.	83
Figure III. 29 : Influence du mode d'aération sur l'évolution temporelle du dioxyde de carbone.	84
Figure III. 30 : Influence du mode d'aération sur l'évolution temporelle de l'azote.	85
Figure III. 31 : Influence du mode d'aération sur l'évolution temporelle du phosphore.	85
Figure III. 32: Evolution temporelle de la DCO dans le percolât pour un débit de 1,7 mL/min et différentes hauteurs de sol pour les différentes concentrations de Tween 80 de 200CMC (A) et de 500CMC (B)	88
Figure III. 33: Influence de la hauteur du sol sur le taux de relargage des HPT du débit 1,7mL/min pour les différentes concentrations de Tween 80 de 200 CMC (A) et de 500 CMC (B)	89

Figure III. 34 : Evolution temporelle de la DCO dans le percolât pour un débit de 3,4 mL/min et différentes hauteurs de sol pour les différentes concentrations de Tween 80 de 200CMC (A) et de 500CMC (B).....	90
Figure III. 35 : Influence de la hauteur du sol sur le taux de relargage des HPT du débit 3,4mL/min pour les différentes concentrations de Tween 80 de 200 CMC (A) et de 500 CMC (B).	91
Figure III. 36 : Taux d'élimination des HPT à la fin du traitement en fonction de la concentration et de la hauteur pour les différents débits.....	93

Liste des tableaux

Tableau I. 1 : Composition élémentaire du pétrole brut (Sayed et al., 2021)	6
Tableau I. 2 : Techniques de traitement des sols (Ossai et al., 2020).	13
Tableau I. 3 : Techniques de bioremédiation des sols pollués par des produits pétroliers (Chaudhary and Kim, 2019).....	14
Tableau III. 1 : Récapitulatif des essais expérimentaux.	37
Tableau III. 2 : Propriétés physico-chimiques et microbiologique du sol.	38
Tableau III. 3: Récapitulatif des essais du lavage du sol en batch.....	40
Tableau III. 4 : Conditions expérimentales des essais en microcosmes	47
Tableau III. 5 : Conditions expérimentales des traitements combinés.	59
Tableau III. 6: Taux de croissance maximum $\mu_{\max}$	63
Tableau III. 7 : Facteurs et niveaux codés pour la conception factorielle.	66
Tableau III. 8 : Matrice des essais et des valeurs codées.....	66
Tableau III. 9 : Analyse des coefficients de régression.	68
Tableau III. 10 : Analyse de la variance ANOVA.....	69
Tableau III. 11 : Conditions expérimentales des essais en colonne.....	73
Tableau III. 12 : Constantes cinétiques de dégradation systèmes biotiques.	76
Tableau III. 13 : Taux de croissance microbien.	78
Tableau III. 14 : Constante cinétique de dégradation	82
Tableau III. 15 : Taux de croissance microbien.	83
Tableau III. 16 : Récapitulatif des essais de lavage réalisés en colonnes.	87

Abréviation

HPs : hydrocarbures pétroliers.

HPT : hydrocarbures pétroliers totaux.

PCB : polychlorobiphényles.

HAP : hydrocarbures aromatiques polycycliques.

DDT : Dichlorodiphényltrichloroéthane.

N : azote.

P : phosphore.

K : potassium.

SDS : Sodium dodecyl sulfate.

DCO : demande chimique en oxygène.

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène.

X : nombre des microorganismes totaux.

Q : débit d'aération.

CMC : concentration micellaire critique.

Introduction générale

Introduction générale

Le pétrole brut occupe une position primordiale dans la vie quotidienne, c'est le principal moteur de l'économie mondiale, il alimente nos véhicules, propulse nos industries et contribue à la fabrication des produits essentiels. Cependant, cette dépendance engendre des effets néfastes sur l'environnement à différents niveaux de son cycle de vie (extraction, raffinage, production, utilisation et transport), parmi ces effets la pollution de l'air, des eaux et des sols ainsi que la détérioration des écosystèmes.

L'Algérie est parmi les pays producteurs du pétrole et de gaz, l'exploitation de ces ressources est l'un des piliers de l'économie du pays, cependant, elle constitue une menace sérieuse pour l'environnement et elle est la cause principale de la contamination du sol et du sous-sol (**Sui et al., 2021 ; Adipah, 2019**). Pour cela, nous nous sommes intéressés à la remédiation des sols pollués par des produits pétroliers.

La pollution des sols par les hydrocarbures constitue un problème environnemental majeur. Plus de 90% de la charge environnementale est stockée dans le sol, cela indique que le sol est la principale réserve de produits pétroliers dans l'environnement terrestre (**Kuppusamy et al., 2020**). Pour cela, la restauration des sols contaminés est une nécessité pour la protection de l'environnement et des écosystèmes et pour la préservation de la santé humaine.

Plusieurs techniques, physico-chimiques, thermiques ou biologiques sont utilisées pour la remédiation des sols contaminés par les hydrocarbures pétroliers. Elles peuvent être appliquées soit ex situ avec excavation et traitement du sol, sur le site même ou hors site, soit in situ sans excavation du sol, ces dernières offrent un certain nombre d'avantages potentiels technico-économiques et environnementaux (**Vidali, 2001**). Toutefois, elles restent limitées aux hydrocarbures volatils et semi volatils et soulèvent le problème de la durée et l'efficacité du traitement, en particulier dans le cas d'anciennes pollutions. Aussi, nous nous intéresserons à l'étude de la faisabilité et l'applicabilité de traitements in situ d'un sol sujet à une pollution âgée.

Le bioventing, qui s'inscrit dans le cadre d'un développement durable, est parmi les techniques biologiques in situ les plus rentables et est connu par son efficacité à lutter contre les déversements des hydrocarbures pétroliers (HPs), ce processus fournit une meilleure oxygénation au sous-sol ce qui favorise l'activité microbienne et améliore la dégradation des contaminants (**Frutos et al., 2010**). Cependant son efficacité est limitée par les facteurs

environnementaux (caractéristiques du sol, concentration et type de polluants, biodisponibilité des nutriments et polluants, ...). La biostimulation, par l'ajout de solutions de nutriments, de tensioactifs, d'accepteurs d'électrons (aération) et d'oxydants fournit des conditions favorables aux microorganismes pour dégrader les polluants (**Chatterjee et al, 2022**). Les tensioactifs sont en général connus par leur pouvoir de mobiliser et solubiliser le substrat hydrophobe, d'améliorer la biodisponibilité des polluants (**Wang et al., 2016**) et de fait l'efficacité du traitement. Par ailleurs, l'addition d'oxydant tel le peroxyde d'hydrogène, outre la libération d'oxygène, permet d'augmenter la solubilité du substrat et la disponibilité des nutriments microorganismes et la possibilité d'oxydations radicalaires et biologiques (**Goi et al. 2011**). Le lavage des sols assisté par tensioactifs est aussi une technique éprouvée de la remédiation in situ des sols qui est rapide et efficace dans le cas de fortes contaminations par les HPs (**Befkadu and Chen, 2018 ; Yan et al., 2016**).

Dans le cadre de la remédiation d'un sol sujet à une ancienne pollution, et dans une première partie, une étude paramétrique est réalisée à l'échelle des microcosmes solide-liquide afin de déterminer les conditions optimales de solubilisation des produits pétroliers, suivie d'un traitement par biostimulation (ajout de nutriments inorganiques, de Tween 80 et/ou de H_2O_2) à l'échelle des microcosmes en phase solide où plusieurs paramètres sont variés afin de déterminer les conditions optimales de dégradation des HPs. Les résultats de la biostimulation sont ensuite optimisés par un plan d'expériences en utilisant un plan factoriel complet. Les conditions optimales obtenues lors de l'optimisation sont appliquées dans des réacteurs gaz/solide afin de simuler un traitement in situ de bioventing. En dernière étape, des essais de percolation du sol par des solutions de tensioactif en colonnes sont réalisés pour comparer les performances du bioventing et du lavage dans le cas d'un traitement in situ.

La thèse se subdivise en trois chapitres :

Le premier chapitre est une synthèse bibliographique comportant des généralités sur les hydrocarbures où nous avons abordé leur origine, leur classification, les différentes altérations des hydrocarbures dans l'environnement et les différents facteurs influençant leur biodégradation. La pollution des sols en général et la pollution des sols par les hydrocarbures ont été aussi abordées dans ce chapitre ainsi que les différentes techniques de remédiation existantes notamment les traitements in situ dans le cadre d'un développement durable.

Introduction générale

Le deuxième chapitre présente le matériel et les dispositifs expérimentaux utilisés pour les différentes études réalisées ainsi que les différentes méthodes d'analyses utilisées pour la caractérisation du sol et le suivi des traitements étudiés.

Le troisième et dernier chapitre est consacré à la présentation des différents résultats de la caractérisation du sol, de l'étude en microcosmes en phase liquide-solide et en phase solide, l'optimisation par plan d'expériences et l'étude en colonne en phase solide et en phase liquide-solide ainsi que leur interprétation.

En conclusion, nous récapitulons les différents résultats marquants obtenus au cours de ce travail et nous mettons en évidence les perspectives envisageables à l'issue de cette thèse.

Chapitre I :

Synthèse bibliographique

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

La pollution des sols par les produits pétroliers est un sujet d'actualité et d'une importance non négligeable au vu de la toxicité de certains de ces composés, même à faibles concentrations, sur l'environnement et qui affectent l'équilibre des différents écosystèmes et la santé humaine. Aussi, la restauration des sites et sols contaminés devient plus qu'une nécessité. L'objectif de ce chapitre est de présenter des généralités sur les hydrocarbures et leur classification. La pollution des sols engendrée par ces composés et son impact sur l'environnement et la santé humaine, ainsi que les différents traitements existants pour remédier cette pollution notamment les traitements in situ. De plus, une synthèse des différents travaux de recherche sur la remédiation des sols pollués par des produits pétroliers est présentée à la fin de ce chapitre.

I.1. Pollution des sols

La pollution des sols est un problème majeur (**Ranieri et al., 2016**), elle se produit lorsque des substances chimiques toxiques sont présentes à des concentrations présentant des risques pour la santé humaine et pour les différents écosystèmes (**Chaware et al., 2023**). La pollution des sols peut provenir soit des causes anthropiques (activité humaine) ou des phénomènes naturels. Le sol étant un puits dans lequel les polluants s'accumulent rapidement mais se dégradent lentement (**Lombi and Hamon, 2005**). La majorité de la pollution des sols est causée par les industries, les pratiques agricoles et la mauvaise gestion des déchets. Les polluants les plus couramment impliqués dans la pollution des sols sont : les métaux lourds, les polluants organiques persistants, les hydrocarbures pétroliers et leurs dérivées, les herbicides et les pesticides (**Chaware et al., 2023**).

Les hydrocarbures sont considérés comme les polluants environnementaux majoritaires les plus dangereux en raison de leurs propriétés toxiques, notamment les polychlorobiphényles (PCB) et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) (**Adipah, 2019**), et de leur présence dans la biosphère en grandes quantités. Les hydrocarbures pétroliers sont rejetés dans le sol à travers des accidents, des rejets industriels ou en tant que sous-produits utilisés dans la vie quotidienne ou suite aux déversements volontaires ou involontaires dans le sol. 600.000 de tonnes de pétrole sont déversés annuellement dans le monde (**Sui et al., 2021**). Ces composés obstruent les pores du sol, modifient le contenu et la structure de la matière organique et diminuent l'activité microbienne et par conséquent, ils mettent en danger la santé humaine via la chaîne alimentaire.

I.1.1. Pollution des sols par les hydrocarbures

Les sols pollués par les hydrocarbures ne conviennent pas aux usages agricoles et constituent des sources potentielles de contamination des eaux de surface et des eaux souterraines. Pour faire face à cette pollution, des méthodes physiques, chimiques et/ou biologiques sont couramment utilisées pour le traitement des sols et des sites contaminés (**Kebede et al., 2021**). La production des hydrocarbures occupe une place centrale dans l'économie algérienne, avec une production de 194 MTEP (Millions de tonnes équivalent pétrole) en 2023 selon le site internet Algérie Presse Service dans un article publié le 09/01/2024, L'exploitation de cette ressource est une source potentielle de pollution par les hydrocarbures menaçant l'environnement. En plus de l'exploitation, le transport de cette matière augmente les risques d'accidents et de déversement provoquant la pollution du sol et du sous-sol.

Pour faire face à cette pollution et à protéger l'environnement et les êtres vivants, l'Algérie a mis en œuvre des textes législatifs et réglementaires visant à réduire la pollution causée par l'industrie pétrolière et à la dépollution de ces rejets :

Loi n°83-03 a pour objet la mise en œuvre d'une politique nationale de protection de l'environnement tendant à : la protection, la restructuration et la valorisation des ressources naturelles ; la prévention et la lutte contre toute forme de pollution et nuisance ; l'amélioration du cadre et de la qualité de vie.

Décret exécutif n°93-161 réglementant le déversement des huiles et lubrifiants dans le milieu naturel.

Décret exécutif n°93-162 fixant les conditions et les modalités de récupération et de traitement des huiles usagées.

Loi n° 03-10 relative à la protection de l'environnement dans le cadre d'un développement durable.

Décret exécutif n°90-79 portant la réglementation du transport des matières dangereuses.

Décret exécutif n°90-277 portant création, mission, composition et fonctionnement du comité technique du transport des matières dangereuses.

Arrêté du 05/11/89 portant la procédure de contrôle des opérations de chargement et de déchargement de marchandises dangereuses.

Loi n°01-13 portant orientation, organisation des transports terrestres des matières dangereuses.

I.1.2. Impact des hydrocarbures sur l'environnement

Les hydrocarbures pétroliers totaux constituent une menace potentielle pour l'environnement. Selon l'USEPA, les rejets des hydrocarbures pétroliers dans l'environnement menaceront la

santé publique et la sécurité en contaminant l'eau potable, provoquant les risques d'incendies et d'explosion, impactant la qualité de l'air, de l'eau et du sol, compromettant l'agriculture et le gaspillage des ressources non-renouvelables, de plus, le contact des hydrocarbures avec le sol prendra plusieurs années pour être remédié (**Adipah, 2019**). La pollution du sol par les hydrocarbures constitue une source de risques permanents pour la santé humaine (caractère cancérigène et/ou mutagène de certains hydrocarbures tels les HAP) et l'environnement (contamination du sous-sol et des eaux souterraines) en raison de son caractère toxique et insidieux.

I.1.3. Généralités sur les hydrocarbures

I.1.3.1. Définition des hydrocarbures

Les hydrocarbures constituent un groupe de produits chimiques organiques de structures très variées, composés principalement de carbone et d'hydrogène. Les hydrocarbures constituent 65 à 95% de la majorité des pétroles bruts et sont classés en quatre grandes catégories (**Figure I.1**) : les hydrocarbures saturés (30 à 70%), les hydrocarbures aromatiques (20 à 40%), les composés polaires (5 à 25%) et les asphaltènes, les résines et les métaux (0 à 10%), le Tableau I.1 représente la composition élémentaire du pétrole brut.

Tableau I. 1 : Composition élémentaire du pétrole brut (**Sayed et al., 2021**)

Eléments	Carbone	Hydrogène	Soufre	Azote	Oxygène	Métaux
Pourcentage (%)	85 - 90	10 - 14	0,2 - 3	<0,1 - 2	1 – 1,5	<1

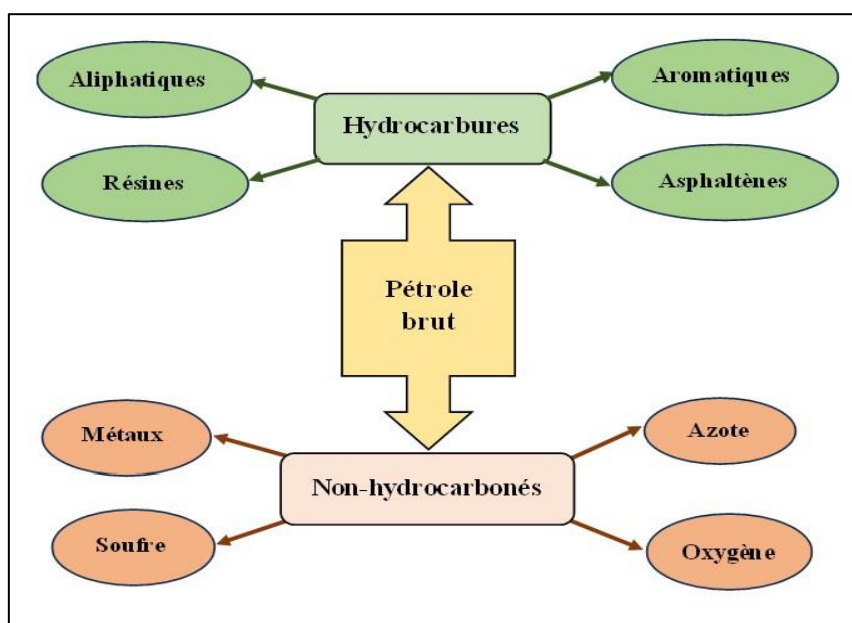


Figure I. 1 : Principaux constituants du pétrole brut (**Jabbar et al., 2022**)

I.1.3.2. Classification des hydrocarbures

➤ Hydrocarbures aliphatiques

Les hydrocarbures aliphatiques saturés constituent la fraction la plus abondante du pétrole, selon leur structure chimique, ils sont classés en deux groupes : les alcanes non cycliques, qui correspondent aux alcanes linéaires ou ramifiés, et les alcanes cycliques (**Koshlaf and Ball, 2017**). Ces composés sont principalement composés de carbone et d'hydrogène et constituent un support structural de divers produits pétroliers (**Mishra et al., 2023**).

Les hydrocarbures aliphatiques à chaîne longue (C₂₀-C₄₀) sont plus persistants, plus difficiles à dégrader et ne s'évaporent pas facilement en raison de leur faible solubilité, leur structure et leur faible biodisponibilité (**Koshlaf and Ball, 2017**).

➤ Hydrocarbures aromatiques

Les hydrocarbures insaturés possédant un ou plusieurs cycles de carbone, appelés souvent les benzènes, très actifs par rapport aux autres groupes des hydrocarbures, leur formule générale est C_nH_{2n-6} (**Chaudhuri, 2016**). Les hydrocarbures aromatiques sont des composés complexes et lourds, ils sont toxiques et persistants et provoquent plusieurs formes de cancer (**Jabbar et al., 2022**). Ce sont des composés récalcitrants et ont une forte hydrophobicité, ce qui les rend difficiles à dégrader (**Koshlaf and Ball, 2017**).

➤ Les résines

Les résines constituent un groupe hétérogène de composés aromatiques qui comprend les acides naphténiques, les cétones, les quinones et les phénols. Ils sont caractérisés par leur polarité et toxicité élevées (**CEAEQ, 2015**).

➤ Les asphaltènes

Les asphaltènes sont une classe des hydrocarbures qui précipitent dans les alcanes linéaires et sont solubles dans les solvants aromatiques tels que le toluène ou le benzène (**Mishra et al., 2023**). Les asphaltènes sont constitués de plusieurs centaines de composés qui ont des solubilités similaires, mais qui peuvent avoir des structures, tailles et formes différentes. Ils contiennent des chaînes de n-alcanes, des alcanes cycliques et des hétéroatomes tels que l'azote, le soufre et l'oxygène et des traces de métaux (**CEAEQ, 2015**). Ils jouent un rôle très important dans la stabilisation des hydrocarbures.

I.1.4. Différentes altérations des hydrocarbures dans l'environnement

Les hydrocarbures émis dans l'environnement sont sujets à de nombreuses altérations chimiques, physiques et biologiques. Parmi ces différentes altérations nous citons :

➤ **Evaporation**

L'évaporation est le phénomène initial qui survient juste après le déversement des hydrocarbures dans l'environnement (**Wang et al., 2021**). C'est le facteur majeur d'élimination des composés volatils du pétrole brut lors de déversement à grande échelle. Les hydrocarbures les plus légers et à courte chaîne tels que les alcanes légers (propane, butane, pentane) peuvent perdre jusqu'à 99% de leur masse (**Mohammadi et al., 2020**).

➤ **Dissolution**

La dissolution varie en fonction de la taille moléculaire, la structure et la polarité (**Mohammadi et al., 2020**). Les hydrocarbures les plus hydrosolubles sont les composés mono-aromatiques, les BTEX (benzène, toluène, éthyl-benzène et xylène) (**Noel, 2014**). Tandis que les alcanes sont non polaires et hydrophobes.

➤ **Photo-oxydation**

C'est un processus potentiellement important dans la dégradation des hydrocarbures déversés dans la nature, qui affecte principalement les hydrocarbures aromatiques. Sous l'action des rayons solaires UV, les hydrocarbures saturés sont résistants tandis que les aromatiques sont particulièrement sensibles, ils se transforment à des composés plus légers et moins alkylés (**Wang et al., 2021**).

➤ **Adsorption**

Les hydrocarbures peuvent être adsorbés par les composants organiques et minéraux du sol. Ce processus dépend d'une part des conditions environnementales tels que : la température, le pH, le taux d'humidité, etc.... Et d'une autre part des caractéristiques du polluant et de la nature du sol tels que la solubilité, la masse moléculaire, l'âge de la pollution, la granulométrie, la minéralogie, le taux de la matière organiques, etc....).

➤ **Biodégradation**

C'est le processus naturel le plus important dans la décontamination du sol. Elle est définie comme la décomposition de la matière organique sous l'action des microorganismes (bactéries, champignons, algues), les hydrocarbures sont les polluants organiques soumis à la

biodégradation dès que les microorganismes capables de les utiliser se sont développés (Noel, 2014).

I.1.5. Biodégradation des hydrocarbures

La biodégradation est la transformation d'un composé en sous-produits moins complexes sous l'action des microorganismes à travers des processus métaboliques ou enzymatiques. Ce sont des réactions de types redox résumées par l'équation I.1 dans le cas de conditions aérobies (Arrar, 2007) :



La biodégradation se déroule souvent dans des conditions aérobies, l'oxygène étant utilisé comme accepteur d'électron, mais elle peut se produire également dans des conditions anaérobies quand la disponibilité de l'oxygène est limitée, les nitrates, les sulfates et les ions ferriques étant utilisés comme accepteurs d'électrons alternatifs (Ehiosun, 2022). La dégradation des hydrocarbures est plus rapide dans les conditions aérobies que dans les conditions anaérobies, par conséquent, la supplémentation en oxygène augmente significativement le taux de biodégradation (Chandra et al., 2013).

La biodégradation dépend de l'activité bactérienne régie par les conditions environnementales, le type et la charge de pollution et de la biodisponibilité des polluants.

Les aliphatiques sont dégradés et assimilés par un large éventail des microorganismes, les n-alcanes de longueur (C10-C24) sont dégradés le plus rapidement. Les alcanes à longue chaîne sont généralement résistants à la biodégradation. Les aromatiques peuvent être partiellement oxydés mais sont métabolisés par quelques microorganismes seulement. Les taux de biodégradation les plus élevés sont enregistrés dans le cas des composés saturés suivis par les aromatiques légers, les aromatiques de poids moléculaire élevé et les composés polaires, ces derniers présentent des taux de dégradation extrêmement faibles (Chandra et al., 2013). La susceptibilité à la biodégradation est classée comme suit : alcanes linéaires > alcanes ramifiés > aromatiques à faible poids moléculaire > alcanes cycliques (Sui et al., 2021).

I.1.6. Facteurs influençant la biodégradation des hydrocarbures

Plusieurs facteurs biotiques et abiotiques influencent l'activité microbienne étroitement liée à la biodisponibilité des polluants (Chatterjee et al., 2022). Parmi ces différents facteurs on peut citer : le type de sol, les conditions environnementales intrinsèques du sol tels : la teneur en nutriments, la température, l'humidité, le pH, la présence d'accepteurs ou donneurs d'électrons.

➤ Teneur en nutriments

Les nutriments sont les principaux facteurs stimulants la croissance et le métabolisme des microorganismes. Le carbone, l'azote et le phosphore sont les éléments essentiels pour les microorganismes (**Chatterjee et al., 2022**). Les composés pétroliers sont une excellente source de carbone pour les microorganismes, néanmoins, ils sont considérés comme des éléments incomplets à l'activité microbienne car ils ne contiennent pas des concentrations significatives des autres nutriments nécessaires à la croissance microbienne tel que l'azote et le phosphore (**Jabbar et al., 2022**).

Pour un processus de biodégradation réussie, une supplémentation en azote et en phosphore est nécessaire afin de maintenir une activité microbienne adéquate (**Chandra et al., 2013**). L'azote et le phosphore doivent être ajoutés en fonction de la quantité du carbone, généralement un rapport C/N/P= 100/10/1 est préconisé pour une bonne activité microbienne et pour la dégradation des hydrocarbures (**Chandra et al., 2013; Sravya and Sangeetha, 2022**). Cependant, ce rapport peut varier dans des sols très contaminés et/ou selon le type de sol (**Speight and El-Gendy, 2018**).

➤ Température

La température joue un rôle très important dans la biodégradation des hydrocarbures car elle affecte l'état physique des hydrocarbures et les microorganismes présents dans le sol. Une température basse retarde la biodégradation car la viscosité des hydrocarbures augmente ce qui réduit la volatilisation des hydrocarbures de faible poids moléculaire (**Chandra et al., 2013**). En général, les taux de dégradation les plus élevés sont enregistrés à une température de 15°C à 45°C (**Sravya and Sangeetha, 2022**).

➤ Humidité

L'humidité affecte directement le processus de la biodégradation. Une quantité d'eau adéquate est requise pour la croissance des microorganismes (**Jabbar et al., 2022**). Dans la littérature, nous trouvons des auteurs qui préconisent un pourcentage de 50 à 80% de la capacité de rétention d'eau pour une activité microbienne maximale (**Morgan and Atlas, 1989; Skopp et al., 1990; Speight and El-Gendy, 2018; Chaudhary and Kim, 2019**). Alors que d'autres rapportent un taux d'humidité compris entre 12 et 25% (**Adams et al., 2015; Mukherjee and Das, 2005; Sihag et al., 2014**).

➤ PH

Le pH optimal pour l'activité microbienne se situe entre 5,5 et 8,8 (**Sravya and Sangeetha, 2022**). Au-delà de cette valeur, l'azote présent dans le sol se transforme en ammoniac et ne sera plus disponible comme nutriment pour les microorganismes (**Lukić et al., 2017**). Un pH acide favorise la solubilisation des métaux lourds qui sont toxiques aux microorganismes (**Chatterjee et al., 2022**).

➤ Oxygène

L'oxygène est utilisé comme un accepteur d'électron dans le processus de biodégradation aérobie, c'est un élément essentiel pour la survie des microorganismes (**Chatterjee et al., 2022**).

La biodisponibilité de l'oxygène dépend de plusieurs facteurs : la consommation microbienne de l'oxygène, le type du sol, la présence de substrat conduisant à un appauvrissement en oxygène, ... etc. (**Chandra et al., 2013**).

Une bioremédiation anaérobie peut aussi être considérée dans le traitement des sols contaminés par les hydrocarbures mais elle nécessite la présence des accepteurs d'électrons comme le nitrate, le fer ou le sulfate. L'inconvénient de cette stratégie est les taux de biodégradation qui sont relativement faibles par rapport aux conditions aérobies, et par conséquent, la période de traitement sera plus longue (**Thapa et al., 2012**).

➤ Type du sol

La texture du sol influence le transport de l'oxygène et des nutriments vers la flore indigène du sol (**Gabet, 2004**), les sols perméables tels que les sols sableux permettent de mieux transporter ces éléments, ce qui permet d'accélérer le processus de biodégradation (**Jabbar et al., 2022**).

La taille des particules du sol affecte l'accumulation des hydrocarbures et le processus de bioremédiation, les hydrocarbures sont fortement accumulés dans les sols les plus fins plus que les sols grossiers (**Speight and El-Gendy, 2018**).

➤ Biodisponibilité des hydrocarbures

La faible biodisponibilité des polluants dans le sol est un facteur majeur qui inhibe l'activité microbienne et par conséquent le taux de biodégradation (**Kebede et al., 2021**). D'après **Speight and El-Gendy, (2018)** 10 à 30% de la pollution initiale ne peut être éliminée par les techniques de bioremédiation à cause de la faible biodisponibilité des hydrocarbures. Plusieurs processus physico-chimiques tels que : la sorption, la dissolution, la désorption et la diffusion influencent la biodisponibilité des contaminants, ce qui affecte le processus de biodégradation (**Chatterjee et al., 2022**).

I.2. Traitement des sols pollués par produits pétroliers

I.2.1. Choix d'une technique de remédiation

L'étape la plus importante dans la remédiation des sites contaminés par les hydrocarbures pétroliers (HPs) est l'identification et la mise en œuvre d'une technique de remédiation appropriée et fiable qui permettra d'éliminer les polluants sans nuire au milieu et qui est durable à long terme (**Kuppusamy et al., 2020**). Le choix est basé essentiellement sur les enjeux environnementaux et technico-économiques, la durée du traitement et l'usage futur d'où l'intérêt de développer des solutions efficaces et rentables.

Plusieurs critères sont pris en considération (**da Silva and Maranhão, 2019**) :

- La concentration et la nature des contaminants,
- Les caractéristiques physico-chimiques et biologiques du sol,
- Le temps de dégradation ou d'élimination des polluants,
- Et la disponibilité des ressources (financières, matérielles et humaines).

La figure I.2 résume les différentes étapes de sélection d'une technique de remédiation

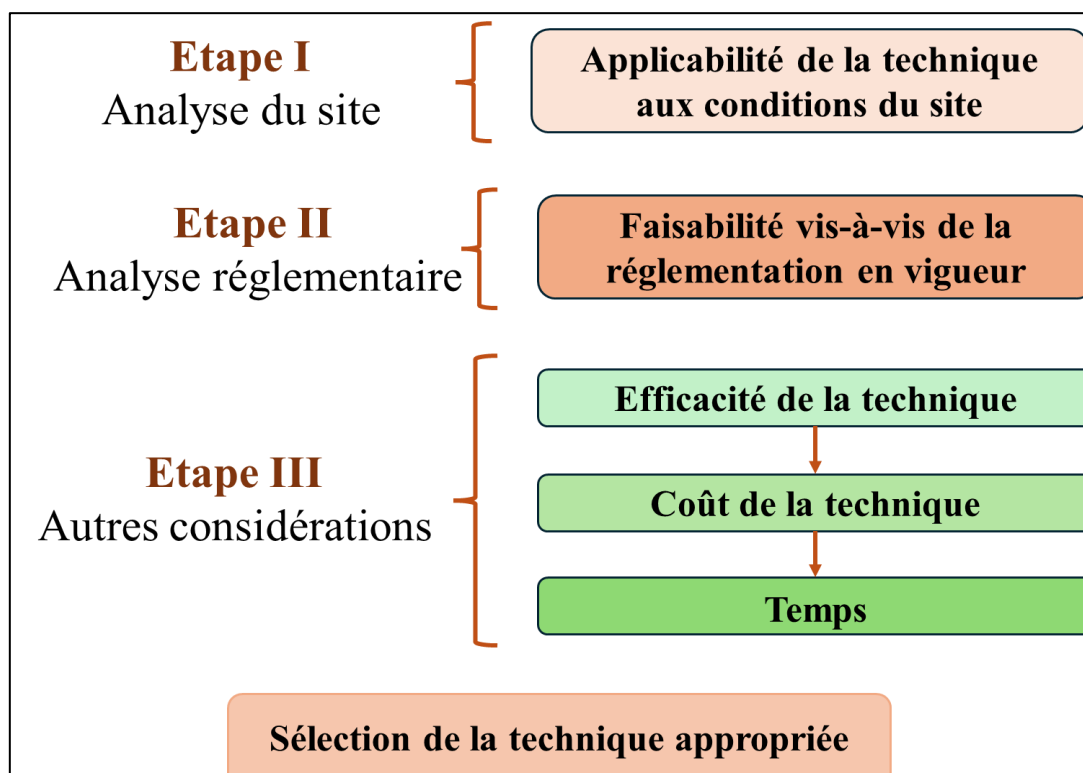


Figure I. 2 : Processus de sélection d'une technique de remédiation (Kuppusamy et al., 2020)

Quelle que soit la technique choisie, un environnement est considéré comme remis en état lorsque la contamination atteint un niveau égal ou inférieur à la limite sécuritaire compatible avec la protection de la santé humaine et conforme avec la législation environnementale.

I.2.2. Techniques de traitement

Les techniques de remédiation des sites pollués par les HPs existantes sont classées selon :

- 1) Le lieu d'application : in situ ou ex situ ;
- 2) Le type de procédé : physique (modification de la forme physique des contaminants afin de les éliminer), chimique (réaction chimique altérant ou détruisant les polluants dans l'environnement), thermique (utilisation de l'énergie pour détruire ou détoxifier les contaminants) et biologique (utilisation des microorganismes pour dégrader les polluants présents dans le sol à traiter).

Plusieurs techniques physiques, chimiques, thermiques ou biologiques existent pour faire face à cette pollution et minimiser les effets engendrés, le tableau I.2 regroupe quelques-unes.

Tableau I. 2 : Techniques de traitement des sols (Ossai et al., 2020).

Techniques	Principe	Exemples
Physiques	Séparer et concentrer les polluants sans les modifier ou les détruire.	Extraction des vapeurs, lavage des sols, extraction par solvant.
Chimiques	Injection d'un réactif chimique afin de transformer le polluant en une forme moins nocive pour l'environnement en créant une réaction entre le réactif et le polluant.	Emulsification, oxydation chimique.
Thermiques	Traitement à très haute température afin de détruire le polluant.	Désorption thermique, incinération.
Biologiques	Utilisation des microorganismes pour l'élimination des polluants.	Bioventing, biopile, compostage.

Ces techniques peuvent être appliquées in situ sans excavation du sol ou ex situ avec excavation du sol, Bien que le temps de traitement par ces dernières soit plus court, les techniques in situ sont privilégiées en raison de leur moindre coût et du fait qu'elles ne provoquent pas de perturbation de la zone environnante du site contaminé (Vidali, 2001). Aussi, beaucoup de recherches se sont focalisées sur le développement des techniques in situ (Kuppusamy et al., 2020).

Par ailleurs, les méthodes biologiques sont une alternative prometteuse pour le traitement des sols pollués par les hydrocarbures, elles sont plus avantageuses et particulièrement attractives par rapport aux autres techniques vu leur coût, leur simplicité et elles sont respectueuses de l'environnement (Agnello et al., 2016). En outre, la bioremédiation ne permet pas le transfert de pollution d'un environnement à un autre, par exemple du sol à l'eau ou à l'air (Kensa, 2011).

I.2.3. Bioremédiation

La bioremédiation est définie comme étant l'utilisation de microorganismes pour dégrader et/ou minéraliser les polluants d'un environnement. C'est une méthode efficace utilisée pour la récupération des sites contaminés par le pétrole et déchets dangereux, elle est non invasive et relativement rentable (Chandra et al., 2013). La bioremédiation permet d'éliminer et neutraliser les polluants organiques en des composés non toxiques et plus simples tels que l'oxyde de carbone et l'eau (Ossai et al., 2020).

Le tableau I.3 regroupe les techniques de bioremédiation des sols.

Tableau I. 3 : Techniques de bioremédiation des sols pollués par des produits pétroliers (Chaudhary and Kim, 2019).

Technique de mise en œuvre	Type de traitement	Contaminants	Références
In situ	Bioventing	HPT Les solvants non chlorés	(Höhener and Ponsin, 2014 ; Brusseau et al., 2013)
	Biosparging	Kérosène Diesel BTEX	(Azubuike et al., 2016; Kao et al., 2008)
	Phytoremédiation	HPT HAP Hydrocarbures chlorés	(Ikeura et al., 2016 ; Ali et al., 2013; Bramley-Alves, 2009)
Ex situ	Landfarming	HAP HPT Hydrocarbures non volatils	(Jeong et al., 2015 ; Chang et al., 2010 ; Paudyn et al., 2008)
	Compostage	HPT HAP BTEX	(Saum et al., 2018 ; Tomei and Daugulis, 2013 ; Barnes et al., 2002)
	Biopile	HPT Hydrocarbures volatils Hydrocarbures non-halogénés	(Azubuike et al., 2016 ; Dias et al., 2015 ; Chemlal et al., 2012;)
	Bioréacteurs	HPT BTEX HAP Hydrocarbures chlorés	(Chikere et al., 2016; Firmino et al., 2015; Tomei and Daugulis, 2013)

La bioremédiation est un processus attractif et productif utilisant les microorganismes pour la réhabilitation des sols pollués. Elle est appliquée pour la décontamination d'une large variété de polluant, les microorganismes ont un large pouvoir de dégrader partiellement ou complètement les contaminants.

Quoique la bioremédiation ait prouvé son efficacité face aux différentes molécules présentes dans le pétrole brut ou les produits raffiné (**Usman et al., 2018**), elle reste limitée face aux résidus non biodégradables, à la non-disponibilité des nutriments, l'absence des microorganismes capables de dégrader les hydrocarbures, ... etc.

Pour cela l'efficacité des techniques mentionnées au tableau I.3 peut être améliorée par la mise en œuvre de deux grandes stratégies : la biostimulation et la bioaugmentation, appelée aussi la bioremédiation améliorée (**Chaudhary and Kim, 2019**).

➤ Bioaugmentation

La bioaugmentation est l'introduction de souches microbiennes ou de consortiums isolés généralement des sites contaminés dans le milieu à traiter, elle est utilisée lorsque la population indigène dégradant les hydrocarbures est faible afin d'améliorer l'efficacité d'élimination des polluants (**Kebede et al., 2021**).

L'introduction des microorganismes exogènes nécessite une étude préalable de la diversité et l'activité microbienne du sol à traiter car cela pourrait entraîner des changements significatifs dans la composition de la communauté microbienne indigène du sol (**Koshlaf and Ball, 2017**).

➤ Biostimulation

La biostimulation consiste en l'amélioration de la capacité métabolique des microorganismes indigènes par l'ajout des éléments nutritifs dans le sol tels que le phosphore, l'azote, le carbone et/ou les accepteurs d'électrons (oxygène), et l'optimisation des conditions environnementales telles que le pH, la température et l'humidité (**Lukić et al., 2017**). L'ajout des éléments dépend du métabolisme de la communauté microbienne ciblée (**Huguenot, 2010**). La biostimulation est plus efficace dans le cas des sites sujet à une pollution chronique (**Udume et al., 2023**).

Il existe un large éventail de choix pour la réalisation de la biostimulation, la plus utilisée est l'ajout des nutriments inorganiques (azote et phosphore) qui affecte positivement l'efficacité de la biodégradation (**Yang SiZhong et al., 2009**). L'application des agents tensioactifs synthétiques ou biologiques peut augmenter la biodisponibilité des polluants, et par conséquent améliore leur élimination. De plus l'ajout des accepteurs d'électrons tel que le H₂O₂ libère l'oxygène et la chaleur dans le milieu ce qui accélère l'activité microbienne (**Bacocchi et al., 2004**).

Dans ce qui suit, nous détaillons l'utilisation des agents tensioactifs et des oxydants chimiques dans le cadre d'une biostimulation pour améliorer les performances de la bioremédiation des sols pollués par les hydrocarbures.

I.2.4. Les agents tensioactifs et la bioremédiation

L'utilisation des agents tensioactifs est devenue une technologie attrayante ces dernières années, c'est une option efficace pour améliorer le traitement des sols contaminés (**Sales da Silva et al., 2020**). Ils sont connus d'une part, par leur aptitude à améliorer la solubilisation des produits pétroliers, ce qui permet la séparation de ces derniers des particules de sol et augmentent la possibilité de contact avec les microorganismes. D'une autre part, les tensioactifs peuvent modifier l'hydrophobicité des surfaces des cellules microbiennes (**Ling et al., 2023**).

Selon leur origine, les surfactants sont classés en deux grandes catégories : les surfactants synthétiques et les biosurfactants. Les deux classes sont amphiphiles, avec une structure hydrophobe (queue) et hydrophile (tête) en même temps.

A de faibles concentrations, les molécules des tensioactifs sont présentes sous forme de monomères dispersés, à mesure que leurs concentrations augmentent ils commencent à former des agrégats et dès qu'ils atteignent une concentration aqueuse particulière, ils forment des micelles cette concentration est appelée la concentration micellaire critique (CMC), c'est la formation des micelles qui rend le tensioactif efficace pour solubiliser les composés organiques hydrophobes (**Mao et al., 2015**). Cette concentration est spécifique à chaque agent tensioactif et dépend du type, de la structure et de la composition du surfactant, de la force ionique, de la température, la présence et les types des additifs organiques du milieu. La CMC est un paramètre très important à prendre en considération lors de l'utilisation d'un tensioactif car la solubilisation des hydrocarbures augmente à des concentrations supérieures ou égale à la CMC (**Yan et al., 2016**).

Plusieurs facteurs doivent être considérés avant la sélection du surfactant approprié à savoir : le coût, l'efficacité à de faibles concentrations (en général $< 3\%$), la faible toxicité, la faible adsorption et dispersion dans le sol et la faible tension superficielle (**Billings, 2014**).

➤ **Tensioactifs synthétiques**

Les tensioactifs synthétiques sont classés en quatre types : cationiques, anioniques, non-ioniques et zwitterioniques. Ils diffèrent par leurs caractéristiques d'adsorption, leur CMC, leur capacité de solubilisation et de fait, leur performance de solubilisation des composés organiques hydrophobes (COH). Tous ces tensioactifs ont été largement utilisés dans les procédés

d'élimination des composés organiques et ont prouvé leur efficacité (**Sales da Silva et al., 2020; Lamichhane et al., 2017**).

Masrat et al., (2013) ont mené une étude sur l'élimination du naphthalène et du pyrène en utilisant plusieurs types de surfactant non-ionique (Brij 30 et Brij 50), cationique (DDEAB et CTAB) et anionique (SDS), ils ont trouvé que les tensioactifs non ioniques ont donné les meilleurs rendements d'élimination, et que les tensioactifs cationiques sont meilleurs que les anioniques.

D'après **Mao et al., (2015)**, les tensioactifs non-ioniques sont privilégiés dans les processus de remédiation que les tensioactifs ioniques car ils ont généralement une faible CMC ce qui rend la formation des micelles plus facile. De plus, ils sont connus par leur capacité de solubilisation et leur faible toxicité (**Sales da Silva et al., 2020; Mao et al., 2015**).

Une étude comparative menée par **Iglesias et al., (2014)** portant sur l'amélioration de la solubilisation et la dégradation du phénanthrène dans les sédiments marins par l'ajout de trois surfactants non-ioniques (Brij 35, TX 100 et Tween 80), il ressort des résultats trouvés que le Tween 80 est le meilleur surfactant non-ionique dans l'élimination et la dégradation du phénanthrène. **Franzetti et al., (2008)** ont trouvé que le Tween 80 est compatible au processus de bioremédiation et il n'est pas toxique aux microorganismes, de plus, il est biodégradable et a été largement utilisé dans la bioremédiation des HAP.

➤ Biosurfactants

Les biosurfactants sont soit d'origine microbienne tel que les glycolipides soit d'origine végétale tel que la saponine.

Les biosurfactants sont biodégradables et non toxiques pour les microorganismes susceptibles de dégrader les composés organiques (**Seo, 2008**). Ils sont aussi solubles dans l'eau, forment des micelles au-dessus de la CMC et réduisent la tension superficielle et interfaciale comme les tensioactifs synthétiques (**Befkadu and Quanyuan, 2018**).

I.2.5. L'oxydation chimique et la bioremédiation

L'oxydation chimique est un processus fréquemment utilisé dans la restauration des sites contaminés par des produits organiques, les oxydants les plus utilisés sont le permanganate (MnO_4^-), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'ozone (O_3) et le persulfate ($\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$) (**Richardson, 2010**).

L'efficacité d'un processus d'oxydation chimique dépend de plusieurs facteurs : la réactivité de l'oxydant, les propriétés du sol, le type et l'état physique des contaminants et la localisation de la zone contaminée (**Richardson, 2010**). L'oxydation chimique est connue comme étant une

stratégie de remédiation polyvalente, elle permet l'élimination rapide et étendue des composés récalcitrants légers et denses (**Sutton et al., 2011**).

Malgré son efficacité dans l'élimination des composés organiques, l'ajout des oxydants chimiques peut avoir un impact négatif sur la fertilité du sol (**Laurent et al., 2012**). De plus, l'oxydation chimique peut impacter négativement l'activité microbienne, mais lorsqu'elle est correctement appliquée cet impact est temporaire et les microorganismes peuvent se régénérer à une durée de 7 à 21 jours, ce qui n'affecte pas la capacité de biodégradation (**Sutton et al., 2014**) et **Laurent et al., 2012**).

La bioremédiation et l'oxydation chimique sont des traitements complémentaires, **Koolivand et al., (2017)** préconisent la combinaison des traitements chimiques et biologiques pour de meilleurs rendements d'élimination des hydrocarbures et des durées de traitement moins longues. **Medina et al., (2018)** ont indiqué que le couplage de l'oxydation chimique et la bioremédiation produits des résultats concluants indiquant une amélioration de l'efficacité de la remédiation par rapport à l'oxydation chimique ou la bioremédiation seules.

Le couplage de ces deux techniques a montré des résultats prometteurs dans la restauration des sites contaminés, l'oxydation chimique diminue les fortes concentrations des polluants organiques, par la suite les microorganismes font face à de faibles concentrations des polluants (**Liao et al., 2019**). Une étude à l'échelle pilote menée par (**Silva-Castro et al., 2013**) a porté sur traitement combiné d'oxydation Fenton (40L de H_2O_2) suivie de la bioremédiation par biostimulation (0,3 g de NPK) de 1000kg de sol pollué artificiellement par du diesel (20000 mg/kg de sol). Les résultats du suivi de la dégradation du diesel, enregistrés en surface, dans la zone insaturée à 30cm de profondeur et la zone saturée à 60cm de profondeur, montrent des taux d'élimination respectifs de 49, 23 et 4% dans le cas de l'atténuation naturelle et de 58, 57 et 32% dans le cas du traitement combiné. Les résultats de mesure de la biomasse ont montré que l'oxydation a réduit la croissance microbienne tandis que l'application de la biostimulation par addition de nutriments comme un post-traitement l'a stimulé à nouveau.

La mise en œuvre correcte de l'oxydation chimique couplée à la bioremédiation fournit un traitement plus étendu, rapide et rentable, l'oxydation chimique stimule la bioremédiation en réduisant la toxicité des contaminants (**Chen et al., 2016**) et en améliorant la biodisponibilité et la biodégradabilité des contaminants en fournissant l'oxygène (**Sutton et al., 2011**), elle peut également améliorer la biodisponibilité des nutriments naturellement présents dans le sol évitant ainsi les coûts potentiels des amendements (**Sutton et al., 2014**). De plus, (**Usman et al., 2012**) ont mentionné que l'intégration de l'oxydation chimique et la bioremédiation est une stratégie respectueuse de l'environnement.

I.3. Techniques de traitement in situ dans le cadre d'un développement durable

Le développement durable est un développement qui répond aux besoins du présent sans compromettre la capacité des générations futures à répondre aux leurs, les traitements in situ sont des méthodes de prédilection pour la réhabilitation des sols contaminés du fait de leur caractère durable (**Belley-Vézina, 2014**). Dans cette partie, nous détaillons les techniques de traitement in situ qui s'inscrivent dans le cadre d'un développement durable et qui sont étudiées et utilisées dans ce travail.

➤ Bioventing

Le bioventing, est parmi les techniques biologiques in situ les plus rentables et est connu par son efficacité à lutter contre les déversements des hydrocarbures pétroliers (HPs), ce processus fournit une meilleure oxygénation au sous-sol ce qui favorise l'activité microbienne et améliore la dégradation des contaminants (**Frutos et al., 2010**). Sous conditions contrôlées, ce procédé consiste à injecter l'air à de faibles débits dans la zone insaturée à travers des puits d'injection verticaux ou horizontaux en fonction de la profondeur et de la géologie. Des nutriments et de l'humidité peuvent être administrés avec de l'oxygène pour améliorer la biodégradation des polluants (**Chatterjee et al., 2022**).

Contrairement au venting, qui permet d'extraire les composés organiques volatils par injection de forts débits d'air dans la zone saturée à travers des puits d'injection et de récupérer les vapeurs dans les points d'extraction sous vide pour un éventuel traitement en surface (**Roudier, 2004**), le bioventing consiste en l'utilisation de faibles débits d'air pour permettre l'oxydation biologique et la stimulation de la biodégradation aérobie afin de minimiser la volatilisation des contaminants et éviter la libération de ces derniers dans l'atmosphère (**Chaudhary and Kim, 2019**).

L'efficacité du bioventing dépend fortement de la présence des microorganismes indigènes capable de dégrader les polluants organiques et un environnement favorable au développement microbien (**Kuppusamy et al., 2016**), en 2005, une étude menée par **Byun et al**, portant sur une analyse statistique des paramètres influençant le processus de bioventing, il a été trouvé que la concentration des HPT est fortement corrélée avec le nombre des bactéries hétérotrophes totales (**Byun et al., 2005**). La biodisponibilité du polluant est aussi un paramètre très important à prendre en considération. Une faible perméabilité du sol affecte significativement la performance du bioventing (**Kuppusamy et al., 2020**).

➤ Lavage des sols

Le lavage des sols est parmi les techniques in situ les plus utilisés avec succès pour l'élimination des polluants organiques (**Hoeppel et al., 1991; Kuppusamy et al., 2016**). Elle a reçu beaucoup d'attention ces dernières années, c'est une des technologies innovantes qui consiste en une combinaison de processus physique et chimique (**Gitipour et al., 2015**). Cette technique consiste en l'injection d'une solution de surfactant ou de solvant dans la zone contaminée pour favoriser une plus grande libération des polluants hydrophobes dans la phase aqueuse (**Hoeppel et al., 1991**).

Nous nous intéressons dans notre recherche au lavage des sols par les tensioactifs, au voisinage de la CMC, les tensioactifs contribuant à la solubilisation des contaminants hydrophobes du sol (**Karthick et al., 2019; Li et al., 2016**).

Cette technique est efficace dans le cas des sols relativement uniformes et perméables, cependant son efficacité est limitée dans le cas des sols avec des teneurs élevées en limon et argile, et dans le cas d'adsorption des tensioactifs dans la matrice du sol (**Reddy and Saichek, 2003**).

I.4. Etat de l'art des travaux antérieurs

En (**2023**), **Nong et al.**, ont examiné l'effet de la biostimulation (ajout de N et P suivant un rapport C/N/P de 100/10/1) et la bioaugmentation (par des bactéries issues du même sol) sur la dégradation des hydrocarbures pétroliers totaux d'un sol issu d'une zone de production de pétrole en Chine. Le prélèvement a été effectué sur trois zones avec des concentrations différentes en HPT, à la surface GN1 (0-10cm) avec 888,62g HPT/kg de sol, au milieu GN2 (10-20cm) avec 15,34g HPT/kg de sol et en profondeur GN3 (20-40cm) avec 1,63g HPT/kg de sol. Les expériences ont été réalisées dans des réacteurs cylindriques en plastique sur une durée de 300jours et la teneur en eau est maintenue constante à 20%. Les résultats de la dégradation ont montré que les deux techniques bioaugmentation et biostimulation sont plus efficaces que l'atténuation naturelle et que la biostimulation était meilleure pour la biodégradation des HPT avec des taux de 99,75%, 95,73% et 99,84% pour les zones respectives GN1, GN2 et GN3 (**Nong et al., 2023**).

Une étude comparative des différentes techniques de bioremédiation d'un sol sableux pollué artificiellement par le pétrole brut léger (40g/kg de sol) est menée par **Silva et al., (2022)** sur une durée de 180 jours, les techniques adoptées sont l'ajout des nutriments (N et P un rapport C/N/P=100/1,25/1) (III), l'ajout d'un biosurfactant (V/V=1/1) (IV), l'ajout du biosurfactant et

nutriments en même temps (V) et comme essais de contrôle un échantillon de sol non pollué avec de l'eau seule (I) et atténuation naturelle du pétrole brut seul (II). Les expériences ont été réalisées dans des boxes en verre contenant 10kg de sol et le taux d'humidité a été ajusté à 65-80% de la capacité de rétention d'eau. Le suivi a été effectué par la mesure de la biodégradation des huiles et de la graisse (OG), les hydrocarbures aliphatiques (AH) et les hydrocarbures aliphatiques polycycliques (PAH). A la fin des expériences, ils ont trouvé que la biostimulation avec ajout des nutriments inorganiques est un outil très important pour la restauration des sols pollués par les déversements du pétrole, les meilleurs taux d'élimination enregistrés pour les systèmes respectifs III et V de 90,40% et 78% pour les OG, 96,82% et 98,35% pour les AH et 83,58 et 72,3% pour les PAH.

Dans une étude menée sur un sol contaminé par les hydrocarbures pétroliers prélevé d'une zone contaminée, (J.-W. Liu et al., 2021) ont étudié l'effet de lavage du sol par différents agents tensioactifs (SDBS, Tween 80, Tween 60, rhamnolipid et TRS-1) en faisant varier plusieurs paramètres à savoir le temps d'agitation, la température et la concentration du surfactant. Ils constatent que la concentration de surfactant a l'effet le plus significatif sur l'enlèvement des hydrocarbures pétroliers et que les conditions optimales d'élimination des hydrocarbures sont : un temps d'agitation de 45min, une température de 35°C et une concentration de surfactant de 2000 mg/L, tous les surfactants ont enregistré un taux d'élimination de plus de 60% dans ces conditions à l'exception de Tween 60 où seulement 55,62% ont été éliminés.

Giovanella et al., (2021) ont mené une étude en microcosmes sur l'influence de la biostimulation (ajout de N et P) et la bioaugmentation (ajout d'un consortium microbien) sur l'élimination du diesel d'un sol artificiellement pollué (2g/kg de sol). L'ensemble des traitements a été incubé à l'abri de la lumière et aéré chaque semaine sur une durée de 90jours, il ressort des résultats que la biostimulation a éliminé 41,9% de diesel alors que la bioaugmentation n'a éliminé que 15%. Cette étude a démontré l'effet positif de la biostimulation sur la dégradation des HPT.

En (2019), **Chen et al.**, se sont intéressés à la bioremédiation d'un sol issu d'un champ pétrolier en Chine et contaminé suite à un déversement des hydrocarbures (26300mg/kg de sol) par ajout des nutriments, NH_4NO_3 et K_2HPO_4 (C/N/P à 100/10/5) et/ou de déchet solide âgé (20% m/m). Les résultats obtenus après 30 semaines de traitement ont montré l'importance des nutriments et le déchet solide âgé sur l'élimination des HPT, les rendements ont atteint 82,1, 63,7 et 90,2 % dans le cas de la biostimulation, l'ajout du déchet âgé et la combinaison des deux

respectivement alors que seuls 29,3% sont éliminés par atténuation naturelle (**Chen et al., 2019**).

Afin d'évaluer l'influence des caractéristiques physico-chimiques et biologiques initiales sur l'efficacité de la bioremédiation d'un sol par biostimulation, **Calvo et al., (2019)** ont mené une étude en microcosmes sur des sols différents, un sol sableux avec une faible teneur en nutriments et une faible activité biologique et un sol limoneux argileux avec une forte teneur en nutriments et une activité biologique élevée. Les deux sols ont été pollués par le pétrole brut Arabe à des concentrations finales de 10000 et 20000 mg/kg de sol. Différents agents biostimulants (fertilisant commercial NPK, surfactant synthétique bioversal et engrais oléophile commercial) ont été utilisés, les concentrations des différents agents biostimulants ont été doublées dans le cas du sol limoneux argileux. Il ressort des différents essais que pour le sol sableux avec une concentration élevée du pétrole brut, le traitement avec l'engrais oléophile et le surfactant donne de meilleurs résultats alors pour une faible concentration n'y a pas eu de différence entre les différents traitements. Dans le cas du sol limoneux argileux, le traitement par surfactant était le meilleur pour la faible concentration tandis que pour la forte concentration, le traitement par l'engrais oléophile et le surfactant a enregistré le meilleur taux d'enlèvement.

Yan et al., (2016) ont étudié l'efficacité de traitements combinant un lavage par tensioactif (Tween 80 (150mg/L), 20jours) suivi de la bioremédiation par biostimulation et bioaugmentation dans le cas de sols limoneux-sableux et limoneux-argileux artificiellement pollués par du diesel (13g/kg de sol). Il ressort des différents essais que les meilleurs résultats sont obtenus dans le cas du sol limoneux sableux. Le lavage assisté par du Tween 80 a permis l'enlèvement de 67,5% de diesel alors que dans le cas de la bioremédiation seul 56,7% de diesel ont été éliminés. La combinaison des deux techniques peut être une stratégie prometteuse pour les sites contaminés par les hydrocarbures avec des rendements d'élimination des HPs de 77,1% et de 46,9% pour les sols limoneux sableux et limoneux argileux respectivement.

Betancur-Corredor et al., (2015) ont évalué l'ajout de biostimulants et du Tween 80 sur la bioremédiation par biostimulation d'un sol limoneux-sableux sujet à une ancienne pollution par le DDT à l'échelle des microcosmes pendant 8 semaines. A la fin du traitement, 79% de DDT ont été éliminés avec l'ajout de KH_2PO_4 et l'urée suivant un rapport C/N/P de 100/8/1 et du Tween 80 à raison de 6,55mg/kg de sol tandis que l'amendement seul en KH_2PO_4 et urée a permis l'enlèvement de 94,3% de DDT contre seulement 4,28% par l'atténuation naturelle. Les

résultats de cette étude montrent que la biostimulation par simple addition de phosphore et d'urée est une méthode efficace dans l'élimination des DDT et que l'inefficacité du Tween 80 peut être due à la quantité insuffisante utilisée pour la formation des micelles et que la présence du tensioactif pourrait être à l'origine de l'adsorption du DDT dans la matrice du sol.

Sanscartier et al., (2011) ont étudié l'influence de la température (7 et 22°C) et de l'aération (13 et 45 mL/min) sur l'efficacité de la bioremédiation d'un sol pollué par le diesel dans des bioréacteurs en phase solide, les essais ont été effectués sur une durée de 6 mois. Il ressort de cette étude que l'enlèvement des hydrocarbures augmente avec l'augmentation du débit et de la température, un taux d'aération élevé améliore l'activité microbienne dans le sol d'une part et augmente aussi la volatilisation des HPs notamment à une température de 22°C d'une autre part, approximativement 51% des HPs ont été volatilisés. Le meilleur taux d'enlèvement de 83% a été enregistré à une température de 7°C et un débit de 45mL/min.

Le processus de bioventing dans des colonnes en verre a été étudié par **Frutos et al., (2010)** pour le traitement d'un sol artificiellement pollué par le phénanthrène à 1000mg/kg de sol. Le sol amendé avec des nutriments suivant un rapport C/N/P de 100/20/1 et un taux d'humidité maintenu à 60% de la capacité de rétention d'eau, Après 7 mois de traitement, les auteurs ont trouvé que le bioventing a permis d'éliminer 93% de phénanthrène. C'est un taux significatif pour considérer la faisabilité du bioventing comme méthode de remédiation des sols contaminés par les HAP.

Franzetti et al., (2008) ont étudié deux surfactants présents sur le marché les alkyls polyethoxylates "Brij family" et les polysorbate "Tween family" pour une éventuelle utilisation dans le processus de bioremédiation et l'amélioration de l'élimination des hydrocarbures présents dans les sites contaminés. Les résultats ont montré que le "Tween" augmente la biodisponibilité des polluants et améliore la biodégradation des hydrocarbures ramifiés et les hydrocarbures avec un poids moléculaire élevé alors que le "Brij" améliore seulement la dégradation des hydrocarbures ramifiés.

Un bioventing à l'échelle laboratoire a été réalisé par **Lee et al., (2006)** sur un sol artificiellement pollué par le diesel (8000mg/kg de sol) et amendé en azote et en phosphore suivant un rapport molaire C/N/P a été ajusté à 100/10/1 sur une durée de 5mois a permis l'élimination entre 78,7 et 82 % des HPT de sol. Ces résultats sont prometteurs et déterminants pour le pouvoir du bioventing dans le processus de bioremédiation des sols pollués par les produits pétroliers.

Hwang et al., (2006) ont étudié l'effet du mode d'aération sur le traitement d'un sol mélangé avec des boues d'épuration déshydratées à un rapport massique (0,5/1) contaminé par le diesel à une concentration de 10000mg/kg du mélange sec, les modes d'aération employés sont 1h aération/1h repos, 1h aération/3h repos et 1h aération/7h repos comparés à une aération continue sur une durée de 30 jours. Il ressort des résultats que le mode d'aération 1h aération/3h repos a permis une dégradation plus active et rapide du diesel que le mode continue, une constante cinétique de $0,134 \text{ j}^{-1}$ contre $0,121 \text{ j}^{-1}$ pour l'aération intermittente et l'aération continue respectivement. L'analyse statistique par ANOVA a mis en évidence qu'il n'y a pas de différence entre le mode d'aération intermittent ou continue mais l'aération intermittente est préférable du point de vue consommation d'énergie.

Une étude comparative de l'effet de trois surfactants non ioniques Tween 80, Triton X-100 et le Brij 35 et un surfactant anionique SDS sur la solubilisation du Pyrène et de Phénanthrène d'un sol sableux limoneux artificiellement pollué dans des systèmes liquides/solide a été réalisée par **(Cheng and Wong, 2006)**, les expériences ont été menées pendant 24heures à l'abri de la lumière sous une température ambiante ($25-28^{\circ}\text{C}$), un rapport L/S=20/1 (mL/g), une vitesse d'agitation= 250rpm et des différentes concentrations de tensioactifs (30, 75, 150, 300, 600 mg/L), 10 μL d'une solution de HgCl_2 1M a été ajouté pour stopper toute activité microbienne. Les résultats obtenus ont montré que le Tween 80 a la meilleure capacité de désorption du pyrène et du phénanthrène suivi de Triton X-100 et le Brij 35 alors que le SDS ne semble pas avoir un effet positif sur l'élimination des polluants. L'élimination de phénanthrène et du pyrène a augmenté de 4,7% à 54,2% et de 0,4% à 34,0 % respectivement quand la concentration de Tween 80 a augmenté de 0 à 600mg/L.

Un procédé de lavage par tensioactif non-ionique (Tween 80, 2%) à l'échelle pilote a été réalisé par **Lee et al., (2005)** pour l'élimination de diesel d'un sol pollué depuis 45ans (20000mg/kg de sol sec), 88% de la concentration initiale a été éliminé, ce taux d'élimination est supérieur 75 fois du taux éliminé par le lavage à l'eau seule.

L'analyse de la meilleure méthodologie de laboratoire capable de stimuler la dégradation de diesel d'un sol pollué au laboratoire à une concentration de 6000mg/kg, **Gallego et al, 2001** ont testé la biostimulation par ajout d'une solution de nutriments inorganique et par ajout des boues stérilisée riche en N et P et la bioaugmentation par ajout des boues activées, l'ensemble des expériences a été menée dans des bioréacteurs en verre contenant 2,5kg de sol à une température entre 15 et 25°C et un taux d'humidité de 25%. Les résultats de cette étude ont montré que la

Chapitre I : Synthèse bibliographique

biostimulation par ajout d'une solution de nutriments inorganiques a permis d'éliminer >90% de l'enlèvement total et >80% de biodégradation de diesel.

Chapitre II :

Matériel et méthodes

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

Ce chapitre est consacré à la présentation des différents matériels, produits et méthodes d'analyse utilisées pour la caractérisation du sol et le suivi des différents paramètres. Ainsi qu'à la description des dispositifs expérimentaux utilisés pour la réalisation de l'étude en microcosmes et l'étude en colonne.

II.1. Dispositifs expérimentaux

II.1.1. Etude en microcosmes phase solide-liquide

Dans cette partie, un jar test à six postes a été utilisé (Figure II.1), permettant d'effectuer différents essais à l'échelle microcosme dans des réacteurs solide-liquide de même capacité et à une vitesse d'agitation constante pour déterminer les conditions optimales (vitesse d'agitation, temps de séjour, teneur en surfactant) d'enlèvement des hydrocarbures pétroliers du sol étudié. Les réacteurs S-L utilisés sont des béchers d'une capacité de 1L, contenant 25g de sol mélangé à 250mL d'une solution d'eau distillée dans le cas d'un lavage à l'eau seule ou une solution de Tween 80 dans le cas d'un lavage par un tensioactif.



Figure II. 1 : Système de lavage en batch.

II.1.2. Etude en microcosmes phase solide

Dans cette partie, des réacteurs en phase solide à l'échelle des microcosmes ont été également utilisés afin de déterminer les conditions optimales de dégradation du sol étudié, sujet à une ancienne pollution. L'étude a été réalisée dans des réacteurs en verre de 0,115m de hauteur et 0,08m de diamètre (Figure II.2). Les réacteurs ont été recouverts par du papier aluminium et gardé à l'abri de la lumière à une température de 28°C durant toute la période d'incubation.

Chapitre II : Matériel et méthodes

Les échantillons ont été prélevés périodiquement tout au long du traitement pour le suivi des différents paramètres tels que les HPT, la biomasse, les nutriments, le pH et le taux d'humidité.

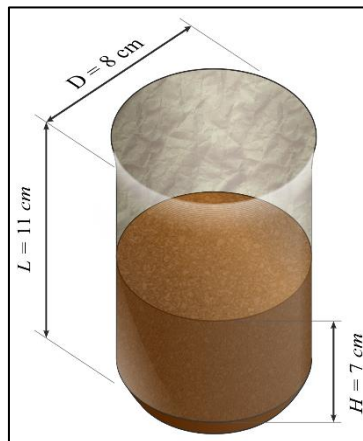


Figure II. 2 : Schéma du réacteur utilisé pour l'étude en microcosmes.

Dans ce cadre, différents systèmes ont été considérés en faisant varier les rapports molaires C/N/P, les teneurs en agent tensioactif et/ou les teneurs en oxydant afin de déterminer les conditions optimales pour l'enlèvement des hydrocarbures du sol par voies abiotique et biotique et de fait, favoriser l'activité microbienne et la biodégradation des hydrocarbures du sol. L'ensemble des systèmes a été incubé pendant 90 jours.

II.1.3 Etude en colonne en phase solide

Afin de simuler un traitement in situ de bioventing, des essais en colonne à lit fixe ont été réalisés en considérant les conditions optimales déterminées à l'échelle des microcosmes en phase solide, nous avons étudié l'influence de l'aération en adoptant différentes vitesses d'aération. La flore microbienne autochtone adaptée est stimulée par l'injection d'air, d'eau, de nutriments mais également d'eau oxygénée et de Tween 80.

Le dispositif expérimental utilisé comporte six réacteurs identiques (Figures II.3 et II.4), des colonnes en Plexiglass de forme cylindrique d'une hauteur de 30cm et d'un diamètre interne de 6,5cm, munies de prises de prélèvement équidistantes de 6,5cm et disposées le long d'une même génératrice.

La partie inférieure du réacteur, en PVC et de diamètre de 7cm et d'une hauteur de 9cm constitue la chambre d'injection d'air ou zone calmante. Elle est reliée à la colonne par l'intermédiaire d'un distributeur d'air, une plaque, en acier inoxydable, perforée suivant un maillage triangulaire (11mm) afin d'uniformiser la répartition d'air dans le sol. La chambre d'injection est munie de deux orifices pariétaux afin de permettre l'accès à l'air de venting et celui de l'eau et est remplie d'eau pour saturer l'air et l'humidifier. La partie supérieure de la

Chapitre II : Matériel et méthodes

colonne est surmontée d'une plaque de même matériau et même diamètre que la partie inférieure et d'une hauteur de 2,5cm, et comporte trois orifices, un pour évacuer l'air issu de la colonne du sol, un deuxième pour l'injection d'eau afin de maintenir l'humidité du sol constante et un troisième pour l'ajout des additifs appropriés selon le type de traitement. L'air de venting issu de la colonne de sol est renvoyé dans un barboteur rempli d'une solution de NaOH pour le piégeage du dioxyde de carbone généré par la dégradation des hydrocarbures du sol traité.

Le venting du sol est assuré à l'aide d'un compresseur et l'air est débarrassé de toute trace de dioxyde de carbone à l'aide d'une solution de NaOH 4M avant injection. Les débits de gaz utilisés pour l'aération sont mesurés à l'aide d'un débitmètre à flotteur préalablement étalonné.

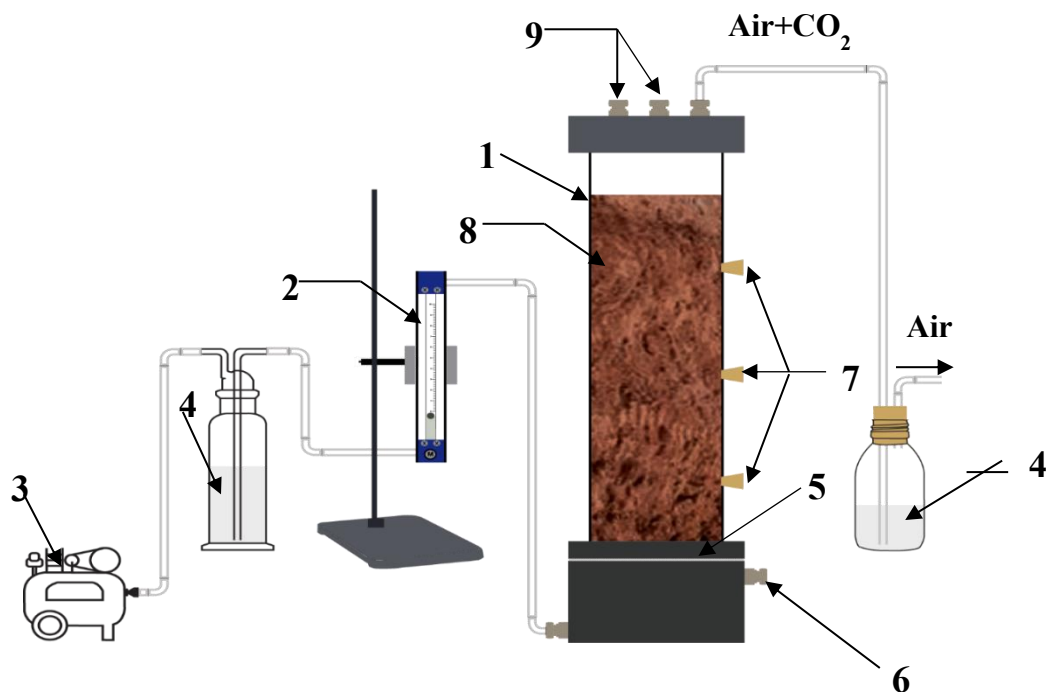


Figure II. 3 : Dispositif expérimental de l'étude en colonne. 1 : Colonne ; 2 : Débit mètre ; 3 : Compresseur ; 4 : Solution de NaOH (4N) ; 5 : Support ; 6 : Point d'injection d'eau ; 7 : Points d'échantillonnage ; 8 : Sol pollué ; 9 : Points d'injections.



Figure II. 4 : Photo du dispositif expérimental de l'étude en colonne.

➤ Calcul de la vitesse minimale de fluidisation :

Les débits d'aération utilisés dans cette partie ont été choisis en référence à la vitesse minimale de fluidisation (U_{mf}), pour assurer le bioventing dans un lit fixe. Les différents débits sont inférieurs à U_{mf} .

L'expression relative au calcul des vitesses d'aération est donnée par l'équation (II.5).

$$\text{➤ } U_f = \frac{Q_f}{A_c} \quad \text{II.1}$$

Avec

U_f : vitesse d'aération (m.s^{-1}) ;

Q_f : débit volumique du gaz d'aération (L.s^{-1}) ;

A_c : section droite de la colonne de venting (m^2).

Pour la détermination de U_{mf} , nous avons utilisé la relation d'Ergun donnant la chute de pressions à travers un lit de particules (équation II.2).

$$\frac{\Delta P}{L} = 150 \frac{(1-\varepsilon)^2}{\varepsilon^3} \frac{\mu_f}{(\psi d_s)^2} U_f + 1,75 \frac{(1-\varepsilon)}{\varepsilon^3} \frac{\rho_f}{\psi d_s} U_f^2 \quad \text{II.2}$$

Avec :

ΔP : perte de pression dans le lit

L : hauteur du lit des particules

ε : porosité,

ψ : facteur de sphéricité,

ρ_f : masse volumique du gaz (g.m^{-3}),

μ_f : viscosité du gaz (kg.m.s^{-1}),

d_s : diamètre des particules (m),

Chapitre II : Matériel et méthodes

U_f : vitesse de fluidisation (m/s).

qui se réduit à la relation II.3 en régime laminaire

$$\frac{\Delta P}{L} = 150 \frac{(1-\varepsilon)^2}{\varepsilon^3} \frac{\mu_f}{(\psi d_s)^2} U_f \quad \text{II.3}$$

Au minimum de fluidisation, la relation II.3 devient :

$$(1 - \varepsilon) (\rho_s - \rho_f) g = 150 \frac{(1-\varepsilon)^2}{\varepsilon^3} \frac{\mu_f}{(\psi d_s)^2} U_f \quad \text{II.4}$$

Et la vitesse minimale est donnée par la relation II.5

$$U_{mf} = \frac{(\psi d_s)^2}{150} \frac{\rho_s - \rho_f}{\mu_f} g \frac{\varepsilon^3}{(1-\varepsilon)} \quad \text{II.5}$$

Avec ;

$d_p = 76,851 \mu\text{m}$;

$\rho_s = 1540 \text{ kg/m}^3$;

$\rho_g = 1,2 \text{ kg/m}^3$;

$\mu_g = 1,8 \cdot 10^{-5} \text{ kg/m.s}$;

$\psi = 0,86$;

$\varepsilon = 0,47$

ψ	$U_{mf} \text{ (m/s)}$	$S \text{ (m}^2\text{)}$	$Q_{mf} \text{ (m}^3\text{/s)}$	$Q_{mf} \text{ (L/min)}$
0,86	0,00477776	0,00321536	1,5362E-05	0,9217334

II.1.4. Etude en colonne en phase solide-liquide

Le sol est introduit dans les colonnes précitées. La partie inférieure de la colonne, la grille en acier, est surmontée d'un filtre sur laquelle reposent des billes de verre (2cm). Le filtre permet la rétention des fines particules tandis que la couche de billes de verre permet une homogénéisation du percolât. Une couche de billes de verre (1cm) surmonte la colonne de sol pour une meilleure distribution du soluté. Le procédé de lavage du sol en colonne portera essentiellement sur l'influence de la hauteur de sol ((10cm, 20cm) avec une porosité de 0,4), du débit de la solution de lavage (1,7 et 3,4 mL/min) et la concentration en Tween 80 (200 et 500 CMC).

L'alimentation des colonnes est effectuée en mode descendant, elle se fait grâce à deux bacs d'alimentation de volume 1,2 L. Un système à gouteur est relié à l'extrémité inférieure des bacs, c'est un tube en plastique qui permet de produire des gouttes d'une même dimension afin de maintenir un débit d'alimentation constant.

Le percolât est récupéré par le bas de la colonne à des intervalles de temps réguliers dans des éprouvettes graduées placées en bas de colonne.

Chapitre II : Matériel et méthodes

Le lavage du sol est réalisé par une solution de Tween 80 et est effectué après saturation de la colonne avec de l'eau distillée.

II.2. Caractérisation du sol

II.2.1. Analyse granulométrique

L'analyse granulométrique a été déterminée par les méthodes de tamisage et de sédimentométrie. Pour les fractions supérieures à 0,08 mm, nous avons procédé au tamisage selon la norme **AFNOR X 31-107**. Le principe de la méthode consiste à placer une quantité de sol dans une tamiseuse, les tamis étant disposés dans le sens décroissant des ouvertures des mailles et déterminer les refus en masses retenues sur chaque tamis. Les résultats de mesure sont présentés dans la partie résultats et discussions. Pour la fraction fine du sol, les argiles, la granulométrie a été réalisée par sédimentométrie. Après destruction de la matière organique à chaud en présence d'eau oxygénée, les particules fines de sol sont dispersées dans une solution alcaline l'hexaméthaphosphate de sodium puis laissés au repos pour permettre la sédimentation des particules qui tombent avec des vitesses suivant la loi de Stokes (**Mathieu and Pieltain, 2003**).

II.2.2. Masse volumique

La masse volumique a été déterminée par la méthode pycnométrique qui consiste à introduire une masse (m_s) du sol dans une éprouvette graduée et tarée que l'on remplit par la suite avec de l'eau jusqu'à un certain volume.

La masse totale (m_t) pesée est la somme de la masse du solide, de la masse de l'eau dans les pores et de celle en excès. La méthode de calcul de la porosité et la masse volumique sont décrites en **Annexe A.2**.

II.2.3. pH

Le pH du sol a été déterminé selon la norme **NF X 31 103**. Un échantillon de 5g de sol a été mélangé avec 50mL de l'eau distillée qu'on agite par la suite pendant une demi-heure. La mesure du pH du surnageant est effectuée après deux heures à l'aide d'un multi paramètre Consort C3010.

II.2.4. Taux d'humidité

La norme utilisée est la norme **AFNOR X31-102** modifiée, elle est basée sur le séchage de 5g de sol pendant 24 heures dans une étuve à 105°C.

L'humidité est ensuite calculée par la formule suivante :

$$H = \frac{m_i - m_f}{m_i} * 100 \quad \text{II.6}$$

Avec, m_i : masse de l'échantillon avant séchage,

m_f : masse de l'échantillon après séchage,

H : teneur en humidité en (%).

II.2.5. Carbone organique

Le dosage du carbone organique est effectué selon la méthode **MA. 405 – C 1.1** du Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec. Le principe consiste à une oxydation d'une prise d'essai par une solution de bichromate de potassium en présence d'acide sulfurique.

Après la réaction, le dosage de la quantité de bichromate qui n'a pas réagi avec l'échantillon permet d'établir la concentration du carbone organique total. Le carbone organique est calculé à partir de l'équation **II.7**

$$C = \frac{(A-B) \times 10 \times 0,004 \times 100}{P \times A} \quad \text{II.7}$$

Où :

C : concentration massique de carbone organique (% C) ;

A : volume de sulfate ferreux utilisé pour le témoin (mL) ;

B : volume de sulfate ferreux utilisé pour l'échantillon (mL) ;

10 : volume de bichromate ajouté initialement ;

0,004 : nombre de g de C par mL de bichromate ;

P : poids de l'échantillon titré exprimé sur base sèche (g).

II.2.6. Demande chimique en oxygène DCO

La demande chimique en oxygène est la mesure de la quantité d'oxygène nécessaire pour oxyder la matière organique dans un échantillon. Elle donne une estimation de la quantité de polluants contenue dans un effluent. Elle est déterminée selon la méthode **MA. 315-DCO 1.1** du Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec. La matière organique oxydable est oxydée par un chauffage en milieu fortement acide ($\text{pH} < 2$) avec une quantité suffisante de bichromate de potassium $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$. La détermination de la DCO est effectuée en plusieurs étapes :

- Introduire dans des tubes appropriés 2,5mL de l'échantillon à analyser,
- Ajouter 1,5mL de la solution de digestion (détails en **Annexe A.3**),

- Ajouter lentement 3,5 ml du réactif acide et visser fermement le bouchon. Mélanger par la suite à l'agitateur à vortex. Lors du mélange, la chaleur dégagée est très grande,
- Porter à ébullition dans un bloc chauffant pendant 2h à une température de 150°C,
- Laisser refroidir à température ambiante,
- Effectuer la lecture de l'absorbance sur un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 600nm.

II.2.7. Teneur en hydrocarbures pétroliers totaux HPT

La détermination de la concentration en HPT a été réalisée par gravimétrie. 2g de sol contaminé sont mélangés et broyés avec du sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4) suivant un rapport massique de 4/5 ($m_{\text{Na}_2\text{SO}_4}/m_{\text{sol}}$), une première extraction est réalisée avec 12mL de dichlorométhane (CH_2Cl_2) dans un extracteur à ultrasons (Type Emmi 20) à 40°C pendant 10min ; le mélange est ensuite filtré pour récupérer l'extrait, Hydrocarbures du sol-solvant. Une deuxième extraction des hydrocarbures du sol par ultrasons est réalisée avec 6 mL de CH_2Cl_2 suivant le même principe. La détermination des hydrocarbures totaux du sol est réalisée par pesée de l'extrait total recueilli à l'issue de la bi-extraction et après évaporation du solvant dans un évaporateur rotatif (**Ouriache et al., 2019**).

Le taux d'élimination et de biodégradation des hydrocarbures pétroliers totaux sont calculés à partir des équations suivantes :

$$\text{Taux d'enlèvement des HPT}(\%) = \frac{[\text{TPH}]_0 - [\text{TPH}]}{[\text{TPH}]_0} \times 100 \quad \text{II.8}$$

$$\text{Taux de biodégradation des HPT}(\%) = \frac{[\text{TPH}]_{\text{abio}} - [\text{TPH}]_{\text{bio}}}{[\text{TPH}]_0} \times 100 \quad \text{II.9}$$

II.2.8. Fractionnement des hydrocarbures

La détermination des différentes fractions des hydrocarbures aliphatiques (F1), aromatiques (F2) et polaires (F3) est effectuée par la méthode gravimétrique décrite par **Kanzari et al., (2012)**, il s'agit d'une adsorption sur colonne chromatographique mixte (silice/alumine) de 50cm de longueur et 1cm de diamètre muni d'un robinet à son extrémité. Le bas de la colonne est bouché par de la laine de verre.

La colonne est préparée avec successivement 8g de gel de silice mis en suspension dans de l'hexane, l'hexane étant récupéré après 12h de repos, et 8g d'alumine sont introduits dans la colonne. Le haut de la colonne est ensuite chargé avec au maximum 50mg des hydrocarbures pétroliers totaux extraits du sol et récupérés dans le n-heptane et l'élution est réalisée avec successivement 30mL de n-heptane, puis 20mL d'un mélange de n-heptane/ CH_2Cl_2 suivant un

rapport 90/10 (v/v) pour récupérer la première fraction F1 qui contient que les aliphatiques apolaires. L'élution se poursuit avec 40mL d'un mélange de n-heptane/CH₂Cl₂ suivant un rapport volumique de 80/20 pour récupérer la deuxième fraction F2 contenant les aromatiques apolaires et enfin, avec 40mL d'un mélange de CH₂Cl₂/MeOH 95/5 (v/v) pour récupérer la fraction polaire F3 (**Kanzari et al., 2012**). Les différentes fractions sont alors concentrées à l'aide d'un évaporateur rotatif et leurs poids déterminés.

II.2.9. Microorganismes totaux

La détermination de la biomasse a été réalisée par la méthode de dénombrement décrite par **Liu et al., (2008)**. La solution mère est préparée en mélangeant 10g de sol avec 20mL d'une solution de NaCl 0,8% et une goutte de Tween 20. La solution est agitée à l'aide d'un vortex et une série de dilutions de 10⁻¹ est réalisée. Il s'agit de prélever 1mL de la solution mère à l'aide d'une pipette pasteur, que l'on transfère dans le premier tube d'eau physiologique pour obtenir une dilution de 10⁻¹. 1mL est ensuite prélevé de ce premier tube pour être transféré dans un deuxième tube pour obtenir une dilution de 10⁻², et ainsi de suite jusqu'à la dilution voulue. Pour chaque dilution, 1mL est prélevé et étalé dans une boîte de pétri où de la gélose nutritive est versée. Les boîtes sont agitées par la méthode de 8 et incubées à 37°C. Après 3 jours d'incubation, les colonies développées sont dénombrées. Une moyenne des nombres de germes pour chaque dilution dénombrable est exprimée en unités formant les colonies UFC/g.

II.2.10. Dosage des nutriments

Le dosage des nutriments s'effectue en deux étapes. La première étape consiste à extraire les nutriments de la matrice du sol, en mélangeant 15 g de sol avec de l'eau distillée suivant un rapport 1/10 (m/v) et en agitant pendant 30min.

Dans la seconde étape, les nutriments (azote ammoniacal, nitrites, nitrates et phosphore) extraits de la matrice du sol sont chacun dosés suivant des procédures et réactions adaptées à chaque élément.

La lecture de l'échantillon est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre UV de type « Perkin Elmer Lambda 25 UV/ VIS ». Les différentes courbes d'étalonnage sont présentées en **Annexe A.4**.

➤ Azote ammoniacal

Le dosage des ions NH₄⁺ est effectué selon la norme **NF 90-015**. La lecture se fait à une longueur d'onde de 420nm suite à une réaction de l'ammonium avec le réactif Nessler en présence d'hydroxyde de potassium et de sodium.

➤ Nitrites

La norme **NF T90-013** est utilisée pour le dosage des nitrites à une longueur d'onde de 435nm. Les ions NO_2^- forme un complexe coloré jaune avec le réactif Zambelli en présence de l'ammoniac pur.

➤ Nitrates

Les nitrates donnent du paranitrosoulate de sodium coloré en jaune en présence de salicylate de sodium (**NFT 90-045**). La mesure de l'absorbance se fait à 400nm.

➤ Phosphore assimilable

L'orthophosphate forme un complexe phosphomolybdique en présence d'un milieu acide avec le molybdate d'ammonium et le tartrate double d'antimoine et de potassium, ce complexe est réduit par l'acide ascorbique formant une coloration bleue dosé à 880nm (**NF 1189**).

II.2.11. Fer

Le fer endogène a été analysé en utilisant un diffractomètre DRX de type PANalytical X-Pert pro. La diffraction des rayons X (DRX) est une méthode d'analyse qualitative et quantitative utilisée pour caractériser la structure d'un matériau. Elle consiste à bombarder l'échantillon avec des rayons X, et à analyser l'intensité des rayons X qui est diffusée selon l'orientation dans l'espace. L'intensité détectée est enregistrée en fonction de l'angle de déviation du faisceau. Le logiciel X'PERT et Data Collector et Graphics and Identify sont utilisés pour l'enregistrement et l'analyse de diffractogrammes respectivement.

II.2.12. Surface spécifique BET

La surface spécifique est calculée par la méthode Brunauer-Emmett-Teller (BET). Elle est estimée à partir de la quantité d'azote adsorbée en relation avec sa pression à la température d'ébullition de l'azote liquide et sous une pression atmosphérique normale. L'appareil utilisé pour cette analyse est l'analyseur Micrometrics ASAP 2010V5.02H.

II.2.13. Dosage du CO_2 dégagé

La dégradation des hydrocarbures pétroliers sous l'action de micro-organismes en milieu aérobie aboutit à des produits de transformation moins complexes, de l'eau et du dioxyde de carbone CO_2 gazeux. Le CO_2 dégagé véhiculé par l'air du venting à la sortie du réacteur est piégé dans une solution de NaOH qui est récupérée puis transvasée dans un flacon clos pour effectuer le dosage du CO_2 dégagé à un instant t.

Le dosage du CO_2 est réalisé par la méthode de titrage et la détermination des points équivalents. 5mL de NaOH sont dilués dans 45mL d'eau distillée. Le titrage du CO_2 dans la solution de

Chapitre II : Matériel et méthodes

NaOH diluée par du HCl 1N est réalisé tout en mesurant le pH de la solution pour chaque volume de HCl ajouté. L'évolution du pH (Figure II.4) permet d'extraire les deux volumes équivalents permettant de mesurer le nombre de moles de CO₂ dissous.

Le volume de HCl qui correspond au dosage de CO₂ piégé sous forme de carbonates est :

$$V_{HCl} = V_2 - V_1 \quad \text{II.10}$$

Avec,

V₁ : volume équivalent 1

V₂ : volume équivalent 2

Le nombre de moles dissous est calculé par la formule suivante :

$$n_{CO_2 \text{ dissous}} = C_{HCl} \times V \quad \text{II.11}$$

Avec,

C_{HCl} : concentration de HCl.

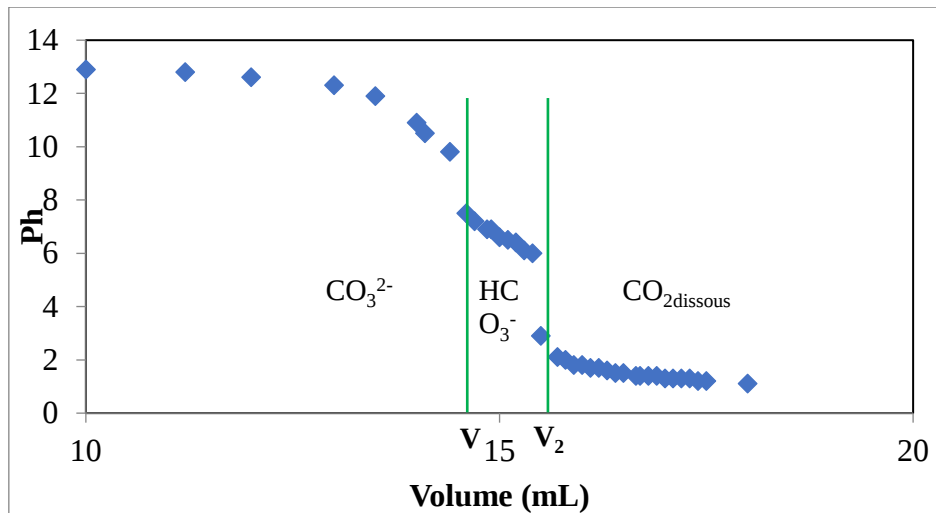


Figure II. 5 : Courbe type de neutralisation de NaOH par HCl.

Chapitre III : Résultats et discussion

Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSION

L'étude porte sur la remédiation d'un sol sujet à une ancienne pollution par des produits pétroliers. Nous nous intéresserons en particulier sur la faisabilité de techniques biologiques qui peuvent s'appliquer in situ et permettre une activité accrue de la microflore, une augmentation de la vitesse et des taux d'enlèvement des hydrocarbures pétroliers du sol en privilégiant la biodiversité naturelle.

Le traitement du sol nécessite au préalable des opérations d'homogénéisation, de broyage, de tamisage..., une caractérisation physico-chimique et biologique afin de réunir les conditions optimales de dégradation des hydrocarbures pétroliers.

Nous abordons ensuite l'étude de la remédiation du sol dans différents réacteurs à partir du suivi de la biomasse, de l'azote ammoniacal, des nitrites, des nitrates et du phosphore ainsi que celles des hydrocarbures, en fonction du temps.

Notre étude se scinde en quatre parties ;

- Un traitement par biostimulation à l'échelle de microcosmes en phase solide par l'ajout de nutriments inorganiques, d'un agent tensioactif et d'un oxydant afin de déterminer les conditions optimales de dégradation des hydrocarbures pétroliers du sol. Des essais préalables à l'échelle microcosme solide – liquide sont réalisés pour déterminer les conditions optimales (vitesse d'agitation, temps de séjour, teneur en surfactant) de solubilisation des produits pétroliers et de fait, d'augmenter leur biodisponibilité et leur biodégradation ;
- L'analyse statistique des données par le plan factoriel pour la modélisation des performances du procédé de traitement par biostimulation dans le domaine opérationnel
- Une étude dans des colonnes de sol pré-fluidisé pour simuler un traitement in situ de bioventing dans les conditions optimales de biostimulation déterminées. Elle porte sur l'influence de la vitesse d'aération et du mode d'aération (continu et discontinu) sur l'enlèvement et la biodégradation des hydrocarbures pétroliers du sol à partir, en outre du suivi du dioxyde de carbone ;
- Enfin, des essais de percolation du sol par des solutions de tensioactif en colonnes sont réalisés pour comparer les performances du bioventing et du lavage dans le cas d'un traitement in situ.

L'ensemble des essais sont regroupés dans le tableau III.1

Tableau III. 1 : Récapitulatif des essais expérimentaux.

Série	Etude	Expériences
A	Caractérisation du sol	• Tamisage et stockage du sol • Caractérisation physico-chimique et biologique du sol
B	Lavage du sol en batch assisté par tensioactif	• Lavage à l'eau • Lavage par tensioactif
C	Remédiation du sol par biostimulation Etude paramétrique	• Effet des nutriments • Effet d'un agent tensioactif • Effet de l'oxydant • Optimisation par plan d'expériences
D	Etude en colonnes en phase solide	• Effet du débit • Effet du mode d'aération
E	Etude en colonnes en phase solide-liquide	• Effet d'un agent tensioactif sur le lavage du sol

III.1 Echantillonnage et caractérisation du sol

III.1.1 Préparation et stockage de l'échantillon

Le sol utilisé dans notre étude a été collecté d'un site contaminé par des produits pétroliers d'une ancienne station de service situé à l'est d'Alger (36°44'13.169"N, 3°7'35,513"E), à une profondeur de 10-30cm selon la norme **AFNOR X31100**. Les échantillons prélevés sont tamisés à 0,8mm (partie des fines particules de sol dans laquelle la pollution est concentrée). Le sol est ensuite soigneusement homogénéisé par la méthode de quartage qui consiste en la division du sol en quatre parties égales. Seule la moitié du sol est retenue en réunissant deux quarts opposés.

Cette sélection est homogénéisée et un nouveau quartage est effectué et l'opération est répétée trois fois (**Figure III.1**). L'échantillon final a été tassé et stocké dans des pots, préalablement stérilisés, à une température de +4°C à l'obscurité pour une caractérisation et un traitement ultérieur.

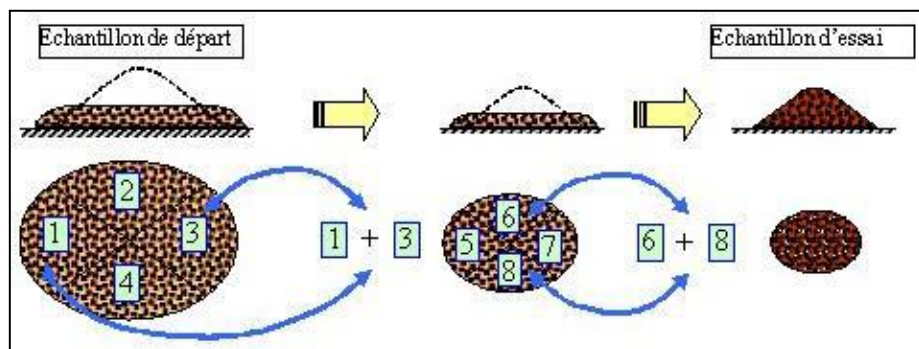


Figure III. 1 : Opération de quartage (Liandrat et al., 2015).

III.1.2 Caractérisation physico-chimique et biologique du sol

L'ensemble des résultats des différentes analyses et mesures effectuées sur le sol étudié sont regroupés dans le tableau III.2.

Tableau III. 2 : Propriétés physico-chimiques et microbiologique du sol.

Paramètres	Valeurs	Paramètres	Valeurs
Sable (%)	58	NO ₂ ⁻ (mg/kg de sol sec)	1,90 ± 0,02
Argile (%)	18	NO ₃ ⁻ (mg/kg de sol sec)	263,1
Limon (%)	24	NH ₄ ⁺ (mg/kg de sol sec)	170,29 ± 2,17
Texture	Sableux-limoneux	PO ₄ (mg/kg de sol sec)	187,20 ± 0,75
C _u (d ₆₀ /d ₁₀)	12,25	C/N/P _{molaire}	3017/5/1
ε	0.47 ± 0,007	HPT (g/kg de sol sec)	91,25 ± 0,69
ρ _{sol} (kg/m ³)	1540± 0,002	Fraction aliphatique (%)	64,4
pH	7,26 ± 0,16	Fraction aromatique (%)	23,2
Conductivité (μS/cm)	340,0 ± 1,5	Fraction polaire (%)	3,4
Humidité (%)	6,000 ± 0,001	X (UFC/g de sol sec)	5,2×10 ³
Matière organique (%)	10,87 ± 0,79	BET (m ² /g)	21,614±0,088
Carbone organique total (%)	7,58 ± 0,10	Fe ₂ O ₃ (g/kg de sol)	9,34
DCO (mg d'O ₂ / kg de sol sec)	51111		

L'analyse granulométrique révèle une texture sablo-limoneuse avec 58% de sable, 18% d'argile et 24% de limon. La texture du sol, son hétérogénéité (Cu = 12,25) mettent en évidence son aptitude pour un traitement in situ. Le sol étudié présente une surface spécifique de 21,6m²/g conséquente qui pourrait agir sur la rétention du tensioactif sur la matrice du sol.

Le pH du sol se situe dans l'intervalle de neutralité favorable à la biodégradation des polluants organiques (Gabet, 2004; Haritash and Kaushik, 2009; Lukić et al., 2017). Selon Dibble and Bartha, (1979) rapporté par Arrar (2007), la dégradation des hydrocarbures est maximale pour des pH compris entre 7,5 et 7,8.

Le taux de l'humidité de 6% pourrait être suffisant pour que les transferts entre substrat, microorganismes et nutriments puissent s'effectuer. En effet, selon **Ballerini, (1999)** et **Davis and Madsen, (1996)**, les processus métaboliques des micro-organismes requièrent un taux d'humidité supérieur à 2%. **Nano et al., (2003)** proposent un taux d'humidité supérieur à 15% tandis que **Sravya and Sangeetha, (2022)** mentionnent qu'un minimum d'humidité de 25% est requis pour la croissance des microorganismes. Beaucoup de chercheurs préconisent des taux d'humidité entre 50 et 70% de la rétention totale d'eau ou la teneur en eau à saturation (égale à la porosité). Des teneurs supérieures à 70% influent sur la perméabilité des sols aux gaz et par conséquent limitent la diffusion de l'oxygène et les métabolismes microbiens aérobies.

Le dosage des hydrocarbures pétroliers totaux a montré une forte contamination du sol étudié, de 91,25g/kg de sol sec avec 64,4%, 23,2% et 3,4% des fractions aliphatiques, aromatiques et polaires respectivement.

Le dosage des nutriments et la détermination du rapport molaire C/N/P a mis en évidence l'excès de carbone et le déficit en azote et en phosphore avec un rapport molaire de 3017/5/1. **Chandra et al., (2013)** préconisent des rapports C/N/P de 100/10/1 à 100/1/0,5 pour améliorer le processus de biodégradation. Plusieurs chercheurs s'accordent sur le même rapport molaire C/N/P de 100/10/1. **Mukherji et al., (2004)** trouvent que la croissance microbienne atteint un maximum pour un rapport molaire optimal N/P de 2/1. Au-delà de 5/1, la croissance microbienne est inhibée pour devenir négligeable lorsque le rapport N/P est supérieur à 10. **Ghazali et al., (2004)** rapportent que le rapport C/N/P doit être maintenu à 120/10/1 pour améliorer la croissance microbienne.

L'analyse biologique du sol a montré la présence d'une population microbienne de $5,17 \times 10^3$ UFC/g de sol sec suggérant la faisabilité du traitement biologique en référence aux travaux de **(Lin et al., 2010)**.

III.2. Lavage du sol en batch

Le lavage des sols par tensioactifs présente plusieurs avantages dans le cas de la dépollution des sols perméables contaminés par les hydrocarbures en raison de son coût raisonnable, de son faible impact environnemental (**Gabet, 2004**) et de la possibilité d'être couplé à la bioremédiation pour permettre la dégradation des polluants, en particulier dans le cas d'anciennes pollutions. L'utilisation de surfactants est en général préconisée pour les sols fortement contaminés en hydrocarbures (**Befkadu and Quanyuan, 2018**).

Les conditions ont été optimisées afin d'une part de mobiliser et solubiliser les hydrocarbures du sol et leur transfert dans la phase aqueuse et de fait, améliorer les taux de dépollution et

d'autre part, de déterminer la concentration optimale du Tween 80 dans le cas d'un traitement par biostimulation en phase solide. Le Tween 80 a été choisi en raison de sa non-toxicité et de sa biodégradabilité ($k_{\text{bio.}} = 0,020 \div 0,021 \text{ j}^{-1}$ **Franzetti et al., (2006)**).

L'efficacité de la solubilisation étant étroitement liée à la concentration en tensioactif, certains auteurs préconisent l'utilisation des concentrations autour de la CMC afin d'éviter la formation des congglomérats (**De La Cueva et al., 2016**) alors que d'autres suggèrent d'utiliser des concentrations très élevées par rapport à la CMC (**Liu et al., 1991; Villa et al., 2010; Yan et al., 2016**), le taux d'adsorption du tensioactif sur le sol diminuant avec l'augmentation de sa concentration en solution aqueuse, en raison du phénomène de saturation du milieu.

Dans ce cadre, des essais en batch de lavage du sol par l'eau et par agent tensioactif, le Tween 80 ont été réalisés (tableau III.3) à la température ambiante. Pour l'ensemble des expériences, le rapport S/L est fixé à 1/10 (m/v) et la masse de sol contaminé utilisé préalablement stérilisé est de 25g. La mise en œuvre d'un excès de solution tensioactive par rapport au sol 10/1 (mL/g) constitue des conditions favorables à la désorption des polluants du sol. En effet, des essais préalables ont montré que les meilleurs taux d'extraction des hydrocarbures du sol sont obtenus pour des ratios liquide/solide élevés et sont en parfait accord avec les travaux (**Viglianti et al., 2008**) qui ont montré, que l'efficacité d'extraction des HAP croît de manière quasi-linéaire avec le ratio liquide-solide (entre 3 et 12). Ils ont obtenu des taux d'enlèvement compris entre 53 et 90%.

Tableau III. 3: Récapitulatif des essais du lavage du sol en batch.

Lavage	Paramètres étudiés	Valeurs
Eau	Vitesse d'agitation (rpm)	50, 100, 150
Tween 80 [CMC] _{Tween 80} = 0,013g/L	Concentration	1CMC – 600 CMC
	Vitesse d'agitation (rpm)	50, 100, 150

Le mélange réactionnel est alors agité pendant 6h et des prélèvements sont effectués tout au long de lavage pour le suivi de la concentration des HPT dans la solution à partir de la mesure de la DCO.

➤ Lavage à l'eau

Dans une première étape, un lavage à l'eau est réalisé en faisant varier la vitesse d'agitation, qui favorise le détachement des hydrocarbures de la surface des particules du sol. L'évolution de la DCO dans la phase liquide est représentée sur la figure III.2.

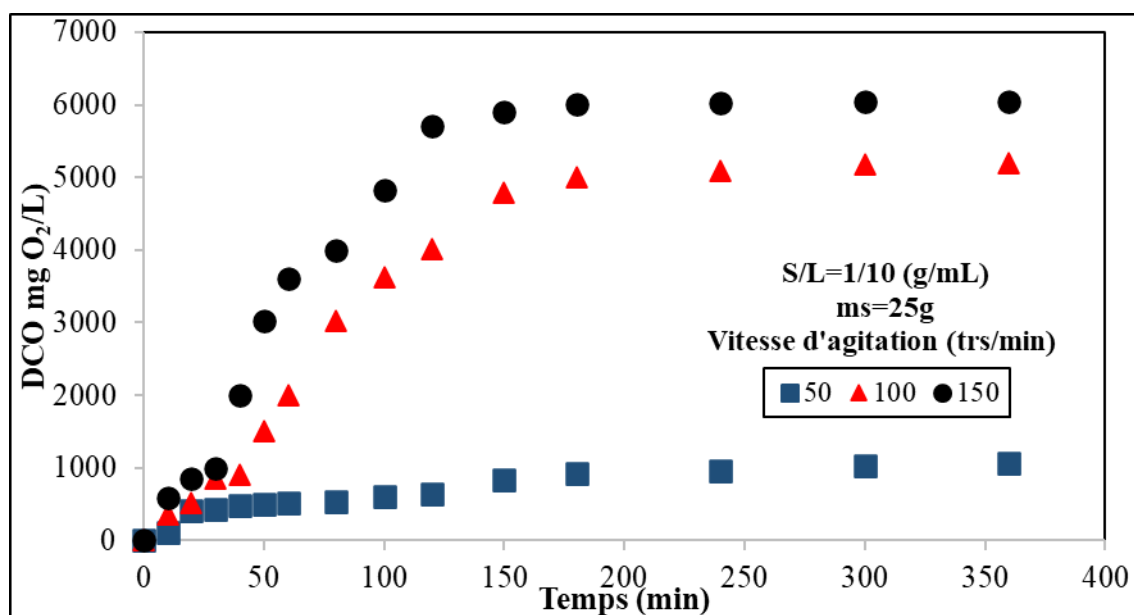


Figure III. 2 : Influence de la vitesse d'agitation sur l'extraction des hydrocarbures du sol dans le surnageant, cas du lavage avec de l'eau.

Comme illustré sur la figure III.2 la vitesse d'agitation impacte significativement l'évolution des hydrocarbures pétroliers dans la phase liquide. L'efficacité d'extraction des hydrocarbures pétroliers de la matrice sol augmente avec l'augmentation de la vitesse d'agitation et l'intensification du mouvement des particules de sol. **Peng et al., (2011)** et **Baziar et al., (2013)** ont rapporté que les collisions entre particules du sol deviennent plus importantes avec l'augmentation de la vitesse d'agitation, facilitant le relargage des contaminants de la phase solide. Au-delà de 100trs/min, l'impact de l'augmentation de la vitesse d'agitation sur l'extraction diminue avec toutefois un taux d'extraction maximal de 47,3% alors que pour une agitation de 100trs/min, le taux d'extraction est de 40,7%. La quantité maximale extraite dans la phase liquide est observée à partir de 150 min.

Des études ont montré que la teneur en hydrocarbures transférés dans la phase liquide a tendance à diminuer avec l'augmentation de la vitesse d'agitation (**Peng et al., 2011; Baziar et al., 2013; Saadi and Dounit, 2014**).

➤ Lavage au tensioactif

Dans cette partie, les essais de mobilisation et solubilisation des hydrocarbures du sol en batch sont réalisés dans une solution de Tween 80, de concentrations variant de 1 à 600 CMC sous agitation de 50, 100 et 150 trs/min. La mise en œuvre d'un excès de solution tensioactive par rapport au sol 10/1 (mL/g) constitue des conditions favorables à la désorption du polluant (**Peng et al., 2011**).

Chapitre III : Résultats et discussion

Le suivi de la solubilisation des polluants du sol à partir de la détermination de la DCO de la solution de lavage montre que la quantité d'hydrocarbures pétroliers extraits est peu affectée par l'intensité de l'agitation dans la plage étudiée (Figures III.3 A, B) ;

L'évolution temporelle de la quantité d'hydrocarbures pétroliers (HPs) extraits de la matrice du sol suit la même allure pour les différents essais, elle est rapide au début, pour se poursuivre lentement jusqu'à atteindre un maximum.

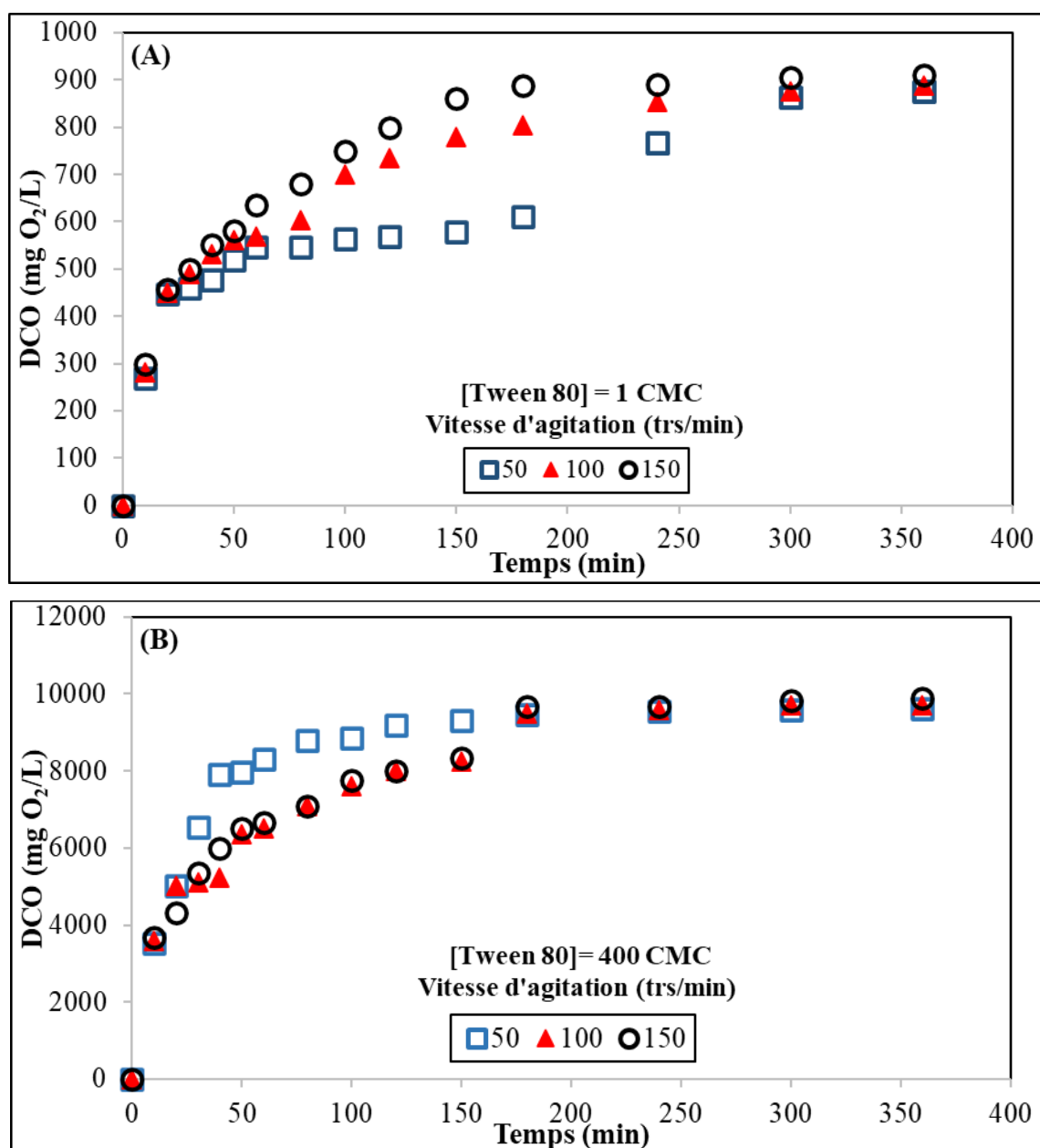


Figure III. 3 : Influence de la vitesse d'agitation sur l'extraction des hydrocarbures pétroliers du sol dans le surnageant pour une concentration de Tween 80 de 1CMC (A) et 400CMC (B).

La concentration des HPT extraite augmente avec l'augmentation de la concentration du Tween 80 alors qu'elle n'est que peu affectée par la variation de la vitesse d'agitation, un léger décalage est observé entre les différentes courbes. La concentration maximale des HPT solubilisée est obtenue pour une concentration de Tween 80 de 600CMC.

Nous remarquons que le relargage des HPT est négligeable pour les concentrations de Tween 80 1CMC et 30CMC, **Franzetti et al., (2006)** ont montré qu'une faible concentration de tensioactif dans la phase aqueuse conduit à une diminution de l'efficacité d'extraction alors que **Muherei et Junin, (2009)** ont expliqué qu'aux faibles concentrations, la nature amphiphile du tensioactif permet son adsorption dans la matrice du sol.

La quantité de HPs solubilisés est négligeable pour les concentrations de Tween 80 de 1 et 30CMC, avec des taux d'extraction ou d'enrichissement de $6,9 \div 7,1\%$ et de $14,1 \div 14,4\%$, et augmente avec la concentration de tensioactif (Figures III.4 A, B, C).

Cette tendance a été observée par **Wan et al., (2011)** qui trouvent des rendements de solubilisation d'hexachlorobenzène de moins de 5% et de 60% avec une solution de Rhamnolipide pour des concentrations respectives de 10 et 200 CMC. Il ressort de nombreuses études, que l'augmentation de la dose de tensioactif améliore de façon significative l'efficacité de lavage du sol qui est d'autant plus importante que la concentration est grande.

Viglianti et al., (2008) ont montré, que l'efficacité d'extraction des HAPs croît presque proportionnellement avec la dose de cyclodextrine dans la plage de concentrations 15 à 100g/L avec des taux compris entre 53 et 90%.

A l'inverse, **Chapirão et al., (2015)** obtiennent entre 60 et 70% d'extraction d'huile de moteur au bout de 24h pour des concentrations de Triton X100 entre 0,5 et 2 CMC. Ces différents résultats mettent en évidence la nécessité de déterminer la concentration optimale de surfactant pour de meilleurs rendements de solubilisation.

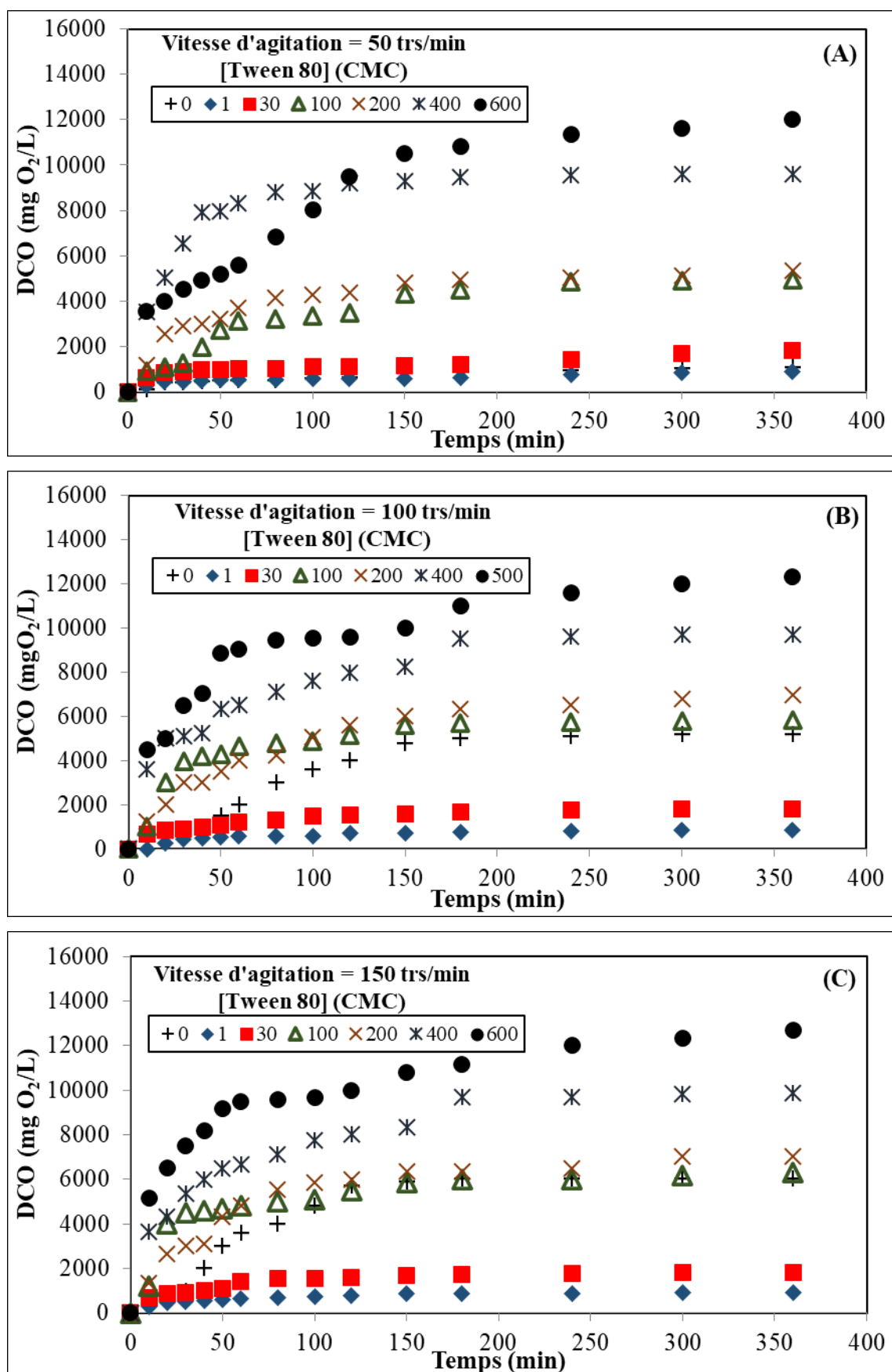


Figure III. 4 : Influence de la concentration du Tween 80 sur l'extraction des HPs du sol dans le surnageant pour des vitesses d'agitation de 50trs/min (A), 100trs/min (B) et 150trs/min (C).

En l'absence de tensioactif, les résultats du lavage à l'eau mettent en évidence des efficacités de solubilisation des HPs du sol (40,7-47,3%) comparables à ceux obtenus avec une solution de Tween 80 de 100CMC (45,7-49,3%) pour des vitesses d'agitation de 100 et 150 trs/min.

Le pouvoir de solubilisation et d'extraction des HPs sans tensioactif est supérieur à celui avec tensioactif pour des concentrations de 1CMC et 30CMC.

Pour une vitesse d'agitation de 50 trs/min, l'efficacité d'extraction des HPs est faible et semblable à celle obtenue à une concentration de Tween 80 de 1CMC.

Chang et al., (2000) ont montré que 73,6 à 100% des HAPs du sol sont éliminés en présence de tensioactif contre 30 à 80% dans le cas d'un lavage à l'eau seule.

Dans le cas de cette étude, la quantité de HPs solubilisés est maximale pour une concentration de Tween 80 de 600CMC avec des taux d'extraction de 93,3, 96,4 et 99,1% pour les vitesses d'agitation respectives de 50, 100 et 150trs/min, pour un rapport S/L=1/10 et un temps de lavage de 360min. **Peng et al., (2011)** ont obtenu les meilleurs résultats de relargage des HAPs du sol pour une vitesse d'agitation de 250trs/min, un rapport S/L=1/10, un temps de lavage de 60min et une concentration en Tween 80 de 400CMC.

La détermination des teneurs résiduelles en HPT dans le sol à la fin du traitement pour les différents essais, après filtration, séchage et extraction, la Figure (III.5) montre que le taux d'extraction des HPT augmente avec la concentration du Tween 80 et corrobore les résultats de solubilisation et d'enrichissement de la solution de lavage à partir du suivi de la DCO.

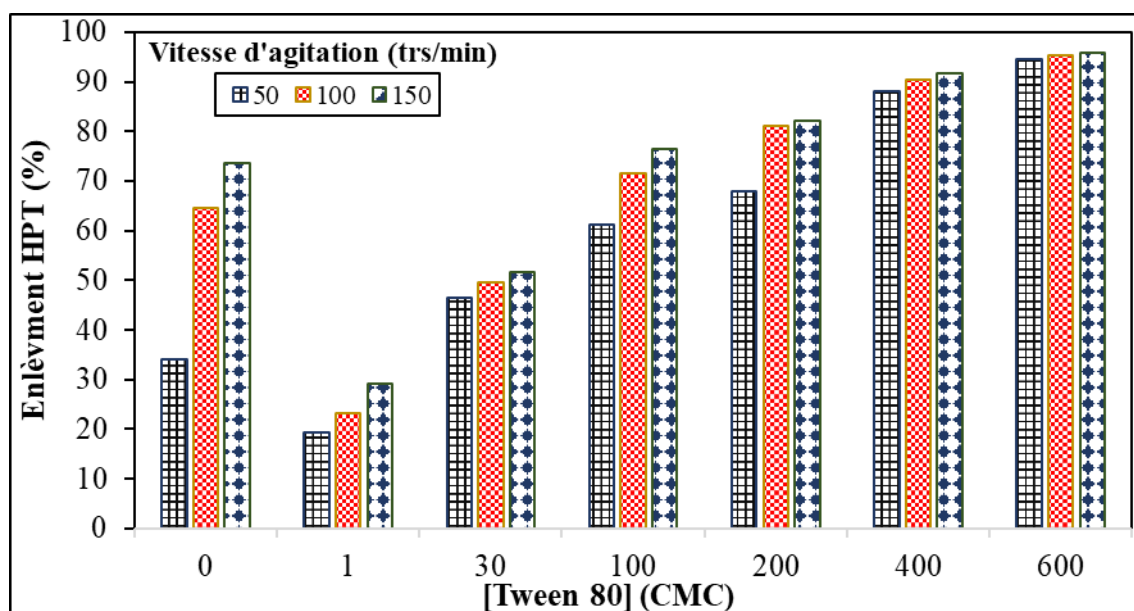


Figure III. 5 : Rendement d'élimination des HPT dans le sol à la fin du traitement en fonction de la concentration de Tween 80 à différentes vitesses d'agitation.

Seuls 19,3% des HPTs ont été éliminés pour une concentration de Tween 80 1CMC tandis que 95,9% ont été éliminés dans le cas de 600CMC. La vitesse d'agitation n'est pas un facteur limitant dans l'élimination des HPTs dans le cas du lavage par le Tween 80 en comparaison au lavage à l'eau où l'efficacité augmente avec l'augmentation de la vitesse d'agitation. En effet, 34% de HPTs ont été éliminés pour une vitesse de 50 trs/min alors que pour une vitesse de 150 trs/min, nous avons enregistré un taux de 73,73% soit une amélioration de 117%. Ces résultats sont meilleurs par rapport à ceux obtenus avec les concentrations 1CMC et 30CMC et ils sont de même ordre de grandeur que ceux de 100CMC.

A l'issue de ces essais, nous avons retenu les concentrations 200CMC, 400CMC et 600CMC correspondant à des concentrations de 0,6 ; 1,2 et 1,8 g de Tween 80/kg de sol sec pour le traitement biologique par stimulation des micro-organismes à l'échelle des microcosmes.

III.3. Bioremédiation par biostimulation à l'échelle de microcosmes

Dans une première étape, la bioremédiation du sol est réalisée dans des réacteurs en phase solide, à l'échelle des microcosmes, en procurant aux micro-organismes un environnement favorable à leur développement par biostimulation du milieu réactionnel pour déterminer les conditions optimales de dégradation des HPs du sol.

A cet effet, nous étudions l'influence du rapport molaire C/N/P (3017/5/1, 1558,5/7,5/1 et 100/10/1), d'un agent tensioactif Tween 80 (0,6 ; 1,2 et 1,8 g/kg de sol sec) et d'un agent oxydant le peroxyde d'hydrogène (0,65 ; 0,975 ; 1,30 et 2,60 mole/kg de sol sec). L'ensemble des expériences est détaillé dans le tableau III.4.

Les rapports molaire C/N/P choisis sont celui présent naturellement dans le sol (3017/5/1), le 100/10/1 recommandé dans la littérature (**Sravya and Sangeetha, 2022**), et le troisième est la moyenne entre les deux rapports précédents (1558,5/7,5/1). L'ajustement est réalisé par l'ajout du chlorure d'ammonium (NH_4Cl) et le dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4) dissout dans l'eau ajouté pour ajustement du taux d'humidité.

Des essais par atténuation naturelle (AN) et avec uniquement ajustement du taux d'humidité à 30% pour les systèmes B1, S0 et O0, ont été réalisés comme des essais de contrôle. L'enlèvement des HPs du sol étant dû aux processus abiotique et biotique, des essais abiotiques ont été réalisés pour chaque essai en ajoutant un biocide le HgCl_2 à 3% (m/m) afin de calculer les taux de biodégradation.

L'ensemble des systèmes a été incubé pendant 90 jours (jusqu'à atteindre un plateau) à une température constante de 28°C avec un taux d'humidité constant de 30% dans des réacteurs

Chapitre III : Résultats et discussion

fermés d'une capacité de 0,5L recouverts de papier aluminium pour éviter la photooxydation et de suivre la dégradation des HPs du sol.

Le sol est mélangé trois fois par semaine afin d'aérer, d'homogénéiser et d'assurer un bon contact entre les différentes phases, abiotique et biotique, présentes. Le taux d'humidité est maintenu constant tout au long du traitement en ajoutant la quantité d'eau nécessaire à partir des mesures du taux d'humidité dans le temps pour le réajuster à 30%.

Tableau III. 4 : Conditions expérimentales des essais en microcosmes

Système	Eau (%)	C/N/P rapport molaire	[Tween 80] CMC (g/kg de sol sec)			[H ₂ O ₂] (mol/kg de sol sec)			
AN	-	3017/5/1	-	-	-	-	-	-	-
B1, S0, O0	30	3017/5/1	-	-	-	-	-	-	-
B2	30	1558.5/7,5/1	-	-	-	-	-	-	-
B3	30	100/10/1	-	-	-	-	-	-	-
S1	30	3017/5/1	200 0.6	-	-	-	-	-	-
S2	30	3017/5/1	-	400 1.2	-	-	-	-	-
S3	30	3017/5/1	-	-	600 1.8	-	-	-	-
O1	30	3017/5/1	-	-	-	0,65	-	-	-
O2	30	3017/5/1	-	-	-	-	0,975	-	-
O3	30	3017/5/1	-	-	-	-	-	1,3	-
O4	30	3017/5/1	-	-	-	-	-	-	2,6

Les échantillons de sol sont prélevés périodiquement pour le suivi du traitement biologique à partir des mesures des HPT et de la biomasse durant les trois mois d'incubation. Des mesures de pH, du taux d'humidité et des teneurs en nutriments (azote, phosphore) sont également

effectuées afin de s'assurer des conditions environnementales optimales favorables à la biodégradation.

III.3.1. Dégradation des hydrocarbures pétroliers du sol

Le suivi de l'évolution temporelle de l'élimination des HPT dans le cas de la biostimulation par l'ajout des nutriments inorganiques, l'ajout du Tween 80 et l'ajout de H_2O_2 indique que toutes les courbes obtenues (Figure III.6) présentent la même allure exponentielle, une importante réduction des HPT est observée les 5-10 premiers jours du traitement. Le processus de dégradation se poursuit en diminuant graduellement pour se stabiliser après 24 jours de traitement.

L'addition de nutriments inorganiques (le NH_4Cl et le KH_2PO_4) et/ou d'eau génère des taux d'enlèvements des HPT de 27,1, 49,1 et 59,6% pour des rapports C/N/P_{molaire} respectifs de 3017/5/1, 1558.5/7,5/1 et 100/10/1 et un taux d'humidité constant de 30% alors que le taux de dégradation par atténuation naturelle est de 13,9% pour C/N/P_{molaire} de 3017/5/1 et un taux d'humidité initial de 6%. L'amendement en azote et phosphore améliore de 81,2% et de 119,9% les taux d'enlèvement biotique des HPT du sol les systèmes respectifs B2 et B3.

Il apparaît clairement que l'augmentation de la teneur en eau à 30% améliore les échanges et transferts entre les différentes phases et favorise la dégradation des HPs.

Une réduction des HPT du sol entre 33,9 et 38,0% est enregistrée avec l'addition de Tween 80, soit une augmentation des taux d'élimination de 24,9 à 40,2% en comparaison à celui enregistré en l'absence de tensioactif (S0) pour les mêmes conditions.

Ces résultats mettent en évidence le potentiel de Tween 80 à solubiliser les hydrocarbures du sol et de fait d'améliorer l'efficacité de la remédiation du sol étudié. Le rendement optimal est obtenu pour une concentration de Tween 80 de 200CMC ou 0,6g/kg de sol sec.

L'élimination dans ce cas n'a pas excédé 38,0% alors que dans le cas du lavage (partie III.2), c'est un taux d'enlèvement de 95,9% pour une concentration de 600CMC (1,8g/kg de sol sec) que nous avons enregistré.

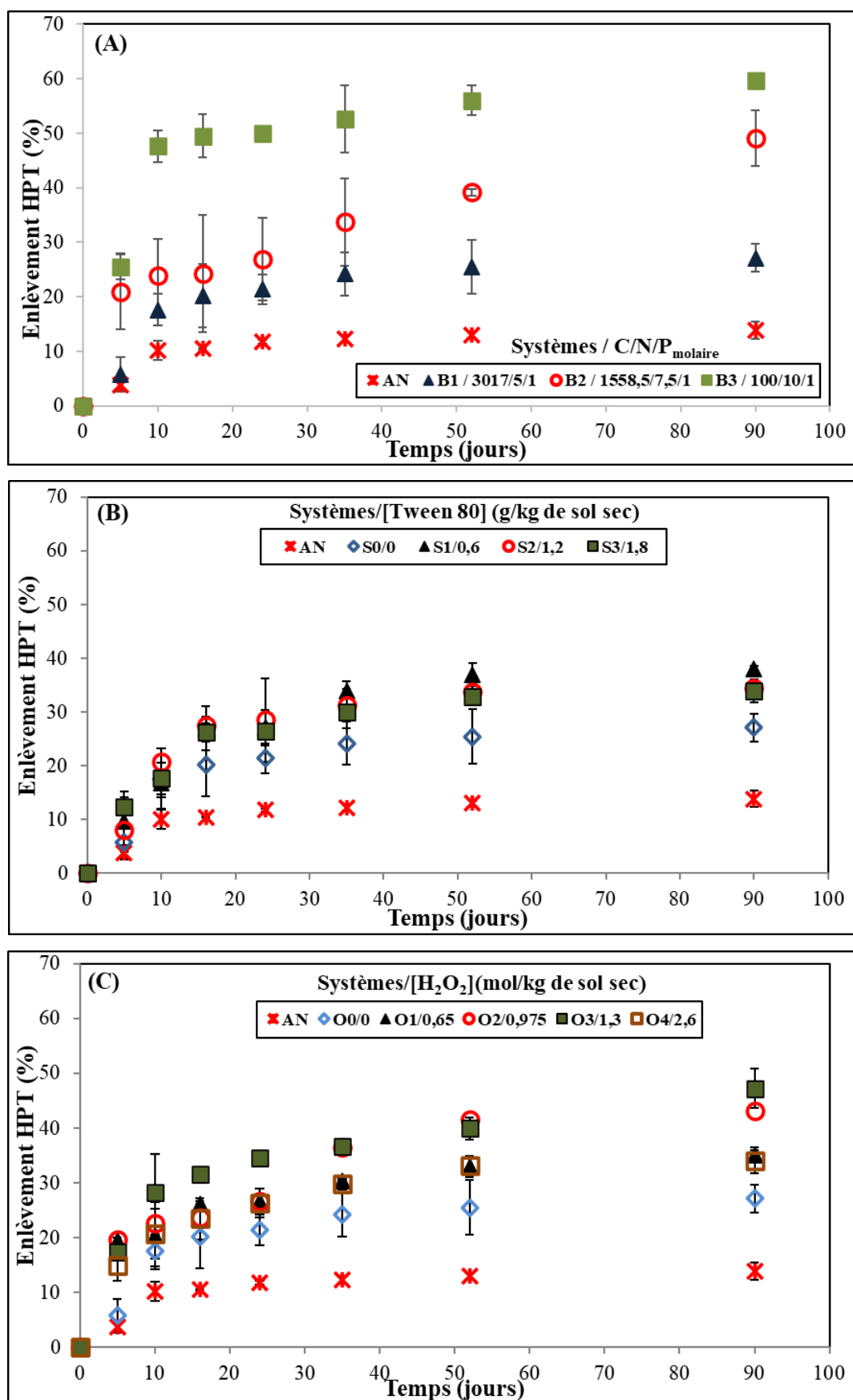


Figure III. 6 : Influence du rapport molaire C/N/P (A), des concentrations de Tween 80 (B) et de H₂O₂ (C) sur l'évolution temporelle du taux d'enlèvement des HPT.

La concentration de Tween 80 est un facteur critique dans le processus de remédiation. **Zhang and Zhu, (2012)**, **Atteia et al., (2013)** et **Yan et al., (2016)** ont montré que l'augmentation de la concentration de tensioactif génère une solubilisation importante des hydrocarbures pétroliers et améliore l'efficacité de dégradation. Dans le cas de notre étude, les résultats obtenus montrent que l'augmentation de la concentration du Tween 80 au-delà de 0,6 g/kg de sol sec n'améliore pas et diminue l'efficacité d'élimination des HPT. Ces résultats corroborent les résultats trouvés par **De La Cueva et al., (2016)** qui attribuent cette diminution à la formation d'un congglomérat à une forte concentration du Tween 80.

Une importante réduction de la pollution est observée pour les différentes concentrations de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) utilisées avec des taux de dégradation de 35,0, 43,1, 47,2 et 34,1% pour les systèmes respectifs O1, O2, O3 et O4 après 90 jours d'incubation. L'élimination des HPT augmente avec la teneur en H_2O_2 jusqu'à 47,2% pour ensuite diminuer au-delà de 1,3 mole H_2O_2 /kg de sol sec. Plusieurs études ont montré que l'efficacité de dégradation des HPT augmente avec la concentration de H_2O_2 d'où la recommandation d'utilisation de concentrations élevées de H_2O_2 (**Ferrarese et al., 2008; Huang et al., 2005; Ravikumar and Gurol, 1994**). De plus, les composés organiques fortement adsorbés nécessitent une concentration importante de H_2O_2 pour être oxydés (**Valderrama et al., 2009**).

En présence d'oxydant, les efficacités de dégradation des HPs rapportés à celui obtenu en l'absence d'oxydant (O0) augmentent de 29, 58,9, 73,9 et 25,5% pour les systèmes respectifs O1, O2, O3 et O4 correspondant à des rapports molaires H_2O_2/Fe de 5,1/1, 8,1/1, 10,8/1 et 21,6/1. Cette amélioration de l'efficacité de dégradation des HPs, outre le pouvoir oxydant du H_2O_2 , pourrait être attribuée à la libération de radicaux hydroxyles dans le milieu résultant de la réaction de H_2O_2 avec le fer endogène présent sous forme d'hématite (Fe_2O_3) avec une concentration de 9,34 g/kg de sol sec.

En effet, plusieurs auteurs ont souligné que les teneurs en fer naturel dans le sol supérieur à 0,1% m/m sont suffisantes pour produire un processus Fenton like et la génération de radicaux hydroxyles en présence de H_2O_2 (**Ferguson et al., 2004; Rivas, 2006; Kim and Lee, 2012**).

Par ailleurs, les meilleurs rendements sont obtenus pour les rapports $(H_2O_2/Fe)_{molaire}$ de 8,1/1 (O2, 43,1%) et de 10,8/1 (O3, 47,2%) sont en parfait accord avec ceux rapportés dans plusieurs études pour un rapport $(H_2O_2/Fe)_{molaire}$ optimal de 10/1 (**Goi and Trapido, 2004; Usman et al., 2012**). **Ouriache et al., (2019)** rapportent que pour une oxydation efficace, la quantité optimale de H_2O_2 dépend de la réactivité des composés organiques vis-à-vis des radicaux OH.

Par ailleurs, d'autres études ont montré qu'un excès de H_2O_2 réduit l'efficacité de l'oxydation en raison de la consommation ou le piégeage des radicaux hydroxyles résultant de la

décomposition du H_2O_2 (Ferrarese et al., 2008; Kulik et al., 2006) et de la compétition possible entre le H_2O_2 et le polluant pour les radicaux hydroxyles (Kulik et al., 2006; Walling, 1975). Selon Lemaire et al., (2013), les caractéristiques du sol et du polluant sont les paramètres les plus importants à considérer pour une oxydation efficace.

L'enlèvement des HPs du sol est dû tant aux processus biotiques (minéralisation complète, production de biomasse et de métabolites) qu'aux processus abiotiques (volatilisation, oxydation chimique).

Les taux d'enlèvement enregistrés dans les systèmes abiotiques où seule la volatilisation est à l'origine de l'élimination des HPT ($B_{i=1-3}$, $S_{i=1-3}$ et $O_{i=1-4}$) varient entre 11,0 et 13,3% tel qu'illustré sur la figure III.7, l'exemple du système abiotique B3 où le rapport C/N/P_{molaire} et le taux d'humidité sont ajustés à 100/10/1 et 30% respectivement ou le taux d'enlèvement des HPT atteint 13,3%.

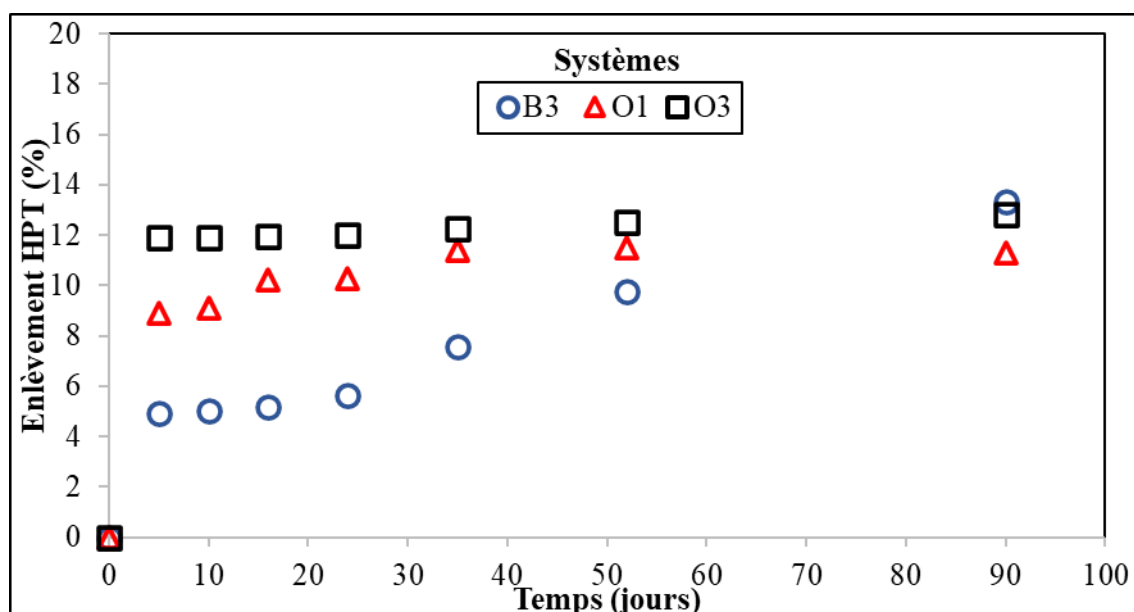


Figure III. 7 : Evolution de l'enlèvement des HPT dans les systèmes abiotiques B3, O1 et O3.

En présence de H_2O_2 , les taux d'enlèvement abiotiques des HPT, due à l'oxydation chimique et la volatilisation, sont plus importants durant les 5 premiers jours de traitement entre 8,9 et 11,9% comparés aux autres systèmes abiotiques. Au-delà de 5 jours, l'enlèvement abiotique est relativement négligeable pour tous les systèmes $O_{i=1-4}$ pour atteindre des taux d'enlèvement abiotiques des HPT entre 11,3 et 12,8% à la fin du traitement. L'oxydation des HPT serait responsable d'un changement de composition des hydrocarbures du sol qui serait à l'origine de la réduction des taux de volatilisation au-delà de 5 jours de traitement.

Les taux de biodégradation déterminés à partir des résultats de mesure des HPT résiduels dans les systèmes abiotiques et biotiques pour l'ensemble des essais réalisés sont représentés sur la

Figure III.8.

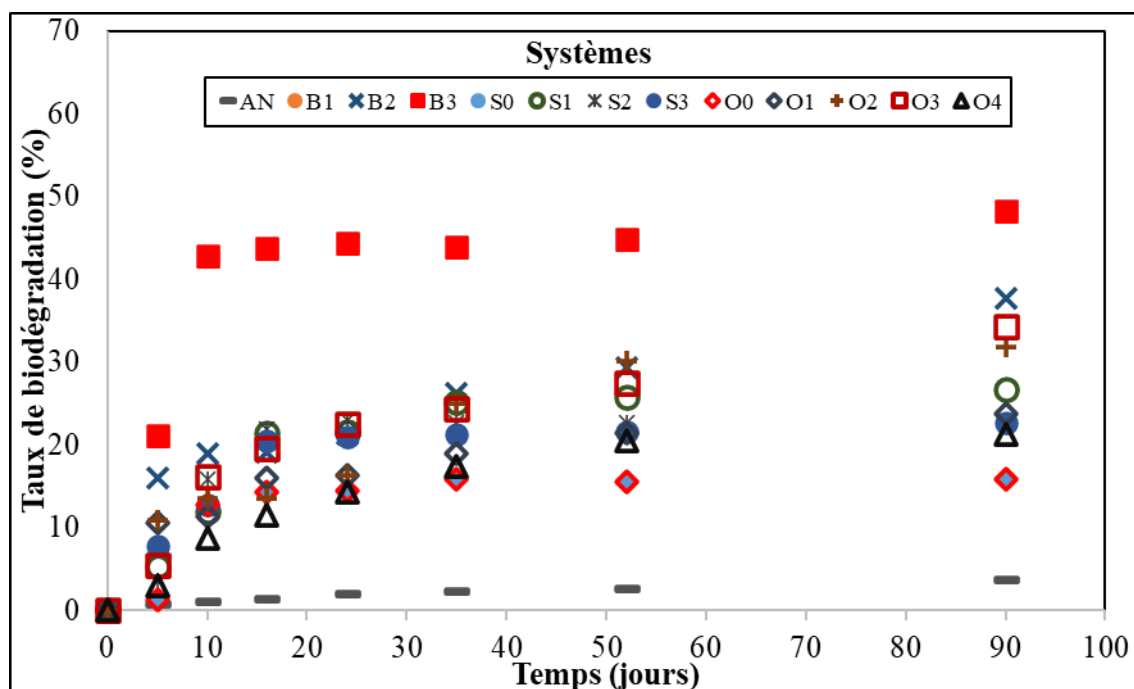


Figure III. 8 : Influence des nutriments, du Tween 80 et du H₂O₂ sur la biodégradation des HPs du sol

L'évolution temporelle de biodégradation pour l'ensemble des systèmes suit la même tendance que celle observée pour l'enlèvement des HPT du sol mais les taux diffèrent variant entre 15,8 et 48,3%. Les teneurs résiduelles en HPs dégradés sous l'action des microorganismes indigènes diminuent rapidement durant les 5 à 16 premiers jours pour ensuite diminuer graduellement et/ou se stabiliser, suivant les systèmes étudiés. Après 35 jours de traitement, les taux de biodégradation varient peu pour l'ensemble des systèmes, entre 25,2 et 26,7%, 44,4 et 48,3% pour les systèmes respectifs S1 et B3, exception faite pour les systèmes respectifs B2 et O3 avec des taux de biodégradation entre 26,2 et 37,7%, 24,3 et 34,4%.

La mise en contact du sol contaminé, avec l'eau, le Tween 80, le H₂O₂ ou les nutriments accélère le processus de biodégradation au début du traitement (16 premiers jours) avec des taux de biodégradation de 0,75 g HPT/kg sol sec/j (B1), 1,92÷3,42 g HPT/kg sol sec/j (B_{i=2-3}), 1,46÷1,99 g HPT/kg sol sec/j (O_{i=1-4}) et 1,09÷1,26 g HPT/kg sol sec/j (S_{i=1-3}). Au-delà de 35 jours, les taux de biodégradation sont considérablement réduits, ils sont de 0,004g HPT/kg sol sec/j (B1), 0,007÷0,025 g HPT/kg sol sec/j (B_{i=2-3}), 0,027÷0,132 g HPT/kg sol sec/j (O_{i=1-4}) et 0,072÷0,196 g HPT/kg sol sec/j (S_{i=1-3}). Ceci pourrait être attribué à l'épuisement de la fraction

labile du substrat, à l'épuisement des nutriments, à la biodégradation des hydrocarbures les plus récalcitrants, à la présence de métabolites toxiques et à une faible biodisponibilité. **Kahraman et al., (2017)** ont démontré que 15 jours d'incubation sont suffisants pour une biodégradation efficace des composés facilement biodégradables. **Moliterni et al., (2012)** rapportent que la biodégradation des composés organiques dans le sol passe généralement par deux phases, une phase initiale rapide suivie d'une phase lente ou stationnaire, connues sous le nom du phénomène de "Hockey Stick" (**Sabaté et al., 2004**).

L'ajout de l'eau seule pour ajuster le taux d'humidité à 30% (B1) a permis de stimuler l'activité bactérienne et amélioré l'efficacité de biodégradation de 338,9% comparée à celle obtenue dans le cas de l'atténuation naturelle, le taux de biodégradation étant de 3,6%.

Les meilleurs rendements de biodégradation des HPs du sol sont obtenus pour les systèmes B3 ($C/N/P_{\text{molaire}}=100/10/1$, $H=30\%$), B2 ($C/N/P_{\text{molaire}}=1558,7/7,5/1$, $H=30\%$) et O3 ($[H_2O_2]=1,3\text{mol/kg}$ de sol sec, $H=30\%$) et sont égaux à 48,3, 37,7 et 34,4% respectivement. Les taux de biodégradation réalisés avec l'addition de Tween 80 sont nettement plus faibles que ceux observés avec l'addition de nutriments ou d'oxydant.

L'oxydation biologique des HPs du sol observée dans les systèmes B1 ($C/N/P_{\text{molaire}}=3017/5/1$) et B2 ($C/N/P_{\text{molaire}}=1558,7/7,5/1$) avec des rendements de biodégradation allant jusqu'à 15,8 et 37,7% respectivement met en évidence que le déficit d'azote et de phosphore n'est pas un facteur limitant de la biodégradation des HPs dans le cas du sol étudié, contrairement à ce qu'il a été rapporté dans plusieurs études (**Mishra et al., 2001; Mittal and Singh, 2010; Xu and Lu, 2010; Nikolopoulou et al., 2013; Szulc et al., 2014; Okparanma et al., 2017; Calvo et al., 2019; Varjani and Upasani, 2019**).

III.3.2. Evolution de la biomasse

Le suivi des résultats de mesure des microorganismes dans le temps, représentés sur la figure III.9. met en évidence une croissance microbienne dans tous les systèmes étudiés même ceux qui n'ont pas été supplémentés en azote et en phosphore, qui passe de $5,2 \times 10^3$ à $1,4 \times 10^7$, $3,6 \times 10^6$ et $2,3 \times 10^6$ UFC/g de sol sec dans les cas les plus favorables pour les systèmes avec addition de nutriments, de Tween 80 et de H_2O_2 respectivement.

Dans tous les cas, les courbes de croissance microbienne présentent les phases d'accélération ou de croissance exponentielle, de ralentissement ou stationnaire et de déclin et nous remarquons l'absence de phase de latence, qui serait due à l'âge de la pollution avec lequel, les microorganismes se sont adaptés.

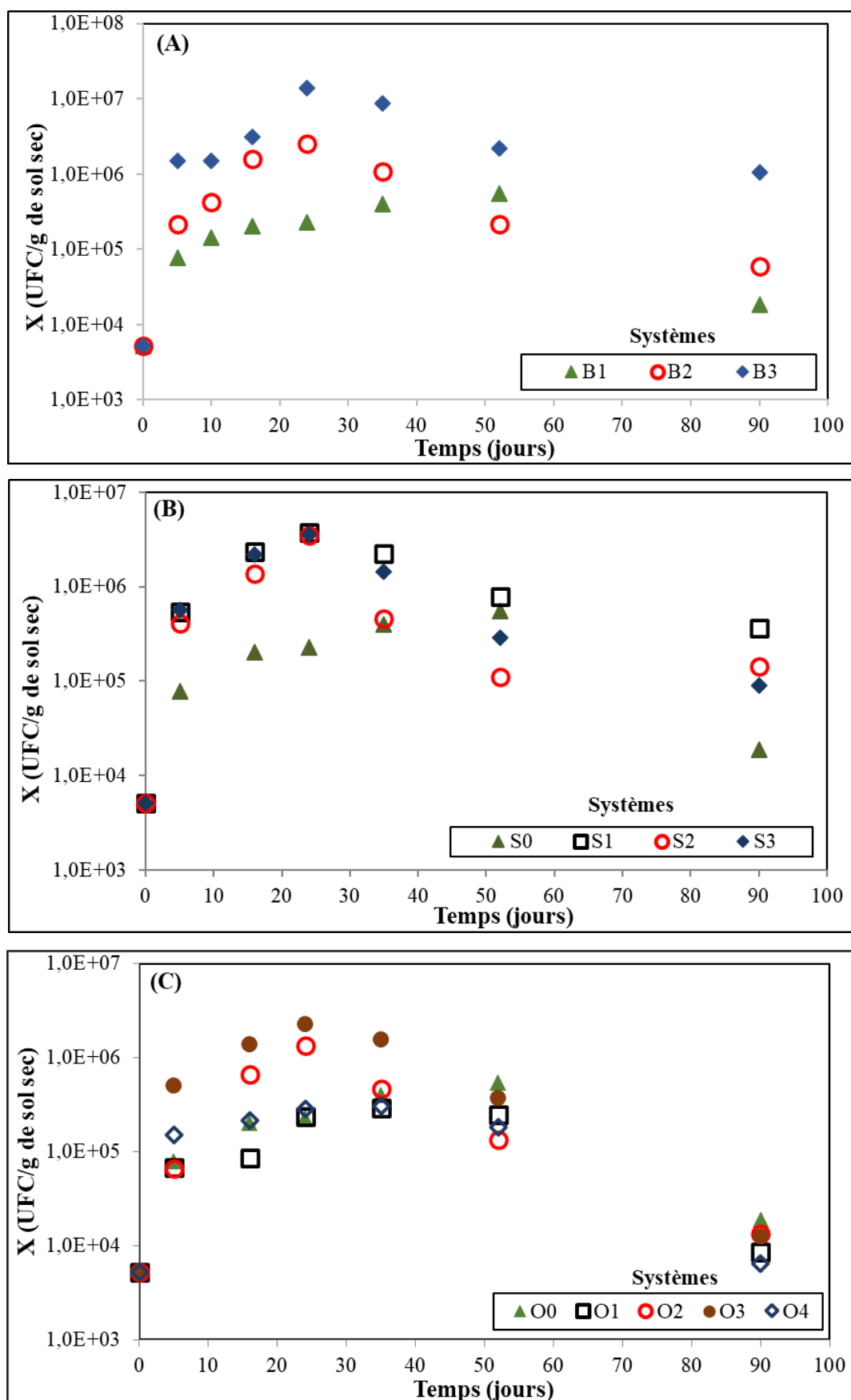


Figure III. 9 : Influence de la biostimulation sur l'évolution temporelle des microorganismes, (A) : rapport molaire C/N/P, (B) : Tween 80 et (C) : H₂O₂.

La phase exponentielle où le taux de croissance bactérienne est prononcé et la biomasse atteint son maximum correspondant à une biodégradation importante des hydrocarbures pétroliers du sol (Fig III. 9). La phase de croissance exponentielle arrive à terme au bout de 10 à 20 jours. La phase stationnaire observée dans l'ensemble des systèmes ((B1, 10-52jours) ; (B2, 16-35jours) ; (B3, 20-52jours) ; (S0, 10-52jours) ; (S1, 16-35jours) ; (S2, 16-24jours) ; (S3, 16-35jours) ; (O0, 10-52jours) ; (O1, 16-52jours) ; (O2, 16-35jours) ; (O3, 16-35jours) ; (O4, 10-35jours)) renseigne sur la stabilité du taux de croissance microbien, les micro-organismes ne se reproduisant plus du fait probablement de l'épuisement des nutriments et/ou du substrat facilement biodégradable. **Mukherji et al., (2004)** trouvent un maximum de dégradation de gasoil durant la phase de croissance exponentielle qui arrive à terme au bout de 8 jours.

La phase de déclin succède à la phase de latence au-delà de 35-52jours et est caractérisée par un taux de croissance négatif dû à la lyse des microorganismes dont le nombre diminue jusqu'à atteindre entre $1,9 \times 10^4$ - $1,1 \times 10^6$ UFC/g de sol sec, $1,9 \times 10^4$ - $3,7 \times 10^5$ UFC/g de sol sec, $6,5 \times 10^3$ - $1,3 \times 10^4$ UFC/g de sol sec pour les systèmes respectifs B(1-3), S(0-3) et O(0-4). La bioremédiation étant réalisable avec une population microbienne de 10^3 UFC/g de sol dans le cas du sol étudié et au regard des résultats de l'évolution temporelle de la biodégradation (Fig. III.8) insignifiante, il est clair que le taux de croissance négatif des microorganismes est dû à l'épuisement de la source de carbone labile et biodégradable et probablement à un effet d'inhibition généré par la toxicité de certains métabolites.

La croissance microbienne enregistre le taux le plus élevé avec l'addition de nutriments inorganiques pour un rapport C/N/P_{molaire} de 100/10/1 (B3) et les résultats de la croissance microbienne concordent avec les résultats des taux de biodégradation des HPs du sol pour l'ensemble des systèmes étudiés à l'exception des systèmes S(1-3) pour lesquels la biomasse enregistre un accroissement maximal du nombre total de micro-organismes de l'ordre de $3,5 \times 10^6$ UFC/g de sol, indépendamment de la concentration de tensioactif pour des taux de biodégradation des HPs relativement faibles en comparaison avec ceux obtenus avec l'addition de H₂O₂. **Betancur-Corredor et al., (2015)** rapportent que l'augmentation du nombre de microorganismes peut être due à la consommation du Tween 80 comme substrat. **Doong and Lei, (2003)** ont également rapporté la présence d'une compétition entre le polluant et le Tween 80 comme source de carbone.

La présence de H₂O₂ rend le milieu favorable à la croissance microbienne en apportant de l'oxygène et en générant de la chaleur dans le milieu (**Kim and Lee, 2012**). Toutefois, des doses élevées affectent la viabilité des microorganismes responsables de la biodégradation (**Peluffo et al., 2018**).

III.3.3 Evolution de la teneur des nutriments

La dégradation biologique des HPs du sol se traduit par une consommation des nutriments, éléments indispensables et essentiels au métabolisme cellulaire. Nous avons reporté sur la figure III.10, l'évolution de l'azote total minéral, résultant de la détermination expérimentale des teneurs en azote ammoniacal NH_4^+ , en nitrites NO_2^- et en nitrates NO_3^- , pour l'ensemble des systèmes étudiés.

$$N_{\text{Total}} = \underbrace{\text{NH}_4^+ + N_{\text{Organique}}}_{\substack{\text{Azote réduit} \\ (\text{N}_{\text{Kjeldahl}})}} + \underbrace{\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-}_{\text{Azote oxydé}}$$

Une importante consommation de l'azote minéral total est observée avec l'addition de nutriments inorganiques (systèmes B2 et B3). Cette assimilation est prononcée durant les cinq premiers jours, correspondant à la phase exponentielle, pour ensuite diminuer et être insignifiante au-delà de 5 et 35 jours pour les systèmes respectifs B2 et B3.

Avec l'ajout de Tween 80 ou de H_2O_2 , la consommation de l'azote minéral total suit la même tendance et est toutefois moins importante en comparaison avec celles obtenues avec l'ajout de nutriments mais reste supérieure à celle observée dans le cas de l'atténuation naturelle.

L'augmentation de la microflore microbienne et les taux de biodégradation conséquents enregistrés pour ces systèmes mettent en évidence d'une part que le rapport $\text{C/N}_{\text{molaire}}$ de 3017/5 n'est pas un facteur limitant dans le cas du sol étudié et d'autre part l'importance de la détermination de l'azote organique de Kjeldahl.

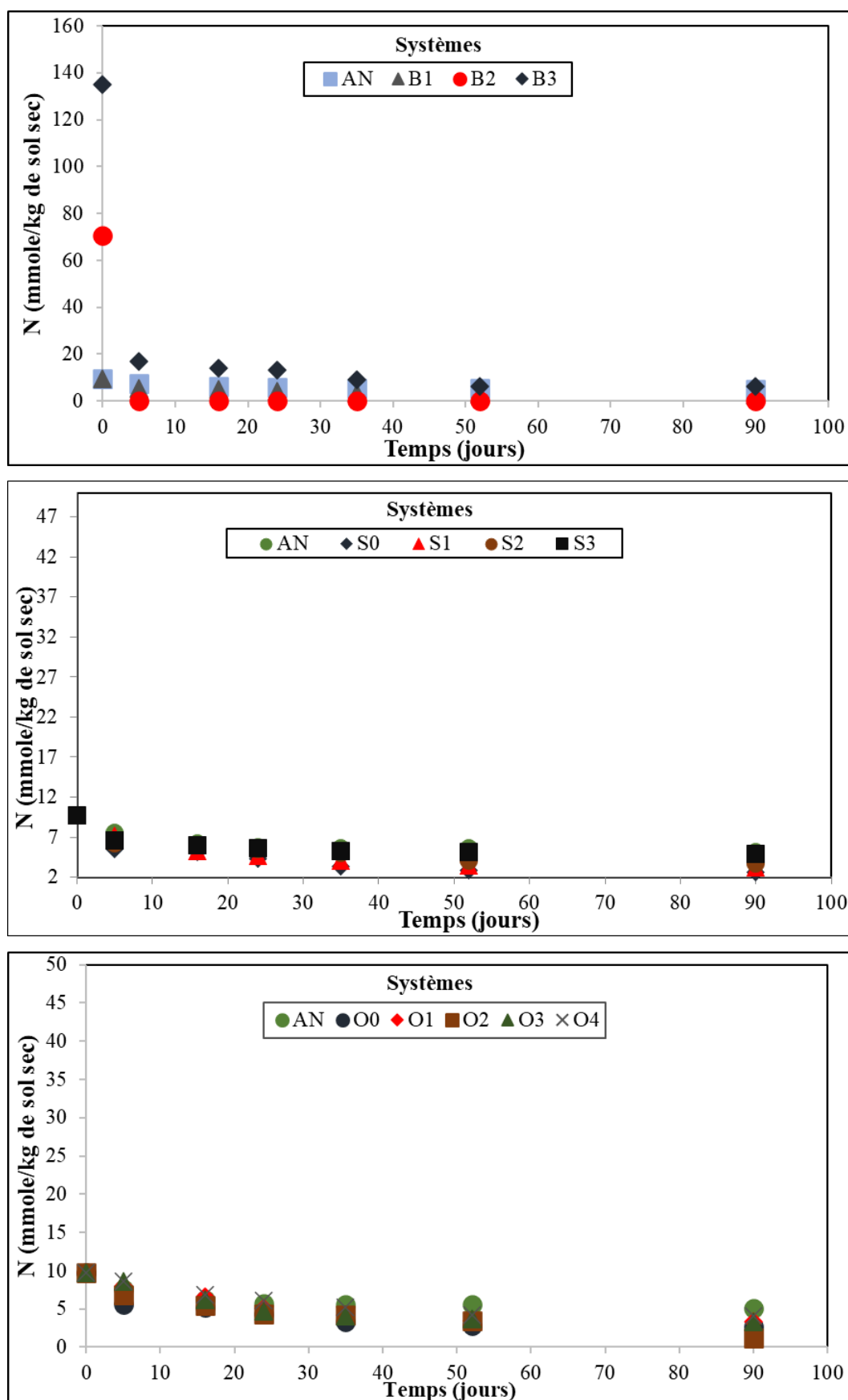


Figure III. 10 : Influence de la biostimulation sur l'évolution temporelle de l'azote.

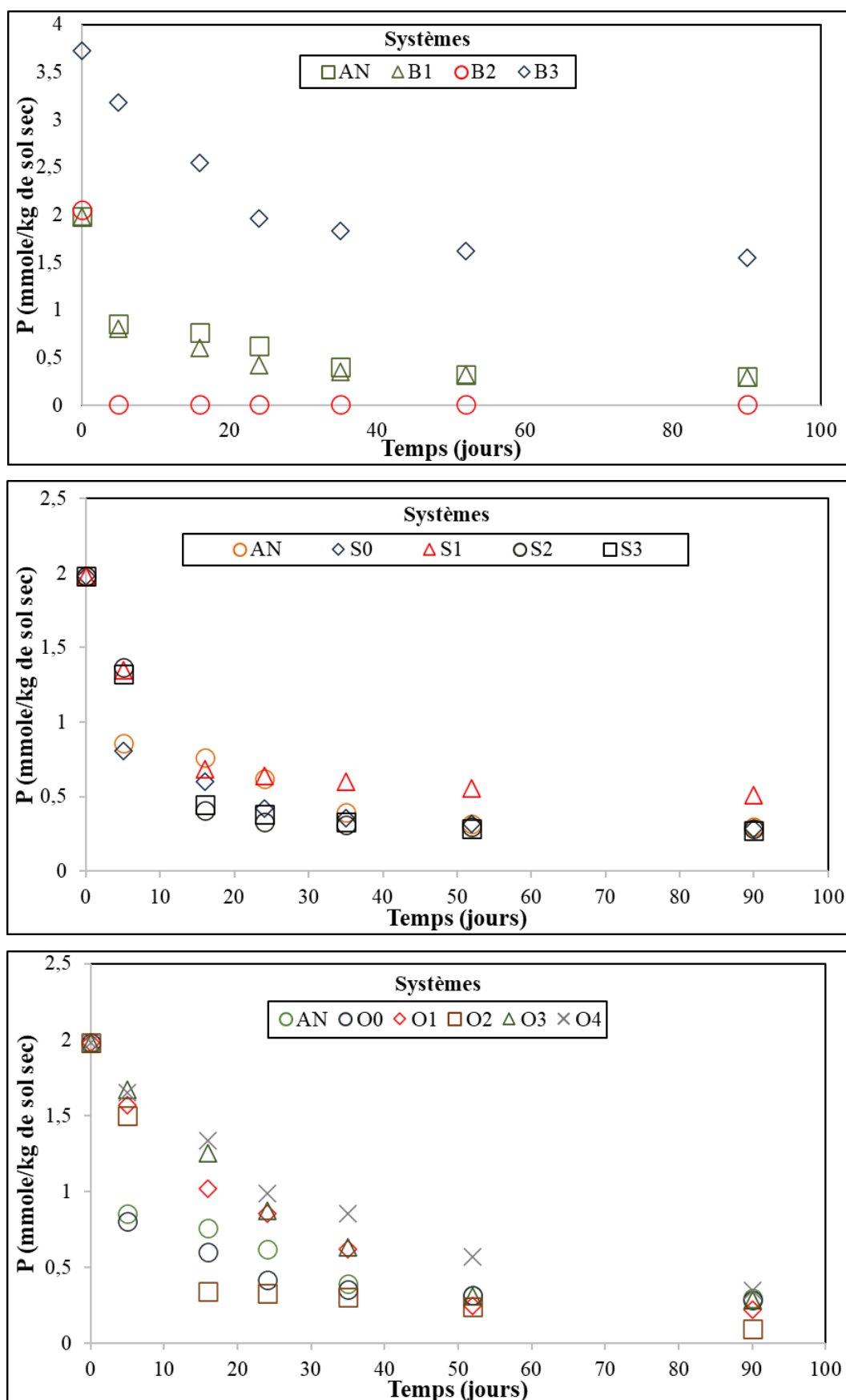


Figure III. 11 : Influence de la biostimulation sur l'évolution temporelle du phosphore.

Le suivi de l'évolution temporelle du phosphore est reporté sur la figure III.11. De façon générale, une nette diminution de la teneur en phosphore au cours du temps est observée dans tous les systèmes à l'exception du système B3 pour lequel l'assimilation du phosphore est moins marquée avec des teneurs résiduelles au-delà de 52 jours en phosphore significatives alors qu'elles sont négligeables pour les autres systèmes au terme du traitement. Ces résultats suggèrent que le phosphore n'est pas un facteur limitant au regard du meilleur taux de biodégradation 48,25% avec un nombre maximal de microorganismes de l'ordre de 10^7 UFC/g de sol sec enregistré dans le cas du système B3.

III.4 Influence de l'action combinée des facteurs de biostimulation

Dans cette partie et afin d'améliorer les performances de la bioremédiation du sol étudié, nous avons réalisé la biostimulation par l'ajout simultané des nutriments, du Tween 80 et du H_2O_2 en adoptant les concentrations optimales déterminées pour chaque paramètre étudié tel qu'indiqué sur le tableau III.5.

Tableau III. 5 : Conditions expérimentales des traitements combinés.

Systèmes	H ₂ O (%)	C/N/P _{rapport molaire}	Tween 80 (g/kg de sol sec)	H ₂ O ₂ (mole/kg de sol sec)
B3S1	30	100/10/1	0.6	-
B3O3			-	1.30
B3S1O3			0.6	1.30

III.4.1. Enlèvement des HPs du sol

L'action combinée des nutriments, du Tween 80 et/ou du H_2O_2 , comme illustré sur la figure III.12 génère une importante réduction des HPs du sol qui est rapide durant les 05-24 premiers jours. Le processus de dégradation se poursuit à un rythme qui se ralentit pour se stabiliser après 52 jours de traitement.

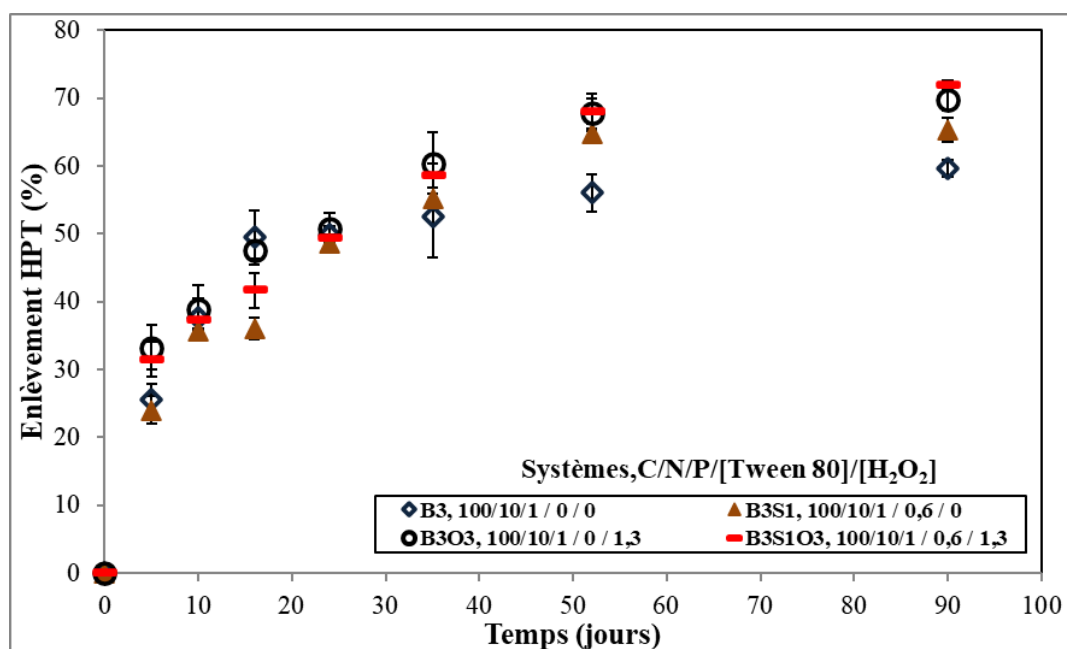


Figure III. 12 : Influence des traitements combinés sur l'évolution temporelle du taux d'enlèvement des HPT.

Dans le cas de l'influence des différents agents biostimulants, comme illustré sur la figure III.12 la dégradation des HPT est rapide durant les 5-16 premiers jours, par la suite, elle diminue graduellement pour se stabiliser après 52 jours de traitement. La combinaison des nutriments, de Tween 80 et/ou de H_2O_2 a révélé une augmentation de l'efficacité d'enlèvement des HPT atteignant 65,4, 69,7 et 71,9 % pour B3S1, B3O3 et B3S1O3 respectivement.

A partir des résultats de mesure des cinétiques de dégradation, nous remarquons que la biostimulation avec ajout des nutriments inorganiques (B3) a accéléré le processus de dégradation des HPT au bout des dix premiers jours de traitement (4,344 g HPT/kg de sol sec/jour) alors que la présence de Tween 80 et/ou de H_2O_2 a ralenti la cinétique de dégradation au bout des dix premiers jours, nous avons enregistré des cinétiques de dégradation de 3,252, 3,551, 3,402 g HPT/kg de sol sec/jour pour les systèmes B3S1, B3O3, B3S1O3 respectivement. L'effet combiné des nutriments inorganiques avec le Tween 80 (B3S1) ou avec le H_2O_2 (B3O3) a amélioré l'enlèvement des HPT de 80,25 et 47,75 % respectivement par rapport à leur absence dans les systèmes S1 et O3, et a accéléré le processus de dégradation avec des cinétiques de 3,252 et 3,551 g HPT/kg de sol/jour pour B3S1 et B3O3 respectivement contre 1,527 et 2,568 g HPT/kg de sol/jour pour S1 et O3 respectivement. Nous constatons alors que l'ajout des nutriments organiques et le Tween 80 simultanément donnent de meilleurs résultats par rapport à l'utilisation de l'agent tensioactif seul, Selon **Liang et al., (2017)**, l'utilisation combinée des tensioactifs et de la bioremédiation est devenue une stratégie prometteuse pour l'élimination

des hydrocarbures pétroliers. **Chen et al., (2013)** ont suggéré que la présence du Tween 80 dans le processus de biodégradation améliore la biodisponibilité et l'absorption des polluants ce qui a facilité leur consommation par les bactéries.

Il ressort de ces résultats que la combinaison des trois traitements simultanément (système B3S1O3) n'a amélioré l'efficacité d'élimination des HPT que de 10,1 % et 3,3 % par rapport aux systèmes B3S1 et B3O3, ces résultats pourraient être expliqués par le piégeage des radicaux hydroxyles par la matière organique, à la consommation improductive de H_2O_2 en présence de l'agent tensioactif à une concentration de 0,6g/kg de sol sec et/ou à l'oxydation partielle du tensioactif par le H_2O_2 qui entre en concurrence avec le processus de biodégradation. Le relargage et la disponibilité des hydrocarbures pétroliers hydrophobes et difficilement biodégradables solubilisés par le Tween 80 pourraient être une autre explication. Ces résultats sont en bon accord avec ceux obtenus par **(Yang et al., 2017)**.

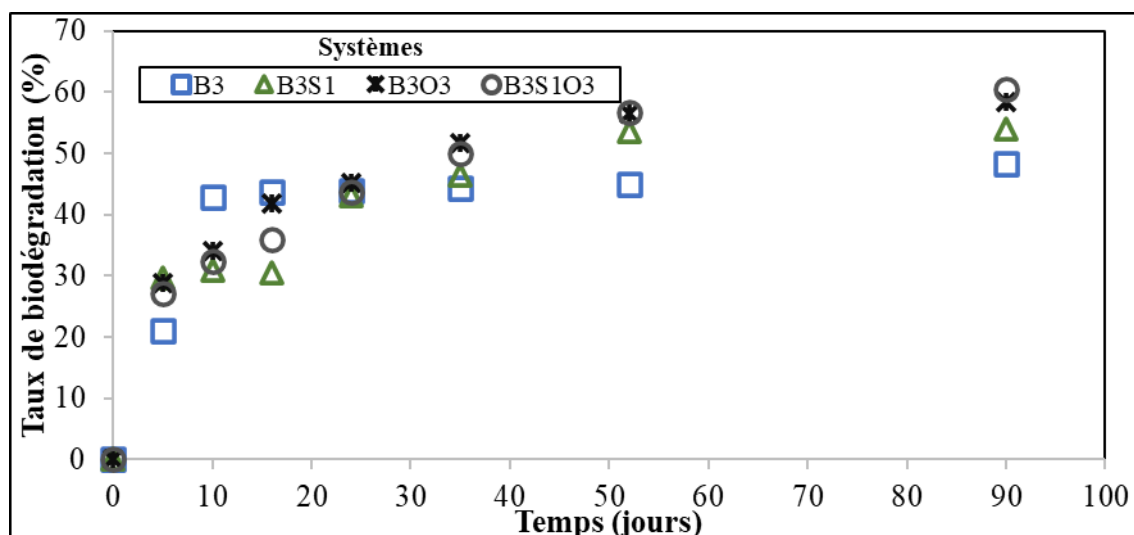


Figure III. 13 : Influence de l'effet combiné des facteurs de biostimulation sur le taux de biodégradation des HPT.

La détermination des taux de biodégradation (Fig. III.13) a révélé une concordance avec les taux d'enlèvement des HPT, la même tendance étant observée pour les différents essais avec des taux différents. Les meilleurs taux de biodégradation de 60,6 et 58,4% sont obtenus pour les systèmes respectifs B3S1O3 et B3O3. La comparaison des différentes efficacités de biodégradation montre que l'action des nutriments est déterminante dans le processus de biodégradation. Plusieurs études **(Rivas, 2006; Valderrama et al., 2009)** ont montré que l'oxydation chimique augmente la biodégradation des hydrocarbures complexes et récalcitrants en les transformant en des composés légers et simples, améliorant ainsi le processus de bioremédiation. **Xu et al., (2011)** ont démontré que la fraction fortement huileuse devenait plus

dégradable après une oxydation améliorant ainsi l'efficacité de la bioremédiation des sols contaminés par les produits pétroliers. Les traitements intégrés conduisent à une élimination importante des hydrocarbures pétroliers et à une réduction significative des composés récalcitrants (Chen et al., 2016; Liao et al., 2019; Sutton et al., 2011; Xu et al., 2016; Yap et al., 2011).

Dans ce cadre, nous avons déterminé les teneurs des différentes fractions des HPT (aliphatique, aromatique et polaire) à la fin du traitement. Les résultats de l'efficacité du traitement sur la composition et la dégradation des différentes fractions des HPT sont représentés sur la figure III.14.

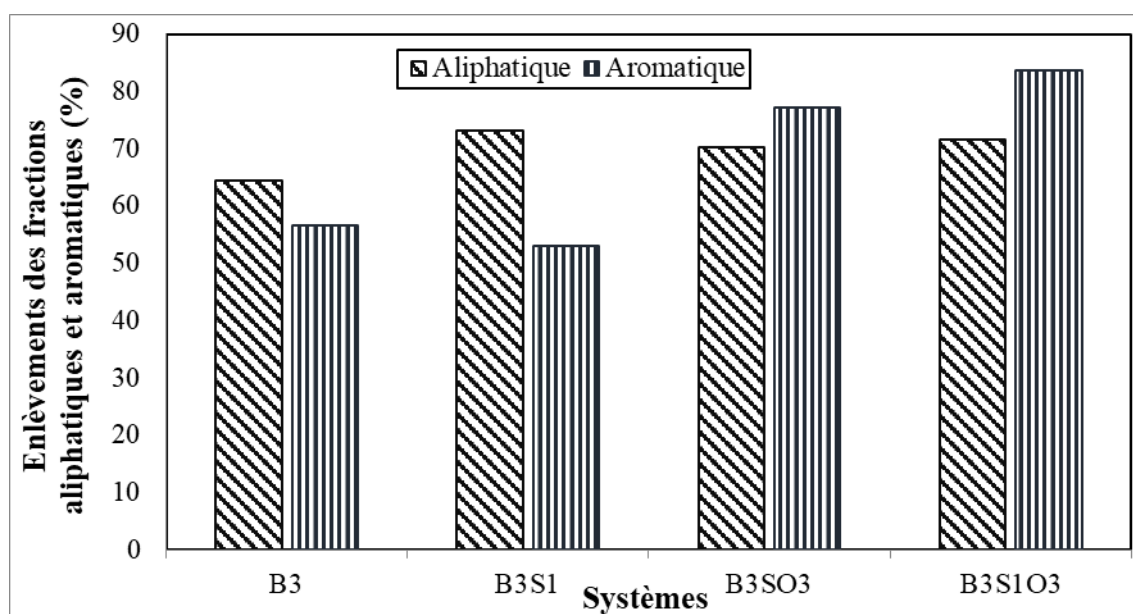


Figure III. 14 : Influence de l'effet combiné des agents biostimulants sur l'enlèvement des fractions aromatiques et aliphatiques.

L'examen de la figure III.14 montre qu'aucun changement n'est observé dans le cas de la fraction polaire à l'inverse des fractions aliphatique et aromatique. Nous remarquons que pour les systèmes B3 et B3S1 la dégradation des hydrocarbures aliphatique atteint 64,4 et 73,2% respectivement alors que la dégradation des aromatiques est autour de 50%.

L'application de H_2O_2 dans le cas de la remédiation par biostimulation conduit à une réduction importante de la fraction aromatique, nous enregistrons un enlèvement de 77,1 % et 83,6 % pour les systèmes B3O3 et B3S1O3 respectivement. Gou et al., (2022) ont rapporté que l'oxydation chimique a un grand potentiel pour dégrader les hydrocarbures aromatiques.

III.4.2. Croissance microbienne

Les résultats de mesure du nombre de microorganismes pour les différents essais durant la période de traitement sont représentés sur la figure III.15. Les courbes de croissance

Chapitre III : Résultats et discussion

microbienne suivent la même allure se caractérisant par trois phases exponentielle, stationnaire et de déclin. La phase de croissance exponentielle arrive à terme au bout de 16 à 20 jours suivie d'une phase stationnaire de 10 jours et enfin d'une phase de déclin indépendamment du système étudié.

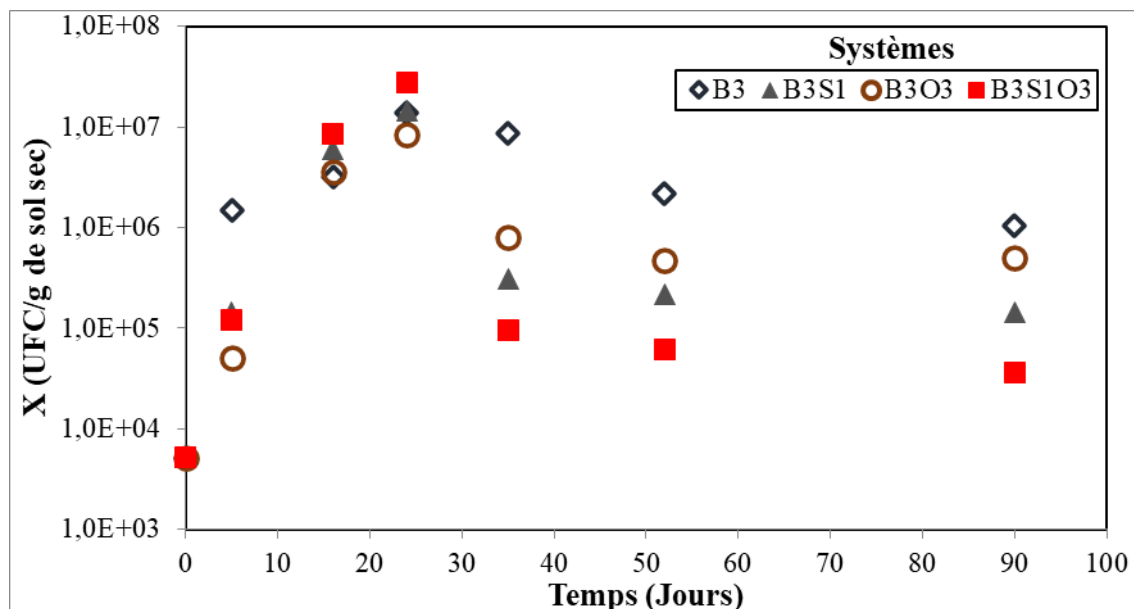


Figure III. 15 : Influence de l'effet combiné des agents biostimulants sur l'évolution temporelle des microorganismes.

La biomasse enregistre un maximum du nombre total de micro-organismes de $2,8 \times 10^7$, $1,4 \times 10^7$ et $8,3 \times 10^6$ UFC/g de sol sec pour les systèmes respectifs B3S1O3, B3S1 et B3O3 au bout de 24 jours de traitement correspondant à des taux de biodégradation de 43,12, 45,3 et 43,8 respectivement.

La croissance microbienne est au départ, durant les 5 premiers jours, ralentie malgré la présence de nutriments probablement du fait de changements de compositions générés par la solubilisation et l'oxydation des HPs du sol.

Tableau III. 6: Taux de croissance maximum $\mu_{\max}$.

Système	B3	B3S1	B3O3	B3S1O3
$\mu_{\max} (j^{-1})$	0,3734	0,3727	0,3417	0,3972
R^2	0,884	0,9648	0,9792	0,9759

A partir du 24^{ème} jour les microorganismes ne se produisent plus, le nombre commence à diminuer et au bout du 52^{ème} jour, la croissance microbienne atteint un plateau (phase

stationnaire) pour tous les systèmes, ceci pourrait être attribué à l'épuisement des nutriments (Figures III.16 et III.17), la raréfaction de substrat plus ou moins biodégradable et la présence des fractions récalcitrantes des hydrocarbures et probablement la présence des métabolites toxiques. Ces résultats sont en parfait accord avec les résultats de l'enlèvement des HPT et le taux de biodégradation, les deux se stabilisent au 52^{ème} jour.

Le taux de croissance microbien est donné dans le tableau III.6, il est déterminé à partir des résultats de mesure de la biomasse durant la phase exponentielle. Il ressort de la mesure que le taux de croissance maximum est presque identique dans tous les systèmes ce qui est en bon accord avec les résultats de la biomasse.

III.4.3. Evolution de la teneur des nutriments

Le suivi de l'évolution de l'azote au cours du traitement (Figure III.16) met en évidence une nette diminution de la teneur en azote les 5-16 premiers jours du traitement correspondant à la phase exponentielle de la croissance microbienne. La consommation de l'azote se poursuit graduellement et à la fin du traitement nous observons que plus de 90% d'azote a été consommé.

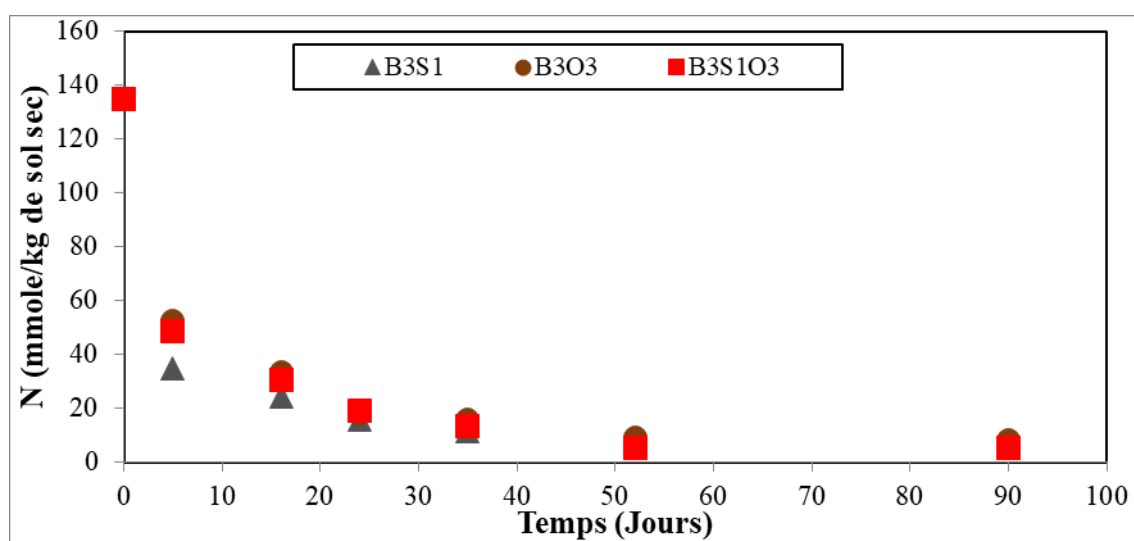


Figure III. 16 : Influence de l'action combinée des facteurs de biostimulation sur l'évolution temporelle de l'azote total minéral.

Les résultats du suivi des teneurs résiduelles en phosphore pour les différents systèmes (Fig. III.17) montrent que la consommation du phosphore se fait à un rythme plus lent et est moins importante comparée à celle de l'azote. Enfin, seuls 50% de la quantité initiale sont assimilés à la fin du traitement.

Nous constatons alors que ces résultats sont identiques au cas de la biostimulation par ajout des nutriments inorganiques à un rapport molaire 100/10/1, le phosphore n'est pas un facteur

limitant pour la croissance microbienne et que l'azote joue un rôle important dans le processus de biodégradation des HPs du sol.

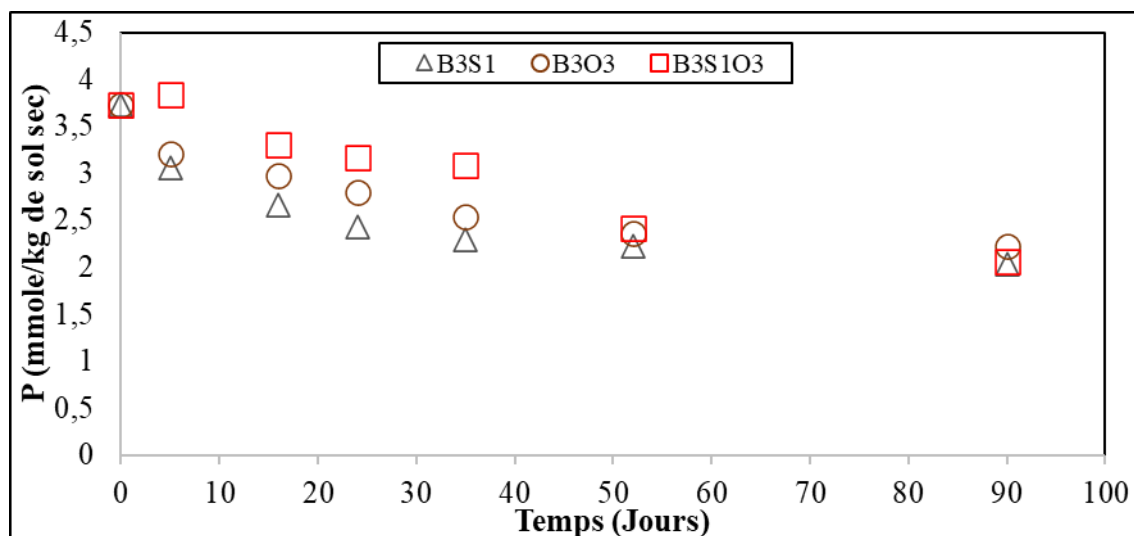


Figure III. 17 : Influence de l'action combinée des facteurs de biostimulation sur l'évolution temporelle du phosphore.

Il ressort de l'étude paramétrique de bioremédiation du sol à l'échelle de microcosmes par biostimulation en favorisant la croissance microbienne, la biodisponibilité du substrat, la présence d'accepteurs d'électrons et probablement de radicaux libres, avec l'addition de nutriments, de Tween 80 et/ou de H_2O_2 , que ce sont les traitements incluant l'action combinée des différents facteurs de biostimulation qui donnent les meilleurs résultats de dégradation des HPs du sol. Le meilleur rendement d'enlèvement des HPs du sol de 71,9% est obtenu dans le cas de l'action simultanée des nutriments (**ajustement du rapport molaire C/N/P à 100/10/1**), du Tween 80 (**0,6 g/kg de sol sec**) et du H_2O_2 (**1,3 mole/kg de sol sec**). Dans ce qui suit et afin d'optimiser le traitement par biostimulation, une étude par plan d'expériences a été effectuée afin de vérifier les résultats obtenus lors de cette étude en considérant l'influence du rapport molaire N/P, des doses de Tween 80 et de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).

III.5 Optimisation par plan d'expériences

Afin d'optimiser et de prédire le processus de bioremédiation, nous avons également effectué une étude par plan d'expériences moyennant un plan factoriel complet à deux niveaux pour étudier les effets principaux des trois paramètres étudiés à savoir le rapport molaire N/P (X_1), les teneurs en Tween 80 (X_2) et en H_2O_2 (X_3), ainsi que les interactions entre eux.

Les expériences ont été planifiées selon un plan factoriel complet (2^n) comprenant trois facteurs, soit un nombre d'expériences égal à 2^3 . Chacun ayant deux niveaux distincts (-1) et (+1). Le tableau III.7 présente les limites de variations des variables indépendantes et leurs niveaux codés.

Tableau III. 7 : Facteurs et niveaux codés pour la conception factorielle.

Symbole	Variables indépendantes	Unités	Niveaux codés		
			-1	0	+1
X1	N/P	mol/mol	5/1	7,5/1	10/1
X2	Tween 80	g/kg de sol sec	0,6	1,2	1,8
X3	H_2O_2	mol/kg de sol sec	0,65	0,975	1,30

A partir de la matrice écrite en variables codées sur le tableau III.8, huit essais expérimentaux correspondants au nombre total de combinaisons des deux niveaux des trois facteurs ont été planifiés ainsi que deux points centraux pour l'évaluation de la signification statistique des effets et leurs interactions. Le taux d'élimination des HPs a été retenu comme réponse (Y) pour cette étude. La modélisation a été effectuée à l'aide d'un logiciel statistique **JMP 8.0**.

Il est à noter que l'ensemble des expériences a été réalisé dans les mêmes conditions que l'étude en microcosmes en phase solide.

Tableau III. 8 : Matrice des essais et des valeurs codées.

Numéro d'expérience	Type de point	Valeurs codées			Valeurs réelles			Réponse Y (%)
		X1	X2	X3	X1	X2	X3	
1	Factoriel	-1	-1	-1	3017/5/1	0.6	0.65	40,24
2	Factoriel	+1	-1	-1	100/10/1	0.6	0.65	55,33
3	Factoriel	-1	+1	-1	3017/5/1	1.8	0.65	33,01
4	Factoriel	+1	+1	-1	100/10/1	1.8	0.65	65,75
5	Factoriel	-1	-1	+1	3017/5/1	0.6	1.30	38,26
6	Factoriel	+1	-1	+1	100/10/1	0.6	1.30	72,5
7	Factoriel	-1	+1	+1	3017/5/1	1.8	1.30	38,87
8	Factoriel	+1	+1	+1	100/10/1	1.8	1.30	70,93
9	Centre	0	0	0	1558.5/7.5/1	1.2	0.975	52,55
10	Centre	0	0	0	1558.5/7.5/1	1.2	0.975	53,22

Le rendement d'élimination des HPs a été ajusté avec un modèle polynomial du 1^{er} ordre reliant la réponse Y aux différentes variables indépendantes $X_i=1,2,3$ est donné par l'équation III.1

$$Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_{12}X_1X_2 + a_{13}X_1X_3 + a_{23}X_2X_3 + a_{123}X_1X_2X_3 \quad (\text{III.1})$$

Où ;

Y : la réponse,

a_0 : coefficient indépendant

a_i , a_{ij} et a_{ijk} : coefficients correspondant aux principaux effets des facteurs et leurs interactions.

L'estimation des coefficients codés pour la réponse Y donné par le logiciel JMP 8.0, en remplaçant les coefficients par leurs valeurs dans l'équation nous obtenons :

$$Y = 52,067 + 14,2675X_1 + 0,2775X_2 + 3,28X_3 + 1,9325X_1X_2 + 2,31X_1X_3 - 0,52X_2X_3 - 2,48X_1X_2X_3 \quad (\text{III.2})$$

Les variables $X_i = 1, 2, 3$ représentent les valeurs codées de rapport molaire N/P ($7,5/1 + 2,5/1x_1$ (mole/mole)), les teneurs en Tween 80 ($1,2 + 0,3 x_2$ (g/kg sol sec)) et en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ($0,975 + 0,325x_3$ (mole/kg sol sec)).

III.5.1 Test statistique et régression du modèle

Il ressort du graphique de comparaison entre la réponse expérimentale, et la réponse prédite (figure III.18), que les coefficients de corrélation au carré R^2 et R^2 ajusté sont respectivement égaux à 99,8969% et 99,5362%. **0,46%** de la variance totale n'a pas pu être expliquée par le modèle utilisé. Les valeurs élevées de ces deux coefficients, ainsi que leur concordance significative, indiquent une excellente qualité descriptive du modèle.

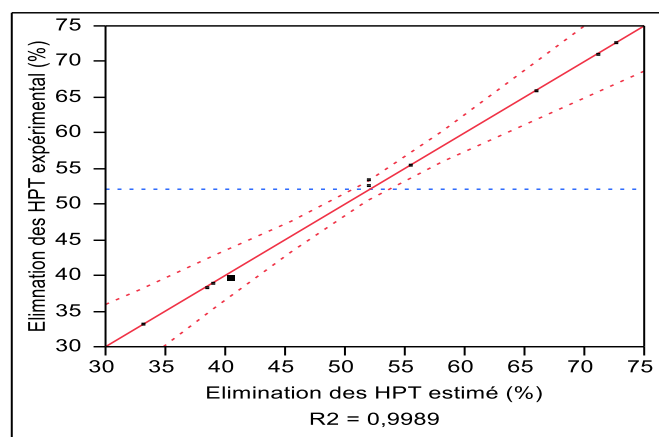


Figure III. 18 : Valeurs expérimentales en fonction des valeurs estimées du taux d'enlèvement des HPT.

III.5.2 Test t-student

Afin de vérifier la signification des coefficients de régression de l'équation III.2, nous utilisons le test t-student. Un coefficient est considéré statistiquement significatif si la valeur absolue de la statistique **t** associée est supérieure à la valeur critique de Student lue sur la table de Student (**Annexe A.6**) pour un niveau de confiance de 95% ($\alpha=5\%$) et (n-p) degrés de liberté (t-crit (0,05 ; 2) = 4,303).

n : le nombre des expériences réalisées 10 ;

p : le nombre des expériences proposé par le modèle 8.

Une autre approche consiste à examiner la valeur de probabilité (valeur p) pour chaque terme du modèle, qui doit être inférieure ou égale au seuil p de 0,05.

Tableau III. 9 : Analyse des coefficients de régression.

Coefficients	Valeurs	Erreur standard	Valeur t	Valeur p
a ₀	52,067	0,307998	169,05	<,0001*
a ₁	14,2675	0,344353	41,43	0,0006*
a ₂	0,2775	0,344353	0,81	0,5049
a ₃	3,28	0,344353	9,53	0,0108*
a ₁₂	1,9325	0,344353	5,61	0,0303*
a ₁₃	2,31	0,344353	6,71	0,0215*
a ₂₃	-0,52	0,344353	-1,51	0,2701
a ₁₂₃	-2,48	0,344353	-7,20	0,0187*

*Coefficient significatif

La significativité des coefficients a été également confirmée par le diagramme de Pareto (Figure III.19), qui présente les effets et interactions estimés par ordre décroissant d'importance, avec une ligne verticale représentant l'intervalle de confiance à 95%.

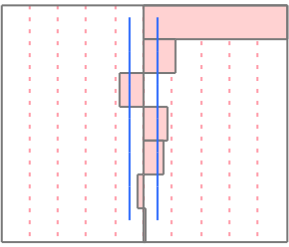
Estimations des coefficients triés					
Terme	Estimation	Écart-type	Rapport t		Prob.> t
N/P	14,2675	0,344353	41,43		0,0006*
H2O2	3,28	0,344353	9,53		0,0108*
N/P*Tween80*H2O2	-2,48	0,344353	-7,20		0,0187*
N/P*H2O2	2,31	0,344353	6,71		0,0215*
N/P*Tween80	1,9325	0,344353	5,61		0,0303*
Tween80*H2O2	-0,52	0,344353	-1,51		0,2701
Tween80	0,2775	0,344353	0,81		0,5049

Figure III. 19 : Diagramme de Pareto.

Les résultats présentés dans le tableau III.9 ont révélé que les facteurs X₁, X₃ et les interactions X₁X₂, X₁X₃, X₁X₂X₃ affectent de manière significative l'efficacité de l'élimination des HPs.

En considérant que les facteurs significatifs, le modèle final du taux d'élimination des HPs devient ;

$$Y = 52,067 + 14,2675X_1 + 3,28X_3 + 1,9325X_1X_2 + 2,31X_1X_3 - 2,48X_1X_2X_3$$

(III.3)

III.5.3. Analyse de la variance (ANOVA)

L'analyse ANOVA est établie afin de s'assurer de la signification du modèle, le tableau III.10 représente la somme des carrés, le carré moyen et la valeur de Fisher (F) et la valeur de p. l'analyse a démontré que le carré moyen du modèle de régression est plus significatif par rapport au carré des résidus, par conséquent la valeur F est supérieure à la valeur critique ($F_{0,05;7;2} = 19,35$) lue sur la table de Fisher (**Annexe A.7**), et la valeur de $p = 0,0036$ inférieure à 5% ce qui indique une bonne signification et adéquation du modèle de régression aux résultats expérimentaux à un niveau de confiance de 95%.

Tableau III. 10 : Analyse de la variance ANOVA.

Source de variation	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	FISHER
Modèle	7	1839,1074	262,730	276,9569
Résidus	2	1,8973	0,949	
Total	9	1841,0046		

III.5.4 Effets des facteurs et leurs interactions

L'analyse des différents effets et du modèle ajusté dans l'équation III.3 a mis en évidence que le rapport molaire N/P (X_1) et la concentration de H_2O_2 (X_3) sont statistiquement significatifs et sont les facteurs influents l'enlèvement des HPs (réponse Y), leurs valeurs positives signifient que la dégradation des HPs est meilleure à des concentrations élevées, ces résultats sont en concordance avec les résultats expérimentaux. Tandis que le Tween 80 (X_2) n'affecte pas la réponse Y statistiquement, la teneur en Tween 80 étudiée n'est pas significative. Bien que l'augmentation de la concentration du Tween 80 augmente la biodisponibilité des HPs ce qui favorise leur dégradation, un excès de Tween 80 peut causer un effet inverse par l'adsorption de ce dernier par la matrice du sol ce qui impacte négativement la dégradation des HPs (**Hadibarata and Kristanti, 2014**) et/ou le Tween 80 est consommé par les microorganismes du sol comme source de carbone (**Betancur-Corredor et al., 2015**). L'augmentation de la concentration de H_2O_2 favorise l'élimination des composés organiques (**Villa et al, 2008**),

l'élimination est passée de 35% à 47,2% quand la concentration de H_2O_2 passe de 0,65 mole/kg de sol sec à 1,3 mole/kg de sol sec.

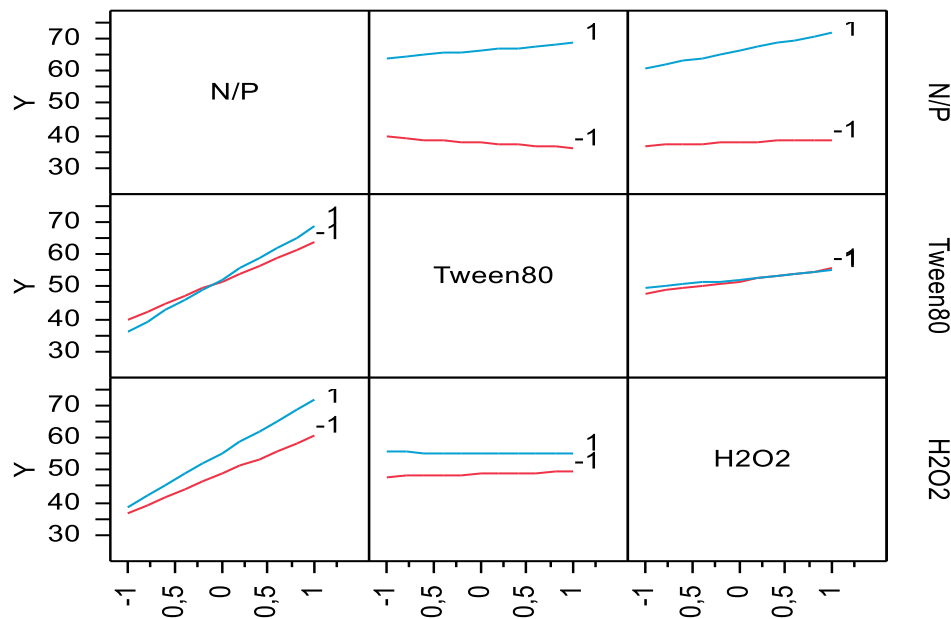


Figure III. 20 : Effets des interactions rapport C/N/P-Tween80- H_2O_2 sur le taux d'élimination des HPT.

Néanmoins l'impact de la quantité du Tween résulte d'effet d'interactions avec d'autres facteurs à un niveau de confiance de 95% sur la réponse Y comme illustré sur la figure III.20.

Nous considérons que l'interaction est efficace quand le changement du faible niveau (-1) à un niveau élevé (+1) n'est pas parallèle. Des effets importants sont observés entre X_1X_2 (rapport molaire N/P-Tween 80), X_1X_3 (rapport molaire N/P- H_2O_2) et $X_1X_2X_3$ (rapport molaire N/P-Tween 80- H_2O_2). Les signes positifs des interactions X_1X_2 et X_1X_3 signifient que l'efficacité d'élimination des HPs augmente avec un niveau élevé de ces derniers alors que le signe négatif de $X_1X_2X_3$ révèle que la réponse Y augmente avec des niveaux élevés du rapport molaire N/P et H_2O_2 et une faible concentration de Tween 80. La combinaison des trois agents biostimulants a prouvé son efficacité dans l'élimination des HPs et elle ne provoque pas des effets indésirables sur le processus de bioremédiation (Tsai et al., 2009).

III.5.5. Optimisation de la fonction de désirabilité

La fonction de désirabilité (d) est utilisée pour établir les conditions qui permettent d'obtenir l'efficacité d'élimination des HPT maximale. Selon Lazli et al., (2016) et Mourabet et al., (2012) cette approche est la plus courante et fortement suggérée pour l'optimisation d'une ou plusieurs réponses.

La fonction d est donnée selon l'équation suivante :

$$d = \left[\frac{Y - Y_{min}}{Y_{max} - Y_{min}} \right] \quad Y_{min} < Y < Y_{max} \quad (III.4)$$

Avec, Y_{min} et Y_{max} les valeurs minimale et maximale de la réponse Y ,

La fonction d varie entre 0 pour des réponses inacceptables ($Y < Y_{min}$), et 1 pour des réponses souhaitées ($Y > Y_{max}$) (Ouriache et al., 2019; Xie YaWei et al., 2016).

Plus la fonction de désirabilité est proche de 1, l'élimination des HPs représente une performance maximale des facteurs considérés.

L'optimisation de l'élimination des HPT par le modèle préalablement établi est réalisée par les profilers de vitesse représentés sur la figure III.21, nous observons que la fonction de désirabilité augmente de façon significative avec l'augmentation du rapport molaire N/P et d'une façon moins importante avec l'augmentation de H_2O_2 et elle ne semble pas être affectée par la teneur de Tween 80. L'efficacité optimale d'enlèvement des HPT est de $72,72 \pm 4,14$ qui correspondent à une désirabilité de 0,932716 avec des niveaux élevés du rapport molaire N/P et H_2O_2 et à un niveau faible de Tween 80 (N/P ; Tween80 et $H_2O_2 = 100/10/1$; 0,6 g/kg de sol sec et 1,30 mol/kg de sol sec), ces résultats corroborent les résultats expérimentaux obtenus lors des traitements combinés dans l'étude en microcosmes.

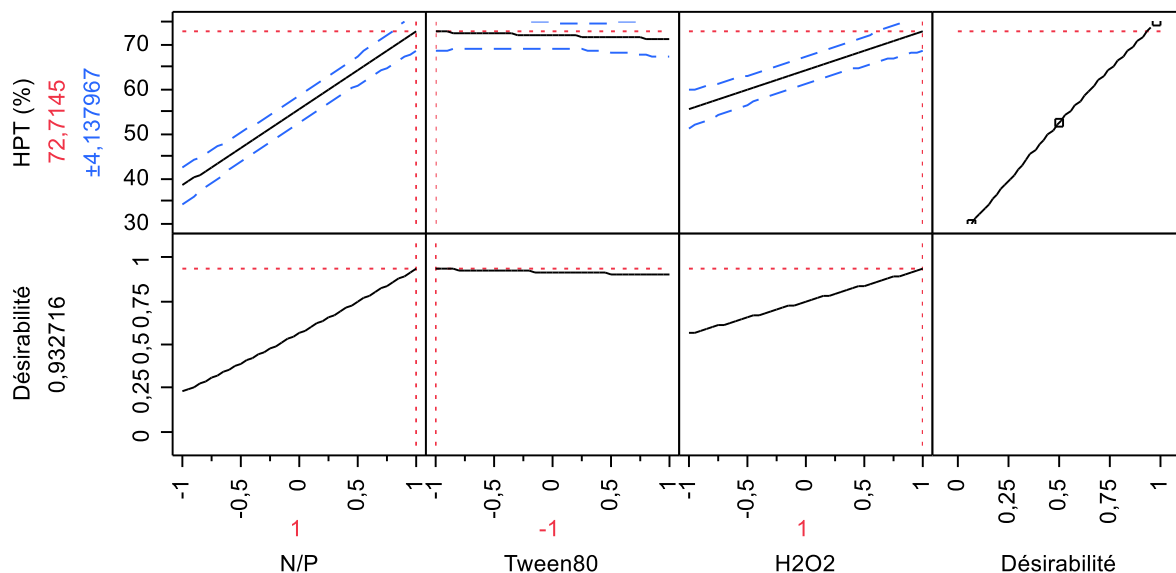


Figure III. 21 : La fonction de désirabilité pour l'optimisation du taux d'enlèvement des HPT.

L'ajout de l'azote et du phosphore est important pour améliorer la dégradation des HPs dans le sol, l'ajustement du rapport N/P à 10/1 a prouvé son efficacité dans plusieurs travaux (Leys et

al., 2005; Shahi et al., 2016). Nos résultats sont en bon accord avec (Wu et al., 2019), ils ont trouvé une forte corrélation positive de l'azote et du phosphore avec la dégradation des HPT. Les résultats obtenus sont en bon accord avec ceux obtenus par (Agarry et al., 2012), ils ont trouvé que l'interaction des trois facteurs améliore la biostimulation de kérosène avec une désirabilité égale à 1 et un taux d'élimination de 75,06%.

Les résultats obtenus lors de l'optimisation des résultats expérimentaux par un plan factoriel complet (2^3) ont permis de déterminer les conditions optimales de dégradation ainsi que de maximiser l'élimination des HPT, les résultats optimaux de dégradation obtenus sont similaires à ceux obtenus dans l'étude en microcosmes. Cette étude nous a permis de fixer les conditions optimales de dégradation : un rapport molaire **C/N/P = 100/10/1**, **[Tween 80] = 0,6 g/kg de sol sec** et **[H₂O₂] = 1,3 mol/kg de sol sec**. Ces conditions vont être appliquées à l'échelle des réacteurs gaz/solide afin de stimuler un traitement in situ.

III.6 Bioremédiation par bioventing à l'échelle de microcosmes

Le bioventing est une technique de remédiation in situ attrayante qui s'intègre dans le cadre du développement durable qui peut être préconisé pour la restauration de sites sujets à une ancienne pollution par des hydrocarbures pétroliers et pour lesquels, il est essentiel de déterminer les conditions optimales pour stimuler l'activité des microorganismes indigènes pour une efficacité de dégradation des HPs maximale.

Dans cette partie, des essais en laboratoire sont réalisés en appliquant les conditions optimales obtenues à partir des expériences à l'échelle de microcosmes et optimisées par plan d'expériences à savoir un rapport molaire C/N/P de 100/10/1, des teneurs de Tween 80 de 0,6 g/kg de sol sec et de H₂O₂ de 1,30 mol/kg de sol sec. Cette étude est effectuée dans des réacteurs gaz/solide décrits en partie II.1.3 (Figure II.3), nous nous intéresserons à l'influence de l'aération de colonnes de sol en variant le débit d'aération et du mode d'aération continue ou discontinue sur la dégradation des HPs. L'ensemble des expériences est détaillé sur le tableau III.11. Les différents débits étudiés (0,4, 0,6 et 0,8L/min) ont été choisis en dessous du minimum de fluidisation Q_{mf} de 0,92L/min afin de simuler un traitement in situ

Les essais sont réalisés tant sur un sol stérile (systèmes abiotiques) par l'ajout de HgCl₂ à raison de 30g/kg de sol que sur un sol non stérile dans des réacteurs pré fluidisés contenant 0,63 kg de sol contaminé à la température ambiante (20-25°C). Le taux d'humidité est ajusté à 25% (m/m) dans tous les systèmes étudiés.

Des prélèvements périodiques sont effectués afin de suivre l'évolution des HPT, de la biomasse et du dioxyde de carbone. Le pH, le taux d'humidité et les teneurs en nutriments sont aussi déterminés afin de s'assurer des conditions environnementales optimales favorables à la biodégradation.

Tableau III. 11 : Conditions expérimentales des essais en colonne.

Système	Eau	C/N/P	Tween 80 (g/kg de sol sec)	H ₂ O ₂ (mole/kg de sol sec)	Q (L/min)			
1	25	100/10/1	0.6	1,3	0,4*	-	-	-
2					-	0,6*	-	-
3					-	-	0,8*	-
4					-	-	-	0,8**

* Mode continu

** Mode discontinu

III.6.1. Effet de l'aération continue

✓ Dégradation des HPs du sol

Les figures III.22A et B illustrent l'évolution temporelle de l'élimination des HPs du sol dans le cas de l'aération continue pour les systèmes abiotiques et biotiques.

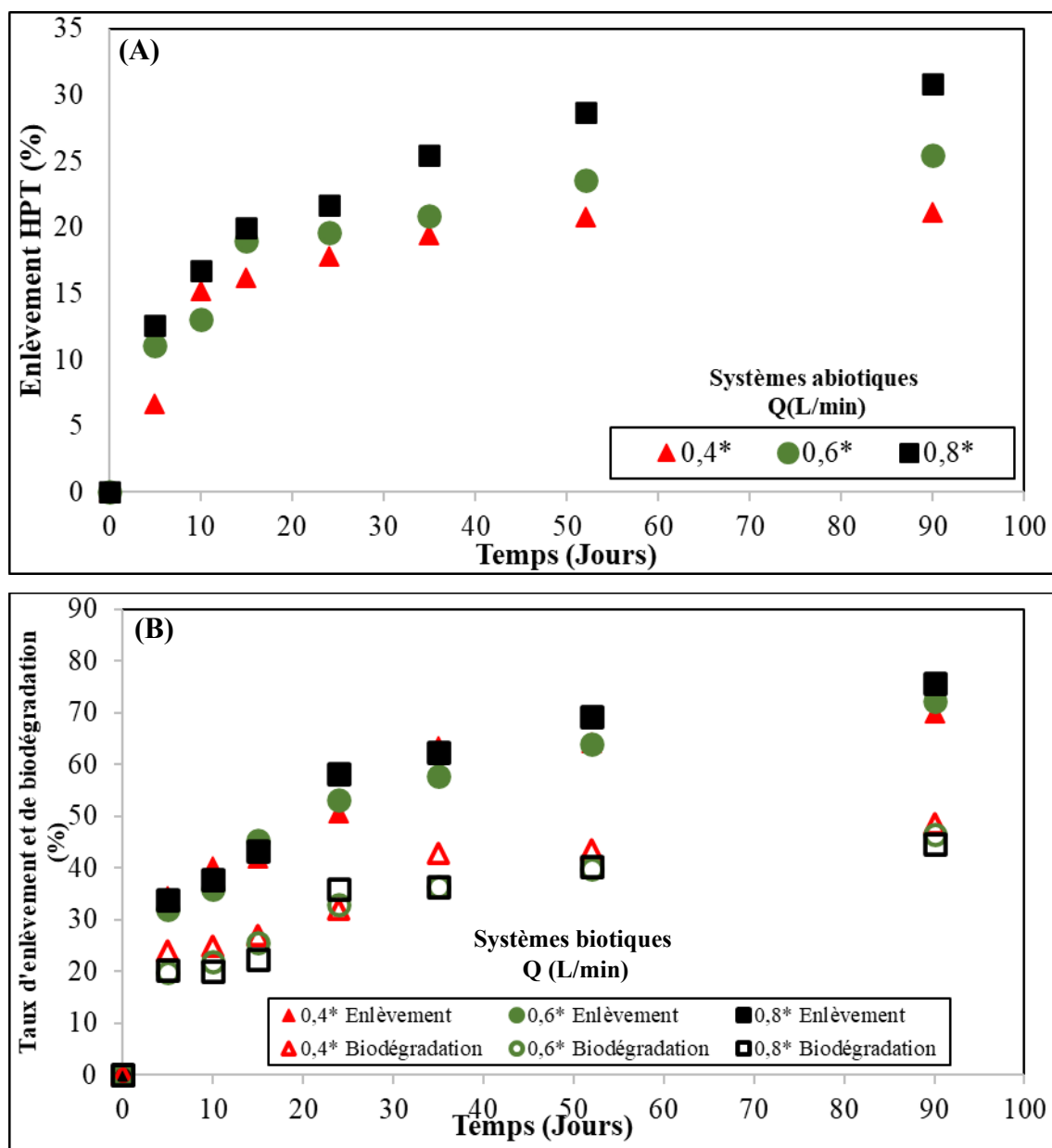


Figure III. 22 : Influence de la variation du débit d'aération sur l'évolution temporelle du taux d'enlèvement des HPT dans les systèmes abiotiques (A) et des taux d'enlèvement et de biodégradation dans les systèmes biotiques (B).

L'examen des teneurs résiduelles dans les systèmes abiotiques (Fig. III.22A) met en évidence une élimination significative des HPs du sol. Les taux d'enlèvement sont presque identiques les premiers jours de traitement indépendamment de la vitesse d'aération du fait de l'oxydation chimique voire même radicalaire initiée par le H_2O_2 catalysé par le fer minéral du sol mais également de l'évaporation des composés volatils. **Usman et al., (2012)** ont trouvé que la magnétite (mélange de Fe(II) et Fe(III)) catalyse le H_2O_2 et génère une efficacité élevée de remédiation des sols contaminés par du pétrole brut. Xue et al. (2009) rapportent que les oxydes de fer minéral, telle que la magnétite sont des catalyseurs très efficaces qui sont présents tout au long du traitement. Enfin, l'augmentation du débit d'aération engendre une augmentation de la volatilisation des HPs du sol, les taux d'élimination atteignant 21,1, 25,49 et 30,6% pour les débits 0,4, 0,6 et 0,8 L/min respectivement. **Arrar et al., (2007)** rapportent des taux d'enlèvement abiotiques du gasoil relativement négligeables entre 12 et 21 % pour des lits, aéré et au minimum de fluidisation ($U_f \leq U_{mf}$). **Byun et al., (2005)** enregistrent des taux de volatilisation de 3,5 à 5,0% pour des débits d'aération de 5 à 20mL/min dans le cas d'un sol sableux pollué artificiellement par du diesel (1%).

Le suivi de l'évolution temporelle des taux d'enlèvement et de biodégradation des HPs du sol dans les systèmes biotiques (Fig. III.22B) indique une même allure indépendamment du débit d'aération. La dégradation des HPs du sol est rapide au début du traitement, une importante réduction est enregistrée au bout des 24 premiers jours du traitement, pour ensuite diminuer graduellement et se stabiliser à partir du 35^{ème} jour du traitement jusqu'à la fin du traitement.

Il est clair que les processus de dégradation et de biodégradation sont peu affectés par l'augmentation du débit d'aération dans le domaine d'étude. Les meilleures efficacités d'enlèvement et de biodégradation des HPs du sol de 75,75% et 48,5% respectivement sont obtenues pour des débits d'aération respectifs de 0,8 et 0,4 L/min. Il ressort du suivi des taux de biodégradation que l'augmentation du débit ralenti légèrement le processus avec des taux de biodégradation de 2,73, 2,37 et 2,27 g HPT/kg de sol sec/j pour les débits 0,4, 0,6 et 0,8 L/min respectivement. Au-delà du 35^{ème} jour, un ralentissement du processus est observé correspondant à des taux de biodégradation très faible de 0,0084, 0,0057 et 0,0073 g HPT/kg de sol sec/j pour les respectifs débits 0,4, 0,6 et 0,8 L/min.

Il ressort des différents essais que la variation du débit d'aération n'a pas apporté une amélioration significative au processus d'élimination des hydrocarbures, et seulement 5% d'amélioration a été enregistré dans le cas du débit 0,8 L/min par rapport à l'absence d'air (système B3S1O2).

Agarry and Latinwo, (2015) ont obtenu de meilleurs résultats que ceux trouvés dans notre étude, ces auteurs ont évalué l'influence de bioventing seul et couplé avec une biostimulation par amendement par un déchet de brasserie (riche en azote, en phosphore et en microorganismes) sur un sol artificiellement pollué par le diesel à 30g/kg de sol sec, le taux d'enlèvement a atteint 91,5 et 61,7% pour le bioventing avec amendement par déchet de brasserie et le bioventing seul respectivement.

Sanscartier et al., (2011) trouvent, dans le cadre de la bioremédiation d'un sol pollué par le diesel, que les efficacités d'enlèvement et de biodégradation du diesel augmentent avec le débit d'aération, des améliorations de 60% à 7°C et de 40% à 22°C du taux d'enlèvement pour un débit de 2,7L/min par rapport au débit 0,78L/min. Toutefois, une température de 22°C augmente la volatilisation des hydrocarbures et par conséquent le taux de biodégradation diminue par rapport à une température de 7°C.

✓ Cinétique de dégradation

Les cinétiques de dégradation et de biodégradation sont généralement mieux décrites par le pseudo-premier ordre (**Brook et al, 2001**) :

$$[C]_t = [C]_0 e^{-kt} \quad (\text{III. 5})$$

$$\ln \frac{[C]_t}{[C]_0} = -kt \quad (\text{III. 6})$$

$$k = \frac{\ln \frac{[C]_0}{[C]_t}}{t} \quad (\text{III.7})$$

Les constantes cinétiques de dégradation 'k' pour les différents systèmes sont déterminées par la régression linéaire de $\ln [C]_0/[C]_t$ en fonction du temps t.

Les constantes cinétiques et les coefficients de régression sont regroupés dans le tableau III.12. Les coefficients de régression sont compris entre 0,91 et 0,95, il confirme l'adéquation du modèle, nous remarquons que la constante de vitesse est presque identique et ne semble pas être affectée par la variation du débit d'aération.

Tableau III. 12 : Constantes cinétiques de dégradation systèmes biotiques.

Q	k	R ²
0,4*	0,0349	0,9132
0,6*	0,0364	0,9498
0,8*	0,0391	0,9599

✓ Croissance microbienne

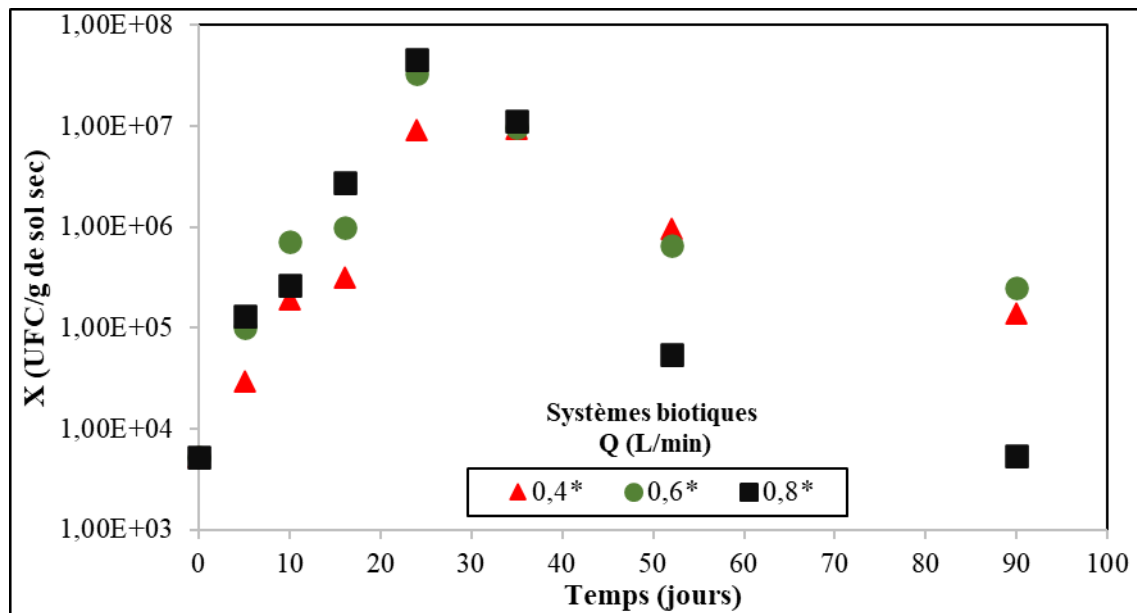


Figure III. 23 : Influence de la variation du débit d'aération sur l'évolution temporelle des microorganismes.

Les résultats de l'évolution de la biomasse au cours du temps sont présentés sur la figure III.23, nous observons la présence de deux phases, une phase exponentielle et une phase de déclin :

- Phase exponentielle (0-24jours) ; la croissance microbienne est prononcée durant cette phase, le nombre de microorganismes augmente d'une façon remarquable il passe de $5,17 \cdot 10^3$ UFC/g de sol sec à $9,19 \cdot 10^6$, $3,31 \cdot 10^7$ et $4,57 \cdot 10^7$ UFC/g de sol sec pour les débits 0,4, 0,6 et 0,8 l/min respectivement. Ces résultats sont en bon accord avec ceux du taux d'enlèvement des HPT, cette phase correspond à la phase où l'élimination était la plus active.
- Phase de déclin (24-90jours) ; cette phase correspond à la phase où les microorganismes ne se produisent plus et le nombre commencent à diminuer jusqu'à atteindre $1,39 \cdot 10^5$, $2,48 \cdot 10^5$ et $5,39 \cdot 10^3$ UFC/g de sol sec à la fin du traitement, ceci est probablement due à l'épuisement des sources nutritifs et la présence des fractions des hydrocarbures difficilement biodégradables.

La détermination du taux de croissance microbien à partir des résultats de la biomasse dans la phase exponentielle a révélé que l'augmentation du débit d'aération augmente le taux de croissance microbien avec de très bon coefficients de régression variant entre 0,97 et 0,98, le débit 0,8 L/min n'a pas impacté l'activité microbienne, au contraire, nous avons enregistré le nombre de microorganismes le plus élevé pour le débit 0,8L/min de $4,57 \cdot 10^7$ UFC/g de sol sec.

Chapitre III : Résultats et discussion

Les résultats de dénombrement des microorganismes concordent avec ceux du taux de croissance microbien.

Tableau III. 13 : Taux de croissance maximum $\mu_{\max}$.

Q (L/min)	$\mu_{\max}$ (j ⁻¹)	R ²
0,4*	0,3031	0,9892
0,6*	0,3743	0,977
0,8*	0,3904	0,9886

✓ Evolution du dioxyde de carbone

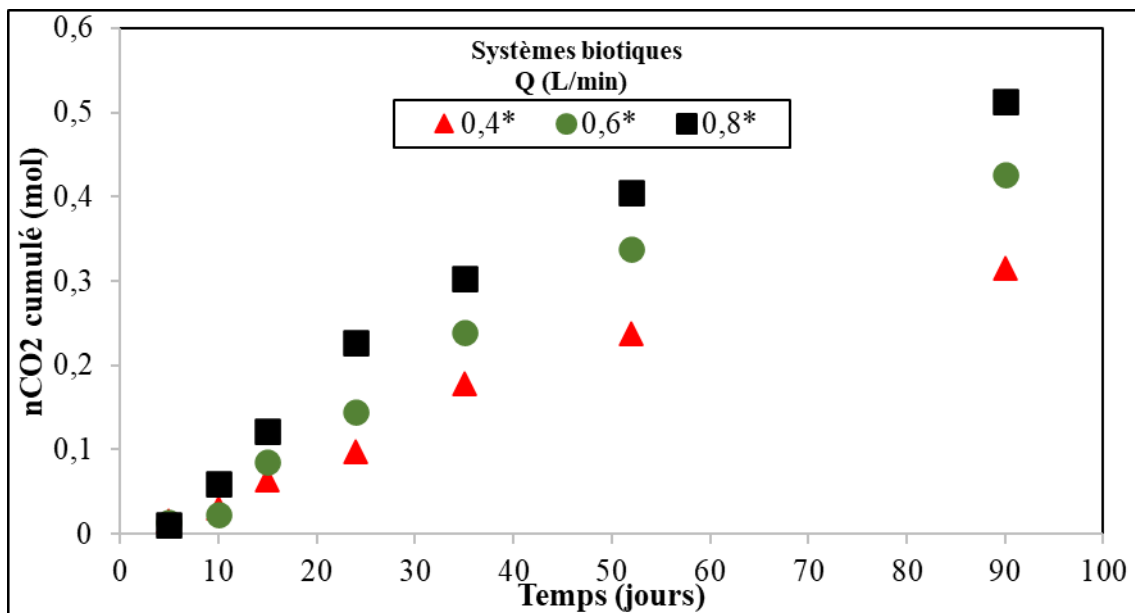


Figure III. 24 : Influence de la variation du débit d'aération sur l'évolution temporelle du dioxyde de carbone.

Le CO₂ produit durant le processus de dégradation est issu de la dégradation des HPs du sol ainsi que de l'activité biologique des microorganismes, un CO₂ élevé est un indice d'une activité microbienne élevée (Shuaibu, 2022). La figure III.24 illustre l'influence du débit d'aération sur l'évolution temporelle du dioxyde de carbone, une proportionnalité entre le débit d'aération et le nombre de mole CO₂ cumulé est observée. Nous remarquons que l'évolution a été lente du 5^{ème} au 24^{ème} jours où nCO₂ était de 0,098, 0,1445 et 0,2263 mol pour 0,4, 0,6 et 0,8 l/min respectivement. Au-delà du 24^{ème} jour correspondant au nombre des microorganismes le plus important, l'évolution de la respiration cumulée a augmenté de façon significative jusqu'à atteindre 0,316, 0,4265 et 0,5129 mol pour 0,4, 0,6 et 0,8 L/min respectivement à la fin du traitement.

Ces résultats mettent en évidence une bonne corrélation entre le taux d'enlèvement, la production du CO₂ et l'activité microbienne, **Maila et al., (2005)** ont reporté que la respiration du sol est positivement corrélée au taux d'élimination des HPT le plus élevé. Les résultats de biodégradation semblent être contradictoire aux résultats de l'évolution du CO₂ mais ceci pourrait être expliqué par le fait que la minéralisation ou l'oxydation se produisent selon la matière enzymatique produite dans chaque système (**Mancera-López et al., 2008**).

Ces résultats sont en bon accord avec les résultats obtenus par **Mair et al., (2013)** ils ont trouvé que la respiration du sol reflétait l'activité microbienne et elle est en corrélation positive avec la teneur résiduelle des HPT.

✓ Evolution des nutriments

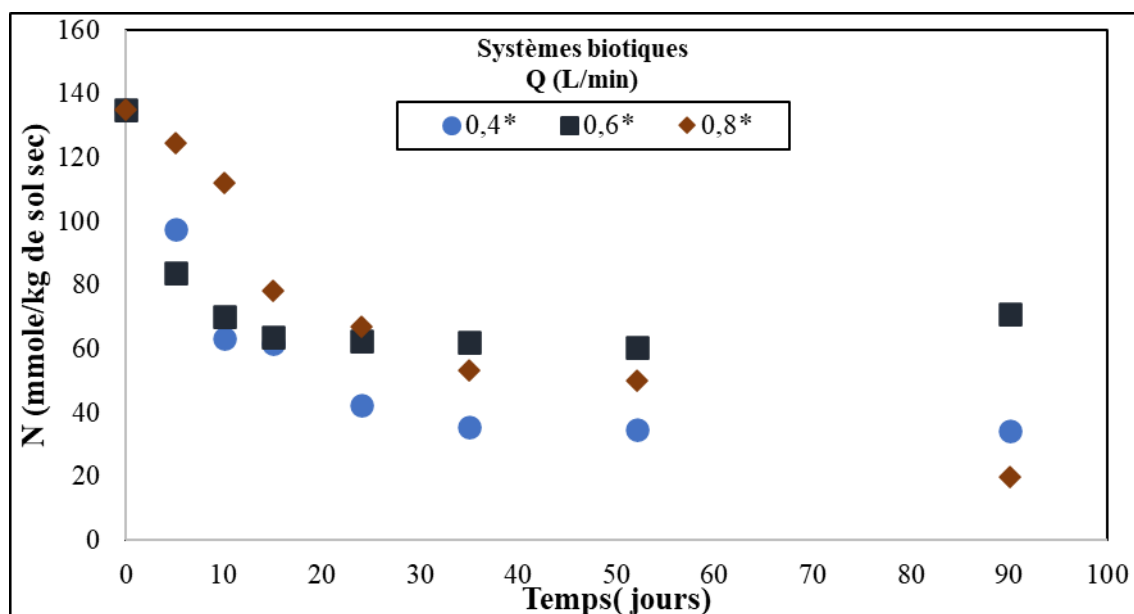


Figure III. 25: Influence de la variation du débit d'aération sur l'évolution temporelle de l'azote.

La figure (III.25) représente l'influence du débit d'aération sur l'évolution temporelle de l'azote, nous remarquons une diminution des teneurs en azote tout au long du traitement, cette diminution est caractérisée par la présence de deux phases, une rapide allant de [0 – 24 jours] où plus de la moitié de la teneur initiale a été consommée correspondant à la phase exponentielle de la croissance microbienne (Figure III.24), une phase lente allant de [24- 93 jours] où la vitesse de consommation a ralenti jusqu'à stabilisation au 52^{ème} jours correspondant à la phase de déclin de la croissance microbienne (Figure III.24).

Il ressort de ces résultats que la consommation de l'azote corrobore significativement la croissance microbienne.

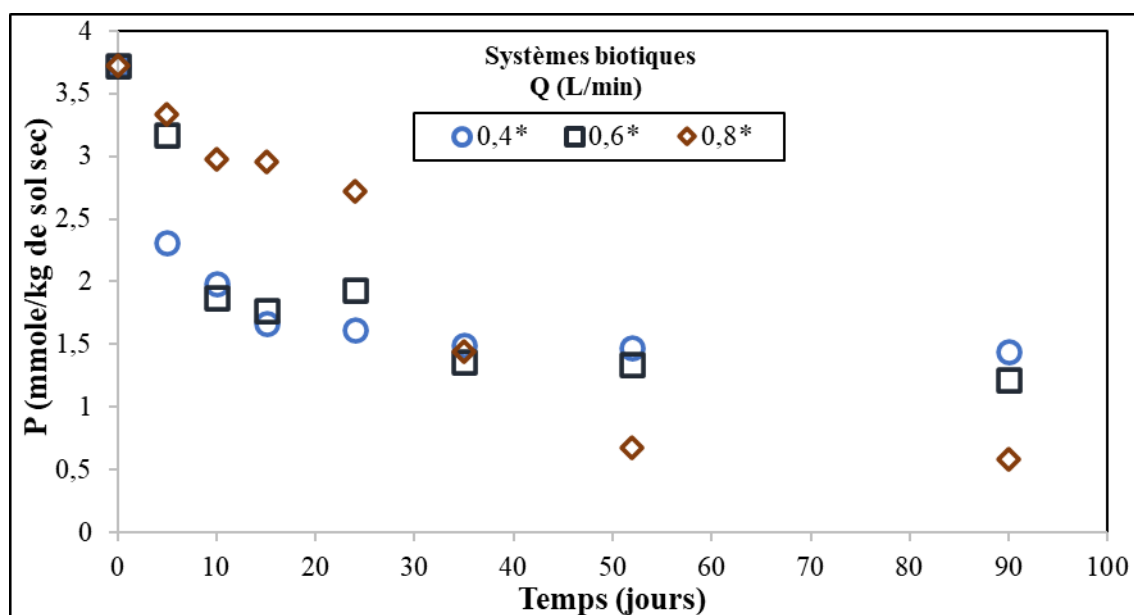


Figure III. 26 : Influence de la variation du débit d'aération sur l'évolution temporelle du phosphore.

La figure (III.26) représente l'influence de la variation du débit d'aération sur l'évolution temporelle du phosphore, nous observons une diminution de la teneur en phosphore dans tous les systèmes. Pour les débits 0,4 et 0,6 L/min, la diminution était plus prononcée au cours des quinze premiers jours puis elle est ralentie pour se stabiliser après. Pour le débit 0,8 L/min l'assimilation du phosphore est ralentie durant la première phase du traitement, au-delà du 24^{ème} jour, une nette diminution de la teneur en phosphore est observée jusqu'à la fin du traitement.

III.6.2. Effet de l'aération discontinue

L'aération discontinue dans le cadre de la bioremédiation des sols pollués par des hydrocarbures, devrait permettre de diminuer le taux de volatilisation des contaminants trois fois moins que l'aération continue (Cassidy and Irvine, 1997). De même, l'aération discontinue pourrait être plus économique pour l'application du bioventing (Azubuiké et al., 2016 ; Thomé et al., 2014).

Nous avons étudié l'effet de l'aération discontinue sur la bioremédiation des HPs du sol dans le cas le plus défavorable favorisant le maximum de volatilisation dans les conditions d'essais. Le même essai est réalisé pour le débit d'aération de 0,8L/min à raison de 2H/12H, la matinée et en fin de journée. Les mêmes paramètres que l'aération continue sont suivis dans cette partie.

✓ Dégradation des HPs

Le suivi de l'enlèvement des HPT dans le cas de l'aération intermittente (Fig III.27 A et B) présente une même allure exponentielle que dans le cas de l'aération continue. Nous

Chapitre III : Résultats et discussion

remarquons que durant les 5 premiers jours, il n'y a pas de différence entre les deux modes d'aération, ceci soutient l'hypothèse d'une oxydation chimique en présence de H_2O_2 à une même concentration dans les deux systèmes.

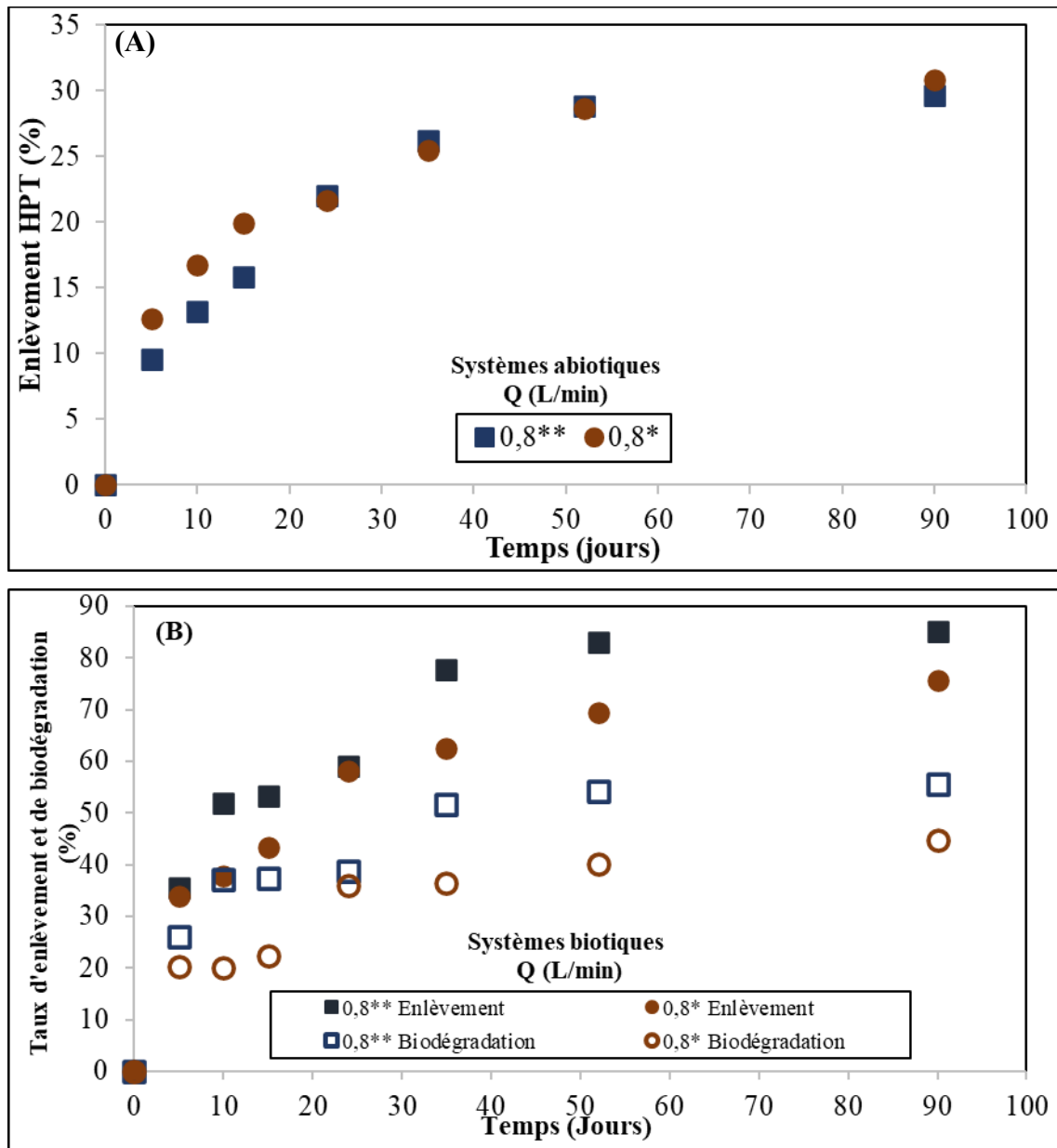


Figure III. 27: Influence du mode d'aération sur l'évolution temporelle du taux d'enlèvement des HPT dans les systèmes abiotiques (A) et du taux d'enlèvement et de biodégradation des HPT dans les systèmes biotiques (B).

La cinétique de dégradation est la même pour les deux systèmes mais au-delà du 5^{ème} jour, il apparait clairement que la dégradation est plus importante pour le mode d'aération discontinue et qu'aux bout de 10 jours l'élimination est plus de 50%. Par la suite, la dégradation se stabilise pour augmenter après le 24^{ème} jour. A partir du 35^{ème} jour la dégradation diminue graduellement

pour se stabiliser à la fin du traitement. Les taux d'enlèvement ont atteint 75,8 et 85,2 % pour le mode continu et le mode discontinu respectivement, il ressort de ces résultats une amélioration de 12,5% en taux de dégradation et de 24,6% en taux de biodégradation en mode discontinu par rapport au mode continu. Il apparaît clairement que le mode d'aération discontinu a réduit le taux d'évaporation des HPT et a favorisé leur biodégradation, ceci nous laisse déduire que l'aération discontinu a favorisé les échanges interparticulaire et a amélioré le transfert entre les différentes phases ce qui accélère et améliore le processus de biodégradation.

Ces résultats sont en bon accord avec ceux trouvés par **Lee et al., (2006)**, les taux d'élimination du diesel d'un sol artificiellement pollué à 8000mg/kg de sol sec par le bioventing (5mL/min) et l'ajustement du rapport molaire C/N/P à 100/10/1 ont atteint 78,7 et 82% pour les systèmes avec aération continue et intermittente (6h/6h repos) respectivement.

L'influence du débit d'air à différents intervalles d'aération a été réalisée par **Thomé et al., (2014)** sur un sol argileux pollué par le diesel sur une durée de 120jours, les résultats ont montré qu'il n'y pas de différence significative entre les différents débits étudiés (2, 4 et 6 L/min), et que l'utilisation d'un débit de 2L/min à un intervalle de 1h pendant 48h a permis d'éliminer 85% de diesel au bout de 60jours, au-delà de 60 jours aucune amélioration d'élimination est observée. Ces auteurs préconisent l'utilisation du débit le plus faible (2L/min) à l'intervalle le plus long (1h toutes les 48h), ceci rend la technique plus rentable.

Frutos et al., (2010) ont obtenu un taux d'élimination de phénanthrène de 93% au bout de 7mois avec ajustement du rapport C/N/P à 100/10/1 et une aération de 30 min à un débit 2,25L/min.

Tableau III. 14 : Constante cinétique de dégradation

Q (L/min)	k (j ⁻¹)	R ²
0,8*	0,0391	0,9599
0,8**	0,0457	0,921

A partir des mesures des constantes cinétiques k (tableau III.14), nous remarquons que la constante cinétique k du mode d'aération discontinu est supérieure à celle du mode continu, ces résultats corroborent les résultats trouvés par **Hwang et al., (2006)**, la constante cinétique du mode d'aération discontinu (1h/3h repos) était 2,6 fois supérieure que celle du mode d'aération continu (0,656/j contre 0,2525/j).

✓ Croissance microbienne

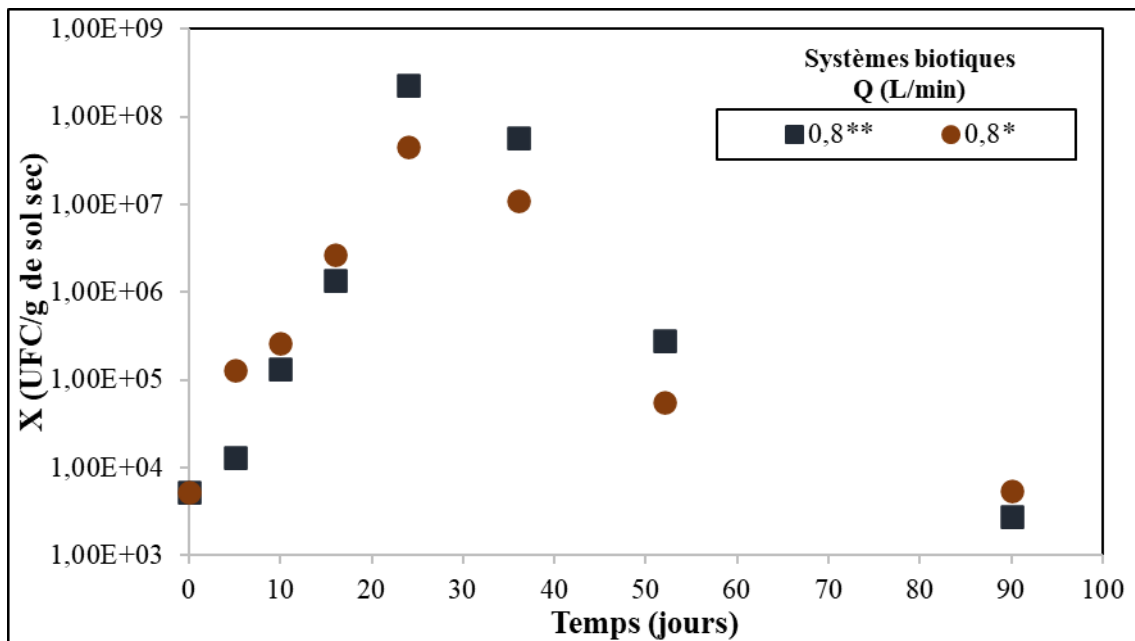


Figure III. 28: Influence du mode d'aération sur l'évolution temporelle des microorganismes.

Les courbes de croissance microbienne présentent la même tendance pour les deux modes étudiés (Figure III.28) et elles sont caractérisées par la présence de deux phases (une phase exponentielle et une phase de déclin), nous enregistrons un accroissement du nombre total des microorganismes dans les deux systèmes, il est plus important dans le mode d'aération discontinue. Le nombre des microorganismes a atteint un nombre maximal de $4,57 \cdot 10^7$ et $2,31 \cdot 10^8$ UFC/g de sol sec en mode continue et en mode discontinue respectivement au bout du 24^{ème} jours. Ces résultats corroborent les résultats des taux de dégradation et taux de biodégradation. Il n'y a pas de différence entre le taux de croissance microbien $\mu_{\max}$ des deux systèmes étudiés (tableau III.15).

Tableau III. 15 : Taux de croissance maximum $\mu_{\max}$.

Q (L/min)	$\mu_{\max} (j^{-1})$	R ²
0,8*	0,3904	0,9886
0,8**	0,4000	0,9766

✓ Evolution du dioxyde de carbone

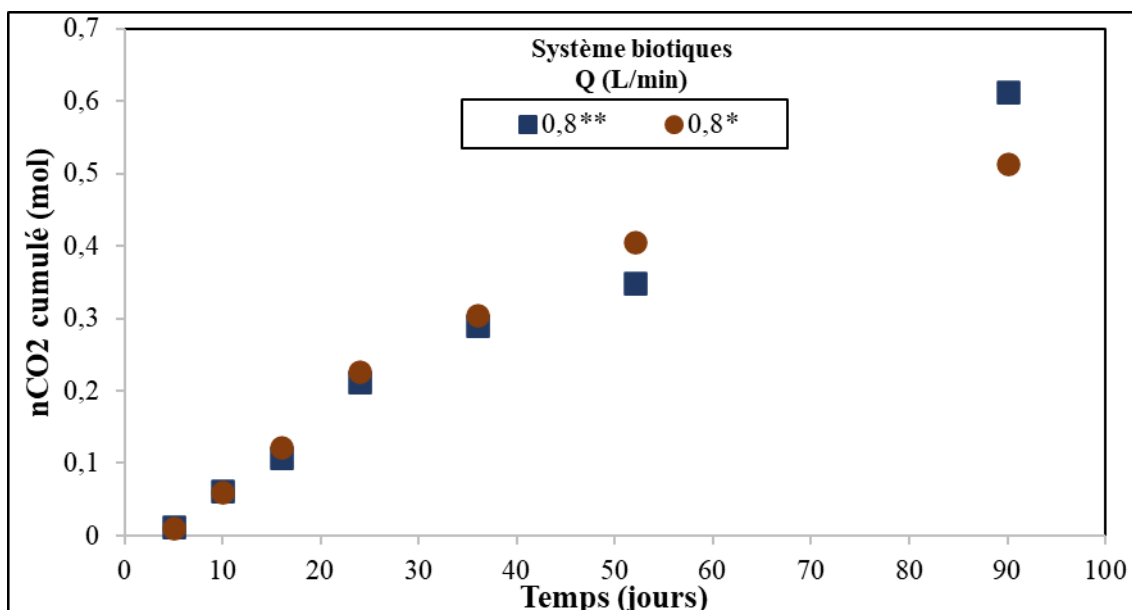


Figure III. 29 : Influence du mode d'aération sur l'évolution temporelle du dioxyde de carbone.

D'après **Troquet et al., (2003)** le suivi de l'évolution du CO₂ est un indicateur de la biodégradation des produits organiques par les microorganismes, ce qui est une mesure indirecte de la diminution de la quantité du polluant. La figure III.29 illustre l'effet du mode d'aération sur l'évolution temporelle du nCO₂ cumulé, nous remarquons une similitude entre les deux modes d'aération étudiés du début du traitement jusqu'au 35^{ème} jour. Au-delà du 35^{ème} jour, une légère différence est observée entre les deux courbes, le nCO₂ atteint 0,5129 et 0,6135 mol pour l'aération continue et l'aération discontinue respectivement à la fin du traitement, ces résultats sont en bonne corrélation avec la dégradation des HPT et la biomasse. **Namkoong et al., (2002)** et **Baptista et al., (2005)** ont reporté l'existence d'une bonne corrélation entre la production du CO₂ et la biodégradation HPs.

Malgré une stabilisation des courbes de dégradation et de biodégradation à partir du 35^{ème} jour, une augmentation du nCO₂ est observée, d'après **Lamy et al., (2013)**, le CO₂ produit n'est pas associé à la dégradation du polluant mais à d'autres processus biotiques tels que la mortalité des microorganismes ou la minéralisation de la matière organique.

Selon **Abed et al., (2014)** l'augmentation du CO₂ produit indique que l'oxygène est présent en quantité suffisante tout au long du traitement et donc la respiration est encore possible.

✓ Evolution des nutriments

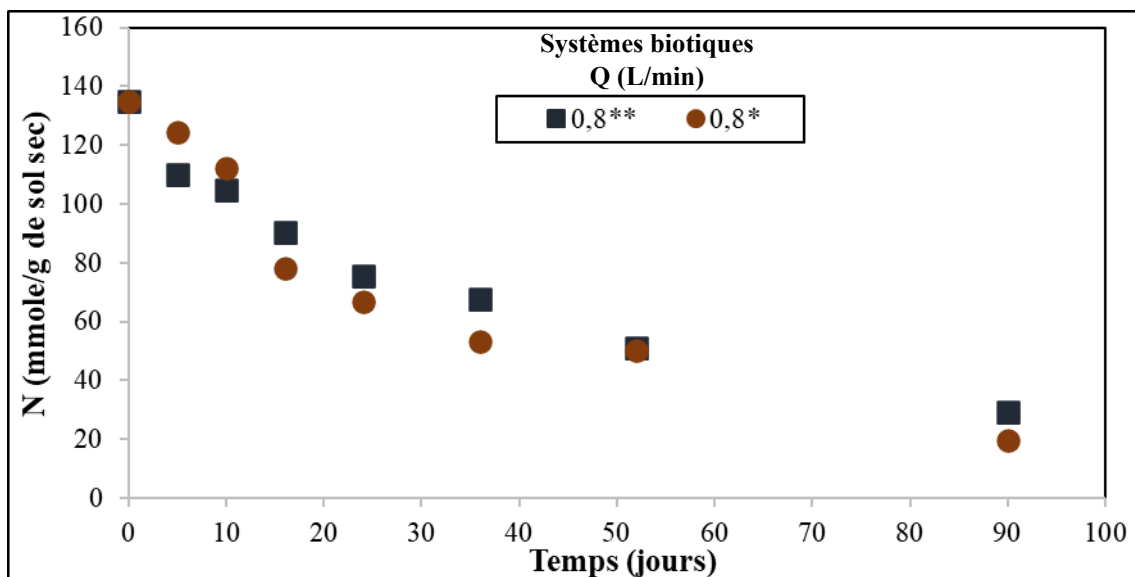


Figure III. 30 : Influence du mode d'aération sur l'évolution temporelle de l'azote.

La figure **III.30** représente l'évolution temporelle de l'azote, nous remarquons que la cinétique d'assimilation est la même pour les deux modes d'aération. La consommation de l'azote était très importante tout au long du traitement et plus de 75% a été consommé au bout de 90 jours.

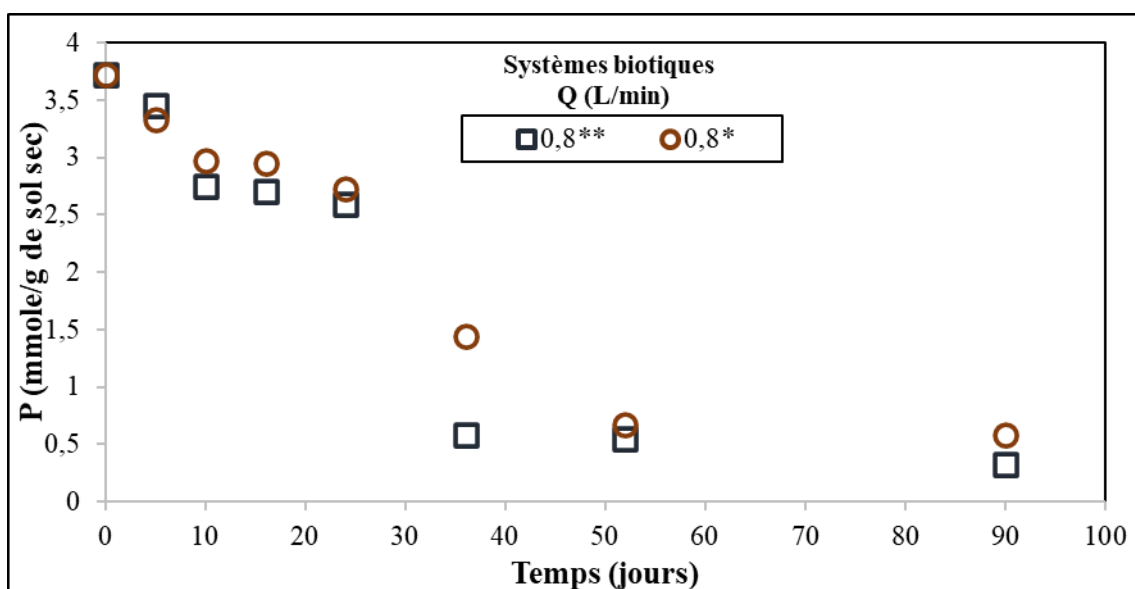


Figure III. 31 : Influence du mode d'aération sur l'évolution temporelle du phosphore.

L'influence du mode d'aération sur l'évolution temporelle du phosphore est portée sur la figure **III.31** nous observons que l'assimilation du phosphore était lente du début du traitement jusqu'au 24^{ème} jours pour les deux modes étudiés. Au-delà du 24^{ème} jour, la teneur en phosphore

a diminué significativement jusqu'à atteindre plus de 80% de consommation au bout de 90 jours.

Le bioventing en stimulant l'activité des microorganismes indigènes par l'apport de nutriments, d'accepteurs d'électrons via l'aération et l'adjonction de H_2O_2 et la biodisponibilité des HPs du sol assistée par le Tween 80, mais également l'oxydation chimique et/ou radicalaire des HPs est une approche efficace pour le traitement des sols sujet à une ancienne pollution par des HPs. Compte tenu des résultats obtenus, il serait judicieux d'opérer avec un débit de 0,4L/min, l'augmentation des débits d'aération, dans le domaine de la pré-fluidisation n'améliore pas significativement l'efficacité d'enlèvement des HPs du sol ($\leq 8,4\%$). Toutefois, la fraction d'enlèvement abiotique des HPs du sol dû au processus de volatilisation pourrait être réduite en réinjectant (recirculation) l'air charriant les HPs volatils et semi volatils débarrassé du dioxyde de carbone. La biodégradation serait ainsi maximisée et les pertes abiotiques par volatilisation minimisées.

III.7 Remédiation par lavage du sol en colonnes

Le lavage du sol assisté par surfactant, en particulier les surfactants non ioniques tel le Tween-80, est une technique éprouvée de la remédiation in situ des sols qui est rapide et efficace dans le cas de fortes contaminations par les HPs **Befkadu and Quanyuan, (2018) et Yan et al., (2016)**. L'injection de solutions de surfactants à une concentration supérieure à leur CMC génère, avec la formation de micelles, une diminution de la tension de surface des polluants hydrophobes et de fait une augmentation de leur désorption et/ou solubilisation et leur relargage dans le milieu poreux. Outre la solubilisation et la biodisponibilité des HPs du sol, le Tween 80 améliore l'efficacité de la bioremédiation en facilitant le transport microbien à travers un milieu poreux. **Rosas et al., (2013)** rapportent que les tensioactifs non ioniques tel le Tween 80 augmentent le gradient de concentration et le transfert de masse.

Comparé aux traitements conventionnels de remédiation du sol, le lavage in situ du sol est attrayant en raison de son respect de l'environnement et de ses faibles coûts (**Svab et al., 2009**). Le principal inconvénient du lavage in situ réside dans les risques de propagation des polluants solubilisés en dehors du périmètre de la zone contaminée (sous-sols et nappes souterraines) et la persistance des surfactants, utilisés à des concentrations largement supérieures à la CMC, dans l'environnement.

Le lavage du sol a été effectué dans des colonnes alimentées en continu par une solution de Tween 80 et a porté sur l'influence de la hauteur de sol et du débit de la solution de lavage pour des concentrations de Tween 80 de 200 et 500 CMC. Le suivi de la dégradation des HPs est effectué par la mesure de la DCO dans le percolât au cours du temps et par la détermination des HPT résiduels dans le sol à la fin du traitement.

Tableau III. 16 : Récapitulatif des essais de lavage réalisés en colonnes.

Lavage assisté par surfactant	Paramètres	Valeurs
	Hauteur du sol	10 cm et 20 cm
	Débit	1,7 mL/min et 3,4 mL/min
	Concentration de Tween 80	200 CMC et 500 CMC

Le suivi de l'évolution des HPT dans le percolât à partir de la mesure de la DCO a permis de déterminer le taux de relargage des HPs par lavage assisté par le Tween 80. Le suivi de l'évolution de la DCO en fonction du temps (Figure III.32 A, B et Figure III.34 A, B) a mis en évidence un relargage des HPs du sol (Figure III.33 A, B et Figure III.35 A, B) dans la phase aqueuse pour les différents systèmes et pour toutes les conditions opératoires étudiées.

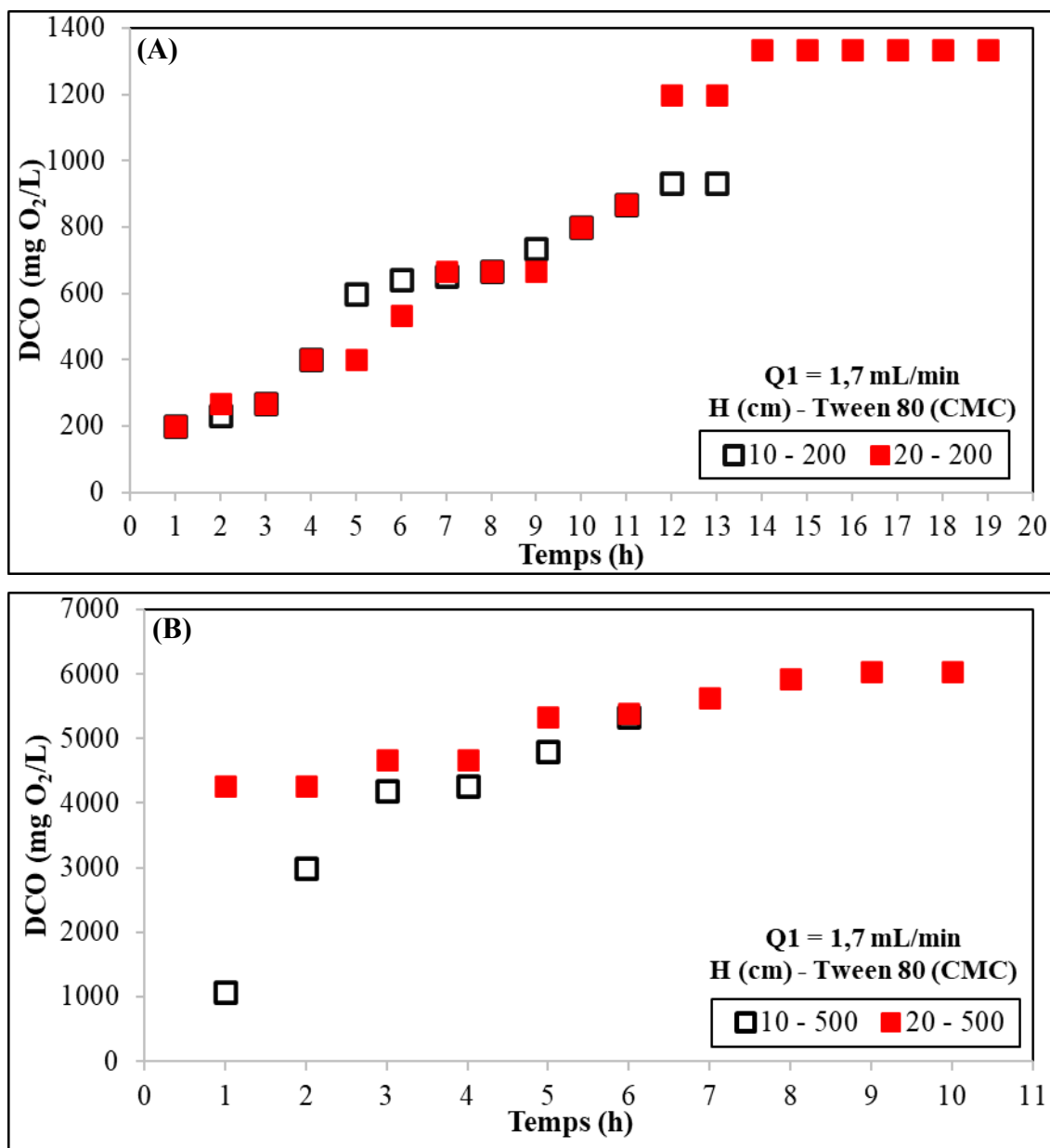


Figure III. 32: Evolution temporelle de la DCO dans le percolât pour un débit de 1,7 mL/min et différentes hauteurs de sol pour les différentes concentrations de Tween 80 de 200CMC (A) et de 500CMC (B).

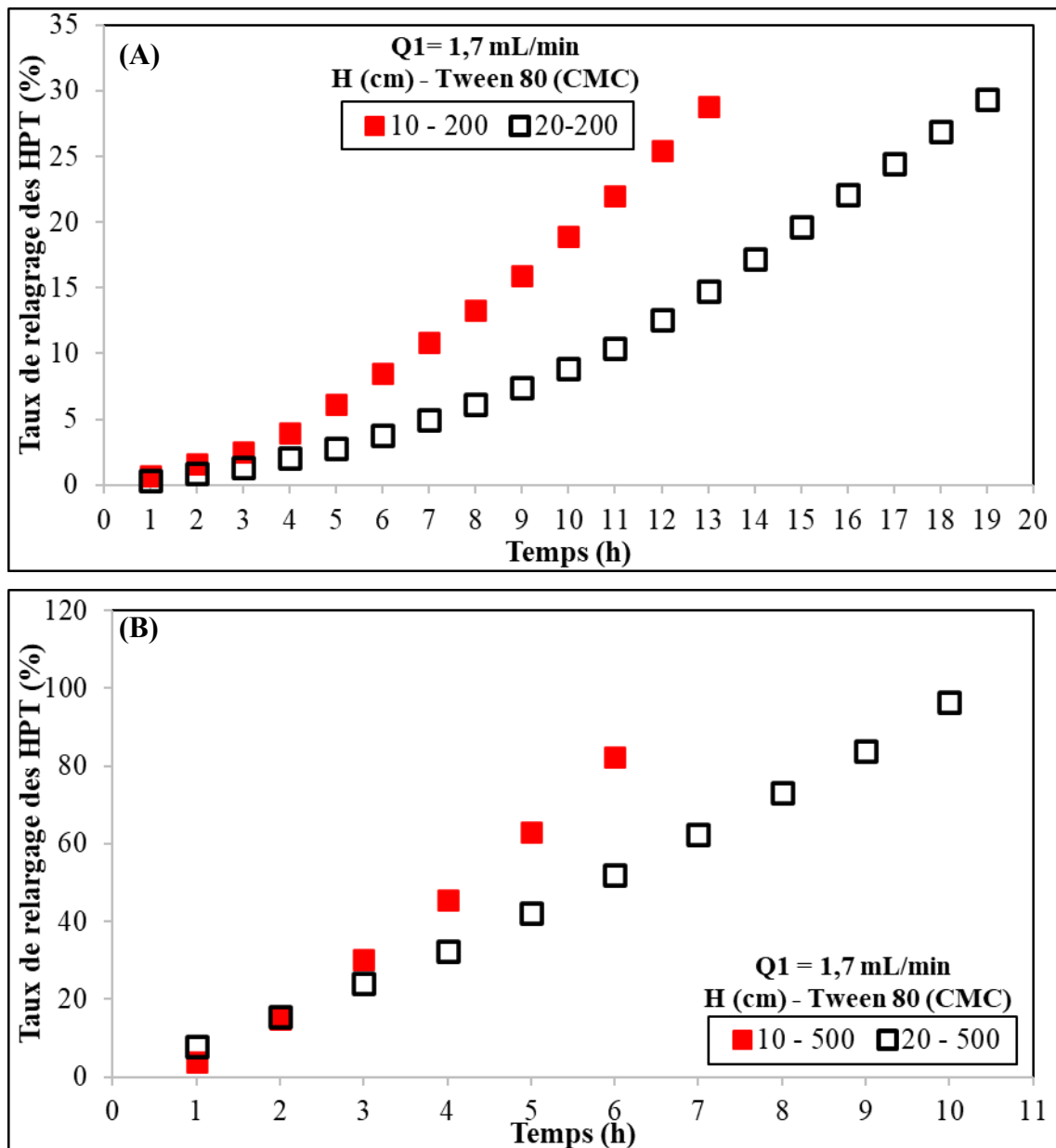


Figure III. 33: Influence de la hauteur du sol sur le taux de relargage des HPT du débit 1,7mL/min pour les différentes concentrations de Tween 80 de 200 CMC (A) et de 500 CMC (B).

Nous remarquons que pour un même débit et une même concentration, l'augmentation de la hauteur du lit du sol influence légèrement le relargage des HPs du sol d'une part, le taux de relargage enregistré pour 200 CMC est de 28,8 et 29,3 % et pour 500 CMC, 82,46 et 94,9 % pour les hauteurs respectives 10 et 20 cm et un débit de 1,7mL/min. Et d'une part, nous constatons que l'augmentation de la hauteur du lit a augmenté le temps de relargage des HPs, une différence de 6h et de 4h est observée entre les deux hauteurs étudiées pour une concentration de 200 et 500 CMC respectivement.

Chapitre III : Résultats et discussion

L'augmentation de la concentration du Tween 80 a permis d'obtenir un meilleur taux de relargage des HPT et de minimiser le temps de lavage, nous passons de 28,8% au bout de 13h à 82,5% au bout de 6h pour une hauteur de 10cm, et de 29,3% au bout de 19h à 94,9% au bout de 10h pour une hauteur de 20cm quand la concentration de Tween 80 passe de 200 à 500 CMC. Nous concluons donc que la hauteur du lit et la concentration de Tween 80 sont des paramètres importants à considérés lors d'un lavage in situ.

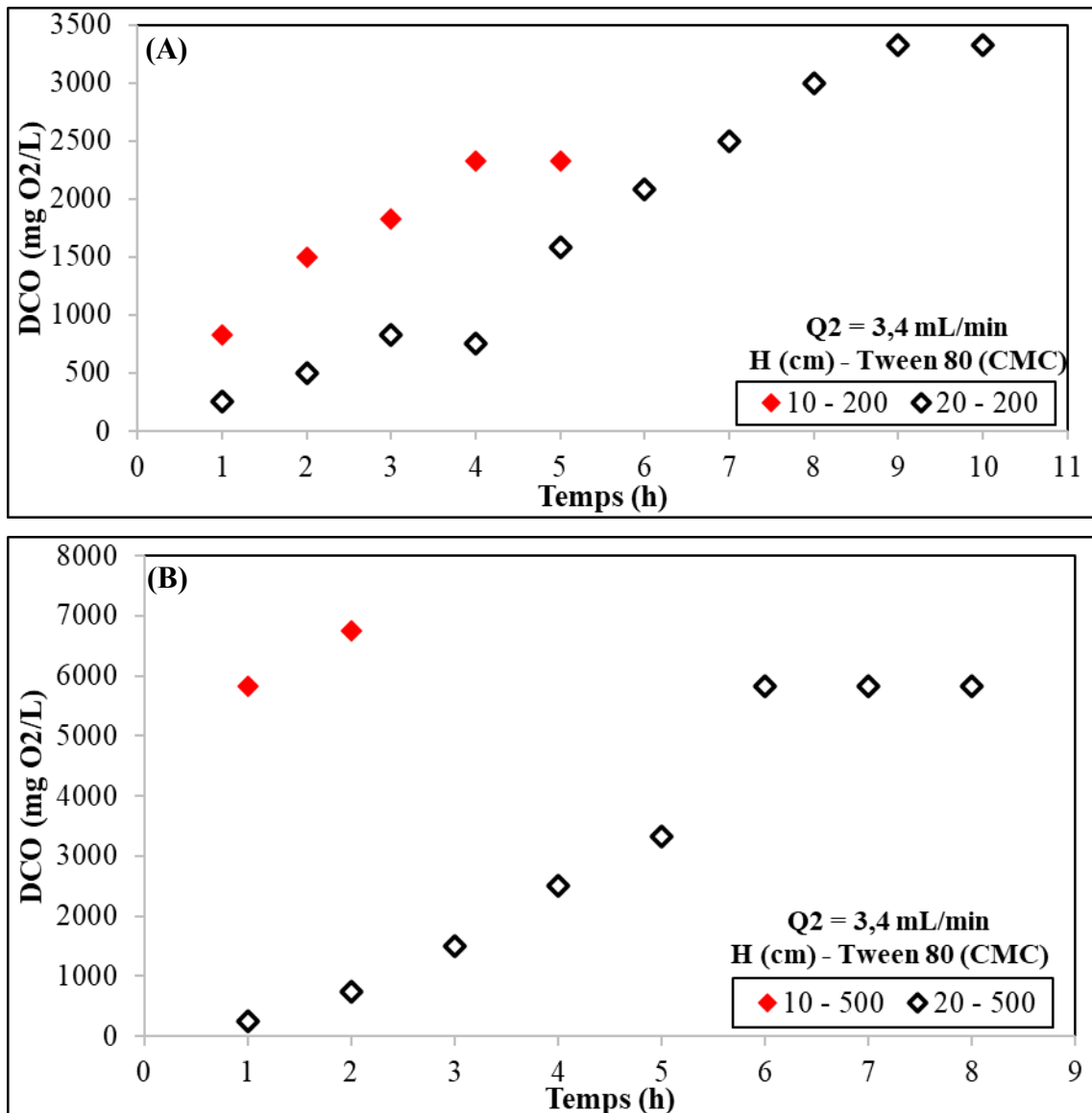


Figure III. 34 : Evolution temporelle de la DCO dans le percolât pour un débit de 3,4 mL/min et différentes hauteurs de sol pour les différentes concentrations de Tween 80 de 200CMC (A) et de 500CMC (B).

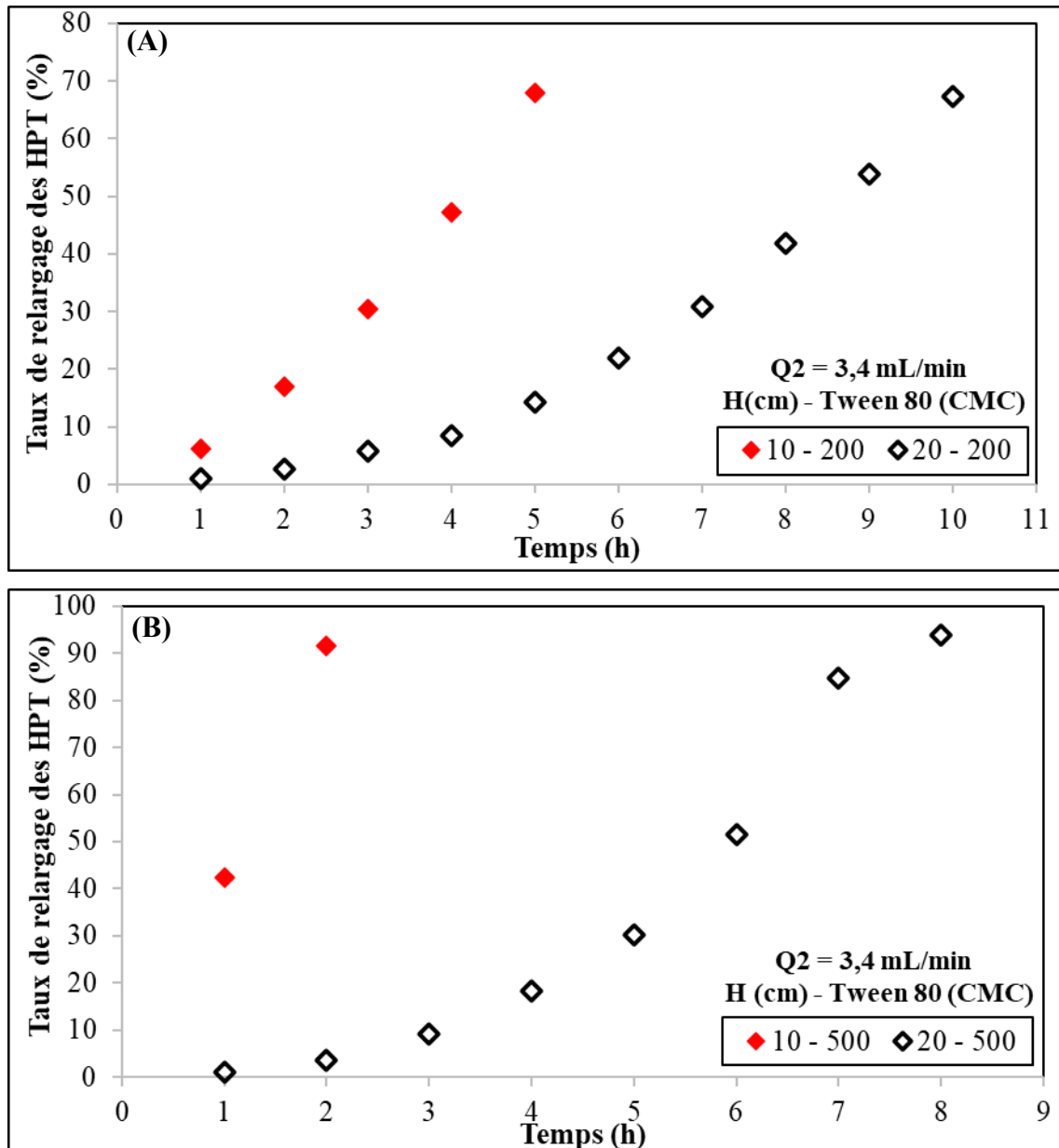


Figure III. 35 : Influence de la hauteur du sol sur le taux de relargage des HPT du débit 3,4mL/min pour les différentes concentrations de Tween 80 de 200 CMC (A) et de 500 CMC (B).

Les figures III. 34 A et B et III.35 A et B représentent l'évolution de la DCO et le taux de relargage pour les différentes concentrations et hauteurs étudiées pour le débit 3,4 mL/min. L'augmentation du débit d'alimentation impacte positivement le relargage des HPs du sol et écourte la durée du lavage pour les différentes concentrations et hauteurs étudiées. Cette variation du débit a permis de relarguer plus de 50% des HPs du sol au bout de 5h et 10h pour une concentration de Tween 80 de 200 CMC pour les hauteurs 10 et 20 cm respectivement alors

que pour le débit 1,7 mL/min, nous n'avons éliminé que 28,8 et 29,3 % au bout de 13h et 19 h. Pour la concentration, 500 CMC, le taux de relargage atteint plus de 90% au bout de 2h et 8h pour les hauteurs 10 et 20 cm respectivement.

Wu et al., (2016) ont reporté que l'utilisation des agents tensioactifs dans un processus de remédiation est affectée par la taille des particules du milieu poreux, le débit et la concentration des solution des surfactant injectées.

L'augmentation de concentration de surfactant de 200 CMC à 500 CMC a augmenté significativement le relargage des HPs du sol, d'après **Liu et al., (2021)** la concentration de l'agent tensioactif a l'effet le plus significatif sur l'élimination des HPT, le taux d'enlèvement est passé de 47 à 66,43% quand la concentration de Tween a augmenté de 500 à 2000 mg/L. **Cheng and Wong, (2006)** ont aussi trouvé que l'élimination de phénanthrène et du pyrène a augmenté de 4,7% à 54,2% et de 0,4% à 34,0 % respectivement quand la concentration de Tween 80 a augmenté de 0 à 600mg/L.

88% de la concentration initiale des HPT d'un sol contaminé (concentration initiale = 20000mg/kg de sol sec) ont été éliminé par un procédé de lavage in situ réalisé par **Lee et al., (2005)** avec une concentration de Tween 80 de 2%.

Un essai de remédiation par le Tween 80 d'un sol pollué par les produits pétroliers (principalement BTEX) dans une base militaire dans la Corée du Sud a été réalisé par **Fleifel et al., (2020)**, 79,5% des BTEX ont été éliminés après 10 jours de traitement avec une concentration de Tween 80 de 0,2% et le débit d'injection 2,30m³/jour.

A la fin du traitement, la détermination des teneurs résiduelles en HPT est effectuée après filtration, séchage et extraction. Les résultats de mesure des différents rendements d'élimination des HPT sont représentés sur la Figure III.36.

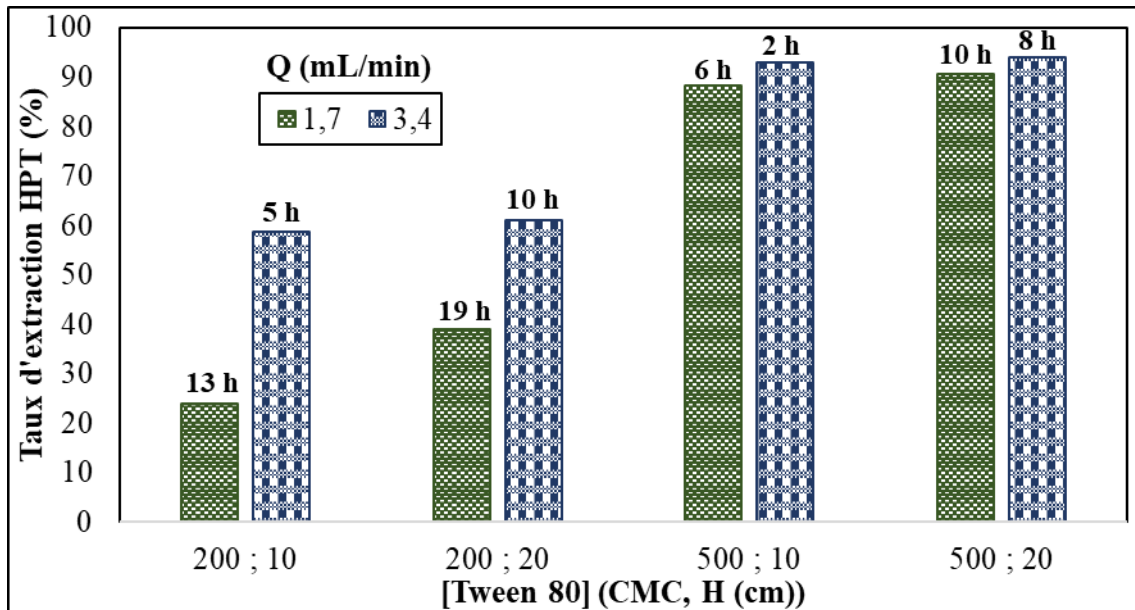


Figure III. 36 : Taux d'élimination des HPT à la fin du traitement en fonction de la concentration et de la hauteur pour les différents débits.

La mesure des HPT dans le sol a montré que le Tween 80 a permis d'extraire plus de 85% de la concentration initiale en 10h maximum pour une concentration de Tween 80 égale à 500CMC et que 95% sont éliminés au bout de 8h dans les conditions les plus favorables ([Tween 80] = 500 CMC, H= 20cm et Q =3,4mL/min). Ces résultats sont prometteurs et montre l'efficacité du Tween 80 à extraire les HPs du sol en un temps record.

Conclusion générale

Conclusion générale

Ce travail s'inscrit dans le cadre de la remédiation d'un sol sujet à une pollution âgée par des produits pétroliers. L'objectif principal est la détermination des conditions optimales de biostimulation des microorganismes du sol et de mobilisation et solubilisation des HPT pour la mise en œuvre de traitements in situ qui s'inscrivent dans le cadre d'un développement durable (bioventing, lavage assisté par tensioactif) sur un sol pollué par les HPT à raison de 9% (m/m).

Dans un premier temps, nous avons procédé au lavage du sol en mode batch afin de déterminer les concentrations optimales de Tween 80 à mettre en œuvre pour l'étude en microcosmes en phase solide. Pour cela, nous avons étudié l'influence de la variation de la vitesse d'agitation (50, 100 et 150 trs/min) et la concentration de Tween 80 (0, 1, 30, 100, 200, 400 et 600 CMC). L'utilisation de l'eau seule dans le processus de lavage a mis en évidence que la vitesse d'agitation est un paramètre important et son passage de 50 à 150 trs/min a permis d'atteindre une efficacité du lavage de 74%. La concentration du Tween 80 joue elle aussi un rôle primordial dans l'élimination des HPs du sol, l'augmentation de cette dernière de 1CMC à 600CMC a permis de passer d'une efficacité de 29,2 à 95,9% pour une vitesse d'agitation de 150 trs/min.

L'étude de la remédiation du sol par biostimulation et par atténuation naturelle, à l'échelle de microcosmes en phase solide. Les essais de remédiation par biostimulation ont porté sur l'influence seule ou combinée des nutriments, du Tween 80 et/ou du peroxyde d'oxygène H_2O_2 sur l'élimination des HPs du sol. Différents rapports molaires C/N/P (3017/5/1, 1558,5/7,5/1 et 100/10/1) et différentes concentrations de Tween 80 (0,6 ; 1,2 et 1,8 g/kg de sol sec) et de H_2O_2 (0,65 ; 0,975 ; 1,30 et 2,60 mol/kg de sol sec) ont été adoptés. Il ressort de cette étude que :

- ✓ Malgré un déficit en azote et en phosphore, la stimulation par ajustement du taux d'humidité seulement à 30% a permis de passer d'une élimination de 13,9% à 27,1%.
- ✓ L'ajustement du rapport C/N/P_{molaire} à 100/10/1 a permis d'éliminer 59,6% des HPT ;
- ✓ L'ajout du Tween 80 n'a pas amélioré significativement la dégradation mais a enregistré une amélioration de 24,9 à 40,2% des taux d'élimination par rapport à son absence dans le système S0 (27,1%). Il a permis d'éliminer jusqu'à 38,5% de HPT pour une concentration optimale de 0,6 g/kg de sol sec ;
- ✓ L'addition de H_2O_2 a donné de meilleurs résultats que le Tween 80 et la dégradation des HPT a atteint 47,2% dans le cas de la concentration 1,3 mol/kg de sol sec ;

Conclusion générale

- ✓ L'action combinée des nutriments et du Tween 80, des nutriments et du H₂O₂ et des nutriments, du Tween 80 et du H₂O₂, pour les conditions optimales, a généré une dégradation significative des HPs du sol. Le meilleur rendement d'élimination des HPs du sol (71,9%) est enregistré pour un rapport C/N/P_{molaire} à 100/10/1, des concentrations de Tween 80 et de H₂O₂ respectives de 0,6g/kg de sol sec et 1,3 mol/kg de sol sec.

La détermination et l'optimisation des facteurs et leurs interactions, à partir d'un plan factoriel complet à deux niveaux des trois paramètres étudiés : le rapport molaire N/P, les concentrations de Tween 80 et de H₂O₂, ont montré que l'ajout du Tween 80 seul n'a pas d'effet sur la réponse Y (enlèvement des HPT), cependant, il influence la réponse Y à travers les effets d'interactions. La fonction de désirabilité d, avec une valeur de 0,93, met en évidence que l'efficacité maximale (72,72%±4,14) est obtenue pour un rapport molaire N/P = 10/1, [Tween 80] = 0,6 g/kg de sol sec et [H₂O₂] = 1,3 mol/kg de sol sec, les résultats de l'optimisation corroborent les résultats de l'étude en microcosmes par biostimulation en phase solide.

Dans le but de simuler un traitement in situ par bioventing, les conditions optimisées ont été appliquées dans des réacteurs gaz/solide conçus à cet effet, des débits d'aération inférieur au débit minimal de fluidisation (0,92L/min) ont été choisis 0,4, 0,6 et 0,8L/min en aération continue et 0,8L/min a été choisi pour étudier l'effet du mode d'aération sur la dégradation des HPs. Il ressort de l'étude en colonne :

- ✓ La variation du débit d'aération dans la plage étudiée n'a pas permis d'améliorer significativement la dégradation des HPT avec des taux d'enlèvement variant de 70,04 à 75,55%, et seulement 5% d'amélioration a été enregistrée rapport à son absence dans les mêmes conditions dans l'étude en microcosmes.
- ✓ La fixation du débit d'air à 0,8 L/min et l'aération en mode discontinue (2h la matinée et 2h la fin de journée) ont permis d'éliminer 85,22% des HPT, soit une amélioration de 12,5% par rapport au mode continue.
- ✓ L'évolution du nombre cumulé de CO₂ a mis en évidence une bonne corrélation entre la respiration du sol, l'activité microbienne et le taux d'enlèvement des HPT.

Nous avons également effectué un lavage par de l'eau et une solution de tensioactif dans des colonnes, toujours dans le but de simuler un traitement in situ. Les résultats du lavage ont mis en évidence que le Tween 80 a permis d'éliminer 94,1% des HPs du sol au bout de 8 heures. Ces résultats sont prometteurs et pourraient être une alternative pour la remédiation du sol sujet à une pollution âgée.

Conclusion générale

Les résultats obtenus sont satisfaisants et démontrent la faisabilité d'un traitement de bioremédiation en stimulant l'activité des microorganismes indigènes par l'addition de nutriments et d'accepteurs d'électrons par l'addition de H_2O_2 mais également en favorisant la biodisponibilité des polluants par l'addition de surfactant (Tween 80). Toutefois les teneurs résiduelles des HPs constituent un problème en raison de leur impact négatif sur la santé et l'environnement. Aussi et pour améliorer les performances du traitement et réduire au maximum les teneurs résiduelles, il serait intéressant de considérer :

- ❖ L'application d'une gamme de débits de bioventing nettement plus faibles (0,4L/min) en mode discontinu permettrait de déterminer les débits optimaux pour des rendements de biodégradation plus élevés et pour réduire les pertes abiotiques des hydrocarbures pétroliers et les métabolites formés et leur réinjection dans les colonnes de sol ;

Il serait aussi avantageux de déterminer, en mode discontinu, différents intervalles pour un meilleur rapport efficacité coût ;

- ❖ L'étude de l'effet d'autres oxydants tel le persulfate (radicaux $SO_4^{\cdot-}$) beaucoup plus stables que les radicaux hydroxyles $HO^{\cdot}$), le peroxyde de calcium ou de magnésium, oxydants très stables, (Fenton modifié) et de déterminer les gammes de concentrations pour lesquelles l'activité bactérienne n'est pas inhibée et est maximale ;
- ❖ De suivre l'évolution de l'oxydant et des radicaux libres formés (monitoring), en particulier dans les cas de la mise en place des oxydations chimiques et biologiques simultanément mais également l'évolution des différentes fractions d'hydrocarbures dans une première étape. La détermination et le contrôle des concentrations des différents hydrocarbures et sous-produits de dégradation générés devraient être réalisés en fin de traitement ;
- ❖ Des traitements combinés de bioremédiation par biostimulation suivie des oxydations avancée et biologique.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abed, R.M., Al-Sabahi, J., Al-Maqrashi, F., Al-Habsi, A., Al-Hinai, M., 2014. Characterization of hydrocarbon-degrading bacteria isolated from oil-contaminated sediments in the Sultanate of Oman and evaluation of bioaugmentation and biostimulation approaches in microcosm experiments. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 89, 58–66.
- Adams, G.O., Fufeyin, P.T., Okoro, S.E., Ehinomen, I., 2015. Bioremediation, biostimulation and bioaugmentation: a review. *Int. J. Environ. Bioremediation Biodegrad.* 3, 28–39.
- Adipah, S., 2019. Introduction of petroleum hydrocarbons contaminants and its human effects. *J. Environ. Sci. Public Health* 3, 1–9.
- Agarry, S., Latinwo, G.K., 2015. Biodegradation of diesel oil in soil and its enhancement by application of bioventing and amendment with brewery waste effluents as biostimulation-bioaugmentation agents. *J. Ecol. Eng.* 16.
- Agarry, S.E., Owabor, C.N., Yusuf, R.O., 2012. Enhanced bioremediation of soil artificially contaminated with kerosene: optimization of biostimulation agents through statistical experimental design. *J. Pet. Environ. Biotechnol.* 3, 2–8.
- Agnello, A.C., Bagard, M., van Hullebusch, E.D., Esposito, G., Huguenot, D., 2016. Comparative bioremediation of heavy metals and petroleum hydrocarbons co-contaminated soil by natural attenuation, phytoremediation, bioaugmentation and bioaugmentation-assisted phytoremediation. *Sci. Total Environ.* 563, 693–703.
- Ali, H., Khan, E., Sajad, M.A., 2013. Phytoremediation of heavy metals—concepts and applications. *Chemosphere* 91, 869–881.
- Arrar, J. Etude d'un réacteur fluidisé à jet central ascendant gaz-solide: Application au traitement d'un sol pollué par du gasoil. Thèse de Doctorat, Ecole National Polytechnique Alger (2007).
- Arrar, J., Chekir, N., Bentahar, F., 2007. Treatment of diesel fuel contaminated soil in jet-fluidized bed. *Biochem. Eng. J.* 37, 131–138.
- Atteia, O., Del Campo Estrada, E., Bertin, H., 2013. Soil flushing: a review of the origin of efficiency variability. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 12, 379–389. <https://doi.org/10.1007/s11157-013-9316-0>
- Azubuike, C.C., Chikere, C.B., Okpokwasili, G.C., 2016. Bioremediation techniques—classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 32, 180. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2137-x>

- Baciacchi, R., Boni, M.R., D'Aprile, L., 2004. Application of H₂O₂ lifetime as an indicator of TCE Fenton-like oxidation in soils. *J. Hazard. Mater.* 107, 97–102.
- BALLERINI, D., 1999. Traitements biologiques des sols. *Tech. Ing. Environ.* 2, G2620-1.
- Baptista, S.J., Cammarota, M.C., Freire, D.D. de C., 2005. Production of CO₂ in crude oil bioremediation in clay soil. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 48, 249–255.
- Barnes, D.L., Laderach, S.R., Showers, C., 2002. Treatment of petroleum-contaminated soil in cold, wet, remote regions. *Missoula USDA For. Serv.*
- Baziar, M., Mehraeebi, M.R., Assadi, A., Fazli, M.M., Maroosi, M., Rahimi, F., 2013. Efficiency of non-ionic surfactants - EDTA for treating TPH and heavy metals from contaminated soil. *J. Environ. Health Sci. Eng.* 11, 41. <https://doi.org/10.1186/2052-336X-11-41>
- Befkadu, A.A., Quanyuan, C., 2018. Surfactant-enhanced soil washing for removal of petroleum hydrocarbons from contaminated soils: a review. *Pedosphere* 28, 383–410.
- Belley-Vézina, V. Vers un traitement durable des sols au Québec : possibilités et perspectives des traitements in situ des sols contaminés aux hydrocarbures Thèse de Doctorat, Université de Sherbrooke (2014).
- Betancur-Corredor, B., Pino, N.J., Cardona, S., Peñuela, G.A., 2015. Evaluation of biostimulation and Tween 80 addition for the bioremediation of long-term DDT-contaminated soil. *J. Environ. Sci.* 28, 101–109.
- Billings, M.L., 2014. Microcosm Study of Natural Attenuation, Biostimulation, and Bioaugmentation of Soils Contaminated With PCBs, Dioxins, PAHs, and Petroleum Hydrocarbons.
- Bramley-Alves, J., 2009. Phytoremediation of hydrocarbon contaminants in sub-antarctic soils.
- Brusseau, M.L., Carroll, K.C., Truex, M.J., Becker, D.J., 2013. Characterization and remediation of chlorinated volatile organic contaminants in the vadose zone. *Vadose Zone J.* 12.
- Byun, I.-G., Nam, H.-U., Song, S.K., Hwang, I.-S., Lee, T.-H., Park, T.-J., 2005. Monitoring of bioventing process for diesel-contaminated soil by dehydrogenase activity, microbial counts and the ratio of n-alkane/isoprenoid. *Korean J. Chem. Eng.* 22, 917–921. <https://doi.org/10.1007/BF02705675>
- Calvo, C., Rodríguez-Calvo, A., Robledo-Mahón, T., Manzanera, M., González-López, J., Aranda, E., Silva-Castro, G.A., 2019. Biostimulation of crude oil-polluted soils: influence of initial physicochemical and biological characteristics of soil. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 16, 4925–4934. <https://doi.org/10.1007/s13762-019-02269-8>

- Cassidy, D.P., Irvine, R.L., 1997. Biological treatment of a soil contaminated with diesel fuel using periodically operated slurry and solid phase reactors. *Water Sci. Technol.* 35, 185–192.
- Chandra, S., Sharma, R., Singh, K., Sharma, A., 2013. Application of bioremediation technology in the environment contaminated with petroleum hydrocarbon. *Ann. Microbiol.* 63, 417–431. <https://doi.org/10.1007/s13213-012-0543-3>
- Chang, M.-C., Huang, C.-R., Shu, H.-Y., 2000. Effects of surfactants on extraction of phenanthrene in spiked sand. *Chemosphere* 41, 1295–1300.
- Chang, W., Dyen, M., Spagnuolo, L., Simon, P., Whyte, L., Ghoshal, S., 2010. Biodegradation of semi-and non-volatile petroleum hydrocarbons in aged, contaminated soils from a sub-Arctic site: Laboratory pilot-scale experiments at site temperatures. *Chemosphere* 80, 319–326.
- Chapirão, M.J., Ferreira, I.N., Correa, P.F., Rufino, R.D., Luna, J.M., Silva, E.J., Sarubbo, L.A., 2015. Application of bacterial and yeast biosurfactants for enhanced removal and biodegradation of motor oil from contaminated sand. *Electron. J. Biotechnol.* 18, 471–479.
- Chatterjee, S., Kumari, S., Rath, S., Das, S., 2022. Prospects and scope of microbial bioremediation for the restoration of the contaminated sites, in: *Microbial Biodegradation and Bioremediation*. Elsevier, pp. 3–31.
- Chaudhary, D.K., Kim, J., 2019. New insights into bioremediation strategies for oil-contaminated soil in cold environments. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 142, 58–72.
- Chaudhuri, U.R., 2016. *Fundamentals of petroleum and petrochemical engineering*. Crc Press.
- Chaware, S.A., Sahoo, S.K., Dash, M., Jagadesh, M., Kumar, S., 2023. *Bright Sky Publications* TM New Delhi.
- Chemlal, R., Tassist, A., Drouiche, M., Lounici, H., Drouiche, N., Mameri, N., 2012. Microbiological aspects study of bioremediation of diesel-contaminated soils by biopile technique. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 75, 201–206.
- Chen, F., Li, X., Zhu, Q., Ma, J., Hou, H., Zhang, S., 2019. Bioremediation of petroleum-contaminated soil enhanced by aged refuse. *Chemosphere* 222, 98–105.
- Chen, K., Chang, Y., Chiou, W., 2016. Remediation of diesel-contaminated soil using *in situ* chemical oxidation (ISCO) and the effects of common oxidants on the indigenous microbial community: a comparison study. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 91, 1877–1888. <https://doi.org/10.1002/jctb.4781>

- Chen, K., Zhu, Q., Qian, Y., Song, Y., Yao, J., Choi, M.M., 2013. Microcalorimetric investigation of the effect of non-ionic surfactant on biodegradation of pyrene by PAH-degrading bacteria *Burkholderia cepacia*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 98, 361–367.
- Cheng, K.Y., Wong, J.W.C., 2006. Effect of Synthetic Surfactants on the Solubilization and Distribution of PAHs in Water/Soil-Water Systems. *Environ. Technol.* 27, 835–844. <https://doi.org/10.1080/09593332708618695>
- Chikere, C.B., Okoye, A.U., Okpokwasili, G.C., 2016. Microbial community profiling of active oleophilic bacteria involved in bioreactor-based crude-oil polluted sediment treatment. *J. Appl. Environ. Microbiol.* 4, 1–20.
- da Silva, B.M., Maranhão, L.T., 2019. Petroleum-contaminated sites: Decision framework for selecting remediation technologies. *J. Hazard. Mater.* 378, 120722.
- Davis, J.W., Madsen, S., 1996. Factors affecting the biodegradation of toluene in soil. *Chemosphere* 33, 107–130.
- De La Cueva, S.C., Rodríguez, C.H., Cruz, N.O.S., Contreras, J.A.R., Miranda, J.L., 2016. Changes in Bacterial Populations During Bioremediation of Soil Contaminated with Petroleum Hydrocarbons. *Water. Air. Soil Pollut.* 227, 91. <https://doi.org/10.1007/s11270-016-2789-z>
- Dias, R.L., Ruberto, L., Calabró, A., Balbo, A.L., Del Panno, M.T., Mac Cormack, W.P., 2015. Hydrocarbon removal and bacterial community structure in on-site biostimulated biopile systems designed for bioremediation of diesel-contaminated Antarctic soil. *Polar Biol.* 38, 677–687. <https://doi.org/10.1007/s00300-014-1630-7>
- Dibble, J.T., Bartha, R., 1979. Effect of environmental parameters on the biodegradation of oil sludge. *Appl. Environ. Microbiol.* 37, 729–739. <https://doi.org/10.1128/aem.37.4.729-739.1979>
- Doong, R., Lei, W., 2003. Solubilization and mineralization of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Pseudomonas putida* in the presence of surfactant. *J. Hazard. Mater.* 96, 15–27.
- Ehiosun, K. Études biochimiques et analytiques de la biodégradation des hydrocarbures par des isolats bactériens. Thèse de Doctorat, Université de Pau et des Pays de l'Adour (2022).
- Ferguson, S.H., Woinarski, A.Z., Snape, I., Morris, C.E., Revill, A.T., 2004. A field trial of in situ chemical oxidation to remediate long-term diesel contaminated Antarctic soil. *Cold Reg. Sci. Technol.* 40, 47–60.
- Ferrarese, E., Andreottola, G., Oprea, I.A., 2008. Remediation of PAH-contaminated sediments by chemical oxidation. *J. Hazard. Mater.* 152, 128–139.

- Firmino, P.I.M., Farias, R.S., Barros, A.N., Buarque, P.M., Rodríguez, E., Lopes, A.C., dos Santos, A.B., 2015. Understanding the anaerobic BTEX removal in continuous-flow bioreactors for ex situ bioremediation purposes. *Chem. Eng. J.* 281, 272–280.
- Fleifel, H., Izadi, M., Park, S., Gupta, I., Lee, G., Kam, S.I., 2020. Shallow Subsurface Environmental Remediation by Using Tracer–Surfactant–Foam Processes: History-Matching and Performance Prediction. *Transp. Porous Media* 134, 565–592. <https://doi.org/10.1007/s11242-020-01458-1>
- Franzetti, A., Di Gennaro, P., Bestetti, G., Lasagni, M., Pitea, D., Collina, E., 2008. Selection of surfactants for enhancing diesel hydrocarbons-contaminated media bioremediation. *J. Hazard. Mater.* 152, 1309–1316.
- Franzetti, A., Di Gennaro, P., Bevilacqua, A., Papacchini, M., Bestetti, G., 2006. Environmental features of two commercial surfactants widely used in soil remediation. *Chemosphere* 62, 1474–1480.
- Frutos, F.J.G., Escolano, O., García, S., Babín, M., Fernández, M.D., 2010. Bioventing remediation and ecotoxicity evaluation of phenanthrene-contaminated soil. *J. Hazard. Mater.* 183, 806–813.
- Gabet, S. Remobilisation d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) présents dans les sols contaminés à l'aide d'un tensioactif d'origine biologique. Thèse de Doctorat, Université de Limoges (2024).
- Ghazali, F.M., Rahman, R.N.Z.A., Salleh, A.B., Basri, M., 2004. Biodegradation of hydrocarbons in soil by microbial consortium. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 54, 61–67.
- Giovanella, P., De Azevedo Duarte, L., Kita, D.M., De Oliveira, V.M., Sette, L.D., 2021. Effect of biostimulation and bioaugmentation on hydrocarbon degradation and detoxification of diesel-contaminated soil: a microcosm study. *J. Microbiol.* 59, 634–643. <https://doi.org/10.1007/s12275-021-0395-2>
- Gitipour, S., Hedayati, M., Madadian, E., 2015. Soil Washing for Reduction of Aromatic and Aliphatic Contaminants in Soil. *CLEAN – Soil Air Water* 43, 1419–1425. <https://doi.org/10.1002/clen.201100609>
- Goi, A., Trapido, M., 2004. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil: The fenton reagent versus ozonation. *Environ. Technol.* 25, 155–164. <https://doi.org/10.1080/09593330409355448>
- Gou, Y., Ma, J., Yang, S., Song, Y., 2022. Insights into the effects of Fenton oxidation on PAH removal and indigenous bacteria in aged subsurface soil. *Environ. Pollut.* 298, 118872.

- Hadibarata, T., Kristanti, R.A., 2014. Fluorene biodegradation and identification of transformation products by white-rot fungus *Armillaria* sp. F022. *Biodegradation* 25, 373–382. <https://doi.org/10.1007/s10532-013-9666-x>
- Haritash, A.K., Kaushik, C.P., 2009. Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): a review. *J. Hazard. Mater.* 169, 1–15.
- Hoeppel, R.E., Hinchee, R.E., Arthur, M.F., 1991. Bioventing soils contaminated with petroleum hydrocarbons. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 8, 141–146.
- Höhener, P., Ponsin, V., 2014. In situ vadose zone bioremediation. *Curr. Opin. Biotechnol.* 27, 1–7.
- Huang, K.-C., Zhao, Z., Hoag, G.E., Dahmani, A., Block, P.A., 2005. Degradation of volatile organic compounds with thermally activated persulfate oxidation. *Chemosphere* 61, 551–560.
- Huguenot, D. Mise au point d'un procédé associant bioaugmentation et phytoextraction pour le traitement de sédiments viticoles riches en cuivre: mise au point au laboratoire et application en microcosmes. Thèse de Doctorat, Université de Haute-Alsace Mulhouse (2010).
- Hwang, E.-Y., Park, J.-S., Kim, J.-D., Namkoong, W., 2006. Effects of aeration mode on the composting of diesel-contaminated soil. *J. Ind. Eng. Chem.* 12, 694–701.
- Iglesias, O., Sanromán, M.A., Pazos, M., 2014. Surfactant-Enhanced Solubilization and Simultaneous Degradation of Phenanthrene in Marine Sediment by Electro-Fenton Treatment. *Ind. Eng. Chem. Res.* 53, 2917–2923. <https://doi.org/10.1021/ie4041115>
- Ikeura, H., Kawasaki, Y., Kaimi, E., Nishiwaki, J., Noborio, K., Tamaki, M., 2016. Screening of plants for phytoremediation of oil-contaminated soil. *Int. J. Phytoremediation* 18, 460–466. <https://doi.org/10.1080/15226514.2015.1115957>
- Jabbar, N.M., Alardhi, S.M., Mohammed, A.K., Salih, I.K., Albayati, T.M., 2022. Challenges in the implementation of bioremediation processes in petroleum-contaminated soils: A review. *Environ. Nanotechnol. Monit. Manag.* 18, 100694.
- Jeong, S.-W., Jeong, J., Kim, J., 2015. Simple surface foam application enhances bioremediation of oil-contaminated soil in cold conditions. *J. Hazard. Mater.* 286, 164–170.
- Kahraman, B.F., Altin, A., Altin, S., Demirel Bayik, G., 2017. Biostimulation of *n* -Alkane Degradation in Diesel Fuel-Spiked Soils. *Soil Sediment Contam. Int. J.* 26, 486–500. <https://doi.org/10.1080/15320383.2017.1355351>

- Kanzari, F., Syakti, A.D., Asia, L., Malleret, L., Mille, G., Jamoussi, B., Abderrabba, M., Doumenq, P., 2012. Aliphatic hydrocarbons, polycyclic aromatic hydrocarbons, polychlorinated biphenyls, organochlorine, and organophosphorous pesticides in surface sediments from the Arc river and the Berre lagoon, France. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 19, 559–576. <https://doi.org/10.1007/s11356-011-0582-5>
- Kao, C.M., Chen, C.Y., Chen, S.C., Chien, H.Y., Chen, Y.L., 2008. Application of in situ biosparging to remediate a petroleum-hydrocarbon spill site: Field and microbial evaluation. *Chemosphere* 70, 1492–1499.
- Karthick, A., Roy, B., Chattopadhyay, P., 2019. A review on the application of chemical surfactant and surfactant foam for remediation of petroleum oil contaminated soil. *J. Environ. Manage.* 243, 187–205.
- Kebede, G., Tafese, T., Abda, E.M., Kamaraj, M., Assefa, F., 2021. Factors influencing the bacterial bioremediation of hydrocarbon contaminants in the soil: mechanisms and impacts. *J. Chem.* 2021, 1–17.
- Kensa, V.M., 2011. Bioremediation-an overview. *J. Ind. Pollut. Control* 27, 161–168.
- Kim, I., Lee, M., 2012. Pilot scale feasibility study for in-situ chemical oxidation using H₂O₂ solution conjugated with biodegradation to remediate a diesel contaminated site. *J. Hazard. Mater.* 241, 173–181.
- Koshlaf, E., Ball, A.S., 2017. Soil bioremediation approaches for petroleum hydrocarbon polluted environments. *AIMS Microbiol.* 3, 25.
- Kulik, N., Goi, A., Trapido, M., Tuhkanen, T., 2006. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by combined chemical pre-oxidation and bioremediation in creosote contaminated soil. *J. Environ. Manage.* 78, 382–391.
- Kuppusamy, S., Maddela, N.R., Megharaj, M., Venkateswarlu, K., 2020. *Total Petroleum Hydrocarbons: Environmental Fate, Toxicity, and Remediation*. Springer International Publishing, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-24035-6>
- Kuppusamy, S., Palanisami, T., Megharaj, M., Venkateswarlu, K., Naidu, R., 2016. In-Situ Remediation Approaches for the Management of Contaminated Sites: A Comprehensive Overview, in: De Voogt, P. (Ed.), *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 236, Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. Springer International Publishing, Cham, pp. 1–115. https://doi.org/10.1007/978-3-319-20013-2_1
- Lamichhane, S., Krishna, K.B., Sarukkalige, R., 2017. Surfactant-enhanced remediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: a review. *J. Environ. Manage.* 199, 46–61.

- Lamy, E., Tran, T.C., Mottelet, S., Pauss, A., Schoefs, O., 2013. Relationships of respiratory quotient to microbial biomass and hydrocarbon contaminant degradation during soil bioremediation. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 83, 85–91.
- Laurent, F., Cébron, A., Schwartz, C., Leyval, C., 2012. Oxidation of a PAH polluted soil using modified Fenton reaction in unsaturated condition affects biological and physico-chemical properties. *Chemosphere* 86, 659–664.
- Lazli, W., Hank, D., Zeboudj, S., Namane, A., Hellal, A., 2016. Application of factorial experimental design methodology for the removal of phenol from water by innovative hybrid bioprocess. *Desalination Water Treat.* 57, 6044–6050. <https://doi.org/10.1080/19443994.2015.1004112>
- Lee, M., Kang, H., Do, W., 2005. Application of nonionic surfactant-enhanced in situ flushing to a diesel contaminated site. *Water Res.* 39, 139–146.
- Lee, T.H., Byun, I.G., Kim, Y.O., Hwang, I.S., Park, T.J., 2006. Monitoring biodegradation of diesel fuel in bioventing processes using in situ respiration rate. *Water Sci. Technol.* 53, 263–272.
- Lemaire, J., Laurent, F., Leyval, C., Schwartz, C., Buès, M., Simonnot, M.-O., 2013. PAH oxidation in aged and spiked soils investigated by column experiments. *Chemosphere* 91, 406–414.
- Leys, N.M., Bastiaens, L., Verstraete, W., Springael, D., 2005. Influence of the carbon/nitrogen/phosphorus ratio on polycyclic aromatic hydrocarbon degradation by *Mycobacterium* and *Sphingomonas* in soil. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 66, 726–736. <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1766-4>
- Li, G., Guo, S., Hu, J., 2016. The influence of clay minerals and surfactants on hydrocarbon removal during the washing of petroleum-contaminated soil. *Chem. Eng. J.* 286, 191–197.
- Liandrat, S., Trauchessec, M., Blachère, L., Amziane, S., 2015. Characterization of hemp aggregates—comparison of several size analysis. *Acad. J. Civ. Eng.* 33, 619–623.
- Liang, X., Guo, C., Liao, C., Liu, S., Wick, L.Y., Peng, D., Yi, X., Lu, G., Yin, H., Lin, Z., 2017. Drivers and applications of integrated clean-up technologies for surfactant-enhanced remediation of environments contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Environ. Pollut.* 225, 129–140.

- Liao, X., Wu, Z., Li, Y., Cao, H., Su, C., 2019. Effect of various chemical oxidation reagents on soil indigenous microbial diversity in remediation of soil contaminated by PAHs. *Chemosphere* 226, 483–491.
- Lin, T.-C., Pan, P.-T., Cheng, S.-S., 2010. Ex situ bioremediation of oil-contaminated soil. *J. Hazard. Mater.* 176, 27–34.
- Ling, H., Hou, J., Du, M., Zhang, Y., Liu, W., Christie, P., Luo, Y., 2023. Surfactant-enhanced bioremediation of petroleum-contaminated soil and microbial community response: A field study. *Chemosphere* 322, 138225.
- Liu, J., Xu, L., Zhu, F., Jia, S., 2021. Effects of surfactants on the remediation of petroleum contaminated soil and surface hydrophobicity of petroleum hydrocarbon degrading flora. *Environ. Eng. Res.* 26.
- Liu, J.-W., Wei, K.-H., Xu, S.-W., Cui, J., Ma, J., Xiao, X.-L., Xi, B.-D., He, X.-S., 2021. Surfactant-enhanced remediation of oil-contaminated soil and groundwater: A review. *Sci. Total Environ.* 756, 144142.
- Liu, P.-W.G., Whang, L.-M., Yang, M.-C., Cheng, S.-S., 2008. Biodegradation of diesel-contaminated soil: A soil column study. *J. Chin. Inst. Chem. Eng.* 39, 419–428.
- Liu, Z., Laha, S., Luthy, R.G., 1991. Surfactant solubilization of polycyclic aromatic hydrocarbon compounds in soil-water suspensions. *Water Sci. Technol.* 23, 475–485.
- Lombi, E., Hamon, R.E., 2005. Remediation of polluted soils. *Encycl. Soils Environ.* 4, 379–385.
- Lukić, B., Panico, A., Huguenot, D., Fabbicino, M., Van Hullebusch, E.D., Esposito, G., 2017. A review on the efficiency of landfarming integrated with composting as a soil remediation treatment. *Environ. Technol. Rev.* 6, 94–116. <https://doi.org/10.1080/21622515.2017.1310310>
- Maila, M.P., Randima, P., Surridge, K., Drønen, K., Cloete, T.E., 2005. Evaluation of microbial diversity of different soil layers at a contaminated diesel site. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 55, 39–44.
- Mair, J., Schinner, F., Margesin, R., 2013. A feasibility study on the bioremediation of hydrocarbon-contaminated soil from an Alpine former military site: effects of temperature and biostimulation. *Cold Reg. Sci. Technol.* 96, 122–128.
- Mancera-López, M.E., Esparza-García, F., Chávez-Gómez, B., Rodríguez-Vázquez, R., Saucedo-Castaneda, G., Barrera-Cortés, J., 2008. Bioremediation of an aged hydrocarbon-contaminated soil by a combined system of biostimulation–bioaugmentation with filamentous fungi. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 61, 151–160.

- Mao, X., Jiang, R., Xiao, W., Yu, J., 2015. Use of surfactants for the remediation of contaminated soils: a review. *J. Hazard. Mater.* 285, 419–435.
- Masrat, R., Maswal, M., Dar, A.A., 2013. Competitive solubilization of naphthalene and pyrene in various micellar systems. *J. Hazard. Mater.* 244, 662–670.
- Medina, R., Gara, P.M.D., Fernández-González, A.J., Rosso, J.A., Del Panno, M.T., 2018. Remediation of a soil chronically contaminated with hydrocarbons through persulfate oxidation and bioremediation. *Sci. Total Environ.* 618, 518–530.
- Mishra, P., Kiran, N.S., Ferreira, L.F.R., Yadav, K.K., Mulla, S.I., 2023. New insights into the bioremediation of petroleum contaminants: A systematic review. *Chemosphere* 138391.
- Mishra, S., Jyot, J., Kuhad, R.C., Lal, B., 2001. Evaluation of Inoculum Addition To Stimulate In Situ Bioremediation of Oily-Sludge-Contaminated Soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 1675–1681. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.4.1675-1681.2001>
- Mittal, A., Singh, P., 2010. A feasibility study for assessment of in-situ bioremediation potential of a crude oil degrading *Pseudomonas* consortium. *J. Sci. Res.* 2, 127–137.
- Mohammadi, L., Rahdar, A., Bazrafshan, E., Dahmardeh, H., Susan, M.A.B.H., Kyzas, G.Z., 2020. Petroleum hydrocarbon removal from wastewaters: a review. *Processes* 8, 447.
- Moliterni, E., Rodriguez, L., Fernández, F.J., Villaseñor, J., 2012. Feasibility of Different Bioremediation Strategies for Treatment of Clayey and Silty Soils Recently Polluted with Diesel Hydrocarbons. *Water. Air. Soil Pollut.* 223, 2473–2482. <https://doi.org/10.1007/s11270-011-1040-1>
- Morgan, P., Atlas, R.M., 1989. Hydrocarbon Degradation in Soils and Methods for Soil Biotreatment. *Crit. Rev. Biotechnol.* 8, 305–333. <https://doi.org/10.3109/07388558909148196>
- Mourabet, M., El Rhilassi, A., El Boujaady, H., Bennani-Ziatni, M., El Hamri, R., Taitai, A., 2012. Removal of fluoride from aqueous solution by adsorption on Apatitic tricalcium phosphate using Box–Behnken design and desirability function. *Appl. Surf. Sci.* 258, 4402–4410.
- Muherei et Junin, 2009. Equilibrium adsorption isotherms of anionic, nonionic surfactants and their mixtures to shale and sandstone. *Mod. Appl. Sci.*
- Mukherjee, A.K., Das, K., 2005. Correlation between diverse cyclic lipopeptides production and regulation of growth and substrate utilization by *Bacillus subtilis* strains in a particular habitat. *FEMS Microbiol. Ecol.* 54, 479–489.

- Mukherji, S., Jagadevan, S., Mohapatra, G., Vijay, A., 2004. Biodegradation of diesel oil by an Arabian Sea sediment culture isolated from the vicinity of an oil field. *Bioresour. Technol.* 95, 281–286.
- Namkoong, W., Hwang, E.-Y., Park, J.-S., Choi, J.-Y., 2002. Bioremediation of diesel-contaminated soil with composting. *Environ. Pollut.* 119, 23–31.
- Nano, G., Borroni, A., Rota, R., 2003. Combined slurry and solid-phase bioremediation of diesel contaminated soils. *J. Hazard. Mater.* 100, 79–94.
- Nikolopoulou, M., Pasadakis, N., Kalogerakis, N., 2013. Evaluation of autochthonous bioaugmentation and biostimulation during microcosm-simulated oil spills. *Mar. Pollut. Bull.* 72, 165–173.
- Noel, C. Suivi de la biodégradation des hydrocarbures par le couplage des mesures géophysiques électriques du sol (polarisation provoquée) et des analyses des gaz (concentration du CO₂ et isotopie du carbone). Thèse de Doctorat, Université d'Orléans (2014).
- Nong, J., Peng, P., Pan, J., Shen, T., Xie, Q., 2023. Effect of Bioaugmentation and Biostimulation on Hydrocarbon Degradation and Bacterial Community Composition in Different Petroleum-Contaminated Soil Layers. *Water. Air. Soil Pollut.* 234, 189. <https://doi.org/10.1007/s11270-023-06161-7>
- Okparanma, R.N., Azuazu, I., Ayotamuno, J.M., 2017. Assessment of the effectiveness of onsite exsitu remediation by enhanced natural attenuation in the Niger Delta region, Nigeria. *J. Environ. Manage.* 204, 291–299.
- Ossai, I.C., Ahmed, A., Hassan, A., Hamid, F.S., 2020. Remediation of soil and water contaminated with petroleum hydrocarbon: A review. *Environ. Technol. Innov.* 17, 100526.
- Ouriache, H., Arrar, J., Namane, A., Bentahar, F., 2019. Treatment of petroleum hydrocarbons contaminated soil by Fenton like oxidation. *Chemosphere* 232, 377–386.
- Paudyn, K., Rutter, A., Rowe, R.K., Poland, J.S., 2008. Remediation of hydrocarbon contaminated soils in the Canadian Arctic by landfarming. *Cold Reg. Sci. Technol.* 53, 102–114.
- Peluffo, M., Rosso, J.A., Morelli, I.S., Mora, V.C., 2018. Strategies for oxidation of PAHs in aged contaminated soil by batch reactors. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 151, 76–82.
- Peng, S., Wu, W., Chen, J., 2011. Removal of PAHs with surfactant-enhanced soil washing: influencing factors and removal effectiveness. *Chemosphere* 82, 1173–1177.

- Ranieri, E., Bombardelli, F., Gikas, P., Chiaia, B., 2016. Soil pollution prevention and remediation. *Appl. Environ. Soil Sci.*
- Ravikumar, J.X., Gurol, M.D., 1994. Chemical oxidation of chlorinated organics by hydrogen peroxide in the presence of sand. *Environ. Sci. Technol.* 28, 394–400. <https://doi.org/10.1021/es00052a009>
- Reddy, K.R., Saichek, R.E., 2003. Effect of Soil Type on Electrokinetic Removal of Phenanthrene Using Surfactants and Cosolvents. *J. Environ. Eng.* 129, 336–346. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)0733-9372\(2003\)129:4\(336\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)0733-9372(2003)129:4(336))
- Richardson, S.D., 2010. Effects of in situ bioremediation strategies on the biodegradation and bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons in weathered manufactured gas plant soil. The University of North Carolina at Chapel Hill.
- Rivas, F.J., 2006. Polycyclic aromatic hydrocarbons sorbed on soils: a short review of chemical oxidation based treatments. *J. Hazard. Mater.* 138, 234–251.
- Rosas, J.M., Santos, A., Romero, A., 2013. Soil-Washing Effluent Treatment by Selective Adsorption of Toxic Organic Contaminants on Activated Carbon. *Water. Air. Soil Pollut.* 224, 1506. <https://doi.org/10.1007/s11270-013-1506-4>
- Roudier, P., 2004. Techniques de réhabilitation des sites et sols pollués : fiches de synthèse. *Tech. Ing. Environ.* 2, G2670-1.
- Saadi, M.O., Dounit, S., 2014. Lavage des sables contaminés par les hydrocarbures en colonne à lit fluidisé: Approche expérimentale. *Environ. Ingénierie Dév.*
- Sabaté, J., Vinas, M., Solanas, A.M., 2004. Laboratory-scale bioremediation experiments on hydrocarbon-contaminated soils. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 54, 19–25.
- Sales da Silva, I.G., Gomes de Almeida, F.C., Padilha da Rocha e Silva, N.M., Casazza, A.A., Converti, A., Asfora Sarubbo, L., 2020. Soil bioremediation: Overview of technologies and trends. *Energies* 13, 4664.
- Sanscartier, D., Reimer, K., Zeeb, B., Koch, I., 2011. The Effect of Temperature and Aeration Rate on Bioremediation of Diesel-contaminated Soil in Solid-phase Bench-scale Bioreactors. *Soil Sediment Contam. Int. J.* 20, 353–369. <https://doi.org/10.1080/15320383.2011.571311>
- Saum, L., Jiménez, M.B., Crowley, D., 2018. Influence of biochar and compost on phytoremediation of oil-contaminated soil. *Int. J. Phytoremediation* 20, 54–60. <https://doi.org/10.1080/15226514.2017.1337063>

- Sayed, K., Baloo, L., Sharma, N.K., 2021. Bioremediation of total petroleum hydrocarbons (TPH) by bioaugmentation and biostimulation in water with floating oil spill containment booms as bioreactor basin. *Int. J. Environ. Res. Public. Health* 18, 2226.
- Seo, Y. Application of Nonionic Surfactant for the Bioremediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. Thèse de Doctorat, Université de Cincinnati (2008).
- Shahi, A., Aydin, S., Ince, B., Ince, O., 2016. Evaluation of microbial population and functional genes during the bioremediation of petroleum-contaminated soil as an effective monitoring approach. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 125, 153–160.
- Shuaibu, A. A Study on the Feasibility of Integrated-composting as a Method for the Remediation of Hydrocarbon-contaminated Soils Under Intense Rainfall Conditions Thèse de Doctorat, Université de Portsmouth (2022).
- Sihag, S., Pathak, H., Jaroli, D.P., 2014. Factors affecting the rate of biodegradation of polyaromatic hydrocarbons. *Int. J. Pure Appl. Biosci.* 2, 185–202.
- Silva, M.G., Volcão, L.M., Seus, E.R., Machado, M.I., Mirlean, N., Baisch, P.R.M., Da Silva Júnior, F.M.R., 2022. Comparative evaluation of different bioremediation techniques for crude oil-contaminated soil. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* 19, 2823–2834. <https://doi.org/10.1007/s13762-021-03325-y>
- Silva-Castro, G.A., Rodelas, B., Perucha, C., Laguna, J., González-López, J., Calvo, C., 2013. Bioremediation of diesel-polluted soil using biostimulation as post-treatment after oxidation with Fenton-like reagents: assays in a pilot plant. *Sci. Total Environ.* 445, 347–355.
- Skopp, J., Jawson, M.D., Doran, J.W., 1990. Steady-State Aerobic Microbial Activity as a Function of Soil Water Content. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 54, 1619–1625. <https://doi.org/10.2136/sssaj1990.03615995005400060018x>
- Speight, J.G., El-Gendy, N.S., 2018. Chapter 10 - Bioremediation of Contaminated Soil, in: Speight, J.G., El-Gendy, N.S. (Eds.), *Introduction to Petroleum Biotechnology*. Gulf Professional Publishing, Boston, pp. 361–417. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805151-1.00010-2>
- Sravva, K., Sangeetha, S., 2022. Feasibility study on bioremediation techniques to contaminated soils. *Mater. Today Proc.* 51, 2556–2560.
- Sui, X., Wang, X., Li, Y., Ji, H., 2021. Remediation of petroleum-contaminated soils with microbial and microbial combined methods: Advances, mechanisms, and challenges. *Sustainability* 13, 9267.

- Sutton, N.B., Grotenhuis, J.T.C., Langenhoff, A.A.M., Rijnaarts, H.H.M., 2011. Efforts to improve coupled in situ chemical oxidation with bioremediation: a review of optimization strategies. *J. Soils Sediments* 11, 129–140. <https://doi.org/10.1007/s11368-010-0272-9>
- Sutton, N.B., Grotenhuis, T., Rijnaarts, H.H., 2014. Impact of organic carbon and nutrients mobilized during chemical oxidation on subsequent bioremediation of a diesel-contaminated soil. *Chemosphere* 97, 64–70.
- Svab, M., Kubal, M., Müllerova, M., Raschman, R., 2009. Soil flushing by surfactant solution: Pilot-scale demonstration of complete technology. *J. Hazard. Mater.* 163, 410–417.
- Szulc, A., Ambrożewicz, D., Sydow, M., Lawniczak, Lukasz, Piotrowska-Cyplik, A., Marecik, R., Chrzanowski, Lukasz, 2014. The influence of bioaugmentation and biosurfactant addition on bioremediation efficiency of diesel-oil contaminated soil: feasibility during field studies. *J. Environ. Manage.* 132, 121–128.
- Thapa, B., Kc, A.K., Ghimire, A., 2012. A review on bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminants in soil. *Kathmandu Univ. J. Sci. Eng. Technol.* 8, 164–170.
- Thomé, A., Reginatto, C., Cecchin, I., Colla, L.M., 2014. Bioventing in a Residual Clayey Soil Contaminated with a Blend of Biodiesel and Diesel Oil. *J. Environ. Eng.* 140, 06014005. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)EE.1943-7870.0000863](https://doi.org/10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0000863)
- Tomei, M.C., Daugulis, A.J., 2013. Ex Situ Bioremediation of Contaminated Soils: An Overview of Conventional and Innovative Technologies. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 43, 2107–2139. <https://doi.org/10.1080/10643389.2012.672056>
- Troquet, J., Larroche, C., Dussap, C.-G., 2003. Evidence for the occurrence of an oxygen limitation during soil bioremediation by solid-state fermentation. *Biochem. Eng. J.* 13, 103–112.
- Tsai, T.T., Kao, C.M., Surampalli, R.Y., Chien, H.Y., 2009. Enhanced Bioremediation of Fuel-Oil Contaminated Soils: Laboratory Feasibility Study. *J. Environ. Eng.* 135, 845–853. [https://doi.org/10.1061/\(ASCE\)EE.1943-7870.0000049](https://doi.org/10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0000049)
- Udume, O.A., Abu, G.O., Stanley, H.O., Vincent-Akpu, I.F., Momoh, Y., Eze, M.O., 2023. Biostimulation of Petroleum-Contaminated Soil Using Organic and Inorganic Amendments. *Plants* 12, 431.
- Usman, M., Faure, P., Hanna, K., Abdelmoula, M., Ruby, C., 2012. Application of magnetite catalyzed chemical oxidation (Fenton-like and persulfate) for the remediation of oil hydrocarbon contamination. *Fuel* 96, 270–276.

- Usman, M., Hanna, K., Faure, P., 2018. Remediation of oil-contaminated harbor sediments by chemical oxidation. *Sci. Total Environ.* 634, 1100–1107.
- Valderrama, C., Alessandri, R., Aunola, T., Cortina, J.L., Gamisans, X., Tuhkanen, T., 2009. Oxidation by Fenton's reagent combined with biological treatment applied to a creosote-contaminated soil. *J. Hazard. Mater.* 166, 594–602.
- Varjani, S., Upasani, V.N., 2019. Influence of abiotic factors, natural attenuation, bioaugmentation and nutrient supplementation on bioremediation of petroleum crude contaminated agricultural soil. *J. Environ. Manage.* 245, 358–366.
- Vidali, M., 2001. Bioremediation. An overview. *Pure Appl. Chem.* 73, 1163–1172. <https://doi.org/10.1351/pac200173071163>
- Viglianti, C., De Brauer, C., Laforest, V., Bourgois, J., 2008. Meilleures techniques disponibles de lavage de sols contaminés par les HAP: Etude d'un procédé basé sur les cyclodextrines, in: *Congrès International Gestion Déchets Solides et Développement Durable (GDS/DD)*. p. 6p.
- Villa, R.D., Trovó, A.G., Nogueira, R.F.P., 2010. Soil remediation using a coupled process: soil washing with surfactant followed by photo-Fenton oxidation. *J. Hazard. Mater.* 174, 770–775.
- Walling, C., 1975. Fenton's reagent revisited. *Acc. Chem. Res.* 8, 125–131. <https://doi.org/10.1021/ar50088a003>
- Wan, J., Chai, L., Lu, X., Lin, Y., Zhang, S., 2011. Remediation of hexachlorobenzene contaminated soils by rhamnolipid enhanced soil washing coupled with activated carbon selective adsorption. *J. Hazard. Mater.* 189, 458–464.
- Wang, Z., An, C., Lee, K., Owens, E., Chen, Z., Boufadel, M., Taylor, E., Feng, Q., 2021. Factors influencing the fate of oil spilled on shorelines: a review. *Environ. Chem. Lett.* 19, 1611–1628. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01097-4>
- Wu, B., Li, H., Du, X., Zhong, L., Yang, B., Du, P., Gu, Q., Li, F., 2016. Correlation between DNAPL distribution area and dissolved concentration in surfactant enhanced aquifer remediation effluent: a two-dimensional flow cell study. *Chemosphere* 144, 2142–2149.
- Wu, M., Wu, J., Zhang, X., Ye, X., 2019. Effect of bioaugmentation and biostimulation on hydrocarbon degradation and microbial community composition in petroleum-contaminated loessal soil. *Chemosphere* 237, 124456.
- Xie YaWei, X.Y., Chen LuJun, C.L., Liu Rui, L.R., 2016. Oxidation of AOX and organic compounds in pharmaceutical wastewater in RSM-optimized-Fenton system.

- Xu, J., Deng, X., Cui, Y., Kong, F., 2016. Impact of chemical oxidation on indigenous bacteria and mobilization of nutrients and subsequent bioremediation of crude oil-contaminated soil. *J. Hazard. Mater.* 320, 160–168.
- Xu, J., Xin, L., Huang, T., Chang, K., 2011. Enhanced bioremediation of oil contaminated soil by graded modified Fenton oxidation. *J. Environ. Sci.* 23, 1873–1879.
- Xu, Y., Lu, M., 2010. Bioremediation of crude oil-contaminated soil: comparison of different biostimulation and bioaugmentation treatments. *J. Hazard. Mater.* 183, 395–401.
- Yan, G., Ma, W., Chen, C., Wang, Q., Guo, S., Ma, J., 2016. Combinations of Surfactant Flushing and Bioremediation for Removing Fuel Hydrocarbons from Contaminated Soils. *CLEAN – Soil Air Water* 44, 984–991. <https://doi.org/10.1002/clen.201500571>
- Yang, S., Li, J., Song, Y., 2017. Application of surfactant Tween 80 to enhance Fenton oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil pre-treated with Fenton reagents. *Geol. Ecol. Landsc.* 1, 197–204. <https://doi.org/10.1080/24749508.2017.1361152>
- Yang SiZhong, Y.S., Jin HuiJun, J.H., Wei Zhi, W.Z., He RuiXia, H.R., Ji YanJun, J.Y., Li XiuMei, L.X., Yu ShaoPeng, Y.S., 2009. Bioremediation of oil spills in cold environments: a review.
- Yap, C.L., Gan, S., Ng, H.K., 2011. Fenton based remediation of polycyclic aromatic hydrocarbons-contaminated soils. *Chemosphere* 83, 1414–1430.
- Zhang, D., Zhu, L., 2012. Effects of Tween 80 on the removal, sorption and biodegradation of pyrene by *Klebsiella oxytoca* PYR-1. *Environ. Pollut.* 164, 169–174.

Annexes

Annexe A.1 : Analyse granulométrique du sol

La mesure de la taille des particules de sol est réalisée par analyse par les méthodes de tamisage et de sédimentométrie au niveau du Laboratoire Central des Travaux Publics (LCTP) d'Hussein Dey. Nous représentons la moyenne de deux essais d'échantillon de 400g.

Granulométrie							
N°= du tamis	dAi (μm)	mAi (g)	di (μm)	mi (g)	% masse retenue	% masse refusé	% masse cumulé
1	1000	0,5		0,5	0,13	0,13	100,00
3	400	49	700	48,5	12,13	12,25	99,88
4	200	141,5	300	92,5	23,13	35,38	87,75
5	100	182	150	40,5	10,13	45,50	64,63
6	80	184	90	2	0,50	46,00	54,00
Sédimentométrie	75		77,5			48,87	51,13
	55		65			50,31	49,69
	38		46,5			53,18	46,82
	25		31,5			56,06	43,94
	17		21			58,93	41,07
	12		14,5			61,81	38,19
	8		10			64,68	35,32
	5		6,5			74,74	25,26
	2		3,5			81,64	18,36
	1		1,5			100	0

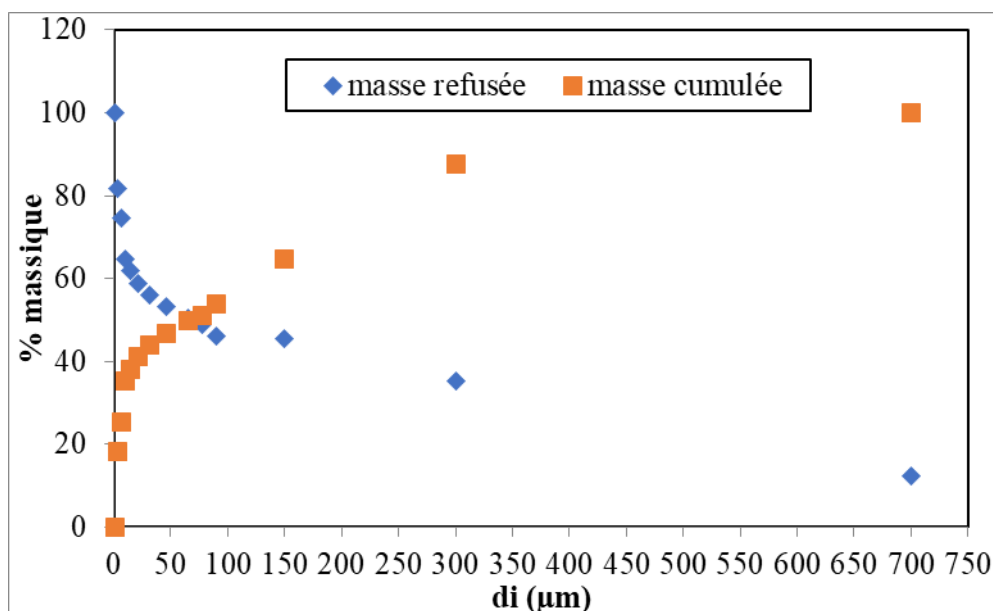


Figure A.1 : Distribution granulométrique des particules de sol.

Le diamètre moyen est déterminée à partir de la Figure A.1 et représente 50% du pourcentage cumulé, $d_p = 76,851\mu\text{m}$.

Annexe A.2 : Détermination de la masse volumique

$$\rho = \frac{m_s}{V_s} = \frac{m_s}{V_t - V_p} \quad (\text{A.1})$$

$$m_t = m_s + m_p + m_{ex} \rightarrow m_p = m_t - m_s - m_{ex} \quad (\text{A.2})$$

$$m_{ex} = V_{ex} \cdot \rho_{eau} \rightarrow m_{ex} = V_{ex} \quad (\text{A.3})$$

$$V_p = \frac{m_p}{\rho_{eau}} = m_t - m_s - m_{ex} \quad (\text{A.4})$$

$$\text{Et } \rho_{eau} = 1$$

$$m_{ex} = V_{ex} \cdot \rho_{eau} \rightarrow m_{ex} = V_{ex}$$

La porosité du milieu est définie comme étant le rapport du volume des pores par le volume total.

$$\varepsilon = \frac{V_p}{V_t} \quad \text{A.5}$$

m_t : masse totale (g) ;

m_s : masse du solide (g) ;

m_{ex} : masse d'eau en excès (g);

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

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

V_s : volume du solide (cm³);

V_t : volume apparent du solide (cm³) ;

ε : porosité du sol.

Annexe A.3 : Demande chimique en Oxygène

Préparation de la solution de digestion

Peser exactement environ 10,20 g de $K_2Cr_2O_7$ (cf. 6.2), préalablement séché à 105 °C pendant 2 heures, et dissoudre dans environ 500 ml d'eau. Ajouter doucement 167 ml de H_2SO_4 et 33,30 g de $HgSO_4$. Agiter jusqu'à dissolution complète, laisser refroidir et compléter à 1 000 ml avec de l'eau.

Préparation du réactif acide

Dans une bouteille d'acide sulfurique dont le poids d'acide est connu, verser 5,50 g d' Ag_2SO_4 par kg d'acide sulfurique. Par exemple, pour une bouteille contenant 2,5 litres ou 4,6 kg d'acide sulfurique, un poids de 25,23 g d' Ag_2SO_4 est alors ajouté. Laisser reposer 1 à 2 jours pour que l' Ag_2SO_4 soit complètement dissous. Inverser la bouteille 3 fois avant la première utilisation, pour s'assurer que la concentration de sulfate d'argent soit la même dans toute la bouteille. La solution doit être conservée à l'obscurité.

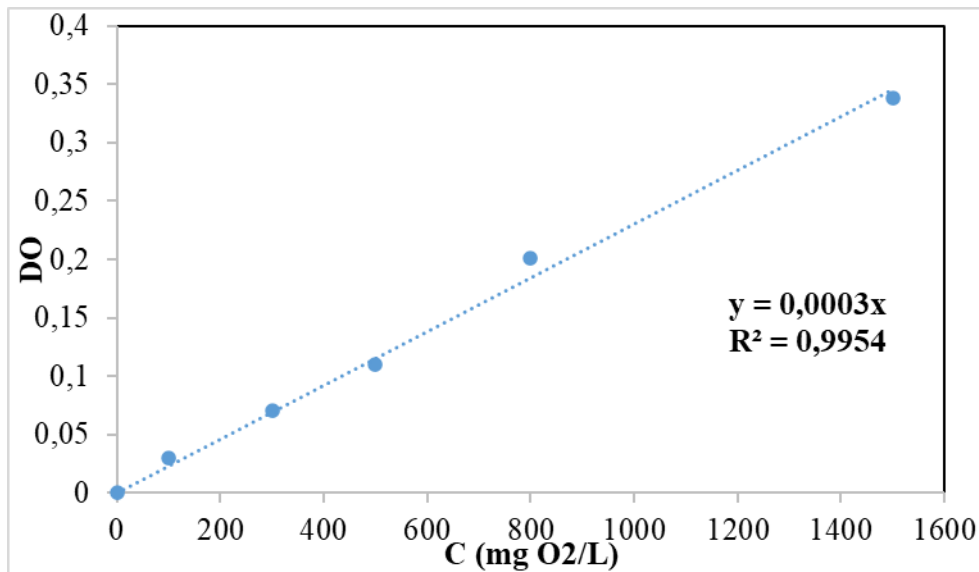


Figure A.2 : Courbe d'étalonnage de la DCO.

Annexe A.4 : Dosage des nutriments et courbes d'étalonnage

1. Dosage des nitrite (NO_2^-)

➤ Préparation de la Solution étalon

- Solution mère 100 mg/l

Dissoudre 0,345 g de nitrite de sodium (séché à 105°C durant au moins 2h) dans 1000 ml d'eau distillée. Conserver dans un flacon en verre inactinique ;

- Solution fille 1mg/l

Prélever 10 ml de solution mère et compléter à 1000 ml avec de l'eau distillée.

➤ Préparation des réactifs

Réactif Zambelli

Réactif utilisé	Quantité pour 1000 ml	Quantité pour 100 ml
Acide chlorhydrique pur ($d = 1,19$)	260 ml	26 ml
Acide sulfanilique	5 g	0,5 g
Phénol crostallisé	7,5 g	0,75 g
Chlorure d'ammonium	135 g	13,5 g
Eau distillée	625 ml	62,5 ml

Introduire dans une fiole jaugée d'un litre, l'acide chlorhydrique et l'eau distillée. Puis y dissoudre l'acide sulfanilique et le phénol en chauffant légèrement au bain-marie.

Après dissolution complète ajouter le chlorure d'ammonium et agiter jusqu'à dissolution. Après refroidissement ajuster s'il y a eu lieu le volume de la solution à 1 litre avec de l'eau distillée.

Mode opératoire

Dans une série de fioles jaugées de 50ml ;

- Introduire les volumes suivants : 0, 1, 5, 10, 15, 20 ml de la solution étalon d'azote nitreux à 1 mg/L ;
- Compléter à 50 ml avec de l'eau distillée ;
- Ajouter 2 ml de réactif de Zambelli dans chaque fiole. Agiter et laisser reposer 10 minutes ;
- Ajouter ensuite 2ml d'ammoniaque pur ($d=0,925$) ;
- Effectuer la mesure de la D.O par le spectrophotomètre à longueur d'onde de 435 nm.

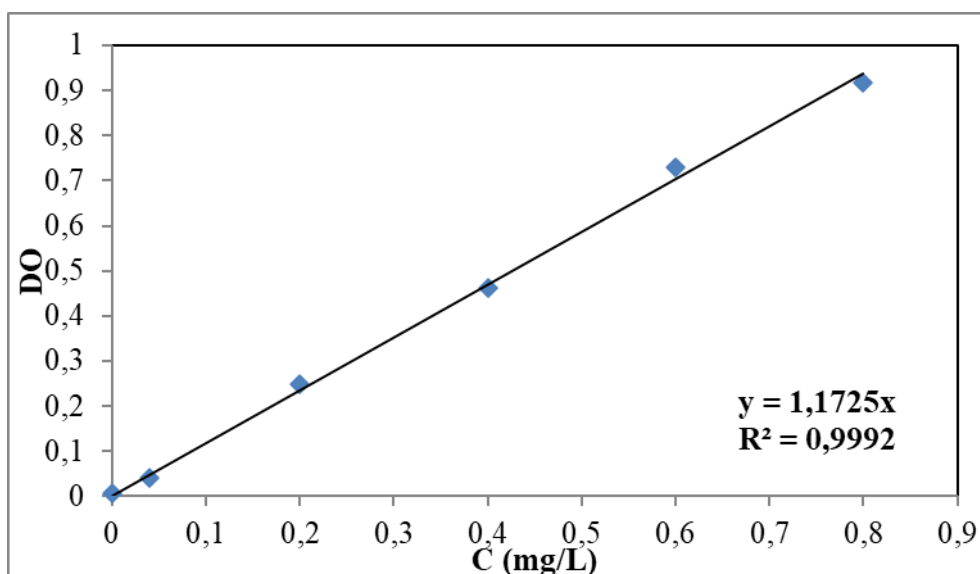


Figure A.3 : Courbe d'étalonnage des nitrites.

2. Dosage des nitrates (NO_3^-)

➤ Préparation de la Solution étalon

• Solution mère 100 mg/l

Dissoudre 0,722 g de nitrate de potassium dans 1000 ml d'eau distillée ; ajouter 1 ml de chloroforme. Conserver dans un flacon en verre inactinique ;

• Solution fille 5 mg/l

Prélever 50 ml de solution mère et compléter à 1000 ml avec de l'eau distillée.

➤ Préparation des réactifs

Solution de Salicylate de Sodium 0,5% :

Dissoudre 0,5 g de Salicylate de sodium dans 100ml d'eau distillée.

Solution d'hydroxyde de sodium 30% :

Dissoudre 30 g de NaOH dans 100 mL d'eau distillée.

Tarte double de sodium et de potassium :

Dissoudre 500 g de tartrate de sodium et de potassium dans 1000 ml d'eau distillée chaude.

Mode opératoire

Dans une série de fioles jaugées de 10 ml

- Introduire successivement les volumes suivants de la solution fille : 0-1-2-3-4-6 ml ;
- Ajouter dans chaque fiole les volumes suivants de l'eau distillée : 10-9-8-7-6-4 ml ;
- Ajouter 1ml de la solution de salicylate de sodium dans chaque fiole ;
- Ajouter 2 à 3 gouttes de NaOH à 30% dans chaque fiole ;
- Evaporer à sec au bain marie (75 - 88 °C) puis laisser refroidir ;
- Reprendre le résidu par 2 ml de H₂SO₄ concentré, laisser au repos 10 min ;
- Ajouter 15 ml de l'eau distillée et 15 ml de tartrate double de sodium et de potassium.

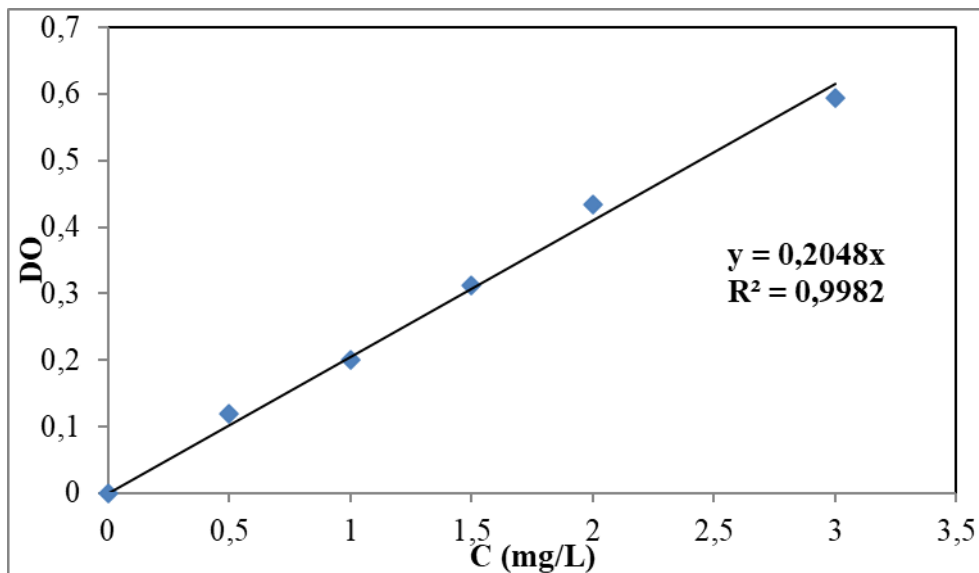


Figure A.4 : Courbe d'étalonnage des nitrates.

Dosage de l'azote ammoniacal (NH₄⁺)

➤ Préparation de la solution étalon

- Solution mère 1 g/l

Dissoudre 0,297 g de nitrite de sodium dans 1000 ml d'eau distillée ;

Conserver dans un flacon en verre inactinique ;

- Solution fille 10 mg/l

Prélever 10 ml de solution mère et compléter à 100 ml avec de l'eau distillée.

➤ Préparation des réactifs

Réactif de Nessler

Dissoudre 50 g de KI dans 35 ml d'eau distillée ajouter une quantité suffisante de HgCl_2 jusqu'à apparition de précipité, ajouter ensuite 400 ml de la solution d'hydroxyde de sodium 9N ajusté à 1000 ml dans une fiole jaugée, laisser reposer et décant.

Tartrate double de sodium et de potassium

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

Mode opératoire

Dans une série de fioles jaugées de 50ml :

- Introduire de la solution fille les volumes suivants : 0-1-2-5-10-15-20 ml.
- Compléter à 50ml avec de l'eau distillée et ajouter 2ml de la solution de tartrate double de sodium et de potassium. Mélanger.
- Ajouter 2ml de réactif de Nessler et mélanger à nouveau.
- Attendre 10min et effectuer les mesures spectrophotométriques à la longueur d'onde de 420nm.

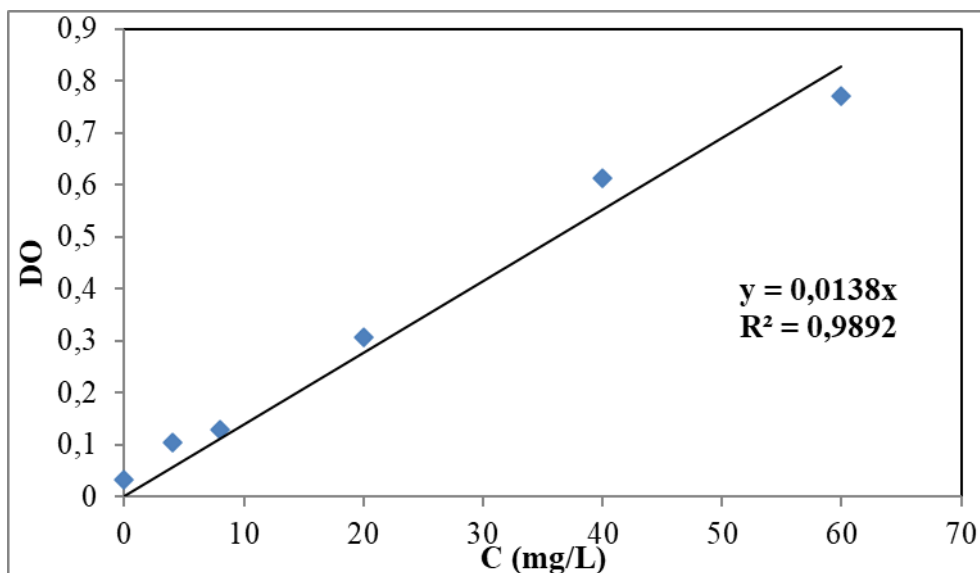


Figure A.5 : Courbe d'étalonnage de l'azote ammoniacal.

Dosage du phosphore (PO_4^{3-})

➤ Préparation de la solution étalon

- **Solution mère 1 g/l**

Peser 0,2197g de KH_2PO_4 (séché à l'étuve à 105 °C pendant 1h), ajouter 1ml d'acide sulfurique dans une fiole de 1000 ml, puis compléter avec de l'eau distillée.

- **Solution fille 10 mg/l**

Prélever 20ml de cette solution et compléter à 1000 ml par l'eau distillée (préparer au moment de l'emploi).

Préparation des réactifs

Solution d'acide sulfurique 15 % :

Mélanger 15 ml d'acide sulfurique dans 100 ml d'eau distillée.

Solution molybdate d'ammonium 40 g/l :

Dissoudre 40 g dans 1000 ml d'eau distillée

Solution acide ascorbique 20 g/l :

Dissoudre 20 g dans 1000 ml d'eau distillée.

Solution de tartrate double antimoine et de potassium 2,8 g/l :

Dissoudre 2,8 g dans 1000 ml d'eau distillée

Réactif combiné :

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

Mode opératoire

Dans une série de fioles jaugées de 25 ml :

- Introduire les volumes suivants de la solution fille : 0, 1, 5, 10, 15, 20 ml ;
- Compléter avec de l'eau distillée. ;
- 2mL de la solution molybdate acide ;
- Ajouter 4 ml de réactif combiné, mélanger soigneusement ;

- Attendre 30 minutes, jusqu'à la stabilisation de la couleur bleue ;
- Effectuer les mesures à la longueur d'onde 880 nm.

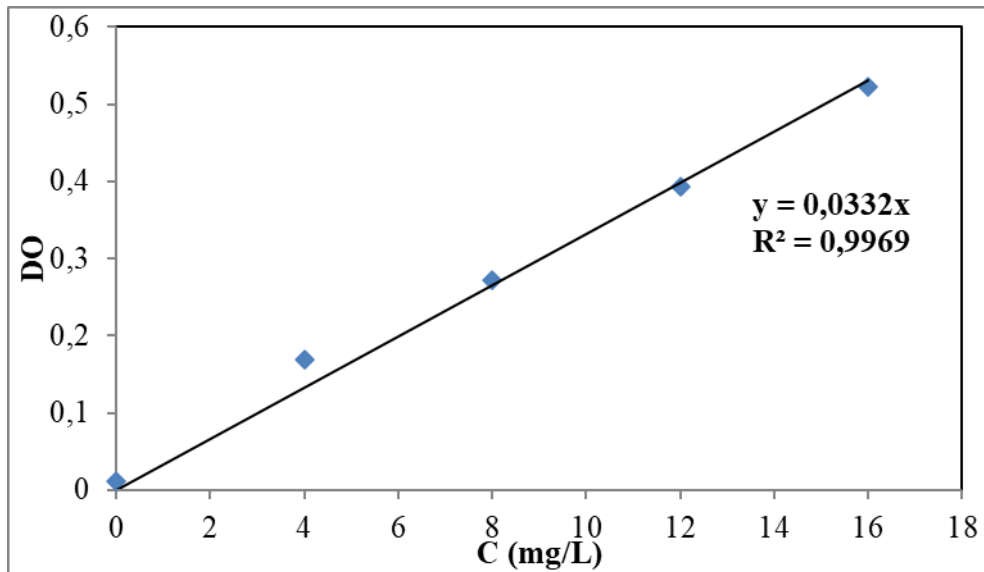


Figure A.6 : Courbe d'étalonnage du phosphore.

Annexe A.6 : Résultats DRX

10/25/2018 13:10:24

PANalytical

Quantification of sample ech 1

R.M.S.: 0.001

Result status:

Sum before normalization: 34.3 %

Normalised to: 100.0 %

Sample type: Pressed powder

Initial sample weight (g): 2.740

Weight after pressing (g): 3.200

Compton validation factor: 37.29

Correction applied for medium: No

Correction applied for film: No

Used Compound list: Oxides

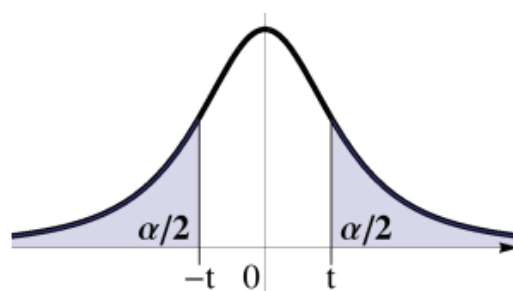
Results database: omnian10mm_2016

Results database in: c:\panalytical\superq\userdata

Analyte	Calibration status	Compound formula	Measured (kcps)	Used (kcps)	Concentration	Unit	Calculation method	Status
C	Calibrated	CO2	3.808	8.594	45.356	%	Calculate	BgC;DC;
Na	Calibrated	Na2O	0.074	0.067	374.0	ppm	Calculate	BgC;DC;
Mg	Calibrated	MgO	0.798	0.751	1.447	%	Calculate	BgC;DC;
Al	Calibrated	Al2O3	9.549	9.763	3.284	%	Calculate	BgC;DC;
Si	Calibrated	SiO2	21.690	22.265	47.626	%	Calculate	BgC;DC;
P	Calibrated	P2O5	0.156	0.166	367.1	ppm	Calculate	BgC;DC;
S	Calibrated	SO3	0.222	0.239	612.6	ppm	Calculate	BgC;DC;
Cl	Calibrated	Cl	0.055	0.052	131.7	ppm	Calculate	BgC;DC;
K	Calibrated	K2O	0.837	0.872	0.211	%	Calculate	BgC;DC;
Ca	Calibrated	CaO	3.495	3.657	0.923	%	Calculate	BgC;DC;
Ti	Calibrated	TiO2	0.204	0.206	524.6	ppm	Calculate	BgC;DC;
Mn	Calibrated	MnO	0.059	0.050	82.3	ppm	Calculate	BgC;DC;
Fe	Calibrated	Fe2O3	6.923	6.924	0.934	%	Calculate	BgC;DC;
Zn	Calibrated	ZnO	0.055	0.049	15.7	ppm	Calculate	BgC;DC;
Rb	Calibrated	Rb2O	0.211	0.107	5.7	ppm	Calculate	BgC;DC;
Sr	Calibrated	SrO	0.169	0.118	9.4	ppm	Calculate	BgC;DC;
Y	Calibrated	Y2O3	0.136	0.047	3.4	ppm	Calculate	BgC;DC;LoR;
Zr	Calibrated	ZrO2	0.921	0.820	57.5	ppm	Calculate	BgC;DC;
Pb	Calibrated	PbO	0.058	0.032	7.4	ppm	Calculate	BgC;DC;

Annexe A.7 : Table de student

	α
n ddl	... t ...



	0.9	0.5	0.3	0.2	0.1	0.05	0.02	0.01	0.001
1	0.1584	1.000	1.963	3.078	6.314	12.71	31.82	63.66	636.6
2	0.1421	0.8165	1.386	1.886	2.920	4.303	6.965	9.925	31.60
3	0.1366	0.7649	1.250	1.638	2.353	3.182	4.541	5.841	12.92
4	0.1338	0.7407	1.190	1.533	2.132	2.776	3.747	4.604	8.610
5	0.1322	0.7267	1.156	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032	6.869
6	0.1311	0.7176	1.134	1.440	1.943	2.447	3.143	3.707	5.959
7	0.1303	0.7111	1.119	1.415	1.895	2.365	2.998	3.499	5.408
8	0.1297	0.7064	1.108	1.397	1.860	2.306	2.896	3.355	5.041
9	0.1293	0.7027	1.100	1.383	1.833	2.262	2.821	3.250	4.781
10	0.1289	0.6998	1.093	1.372	1.812	2.228	2.764	3.169	4.587
11	0.1286	0.6974	1.088	1.363	1.796	2.201	2.718	3.106	4.437
12	0.1283	0.6955	1.083	1.356	1.782	2.179	2.681	3.055	4.318
13	0.1281	0.6938	1.079	1.350	1.771	2.160	2.650	3.012	4.221
14	0.1280	0.6924	1.076	1.345	1.761	2.145	2.624	2.977	4.140
15	0.1278	0.6912	1.074	1.341	1.753	2.131	2.602	2.947	4.073
16	0.1277	0.6901	1.071	1.337	1.746	2.120	2.583	2.921	4.015
17	0.1276	0.6892	1.069	1.333	1.740	2.110	2.567	2.898	3.965
18	0.1274	0.6884	1.067	1.330	1.734	2.101	2.552	2.878	3.922
19	0.1274	0.6876	1.066	1.328	1.729	2.093	2.539	2.861	3.883
20	0.1273	0.6870	1.064	1.325	1.725	2.086	2.528	2.845	3.850
21	0.1272	0.6864	1.063	1.323	1.721	2.080	2.518	2.831	3.819
22	0.1271	0.6858	1.061	1.321	1.717	2.074	2.508	2.819	3.792
23	0.1271	0.6853	1.060	1.319	1.714	2.069	2.500	2.807	3.768
24	0.1270	0.6848	1.059	1.318	1.711	2.064	2.492	2.797	3.745
25	0.1269	0.6844	1.058	1.316	1.708	2.060	2.485	2.787	3.725

Annexe A.8 : Table de Fisher

Table de Fisher-Snedecor, $\alpha = 5\%$ (95^e centile)

v_2 (dén.)	v_1 (numérateur)																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	20	30	40	50	60	80	100	200	500	1 000
1	161.45	199.50	215.71	224.58	230.16	233.99	236.77	238.88	240.54	241.88	246.02	250.10	251.14	251.77	252.20	252.72	253.04	253.68	254.06	254.19
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38	19.40	19.45	19.46	19.47	19.48	19.48	19.48	19.49	19.49	19.49	19.49
3	10.13	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81	8.79	8.66	8.62	8.59	8.58	8.57	8.56	8.55	8.54	8.53	8.53
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00	5.96	5.80	5.75	5.72	5.70	5.69	5.67	5.66	5.65	5.64	5.63
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77	4.74	4.56	4.50	4.46	4.44	4.43	4.41	4.41	4.39	4.37	4.37
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10	4.06	3.87	3.81	3.77	3.75	3.74	3.72	3.71	3.69	3.68	3.67
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.64	3.44	3.38	3.34	3.32	3.30	3.29	3.27	3.25	3.24	3.23
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39	3.35	3.15	3.08	3.04	3.02	3.01	2.99	2.97	2.95	2.94	2.93
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18	3.14	2.94	2.86	2.83	2.80	2.79	2.77	2.76	2.73	2.72	2.71
10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02	2.98	2.77	2.70	2.66	2.64	2.62	2.60	2.59	2.56	2.55	2.54
20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39	2.35	2.12	2.04	1.99	1.97	1.95	1.92	1.91	1.88	1.86	1.85
30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21	2.16	1.93	1.84	1.79	1.76	1.74	1.71	1.70	1.66	1.64	1.63
40	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12	2.08	1.84	1.74	1.69	1.66	1.64	1.61	1.59	1.55	1.53	1.52
50	4.03	3.18	2.79	2.56	2.40	2.29	2.20	2.13	2.07	2.03	1.78	1.69	1.63	1.60	1.58	1.54	1.52	1.48	1.46	1.45
60	4.00	3.15	2.76	2.53	2.37	2.25	2.17	2.10	2.04	1.99	1.75	1.65	1.59	1.56	1.53	1.50	1.48	1.44	1.41	1.40
70	3.98	3.13	2.74	2.50	2.35	2.23	2.14	2.07	2.02	1.97	1.72	1.62	1.57	1.53	1.50	1.47	1.45	1.40	1.37	1.36
80	3.96	3.11	2.72	2.49	2.33	2.21	2.13	2.06	2.00	1.95	1.70	1.60	1.54	1.51	1.48	1.45	1.43	1.38	1.35	1.34
90	3.95	3.10	2.71	2.47	2.32	2.20	2.11	2.04	1.99	1.94	1.69	1.59	1.53	1.49	1.46	1.43	1.41	1.36	1.33	1.31
100	3.94	3.09	2.70	2.46	2.31	2.19	2.10	2.03	1.97	1.93	1.68	1.57	1.52	1.48	1.45	1.41	1.39	1.34	1.31	1.30
200	3.89	3.04	2.65	2.42	2.26	2.14	2.06	1.98	1.93	1.88	1.62	1.52	1.46	1.41	1.39	1.35	1.32	1.26	1.22	1.21
300	3.87	3.03	2.63	2.40	2.24	2.13	2.04	1.97	1.91	1.86	1.61	1.50	1.43	1.39	1.36	1.32	1.30	1.23	1.19	1.17
500	3.86	3.01	2.62	2.39	2.23	2.12	2.03	1.96	1.90	1.85	1.59	1.48	1.42	1.38	1.35	1.30	1.28	1.21	1.16	1.14
1 000	3.85	3.00	2.61	2.38	2.22	2.11	2.02	1.95	1.89	1.84	1.58	1.47	1.41	1.36	1.33	1.29	1.26	1.19	1.13	1.11
2 000	3.85	3.00	2.61	2.38	2.22	2.10	2.01	1.94	1.88	1.84	1.58	1.46	1.40	1.36	1.32	1.28	1.25	1.18	1.12	1.09