

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou  
Faculté des sciences biologiques et sciences agronomiques



# Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER en biologie

Spécialité : Protection de l'environnement

## Thème

*Optimisation mathématique des paramètres de la  
bioaugmentation d'un sol pollué aux carburants*

Présenté par : M<sup>elle</sup> Madani Celia

M<sup>elle</sup> Halil Dihia

Devant le jury :

Présidente : M<sup>me</sup> OMOURI O.

M.A.A à l'U.M.M.T.O

Promotrice : M<sup>elle</sup> ALI AHMED S.

M.A.A à l'U.M.M.T.O

Examinatrice : M<sup>me</sup> CHOUAKI S.

M.A.A à l'U.M.M.T.O

Soutenu le : 20/07/2017

## **Remerciements**

*Nous remercions tout d'abord le bon dieu qui nous a aidées et donné la volonté la patience et surtout la santé pour la réalisation de ce travail ;*

*Nos vifs remerciements accompagnés de tout notre respect s'adressent à notre promotrice M<sup>elle</sup> ALI AHMED Samira., Maitre assistante à l'U.M.M.T.O. pour ces précieuses orientations, son aide et ses conseils judicieux, pour son suivi et son engagement lors de l'élaboration de ce travail et sa disponibilité a toute épreuve.*

*Nous remercions vivement la présidente de jury M<sup>me</sup> OMOURI O. Et les membres de jury M<sup>me</sup> CHOUAKI S. qui nous ont fait l'honneur d'évalué notre travail.*

*Nous remercions toutes les personnes qui travaillent au laboratoire commun et nous remercions Mme Lamri qui nous a perme de faire des analyses au niveau du laboratoire de pédologie.*

*Nous remercions les doctorants qui travail dans le laboratoire de pathologie des écosystèmes M<sup>elle</sup> Oultaf Lynda et Mr Dib DJaffar pour leurs conseils.*

*Nous voulons aussi témoigner notre reconnaissance et exprimer toute notre gratitude à nos enseignants qui ont participé pour une grande part dans notre formation.*

*Enfin, nous adressons un grand merci à nos familles, et toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.*

**Celia et Dihia**

## ***Dédicaces***

***Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents pour leurs soutien moral et matériel tout au long de mes études, que dieu les protège et leur accorde une long vie pleine de santé et du bonheur.***

***A la mémoire de mes grand parents paternel, mon oncle « RABAH » et mon oncle «Mohamed» et sa femme «Baya » qui nos ont quitté ressèment.***

***A mes grands parents maternels***

***A mes deux frères Ahmed et Mohamed Said***

***A ma sœur Halima***

***A tout mes cousins et cousines***

***A toute la famille Madani et Belkacem***

***A ma binome Halil Dihia***

***A Naili Hakima et Mezzou Lynda***

***A toute la promotion protection de l'environnement***

***Celia***

## ***Dédicaces***

***Je dédie ce modeste travail à ma très chers maman pour son soutien moral et matériel tout au long de mes études, que dieu la protège et lui accorde une long vie pleine de santé et du bonheur.***

***A la mémoire de mon cher papa et mon frère Mhamed.***

***A mes frères Kamel, Rezak et Ghiles***

***A ma sœur Nadia***

***A tout mes cousins et cousines***

***A mon chère mari NACER***

***A toute la famille HALIL, BOUGHARFA ET CHENNANE***

***A ma binôme MADANI CELIA***

***A Naili Hakima et Mezzou Lynda***

***A toute la promotion protection de l'environnement***

***Lyza***

## Liste des abréviations

CE : Conductivité électrique

ABG : Activités biologique globale

HC : Hydrocarbure

D : Densité optique de la suspension bactérienne

D<sub>1</sub> :0.45

D<sub>2</sub> :0.22

D<sub>3</sub> :0.11

T<sub>1</sub> :15°C

T<sub>2</sub> :25°C

T<sub>3</sub> :35°C

H: humidité

H<sub>1</sub> :90%

H<sub>2</sub> :70%

H<sub>3</sub> :50%

P.a: *Pseudomonas aeruginosa*

BTEX : Benzène, Toluène, Ethylbenzène et Xylènes

CEC : Capacité d'Echange Cationique

HAM: hydrocarbure mono-aromatique

HAP : Hydrocarbure poly-aromatique

AIE : Agence d'information sur l'énergie

## Liste des figures

|                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Fig.1</b> : Structure moléculaire du butane .....                                         | 3  |
| <b>Fig.2</b> : Structure des seize HAP considérées prioritaires (Ramade, 2000) .....         | 5  |
| <b>Fig.3</b> : Composition des essences (Marchal <i>et al.</i> , 2003) .....                 | 6  |
| <b>Fig.4</b> : Composition du gazole (Marchal <i>et al.</i> , 2003) .....                    | 6  |
| <b>Fig.5</b> : Schéma d'une station-service (Piedrafita, 2007).....                          | 7  |
| <b>Fig.6</b> : Devenir des polluants dans le sol (Lumière <i>et al.</i> , 2001) .....        | 8  |
| <b>Fig.7</b> : Triangle de la biodégradation (Suthersan, 1997).....                          | 9  |
| <b>Fig.8</b> : Principe de l'opérateur de mutation.....                                      | 17 |
| <b>Fig.9</b> : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> vue au microscope électronique à balayage ..... | 19 |
| <b>Fig.10</b> : Image satellitaire de la station-service de boukhalfa.....                   | 20 |
| <b>Fig.11</b> : Dispositif de l'expérience .....                                             | 22 |
| <b>Fig.12</b> : Méthode de titrage de CO <sub>2</sub> avec l'acide sulfurique .....          | 23 |
| <b>Fig.13</b> : Test de germination des graines de maïs .....                                | 24 |
| <b>Fig.14</b> : le taux de pH du sol .....                                                   | 25 |
| <b>Fig.15</b> : Mesure de la conductivité électrique du sol .....                            | 26 |
| <b>Fig. 16</b> : la quantité de CO <sub>2</sub> dégagé dans les sols traités .....           | 27 |
| <b>Fig.17</b> : Le taux de germination des graines de maïs ( <i>Zea mays</i> ).....          | 29 |
| <b>Fig.18</b> : Résultats de l'ACP pour le taux de germination .....                         | 30 |

## Liste des tableaux

|                                                                                                      |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tableau 1:</b> Différents traitements de bioremédiation .....                                     | 12 |
| <b>Tableau 2:</b> Résumé de quelques travaux de la bioaugmentation .....                             | 13 |
| <b>Tableau 3 :</b> Caractéristique du sol (INRF, 2016).....                                          | 21 |
| <b>Tableau 4:</b> Résultat du test de kruskal Wallis pour le pH .....                                | 26 |
| <b>Tableau 5 :</b> Résultats de l'analyse de la variance pour la CE du sol.....                      | 27 |
| <b>Tableau 6:</b> Analyse de la variance de l'activité biologique globale.....                       | 28 |
| <b>Tableau 7 :</b> Analyse de la variance du taux germination .....                                  | 29 |
| <b>Tableau 8 :</b> Résultats de l'optimisation du taux de germination .....                          | 30 |
| <b>Tableau 9 :</b> caractéristiques des individus présentant les solutions optimales du modèle ..... | 31 |

## Sommaire

|                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------|----|
| Introduction générale.....                                   | 1  |
| Chapitre I : Analyse bibliographique                         |    |
| I.la pollution des sols par les hydrocarbures .....          | 3  |
| Introduction .....                                           | 3  |
| I.1. Les hydrocarbures .....                                 | 3  |
| I.2. Classification des hydrocarbures : .....                | 3  |
| I.2.1. Les hydrocarbures aliphatiques.....                   | 3  |
| I.2.2. Les hydrocarbures aromatiques (HA): .....             | 4  |
| I.2.2.1. Les hydrocarbures mono-aromatiques (HAM) : .....    | 4  |
| I.2.2.2. Les hydrocarbures poly-aromatiques (HAP) :.....     | 4  |
| I.3. Les hydrocarbures : carburants d'usage courant :.....   | 5  |
| I.4. Sources des hydrocarbures :.....                        | 7  |
| I.5. Devenir des hydrocarbures dans le sol.....              | 8  |
| □ La volatilisation : .....                                  | 8  |
| □ La solubilisation : .....                                  | 8  |
| □ Sédimentation : .....                                      | 08 |
| □ Photo-oxydation : .....                                    | 08 |
| □ La biodégradation :.....                                   | 08 |
| □ La sorption .....                                          | 09 |
| I.6. Impacts des hydrocarbures : .....                       | 09 |
| I.6.1. Impacts sur les propriétés physiques du sol : .....   | 09 |
| I.6.2. Impacts sur les propriétés chimiques du sol : .....   | 09 |
| I.6.3. Impacts sur les propriétés biologiques : .....        | 10 |
| I.6.4. Impacte des hydrocarbures sur la végétation : .....   | 10 |
| II-Réhabilitation des sols pollués aux hydrocarbures : ..... | 10 |
| II.2.1. Traitements physiques : .....                        | 10 |
| II.2.2. Traitements chimiques : .....                        | 10 |
| II.2.3. Traitements thermiques : .....                       | 10 |
| II.2.4. Traitements biologiques.....                         | 11 |
| II.2.4.1. La phytoremediation : .....                        | 11 |
| II.2.4.2. La bioremédiation .....                            | 11 |
| III.LA BIOAUGMENTATION : .....                               | 12 |

|                                                                                  |    |
|----------------------------------------------------------------------------------|----|
| III.1. Les travaux de la bio-augmentation : .....                                | 13 |
| III.2. Les paramètres qui influencent la biodégradation des hydrocarbures :..... | 13 |
| VI. Optimisation mathématique .....                                              | 15 |
| VI.1. Définition : .....                                                         | 15 |
| VI.2. Algorithme génétique :.....                                                | 15 |
| VI.2.1.Algorithmes d'optimisation :.....                                         | 16 |
| VI.2.2.le but .....                                                              | 16 |
| VI.2.3.fonctionnement des algorithmes génétique : .....                          | 16 |
| VI.2.4. Application des Algorithmes Génétique :.....                             | 18 |

## Chapitre II : Matériels et méthodes

|                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------|----|
| I.Matériels .....                                                  | 20 |
| I.1. Matériel biologique .....                                     | 20 |
| I.1.1. Les micro-organismes ( <i>Pseudomonas aeruginosa</i> )..... | 20 |
| I.1.2. Le Maïs ( <i>Zea mays</i> ) .....                           | 20 |
| I.2. Le sol .....                                                  | 21 |
| II.Méthode .....                                                   | 22 |
| II.1.1. Préparation du sol .....                                   | 22 |
| II.1.2. Dispositif expérimentale : .....                           | 22 |
| II.1.3. Analyse du sol :.....                                      | 23 |
| II.1.2.1. Mesure de pH du sol:.....                                | 23 |
| II.1.2.2. Mesure de la conductivité électrique du sol : .....      | 23 |
| II.1.2.3. Mesure de l'activité biologique globale .....            | 23 |
| ·Le taux de minéralisation : .....                                 | 24 |
| II.1.2.4. Test de germination :.....                               | 24 |
| III.Méthodes d'analyse mathématique : .....                        | 25 |
| III.1. Optimisation mathématique :.....                            | 25 |

## Chapitre III : résultats et discussion

|                                                                 |    |
|-----------------------------------------------------------------|----|
| Introduction .....                                              | 25 |
| I. Résultats des analyses chimique et biologique du sol : ..... | 25 |
| I.1.Le PH : .....                                               | 25 |
| I.2. la CE .....                                                | 27 |
| II : Tests biologique.....                                      | 28 |
| II.1. Activité biologique globale :.....                        | 28 |

|                                    |    |
|------------------------------------|----|
| II.2. taux de minéralisation ..... | 32 |
| II.3.test de germination.....      | 34 |
| II. Discussion des résultats ..... | 35 |
| Conclusion.....                    | 37 |
| Références bibliographiques        |    |
| Annexes                            |    |

## Introduction générale

Depuis le siècle dernier et jusqu'à nos jours, l'importance de l'industrie pétrolière n'a cessé de croître et ceci grâce au rôle stratégique et politique que le pétrole joue sur la scène mondiale. En effet, selon l'Agence d'information sur l'énergie (AIE) (2016), rien que pour l'année 2016, la production mondiale a atteint 97 millions de barils par jours de produits pétroliers.

Depuis quelques années, les effets dévastateurs de cette industrialisation et leur impact sur l'environnement ont été évalués (catastrophe écologique les marées noires, destruction d'habitat, la toxicité des hydrocarbures conduits à une perte des espèces clés présentes dans le sol). En effet, de nombreux dégâts réels ont été constatés lors d'accidents tels que les fuites de pétrole, de rejets ou déversements volontaires, pouvant entraîner des catastrophes écologiques irréversibles.

Les hydrocarbures sont considérés comme l'une des principales sources d'approvisionnement en énergie à travers le monde. Ils constituent généralement les principaux contaminants à la fois pour les écosystèmes aquatiques et terrestres. La pollution des sols par les hydrocarbures est due principalement aux stations-services (fuites des cuves de stockage, points de remplissages, les îlots de pompes, etc.) qui sont une source importante et répandue dans l'espace (Colin, 2000). Selon la direction de l'environnement de la Wilaya de Tizi-Ouzou (2017), quatre-vingt-neuf stations-service fonctionnelles sont implantées dans la Wilaya dont 17 dépôts de carburants, 1 dépôt de gasoil se trouve à Ain Al Hammam, et 71 stations multifonction (dépôt de gasoil et de carburant et station de lavage). Malheureusement, la majorité de ces stations sont implantées sur des terres agricoles.

Les fuites des carburants des réservoirs de stockage souterrains, les installations de distribution et de diverses opérations industrielles représentent une source importante de contamination du sol. Ces carburants sont des mélanges complexes obtenus à partir de la séparation de la fraction du pétrole (Gallego, 2001).

La décontamination des sols pollués est devenue aujourd'hui une priorité. De plus, la diversité des polluants et donc leurs propriétés physico-chimiques accentue la difficulté de cette décontamination (Gaudu, 2014).

La dégradation biologique des hydrocarbures est plus importante lorsqu'il y a un des bactéries adaptées aux polluants. Dans un milieu pollué par de l'essence sans plomb, des bactéries des genres *Pseudomonas*, *Shewanella*, *Burkholderia*, *Alcanivorax*, *Rhodococcus* et *Bacillus*, sont capables de dégrader jusqu'à 95% des hydrocarbures BTEX (Benzène, toluène, Ethylbenzène et Xylène) présents dans le milieu (Morlett-Chávez *et al.*, 2010). Malgré des conditions optimales à l'activité des microorganismes, la concentration en polluant peut en effet être toxique si celle-ci est trop élevée. Dans ce cas il entraîne la diminution, la mort ou l'asphyxie de ces microorganismes. Donc d'autres procédures de décontamination doivent être adoptées.

Parmi les techniques de nettoyage disponibles pour éliminer les hydrocarbures dans le sol et les eaux souterraines, le processus de bioremédiation gagne du terrain en raison de sa simplicité, sa grande efficacité et son coût (Vidali, 2001). Parmi les techniques de bioremédiation figure la technique dite bioaugmentation qui consiste à injecter dans le sol des suspensions de microorganismes adaptés à la biodégradation des polluants.

Des travaux sur la bioaugmentation des sols ont été réalisés au niveau de notre faculté. Amiri (2013), Marar et Banouh (2015), Belkacem et alik (2015) ont montré qu'il était possible de dépolluer un sol contaminé aux hydrocarbures par l'adjonction au sol de la souche *Pseudomonas aeruginosa*. Mais très peu de travaux (Djouahra, 2015) ont été effectués sur les paramètres qui conditionnent la bioaugmentation.

C'est dans ce contexte que se situe notre travail dont l'objectif principal est de décontaminer un sol pollué par des carburants par la bioaugmentation en utilisant la souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa* par comparaison du sol avant et après traitement par cette technique. Cette étude vise aussi à déterminer les optima de température, d'humidité du sol et de densité de la suspension microbienne dans l'amélioration de la qualité du sol en utilisant l'approche des algorithmes génétiques qui sont des techniques d'optimisation stochastiques (Holland, 1975).

Notre travail est subdivisé en trois chapitres. Le premier consiste en un rappel bibliographique rapportant des généralités sur les hydrocarbures et la description de certaines techniques de bioremédiation des sols pollués aux hydrocarbures, et sur l'optimisation qui est une branche des mathématiques qui cherche à atteindre les maxima d'une fonction.

Le deuxième chapitre aborde les différents matériels et méthodes expérimentales utilisées pour la réalisation de ce travail ainsi que les méthodes mathématiques auxquelles nous avons eu recours.

Le troisième chapitre consiste en la présentation des résultats obtenus concernant les paramètres biologiques et chimiques étudiés et des résultats de l'optimisation mathématique, ainsi que leur discussion.

Enfin, ce travail se termine par une conclusion générale et quelques perspectives.

# **Chapitre I :Synthèse bibliographique**

## I. La pollution des sols aux hydrocarbures :

### Introduction

La pollution est la dégradation d'un écosystème par l'introduction, généralement humaine, de substances ou de radiations altérant de manière plus ou moins importante le fonctionnement de cet écosystème. Par extension, le mot désigne aussi parfois les conséquences de phénomènes géologiques comme une éruption volcanique. (Larousse, 2009)

Les contaminations des sols par les hydrocarbures sont courants et il faut différencier 2 cas, soit les hydrocarbures sont volatiles ou facilement biodégradables et ils peuvent être traités sur place (*in situ*), soit ce sont des hydrocarbures lourds et une excavation est nécessaire.

#### I.1. Les hydrocarbures

Selon Chakraborty et Coates (2004), les hydrocarbures sont composés exclusivement d'atomes de carbone et d'hydrogène, les hydrocarbures sont donc des composés organiques de formule brute :  $C_nH_m$  où  $n$  et  $m$  sont des entiers naturels. De par leur abondance naturelle, ils font partie des produits chimiques les plus importants pour l'humanité et sont notamment utilisés comme source d'énergie primaire.

#### I.2. Classification des hydrocarbures :

Les hydrocarbures constituent la fraction la plus importante d'un brut pétrolier, ils représentent entre 65 et 95 % de la plupart des pétroles bruts.

Les composés pétroliers peuvent être classés en quatre familles principales qui sont présentes en proportions variables selon l'origine du brut : les hydrocarbures saturés (30 à 70 %), les hydrocarbures aromatiques et polyaromatiques (20 à 40 %), les composés polaires (5 à 25 %) et les asphaltènes (0 à 10 %) (Soltani, 2004).

Les hydrocarbures peuvent être classés comme suit :

##### I.2.1. Les hydrocarbures aliphatiques

Ce sont des hydrocarbures à chaînes droites ; saturés ou insaturés.

**I.2.1.1. Les hydrocarbures aliphatiques saturés :** sont des alcanes de formule générale  $C_nH_{2n+2}$  (fig. 1), ce sont les plus représentés dans le pétrole et vont du méthane ( $CH_4$ ) aux chaînes contenant 40 atomes de carbone et plus. Leur nom vient du grec qui signifie huile ou graisse (Lefebvre, 1978).

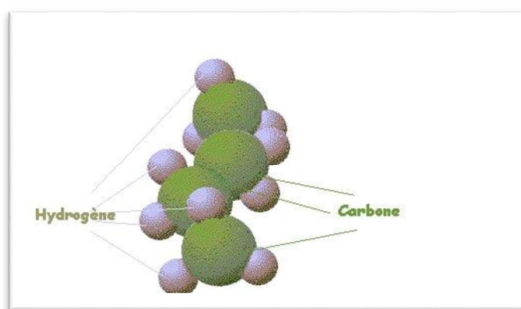


Fig.1 : structure moléculaire d'un hydrocarbure aliphatique saturé (le butane) (Lefebvre, 1978).

### I.2.1.2. Les hydrocarbures aliphatiques insaturés :

Les hydrocarbures aliphatiques insaturés sont des alcènes de formules générale  $C_nH_{2n}$ , ils sont principalement issus du craquage du pétrole, et les alcynes qui constituent la troisième grande famille d'hydrocarbures aliphatiques et qui ont pour formule générale  $C_nH_{2n-2}$  (Lefebvre, 1978).

### I.2.2. Les hydrocarbures aromatiques (HA):

Selon Soltani (2004), les hydrocarbures aromatiques sont généralement moins abondants que les alcanes, et ne représentent que 10 à 30% des hydrocarbures totaux d'un brut pétrolier. De formule générale  $C_nH_{2n-6}$ , ils sont caractérisés par la présence d'au moins un cycle à six atomes de carbone, présentant un système particulier de liaison, qui confère à la molécule une grande stabilité, ainsi que certaines propriétés chimiques spécifiques très recherchées dans les industries des parfums, des colorants et des produits pharmaceutiques.

#### I.2.2.1. Les hydrocarbures mono-aromatiques (HAM) :

Ce sont les BTEXs (Benzène, Toluène, Ethylbenzène et Xylènes).

##### ✚ Benzène :

Dans les sols, le benzène est mobile. De par sa pression de vapeur et sa solubilité élevées, le benzène se volatilise à partir de la surface du sol, et il est entraîné vers les eaux superficielles par ruissellement et vers les eaux souterraines par lixiviation. (Piedrafita *et al.*, 2007).

##### ✚ Toluène :

Il est moyennement mobile dans les sols, et peut atteindre les eaux souterraines. Il se volatilise rapidement à partir de l'eau ou du sol (Piedrafita *et al.*, 2007).

##### ✚ Ethylbenzène :

Dans l'eau, l'éthylbenzène possède les caractéristiques physico-chimiques requises pour s'adsorber sur la phase particulaire. L'éthylbenzène se volatilise à partir de l'eau de surface. Sa mobilité dans les sols est modérée (Koller, 2004 et Piedrafita *et al.*, 2007).

##### ✚ Xylènes :

Etant donné leur volatilisation importante, les xylènes ne sont généralement pas persistants dans les eaux de surface à des concentrations très importantes (Piedrafita *et al.*, 2007). Et une plus grande partie s'infiltre dans le sol, La phase adsorbée créée lors de l'infiltration dans le sol mettra un certain temps avant de disparaître (Canada.gc.ca).

#### I.2.2.2. Les hydrocarbures poly-aromatiques (HAP) :

Les HAP (hydrocarbures aromatiques polycycliques) constituent un groupe d'hydrocarbures dont la molécule est constituée par la fusion d'un nombre variable de cycles benzéniques (fig. 2). Le plus simple d'entre eux est le naphthalène ( $C_{10}H_8$ ), le plus complexe le coronène ( $C_{24}H_{12}$ ). Il s'agit de substances produites par des sources à la fois naturelles et anthropogéniques. Ils se rencontrent autant dans le biotope terrestres qu'aquatique, aussi bien continentaux qu'océaniques (Ramade, 2000).

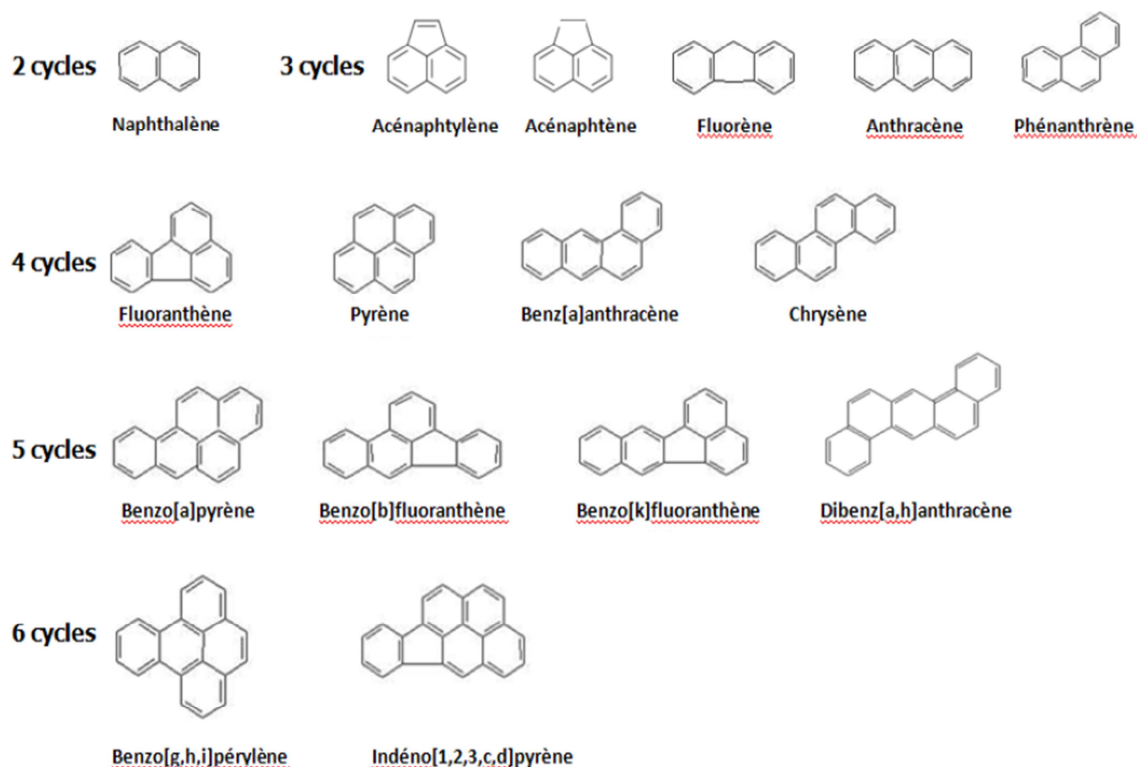


Fig.2: structure des seize HAP considérées prioritaires (Ramade, 2000)

### 1.2.3. Les composés polaires :

Cette fraction correspond à des molécules hétérocycliques, telles que les composés oxygénés (phénols, acides carboxyliques, alcools, aldéhydes,...), les composés soufrés : (mercaptans, sulfures) et les composés azotés (pyridines, quinoléines,...)

Les dérivés soufrés sont dans la plupart des cas plus abondants que les composés oxygénés ou azotés (Soltani, 2004).

### 1.2.4. Les asphaltènes :

Les asphaltènes correspondent à une classe de composés de hauts poids moléculaire, insolubles dans le pentane ou l'hexane. La structure de ces composés est mal connue du fait de leur composition chimique complexe. (Soltani, 2004).

## I.3. Les hydrocarbures ; carburants d'usage courant :

Les carburants, tels que l'essence, le gazole, sont issus du raffinage du pétrole. Ils sont stockés et vendus dans les stations-service. Il s'agit de mélanges d'hydrocarbures pétroliers. (Muck, 2007).

### I.3.1. Les essences :

Les essences contiennent généralement environ 230 hydrocarbures différents, dont le nombre d'atomes de carbone se situe entre 4 et 10. La distillation des essences est effectuée à température comprise entre 30 à 35°C et 180 à 200°C. Les essences ont une densité moyenne de 0,72 à 0,77.

Les essences sont composées de 5 classes principales d'hydrocarbures : les n-alcanes, les isoalcanes, les cycloalcanes, les alcènes et les aromatiques (fig. 3). Les aromatiques sont majoritairement présents (BRGM, 2005).

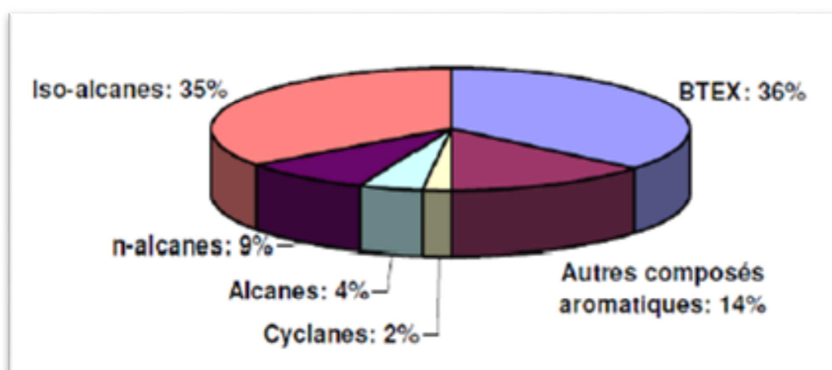


Fig.3 : composition des essences (Marchal *et al.*, 2003)

### I.3.2. Les gazoles :

Les gazoles contiennent 2000 à 4000 hydrocarbures différents, dont le nombre d'atomes de carbone varie entre 11 et 25. Les gazoles sont distillés à des températures comprises entre 180 et 380°C et ont une densité de 0,82 à 0,86.

Les gazoles sont donc plus lourds que les essences et sont composés de produits moins volatiles (fig. 4). Ils ne contiennent pas d'alcènes et sont majoritairement constitués de n-alcanes et de cycloalcanes (BRGM, 2005).

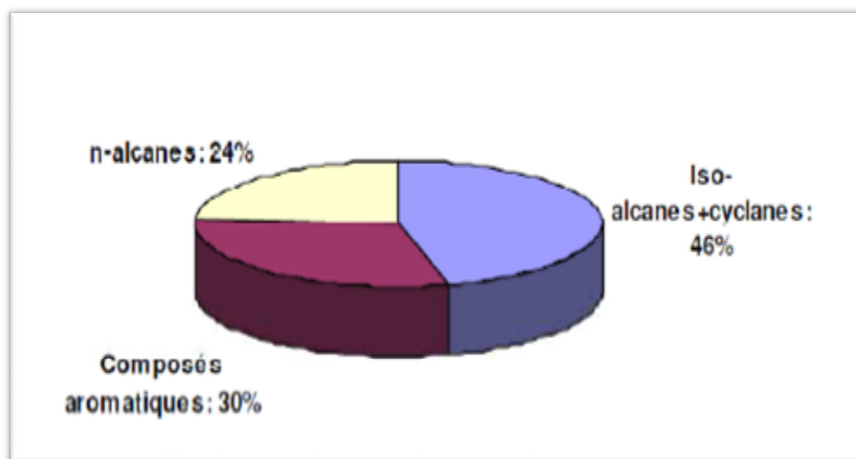


Fig.4 : composition du gazole (Marchal *et al.*, 2003)

#### I.4. Sources des hydrocarbures :

Les hydrocarbures sont émis dans l'environnement par des processus naturels ou anthropiques. Il apparaît que les hydrocarbures d'origine anthropique prennent progressivement le pas sur ceux d'origine naturelle.

Les processus naturels de génération des hydrocarbures sont divers. Les feux de forêt et de prairies sont considérés comme les plus importants. Il existe d'autres processus tels que les éruptions volcaniques, les fuites de réservoirs naturels ainsi que la production d'hydrocarbures par les végétaux supérieurs (cire) ou par les algues. (Rocher et Moilleron, 2003).

En ce qui concerne les sources anthropiques, ce sont essentiellement des déversements accidentels ou volontaires d'hydrocarbures sur le sol.

##### ❖ Cas des stations-service

L'exploitation de ce type d'activité représente une source potentielle de nuisance (trafic, bruit, pollution atmosphérique, pollution du sol et des eaux) pour le voisinage direct, mais aussi pour l'environnement en général. Mais la contamination des sols par les carburants constituent un des risques majeurs pour l'environnement. Les accidents se produisant dans les stations-service conduisent le plus souvent à des pollutions du sol ou du sous-sol et de façon moins fréquente, à des explosions et des incendies. (Piedrafita et al., 2007).

Le phénomène de pollution des sols et des sous-sols provenant des stations-services se décline en deux catégories : d'un côté, la pollution accidentelle due au déversement d'hydrocarbures lors du remplissage des stockages de la station et de l'autre côté lors de la distribution des carburants. (Piedrafita et al., 2007).

La figure 5 représente d'une les sources de pollution potentielle des sols à partir d'une station-service.

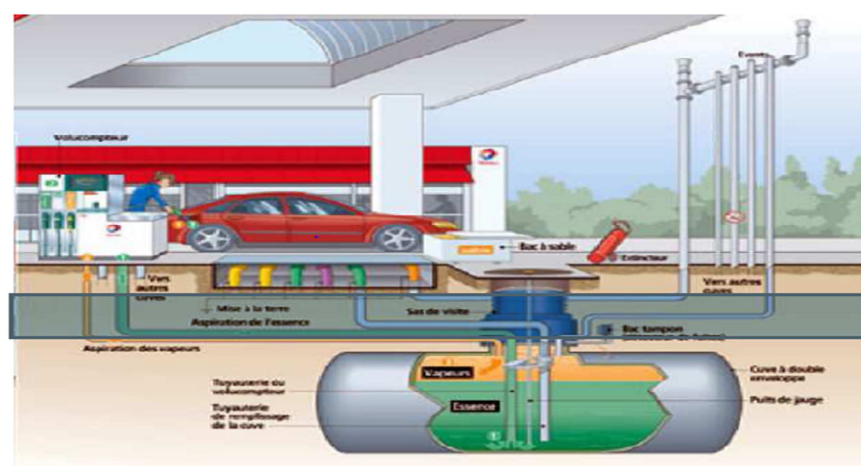


Fig.5 : sources de contamination du sol dans une station-service  
(Piedrafita, 2007)

### I.5. Devenir des hydrocarbures dans le sol :

C'est par des processus physiques, chimiques et biologiques qu'un hydrocarbure va pouvoir être déplacé, transformé ou éliminé (fig. 6), après avoir été répandu dans l'environnement.

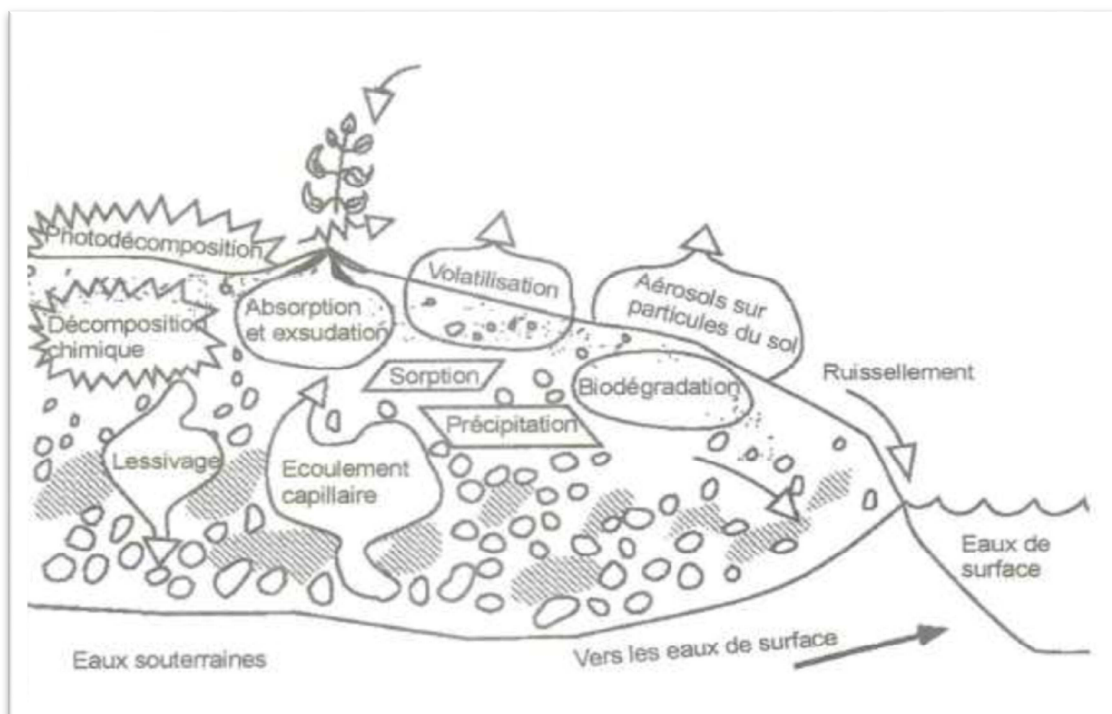


Fig.6 : devenir des polluants dans le sol (Lumière *et al.*, 2001)

#### I.5.1. La volatilisation :

C'est le passage d'une substance à l'état gazeux. La volatilisation permet de diminuer la concentration du contaminant dans le milieu, mais n'est jamais destructive. Ce phénomène dépend du type d'hydrocarbures et du nombre d'atomes de carbone, ainsi que du taux d'humidité du sol. Plus celui-ci est élevé, moins la volatilisation sera importante (Saada *et al.*, 2005).

#### I.5.2. La solubilisation :

La solubilisation des hydrocarbures dans l'eau de mer est très faible. Un hydrocarbure est d'autant plus soluble que sa masse moléculaire est faible et que sa polarité est élevée. Il est importants de noter que les hydrocarbures solubles sont parmi les plus dangereux pour l'environnement, ils sont difficiles à éliminer et sont adsorbés par la faune et la flore. (soltani, 2004).

#### I.5.3. La biodégradation :

La biodégradation est le processus naturel le plus important dans la dépollution de l'environnement (Soltani, 2004) (fig. 7). Les microorganismes en sont responsables, en particulier les bactéries. L'importance de la biodégradation dans l'élimination du pétrole, les

voies métaboliques d'oxydation des hydrocarbures par les bactéries et les paramètres qui peuvent influencer la biodégradation.

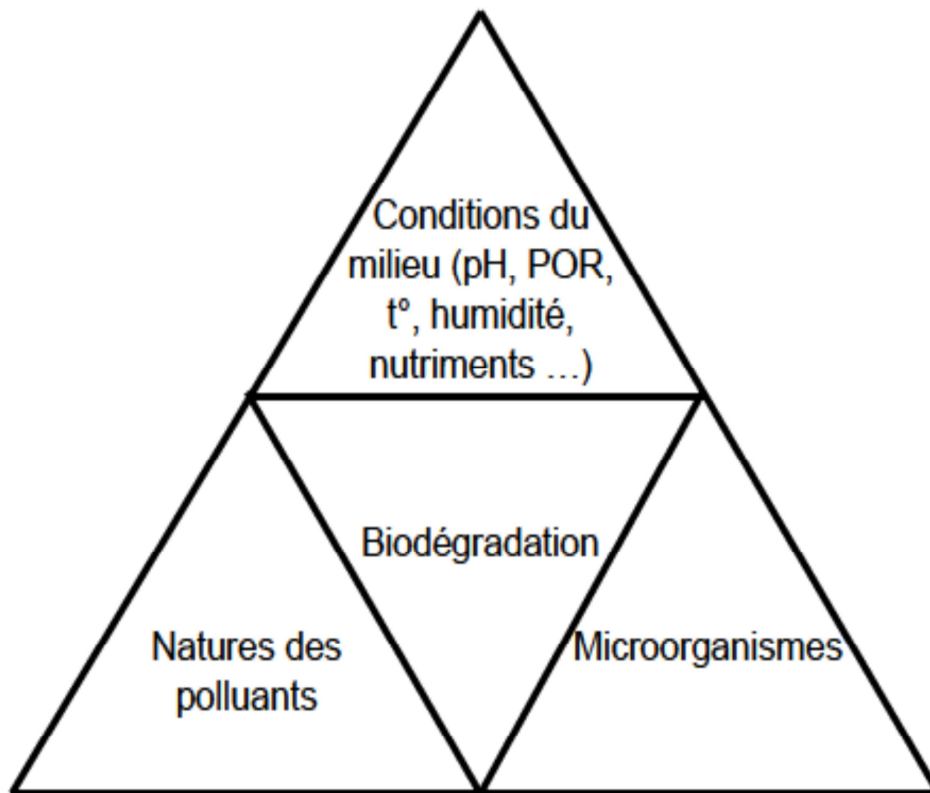


Fig.7 : Triangle de la biodégradation (Suthersan, 1997)

#### **I.5.4. La sorption :**

La sorption est un processus au cours duquel les solutés, s'accumulent aux surfaces ou aux interfaces (cas de l'adsorption) du sol ou se partage entre les interfaces (cas de la dissolution) (Gabet, 2004).

### **I.6. Impacts des hydrocarbures :**

Les impacts de la pollution par les hydrocarbures sont multiples. Les aspects les plus évidents sont les grandes catastrophes les plus médiatisées (Soltani, 2004).

#### **I.5.1. Impacts sur les propriétés physiques du sol :**

Les études réalisées dans le but de déterminer l'effet des hydrocarbures sur les propriétés physiques du sol sont vraiment limitées. Néanmoins, quelques observations intéressantes ont été faites par certains auteurs. D'après Rouquerol et ses collaborateurs (1987), les hydrocarbures enrobent les particules minérales et assurent leur dispersion.

Quand à Mettauier et ses collaborateurs (1987) *in* Fezani et Khider (2007), ils soutiennent l'idée que la présence des hydrocarbures améliorent la solubilité structurale du sol, accroissent sa rétention en eau et réduisent sa mouillabilité.

### **I.5.2. Impacts sur les propriétés chimiques du sol :**

Les effets des hydrocarbures sur les propriétés chimiques du sol consistent généralement en une augmentation de la concentration du sol en éléments à l'état de trace tels que le Mn, Zn et Fe. Une augmentation de la conductivité électrique (CE) entraînant l'inhibition de certaines plantes très sensibles à la présence des sels (Sauchilli, 1969 *in* Fezani et Khider, 2007). Une diminution du pH du sol et de la teneur en potassium (K), en calcium (Ca) et en phosphore (P) (Chaîneau *et al.*, 1996).

### **I.5.3. Impacts sur les propriétés biologiques :**

Les effets des hydrocarbures sur l'activité biologique du sol dépendent de leur nature, de leur concentration dans le sol et d'autres facteurs liés au milieu.

Dommeques et Mangenot (1970) *in* Oultaf (2015) ont affirmé qu'un sol imprégné par les hydrocarbures présente un très grand nombre de germes (bactéries, actinomycètes, champignons) revivifiables.

Rouquerol et ses collaborateurs (1987) ont également avancé que l'imprégnation des sols en hydrocarbures a pour effet global une multiplication intense de la microflore en particulier des champignons, des bactéries et des levures.

### **I.5.4. Impact des hydrocarbures sur la végétation :**

Les effets toxiques des hydrocarbures sur les végétaux sont très divers selon les familles et ces effets peuvent également varier en fonction de la concentration. L'effet phytotoxique des hydrocarbures a été observé à travers la diminution du taux de germination et du rendement, ainsi que les retards de croissance (Chaîneau *et al.*, 1996 ; Henner *et al.*, 1999).

## **II. Réhabilitation des sols pollués aux hydrocarbures :**

Plusieurs techniques de traitement ont vu le jour afin de restaurer les sites pollués classés dangereux pour les écosystèmes et la santé humaine.

### **II.1. Traitements physiques :**

Actuellement, les traitements physiques constituent la majorité des techniques mises en œuvre. Elles consistent à séparer et concentrer les polluants, sans les modifier ou les détruire. Les procédés d'extraction, de lavage et de confinement sont les plus souvent utilisés. (Iecomte, 1995).

### **II.2. Traitements chimiques :**

Les traitements chimiques ont pour but de détruire les polluants ou de les transformer en une forme moins nocive pour l'environnement ; et ceci par l'intermédiaire de réactions chimiques se produisant entre le polluant et le réactif ajouté. Ils peuvent être applicables *in*

*situ* ou après excavation des sols. La majorité des procédés exigent que les sols soient sous forme de boues ou que les contaminants soient mobilisés dans un milieu liquide. (Lecomte, 1995).

### **II.3. Traitements thermiques :**

Deux techniques *ex situ* sont utilisées, l'incinération et la désorption thermique. Elles sont employées pour la décontamination des sols pollués par les produits organiques. Ces technologies consistent à utiliser les hautes températures pour réduire les polluants en CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O (Lecomte, 1995).

### **II.4. Traitements biologiques**

Les procédés biologiques permettent de dégrader les polluants par l'action des microorganismes (bactéries, champignons...). Parfois utilisés seuls ou en complément d'une autre technique. La biodégradation s'appuie sur la présence dans le sol de micro-organismes capables de dégrader la plupart des produits organiques considérés comme polluants (un sol normal contient 10<sup>6</sup> à 10<sup>7</sup> bactéries par gramme de sol) (Colin, 2000).

La décontamination se fait *in situ* en introduisant au sol les éléments nécessaires au développement de la biomasse ou bien *ex situ* en traitant le sol excavé (Colin, 2000).

Pour la dégradation des hydrocarbures, différents micro-organismes sont utilisés (*Arthrobacter*, *Novacardia* ou *Pseudomonas*). Si la flore locale est inadaptée à la dégradation des polluants ou est peu abondante, des souches bactériennes performantes allochtones peuvent être ajoutées au sol (Lecomte, 1998).

L'identification des techniques biologiques met en évidence l'existence de deux catégories principales : les techniques de bioremédiation qui utilisent essentiellement des bactéries et les techniques de phytoremédiation qui exploitent les propriétés des végétaux (Cardière, 2006).

#### **II.2.4.1. La phytoremediation :**

La phytoremédiation est une technologie émergente qui utilise les plantes ou les microorganismes (bactéries et champignons) de la rhizosphère pour extraire, transformer, dégrader ou stocker les polluants contenus dans les sols, les sédiments, les eaux souterraines ou de surface et même l'atmosphère (Susarla *et al.*, 2002).

#### **II.2.4.2. La bioremédiation :**

La biorémédiation est une technique de décontamination qui induit l'utilisation de micro-organismes indigènes et/ou allochtones pour détoxifier les contaminants environnementaux (Koller, 2004).

Le procédé de la bioremédiation consiste à activer la capacité naturelle que possèdent de nombreux organismes, la plupart du temps microscopiques (bactéries, micro-algues, champignons) à dégrader les polluants en composés inertes, comme l'eau et le gaz carbonique. Ces organismes peuvent être indigènes (déjà présents dans la zone polluée), ou exogènes (ajoutés au milieu), ou encore être prélevés sur le site contaminé, cultivés au laboratoire puis réintroduits dans le sol. La bioremédiation se déroule généralement en conditions d'aérobie permettant la dégradation d'un certain nombre de molécules récalcitrantes (Vidali, 2001).

Les groupes de composés polluants pour lesquels la bioremédiation est possible sont les hydrocarbures pétroliers (gasoil, fuels, kérosène, huiles minérale, etc.) les déchets de l'exploitation du pétrole (boues et résidus d'huiles) et les produits résidus de l'industrie chimique de base (alcools, acides). Les différentes techniques utilisées dans la bioremédiation sont résumées dans le tableau 1.

Tableau 1 : Différents traitements de bioremédiation (Colombano *et al.*, 2010 et Vidali, 2001 )

| Techniques                                   | Principes                                                                                                                                                                                                     |
|----------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Bioventing                                   | Le bioventing est un traitement biologique aérobie qui consiste à stimuler la biodégradation dans la zone non saturée par apport d'oxygène.                                                                   |
| Biosparging                                  | Le biosparging est un traitement biologique qui consiste à stimuler la biodégradation dans la zone saturée et la zone capillaire par apport d'oxygène. Le biosparging est couplée au bioventing.              |
| Biofiltration                                | Utilisation d'un biofiltre pour traiter les émissions gazeuses.                                                                                                                                               |
| Biostimulation                               | C'est l'ajout de nutriments et d'oxygène pour aider les microorganismes.                                                                                                                                      |
| Bioaugmentation                              | C'est l'ajout de microorganisme exogène dans le sol aptes à dégrader un polluant particulier                                                                                                                  |
| Bioréacteurs                                 | Le but des bioréacteurs est de réaliser un transfert des polluants gazeux vers la phase liquide et de procéder aux réactions de biodégradation.                                                               |
| Land-farming<br>(biorestauration)            | Le procédé consiste à étaler sur une faible épaisseur des sols pollués sur un support imperméable et favoriser via des techniques agricoles classiques, leurs biodégradations aérobies.                       |
| Biopile (biodégradation en tas) ou biotertre | Consiste à mettre des sols pollués en tas. Pour ce faire, les sols pollués font généralement l'objet d'un amendement et les conditions dans le bio-tertre sont contrôlées (aération, ajouts de nutriment...). |

### III. La bioaugmentation :

La bioaugmentation consiste à ajouter des microorganismes afin de permettre ou d'améliorer la biodégradation. Elle est utilisée lorsque les microorganismes indigènes ne sont pas adaptés à la dégradation de la pollution, ou lorsque les polluants sont présents à des concentrations toxiques pour les microorganismes indigènes (Colombano *et al.*, 2010).

#### III.1. Les travaux de la bio-augmentation :

De nombreux papiers scientifiques ont été publiés récemment à propos de ce sujet. Cette partie porte essentiellement sur les recherches les plus récentes et pertinentes, traitant de la bioremédiation en utilisant la bioaugmentation, et qui sont résumées dans le tableau 2.

**Tableau 2:** résumé de quelques travaux de bioaugmentation

| Auteurs                                | Les travaux réalisés                                                                                                                                        | Les résultats                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|----------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| W.L.Straube <i>et al.</i> , 1999       | Benche-scale optimisation of bioaugmentation strategies for treatment of soil contaminated with high molecular weight polyaromatic hydrocarbons             | en augmentant les capacités métaboliques des communautés bactériennes autochtones du sol, des composés insolubles tels que les HAP peuvent être rendus plus accessibles à ces communautés pour se dégrader.                                                                    |
| Nasseri <i>et al.</i> , 2010.          | Influence of bioaugmentation in biodegradation of PAHs-contaminated soil in bio-slurry phase reactor                                                        | dégradation du phénanthrène de 87.8%,85.5% et 92.8% par <i>Pseudomonas sp.</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et le consortium respectivement.                                                                                                                                |
| Lebkowska <i>et al.</i> , 2011         | Bioremediation of soil polluted with fuels by sequential multiple injection of native MO: field-scale processes in Poland                                   | 82% de diesel ont été dégradés par bactérie répétée, 50% par bactérie unique et 30% dans le sol témoin après 28 jours                                                                                                                                                          |
| Prakash et Irfan, 2011.                | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> is present in crude oil contaminated sites of Barmer Region(India)                                                            | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> présente la capacité de dégrader le pétrole présent dans le sol.                                                                                                                                                                                 |
| Nisha <i>et al.</i> , 2013             | Degradation studies on diesel oil using bacterial consortium isolated from oil polluted soil.                                                               | Les conditions environnementales optimales pour la dégradation du diesel par <i>Bacillus coagulans</i> sont à pH =7, T=37°C et à faible volume 3.125g de diesel.                                                                                                               |
| Sadoudi-ali ahmed <i>et al.</i> , 2014 | Treatment of an oil polluted soil by injecting <i>Pseudomonas aeruginosa</i> and produce rhamnolipid.                                                       | Diminution du taux d'hydrocarbures après 28 jours d'incubation dans le sol traité par bioaugmentation par rapport au sol non traité et ceci est estimée par la quantité de CO <sub>2</sub> , et par le test de germination du blé                                              |
| Alicja <i>et al.</i> , 2014            | The influence of bioaugmentation and biosurfactant addition on bioremediation efficiency of diesel-oil contaminated soil : Feasibility during field studies | Les résultats suggèrent que l'amélioration du potentiel de biodégradation par l'introduction de microorganismes possédant des gènes cataboliques pertinents est une stratégie réalisable pour améliorer l'efficacité de la bioremédiation au cours du traitement à long terme. |

### III.2. Les paramètres qui influencent la biodégradation des hydrocarbures :

Selon Costes et Druelle (1997), la biodégradation des hydrocarbures est influencée par plusieurs facteurs dont les principaux sont la texture du sol, ses caractéristiques biologiques, sa structure, la concentration et les caractéristiques physico-chimiques des polluants ainsi que les paramètres environnementaux.

#### III.2.1. La température :

La température peut avoir un effet sur la biodégradation des hydrocarbures. En effet, la température influence l'état physique des hydrocarbures, ainsi que la composition et l'activité de la communauté microbienne qui se reflète sur le taux de dégradation des hydrocarbures (Atlas, 1981).

La température optimale pour la biodégradation est située entre 20 et 30°C pour Margesin et Schinner (1997) et entre 25 et 35 pour Yeung *et al.* (1997). Selon une étude réalisée par Song *et al.* (1990), la disparition de différents hydrocarbures dans des sols était maximale à 27°C. Toutefois, certains auteurs ont rapporté que la biodégradation était possible à de basses températures, même inférieures à zéro (Atlas, 1981).

### **III.2.2. Le pH :**

Le pH favorable pour la biodégradation est un pH proche de la neutralité. Rivière (1998b) parle d'un optimum situé entre 5.5 et 8.5. Le pH affecte la solubilité et par conséquent, la disponibilité de plusieurs métaux toxiques pour les microorganismes. Ces métaux sont insolubilisés à des pH élevés.

### **III.2.3. L'humidité :**

L'humidité du sol est un facteur qui influe sur la disponibilité des nutriments, sur le transfert du contaminant dans le sol, sur la dissolution et l'hydrolyse de celui-ci et sur l'activité des microorganismes et donc sur la biodégradation des hydrocarbures (Saada *et al.*, 2005).

L'humidité optimale pour la dégradation des hydrocarbures varie selon la nature du sol. Globalement, une humidité comprise entre 50 et 90% est favorable pour l'activité microbienne du sol (Phillips *et al.*, 2000)

### **III.2.4. Les nutriments**

Les nutriments sont indispensables à l'activité et au développement des microorganismes. Ce sont des corps simples qui peuvent être assimilés, sans transformation par les organismes et favoriser la croissance des populations de bactéries. Les plus importants sont l'azote et le phosphore (N, P).

### **III.2.5. L'oxygène :**

L'importance de l'oxygène pour la dégradation des hydrocarbures est indiquée par le fait que le chemin majeur de dégradation des hydrocarbures implique des oxygénases et de l'oxygène moléculaire. Ainsi, la dégradation des hydrocarbures dépend de la disponibilité de l'oxygène ; le taux de biodégradation diminue lorsque la quantité d'oxygène diminue. Dans ces conditions, les hydrocarbures peuvent subir une dégradation anaérobie lente et les hydrocarbures persistent ainsi dans l'environnement.

Les taux de dégradation anaérobie des hydrocarbures dans la nature sont négligeables (Atlas, 1981).

### **III.2.6. La texture du sol :**

Elle influe sur les phénomènes de sorption des hydrocarbures en fonction du taux de matière organique et des minéraux argileux et sur le transfert du contaminant dans le milieu (Saada *et al.*, 2005). La texture du sol n'affecte pas de façon importante les concentrations adsorbées ou en solution des HAP relativement mobiles. Inversement, le contenu en matière

organique influence très grandement la distribution des HAP entre les phases liquide et solide, et ainsi leur migration dans le sol.

### **III.2.7. La nature et la concentration des hydrocarbures :**

La dégradation de ces substrats est plus ou moins facile suivant leur composition chimique, leur consistance, leur solubilité, leur toxicité et leur concentration dans le sol (Dommergues et Mangenot, 1970).

D'une façon générale, la biodégradation des hydrocarbures aliphatiques est d'autant plus faible que la chaîne est longue et ramifiée. Celle des hydrocarbures aromatiques est significative lorsqu'ils ne contiennent pas plus de deux cycles (Saada et *al.*, 2005).

La biodégradation est proportionnelle à la solubilité et est inversement proportionnelle à l'adsorption.

### **III.2.8. Salinité**

La salinité diminue le nombre de micro-organismes dans le sol. Elle ralentit les processus de l'humification et de la minéralisation des matières organiques. En effet, de tous les processus biologiques, la nitrification est la plus touchée, ainsi que le dégagement du CO<sub>2</sub> (Mallouhi, 1989). Les fortes salinités constituent donc une barrière naturelle pour la biodégradation (Bertrand et *al.*, 1993).

## **VI. Optimisation mathématique**

### **VI.1. Définition :**

L'optimisation mathématique, également nommée «programmation mathématique» regroupe un ensemble de sujets dans l'étude de problèmes d'optimisation. Une fonction objectif, parfois nommée critère, est donnée, et le problème consiste à trouver, caractériser, calculer un point minimisant (ou maximisant) cette fonction. Parfois, tous les points de l'espace sont candidats, parfois, des contraintes limitent le domaine de recherche. (Dussault, 2017).

### **VI.2. Algorithmes génétiques (AGs) :**

Les AGs ont été initialement développés par Holland (1975). Ils sont fondés sur le néo-darwinisme c'est à dire l'union de la théorie de l'évolution et de la génétique moderne. Ils s'appuient sur différentes technique dérivées de cette dernière : croisements, mutation, sélection...

Un algorithme génétique recherche le ou les extrema d'une fonction définie sur un espace de données. Pour l'utiliser, on doit disposer des cinq éléments suivants :

1) Un principe de codage de l'élément de population. Cette étape associe à chacun des points de l'espace d'état une structure de données. Elle se place généralement après une phase de modélisation mathématique du problème traité. La qualité du codage des données conditionne le succès des algorithmes génétiques. Le codages binaires ont été très utilisés à

l'origine. Les codages réels sont désormais largement utilisés, notamment dans les domaines applicatifs pour l'optimisation de problèmes à variables réelles.

2) Un mécanisme de génération de la population initiale. Ce mécanisme doit être capable de produire une population d'individus non homogène qui servira de base pour les générations futures. Le choix de la population initiale est important car il peut rendre plus ou moins rapide la convergence vers l'optimum global. Dans le cas où l'on ne connaît rien du problème à résoudre, il est essentiel que la population initiale soit répartie sur tout le domaine de recherche.

3) Une fonction à optimiser. Celle-ci retourne une valeur appelée fitness ou fonction d'évaluation de l'individu.

4) Des opérateurs permettant de diversifier la population au cours des générations et d'explorer l'espace d'état. L'opérateur de croisement recompose les gènes d'individus existant dans la population, l'opérateur de mutation a pour but de garantir l'exploration de l'espace d'états.

5) Des paramètres de dimensionnement : taille de la population, nombre total de générations ou critère d'arrêt, probabilités d'application des opérateurs de croisement et de mutation (Souquet et Radet, 2004).

#### **VI.2.1. Algorithmes d'optimisation :**

Les algorithmes génétiques sont des techniques d'optimisation stochastiques dont les fondements théoriques ont été définis par John-Holland. Ces algorithmes travaillent sur toute une population de chaînes, afin d'effectuer des opérations de recherche sur un domaine de possibilité plus important. C'est une méthode inspirée de la théorie de l'évolution de Darwin. C'est un outil reconnu robuste et performant pour l'optimisation de fonctions erreurs à contraintes linéaires ou non linéaires (Yousfi et Mansouri, 2004 ; Levasseur, 2007).

#### **VI.2.2. But**

Les algorithmes génétiques appartiennent à la famille des algorithmes évolutionnistes. Leur but est d'obtenir une solution approchée à un problème d'optimisation, lorsqu'il n'existe pas de méthode exacte (ou que la solution est inconnue) pour résoudre en un temps raisonnable. Les AG utilisent la notion de sélection naturelle et l'appliquent à une population de solutions potentielles au problème donnée.

#### **VI.2.3. fonctionnement des algorithmes génétique :**

Le fonctionnement d'un AG est basé sur plusieurs phases :

**VI.2.3.1. Initialisation :** Consiste à représenter les différentes étapes possibles de la variable dont on cherche la valeur optimale sous forme utilisable pour un AG : c'est le codage. Cela permet d'établir une connexion entre la valeur de la variable et les individus de la population, de manière à imiter la transcription génotype-phénotype qui existe dans le monde vivant.

**VI.2.3.2. Opérateur de croisement :** Le croisement est le principal opérateur agissant sur la population des parents. Il permet de créer de nouveaux individus par l'échange d'information entre les chromosomes par leur biais de leur combinaison.

**VI.2.3.3. Opérateur de mutation :** Le rôle de cet opérateur est de modifier aléatoirement la valeur d'un gène dans un chromosome. Dans le cas du codage binaire, chaque bit  $a_i \in \{0,1\}$  est remplacé par son complémentaire  $a_i = 1 - a_i$ . Dans l'exemple de la figure 6, une mutation a eu lieu sur le troisième gène du chromosome  $ch$ . et elle a transformé ce gène de 1 en 0.

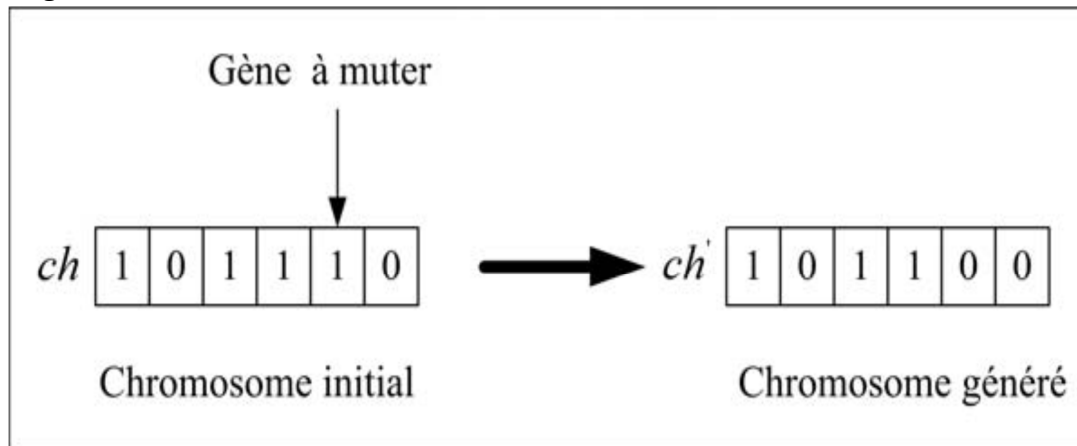


Fig. 8 : principe de l'opérateur de mutation

**4. Fonction d'évaluation :** Un algorithme génétique nécessite généralement la définition d'une fonction rendant compte de la pertinence des solutions potentielles, à partir des grandeurs à optimiser. Nous la nommerons fonction d'adaptation  $f$  (ou fitness fonction en terminologie anglo-saxonne). Elle est souvent exprimée par la composition de deux fonctions  $g$  et  $h$  :  $f = g \circ h$

Avec :  $\circ$  : loi de composition de fonctions  $g$  : fonction de transformation, pouvant être linéaire, exponentielle, logarithmique, etc,  $h$  : fonction objectif ou de coût, elle dépend de l'objectif recherché (Guenounou, 2009)

**5. Opérateur de sélection :** La sélection crée une population intermédiaire constituée de copies des individus de la population courante. En règle générale, le nombre de copies d'un individu est lié directement à la fitness relative de l'individu au sein de la population. Il existe plusieurs méthodes heuristiques qui représentent la reproduction, la méthode la plus connue et la plus utilisée est la sélection par roulette biaisée (roulette wheel selection) de Goldberg (Goldberg, 1994). Selon cette méthode, chaque chromosome est copié dans la nouvelle population proportionnellement à sa fitness. On effectue en quelque sorte, autant de tirages avec remise que d'éléments existant dans la population. Ainsi pour un chromosome particulier  $ch_i$  de fitness  $f(ch_i)$ , la probabilité de sa sélection dans la nouvelle population de taille  $N$  est :

$$p(ch_i) = \frac{f(ch_i)}{\sum_{j=1}^N f(ch_j)}$$

#### **VI.2.4. Application des Algorithmes Génétiques :**

Cette section présente des applications des AGs notamment en économie et la finance. Sans prétendre à l'exhaustivité, on peut néanmoins classer ces applications autour de deux grands thèmes : l'utilisation des AGs comme outil d'optimisation et de prévision, et l'utilisation des AGs comme représentation de l'apprentissage.

##### **VI.2.4.1. Optimisation et prévision :**

Dans cette sous-section, nous allons nous intéresser principalement à l'application des AGs dans trois domaines : résolution numérique, l'économétrie et la finance. Le point commun est l'utilisation des AGs comme un simple "algorithme de calcul".

##### **VI.2.4.2. Représentation de l'apprentissage :**

Les AGs correspondent en définitive à un algorithme d'exploration d'un espace de stratégies. Or, l'exploration devient une dimension importante de la dynamique économique dès que l'on quitte le cadre des anticipations rationnelles. La question de l'adaptation des anticipations et des choix des agents à l'évolution de leur environnement se pose alors. Du fait des mécanismes exploratoires simples et faciles à interpréter qu'ils proposent, les AGs peuvent être utilisés pour représenter ce processus adaptatif. Ils constituent alors une solution très intéressante pour un problème fondamental des modèles économiques avec des agents à rationalité limitée : la représentation de l'apprentissage des agents. Cette représentation tient de plus compte d'une dimension importante de l'activité économique : l'hétérogénéité des processus d'apprentissage et des anticipations des agents. Un ensemble très divers de travaux font recours aux AGs sur ce point et cela, aussi bien en macroéconomie qu'en micro-économie (Vallée et Yıldızoglu, 2001).

#### **VI.2.5. Analyse par composante principale(ACP)**

Une fois un ensemble de solutions identifié par l'algorithme génétique, une analyse statistique basée sur une analyse en composantes principales (ACP) est employée pour décrire cet échantillon. Cette méthode d'analyse factorielle permet de définir les directions principales d'un ensemble de points. Son but est de transformer des variables initiales en de nouvelles variables, appelées facteurs. Les facteurs sont des combinaisons linéaires des variables initiales. En pratique, à partir d'un ensemble de solutions identifiées par l'AG, la matrice des corrélations est calculée. De cette matrice, les valeurs propres et les vecteurs propres sont déduits. Les vecteurs propres donnent les directions principales du nuage. Ils servent à identifier des corrélations entre paramètres. Les valeurs propres donnent l'inertie de chaque axe. Elles servent à interpréter la sensibilité des paramètres recherchés. De cette analyse, un ellipsoïde est défini pour borner les solutions identifiées par l'AG. Les axes de l'ellipsoïde correspondent aux vecteurs propres. La taille des axes correspond aux valeurs maximales des facteurs. Cet ellipsoïde représente les solutions du problème. (Lavasseur, 2007).

## Chapitre II :Matériel et méthodes

## Matériels et méthodes

Dans le but de déterminer les conditions optimales pour la technique de bioaugmentation d'un sol pollué aux hydrocarbures, un essai a été mené au niveau du laboratoire de pathologie des écosystèmes en faisant varier trois paramètres (température, humidité et densité optique de la suspension bactérienne).

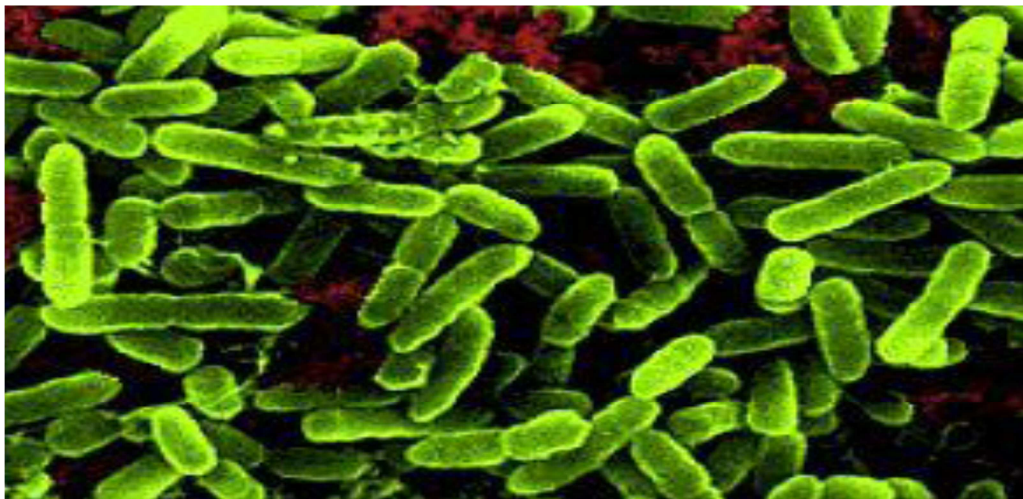
### I. Matériel

#### I.1. Matériel biologique

##### I.1.1. Les micro-organismes (*Pseudomonas aeruginosa*)

La souche bactérienne *Pseudomonas aeruginosa*, utilisée dans cette expérience, est fournie par le laboratoire de microbiologie de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

La souche *P. aeruginosa* est un bacille à Gram négatif ubiquitaire, présent notamment dans le sol, et les milieux aquatiques, non sporulant de forme droite ou légèrement courbée. Il mesure de 1 à 5  $\mu\text{m}$  de long et de 0,5 à 1  $\mu\text{m}$  de large (Figure 9). Bien que ce pathogène, ayant un métabolisme oxydatif, non fermentaire, aérobic stricte, plusieurs isolats ont montré une capacité à croître en milieu anaérobie. *P. aeruginosa* est une bactérie mésophile capable de se multiplier dans un large spectre de température allant de 4 à 45°C. La température optimale de croissance se situe entre 30 et 37°C. (Ryme, 2009 ; Elmeskini, 2011).



**Fig. 9 :** *Pseudomonas aeruginosa* vue au microscope électronique à balayage (WWW.nasa.gov/mission)

Elle possède des caractéristiques pouvant lui conférer une utilité dans différents secteurs industriels et commerciaux, notamment les applications dans la dégradation des déchets (en particulier dans les raffineries de pétrole). Il s'agit de l'un des micro-organismes les plus souvent isolés et naturellement présents dans les sols et les eaux souterraines contaminés par les hydrocarbures. Cette souche est parmi les espèces les plus importantes qui dégradent les hydrocarbures en produisant des rhamnolipides. En effet,

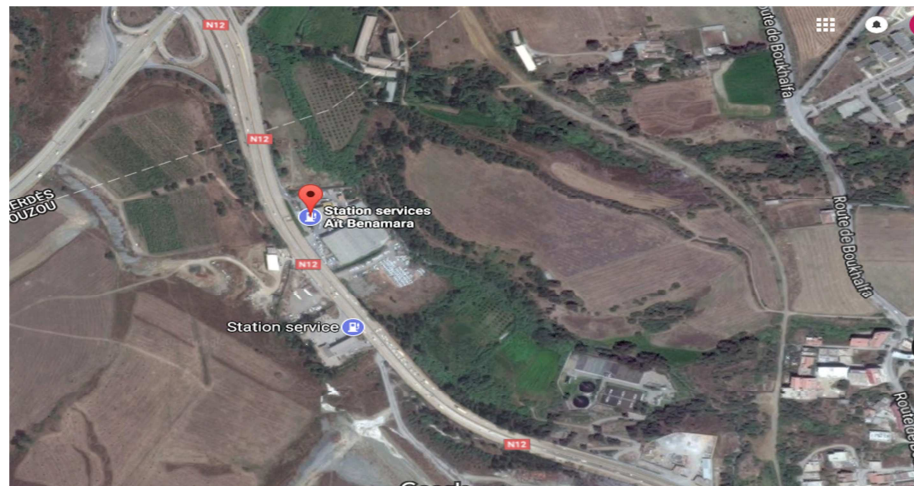
plusieurs chercheurs l'ont isolé à partir des sols contaminés par les hydrocarbures (Chabouni, 2008).

### I.1.2. Le Maïs (*Zea mays*)

Le maïs est une plante tropicale, herbacée annuelle de la famille des graminées (Poaceae). Il sera utilisé pour évaluer l'efficacité de la décontamination du sol à la fin du traitement. Cette espèce a été choisie en raison de sa bonne faculté germinative et sa sensibilité à la pollution aux hydrocarbures.

## I.2. Le sol

Le sol a été prélevé au niveau de la station-service de Boukhalifa qui se situe à 36° de latitude et 4° de longitude, elle est installée à 5km à l'ouest du chef-lieu de la wilaya de Tizi-Ouzou sur la route nationale N°12 reliant Alger à Tizi-Ouzou.



**Fig. 10:** image satellitaire de la station-service de Boukhalifa (Google earth, 2017)

Cette station a été choisie car elle se trouve à proximité des terres agricoles et d'un cours d'eau ce qui représente un risque pour les consommateurs. Des échantillons de sol sont prélevés au niveau de la couche superficielle (0 à 20cm de profondeur) où l'activité biologique est importante. Ce sol est contaminé par l'essence et le gasoil, provenant des rejets des cuves de stockage sous-terraines.

Les caractéristiques de ce sol sont données dans le tableau 3.

**Tableau 3 :** Caractéristique du sol de la station-service (INRF, 2016)

| Caractéristiques du sol        | Résultats                         |
|--------------------------------|-----------------------------------|
| pH                             | 7.2                               |
| Carbone organique              | 8.84 %                            |
| Azote total                    | 0.3 %                             |
| C /N                           | 29.47                             |
| Phosphore assimilable $P_2O_5$ | 5.46 ppm (mg $P_2O_5$ /Kg de sol) |
| Salinité                       | 0.74 mmhos /cm                    |
| Texture                        | limono- argileuse                 |

Le sol est caractérisé par un pH neutre, c'est un sol légèrement salin et riche en carbone ce qui permet le développement des micro-organismes, le rapport C/N est élevé donc l'activité biologique est faible. Par contre, il est moyennement pourvu en azote et en phosphore. Il est de texture limono-argileuse.

## II. Méthodes

### II.1.1. Préparation du sol

Après l'échantillonnage sur le terrain, le sol contaminé a été acheminé au laboratoire puis tamisé avec un tamis à mailles de 5mm de diamètre.

### II.1.2. Dispositif expérimental :

Nous avons entrepris un essai de bioaugmentation sur un sol contaminé aux carburants en faisant varier trois paramètres ; la température, l'humidité du sol et la densité de la suspension bactérienne de *P. aeruginosa* (figure4):

Température :  $T_1=15$ ,  $T_2=25$  et  $T_3=35^\circ\text{C}$ ,

Humidité :  $h_1=90\%$ ,  $h_2=70\%$  et  $h_3=50\%$  de la capacité au champ (CC)

Densité optique :  $DO_1=0.45$ ,  $DO_2=0.22$  et  $DO_3=0.11$

Nous avons utilisé 81 flacons en verre de 250ml, et dans chaque flacon nous avons mis 200g du sol contaminé tamisé auparavant. Nous avons ensuite ramené l'humidité de ce sol à la valeur souhaitée (50, 70 ou 90% de la (CC)) et ajouté 4ml de la suspension bactérienne des différentes densités optiques. Enfin ces flacons ont été incubés à trois températures différentes :  $15^\circ\text{C}$ ,  $25^\circ\text{C}$  et  $35^\circ\text{C}$ , contenant chacun un tube à hémolyse avec 5ml de NaOH 0.5N pendant 15jours.

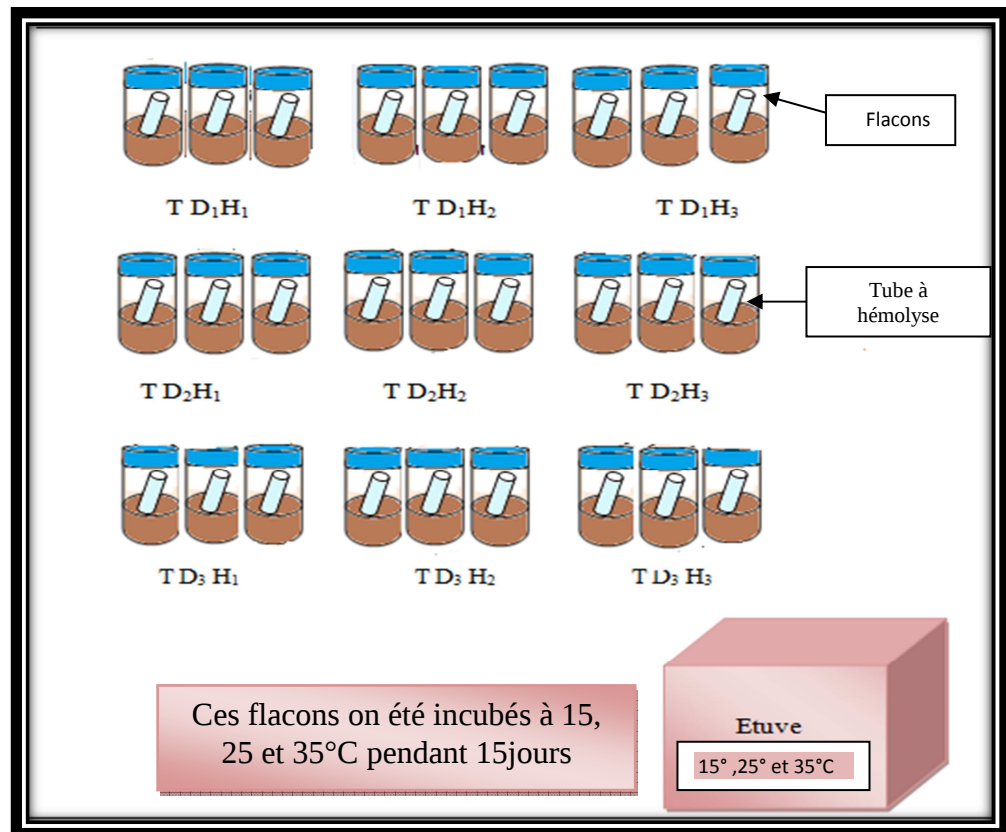


Fig. 11 : Dispositif expérimental

### II.1.2. Mesure du pH du sol :

Le pH est déterminé par la différence du potentiel existant entre une électrode en verre et une électrode de référence plongeant dans la solution du sol. Cette différence de potentiel est une fonction linéaire du pH de cette solution.

A la fin de l'incubation, le pH du sol de chaque flacon est mesuré sur une suspension du sol dans l'eau au rapport de 2/5 (rapport masse/volume) après 2 heures de repos. Les valeurs du pH sont affichées par le pH-mètre de type HI2210 après stabilisation.

### II.1.3. Mesure de la conductivité électrique du sol (CE) :

La conductivité électrique d'une solution dépend de sa concentration en électrolytes. La pratique des extraits de sol permet de déterminer la conductivité du sol.

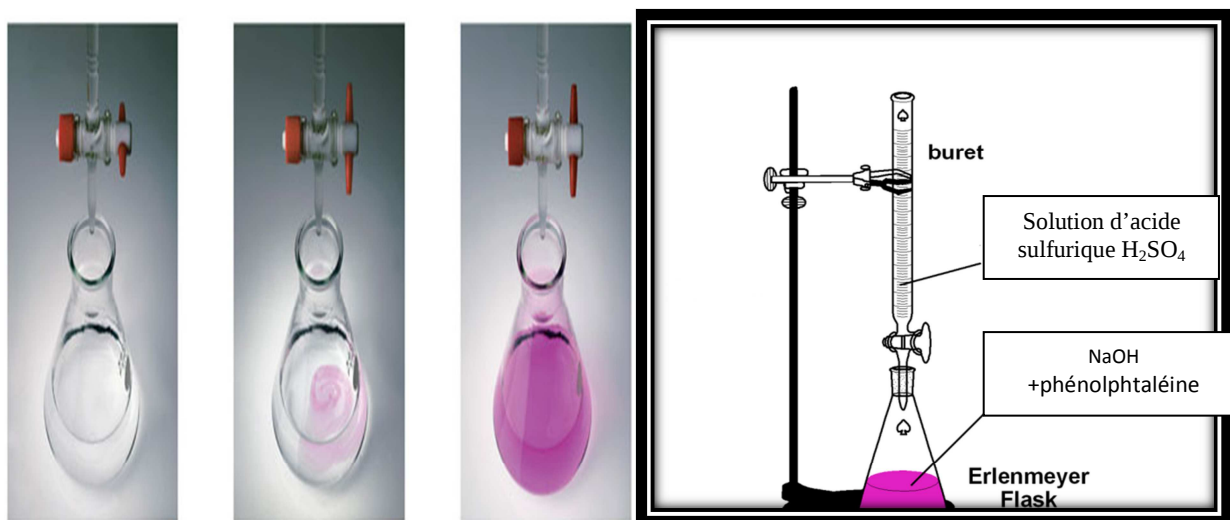
La CE est mesurée sur l'extrait aqueux du sol au rapport de 1/5. Elle est exprimée en millimhos par centimètre (mmho/Cm). Elle a été mesurée par un conductimètre de type WTW-D 8120 Weilheim LF 42.

$$CE = \text{valeur lue} \times \text{constante de cellule} \times \text{chiffre de correction}$$

#### II.1.4. Mesure de l'activité biologique globale

Un test respirométrique a été effectué pour évaluer l'impact du traitement sur l'activité biologique du sol et déterminer le taux de minéralisation du carbone.

Après 15 jours d'incubation du sol, lors de laquelle le  $\text{CO}_2$  dégagé par l'activité des microorganismes est capté par une solution de  $\text{NaOH}$  0.5N ; cette dernière est titrée avec l'acide sulfurique 0.25N en présence de quelques gouttes de phénolphthaléine (titrage acide-base).



**Fig. 12 :** méthode de titrage avec l'acide sulfurique

Le taux de minéralisation du carbone est ensuite calculé par la formule :

$$\text{TM}\% = \text{C-CO}_2 / \text{COT}$$

#### II.1.2.4. Test de germination:

Le but de ce test est d'évaluer l'impact de la bioaugmentation sur la toxicité des hydrocarbures contenus dans le sol en calculant le taux de germination des graines de maïs et évaluer le degré de la remédiation de ce sol pour savoir si la qualité de ce dernier a été améliorée.

Dans ce test, 20 graines de maïs sont mises à germer dans 100 grammes de sol dans des boîtes de Pétri et sont humidifiées. Après 10 jours de semence, le taux de germination est calculé en divisant le nombre de graines germées sur le total des graines semées.

$$\text{Taux de germination (\%)} = (\text{nombre de graines germées} / \text{nombre de graines semées}) \times 100$$

Notons qu'un test de germination a été effectué dans les mêmes conditions sur le sol contaminé avant qu'il ne soit traité. Le taux de germination obtenu était de 18,33%.



**Fig. 13 :** Test de germination des graines de maïs (*Zea mays*).

### **III. Méthodes d'analyse mathématique :**

Le traitement mathématique des résultats a été fait avec le logiciel R.3.0.2.

#### **III.1. Optimisation mathématique :**

Les résultats du test de germination ont fait l'objet d'une optimisation mathématique avec les algorithmes génétique sous R afin de déterminer la température, l'humidité et la densité optique optimales pour la bioaugmentation des sols pollués aux carburants.

Un modèle de régression multiple est calculé à partir des résultats expérimentaux puis optimisé pour avoir les combinaisons des trois paramètres qui donnent les meilleures valeurs du taux de germination.

#### **III.2. Analyse statistique :**

Les résultats obtenus ont été soumis à une anova à 3facteurs (température, humidité et densité optique). Lorsque les différences entre les moyennes s'avéraient significatives, le test de Newman-Keuls a été appliqué pour établir les groupes homogènes.

## **Chapitre III :Résultat et discussions**

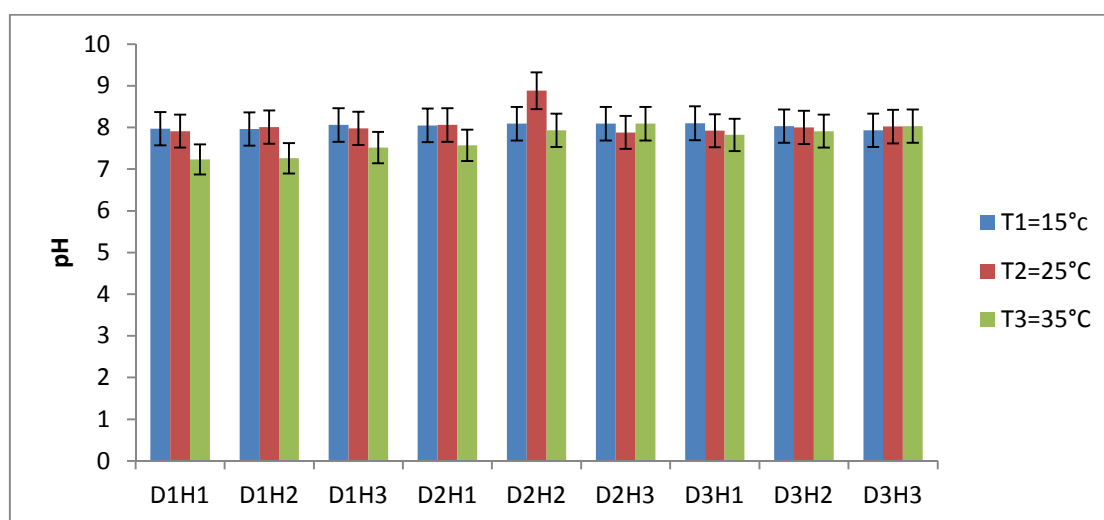
## Chapitre III : Résultats et discussion

Ce travail a été réalisé pour trouver les optima des trois paramètres testés à savoir, la température (15, 25 et 35°C), l'humidité (50, 70, 90% de la capacité au champ) et la densité optique de la suspension bactérienne (0.11, 0.22 et 0.45) pour la dégradation des hydrocarbures.

### I. Résultats des analyses

#### I.1.Le pH

Les résultats de l'analyse de pH des sols traités sont présentés dans la figure 14



**Fig. 14 : pH des sols traités**

Selon la norme internationale (mémento de l'agronome, 1993 in Nemer, 2015) (annexe1), nous remarquons que les échantillons de sol traités incubés à 15°C présentent des pH moyennement alcalins qui sont de 7.93 à 8.03. Les échantillons incubés à 35°C présentent des pH qui varient de 7.23 à 8.03 et ce sont des pH neutres à légèrement alcalin, et un cas fortement alcalin (8.88) est observé dans le sol traité avec la densité optique de la suspension bactérienne à 0.22 et une humidité de 70% de la capacité au champ incubé à 25°C.

Le test de Kruskal-Wallis pour le pH du sol a révélé une différence très hautement significative pour le facteur température avec une p-value qui est de  $6,89 \cdot 10^{-6}$ , et une différence significative pour le facteur densité avec une p-value qui est de 0,03492.

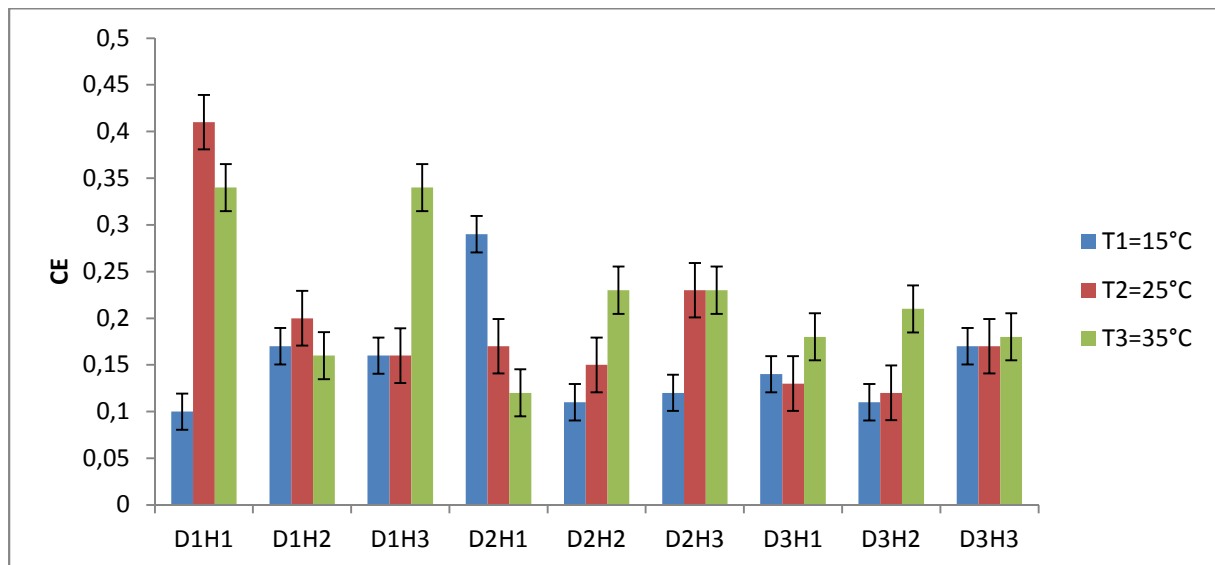
Tableau 4 : Résultats du test de Kruskal-Wallis pour le pH des sols traité

| Facteurs    | Chi2    | ddl | p-value             |
|-------------|---------|-----|---------------------|
| Température | 23.7695 | 2   | $6,895.10^{-6}$ *** |
| Densité     | 6.7095  | 2   | 0,03492 *           |

Le test post-hoc de Kruskal-wallis (annexe2) fait ressortir 3 groupes homogènes pour le facteur température ;  $T_1$  est classée dans le groupe A,  $T_2$  dans le groupe B et  $T_3$  dans le groupe C. Nous constatons donc, que plus la température augmente, le pH du sol diminue. Concernant la densité optique de la suspension de *P. Aeruginosa*  $D_2$  et  $D_3$  sont classées dans le groupe A et  $D_1$  dans le groupe B. Le facteur humidité n'a pas eu d'effet sur la variation du pH du sol.

## I.2. La conductivité électrique (CE)

La conductivité électrique nous renseigne sur la salinité de la solution du sol et sa teneur en sel dissouts. Les résultats de la mesure de la conductivité électrique dans les sols traités par bioaugmentation à différentes densités optiques de la suspension bactérienne à différentes teneurs en eau et différentes températures sont représentés dans la figure15.



**Fig.15** : Conductivité électrique des sols traités par bioaugmentation

Nous remarquons que la valeur la plus élevée de la CE est enregistrée au niveau du sol traité par la densité optique de la suspension bactérienne à 0.45 et une humidité de 90% de la CC incubé à 25°C, avec 0.41mmho/cm. Elle est suivie par la CE des sols incubés 35°C, traités avec les combinaisons  $D_1H_1$  et  $D_1H_2$  avec une valeur de 0.34mmho/cm, et celle du sol incubé à 15°C, traité avec la combinaison  $D_2H_1$  avec une valeur de 0.29mmho/cm, dans ce cas la CE du sol diminue en fonction des différentes températures. Selon les normes d'interprétation de la CE (Clement et Pieltain, 2003) (annexe1) nous remarquons que les résultats obtenus sont compris entre 0 et 0,6mmho/cm. Nous pouvons donc dire que le sol traité par bioaugmentation est non salin.

Les résultats de l'Anova pour la conductivité électrique ont révélé qu'il y avait une différence significative entre les trois températures, donc nous pouvons dire que la température a eu un effet significatif sur la CE du sol (tableau 5).

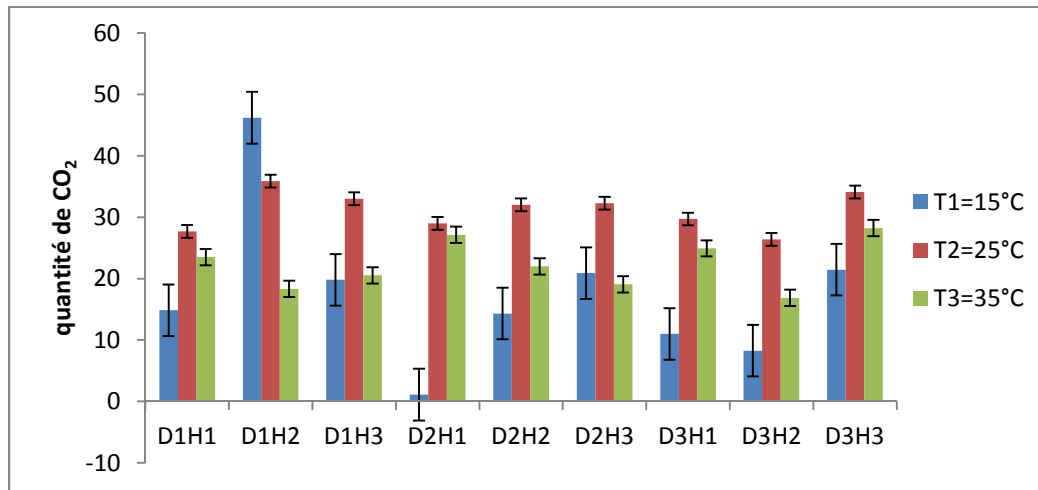
Tableau 5 : Résultats de l'analyse de la variance pour la CE du sol

| Source de variation  | DDL | SC      | CM        | F      | P        |
|----------------------|-----|---------|-----------|--------|----------|
| Tem                  | 2   | 0.06259 | 0.0312954 | 4.2128 | 0.01995* |
| densité              | 2   | 0.01409 | 0.0070454 | 0.9484 | 0.39372  |
| Humidité             | 2   | 0.03342 | 0.0167120 | 2.2497 | 0.11523  |
| Tem*densité          | 4   | 0.02671 | 0.0066782 | 0.8990 | 0.47110  |
| Tem*humidité         | 4   | 0.02463 | 0.0061574 | 0.8289 | 0.51268  |
| Densité*humidité     | 4   | 0.06227 | 0.0155685 | 2.0957 | 0.09403  |
| Tem*densité*humidité | 8   | 0.09798 | 0.0122472 | 1.6486 | 0.13284  |
| Erreur               | 54  | 0.40115 | 0.0074287 |        |          |

Le test de Newman et Keuls, (annexe2) ressort 3 groupes homogènes pour le facteur température. Le groupe A inclut la température 3 qui présente une moyenne de 0.1822, le groupe AB inclut la température 2 qui présente une moyenne qui est de 0.1519 et le groupe B qui contient la température 1 avec une moyenne de 0,1143.

### I.3. Activité biologique globale (ABG)

Les résultats de l'activité biologique globale, exprimée en quantité de CO<sub>2</sub> dégagé par la respiration des microorganismes du sol sont représentés dans la figure 16



**Fig. 16 :** la quantité de CO<sub>2</sub> dégagé dans les sols traités

Les résultats du test respirométrique du sol traité ont montré que l'ABG était globalement plus intense dans les flacons incubés à 25°C que ceux incubés à 15°C et à 35°C. Au niveau des sols traités par la suspension bactérienne de densité optique D<sub>1</sub> (0.45) et une humidité H<sub>2</sub> (70%) à 15°C et à 25°C, et au niveau des sols traités par la suspension de densité D<sub>3</sub> (0.11) avec l'humidité H<sub>3</sub> (50% de la capacité au champ) à 35°C, les quantités de CO<sub>2</sub>

dégagées sont de 46.2, 34.9 et 28.23mg de CO<sub>2</sub> /100g de sol respectivement, qui correspondent aux taux de minéralisation de 12.47mg, 9.70 et 7.62 respectivement.

Les résultats de l'analyse de la variance (tableau 6) pour l'activité biologique globale révèlent des différences très hautement significatives pour le facteur température, et une différence significative pour les interactions température-densité optique de la suspension, température-humidité et humidité-densité.

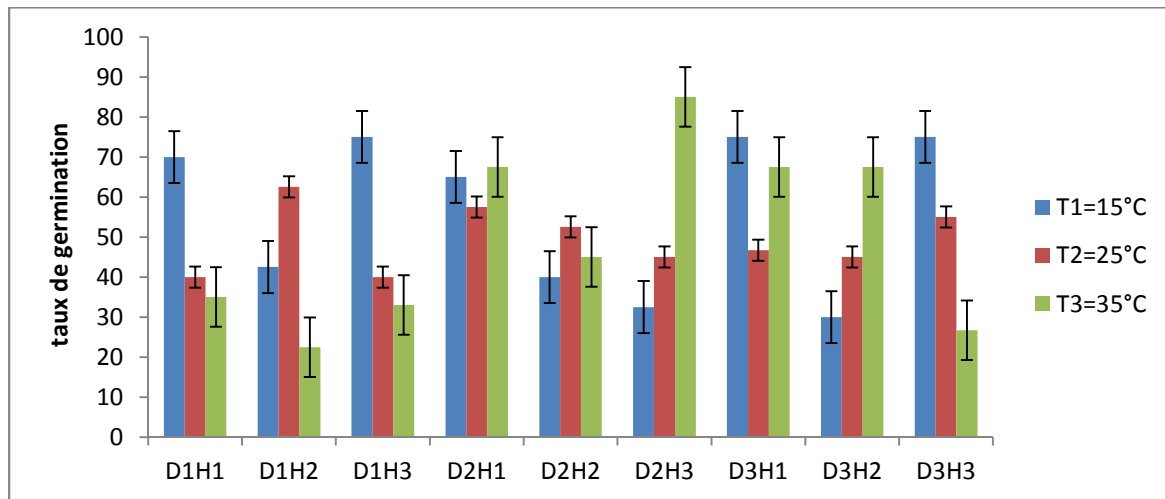
Tableau 6 : Analyse de la variance de l'activité biologique globale

| Source de variation  | ddl | SC     | CM      | F       | P                         |
|----------------------|-----|--------|---------|---------|---------------------------|
| Tem                  | 2   | 2508.2 | 1254.12 | 15.1147 | 6,125.10 <sup>-6***</sup> |
| Densité              | 2   | 297.2  | 148.60  | 1.7909  | 0.17658                   |
| Humidité             | 2   | 355.7  | 177.84  | 2.1433  | 0.12714                   |
| Tem*densité          | 4   | 964.3  | 241.08  | 2.9055  | 0.02995*                  |
| Tem*humidité         | 4   | 970.8  | 242.69  | 2.9250  | 0.02914*                  |
| Densité*humidité     | 4   | 978.8  | 244.69  | 2.9491  | 0.02816*                  |
| Tem*densité*humidité | 8   | 917.1  | 114.63  | 1.3816  | 0.22559                   |
| Erreur               | 54  | 4480.5 | 82.97   |         |                           |

Le test de Newman Keuls (annexe2) pour l'activité biologique globale pour le facteur température a fait ressortir 2 groupes homogènes : T<sub>2</sub> est classée dans le groupe A, T<sub>1</sub> et T<sub>3</sub> sont classées dans le groupe B. En ce qui concerne l'interaction température-densité optique 3 groupes homogènes ont été établis ; les combinaisons T<sub>2</sub>D<sub>2</sub>, T<sub>2</sub>D<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>D<sub>3</sub> et T<sub>1</sub>D<sub>1</sub> sont classées dans le groupe A et T<sub>3</sub>D<sub>3</sub>, T<sub>3</sub>D<sub>2</sub> et T<sub>3</sub>D<sub>1</sub> sont dans le groupe AB, T<sub>1</sub>D<sub>3</sub> et T<sub>1</sub>D<sub>2</sub> sont classés dans le groupe B. L'interaction température-humidité a donné 4 groupes homogènes : T<sub>2</sub>H<sub>3</sub> dans le groupe A ; T<sub>2</sub>H<sub>2</sub>, T<sub>2</sub>H<sub>1</sub>, T<sub>3</sub>H<sub>1</sub>, T<sub>1</sub>H<sub>2</sub>, T<sub>3</sub>H<sub>3</sub>, T<sub>1</sub>H<sub>3</sub> dans le groupe AB ; T<sub>3</sub>H<sub>2</sub> dans le groupe B et T<sub>1</sub>H<sub>1</sub> groupe C. Enfin, pour l'interaction densité optique-humidité 3 groupes homogènes sont formés, D<sub>1</sub>H<sub>2</sub> groupe A, D<sub>3</sub>H<sub>3</sub>, D<sub>2</sub>H<sub>3</sub>, D<sub>1</sub>H<sub>3</sub>, D<sub>2</sub>H<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>H<sub>1</sub>, D<sub>1</sub>H<sub>1</sub> dans le groupe AB et D<sub>2</sub>H<sub>1</sub>, D<sub>3</sub>H<sub>2</sub> dans le groupe B.

#### I.4. Test de germination

Le test de germination est réalisé afin d'évaluer l'efficacité du traitement des sols par bioaugmentation. Les résultats sont présentés dans la figure 17.



**Fig. 17 :** Le taux de germination des graines de maïs (*Zea mays*)

Les résultats du test montrent que dans dix cas nous avons obtenu des taux de germination supérieurs à 60% et ils ont même atteint 70% dans 5 sols. Dans les sols traités avec D1 et D3 incubés à 15°C nous avons eu des taux relativement importants par rapport aux autres, mais la valeur la plus élevée (85%) a été obtenue au niveau du sol incubé à 35°C, traité avec D<sub>2</sub> H<sub>3</sub> et la valeur la plus faible, de l'ordre de 20%, est obtenue dans le sol traité avec D<sub>1</sub>H<sub>2</sub>.

Les résultats de l'analyse de la variance à 3 facteurs pour le taux de germination ont révélé une différence hautement significative au niveau de l'interaction des deux facteurs température et densité optique de la suspension de *Ps. aeruginosa* avec une p-value de 0.003116\*\* (tableau 7).

Tableau 7: Analyse de la variance du taux germination

| Source de variation  | DDL | SC      | CM      | F      | P          |
|----------------------|-----|---------|---------|--------|------------|
| Tem                  | 2   | 859.9   | 429.94  | 1.3241 | 0.274529   |
| densité              | 2   | 204.3   | 102.16  | 0.3146 | 0.731382   |
| Humidité             | 2   | 2052.5  | 1026.23 | 3.1606 | 0.050341.  |
| Tem*densité          | 4   | 5893.8  | 1473.46 | 4.5380 | 0.003116** |
| Tem*humidité         | 4   | 2256.8  | 564.20  | 1.7376 | 0.155161   |
| Densité*humidité     | 4   | 584.6   | 146.14  | 0.4501 | 0.771855   |
| Tem*densité*humidité | 8   | 4745.1  | 593.13  | 1.8268 | 0.092008.  |
| Erreur               | 54  | 17533.3 | 324.69  |        |            |

Le test Newman et Keuls (annexe2) du taux de germination pour l'interaction des facteurs température et densité fait ressortir 3 groupes homogènes ; le groupe A contient la densité optique de la suspension à 0.45 dans le sol incubé à 15°C et la densité optique de 0.22 dans le sol incubé à 35°C ; le groupe AB contient les combinaisons T<sub>1</sub>D<sub>3</sub>, T<sub>3</sub>D<sub>3</sub>, T<sub>2</sub>D<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, T<sub>2</sub>D<sub>2</sub>, T<sub>1</sub>D<sub>2</sub> et dans le groupe B figure T<sub>3</sub>D<sub>1</sub>.

### 1.5. Optimisation mathématique du taux de germination

Une régression multiple a été calculée :

$$Y = (-0.5733 \times x_1) - (0.1444 \times x_2) - (12.7003 \times x_3) + 76.0428$$

Y : taux de germination

x1 : température

x2 : humidité

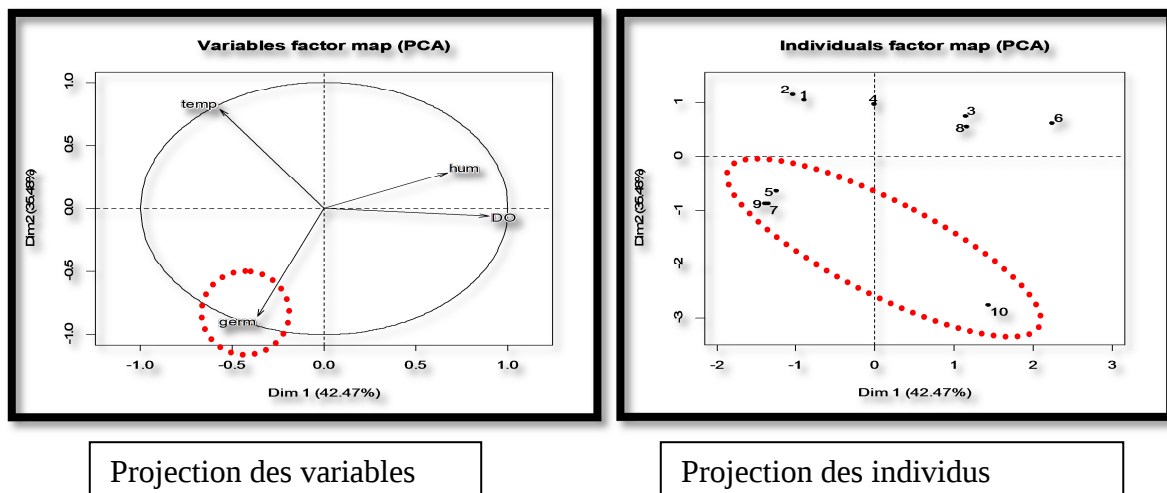
x3 : DO

Cette fonction a été optimisée avec les algorithmes génétiques, et les dix solutions optimales données par R sont consignées dans le tableau 8.

Tableau 8 : résultats de l'optimisation du taux de germination

|    | tem      | hum      | DO        | germ     |
|----|----------|----------|-----------|----------|
| 1  | 31.69094 | 64.54553 | 0.2962242 | 78.99055 |
| 2  | 31.69711 | 64.80406 | 0.2941446 | 78.98376 |
| 3  | 31.57734 | 64.23898 | 0.3113084 | 78.43475 |
| 4  | 31.69506 | 64.44456 | 0.3052768 | 79.00468 |
| 5  | 31.63472 | 64.04431 | 0.2974862 | 80.55774 |
| 6  | 31.53720 | 69.16283 | 0.3070060 | 79.32734 |
| 7  | 31.62678 | 64.03710 | 0.2969435 | 80.78748 |
| 8  | 31.63343 | 65.60515 | 0.3114994 | 79.27961 |
| 9  | 31.62171 | 63.98641 | 0.2964807 | 80.75115 |
| 10 | 31.25211 | 64.42819 | 0.3094871 | 80.64774 |

Ces solutions ont fait l'objet d'une ACP (fig. 18)



**Fig.18** : Résultats de l'ACP pour le taux de germination

Il ressort de ce graphique que les individus 5, 7, 9 et 10 présentent les meilleurs taux de germination ; de l'ordre de 80%. Les caractéristiques de ces individus sont représentées dans le tableau IVX.

Tableau 9 : caractéristiques des individus présentant les solutions optimales du modèle

| Individu | température | humidité | DO        | germination |
|----------|-------------|----------|-----------|-------------|
| 5        | 31.63472    | 64.04431 | 0.2974862 | 80.55774    |
| 7        | 31.62678    | 64.03710 | 0.2969435 | 80.78748    |
| 9        | 31.62171    | 63.98641 | 0.2964807 | 80.75115    |
| 10       | 31.25211    | 64.42819 | 0.3094871 | 80.64774    |

## II. Discussion des résultats :

La température et la densité optique de la suspension bactérienne ont influencé le pH du sol. Une augmentation a été observée dans le sol traité par bioaugmentation par rapport au sol avant incubation (7.2). Cette différence peut être due à la biodégradation des hydrocarbures par *P. aeruginosa* qui aurait libéré des sites de fixation des ions  $H^+$  sur le complexe adsorbant du sol ou à la production de composés aminés. Kabata-pendia et Pendia (2001) et Alloway (1995) in Ferret (2012) ont montré qu'une augmentation de pH entraînait l'accroissement de la CEC permettant une adsorption des cations les plus importants. De plus, elle entraînait la dissolution de la matière organique. Nos résultats diffèrent de ceux obtenus par Djouahra (2015), Alik et Belkacem (2015) et Messaoui et Kaced (2015) qui ont trouvé une diminution du pH du sol traité par bioaugmentation, cela peut être dû aux facteurs qui ont été variés ou bien aux conditions de laboratoire. Selon Baize (2002) l'augmentation du pH favorise l'adsorption des cations par augmentation de la charge négative ( $OH^-$ ,  $HCO_3^-$  et  $CO_3^{2-}$ ) à l'interface mais en même temps, elle favorise la formation des complexes solubles de la concentration des ligands en solution. Sachant que le genre *Pseudomonas* présente une bonne croissance dans des pH de 6 - 8 et un optimum de 7 (Ali Ahmed, 2011) donc *P. aeruginosa* a pu trouver des conditions favorables à sa croissance.

L'absence d'une différence significative de la conductivité électrique du sol au niveau des facteurs densité optique pour la suspension bactérienne, humidité et leurs interactions implique que ces derniers n'ont pas eu d'effet sur la CE. La température, quant à elle, a eu un effet sur la CE du sol. Nos résultats sont similaires à ceux de Djouahra (2015) qui a trouvé que la température a eu un effet sur la biodégradation des hydrocarbures et que la souche *P. aeruginosa* joue un rôle important dans la biodégradation des carburants. En comparant ces résultats avec les résultats du sol avant incubation qui était de 0.74mmho/cm nous avons remarqué que la conductivité du sol traité a diminué, cela pourrait être causé par l'utilisation de certains minéraux pour la croissance des bactéries.

Les résultats, de l'activité biologique globale du sol, montrent une augmentation du taux de carbone dégagé dans le sol traité avec une valeur de 46.5mg qui correspond au taux de minéralisation de 12.47 mg. En comparant ces résultats à ceux du sol avant traitement, nous remarquons que ces valeurs sont largement supérieures à celles du sol non traité (1.04mg) La réduction de l'activité biologique dans le sol avant incubation est due à l'effet dépressif, signalé par Dommergues et Mangenot (1970) et Duchaufour (2001), des hydrocarbures vis-à-vis de la microflore du sol. L'augmentation du taux de  $CO_2$  dans les sols traités par *P.a* peut être due à la biodégradation des carburants (essence et diesel) par cette dernière.

De plus nous avons remarqué une variation dans le dégagement du taux de CO<sub>2</sub> entre les différentes températures. Ceci peut être dû au traitement par bioaugmentation, et que l'interaction entre la température et l'humidité a un effet sur le dégagement du taux de CO<sub>2</sub>, plus la température est élevée, le taux d'humidité diminue, ce qui conduit à la diminution du taux de minéralisation et par la suite, la diminution du taux de biodégradation des hydrocarbures. Selon Davis et Madsen (1996), l'humidité est un paramètre important dans la dégradation des composés organiques, et que les faibles humidités limitent la vitesse de biodégradation. L'élévation du taux de CO<sub>2</sub> peut être due à la croissance de la *Pseudomonas* et formation de produits qui favorisent la dégradation des hydrocarbures. Selon Kdiri (2014), la présence de carburants dans le sol améliore la synthèse de biosurfactants par *P. aeruginosa* sachant que dans la majorité des cas, l'hydrocarbure peut être utilisé comme seule source de carbone. Les biosurfactants favorisent la biodégradation des hydrocarbures en améliorant leur solubilité dans l'eau.

Concernant le taux de germination des graines de maïs, nous avons obtenu des valeurs dépassant les 40% dans les sols traités par bioaugmentation, par contre le résultat trouvé dans le sol non traité était de 18.33%, nous supposons que l'élévation du taux de germination des sols traités par bioaugmentation peut être due à la biodégradation des carburants par *P. aeruginosa*, entraînant une diminution de leur toxicité sur les graines du maïs. Ceci a été notamment observé à 35°C. Nous avons constaté que plus la température augmentait, plus les taux de germination étaient élevés, sachant que la température optimale de la croissance de *P. aeruginosa* est comprise entre 30 et 37°C. En effet selon Sifour *et al.*, (2007), *P. aeruginosa* est connue par sa capacité à biodégrader les composés hydrocarbonés. Ceci nous laisse supposer que l'activité intense de cette souche à 35°C aurait conduit à une biodégradation plus importante des carburants.

L'optimisation mathématique pour le taux de germination a fait ressortir 4 individus qui présentent les meilleurs taux de germination (supérieurs à 80%). L'individu présentant le taux de germination le plus élevé qui est de 80.79% est caractérisé par une température de 31.63°C, une humidité de 64% de la capacité au champ et une densité optique de la suspension bactérienne de 0.29. En comparant ces résultats aux résultats expérimentaux, nous constatons que cette solution optimale donnée par le modèle mathématique est proche du meilleur individu obtenu dans l'expérimentation, et qui est caractérisé par une température de 35°C, une humidité de 50% et une densité optique qui à 0.22. Notons, toutefois, que les valeurs des deux humidités sont éloignées l'une de l'autre (50 et 64%), mais les résultats ont montré que le facteur humidité n'influait pas sur le taux de germination.

# Conclusion

Ce travail est réalisé dans le but d'évaluer l'efficacité d'une technique biologique; la bioaugmentation, et la détermination des optima de température, d'humidité et de densité optique de la suspension bactérienne de la souche *Pseudomonas aeruginosa*, ainsi que la réhabilitation d'un sol pollué aux hydrocarbures (essence et gasoil) provenant d'une station-service.

D'après les résultats obtenus, nous concluons qu'il y a eu une biodégradation des hydrocarbures dans le sol traité. Cette dégradation se traduit par une augmentation du pH et l'élévation du taux de germination des graines de maïs, ainsi que la diminution de la conductivité électrique du sol et augmentation de l'activité biologique globale qui est déterminé par le CO<sub>2</sub> dégagé.

Ce travail a donc montré que la biodégradation des carburants par la technique de bioaugmentation au niveau du sol traité par la densité optique de la suspension 2 (0.22) avec une humidité de 50% de la capacité au champ dans le sol incubé à 35°C. Donc les optima pour la biodégradation sont T<sub>3</sub>=35°C, D<sub>2</sub>=0.22 et H<sub>3</sub>=50%.

A partir des résultats obtenus après une optimisation mathématique par les algorithmes génétique nous concluons les optima des paramètres de bioaugmentation sont à 31.63°C avec une humidité à 64% de la capacité au champ et une densité optique à 0.29 et ceci est déterminé par le taux de germination qui est de l'ordre de 80%.

En vue des résultats obtenus, un certain nombre de perspectives peuvent être proposée. Tel que :

- Etude de la biologie du sol en quantifiant le taux de dégradation des carburants avant et après traitement, pour avoir une idée sur le degré de décontamination.
- réalisation des études approfondies sur les interactions entre la souche apporté et les microorganismes indigènes et mettre en évidence une éventuelle synergie ou antagonisme.
- Réalisation d'autres essais sur d'autres types d'hydrocarbures pour confirmer l'efficacité de la bioaugmentation et les résultats de l'optimisation.
- Réalisé des essais sur le terrain en testant les paramètres optimisés.
- l'essai de combinaison entre cette technique et d'autres techniques de bioremédiation.

# Référence bibliographique

**Amiri N., 2013:** Ecotoxicité des hydrocarbures sur le sol et un essai de décontamination biologique. Mémoire d'ingénieur. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 69 p.

**Atlas R.M., 1981:** Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. Microbiological Reviews. Vol.45. pp: 180-209.

**Belkacem L. et Alik S., 2015 :** Essai de remédiation d'un sol pollué aux hydrocarbures par la technique de bioaugmentation. Mémoire de Master en biologie. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 26p.

**Belkadi A. et Issadi S., 2014 :** Effets des hydrocarbures sur le rendement végétal de la Luzerne (Medicago Sativa L.). Mémoire d'ingénieur. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 67p.

**Bliefert C. et Perraud R., 2001 :** chimie de l'environnement (Air, Eau, Sol, Déchet) Edition de Boeck. 360p.

**BRGM-Saada A., Norwak C., Coquereau N., 2005:** Etat des connaissances sur l'atténuation naturelle des hydrocarbures-rapport intermédiaire. 110p

**BRGM-Colombano S, Saada A, Victoir E. Guierin V. 2014.** Nature des produits pétroliers d'origine du vieillissement : tentative de l'identification de la source via la prise en compte des impacts et l'analyse de l'âge approximatif des déversements. Rapport final. 166p

**BERTRAND J.L., Bionchi M., El malla M., Mille G., 1993.** Hydrocarbon Biodegradation and hydrocarbonoclastic bacterial communities composition grown in seawater as a function of sodium chloride concentration. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 168, 125-138.

**Cadière.F., 2006 :** traitement biologique des sols pollués, recherche et innovation étude réalisée pour le compte de l'ADEME par l'ADIT-société nationale d'intelligence stratégique département sites et sols pollués, direction déchets et sols-ADEME (anrs).p32.

**Chaineau C.H., Morel J.L., ET Oudot J. 1996:** Biodégradation of fuel oil Hydrocarbons in Rhizosphere of Maize. Phytoremediation, IBC Conference, Arlington, VA

**Climent M et Pielain F., 2003 :** Analyse chimique du sol. Édition TEC et DOC. Lavoisier .paris.260p

**Colin.F, 2000 :** Pollution localisée des sols et sous-sols par les hydrocarbures et par les solvants chlorés .édition TEC et DOC. pp417.

**Colombano S., Saada A., Guerin V., Bataillard P., Bellenfant G., Beranger D., Blanc.C, Zornig.C et Girardeau.L., 2010.**Quelle technique pour quels traitements ? Analyse coûts-bénéfices. Rapport final. BRGM/RP-58609-FR.

**Costes J.M. ; Druelle B., 1997** : Les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans l'environnement : la réhabilitation des anciens sites industriels. Revue de l'Institut Français du Pétrole. Vol.52. N°4. pp : 944-947.

**Djaouahra A., 2015** : Essai de décontamination d'un sol pollué aux hydrocarbures par deux technique de bioremédiation (biostimulation, bioaugmentation). Mémoire d'ingénieur. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.34p

**Davis JW, Madsen S., 1996:** Factor affecting the biodegradation of toluene in soil. Chemosphere., 33: 107-130

**Dommergues Y. ; Mangenot F., 1970** : Ecologie microbienne du sol. Edt Masson, Paris. 796p.

**Dussault J.P., 2017** : Optimisation mathématique avec applications en imagerie. Université de Sherbrooke. 393p.

**Elmeskini K., 2011** : Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de doctorat. Université Mohammed V faculté de médecine et de pharmacie –rabat. 117p.

**Fattal P., 2008.**pollution des cotes par les hydrocarbures. Presse universitaire de Rennes. 498p.

**Ferret C., 2012** : Rôle des *Pseudomonas fluorescents* dans la biodisponibilité des métaux contaminant les minéraux du sol : application à la phytoremédiation. Thèse de doctorat. Université de Strasbourg 345p.

**Fizani S. et khider F. 2007** : Toxicité des hydrocarbures vis-à-vis des plantes, leurs caractéristique et leurs effet sur la microflore du sol. Mémoire d'Ingénieur. U.M.M.T.O. 73p

**Gallego J.R.L., Llamas J.F., Vasquez F., Sanchez J.2001:** Bioremediation of diesel-contaminated soils: Evaluation of potential *in situ* technique by study of bacterial degradation biodegradation 12: 325-335.

**Gaudu F., 2014:** Bioremédiation des sols pollués aux hydrocarbures. Mémoire de Master en biologie gestion marketing. Université de rennes 1, ufr sve. 27p

**Guenounou O., 2009** : Méthodologie de conception de contrôleurs intelligents par l'approche génétique- application à un bioprocédé. Thèse de doctorat. Spécialité Systèmes Automatiques .Université de Toulouse III- Paul Sabatier.

**Henner P.,Schiavon M., Druelle V., Lichtfouse E.1999:** Phytotoxicity of ancient gaswork soils. Effect of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) on plant germination. Organic Geochemistry, Elsevier, 30 (8), pp.963-969.

**Koller.E., 2004** : traitement des pollutions industrielles (Eau, Air, Déchets, Sols, Boues). 2<sup>ème</sup> édition. Edition DUNOD.P267.

**Kamath R., Rentz J.A., Schoor J.L., 2004:** Phytoremediation of hydrocarbon-contaminated soils: principles and application. department of civil and environmental engineering, seamans center, University of Iowa, Iowa city, USA-52242

**Lebkowska M., Zborowska E., Karwowska E., Miaskiewicz-Peska E., Muszynska A., Tabernacka A., Naumczyk J., Jeczalik M., 2011:** Bioremediation of soil polluted with fuels by sequential multiple injection of native microorganisms: Field-scale processes in Poland. *Ecological Engineering* 37. 1895– 1900

**Len J., Gawel ph.D. 2001:** A guide for remediation of salt/hydrocarbon impacted soil .North Dakota Industrial Resources Bismarck, ND 58505-0840

**Lecomte.paul, 1998 :** Les sites pollués, traitement des sols et des eaux souterraines. 2<sup>ème</sup> édition. Lavoisier TEC et DOC 204p.

**Lefebvre, 1978 :** Livre chimie des hydrocarbures, Ed techno 277p.

**Lumière B., Serguin JJ., Le guem C., Baranger Ph., 2001 :** Guide sur le comportement des polluants dans les sols et les nappes. BRGM/RP-50662-FR.

**Malouhi N., 1998 :** Etude de la dynamique de la matière organique dans les sols affectés par salinité. *Tropicultura*, 7, 3, 90-79.

**Marchal R., Penet S., Solano S., Vandecasteele J.P., 2003:** Gasoline and Diesel oil biodegradation. *Oil & Gas science and Technology-rev.IFP*, vol.58, No.4, pp 441-448

**Margesin R.; Schinner F., 1997:** Efficiency of indigenous and inoculated coldadapted microorganisms for biodegradation of Diesel oil in Alpine soils. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol.63. N°7. pp : 2660-2664.

**Messaoui T., Kaced N., 2015 :** essai de décontamination d'un sol pollué par les hydrocarbures par l'association de la biostimulation et de bioaugmentation. Mémoire d'ingénieur. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 55p

**MUCK Jean-Claude, 2007 :** Les Carburants. <http://muck.jeanclaude.free.fr>

**Nasseri S., Rezaei Kalantary R., Nourieh N., Naddafi K., Mahvi A. H., Baradaran N., 2010:** Influence of bioaugmentation in biodegradation of pahs-contaminated soil in bio-slurry phase reactor. *Iran. J. Environ. Health. Sci. Eng.*, Vol. 7, No. 3, pp. 199-208.

**Nisha. P, Nayana. M and Viji Varghese., 2013:** Degradation Studies on Diesel Oil Using Bacterial Consortium Isolated from Oil Polluted Soil. *P.G. Department of Biochemistry & Biotechnology, S.S.V. College, Valayanchirangara, Ernakulum, Kerala – 683 556, India.*

**Oultaf L., 2015:** Etude comparative de l'efficacité de trois techniques de remédiation (Phytoremediation, biostimulation, bioaugmentation) sur des sols pollués par les carburants. Thèse de magister. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou 105p.

**Phillips T.M., Seech A.G., Lin D., Lee H., Trevors J.T., 2000:** Monitoring biodegradation of creosote in soils using radiolabels, toxicity tests and chemical analysis. *Environmental Toxicology*. Vol.15. N°2. pp : 99-106.

**Piedrafita C et Maria V., 2007 :** La pollution ponctuelle des sols: le cas des stations-service dans la région de Bruxelles-capitale. Mémoire. Diplôme d'Etudes Spécialisées en Gestion de l'Environnement. Université de Bruxelles. Bruxelles 154p.

**Prakash B, Irfan M., 2011:** *Pseudomonas aeruginosa* is Present in Crude Oil Contaminated Sites of Barmer Region (India). *J Bioremed Biodegrad* 2:129. doi:10.4172/2155-6199.1000129

**Ramade, 2000:** élément d'écologie .écologie appliqué. V2.6éd .dunod.466p

**Rocher V., Moilleron R., 2003 :** Identification des sources d'hydrocarbures en milieu urbain : approche automatisée (centre d'enseignement et de Recherche sur l'eau, la ville de l'environnement, Université Paris XII-val de Marne, créteil)

**Rouquerol T., Amir H., Amir A.1987 :** effet de l'épandage de résidu pétrolier de raffinerie sur l'évolution de la matière organique. L'activité de densité microbienne d'un sol agricole, *Revue d'écologie et de biologie* 156p.

**Rym B., 2009 :** Rôle de l'élastase du neutrophile dans les infections pulmonaire à *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse doctorat à l'Université de Reine Champagne-Ardenne.03p

**Saada A. ; Nowak C. ; Coquereau N., 2005 :** Etat des connaissances sur l'atténuation naturelle des hydrocarbures. Rapport du BRGM. RP 53739-FR. 107p.

**San Miguel A., 2011 :** phytoremédiation des organochlorés. Étude mécanistique et fonctionnelle des capacités du système plante-rhizosphère.Thèse de doctorat. Université

**SADOUDI- ALI AHMED D., ALI AHMED S., DAHMANI Y. & CHERGUI R., 2014:** Treatment of an oil polluted soil by injecting *Pseudomonas aeruginosa* and produced rhamnolipid. *International Journal of Environmental Engineering Science and Technology Research* Vol. 2, No. 1, January 2014, PP: 1 - 9, ISSN: 2326 – 3113

**Séverine Levasseur, 2007 :** Identification des paramètres mécaniques des sols par analyse inverse sur des essais et ouvrages géotechniques. 3S-R-Grenoble Universités-CNRS/UJF/INPG UMR 5521 – BP53 – 38 041 Grenoble Cedex 9.

**SIFOUR M., AL-JILAWI M. H. et AZIZ J. M., (2007):** Emulsification properties of biosurfactant produced from *Pseudomonas aeruginosa* RB 28. *Pak. J. Biol. Sci.*, 10(8) : 1331-1335.

**Soltani M., 2004 :** Distribution lipidique et voies métaboliques chez quatre bactéries Gram – négatives hydrocarbonoclastes. Variation en fonction de la source de carbone. Thèse de Doctorat. Université de Paris 6 284p.

**Straube W.L., J. Jones-Meehan, P.H. Pritchard, W.R. Jones., 1999:** Bench-scale optimization of bioaugmentation strategies for treatment of soils contaminated with high molecular weight polyaromatic hydrocarbons. *Resources, Conservation and Recycling* 27. 27–37

**Susarla S., Medina VF., MC Cutcheon SC. 2002.** Phytoremediation: An ecological solution to organique chemical contamination. *Ecological Engineering* 18. 647-658.

**Szulc A., Ambrozewicz D., Sydow M., Lawniczak L., Piotrowska-Cyplik L., Marecik R., Chrzanowski L., 2014:** The influence of bioaugmentation and biosurfactant addition on bioremediation efficiency of diesel-oil contaminated soil: Feasibility during field studies. *Journal of Environmental Management* 132- 121-128.

**Vidali.M. 2001.**pureappl.chem. .bioremediation. An overview. vol.73, No.7, pp1163-1172.

**Vallée et Yildizoglu, 2001 :** Présentation des algorithmes génétiques et de leurs applications en économie. LEN-C3E Université de Nantes, LEA-CIL Chemin de la Censive du Tertre.

**Yeung P.Y.; Johnson R.L.; Xu J.G., 1997:** Biodegradation of petroleum hydrocarbons in soil as affected by heating and forced aeration. *Journal of Environmental Quality*. Vol.26.pp: 1511-1516.

**Yousfi L., Mansouri N., 2004 :** efficacité des algorithmes génétiques procédant par réduction successive pour l'identification des paramètres. *Sciences & Technologie B – N°22, Décembre* (2004), pp. 17-21.

**Canada.gc.ca :** guide d'orientation pour la sélection de technologie

**Google earth, 2017.**

***Annexe***

**Annexe01 : les normes d'interprétation**

**-Norme d'interprétation du pH du sol (Mémento de l'agronome(1993) in Nemer, 2015)**

| <b>Valeur de pH</b> | <b>Quantification</b>  |
|---------------------|------------------------|
| < 4                 | Extrêmement acide      |
| 4 à 5               | Très fortement acide   |
| 5.1 à 5.5           | Fortement acide        |
| 5.6 à 6.5           | Faiblement acide       |
| 6.6 à 7.3           | Neutre                 |
| 7.4 à 7.8           | Légèrement alcalin     |
| 7.9 à 8.4           | Moyennement alcalin    |
| 8.4 à 9             | Fortement alcalin      |
| > 9.1               | Très fortement alcalin |

**-Norme d'interprétation de la conductivité électrique de l'extrait aqueux du sol à 25°C  
(Clement et Pieltain, 2003)**

| <b>Valeur de la CE en mmhos/cm</b> | <b>Quantification</b> |
|------------------------------------|-----------------------|
| 0 à 0.6                            | Non salé              |
| 0.6 à 1                            | Légèrement salé       |
| 1 à 2                              | Salé                  |
| 2 à 4                              | Très salé             |
| > 4                                | Extrêmement salé      |

**Annexe02 : les résultats de l'expérience et les analyse statistique****Tableau 1 : résultats de mesure de pH des sols traité :**

| tem  | T1   | T2   | T3   |
|------|------|------|------|
| D1H1 | 7,97 | 7,91 | 7,23 |
| D1H2 | 7,96 | 8,01 | 7,26 |
| D1H3 | 8,06 | 7,98 | 7,52 |
| D2H1 | 8,05 | 8,06 | 7,57 |
| D2H2 | 8,09 | 8,88 | 7,93 |
| D2H3 | 8,09 | 7,88 | 8,09 |
| D3H1 | 8,1  | 7,92 | 7,82 |
| D3H2 | 8,03 | 8    | 7,91 |
| D3H3 | 7,93 | 8,02 | 8,03 |

**Tableau2 : Conductivité électrique**

|      | T1   | T2   | T3   |
|------|------|------|------|
| D1H1 | 0,1  | 0,41 | 0,34 |
| D1H2 | 0,17 | 0,2  | 0,16 |
| D1H3 | 0,16 | 0,16 | 0,34 |
| D2H1 | 0,29 | 0,17 | 0,12 |
| D2H2 | 0,11 | 0,15 | 0,23 |
| D2H3 | 0,12 | 0,23 | 0,23 |
| D3H1 | 0,14 | 0,13 | 0,18 |
| D3H2 | 0,11 | 0,12 | 0,21 |
| D3H3 | 0,17 | 0,17 | 0,18 |

**Tableau3 : mesure de l'activité biologique globale**

|      | T1    | T2    | T3    |
|------|-------|-------|-------|
| D1H1 | 14,85 | 27,7  | 23,5  |
| D1H2 | 46,2  | 35,9  | 18,33 |
| D1H3 | 19,8  | 33    | 20,53 |
| D2H1 | 1,1   | 29    | 27,13 |
| D2H2 | 14,3  | 32    | 22    |
| D2H3 | 20,9  | 32,27 | 19,07 |
| D3H1 | 11    | 29,7  | 24,93 |
| D3H2 | 8,25  | 26,4  | 16,87 |
| D3H3 | 21,45 | 34,1  | 28,23 |

**Tableau4 : taux de minéralisation**

|      | T1    | T2   | T3   |
|------|-------|------|------|
| D1H1 | 4,01  | 6,93 | 6,33 |
| D1H2 | 12,47 | 9,7  | 4,95 |
| D1H3 | 5,35  | 8,91 | 5,54 |
| D2H1 | 0,29  | 7,83 | 7,31 |
| D2H2 | 3,86  | 8,64 | 5,94 |
| D2H3 | 5,64  | 8,71 | 5,15 |
| D3H1 | 2,57  | 8,02 | 6,73 |
| D3H2 | 2,23  | 7,13 | 4,55 |
| D3H3 | 5,79  | 9,21 | 7,62 |

**Tableau5 : test de germination**

|      | T1   | T2   | T3   |
|------|------|------|------|
| D1H1 | 70   | 40   | 35   |
| D1H2 | 42,5 | 62,5 | 22,5 |
| D1H3 | 75   | 40   | 33   |
| D2H1 | 65   | 57,5 | 67,5 |
| D2H2 | 40   | 52,5 | 45   |
| D2H3 | 32,5 | 45   | 85   |
| D3H1 | 75   | 46,7 | 67,5 |
| D3H2 | 30   | 45   | 67,5 |
| D3H3 | 75   | 55   | 26,7 |

**Résultats de Newman Keuls pour le pH : groupe homogène pour la température :**

**-Température :**

```
Groups, Treatments and mean of the ranks
a      T1      57.07
b      T2      40
c      T3      25.93
```

**-Densité**

```
Groups, Treatments and mean of the ranks
a      D2      46.61
a      D3      44.91
b      D1      31.48
> |
```

**Résultats de Newman Keuls pour la conductivité électrique : groupe homogène pour la température :**

```
Groups, Treatments and means
a      T3      0.1822
ab     T2      0.1519
b      T1      0.1143
> |
```

**-Groupe homogène pour l'activité biologique globale**

**1- température**

```
Groups, Treatments and means
a      T2      30.98
b      T3      22.29
b      T1      17.54
> |
```

## 2-densité humidité

```
Groups, Treatments and means
a      D1:H2      33.16
ab     D3:H3      27.59
ab     D2:H3      25.06
ab     D1:H3      24.44
ab     D2:H2      22.77
ab     D3:H1      21.88
ab     D1:H1      21.33
b      D2:H1      19.01
b      D3:H2      17.17
> |
```

---

## 2- Température humidité

```
Groups, Treatments and means
a      T2:H3      33.77
ab     T2:H2      31.11
ab     T2:H1      28.06
ab     T3:H1      25.18
ab     T1:H2      22.92
ab     T3:H3      22.61
ab     T1:H3      20.72
b      T3:H2      19.07
c      T1:H1      8.983
> |
```

## 3- Température densité

```
Groups, Treatments and means
a      T2:D2      32
a      T2:D1      31.2
a      T2:D3      29.73
a      T1:D1      26.95
ab     T3:D3      23.34
ab     T3:D2      22.73
ab     T3:D1      20.78
b      T1:D3      13.57
b      T1:D2      12.1
> |
```

Résultats des du test d'anouva pour le taux de minéralisation :

```

> anova(min)
Analysis of Variance Table

Response: min
          Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)    
tem         2  180.65   90.323  14.9166 6.957e-06 ***
densité     2   24.13   12.067   1.9928  0.14621    
humidité    2   24.45   12.226   2.0191  0.14268    
tem:densité  4   66.90   16.726   2.7622  0.03666 *  
tem:humidité 4   70.01   17.502   2.8903  0.03060 *  
densité:humidité 4   74.91   18.727   3.0927  0.02300 *  
tem:densité:humidité 8   65.69    8.211   1.3561  0.23685    
Residuals   54  326.98    6.055                      
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
> |

```

## Les groupes homogènes de la minéralisation :

### 1-température

Means with the same letter are not significantly different.

```

Groups, Treatments and means
a      T2      8.342
b      T3      6.013
b      T1      4.735
> |

```

### 2- interaction température-densité

```

Groups, Treatments and means
a      T2:D1      8.516
a      T2:D2      8.393
a      T2:D3      8.118
a      T1:D1      7.277
ab     T3:D3      6.301
ab     T3:D2      6.131
ab     T3:D1      5.608
b      T1:D3      3.663
b      T1:D2      3.264
> |

```

### 3- interaction température-humidité

```

Groups, Treatments and means
a      T2:H3      8.942
ab     T2:H2      8.49
ab     T2:H1      7.594
ab     T3:H1      6.79
ab     T1:H2      6.187
ab     T3:H3      6.104
ab     T1:H3      5.594
b      T3:H2      5.146
c      T1:H1      2.423
> |

```

## 4- interaction humidité- densité

```

Groups, Treatments and means
a      D1:H2      9.04
ab     D3:H3      7.54
ab     D1:H3      6.601
ab     D2:H3      6.5
ab     D2:H2      6.147
ab     D3:H1      5.907
ab     D1:H1      5.759
b      D2:H1      5.142
b      D3:H2      4.636
< |

```

## -Groupe homogène pour le taux de germination

```

Groups, Treatments and means
a      T1:D1      60
a      T3:D2      55
ab     T1:D3      51.67
ab     T3:D3      46.11
ab     T2:D1      44.44
ab     T2:D3      44.44
ab     T2:D2      43.33
ab     T1:D2      38.33
b      T3:D1      26.11
> |

```

## Résumé :

L'objectif de ce travail est la détermination des optima de température, d'humidité et de la densité optique de la suspension bactérienne de *Pseudomonas aeruginosa*. Et déterminer la combinaison optimale des 3 paramètres de la bioaugmentation.

D'après les résultats obtenus, nous concluons qu'il y a eu une biodégradation des hydrocarbures dans le sol traité. Cette dégradation se traduit par une augmentation du pH et l'élévation du taux de germination des graines de maïs, ainsi que la diminution de la conductivité électrique du sol et augmentation de l'activité biologique globale qui est déterminé par le CO<sub>2</sub> dégagé.

Les résultats obtenus par les tests statistiques nous font les optima de la température, humidité et de la densité optique de la suspension bactérienne et la combinaison optimale des trois paramètres de bioaugmentation des sols pollués aux carburants qui sont une température à 35°C avec une humidité à 50% de la capacité au champ et une densité optique à 0.22 et ceci a été déterminé par le taux de germination des graines de maïs (*Zea mays*). Et les résultats de l'optimisation mathématique pour le taux de germination nous fait ressortir l'individu qui présente un taux de germination le plus élevé qui est de 80.78 %. En comparant ces résultats aux résultats de l'expérimentation nous constatons que ces valeurs sont proches l'une de l'autre excepté pour l'humidité qui sont éloignées l'une de l'autre (50 à 60%) vu que l'humidité n'a pas d'effet sur le taux de germination.

**Mots clés :** bioaugmentation, *Pseudomonas aeruginosa*, optimisation, taux de germination, *Zea mays*

## Abstract

The objective of this work is to determine the optima of temperature, humidity and optical density of the bacterial suspension of *Pseudomonas aeruginosa*. And determine the optimal combination of the 3 parameters of the bioaugmentation.

From the results obtained, we conclude that there has been biodegradation of the hydrocarbons in the treated soil. This degradation translates into an increase in pH and an increase in the germination rate of corn seeds, as well as a decrease in the electrical conductivity of the soil and an increase in the overall biological activity which is determined by the CO<sub>2</sub> released

The results obtained by the statistical tests make optimum the temperature, humidity and optical density of the bacterial suspension and the optimal combination of the three bioaugmentation parameters of the polluted soils to the fuels which are a temperature at 35°C with a moisture To 50% of the field capacity and an optical density at 0.22 and this was determined by the corn seed germination rate (*Zea mays*). And the results of mathematical optimization for germination rate our highlights the individual who has a highest germination rate that is 80.78%. By comparing these results with the results of the experiment, we find that these values are close to each other except for humidity which is distant from each other (50 to 60%) as humidity has no effect on germination rate.

**Key words:** bioaugmentation, *Pseudomonas aeruginosa*, optimization, germination rate, *Zea mays*