

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences
Agronomiques

Département de Biochimie et de Microbiologie



Mémoire

De fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master
Filière Biotechnologie
Spécialité Biotechnologie Microbienne

Thème

*Les polluants du sol :
Méthodes de détection et bioremediation microbienne*

Présenté par :

M. LAMARI Amine

&

M. YOUSFI Hacène Abdelmadjid

Devant le jury composé de :

Président :	ASMANI K.	MCB	UMMTO
Promoteur :	OUELHADJ A.	MCA	UMMTO
Examineur :	HELLAL Z.	MAA	UMMTO

Promotion 2019/2020

Remerciements

A l'issu du cycle de notre formation nous tenons à remercier toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire.

*Nous voudrions dans un premier temps remercier, notre promoteur Monsieur **OUELHADJ A.** pour sa patience, son attention et surtout ses judicieux conseils, qui ont guidé notre réflexion.*

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance envers les membres du jury pour avoir accepté et pris l'attention d'évaluer ce modeste travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous les enseignants, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont éclairé nos zones d'ombre.

M. LAMARI Amine

*J'adresse mes remerciements à Monsieur **ZEKRI M.**, Sous directeur de la Police Scientifique et Technique, ainsi qu'à Monsieur **BRAHITI H.**, Chef de Service du Laboratoire Central de Police Scientifique.*

*Je remercie vivement Madame **IZITI A.** Chef de Département de Toxicologie Criminalistique pour son aide ; et tous mes collègues du même département.*

M. YOUSFI Hacène Abdelmadjid

J'adresse mes sincères remerciements à mes chers parents, mes sœurs et mes amis qui m'ont soutenus et encouragés au cours de la réalisation de ce mémoire.

*Je tiens à remercier particulièrement ma meilleure amie **ABBOUTE.H** pour son aide précieuse et ses encouragements.*

Liste des Abréviations

COS :	Carbone Organique du Sol.
MOS :	Matières Organiques des Sols.
HAP :	Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques.
ETM :	Eléments Trace Métallique.
pH:	Potentiel d'Hydrogène.
EPA:	United States Environmental Protection Agency.
GC/MS:	Gas Chromatography / Mass Spectrometry.
AAS:	Atomic Absorption Spectroscopy.
SRB:	Sulfate Reduction Bacteria.
EPS:	Exo-PolySaccharides.
CCM :	Chromatographie sur couche mince.

Liste des Figures

Figure 1 : Sources naturelles et anthropiques des polluants	08
Figure 2 : Différents processus affectant la mobilité et la persistance des pesticides..	13
Figure 3 : Structure chimique de quelques pesticides organochlorés	14
Figure 4 : Structure chimique de quelques pesticides organophosphorés.....	15
Figure 5 : Structure chimique de quelques HAPs	18
Figure 6 : Cycle biogéochimique des HAP dans l'environnement	19
Figure 7 : Migration de composés sur une plaque CCM.....	25
Figure 8 : Utilisation de produits révélateurs pour effectuer la lecture d'une plaque CCM.....	26
Figure 9 : Différentes étapes d'extraction des composés organiques.	27
Figure 10 : Schéma général d'un appareillage GC-MS.....	28
Figure 11 : Etapes de minéralisation des échantillons de sédiments.....	30
Figure 12 : Schéma général de la technique ATD/CG/MS	31
Figure 13 : schéma récapitulatif du principe de biostimulation	36
Figure 14 : schéma récapitulatif du principe de bioaugmentation	37

Liste des Tableaux

Tableau I: Classement des particules du sol en fonction de leur diamètre	04
Tableau II: Persistance de quelques pesticides dans le sol	13
Tableau III: Montre l'association de phases absorbantes tube/trap et leurs conditions de désorption.	32
Tableau IV: Principales espèces microbiennes impliquées dans la bioremediation des métaux lourds	44

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Résumé

Introduction01

Chapitre I : Généralités sur le sol et la pollution

I.1. Le sol et ses caractéristiques 04

 I.1.1 Définition du sol 04

 I.1.2 Composition du sol 04

 I.1.2.1 Matière minérale 04

 I.1.2.2. Matière organique 05

I.2. La pollution du sol, sources et effets néfastes sur l'écosystème 05

 I.2.1. Définition de la pollution 05

 I.2.2. Pollution du sol 06

 I.2.3. Principaux polluants du sol. 06

 I.2.4.Sources des polluants du sol 06

 I.2.4.1.Source naturelle 06

 I.2.4.2.Source anthropique 07

a . Agriculture 07

b .Industrie 07

I.2.5.Impact négatif des contaminants sur les sols	08
I.2.5.1 Impact sur les microorganismes et activité enzymatique dans le sol....	08
I.2.5.2 Impact sur les plantes	09
I.2.5.3.Impact sur la santé humaine	10
I.2.5.4.Diminution de la fertilité du sol	10

Chapitre II : Principaux polluants du sol

II.1 pesticides	12
II.1.1.Définition	12
II.1.2.Classification des pesticides	14
II.1.3.Caractéristiques et structure chimique des pesticides	14
II.1.3.1 Pesticides organochlorés.....	14
II.1.3.2 Pesticides organophosphorés	15
II.2.Hydrocarbures	15
II.2.1.Définition des hydrocarbures et caractéristiques	15
II.2.2.Classification des hydrocarbures.....	16
II.2.2.1. Hydrocarbures Aliphatiques	16
II.2.2.2. Hydrocarbures Naphténiques.....	17
II.2.2.3. Hydrocarbures Aromatiques polycycliques (HAP)	17
II.2.2.4. Cycles biogéochimiques des HAP	18
II.3.Métaux lourds	20
II.3.1 Définition	20
II.3.2. Caractéristiques des métaux lourds	20
II.3.2 Caractéristiques de certains métaux lourds et leurs effets toxiques	21
II.3.3.1 Le Cadmium	21
II.3.3.2 Le Plomb.....	21

II.3.3.3 Le mercure	22
II.3.3.4 Le Chrome	22
II.3.3.5.L'Arsenic	23

Chapitre III : Matériels et techniques utilisés en laboratoire pour la recherche de contaminants dans le sol

III.1 Chromatographie sur Couche Mince (CCM)	25
III.1.1 Principe	25
III.1.2. Exemple de mode opératoire	26
III.2 Analyse des pesticides par Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de masse (GC/MS)	28
III.2.1 Principe	28
III.2.2. Exemple de mode opératoire	29
III.3. Analyse des sédiments par Spectroscopie d'Absorption Atomique (SAA)	29
III.3.1. Principe	29
III.3.2. Exemple de mode opératoire	29
III.4 Analyse des hydrocarbures par Chromatographie en Phase Gazeuse Couplée à la Spectrométrie de Masse par un thermo désorbeur (ATD)	31
III.4.1. Principe	31
III.4.2. exemple de protocole	32

Chapitre IV : Bioremediation microbienne des sols pollués

IV.1 Principe de la bioremédiation	35
IV.2 Facteurs d'influence de la biodégradation des polluants du sol	38

IV.2.1. Température	38
IV.2.2. Nutriments	38
IV.2.3. Biodisponibilité du contaminant.....	39
IV.2.4. Teneur en humidité	39
IV.2.5. pH	39
 IV.3. Bioremediation microbienne des sols pollués	 40
IV.3.1 Stratégies et mécanismes de bioremédiation microbienne des sols pollués par les métaux lourds	40
IV.3.1.1. Oxydation enzymatique	40
IV.3.1.2. Réduction enzymatique.....	40
IV.3.1.3. Complexation.....	41
IV.3.1.4. Sidérophores	41
IV.3.1.5. Précipitation ou solidification.....	42
IV.3.1.6. Biosorption.....	42
IV.3.1.7. Bioaccumulation	43
 IV.4. Exemples d'espèces intervenant dans la bioremediation microbienne	 44
IV.5. Biodégradation microbienne des composés organiques	45
IV.6. Avantages et limites de la bioremediation microbienne	46
IV.6.1. Avantages	46
IV.6.2. Limites	46
 Conclusion	 48
 Références bibliographiques	 50

Résumé

La pollution du sol par des polluants organiques et inorganiques représente un problème majeur pour la génération actuelle et menace de plus en plus l'équilibre des écosystèmes, de la biodiversité et de la santé humaine. Pour répondre aux effets néfastes de cette catastrophe environnementale, il est nécessaire de réduire cette pollution par le biais de l'utilisation de plusieurs stratégies qui respectent l'environnement. La stratégie la plus prometteuse est sans conteste la bioremediation microbienne des sols pollués car elle offre l'avantage d'être très efficace et spécifique, mais elle est également respectueuse de l'environnement et bon marché par rapport à d'autres méthodes non naturelles.

L'appareil enzymatique microbien joue un rôle majeur dans la transformation et la dégradation des métaux lourds, pesticides et des hydrocarbures pétroliers dans l'environnement. Les mécanismes métaboliques de dégradation de ces polluants sont de plus en plus étudiés, compris et améliorés notamment en utilisant le potentiel de bioremédiation des microorganismes génétiquement modifiés.

La détection des polluants en laboratoire est une étape essentielle en vue d'identifier et de caractériser les polluants afin de choisir la meilleure stratégie de dépollution.

Mots clés : pollution ; sol ; bioremediation ; métaux lourds, hydrocarbures ; pesticides.

Abstract

Pollution of the soil by organic and inorganic pollutants is a major problem for the present generation and increasingly threatens the balance of ecosystems, biodiversity and human health. To respond to the negative effects of this environmental disaster, it is necessary to reduce this pollution through the use of several strategies that respect the environment. The most promising strategy is undoubtedly the microbial bioremediation of polluted soils because it offers the advantage of being very efficient and specific, but it is also environmentally friendly and inexpensive compared to other unnatural methods.

The microbial enzymatic apparatus plays a major role in the transformation and degradation of heavy metals, pesticides and petroleum hydrocarbons in the environment. The metabolic mechanisms of degradation of these pollutants are increasingly studied, understood and improved, in particular by using the bioremediation potential of genetically modified microorganisms.

The detection of pollutants in the laboratory is an essential step in order to seek and characterize the pollutants in order to choose the best depollution strategy.

Keywords: soil pollution; bioremediation; heavy metals, hydrocarbons; pesticides.

Introduction

L'industrialisation rapide, la croissance démographique et le mépris total de l'enjeu environnemental ont conduit à une pollution de l'environnement mondiale. Le rejet de polluants dans l'environnement peut se produire naturellement ou en raison d'activités anthropiques qui aboutissent à une pollution du sol, de l'eau et de l'air, entraînant de nombreux risques pour l'environnement et la santé humaine.

Plusieurs produits chimiques comme les métaux lourds, les hydrocarbures et les pesticides représentent des polluants environnementaux (Dash et *al.*, 2013). Ces contaminants chimiques peuvent entrer dans la chaîne alimentaire. De plus, ils ont tendance à être bioaccumulés dans les organismes et peuvent être transférés d'une chaîne alimentaire à une autre. Les résultats d'une telle contamination sont généralement préjudiciables aux micro-organismes, aux plantes, aux animaux et aux humains (Vinodhini et Narayanan, 2008).

La contamination du sol par des composés organiques et des métaux lourds a suscité beaucoup d'inquiétude dans la communauté scientifique et dans le grand public, car beaucoup d'entre eux sont toxiques, mutagènes et cancérigènes.

La contamination des sols est l'un des problèmes environnementaux les plus critiques car les contaminants s'infiltrant profondément dans la couche terrestre et polluent les eaux souterraines ainsi que les eaux de surface s'étendant ainsi de milieux pollués vers des milieux sains causant des catastrophes écologiques majeures (Perfus-Barbeoch et *al.*, 2002).

Parmi ces polluants, les HAP (hydrocarbures aromatiques polycycliques) présents dans les produits pétroliers et les pesticides sont considérés comme les composants toxiques les plus dangereux; ils sont associés à de nombreuses maladies chroniques et perturbent l'équilibre naturel entre les espèces vivantes et leur milieu naturel (Das et *al.*, 2014).

Les métaux lourds dont la présence dans l'environnement a été accrue en raison des activités humaines se répandent dans toutes les biosphères et atteignent des concentrations alarmantes. Ces éléments en excès favorisent les atteintes neurologiques, augmentant les dommages oxydatifs, inflammations chroniques, cancers et causent des troubles du développement et de la reproduction. En outre, les environnements naturels sont gravement menacés par ces polluants en raison de leur nature persistante et de leur solubilité élevée et

peuvent perturber d'importants processus biochimiques nécessaires aux métabolismes des microorganismes, plantes, animaux et êtres humains.

La menace que représentait l'accumulation de ces polluants a poussé le développement de stratégies de restauration des sites pollués, telles que l'utilisation de produits chimiques pour contrer les effets néfastes des polluants ou la bioremédiation microbienne faisant appel à des microorganismes afin de biodégrader ou de réduire la propagation des polluants du sol.

La bioremediation constitue une approche idéale pour la lutte contre la pollution du sol car elle est respectueuse de l'environnement et ne nécessite pas de main d'œuvre, l'utilisation de microorganismes garanti un impact très réduit sur l'équilibre écologique contrairement au ajout de produits chimiques qui peuvent rendre la terre stérile pendant une longue période après le traitement (Erneste et *al.*, 2017).

En laboratoire, la recherche et l'analyse des polluants dans les échantillons de sol est une étape obligatoire afin d'identifier et de mesurer les concentrations de ces derniers pour permettre la mise en place de la meilleure stratégie de dépollution possible, de sélectionner les souches microbiennes à utiliser et constater l'ampleur de la pollution.

Dans ce travail, nous aborderons la question de la pollution du sol et sa bioremediation en commençant par la définition et les caractéristiques du sol et de quelques polluants organiques et inorganiques ainsi que les techniques utilisées en laboratoire afin de rechercher, détecter, identifier et de quantifier ces polluants dans des échantillons de sol pour enfin terminer par une synthèse globale sur les différentes stratégies utilisées dans la bioremediation microbienne, les conditions nécessaires à une dépollution à haut rendement et de nouvelles perspectives.

Chapitre I

Généralités sur le sol et la pollution

Chapitre I : Généralités sur le sol et la pollution

I.1. Le sol et ses caractéristiques

I.1.1 Définition du sol

Le sol est la partie superficielle meuble de l'écorce terrestre. Il constitue un système naturel dynamique et complexe organisé en différentes couches superposées et composé de matières minérales, organiques, d'air, d'eau et une large variété d'êtres vivants. Le sol se distingue par sa texture, structure, consistance, couleur, et ses caractéristiques chimiques, biologiques et physiques (Needelman, 2013).

I.1.2 Composition du sol

I.1.2.1 Matière minérale

Le sol est composé de particules minérales caractérisées par un diamètre différent. La fraction grossière est celle dont les particules ont un diamètre supérieur à deux micromètres (2 μ m), on y trouve les cailloux, graviers, sables et limons. Cette fraction forme le squelette du sol et n'interagit pas directement avec les êtres vivants, mais joue un rôle important en déterminant la structure, texture et porosité du sol, et en libérant des éléments minéraux plus fins par l'effet d'érosion (Needelman, 2013).

On peut définir les particules qui composent le sol selon leur diamètre.

Tableau I : Classement des particules du sol en fonction de leur diamètre (Lefèvre, 2018).

Nom de la particule	Diamètre de la particule
Blocs	> à 20 cm
Pierres	De 5 à 20 cm
Cailloux	De 2 à 5 cm
Graviers	De 0.2 à 2 cm
sables grossiers	De 2mm à 0.2mm
sables fins	De 0.2mm à 50 μ m
limons grossiers	De 50 μ m à 20 μ m
limons fins	De 20 μ m à 2 μ m

La fraction fine concerne les éléments minéraux dont le diamètre est inférieur à $2\mu\text{m}$, elle inclut l'argile et les matières colloïdales, cette fraction intervient directement dans les processus chimiques et biologiques du sol en interagissant avec les plantes, animaux et microorganismes.

I.1.2.2. Matière organique

La matière organique du sol provient des débris de végétaux et d'animaux en décomposition, on la retrouve sous deux formes, la forme libre et la forme liée. La matière organique libre, séparable par des moyens physiques, correspondant essentiellement aux débris végétaux (résidus culturaux divers, racines mortes). La matière organique liée à la fraction minérale, non séparable par des moyens mécaniques, associée aux minéraux du sol, est appelée MOS (matières organiques des sols) ou humus (Schvartz et *al.*, 2005).

Elle est composée d'éléments principaux dont le carbone (C), hydrogène (H), oxygène (O) et azote (N), d'éléments secondaires tels que le soufre (S), phosphore (P), potassium (K), calcium (Ca) et magnésium (Mg), ainsi que d'oligoéléments.

Le carbone organique du sol (COS) qui comprend notamment les substances humiques est le principal constituant de cette matière organique. Il représente deux fois plus de carbone que celui contenu dans l'atmosphère et trois fois plus que celui dans la végétation (Lefèvre, 2018).

I.2. La pollution du sol, sources et effets néfastes sur l'écosystème

I.2.1. Définition de la pollution

La pollution peut être définie comme étant une modification défavorable de l'équilibre naturel d'un milieu susceptible de mettre en danger la santé de l'homme, les ressources biologiques, la faune et la flore. Elle résulte de l'apport de matières ou de substances exogènes. Ses effets peuvent être modificateurs ou destructeur vis-à-vis du fonctionnement du milieu (Jurewicz, 2010).

Un polluant se définit comme un altéragène biologique, physique ou chimique, qui au-delà d'un certain seuil, cause des effets négatifs sur un écosystème. Selon sa nature et sa concentration, le polluant peut être rapidement dégradé ou persister dans le milieu et peut donc causer des dommages à court ou à long terme. Les produits de la dégradation du polluant sont aussi susceptibles d'être toxiques (Burgess, 2013).

I.2.2.Pollution du sol

Un sol est dit pollué lorsqu'il y a accumulation des composés toxiques persistants, produits chimiques, sels, matières radioactives ou agents pathogènes, capables de causer des altérations biologiques, physiques et chimiques entraînant un déséquilibre dans l'écosystème et des perturbations dans la croissance des êtres vivants du sol (Burgess, 2013).

I.2.3. principaux polluants du sol

Les polluants du sol peuvent être de nature organique ou inorganique, nous pouvons citer les hydrocarbures, les pesticides, les métaux lourds, déchets des industries chimiques et pharmaceutiques et les déchets radioactifs.

I.2.4.Sources des polluants du sol

I.2.4.1.Source naturelle

Les phénomènes naturels peuvent libérer des polluants emprisonnés dans la roche ou les déplacer de sites pollués vers des sites non pollués. Les substances comme l'arsenic, le manganèse, le chlorure, les fluorures, les sulfates et les radionucléides sont naturellement présents dans certaines roches et sols; ces substances contaminent lorsqu'elles sont dissoutes dans l'eau ou libérées en grandes quantité suite à des conditions naturelles exceptionnelles (Mukhopadhyay *et al.*, 2005).

On peut citer certains phénomènes naturels qui sont responsables de pollution comme les tremblements de terre, volcans, feux de forêts, tsunamis, changements dans le régime des pluies et les variations soudaines des conditions climatiques (Koul et Taak, 2018).

I.2.4.2. Source anthropique

C'est la principale source de pollution du sol. Plusieurs domaines génèrent des produits toxiques dangereux pour l'équilibre de l'écosystème.

a. L'agriculture

En raison de la demande de plus en plus forte en nourriture, l'augmentation du rendement des plantations et des élevages est nécessaire. Pour se faire, les agriculteurs ont recours à l'utilisation de pesticides (herbicides, fongicides, insecticides), engrais et fertilisants chimiques, hormones de croissance, et antibiotiques (Koul et Taak, 2018).

Ces produits chimiques sont hautement toxiques à une dose supérieure au seuil standard et présentent de graves risques pour l'environnement et la santé.

Par exemple l'application de fumiers et des engrais introduisent des métaux lourds et d'autres polluants organiques dans le sol, ce qui modifie sa composition et créer un déséquilibre (pH, fertilité, activité biologique des êtres vivants) (Koul et Taak, 2018).

b. L'Industrie

L'industrie pétrolière, chimique, pharmaceutique et nucléaire libère des déchets toxiques dans la nature. On retrouve parmi ces polluants les métaux lourds, produits chimiques, les hydrocarbures et les médicaments mais aussi des radionucléides issus de fuites dans les stockages de déchets radioactifs (Havugimana et *al.*, 2017).

L'industrie minière et de métallurgie utilise souvent des produits chimiques toxiques pour une extraction de métaux et minéraux d'intérêt, on retrouve des traces de certains métaux lourds sur ces sites d'extraction comme le Hg, Pb, Ar, Cu, Cd, Se, Ni, Z et Cn (Koul et Taak, 2018).

Ces industries génèrent des également déchets dont la boue brune et rouge provenant du raffinage de la bauxite, le phosphogypse issu de la production d'acide phosphorique, le fluorogypse provenant de la production d'acide fluorhydrique, les scories (Résidu solide provenant de la fusion de minerais métalliques) des industries de transformation du plomb, du cuivre et du phosphore, et d'acier (Koul et Taak, 2018).

Les principales sources de polluants sont illustrées dans la figure suivante

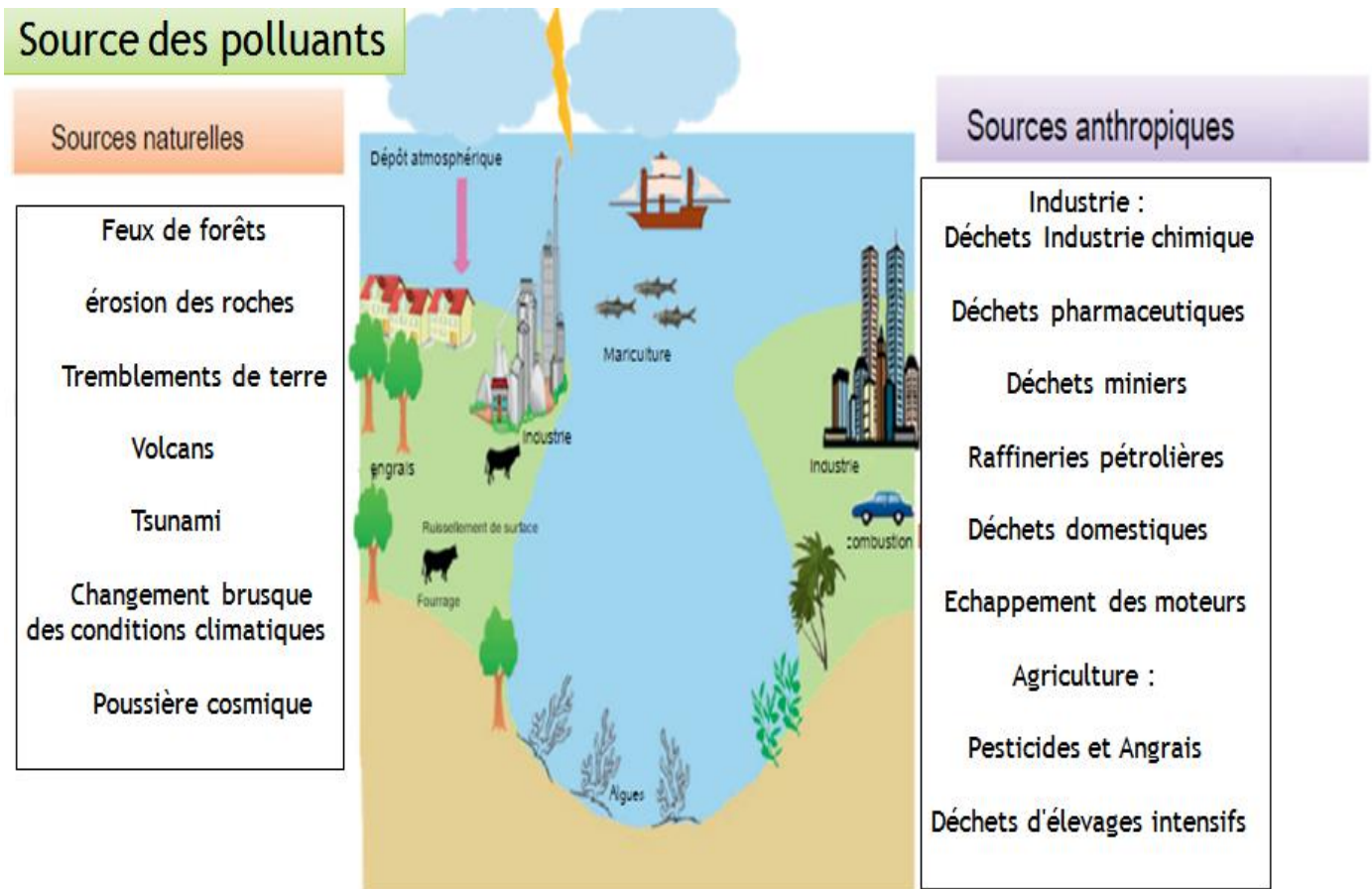


Figure 1 : Sources naturelles et anthropiques des polluants (Das et *al.*, 2014).

I.2.5. Impact négatif des contaminants sur les sols

I.2.5.1 Impact sur les microorganismes et activité enzymatique dans le sol

La biomasse microbienne du sol est un indicateur important pour déterminer l'étendue de la contamination de ce dernier. L'activité microbienne est considérablement inhibée dans les sols contaminés. Par exemple on peut constater une forte inhibition de la biomasse microbienne du sol contaminé par le Cu, le Zn, le Pb et d'autres métaux lourds (Erneste et *al.*, 2017).

La concentration des polluants a un rôle important dans l'étendue de l'inhibition de la croissance microbienne du sol, ainsi une forte concentration pourrait réduire considérablement la biomasse microbienne et causer des déséquilibres importants (Erneste et *al.*, 2017).

De plus, les enzymes du sol jouent un rôle important dans le processus de décomposition de la matière organique et du cycle des nutriments. L'activité des enzymes présentes dans le sol est influencée par la concentration de polluants organiques et inorganiques. Par exemple les activités de presque toutes les enzymes microbiennes ont été considérablement réduites de 10 à 50 fois avec l'augmentation de la concentration de métaux lourds (Koul et Taak, 2018).

I.2.5.2 Impact sur les plantes

L'équilibre écologique de tout système est affecté en raison de la contamination généralisée du sol. La plupart des plantes sont incapables de s'adapter lorsque les propriétés physiques, chimiques et biologiques du sol changent brusquement. Les champignons et les bactéries trouvés dans le sol qui ont un rôle dans le maintien de sa texture et structure commencent à décliner, ce qui crée un problème supplémentaire d'érosion. La fertilité du sol diminue lentement, rendant la terre impropre à l'agriculture et empêche toute végétation locale de survivre (Erneste et *al.*, 2017).

La pollution du sol rend de vastes étendues de terre incultivables. Contrairement aux déserts, qui conviennent à sa végétation indigène, ces terres ne peuvent pas supporter la plupart des formes de vie.

La faible concentration de polluants dans un sol n'affecte pas la croissance des plantes, par contre une concentration trop élevée qui dépasse le seuil de tolérance conduit à leur empoisonnement puis à leur mort.

Par exemple il a été constaté que si la teneur en cuivre du sol était supérieure à 50 mg / kg, cela affecte les plantules d'agrumes; si elle atteint 200 mg / kg, le blé se fane, la longueur des racines diminue, la hauteur de la plante et la surface foliaire chute.

Certains polluants peuvent interférer avec les processus de photosynthèse, la synthèse protéique, et peuvent endommager les membranes cellulaires (Erneste et *al.*, 2017).

I.2.5.3.Impact sur la santé humaine

Les cultures et les plantes cultivées sur un sol pollué absorbent une grande partie de la pollution et la transmettent ensuite à travers la chaîne alimentaire jusqu'à arriver à l'homme. Une exposition à long terme à un sol polluer peut affecter la constitution génétique du corps par l'intermédiaire de mutations, provoquant ainsi des maladies congénitales et des problèmes de santé chroniques qui ne peuvent être guéris.

Le bétail peut être sujet à des maladies dans une large mesure et provoquer une intoxication alimentaire sur une longue période. La pollution des sols peut même conduire à des famines généralisées si les plantes ne peuvent plus y pousser (Erneste et *al.*, 2017).

Les polluants dans les sols urbains peuvent pénétrer dans le corps humain par absorption cutanée et inhalation de poussière, etc., et ainsi nuire directement, en particulier à la santé des enfants. Ils affectent également la qualité de l'environnement et nuisent indirectement à la santé humaine en polluant la nourriture, l'eau et l'atmosphère (Erneste et *al.*, 2017).

I.2.5.4.Diminution de la fertilité du sol

Les produits chimiques toxiques présents dans le sol peuvent diminuer sa fertilité par le changement des propriétés physicochimiques tels que le pH, la perméabilité, le potentiel red/ox, et par la destruction de la micro et macrofaune présente dans le sol qui est indispensable à son équilibre.

En conséquence, les sites pollués subissent une forte diminution dans le rendement des cultures et produisent des fruits et légumes qui manquent de nutriments de qualité et qui peuvent contenir une substance toxique pouvant causer de graves problèmes de santé chez les consommateurs (Koul et Taak, 2018).

Chapitre II

Principaux polluants du sol

Chapitre II : Principaux polluants du sol

Nous citerons dans cette partie trois catégories de polluants du sol qui sont les plus toxiques et les plus communément retrouvés dans les analyses de terrain : les pesticides, les hydrocarbures pétroliers et les métaux lourds.

II.1 pesticides

II.1.1.Définition

Un pesticide est une substance utilisée pour la prévention, le contrôle ou l'élimination d'organismes jugés indésirables qu'il s'agisse de plantes, d'animaux, de champignons ou de bactéries. Cette substance peut être un produit chimique, ou biologique (issu d'un organisme vivant ou bien l'organisme vivant lui-même) et avoir différents modes d'action selon la cible et l'organisme à éliminer (Koul et Taak, 2018).

On utilise le terme de « produits phytosanitaires » pour désigner toute substance chimique minérale ou organique, de synthèse ou naturelle, utilisée pour protéger les végétaux contre les organismes nuisibles aux cultures (insectes, mauvaises herbes, champignons microscopiques). Ces molécules se présentent sous diverses formulations. Elles peuvent être sous forme solide (granulés, poudre) ou liquide (émulsions, solutions aqueuse). Ces produits phytosanitaires peuvent être utilisés par pulvérisation, application au sol ou en traitement des semences (Quintera et Varrone, 2019).

Plusieurs pesticides sont persistants (tableau II) dans le sol et ne sont pas biodégradables (Navarro et *al.*, 2007). Leur mobilité et leur capacité à s'accumuler dans l'environnement (Figure 2) conduisent à des effets néfastes à long terme sur les organismes vivants autres que ceux qui sont ciblés.

Après l'application, les pesticides peuvent s'adsorber sur le sol, se dissoudre dans l'eau ou devenir en suspension dans l'air par volatilisation ou érosion, avant d'être finalement dégradés. Cela dépend de leur affinité avec le sol, de la solubilité dans l'eau et de la pression de vapeur, ainsi que des caractéristiques environnementales et du site, La dégradabilité du pesticide est mesurée par sa persistance, qui est exprimée en demi-vie (temps pour 50% du pesticide à se décomposer). La dégradation pourrait être faite par la lumière, des produits chimiques abiotiques ou des micro-organismes par biodégradation (Quintela et Varrone, 2019).

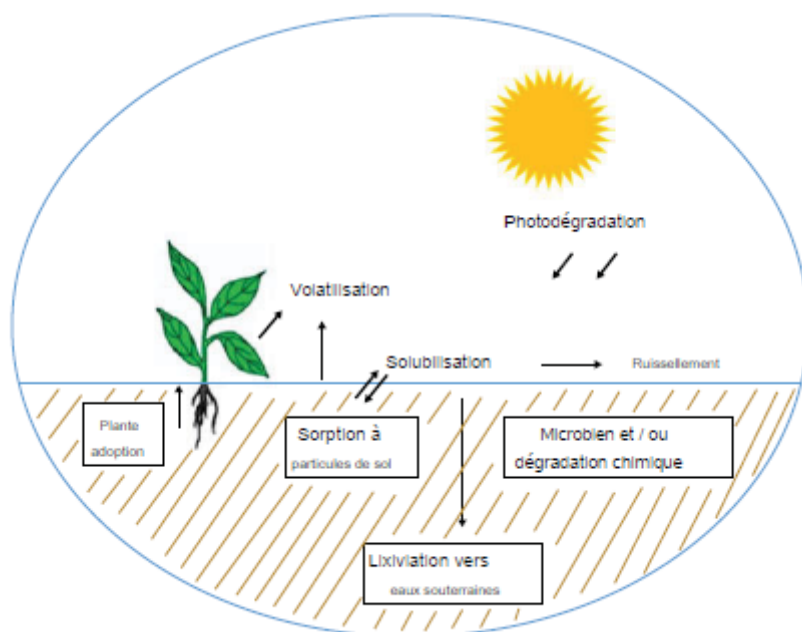


Figure 2 : Différents processus affectant la mobilité et la persistance des pesticides (Quintela et Varrone, 2019).

Tableau II : Persistance de quelques pesticides dans le sol (Quintela et Varrone, 2019).

Substance	Temps de réduction de 75 à 100%
Insecticides chlorés	
DDT	4 années
Aldrin	3 années
Chlordane	5 années
Heptachlore	2 ans
Lindane	3 années
Insecticides organophosphorés	
Dianinon	12 semaines
Malathion	1 semaine
Parathion	1 semaine
Les herbicides	
2,4 D	4 semaines
2,4,5-T	20 semaines
Dalapon	8 semaines
Atrazine	40 semaines
Simazine	48 semaines
Propazine	1,5 ans

II.1.2. Classification des pesticides

Les pesticides se répartissent en plusieurs groupes selon leur usage. On retrouve principalement les herbicides (dont l'action porte sur les mauvaises herbes), les fongicides (qui agissent sur les champignons) et les insecticides (qui agissent sur les insectes et les acariens). D'autres pesticides ont des actions plus spécifiques (contre les limaces, les escargots et les nématodes) ou exercent un rôle de régulateur de croissance (Koul et Taak, 2018).

II.1.3. Caractéristiques et structure chimique des pesticides

II.1.3.1 Pesticides organochlorés

Les pesticides organochlorés se présentent en général sous forme de poudre ou cristaux blanc-jaunâtre ou incolores. Ce sont des composés non ioniques, très peu solubles dans l'eau, solubles dans les lipides et solvants organiques. Ils sont stables à l'air, à la lumière, à la chaleur d'où leur persistance dans les sols les eaux et les végétaux.

Ce sont des composés à structures cycliques très variées, possédant un ou plusieurs atomes de chlores auquel peut être associé plusieurs autres groupements (Koul et Taak, 2018).

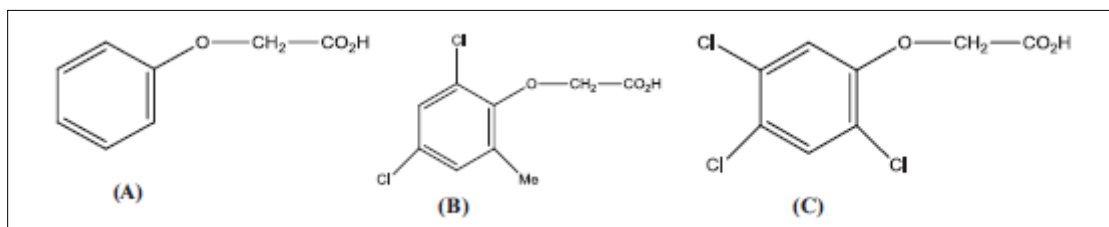


Figure 3 : Structure chimique de quelques pesticides organochlorés. (A) Acide phénoxy acétique, (B) Acide 2,4 dichloro phénoxy acétique et (C) Acide 2,4,5 trichloro phénoxy acétique (Koul et Taak, 2018).

II.1.3.2 pesticides organophosphorés

Les pesticides organophosphorés se présentent en général sous forme de liquide visqueux et plus rarement sous forme de cristaux. Ils sont volatils avec une odeur caractéristique. Ce sont des composés non ioniques, relativement instables et biodégradables. Ils sont très solubles dans l'eau et les solvants organiques. Ce sont des dérivés de l'acide phosphorique (Koul et Taak, 2018).

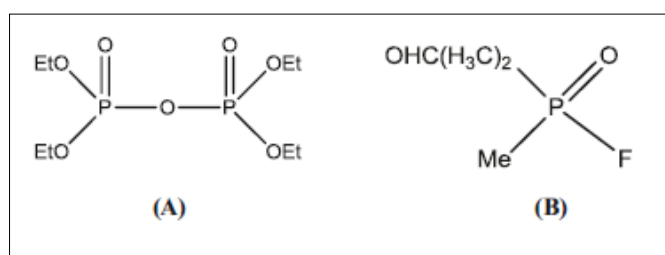


Figure 4 : structure chimique de quelques pesticides organophosphorés. (A) Glycine ; (B) Glyphosate (Koul et Taak, 2018).

II.2.Hydrocarbures

II.2.1. définition des hydrocarbures et caractéristiques

Un hydrocarbure est un composé organique contenant exclusivement des atomes de Carbone (C) et d'Hydrogène (H). Il possède en conséquence une formule brute de type : C_nH_m , où « n » et « m » sont deux entiers naturels. On y retrouve par parfois des atomes d'oxygène, d'azote et de soufre.

La présence de pétrole brut dans le sol, généralement par déversement, altérerait ses propriétés. Le pétrole brut est constitué d'hydrocarbure aliphatique saturé et insaturé, d'hydrocarbures aromatiques monocycliques et polycycliques (Moubasher et *al.*, 2015).

La pollution des sols par les hydrocarbures pétroliers réduit le niveau de la biomasse environnementale et la biodiversité. Elle peut altérer les propriétés physiques et chimiques du sol, en particulier le rapport C / N et la teneur en sel soluble (Marinescu, 2010).

Les sols pollués par les hydrocarbures sont légèrement acides par rapport aux sols non pollués qui tendent vers la neutralité. Le pétrole brut réduit l'infiltration de l'eau dans le sol et entraîne également une faible perméabilité. La pollution par les hydrocarbures augmente la teneur organique du sol, réduit la concentration d'azote, de phosphore et de calcium (Moses et Uwah, 2015).

Une augmentation du niveau d'hydrocarbures dans le sol provoque une faible fertilité de ce dernier, ce qui a un impact négatif sur la productivité agricole, et réduit la source de subsistance des êtres humains et des animaux dans la zone géographique touchée par la pollution (Oyem et *al.*, 2013).

II.2.2 Classification des hydrocarbures

Les hydrocarbures peuvent être subdivisés en trois classes principales : aliphatiques, naphthéniques et aromatiques (Ehenenden et *al.*, 2020).

II.2.2.1. Hydrocarbures Aliphatiques

Ce sont des composés à chaîne ouverte constituant la série acyclique désignée par le terme « corps gras ». Suivant la nature des liaisons entre les carbones, on subdivise cette série en composés saturés et composés insaturés.

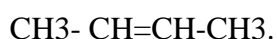
Les composés saturés sont des molécules constituées de chaînes carbonées à simple liaison entre eux. Ils constituent une des classes les plus abondantes (10- 40%) des hydrocarbures totaux d'un pétrole brut

Exemple:



Les composés non saturés possèdent au moins une double liaison Carbone – Carbone ou une triple liaison Carbone – Carbone.

Exemple:



II.2.2.2. Hydrocarbures Naphténiques

Ce sont des composés à chaîne fermée, saturés renfermant des formes monocycliques en C5 (Cyclopentane) et en C6 (Cyclohexane), formant la série cyclique.

Deux ou plusieurs cycles peuvent se condenser entre eux pour donner des hydrocarbures polycycliques.

Ils sont en général peu toxiques, mais plus abondants que les aliphatiques et moins que les composés aromatiques. Certains produits (Stéran, Trope) sont parfois utilisés comme témoins d'une contamination pétrolière (Koul et Taak, 2018).

II.2.2.3. Hydrocarbures Aromatiques polycycliques (HAP)

Les HAP sont un grand groupe de composés constitués d'atomes de carbone et d'hydrogène mais dont la structure comprend au moins deux cycles aromatiques condensés. (Figure 5). Ils sont formés lors de la combustion incomplète de matière organique dans les centrales électriques, les véhicules, la combustion du charbon, etc. (Samanta et *al.*, 2002). Ils sont de nature hautement hydrophobe et ont tendance à s'adsorber à la surface du sol). Un total de 28 composés ont été identifiés comme dangereux par l'US EPA (United States Environmental Protection Agency) en 2008 (Perelo, 2010) car ils représentent de puissants agents cancérigènes et mutagènes.

Quand les HAP se lient aux particules de poussière dans l'air et les sédiments, ils deviennent inertes à la dégradation. Ils peuvent s'accumuler dans le corps des animaux marins dans les organes riches en lipides lorsque ces individus sont régulièrement exposés (Bojes et Le pape, 2007).

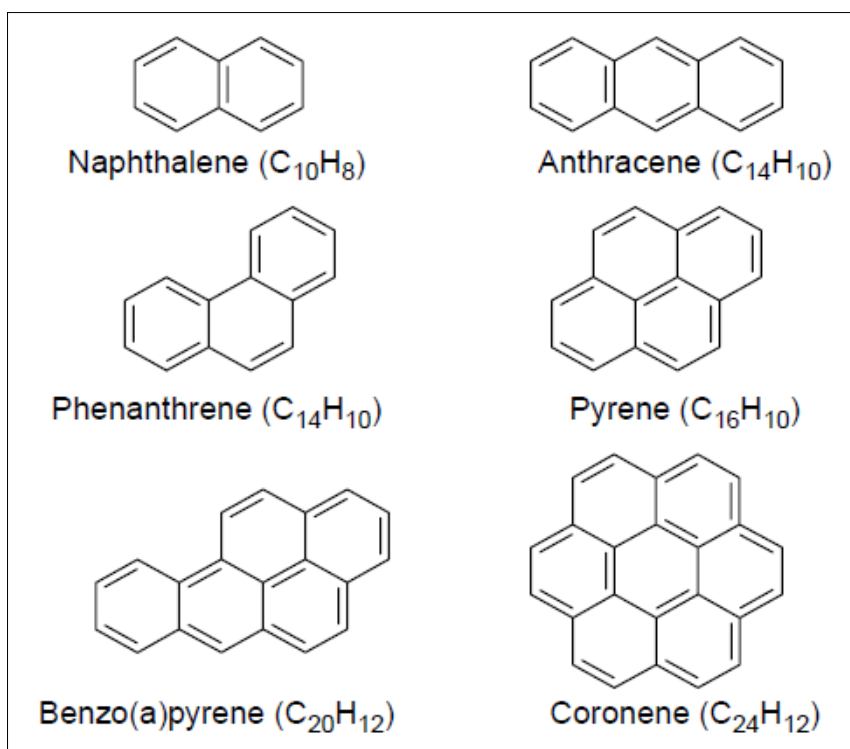


Figure 5 : structure chimique de quelques HAP s (Samantha et *al.*, 2002).

II.2.2.4. Cycles biogéochimiques des HAP

Les HAP sont des composés semi-volatils dans des conditions environnementales. Ils se déplacent entre l'atmosphère et la surface de la terre dans des cycles répétés de dépôt et de volatilisation, déterminés par la température (Figure 6). En présence de lumière solaire, les HAP subissent une photo-oxydation dans l'air ambiant, où ils sont présents sous forme de vapeurs, ou bien sont adsorbés à des particules en suspension dans l'air (Das et *al.*, 2014).

Dans les systèmes aquatiques, les HAP sont adsorbés en particules et précipités formant une matière huileuse en raison de leur faible solubilité.

Les HAP adsorbés persistants contaminent plus tard les systèmes de sol et d'eau. Les populations microbiennes dans les systèmes sédiments / eau dégradent certains HAP et réduisent leur toxicité sur une période de temps relativement longue.

Les HAP pénètrent dans les animaux terrestres par diverses voies : par inhalation, contact cutané et ingestion, tandis que l'absorption est la voie d'entrée dans les plantes à partir du sol par leurs racines. La bioaccumulation des HAP se produit dans les plantes, Puisqu'ils sont un contaminant persistant modéré dans l'environnement, la concentration de HAP chez les animaux augmente de plus en plus avec le temps (Das et *al.*, 2014).

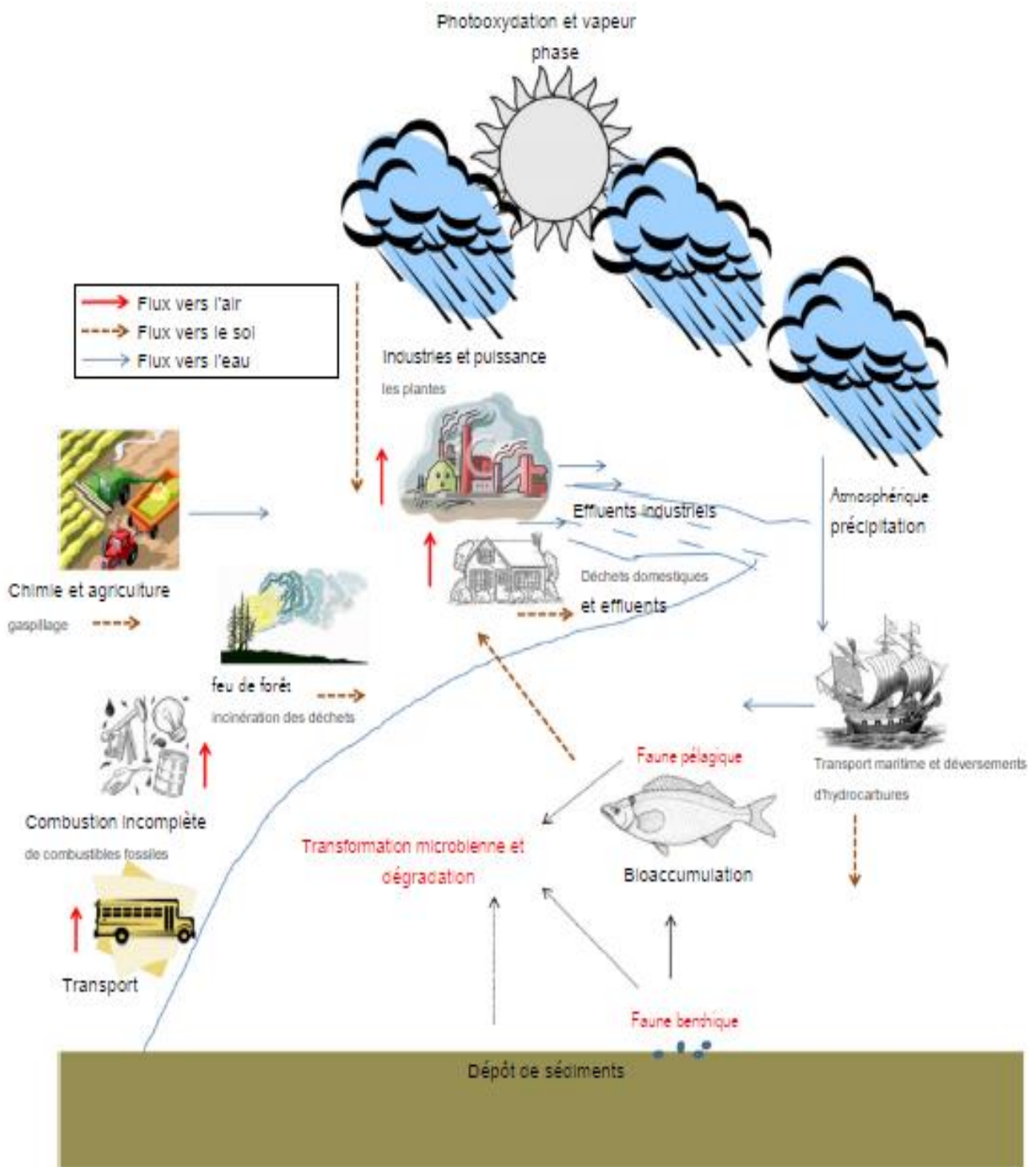


Figure 6 : Cycle biogéochimique des HAP dans l'environnement (Das et al., 2014).

II.3.Métaux lourds

II.3.1 Définition

Un métal est un élément chimique caractérisé par numéro atomique >2 , une densité variant entre 3,5 et 7 g/cm³ et poids atomique de 22,98 à 40. Ce sont de bons conducteurs de chaleur et d'électricité, ayant des caractéristiques de dureté et de malléabilité et se combinent aisément avec d'autres éléments pour former des alliages (Afal et Wiener, 2014).

II.3.2.Caractéristiques générales des métaux lourds

Ces éléments sont naturellement présents dans la terre en quantité limitée et sont nécessaires au métabolisme des êtres vivants, mais du fait des activités humaines incontrôlées (industriel, minier, fonderie, etc.), ils peuvent se retrouver en forte concentration sur un site particulier et avoir des effets toxiques (Das et *al.*, 2014).

On les retrouve le plus souvent dans l'environnement sous forme de traces et les métaux tels que Pb, Cd, Cr, Cu, Ni et Zn peuvent modifier les propriétés et les interactions chimiques du sol et causer des effets toxiques sur les êtres vivants qui y vivent (Shaylor et *al.*, 2009). Une forte concentration de ces éléments est nocive pour l'environnement car ces métaux s'accumulent généralement dans leurs états d'oxydation les plus stables, réagissent facilement avec les biomolécules pour générer des composés bio-toxiques extrêmement stables qui sont très difficiles à dissocier mais aussi leur donne la capacité de traverser les membranes cellulaires (Kulshreshtha et *al.*, 2014).

En raison de leur nature non dégradable, ils pénètrent dans le sol et l'eau et contaminent la chaîne alimentaire (Azimi et *al.*, 2017). Ces déchets toxiques affectent également considérablement la fertilité des sols, ce qui réduit à la fois la qualité et la quantité de la production des denrées alimentaires (Chibuïke et Obiora, 2014).

Les métaux lourds considérés le plus couramment comme polluants sont l'arsenic (As), le plomb (Pb), le mercure (Hg), le chrome (Cr), le zinc (Zn), le cadmium (Cd), le cuivre (Cu) et le nickel (Ni) (Hansda et *al.*, 2014). Quand ils sont présents dans les sols pollués, ils peuvent être rejetés dans d'autres écosystèmes tels que les eaux souterraines, les rivières, l'atmosphère et les cultures, détruisant ainsi les micro-organismes bénéfiques présents dans le sol et affectent sa fertilité (Koul et Taak, 2018).

II.3.3 Caractéristiques de certains métaux lourds et leurs effets toxiques :

II.3.3.1 Le Cadmium

Le Cadmium a une grande résistance à la corrosion ; son point de fusion est bas, il a une bonne conductivité de l'électricité ; ses produits dérivés ont une bonne résistance aux fortes températures. Il présente des caractéristiques chimiques proches de celles du Calcium, en particulier le rayon ionique, facilitant ainsi sa pénétration dans les organismes. Le cadmium n'est absolument pas un oligo-élément essentiel et est hautement toxique pour les systèmes vivants (Bernhoft, 2013).

Les activités industrielles telles que le raffinage des métaux non ferreux, la combustion du charbon et des produits pétroliers, les incinérateurs d'ordures ménagères et la métallurgie de l'acier constituent les principales sources de rejet du Cadmium dans l'atmosphère. Au lessivage des sols le Cadmium provient de l'érosion naturelle, (engrais phosphatés) ainsi que des décharges industrielles et du traitement des effluents industriels et miniers (Bernhoft, 2013).

II.3.3.2 Le Plomb

Le Plomb est présent dans la croûte terrestre et dans tous les compartiments de la biosphère. Dans la nature, la présence de plomb natif est très rare, et il est principalement associé aux minerais de zinc, d'argent et de cuivre et extrait avec l'extraction de ces métaux. Les rejets atmosphériques sont principalement anthropiques, ils proviennent d'abord des industries de première et deuxième fusion du plomb, et au niveau urbain ou routier, des rejets des véhicules à moteur (Davidson et *al.*, 2014).

Ces composés sont extrêmement volatils et pénètrent facilement dans l'organisme par l'absorption de nourriture (65%), d'eau (20%) et d'air (15%) (Mahmood et Malik, 2014).

II.3.3.3 Le mercure

Le mercure (Hg) est le seul métal lourd qui existe à l'état liquide à des conditions de pression et de température standard. Il est principalement utilisé pour l'extraction de métaux précieux et dans certains instruments de mesure tels que les thermomètres, les baromètres, les manomètres, etc. ainsi que dans les industries de la peinture (Martinez-Finley et Aschner, 2014).

Le mercure pénètre dans l'environnement de différentes manières. La majorité de celui-ci est émis sous forme de mercure élémentaire gazeux, qui peut être transporté loin de la source d'émission (Driscoll et *al.*, 2013).

L'intoxication au mercure a un certain nombre d'effets secondaires sur la santé humaine. L'exposition excessive au Hg provoque de nombreux types de maladies comme des allergies et des troubles nerveux et liés au système rénal (Azimi et Moghaddam, 2013)

II.3.3.4 Le Chrome

Le chrome est un métal réducteur qui brûle facilement sous la pression des gaz, en laissant un dépôt de chlorure de chrome violet sur les surfaces solides.

Les dérivés du chrome sont très toxiques et à forte dose, ses sels provoquent notamment et de manière rapide des ulcères. La toxicité du chrome varie fortement selon sa forme chimique. Dans l'environnement, le Cr existe dans divers états d'oxydation comme Cr(0), Cr (III) et l'espèce hexavalente Cr (VI) . En dehors de ces états, Cr (0) est l'état le plus stable suivi du Cr(VI) qui existe principalement sous forme de chromate (CrO_4^{2-}), bichromate ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$), et trioxyde de chrome (CrO_3). Le CrO_3 est l'état le plus toxique par un fort potentiel oxydant, une solubilité et une mobilité élevée à travers les membranes cellulaires des organismes vivants (Bhalerao et Sharma, 2015).

Le chrome sous sa forme hexavalente est cancérigène et la limite admissible pour l'homme est de 0,05 ppm (Mohanty et Patra, 2011). Il peut être bioaccumulé par divers organismes (dont des végétaux alimentaires quand il est présent dans l'eau d'irrigation ou dans les sols). Dans ces cas, il peut devenir l'un des contaminants alimentaires pouvant affecter la santé humaine.

II.3.3.5. L'Arsenic

L'arsenic est un élément toxique pour les formes de vie multicellulaires. Le problème majeur de pollution associé à l'arsenic est la contamination des eaux souterraines. Le niveau de sa toxicité dépend de ses formes chimiques, de son état de valence, de la voie d'administration dans l'organisme, de la dose et de la durée de l'exposition (Hughes et *al.*, 2011).

Il existe diverses utilisations commerciales de ce métal, comme un additif d'alliage dans la soudure au plomb, les grilles de batterie, les gaines de câbles et la tuyauterie de chaudière. Les peintures et les industries pharmaceutiques rejettent également d'énormes quantités d'arsenic en tant que déchet.

Les principales préoccupations concernant la toxicité de l'arsenic sont la cancérogénicité et la mutagénicité (Ratnaike, 2003).

Chapitre III

*Matériels et techniques utilisés en laboratoire pour la recherche de
contaminants dans le sol*

Chapitre III : Matériels et techniques utilisés en laboratoire pour la recherche de contaminants dans le sol

III.1 Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

III.1.1 Principe

La chromatographie sur couche mince est une technique simple de séparation de composés qui repose sur des interactions entre les composés à séparer, la phase mobile et la phase stationnaire. On place un composé en bas d'un support solide (plaque en silice ou en alumine) appelé phase stationnaire et on applique un solvant qui sera la phase mobile. Par effet de capillarité, la phase mobile remonte le long de la phase stationnaire jusqu'à arriver à une hauteur limite déterminée où l'opération est arrêtée. Durant cette migration, le composé est entraîné par la phase mobile et selon ses caractéristiques physicochimiques, il migre à une vitesse donnée. Ces différentes vitesses de migration permettent de séparer des composés mélangés entre eux (Ali et *al.*, 2016). Ces étapes sont illustrées à la figure 7.

Le composé va développer des interactions électrostatiques selon sa polarité non seulement avec le solvant (phase mobile) mais également avec le support (phase stationnaire). Ainsi le composé montera haut s'il a peu d'interactions avec le support ou bien s'il a une forte affinité pour le solvant. Et il migrera peu ou s'il est fixé sur le support ou qu'il n'est pas entraîné par la phase mobile (Gherfat et *al.*, 2011).

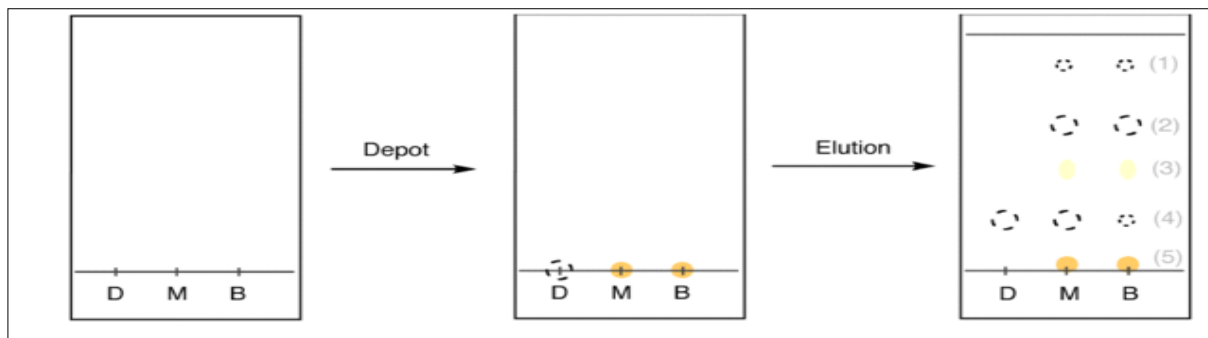


Figure 7 : Migration de composés sur une plaque CCM

Le rapport frontal est un indice qui nous renseigne sur l'affinité qu'a le composé avec la phase mobile. Il s'agit du rapport : distance parcourue par le composé / distance parcourue par le solvant $R_f = x/y$. Ainsi, un soluté peu soluble dans la phase mobile aura un R_f faible ; alors qu'un composé très soluble dans la phase mobile, verra son R_f proche de 1. Le rapport frontal dépend de nombreux paramètres : nature du revêtement de la plaque CCM (silice ou alumine), concentration de l'échantillon, nature des solvants d'élution. C'est pourquoi il n'existe malheureusement pas de table de rapports frontaux pour tous les composés organiques (Ali et *al.*, 2016).

On peut observer la migration des composés directement à l'œil nu si les composés sont colorés ou bien utiliser des révélateurs (rayons UV, fluorochromes, produits colorants, etc.)

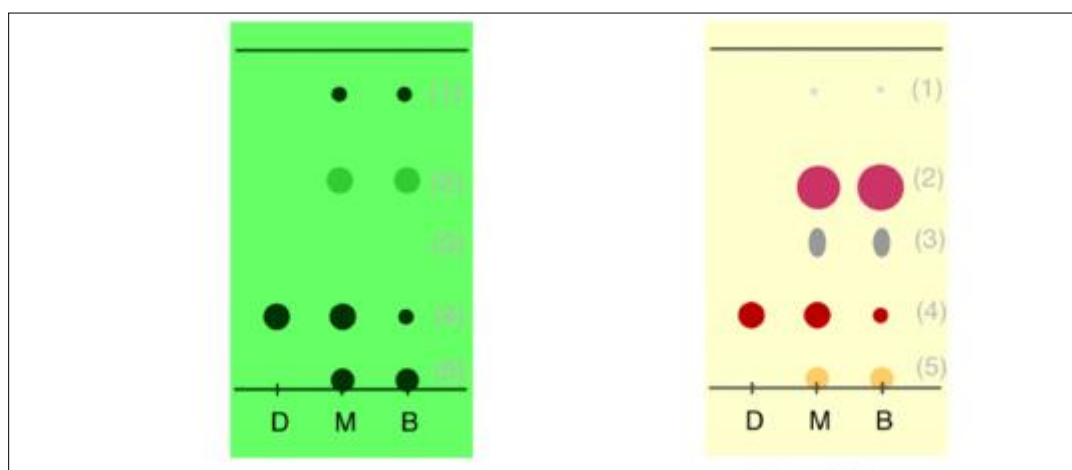


Figure 8 : Utilisation de produits révélateurs pour effectuer la lecture d'une plaque CCM

III.1.2. Exemple de protocole de séparation

On prendra l'exemple de l'extraction et de la séparation de pesticides d'un mélange de composés organiques. Les étapes d'extraction des molécules organiques d'un échantillon s'effectuent selon le protocole ci-après Figure 9.

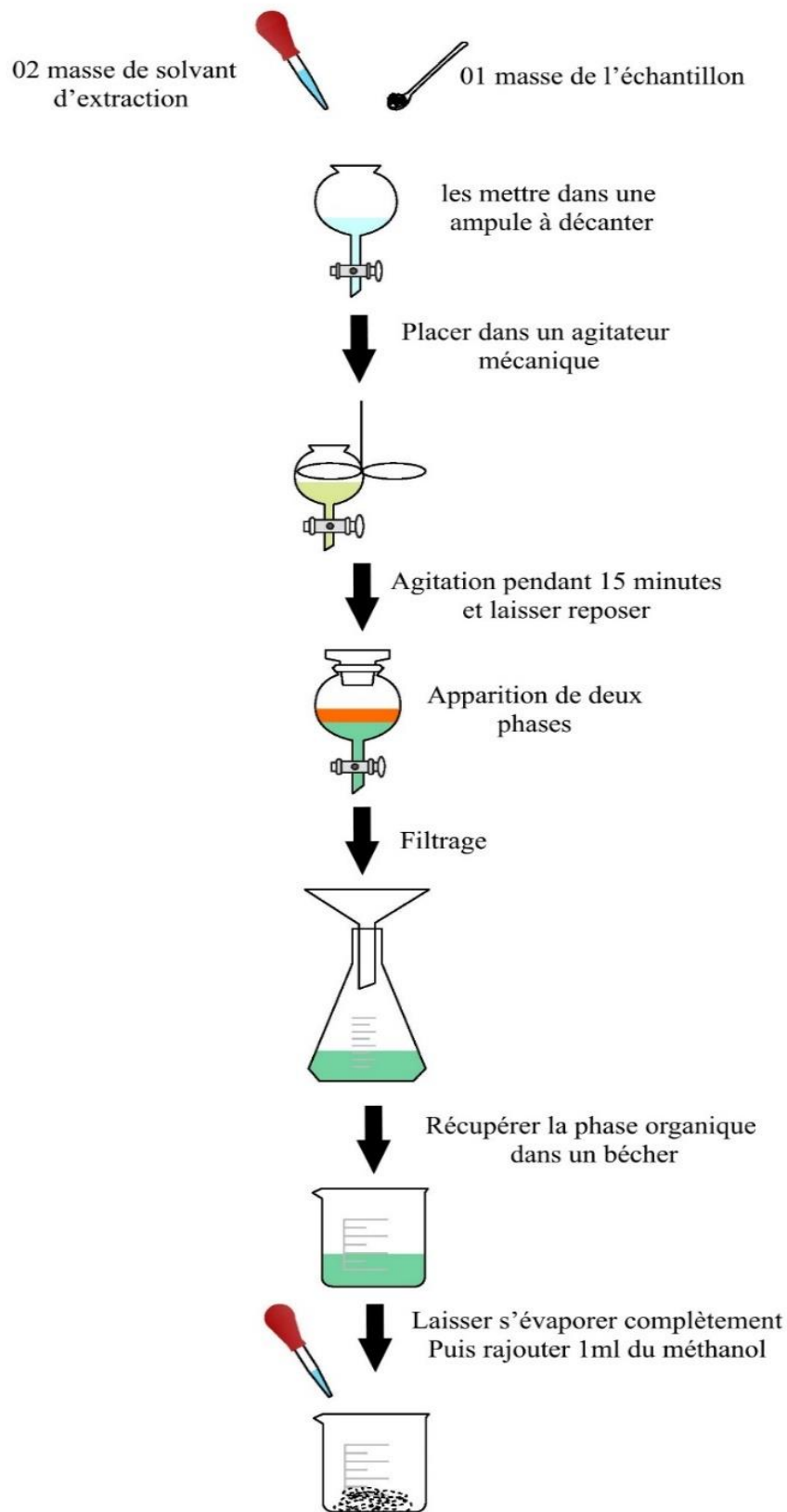


Figure 9 : Différentes étapes d'extraction des composés organiques (Ali et *al.*, 2016).

Après l'ajout du méthanol on prend dans le bêcher 5 à 10 μl de l'extractum et 5 μl de différents témoins de pesticide qu'on dépose au bas d'une plaque de Silice.

On place la plaque ainsi préparée dans une cuve à chromatographie contenant les solvants et on laisse migrer jusqu'à une hauteur de 10 à 12 cm. Puis on retire la plaque de la cuve et on laisse sécher.

On Pulvérise la plaque avec les révélateurs organochloré et organophosphoré puis on place la plaque dans l'étuve à 100°C pendant 20 mn.

L'observation se fait à l'œil nu (Ali et *al.*, 2016).

III.2 Analyse par Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de masse (GC/MS)

III.2.1 Principe

C'est une méthode d'analyse par un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (Figure 10). Le chromatographe sépare les composés de l'échantillon puis le spectromètre de masse identifie les différents composés par détermination des masses des espèces atomiques ou moléculaires. Cette technique donne des informations sur la nature, la composition et la structure des espèces présentes dans l'échantillon analysé, et permet de les identifier en les comparant à une base de données. C'est une technique fine, car elle est très utile pour les analyses de traces (Li et *al.*, 2013).

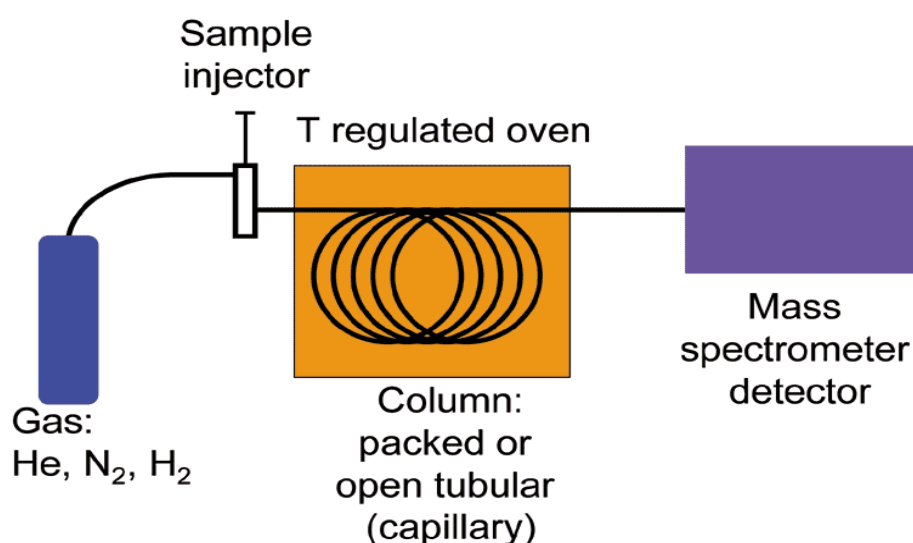


Figure 10 : Schéma général d'un appareillage GC-MS

III.2.2. Exemple de mode opératoire d'analyse de pesticides

Le chromatographe utilisé est un Perkin Elmer de marque CLARUS 500 muni d'un injecteur « split/splitless », associé à un spectromètre de masse, le POLARIS Q (Quadripôle) de chez Perkin Elmer.

L'injection des échantillons s'est faite de manière automatisée grâce au Combi Pal en mode SPME. La colonne chromatographique retenue pour réaliser ces essais est une Elite, 5MS (30 m x 0,25 mm, 0,25 μ m).

1ml de l'extractum récupéré est injecté dans la colonne du chromatographe pour l'analyse des pesticides dans les sédiments (Li *et al.*, 2013).

III.3. Analyse des sédiments par Spectroscopie d'Absorption Atomique (SAA)

III.3.1. Principe

Cette analyse est basée sur la détection de très faibles niveaux de concentration de nombreux éléments grâce à l'utilisation de différentes sources de rayonnement spécifiques à l'élément à mesurer, et ce, en comparaison avec des solutions de référence dont les concentrations sont connues. Cette technique conduit aussi bien à des résultats qualitatifs qu'à des données quantitatives. L'absorption de chaque élément est spécifique, aucun autre élément n'absorbe sa longueur d'ondes, ce qui permet d'identifier le composé, puis en comparaison avec des étalons, on obtient la concentration de chacun des composés (Ayangbenro et Babalola, 2017).

III.3.2. Exemple de mode opératoire

Les échantillons de sédiments sont acidifiés par les acides chlorhydrique et nitrique selon la figure 11 puis transférés dans un flacon volumétrique et dilués à la concentration voulue.

Une gamme de solutions étalons de métaux recherchés permettent de tracer une courbe d'étalonnage, et les concentrations des métaux lourds recherchés dans les échantillons de sédiments peuvent alors être calculés selon la Loi de Beer Lambert (Ayangbenro et Babalola, 2017).

L'extinction du rayonnement incident, d'intensité I_0 est donné par :

$$I = I_0 \exp (k.L.C)$$

k : Coefficient molaire d'absorption, l : Distance parcourue dans le milieu (cm)

C : Concentration de la solution étudiée (mol. l⁻¹), I_0 : Intensité du rayonnement incident, I : Intensité du rayonnement transmis ;

$$\text{Absorbance } A = \log (I_0/ I).$$

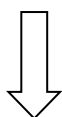
03 volumes d'acides chlorhydriques



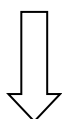
01 volume d'acide nitrique



03 gouttes d'eau oxygénée

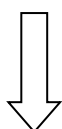


Prise d'essai de l'échantillon de sol



**Mettre sous la plaque chauffante
(300°C pendant 3 heures)**

Solution acide



**Ajouter 50m d'eau
désionisée**

Solution diluée (faire analyse dans SAA)

Figure 11 : Etapes de minéralisation des échantillons de sédiments (Ayangbenro et Babalola, 2017).

III.4 Analyse des hydrocarbures par Chromatographie en Phase Gazeuse Couplée à la Spectrométrie de Masse par un thermo désorbeur (ATD)

III.4.1 Principe

Cette technique permet d'extraire thermiquement les composés volatils ou semi-volatils, directement d'un échantillon, ou après que les composés volatils aient été adsorbés sur un twister (barreau aimanté recouvert de polydiméthylsiloxane).

L'extraction se fait à l'intérieur d'une cellule pendant un temps déterminé à température contrôlée. Les composés thermodésorbés sont concentrés par cryogénie, avant d'être élués par un gaz vecteur vers une colonne chromatographique placée dans un four thermostaté. L'identification des produits élués se fait à l'aide d'un spectromètre de masse (Figure 12). Cette technique s'applique aux substances volatiles, à des températures inférieures à 300°C, et non thermolabiles (Erneste et *al.*, 2017).

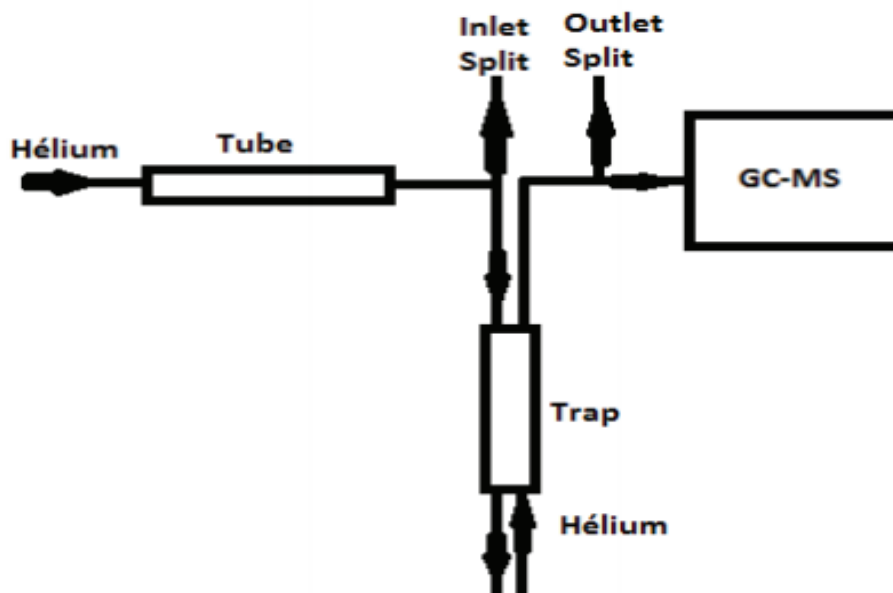


Figure 12 : Schéma général de la technique ATD/CG/MS (Erneste et *al.*, 2017).

III.4.2. exemple de protocole

L'analyse des composés adsorbés sur des tubes est réalisée par une chaîne analytique comprenant un thermo désorbeur (ATD), un chromatographe en phase gazeuse (GC) couplée à un spectromètre de masse (MS).

Le transfert des analytes adsorbés sur les tubes a été réalisé par le biais de l'utilisation d'un Automat Thermo Desorber 350 vendu par la société Perkin Elmer (schéma de principe figure X). Le gaz utilisé pour la désorption, qui a également servi de gaz vecteur, est de l'Hélium à très haute pureté (6.0) de façon à pouvoir être analysé en MS (Erneste et *al.*, 2017).

L'ATD constitue l'injecteur du GC. La désorption thermique s'effectue en deux étapes

- Désorption primaire : transfert des composés du tube de prélèvement vers le trap
- Désorption secondaire : transfert de composés du trap vers la colonne chromatographique

Durant la phase de désorption primaire, les composés piégés sur le tube de prélèvement sont désorbés sous l'effet de la température et du débit de désorption. Les conditions utilisées diffèrent selon le type de support utilisé, elles sont présentées dans le tableau III.

Tableau III : Montre l'association de phases adsorbantes tube/trap et leurs conditions de désorption (Erneste et *al.*, 2017).

Adsorbants Tubes/Trap	Conditions de Désorption		
	Température	Débit d'Hélium	Durée
Tenax TA	250°C	50 mL.min ⁻¹	3 min
Trap Air Monitoring	-30 à 250 °C	-	10 min

Les composés sont donc transférés vers le piège froid (trap) maintenu à $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ par effet Peltier. Si les quantités de COV présents sur le tube de prélèvement sont trop importantes, il est possible de n'en transférer qu'une partie sur le piège froid (introduction d'une fuite contrôlée entre le tube et le trap : Inlet Split).

Lorsque la totalité des COV ont été transférés sur le trap froid, ce dernier est chauffé très rapidement (désorption secondaire), il passe de $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ à $250\text{ }^{\circ}\text{C}$ à $40\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{sec}^{-1}$.

Cette étape de chauffage « flash » constitue l'injection des composés vers la colonne chromatographique via la ligne de transfert en silice désactivée (du même diamètre que la colonne chromatographique, soit $0,25\text{ mm}$, et d'une longueur d'un mètre) chauffée à $250\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Un palier à haute température (trap hold) de 1 minutes est appliqué au trap suite à sa désorption de façon à s'assurer de la désorption de tous les composés, même les moins volatils, et de permettre un nettoyage du support.

Conditions opératoires de GC sont comme suit :

Température du four : $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant 2 min, puis variant de $15\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ jusqu'à $280\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant 5 min

Gaz vecteur : hélium, avec débit constant de $1\text{ ml}/\text{min}$. Injection : $1.0\text{ }\mu\text{l}$.

La détection et l'identification par MS

Le mode d'ionisation utilisé est l'impact électronique. Lors d'une ionisation électronique en mode positif, les molécules sont bombardées par des électrons d'énergie de 70 eV . Ce mode d'ionisation est brutal et provoque des fragmentations importantes. Après avoir été ionisé, le mélange d'ions issu des composés d'intérêt est extrait de la source, focalisé et accéléré par des lentilles de façon à augmenter leur énergie cinétique. (Erneste et *al.*, 2017).

Les ions atteignent ensuite l'analyseur qui sépare le flux d'ions produits dans la source d'ionisation selon leur ratio masse/charge (m/z). Une tension est appliquée aux bornes des quadripôles, permettant la mise en résonance de certains ions (ceux avec un rapport m/z spécifiquement défini) et seuls ces ions-là pourront traverser les quadripôles et atteindre le détecteur (un photomultiplicateur dans notre appareil), sensible aux charges électriques. La plage des masses balayées commence à $m/z=35\text{ uma}$ et fini à $m/z=550\text{ uma}$ (Erneste et *al.*, 2017).

Chapitre IV

Bioremediation microbienne des sols pollués

Chapitre IV : Bioremédiation microbienne des sols pollués

IV.1 Principe de la bioremédiation microbienne

La bioremédiation peut être définie comme étant le processus d'élimination des polluants d'un site contaminé à l'aide de systèmes microbiens. Les microorganismes vont utiliser le contaminant comme source d'énergie et l'intégrer directement dans leurs réactions métaboliques à la place d'un élément chimique proche utilisé habituellement (Azubuike et *al.*, 2016).

Les activités de bioremédiation ont été remarquées pour la première fois chez les Romains vers 600 av. La bioremédiation a été officiellement inventée par George Robinson lorsqu'il a utilisé microbes pour dégrader une marée noire sur la côte de Santa Barbara en Californie à la fin des années 1960 (US Microbics, 2003).

Il s'agit d'un mécanisme de désintoxication des déchets environnementaux à l'aide de microorganismes ou de leurs enzymes. Cependant, lorsque la détoxification des déchets est effectuée sur le site contaminé, on parle de bioremédiation *in situ*. Au contraire, lorsque la détoxification des déchets se fait en dehors du site d'origine de la contamination, on parle de bioremédiation *ex-situ* (Lin et *al.*, 2010).

Pour amorcer une bioremédiation, on stimule la microflore native du site contaminé pour qu'elle puisse atteindre son plein potentiel et produire plus d'enzymes. (Chen et Wang, 2017). Deux approches peuvent être suivies, la biostimulation et la bioaugmentation.

La biostimulation (figure 13) est l'ajout de nutriments aux zones contaminées pour stimuler la croissance de micro-organismes capables de dégrader la molécule toxique par l'ajout de nutriments tels que l'azote, le phosphore, une source de carbone facilement dégradable ou des surfactants pour aider à l'absorption du polluant organique (Nikolopoulou et Kalogerakis, 2009).

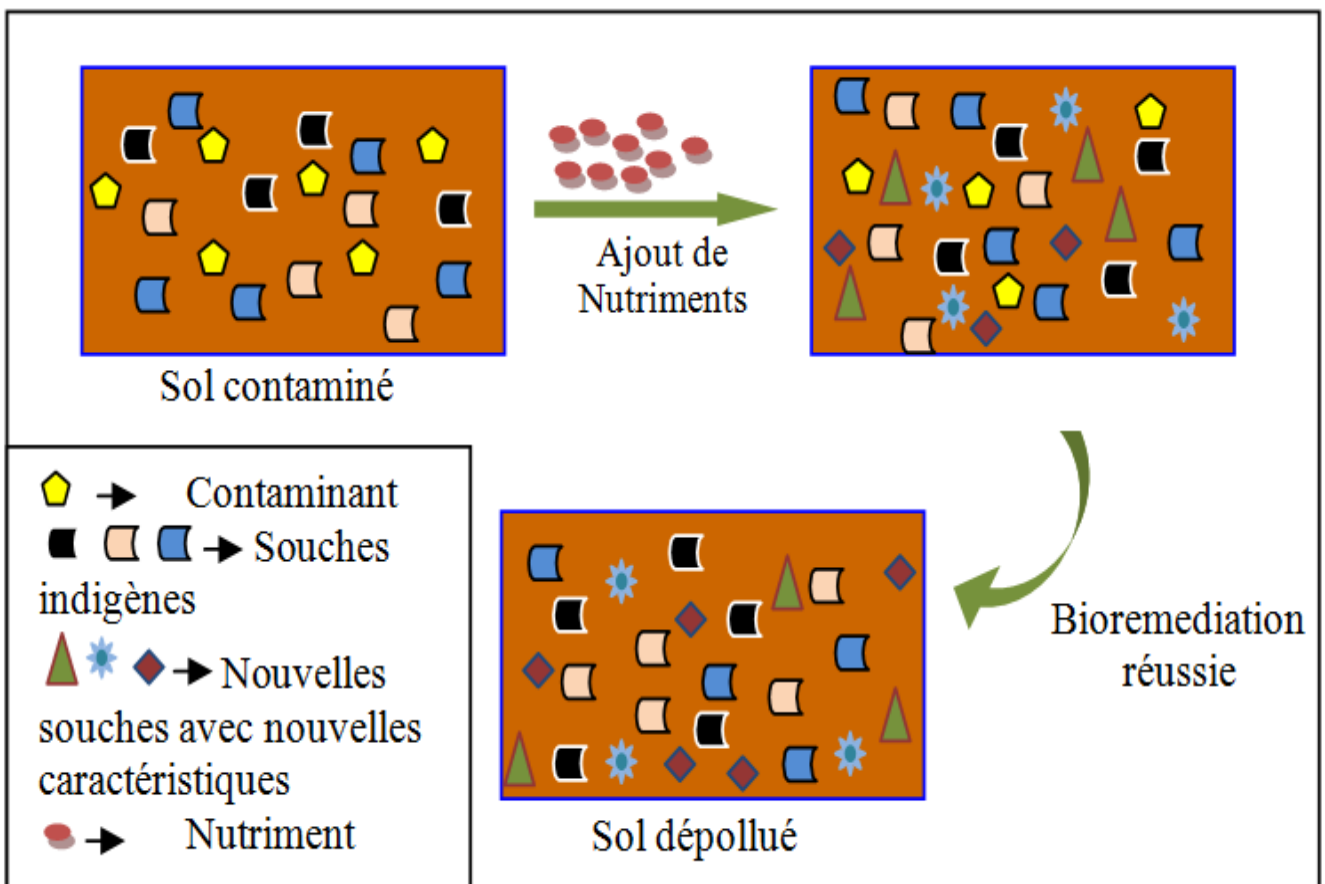


Figure 13 : schéma récapitulatif du principe de biostimulation (Nikolopoulou et Kalogerakis, 2009).

La bioaugmentation (figure 14), par contre, implique l'ajout de souches uniques ou de consortiums microbiens au site contaminé, qui peuvent être indigènes (enrichis et adaptés) ou exogènes. L'utilisation de l'une ou des deux techniques dépend du potentiel de dégradation des communautés autochtones, ainsi que du type et de l'étendue de la contamination (Nikolopoulou et Kalogerakis, 2009).

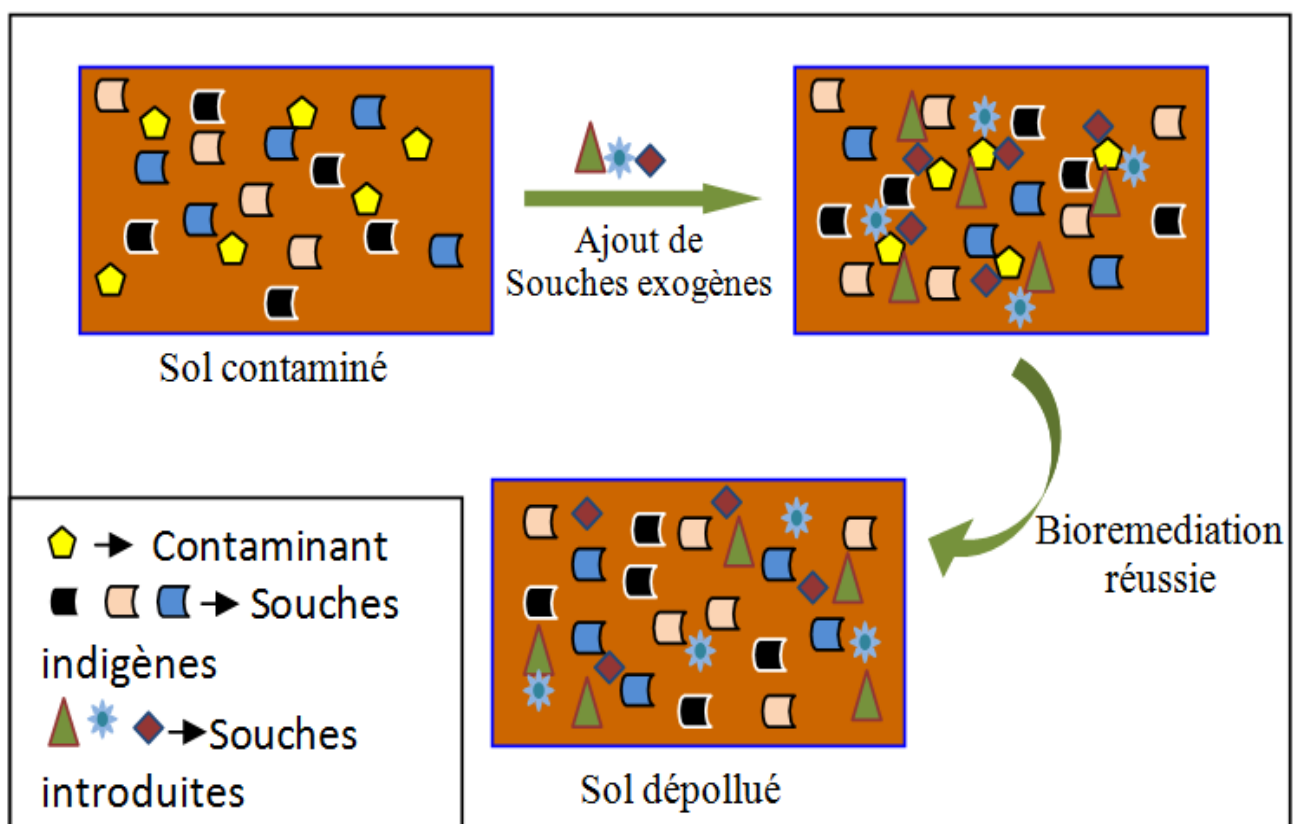


Figure 14 : schéma récapitulatif du principe de bioaugmentation (Nikolopoulou et Kalogerakis, 2009).

Chaque technologie de bioremédiation dépend de nombreux facteurs, notamment: les types, la quantité et la toxicité d'une espèce chimique polluante présente dans les conditions du sol et l'activité microbienne (souches indigènes ou exogènes) (Guang-Guoying, 2018).

Au cours du processus de bioremédiation, les liaisons chimiques sont rompues et de l'énergie est libérée, qui est ensuite utilisée par les micro-organismes pour leur croissance. Les espèces microbiennes transformant les polluants peuvent être isolées des environnements aérobies et anaérobies. Les microorganismes aérobies sont plus fréquemment utilisés pour les processus de biorestauration que les microorganismes anaérobies (Azubuiké et *al.*, 2016).

La biodegradation par des bactéries peut être anaérobie; en l'absence d'oxygène comme accepteur d'électrons, les bactéries peuvent utiliser des produits chimiques organiques ou des anions inorganiques comme accepteurs d'électrons alternatifs. Les bactéries impliquées dans cette bioremédiation n'utilisent pas d'oxygène dans leur métabolisme respiratoire. Les bactéries peuvent aussi être aérobies; cela implique l'emploi d'oxygène pour effectuer une biodégradation efficace des polluants dans le sol. En général, l'oxygène agit comme un accepteur final d'électrons en acceptant les électrons des substances organiques oxydantes (Xianagang et *al.*, 2020).

IV.2 Facteurs d'influence de la biodégradation des polluants du sol

IV.2.1. Température

Une légère augmentation de la température du sol a tendance à augmenter le taux de biorestauration tandis qu'une diminution de la température le réduit (Delille et *al.*, 2004). On observe une augmentation de la désorption et de la biodisponibilité avec une augmentation de la température (Iqbal et *al.*, 2007).

Cela pourrait être le résultat de l'effet de la température sur la composition et l'activité enzymatique microbienne.

IV.2.2. Nutriments

Les nutriments jouent un rôle majeur dans la bioremédiation; les microbes ont besoin d'une quantité proportionnée de nutriments pour mener à bien leurs activités métaboliques, leur division cellulaire et leur croissance. Des oligo-éléments qui servent de donneur et d'accepteur d'électrons sont ajoutés dans le sol sous forme organique (compost) et inorganique (engrais), afin de stimuler les microorganismes (Ruberto et *al.*, 2009).

La biorestauration des sols pollués peut être améliorée grâce à une sélection, une combinaison et une application appropriées des éléments nutritifs.

IV.2.3. Biodisponibilité du contaminant

La disponibilité du contaminant a un effet significatif sur le métabolisme cellulaire. En l'absence de contaminants, la biodégradation ne se produit pas car il y a un apport énergétique insuffisant pour induire la dégradation. À un faible niveau de concentration du contaminant, la biodégradation se produit mais à un rythme lent, ceci est le résultat de l'absence d'augmentation de la population microbienne car il n'y a pas l'énergie requise pour la division cellulaire. Enfin, s'il y en a assez contaminant biodisponible, l'approvisionnement en énergie augmente, induisant ainsi une biodégradation efficace, à ce stade, la population microbienne est en phase de croissance, en raison de la division cellulaire et d'une augmentation du taux de croissance (Kalantary et *al.*, 2014).

IV.2.4. Teneur en eau

Une croissance microbienne optimale ne peut se produire qu'en présence d'eau, la teneur en eau du sol régule la diffusion de l'oxygène, les échanges entre milieu intra et extracellulaires et les molécules d'eau sont indispensables aux réactions biochimiques ; particulièrement la réaction d'hydrolyse qui intervient dans les processus de dégradation de polluants.

Maintenir la teneur en humidité du sol à une valeur optimale est d'une importance cruciale pour un processus de bioremédiation réussi (Bahmani et *al.*, 2018).

IV.2.5. pH

La modification du pH du sol par le processus de chaulage peut être très importante dans la dégradation des polluants car certains micro-organismes utilisent des mécanismes de dégradation dépendants de la concentration en ions H^+ du milieu. Pour une bioremédiation efficace et maximale, il est important de prendre en compte le pH en fonction de la nature du polluant et des espèces microbiennes concernées (Pawar, 2015).

IV.3. Bioremédiation microbienne des sols pollués

Nous prendrons l'exemple de la biodegradation des métaux lourds afin de détailler les différentes stratégies utilisées par les microorganismes pour dégrader les polluants.

IV.3.1 Stratégies et mécanismes de bioremédiation microbienne des sols pollués par les métaux lourds

Les micro-organismes transforment les métaux lourds en utilisant différentes stratégies. Ils modifient généralement l'état ionique des métaux, ce qui peut affecter leur solubilité, leur mobilité et leur biodisponibilité (Ayangbenro et Babalola, 2017).

La biorestauration des métaux lourds peut être effectuée par des processus de mobilisation ou d'immobilisation, qui peuvent être accomplis en suivant les acides synthétisés par certaines bactéries agissent également comme agents de formation de complexes (Ayangbenro et Babalola, 2017).

IV.3.1.1 Oxydation enzymatique

La plupart des composés inorganiques ont plusieurs niveaux d'oxydation, et il est couramment observé que l'état d'oxydation supérieur est moins soluble que l'état inférieur ; le processus d'oxydation enzymatique (catalysé par les enzymes libérées par les microorganismes) améliore la solubilité des composés. C'est l'une des méthodes utilisées pour éliminer les espèces inorganiques insolubles (Pratish et *al.*, 2018).

Dans ce processus, les métaux lourds perdent des électrons et se transforment en un état moins toxique. L'exemple le plus courant d'oxydation enzymatique est l'oxydation de l'uranium par *Thiobacillus ferrooxidans*, *T. thiooxidans* de son minerai (Cumberland et *al.*, 2016).

IV.3.1.2. Réduction enzymatique

Ce processus est l'inverse du processus d'oxydation enzymatique. Les composés inorganiques dans un état d'oxydation sont très solubles dans l'eau et biodisponibles ce qui les rends très mobiles et augmente les dégâts provoqués dans le milieu. L'état réduit de ses composés les rends insolubles par le fait qu'ils ont tendance à se lier avec des composés organiques et donc donnent des complexes qui précipitent.

Le processus de réduction enzymatique s'est avéré utile pour éliminer ces éléments de la l'environnement pollué (Rabus et *al.*, 2016).

Nous prenons l'exemple de *Pseudomonas maltophilia* qui réalise la réduction métabolique du Cr (VI) en Cr (III) en aérobiose grâce à des enzymes membranaires (Jouety et *al.*, 2015).

IV.3.1.3 Complexation

La complexation est le processus au cours duquel il y'a production d'un complexe métal – ligand, le micro organisme libère dans le milieu des substances complexantes qui se lient au polluant et changent ses propriétés de mobilité et de solubilité.

La formation de ces complexes métalliques rend les composés inorganiques toxiques plus mobiles ce qui facilite leur élimination des déchets solides (Ayangbenro et Babalola, 2017). Les principaux agents complexants microbiens sont de deux types : des acides organiques de bas poids moléculaire (acide citrique, acides tricarboxyliques et alcools) et des ligands de poids moléculaire élevé, des sidérophores et des composés de liaison aux métaux toxiques.

IV.3.1.4 Sidérophores

Lors de la croissance du microorganisme dans des milieux carencés en fer, certains microbes produisent des agents chélateurs spécifiques du fer connus sous le nom de sidérophores. Ces agents ont des groupes de liaison spécifiques tels que le catécolate, le phénolate ou l'hydroxamate.

En raison de la présence de ces groupes spécifiques, la propriété de formation de complexe de ces sidérophores est augmentée, et ils s'associent avec les métaux toxiques autres que le fer en améliorant ainsi leur solubilité. Ces complexes retournent ensuite à l'intérieur des cellules où les métaux se retrouvent piégés (Khan et *al.*, 2017). On parle ici de bioaccumulation.

Un grand nombre de sidérophores ou de composés analogues aux sidérophores ont été identifiés à partir de divers systèmes biologiques et représentent un moyen efficace de piéger les métaux toxiques dans l'environnement (Ahmed et Holmstrom, 2014).

IV.3.1.5 Précipitation ou solidification

Les ions métalliques peuvent être précipités ou solidifiés en solution ou dans le sol à l'aide de différentes méthodes. L'exemple le plus courant de précipitation est la réduction du sulfate. Les bactéries sulfatoréductrices (SRB) sont utilisées dans les systèmes naturels d'ingénierie tels que les terres humides artificielles pour traiter les contaminants métalliques.

Les SRB éliminent les métaux toxiques de la solution en formant des précipités de sulfure métallique. La plupart des sulfures métalliques toxiques ont une très faible solubilité et, après formation d'un précipité, leur effet toxique sur l'environnement devient presque négligeable.

Les SRB créent également des conditions en solution qui favorisent la réduction chimique des métaux. La transformation microbienne d'organo-phosphates en ortho-phosphates peut également conduire à une précipitation des métaux par la formation de phosphates métalliques, en particulier au-dessus de pH 7 (Martinez et *al.*, 2014).

IV.3.1.6 Biosorption

La biosorption est le processus physiochimique d'absorption des ions métalliques par des micro-organismes. Il s'agit d'un processus indépendant de l'énergie, les organismes qui absorbent ces ions métalliques permettent de réduire leur concentration dans le milieu (Ayangbenro et Babalola, 2017). La capacité d'une biomasse à récupérer les ions métalliques dépend de diverses propriétés physiques, chimiques et biologiques.

Les matériaux naturels cellulosiques courants sont principalement utilisés comme sorbants potentiels pour les métaux lourds (Malik et *al.*, 2017). Chaque organisme biosorbant a une spécificité pour un ion métallique particulier (Gupta et Singh, 2017). On voit que certaines substances polymères extracellulaires, un mélange complexe de polysaccharide (EPS), de mucopolysaccharides et de protéines sont capables de se lier à une quantité significative d'ions métalliques toxiques.

Exemples : Dans le cas d'espèces bactériennes à Gram positif et négatif, les peptidoglycane et les groupes phosphate sont respectivement les principaux sites de liaison cationique et anionique. Alors que, dans la biomasse fongique, la chitine, les polymères phénoliques et la mélanine sont les composants structurels les plus importants qui agissent comme biosorbant de métaux lourds et de radionucléides (Pratish et *al.*, 2018).

La technique de biosorption présente les avantages suivants par rapport à d'autres procédés connus : il s'agit d'un procédé bon marché, sans inconvénients, sans formation de boue, en plus d'être un procédé régénératif (Pratish et *al.*, 2018).

IV.3.1.7 Bioaccumulation

La bioaccumulation est un processus dépendant du métabolisme énergétique où l'accumulation de métaux lourds est réalisée par des micro-organismes. Les métaux tels que le mercure, le plomb, l'argent, le cadmium, le nickel, le césium, le cobalt, le chrome et l'uranium sont accumulés par les microorganismes (Olaniran et *al.*, 2013). Le micro-organisme accumule ces métaux par des pompes et des canaux ioniques, endocytose ou par une perméation lipidique à travers la membrane externe (Satyapal et *al.*, 2016).

C'est l'une des techniques les plus utilisées et les plus efficaces pour restaurer ou accumuler les métaux lourds de l'environnement. Au cours de la bioaccumulation, les ions vont former des complexes inactifs avec des ligands d'haute affinité présents chez les microorganismes (Satyapal et *al.*, 2016).

IV.4 Exemples d'espèces intervenant dans la bioremédiation microbienne.

Plusieurs espèces microbiennes interviennent dans la dépollution des sites contaminés par des métaux lourds, le tableau IV rassemble quelques exemples

Tableau IV : Principales espèces microbiennes impliquées dans la bioremédiation des métaux lourds (Pratish et *al.*, 2018).

Polluant	Espèces microbiennes	Références
Pb	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus terreus</i> , <i>Aspergillus versicolor</i> , <i>Neurospora crassa</i> , <i>Penicillium canescens</i> , <i>Penicillium chrysogenum</i> , <i>Penicillium decumbens</i> , <i>Penicillium simplicissimum</i> , Et <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	(Jebara et <i>al.</i> , 2015 ; Joshi et <i>al.</i> ,2011)
As	<i>Acinetobacter</i> sp., <i>Brevundimonas</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Rhizobium</i> sp., <i>Aeromonas</i> sp., Et <i>Penicillium canescens</i>	(Layton et <i>al.</i> , 2014).
Hg	<i>Penicillium canescens</i> , <i>Rhizopus arrhizus</i> , <i>Shewanella oneidensis</i> , <i>Geobacter sulfurreducens</i> , et <i>Geobacter metallireducens</i>	(Sinha et <i>al.</i> , 2009 ; Dixit et <i>al.</i> , 2015 ; Wiatrowski et <i>al.</i> , 2006)
Cr	<i>Bacillus circulans</i> , <i>Bacillus megaterium</i> , <i>Bacillus coagulans</i> , <i>Zoogloea ramigera</i> , <i>Streptomyces nouresei</i> , <i>Aeromonas caviae</i> , <i>Pseudomonas</i> sp., et <i>Staphylococcus xylosus</i>	(Malaviya et Singh, 2014) (Aryal Liakopoulou- Kyriakides, 2015)

IV.5 Biodégradation microbienne des composés organiques

De nombreux organismes peuvent dégrader les composés de nature organiques. Les organismes eucaryotes, comme de nombreuses plantes, animaux ou champignons, utilisent cette capacité pour neutraliser leurs effets nocifs, tandis que les bactéries décomposent généralement le composé pour assimiler ses nutriments.

Les bactéries sont responsables de la majeure partie de la biodégradation des pesticides. Leur capacité à transférer des gènes horizontalement, combinée à un taux d'évolution rapide, leur permet de s'adapter rapidement et d'étendre le potentiel de biodégradation d'un nouveau mutant à toute une communauté bactérienne (De Souza et *al.*, 1998).

Le taux de biodégradation varie considérablement d'un site à l'autre, et il n'est pas corrélé à la quantité totale de bactéries cultivables ou à la diversité de la communauté, puisque les décomposeurs constituent souvent une fraction mineure de la population bactérienne et ne font pas partie des groupes dominants.

La profondeur, le pH, la température, l'humidité du sol et la teneur en argile ou en matière organique se sont avérés être les meilleurs prédicateurs de la dégradation microbienne des composés organiques. Les taux de biodégradation diminuent avec l'augmentation de la profondeur du sol (Ray et *al.*, 2004), en corrélation généralement avec la baisse des niveaux de nutriments, tandis que le pH et la température affectent la croissance de la communauté microbienne, l'efficacité des enzymes et le rapport des composés organiques adsorbés et dissous. L'humidité du sol est importante pour la physiologie microbienne et, avec l'argile et le contenu organique, influence la sorption des pesticides (Reedich et *al.*, 2017). Ceci explique pourquoi chaque composé présente ses propres conditions de dégradation optimales, dépendant principalement de la combinaison des paramètres mentionnés et des bactéries qui les dégradent (Or et *al.*, 2009).

La dégradation d'un composé organique prend généralement plus d'une étape enzymatique et, tout au long de ce processus, des produits de transformation peuvent également être obtenus, soit en raison d'une dégradation aléatoire, soit en raison d'enzymes catalysant les premières étapes plus efficacement que les dernières (Devers et *al.*, 2008).

Généralement la toxicité de ces intermédiaires est diminuée par dégradation, mais si le groupement actif reste intact, ils peuvent conserver la même toxicité et présenter des effets additifs lorsqu'ils sont combinés avec le composé d'origine, ou peuvent même augmenter en toxicité (Boxall et *al.*, 2004).

La dégradation d'un composé récalcitrant tel que les hydrocarbures ou les pesticides, dépend de plusieurs facteurs, tels que la synthèse induite d'une enzyme dégradante spécifique, la possibilité d'entrer dans la cellule grâce à une perméase appropriée, la disponibilité du composé due à l'insolubilité ou à l'adsorption, la toxicité excessive du composé d'origine ou de son produit métabolique, disponibilité de l'accepteur d'électrons approprié, conditions environnementales favorables (température, lumière, pH, O₂, humidité, etc.) et disponibilité d'autres nutriments et facteurs de croissance (Quintela et Varrone., 2019).

IV.6 Avantages et limites de la bioremédiation microbienne :

VI.6.1. Avantages

La bioremédiation est un processus naturel utile pour l'élimination complète d'une grande variété de contaminants. certaines dégradations peuvent mener la destruction complète des polluants sans transférer des contaminants d'un milieu environnemental vers un autre puisqu'elle peut souvent être réalisé sur site et sans occasionner des perturbation majeure (Pratish et *al.*, 2018).

La bioremédiation peut s'avérer moins coûteuse que les autres technologies utilisées pour la dépollution et sans occasionner de dégâts sur l'environnement traité (Pratish et *al.*, 2018)

IV.6.2.Limites

La bioremédiation est limitée aux composés biodégradables et tous les composés ne sont sensibles à une dégradation rapide et complète. En outre, les produits de biodégradation peuvent être plus persistants ou toxiques que les composés parents (Pratish et *al.*, 2018).

Les dégradations sont souvent très spécifiques aux espèces microbiennes et dépendent de plusieurs facteurs externes tels que les conditions de croissance, les niveaux de nutriments disponibles et de la concentration des contaminants. Il est difficile d'extrapoler des résultats obtenus en laboratoire et à l'échelle pilote dans des conditions contrôlées sur le terrain à grande échelle avec des conditions réelles (Pratish et *al.*, 2018).

La bioremédiation prend souvent plus de temps que les autres options de traitement des sols pollués et demande des connaissances et une longue préparation du site pollué.

Conclusion

La pollution par les métaux lourds et les composés organiques (hydrocarbures et pesticides) est répandue dans le monde entier. On constate que de nombreuses activités naturelles et industrielles génèrent des polluants qui atteignent notre environnement (sol et eau) et perturbent sa composition naturelle. Actuellement, de nombreux groupes de recherche travaillent à la découverte de nouvelles voies et techniques pour détecter et réduire cette pollution. Les études visent à identifier de nouvelles espèces microbiennes potentielles, qui peuvent transformer les polluants plus rapidement et de découvrir de nouveaux mécanismes de la biorestauration.

Le recours à des biosenseurs (sondes ou outils de détection d'un produit chimique précis (polluant) utilisant une réaction biochimique, contient soit des enzymes ou des microorganismes) permet de rapidement évaluer la situation sur le terrain, et de faciliter l'orientation des recherches préliminaires à la bioremediation ainsi que de réduire les délais.

Parmi les avancés les plus récentes à potentiel prometteur, l'utilisation de techniques de génie génétique pour modifier les espèces microbiennes utilisés dans la bioremediation afin d'améliorer leur rendement, réduire le temps nécessaire à la dépollution et surtout abaisser les coûts de ces opérations afin d'allier rentabilité et efficacité et de devenir une alternative intéressante vis à vis des techniques de dépollution chimiques dont l'utilisation est actuellement la plus répandue.

Références
Bibliographiques

Références bibliographiques

- **Afal, A., Wiener, S.W. (2014).** Metal toxicity. *Med Medscape* 81(4): 338-347.
- **Ahmed, E., Holmstrom, S.J.M. (2014).** Siderophores in environmental research: roles and applications. *Microbial Biotechnol.* 7(3):196-208.
- **Ali, M.M., Ali, M.L., Islam, M.S., Rhman, M.Z. (2016).** Preliminary assessment of heavy metals in water and sediment of Karnaphuli River in Bangladesh, *Environ Nanotechnol. Monit and manag.* 5:27-35.
- **Aryal, M., Liakopoulou-Kyriakides, M. (2015).** Bioremoval of heavy metals by bacterial biomass. *Environ Monit Assess.* 187(1):417.
- **Ayangbenro, A.S & Babalola, O.O. (2017).** A new strategy for heavy metal polluted environments: a review of microbial biosorbents. *Int J Environ Res Public Health* 14(1):94.
- **Azimi, A, Azri, A., Rezkazemi, M., Ansarpour, M. (2017).** Removal of heavy metals from industrial wastewaters: a review. *Chem Bio Eng Reviews* 4(1):37–59.
- **Azimi, S., Moghaddam, M.S. (2013).** Effect of mercury pollution on the urban environment and human health. *Environ Ecology Res* 1(1): 12–20.
- **Azubuike, C.C., Chikere, C.B., Okpokwasili, G.C. (2016).** Bioremediation techniques—classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. *World J Microbiol Biotechnol* 32(11):180.
- **Bahmani, F., Ataei, S.A., Mikaili, M.A. (2018).** The Effect of Moisture Content Variation on the Bioremediation of Hydrocarbon Contaminated Soils: Modeling and Experimental Investigation. *J Environ Anal Chem.* 5(2):236.
- **Bernhoft, R.A. (2013).** Cadmium Toxicity and Treatment. *The Sci World J.* 1(13): 1-7.
- **Bhalerao S.A & Sharma A.S. (2015).** Chromium: as an environmental pollutant. *Int J Curr Microbiol App Sci* 4(4):732–746.
- **Bojes, H.K., Pope, P.G., (2007).** Characterization of EPA’s 16 priority pollutant polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in tank bottom solids and associated contaminated soils at oil exploration and production sites in Texas. *Reg. Toxicol. Pharmacol.* 47(3): 288-295.

- **Boxall, A.B.A., Sinclair, C.J., Fenner, K., Kolpin, D., Maund, S.J. (2004).** When synthetic chemicals Degrade in the environment. *Environ. Sci. Technol.* 38(19): 368-375.
- **Burgess, L.C. (2013).** Organic pollutants in soil and their effects on Human Health. *Nat Ed Knowledge* 5(12):1.
- **Chen, H., Wang, L. (2017).** Microbial cell refining for biomass conversion. *Technologies for Biochemical Conversion of Biomass* (pp.101–135). Massachusetts: Academic Press.
- **Chibuike, G.U., Obiora, S.C. (2014).** Heavy metal polluted soils: effect on plants and bioremediation methods. *App Env Soil Sci.* 6(1):1–12.
- **Lefèvre, C., Rekik, F, Alcantara, V., Wiesel, L. (2018).**What is SOC. *Soil organic carbon the hidden potential.* (Pp. 1-7). Rome: Food & Agriculture Organization.
- **Cumberland, S.A., Douglas, G., Grice, K., Moreau, J.W. (2016).** Uranium mobility in organic matter-rich sediments: a review of geological and geochemical processes. *Earth Sci Rev.* 159(1):160–185.
- **Das, S., Raj, R., Mangwani, N., Dash, H.R., Chakraborty, J. (2014).** Heavy metals and hydrocarbons: adverse effects et mechanism of toxicity. *Microbial Biodegradation and Bioremediation.* (pp.23–54). Amsterdam: Elsevier.
- **Dash, H.R., Mangwani, N., Chakraborty, J., Kumari, S., Das, S. (2013).** Marine bacteria: potential candidates for enhanced bioremediation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97(2):561-571.
- **Davidson, A., Ryman, J., Sutherland, C.A., Milner, E.F., Kerby, R.C., Teindl, H., Melin, A., Bolt, H.M. (2014)** Lead. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry.* (pp.1-55). Berlin: Wiley.
- **De Souza, M.L., Seffernick, J., Martinez, B., Sadowsky, M.J., Wackett, L.P. (1998).** The atrazine catabolism genes atzABC are widespread and highly conserved. *J. Bacteriol.* 180(7): 1951-1954.
- **Delille, D., Coulon, F., Pelletier, E., (2004).** Effects of temperature warming during a bioremediation study of natural and nutrient-amended hydrocarbon-contaminated sub-Antarctic soils. *Cold Regions Sci Technol.* 40(1-2):61–70.
- **Devers, M., Rouard, N., Martin Laurent, F. (2008).**Fitness drift of an atrazine-degrading population under atrazine selection pressure. *Environ. Microbiol.* 10(3): 676-684.

- **Dixit, R., Wasiullah., Malaviya, D., Pandiyan, K., Singh, U.B., Sahu, A., Shukla, R., Singh, B.P., Rai, J.P., Sharma, P.K., Lade, H., Paul, D.(2015).** Bioremediation of heavy metals from soil and aquatic environment: an overview of principles and criteria of fundamental processes. *Sustainability*. 7(2):2189–2212
- **Erneste, H., Bhople, B., Kumar, A., Byiringiro, E., Mugabo, J., Kumar, A. (2017).** Soil Pollution-Major Sources et Types of Soil Pollutants. *Soil Pollution and Phytoremediation. Environmental Sci. & Eng* 2(11):55-65.
- **Gan, S., Lau, E.V., Ng, H.K. (2009).** Remediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *J Hazardous Mater.* 172(2-3):532-49.
- **Gherfat, H.A., Abu-Rukah, Y., Rosen, M.A. (2011).** Application of geoaccumulation index and enrichment factor for assessing metal contamination in the sediments of Kafra Dam. *Jordan. enviro Monit and asses.*178(2): 95-109.
- **Guang-Guoying.(2018)** Integrated Analytical Approaches for Pesticide Management. Academic Press Inc. 7(3):153-8.
- **Gupta, S., & Singh, D. (2017).** Role of Genetically Modified Microorganisms in Heavy Metal Bioremediation. *Advances in Environmental Biotechnology*. (pp.197-214). Singapore: Springer.
- **Hansda, A., Kumar, V., Anshumali, V., Usmani, Z. (2014).** Phytoremediation of heavy metals contaminated soil using plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): a current perspective. *Recent Res in Sci & Tech* 6(1):131–134.
- **Iqbal, J., Metosh-Dickey, C., Portier, R.J. (2007).** Temperature effects on bioremediation of PAHs and PCP contaminated south Louisiana soils: A laboratory mesocosm study. *J Soils Sediments*. 7(3):153–8.
- **Jebara, S.H., Abdelkerim, S., Fatnassi, I.C., Chiboub, M., Saadani, O., Jebara, M. (2015).** Identification of effective Pb resistant bacteria isolated from *Lens culinaris* growing in lead-contaminated soils. *J Basic Microbiol* 55(1):346–353.
- **Joshi, PK., Swarup, A., Maheshwari, S., Kumar, R., Singh, N. (2011).** Bioremediation of heavy metals in liquid media through fungi isolated from contaminated sources. *Indian J Microbiol* 51(1):482–487.
- **Jurewicz, J., Hanke, W., Radwan, M., Bonde, J.P. Hanke R.B. (2010).** Environmental factors and semen quality. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health*, 22(4): 1–25.

- **Kalantary, R.R., Mohseni-Bandpi, A., Esrafil, A., Nasseri, S., Ashmagh, F.R., Jorfi, S. (2014).** Effectiveness of biostimulation through nutrient content on the bioremediation of phenanthrene contaminated soil. *J Environ Health Sci Engg.* 12(1):143.
- **Khan, A., Singh, P., Srivastava, A. (2017).** Synthesis, nature and utility of universal iron chelator–Siderophore: a review. *Microbiol Res.* 212-213(1):103–111.
- **Koul, D.B., & Taak, P. (2018).** Soil Pollution: Causes and Consequences. *Biotechnological Strategies for Effective Remediation of Polluted Soils.* (pp.1–37). Springer : Singapore
- **Kulshreshtha, A., Agrawal, R., Barar, M., Saxena, S. (2014).** A review on bioremediation of heavy metals in contaminated water. *IOSR J Environ Sci Toxicol Food Tech.* 8(7):44–50.
- **Layton, A.C., Chauhan, A., Williams, D.E., Mailloux, B., Knappett, P.S., Ferguson, A.S., McKay, L.D., lam, M.J., Matin Ahmed, K., Van Green, A., Sayler, G.S. (2014).** Metagenomes of microbial communities in arsenic and pathogen contaminated well and surface water from Bangladesh. *Genome Announc.* 2(6):e011170–e011114.
- **Lee, D.H., Zo, Y.G., Kim, S.J. (1996).** Nonradioactive methods to study genetic Profiles of natural bacterial communities by PCR–single–strand–conformation polymorphism. *Applied and Environmental Microbiology.* 62(9): 3112–3120.
- **Li, F., Huang , J., Zeng, G., Yuang , X., Liang , J., Wang, X., & Bai , B, (2013).** Spatial risk assessment and sources identification of heavy metals in surface sediments from the Dongting Lake Middle china., *J of Geochemic Explor.* 132(1): 75-83.
- **Lin, T.C., Pan, P.T., Cheng, S.S. (2010).** Ex situ bioremediation of oil-contaminated soil. *J Hazardous Mater.* 176(1-3):27–34.
- **Mahmood, A., Malik, R.N. (2014).** Human health risk assessment of heavy metals via consumption of contaminated vegetables collected from different irrigation sources in Lahore, Pakistan. *Arab J Chem* 7(1):91–99.
- **Malaviya, P., Singh, A. (2014).** Bioremediation of chromium solutions and chromium-containing wastewaters. *Crit Rev Microbiol* 42(4):607–633.

- **Malik, D.S., Jain, C.K., Yadav A.K. (2017).** Removal of heavy metals from emerging cellulosic low-cost adsorbents: a review. *Appl Water Sci* 7(1):2113–2136.
- **Marinescu, M., Toti, M., Tanase, V., Carabulea, V., Georgiana, P., Calciu, I. (2010).** An assessment of the effects of crude oil pollution on soil properties *Sci Technol.* 11(1):94–98.
- **Martinez, R.J., Beazley, M.J., Sobecky, P.A. (2014).** Phosphate-mediated remediation of metals and radionuclides. *Adv in Ecol* 2(40):1–14.
- **Mohanty, M., Patra, H.K. (2011).** Attenuation of chromium toxicity by bioremediation technology. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 210(1): 1-34.
- **Moses, E., Uwah, E.I. (2015).** The effect of crude oil pollution on some soil fertilities parameters in Ikot Oboreyin, Ikot Abasi Akwa Ibom State Nigeria. *Merit Res J Environ Sci Toxicol.* 3(2):17.
- **Moubasher, H.A., Hegazy, A.K., Mohamed, N.H., Moustafa, Y.M., Kabil, H.F., Hamad, A.A. (2015).** Phytoremediation of soils polluted with crude petroleum oil using *Bassia scoparia* and its associated rhizosphere microorganisms. *Int Biodeterior Biodegrad* 98(2):113–20.
- **Mukhopadhyay, J., Gutzmer, J., Beukes, N.J. (2005).** Organotemplate structures in sedimentary manganese carbonates of the Neoproterozoic Penganga Group, Adilabad, India *J Earth Syst Sci.* 114(3):247-257.
- **Navarro, S., Vela, N., Navarro, G. (2007).** Review. An overview on the environmental behaviour of pesticide residues in soils. *Span J Agric Res* 5(3):357–375
- **Needelman, B. A. (2013).** What Are Soils? *Nature Education Knowledge* 4(3):2.
- **Nikolopoulou, M et Kalogerakis, N. (2009).** Biostimulation strategies for fresh and chronically polluted marine environments with petroleum hydrocarbons. *J Chem Technol Biotechnol.: Int. Res. Process Environ. Clean Technol.* 84(6): 802–807.
- **Olaniran, A.O., Balgobind, A., Pillay, B. (2013).** Bioavailability of heavy metals in soil: impact on microbial biodegradation of organic compounds and possible improvement strategies. *Int J Mol Sci* 14(5):10197–10228
- **Or, D., Smets, B.F., Wraith, J.M., Dechesne, A., Friedman, S.P. (2007).** Physical constraints affecting bacterial habitats and activity in unsaturated porous media - a review. *Adv. Water Resour.* 30 (6-7): 1505–1527.

- **Oyem, I., Rank, O.L., Lawrence, I. (2013).** Effects of Crude Oil Spillage on Soil Physico- Chemical Properties in Ugborodo Community. *Int J ModerN Engg Res.* 3(6):33-36.
- **Pawar, R.M. (2015).** The Effect of Soil pH on Bioremediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHS). *J Bioremed Biodegr.* 06(03):3
- **Perelo, L.W., (2010).** Review: in situ and bioremediation of organic pollutants in aquatic sediments. *J. Hazard. Mater.* 177 (1): 81-89.
- **Perfus-Barbeoch, L., Leonhardt, N., Vavasseur, A., Forestier, C. (2002).** Heavy metal toxicity: cadmium permeates through calcium channels and disturbs the plant water status. *Plant J.* 32 (4): 539-548.
- **Quintela, C., & Varrone, C. (2019).** Microbial Remediation of Pesticide Polluted Soils. *Soil Microenvironment for Bioremediation and Polymer Production* (pp. 75-94). Berlin: Wiley.
- **Rabus, R., Boll, M., Heider, J., Meckenstock, R.U., Buckel, W., Einsle, O., Ermler, U., Golding, B.T., Gunsalus, R.P., Kroneck, P., M., H., Krüger, M., Lueders, T., Martins, B.M., Musat, F., Richnow, H.H., Schink, B., Seifert, J., Szaleniec, M., Treude, T., Ullmann, G.M., Vogt, C., Von Bergen, M., Wilkes, H. (2016).** Anaerobic microbial degradation of hydrocarbons: from enzymatic reactions to the environment. *J Mol Microbiol Biotechnol* 26(1–3):5–28.
- **Ratnaike, R.N. (2003).** Acute and chronic arsenic toxicity. *Postgrad. Med. J.* 79: 391-396.
- **Ray, C., Vogel, T., Dusek, J. (2004).** Modeling depth-variant and domain-specific sorption and biodegradation in dual-permeability. *media J Contam Hydrol.* 70 (1-2): 63–87.
- **Reedich, L.M., Millican, M.D., Koch, P.L. (2017).** Temperature Impacts on Soil Microbial Communities et Potential Implications for the Biodegradation of Turfgrass Pesticides. *J. Environ. Qual.*, 46 (3): 490–497.
- **Ruberto, L., Dias, R., Balbo, A.L., Vazquez, S.C., Hernande, E.A., Cormack, WPM. (2009).** Influence of nutrients addition and bioaugmentation on the hydrocarbon biodegradation of a chronically contaminated Antarctic soil. *J Appl Microbiol.* 106(4):1101–10.
- **Samanta, S.K., Singh, O.V., & Jain, R.K. (2002).** Polycyclic aromatic hydrocarbons: environmental pollution and bioremediation. *Trends in Biotechnol,* 20(6): 243–248.

- **Satyapal, G.K., Rani, S., Kumar, M., Kumar, N. (2016).** Potential role of arsenic resistant bacteria in bioremediation: current status and future prospects. *J Microb Biochem Technol.* 8(3): 256-258.
- **Shahid, M. R., Habiba, U., Ali, S., Rizwan, M., Hussain, A., Adrees, M., Shah, A. (2020).** Influence of Metals et Metalloids on Microbial Diversity of Soil et Ecosystem. *Metalloids in Plants: Advances and Future Prospects*, (pp.95–111). Berlin: Wiley
- **Shaylor, H., McBride, M., Harrison, E. (2009).** Sources and impacts of contaminants in soil. *Cornell Waste Manag Ins.* (pp.1-6).
- **Shrout, J.D., Parkin, G.F. (2006).** Influence of electron donor, oxygen, and redox potential on bacterial perchlorate degradation. *Water Res.* 40(6):1191–9.
- **Sinha, R.K., Valani, D., Sinha, S., Singh, S., Heart, S. (2009).** Bioremediation of contaminated sites: a low-cost nature’s biotechnology for environmental clean up by versatile microbes, plants & earthworms. *Solid Waste Management and Environmental Remediation* (pp.1–72). New York: Nova Science Publishers.
- **Vinodhini, R., Narayanan, M. (2008).** Bioaccumulation of heavy metals in organs of fresh water fish *Cyprinus carpio* (Common carp). *Int. J. Environ. Sci. Tech.* 5(2) : 179-182.
- **Wiatrowski, H.A., Ward, P.M., Barkay, T. (2006).** Novel reduction of mercury (II) by mercury-sensitive dissimilatory metal reducing bacteria. *Environ Sci Technol* 40(21):6690–6696
- **Xianagang, M., Iyobosa, E., Jun, N., Fang, S., Zhennan, W. (2020).** Biodegradation of petroleum hydrocarbon polluted soil. *Indian J of Microbiol Res.* 7(1): 104-112.

Site web :

- US Microbics. Annual Report FY-2003. Available from: <http://www.bugsatwork.com/USMX/BUGS%20Report%20PRIN>