

N° d'ordre : 60/2024-D/GP

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

Faculté de Génie Mécanique et de Génie des Procédés



THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES

Présentée pour l'obtention du grade de DOCTEUR

En : Génie des Procédés

Spécialité : Génie chimique

Par : BAGHDADI YACINE

Sujet

**Biodégradation du gasoil d'un sol pollué : Influence
des accepteurs d'électrons**

Soutenue publiquement le : 12/02/2024, devant le jury composé de :

Mme BENDJABALLAH-LALAOUI Nadia	Professeur à l'USTHB	Présidente
Mme. BENTAHAR Fatiha	Professeur à l'USTHB	Directrice de thèse
Mme. RIHANI Rachida	Professeur à l'USTHB	Co-Directrice de thèse
Mme YEDDOU Nacera	Professeur à l'USTHB	Examinatrice
Mr. BENALIOUCHE Fouad	Professeur à l'EMP	Examinateur
Mr. CHEKNANE Benamar	Professeur à l'USDB	Examinateur
Mme. OUNNAR Amel	Maître de recherche CDER	Examinatrice

ملخص

تؤدي بعض الأنشطة البشرية إلى تلوث الارض والمياه الجوفية. المعالجة الحيوية هي طريقة لإزالة التلوث. تستخدم القدرة البكتيريا لتحلل الملوثات العضوية. في هذه الدراسة، قمنا بدراسة تأثير بعض العوامل على التكاثر البكتيري وإمكانية إزالة التلوث من مادة ملوثة بوقود الديزل بمقدار 10 غ/كغ. تم استخدام المفاعلات الحيوية اسطوانية ; كل مفاعل حيوي مليء بالرمل الملوث. تم تحقيق التجارب في التكوينين A و B حيث يتم فصل التحلل البيولوجي الناتج عن النشاط البكتيري عن التحلل الناتج عن التهوية. تم تعديل العينات الملوثة باستخدام محاليل NH_4Cl و KH_2PO_4 من اجل نسبة C/N/P تساوي 100/25/1 ; 100/10/1 ; 100/5/1 ; 100/10/3 ; 100/10/0,33. النتائج علاقة مهمة بين كمية الهواء، والنسبة C/N/P، مع إزالة الملوث من جهة وتطور الكتلة الحيوية من جهة أخرى. بعد 26 يومًا، بلغت كمية التصفية إلى 58، 70، 79، 78 و 97% من اجل تدفق الهواء 0,25، 0,5، 1، 1,5 و 2 لتر/دقيقة، على التوالي، بنسبة $C/N/P = 1/10/100$. بالإضافة إلى ذلك، تم الحصول على أفضل كمية من التحلل الحيوي بنسبة 36% بعد 12 يومًا، مع كمية الهواء 1 لتر/دقيقة ونسبة C/N/P تبلغ 100/10/1 من المثير للاهتمام أن هذا البحث يهدف إلى تحديد أفضل الظروف لزيادة كمية التحلل البيولوجي.

Abstract

Some human activities cause pollution of soil and groundwater. Bioremediation is a remediation method that uses the metabolic capacity of bacteria to degrade organic pollutants. In this study, we investigated the effect of these two parameters on the bacterial growth and decontamination capacity of soil polluted with diesel at 10 g/kg. Bubble column bioreactors were used ; each bioreactor was filled with contaminated soil. The experiments were carried out according to two configurations, A and B, to characterize separately the pollutant biodegradation rate generated by bacterial activity alone and the elimination rate generated by aeration. Contaminated soils were amended with NH_4Cl and KH_2PO_4 solutions at different C/N/P molar ratios of 100/10/1, 100/5/1, 100/25/1, 10/10/3, and 100/10/0.33. The results showed a significant relationship between airflow rate, C/N/P molar ratio, and diesel oil removal on the one hand and microbial biomass growth on the other. After 26 days of treatment, the removal rates are 58, 70, 79, 78, and 97% for 0.25, 0.5, 1, 1.5 and 2 L/min, respectively, at a C/N/P molar ratio of 100/10/1.

In addition, the best biodegradation rate reached is about 36%, obtained after 12 days of decontamination using an airflow rate of 1 L/min and a C/N/P molar ratio of 100/10/1.

Keywords : *Gazoil, pollution, bioremediation, nutrients, micro-organisms.*

Résumé

Certaines activités humaines entraînent une pollution du sol et des eaux souterraines. La bioremédiation est une méthode de dépollution qui utilise la capacité métabolique des bactéries à dégrader les polluants organiques. Dans cette étude, nous avons étudié l'effet de deux paramètres sur la croissance bactérienne et le pouvoir de décontamination d'un sol pollué par du gasoil à 10 g/kg. Des bioréacteurs de type colonne à bulles ont été utilisés ; chaque bioréacteur a été rempli de sol pollué. Les expériences ont été réalisées selon deux configurations, A et B, afin de caractériser séparément le taux de biodégradation du polluant généré uniquement par l'activité bactérienne et le taux d'élimination généré par l'aération. Le

sol contaminé a été amendé avec des solutions de NH_4Cl et KH_2PO_4 selon différents rapports molaires C/N/P : 100/10/1, 100/5/1, 100/25/1, 10/10/3 et 100/10/0,33. Les résultats ont montré une relation significative entre le débit d'air, le rapport molaire C/N/P et l'élimination de l'huile diesel d'une part, et la croissance de la biomasse microbienne d'autre part. Après 26 jours de traitement, les taux d'élimination étaient de 58, 70, 79, 78 et 97 % pour les débits d'air de 0,25, 0,5, 1, 1,5 et 2 L/min, respectivement, et pour un rapport molaire C/N/P de 100/10/1. De plus, le meilleur taux de biodégradation atteint est de 36 % et ce après 12 jours de décontamination, en utilisant un débit d'air de 1 L/min et un rapport molaire C/N/P de 100/10/1.

Mots clés : *Gasoil, pollution, bioremédiation, nutriments, aération, micro-organismes.*

Remerciements

Cette étude a été réalisée au laboratoire des Phénomènes de Transfert (LPDT) de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene, sous la direction de Mme. Feu BENTAHAR Fatiha, Professeur à la Faculté de Génie Mécanique et de Génie des procédés et l'ancienne Directrice du LPDT à l'USTHB. Suite à son décès, Mme RIHANI Rachida, Professeur à la FGMGP a repris la direction de cette thèse.

C'est avec une très grande émotion que j'exprime ici, ma reconnaissance et ma considération à Mme. BENTAHAR qui m'a accueilli dans son laboratoire et a tant fait pour moi, encouragements, conseils et disponibilité ; sa disparition a provoqué une grande peine et une immense douleur.

Je tiens à exprimer aussi les plus vifs remerciements et une immense gratitude à Mme RIHANI pour tous ses efforts et toute l'aide qu'elle m'a dispensé en me faisant bénéficier de ses compétences et de son savoir-faire. Cette étude n'aurait pu être achevée sans sa contribution.

J'adresse aussi un grand remerciement à Mme N.LALAOUI, Professeur à l'USTHB, pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury. A tous les membres du jury, Mme N.YEDDOU, Professeur à l'USTHB, Mme A.OUNNAR, Maître de recherche au CDER, Mr. F. BENALIOUCHE, Professeur à l'EMP et Mr. B.CHEKNANE, Professeur à l'USTB, je vous exprime toute mon estime et ma gratitude pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Je ne pourrai terminer ces remerciements sans citer tous les membres du Laboratoire des Phénomènes de Transfert, qui m'ont toujours encouragé, aidé, et soutenu ; ainsi que tous mes collègues de la faculté, chez qui j'ai trouvé conseils et réconfort ; je citerai spécialement, Mr BENTAIEB pour tous les encouragements et les motivations qu'il m'a donnés, je tiens à lui témoigner toute ma gratitude et lui exprimer toute ma reconnaissance.

Grand merci à ma petite famille de m'avoir encouragé et soutenu, et à qui je dédie ce travail en témoignage de ma profonde affection.

SOMMAIRE

Introduction générale	1
-----------------------	---

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1 Introduction	4
I.2 Constitutions des sols	4
I.2.1 Fractions du sol	6
I.2.2 Faune du sol	6
I.2.3 Caractéristiques du sol	9
I.3 Pollution des sols	13
I.3.1 Origine de la pollution du sol	14
I.3.2 Types de pollution	14
I.3.3 Principaux types de polluants	15
I.4 Principaux problèmes environnementaux du secteur du raffinage	19
I.5 Pollution par les hydrocarbures en Algérie	20
I.6 Dépollution des sols	20
I.6.1 Réhabilitation des sols pollués	21
I.7 Techniques de dépollution	21
I.7.1 Méthodes physiques	22
I.7.2 Méthodes thermiques	23
I.7.3 Méthodes chimiques	24
I.7.4 Méthodes biologiques	24
I.8 Biodégradation	25
I.8.1 Bactéries dégradant les hydrocarbures	25
I.8.2 Principe de la biodégradation	25
I.8.3 Types de biodégradation	26
I.9 Bioremédiation	27
I.9.1 Processus liés à la bioremédiation	27
I.9.2 Procédés de dépollution biologiques	29
I.9.2.1 Traitements in situ	29
I.9.2.2 Traitement ex situ	31
I.9.3 Facteurs contrôlant la bioremédiation	34
I.10 Cinétique d'élimination des hydrocarbures	37
I.11 Rendements d'élimination et de biodégradation	38
I.12 Synthèse des travaux antérieurs (synthèse bibliographique)	39
I.13 Conclusion	44

Chapitre II : Partie expérimentale

II. Partie expérimentale	46
II.1 L'installation expérimentale	46
II.1.2 Mode opératoire	47
II.2 Caractérisation du sol	48

II.3 Biostimulation	49
II.3.1 Traitement du sol par biostimulation	49
II.4 Mesures et analyses	50
II.4.1 Granulométrie du sol	50
II.4.2 Masse volumique du solide	50
II.4.3 Teneur en eau ou humidité du sol	51
II.4.4 Perméabilité	51
II.4.5 Potentiel d'hydrogène (pH)	52
II.4.6 Extraction du gasoil	52
II.4.7 Dosage des différents éléments chimiques	52
II.4.8 Analyse microbiologique	54
II.5 Matériel de laboratoire	55
II.5.1 Tamiseuse	55
II.5.2 Bain à ultrasons	56
II.5.3 Rotavapeur	56
II.5.4 Balance électronique	56
II.5.5 Etuve	56
II.5.6 Spectrophotomètre	56
II.5.7 Centrifugeuse	57
II.5.8 Microscope optique	57
II.6 Etude hydrodynamique de l'installation	57
II.6.1 Profil du taux d'humidité	57
II.6.2 Profil de la concentration du gasoil	58
II.6.3 Cinétique de séchage pour les différents débits d'air	58
II.6.4 Perte de charge dans le lit de sable	59
II.7 Technique de séparation	60

Chapitre III : Résultats et discussion

III. Résultats et discussion	61
III.1 Caractéristiques du sol et paramètres opératoires	61
III.1.1 Caractéristiques du sol	61
III.1.2 Profil du taux d'humidité dans le sol	62
III.1.3 Evolution de la concentration du gasoil dans le lit fixe	65
III.1.4 Cinétique de séchage dans le lit fixe	67
III.2 Etude hydrodynamique	69
III.2.1 Pertes de charge dans le lit de sable	69
III.2.2 Vitesse de fluidisation minimale	70
III.3 Effet de l'air sur l'élimination du gasoil et sur l'évolution de la biomasse	71
III.3.1 Influence des facteurs biotiques, abiotiques et l'atténuation naturelle sur la concentration du gasoil	72
III.3.2 Détermination des constantes de vitesses d'élimination du gasoil	73
III.4 Influence du débit d'air sur l'évolution de la concentration du gasoil	74
III.5 Cinétique d'élimination du gasoil	76
III.7 Evolution de la biomasse	78

III.8 Influence de la teneur des nutriments	79
III.9 Comportement des nutriments dans le sol	81
III.10 Etude de l'évolution de la couche limite dans le lit de sable	83
Conclusion générale	85

SYMBOLES ET DES ABREVIATIONS

Lettres latines

Ademe	Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie	
C/N/P	Rapport molaire carbone, azote, phosphore	
CO	Concentration du carbone organique dans le sol	mg/g
COT	Concentration du carbone total dans le sol	mg/g
d_{ar}	Diamètre arithmétique	μm
d_h	Diamètre harmonique	μm
Hu	Humidité relative dans le sol	%
H_0	Teneur du sol en eau	%
k	Constante de vitesse d'élimination du gasoil	Jour ⁻¹
k_{Biod}	Constante de vitesse de biodégradation du gasoil	Jour ⁻¹
Q_{air}	Débit d'air volumique	m ³ /s
T_{Abiot}	Taux d'élimination du gasoil en mode abiotique dans le sol	%
T_{Biod}	Taux de biodégradation du gasoil dans le sol	%
T_{Biot}	Taux d'élimination du gasoil en mode biotique dans le sol	%
ufc	Unité fondamentale colonies	

Lettres grecques

ρ_s	Masse volumique du sable	kg/m ³
ε	Porosité du lit de sable	%
μ_{max}	Taux de croissance bactérien maximale	Jour ⁻¹

Liste des figures

Figure I.1 : Schéma de colonne de distillation de gasoil	18
Figure I.2 : Schéma du procédé de pompage et traitement	23
Figure I.3 : Schéma de fonctionnement du bioventing	30
Figure I.4 : Schéma de fonctionnement du bioslurry	33
Figure I.5 : Schéma de fonctionnement d'un bioréacteur à boues activées	34
Figure II.1 : Schéma de l'installation expérimentale	47
Figure II.2 : Schéma d'un bioréacteur montrant les prises d'échantillons	58
Figure III.1 : Evolution du taux d'humidité aux différentes positions. $Q_{air} = 0,5$ L/min	64
Figure III.2 : Evolution du taux d'humidité aux différentes positions. $Q_{air} = 1$ L/min	64
Figure III.3 : Evolution du taux d'humidité aux différentes positions. $Q_{air} = 2$ L/min	5
Figure III.4 : Profil de concentrations du gasoil dans le sol. C/N/P = 100/10/1 (a) : $Q_{air} = 0,5$ L/min. (b) : $Q_{air} = 1$ L/min. (c) : $Q_{air} = 2$ L/min.	67
Figure III.5 : Evolution de la teneur du sol en eau en Z_3 à différents débits d'air	68
Figure III.6 : Débit d'eau pour maintenir le taux d'humidité à 15 % (ml/min)	68
Figure III.7 : Variation de la perte de charge dans le lit de sable (Pa)	70
Figure III.8 : Evolution de la concentration du gasoil et de la biomasse. 1 L/min	71
Figure III.9 : Evolution de la concentration du gasoil dans les cas biotique, abiotique et atténuation naturelle. $Q_{air} = 1$ L/min	73
Figure III.10 : Evolution de $\ln(C(t)/C_0)$. $Q_{air} = 1$ L/min	74
Figure III.11 : Evolution du gasoil, mode biotique, C/N/P = 100/10/1, $H_0 = 15\%$	75
Figure III.12 : Evolution du gasoil, mode abiotique, C/N/P = 100/10/1, $H_0 = 15\%$	76
Figure III.13 : Influence du débit d'air sur les constantes de vitesse k et k_{Biod}	78
Figure III.14 : Evolution de la biomasse pour les différents débits d'air	79
Figure III.15 : Evolution de la concentration du gasoil, en mode biotique pour différents rapports molaires C/N. C/P = 100/1. Débit d'air = 1L/min	80

Figure III.16 : Évolution de la concentration du gasoil en mode biotique pour différents rapports molaire C/P. C/N = 100/10. Débit d'air = 1L/min 80

Figure III.17 : Évolution des nutriments dans le sol. Q_{air} = 1 L/min 82

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Nature des composés du sol en fonction de leur granulométrie	5
Tableau I.2 : Principaux organismes microscopique du sol	8
Tableau I.3 : Perméabilité hydraulique des sols	10
Tableau I.4 : Certains déversements dans l'industrie pétrolière selon le Cedre	19
Tableau I.5 : Comparaison des taux d'élimination des polluants	45
Tableau II.1 : Paramètres opératoires en mode biotique et abiotique	48
Tableau III.1 : Caractéristiques physico-chimiques du sol	62
Tableau III.2 : Constantes de vitesse d'élimination et taux d'élimination du gasoil.	77
Tableau III.3 : Epaisseur de la couche limite et temps caractéristique.	84

INTRODUCTION GENERALE

Le sol est un système hétérogène complexe composé principalement d'une phase solide représentée par les particules du sol, d'une phase liquide représentée par l'eau et d'une phase gazeuse constituée par l'air emprisonné dans le sol. Situé à l'interface entre l'hydrosphère, la géosphère et la biosphère, le sol est un compartiment primordial à surveiller. Il représente la partie superficielle soumise aux processus pédologiques et subissant des évolutions plus ou moins importantes de la composition chimique et de la constitution minéralogique. La surface du sol est limitée sur terre, c'est donc une ressource à priori non renouvelable qu'il faut ménager. Sa fonction essentielle est de supporter physiquement toute activité humaine.

Cependant, les activités humaines dans le domaine industriel, notamment, celles initiées dès le XIX^{ème} siècle et l'accélération des progrès techniques, ont laissé derrière elles des sols pollués par des substances qui sont parfois dangereuses. Ces sites pollués peuvent alors présenter des risques de transfert de polluants vers des cibles sensibles, comme les ressources en eau, les écosystèmes et la santé humaine. Ils peuvent également avec le temps se disperser dans l'environnement, augmentant ainsi la taille des surfaces polluées. La contamination des sols est devenue de ce fait un phénomène mondial qui concerne les pays industrialisés en premier lieu et touche de plus en plus les pays en voie de développement. En effet, les délocalisations des sites industriels vers les pays en voie de développement et la faiblesse des mécanismes de mise en œuvre des normes et des standards internationaux, exposent ces pays aux risques accrus de pollution des sols [1].

Parmi les activités humaines, l'industrie pétrolière représente une source de pollution majeure pour l'environnement, ce qui a une influence considérable sur les équilibres écologiques ainsi que les activités économiques des zones polluées. L'Agence Internationale de l'énergie a publié un rapport en mars 2021 qui montre que la consommation mondiale de pétrole est passée de 94,7 Mb/j au dernier trimestre de 2020 et va probablement dépasser les 100 Mb/j en 2026.

En Algérie, la pollution du sol par les hydrocarbures, est devenue un grand problème avec le développement de l'industrie pétrochimique et l'installation de nombreuses stations-service et de pipes souterraines. Bien que des progrès substantiels aient été accomplis ces dernières années pour réduire les rejets industriels à l'origine de pollutions chroniques, accidentelles (déversements accidentels ou rejets non contrôlés) dus à, des pratiques inadéquates d'entreposage de résidus industriels, des fuites de réservoirs souterrains et des ruptures d'oléoducs se produisent toujours. Les hydrocarbures pétroliers sous forme de carburants, (essence, gasoil, etc.) sont des contaminants très communs [2]. La prise de conscience du danger

que constituent les sols contaminés pour l'environnement a permis d'élaborer un recueil de textes réglementaires (la loi 03-10 du 19 juillet 2003) relatif à la protection de l'environnement et le développement durable. Cette loi définit et fixe les règles de la protection des sols et des eaux souterraines ainsi que la décontamination des sites pollués.

Afin de préserver et de restaurer ces écosystèmes et d'éliminer ces polluants, il est donc nécessaire de développer des techniques fiables et efficaces de réhabilitation [3]. C'est avec cet objectif qu'un arsenal de techniques a été mis en œuvre. Les premières ont exploité des procédés mécaniques, physiques et/ou chimiques afin d'éliminer les contaminations. Grâce à ces méthodes, les polluants sont immobilisés, extraits et/ou détruits afin de réduire leurs impacts sur l'environnement et la santé humaine. Cependant, ces techniques peuvent être très invasives pour les écosystèmes traités, car d'une part, elles nécessitent souvent l'excavation des matériaux pollués, ce qui peut perturber l'environnement et, d'autre part, elles peuvent entraîner le rejet de composés toxiques.

Il existe, cependant une alternative à ces techniques, permettant de limiter ces effets néfastes, parmi lesquelles, nous citons à titre d'exemple, la remédiation biologique. Cette approche repose sur l'utilisation de capacités naturelles des plantes (phytoremédiation) et des microorganismes (bioremédiation), à dégrader les polluants, parfois même jusqu'à leur minéralisation complète [3,4].

La bioremédiation s'appuie sur les capacités métaboliques des communautés microbiennes capables de dégrader ces polluants. Elle constitue l'option la plus rentable et la plus écologique pour l'assainissement des sols et des eaux pollués par le pétrole. Il s'agit d'une technique utilisée pour traiter la pollution par les hydrocarbures dans les écosystèmes terrestres et aquatiques [5]. Sur le terrain, les techniques de traitement thermiques et physico-chimiques, bien qu'elles nécessitent des moyens onéreux, sont les plus répandues. Tandis que les procédés de traitement biologiques sont souvent considérés comme réservés à une catégorie restreinte de composés comme les hydrocarbures pétroliers légers ou adaptés à des conditions particulières. L'avantage principal de la bioremédiation réside dans le fait que c'est une réelle méthode de dépollution, et non un simple transfert de polluants d'un milieu à un autre, puisque les molécules du polluant sont décomposées et donc détruites.

Certaines souches microbiennes qui sont capables de transformer ou de minéraliser des polluants organiques sont à l'origine du développement des techniques de bioremédiation pour la dépollution des sites contaminés. Comprendre les voies utilisées par ces micro-organismes pour attaquer, dégrader et utiliser des composants de pétrole pour assurer leur croissance a été

un fort potentiel au début de la microbiologie du pétrole, ce qui a permis de lutter efficacement contre certains déversements d'hydrocarbures et d'autres problèmes environnementaux [6].

Les principaux paramètres de ce traitement sont en conséquence ceux qui influencent les conditions de croissance des micro-organismes, à savoir, le taux d'oxygène, l'apport en nutriments en particulier l'azote et le phosphore (N et P), l'humidité, la température, le pH, et les paramètres physico-chimiques des produits à traiter.

Le gasoil est un contaminant très commun, c'est l'un des principaux produits de la distillation du pétrole brut. Il est constitué principalement d'hydrocarbures saturés et de composés aromatiques. Utilisé principalement comme carburant et moyen de chauffage, il représente une source permanente de pollution.

La présente étude a été réalisée au Laboratoire des Phénomènes de Transfert de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene sous la direction des professeurs. F. Bentahar et R. Rihani ; son objectif principal consiste à étudier la cinétique d'élimination du gasoil dans un milieu poreux, composé de sol comme phase solide continue, les paramètres clés et leurs impacts sur l'élimination du gasoil ont été pris en considération.

L'intérêt réside dans la détermination des conditions favorables optimales permettant d'améliorer le pouvoir dégradeur des bactéries.

Cette thèse est divisée en trois chapitres.

Le premier chapitre est dédié à une synthèse bibliographique sur le sol, ses caractéristiques, les sources de pollutions du sol, ainsi qu'un aperçu sur les différentes méthodes de dépollution les plus couramment utilisées en insistant sur les méthodes biologiques, et en particulier, la biodégradation comme moyen de bioremédiation des sols pollués.

Le deuxième chapitre décrit l'installation expérimentale, les différents matériels, les produits et les méthodes d'analyses exploités pour la réalisation de la décontamination du sol pollué par un mélange d'hydrocarbures.

Le troisième chapitre est consacré aux résultats obtenus répartis en trois parties principales, dans la première partie nous présentons une étude préliminaire sur les différents paramètres opératoires de l'installation expérimentale, la seconde partie est consacrée à l'étude de l'influence de l'aération sur la cinétique d'élimination du gasoil sous l'effet de l'entraînement par l'air et de l'activité bactérienne, dans la troisième partie nous nous intéressons à l'influence des nutriments sur les taux d'élimination du gasoil.

Nous terminerons par une conclusion générale et les perspectives à ce travail.

CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1 Introduction

La contamination des sols est un phénomène mondial qui concerne les pays industrialisés en premier lieu, mais qui touchent aussi les pays en voie de développement. En effet, les délocalisations des sites industriels vers les pays en voie de développement et la faiblesse des mécanismes de mise en œuvre des normes et des standards internationaux, exposent ces pays au risque de pollution des sols. De nombreux sites sont, ainsi affectés par des pollutions multiples, de natures variées (organiques et/ou minérales), superposées ou séparées géographiquement. Il est à noter que ces polluants menacent de plus en plus la dégradation de l'environnement.

Ainsi, la dépollution des terres est une pratique qui devrait se développer davantage pour préserver les sols à vocation agricole, d'une part, et pour éviter la propagation et la dispersion des molécules dangereuses ainsi que leur infiltration dans les nappes phréatiques et dans la chaîne alimentaire, d'autre part.

I.2 Constitution des Sols

Les sols constituent des éléments essentiels des biotopes continentaux. Leur ensemble, dénommé pédosphère, résulte de l'interaction de deux compartiments biosphériques, l'atmosphère et les deux couches superficielles de la lithosphère. C'est l'altération des roches mères, due à des forces chimiques et biologiques, donnant naissance au régolite (manteau superficiel de débris), lui-même transformé en ce que l'on appelle le sol. Les cinq principaux facteurs impliqués dans la formation du sol sont la roche mère, le climat, la topographie, l'activité biologique et le temps [6].

Le sol a de nombreuses fonctions, c'est un milieu biologique dans lequel se développent des organismes vivants. Ce développement dépend essentiellement de la qualité du sol ou de sa fertilité (quantité de carbone, d'azote, capacité d'échange d'ions, etc.). Il est aussi un acteur déterminant du cycle de l'eau (le stockage et la régulation) et de la qualité de cette eau (source de pollution, capacité de rétention des polluants mais aussi biodégradation de ceux-ci). On considère qu'un "bon" sol agricole est constitué de 25 % d'eau, 25 % d'air, 45 % de matière minérale et de 5 % de matière organique. Ceci permet de distinguer deux domaines à savoir : un domaine non saturé et un domaine saturé. La zone non saturée constitue une interface entre l'atmosphère et l'hydrosphère. Dans cette partie, les pores du sol ne sont que partiellement remplis par l'eau et le gaz y prédomine. La zone saturée est une zone où l'ensemble des pores est rempli d'eau [6]. Les phases qui constituent le sol sont citées ci-après :

➤ **Phase gazeuse** : La phase gazeuse du sol est souvent similaire à celle de l'air. Elle est

fonction de l'activité biologique et de la proximité de l'atmosphère, les sols aérés contiennent entre 18 et 20,5 % (v/v) d'oxygène, mais cette teneur est inférieure si le sol est peu ou pas aéré. La concentration en CO₂ varie de 0,3 à 3 % (v/v) mais peut être plus élevée près des racines ou en profondeur. L'air du sol peut aussi contenir des composés organiques volatiles, NO, N₂O, NH₃, CH₄, H₂S [7].

- **Phase liquide** : L'eau est le constituant majeur de la solution du sol, vecteur d'éléments dissous, de complexes, de particules, et de colloïdes qui alimente les plantes et les êtres vivants du sol. Cette phase peut être sous forme d'eau de ruissellement, d'eau de gravité ou de retenue d'eau. Selon leur capacité de rétention, les sols ont une teneur en eau variable, elle est plus importante pour les sols argileux que pour les sols sableux ce qui peut influencer les paramètres physico-chimiques et biologiques du sol. Il est essentiel de comprendre les processus chimiques, qui affectent la concentration des ions et des molécules dans la solution de sol. Cette dernière est considérée comme étant en équilibre avec la phase solide, et où sa composition peut être modifiée par les processus d'échange d'ions, de solubilisation/précipitation et d'adsorption/désorption.
- **Phase solide** : La porosité du sol est l'espace vide des pores présents dans le sol et représente généralement entre 30 à 60 % du volume total du sol. Elle est constituée par les composés minéraux, ils sont de nature très diverse, ils peuvent être classés en fonction de leur granulométrie (Cf. Tableau I.1). Ces éléments sont principalement les cations (Ca²⁺, Mg²⁺ et K⁺) [3].

Par ailleurs, des réactions chimiques peuvent se produire entre les différentes phases.

Tableau I.1 : Nature des composés du sol en fonction de leur granulométrie [7].

Nature du composé	Taille des particules (μm)
Argile	0,2 – 2
Limon	2 – 600
Sable	600 – 2000
Gravier	2000 – 60 000

I.2.1 Fractions du sol

a. Fraction minérale

La fraction minérale provient de la dégradation des composés de roches et de minéraux selon des processus naturels tels que : l'érosion, le vent, la désagrégation, les changements de température, etc. Ces processus sont appelés altérations physiques. Outre, les altérations physiques, il existe également les altérations chimiques qui se produisent lorsque certains minéraux réagissent avec des substances présentes dans leur environnement pour former des ions, des oxydes et de minéraux argileux.

L'oxygène, le silicium, l'aluminium et le fer sont les ingrédients prédominants du sol ; en proportion moindre, on trouve du calcium, du magnésium, du potassium, du titane, du soufre et du phosphore. Ces éléments proviennent, d'une part, de l'altération des roches, et d'autre part, des activités métaboliques combinées des micro-organismes, leurs teneurs affectent la structure du sol, sa capacité d'adsorption et son pouvoir nutritionnel [7].

b. Fraction organique

La fraction organique d'un sol est constituée de plus de 80% de matière organique morte (résidus de plantes et d'animaux en état de décomposition naturelle). Il se trouve aussi des organismes vivants, tels que : des bactéries dont beaucoup d'actinomycètes, des champignons et de microfaune formée de protozoaires, nématodes, insectes, vers de terre [7]. La matière organique est la partie non vivante de la fraction organique du sol, constituée de substances humiques provenant de la décomposition des débris d'animaux et de végétaux. Elle est composée des éléments principaux (C, H, O, N) et des éléments secondaires (S, P, K, Ca, Mg). C'est la source d'azote naturelle la plus importante pour les plantes. Les composés organiques sont biodégradés ou minéralisés au fil du temps par les micro-organismes. Leur temps de résidence dans le sol est de l'ordre de 15 ans [8].

Le sol est un habitat généralement favorable à la prolifération des microorganismes, leur nombre est supérieur à celui trouvé dans les eaux douces ou marines : la population microbienne s'élève à des valeurs comprises entre 10^6 et 10^9 bactéries par gramme de sol [8]. Leur abondance et leur nature dépendent du type de sol, de la végétation, du climat et des diverses actions anthropiques et de leurs variations.

I.2.2 Faune du sol

Les sols contiennent des êtres vivants, nous citons à titre d'exemple, 1 kg de sol fertile contient environ 3 000 milliards de bactéries, 400 millions de champignons microscopiques, 50 millions d'algues, 30 millions d'animaux unicellulaires (protozoaires), de vers et toutes sortes d'insectes

[9]. Les micro-organismes sont plus abondant à la surface, plus le sol est profond, plus ils diminuent en unités pour former des colonies.

Les animaux qui vivent dans le sol peuvent être regroupés sous l'appellation « faune du sol », ils sont classés selon leurs tailles :

- Les organismes de taille inférieure à 0,2 mm forment la microfaune ;
- Entre 0,2 et 4 mm, ils appartiennent à la méso-faune ;
- Au-dessus de 4 mm, ils font partie de la macrofaune [9].

• **Principaux groupes microbiens des sols**

1. Bactéries : Cellules unicellulaires procaryotes. Les bactéries sont les plus petites et les plus nombreuses des organismes dans le sol. Il y a plus de 400 genres identifiés et environ 10^4 espèces [10-11]. Les espèces encore inconnues sont plus nombreuses que très probablement celles déjà connues. Cette grande variété des espèces montre la grande complexité des communautés procaryotes présentes au sein de ces écosystèmes, c'est pourquoi, plusieurs scientifiques ont mené plusieurs études portant sur différents types de sols [12-13].
2. Actinomycètes : Bactéries unicellulaires caractérisées par leur forme filamenteuse, elles jouent un rôle important dans la décomposition de la matière organique, elles contribuent ainsi au recyclage des nutriments dans les écosystèmes. Elles sont aussi connues pour leur capacité à produire une variété de métabolites secondaires, nous citons à titre d'exemple, les antibiotiques.
3. Champignons : Ces organismes possèdent une structure filamenteuse, appelée mycélium, qui est composée de longs filaments appelés hyphes. Ces derniers sont constitués de cellules eucaryotes, c'est-à-dire qu'ils possèdent un noyau délimité par une membrane. Le mycélium des champignons est souvent souterrain, il peut s'étendre sur de grandes distances pour former un réseau complexe. Quant aux hyphes, ils sont responsables de l'absorption des nutriments nécessaires à la croissance du champignon. Ils sécrètent aussi des enzymes qui décomposent la matière organique en substances simples facilement assimilables.
4. Algues et cyanobactéries : Les micro-algues sont des microorganismes photosynthétiques eucaryotes capables de produire de la biomasse à partir de dioxyde de carbone et de l'eau ; la réaction est catalysée par l'énergie solaire qui sera convertie en énergie chimique [14]. Selon Cadoret et Bernard (2008) leur taille varie de quelques micromètres à une centaine

de micromètres et leur structure cellulaire est délimitée par une paroi qui contient les polysaccharides. Elles renferment un noyau qui contient le matériel génétique [15].

La membrane plasmique renferme des organites essentiels à son fonctionnement et à son métabolisme, tels que : les chloroplastes, les amyloplast, les oléoplastes et les mitochondries. Le chloroplaste contient les membranes thylakoides, sièges des réactions photosynthétiques, elles renferment tous les pigments photosynthétiques (les chlorophylles, les caroténoïdes et les phycobiliprotéines). En ce qui concerne la forme des microalgues, elles présentent différentes formes à savoir : la forme sphérique (*porphyridium*), la forme en croissant (*Clostridium*), la forme en spirale (*Arthrospira*), la forme d'une gouttelette (*Chlamydomonas*) et la forme d'une étoile (*Staurastrum*) [16].

5. Protozoaires : Ce sont des organismes unicellulaires eucaryotes qui jouent un rôle essentiel dans l'évolution du règne animal. En tant que précurseurs du règne animal, ils ont contribué au développement de formes de vie plus complexes. Il y a des formes libres et d'autres parasites. Ils peuvent vivre dans l'eau ou dans les sols humides ou à l'intérieur d'un organisme. Ils s'adaptent à tous les milieux de vie, et certains sont des parasites qui peuvent être dangereux.
6. Virus : les virus ne sont pas des organismes au sens strict d'êtres vivants. Ils sont mieux classés comme des éléments génétiques ; des particules composées d'un acide nucléique ADN ou ARN généralement entourés par une couche de protéines appelée capsid. Ils ne peuvent pas se reproduire à moins qu'ils ne gagnent l'entrée dans une cellule vivante "hôte" pour se reproduire et se propager. La cellule hôte peut être utilisée comme une usine qui permet de produire de nouvelles particules virales, dont la libération peut causer l'infection d'autres cellules. Le tableau I.2 regroupe les organismes microscopiques contenant dans le sol.

Tableau I.2 Principaux organismes microscopique du sol [17].

Organismes microscopiques	Nombre par m³
Protozoaires	10 ³ à 10 ⁵
Algues	10 ² à 10 ⁴
Bactéries	10 ⁸ à 10 ⁹
Champignons	10 ⁴ à 10 ⁵

I.2.3 Caractéristiques du sol

Le sol joue un rôle important dans les écosystèmes, il fournit les nutriments essentiels à l'ensemble de la plante [18]. Les caractéristiques du sol comprennent la granulométrie, la teneur en matière organique, la teneur en argile, le pH, l'humidité, la masse volumique, la porosité, la perméabilité, et les teneurs en éléments chimiques : phosphore, ammoniac, nitrates, nitrites et carbone organique [7]. Parmi ces caractéristiques, certaines d'entre elles sont particulièrement importantes.

a. Granulométrie

La granulométrie du sol est la distribution des différentes tailles de particules présentes dans le sol. Il existe de nombreuses méthodes qui permettent la détermination de la granulométrie à savoir : la microscopie, le tamisage, le compteur Coulter, la sédimentation ...etc. Cependant, les opérations de tamisage-sédimentation sont les plus largement utilisées. Elles sont considérées comme l'une des caractéristiques physiques les plus fondamentales car elles font appel à la notion de structure et de texture. En effet, la proportion relative des différentes catégories de particules dans le sol détermine sa texture. La connaissance de la texture du sol est importante en ce qui concerne les propriétés hydriques et thermiques, la sensibilité à l'érosion, les possibilités d'échange de la phase gazeuse et de l'activité microbologique dans les sols. De plus, elle donne accès à d'autres paramètres plus difficiles à mesurer telles que : l'interface air-eau, la distribution de la taille des pores ainsi que le mouvement de l'eau à travers un milieu poreux [19-20-21]. Lorsque les propriétés du milieu doivent être décrites localement, il est nécessaire d'accéder à la distribution des dimensions des grains et des pores.

b. Potentiel hydrogène

Le pH du sol est la mesure de la quantité d'ions H^+ libres dans l'eau du sol. Un sol est dit acide pour un pH inférieur à 6,8 et basique pour un pH supérieur à 7,2. Les sols sont très acides à des pH inférieurs à 5,5 ou très alcalins à des pH supérieurs à 8. Par conséquent, un changement du pH du sol de 6 à 8 correspond à une diminution de 100 fois de l'activité des ions hydrogène ce qui influe sur le mécanisme d'adsorption et de désorption [22]. Le pH affecte la disponibilité ou le déséquilibre des éléments nutritifs, leur toxicité possible, l'activité des organismes pathogènes ainsi que l'activité des micro-organismes.

c. Perméabilité

La perméabilité est l’aptitude d’un milieu à se laisser traverser par l’eau, sous l’action d’un gradient hydraulique. C’est la résistance du milieu à l’écoulement de l’eau qui le traverse. Elle peut être mesurée par le coefficient de perméabilité (ou conductivité hydraulique), K . [13]. Les essais de perméabilité sont réservés pour déterminer la perméabilité des sols dans le dimensionnement des systèmes de dispersion et non pas dans l’évaluation des régimes hydriques du sol. Les sols contenant des zones peu perméables forment des nappes phréatiques perchées pendant les périodes de fortes pluies. Ces nappes phréatiques perchées peuvent entraîner des débits d’effluents saturés, des débits latéraux et/ou transport des effluents à la surface du sol. C’est pourquoi, une compréhension approfondie des caractéristiques de drainage est importante pour déterminer le comportement des effluents dans les sols. Ces caractéristiques sont dues à la complexité de certains facteurs, nous citons à titre d’exemple, la stratification du sol, la perméabilité des différentes zones du sol, la présence de couches successives, et les conditions météorologiques [23]. La perméabilité de quelques sols est donnée dans le tableau I.3.

Tableau I.3 Perméabilité hydraulique de certains sols.

Nature	Ordre de grandeur de K (m/s)	Degré de perméabilité
Graviers moyens à gros	10^{-3} à 10^{-1}	Très élevé
Petits graviers, sable	10^{-3} à 10^{-5}	Assez élevé
Sable très fin, sable limoneux	10^{-5} à 10^{-7}	Faible
Limoneux compact, argile silteuse	10^{-7} à 10^{-9}	Très faible
Argile franche	10^{-9} à 10^{-12}	Pratiquement imperméable

d. Surface spécifique

Les milieux poreux présentent une grande surface interne due à la structure divisée de la matrice solide.

La surface spécifique détermine la quantité des sites qui sont accessibles aux fluides traversant les pores. Elle permet d'évaluer l'efficacité d'un matériau poreux dans différentes applications, comme l'adsorption, la catalyse ou le transfert de matière [24].

La surface spécifique volumique d'un milieu poreux est le rapport entre la surface totale des grains et le volume total du milieu poreux, elle s'exprime en m^2/g .

e. Rapport C/N

Lorsque les sols pollués ont des concentrations en nutriments (C, N, P, K) et les caractéristiques physiques nécessaires à la croissance et à l'activité des micro-organismes impliqués dans la décomposition de la matière organique, aucun ajout de matériau n'est nécessaire. Généralement, pour qu'un polluant particulier soit dégradé, il doit servir de source de carbone/énergie pour une ou plusieurs populations microbiennes impliquées dans le processus. Si le polluant se trouve en présence de faibles concentrations en nutriments ou en manque d'un ou plusieurs nutriments, des nutriments supplémentaires peuvent être ajoutés afin d'assurer une meilleure croissance de la biomasse et par conséquent un rendement significatif de la dégradation des hydrocarbures.

Les nutriments jouent donc un rôle important dans l'activité et le développement des micro-organismes. Ces derniers ont besoin d'un apport en éléments chimiques qui leur permet de se multiplier. Ils peuvent être assimilés, sans transformation digestive par les micro-organismes, ce qui favorise la croissance des bactéries. Ces éléments incluent des nutriments, tels que : N, P, Mg, K, S,.... Les plus importants sont l'azote et le phosphore (N, P) car ils permettent d'établir un équilibre nutritionnel adéquat dans le sol et ils doivent être utilisés à des concentrations appropriées selon un certain rapport carbone/azote et carbone/phosphore.

Le rapport carbone sur azote, C/N renseigne sur le degré d'évolution de la matière organique. Ce rapport constitue un bon indicateur de la vitesse de minéralisation des débris organiques et du processus d'évolution de la matière organique ainsi que l'assimilation des nutriments. Le rapport C/N optimal pour la biodégradation de la matière organique est de 29 [25]. Tandis que le rapport C/N compris entre 25 et 40 permet de réaliser un compostage satisfaisant [26].

f. Humidité

L'humidité du sol se définit comme la quantité d'eau présente dans la zone non saturée, c'est-à-dire la partie du sol située entre la surface et le niveau de saturation.

L'humidité joue un rôle crucial dans le processus de biodégradation des composés organiques. Lorsque le taux d'humidité du sol est inférieur à 2%, la vitesse de biodégradation est limitée [27]. Tandis que pour des taux d'humidité élevés la perméabilité des sols aux gaz est impactée et le transfert de l'oxygène est limité ainsi que le métabolisme microbien aérobie.

Différents taux d'ajustement de l'humidité ont été proposés par plusieurs auteurs, nous citons à titre d'exemple, 10%, 14%, et 60 % [28-29]. Ces valeurs restent dans l'intervalle d'humidité recommandé par Dibble et Bartha [30].

L'humidité présente un intérêt particulier pour la croissance et l'activité microbienne mais également pour la biodisponibilité des nutriments ainsi que l'oxygène et les sources de carbone. Selon Savage et al. (1985) lorsque la teneur en humidité descend en dessous d'environ 40 %, l'activité bactérienne est sévèrement inhibée. Cependant, les champignons et les actinomycètes tolèrent des teneurs en humidité inférieures à celles des bactéries. Globalement, la teneur en humidité est fonction de la structure physique des déchets [31].

g. Température

La température influe sur toutes les réactions métaboliques souvent la croissance microbienne est accélérée lorsqu'on augmente la température. Iqbal et al. (2007) [32] ont étudié l'effet d'une température élevée ($42 \pm 2^\circ\text{C}$) sur l'efficacité de la biorestauration d'un milieu contaminé par les hydrocarbures en utilisant une approche de mésocosmes de laboratoire. Pour cela, ils ont évalué la dégradation de certains hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs) et des phénols dans des sols inondés des plaines côtières. Il ressort que l'utilisation d'une température élevée a conduit à une diminution significative des HAPs totaux et des phénols totaux, le taux de dégradation obtenu est d'environ 84% qui reste supérieure à celui obtenu à une température ambiante ($21 \pm 1^\circ\text{C}$) qui était seulement de 66% et ce après 49 jours de traitement [33]. Une activité microbienne optimale se situe entre 20 et 37°C .

h. Aération

La disponibilité des accepteurs d'électrons constitue un facteur limitant le développement des processus microbiologiques dans les sols. C'est pourquoi, un apport approprié en oxygène joue un rôle important dans les procédés aérobies.

La bioremédiation des sols pollués par les hydrocarbures est plus efficace dans des conditions aérobies ; en raison des phénomènes de transfert pouvant se produire en milieu poreux, tels que : la diffusion dans le fluide et le transport par écoulement du fluide [34]. Une aération excessive peut favoriser la volatilisation et l'entraînement des polluants plutôt que leur biodégradation [35-36]. L'aération forcée est une approche courante pour fournir de l'oxygène

au milieu. Elle permet d'améliorer la croissance microbienne et le taux de dégradation des polluants.

Afin d'assurer une aération appropriée, les systèmes peuvent être conçus en faisant des calculs stoechiométriques et en prenant en considération des taux de biodégradation prévus [37].

Les taux d'aération peuvent être ajustés en fonction des niveaux d'oxygène dans le gaz du sol. Cependant, il n'existe pas de consensus sur les niveaux appropriés d'oxygène dans le système solide-gaz pour une bioremédiation optimale. Certains auteurs ont proposé de maintenir des niveaux en oxygène supérieurs à 15 % [38]. Tandis que d'autres affirment que des niveaux supérieurs à 5 % sont suffisants pour la bioremédiation [37]. Il est à souligner qu'une relation positive a été mise en évidence entre le taux d'aération et la biodégradation des hydrocarbures pour les systèmes en phase de boue [39-40], alors que peu de travaux ont été rapportés pour les systèmes en phase solide [38].

i. Caractéristiques biologiques du sol

Le sol est un milieu vivant et c'est l'une des caractéristiques essentielle qui le différencie d'une roche, où les êtres vivants ne sont présents qu'en surface [41].

En dehors des racines des plantes qui peuvent être considérées comme des organismes vivants à part entière, la diversité et l'importance quantitative des organismes du sol dépasse de très loin ce que l'on peut imaginer [42]. Dans le sol, les microorganismes jouent un rôle essentiel dans les cycles biologiques pourvu que les conditions physico-chimiques soient favorables. Ils participent aussi à la minéralisation et à l'humification de la matière organique.

I.3 Pollution des sols

Un sol pollué ou un site est considéré pollué lorsqu'il contient une large gamme de substances ou de déchets solides, liquides ou gazeux et que cette présence de déchets introduit des risques ou des nuisances pérennes pour la santé de l'homme, les ressources biologiques, et les écosystèmes. Les dépôts des substances polluantes, les pratiques sommaires d'élimination des déchets, les infiltrations, l'utilisation de pesticides, d'engrais chimiques pour la culture du sol, l'épandage de produits chimiques, les retombées dues à des rejets atmosphériques sont à l'origine de ces pollutions. Certaines fractions du sol contribuent dans l'immobilisation des polluants organiques. Elle est réalisée préférentiellement au niveau de la fraction organique des sols, s'ils sont riches en carbone organique, ou bien au niveau de la fraction minérale des sols, s'ils sont pauvres en carbone organique [43].

Un site pollué n'est traité que s'il présente un risque pour la population. Il faut en effet la présence simultanée d'une source de pollution et d'une voie de transfert qui provoque le contact direct ou indirect des polluants avec les populations via les eaux souterraines ou superficielles, les envols de poussières, les transferts vers les aliments et les émissions de vapeurs.

Un site pollué présente un risque pour les populations lorsqu' il combine les trois éléments suivants :

- une source de pollution,
- des voies de transferts,
- la présence de personnes exposées à cette contamination.

I.3.1 Origine de la pollution du sol

La pollution du sol peut être d'origine industrielle, suite à la présence d'une industrie polluante ne prenant pas toutes les précautions nécessaires pour éviter les fuites, avec l'utilisation massive d'engrais ou d'insecticides qui s'infiltrent dans les sols. Les métaux qui dégradent les sols, sont d'origines naturelles ou sont issus de l'activité humaine, tout comme les pesticides employés dans l'agriculture. Outre les métaux, la teneur en hydrocarbures aromatiques polycycliques, HAPs d'origine naturelle dans les sols est inférieure à $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$ [47]. Selon Wilcke, l'origine anthropique est une autre source de présence des hydrocarbures dans les sols [43].

La production pétrolière de l'Algérie s'est établie autour de 191 millions de tonnes en 2022. L'industrie du raffinage met en œuvre différents procédés qui permettent de séparer et de transformer le pétrole brut en un éventail de coupes pétrolières.

Le transport du pétrole et de ses dérivés augmente le risque de déversement accidentel par la corrosion des oléoducs ou la rupture de pipelines contaminant ainsi des hectares de sols le plus souvent voués à l'agriculture d'une part, ou effleurant de nappes souterraines.

I.3.2 Types de pollution

Les types de pollution peuvent être classés en deux catégories à savoir : pollution diffuse et pollution ponctuelle.

a. Pollution diffuse

La pollution diffuse se développe sur de grandes surfaces de sols, elle résulte généralement de l'épandage des produits solides ou liquides à de faibles concentrations, nous citons à titre d'exemple, les rejets des hydrocarbures dans l'environnement constituent une source de pollution diffuse (les déversements des huiles, les huiles de vidange, la combustion, les gaz d'échappements, ...). Les divers revêtements bitumeux répandus sur certains sols ne sont pas

considérés comme des polluants [44]. De plus, l'emploi d'engrais ou de pesticides en agriculture ou bien les retombées des émissions atmosphériques qui se déposent sur les différentes surfaces, y compris le sol, les plantes, les bâtiments et même l'eau. Ces retombées peuvent se présenter sous deux formes à savoir : humide ou sèche (dépôt de particules ou diffusion gazeuse). La dispersion puis l'accumulation de substances dangereuses dans les sols donnent ainsi des sites uniformément contaminés [45]. Il est à souligner que la pollution diffuse est difficile à détecter, à mesurer et à contrôler par rapport à la pollution ponctuelle en raison de sa propagation sur de grandes surfaces et peut être causée par des facteurs variés.

b. Pollution ponctuelle

La pollution ponctuelle, à l'inverse de la pollution diffuse, se distingue par la présence localisée dans les sols et sous-sols de substances dangereuses non traitées ou mal traitées à des concentrations élevées provenant des effluents industriels, des mines, des eaux usées, etc. Certaines pollutions ponctuelles sont caractérisées par des rejets relativement constants des substances polluantes au cours du temps, tels que les rejets de la raffinerie, alors que d'autres sont des déversements fluctuants, tels que : les fuites, les dépôts de déchets, etc. Non confinées et en fortes concentrations, ces substances donnent naissance à des sites localement contaminés [45].

I.3.3 Principaux types de polluants

Les agents de pollution sont des substances qui sont introduites dans l'environnement et qui affectent négativement la qualité de l'air, de l'eau, du sol, et par conséquent, la santé humaine. Ils peuvent être classés selon leur nature, leur état physique (rayonnement, ionisant, réchauffement artificiel du milieu ambiant dû à une source de chaleur, chimique (substance minérale, organique abiotique et enfin biologique (micro-organismes) [41].

Parmi les polluant chimiques, nous pouvons citer les pesticides, les solvants chlorés, les métaux lourds, les fertilisants (engrais) mais les plus fréquemment rencontrés sont les hydrocarbures pétroliers (essence, fuel, kérosène, gasoil, pétrole brut) et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs).

a. Fertilisants (engrais)

Les fertilisants sont des substances minérales ou organiques dispersées à la surface du sol afin d'accroître la croissance et le rendement des végétaux cultivés. Ils peuvent être des éléments minéraux, des engrais chimiques, etc. Ils permettent aussi d'améliorer les propriétés des sols.

b. Pesticides

Les pesticides sont dispersés intentionnellement dans l'agroécosystème afin de détruire les ravageurs des cultures, ou des forêts des plantes adventices et de contrôler leur propagation. C'est un terme générique qui rassemble les insecticides, les fongicides, les herbicides et les parasitocides. Ils s'attaquent respectivement aux insectes, aux ravageurs, aux champignons, aux mauvaises herbes et aux vers parasites. Leur utilisation étant nécessaire en agriculture afin de répondre à la demande en produits alimentaires qui ne cesse d'augmenter d'une année à une autre. Cependant, l'utilisation excessive des biocides conduit à une contamination certaine de l'environnement. De plus, ils peuvent persister plusieurs années dans l'environnement et par conséquent, pénétrer dans la chaîne alimentaire. Nous citerons le napropamide ($C_{17}H_{21}NO_2$) et l'atrazine ($C_8H_{14}ClN_5$).

c. Métaux lourds

L'expression «métaux lourds» désigne pour les chimistes des métaux de numéro atomique élevé ; de masse volumique supérieure à $5g/cm^3$ [46].

Les métaux lourds tels que : le plomb, le chrome, le zinc, le cuivre, le mercure, le cobalt sont souvent présents dans les sols en raison des différentes activités industrielles, agricoles, etc. Ils peuvent exister dans les sols sous forme de traces à des concentrations inférieures à 1000 ppm [45]. Ils se répartissent sous différentes formes à savoir : échangeables, complexes, associés à des molécules organiques. La forme dépend essentiellement de la composition minéralogique du sol, de la granulométrie, du pH, du potentiel redox et de la teneur en eau et en sels. Ces paramètres influent de façon significative sur les procédés de solubilisation, de précipitation ou d'adsorption des métaux [47-48].

d. Hydrocarbures

Composés exclusivement d'atomes de carbone tétravalents et d'atomes d'hydrogène monovalents, les hydrocarbures sont des composés organiques de formule brute : C_nH_m où n et m sont des entiers naturels. De par leur abondance naturelle, ils font partie des produits chimiques les plus importants et les plus utilisés comme source d'énergie primaire [17]. Ce sont des mélanges complexes qui peuvent contenir des centaines d'hydrocarbures différents à des concentrations variables [18].

Différentes combinaisons des atomes de carbone et d'hydrogène peuvent être réalisées selon deux règles à savoir : addition des atomes de carbone en chaînes ou en cycles, avec des atomes de carbone saturés ou insaturés. Trois séries distinctes d'hydrocarbures peuvent être distinguées : la série aliphatique, la série cyclique et la série mixte, les produits pétroliers contiennent aussi

des traces de composés polaires, tels que : les mercaptans, les alcools, les phénols, les indoles, les pyrroles, etc. Cependant, les composés sulfurés se concentrent dans les fractions lourdes du pétrole brut qui renferment des composés organo-métalliques. Ces composés présentent plusieurs problèmes, à titre d'exemples, nous citons, la corrosion, leur action sur les catalyseurs. Par ailleurs, les hydrocarbures aromatiques sont stables, peu solubles, moins volatils, toxiques, possèdent un caractère mutagène les rendant persistants dans l'environnement [49-50].

Les produits pétroliers sont utilisés généralement comme carburants, lubrifiants ou diluants. Lorsqu'ils sont rejetés dans l'environnement, les constituants du pétrole sont altérés par des mécanismes de biodégradation, d'évaporation, et de lixiviation.

e. Gasoil

Le gasoil est obtenu à partir de la distillation fractionnée du pétrole brut. C'est un mélange d'hydrocarbures de C_{10} à C_{19} avec des points d'ébullition compris entre 150 et 380 °C. Les carburants de type gasoil sont des hydrocarbures liquides issus de la distillation atmosphérique du pétrole brut ou de la distillation sous vide du résidu de la distillation atmosphérique. Il est utilisé largement comme carburant et moyen de chauffage, ce qui en fait une source permanente de pollution des eaux et des sols. Il est composé de 46% d'iso-alcanes et cyclo-alcanes, 24% de n-alcanes et 30% d'autres composés aromatiques. Le naphène constitue la majeure partie des cyclo-alcanes présents dans le gasoil [21]. La structure linéaire et saturée des chaînes aliphatiques du gasoil lui confère l'aptitude à s'auto-enflammer rapidement dès qu'il est injecté dans la chambre de combustion du moteur Diesel. Ce délai d'allumage est caractérisé par la qualité du gasoil utilisé. Ce dernier est conditionné par plusieurs paramètres, nous citons à titre d'exemple, la densité, la viscosité, la volatilité, etc.

Le gasoil est une catégorie intermédiaire entre les légers et les lourds avec une masse volumique, ρ à 15 °C : $820 < \rho < 860$ (kg/m³). Le carbone contenu dans le gasoil est de 86,27 % tandis que l'hydrogène H est de 13,38 %. La figure I.1 illustre le schéma de la colonne de distillation pour le soutirage de la coupe de gasoil.

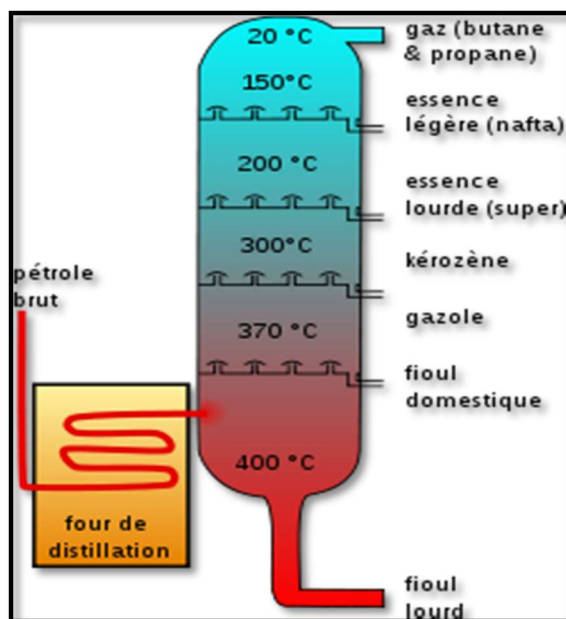


Figure I.1 : Schéma de la colonne de distillation.

- **Toxicité de gasoil**

La toxicité est la capacité d'une substance à provoquer des effets néfastes sur toute forme de vie. Le gasoil peut être mortel en cas d'ingestion et de pénétration dans les voies respiratoires, il peut provoquer une irritation cutanée, il est susceptible de provoquer le cancer, et présente un risque présumé d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées ou prolongées

Il est toxique pour le milieu aquatique et peut entraîner des effets néfastes à long terme pour l'environnement [22].

- **Risques pour la santé humaine**

De nombreux polluants rencontrés dans les sols sont toxiques pour l'homme. Les effets sur la santé dépendent de divers facteurs, dont l'intensité, la fréquence, la présence d'autres polluants et la durée de l'exposition. Les carburants présentent des toxicités plus élevées par comparaison aux produits pétroliers bruts. Il est à souligner que les hydrocarbures à faible poids moléculaire sont toxiques par rapport aux hydrocarbures à haut poids moléculaire. De même, les hydrocarbures aromatiques sont plus actifs par rapport aux composés aliphatiques.

L'exposition de l'homme aux polluants présents dans les sols s'effectue par diverses voies. Certaines de ces voies sont directes, dans le sens où elles impliquent un contact direct avec le sol pollué. Il s'agit de :

1. L'inhalation de poussières de sol, en particulier, lors des activités génératrices de poussières (modification du relief du sol, démolition, construction,...), ou lorsque les sols sont soumis à l'érosion éolienne (sols nus, sols secs exposés au vent,...) ;
2. L'ingestion accidentelle de particules de sol, voie d'exposition qui touche particulièrement les jeunes enfants (marche à quatre pattes, mains portées à la bouche,...).
3. Contact dermique avec le sol, en particulier, lorsque celui-ci contient des polluants organiques car ceux-ci sont susceptibles d'être absorbés par la peau [19].

I.4 Principaux problèmes environnementaux du secteur du raffinage

Les rejets d'hydrocarbures pétroliers dans l'environnement se produisent au cours de leur extraction, traitement, transport, le long du train de manipulation et de traitement des bruts en produits finis, et au cours du stockage et de l'utilisation qui se traduit souvent par une contamination grave et généralisée de l'environnement (sol, eau et air) menaçant ainsi la santé humaine et l'économie. Le tableau I.4 présente certains déversements d'hydrocarbures provoqués par l'industrie pétrolière, selon le Centre de documentation de recherche et d'expérimentation sur la pollution accidentelles des eaux « Cedre ».

Tableau I.4 Certains déversements issus de l'industrie pétrolière (Rapport d'activité du Cedre. (2020)

Situation/Année	Source	Quantité déversée (Tonnes)
Mer de Chine orientale (Janvier 2018)	Tanker MT Sanchi	136 000
Etat Unis (Avril 2017)	Pipeline	
France (Mai 2014)	Oléoduc Seine maritime	3000 m ³
Venezuela (Février 2012)	Oléoduc Rivière Garapiche	80 000 barils
Golfe du Mexique (Avril 2010)	Plate-forme pétrolière Deepwater Horizon	678 000
Corée du sud (Décembre 2007)	Hebei Spirit barge	10500
Ukraine (Novembre 2007)	Volgoneft-139	1300
Cap Finistère Espagne (2002)	PRESTIGE	63000
Golfe de Coscogne	ERIKA	19800

France (1999)		
Pays de Galles (Février 1996)	SEA EMPRESS	73000
Angola (1993)	Cuves de stockage	55000
Ouzbékistan (1992)	Puits	285 000
Koweït (1991)	Guerre du golfe : Puits de pétrole	7 160 000 – 17 900 000
Koweït, Irak, Golfe Persique (1991)	Guerre du golfe : Terminaux pétroliers	700 000 – 1 283 000
Italie (1991)	MT Haven	145 500
Iran (1985)	Son Bong	200 000
Afrique du sud (1983)	Castillo de Bellver	250 000
Golfe du Mexique (1979 et 1980)	Plate-forme Ixtoc	470 000
Libye (1980)	Puits D103	142 800
Trinité-et-Tobago (1979)	Atlantic Empress / Aegean captain	287 000
France (1978)	Amoco Cadiz	227 000
Etats Unis (1910 –1911)	Puits de Lakeview	1230 000

I.5 Pollution par les hydrocarbures en Algérie

L'exploitation du pétrole en Algérie depuis son extraction jusqu'à l'utilisation de ces produits finis entraîne des accidents qui engendrent une contamination plus au moins importante de l'environnement. Selon Chettouh et Hamzi (2014), 21% de ces accidents ont des effets néfastes sur l'environnement [51]. Ladjji. (2010) a étudié la composition organique du sable dans plusieurs régions de l'Algérie, Hassi-Messaoud, Hassi-Bahbah, Laghouat, Touggourt et Ghardaia. Il a trouvé que la région de Hassi-Bahbah présentait la plus grande pollution en n-alcanes avec 66% (C₁₆ à C₃₅), alors que la ville de Laghouat était la plus polluée en HAPs avec une composition de 21,8% entre les composés aromatiques légers et lourds [52].

I.6 Dépollution des sols

La dépollution est un ensemble de procédés ayant pour but l'assainissement ou l'isolement d'un milieu pollué devenu inexploitable pour toutes activités domestiques, agricoles ou industrielles.

C'est une préoccupation majeure, en raison d'une part, de l'impact de cette pollution sur l'environnement et la santé, liée notamment à la propagation des molécules dangereuses dans le milieu et leur transfert dans les nappes phréatiques et dans la chaîne alimentaire, et d'autre part, des coûts exorbitants engendrés par les projets de réhabilitation qui exigent souvent l'excavation des sols et le transport onéreux des terres vers les installations de dépollution.

Les traitements mis en œuvre pour dépolluer les sols sont nombreux. Sur le terrain, les techniques de traitement thermiques et physico-chimiques sont les plus répandues, tandis que, les procédés de traitement biologiques sont souvent considérés comme réservés à une catégorie restreinte de composés comme les hydrocarbures pétroliers légers ou adaptés à des conditions particulières. Les techniques biologiques qui utilisent le pouvoir dépolluant de microorganismes ou de plantes que l'on fait pousser sur le sol contaminé sont connues et utilisées depuis longtemps. Certaines sont mises en œuvre depuis les années 80 et 90 et sont arrivées à maturité, d'autres font l'objet de travaux de recherche et développement telles que l'utilisation des enzymes fongiques. L'intérêt des techniques biologiques réside essentiellement dans le fait qu'elles ne nécessitent ni excavation, ni transport, ce qui rend leur mise en œuvre bien moins coûteuse [53].

I.6.1 Réhabilitation des sols pollués

De nombreuses techniques de réhabilitation ont été développées afin de traiter *in situ* et *ex situ* les sols pour éliminer la pollution. Les buts de ces traitements peuvent être d'éliminer complètement ou non les polluants, d'extraire et de récupérer les polluants pour un traitement ultérieur, de stabiliser les polluants sous des formes moins mobiles ou toxiques, de séparer les fractions polluées de celles non polluées, et enfin d'empêcher leur diffusion vers d'autres écosystèmes. Les techniques de réhabilitation des sols peuvent être classées en deux groupes : les techniques non biologiques qui peuvent être physiques ou chimiques et les techniques biologiques qui se basent sur l'utilisation d'organismes vivants, comme les plantes ou les microorganismes.

I.7 Techniques de dépollution

Les techniques de dépollution sont classées généralement en trois grandes familles : les traitements physiques, chimiques et biologiques, les traitements thermiques font partie des procédés physiques. Selon les cas, les traitements sont effectués sur site ou hors site. Sur site, le sol peut être traité « *in situ* » sans excavation ou « *ex situ* » après excavation. Hors site, il est transporté vers un centre de traitement fixe. Le traitement « *in situ* » est séduisant dans le principe, mais parfois difficile à mettre en œuvre et à contrôler, il homogénéise les

concentrations mais il est consommateur de temps et d'espace. Hors site, le traitement est très efficace en termes de durée et économique pour les petits volumes.

I.7.1 Méthodes physiques

Les traitements physiques consistent soit à immobiliser les polluants, soit à apporter de l'énergie par voie thermique, mécanique ou électrique pour les dégrader ou les extraire. Ils comprennent, notamment, le confinement, la stabilisation, l'incinération, la désorption thermique, le pompage et la volatilisation (ou venting). Les fractions fines qui représentent les fractions les plus polluées sont isolées avant traitement. Le tri granulométrique permet de séparer les différentes fractions des sols. Les polluants, sans être modifiés ou détruits, sont transférés et concentrés, vers des points de récupération en se servant, pour leur transport, de fluides (eau ou gaz) injectés ou présents dans les sols. Deux types de méthodes se sont distingués à savoir : le piégeage et l'excavation.

a. **Procédés par piégeage** : Le confinement consiste à isoler la source de pollution à l'aide de matériaux argileux et/ou synthétiques afin d'éviter sa propagation et la percolation des eaux de pluies dans les zones non-saturées. Il est à noter que les matériaux utilisés n'altèrent pas les propriétés du sol. Ils sont utilisés en couverture, en parois verticales et horizontales, en injections dans le sol ou en enrobage des déchets (encapsulation). En règle générale, le site est recouvert de manière à éviter le lessivage et reste sous surveillance à l'aide de piézomètres. Ce procédé peut être appliqué à tout type de pollutions, tel que : les hydrocarbures aromatiques polycycliques, les polychlorobiphényles, les métaux, etc.

b. **Procédés par excavation** : L'excavation est la méthode la plus simple à mettre en œuvre et qui permet de supprimer rapidement une source de pollution locale. Généralement, les terres excavées sont acheminées vers un centre de traitement spécialisé ou vers un centre d'enfouissement technique. Pour les traiter, le lavage in situ en anglais "**soil flushing**" peut être utilisé. Un schéma classique de traitement consiste à tamiser le sol à sec afin d'éliminer la fraction la plus grossière (diamètre > 4-5 mm). L'eau contenant des agents mobilisateurs est ajoutée et le mélange sol-eau est homogénéisé puis tamisé en plusieurs fractions. Les sables sont séparés des limons et des argiles par des opérations successives d'hydro-cyclonage. Les polluants se concentrent dans les fractions les plus fines que l'on fait flocculer puis passer à l'épaississeur et dans un filtre presse pour être finalement traités. Le lavage in situ peut être employé pour le traitement de polluants organiques et les métaux non-volatils.

- **Pompage et traitement** : Ces méthodes permettent d'extraire les polluants organiques ou minéraux en phase dissoute dans la zone saturée puis de les envoyer vers des zones d'extraction en vue de confiner hydrauliquement la pollution et de procéder à une décontamination en surface de l'eau pompée afin de pouvoir la réinjecter dans le sol. (Figure I.2) ce qui permet de renouveler l'eau dans les pores de la zone saturée. Cette technique traite le panache et non la source de pollution. C'est pour cela, il est important de réaliser au préalable le traitement de la source de pollution. Cette technique nécessite souvent l'ajout de tensioactifs pour favoriser la désorption des hydrocarbures. Elle peut être employée pour des pollutions organiques et minérales sous forme libre ou dissoute.

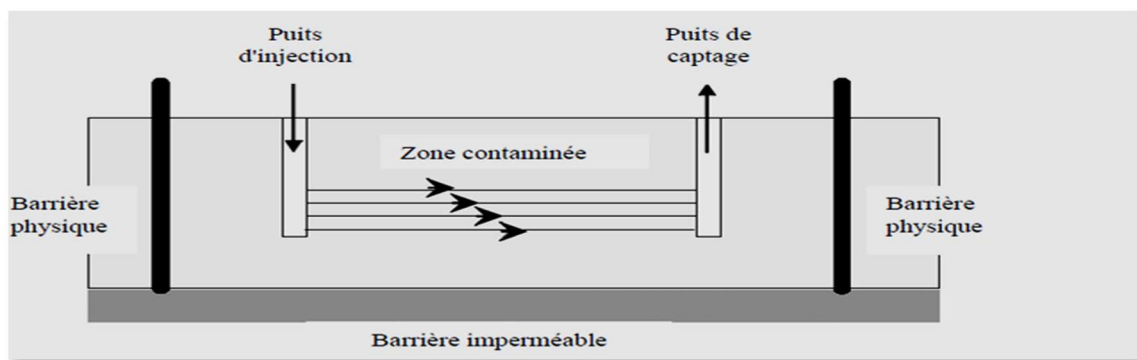


Figure I.2 : Schéma du procédé de pompage et de traitement.

I.7.2 Méthodes thermiques

La dégradation des polluants par voie thermique est une méthode fréquemment utilisée dans les filières de décontamination. L'utilisation des températures supérieures à 100°C peut détruire les composés organiques et le piégeage des composés inorganiques [54]. Elle est efficace pour une gamme très large de produits (à l'exception des métaux) et est une des rares méthodes existante détruisant réellement les produits polluants. Ces méthodes consistent à chauffer le sol contaminé pour en extraire le polluant et le détruire. Deux techniques ex situ sont utilisées à savoir : l'incinération et la désorption thermique.

- a. **Incinération** : C'est une technique de traitement très ancienne. Le sol pollué subit une combustion aérobie dans un four à des températures qui varient entre 870 et 1200 °C. Les polluants sont détruits ou volatilisés.
- b. **Désorption** : La désorption thermique est utilisée pour le traitement des composés volatils ou semi-volatils comme les HAPs (Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques). La volatilisation des contaminants du sol pollué a lieu dans un séchoir le plus souvent rotatif et le sol est chauffé jusqu'à la température d'ébullition des polluants souvent elle

varie entre 250 et 400°C [50]. Un flux gazeux (air ou azote) entraîne les composés volatils vers l'unité de traitement des gaz. L'avantage de cette technique c'est qu'elle permet au sol de conserver certaines de ses propriétés (porosité, texture,...).

I.7.3 Méthodes chimiques

Les traitements chimiques mettent en jeu un réactif pour dégrader ou extraire la pollution. Il s'agit par exemple d'utiliser le procédé d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse, de solubilisation [54]. Ils peuvent être employés en combinaison avec des méthodes physiques, comme le lavage par des solvants ou des tensioactifs. Ils permettent de détruire les polluants ou de les transformer en une forme moins nocive pour l'environnement, par des réactions chimiques entre le polluant et le réactif ajouté. Ils peuvent être applicables *in situ* ou après excavation des sols. La majorité des procédés exigent que les sols soient sous forme de boues ou que les contaminants soient mobilisés dans un milieu liquide. Il est à noter que l'introduction de molécules chimiques dans le sol peut générer une pollution secondaire. Les composés qui sont couramment utilisés sont : le peroxyde d'hydrogène, le peroxyde d'azote, le permanganate de potassium, l'ozone, etc. Quant à l'opération d'extraction, elle utilise des solvants, des surfactants, etc. Selon Ahn et al. (2008), l'utilisation d'un surfactant non ionique, le Brij 30 par exemple, permet de réduire jusqu'à 84,1% de phénanthrène durant l'opération de lavage des sols [55].

Les applications *in situ* se font par aspersion du sol par une solution chimiquement réactive (ex : tensioactif) qui va s'infiltrer dans le sol pour mobiliser le polluant. La solution chargée de polluant est ramenée en surface par des drains ou des pompes dans des puits et est purifiée puis recyclée pour une nouvelle aspersion. Le cycle peut ainsi fonctionner en continu, sur de très longues périodes, avec des apports de solutions neuves en cas de pertes.

I.7.4 Méthodes biologiques

Le traitement biologique consiste à stimuler, voire à créer la dégradation des polluants, sous l'action de micro-organismes unicellulaires, tels que : les bactéries, les champignons et les levures. Ces microorganismes peuvent être indigènes ou rapportés, les composés organiques sont dégradés sous forme de molécules beaucoup plus simples (dioxyde de carbone, méthane, eau) [56].

Ces méthodes permettent de dégrader les polluants par l'action des microorganismes et peuvent être utilisées seules ou en complément d'autres techniques. La décontamination par voie biologique consiste donc à stimuler un phénomène naturel pour en augmenter le rendement afin de détruire le polluant organique utilisé comme source de carbone pour les microorganismes. Il existe aussi des techniques qui combinent l'action des micro-organismes et des plantes.

L'élément limitant le processus de la biodégradation est l'oxygène ; dans la majeure partie le phénomène de biodégradation se réalise en aérobiose en présence de nutriments minéraux, (azote et phosphore). Lorsque la biodégradation est complète, elle est appelée minéralisation [57].

I.8 Biodégradation

La biodégradation est le processus naturel le plus important dans la dépollution de l'environnement marin ou terrestre. Les microorganismes utilisent leurs capacités naturelles pour dépolluer les sols. L'importance de cette dernière apparaît dans l'élimination du pétrole. Certains organismes peuvent utiliser les hydrocarbures pour se nourrir. La biodégradation des composés organiques se produit en conditions aérobie ou anaérobie selon la structure moléculaire et les conditions environnementales. Le potentiel de biodégradation permet de classer les composés polluants en trois catégories : les composés dégradables, les composés persistants qui ne changent pas d'état spontanément et les composés récalcitrants [11].

I.8.1 Bactéries dégradant les hydrocarbures

Les bactéries et les champignons sont capables de dégrader les hydrocarbures. En revanche, la culture de bactéries étant plus rapide, ajouté au fait que les bactéries assimilent mieux certaines molécules, l'usage de ces dernières est préféré.

De nombreux genres bactériens ont été recensés et décrits comme aptes à dégrader des hydrocarbures, nous citons ci-après les plus importants [58] :

Aeromonas - Acetobacter - Achromobacter - Acinetobacter - Actinomyces - Alcaligenes - Alcanivorax - Bacillus - Beneckea - Brevibacterium - Burkholderia - Corynebacterium - Cycloclasticus - Cytophaga - Erwina - Flavobacterium - Klebsiella - Lactobacillus - Leucothrix - Micrococcus - Moraxella - Mycobacterium - Myxobacterium - Nocardia - Peptococcus - Pseudomonas - Rhodococcus - Sarcina - Serratia - Shewanella - Spherotilus - Xanthomonas.

I.8.2 Principe de la biodégradation

Comme tous les êtres vivants, les microbes ont besoin de nutriments, de carbone et d'énergie pour survivre et se multiplier [6]. La biodégradation est un phénomène naturel, c'est la métabolisation de polluants par les microorganismes (bactéries, champignons,...) et dont la croissance s'effectue par l'oxydation du carbone qui est utilisé comme source d'énergie. Cette réaction met en jeu deux autres éléments, l'azote et le phosphore, qui participent à la synthèse

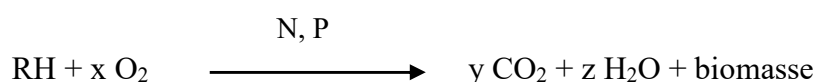
protéique ; lorsque l'oxydant est représenté par l'oxygène, on parle de condition d'aérobiose. Dans le cas d'anaérobiose, l'oxygène est remplacé par les nitrates, les sulfates ou le méthane. Généralement, un contaminant est plus facilement dégradé s'il est naturellement présent dans l'environnement, ou chimiquement similaire à un composé naturel. Les hydrocarbures pétroliers sont des produits chimiques d'origine naturelle et, par conséquent, les micro-organismes qui sont capables de les atténuer ou de les dégrader existent dans l'environnement [11].

I.8.3 Types de biodégradation

a. Biodégradation aérobie

La biodégradation aérobie de la matière organique a lieu en présence d'oxygène. C'est un processus d'oxydation. Les bactéries mises en jeu sont appelées aérobies qui par un processus appelé respiration cellulaire, utilisent l'oxygène pour oxyder des substances telles que : les sucres et les graisses dans le but de produire de l'énergie. Les bactéries aérobies commencent par consommer la matière organique en présence d'oxygène, les sources d'énergie et de carbones constituent alors la matière organique. L'accepteur final est l'oxygène qui est ainsi réduit en eau.

La biodégradation aérobie est généralement plus efficace et plus facile à contrôler que la biodégradation anaérobie. Une dégradation totale des polluants organiques aboutit à la formation d'eau et de CO₂ selon la réaction suivante :



La majorité des hydrocarbures est dégradable par voie aérobie. La dégradabilité des hydrocarbures varie en fonction du nombre d'atome de carbone et de la structure des molécules.

b. Biodégradation anaérobie

Lorsque la teneur en oxygène est réduite (inférieure à 2 %), on retrouve davantage des bactéries aérobies-anaérobies facultatives (l'accepteur final d'électrons peut alors être une molécule endogène) et des bactéries micro-aérophiles. Celles-ci peuvent utiliser l'oxygène mais aussi d'autres éléments tels que : les nitrates, les sulfates ou encore l'oxyde de fer, les bactéries présentes sont donc des bactéries anaérobies strictes. La consommation d'oxygène n'étant plus possibles, les nitrates, les sulfates ou l'oxyde de fer peuvent ensuite jouer le rôle d'accepteurs d'électrons [59].

Les mécanismes mis en jeu au cours de la biodégradation anaérobie de la matière organique pétrolière ne sont que très partiellement élucidés. Les premières études ont été réalisées par Mihelcic et Luthy en 1988, qui ont pu mettre en évidence la minéralisation du naphthalène et de l'acénaphène en conditions anaérobies [60]. La biodégradation anaérobie des hydrocarbures saturés et aromatiques a été mise en évidence par des cultures mettant en jeu des bactéries dénitrifiantes, sulfato-et ferri-réductrices. Widdel *et al.* (2001) [61] ont montré que les micro-organismes utilisent les nitrates, les sulfates et les ions ferriques comme accepteurs d'électrons pour la respiration anaérobie. Boopathy (2004) [62] a étudié la dégradation du gasoil en anaérobie et en présence de différents types d'accepteurs d'électrons à savoir : les sulfates, le nitrogène, les nitrates, les carbonates. L'anaérobiose a été réalisée par un courant d'hélium gazeux, le taux de dégradation maximale atteint était de 81% et ce après 310 jours et en utilisant un mélange d'accepteurs d'électrons.

I.9 Bioremédiation

La bioremédiation est un groupe de méthodes ou procédés destinés à améliorer la dégradation microbienne naturelle des contaminants organiques. Elle est définie comme étant l'utilisation de processus biologiques pour dégrader, décomposer, transformer, et/ou essentiellement éliminer les contaminants ou les déficiences de la qualité du sol et de l'eau. La neutralisation de la pollution organique doit atteindre des concentrations indétectables ou admissibles par les réglementations [6]. Elle est utilisée pour le nettoyage des sols et des eaux souterraines ainsi que des eaux usées et des boues.

La première utilisation de la bioremédiation date de 1989, pour le traitement des sols pollués par le déversement des hydrocarbures en Alaska par l'Exxon Valdez [63]. Depuis elle est utilisée afin d'éliminer divers composés anthropogéniques ou d'origines naturelles présentes dans l'environnement.

Trois principaux ingrédients sont essentiels pour la bioremédiation :

- 1) La présence d'un contaminant ;
- 2) La présence d'un accepteur d'électrons ;
- 3) La présence de micro-organismes qui sont capables de dégrader le contaminant spécifique [6].

I.9.1 Processus liés à la bioremédiation

Il existe plusieurs approches de bioremédiation : celles qui utilisent directement les capacités métaboliques des microorganismes présents dans les environnements pollués, et qui

correspondent à l'atténuation naturelle et à la biostimulation, et celles qui reposent sur l'introduction dans ces sols de microorganismes présentant les capacités métaboliques nécessaires à la dégradation des polluants présents, que l'on nomme la bioaugmentation [64].

a. Atténuation naturelle

L'atténuation naturelle est un processus qui consiste à laisser les bactéries endogènes présentes dans les sols pollués à se développer naturellement afin d'assurer la biodégradation des composés xénobiotiques sans intervention humaine. Cette stratégie biologique est peu onéreuse mais relativement longue par comparaison aux autres techniques de décontaminations. Certains auteurs, notamment, Margesin et Schinner (2001) [65] ont montré qu'une dégradation de 50 % des hydrocarbures peut être atteinte sur une période de traitement estimée à 3 ans d'un site pollué par le gasoil. Le processus de la biodégradation par atténuation naturelle dépend uniquement des conditions naturelles du site. Une diminution significative des teneurs en polluants est alors incertaine et ne peut être envisagée qu'à très long terme.

b. Biostimulation

La stimulation biologique est une méthode d'augmentation de la vitesse des processus de dégradation naturelle. Elle se produit par addition d'éléments nutritifs tels que le phosphore et l'azote à un environnement pollué ce qui permet de stimuler l'activité des micro-organismes qui dégradent l'huile [57]. Il s'agit donc, de modifier les conditions environnementales par adjonction de nutriments, d'eau, de donneurs ou d'accepteurs d'électrons, afin d'améliorer les métabolismes épurateurs, et par conséquent, accélérer les processus naturels de dégradation par voie biologique. Une étude réalisée par Teng *et al.* (2009) [66] ont montré l'efficacité de l'apport d'amidon, de glucose et de succinate de sodium dans l'accélération de la dégradation du phénanthrène et du benzo (a) pyrène. Selon Gan *et al.* (2009) [54], la biostimulation dépend fortement de certains paramètres à savoir : l'hétérogénéité des sols, les microorganismes compétiteurs, les nutriments facilement assimilables.

c. Bioaugmentation

Certaines populations bactériennes endogènes d'un écosystème pollué ont des capacités de dégradation limitées, voir nulles, c'est pour cela, des procédés de bioaugmentation ont vu le jour. Ils consistent à ensemercer le sol avec des microorganismes spécifiques à la dégradation des polluants présents, ce qui améliore le processus de dépollution. Cet ensemençement est réalisé via l'utilisation d'une souche unique, ou d'un groupe de souches appelé consortia [67-68]. Les bactéries spécifiques qui dégradent les contaminants sont donc introduites après la

phase de croissance dans le sol. Lee et al. (2011) [69] ont testé 3 méthodes pour la bioremédiation d'un sol pollué par du gasoil : l'atténuation naturelle, la biostimulation et la bioaugmentation. Il ressort que le traitement par bioaugmentation en employant *Rhodococcus sp.* EH831 a donné de meilleurs résultats. Globalement, ce procédé est crucial lorsque le sol pollué ne renferme pas des dégradeurs spécifiques où les vitesses de décontamination sont limitées.

I.9.2 Procédés de dépollution biologiques

Les procédés biologiques, regroupent deux catégories de traitement, ex situ et in situ, dans tous les cas, ils font appel à la biostimulation réactionnelle, en procurant aux micro-organismes un environnement favorable à leur développement avec ou sans inoculation de consortiums bactériens (bioaugmentation).

I.9.2.1 Traitements in situ

Les traitements « in situ » s'effectuent dans les cas où les polluants se sont pénétrés profondément dans les sols, et se trouvent répartis sur des surfaces importantes, rendant l'excavation trop coûteuse. Ces traitements visent à activer les processus de biodégradation, et à améliorer l'accessibilité des micro-organismes à l'oxygène, parmi lesquels nous citons :

- **Bioventing**

Le bioventing est une technique in situ qui consiste à apporter l'oxygène dans la zone saturée pour permettre la respiration des microorganismes indigènes ainsi que la dégradation des polluants. Cette technique repose sur le renouvellement de l'air injecté dans la zone instauré en l'induisant sur les différents points d'extraction. Cette technique permet de stimuler la biodégradation dans la zone non saturée par apport d'oxygène. Elle est utilisée pour le traitement des composés organiques semi-volatils.

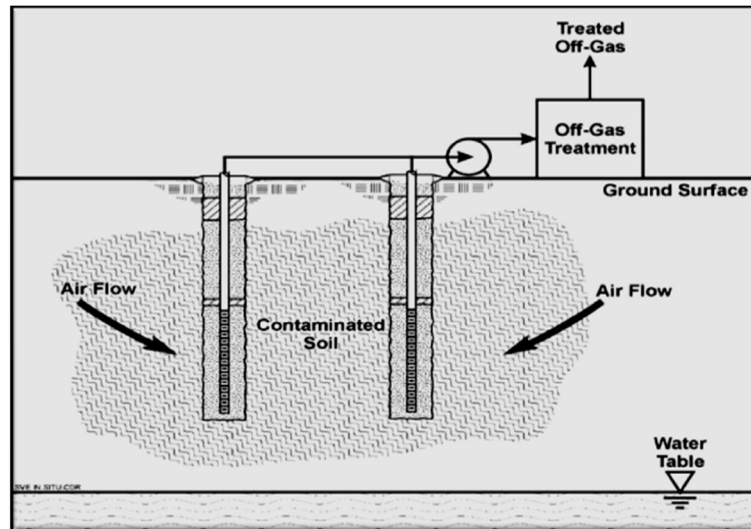


Figure I.3 : Schéma de fonctionnement du bioventing.

▪ **Biosparging**

Le biosparging ou barbotage in situ permet de réaliser un traitement local de la zone saturée. Il consiste à augmenter les teneurs en oxygène dissous dans les eaux souterraines, en injectant de l'air au-dessous du niveau de la nappe sous-terrainne et ce par le biais de puits d'injection. La création de l'interface air/fluides du sol, l'air injecté favorise la volatilisation des composés chimiques volatils. De même, la dissolution de l'oxygène dans la phase aqueuse favorise la biodégradation des polluants présents dans le sol. Cette technique est utilisée pour le traitement des polluants volatils, notamment, les hydrocarbures volatils et les solvants chlorés.

▪ **Biofiltration**

La biofiltration est un procédé qui permet de transférer les polluants volatils véhiculés par l'oxygène ou l'air de la phase gazeuse vers un biofilm. Un biofilm est une matrice solide de type granulaire sur laquelle sont fixés les micro-organismes. Les composés volatils et l'oxygène, présents dans les gaz à épurer, sont transférés de la phase gazeuse vers le biofilm où la biodégradation est réalisée.

▪ **Phytoremédiation**

La phytoremédiation emploie des plantes qui, généralement en association avec les micro-organismes de la rhizosphère éliminent, volatilisent, dégradent, ou fixent les contaminants organiques ou des métaux dans les sols ou les eaux [66]. Les interactions entre les végétaux et les micro-organismes sont complexes, elles peuvent créer des synergies ce qui permet le traitement des polluants organiques. Barati *et al.* (2017) [70] ont étudié l'effet des plantes d'orge et d'avoine contenant le biochar préparé à partir du fumier de volaille, sur la dégradation des

hydrocarbures et la respiration microbienne d'un sol pollué à différentes fractions : 4, 6 et 8 %. Les résultats obtenus ont montré qu'avec des concentrations élevées en TPH, la dégradation des TPH diminue et atteint 95 %.

I.9.2.2 Traitement ex situ

Les traitements ex situ peuvent être utilisés dans le cas où les contaminants ne se sont pas pénétrés trop profondément, les sols peuvent alors être excavés puis traités. Ces méthodes nécessitent l'excavation préalable des sols pollués et surtout leur préparation avant les opérations de traitements. L'utilisation des procédés ex situ permet, la plupart du temps une réduction des durées de traitement. Parmi ces traitements nous citons :

- **Compostage**

Le compostage est une technique ex situ souvent utilisée pour le traitement des sols pollués par les hydrocarbures, elle consiste à mélanger des sols pollués et excavés avec des amendements organiques avec un rapport massique compost/sol allant de 30 à 80% et à les disposer en tas trapézoïdaux (andains) régulièrement espacés, l'augmentation de la température et l'accroissement de la diversité microbienne favorisent la biodégradation des polluants. Les dimensions des piles varient de 2 à 3 m de hauteur [71].

Il est à souligner que l'ajout du compost au sol permet d'une part, un apport en nutriments et en microorganismes, et d'autre part, la stimulation de la flore ainsi que les mécanismes de cométabolismes de la biodisponibilité des contaminants. L'avantage de cette technique c'est qu'elle permet de traiter des polluants récalcitrants.

- **Epandage agricole (Landfarming)**

Le landfarming est une technique simple à mettre en œuvre, elle consiste à traiter les terres polluées dont les contaminants sont épandus sur une dizaine de centimètres et disposées en couches d'épaisseur limitée d'environ 1 m. Les terres sont remuées mécaniquement et périodiquement, ce qui assure ainsi une bonne oxygénation du sol. Cependant, cette technique est limitée par la nécessité d'utiliser des surfaces de terrains importantes.

- **Biopiles (biotertre)**

C'est un compostage élaboré où tous les paramètres biologiques et physico-chimiques sont parfaitement contrôlés. Les matières à traiter sont empilées en tas dans un ordre précis jusqu'à 4 mètres de hauteur. Au-dessus du tas, un dispositif d'aspersion est mis en place ; pour ajouter, l'eau, les nutriments et/ou des micro-organismes.

L'interaction des drains permet l'aération du milieu si l'on souhaite réaliser une dégradation aérobie. La biodégradation ne pourra se produire naturellement qu'en présence d'un apport

suffisant en nutriments et en oxygène. Cette technique a été utilisée pour traiter les sols pollués par les gasoils, les fuels, les kérosènes, etc. Cette technique est limitée par la nature du polluant et la fraction des fines particules du sol.

▪ **Traitements dans les bioréacteurs**

Un bioréacteur est une enceinte fermée à priori conçue pour être le lieu idéal où ont lieu des interactions biologiques notamment en présence de microorganismes. Ces derniers sont de nature différente (bactéries, levures, microorganismes photosynthétiques, etc.). Certaines applications font intervenir une espèce, d'autres, plusieurs espèces qui coexistent dans le même procédé. Afin de se développer, synthétiser des métabolites ou des molécules d'intérêt, ou dégrader un substrat particulier, les microorganismes consomment des substrats, qu'ils soient organiques, minéraux, sous forme liquide, solide ou gazeuse. L'utilisation de bioréacteurs permet de contrôler les conditions de culture (température, pH, aération,...). Les bioréacteurs peuvent être utilisés dans plusieurs domaines : l'agroalimentaire, l'industrie du raffinage et la pétrochimie, le pharmaceutique, ...etc.

Ce procédé peut être appliqué dans le cas des sols pollués par des substances peu biodégradables, comme les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs), et aussi pour des sols généralement difficiles à traiter comme les sols argileux. L'Ademe [63] a indiqué que cette technique est efficace pour des polluants présents à des concentrations comprises entre 2,5 et 250 g/kg. De même, l'utilisation des HAPs à trois noyaux aromatiques conduit à des taux d'élimination de 98 à 99%. Tandis qu'ils diminuent jusqu'à 85-95% lors du traitement des HAPs à quatre noyaux et à 55-85% pour ceux à plus de quatre noyaux. L'avantage de cette technique est de travailler en milieu confiné et de pouvoir optimiser les différents paramètres physico-chimiques afin d'aboutir à des vitesses de dégradation maximales. Les avantages des bioréacteurs peuvent être résumés comme suit :

- Permettent de mettre en place des systèmes de contrôle de pH, de température, d'humidité, et des nutriments, le processus de biodégradation est ainsi bien géré ;
- Facilite le mélange du sol pollué, des micro-organismes, d'une part, des nutriments et l'apport en oxygène, d'autre part ;
- Les temps de réaction peuvent être continuellement contrôlés, en fonction des concentrations mesurées dans le réacteur pour le polluant résiduel et pour les métabolites et la biomasse ;

- Sélection des micro-organismes les mieux adaptés pour le traitement d'une contamination, elle peut être une partie de la flore bactérienne provenant du milieu pollué lui-même ou des souches autochtones qui seront inoculées dans le bioréacteur.

Les bioréacteurs peuvent être utilisés de deux façons :

1. **Bioslurry** : c'est un bioréacteur agité utilisé pour les sols généralement difficiles à traiter par d'autres procédés. Les terres tamisées sont mélangées avec de l'eau enrichie ou non d'azote et de phosphore pour former une boue épaisse dont la teneur en matière en suspension est de l'ordre de 10 à 50% en poids, ce qui permet de maintenir les particules du sol en suspension (figure I.4) [72]. A la fin du procédé, la phase solide est séparée de la phase liquide et le sol est remis en place. Cette technique peut être utilisée pour le traitement des sols pollués par les pesticides, les carburants, les huiles, les HAPs, les polychlorobiphényles, les composés organiques halogénés volatils ou semi-volatils. Cependant, cette technique reste coûteuse par comparaison aux autres traitements biologiques.

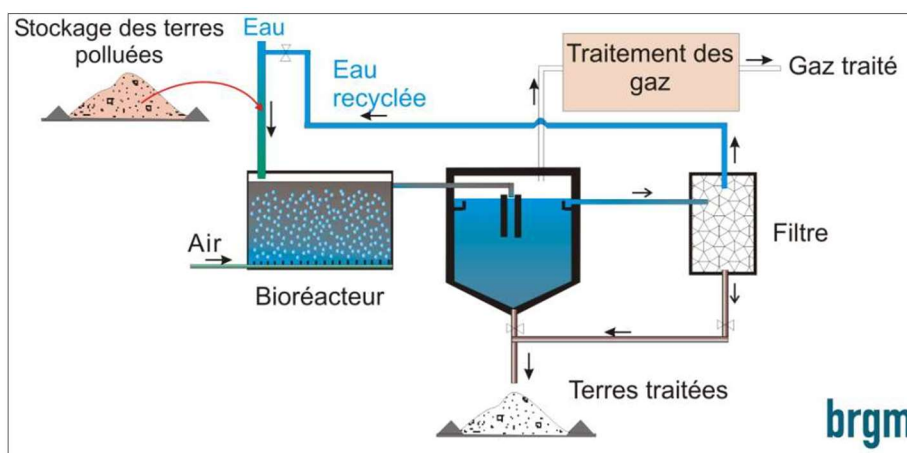


Figure I.4 : Schéma de fonctionnement du bioslurry.

2. Bioréacteur à boues activées

Cette technique exploite les technologies basées sur des phénomènes naturels développés dans des environnements contrôlés, afin de les optimiser. Ces processus sont basés sur des communautés d'organismes vivants, qui dégradent les polluants présents dans le sol, formant un matériau semi-solide (boues) qui peut ensuite être séparé par sédimentation. Elle nécessite le traitement préalable du sol contaminé pour séparer les grosses particules du sol et les

roches des particules fines puis les mélangés avec de l'eau. Les boues sont acheminées dans une série de bassins aérés (Figure 5). Après une ventilation forcée, une série de processus physiques et biologiques sont déclenchés. Après une première phase d'oxydation chimique, les micro-organismes à l'intérieur des bassins sous forme de colonies en suspension forment une série de flocons qui, par des processus physiques, incorporent les solides en suspension et adsorbent les solides colloïdaux. Ces substances, après avoir été incorporées dans les flocons, sont métabolisées par les micro-organismes par des processus biologiques. L'utilisation de ce type de bioréacteur permet d'accélérer considérablement la vitesse de dégradation des polluants. De surcroît, elle offre un potentiel intéressant pour le traitement des polluants récalcitrants (PCB, HAPs) et des composés organiques volatils et sem-volatils [64].

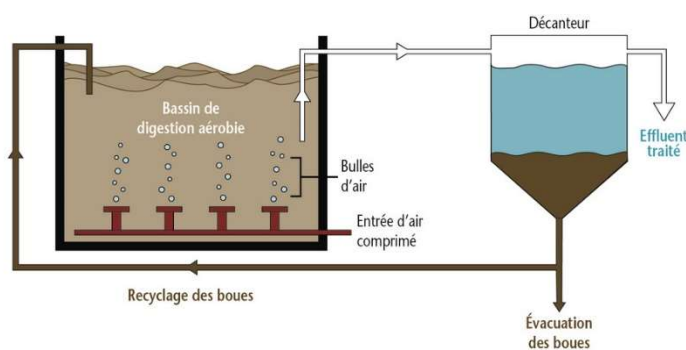


Figure I.5 : Schéma de fonctionnement d'un bioréacteur à boues activées.

I.9.3 Facteurs contrôlant la bioremédiation

Plusieurs facteurs peuvent affecter la bioremédiation des sols, parmi ces facteurs nous citons :

a. Structure et nature du sol

Les bioprocédés s'appliquent à une grande variété de sols. Pour cela, il est important de connaître la structure et la nature du sol. En effet, une forte densité du sol entraîne un mauvais transport de l'oxygène et des nutriments vers la flore indigène du milieu, responsable de la biodégradation. Dans ce cas, le transport des nutriments et de l' O_2 vers la flore indigène est ralenti [73].

b. Composition chimique et concentrations des hydrocarbures.

Les hydrocarbures pétroliers se différencient par leur susceptibilité aux attaques microbiennes. La vitesse de biodégradation est plus élevée pour les hydrocarbures saturés, viennent ensuite les aromatiques légers, les aromatiques à haut poids moléculaire, les composés polaires ayant

la vitesse de dégradation la plus faible [74]. Aussi, la concentration du polluant peut être toxique si elle est trop élevée [73]. Le carbone des hydrocarbures jouant le rôle de substrat pour la croissance des microorganismes, la concentration en polluant ne doit pas non plus être trop faible. Les hydrocarbures doivent être en solution, disponibles pour les microorganismes [69].

c. Taux d'oxygène (aération)

La respiration aérobie semble être le mécanisme primaire pour la biodégradation des hydrocarbures, la concentration en oxygène doit être supérieure à 10 % pour stimuler la dégradation par voie aérobie [75]. Il existe différents moyens pour maintenir l'environnement d'un sol dans des conditions aérobies. L'air peut être introduit dans le milieu poreux en créant une différence de pression soit positive par l'injection forcée, soit négative par extraction sous vide. Le labourage est la technique la plus simple d'aérer un sol. Néanmoins, elle n'est utile que pour la contamination de surface. L'injection d'eau saturée en oxygène ou en air nécessite des volumes d'eau considérables : pour traiter des terres polluées avec 3 g d'hydrocarbures par kilogrammes, il faudra 1 m³ d'eau saturée en air par kilogramme de terre [73].

d. Apport en nutriments (ratio C/N/P)

Les procédés de bioremédiation sont conçus pour optimiser les conditions de croissance microbienne et de la dégradation des contaminants. Les bactéries varient considérablement en ce qui concerne les conditions qui sont nécessaires pour leur croissance optimale [76]. Les nutriments sont indispensables à l'activité et au développement des microorganismes. Ce sont des corps simples qui peuvent être assimilés, sans transformation digestive par les organismes et favorisent la croissance des populations de bactéries. Les plus importants sont l'azote et le phosphore (N, P). Toutefois, les sols avec des ratios C/N/P de 100/10/1 sont recommandés pour la croissance bactérienne optimale. Shabira *et al.* (2008) ont étudié la biodégradation du kérosène dans un échantillon de sol en considérant deux échantillons : T₁, avec une faible concentration en nutriments et T₂ avec une concentration 10 fois plus élevée que T₁. Après 6 semaines de traitement, ils ont constaté que T₁ a donné un rendement de dégradation de 27% qui est inférieur à celui de T₂ qui est de 65% [77].

e. Humidité du sol

L'humidité est un paramètre important dans les processus de dégradation des composés organiques simples ou complexes. Des taux d'humidité inférieures à 2% limitent la vitesse de biodégradation [78]. Inversement, des teneurs trop élevées vont influencer sur la perméabilité des

sols aux gaz et à générer des conditions de limitations de transfert d'oxygène et ainsi limitation de métabolisme microbien aérobie [52].

La description quantitative de la phase liquide repose sur la notion de la teneur volumique en eau ou en humidité volumique, calculée par rapport au volume total du milieu. L'humidité varie entre une valeur minimale, la teneur en eau résiduelle, et une valeur maximale, la teneur en eau à saturation est égale en principe à la porosité.

Toutefois, un sol ne parvient jamais à saturation totale, car il reste toujours des poches d'air occluses. La teneur en eau d'un sol constitue une variable d'état, c'est-à-dire une grandeur variable dans l'espace et dans le temps.

f. pH du sol

L'activité microbienne est largement influencée par le pH. Il doit être situé entre 5 et 9 avec un optimum aux alentours de 7, pour ne pas nuire aux croissances des micro-organismes. Si le pH est acide, il peut favoriser la solubilisation des métaux lourds qui sont très toxiques pour les bactéries [55].

g. Température

La température influence profondément la multiplication microbienne et leur métabolisme. L'échelle de température favorable à une bonne activité microbienne se situe entre 20 et 37°C. Fotinich *et al.* (1999) [79] ont étudié l'effet de l'air et de la température sur le processus de dégradation biologique du diesel, l'augmentation du débit d'air ou de la température améliore considérablement la dégradation. La température influence aussi la vitesse de dégradation des hydrocarbures, ainsi que la nature et la concentration des espèces microbiennes impliquées. Perfumo *et al.* (2007) [80] ont étudié la bioremédiation d'un sol pollué par du hexa décane à 18 et à 60°C. Au bout de 40 jours de traitement, la température la plus élevée a conduit à un taux de dégradation de 57 %, alors qu'à 18°C, ce taux était de 27%. Une diminution de la température est généralement accompagnée par une diminution de la vitesse de biodégradation qui peut être expliquée par une décroissance de l'activité microbienne.

h. Micro-organismes

Les micro-organismes sont des organismes vivants, de taille microscopique et généralement unicellulaires, qui prolifèrent naturellement dans tous les milieux et dans des conditions très variables (température comprise entre 0 et 80 °C, pression allant de 1 à plusieurs centaines de bars, pH de 1 à 12, milieu oxygéné ou strictement anoxique). Dès que des contaminants sont introduits dans un environnement donné, ils interagissent entre eux et avec le milieu

environnant. Ces interactions se traduisent par des changements dans leurs concentrations respectives et leurs distributions dans les différents éléments environnementaux.

i. Accepteurs d'électrons

Les microorganismes se procurent de l'énergie pendant la respiration cellulaire en transférant les électrons depuis un donneur d'électrons vers un accepteur d'électrons. L'accepteur d'électrons est réduit alors que le donneur est oxydé.

L'oxygène est l'accepteur d'électrons le plus répandu dans la nature. On peut citer d'autres substances qui peuvent jouer le rôle d'accepteurs d'électrons, telles que : les nitrates, le fer III, le manganèse IV et dans certains cas les solvants chlorés, le perchloroéthylène (PCE), le trichloroéthylène (TCE) et le dichloroéthylène (DCE).

I.10 Cinétique d'élimination des hydrocarbures

Afin de déterminer les rendements de dépollution des sols contaminés par les hydrocarbures, il est important de disposer des lois mathématiques représentant le comportement biologique et physique relatif à la dégradation d'un polluant. Dans ce cas, il est important de comprendre le procédé mis en place et de tenir compte des paramètres les plus influents du procédé, leurs effets et de les représenter sous forme d'équations mathématiques.

La cinétique d'élimination des hydrocarbures dans le sol sous l'action des micro-organismes (cas biologique) suit le plus souvent une loi exponentielle, la vitesse de dégradation serait du premier ordre. Elle s'exprime par la relation suivante :

$$V = -\frac{dC(t)}{dt} = k \cdot C(t) \quad (1)$$

L'intégration de l'équation (1) conduit à l'expression suivante :

$$\ln \left(\frac{C(t)}{C_0} \right) = -k \cdot t \quad (2)$$

Avec :

k : constante de vitesse d'élimination (J^{-1})

C(t) : concentration de l'hydrocarbure à un temps t (g/kg)

C₀ : concentration initiale de l'hydrocarbure (g/kg)

a. Constantes de vitesse d'élimination

Afin de caractériser la cinétique d'élimination du gasoil dans le sol, nous déterminons les constantes de vitesse k . Pour cela, nous présentons l'évolution de $-\ln\left(\frac{C(t)}{C_0}\right)$ au cours du temps.

b. Constante de vitesse de biodégradation

La biodégradation de l'hydrocarbure engendrée uniquement par l'activité bactérienne est caractérisée par la constante cinétique k_{Biod} , déterminée en considérant la concentration résiduelle C_{Biod} , que l'on injecte dans l'équation (2), nous calculons C_{Biod} par l'équation suivante :

$$C_{Biod} = C_0 - (C_{abiot} - C_{biot}) \quad (3)$$

Avec :

C_{Biod} : Concentration résiduelle de l'hydrocarbure dans le sol à un instant t (g/kg).

I.11 Rendements d'élimination et de biodégradation

Dans les colonnes biotiques nous déterminons les taux d'élimination T_E qui caractérisent l'élimination de l'hydrocarbure sous l'effet combiné de l'aération et de l'activité bactérienne. Dans les colonnes abiotiques nous déterminons les taux d'enlèvement T_{abiot} , l'élimination du carburant, est due dans ce cas uniquement à l'influence de l'aération qui génère un effet de transport et de volatilisation du polluant. Nous déterminons aussi les taux de biodégradation T_{Biod} . Ce paramètre nous renseigne sur l'élimination du carburant sous l'effet exclusif des microorganismes.

T_E , T_{abiot} et T_{Biod} sont calculés à partir des équations suivantes :

$$T_E = (C_0 - C_{biot})/C_0 \quad (4)$$

$$T_{abiot} = (C_0 - C_{abiot})/C_0 \quad (5)$$

$$T_{Biod} = T_E - T_{abiot} \quad (6)$$

Avec :

C_0 : Concentration initiale de l'hydrocarbure dans le sol, g/kg de sol.

C_{biot} : Concentration de l'hydrocarbure dans les colonnes biotiques, g/kg de sol.

C_{abiot} : Concentration de l'hydrocarbure dans les colonnes abiotiques, g/kg de sol.

I.12 Synthèse des travaux antérieurs

La bioremédiation des sols contaminés consiste à stimuler la dégradation des polluants, sous l'action de micro-organismes indigènes ou rapportés. Les microorganismes peuvent agir de deux manières : la première, les composés sont transformés en composés inoffensifs, c'est la biotransformation alors que la deuxième manière consiste à désintégrer les composés en éléments plus petits, ce processus s'appelle la biodégradation. Certains microorganismes peuvent utiliser tout le contaminant pour former le dioxyde de carbone et l'eau, c'est la minéralisation. C'est une méthode des plus rentables et des plus respectueuses de l'environnement pour la dépollution des sols et de l'eau contaminés par le pétrole. Cette technique est devenue largement utilisée pour traiter la pollution par les hydrocarbures pétroliers dans les écosystèmes terrestres et aquatiques.

La dégradation la plus rapide et la plus complète de la majorité des polluants organiques est réalisée dans des conditions aérobies. L'attaque intracellulaire initiale des polluants organiques est un processus oxydant et l'activation ainsi que l'incorporation de l'oxygène constituent la réaction clé enzymatique catalysée par les oxygénases et les peroxydases.

Les facteurs qui affectent l'activité bactérienne et améliorent leurs pouvoir de dégradation sont principalement l'oxygène, la teneur en nutriments, l'adaptation des bactéries au polluant et la température.

Tirandaz *et al.* (2019) [81] ont utilisé des micro-organismes indigènes ramenés d'un site de déversement d'hydrocarbures pour la bioremédiation d'un site pollué par des déchets de forage pétroliers vieilliss. Ils ont utilisé une biostimulation dans des microcosmes, les principales bactéries utilisées sont des Actinobactéries (*Georgenia*, *Brevibacterium*, *Micromonospora* et *Streptomyces*) en particulier, le genre *Georgenia*. Le taux d'élimination des TPHs obtenu était de 45,4 % et ce après 60 jours de traitement.

Hernández-Martínez *et al.* (2018) [82] ont ramené un consortium microbien d'un site de déversement d'hydrocarbures. Le consortium a été adapté au gasoil dans des Erlenmeyer de capacité 500 mL contenant un milieu minéral composé essentiellement de KCl, NaNO₃, MgSO₄. 5H₂O, K₂HPO₄ et du gasoil comme seule source de carbone avec une aération continue à raison de 15 ml/s. Le sol pollué a été traité dans une colonne à bulles de volume égale à 1 L, le rendement d'élimination atteint est de 93,84 % et ce après 15 jours de traitement.

Ozyurek et al. (2017) [83] ont étudié la biodégradation du pétrole brut à 1 % par *Klebsiella pneumoniae* ATCC13883, isolée d'un fluide de forage. La biodégradation a été réalisée dans des Erlenmeyers de 250 mL. L'effet du pH, de la température, l'ajout d'un surfactant appelé Triton X-100 et de l'extrait de glucose et de levure comme nutriments ont été étudiés. Le taux de biodégradation le plus élevé a été de 66,5% obtenu dans les conditions optimales : pH= 7, concentration en pétrole de 1% (v / v) et après 7 jours d'incubation à une vitesse de rotation de 150 tr /min et à une température de 25°C.

Ghavidel et al. (2017) [84] ont utilisé deux souches microbiennes autochtones pour la bioremédiation d'un sol contaminé par du gasoil, le rapport C/N/P a été ajusté à 100/5/1 par ajout d'une solution contenant du K_2HPO_4 et du NH_4NO_3 avec une aération continue réalisée manuellement en utilisant une houe de jardinage, le taux d'humidité est de 60%. Il ressort un rendement d'élimination de 79% après 45 jours de traitement. L'ajout de la sciure de bois à raison de 100g/kg de sol a conduit à un rendement de 93,53%, ce qui signifie que l'ajout de la sciure de bois a amélioré la biodisponibilité du gasoil aux bactéries.

Marchand et al. (2017) [85] ont étudié la biodégradation des HAPs en utilisant 95 souches bactériennes et 160 souches fongiques isolées d'une ancienne usine pétrochimique. L'influence de l'origine du sol, du type de milieu de culture et de la taxonomie des souches a été étudiée. L'ajout d'isolats fongiques appartenant aux groupes des *Sordariomycetes* et les isolats bactériens appartenant aux groupes des *Actinobacteria*, *Betaproteobacteria* et *Gammaproteobacteria* ont montré un fort potentiel de dégradation des HAPs.

Shankar et al. (2014) [86] ont traité un sol pollué par un mélange de trois types d'hydrocarbures (pétrole, diesel et huile moteur). 32 consortiums ont été isolés de 3 sites différents : stations-service, ateliers automobiles et raffineries. La biodégradation maximale atteinte était presque de 100 % et ce après 30 jours de traitement avec le consortium *Trigonella foenum-graecum*, avec des constantes cinétiques allant de 0,051 à 0,077 jour⁻¹.

Sharma et al. (2014) [87] ont étudié la capacité d'une bactérie indigène *Pseudomonas aeruginosa* pour assainir un sol pollué par du gasoil dans des bioréacteurs. 5 bioréacteurs contenant 2,5 kg de sol ont été utilisés. A : sol non contaminé, B : sol contaminé et stérilisé, C : sol contaminé sans aucun ajout, D : sol contaminé avec ajout de nutriments, E : sol contaminé avec ajout de nutriments et ajout de d'inoculum bactérien isolé à partir d'un site pollué. L'ajout

de l'inoculum bactérien *Pseudomonas aeruginosa* a permis d'atteindre un taux d'élimination de 66 % et ce après 30 jours de traitement. L'élimination engendrée par l'évaporation a été estimée à 17 %.

Najirad et al. (2013) [88] ont étudié la bioremédiation d'un sol contaminé par du gasoil à 4 % en utilisant deux types de bactéries prélevées sur le site d'une raffinerie au sud de Téhéran. Le meilleur taux de dégradation obtenu avec les deux bactéries est de 93 % obtenu après 45 jours pour les conditions suivantes : température 27 ± 2 ° C, taux d'humidité de 60% et une aération quotidienne.

Lee et al. (2011) [69] ont testé 03 techniques pour assainir des sols contaminés par du gasoil : l'atténuation naturelle (NA), la biostimulation (BS) en amendant le sol avec un mélange de nutriments composé de $MgSO_4$, $CaCl_2$, KH_2PO_4 , NK_4NO_3 , Na_2HPO_4 et du $FeCl_3$ et la bioaugmentation (BA) en inoculant *Rhodococcus sp. EH831* dans le sol avec ajout d'un surfactant (Tween 80). La bioaugmentation s'est avéré la plus efficace avec des rendements plus élevés. L'ajout du surfactant n'a pas eu d'effets significatifs sur la bioremédiation.

Taccari et al. (2010) [89] ont étudié la bioremédiation d'un sol pollué par du gasoil en utilisant des bioréacteurs à lit fixe, en évaluant l'influence du compost, des surfactants (cyclodextrine) et de l'ajout d'un consortium de bactéries préalablement sélectionnées à partir d'un sol contaminé par du gasoil. L'ajout du consortium a donné la meilleure élimination (96 %) alors qu'avec l'ajout du compost et des surfactants, les rendements étaient plus faibles (80%).

Wang et al. (2011) [56] ont étudié la dégradation du gasoil en utilisant l'effet combiné de la biodégradation et de la phyto-remédiation. Les micro-organismes (*Pseudomonas*, *Alcaligenes*) ont été isolés à partir de marécages situés sur les côtes d'une rivière polluée par des hydrocarbures. Des herbes (*Carex phacota* Spr. (CPS)) ont été utilisées. Après 60 jours, le taux de dégradation du gasoil a varié entre 8,05 et 36,59 % avec les microorganismes, alors qu'en combinant les deux effets, ce taux variait entre 28,28 et 54,94 % selon la concentration initiale du polluant.

Chien et al. (2010) [90] ont étudié les conditions optimales pour la biodégradation d'un hydrocarbure dans des microcosmes contenant un sol contaminé. Les facteurs de contrôle

étudiés étaient : le taux d'oxygène (mettre l'intervalle de variation), l'ajout de nutriments les pourcentages variés, l'ajout de bactéries (tu cites les bactéries utilisées), d'agents gonflants, tels que les copeaux de bois et de riz ainsi que du fumier de poulet comme agent organique. Le meilleur rendement a été obtenu avec l'ajout de nutriments avec un rapport massique sol/inocula égale à 50/1 et d'agents gonflants avec un rapport massique sol/agent gonflant égale 10/1. La constante de vitesse d'élimination $k = 0,015 \text{ jour}^{-1}$ et le taux d'élimination de 85 % sur une période de 155 jours.

Owsianiak *et al.* (2009) [91] se sont intéressés à la biodégradation d'un mélange diesel-biodiesel (Ester de méthyle à 10%) par un consortium microbien isolé à partir d'un site pollué par du pétrole brut. Les micro-organismes ont été cultivés dans un milieu minéral contenant 2% d'un mélange de carbone à une température de 25°C et placé dans un incubateur rotatif pendant 7 jours. Les résultats ont montré que l'ajout de 10 % de biodiesel diminue la biodégradation seulement de 10 % alors que pour des teneurs supérieures à 30 %, une augmentation de la biodégradation peut être observée.

Shabira *et al.* (2008) [77] ont étudié la biodégradation du kérosène dans un échantillon de sol contenant (4% w/w) de kérosène en se servant d'un mélange de cultures bactériennes. Ces auteurs ont sélectionnés deux traitements à savoir : le première traitement T₁ où la concentration en nutriments (Nitrates d'ammonium, Phosphates de potassium, Hydrogénophosphate de potassium) est faibles et le deuxième traitement T₂ où la concentration en nutriments est 10 fois supérieure à celle de T₁. Après 6 semaines de traitement, ces auteurs ont constaté que le premier traitement a permis de dégrader seulement 27% de kérosène alors que dans le second traitement la dégradation était meilleure, elle est de 65%. Les populations bactériennes ont atteint les valeurs maximales, elles sont de 7.10^8 cfu/g et de $9,6.10^8 \text{ cfu/g}$ pour le traitement T₁ et T₂, respectivement.

Nwaogu *et al.* (2008) [92] ont procédé à une bio-augmentation en utilisant un consortium bactérien préalablement isolé d'un site pollué, pour la dégradation du gasoil dans le sol. Après 27 jours de traitement, la teneur du sol en gasoil est passée de 1 mL/20 g de sol à 0,3 mL/20 g de sol, ce qui représente 70% de dégradation.

Perfumo *et al.* (2007) [80] de l'université d'Ulster de l'Irlande ont étudié la bioremédiation d'un sol pollué par du hexa-décane à 1%, la biodégradation a été menée à différentes

températures : 18 °C et 60 °C. Au bout de 40 jours de traitement, l'atténuation à une température de 60°C a donné un taux de dégradation de 57 %, alors qu'à une température de 18°C, le taux d'élimination de l'hexa-décane était seulement de 27 %. L'ajout de fertilisants tels que : N, P, K sous forme d'une solution de NH_4NO_3 et de K_2HPO_4 à 0,5% (v/w) a permis d'augmenter le taux d'élimination de 10% et ce pour les deux températures sélectionnées. En outre, le mode abiotique a été étudié pour la comparaison en stérilisant le sol à une température de 121 °C pendant 30 mn.

Zhi-feng *et al.* (2007) [93] de l'université de Pékin ont étudié la biodégradation en anaérobie des BTEX (Benzène – Toluène – Ethylbenzène – Xylènes) en présence de nitrates, de sulfates et d'ions de fer respectivement à 5 et 10 mg/kg. Chaque hydrocarbure est traité d'abord seul ,puis tous les BTEX sont traités en mélange. Le mélange bactérien utilisé a été enrichi en laboratoire en anaérobie. Il ressort que les nitrates sont les accepteurs d'électrons les plus performants.

Hwang *et al.* (2006) [34] ont utilisé un réacteur à compost pour la dégradation du gasoil sous une aération intermittente, à raison de 100 mL/min selon les modes suivants : 1 heure aération /1 heure repos, 1 heure aération / 3 heures repos, 1 heure aération / 7 heures repos et une aération en continue. Les aérations intermittentes se sont avérées plus efficaces que l'aération continue, la dégradation la plus importante a été obtenue pour le mode 1 h d'aération/3 h repos, avec une constante de vitesse égale à 0,134 jour⁻¹.

Penet *et al.* (2006) [94] ont utilisé des échantillons de sol pollués par du gasoil et inoculés par des micro-organismes provenant de sites contaminés par des hydrocarbures. Ces auteurs ont constaté que le taux d'élimination du gasoil est meilleur lorsque le sol est inoculé par des microorganismes provenant des sites pollués, il est de 80%, comparé à celui inoculé par des microorganismes provenant de sites non contaminés (64%). Globalement, l'adaptation des microorganismes au polluant améliore sa biodégradation.

Huang *et al.* (2005) [95] ont étudié la biodégradation en aérobie et en anaérobie des PEG (Polyéthylène glycol) 600, 6000 et 20000 contenant du K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , $MgSO_4$, NH_4Cl , $NaCl$, de l'extrait de levure, du glucose et du peptone. En mode aérobie les PEG se sont dégradés jusqu'à 80% et ce après 5 jours de traitement. En mode anaérobie, la dégradation est moindre, environ 50% de dégradation est atteinte après 9 jours de traitement lors de l'utilisation du PEG 600, 40% du PEG 6000 après 10 jours de traitement et 80% de PEG 20 000 après 6 jours de traitement. L'apport en oxygène dans le sol a permis de favoriser le transfert de matière du polluant dans le milieu poreux, alors que les micro-organismes utilisent les nitrates, les sulfates et les ions ferriques comme accepteurs d'électrons pour la respiration en anaérobie.

Boopathy (2004) [62] a étudié la biodégradation du gasoil dans le sol pollué à 550mg/kg dans des colonnes en anaérobie. L'anaérobiose a été assurée par de l'Hélium gazeux ; différents types d'accepteurs d'électrons ont été testés (Nitrates, sulfates, fer). Le taux de biodégradation maximale obtenu était de 81% en utilisant un mélange d'accepteurs composés de sulfates, d'azote, de nitrates et de carbonates et ce après 310 jours.

Marchal *et al.* (2003) [96] ont étudié la biodégradation du gasoil dans des systèmes fermés en utilisant des souches bactériennes rapportées d'une boue d'une station d'épuration des eaux urbaines. Il ressort que 60 à 70 % du gasoil ont été dégradés, les n-alkanes ont été totalement dégradés.

Juteau *et al.* (2003) [97] ont étudié la bioremédiation d'un sol pollué par les rejets de pétrole. Les expériences ont été menées dans des Erlenmeyers de volume égale à 1 L, des réacteurs en PVC de 2 L, ainsi que deux bio-piles de 50 m³. Deux sources de bactéries ont été utilisées : la première à partir d'une boue activée, la seconde, des bactéries commerciales. Cette étude a montré que la présence de l'azote a amélioré la dégradation des HAPs au détriment des alcanes.

I.13 Conclusion

La dépollution des sites contaminés est une préoccupation majeure, en raison d'une part, de l'impact de cette pollution sur l'environnement et la santé, liée notamment, à la propagation des molécules dangereuses dans le milieu et leur transfert dans les nappes phréatiques et dans la chaîne alimentaire, et d'autre part, des coûts exorbitants engendrés par les projets de réhabilitation qui exigent souvent l'excavation des sols et le transport onéreux des terres vers les installations de dépollution [62].

Chapitre I. Synthèse Bibliographique

Plusieurs techniques sont utilisées à l'heure actuelle. Toutefois, la diversité des activités industrielles pousse les chercheurs à innover régulièrement dans ce domaine. Les normes d'assainissement du sol sont basées sur la protection de la santé humaine et sur la protection de l'écosystème. Les valeurs critiques de la concentration dans le sol sont calculées sur la base de la toxicologie humaine et d'autres sur la base de l'éco toxicologie.

Chapitre II : Partie expérimentale

II. Partie expérimentale

Ce chapitre consiste à présenter la démarche suivie pour réaliser la décontamination d'un sol pollué par un carburant de type gasoil. Il est composé de deux parties, la première est consacrée à la description de l'installation expérimentale, la caractérisation du sol utilisé, les méthodes de mesure ainsi que les techniques d'analyses utilisées. Quant à la deuxième partie, elle est axée sur l'étude hydrodynamique de l'installation. Cette étude s'est avérée nécessaire pour maîtriser le bon fonctionnement de l'installation et de déterminer les paramètres opératoires les plus appropriés. C'est pour cela, nous sommes intéressés à déterminer le profil du taux d'humidité dans l'échantillon de sol ainsi que l'évolution de la concentration du polluant.

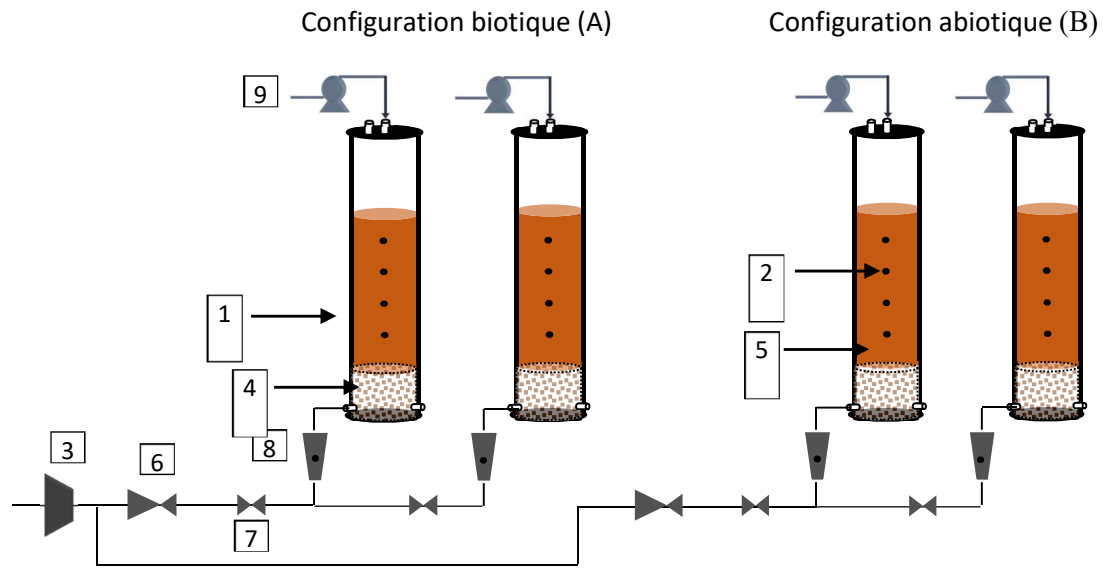
II.1 L'installation expérimentale

L'installation expérimentale est constituée de 11 colonnes cylindriques de 500 mm de hauteur et 80 mm de diamètre interne, avec un volume de 2,5 L chacune. Ces colonnes sont utilisées comme des bioréacteurs pour le traitement biologique des échantillons de sol contaminé par le gasoil. Chaque bioréacteur, pouvant contenir un échantillon de 1200 à 1400 g de sol avec une hauteur de 225 mm environ, est fermé hermétiquement par le haut et par le bas par des couvercles étanches. Le couvercle supérieur est pourvu de deux orifices, le 1^{er} pour alimenter l'échantillon de sol en eau, le 2nd pour l'évacuation de l'air. Le couvercle du bas est doté de deux orifices, l'un pour l'injection de l'air et l'autre pour la récupération éventuelle du surplus d'eau.

Le schéma de l'installation expérimentale est représenté sur la figure II.1. Sur chaque bioréacteur nous avons prévu 04 piquages équidistants de 8 mm de diamètre. Ces piquages servent aux prises d'échantillons de sol pour les différentes analyses. Dans cette étude, deux configurations ont été utilisées à savoir : la configuration (A) et la configuration (B). En effet, dans la configuration (A), le bioréacteur servira pour le traitement du sol pollué en mode biotique et dans la configuration (B), le bioréacteur fonctionne en mode abiotique.

L'apport en oxygène au sein des bioréacteurs a été assuré au moyen d'un compresseur d'air de marque SOFICLEF 100 L. L'injection de l'air se fait en mode ascendant, à travers une matrice perméable constituée de celles de Bern dont le rôle est de répartir uniformément l'air injecté sur tout l'échantillon de sol (5). Le débit d'air est régulé grâce à un système de contrôle constitué : d'un manodétendeur, d'une vanne de régulation et d'un débitmètre à flotteurs de marque Airlitec. L'alimentation en eau et/ou en solutions se fait par le haut en mode descendant grâce à des pompes doseuses péristaltiques de laboratoire série 400.

Afin de vérifier la reproductibilité des résultats expérimentaux, les essais ont été réalisés en double pour chaque configuration.



- | | | |
|------------------------|--------------------------------------|----------------------|
| 1. Bioréacteur | 2. Orifices de prises d'échantillons | 3. Compresseur d'air |
| 4. Selles de Bern | 5. Echantillon de sol contaminé | 6. Manodétendeur |
| 7. Vanne de régulation | 8. Rotamètre | 9. Pompes doseuses |

Figure II.1 : Schéma de l'installation expérimentale

II.1.2 Mode opératoire

Avant chaque essai expérimental, le sable traité par le procédé de biostimulation est analysé afin de déterminer certaines caractéristiques, telles que : la concentration du gasoil, le taux d'humidité, le nombre de bactéries ainsi que les teneurs en azote et en phosphore. Tous ces paramètres seront réajustés aux valeurs expérimentales.

Des échantillons de sable de 1400 g chacun sont pollués au niveau du laboratoire à raison de 10 g de gasoil par kg de sol. Une fois pollué le sol est amendé en azote et en phosphore par une solution de nutriments constituée d'un mélange de chlorure d'ammonium et de phosphates de potassium pour obtenir différents rapports C/N/P 100/10/1, 100/25/1, 100/5/1, 100/10/3, 100/10/0,33 (Cf. Tableau II.1). Chaque échantillon de sol ainsi préparé est mis dans le bioréacteur (Figure II.1). Le taux d'humidité est maintenu à 15 % durant toute l'expérience par ajout régulier d'eau. Chaque bioréacteur est alimenté, en mode ascendant, par un débit d'air constant. L'alimentation en air est assurée par un compresseur d'air ; le débit est régulé grâce à un jeu de vannes et un débitmètre. Les débits utilisés sont égales à 0,25, 0,5, 1, 1,5 et 2 L/min.

Des systèmes abiotiques sont utilisés avec les mêmes conditions opératoires afin de distinguer l'effet de l'activité bactérienne sur l'élimination du gazoil de l'effet de l'évaporation et de l'entraînement généré par l'écoulement de l'air. Une expérience en atténuation naturelle est réalisée ($Q_{\text{air}} = 0$). Les paramètres opératoires sont récapitulés dans le tableau II.1.

Tableau II.1 : Paramètres opératoires en mode biotique et abiotique

N°	Débit d'air (L/min)	Teneur initiale en gazoil (g/kg)	C/N/P
1	0	10	Atténuation naturelle.
2	0,25	10	100/100/1
3	0,50	10	100/100/1
4	1,00	10	100/100/1
5	1,50	10	100/100/1
6	2,00	10	100/100/1
7	0,25	10	100/100/1 (HgCl ₂ 1 %)
8	0,50	10	100/100/1 (HgCl ₂ 1 %)
9	1,00	10	100/100/1 (HgCl ₂ 1%)
10	1,50	10	100/100/1 (HgCl ₂ 1 %)
11	2,00	10	100/100/1 (HgCl ₂ 1 %)

Nous avons suivi l'évolution de la concentration du gazoil, de la population bactérienne et des teneurs en azote et en phosphore pour les différents débits d'air pendant 1 mois environ. Périodiquement, des échantillons de sol sont prélevés pour les différentes analyses.

II.2 Caractérisation du sol

Le sol utilisé pour les expériences est du sable que l'on a ramené de la plage de Bordj El Kiffan située à une vingtaine de km à l'est d'Alger. Nous avons délibérément prélevé le sable à quelques mètres près d'une bouche d'égout. 15 kg de sable ont été séchés à l'air libre pendant 3 jours puis tamisés dans un tamis possédant des mailles de 800 μm . Les particules utilisées sont donc de diamètre inférieur à 800 μm . Avant de caractériser le sol, un sous échantillonnage par la méthode des quartiers selon la norme NF : X 312-412 a été effectué afin d'éviter tout problème d'hétérogénéité.

II.3 Biostimulation

Pour tout traitement biologique des sols pollués par des hydrocarbures, de nombreux auteurs recommandent un minimum de microorganismes de 10^6 ufc/g [69]. Afin d'augmenter la population bactérienne nous avons opté pour une bio-stimulation du sol. En effet, la flore microbienne a besoin d'éléments minéraux pour sa croissance. Ces éléments, notamment l'azote et le phosphore sont nécessaires à la formation des constituants cellulaires lors de la multiplication des micro-organismes ; un enrichissement du sol en azote et en phosphore est donc nécessaire. Selon ECKFORD *et al.* (2002), la pollution des sols par les hydrocarbures entraîne un déficit en azote par rapport au carbone, ce qui peut limiter la biodégradation des hydrocarbures [98]. Pour tout traitement biologique, un enrichissement du sol par le phosphore et l'azote sera donc nécessaire. Par ailleurs, il est connu que la flore microbienne a besoin d'éléments minéraux pour sa croissance, en particulier, l'azote, dont les proportions généralement admises, sont de 10 g d'azote et 1 g de phosphore pour 100 g de carbone. Ces éléments rentrent dans l'édification des constituants cellulaires lors de la multiplication des microorganismes [92].

Dans les environnements aérobies, les éléments limitant les plus susceptibles sont l'azote et le phosphore. Venosa *et al.* (2010) ont noté que l'activité microbienne augmente en réponse à l'application de l'azote et du phosphore [99].

II.3.1 Traitement du sol par biostimulation

L'opération consiste à traiter du sable, préalablement pollué par du gasoil comme source de carbone, par une solution de NH_4Cl , KNO_3 et KH_2PO_4 . Deux échantillons de 04 et 06 kg de sol sont préparés :

- **1^{er} échantillon de masse 4 kg**

Nous avons mélangé 500 mL d'une solution contenant 2 g de NH_4Cl , 1 g de KNO_3 et 0,5 g de KH_2PO_4 avec 4 kg de sable. Une autre solution de 500 mL d'eau à laquelle on a ajouté 10 g de gasoil et l'on a mélangé vigoureusement grâce à une forte agitation magnétique, puis immédiatement déversé sur le sable et mélangé soigneusement. L'échantillon ainsi préparé est placé dans une étuve de marque Memmert à une température de 27 °C. Des ajouts quotidiens de 200 à 300 mL d'eau pour maintenir un taux d'humidité acceptable de l'ordre de 15 %.

Après 10 jours de traitement, nous avons rajouté 700 mL d'une solution constituée de 0,5 g de NH_4Cl , 0,25 g KH_2PO_4 et 10 g de gasoil à cet échantillon. Après 03 jours d'incubation dans l'étuve, la population bactérienne a atteint la valeur de 6.10^6 ufc/g.

- **2^{ème} échantillon de masse 6 kg**

Nous avons préparé un autre échantillon de 6 kg de sable auquel on a ajouté une solution de NH₄Cl (3g), KH₂PO₄ (1,5g), 20 g de sucre (glucose) et 10 g de gasoil. L'échantillon est placé dans une étuve à 27°C, arrosé quotidiennement d'eau et soigneusement mélangé manuellement par une spatule. La population bactérienne a atteint 10⁷ ufc/g après 10 jours.

II.4 Mesures et analyses

Nous allons présenter les différentes techniques de mesure et d'analyse utilisées dans cette étude.

II.4.1 Granulométrie du sol

La distribution granulométrique a été effectuée par tamisage, elle consiste à placer les particules solides dans des tamis comportant des ouvertures calibrées, les particules dont les dimensions sont inférieures à celles des ouvertures traversent le tamis lorsqu'il est en vibration, alors que les plus grosses particules sont retenues, ainsi une particule passe à travers une ouverture de dimension (d₁) et ne passe pas par l'autre ouverture de dimension (d₂) alors le diamètre di moyen (di) sera :

$$di = \frac{d_1 + d_2}{2} \quad (7)$$

Avec

d₁ et d₂ : Diamètres des ouvertures des tamis

II.4.2 Masse volumique du solide

La masse volumique du solide a été déterminée à partir de la méthode du pycnomètre dont le principe consiste à combler les interstices existant entre les particules solides. La masse volumique du solide est définie comme étant le rapport de la masse du solide sur son volume, elle s'écrit :

$$\rho = \frac{m_s}{V_s} \quad (8)$$

Avec

m_s: masse du solide

V_s : volume du solide

II.4.3 Teneur en eau ou humidité du sol

La teneur en eau du sol, exprimée sous forme de fraction massique, est déterminée d'après la méthodologie décrite par la norme **NF X 31-102** intitulée «détermination de l'humidité résiduelle d'échantillons de sols préparés pour analyse ».

Un échantillon du sol de masse connue est séché dans une étuve à une température de 105°C pendant une heure. La différence entre la masse du sol avant et après le séchage représente la masse d'eau du sol. La teneur en eau est alors calculée comme suit :

$$Hu \% = \frac{m_i - m_f}{m_i} * 100 \quad (9)$$

Avec :

Hu: Humidité du sol (%);

m_i : Masse initiale de l'échantillon (g) ;

m_f : Masse de l'échantillon après séchage à 105°C (g).

II.4.4 Perméabilité

La perméabilité du sol est déterminée par perméamétrie à charge constante. Le principe de la méthode consiste à relier le débit de l'eau à la charge constante. Elle est calculée à partir de la relation :

$$k = \frac{V}{t} * \frac{L}{s * h} \quad (10)$$

Avec :

k : coefficient de perméabilité (m/s) ;

V : volume d'eau recueilli (m³) ;

t : temps nécessaire pour recueillir le volume V (s) ;

L : hauteur de l'échantillon (m) ;

S : section de l'échantillon (m²) ;

h : perte de charge à travers l'échantillon (m_{CE}).

II.4.5 Potentiel d'hydrogène (pH)

Le pH est déterminé selon la norme AFNOR X 31-103. On met 5 g de sol dans un bécher de capacité égale à 100 mL, et on lui ajoute 50 mL d'eau distillée. On laisse agiter pendant une demi-heure à une vitesse de 100 tr/min à la température ambiante puis on effectue la lecture du pH à l'aide du pH-mètre.

II.4.6 Extraction du gasoil

Afin de déterminer la concentration du gasoil dans le sol, nous avons utilisé une technique d'extraction solide-liquide en utilisant le dichlorométhane comme solvant d'extraction, la technique se résume comme suit :

Un échantillon de 5 g de sol contaminé est mis dans un bécher de 100 mL, on y rajoute 4 g de sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4). Une première extraction est réalisée à 40°C dans un bain à ultrason de modèle Bioblock scientifique 88155 pendant 10 mn en utilisant 30 mL de dichlorométhane CH_2Cl_2 . Après avoir filtré le mélange dans un ballon, une 2^{ème} extraction est réalisée en utilisant 15 mL de CH_2Cl_2 . Dans un rotavapeur, le mélange solvant-contaminant est évaporé sous vide modérée. La détermination de la quantité de gasoil est obtenue en pesant l'extrait recueilli après évaporation totale du solvant.

Nous avons procédé à plusieurs essais d'extraction du gasoil afin de déterminer la manière qui donne le meilleur rendement de séparation, la procédure adoptée est comme suit :

Des échantillons de sable sont volontairement pollués par du gasoil à des concentrations connues : 2, 3, 4, 5 et 10 g/kg de sol. Après extraction, le mélange solvant-contaminant est évaporé dans un rotavapeur dans une gamme de température allant de 40 à 42 °C à pression atmosphérique pendant une heure, ce qui permet de récupérer le solvant dans un ballon de récupération, ensuite une évaporation sous vide est effectuée pendant 25 min à 30 mn.

II.4.7 Dosage des différents éléments chimiques

Les éléments chimiques du sol dosés sont le phosphore, les nitrates, les nitrites, l'azote ammoniacal et le carbone organique. Le dosage est effectué à l'aide d'un spectrophotomètre (UV/VIS) de type JASCO V-530. L'analyse de l'élément ou du composé est réalisée suite à une complexation de celui-ci avec le réactif ajouté, ce qui développe une couleur. L'intensité de la couleur obtenue et le choix approprié de la longueur d'onde permettent l'analyse de l'élément dans l'échantillon. Les différents principes de réactions de dosage des nutriments sont donnés comme suit :

a. Nitrites

Le dosage des nitrites est effectué selon la norme (NF T 90-013) à l'aide d'un spectrophotomètre (UV/VIS) de type JASCO V-530 à une longueur d'onde égale à 543 nm.

Les ions nitrites en milieu acide ($\text{pH} < 2$) sont dosés avec le réactif amino-4 benzène sulfonamide ($\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NH}_2$) en présence d'acide ortho phosphorique pour former un sel diazoïque, qui donne un complexe de coloration rose indiquant la présence des NO_2^- . La concentration est obtenue à partir de la courbe d'étalonnage représentant la variation de la concentration en fonction de la densité optique.

b. Nitrates

En présence de salicylate de sodium, les nitrates donnent du paranitrosoulate de sodium coloré en jaune et susceptible d'un dosage colorimétrique.

Selon la norme NFT 90-045, en présence de solution étalon avec des gouttes de NaOH à 30% qui, après évaporation seront repris par du H_2SO_4 , du tartrate double de sodium et de potassium et de l'eau distillée, la mesure de l'absorbance des nitrates est effectuée à 420 nm.

c. Azote ammoniacal

(Spectrophotométrie au réactif de Nessler selon la norme (NF 90-015)). Le réactif de Nessler (iodo-mercurate de potassium alcalin) en présence d'ions ammonium est décomposé avec formation d'iodure de di-mercuri-ammonium qui permet le dosage spectrophotométrique des ions ammonium. En présence d'hydroxyde de potassium ou de sodium, il se produit une réaction entre les NH_4^+ et le réactif de Nessler avec formation d'un composé de coloration variante du rouge au brun. La mesure de la DO est effectuée par spectrophotométrie à la longueur d'onde de 420 nm.

L'ajout dans le milieu réactionnel de tartrate double de sodium et de potassium a pour rôle d'éviter la formation d'un trouble dû à l'infiltration du calcium et du magnésium présent dans l'eau.

d. Phosphore

Selon la norme NF 1189, en milieu acide et en présence de molybdate d'ammonium, les ortho phosphates donnent un complexe phosphomolybdique qui est réduit par l'acide ascorbique ce qui développe une coloration bleue susceptible d'un dosage spectrophotométrique. Le développement de la coloration est accéléré par l'utilisation d'un catalyseur, le tartrate double d'ammonium et de potassium. On effectue les mesures à une longueur d'onde égale à 880 nm.

e. Carbone organique (NF P 94-055)

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

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

$$CO(\%) = \frac{(y - x) \cdot 0,615}{P} \quad (11)$$

Où :

- y : quantité en ml de sel de Mohr ayant servi à réduire tout le volume de bichromate de potassium du témoin ;
- x : quantité en mol de sel de Mohr ayant servi à réduire l'excès de bichromate de potassium de l'essai ;
- (y-x) : quantité en ml de sel de mohr ayant servi à réduire le volume du bichromate de potassium qui a servi à oxyder le carbone organique ;
- P : prise d'essai en g.

II.4.8 Analyse microbiologique

Pour déterminer les caractéristiques biologiques du sol, il est nécessaire d'effectuer un dénombrement bactérien. Nous avons utilisé deux méthodes : méthode de dilution et ensemencement sur boîtes de pétries et dénombrement par microscopie optique.

1) Méthode de dilution et ensemencement sur boîtes Pétries

Un échantillon de 1g de sable est mis dans un tube contenant 10 mL d'eau physiologique stérile, la suspension est agitée pendant 20 minutes. A partir de cette suspension, on récupère le lixiviat (solution mère) pour préparer une série de dilutions allant de 10^{-1} à 10^{-9} dans des tubes à essai contenant chacun 9 mL d'eau distillée stérilisée.

▪ **Ensemencement sur boîte de pétri**

En milieu stérile, et devant un bec benzène, on prélève 1 mL de chaque dilution à l'aide d'une micropipette stérile, et on l'introduit dans des boîtes de pétries. On verse ensuite au-dessus de la gélose nutritive.

- **Dénombrement**

Après 24 h d'incubation à 37°C, les colonies développées sont dénombrées à l'aide d'un compteur de colonies de type Funke Gebber Colony star. Nous tenons compte uniquement des boîtes de pétries dans lesquelles le nombre de colonies varie entre 15 et 300 colonies.

Le nombre de germes par millilitre est déterminé en calculant la moyenne arithmétique des résultats obtenus et en tenant compte des facteurs de dilution, selon la formule :

$$N = \frac{d}{v} \quad (11)$$

Avec :

N : nombre des colonies dénombrées en ufc/ml ;

V : volume prélevé (1 mL) ;

d : Dilution.

2) **Dénombrement par microscopie optique**

En plus de l'ensemencement sur boîtes de pétris, nous avons utilisé la méthode du comptage des populations bactériennes sur une cellule de Mallasez grâce à un microscope optique de marque Bresser Biolux. La cellule de Malassez est un hématimètre qui permet de compter le nombre de cellules en suspension dans une solution. C'est une lame de verre sur laquelle a été gravé un quadrillage de 25 rectangles contenant eux-mêmes 20 petits carrés. Elle a été inventée par Louis-Charles Malassez. Pour dénombrer les cellules, nous déposons entre 10 et 15 µl de cellules en suspension sur la cellule de Malassez que l'on recouvre d'une lamelle de verre. Après avoir attendu quelques minutes pour que les cellules sédimentent, nous comptons les cellules dans 10 rectangles (quadrillés). Le volume d'un rectangle quadrillé étant de 0,01 µl, en comptant 10 rectangles, il suffit alors de multiplier le résultat par 10 000 pour obtenir le nombre de cellules par ml.

II.5 Matériel de laboratoire

II.5.1 Tamiseuse

Le tamisage est le passage d'un produit solide ou d'une suspension au tamis pour réaliser la séparation et éventuellement l'analyse granulométrique de certains éléments.

L'écartement des mailles du tamis est généralement compris entre quelques millimètres et quelques micromètres. Les tamiseurs utilisent les vibrations pour filtrer et séparer les particules du sol.

II.5.2 Bain à ultrasons

Le bain à ultrasons est un appareil d'extraction solide-liquide basé sur un système de vibration, il est équipé d'une minuterie, d'un panier pour les échantillons et d'un régulateur de température.

L'échantillon est baigné dans un solvant qui est chauffé à une température adéquate, des ondes à haute fréquence sont ensuite envoyées dans le bain. Des millions de minuscules bulles se forment alors dans le solvant et se chargent de faire la séparation entre le solide et le liquide.

II.5.3 Rotavapeur

Le rotavapeur est un appareil de séparation qui permet de séparer deux constituants liquides, il est équipé d'un bain thermostaté, d'un réfrigérant, d'un ballon recette pour récupérer le solvant et d'un ballon principal pour récupérer l'extrait. Le ballon principal est mis sous vide et chauffé à une température adéquate, il est mis en rotation pour maintenir une température uniforme au sein du mélange à évaporer. Le solvant est récupéré dans le ballon recette.

II.5.4 Balance électronique

Le principe de fonctionnement de ces balances repose sur les variations des caractéristiques électriques de certains matériaux lorsqu'ils sont soumis à des compressions mécaniques. Ces variations électriques sont mesurées et envoyées à un cadran qui permet de donner une indication sur la masse de la charge qui a comprimé le matériau.

II.5.5 Etuve

Une étuve de laboratoire est un appareil de chauffage fonctionnant le plus souvent à pression atmosphérique (parfois sous vide ou sous gaz neutre) avec ventilation, ce qui assure un transfert thermique rapide et une bonne homogénéité permettant d'effectuer divers traitements thermiques à température régulée. Le chauffage peut se faire par convection, le brassage interne de l'air se faisant naturellement (pas de ventilateur), ou avec ventilation, ce qui assure un transfert thermique rapide et une bonne homogénéité de la température.

II.5.6 Spectrophotomètre

C'est un appareil de mesure d'absorbance ou de densité optique d'une substance chimique donnée, généralement en solution. Plus l'échantillon est concentré, plus il absorbe la lumière dans les limites de proportionnalité énoncées par la loi de Beer-Lambert. Le spectrophotomètre est préalablement étalonné sur la longueur d'onde d'absorption de la substance à étudier.

II.5.7 Centrifugeuse

C'est un appareil qui est mis en rotation extrêmement rapide par un moteur électrique. Ce mouvement de rotation produit la séparation de substances de densités différentes tenues en suspension ou en émulsion dans un liquide. Le temps et la vitesse de rotation dépendent des substances à séparer, en générale la vitesse de rotation varie entre 2000 et 4000 tr/min.

II.5.8 Microscope optique

Le microscope optique est un instrument d'optique muni d'un objectif et d'un oculaire qui permettent de grossir l'image d'un objet de petites dimensions et de séparer les détails de cette image (pouvoir de résolution) afin qu'il soit observable par l'œil humain.

II.6 Etude hydrodynamique de l'installation

Nous avons effectué des essais hydrodynamiques sur l'installation expérimentale afin de déterminer certaines caractéristiques hydrodynamiques qui permettent de mieux maîtriser le fonctionnement de l'installation et ainsi de déterminer les paramètres opératoires les plus appropriés pour réaliser la dépollution du sol contaminé par le gasoil.

Un échantillon de 1400 g de sol tamisé dont le diamètre est inférieur à 800 μm est contaminé par du gasoil à raison de 10 g/kg. Le taux d'humidité initial est ajusté à 15 %. L'échantillon ainsi préparé est entassé dans un bioréacteur, la porosité du lit est égale à 0,387. La hauteur du lit de sable est égale à 205 mm.

Dans ce travail, nous nous intéressons à déterminer le profil du taux d'humidité dans l'échantillon de sol ainsi que l'évolution de la concentration du polluant à différentes profondeurs dans le sable.

II.6.1 Profil du taux d'humidité

La teneur en eau du sable est un paramètre très important pour le processus de biodégradation des composés organiques simples ou complexes. Le lit de sable présente une faible porosité ce qui devrait faciliter l'infiltration de l'eau dans le lit de sable. L'eau est introduite par le haut en mode descendant et s'infiltré par gravité, sur toute la hauteur du lit. Quant à l'aération, elle est assurée par injection de l'air par le bas du réacteur en mode ascendant. Afin de suivre l'évolution du taux d'humidité tout au long du lit de sable, nous nous sommes donc intéressés à déterminer le profil de l'humidité durant l'opération de traitement biologique. Nous avons prélevé des échantillons de sable à des intervalles réguliers d'environ une heure aux positions $Z_1 = 25 \text{ mm}$, $Z_2 = 75 \text{ mm}$, $Z_3 = 125 \text{ mm}$ et $Z_4 = 175 \text{ mm}$ (Voir figure II.11). Les débits d'air

appliqués durant le traitement biologique sont 0,50 ; 1,00 et 2,00 (L/min) avec un taux d'humidité initial égal à 15 %.

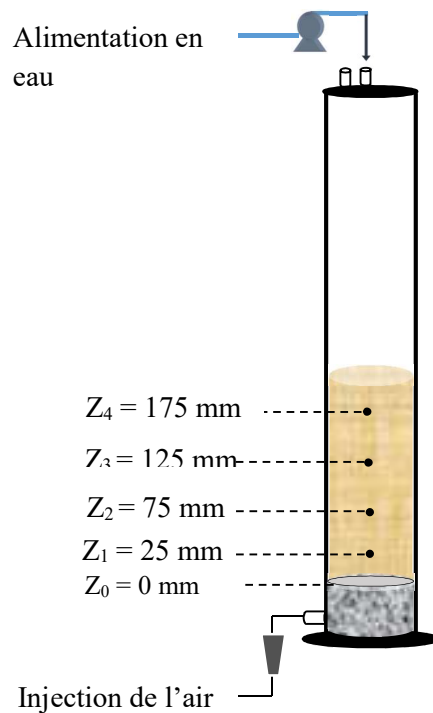


Figure II.2 : Schéma d'un bioréacteur montrant les prises d'échantillons

II.6.2 Profil de la concentration du gazoil

Afin de vérifier la distribution uniforme de la concentration du gazoil dans le sol au cours du temps, nous nous sommes intéressés à suivre l'évolution de cette concentration aux différentes positions Z_1 , Z_2 , Z_3 et Z_4 . Des prises d'échantillons sont effectuées chaque 02 heures pour analyse.

II.6.3 Cinétique de séchage du sable pour différents débits d'air

Afin de maintenir un taux d'humidité constant et égale à 15 % dans le sol durant les différentes opérations de traitement biologique du sol contaminé par le gazoil, nous nous sommes intéressés à suivre la cinétique de séchage du sable. Nous avons donc déterminé le taux d'humidité du sol à des intervalles réguliers, et ce pour les différents débits d'air sélectionnés. Ceci nous permettra de calculer la quantité d'eau nécessaire qu'il faut rajouter pour réajuster ce taux à 15 %. Les échantillons de sol sont prélevés à la position Z_3 . Les débits d'air appliqués sont : 0,5 ; 1 et 2 L/min. Le taux d'humidité initial est égal à 15% et le rapport C/N/P est de 100/10/1.

II.6.4 Perte de charge dans le lit de sable

Afin de déterminer la perte de charge dans le lit fixe, un échantillon de 1400 g de sable est introduit dans le bioréacteur à lit fixe. La hauteur du lit considérée est égale à 205 mm. Les prises d'échantillons (Cf. figure II.11) sont raccordées à des manomètres différentiels à eau. De l'air est injecté à un débit de 1 L/min. Les chutes de pression le long du lit sont lues sur les manomètres.

La perte de charge à travers un lit fixe de particules est donnée par l'équation d'Ergun appliquée en régime laminaire..

$$\frac{\Delta P}{Z} = \frac{150 \mu_g (1-\varepsilon)^2}{\psi^2 d_p^2 \varepsilon^2} V_{fm} \quad (12)$$

avec :

V_{fm} : Vitesse minimale de fluidisation (m/s).

$\frac{\Delta P}{Z}$: Pertes de charge dans le lit (Pa/m).

μ_g : Viscosité dynamique de l'air (kg/m.s).

ψ : Coefficient de sphéricité des particules du sol.

ε : Porosité du lit (%).

d_p : Diamètre moyen des particules du sol (m).

- Détermination de la perte charge

Un échantillon de 1400 g de sable est mis dans le bioréacteur. La hauteur du lit est égale à 205 mm. Les prises d'échantillons (Voir figure II.11) sont branchées à des manomètres différentiels à eau. De l'air est injecté avec un débit de 1 L/min. Les chutes de pression le long du lit sont lues sur manomètres.

- Vitesse de fluidisation minimale

En lit fluidisé, les particules du sol sont en équilibre sous l'action des forces de pression de l'air ascendant et celles du poids apparent du lit, la chute de pression le long du lit est donnée par l'équation 13 :

$$\frac{\Delta P}{Z} = \frac{150 \mu_g (1-\varepsilon)^2}{\psi^2 d_p^2 \varepsilon^2} V_{fm} = (\rho_s - \rho_g) (1 - \varepsilon) g \quad (13)$$

avec :

ρ_s : masse volumique du sable.

ρ_g : masse volumique de l'air.

g : l'accélération terrestre.

II.7 Techniques de séparation

Afin de suivre la concentration du gasoil dans le sol, nous avons utilisé, comme cité précédemment, une technique d'extraction solide-liquide en utilisant le dichlorométhane comme solvant. Pour cela, nous avons effectué plusieurs essais afin de déterminer le meilleur rendement de séparation, nous avons procédé comme suit :

Des échantillons de sable sont volontairement pollués par du gasoil à des concentrations connues : 2, 3, 4, 5 et 10 g/kg de sol. L'extraction du gasoil du sol est réalisé par du dichlorométhane; le mélange solvant-gasoil est évaporé dans un rotavapeur dans une gamme de température allant de 40 à 42 °C à pression atmosphérique pendant une heure, ce qui permet de récupérer le solvant dans le ballon de récupération, ensuite une évaporation sous vide est effectuée pendant 25 min. Cette méthode donne des taux d'extraction qui varient entre 85 et 94 % selon la concentration initiale du gasoil.

Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSION

III. Résultats et discussion

Les sols contaminés par les hydrocarbures peuvent nuire à la santé humaine, à l'environnement ainsi qu'aux micro-organismes du sol, en réduisant leur nombre et leur activité. Les microorganismes du sol aident à rendre les nutriments disponibles pour les plantes. Souvent, la réduction du nombre ou de l'activité des microorganismes affecte également les plantes. Certains hydrocarbures peuvent être absorbés par les plantes et présentent un grand risque pour la faune. À des niveaux élevés de contamination le développement des plantes sera inhibé. Certains produits pétroliers peuvent former des films épais et collants. Ces types de produits pétroliers peuvent obstruer le sol de sorte à ce que l'eau et l'air circulent difficilement vers les racines des plantes, ce qui conduit à la sécheresse des plantes.

L'objectif principale de cette étude est le traitement biologique d'un sol pollué par du gasoil dans un bioréacteur à lit fixe. La maîtrise des paramètres opératoires de fonctionnement de l'installation s'est avérée nécessaire. C'est pourquoi, nous avons mené des expériences dans des bioréacteurs à lit de sable afin de déterminer les conditions opératoires optimales à la biodégradation des hydrocarbures, il faut également que les techniques utilisées fonctionnent avec une bonne efficacité.

Nous nous sommes ainsi intéressés à suivre l'évolution de différents paramètres à savoir : la biomasse, la concentration résiduelle du gasoil, l'azote ammoniacal, les nitrites, les nitrates et le phosphore. L'effet de l'aération continue dans le sol a été considéré car elle est nécessaire pour l'activité microbienne aérobie. Les taux et la cinétique d'élimination du gasoil, en mode biotique et en mode abiotique ont été calculés. Cette approche s'est avérée nécessaire afin d'évaluer la contribution de la flore microbienne dans l'élimination du gasoil dans un milieu hétérogène.

III.1 Caractéristiques du sol et paramètres opératoires

III.1.1 Caractéristiques du sol

Les résultats de la caractérisation physico-chimique du sol sont représentés sur le tableau III.1. Nous remarquons que le sable utilisé pour les expérimentations est constitué de particules grossières de diamètre inférieur à 800 μm et de masse volumique de 2649 kg/m^3 . Selon la classification de Geldart, le sol utilisé appartient à la classe B c.à.d. c'est une poudre sableuse. La perméabilité du sol est considérée comme assez élevée, elle est de 1,34 10^{-3} m/s (Cf. Tableau III.1), ce qui devrait faciliter le transport des fluides dans le sol, les échantillons de sol préparés sont entassés dans les bioréacteurs. ERIKSSON *et al.* (2000) ont étudié l'influence de la structure du sol sur le transport de l'oxygène, ces auteurs ont indiqué que plus le sol est dense,

moins les nutriments et l'O₂ sont transportés vers la flore indigène du milieu responsable de la biodégradation du polluant [73].

Nous remarquons aussi que le pH du sol est de 8,35, il est légèrement alcalin et ayant un taux d'humidité de 0,61 %. La plupart des microorganismes sont capables de se développer dans un intervalle de pH allant de 5 à 9 avec un optimum se situant aux alentours de 7 [6]. Il existe aussi des poches d'air occluses dans le sable. En outre, la composition chimique du sol indique un déficit en éléments azotés et phosphorés, les valeurs obtenues sont de $1,84 \cdot 10^{-5}$, $8,63 \cdot 10^{-3}$, $3,11 \cdot 10^{-4}$ et $1,58 \cdot 10^{-3}$ mg/g pour respectivement, le phosphore, les nitrates, les nitrites et l'azote ammoniacal. Quant à la teneur du sable en carbone organique, elle est de 1,7 mg/g, ce qui conduit à un rapport molaire C/N/P égale à $1/3 \cdot 10^3/8,5 \cdot 10^4$.

Par ailleurs, le nombre de bactéries indigène est relativement faible, il est de $3,14 \cdot 10^4$ ufc/g. Dans les procédés de traitement par voie biologique des polluants à base d'hydrocarbures, de nombreux auteurs recommandent un minimum en microorganismes estimé à 10^6 ufc/g [100]. Dans ce cas, la flore microbienne a besoin d'éléments minéraux pour sa croissance, notamment, l'azote. Ces éléments sont nécessaires à la formation des constituants cellulaires lors de la multiplication des micro-organismes. C'est pour cela, la biostimulation du sol via son enrichissement en azote et en phosphore s'avère nécessaire.

Tableau III.1 : Caractéristiques physico-chimiques du sol.

Caractéristiques	Résultats	Caractéristiques	Résultats
ρ_s (kg/m ³)	2649	Taux d'humidité (%)	0,61
CO (mg/g)	1,7	pH	8,35
COT (mg/g)	43,2	Biomasse (CFU/g)	$3,14 \cdot 10^4$
N (mg/g)	$3,26 \cdot 10^{-3}$	Argile (%)	0
P (mg/g)	$1,84 \cdot 10^{-5}$	Sable grossier (%)	98
C/N	600	Sable fin (%)	1,49
C/P	$2,37 \cdot 10^5$	Porosité (ϵ)	0,387
d_h (μm)	401	d_{ar} (μm)	450

III.1.2 Profil du taux d'humidité dans le sol

La description de l'évolution du taux d'humidité dans un milieu hétérogène repose sur la connaissance de divers paramètres qui dépendent de l'organisation de l'espace des pores du sable ainsi que de la surface spécifique des particules de sable.

L'évolution du taux d'humidité aux différentes positions et pour différents débits d'air est représentée sur les figures III.1, III.2 et III.3. Le taux d'humidité initial est égal à 15 % et le rapport C/N/P est égal à 100/10/1.

Nous remarquons que l'évolution de la teneur en eau varie d'une position à une autre et ce, pour les débits d'air sélectionnés :

- **Débit d'air = 0,5 L/min** : Pour les positions Z_1 et Z_2 et pendant les 3 premières heures de circulation des fluides, la teneur en eau passe de 15 à 28 et 18,5 %, respectivement, elle diminue ensuite de façon régulière jusqu'à 18 et 8 % après 25 heures. Pour les positions Z_3 et Z_4 , la diminution est régulière, elle se stabilise autour de 7 % après 6 heures pour Z_3 et 5 % après 3 heures pour Z_4 .
- **Débit d'air = 1 L/min** : Pour les positions Z_1 et Z_2 , la teneur en eau augmente pendant 3 heures, elle passe de 15 à 22,50 et à 17%, respectivement, et ce sous l'effet combiné de la circulation de l'eau par gravité (mode descendant) et de de la circulation de la phase gazeuse (l'air) en mode ascendant. Ensuite elle diminue de façon régulière, pour atteindre une teneur de 15 et 7%, respectivement et ce après 25 heures de circulation des deux phases dans le lit de sable.

Par contre, pour les positions Z_3 et Z_4 , la teneur en eau diminue de façon régulière, en particulier pour la position $Z_3 = 125$ mm, où l'évolution suit une loi exponentielle durant une première phase d'une durée de 7 heures, puis elle se stabilise ensuite autour de 5%. Pour la position Z_4 , la diminution est plus rapide, elle passe de 15 à 5% environ en trois heures, et se stabilise autour de 5%.

- **Débit d'air = 2 L/min** : Même constat pour la position Z_3 , le teneur en eau diminue de façon régulière jusqu'à 2 % après 25 heures. Pour les positions Z_1 et Z_2 , nous observons d'abord une augmentation suivie d'une diminution régulière.

Globalement, plus la position du sol augmente dans le bioréacteur plus le sol est moins humide et ce pour les débits d'air sélectionnés. Ceci peut être expliqué par la migration de la vapeur d'eau lors de l'ascension de la phase gazeuse dans le lit de sable. La teneur en humidité à faible profondeur peut affecter les activités microbiennes, les réactions chimiques et biochimiques et d'autres phénomènes qui se produisent dans le sol. A proximité de la surface, la teneur en humidité peut être contrôlée par le processus d'évaporation de l'eau.

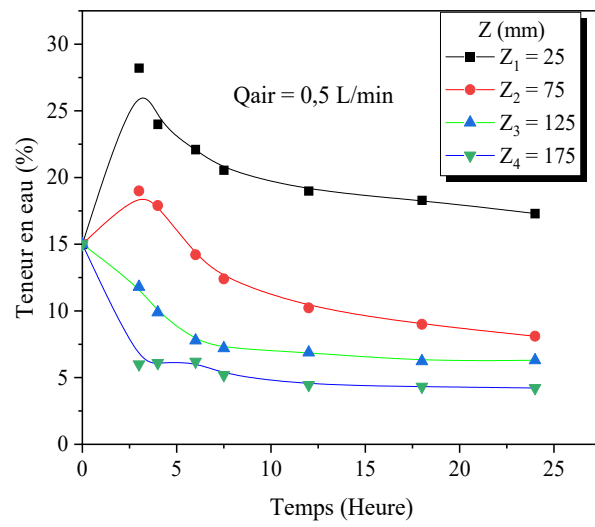


Figure III.1 : Evolution du taux d'humidité aux différentes positions.
 $Q_{air} = 0,5 \text{ L/min}$. Taux d'humidité initial 15 %.

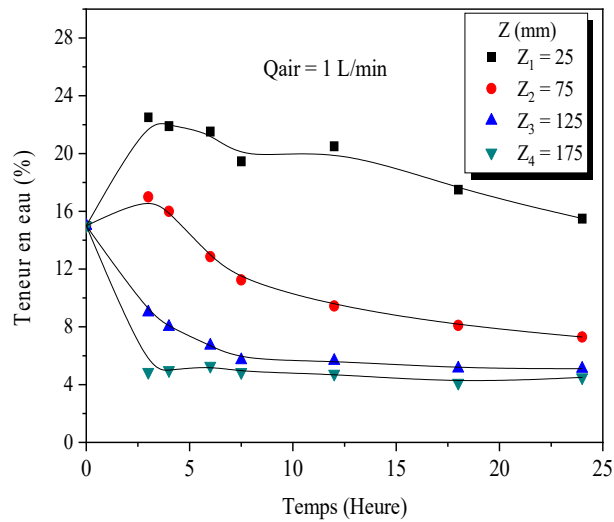


Figure III.2 : Evolution du taux d'humidité aux différentes positions.
 $Q_{air} = 1 \text{ L/min}$. Taux d'humidité initial 15 %.

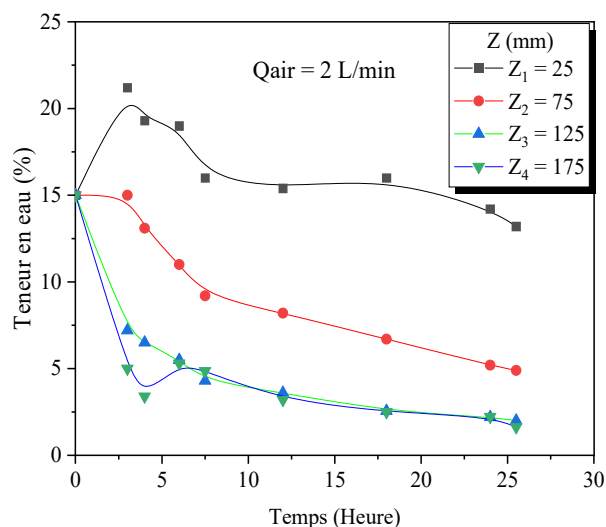


Figure III.3 : Evolution du taux d'humidité aux différentes positions.
 $Q_{\text{air}} = 2 \text{ L/min}$. Taux d'humidité initial 15 %.

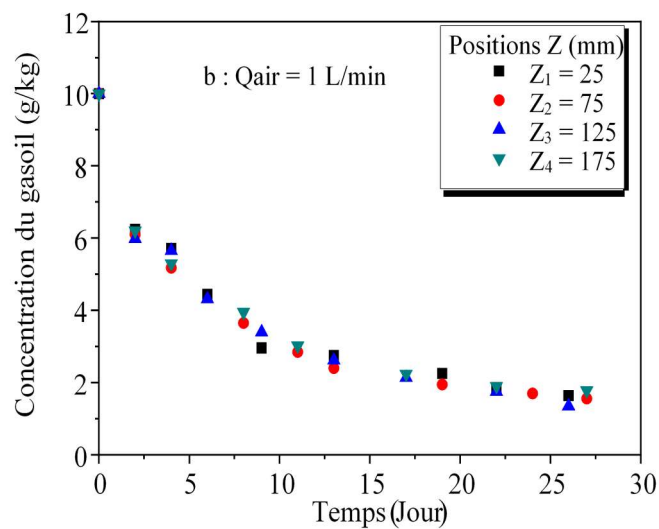
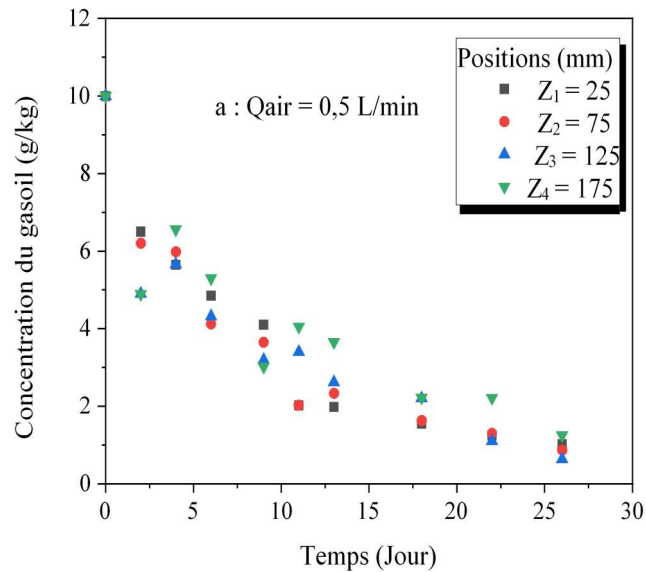
III.1.3 Evolution de la concentration du gazoil dans le lit fixe

Les résultats donnant l'évolution temporelle de la concentration du gazoil dans le sol pour différents débits d'air et à différentes positions sont représentés sur la figure III.4.

Nous remarquons une diminution significative de l'évolution de la concentration du gazoil qui suit une évolution exponentielle et ce pour les différents débits sélectionnés. Nous remarquons aussi que les profils de concentrations du gazoil pour le débit d'air de 1 L/min sont quasiment similaires. La teneur du sol en gazoil passe de 10 g/kg à une valeur comprise entre 1,40 et 1,80 g/kg pour les 04 positions 25, 75, 125 et 175 mm. Dans ce cas, la concentration du gazoil évolue de manière uniforme sur toute la hauteur du lit de sable. L'élimination du gazoil engendrée par l'aération et la biodégradation est pratiquement similaire, l'activité bactérienne dans le sol n'est pas affectée par la position du lit de sable. L'écart spatial entre les positions Z_1 , Z_2 , Z_3 et Z_4 étant faible, son influence est insignifiante. C'est-à-dire l'épaisseur du lit de sable n'as pas d'influence sur la circulation des fluides dans le milieu hétérogène.

Par ailleurs, pour les débits d'air inférieurs ou supérieurs à 1 L/min, nous remarquons que la concentration du gazoil varie selon les positions sélectionnées : à titre d'exemple, pour un débit de 0,5 L/min, la concentration du gazoil passe de 10 à 2, 2,35, 3,4 et 4,00 g/kg pour les positions Z_1 , Z_2 , Z_3 et Z_4 , et après 13 jours de traitement. Pour un débit de 2 L/min, l'écart entre les courbes est plus prononcé, ce qui signifie que la distribution du gazoil au sein du lit de sable n'est pas uniforme pour les faibles et forts débits d'air.

La faisabilité de la technique de traitement biologique dépend fortement de la quantité du polluant utilisé, la perméabilité du sol ainsi que de la facilité du transport des fluides dans le milieu hétérogène. Il est à noter qu'une concentration élevée en gasoil peut entraîner une faible activité microbienne avec une faible ou insuffisante efficacité d'élimination [101]. C'est pourquoi, pour la suite du travail et pour toutes les analyses réalisées, les prises d'échantillons se feront au niveau de la position Z_3 , cette position paraît la plus appropriée.



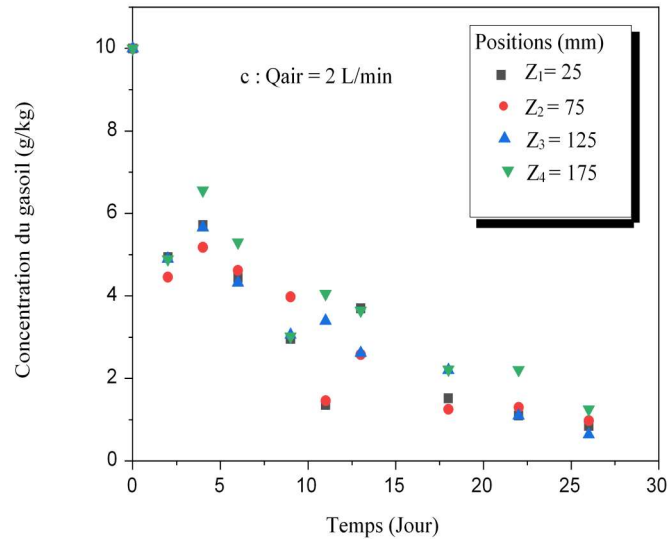


Figure III.4 : Profil de concentrations du gasoil dans le sol. C/N/P = 100/10/1

(a) : Q_{air} = 0,5 L/min. (b) : Q_{air} = 1 L/min. (c) : Q_{air} = 2 L/min.

III.1.4 Cinétique de séchage dans le lit fixe

Les courbes de la cinétique de séchage dans le lit fixe et pour les différents débits d'air sont présentées sur la figure III.5. Il ressort que les courbes d'évolution du taux d'humidité pour les différents débits d'air présentent quasiment la même allure. Nous remarquons la présence de deux phases :

- Une première phase durant laquelle le taux d'humidité chute rapidement. Cette étape dure 7 heures et demie pour les débits d'air de 0,5 et 1 L/min, et 4 heures environ pour le débit d'air de 2 L/min. Durant cette phase, le taux d'humidité diminue de façon régulière, avec des vitesses de séchage de 0,9 ; 1,358 et 2,98 (heure⁻¹) pour respectivement les débits d'air 0,5 , 1 et 2 L/min. Ces vitesses sont élevées pour les forts débits d'air.
- La deuxième phase qui débute à partir de 7 heures et demi jusqu'à 24 heures, durant cette phase, le taux d'humidité varie peu, il passe de 8,40 à 5,60 % et de 5,70 à 4,40 % pour 0,5 et 1 L/min respectivement. Pour le débit 2 L/min, il passe de 5 à 3,10 %. Les vitesses de séchage durant cette phase sont relativement faibles, 0,17, 0,075 et 0,09 h⁻¹ pour les débits d'air 0,5, 1 et 2 L/min respectivement.

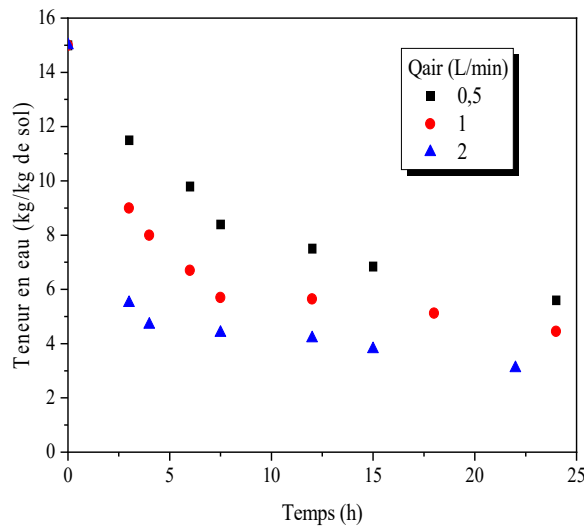


Figure III.5 : Evolution de la teneur du sol en eau à la position Z₃ à différents débits d'air (Ho= 15%).

Les débits d'eau qu'il faut injecter dans le lit de sable pour maintenir un taux d'humidité constant égale à 15 % et compenser la perte d'eau due au phénomènes d'évaporation sont calculés sur la base de ces vitesses de séchage déterminées précédemment. Les résultats obtenus sont donnés sur la figure III.6. Nous remarquons que l'augmentation du débit d'air injecté dans le lit de sable nécessite un débit d'eau plus important, il passe de 0,13 à 0,84 mL/min pour les débits d'air allant de 0,25 à 2 L/min, respectivement. L'augmentation du débit d'air affecte la teneur en humidité et augmente le taux d'évaporation [32].

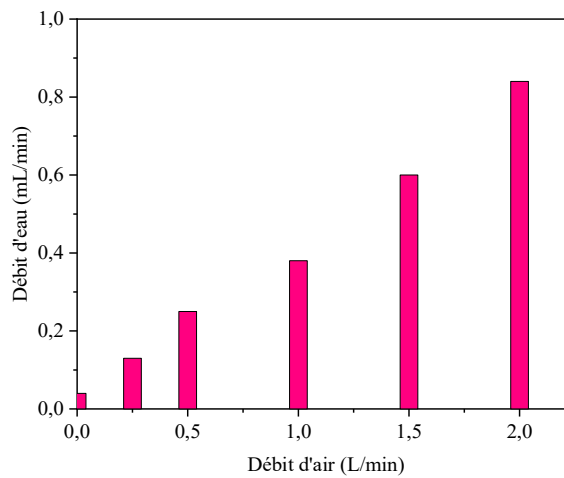


Figure III.6 : Débit d'eau nécessaire pour maintenir un taux d'humidité égal à 15 %.

III.2 Etude hydrodynamique

III.2.1 Pertes de charge dans le lit de sable

Les travaux d'ERGUN ont montré que pour tout régime d'écoulement, les dissipations d'énergie dues aux frottements visqueux et à la turbulence sont additives. La perte de charge à travers un lit fixe de particules peut être déterminée par l'équation d'Ergun appliquée en régime laminaire :

$$\frac{\Delta P}{Z} = \frac{150 \mu_g (1-\varepsilon)^2}{\psi^2 d_p^2 \varepsilon^3} V_{fm} \quad (14)$$

avec :

V_{fm} : Vitesse minimale de fluidisation, m/s.

$\frac{\Delta P}{Z}$: Pertes de charge dans le lit, Pa/m.

μ_g : Viscosité dynamique de l'air, kg/m.s.

ψ : Coefficient de sphéricité des particules du sol.

ε : Porosité du lit, %.

d_p : Diamètre moyen des particules du sol, m.

La chute de pression dans le lit de sable est illustrée sur la figure III.7. L'allure du diagramme de perte de charge indique clairement la linéarité de la perte de charge en fonction de la hauteur du lit de sable. Elle passe de 320 Pa pour une hauteur de 25 mm à 495 Pa pour une hauteur de 175 mm. L'augmentation est prononcée à l'entrée du lit, due probablement à la présence de la matrice de garnissage.

Ce domaine linéaire correspond à un fonctionnement de lit de sable non-cohésif fixe. En suivant la hauteur du lit de sable en fonction du débit d'air, l'expansion du lit reste nulle jusqu'à la vitesse minimale de fluidisation. Il est à noter que les particules de sable sont de classe B, elles ne présentent pas de forces interparticulaires. C'est pour cela, des bulles d'air apparaissent dès que la vitesse minimale de fluidisation est atteinte.

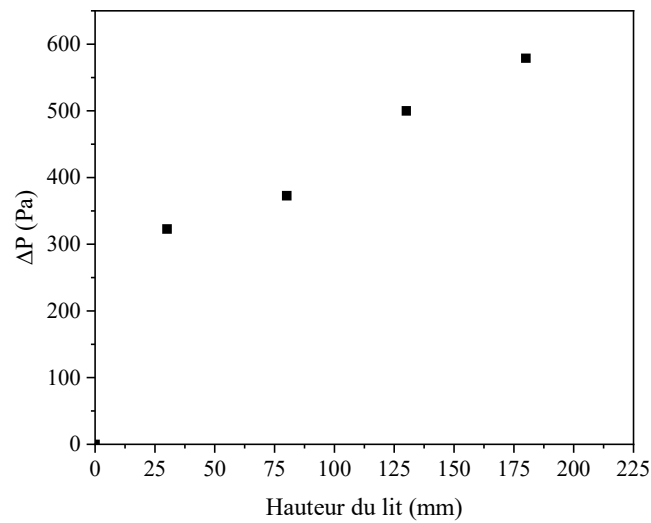


Figure III.7 : Variation de la perte de charge dans le lit de sable en fonction de la hauteur du lit (Pa).

III.2.2 Vitesse de fluidisation minimale

En lit fluidisé, les particules du sol sont en équilibre sous l'action des forces de pression de l'air ascendant et celles du poids apparent du lit, la chute de pression le long du lit est donnée par l'équation 15 :

$$\frac{\Delta P}{Z} = \frac{150 \mu_g (1-\varepsilon)^2}{\psi^2 d_p^2 \varepsilon^3} V_{fm} = (\rho_s - \rho_g) (1 - \varepsilon) g \quad (15)$$

avec :

ρ_s : masse volumique du sable (kg/m^3),

ρ_g : masse volumique de l'air (kg/m^3),

g : l'accélération terrestre (m/s^2),

La résolution de cette équation permet de déterminer la vitesse de fluidisation minimale, V_{mf} qui est de 186 cm/s. Cette vitesse est inférieure à la vitesse de l'air à vide. En effet pour le débit maximal $Q_{\text{air}} = 2 \text{ L/min}$, la vitesse de l'air V_{air} est de 66 cm/s, ce qui confirme que nous sommes bien en lit fixe.

III.3 Effet de l'air sur l'élimination du gasoil et sur l'évolution de la biomasse

L'évolution temporelle de la concentration du gasoil et de la population bactérienne pour un débit d'air de 1 L/min et pour un rapport C/N/P de 100/10/1 illustrée sur la figure III.8. Les expérimentations ont été menées en maintenant un taux d'humidité de 15%.

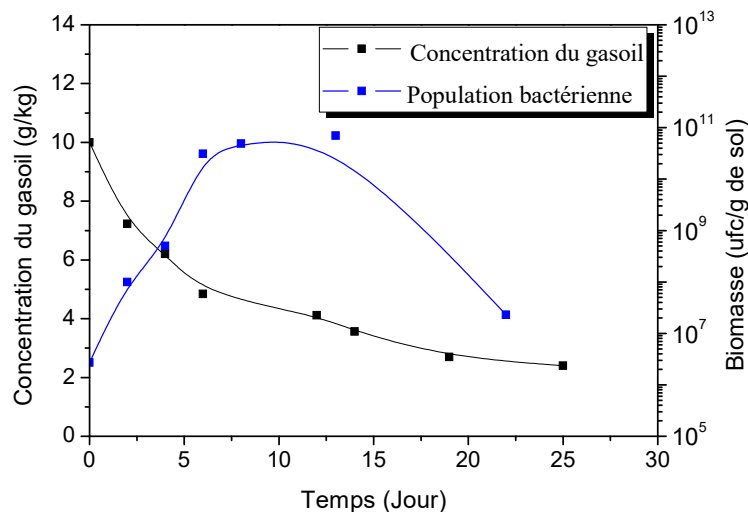


Figure III.8 : Evolution de la concentration du gasoil et de la biomasse.

$Q_{air} = 1 \text{ L/min}$. C/N/P = 100/10/1.

Nous remarquons que l'évolution temporelle de la concentration du gasoil présente une allure exponentielle, ce qui suppose que la cinétique d'élimination du gasoil suit une loi du 1^{er} ordre. Ce qui est en accord avec les travaux de la littérature qui indiquent que la biodégradation des hydrocarbures est régie par un modèle cinétique de premier ordre [100,102] bien qu'un modèle cinétique de second ordre peut donner des résultats statistiquement valable [103].

Nous constatons une forte croissance bactérienne durant la première semaine du traitement biologique accompagnée d'une diminution rapide de la concentration du gasoil ; elle est passée de 10 à 4,80 g/kg, ceci est dû à une forte croissance bactérienne. Au-delà du 7^{ème} jour, la concentration du gasoil continue à baisser mais plus modérément, elle atteint une valeur de 3,75 g/kg au 13^{ème} jour du traitement et se stabilise graduellement jusqu'au 25^{ème} jour autour d'une valeur égale à 2,50 g/kg.

La population bactérienne a évolué rapidement durant la 1^{ère} semaine ; elle est passée de $2,7 \cdot 10^6$ à $3,7 \cdot 10^{10}$ ufc/g. Cette phase active est suivie d'une phase de pseudo stabilité, entre le 7^{ème} et le 14^{ème} jour, durant laquelle le nombre de bactéries est resté pratiquement constant, de l'ordre

de 10^{10} Ufc/g, ensuite il chute rapidement, jusqu'à $2,2 \cdot 10^7$ ufc/g le 22^{ème} jour, c'est la phase de déclin.

La diminution du gasoil et le développement bactérien évoluent de manière concordante. Nous remarquons en effet, que durant la 1^{ère} semaine pendant laquelle l'évolution bactérienne est la plus intense correspond à une diminution rapide du gasoil. Cette phase est suivie d'une période de stabilité bactérienne durant laquelle la diminution du gasoil est plus lente.

La présence de gasoil dans le sol a entraîné une augmentation du nombre total de bactéries par comparaison au sol contaminé empilé initialement dans le bioréacteur, ce qui a favorisé l'activité microbienne des microorganismes indigènes et par conséquent, l'efficacité de bioémédiation. Ces résultats sont en accord à ceux de la littérature où certains auteurs ont évalué l'efficacité du traitement biologique sur des sols pollués par des carburants en utilisant des souches bactériennes indigènes isolées des sols pollués et cultivées à de fortes concentrations en gasoil. Le processus d'inoculation a été répété tous les trois jours [104].

III.3.1 Influence des facteurs biotiques, abiotiques et l'atténuation naturelle sur la concentration du gasoil

La figure III.10 illustre l'évolution temporelle de la concentration du gasoil dans le sol dans le cas biotique, abiotique et l'atténuation naturelle. Le débit d'air est maintenu à 1 L/min, le rapport initial C/N/P = 100/10/1. L'évolution dans le cas de l'atténuation naturelle est présentée sur la même figure à titre de comparaison.

D'après cette figure et dans le cas biotique, la courbe présente une allure exponentielle, en particulier, durant la 1^{ère} semaine. Au cours de cette phase, la croissance bactérienne et la cinétique de diminution du gasoil sont les plus importantes, l'effet combiné de l'activité bactérienne et de l'aération sur l'élimination du gasoil est manifeste, la concentration du gasoil passe de 10 à 4,12 g/kg. Dans le cas abiotique, l'élimination du gasoil est un processus complexe qui repose sur la nature, la composition et la concentration du carburant présent dans le milieu hétérogène. Elle comprend une série d'étapes impliquant l'évaporation et le transport du gasoil provoqué par l'apport en oxygène dans le milieu ainsi que sa minéralisation par des mécanismes de biodégradation spécifiques aux enzymes [105].

Dans le cas abiotique, la courbe présente une allure pseudo-linéaire en particulier, entre le 5^{ème} et le 20^{ème} jour, la cinétique d'élimination est plus lente, la concentration du gasoil passe de 10 à 6,85 g/kg durant la 1^{ère} semaine. Ceci est expliqué par le fait que le gasoil est éliminé selon des phénomènes physiques, tels que : l'entraînement et l'évaporation, conduisant au phénomène

de séchage. Dans le cas abiotique, l'activité bactérienne étant neutralisée par le bactéricide, l'aération mais aussi d'autres phénomènes comme le transport et la convection peuvent provoquer l'élimination du gasoil. Certains auteurs [106] ont rapporté que la perte abiotique en gasoil par volatilisation est de 10% et pourrait atteindre jusqu'à 12% sur une période prolongée de traitement.

Pour le cas de l'atténuation naturelle ; l'échantillon de sol n'a pas été amendé, il a juste reçu une alimentation en eau pour maintenir un taux d'humidité de 15%, la cinétique d'élimination du gasoil est relativement faible par rapport aux cas biotique et abiotique, la concentration du gasoil passe de 10 à 8,20 g/kg durant la 1^{ère} semaine de traitement. Les rendements d'élimination sont de 59, 31,5 et 18 % pour respectivement les cas biotique, abiotique et l'atténuation naturelle.

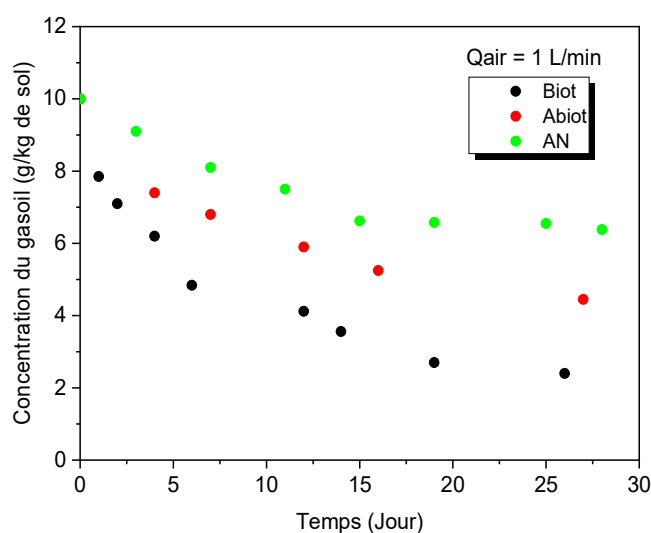


Figure III.9 : Evolution de la concentration du gasoil dans les cas biotique, abiotique et atténuation naturelle. Q_{air} = 1 L/min.

III.3.2 Détermination des constantes de vitesses d'élimination du gasoil

La détermination des constantes de vitesses d'élimination du gasoil en lit de sable fixe a été réalisée en présentant sur la figure III.10 l'évolution de $\ln\left(\frac{C_0}{C(t)}\right)$ au cours du temps.

Les courbes donnant la variation de $\ln(C_0/C)$ au cours du temps pour l'atténuation naturelle et le cas biotique ont chacune l'allure d'une droite passant par l'origine avec des coefficients de corrélation qui varient entre 0,96 et 0,99 ce qui nous incite à dire que la cinétique de dégradation est bien du 1^{er} ordre dans ces deux cas. Les constantes de vitesse déterminées à

partir des pentes sont égales à 0,027 et 1,123 (J^{-1}) pour l'atténuation naturelle et le cas biotique. La valeur de k dans le cas d'une alimentation en flux d'air constant (1 L/min) est presque 5 fois supérieure à celle de l'atténuation naturelle. Dans ce cas, la cinétique de dégradation du gasoil dans le cas biotique est plus rapide par comparaison au cas abiotique et à l'atténuation naturelle, et par conséquent, un meilleur contrôle de l'évolution du gasoil dans le lit de sable. Globalement, l'injection de l'air améliore la croissance bactérienne et son effet biodégradeur et augmente ainsi l'élimination du gasoil par le phénomène d'entraînement.

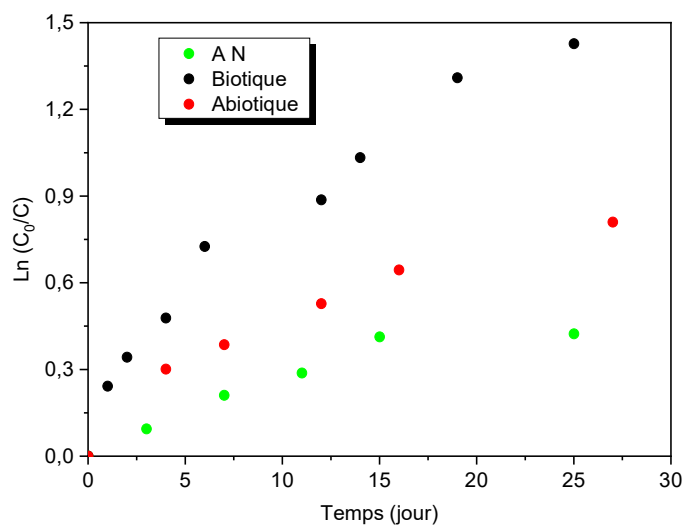


Figure III.10 : Evolution de $\text{Ln} (C_0/C(t))$ en fonction du temps pour un débit d'air de 1 L/min.

III.4 Influence du débit d'air sur l'évolution de la concentration du gasoil

Les courbes de la figure III.11 et III.12 illustrent l'élimination du gasoil pour l'atténuation naturelle et pour différents débits d'air en mode biotique (A) et abiotique (B). Le rapport C/N/P initial est égal à 100/10/1 et le taux d'humidité dans le sol est maintenu à 15%.

- **Mode biotique**

Nous remarquons que, quel que soit le débit d'air introduit, l'évolution du gasoil passe par deux phases : une première phase d'une durée de 2 semaines, durant laquelle la concentration du gasoil diminue rapidement. Toutefois, la 1^{ère} semaine est beaucoup plus intense, la concentration du gasoil dans le sol est passée de 10 à 7,78, 6,13, 5,30, 3,83, 3,92 et 3,37 g/kg pour l'atténuation naturelle et les débits d'air 0,25, 0,50, 1, 1,5 et 2 L/min respectivement, ce phénomène est dû probablement à une reproduction bactérienne intense durant cette semaine.

Au cours de la 2^{ème} semaine, la diminution continue de façon moins prononcée, c'est une étape de pseudo-stabilité bactérienne.

A partir du 15^{ème} jour, la concentration du gasoil tend à se stabiliser graduellement, c'est la 2^{ème} phase ; au-delà du 20^{ème} jour, la diminution devient minime, cette étape correspond probablement à la phase de déclin de l'activité bactérienne provoquée par une diminution, voir un épuisement des teneurs du sol en nutriments, en particulier l'azote. La quantité de gasoil est passée de 10 g/kg à 6,48 ; 4,13 ; 3,00 ; 1,90 ; 2,27 et 0,34 pour respectivement l'atténuation naturelle et les débits d'air 0,25 ; 0,50 ; 1 ; 1,50 et 2 L/min. L'oxygène est utilisé comme accepteur d'électrons par les bactéries aérobies pour oxyder les composants des hydrocarbures [71]. Dans le processus biotique, l'injection de d'air dans tout le lit de sol améliore l'élimination du gasoil en raison de l'effet combiné de l'aération et de l'activité des bactéries indigènes ; améliorant ainsi la minéralisation et la production de biomasse [83]. Ces résultats sont en accord à ceux obtenus par Fotinich *et al.* (1999), ces auteurs ont montré qu'une augmentation du débit d'air ou de la température améliore fortement le processus de dégradation biologique du gasoil [79]. Lee *et al.* (2011) ont obtenu une élimination du gasoil dans le sol de 26,6 et 59,7 % après respectivement 7 et 17 jours sans recourir à un système de ventilation [69]. L'utilisation d'un consortium de bactéries préalablement sélectionnées à partir de sols contaminés par du gasoil a conduit à un taux d'élimination de 96 % [67].

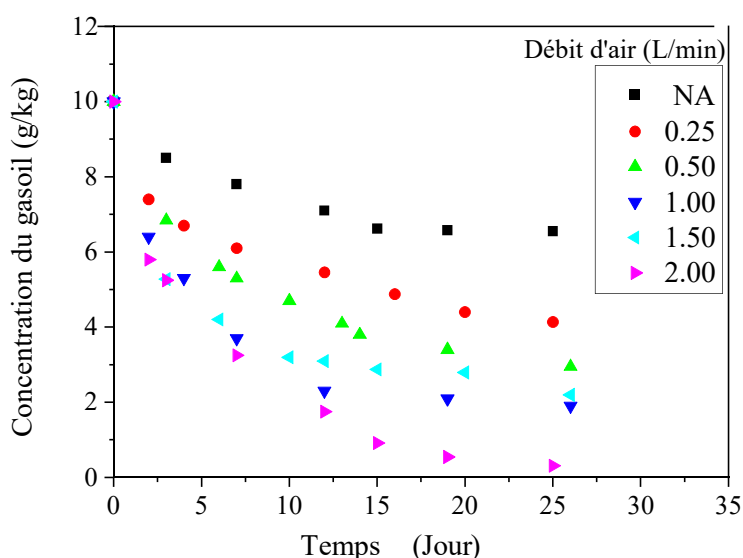


Figure III.11 : Evolution de la concentration du gasoil en mode biotique pour les différents débits d'air (g/kg de sol). C/N/P = 100/10/1, H₀ = 15%.

• **Mode Abiotique**

Nous constatons que l'élimination du gasoil en mode abiotique est favorisée par l'augmentation du débit d'air, cependant cette élimination est plus faible qu'en mode biotique en raison de la diminution de la solubilité du gasoil et de l'oxygène disponibles aux bactéries. La solubilité des hydrocarbures est encore un problème critique dans le processus de bioremédiation [107]. C'est pour cela, il est important d'optimiser l'apport en oxygène et en nutriments dans le lit fixe. L'activité bactérienne étant neutralisée ; l'entraînement et l'évaporation du gasoil engendré par l'écoulement ascendant de l'air sont donc responsables de l'élimination du gasoil. C'est à priori un phénomène de séchage, il ressort que toutes les courbes de la figure III.12 présentent une allure pseudo-linéaire en particulier entre le 5^{ème} et le 20^{ème} jour. Les concentrations résiduelles du gasoil après 25 jours sont égales à 5,95, 4,71, 4,52, 3,55 et 1,26 (g/kg) pour les débits d'air 0,25, 0,50, 1, 1,5 et 2 L/min.

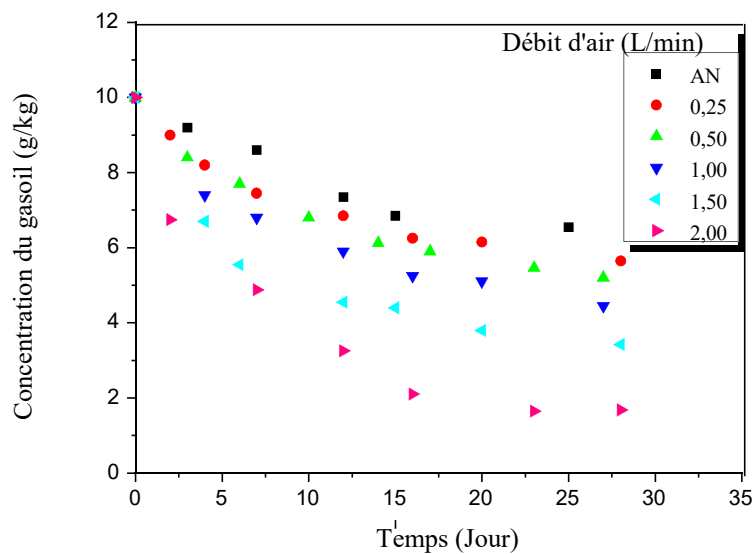


Figure III.12 : Evolution de la concentration du gasoil en mode abiotique (B) pour les différents débits d'air (g/kg de sol). C/N/P = 100/10/1, H₀ = 15%.

III.5 Cinétique d'élimination du gasoil

a. Constantes de vitesse d'élimination

Afin de caractériser la cinétique d'élimination du gasoil dans le sol, nous déterminons les constantes de vitesse d'élimination k.

Les constantes de vitesse déterminées sont données dans le tableau III.2 ainsi que les taux d'élimination. D'après ce tableau, il ressort que l'apport en air dans le sable améliore

l'élimination du gasoil, la constante de vitesse k croit de façon proportionnelle au débit d'air, elle passe de 0,038 pour l'atténuation naturelle à 0,155 jour⁻¹ pour $Q_{air} = 2$ L/min c.à.d. une augmentation de 4 fois supérieure à celle de l'atténuation naturelle. Dans ce cas, l'efficacité de minéralisation du gasoil est améliorée. Les résultats obtenus sont en bon accord avec les taux d'élimination du gasoil. Cependant, ce taux d'élimination est supérieur à celui obtenu par Chien *et al.*, (2010) [90], ils ont obtenu, une constante de vitesse de 0,015 j⁻¹ et un taux d'élimination de 85% en utilisant un inoculum microbiens, du fumier de poulet et des agents gonflants sur une période d'incubation de 155 jours. Dans une autre étude, Kao *et al.* (2009) ont obtenu une constante de vitesse de 0,0196 jour⁻¹ avec un rendement d'élimination de 87%. Ces auteurs ont utilisé un système de biopile avec un système d'agitation du sol et un système de renouvellement d'air [108].

Tableau III.2 : Constantes de vitesse d'élimination et taux d'élimination du gasoil.

Q_{air} (L/min)	A.N	0,25	0,5	1	1,5	2
k (Jour ⁻¹)	0,038	0,054	0,058	0,126	0,137	0,155
T_{Biot} (%)	34	59	70	81	77	97

b. Comparaison des constantes de vitesse

Sur la figure III.13 nous présentons la variation de k et k_{Biod} pour les différents débits d'air.

Nous remarquons que la constante de vitesse d'élimination du gasoil augmente avec l'augmentation du débit d'air, elle passe de 0,038 J⁻¹ pour un débit d'air nul (AN) à 0,155 J⁻¹ pour le débit d'air de 2 L/min. Au fur et à mesure que l'oxygène est apporté au milieu multiphasique, l'élimination du gasoil est intensifiée [35].

Par contre, la constante de vitesse de biodégradation k_{Biod} ne varie pas de la même manière que la constante de vitesse, elle passe de 0,004 pour 0,25 L/min à 0,035 jour⁻¹ pour 1 L/min et diminue fortement jusqu'à atteindre 0,014 et 0,024 pour 1,5 et 2 L/min, respectivement. Ces résultats sont en accord avec la croissance bactérienne indiquant qu'un excès d'air peut inhiber la croissance bactérienne ou altérer leur capacité à dégrader le polluant. Notez que la valeur la plus élevée de k_{Biod} est de 0,035 j⁻¹ obtenue pour un débit d'air de 1 L/min, bien qu'elle ne permette que 36 % de la biodégradation du gasoil et 80 % de l'élimination. Globalement,

l'apport en oxygène a favorisé les échanges et le transfert inter-particules des différentes phases, et par conséquent, le processus d'élimination du gasoil est accéléré.

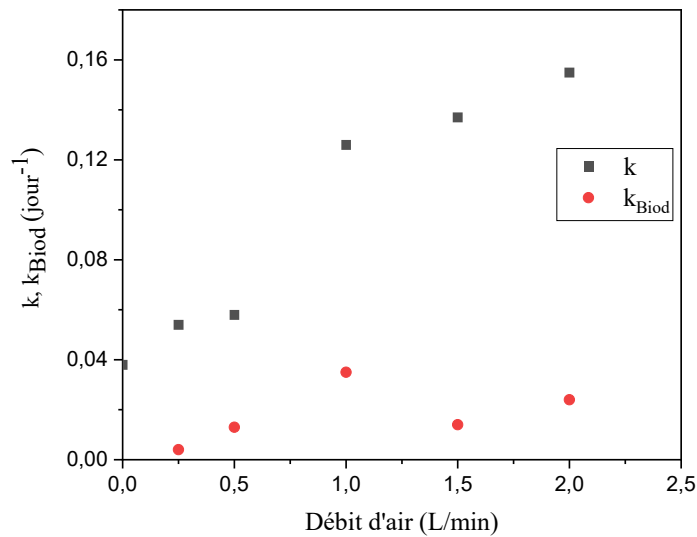


Figure III.13 : Influence du débit d'air sur les constantes de vitesse k et k_{Biod} .

III.6 Evolution de la biomasse

La croissance bactérienne se manifeste par l'augmentation du nombre de bactéries par multiplications, suite à des divisions binaires. Cette croissance est caractérisée par le taux de croissance μ qui exprime la vitesse de multiplication des bactéries ; c'est le nombre de divisions effectuées par unité de temps. La figure III.14 illustre l'évolution de la biomasse bactérienne pour différents débits d'air.

Nous constatons l'absence de la phase de latence qui caractérise l'adaptation des bactéries à leur milieu et qui devait apparaître au début de la croissance ; durant cette phase le nombre de bactéries est quasiment constant, il est de l'ordre de 10^6 ufc/g. La préparation du sol en utilisant le gasoil et les nutriments est probablement la raison de l'absence de cette phase de latence.

Nous constatons aussi que le nombre de bactéries augmente rapidement au cours de la première semaine, c'est la phase active durant laquelle la croissance bactérienne est la plus intense. La majorité des bactéries sont dans un bon état physiologique et se divisent de façon exponentielle. Le nombre de bactéries est passé de 10^6 ufc/g à $2,15 \cdot 10^7$, $6,03 \cdot 10^6$, $1,55 \cdot 10^8$, $4,77 \cdot 10^{10}$, $8,31 \cdot 10^9$, $6,04 \cdot 10^8$ ufc/g et le taux de croissance maximale μ_{max} a atteint 0,413 ; 0,212 ; 0,496 ; 1,357 ; 1,121 et 0,901 (J^{-1}) durant cette semaine pour respectivement, l'atténuation naturelle et les débits d'air 0,25, 0,50, 1, 1,50 et 2 L/min.

Cette étape est suivie d'une phase de pseudo-stabilité d'une durée de 7 jours, durant cette période le nombre de bactéries est resté pratiquement constant et ce quel que soit le débit d'air appliqué.

Le nombre de bactéries le plus élevé est de $8,84 \cdot 10^{10}$ ufc/g, ce nombre a été atteint au 12^{ème} jour pour le débit d'air de 1 L/min. Pour les débits de 1,5 et 2 L/min, le nombre maximum est plus faible, il est de $2,6 \cdot 10^{10}$ ufc/g et $1,96 \cdot 10^9$ ufc/g, respectivement. Ceci est en accord avec les résultats précédents. En effet, le débit d'air 1 L/min a donné le meilleur taux de biodégradation et la cinétique de biodégradation la plus élevée. Dans ce cas, la stimulation des bactéries est meilleure.

A partir du 15^{ème} jour, nous observons une diminution rapide, c'est la phase de déclin des bactéries. Au 25^{ème} jour de traitement, le nombre de bactéries a atteint $5 \cdot 10^3$, $7 \cdot 10^5$, $1,1 \cdot 10^6$, $1,7 \cdot 10^7$, $6 \cdot 10^6$ et $8,5 \cdot 10^7$ ufc/g pour l'atténuation naturelle et les différents débits d'air appliqués.

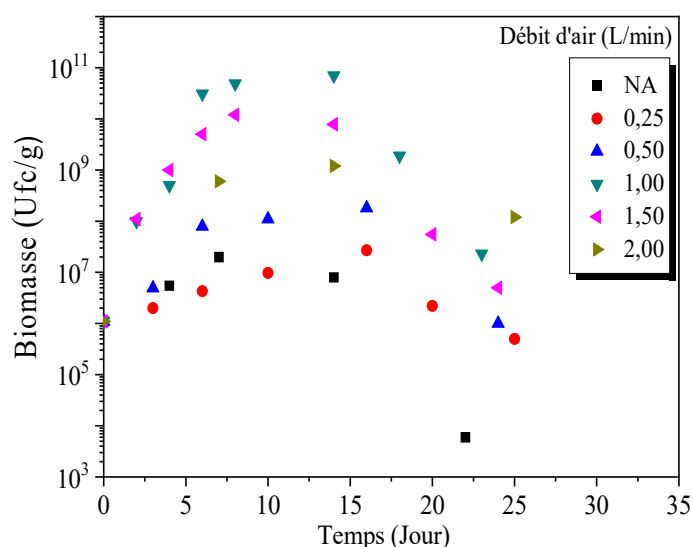


Figure III.14 : Evolution temporelle de la biomasse bactérienne pour différents débits d'air.

III.8 Influence de la teneur des nutriments

Des solutions minérales de NH_4NO_3 et de K_3PO_4 ont été utilisées comme sources d'azote et de phosphore pour amender le sol selon différents rapports molaires C/N/P : 100/10/1, 100/5/1, 100/25/1, 10/10/3, et 100/10/0,33. La figure III. 16 montre l'évolution, en mode biotique, de la concentration du gasoil pour différents rapports molaires C/N ; le rapport C/P initial est égale 100/1. Sur la figure III.16 on donne l'évolution de la concentration de gasoil pour différents rapports molaires C/P en mode biotique, alors que le rapport C/N initial est égal à 100/10. Dans

les deux cas, le débit d'air appliqué est égal à 1 L/min. L'atténuation naturelle et le mode abiotique ont été donnés à des fins de comparaison.

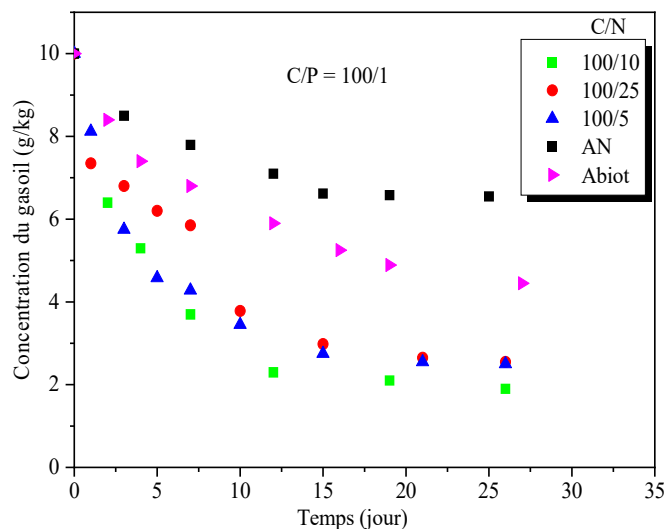


Figure III. 15 : Évolution de la concentration du gasoil en mode biotique pour différents rapports molaires C/N. C/P = 100/1. Débit d'air = 1L/min.

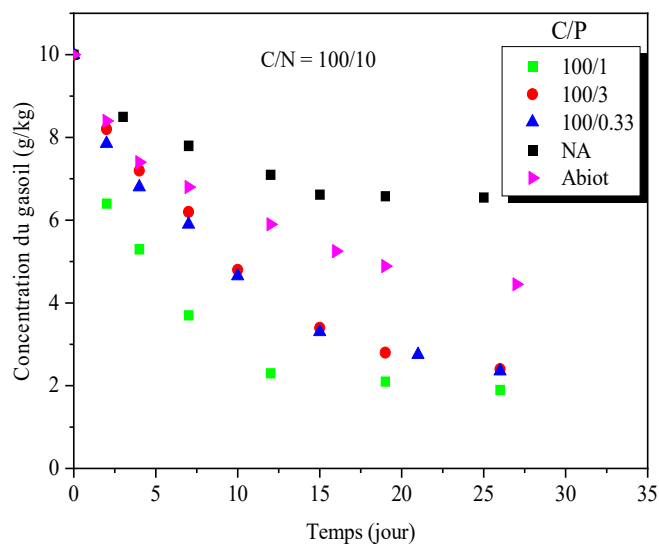


Figure III. 16 : Évolution de la concentration du gasoil en mode biotique pour différents rapports molaires C/P. C/N = 100/10. Débit d'air = 1L/min.

Toutes les courbes présentent une allure exponentielle, bien que la différence entre ces courbes soit faible, nous constatons que le taux d'élimination obtenue après 26 jours de traitement est

plus important pour le rapport C/N/P = 100/10/1 (81 %), suivi par les rapports 100/10/0,33 (76,60 %), 100/10/3 (075,90), 100/5/1 (75 %) et 100/25/1 (74,40). Ceci est en accord avec les résultats obtenus précédemment par certains chercheurs, qui ont rapporté que le ratio de 100/10/1 est souvent recommandé pour la bioremédiation des composés organiques [85], il permet une bonne métabolisation du gasoil par les bactéries indigènes. Certains chercheurs ont montré que l'ajout de nutriments pendant la biorestauration est nécessaire pour stimuler la croissance des bactéries et l'élimination de la pollution [86].

L'ajout d'un supplément inorganique, comme l'azote (N) et le phosphore (P) avec une alimentation continue en oxygène a un impact significatif sur la dégradation du gasoil. L'ajout de ces nutriments spécifiques à de faibles ratios, montre clairement que les bactéries indigènes sont capables de métaboliser le gasoil même dans des conditions de faibles teneurs en nutriments.

Dans cette étude, le rapport molaire C/N/P = 100/10/1 avec un débit d'air de 1 L/min, a fourni le meilleur taux d'élimination (81%). Dans ce cas, l'apport en oxygène et en nutriments a permis une meilleure stimulation des bactéries.

Des teneurs plus faibles en azote et en phosphore, 100/5/1 et 100/10/0,33, réduisent le pouvoir de dégradation des bactéries avec des taux d'élimination plus faibles 75 et 77 %, respectivement.

Il est à noter que le rapport C/N/P = 100/25/1 et 100/10/3 ont donné des taux d'élimination plus faibles 74 et 78 % respectivement. Ceci nous incite à dire que les amendements nutritifs ont bien un effet positif sur la biorestauration des sols contaminés par des hydrocarbures, mais lorsqu'ils sont ajoutés en excès, un effet inhibiteur est révélé.

L'apport de nutriments et d'oxygène reste le facteur clé influençant le processus de biodégradation du gasoil par les bactéries indigènes.

III.9 Comportement des nutriments dans le sol

Les échantillons de sol ont été amendés par de l'azote ammoniacal et du phosphore pour un rapport C/N/P initial égale à 100/10/1. Les teneurs initiales des NH_4^+ , et du PO_4^+ sont respectivement égales à 1295 et 223 mg/kg, celles des nitrites et des nitrates sont très faibles, elles sont respectivement égales à $3,11 \cdot 10^{-1}$ et 8,63 mg/kg. L'évolution de la teneur en nutriments dans le sol est illustrée sur la figure III.17.

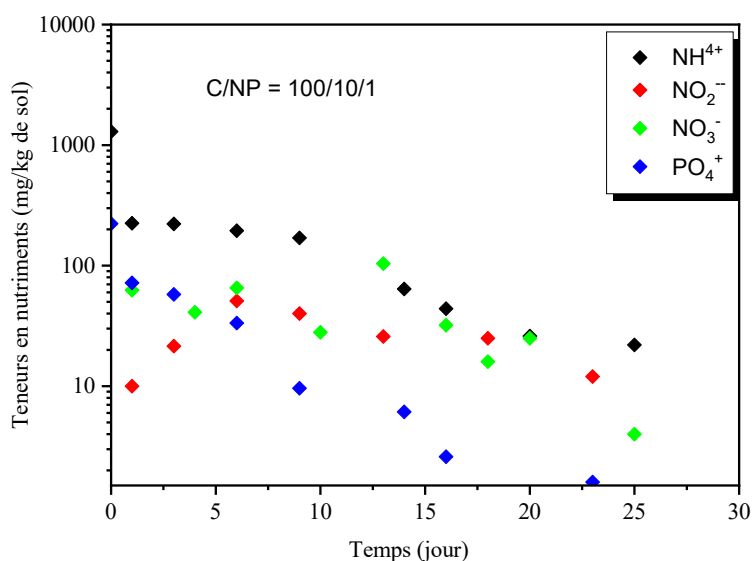


Figure III.17 : Évolution des nutriments dans le sol. $Q_{\text{air}} = 1 \text{ L/min}$.
 $NH_4^+ = 1295 \text{ mg/kg}$, $PO_4^+ = 223 \text{ mg/kg}$

Nous constatons que les teneurs en nutriments dans le sol n'évoluent pas de la même manière. La teneur en NH_4^+ chute considérablement durant le premier jour : Elle passe de 1295 à 225 mg/kg, ce qui correspond à une baisse de 83 %, elle se stabilise autour de 200 mg/kg jusqu'au 10^{ème} jour, puis diminue jusqu'à environ 20 mg/kg à partir du 20^{ème} jour.

La teneur du phosphore, par contre, diminue d'une manière régulière, et de façon moins accentuée que pour l'azote ammoniacal, elle passe de 223 jusqu'à 0 mg/kg au 25^{ème} jour. La diminution des teneurs en azote ammoniacal et du phosphore, observée dans les colonnes biotiques confirment qu'ils ont bel et bien été assimilés. Ce phénomène est peut-être dû à l'assimilation potentielle du phosphore et de l'ammonium par les bactéries indigènes pour dégrader les composés du gasoil et également à la fixation des cations et des cations intermédiaires par les particules du sol [87]. D'autres mécanismes chimiques et physiques (volatilisation) peuvent exister dans le sol.

A noter que les concentrations en NO_2^- et NO_3^- sont très faibles au départ puis augmentent jusqu'à la stabilité autour d'une valeur moyenne qui varie entre 50 et 60 mg/kg. Ce que nous pouvons dire c'est que leurs teneurs ont subi des changements dus probablement, d'une part, à une assimilation partielle par les bactéries et d'autre part, aux transformations qui ont eu lieu au cours du cycle d'azote. Au cours du processus de biodégradation, le NH_4^+ peut-être oxydé en NO_2^- et NO_3^- par catalyse enzymatique.

III.10 Etude de l'évolution de la couche limite dans le lit de sable

La diffusion de fractions volatiles dans un mélange gazeux complexe à faible nombre de Reynolds particulaire est gouvernée par la loi de Fick. Ceci peut être appliqué à des fractions légères du gasoil dans un mélange composé de gasoil et d'air. Plusieurs corrélations sont disponibles dans la littérature, parmi lesquelles, la théorie cinétique des gaz a été suggérée pour tenir compte des phénomènes d'attractions et de répulsions des molécules. Le coefficient de diffusion peut être estimé à l'aide du paramètre de Lennard-Jones.

$$D_{gasoil-air} = 0,0018583T^{\frac{3}{2}} \frac{\left[\frac{1}{M_{gasoil}} + \frac{1}{M_{air}}\right]^{\frac{1}{2}}}{P(\Omega_{gasoil-air}) \sigma_{gasoil-air}^2}$$

Avec :

$D_{gasoil-air}$: Coefficient de diffusion gasoil-air, $cm^2.s^{-1}$

M_{air} , M_{gasoil} : Masse molaire de l'air et du gasoil, $g.mol^{-1}$

T : Température, K

P : Pression, atm

$\sigma_{gasoil-air}$: Paramètre de Lennard Jones, Å

$\Omega_{gasoil-air}$: Fonction potentiel de Lennard Jones, sans dimension

L'épaisseur du fil est donné par la relation suivante :

$$\delta_{film} = \frac{d_p}{Sh}$$

Le temps caractéristique de la diffusion externe est donné par la relation suivante :

$$t = \frac{d_p \delta_{Film}}{D_{gasil-air}}$$

L'épaisseur de film et le temps de diffusion externe pour les différents débits d'air sont récapitulés dans le tableau III.3.

Tableau III.3 : Epaisseur de la couche limite et temps caractéristique.

Débit d'air (L/min)	U (m/s)	Re	Sh	δ_{film} (μm)	t (s)
0,25	$8,33 \cdot 10^{-4}$	0,022	2,248	178	0,0037
0,50	$1,66 \cdot 10^{-3}$	0,043	2,346	171	0,0036
1,00	0,003	0,086	2,490	161	0,0034
1,50	0,005	1,30	3,907	102,6	0,0021

Nous remarquons que l'augmentation de la vitesse superficielle du gaz conduit à l'augmentation des deux nombres adimensionnels, le Sherwood et le nombre de Reynolds. Cependant, l'épaisseur du film et le temps de diffusion externe diminuent. Ceci peut être expliqué par le fait que le processus d'évaporation est proche de l'équilibre. Dans ce cas, l'air est chargé de composés volatils à l'équilibre.

Conclusion générale

La biodégradation des polluants organique par des micro-organismes indigènes est une technique prometteuse pour assainir les sites touchés par les hydrocarbures en raison de son caractère respectueux de l'environnement. Le choix d'une méthode de biodégradation adéquate qui réduit les hydrocarbures en composés inoffensifs pour l'environnement est essentiel pour la réussite d'une technique de traitement par biodégradation.

La méthode utilisée dans cette recherche a permis de réduire la concentration du gasoil de 10 à 0,34 g/kg de sable avec un rapport C/N/P de 100/10/1 et une alimentation d'air de 2 L/min, le taux d'élimination du gasoil a atteint 97 % après 25 jours de traitement. Néanmoins, une grande partie du gasoil éliminé dans ce cas (environ 87%) résulte des phénomènes d'évaporation et d'entraînement, seul 13% du gasoil ont été dégradé grâce à l'activité bactérienne.

Durant la 1^{ière} première semaine, les taux d'élimination du gasoil ont atteint 22,2 ; 38,7 ; 47% ; 61,7% ; 63,8 et 66,3 (%) pour respectivement l'atténuation naturelle et les débits d'air 0,25 ; 0,50 ; 1 ; 1,50 et 2 L/min. Il s'agit d'une phase active au cours de laquelle la population bactérienne se développe intensément, le nombre de bactéries atteint des valeurs maximales : $2,15 \cdot 10^7$, $6,03 \cdot 10^6$, $1,55 \cdot 10^8$, $4,77 \cdot 10^{10}$, $8,31 \cdot 10^9$, $6,04 \cdot 10^8$ ufc/g respectivement. Après 25 jours de traitement, les taux de biodégradation ont atteint 34 ; 59 ; 70 ; 81 ; 77 et 97 (%).

Cependant, avec le débit d'air de 1 L/min, nous avons obtenu un taux d'élimination totale de 81%, avec un taux de biodégradation de 36% après 15 jours de traitement, la contribution bactérienne dans ce cas est plus importante. Ce débit d'air a donné le meilleur taux de biodégradation, la population bactérienne a atteint $5,40 \times 10^{10}$ cfu/g, qui est la valeur la plus élevée atteinte durant toute cette étude. Il semblerait que le débit d'air 1 L/min est un débit optimal pour la configuration étudiée et qui donne le meilleur taux de biodégradation. Les débits plus élevés 1,5 et 2 L/min ont donné des taux de biodégradation plus faibles, 12,5 et 10 % respectivement.

Le débit d'air de 1 L/min et l'ajout des nutriments appropriés fournissent les meilleures conditions pour favoriser la croissance des micro-organismes indigènes et soutenir une meilleure biorestauration du sol pollué par une approche de biostimulation, en utilisant l'azote et le phosphore comme sources de nutriments.

Au cours du traitement biologique du sol, la teneur en nutriments (azote ammoniacal et phosphore) diminue considérablement dès le 1^{ier} jour et se stabilise à partir du 5^{ième} jour. Pour

Conclusion générale

les nitrites et les nitrates, on observe une augmentation significative de leurs teneurs le premier jour puis une stabilisation autour d'une valeur moyenne qui varie selon le rapport C/N/P, entre 50 et 60 mg/kg. Ces changements sont probablement dus d'une part à une assimilation partielle par les bactéries et d'autre part aux transformations qui s'opèrent au cours du cycle de l'azote. On peut donc dire que l'azote ammoniacal et le phosphore ont été bel et bien assimilés par les microorganismes.

Par conséquent, pour améliorer la dégradation bactérienne du polluant organique, il est important d'utiliser un flux d'air optimal avec un amendement approprié en nutriments composée d'azote et de phosphore.

Références bibliographiques

- [1] Standards et Pancanadiens, relatifs aux hydrocarbures pétroliers (HPC) dans le sol, (2001).
- [2] Joo H.S, Shoda, M. and Phae, C.G., Degradation of diesel oil in soil using a food waste composting process, *Biodegradation* 18, 597–605, (2007).
- [3] Andreoni V, Gianfreda L.. Bioremediation and monitoring of aromatic-polluted habitats. *Appl Microbiol Biotechnol* 76: 287-308, (2007)
- [4] Elizabeth Pilon-Smits. PHYTOREMEDIATION. *Annual Review of Plant Biology*. Vol.56 : 15-39, (2005)
- [5] Yuniati M. D. (2018) Bioremediation of petroleum-contaminated soil : A Review
Global Colloquium on Geosciences and Engineering: Earth and Environmental Science.
- [6] Moselio Schaechter, “Encyclopedia of Microbiology”, 3rd Edition, San Diego State University, USA, Elsevier, (2009).
- [7] Y. Berthaud. Mécanique des sols. Conception application » 1^{ière} édition, Dunod, (2008)
- [8] Calvet R., 2003. Le sol : Propriétés et fonctions. Constitution, structure, phénomènes aux interfaces, Volume 1. Editions France agricole, Dunod, 455 p.
- [9] M. G. Ghazali, R. N. Z. Abdulrahman, A. Salleh et M. Basri, Biodegradation of hydrocarbons in soil by microbial consortium. *International Biodeterioration & biodegradation*, vol. 54 pp 61-67 (2004).
- [10] Grands savoirs environnementaux dépollution de sites – terres polluées. Janvier 2006
- [11] Chapter 10 major microbial groups in soils.
<http://www4.ncsu.edu/~lagillen/SSC%20532/Chapter%2010/Chapter%2010.html>.
- [12] Kumar, M. and S. Khanna (2010). "Diversity of 16S rRNA and dioxygenase genes detected in coal-tar-contaminated site undergoing active bioremediation." *Journal of Applied Microbiology* 108(4): 1252-1262.
- [13] Rastogi, G., S. Osman, P. Vaishampayan, G. Andersen, L. Stetler and R. Sani (2010). "Microbial Diversity in Uranium Mining-Impacted Soils as Revealed by High-Density 16S Microarray and Clone Library." *Microbial Ecology* 59(1): 94-108.
- [14] A. Rengel, Energy and environmental analyses of a bioreactor for microalgae culture for energy production, Thèse de Doctorat en énergétique, ENMP, Paris, France, 2010.
- [15] J.P. Cadoret et O. Bernard, La production de biocarburant lipidique avec des microalgues : promesses et défis, *Journal de la Société de Biologie*, 202 (2008), 201-211.

- [16] R.Filali, Estimation et commande robustes et culture de microalgues pour la valorisation biologique de CO₂, Thèse de Doctorat en sciences et technologies de l'information, des télécommunications et des systèmes, Orsay, Essonne, France, 2012
- [17] R.Choussod. La quantité biologique d'évolution et implication. Laboratoire de microbiologie des sols, centre de recherche de Dijon, paris, (1996). pp.261-278,
- [18] Brady, N. C., & Weil, R. R. (1999). *The Nature and Properties of Soils* (Twelfth ed.). New Jersey : Macmillan Publishing Company.
- [19] Walkiewicz, A.; Kalinichenko, K.; Kubaczyński, A.; Brzezińska, M.; Bieganowski, A. Usage of Biochar for Mitigation of CO₂ Emission and Enhancement of CH₄ Consumption in Forest and Orchard Haplic Luvisol (Siltic) Soils. *Appl. Soil Ecol.* 2020, 156, 103711.
- [20] Farhadi-Machekposhti, M.; Valdes-Abellan, J.; Pla, C.; Benavente, D.; Pachepsky, Y. Impact of Marble Powder Amendment on Hydraulic Properties of a Sandy Soil. *Int. Agrophys.* 2020, 34, 223–232.
- [21] Szyplowska, A.; Lewandowski, A.; Jones, S.B.; Sabouroux, P.; Szerement, J.; Kafarski, M.; Wilczek, A.; Skierucha, W. Impact of Soil Salinity, Texture and Measurement Frequency on the Relations between Soil Moisture and 20 MHz–3 GHz Dielectric Permittivity Spectrum for Soils of Medium Texture. *J. Hydrol.* 2019, 579, 124155.
- [22] A. Läuchli, S. R. Grattan, *Plant Stress Physiology*, Ed. C.A.B. International, Australia, 2012.
- [23] Van de Graaff, R.H.M. and Brouwer, J. 1999. On effluent infiltration in spite of waterlogging. On-site 99 Conference, Making on-site wastewater systems work. Armidale, Lanfax Laboratories, pp. 297-308.
- [24] Maxime N. Ecoulements dans les milieux poreux. Rapport de stage DEA, DEA Mécanique Energétique, Marseille : Ecole Doctorale Mécanique, Physique et Modélisation Université de Provence, Marseille, 2003, 34 p.
- [25] Larsen, K.L., McCartney, D.M.: Effect of C:N ratios on microbial activity and N retention: bench-scale study using pulp and paper biosolids, *Compost Science & Utilization*, 2000, 8, 147-159.
- [26] Sadaka, S., El-Taweel, A.: Effects of aeration and C/N ratio on household waste composting in Egypt, *Compost Science & Utilization*, 2003, 11 (1), 36-40.
- [27] Ballerini, D. Traitements biologiques des sols "Techniques de l'ingénieur"(1999)
- [28] Davis, J. W., Madsen, S. (1996) "Factors affecting the biodegradation of toluene in soil" *Chemosphere*, vol 33, N°1, pp 107-130.

- [29] J Sabaté, M Viñas, A.M Solanas, Laboratory-scale bioremediation experiments on hydrocarbon-contaminated soils, *International Biodeterioration & Biodegradation*. 54 (2004)19-25.
- [30] Dibble, J.T., Bartha, R., 1979. Effect of environmental parameters on the biodegradation of oil sludge. *Applied and Environmental Microbiology* 37, 729–739.
- [31] Savage, G.M., Diaz, L.F. & Golueke, C.G. 1985. Disposing of organic hazardous wastes by composting. *BioCycle* 26: 31-34.
- [32] Iqbal, J., Metosh-Dickey, C. and Portier, R. J., (2007)."Temperature effects on bioremediation of PAH and PCB contaminated south louisiana soils: a laboratory mesocosm study." *Journal of Soils and Sediments* 7(3): 153-158.
- [33] Brinkmann, D., Röhrs, J., and Schügerl, K. 1998. Bioremediation of diesel fuel contaminated soil in a rotating bioreactor Part I: Influence of oxygen saturation. *Chem. Eng. Technol.* 21, 168–172.
- [34] Hwang, E. Y., Park, J. S., Kim, J. D., and Namkoong, W. 2006. Effects of aeration mode on the composting of diesel-contaminated soil. *J. Ind. Eng. Chem.* 12, 694–701.
- [35] Arrar, J., Chekir, N., and Bentahar, F. 2007. Treatment of diesel fuel contaminated soil in jet–fluidized bed. *Biochem. Eng. J.* 37,131–138.
- [36] Poland, J. S., Page, J. A., Paudyn, K., Rutter, A., and Rowe, R. K. 2007. Remediation of hydrocarbon contaminated soils in the Canadian Arctic with landfarms. In Biggar, K., Guidard, S., Mullick, A., and Nahir, M. (eds.), *Proceedings of the Assessment and Remediation of Contaminated Sites in Arctic and Cold Climates workshop*. pp. 209–215, Edmonton, AB, 6–8 May.
- [37] Cookson, J. T. Jr. 1995. *Bioremediation Engineering, Design and Application*. McGraw-Hill, New York, NY.
- [38] Ehlers, G. A. C. and A. P. Loibner (2006). "Linking organic pollutant (bio)availability with geosorbent properties and biomimetic methodology: A review of geosorbent characterisation and (bio)availability prediction." *Environmental Pollution* 141(3): 494-512.
- [39] Collina, E., Bestetti, G., Di Gennaro, P., Franzetti, A., Gugliersi, F., Lasagni, M., and Pitea, D. 2005. Naphthalene biodegradation kinetics in an aerobic slurry-phase bioreactor. *Environ. Int.* 31, 167–171.
- [40] Von Fahnestock, F. M., Wickramanayake, G. B., Kratzke, R. J., and Major, W. R. 1998. *Biopile Design, Operation, and Maintenance Handbook for Treating Hydrocarbon-contaminated Soils*, Battelle Press, Columbus, OH.

[41] Peng, R.-H., A.-S. Xiong, Y. Xue, X.-Y. Fu, F. Gao, W. Zhao, Y.-S. Tian and Q.-H. Yao (2008). "Microbial biodegradation of polyaromatic hydrocarbons." *FEMS Microbiology Reviews* 32(6): 927-955.

[42] Bouzid I, Développement et évaluation d'une méthode à base de mousse pour l'oxydation améliorée de sols insaturés contaminés par des hydrocarbures, Thèse de Doctorat en Chimie, Université Bourgogne Franche-Comté, France, 2019.

[43] Wilcke, W., 2007. Global patterns of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil. *Geoderma* 141, 157–166. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2007.07.007>.

[44] C. Nowak, J. R. Mossmann, and A. Saada. État des connaissances sur l'atténuation naturelle : mécanismes et mise en œuvre. BRGM/RP-51960- FR, mars 2003. Étude réalisée dans le cadre des actions de Service public du BRGM 2001-01POL-318.

[45] Haritash, A. K. and C. P. Kaushik (2009). "Biodegradation aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A review." *Journal of Hazardous Materials* 169(1-3): 1-15.

[46] J.B. Sirven, DÉTECTION DE MÉTAUX LOURDS DANS LES SOLS PAR SPECTROSCOPIE D'ÉMISSION SUR PLASMA INDUIT PAR LASER (LIBS), Thèse de Doctorat en Sciences Physiques et de l'Ingénieur, Bordeaux 1, France, 2006.

[47] C. Nowak, J. R. Mossmann, and A. Saada. État des connaissances sur l'atténuation naturelle : mécanismes et mise en œuvre. BRGM/RP-51960- FR, mars 2003. Étude réalisée dans le cadre des actions de Service public du BRGM 2001-01POL-318.

[48] V. Laperche, M. C. Dictor, B. Clozel-Leloup, and Ph. Baranger. Guide méthodologique du plomb, appliqué à la gestion des sites et sols pollués. BRGM/RP-52881-FR, juin 2004. Étude réalisée dans le cadre des actions de Service public du BRGM 2003-POLA06.

[49] Phale, P. S., A. Basu, P. D. Majhi, J. Deveryshetty, C. Vamsee-Krishna and R. Shrivastava (2007). "Metabolic Diversity in Bacterial Degradation of Aromatic Compounds." *OMICS: A Journal of Integrative Biology* 11(3): 252-279.

[50] Haritash, A. K. and C. P. Kaushik (2009). "Biodegradation aspects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs): A review." *Journal of Hazardous Materials* 169(1-3): 1-15.

[51] Chettouh, S., & Hamzi, R. (2014). Algerian oil refining industry: Analysis of past industrial accidents of the period 2002–2013. *World Applied Sciences Journal*, 29(7), 933-939.

[52] Ladji, R., Yassaa, N., Balducci, C., & Cecinato, A. (2010). Organic components of Algerian desert dusts. *Chemosphere*, 81(7), 925-931.

[53] Bonnard, M., S. Devin, C. Leyval, J. L. Morel and P. Vasseur (2010). "The influence of thermal desorption on genotoxicity of multipolluted soil." *Ecotoxicology and Environmental Safety* 73(5): 955-960.

[54] Gan, S., E. V. Lau and H. K. Ng (2009). "Remediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)." *Journal of Hazardous Materials* 172(2-3):532-549.

[55] Ahn, C. K., Y. M. Kim, S. H. Woo and J. M. Park (2008). "Soil washing using various nonionic surfactants and their recovery by selective adsorption with activated carbon." *Journal of Hazardous Materials* 154 (1-3): 153-160.

[56] Zhenzhen Wang, Xiaoyan Liu, Xinying Zhang, Xing Hu, Fahui Liu. Degradation of diesel with microorganisms in rhizosphere of *Carex phacota* Spr. 2nd International Conference on Environmental Science and Technology. IPCBEE vol.6 (2011) Singapore.

[57] D.Ballerini "Traitements biologiques des sols" Techniques de l'ingénieur, G2 (1999)

[58] Morlett-Chávez J.A, Ascacio-Martínez J.A, Rivas-Estilla A.M, Velázquez-Vadillo J.F, Haskins W, Barrera-Saldaña H.A, Acuña-Askar K. Kinetics of BTEX biodegradation by a microbial consortium acclimatized to unleaded gasoline and bacterial strains isolated from it. *International Biodeterioration & Biodegradation* 64. 2010. 581-587

[59] Dana L. Donlon And J. W. Bauder "A General Essay on Bioremediation of Contaminated Soil", Montana State University-Bozeman, (2006).

[60] Mihelcic, J. R. and R. G. Luthy. "Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbon compounds under various redox conditions in soil-water systems." *Applied and Environmental Microbiology* 54(5). (1988): 1182-1187.

[61] F. Widdel, R. Rabus ; Anaerobic biodegradation of saturated and aromatic hydrocarbons. *Current opinion in biotechnology* 12, (2001).

[62] R. Boopathy "Anaerobic biodegradation of no. 2 diesel fuel in soil: a soil column study", *Bioresource Technology*. pp 143–151 (2004)

[63] Frederique Cadiere « Traitement Biologique Des Sols Pollues : Recherche Et Innovation », Etude Réalisée Pour Le Compte de l'Ademe Par l'adit - Société Nationale d'intelligence Stratégique, Département Sites Et Sols Pollues – Direction Déchets Et Sols - Ademe (Angers), (2006).

[64] E.A. Paul et F.E. Clark ; *Soil microbiology and biochemistry* .2nd edition. Academic press. San Diego. California (USA),(1996).

- [65] Margesin, R. and Schinner, F. (2001) Biodegradation and Bioremediation of Hydrocarbons in Extreme Environments. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 56, 650-663. <http://dx.doi.org/10.1007/s002530100701>
- [66] Teng, Y., Y. Luo, L. Ping, D. Zou, Z. Li and P. Christie (2009). "Effects of soil amendment with different carbon sources and other factors on the bioremediation of an aged PAH contaminated soil." *Biodegradation* (2009)
- [67] Silva, Í. S., E. d. C. d. Santos, C. R. d. Menezes, A. F. d. Faria, E. Franciscan, M. Grossman and L. R. Durrant (2009). "Bioremediation of a polyaromatic hydrocarbon contaminated soil by native soil microbiota and bioaugmentation with isolated microbial consortia." *Bioresource Technology* 100(20): 4669-4675.
- [68] Zanaroli, G., S. Di Toro, D. Todaro, G. Varese, A. Bertolotto and F. Fava (2010). "Characterization of two diesel fuel degrading microbial consortia enriched from a non acclimated, complex source of microorganisms." *Microbial Cell Factories* 9(1): 10.
- [69] Lee, E.H., Kang, Y.S. and Cho, K.S. Bioremediation of Diesel-Contaminated Soils by Natural Attenuation, Biostimulation and Bioaugmentation Employing *Rhodococcus* sp. EH831 *Microbiol. Biotechnol.* Vol. 39, No. 1, 86–92 (2011)
- [70] Barati M., Bakhtiari F., Mowla D. and Safarzadeh S. (2017) Total petroleum hydrocarbon degradation in contaminated soil as affected by plants growth and biochar. *Environmental Earth Sciences* ISSN: 1866-6280 (Print) 1866-6299 (Online)
- [71] Timothy M. Vogel «Bioremediation Des Sols », Techniques De l'ingenieur, Editions T.I., Lyon, (2001).
- [72] Larsen, K.L., McCartney, D.M.: Effect of C:N ratios on microbial activity and N retention: bench-scale study using pulp and paper biosolids, *Compost Science & Utilization*, 2000, 8, 147-159;
- [73] M. ERIKSON, G. DALHAMMAR et A.K. BORG-KARLSON. Biological degradation of selected hydrocarbons in an old PAH/creosote contaminated soil from a gas work site, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 53, 619-626. (2000).
- [74] NAM K. et ALEXANDER M. Relationship between biodegradation rate and percentage of a compound that becomes sequestered in soil, *Soil Biology & Biochemistry*, 33, 787-792. (2001)
- [75] H. Bousseboua. *Eléments de microbiologie*. Campus-Club, Algérie, (2^{ème} Edition), (2005).

- [76] Tarayre C. Bioremediation de sols pollués aux hydrocarbures : Amélioration de la bioremédiation in situ des hydrocarbures par bio-augmentation et bio-stimulation. Editions universitaires europeennes, (2012)
- [77] Ghulam Shabira, Muhammad Afzala, Farooq Anwarb, Razia Tahseena et Zafar Mahmood Khalida. Biodegradation of kerosene in soil by a mixed bacterial culture under different nutrient conditions. International Biodeterioration & Biodegradation 61 pp 161–166 (2008)
- [78] S. Gabet. Remobilisation d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HPA) présent dans les sols contaminés à l'aide d'un tensioactif d'origine biologique. Thèse doctorat ; Université de Limoges, (2004).
- [79] A. Fotinich, V. K. Dhir, and S. Lingineni " Remediation of simulated soils contaminated with Diesel", Journal of Environmental Engineering, pp 36-46 (1999).
- [80] Amedea Perfumo, Ibrahim M. Banat, Roger Marchant et Luigi Vezzulli. Thermally enhanced approaches for bioremediation of hydrocarbon-contaminated soils. Chemosphere 66 pp179–184 (2007)
- [81] Tirandaz, H., Shaeyan M., Ghanbarpour S., Seyedipour N., Ziaedini, A., Khodaverdi H. et Dastgheib S.M.M. The succession of Dominant Culturable Hydrocarbon-Utilizing Bacteria During Bioremediation of Oil-Based Drilling Waste Iran. J. Chem. Vol. 38, N°5, (2019).
- [82] Hernández-Martínez, R ; Quiñones-Muñoz, T., Vázquez A. and Lizardi-Jiménez M. Diesel Degradation and Bioemulsifiers, Production Using Bubble-Column with a Microbial Consortium Isolated from Hydrocarbon-Contaminated Soil. Iran. J. Chem. Vol. 37, N°2, (2018).
- [83] Bilen Ozyurek, S. et Seyis Bilkay, I. Biodegradation of petroleum by *Klebsiella pneumoniae* isolated from drilling fluid, International Journal of Environmental Science and Technology. Volume 15, Issue 10, pp 2107–2116, (2017).
- [84] Ghavidel, A., Najirad S. et Alikhani, H.A. Bioremediation of gasoil by indigenous bacterial strains. Pollution, 3(4): 553-560. (2017).
- [85] Marchand C., St-Arnaud M., Hogland W., Bell T.H et Hijri M. Petroleum biodegradation capacity of bacteria and fungi isolated from petroleum-contaminated soil. International Biodeterioration & Biodegradation
- [86] Shankar S., Kansrajh C., Dinesh M. G., Satyan, R. S., Kiruthika S. et Tharanipriya A. Application of indigenous microbial consortia in bioremediation of oil-contaminated soils. International Journal of Environmental Science and Technology volume 11, (2014)
- [87] Sharma A, Kumar P. et Rehman M.B. Biodegradation of Diesel Hydrocarbon in Soil by Bioaugmentation of *Pseudomonas aeruginosa*: A Laboratory Scale Study. International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation, (2014) 2 (4), pp 202-212.

[88] Najirad, S., Ghavidel, A., Alikhani, H.A., Taze, E.S., Ghiasi, S.S. et Mohammadi, L.

Bioremediation of gasoil by two indigenous bacterial strains in contaminated soils. *International Journal of Biosciences*. Vol.3 No.11, (2013).

[89] Taccari M, Milanovic V, Comitini F, Casucci C et Ciani M. Monitoring of bacterial community during a bioremediation process of diesel-contaminated soil. *Journal of Biotechnology*, Volume 150, 2010.

[90] H. Y. Chien, C. M. Kao, J. K. Liu, K. Takagi et R. Y. Surampalli. Clean up of Petroleum-Hydrocarbon Contaminated Soils Using Enhanced Bioremediation System: Laboratory Feasibility Study. *Journal of Environmental Engineering*. Vol.136. (2010)

[91] Mikołaj Owsianiak, Łukasz Chrzanowski, Alicja Szulc, Jacek Staniewski, Andrzej Olszanowski, Agnieszka K. Olejnik-Schmidt et Hermann J. Heipieper. Biodegradation of diesel/biodiesel blends by a consortium of hydrocarbon degraders: Effect of the type of blend and the addition of biosurfactants. *Bioresource Technology* 100, pp 1497–1500 (2009).

[92] L. A. Nwaogu, G. O. C. Onyeze et R. N. Nwabueze. Degradation of diesel oil in a polluted soil using *Bacillus subtilis*. *African Journal of Biotechnology* Vol. 7 (12), pp. 1939-1943, 17 June, (2008).

[93] HU Zhi-feng, DOU Jun-feng, LIU Xiang, ZHENG Xi-lai et DENG Dong. Anaerobic biodegradation of benzene series compounds by mixed cultures based on optional electronic acceptors. *Journal of Environmental Sciences* 19, pp 1049–1054 (2007)

[94] Sophie Penet, Colombe Vendeuvre, Fabrice Bertoncini et Re'my Marchal. Characterisation of biodegradation capacities of environmental microflorae for diesel oil by comprehensive two-dimensional gas chromatography. *Biodegradation* (2006) 17:577–585 Springer 2006

[95] Yi-li Huang, Qing-Biao Li et Yinghua Lu. Aerobic and anaerobic biodegradation of polyethylene glycols using sludge microbes. *PROCESS BIOCHEMISTRY* 40(1) : 207-211 (2005). DOI :10.1016/j.procbio.2003.12.004

[96] A. Marchal, S. Penet, F. Solano-Serena and J. p. Vandecasteele. "Gasoline and Diesel oil biodegradation" *Oil & gas science and technology - Rev IFP*, vol. 58 N° 4 pp 441-448 (2003)

[97] Pierre Juteau, Jean-Guy Bisailon, François Lépine, Valérie Ratheau, Réjean Beaudet et Richard Villemur. Improving the biotreatment of hydrocarbons-contaminated soils by addition of activated sludge taken from the wastewater treatment facilities of an oil refinery. *Biodegradation* 14: Pp 31-40, Kluwer Academic Publishers (2003).

[98] Eckford, R., Cook, F.D., Saul, D., Aislabie, J. and Foght, J., Free-living heterotrophic nitrogen-fixing bacteria isolated from fuel-contaminated Antarctic soils, *Applied and Environmental Microbiology*. Vol.68 (10): 5181-5185, (2002).

- [99] Venosa A.D., Lee K., Suidan M.T., Gercia-Blanco S., Cobanli S., Moteleb M., Haines J.R., Tremblay G., and Hazelwood M. , *Bioremediation Journal*. Vol. 6: 261–281, (2010).
- [100] M.A. Mills, J.S. Bonner, T.J. McDonald, C.A. Page, R.L. Autenrieth, *Intrinsic bioremediation of a petroleum-impacted wetland*, *Marine Pollut. Bull.* 46 (2003) 887–899.
- [101] C.O. Innocent, A. Aziz, H. Auwalu, F. Shahul Hamid, *Remediation of soil and water contaminated with petroleum hydrocarbon: A review*, *Environmental Technology & Innovation* 17 (2020) 100526,
- [102] W. Namkoong, E. Hwang, J. Park, J. Choi, *Bioremediation of diesel contaminated soil with composting*, *Environ. Pollut.* 119 (2002) 23–31.
- [103] D. Sarkar, M. Ferguson, R. Data, S. Birnbaum, *Bioremediation of petroleum hydrocarbons in contaminated soils: comparison of biosolids addition; carbon supplementation; and monitored natural attenuation*, *Environ. Pollut.* 136 (2005) 187–195.
- [104] M. Lebkowska, E. Zborowska, E. Karwowska, E. Miaskiewicz-Peska, A. Muszynski, A. Tabernacka, J. Naumczyk et M. Jeczalik, *Bioremediation of soil polluted with fuels by sequential multiple injection of native microorganisms : Field-scale process in Poland*. *Ecological Engineering*, 37. (2011) 1895-1900.
- [105] Maletic, S.P., Dalmacija, B.D., Roncevic, S.D., 2013. *Petroleum Hydrocarbon Biodegradability in Soil – Implications for Bioremediation*. In: *Hydrocarbon*, vol. 3, INTECH, pp. 43–64.
- [106] S. Mukherji, S. Jagadevan, G. Mohapatra, A. Vijay, *Biodegradation of diesel oil by an Arabian sea sediment culture isolated from the vicinity of an oil field*, *Bioresour. Technol.* 95 (2004) 281–286.
- [107] Lai C.C., Huang Y.C., Wei Y.H., Chang J.C. *Biosurfactant-Enhanced Removal of Total Petroleum Hydrocarbons from Contaminated Soil*, *J. Hazard Mater.*, 167: 609- 614, (2009).
- [108] C. M. Kao¹; H. Y. Chien²; Rao Y. Surampalli³; and W. P. Sung 2009. *Application of Biopile System for the Remediation of Petroleum-Hydrocarbon Contaminated Soils*. *Environmental and water resources*. <https://ascelibrary.org/doi/book/10.1061/9780784410363>

Détermination de la masse volumique du solide

La masse volumique du solide a été déterminée à partir de la méthode pyconométrique dont le principe consiste à introduire une masse m_T Bien déterminée du solide dans une éprouvette graduée et à combler les interstices avec de l'eau jusqu' à un certain volume. La masse totale du système ainsi obtenue est :

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

Le volume total du solide immergé est :

$$V_T = V_s + V_p$$

Avec

m_s : masse du solide ;

m_p : masse de l'eau dans les pores ;

m_{ex} : masse d'eau en excès ;

v_p : volume d'eau emprisonné dans les pores ;

v_{ex} : volume d'eau en excès.

La masse volumique du solide est définie comme étant le rapport de la masse du solide sur son volume, elle s'écrit :

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

Avec

$$V_p = \frac{m_p}{\rho_{H_2O}} = \frac{m_T - m_s - m_{ex}}{\rho_{H_2O}}$$

et

$$m_{ex} = v_{ex} \cdot \rho_{H_2O}$$

La porosité est calculée à partir de l'expression suivante :

$$\varepsilon = \frac{V_p}{V_T}$$

Distribution granulométrique du solide

La répartition granulométrique d'un solide peut être obtenue par tamisage. Le tamisage s'opère selon des normes bien précises. A la fin de l'opération, on pèse le solide recueilli sur chacun des tamis et on porte les résultats sous forme de pourcentage pondéral retenu ou pourcentage cumulé.

Le tamisage permet de caractériser l'échantillon par l'un des diamètres suivants :

▪ Diamètre arithmétique :
$$d_A = \frac{\sum m_i d_i}{\sum m_i}$$

▪ Diamètre harmonique
$$d_h = \frac{\sum m_i}{\sum \frac{m_i}{d_i}}$$

▪ Diamètre de surface
$$d_s = \sqrt{\frac{\sum m_i d_i^2}{\sum m_i}}$$

▪ Diamètre de volume
$$d_v = \sqrt[3]{\frac{\sum m_i d_i^3}{\sum m_i}}$$

Avec :

m_i : masse du solide recueillie dans le tamis (i) en (g) ;

d_i : diamètre moyen des particules retenues dans le tamis d'ouverture d_{Ai} en (μm).

$$d_i = \frac{d_{Ai-1} + d_{Ai}}{2}$$

• Résultats expérimentaux

Pour un échantillon de 346,4g, nous avons utilisé une série de 8 tamis dont les diamètres d'ouvertures d_{Ai} sont respectivement 630, 500, 400, 250, 160, 125, 100 et 0 (μm).

Tableau A.III.1 : Résultats des distributions granulométriques

$d_{A_{i-1}}$	d_{A_i}	d_i	$m_i=346.49g$	X_i (%)	X_i cum (bas)	X_i cum (haut)
800	630	715	31.4	9.057	100	9.057
630	500	565	83.3	24.027	90.943	33.083
500	400	450	112.4	32.420	66.917	65.503
400	250	325	97.5	28.122	34.497	93.626
250	160	205	19	5.480	6.374	99.106
160	125	142.5	1.1	0.317	0.894	99.423
125	100	112.5	1.47	0.424	0.577	99.847
100	0	50	0.53	0.153	0.153	100
0			346.7	100		

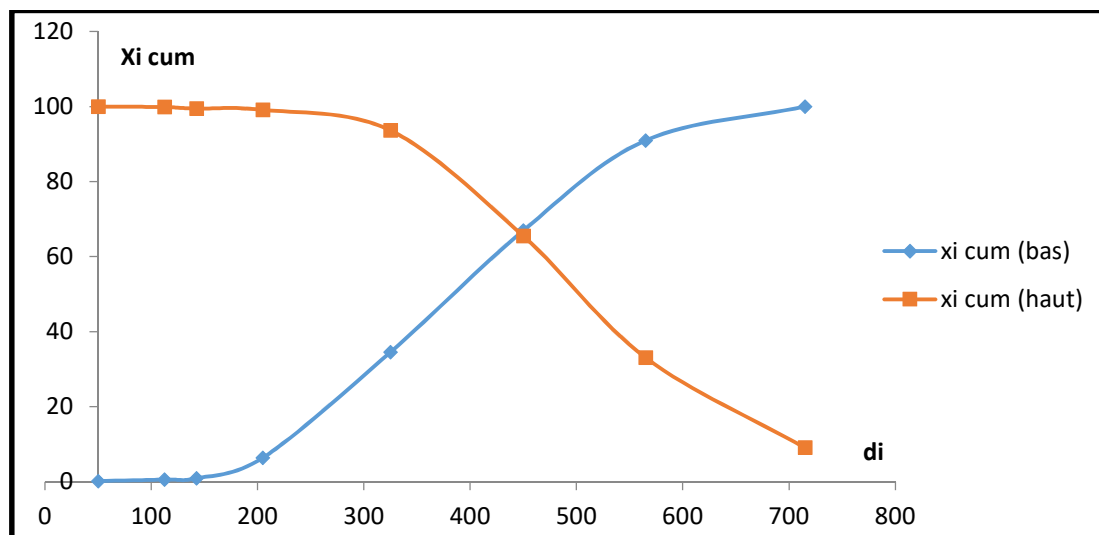


Figure.1 : Distribution granulométrique du sol.

Le diamètre moyen est déterminé à partir de la figure.1 est égal à 450 μm , il correspond à un pourcentage cumulé de 50%.

Les résultats du calcul des différents diamètres sont donnés dans le tableau A.III.2

Tableau 2 : Différents diamètres moyens

Diamètre	Valeur en (μm)
d_A	450
d_h	400.7

- **Calcul du coefficient d'uniformité**

On peut caractériser la granulométrie du sol par un coefficient d'uniformité (coefficient de Hazen) qui égal à :

$$C_u = \frac{d_{60}}{d_{10}}$$

Avec :

d_{60} : diamètre de tamis qui laisse passer 60% des particules

d_{10} : diamètre de tamis qui laisse passer 10% des particules

Remarque :

$C_u < 2$: C'est une granulométrie étalée (continue).

$C_u > 2$: C'est une granulométrie serrée (uniforme).

Dosage des nutriments

Dans tous ce que suit, la solution de sol a été préparée en mettant 10g du sol dans 100 ml d'eau distillée pour chaque dosage.

I.1. Dosage de nitrite

- **Mode opératoire**

Dans une série de fioles jaugées de 50 ml ;

- Introduire les volumes suivant : 0 ; 1 ; 5 ; 10 ; 15 et 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 au repos 10 minutes ;
- Ajouter ensuite 2 ml d'ammoniaque ;
- Effectuer la mesure de la DO par le spectrophotomètre à une longueur d'onde de 543 nm. Les résultats sont regroupés dans le tableau A.IV.1.

- **Réactifs**

Ammoniaque pure ($d = 0.925$).

Réactif de Zambelli :

Acide chlorhydrique pur (d = 1.19)	260 ml
Acide sulfanilique	5 g
Phénol cristallisé	7.5 g
Chlorure d'ammonium	135 g
Eau distillée	625 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 lieu le volume de la solution à 1 litre avec l'eau distillée.

- **Solution étalon**

- Dissoudre 0,345 g de nitrite de sodium (séché à 105°C durant 2h) dans 1000 ml d'eau distillée ;
- Conserver dans un flacon en verre inactinique ;
- Prélever 1 ml et compléter à 100 ml avec de l'eau distillée.

Tableau 2 : Courbe d'étalonnage des nitrites

C mg/g	0	0.02	0.1	0.2	0.3
DO	0.004	0.025	0.124	0.208	0.367

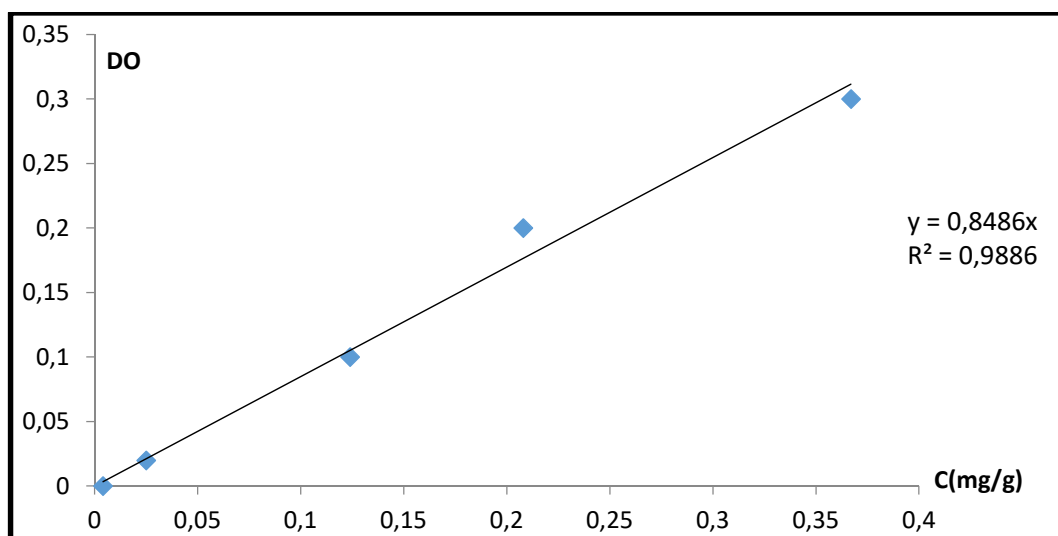


Figure A.IV.1 : Courbe d'étalonnage des nitrites.

I.2. Dosage des nitrates

- **Mode opératoire**

- Prendre 10 ml de la solution étalon diluée (5 mg/l) ;
- Ajouter 2 à 3 gouttes de NaOH à 30% ;
- Evaporer à sec au bain marie à 72 - 88°C, puis laisser refroidir.
- Reprendre le résidu par 2 ml de H₂SO₄, laisser au repos 10 min ;
- Ajouter 15 ml d'eau distillée et 15 ml de tartrate double de sodium et de potassium.
- Effectuer les mesures de la D.O par le spectrophotomètre à une longueur d'onde de 400 nm.

- **Dilutions**

Dans une série de fioles jaugées ;

- Introduire successivement les volumes suivants de la solution étalon (5mg/l) : 0 ; 1 ; 2 ; 3 ; 4 et 6 (ml),
- Ajouter dans chaque fiole les volumes suivants de l'eau distillée : 10 ; 9 ; 8 ; 7 ; 6 et 4 (ml),
- Ajouter 1 ml de la solution de salicylate de sodium dans chaque fiole : les concentrations correspondantes sont respectivement : 0 ; 0,5 ; 1 ; 1,5 ; 2 et 3 (mg/l). Les résultats sont regroupés dans le tableau 2.

- **Préparation des réactifs**

- Solution de salicylate de sodium à 0.5% ;
- Solution d'hydroxyde de sodium à 30% ;
- H₂SO₄ concentré ;
- Tartrate double de sodium et de potassium ;
 - ✓ Hydroxyde de sodium (40g) ;
 - ✓ Tartrate de sodium et de potassium (6g) ;
 - ✓ Eau distillée (100ml) ;
 - ✓ Laisser refroidir avant de compléter à 1000 ml, cette solution doit être conservée dans un flacon de polyéthylène.

- **Solution étalon** : Diluer la solution mère de nitrite de potassium (100 mg/l) à 5 mg/l.

Tableau 3 : Courbe d'étalonnage des nitrates

C (mg/g)	0	0.5	1	1.5	2	3
DO	0.005	0.152	0.29	0.383	0.515	0.858

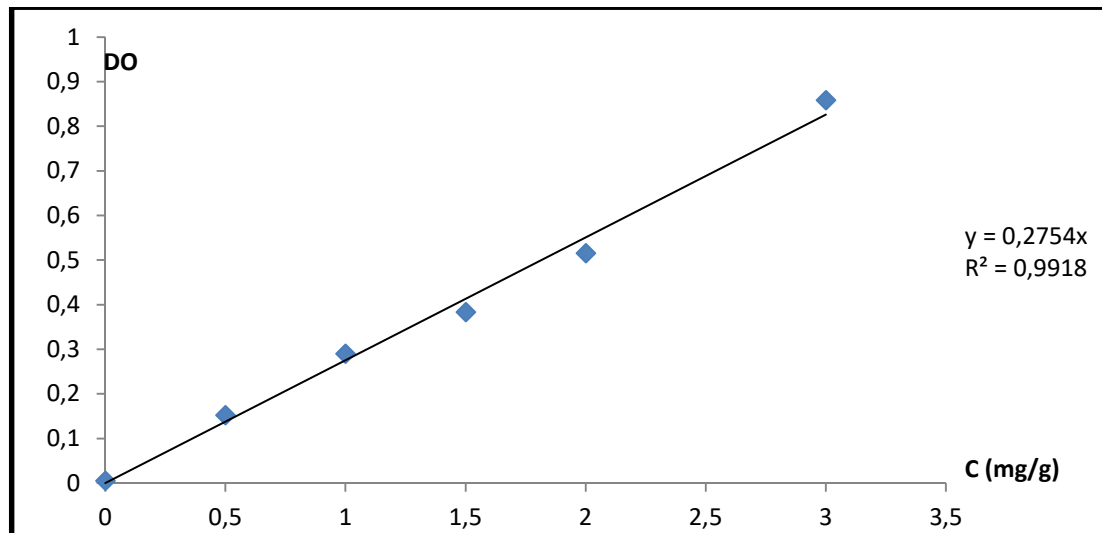


Figure 3 : Courbe d'étalonnage de nitrate.

I.3 Dosage du phosphore

- **Mode opératoire**

- Introduire dans une série de fioles jaugées de 25 ml les volumes suivants : 0 ; 1 ; 5 ; 10 ; 15 et 20 ml de la solution étalon de phosphore à 1mg/l ;
- Compléter le volume avec de l'eau distillée ;
- Ajouter 1ml d'acide ascorbique à (20g/l) et agiter ;
- Ajouter 4 ml de réactif combiné, mélanger soigneusement, attendre 30 min pour la stabilisation de la coloration ;
- Effectuer les mesures à une longueur d'onde de 880 nm, les résultats sont regroupés dans le tableau A.IV.3

- **Réactif combiné**

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

- **Solution étalon**

Peser 0,219 g de KH_2PO_4 séché à l'étuve à 105°C pendant 1h, ajouter 1ml d'acide sulfurique dans une fiole de 100 ml, puis compléter avec de l'eau distillée. Prélever 20 ml de cette solution et compléter à 1000 ml par l'eau distillée.

Tableau 4 : Courbe d'étalonnage du phosphore.

C (mg/g)	0	0.05	0.25	0.5	0.75	1
DO	0.036	0.054	0.148	0.265	0.379	0.487

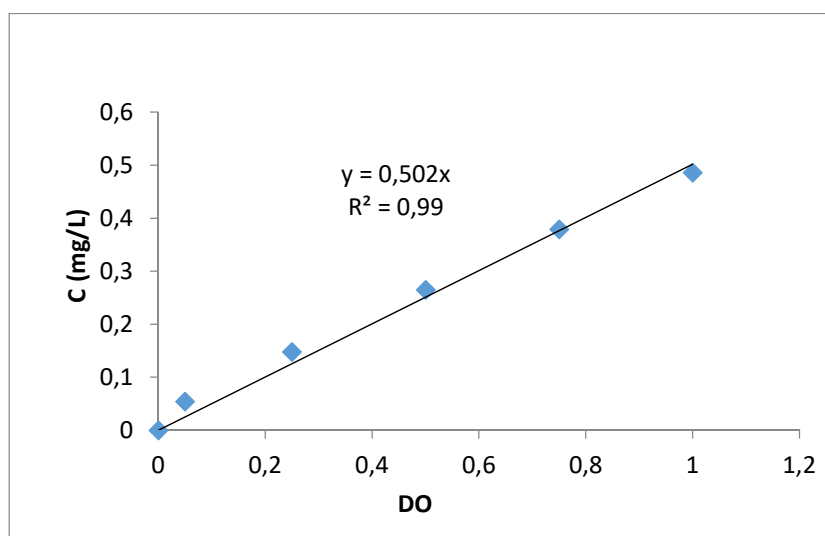


Figure 4 : Courbe d'étalonnage du phosphore.

I.4 Azote ammoniacal

- **Mode opératoire**

Dans une série de fioles de 50 ml ;

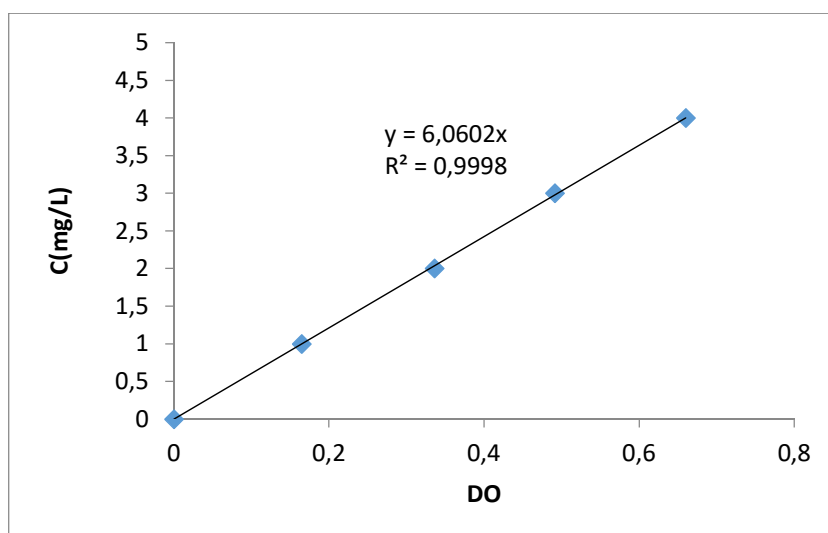
- Introduire la solution étalon d'azote ammoniacal (100 mg/l) les volumes suivants : 0 ; 1 ; 2 ; 5 ; 10 ; 15 et 20ml ;
- Compléter à 50 ml avec de l'eau distillée et ajouter 2 ml de la solution de tartrate double de sodium et de potassium, mélanger ;
- Ajouter 2 ml réactif de Nessler et mélanger à nouveau ;
- Attendre 10 min et effectuer les mesures par le spectrophotomètre à une longueur d'onde de 420 nm. Les résultats sont regroupés dans le tableau A.IV.4.

- **Préparation des solutions**

- **Solution étalon** : dissoudre 297 g de chlorure d'ammonium dans de l'eau distillée et amener à 1000 ml dans une fiole jaugée.
- **Réactif de Nessler** :
 - Traiter une solution de 50 g de iodure de potassium dans 35ml d'eau par une solution saturée de chlorure de mercure (II) jusqu'à ce qu'un précipité subsiste ;
 - Ajouter ensuite 400 ml de solution d'hydroxyde de sodium 9N. Ajuster à 1000 ml dans une fiole jaugée ;
 - Laisser reposer et décanter.
- **Tartrate double de potassium et sodium** :
 - Dissoudre 500 g de tartrate double de potassium et de sodium dans 1000 ml d'eau distillée chaude ;
 - Après refroidissement ajouter 50 ml de réactif de Nessler. Laisser reposer 2 jours et filtrer, ce qui permet d'éliminer les ions ammonium dans l'eau ou dans le réactif.

Tableau 5 : Courbe d'étalonnage d'azote ammoniacal

C (mg/g)	0	0.2	0.4	0.1	2	3	4
DO	0.038	0.073	0.13	0.266	0.434	0.626	0.813



Courbe d'étalonnage de l'azote ammoniacal

I.5 Dosage du carbone organique (NF P 94-055).

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

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

Réactifs :

- Bichromate de potassium $K_2Cr_2O_7$ à 4% ;
- Acide sulfurique H_2SO_4 ;
- Diphénylamine (Indicateur coloré) ;
- Sulfate de fer et d'ammonium (sel de mohr).

Diphénylamine (Indicateur coloré) :

Dissoudre 0,5 g de Diphénylamine en poudre dans 20 ml d'eau distillée, ajouter lentement 100 ml d'acide sulfurique puis homogénéiser.

Sulfate de fer et d'ammonium (sel de mohr) :

Dans une fiole jaugée de 1000 ml, contenant 500 ml d'eau distillée, on ajoute 20 ml d'acide sulfurique. On fait dissoudre 78,44 g du sulfate double d'ammonium et de fer cristallisé pur pour analyse et complété à 1000 ml avec de l'eau distillée. Cette solution doit être conservée dans un verre brun, à l'abri de l'air, de la lumière et de la chaleur.