

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Mouloud MAMMARI de Tizi Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biologie Animale et végétale



Mémoire de fin d'étude

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

Option : Protection de l'environnement

Thème :

***Essai de bioremédiation d'un sol
pollué aux hydrocarbures par la
bioaugmentation et la biostimulation***

Présenté par :

M^{elle} HADJOU Ouzena

M^{elle} RABHI Samia

Devant le jury :

Présidente: Mme SADOUDI D.

Promotrice: Melle ALI AHMED S.

Examineurs: Mme LAMRI T.

Melle BACHI K.

Professeur à l'U .M.M.T.O

Maitre assistante à l'U.M.M.T.O

Maitre assistante à l'U.M.M.T.O

Doctorante à l'U.M.M. T.O

Soutenu le 02/07 /2015

Remerciements

En premier, nous remercions le bon Dieu le Tout Puissant de nous avoir donné santé, patience et courage pour mener à terme ce modeste travail ;

C'est pour nous autant de plaisir qu'un devoir d'exprimer notre gratitude et notre reconnaissance à Melle ALI AHMED S., Maître assistante au département de biologie à L'UMMTO pour ses précieuses orientations, son aide et ses conseils judicieux, son soutien, ses encouragements et son souci de mener à terme ce travail.

Nous remercions aussi très sincèrement les membres de jury la présidente M^{me}., SADOUDI D., Professeur au département de biologie à L'UMMTO d'avoir accepté de présider le jury et les examinatrices Mme LAMRI T., Maître assistante au département de biologie à L'UMMTO et Melle BACHI K., Doctorante à l'UMMTO pour avoir bien voulu accepté d'évaluer notre travail ;

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

Nous remercions tous le personnel du laboratoire de microbiologie, laboratoire commun et laboratoire de pédologie qui nous ont aidées à bien mener ce travail. Nous remercions aussi l'ingénieur du laboratoire de pétrochimie de l'université M'hamed Bougara de Boumerdes pour avoir accepté de nous faire l'analyse par spectroscopie infrarouge ;

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



Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents que dieu tout puissant me les garde.

A mon très cher frère Sofiane qui na jamais cessé de m'aider et de m'encourager ;

A mon très cher frère Hocine qui est mon exemple de réussite ;

A mes chères sœurs Kahina, Djamila et Sonia et leurs familles ;

A mes belles sœurs Bénédicte et Farida ;

A mes neveux et nièces : Nassim, Melissa, Enzo, dihia et selyan ;

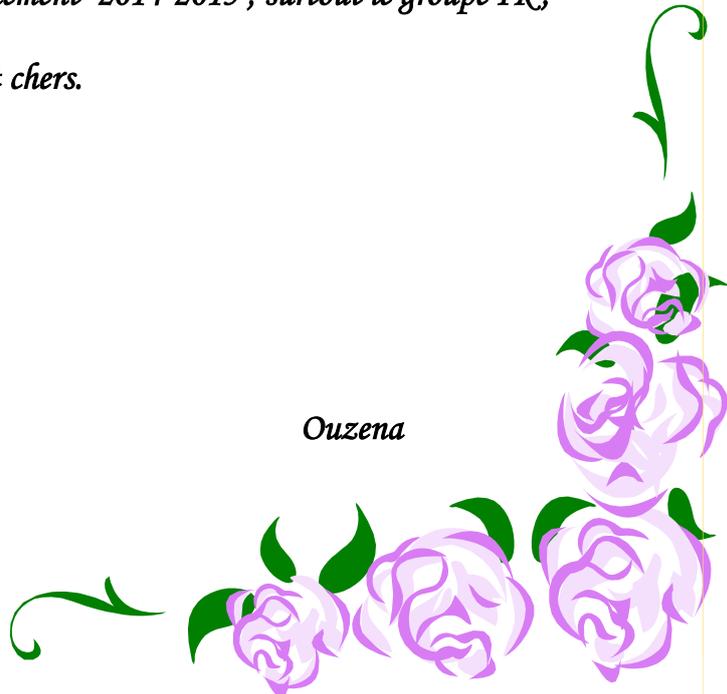
A tous mes oncles et tontes ainsi que cousins et cousines ;

A mon amie Samia avec qui j'ai partagé ce travail et toute sa famille ;

A toute la promotion protection de l'environnement 2014-2015 ; surtout le groupe IR;

A Tous ceux et celles que j'aime et que me sont chers.

Ouzena





Je dédie ce travail :

A mes très chers parents que dieu tout puissant me les garde.

A ma très chère grande mère ;

A mes chers frères : Omar, Akli, Ahcène, Takfarines, Djamel ;

A ma très chère sœur Hasna qui a été toujours a mes cotés ;

A mes oncles et mes cousines ;

A mon amie Ouzena avec qui j'ai partagé ce travail et toute sa famille ;

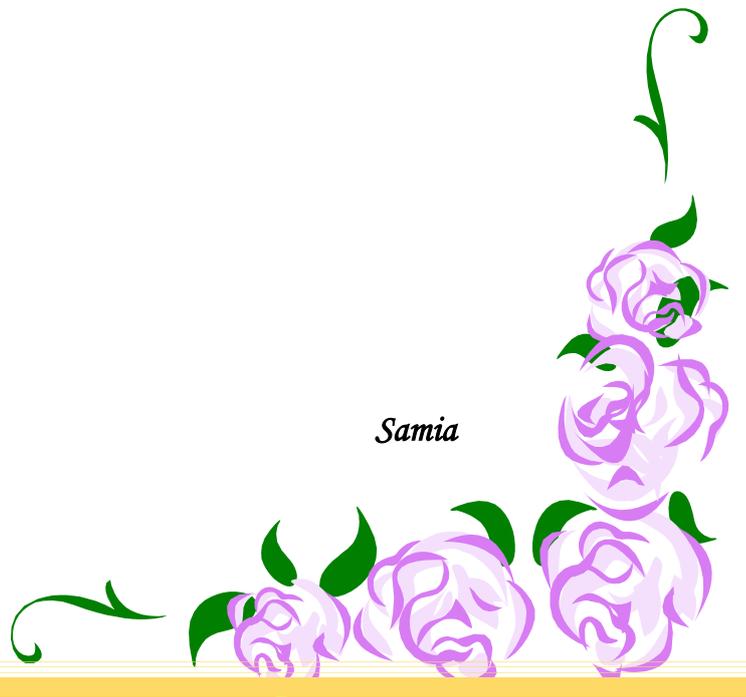
A mes chers amis ;

A tous le groupe Infrarouge de protection de l'environnement ;

A toute la promotion protection de l'environnement 2014 -2015

Et à tous ceux qui m'aiment.

Samia



Sommaire

<i>Introduction générale</i>	1
------------------------------------	---

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I. Généralités sur les hydrocarbures	3
I.1. Classification.....	3
I.2. Propriétés physico-chimiques des hydrocarbures	4
II. Pollution des sols par les hydrocarbures.....	5
II.1. Sources de pollution des sols par les hydrocarbures	6
II.2. Devenir des hydrocarbures dans le sol	6
II.3. Toxicité des hydrocarbures.....	7
III. Biodégradation des hydrocarbures	8
III.1. Facteurs influençant la biodégradation	8
IV. Méthodes de remédiation des sols pollués par les hydrocarbures.....	9
IV.1. Procédés physiques	9
IV.2. Procédés chimiques.....	10
IV.3. Procédés thermiques	10
IV.4. Procédés biologiques.....	10

Chapitre II : Matériel et méthodes

I. Présentation du site d'étude	15
I.1. Localisation et description de la station d'étude.....	15
I.2. Synthèse climatique	15
I.3. Les conditions climatiques pendant la période d'essai	17
II Matériel utilisé.....	18
II.1. Le Sol.....	18
II.2. La souche bactérienne.....	19
II.3. Les fertilisants.....	20
II.4. L'espèce végétale	20
III. Méthodes	20
III.1. Préparation de la suspension bactérienne.....	20
III.2. Calcul des doses des fertilisants	21
III.3. Dispositif expérimentale.....	21
III.4. Analyses chimiques.....	22
III.5. Réalisation des Bio-essais	22
IV. Analyse par spectroscopie infrarouge (FTIR).....	23

V. Méthodes d'analyse statistique.....	23
--	----

Chapitre III : Résultats et Discussion

I. Résultats des analyses chimiques.....	24
I.1. Potentiel d'hydrogène	24
I.2. Conductivité électrique	25
II. Résultats des bio-essais	26
II.1. Taux de germination	27
II.2. Longueur racinaire.....	27
III. Analyse par Spectroscopie Infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).....	27
IV. Discussion	28

<i>Conclusion générale</i>	30
---	----

Références bibliographiques

Annexes

Listes des figures

Figure 01 : Image satellitaire de la station service de Boukhalfa (Google Earth ,2015).....	15
Figure 02 : Climagramme d'Emberger de la station de Boukhalfa.....	16
Figure 03 : Diagramme Ombrothermique de Bagnouls et Gaussen pour la station de Boukhalfa (2003-2014)	17
Figure 04 : Températures moyennes de la région de Boukhalfa durant la période d'étude	18
Figure 05 : Schéma représentatif du dispositif expérimental réalisé sur le terrain	21
Figure 06 : pH de sol traité et non traité.....	24
Figure 07 : Conductivité électrique de sol traité et non traité	25
Figure 08 : Taux de germination des graines de blé dur dans le sol traité et non traité.....	26
Figure 09 : Résultats de la longueur racinaire du blé dur dans le sol traités et non traités	27
Figure 10 : Spectre FTIR des sols traités et non traités.....	28

Liste des tableaux

Tableau I : Etat physique de la molécule en fonction du nombre d'atomes de Carbone.....	4
Tableau II: Biodégradabilité des produits pétroliers	8
Tableau III : Les techniques de bioremédiation	11
Tableau IV : Quelques travaux de recherche sur les techniques biologiques de bioremédiation.....	13
Tableau : Les caractéristiques du sol utilisé.....	19
Tableau VI : Résultats du test de Student pour le pH du sol traité et non traité	24
Tableau VII : Résultats du test de Student pour la C.E (ms/cm) du sol traité et non traité.....	25
Tableau VIII : Résultats du test de Student pour le taux de germination dans du sol traité et non traité.....	26
Tableau IX : Résultats du test de Student pour la longueur racinaire du blé dur de sol traité est non traité	27

Introduction

La pollution par les hydrocarbures (pétrole, essence, gas-oil, huiles pour moteurs, etc.) est très importante. Elle intervient dans 80% des cas de pollution du sol, ce qui met en péril la qualité des sols, les ressources naturelles, végétation, microorganismes et la santé humaine.

A partir des années soixante dix, l'Algérie a été marquée par une industrie lourde et épanouissante, industrie qui repose essentiellement sur l'exploitation des hydrocarbures. Ce secteur constitue, jusqu'à présent, le pivot essentiel de l'économie nationale, une énergie qui, malgré les bienfaits qu'elle apporte aux citoyens et au développement du pays, continue à causer de sérieuses et préoccupantes menaces sur notre environnement qui ne cesse d'être pollué à l'échelle de tous les compartiments et essentiellement le sol.

D'après Koller (2009), la pollution des sols par les hydrocarbures est due à des rejets, volontaires ou non, de produits pétroliers. Elle relève à la fois de la pollution chimique et organique.

Les produits pétroliers, notamment issus des stations services, sont parmi les principales causes des pollutions du sol constatées suite à la corrosion des cuves de stockage ou des fuites de canalisations entre les citernes et les îlots de pompes (Colin, 2001).

D'après les données fournies par NAFTAL de Tizi Ouzou (2014), quatre vingt trois stations services fonctionnelles sont implantées dans la willaya, sept sont en cours de réalisation et quatorze en projet. La plupart de ces stations services se localisent sur des terres agricoles ce qui a par conséquent une pollution de ces dernières, étant donné que le sol est le support indispensable aux animaux, végétaux terrestres et à l'Homme, toute pollution du sol retentira sur la flore, la faune et sur l'Homme lui-même d'où la nécessité de rétablir cet équilibre perdu, grâce à plusieurs techniques (Lecomte, 1998).

Les techniques de remédiation des sols reposent sur des processus physico-chimiques ou biologiques. Il existe des techniques modifiant totalement l'intégrité des sols qui sont le plus souvent très coûteuses, c'est le cas de l'excavation, de la vitrification, de l'incinération, etc. (Ballerini et Vandecasteele, 1999).

La solution la moins coûteuse et la plus efficace est l'utilisation des microorganismes tels que les bactéries. En effet, 90% des bactéries présentes dans la nature sont utiles pour la biodépollution. La voie biologique est actuellement en plein essor et suscite de très nombreux travaux dans le monde (Duchaufour, 1995).

La bioremediation est une technique douce dont le principe repose sur la minéralisation complète des produits pétroliers qui ne génèrent aucun sous produit toxique ; contrairement aux procédés physicochimiques qui consistent souvent en un transfert de la pollution d'un milieu à un autre, ou encore à son confinement (Ballerini et Vandecasteele, 1999).

Plusieurs auteurs dont Chergui et Dahmani (2009), Amiri (2013), ainsi que Boukherchoufa et Bouzid (2014) ont réalisé des travaux sur la biodécontamination des sols pollués aux hydrocarbures et leurs résultats étaient assez satisfaisants au laboratoire, mais

Introduction

aucun travail n'a été réalisé sur le terrain, pour évaluer l'efficacité de ces techniques biologiques en conditions naturelles.

C'est dans ce contexte que s'insère notre travail dont l'objectif principal est d'évaluer l'efficacité du jumelage de deux techniques de bioremediation ; la bioaugmentation par *Pseudomonas aeruginosa* qui a été choisie raison des résultats satisfaisants qu'elle a donnée dans la biodégradation des hydrocarbures (Tortora et *al.*, 2003), et la biostimulation par l'ajout des fertilisants, dans le traitement d'un sol pollué par les carburants provenant d'une station service.

Le présent mémoire se subdivise en trois chapitres. Le premier représente une synthèse bibliographique sur des hydrocarbures, leur nature, leur devenir et leur impact sur l'environnement ainsi que les méthodes de décontamination des sols pollués par les hydrocarbures.

Le second chapitre est consacré à la présentation de la station d'étude, des méthodes adoptées et de l'ensemble des matériels utilisés dans ce travail.

Le troisième chapitre consiste en la présentation des résultats obtenus concernant les paramètres biologiques et chimiques étudiés, ainsi que leur discussion. Enfin ce travail se termine par une conclusion générale et quelques perspectives.

I. Généralités sur les hydrocarbures :

Les hydrocarbures sont des molécules composées d'atomes de carbone (C) et d'hydrogène (H) dont la formule brute est C_nH_m (Fattal, 2008). Les hydrocarbures sont des produits chimiques très importants pour l'humanité de part de leur abondance ainsi que leur potentielle en énergie (Gaudu, 2014).

I.1. Classification:

Le carbone et l'hydrogène peuvent former des molécules saturées ou insaturées, linéaires ou cycliques. Parmi les molécules cycliques, certaines d'entre elles, grâce à un type particulier d'insaturation ont des propriétés particulières qui les font classer à part.

Selon Soltani (2004), les composés pétroliers peuvent être classés en quatre familles principales qui sont présentés en proportion variable selon l'origine; 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 %).

I.1.1 Les hydrocarbures saturés :

A. Alcanes :

Hydrocarbures légers, aliphatiques, saturés leurs formule générale C_nH_{2n+2} (Arnaud, 1983).

➤ Alcanes linéaires : (*n*-alcanes) :

La longueur de la chaîne varie de 7 à 40 atomes de carbone et constituent une des classes les plus abondantes des hydrocarbures totaux du pétrole brut.

➤ Alcanes ramifiés :

Les plus abondants sont les *iso*-alcanes (groupement méthyle en position 2), les autres composés ramifiés antéiso (groupement méthyle en position 3) ou polyramifiés tels que les isoprénoïdes (exemple: pristane, phytane) sont beaucoup moins nombreux. Ces composés se trouvent dans le pétrole brut dans des proportions sensiblement égales à celles des *n*-alcanes (Soltani, 2004). Ils représentent 30% du pétrole brut (Fattal, 2008).

➤ Cycloalcanes (cycloparaffine) :

Ils renferment des composés cycliques (à 5 ou 6 atomes de carbone) saturés (Soltani, 2004). Les chaînes hydrocarbonées peuvent se fermer sur elles-mêmes en formant des cycles. Leurs formule générale est (CH_{2n}) ou C_nH_{2n} (Arnaud, 1983).

I.1.2 Les hydrocarbures insaturés :

Selon Arnaud (1983), les hydrocarbures insaturés sont classés en trois catégories :

A. Alcènes :

Les alcènes présentent un déficit en hydrogène ; ils ne sont pas saturés. Les alcènes sont des hydrocarbures présentant une double liaison $C = C$ dans leur squelette carboné. Leur formule générale est donc C_nH_{2n} .

B. Cyclènes :

Il existe peu de représentants de ce type d'hydrocarbures, possédant une double liaison $C=C$. Leur formule générale est C_nH_{2n-2} .

C. Alcynes :

Ces hydrocarbures sont caractérisés par la présence dans leur molécule d'une triple liaison $C\equiv C$. La formule générale est C_nH_{2n-2} .

I.1.3. Les hydrocarbures aromatiques :

Plusieurs familles d'hydrocarbures aromatiques et polyaromatiques dont le nombre de noyaux varie de 2 à 6 sont présentes dans les pétroles bruts. Ces composés sont dominés par des composés mono-, di- et tri-aromatiques. En général, les hydrocarbures aromatiques sont moins abondants que les alcanes, et ne représentent que 10 à 30 % des hydrocarbures totaux d'un brut pétrolier (Soltani, 2004).

I.1.4. Les asphaltènes :

Ce sont des composés stables à très haut poids moléculaire (Fattal, 2008), leurs structure est mal connue du fait de leur composition chimique complexe à base de cycles aromatiques condensés et des métaux lourds à l'état de traces (Soltani, 2004)

I.1.5. Les composés polaires :

Cette fraction correspond à des molécules hétérocycliques, telles que:

- ❖ Des composés oxygénés: phénols, acides carboxyliques, alcools, aldéhydes,...
- ❖ Des composés soufrés: mercaptans, sulfures, disulfures,...
- ❖ Des composés azotés: pyridines, quinoléines,...

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

I.2. Propriétés physico-chimiques des hydrocarbures :

Selon Gomez (2010), les hydrocarbures pétroliers se présentent à l'état naturel et dans les conditions normales sous les formes physiques de la matière (tableau I)

Tableau I : Etat physique de la molécule en fonction du nombre d'atome de carbone (Gomez, 2010).

Etat physique	Nombre d'atome de carbone
Gaz	C1 à C4
Liquide peu volatile	C5 à C8
Liquide volatile	C9 à C16
Solides	> C16

Selon Lemièrre (2008), les propriétés physico-chimiques des hydrocarbures varient avec le nombre d'atomes de carbone des molécules qui constituent la fraction d'hydrocarbure ; une augmentation du nombre de carbone se traduit par : une diminution de la solubilité, de la biodégradabilité, et la volatilité, une augmentation de la densité, de l'hydrophobie, de la stabilité et de la viscosité.

❖ Densité :

La densité d'un hydrocarbure contrôle fortement sa vitesse d'infiltration dans le sol, elle varie avec la longueur de chaînes carbonées, la plupart des hydrocarbures (C5 à C26)

s'accumuleront sélectivement en surface de la nappe phréatique (densité <1), alors que les plus lourds peuvent migrer sous certaines conditions (densité>1) (Lemière et *al.*, 2008).

❖ **Viscosité :**

La viscosité dynamique d'un fluide influe son aptitude à l'infiltration et la circulation dans le sous sol, plus la viscosité est élevée, plus le déplacement des hydrocarbures sera lent (Lemière et *al.*, 2008).

❖ **Solubilité :**

La solubilité indique la tendance d'une substance à la mobilisation par lessivage lors d'épisode pluvieuse ou par ruissellement ou inondation (Colin, 2000).

❖ **Volatilité :**

Elle conditionne la répartition du produit entre une phase gazeuse et une phase liquide (Lemière et *al.*, 2008).

❖ **Biodégradation intrinsèque :**

Elle traduit le comportement de la substance vis-à-vis des activités enzymatiques du sol. On notera à ce sujet que cette notion peut être évolutive dans la mesure où l'observation sur le terrain à montré que des produits organiques de synthèse, considérés comme xénobiotiques et donc récalcitrants à toute dégradation, finissaient, parfois après des décennies d'usage industriel, à induire une adaptation de la microflore naturelle et commençaient à subir des biodégradations partielles puis totales (colin, 2000).

❖ **Point d'écoulement :**

Est la plus basse température à laquelle le pétrole continue de couler. La majorité des hydrocarbures ont un point d'écoulement inférieur à 0°C (Fattal, 2008).

❖ **Point d'éclair :**

Le point éclair est la plus basse température à laquelle les fractions d'hydrocarbures s'enflamment lorsqu'elles sont soumises à une étincelle (Fattal, 2008).

II. Pollution des sols par les hydrocarbures :

D'après Colin (2000), Parmi les polluants possibles du sol figurent les polluants organiques susceptibles de dégradation, transformation sous l'effet de plusieurs phénomènes physico-chimiques, biologiques ainsi que leurs effets spécifiques vis-à-vis de l'Homme et de l'environnement c'est à cette catégorie qu'appartiennent les hydrocarbures. Selon Battaz (2009), les hydrocarbures peuvent être libérés dans l'environnement par des phénomènes naturels (feux de forêts, éruptions volcaniques et fuite de réservoirs naturels).toutefois, on considère que les activités anthropiques sont une source importante de rejets d'hydrocarbures dans l'environnement provenant :

- Industrie chimique de base et industrie mécanique.
- Industrie pétrolière et du gaz naturel (extraction du pétrole, raffinage, pétrochimie).

La pollution du sol par les hydrocarbures peut se présenter sous deux formes :

- ❖ **Pollution ponctuelle :** caractérisée par la présence locale d'une forte concentration d'hydrocarbures en raison de l'utilisation de ces produits. Ce type représente environ 70% des cas rencontrés. En effet les sites de production, les circuits de distribution (stations services) sont autant de sources ponctuelles de contamination des sols pas les

hydrocarbures a cause de versement des hydrocarbures lors du remplissage des cuves de stockage, de fuite dans les réservoirs ou dans les canalisations entre les citernes et les ilots de pompage. (colin, 2000).

- ❖ **Pollution diffuse** : issu de la dispersion puis l'accumulation des hydrocarbures sur d'importantes surfaces, c'est le cas des HAP provenant des dépôts atmosphériques (Girard et *al*, 2009).

II.1 Sources de pollution des sols par les hydrocarbures

La pollution des sols par les hydrocarbures peut être accidentelle (provient des déversements ponctuels dans le temps (les hydrocarbures qui engendrent une dégradation limitée du milieu), ou bien chronique correspondant à des apports en hydrocarbures de longues périodes ; ont souvent pour origine des fuites de conduites ou de cuves de stockage (Colin, 2000).

II.2 Devenir des hydrocarbures dans le sol :

Les informations relatives au comportement et devenir des hydrocarbures dans l'environnement sont nécessaires pour identifier les milieux potentiellement pollués et prévoir l'impact sur la santé. Après avoir été répondu dans le sol c'est par des processus physiques, chimiques et biologiques qu'un hydrocarbure va pouvoir être déplacé, transformer, ou éliminé (Soltani, 2004) ; et ces derniers peuvent être classés en trois classes :

- Mécanismes avec conservation de la masse : dispersion, diffusion, solubilisation, volatilisation.
- Mécanismes destructifs : dégradation physique ou chimique
- Les autres mécanismes ; dit dilution prennent en compte les réactions de phénomènes divers (Gomez, 2010).

Plusieurs auteurs ont cité quelques phénomènes que subissent les hydrocarbures dans le sol :

- ❖ **Volatilisation** : est un phénomène qui touche les fractions les plus faibles des hydrocarbures et dépend des conditions atmosphériques (vent, température etc.) (Soltani, 2004)
- ❖ **Solubilisation** : détermine la tendance d'un hydrocarbure à se dissoudre dans l'eau. La solubilisation dans l'eau augmente avec la polarité des composés (Fattal, 2008)
- ❖ **Biodégradation** : la biodégradation des hydrocarbures se fait dans les milieux aérobies et anaérobies grâce à des microorganismes ; principalement les bactéries et les champignons qui puisent dans les hydrocarbures pour leur alimentation (Fattal, 2008).
- ❖ **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 partagent entre les interfaces (cas de la dissolution) (Huang *et al.*, 2003 in Gabet, 2004).

Selon Gomez (2010), le cheminement des hydrocarbures dans le sol dépend de plusieurs paramètres tels que la teneur en eau du milieu, la végétation, la température, la texture du sol, ainsi que la viscosité et la complexité du mélange. On trouve que les fractions les plus légères se déplacent plus rapidement que les composés les plus lourds et les plus visqueux qui restent liés à la matrice du sol (Colin, 2000). Pendant la migration des hydrocarbures

dans le sol, une partie sera adsorbée par les particules du sol pour former une source continue de contamination, et certains composés peuvent se séparer et migrer vers l'air du sol ou vers les eaux souterraines où ils s'étalent pour former une galette de faible épaisseur (quelques centimètres). Cette dernière peut se déformer et s'allonger suivant la direction de l'écoulement des eaux souterraines (Bergue, 1986).

II.3. Toxicité des hydrocarbures :

Les produits pétroliers rejetés dans l'environnement ont des répercussions sur les êtres humains, animaux et les plantes. Les conséquences de la contamination dépendent des organismes eux-mêmes et de la structure chimique des hydrocarbures.

❖ Effet sur la santé humaine :

L'effet de la pollution des sols par les hydrocarbures sur l'Homme est considéré comme limité et négligeable en absence d'un contact prolongé (Fattal, 2008), En cas de contact direct avec l'homme ou lors de leur transfert dans la chaîne alimentaire par le phénomène de bioaccumulation, les hydrocarbures peuvent se caractériser par des réactions et des perturbations du métabolisme humain, endommage le système nerveux, sanguin, le foie et les reins (Lambot, 2010). Les HAP sont les plus toxiques en raison de leur potentiel cancérigène et mutagène et 16 d'entre eux (annexe 01) sont classés comme substances polluantes prioritaires par l'USEPA.

❖ Effet sur les propriétés physique du sol:

L'effet des hydrocarbures sur les propriétés physiques du sol ont été mis en évidence par plusieurs auteurs

Diagne et Talhi (1999) ont rapporté que la présence des hydrocarbures dans le sol modifie légèrement sa structure.

Amir *et al.* (1987) ont montré que les hydrocarbures enrobent les particules minérales en assurent leurs dispersion.

Mettaur *et al.* (1987) cités par Fezzani et khider (2007) soutiennent quant à eux l'idée que la présence des hydrocarbures dans le sol améliore sa stabilité structurale, accroît sa rétention en eau et réduit sa mouillabilité.

❖ Effets sur les propriétés chimiques du sol :

Selon (Chaineau *et al.*, 1997), les effets des hydrocarbures sur les propriétés chimiques du sol :

- ✓ Une augmentation de la concentration du sol en éléments traces tel que manganèse (Mn), le zinc (Zn), et le fer (Fe).
- ✓ Une diminution du pH du sol, et de sa teneur en potassium (K), en calcium (Ca) et en phosphore (P).
- ✓ Une augmentation de la conductivité électrique.

❖ Effets sur les propriétés biologiques du sol :

Selon Jambu (1991) cité par Duchaufour (2001), les hydrocarbures s'ils sont incorporés au sol en quantité limitée (moins de 2% de la couche 2 à 15 cm), n'exercent pas

d'action dépressive vis-à-vis les microorganismes du sol mais ils exercent une action nocive indirect, cependant (Amir et *al.* (1987), a 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.

❖ Effets sur la flore :

Des effets sur les plantes sont aussi signalés, parmi lesquels des dommages des parties aériennes, et l'altération dans la régulation de leur croissance, une diminution du taux d'oxygène dans le sol et le phénomène de bioaccumulation.

Il a été signalé que les hydrocarbures ont un effet toxique sur la germination des graines de certaines espèces telles que (maïs et le blé) (Bergue, 1986)

III. Biodégradation des hydrocarbures:

L'utilisation des méthodes biologiques dans la dépollution des zones contaminées par les hydrocarbures se basant sur le phénomène de la biodégradation par les microorganismes appelés hydrocarbonoclastes a été mise en évidence dès 1946 par ZoBell. Depuis cette date le nombre d'espèces bactériennes identifiées possédant cette propriété (annexe 02) n'a cessé d'augmenter (SOLTANI, 2004).

Selon Lecomte (1998), la biodégradation se définit : comme l'ensemble des mécanismes de transformation d'un contaminant en différents sous produits par l'action des microorganismes. Ce phénomène peut s'effectuer dans n'importe quel milieu (sol, eau) ainsi que dans différentes phases du polluant (liquide, solide, gazeuse).

La biodégradation représente le mécanisme le plus important que subissent les hydrocarbures dans le sol. Le pourcentage de biodégradation des produits pétrolier est exprimé dans le tableau qui suit :

Tableau II: Biodégradabilité des produits pétroliers (Fattal, 2008).

Produit pétroliers	Biodégradabilité
- Essence	- 90-100%
- Kérozène	- 80-100%
- Gazoil	- 60-85%
- Fioul lourds	- 10-20%
- Asphaltes et bitumes	- Négligeable
- Pétrole brut	- 30-70%

III.1. Facteurs influençant la biodégradation

La dégradation des composés organiques dans un sol repose sur l'activité microbienne. Selon Girard et *al.* (2009), la biodégradation des hydrocarbures est influencée par plusieurs facteurs dont les principaux sont les suivants : la nature du sol, la structure, la

concentration et les caractéristiques physico- chimiques des polluants ainsi que les paramètres environnementaux.

Les micro-organismes exigent pour leur croissance et leur entretien des nutriments qui doivent se trouver en quantités suffisantes dans les milieux de culture.

❖ **Structure et nature du sol :**

La taille des pores et les propriétés de l'eau et de l'air dans ces pores sont des facteurs spécifiques de chaque sol. Les particules élémentaires du sol sont généralement liées entre elles par les forces électrostatiques formant des agrégats plus ou moins volumineux groupés en unités structurales du sol. En effet, les agrégats tendent à diminuer l'activité microbienne dans le sol de manière indirecte. Par un ralentissement de la diffusion de l'oxygène et l'apport des nutriments à l'intérieur de l'unité structurale et par la protection mécanique des substrats qu'elle renferme (Girard et al, 2009).

❖ **La composition et la nature du polluant :**

La biodégradabilité des hydrocarbures est très fortement dépendante de leur composition. À une température déterminée, les fractions légères sont plus susceptibles d'être biodégradées que les fractions lourdes (SOLTANI, 2004).

❖ **Facteurs environnementaux :**

Le pH ne semble pas jouer un rôle particulièrement important. Des valeurs extrêmes de pH, pourraient avoir une influence négative sur la capacité des microorganismes à dégrader les hydrocarbures. La croissance des bactéries hétérotrophes et des champignons étant favorisée par un pH proche de la neutralité. En revanche la température a une grande influence, la biodégradation maximale se situe aux alentours de 35°C. Au dessous de 10°, elle ne se produit plus (Fattal, 2008).

Selon Soltani (2004), l'étape initiale du catabolisme des hydrocarbures aliphatiques, cycliques et aromatiques par les bactéries et les champignons inclut l'oxydation de ces substrats par l'intermédiaire d'hydroxylases et d'oxygénases, pour lesquelles l'oxygène moléculaire est indispensable.

La présence de nutriments inorganiques (N, P) et l'humidité du sol sont indispensables pour une meilleure biodégradation (Girard et al, 2009).

❖ **Facteur microbiologiques :**

Les hydrocarbures à faibles poids moléculaires sont considérés comme des composés toxiques pour les microorganismes à cause de leur grande solubilité et par conséquent leur concentration très élevée dans les phases aqueuses (Colin, 2000). L'action toxique du polluant peut provoquer un ralentissement de l'activité de la microflore du sol (Girard et al, 2009).

IV. Méthodes de remédiation des sols pollués par les hydrocarbures :

La décontamination est un ensemble de procédés qui permettent d'épurer ou d'isoler un milieu ayant été exposé à une pollution chronique ou récurrente qui l'a rendu inutilisable pour les diverses activités humaines (Koller, 2009).

Les techniques de dépollution du sol sont spécifiques à la situation rencontrée et font appel à divers procédés :

IV.1. Procédés physiques :

Les traitements physiques constituent la majorité des techniques mises en œuvre actuellement ; ils consistent à séparer et concentrer les polluants vers des points de

récupération en se servant pour leurs transport des fluides présents ou injectés dans le sol (eau, gaz) (Colin ,2000).

IV.2. Procédés chimiques :

Les traitements chimiques reposent sur des réactions chimiques entre les polluants dans le sol (oxydation-réduction, adsorption-désorption, ajustement du pH et échange d'ions), cette méthode de traitement peut être classée en deux catégories, selon qu'elle ait pour objet d'extraire les contaminants ou plutôt de les détruire ou les altérés (Koller, 2009).

IV.3. Procédés thermiques :

Ils représentent une option majeure dans les filières de décontamination (Lecomte, 1995). Ils sont essentiellement employés en ex-situ pour la décontamination des sols pollués par les matières organiques facilement oxydables et largement convertibles en CO₂ et H₂O. Les plus adaptées sont : la désorption thermique, L'incinération (Koller, 2009).

IV.4. Procédés biologiques :

Les procédés biologiques permettent de dégrader les polluants par l'action de microorganismes (bactéries, champignon, plantes ...) et peuvent être utilisés seuls ou en complément d'une autre technique. La décontamination par voie biologique consiste donc à stimuler un phénomène naturel pour en augmenter le rendement afin de détruire le polluant organique qui sera utilisé comme source de carbone (Colin, 2000).

❖ La phytoremédiation :

Selon Girard et *al.* (2009), les techniques de phytoremédiation exploitent les propriétés de certaines espèces végétales (strates herbacées, plantes, arbustes, arbres, algues) à interagir avec des composés chimiques, organiques ou minéraux pour dépolluer un terrain contaminé *in situ*. Le plus souvent, ce sont les microorganismes de la rhizosphère qui dégradent les composés organiques. La phytoremédiation peut utiliser cinq catégories de procédés pour dépolluer un sol contaminé : phytoextraction, phytostabilisation, phytodégradation / phytotransformation, phytovolatilisation / phytostimulation, rhizodégradation.

❖ La bioremédiation par les micro-organismes :

La bioremédiation est une méthode basée sur les propriétés dépolluantes que possèdent de nombreux organismes, généralement des bactéries, des micros algues ou des champignons, dégradant les polluants en composés inertes, comme l'eau et le gaz carbonique. Ces organismes peuvent être déjà présents dans la zone polluée (indigènes) ou ajoutés au milieu (exogène), ou encore être prélevés sur le site contaminé, cultivés au laboratoire puis réintroduits dans le sol. La bioremédiation se déroule généralement en conditions d'aérobies, toutefois l'application des systèmes de bioremediation en condition d'anaérobie permet de dégrader un certain nombre de molécules récalcitrantes (Girard, 2009).

Les méthodes de bioremediation peuvent être subdivisées en huit catégories selon le principe biologique ou le mode de dépollution mis en œuvre qui sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau III : Les techniques de bioremediation (Bocard, 2006).

BIOREMEDIATION		
Principe	Utilisation de microorganismes, généralement des bactéries, pour réduire la pollution d'un site : identification et caractérisation biochimique des microorganismes susceptibles de réaliser la transformation des polluants présents sur le site.	
Application	Traitement <i>in situ</i> ou <i>hors site</i> des sols, boues, sédiments, effluents liquides	
Polluant	Métaux, solvants, hydrocarbures, explosifs, produits phytosanitaires, etc.	
Techniques	biodégradation	Utilisation de la capacité de certains micro-organismes à transformer le polluant en substrat (source de carbone, d'énergie) ; la biodégradation totale d'un composé organique s'appelle la minéralisation.
	bioimmobilisation	Utilisation de la capacité de certains micro-organismes (essentiellement des bactéries) à immobiliser un / plusieurs composants présents à l'état soluble.
	biolixiviation	Solubilisation par les microorganismes et entraînement dans la phase aqueuse de polluants fixés ou piégés dans le sol.
	injection d'eau oxygénée	Injection d'eau oxygénée (H ₂ O ₂) et éventuellement de nutriments dans la zone insaturée via des galeries construites, puis récupération de l'eau dans des puits de pompage
	biorestauration	Ajout de nutriments (azote/phosphore) pour stimuler la croissance des microorganismes indigènes et favoriser la dégradation des polluants.

	bioaugmentation	Introduction dans le sol contaminé de microorganismes allochtones capables de traiter les polluants présents
	biostimulation	Réensemencement de populations prélevées sur le site, dont la croissance a été stimulée en laboratoire ou dans des bioréacteurs installés sur site

✓ **Biostimulation :**

Elle Consiste en l'ajout de composés spécifiques pour optimiser l'activité des microorganismes indigènes du sol responsables de la biodégradation des contaminants, les conditions de croissance sont obtenues entre autre par le contrôle de la T°, du pH, et même par l'ajout de nutriment spécifiques, parmi les principaux nutriments, on peut citer l'azote, le phosphore, et les éléments traces tels que le calcium, le sodium et le magnésium (Lecomte, 1998).

Il est envisageable d'apporter un complément pour favoriser l'activité bactérienne, et pour cela un milieu minérale est réalisé (solution aqueuse contenant des nutriments précis) (Lemière et al, 2009).

Selon Gouvernement canada in Belley-Vesina (2014), le procédé de biostimulation le plus retrouvé pour décontaminer les sols est la bioventilation (injection d'une source d'O₂ dans la zone non saturée sol pour assurer la dégradation aérobie, en minimisant la volatilisation des hydrocarbures.

✓ **Bioaugmentation :**

Le principe consiste à apporter dans les sols une quantité plus importante de microorganismes pour accélérer le phénomène de biodégradation. Ce sont des microorganismes exogènes qui sont isolés, cultivés, et réinjectés en plus grande quantité, afin d'accélérer le rendement de la biodégradation. Des consortiums bactériens exogènes dont la capacité de dégradation du polluant est connue sont utilisés (ADEM, 2009).

L'application de la bioaugmentation est essentielle dans le cas où aucun micro-organisme capable de dégrader les composés cibles n'est présent dans la communauté naturelle ou si l'activité de la communauté naturelle est inhibée. La sélection des souches est fondée sur le principe que certains micro-organismes sont mieux adaptés à certaines activités (cataboliques) et certains environnements que d'autre (Koller, 2009).

IV.4.2.3. Quelques travaux de recherche sur les techniques biologiques de bioremediation :

Les travaux de recherche sont encor au stade expérimental. La synthèse de quelques travaux qui ont été présenté dans les dernières années est présentée dans le tableau IV.

Tableau IV : quelques travaux de recherche sur les techniques biologiques de bioremediation :

Auteurs	Etude	Résultats
Kahil et Issad (2014)	Essai de réhabilitation d'un sol polluée aux hydrocarbures par biostimulation.	Une diminution significatif de la quantité d'hydrocarbures contenus dans le sol traité par l'azote et le phosphore ce qui signifie que les populations bactérienne sont <i>aptes</i> à dégrader les polluants.
Rafik et <i>al.</i> (2013)	Effect of nutrient source on indigenous biodegradation of diesel fuel contaminated soil.	Cette étude montre l'efficacité de l'addition des aliments (azote et le phosphore) sur le déplacement de TPH. Amélioration de processus de biodégradation à un pourcentage de 30%.
Amiri (2013)	essaie de décontamination de deux sols de texture différents par bioaugmentation.	Effet de la bioaugmentation par <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sur la dépollution de deux sols contaminés aux hydrocarbures
Sari et <i>al.</i> (2011)	Amélioration de la Bioremediation du sol diesel-carburant-diesel-fuel-contaminated dans un climat boréal : comparaison de biostimulation et de bioaugmentation.	La biostimulation par l'intermédiaire de l'optimisation de l'azote et de fourniture d'oxygène à améliore de manière significatif la bioremédiation du sol polluée par une dégradation rapide des hydrocarbures.

Chergui et Dahmani (2009)	Essai de décontamination d'un sol pollué naturellement par les hydrocarbures par deux techniques biologiques (bioaugmentation et biostimulation)	Décontamination d'un sol pollué par les hydrocarbures par la technique de bioaugmentation ; associé à la technique de biostimulation en présence de biosurfactants (rhamnolipides).
Yu et al.(2005)	Naturel attenuation , biostimulation and bioaugmentation on biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons(PAHs) in mangrove sediments	Comparaison de la biodégradabilité d'un mélange de PAHs par différentes techniques de bioremediation.

Les travaux cités sur les techniques de bioremediation ont été réalisés au laboratoire et ils ont donné des résultats assez satisfaisants, mais il reste à savoir si ces techniques ont aussi une efficacité suffisante dans le milieu naturel.

L'étude expérimentale a été menée au niveau d'une station service sur un sol qui subit une pollution chronique par les hydrocarbures à cause des rejets continus d'essence super et de gasoil suite au trop plein des réservoirs souterrains.

I. Présentation du site d'étude :

I.1. Localisation et description de la station d'étude :

La station service de Boukhalfa se situe à 5 Km à l'ouest du chef lieu de la commune Tizi Ouzou, sur la route nationale 12, reliant Alger à Tizi Ouzou. La station a été créée en Février 2002. Elle s'étale sur une surface d'un Hectare et elle appartient à un réseau de point de vente agréé par NAFTAL. Cette station est dotée d'une capacité de stockage qui est respectivement de 40 m³ pour l'essence et de 400 m³ pour le gasoil (NAFTAL, 2015) .

Comme l'indique l'image satellitaire (figure 01), la station service se situe à proximité de terres agricoles traversées par un cours d'eau, ce qui représente un risque pour les consommateurs.



Figure 01 : Image satellitaire de la station service de Boukhalfa (Google Earth ,2015)

I.2. Synthèse climatique :

Pour déterminer les caractéristiques climatiques de la région d'étude, l'ONM (Office National de météorologie) de Tizi Ouzou nous a fourni des données climatiques pour la période (2003-2015) afin de caractériser le climat de la station (Boukhalfa) (annexe 03).

❖ Détermination du bioclimat de la station d'étude :

Pour caractériser un bioclimat, Emberger (1952) a établi un quotient représenté par le rapport entre les précipitations mensuelles annuelles et les températures moyennes. Le quotient est exprimé selon la formule de Stewart(1996) : $Q=3.43 (P /M-m)$

Q : le quotient pluviométrique d’Emberger

P : moyenne des précipitations des années prises en considération, exprimé en mm.

M : moyenne des températures maxima du mois le plus chaud, exprimé en °C.

m : moyennes des températures minima du mois le plus froid, exprimé en °C.

En nous référant au Climagramme d’EMBERGER, la station d’étude est classée dans l’étage bioclimatique **Subhumide** à variante **tempérée** (figure 02).

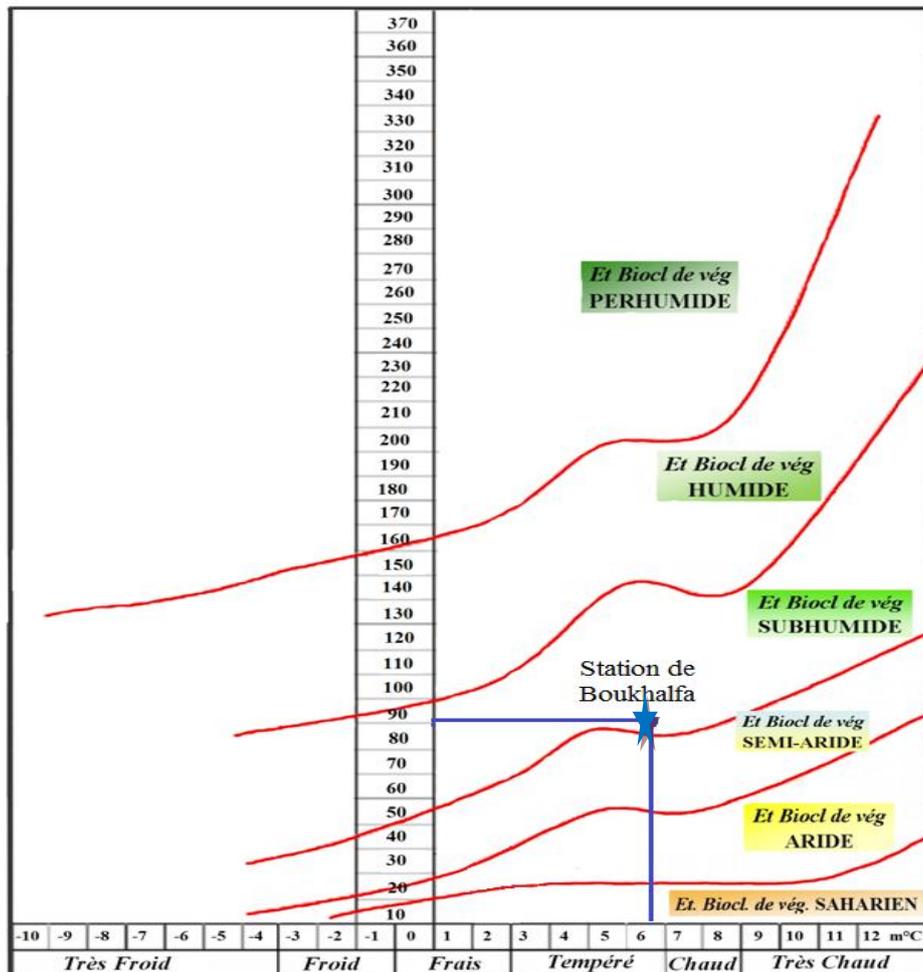


Figure 02 : Climagramme d’EMBERGER de la station de Boukhalfa

❖ **Diagramme Ombrothémique de Bagnouls et Gaussen :**

Le diagramme Ombrothémique de Bagnouls et Gaussen (1953) permet la mise en évidence des périodes sèches (Figure 2) au cours d’une année hydrologique selon la relation : $P < 2T$.

P : précipitation moyennes mensuelles en mm,

T : Températures moyennes mensuelles en C°.

A partir des données climatiques de la période (2003-2014) (voire annexe 03), nous pouvons tracer le diagramme Ombrothémique, qui est un graphique sur lequel la durée et l’intensité de la période sèche se trouvent matérialisées par la surface de croisement, ou la courbe thermique passe au dessus de la courbe ombrique (Figure 03).

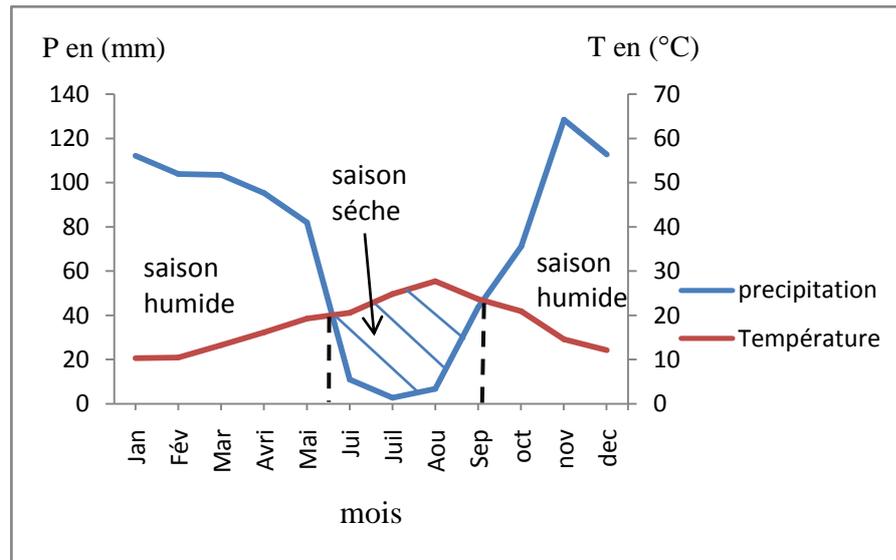


Figure 3 : Diagramme Ombrothermique de Bagnouls et Gausson pour la station de Boukhalfa. (2003-2014)

Ce diagramme permet de distinguer globalement au sein d'une même année, deux périodes :

- Une période sèche, qui s'étale du début du mois de Juin au début du mois de Septembre
- Une période humide qui s'étale du début du moi de Septembre au début du mois du Mai.

I.3. Les conditions climatiques pendant la période d'essai :

Le climat est un facteur qui influence d'une manière directe sur l'atténuation ou l'augmentation d'une pollution et sur la disponibilité des eaux. Les températures, et précipitations sont considérés comme l'un des paramètres les plus importants qui ont une influence directe /ou indirecte sur les caractéristiques physiques, chimiques et biologiques des sols ; il joue également un rôle important dans la répartition des êtres vivants.

❖ Température :

La Température est un facteur très important en écologie, car elle intervient dans l'étude hydro-climatique d'une région (Lakroun, 1995). Elle contrôle aussi l'ensemble des différents phénomènes métaboliques qui conditionnent la répartition des être vivants dans la biosphère (Ramade, 1984). Les variations et les changements de température ont une influence sur les propriétés d'un sol et principalement sur le comportement et la biodiversité des microorganismes du sol (Davet, 1996).

La figure 04 montre que, les températures moyennes de la région de Boukhalfa durant la période d'essai varient entre 9,8 et 11°C.

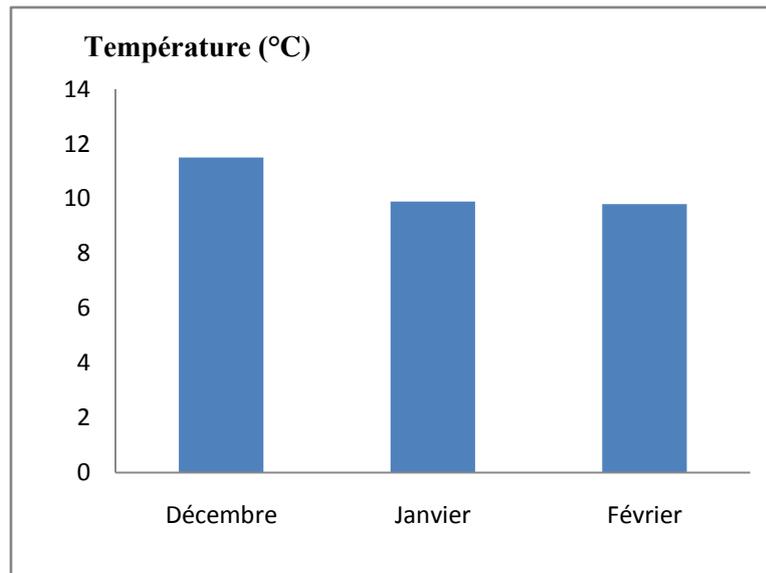


Figure 04 : Températures moyennes de la région de Boukhalfa durant la période de l'étude.

❖ **Pluviométrie :**

Les précipitations sont un facteur prépondérant pour la détermination d'un climat la vie sur terre est commandée par la présence d'eau. La quantité des précipitations sont respectivement 272,4 mm et 200,9mm pour les mois de Décembre et Janvier.

II. Matériels utilisés :

II.1 Le sol :

La parcelle choisie pour l'étude expérimentale se localise au niveau d'une station service située à Boukhalfa. Elle a porté sur la couche superficielle de sol (0-10cm) qui est caractérisée par la présence de deux contaminants ; l'essence (Contient généralement environ 230 Hydrocarbures différents, dont le nombre d'atomes de carbone se situe entre 4 et 10. Les essences sont composés de 5 classes principales d'hydrocarbures : les n-alcanes, les iso-alcanes, les cycloalcanes, les alcènes et les aromatiques. Les aromatiques sont majoritairement présents) et le gasoil (Contient 2000 à 4000 hydrocarbures différents, dont le nombre d'atomes de carbone varie entre 11 et 25. Il est plus lourd que l'essence et composé de produits moins volatils. Il ne contient pas d'alcènes, majoritairement constitué de n-alcanes et cycloalcanes) (Saada et *al.*, 2005).

❖ **Caractéristiques du sol :**

D'après les analyses effectuées au laboratoire de pédologie, le sol de Boukhalfa présente les caractéristiques suivantes :

Tableau V : les caractéristiques du sol utilisé, Kahil et Issad (2014).

Caractéristiques chimiques du sol	Résultats
PH	7,2
Carbone organique	8,84%
Azote total	0,3%
Phosphore assimilable (P ₂ O ₅)	5,46 ppm (mg P ₂ SO ₅ /kg de sol)
Salinité	0,74 mmhos/cm
Texture	Limon-argileuse

D'après les normes d'interprétation qui figurent dans le Mémento de l'agronome (1993) (annexe 04) le sol utilisé dans cet essai est de texture limono-argileuse, caractérisé par une forte capacité de rétention d'eau, de pH neutre. Il est non salé, riche en carbone organique et faiblement pourvu en azote et en phosphore.

II.2. La souche bactérienne :

La souche utilisée pour le traitement biologique du sol contaminé est une souche de *Pseudomonas aeruginosa*. C'est un bacille à Gram négatif, non sporulant et de forme droite ou légèrement courbée. Bien que cette bactérie, ayant un métabolisme oxydatif, soit aérobie stricte, plusieurs isolats ont montré une capacité à accroître 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 sa croissance se situe entre 30 et 37°C (Rym, 2009).

Cette bactérie à une gamme d'activité très diverse, car elle est extrêmement souple du point de vue métabolique, physiologique et génétique, elle s'engage dans beaucoup d'activités importantes telle que la dégradation et la réutilisation de composés organiques biogéniques et xénobiotiques. Elle est aussi renommée pour sa capacité à exploiter les produits organiques toxiques comme les hydrocarbures aliphatiques et aromatiques (Kenneth, 2000 in Amiri 2012). Le choix de cette souche bactérienne s'est fait parce qu'elle est parmi les espèces les plus importantes qui dégradent les hydrocarbures. En effet, plusieurs chercheurs l'ont isolé à partir des sols contaminés par les hydrocarbures (Chabouni, 2008; Yin et al, 2009; Lotfabad, 2009 in Amiri 2012).

❖ Classification classique de *P.aeruginosa* :

Selon Bergey (2000) in Amiri (2012) la souche est classée comme suit :

Règne :Bactéria
 Division : Proteobacteria
 Classe :Gamma proteobacteria
 Ordre : Pseudomonadales
 Famille :Pseudomonadaceae
 Genre : *Pseudomonas*
 Espèce : *Pseudomonas aeruginosa*

II.3. Les fertilisants :

Nous avons utilisé les nutriments inorganiques, qui permettent de stimuler l'activité des populations microbiennes indigènes et le maintien d'une forte densité des populations de micro-organisme actifs vis-à-vis de la dégradation des hydrocarbures contenus dans le sol. Selon (Stewart, 2000 *in* Soltani, 2004), certains éléments présents dans le milieu sont essentiels à la croissance des agents indigènes de dégradation d'hydrocarbures, et y compris l'azote et le phosphore qui sont considérés des facteurs limitant la biodégradation des hydrocarbures dans les sols, et vu la disponibilité du K_2HPO_4 et $(NH_4)_2SO_4$ on les a choisis pour l'essai de biostimulation

❖ Phosphate dipotassique :

De formule chimique K_2HPO_4 , c'est une poudre granulaire, incolore ou blanche, en cristaux ou en masse, avec un poids moléculaire de 174,18g /mole.

❖ Sulfate d'ammonium :

De formule chimique $(NH_4)_2SO_4$, se présente sous forme de cristaux, de couleur blanchâtre et un poids moléculaire de 132,14g/mol.

II.4. L'espèce végétale :

L'espèce utilisée est le blé qui est une espèce autogame appartenant à la famille Poacées et au genre *Triticum*. Selon Rivière (1998), plusieurs plantes tel que le blé sont utilisées pour évaluer la phytotoxicité d'un produit. Et d'après Chaineau et *al.* (1997), le blé est parmi les espèces les plus sensibles aux hydrocarbures.

Cronquist (1981) a classé le blé de la façon suivante :

Règne.....	Plantae
Sous-règne.....	Tracheobionta
Division.....	Magnoliophyta
Classe.....	Liliopsida
Sous-classe.....	Commelinidae
Ordre.....	Cyperales
Famille.....	Poaceae
Sous-famille.....	Pooideae
Tribu.....	Triticeae
Genre.....	<i>Triticum</i>
Espèce.....	<i>Triticum durum</i>

III. Méthodes :

III.1. Préparation de la suspension bactérienne :

La suspension est obtenue à partir des colonies de *P. aeruginosa* isolée au niveau du C.H.U de Tizi Ouzou. Après un repiquage dans un milieu de culture liquide (milieu minéral et glucose) et une incubation pendant 48 heures à 37°C, les colonies sont diluées dans une solution physiologique.

III.2. Calcul des doses des fertilisants :

On a adopté la méthodologie de Rosenberg et *al.* (1992), qui est basée sur le principe suivant :

Dégradation 1g hydrocarbures \longrightarrow 150 mg(N) et 30 mg (P)

III.3. Dispositif expérimental :

Le dispositif expérimental choisi est complètement aléatoire. Une parcelle de 80 x 40 cm est délimitée et est subdivisée en deux sous parcelles. Nous avons prélevé trois échantillons de 10 cm³ dans chacune d'entre elles. Trois échantillons ont subi un traitement par bioaugmentation avec une suspension bactérienne (*P. aeruginosa*) et par biostimulation avec les fertilisants K₂HPO₄ et (NH₄)₂SO₄. Chaque échantillon pesant 1,2kg a reçu 60ml de la suspension bactérienne, 11,04g de K₂HPO₄ et 56,4g de (NH₄)₂SO₄. Les trois autres échantillons n'ont reçu aucun traitement. L'ensemble des échantillons de sol est remis en place (figure 05)

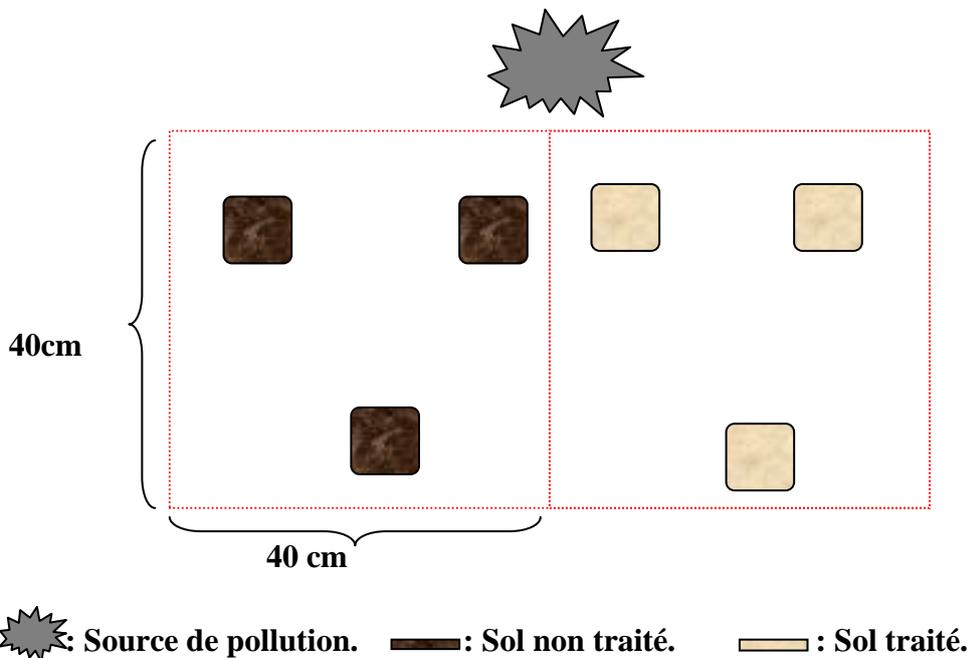


Figure 05 : Schéma représentatif du dispositif expérimental réalisé sur le terrain.

Cet essai s'est étalé de décembre 2014 à février 2015. Lorsque de fortes précipitations sont annoncées une couverture en polyéthylène est déployée afin d'éviter le lessivage des sels.

Afin d'évaluer l'efficacité du traitement, les échantillons ont été ramenés au laboratoire et ont fait l'objet de bio-essais. Après séchage et tamisage à 2mm, des analyses chimiques (pH et conductivité électrique) ont été effectuées, ainsi qu'une analyse par spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier au niveau du département de Pétrochimie se l'Université de M'Hamed Bougarra (Boumerdès).

III.4. Analyses chimiques :

❖ Potentiel d'hydrogène (pH) (Norme NF ISO 10390):

Selon Mathieu (2009), la mesure du pH constitue le test le plus sensible des modifications survenant dans l'évolution d'un sol. Pour sa détermination, le sol a été mélangé avec de l'eau distillée au rapport 2/5 (sol/eau). Le mélange est agité 2min avec une barre en verre puis est laissé décanter pendant 2heures, le pH est ensuite mesuré à l'aide d'un pH mètre de type Inolab.

❖ Conductivité électrique(CE) :

La conductivité électrique d'une solution du sol est un indice des teneurs en sels solubles dans ce sol. Cette propriété électrochimique est basée sur le fait que la conductance d'une solution s'accroît au fur à mesure que les concentrations en cations et anions, porteurs de charges électriques augmentent. Le sol a été mélangé avec de l'eau distillée au rapport de 1/5 (masse/volume), après une agitation de 2 minutes le mélange est laissé décanter pendant 30 minutes, la lecture est faite à l'aide d'un conductimètre de référence LF.42, et sa valeur s'obtient se la formule suivante

$$CE = \text{valeur lue} \times \text{constante de cellule} \times \text{chiffre de correction}(T^{\circ}).$$

III.5. Réalisation des bio-essais :

Selon Rivière (1998), les deux principaux tests qui permettent l'évaluation de la phytotoxicité d'un produit sont le test de germination et la longueur racinaire.

❖ Test de germination :

Le but de ce test est d'évaluer l'effet du traitement réalisé (sur le terrain) sur la toxicité des hydrocarbures contenus dans le sol en évaluant le taux de germination des graines du blé dur, et d'évaluer le degré de remédiation dans les différents échantillons.

Ce test consiste à établir un pourcentage de la germination dans les deux sols ; traité et non traité. Nous avons semé 100 graines de blé dans des boîtes de Pétri, puis nous les avons faites germer dans des conditions favorables avec un arrosage quotidien. Après deux semaines, nous avons procédé au dénombrement des graines germées.

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

❖ Mesure de la longueur racinaire :

C'est la mesure de la longueur des racines du blé utilisé dans le test de germination pour évaluer la phytotoxicité des hydrocarbures et voir l'efficacité du traitement appliqué.

La mesure de la longueur est effectuée sur les racines de 10 plantules de blé pour chaque échantillon (traité et non traité). Les mesures sont faites trois semaines après le semis.

IV. Analyse par spectroscopie infrarouge (FTIR) :

La FTIR est une méthode rapide qui donne des informations quantitatives et qualitatives en caractérisant les groupements fonctionnels et des composantes majeures de différents échantillons.

Cette méthode est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle permet via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans le matériau. La spectroscopie infrarouge produit un rayonnement dont la fréquence (nombre d'onde) varie de 500 à 4000 cm^{-1} .

Elle permet d'évaluer les modifications des groupements fonctionnels relatifs aux hydrocarbures dans les sols non traité et traités, ainsi que l'efficacité de traitement effectué.

Les échantillon de sol sont broyés et séchés à une température de 40°C durant 24 heures puis mélangés avec le bromate de potassium (KBr) pour réaliser les pastilles à analyser.

V. Méthodes d'analyse statistique :

Le traitement des résultats obtenus a été réalisé avec le logiciel R.3.0.2. Le test de Student a été réalisé en vue de comparer, pour chaque variable étudiée, la moyenne obtenue dans le sol traité et non traité.

Notre travail consiste en un essai de décontamination biologique du sol pollué par les hydrocarbures par le jumelage de deux techniques (Bioaugmentation et Biostimulation) sur le terrain.

I. Résultats des analyses chimiques :

I.1. Potentiel hydrogène :

Les résultats des analyses du pH des sols traités et non traités sont illustrés dans la figure 06.

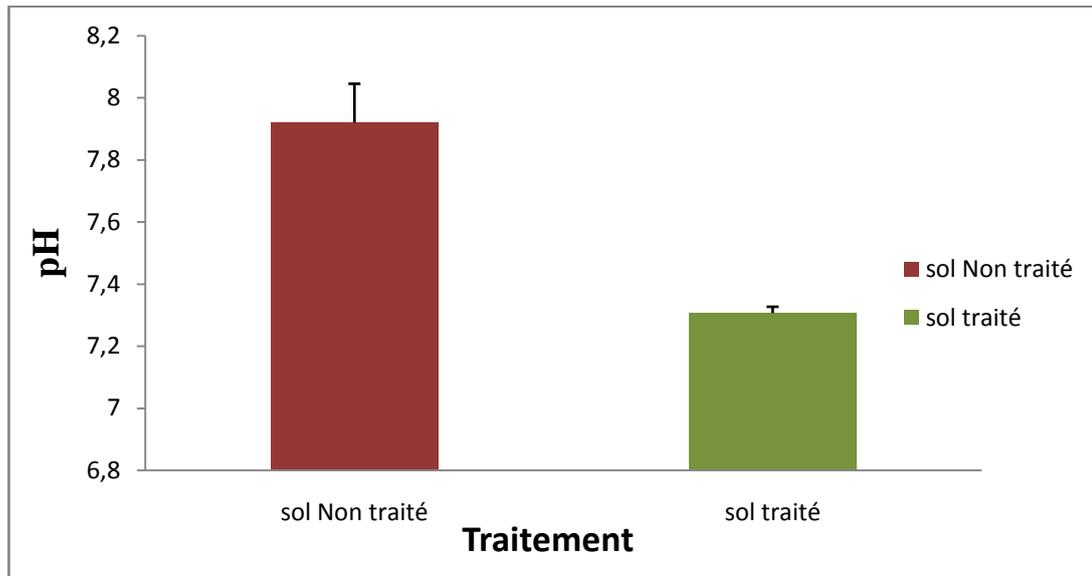


Figure 06: pH de sol traité et non traité

Nous remarquons une légère diminution du pH, sa valeur passe de 7,92 pour le sol non traité à 7,30 pour le sol traité.

Le test de Student (tableau VI) a mis en évidence une différence significative entre les deux sols avec une **p-value=0,04818**. Ce qui signifie que le traitement (bioaugmentation et biostimulation) a un effet sur le pH du sol.

Tableau VI : Résultat du test de Student pour le pH du sol traité et non traité.

	pH moyen de sol non traité	pH moyen de sol traité	t	p-value	df
Sol	7.30	7.92	4.11851	0.04818	4

Selon les normes d'interprétation du pH qui figurent dans le Mémento de l'agronome (1993), le sol non traité est moyennement alcalin (7,92), par contre le pH du sol traité est neutre (7,30).

I.2. La Conductivité électrique :

Les valeurs de la conductivité électrique des sols traités et non traités sont illustrés dans la figure 07.

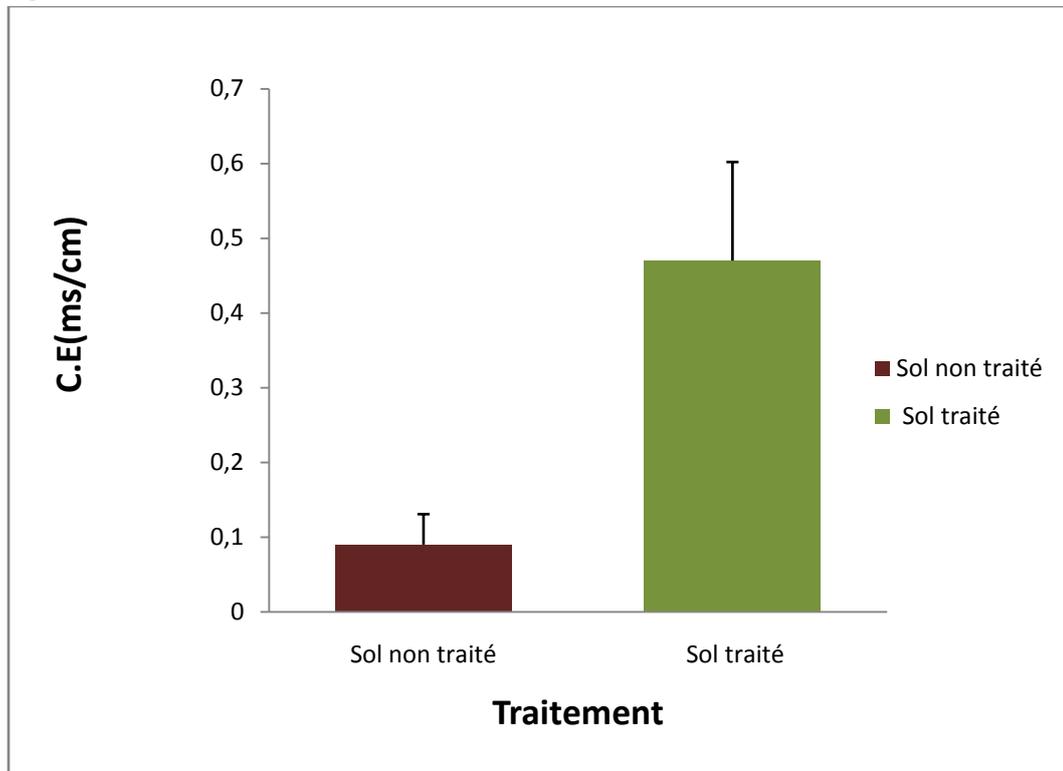


Figure 07 : Conductivité électrique de sol traité et non traité

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que la conductivité électrique augmente, elle passe de 0,31ms/cm dans le sol non traité à 1,62 ms/cm dans le sol traité.

Le test de Student pour la conductivité électrique révèle une différence significative entre la C.E des sols traités et non traités avec une $p\text{-value}=0.030$. Ce que signifie que le traitement a un effet sur la conductivité électrique du sol (tableau VII).

Tableau VII : Résultat du test de Student pour la C.E (ms/cm) du sol traité et non traité :

	C.E Moyenne de sol non traité	C.E Moyenne de sol traité	t	p-value	df
Sol	0.310	1.615	-3.2685	0.03083	4

II. Résultats des bio-essais :

II.1. Le taux de germination:

Le taux de germination du blé dans le sol juste après son prélèvement est de 0%. Les résultats que nous avons obtenus pour le taux de germination après incubation sont représentés dans la figure 08.

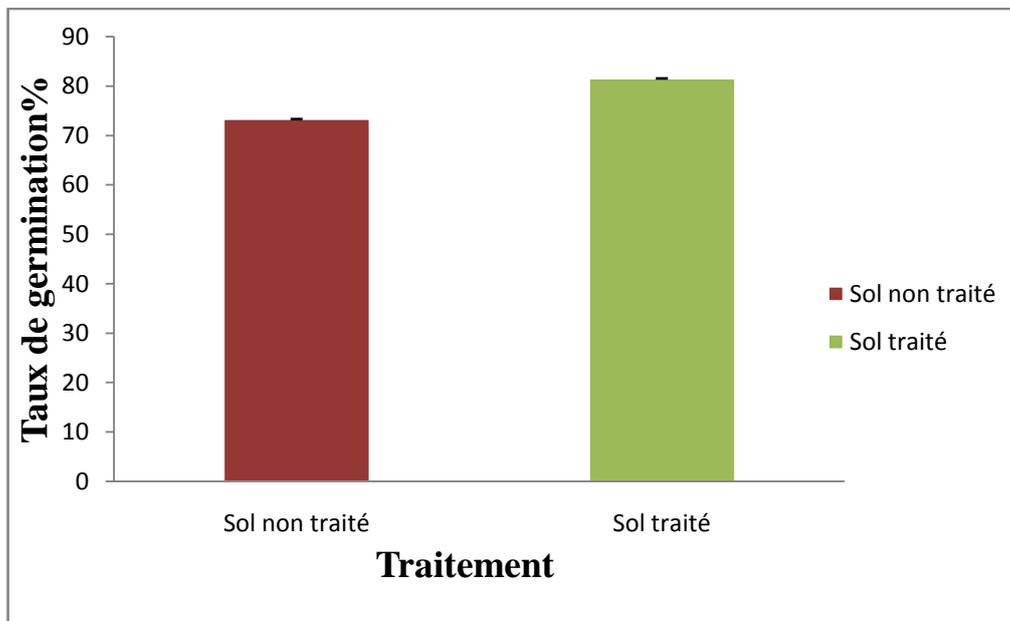


Figure 08 : Taux de germination des graines de blé dur dans le sol traité et non traité.

Le taux de germination représentés dans la figure 8 est important dans le sol traité avec 81.33%, et sa valeur dans le sol non traité est de 73.33%.

Les résultats du test de Student montrent qu'il y a une différence non significative pour le paramètre 'taux de germination' dans le sol traité et non traité avec une p-value de **0.2175** (tableau VIII).

Tableau VIII. Résultats du test de Student pour le taux de germination du sol traité et non traité :

	germination moyenne de sol non traité	germination moyenne de sol traité	t	p-value	df
Sol	73,33	81,55	-1,46	0,21	4

II.2. Longueur racinaire :

Les résultats de la mesure de la longueur racinaire du blé dur semé dans les deux sols traité et non traité sont représentés dans la figure 09.

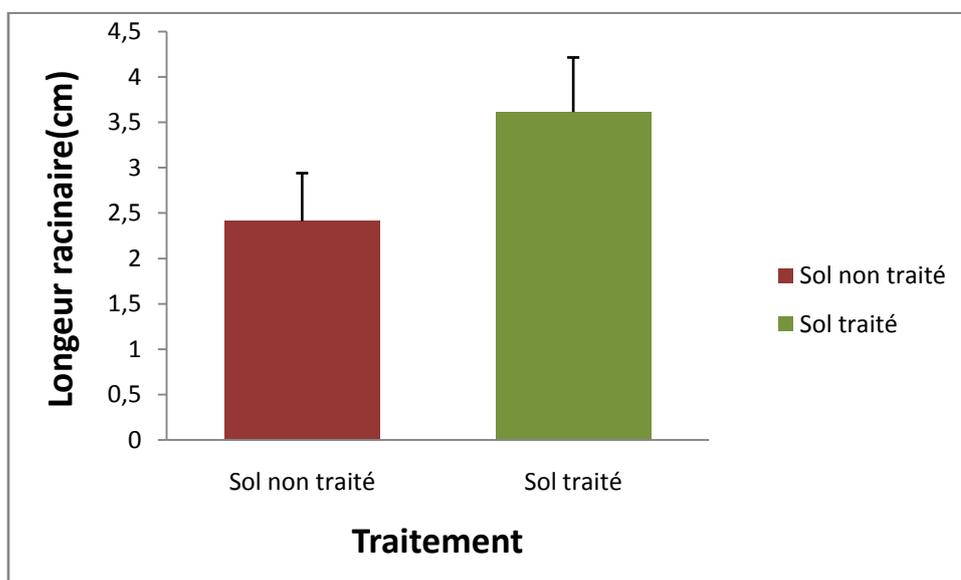


Figure 09 : Longueur racinaire du blé dur dans le sol traité et non traité.

La longueur racinaire moyenne du blé dur est de 3.61cm et de 2.41cm dans le sol traité et le non traité, respectivement. Ces résultats sont soumis au test de Student (tableau IX).

Tableau IX: Résultat de test de Student réalisé pour la longueur racinaire du blé dur du sol traité est non traité.

	Longueur racinaire moyenne pour le sol non traité	Longueur racinaire moyenne pour le sol traité	t	p-value	df
Sol	2.40	3.61	-1.30	0.2632	4

Le test de Student révèle une différence non significative pour la longueur racinaire entre les deux sols (traité et non traité), avec une P-value de 0,26.

Malgré que ces résultats montrent qu'il y a pas de différence significative, mais nous avons constaté un écart de 1,20 cm sur la longueur racinaire du blé dur en faveur du sol traité.

III. Analyse par Spectroscopie Infrarouge à transformée de Fourier (FTIR):

La figure 09 illustre les résultats de l'analyse par spectroscopie infrarouge de l'extrait aqueux des différents sols traités et non traités de la station service de Boukhalfa.

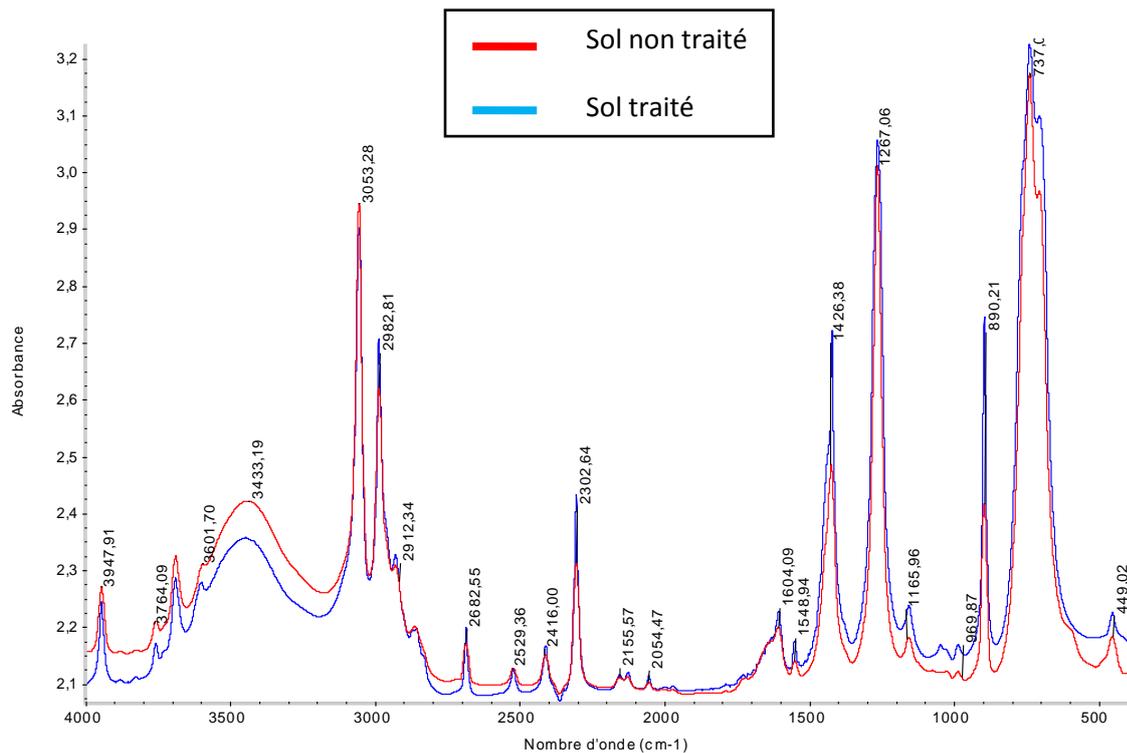


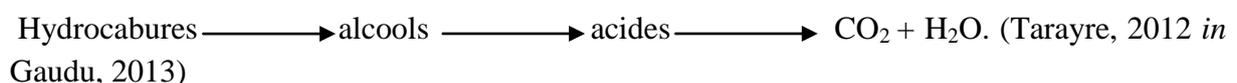
Figure 10 : Spectre infrarouge du sol traité et non traité

D'après le spectre, nous avons constaté une légère diminution des groupements fonctionnels situés dans la bande $3000 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ qui correspond aux alcools, et une légère augmentation de l'intensité des pics qui correspondent aux groupements fonctionnels alcanes, ainsi qu'une diminution des pics situés entre $2416,00$ et $2682,56 \text{ cm}^{-1}$ qui renvoie au groupement chimique des alcènes, par contre nous avons constaté une augmentation du pic situé à $1426,38 \text{ cm}^{-1}$ qui correspond aux aldéhydes et cétones, avec apparition d'un pic dans la bande située entre $969,8$ et $1267,06 \text{ cm}^{-1}$ qui correspond aux acides carboxyliques

IV. Discussion :

Les pH de nos échantillons de sols, suggèrent donc leur effet bénéfique sur la croissance bactérienne et par conséquent optimiserait la biodégradation des hydrocarbures. Selon Gabet (2004), l'activité microbienne est plus affectée par le pH. Il doit être compris entre 5 et 9 et avoir un alentour de 7. Le pH dans cet intervalle favorise la croissance des bactéries et des champignons et par conséquent assurerait la biodégradation des hydrocarbures.

La différence significative de pH entre le sol traité et le sol non traité, peut être due à la biodégradation des hydrocarbures par *Pseudomonas aeruginosa* stimulée avec les fertilisants. La diminution du pH dans le sol traité confirme une présence d'activité microbienne qui témoigne de la synthèse de métabolites acides, qui sont les principaux produits de dégradation avant la minéralisation complète par les microorganismes selon la réaction :



Selon Ayotamuno et *al.* (2004) et Merkel et *al.*, (2005) in Njuko et *al.*, (2009), la diminution du pH dans les sols traités par bioaugmentation, peut être corrélée avec la biodégradation des hydrocarbures. Par contre Tisdale et Nelson (1977) in Njuko et *al.*, (2009), ont noté que la diminution du pH est due à la production de radicaux acides par nitrification.

Nos résultats concordent avec ceux de Yu et ses collaborateurs (2005) qui soutiennent l'idée que l'ajout de fertilisants diminue le pH.

Concernant la conductivité électrique, les résultats enregistrés dans notre essai montrant qu'elle n'est pas élevée (selon les normes du Mémento de l'agronome (1993)).

La CE du sol traité est supérieure à celle du sol non traité, ce qui laisse supposer que la concentration des carburants a diminué. Selon Khajehnouri (2011) cité par Amiri (2013), la conductivité électrique du sol contaminé par les hydrocarbures décroît avec l'augmentation de la saturation en hydrocarbures. Romaniuk et *al.* (2011), soutiennent que la biostimulation accélère la dégradation des hydrocarbures qui rejettent des ions au sol.

Contrairement, Akpoveta et *al.* (2011) considèrent que cette élévation de la C.E est due aux fertilisants.

Nous avons constaté par ailleurs, l'augmentation du taux de germination, même si l'analyse statistique ne l'a pas révélé. Ceci serait lié aussi à la diminution de la quantité d'hydrocarbures dans le sol. Kellas (2008) a montré que le blé était une espèce sensible aux hydrocarbures. Le taux de germination dans le sol non traité (73,33%) peut s'expliquer par la dégradation naturelle des hydrocarbures qui se trouvaient dans ce sol.

Selon Bergue (1986), une grande partie des constituants des produits pétroliers subissent une grande variété de mécanismes d'élimination notamment évaporation, photodécomposition, adsorption, percolation et dégradation bactérienne.

Nous avons noté également une augmentation de la longueur racinaire dans le sol traité, ce qui s'explique par l'amélioration de la qualité biologique du sol après traitement et qui serait probablement due à une dégradation des hydrocarbures. Ceci est en concordance avec les résultats que nous avons obtenus pour le pH, la CE et le taux de germination. La structure du sol de Boukhalfa aurait aussi favorisé la croissance des racines. D'après Soltner (1990), la texture limono-argileuse assure aux racines du blé une grande surface de contact et une bonne nutrition.

La modification des groupements fonctionnels et de l'intensité des pics et l'apparition d'autres pics, montre qu'il y a une biodégradation des hydrocarbures dans les sols traités par bioaugmentation et biostimulation. Ceci est justifié par la diminution des bandes caractéristiques aux alcènes, et apparition dans les bandes caractéristiques aux acides. Soltani (2004) a signalé la présence de nombreux métabolites. L'oxydation de l'hydrocarbure le transforme en alcool primaire par hydroxylation du groupement méthyle terminal, puis en acide. Ce qui renforce l'idée que *P. aeruginosa* a été stimulée par les fertilisants.

Conclusion générale

Le présent travail consiste en un essai de bioremédiation, sur le terrain, d'un sol pollué aux carburants avec le jumelage de la bioaugmentation et de la biostimulation.

Les résultats obtenus ont montré une certaine efficacité du traitement suite à une diminution de la quantité de carburants dans le sol après traitement.

Cette efficacité se traduit, d'une part, par l'amélioration de la qualité biologique du sol ; qui est exprimée par l'amélioration du taux de germination du blé, qui est passé de 73.33% dans le sol non traité à 81.33% dans le sol traité et non traité, ainsi que la longueur racinaire qui a connu une légère augmentation dans le sol traité avec 3.61cm contre 2.41cm dans le sol non traité. Les résultats obtenus dans le sol non traité peuvent être expliqués par l'atténuation naturelle des hydrocarbures.

D'autre part, les analyses chimiques du sol laissent supposer qu'il ya eu une dégradation des hydrocarbures, indiquée par une diminution de plus d'une demie unité du pH dans le sol traité. Pour ce qui est de la conductivité électrolytique, elle a augmenté dans le sol traité, ce qui est probablement dû à l'excédent des sels apportés au sol.

Enfin, l'analyse par spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR) a montré des modifications au niveau des différentes bandes des groupements fonctionnels relatifs aux hydrocarbures, ce qui confirme leur dégradation.

A travers cette étude, nous avons constaté que la méthode de traitement biologique peut être une solution optimale pour le problème de la contamination des sols par les hydrocarbures. En effet les résultats obtenus sur le terrain, par l'association de la bioaugmentation et de la biostimulation sont encourageants.

Il est cependant, recommandé de prendre en considération d'autres points pour approfondir cette étude :

- ❖ Réaliser d'autres essais dans d'autres stations service pour confirmer les résultats obtenus dans cet essai.
- ❖ Réaliser des essais sur d'autres hydrocarbures afin de généraliser l'utilisation de l'association des deux techniques utilisées.
- ❖ La recherche des autres souches bactériennes pouvant dégrader les polluants organiques et la possibilité d'introduire des enzymes, nutriments ou des modifications génétiques pour permettre un enrichissement de la souche ciblée.
- ❖ Penser au jumelage d'autres techniques de bioremédiation en appliquant notamment la phytoremédiation comme technique de finition.

Références bibliographiques

- A -

ADEME, 2009. Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'Energie, France.
<http://www.ademe.fr> .

AKPOVETA O.V., EGHAREVBA F., MEDJOR O.W., 2011.A pilot study on the biodegradation of hydrocarbon and its kinetics on kerosene simulated soil. Research journal of chemical sciences. Vol :6. Pp 8-14.

AMIR H., ROUQUEROL T., 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 du sol. Pp 137-156.

ARNAUD P., 1983. Chimie organique. Edition DUNOD, Paris. 208p.

- B -

BATTAZ S., 2000. Etude comparative de la dégradation d'une terre polluée par les hydrocarbures lourds. Mémoire présenté à la faculté des sciences. Département des sciences fondamentales pour l'obtention du diplôme de magister. 122p.

BALLERINI D., VANDECASTEELE J. P., 1999. La restauration par voie microbiologique des sols contaminés par les polluants organiques. *In* : Biotechnologie, coordinateur R. Scriban, 5ème édition, Edition Tech et Doc. 392 p.

BELLEY-VESINA V., 2014. Vers un traitement durable des sols au Québec : Possibilité et perspectives des traitements in situ des sols contaminés aux hydrocarbures. Essai présenté au centre Universitaire de formation en environnement et développement durable en vue d'obtention du grade de maître en environnement. 140p.

BERGUE J., MERIENNE D., 1986. La pollution des sols par les hydrocarbures. Laboratoire régionale de ROUEN. Réf : 3141. Pp57-68.

BOUDERHEM A., 2011. Utilisation des souches bactériennes telluriques autochtones dans la biodétection et la bioremédiation des sols pollués par les hydrocarbures. Thèse de Magister. Université Kasdi Merbah. Orghla. 91p

BOCARD C., 2006. Marées noires et sols pollués par les hydrocarbures, Edition Technip. 236 p.

BOUKHERCHOFA L., BOUZID L., 2014. Etude de l'effet de l'apport d'azote et de phosphore sur l'efficacité de biodégradation des hydrocarbures. Mémoire de Master en science. Biologique. Option protection de l'environnement. Université Mouloud Mammeri. Tizi-Ouzou. 25p.

Références bibliographiques

-C-

CLEMET M., PIELTAIN F., 2003. Analyse chimique méthodes choisies. Edition TEC et DOC. 382 p.

CHAINEAU C H., MOREL J L., OUDOT J., 1997. Phytotoxicité and plant uptake of fuel oil HC.J.envIRON .Qual V.26. Pp 1478 -1483.

COLIN F., 2000. Pollution localisée des sols et des sous-sols par les hydrocarbures et par les solvants chlorés. Edition TEC et DOC. 417p.

CRONQUIST A., 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Colombia University. New York press.

-D-

DIAGNE P.N., TALHI R., 1999. Pollution des sols agricoles par les hydrocarbures essai d'amélioration de la nutrition azotée de culture sensible .Mémoire d'ingénieur d'état, INA, EL HARACHE, ALGER.105p.

DAVET P., 1996. La vie microbienne du sol et la production végétale. Edition. INRA. Paris. 367p.

DUCHAUFOR P., 2001. Introduction à la science du sol : sol, végétation et environnement. 6ème édition MASSON, Paris Milan Barcelone. 498 p.

-F-

FATTAL P., 2008. Pollution des cotes par les hydrocarbures. Presse universitaire de Rennes. 498p.

FEZANI S., KHIDER F., 2007. Toxicité des hydrocarbures vis-à-vis des plantes, leurs caractérisations et leurs effets sur la microflore du sol. Mémoire d'ingénieur d'état en biologie U.M.M.T.O. 73p.

-G-

GABET S., 2004. Remobilisation des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) présents dans les sols contaminés à l'aide d'un tensioactif d'origine biologique. Université de limoges. 151p.

GASPERI J., 2006. Introduction et transfert des hydrocarbures à différentes échelles spatiales dans le réseau d'assainissement parisien .Thèse doctorale à L'ECOLE NATIONALE DES PONTS ET CHAUSSEES. 272p.

GAUDU F., 2014. Bioremédiation des sols pollués aux hydrocarbures. Mémoire master 2 biologie gestion marketing Université de rennes 127p.

Références bibliographiques

GOMEZ D., 2010. Etude approfondie de l'influence de la nature chimique des fine polluants d'hydrocarbure sur le calcule de risque sanitaire. Ecole de haute étude en santé publique .74p.

GIRARD M C., WALTER C., REMY J.C., BERTHLIN J., MOREL J.L., 2009. Sol est environnement. Édition DUNOD, Paris. 804p.

- K -

KAHIL L., ISSAD K., 2014.Essai de réabilitation d'un sol pollué aux hydrocarbures par biostimulation. Mémoire d'ingénieur d'état en biologie. Spécialité. Ecologie végétale et environnement. Option : Pathologie des écosystèmes. Université Mouloud Mammeri. Tizi-

KELLAS K., 2008 .Toxicité des hydrocarbures vis-à-vis du blé (*Triticum durum*), du pois vivace (*Lathyrus latifolius*) et de la microflore du sol. Essai de phytoremédiation. Mémoire d'ingénieur d'Etat en Biologie U.M.M.T.O. 69 p.

KOLLER E., 2009. Traitement des pollutions industrielles (eau, air, déchet, sol, boues). Edition DUNOD. Paris. 424p.

- L -

LAKROUN A., 1995. Etude d'aménagements et d'entretien de la rivière de haut Sébaou, (Grande Kabylie).Thèse de Magister en Agronomie. U.M.M.T.O, 157p.

LAMBOT Q., 2011. Technique de phytoremédiation des sites pollués en Wallonie. Mémoire de master 2 en agronomie. Université de Wallonie.92p.

LECOMTE P., 1998. Les sites pollués, traitement des sols et des eaux souterraines.2^{ème} édition. Edition TEC et DOC. Paris.75p.

LEMIERE B., JEANNOT R., CHIRON S., 2008. Guide méthodologie pour l'analyse des sols pollués. Edition BRGM. Pp 12-16.

- N -

NJOKU N., AKINOLA O., OBOH B.O., 2009. Phytoremediation of crude oil contaminated soil .Edition marslandpress. Pp 80-85.

- R -

RAMADE F., 1992. Précis d'écotoxicologue. Edition Massoun. Paris. 300p.

RIVIERE J.L., 1998. Evaluation des risques écologiques des sols pollués .édition tec &doc. 203p

ROMANIUK ROMINA A., GUIFRE L., ROSARIO R., 2011. A soil quality index to evaluate the vermicompost amendement effets on soil propreties. Journal of environmental protection. Vol: 2. Pp 502-510.

Références bibliographiques

RYM B ; 2009. Rôle de l'élastase du neutrophile dans les infections pulmonaires à *Pseudomonas aeruginosa*. Thèses doctorale à l'Université de Reims Champagne-Ardenne.30 p.

- S -

SAADA A., NOWAK C., COQUEREAU N., 2005. Etat des connaissances sur l'atténuation naturelle des hydrocarbures, rapport intermédiaire, résultat de la phase 1. Rapport BRGM/RP-53739-FR.107p.

SARI K, AKI S, MARTIN R., 2011.Enhancing bioremediation of diesel-fuel-contaminated soil in a boreal climate comparison of biostimulation and bioaugmentation.Article history N°65. Pp 359-368

SOLTANI M., 2004. Distribution lipidique et voies métaboliques chez quatre souches Gram négatif hydrocarbonoclastes, variation en fonction de la source de carbone. Thèse de doctorat de l'université de Paris. 284p.

SOLTNER D., 1990. La grande production végétale. 17^{ème} édition. Edition collection sciences et techniques agricoles. Maine et Loire, France. 457p.

-T-

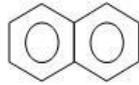
TORTORA G.J., FUNK B.R., CASE C.L., 2003. Introduction à la microbiologie. Du renouveau pédologie.Inc.945 p.

- Y -

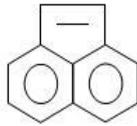
YU K.S.H., WONG A.H.Y., WONG Y.S., TAM N.F.Y., 2005. Natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation of polycyclic aromatic hydrocarbons(PAHs) in mangrove sediments.Marine pollution. Bulletin 51. Pp 1071-1077.

Annexes

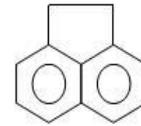
Annexe 01 : Formules structurales des seize HAP prioritaires de la liste de l'ESPA (Gasperi, 2006).



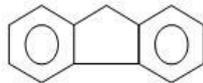
Naphtalène (NAP)
 $C_{10}H_8$



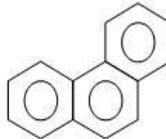
Acénaphthylène (ACY)
 $C_{12}H_8$



Acénaphtène (ACE)
 $C_{12}H_{10}$



Fluorène (FLU)
 $C_{13}H_{10}$



Phénanthrène (PHE)
 $C_{14}H_{10}$



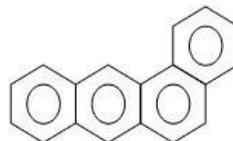
Anthracène (ANT)
 $C_{14}H_{10}$



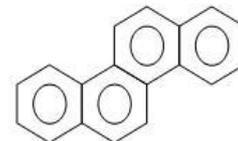
Fluoranthène (FLT)
 $C_{16}H_{10}$



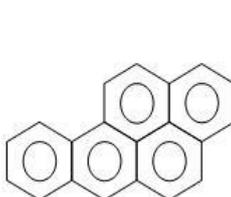
Pyrène (PYR)
 $C_{16}H_{10}$



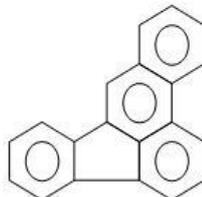
Benz(*a*)anthracène (BaANT)
 $C_{18}H_{12}$



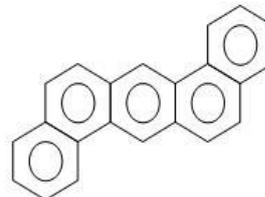
Chrysène (CHY)
 $C_{18}H_{12}$



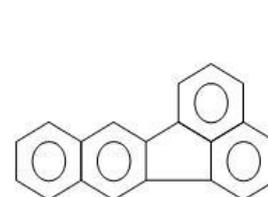
Benzo(*a*)pyrène (BaPYR)
 $C_{20}H_{12}$



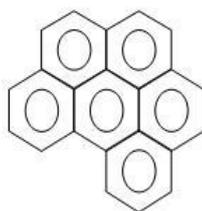
Benzo(*b*)fluoranthène (BbFLT)
 $C_{20}H_{12}$



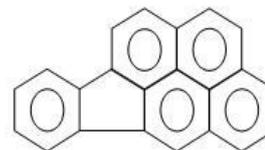
Dibenz(*ah*)anthracène (dBaANT)
 $C_{22}H_{14}$



Benzo(*k*)fluoranthène (BkFLT)
 $C_{20}H_{12}$



Benzo(*ghi*)pérylène (BghiPL)
 $C_{22}H_{12}$



Indeno(1,2,3-*cd*)pyrène (IcdPYR)
 $C_{22}H_{12}$

Annexes

Annexe 02:

Tableau I : Exemples de microorganismes dépollueurs (Bouderhame ,2011)

Bactéries		champignons
gram-	gram+	
<i>Pseudomonas</i>	<i>Micrococcus</i>	<i>Aspergillus</i>
<i>Anthobacter</i>	<i>Arthrobacter</i>	<i>Penicillium</i>
<i>Acinetobacter</i>	<i>Rhodococcus</i>	<i>Acremanium</i>
<i>Flavobacterium</i>		<i>Fasarium</i>
<i>Agrobacterium</i>		<i>Trichoderma</i>

Annexes

Annexe 03 : Données climatique de la station service de Boukhalfa

Tableau I : Q_2 d'Emberger calculé pour la station d'étude (station météorologique de Tizi Ouzou).

Région	P (mm)	M (C°)	Q_2
Boukhalfa	875.7088889	24.7568519	75.32589822

Tableau II : Température moyennes et précipitation moyennes pour la station (station météorologique de Tizi Ouzou).

Mois	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jui	Juil	Aou	Sep	Oct	Nov	Déc
P moye (mm)	112.16	103.99	103.14	95.29	81.96	10.9	2.79	6.75	43.61	71.22	128.45	115.18
T moye (°C)	10.31	10.48	13.33	16.16	19.3	23.99	27.84	27.71	23.72	20.92	14.57	12.18

Tableau III : T° moyenne de la région d'étude pendant la période d'essai (station météorologique de Tizi Ouzou).

Mois	Déc	Janv	Févr
T moy. (°C)	11,5	9,9	9,8

Annexes

Annexe 04 : Résultats bruts des traitements effectués :

Tableau I : pH des différents sols (traité et non traité)

Terrain	pH
Non traité	7,66
Non traité	8,16
Non traité	7,94
Sol traité	7,31
Sol traité	7,26
Sol traité	7,34

Tableau II : Conductivité électrique des différents sols (traité et non traité)

Terrain	CE (ms /cm)
Non traité	0,61
Non traité	0,19
Non traité	0,13
traité	2,33
traité	1,11
traité	1,4

Tableau III : Taux de germination du blé dur dans les différents sols (traité et non traité)

Terrain	Taux de germination%
Nontraité	3,29
Nontraité	4,79
Nontraité	2,75
traité	1,08
traité	3,43
traité	2,71

Tableau IV : Longueur racinaire du blé dur utilisé dans les différents sols

Terrain	longueur racinaire
Non traité	1,08
Non traité	3,43
Non traité	2,71
traité	3,29
traité	4,79
traité	2,75

Annexes

Annexe 05 : Normes d'interprétation (Mémento de l'agronome, 1993)

Tableau I: Normes d'interprétation du pH du sol

Valeur de pH	Quantification
<4.5	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
8.5 à 9	Fortement alcalin
>9.1	Très fortement alcalin

Tableau II : Normes pour la matière organique

Taux en argile en %	Taux souhaitable de matière organique en %
<10	3.5
10 à 15	2.53
15 à 20	2-2.5
20 à 25	2.5
25 à 30	2.5-3
>30	3-3.5

Tableau III : Normes pour l'azote total du sol (%) (Méthode de Kjeldhal).

Taux d'azote	Quantification
<0.05	Très faible
0.05-0.09	Faible
0.1-0.15	Moyenne
>0.15	Elevé

Tableau IV Normes d'interprétation pour le phosphore assimilable (ppm) (méthode Olsen)

Valeur de phosphore	Quantification
0-5	Très basse
5-10	Basse
10-22	Moyenne
>22	Elevé

Annexes

Tableau V : Norme de la C.E en (ms/cm) :

Valeur de C.E en (ms/cm)	Quantification
<0.6	Non salé
0.6 à 1.6	Peu salé
1.6 à 2.4	Salé
2.4 à 6.0	Très salé
>6	Extrêmement salé

Tableau VI : Tableau d'interprétation (FTIR)

Intervalle d'ondes	Groupement fonctionnelle
2850-2970	Alcanes(C-H)
1610-1680	Alcènes (C=C)
1750-1820	Acides carboxyliques et dérivés (C=O)
1340-1470	Alcanes (C-H)
675-995	Alcène (C=C)
3580-3650	Alcools et Phénols(O-H)
2500-3300	Acides carboxyliques et dérivés (O-H)
3200-3550	Alcools et Phénols(O-H)

Résumé :

L'objectif de notre travail est la mise en œuvre d'une décontamination biologique d'un sol pollué par les hydrocarbures (cas de station service) par l'association de la bioaugmentation et la biostimulation.

En effet, sur les bases des résultats obtenus nous pouvons conclure que l'efficacité du traitement se traduit par une amélioration de la qualité biologique (taux de germination, élévation racinaire du blé) ainsi que des modifications dans les propriétés chimiques des sols traités par rapport au non traité. L'analyse par Spectroscopie Infra rouge à Transformée de Fourier a montré des changements au niveau des groupements fonctionnels caractéristiques aux hydrocarbures ce qui témoigne l'efficacité du traitement sur le terrain.

Mots clés : *Pseudomonas aeruginosa*, fertilisants, bioaugmentation, biostimulation, station- service, carburants.

Abstract :

The objective of our work is the implementation of a biological decontamination of a soil polluted by the hydrocarbons (case of gas station) by the association of the bioaugmentation and the biostimulation.

Indeed, on the basis of the obtained results we can conclude that the effectiveness of the treatment results in an improvement of biological quality (rate of germination, root's length of wheat) as well as modifications in the chemical properties of the soil treated by comparison with the untreated one. The analysis by Infrared Spectroscopy shown changes in the level of the characteristic functional groupings of hydrocarbons what testifies the effectiveness of the association of bioaugmentation and biostimulation on the contaminated soil.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, fertilizers, bioaugmentation, biostimulation, gas station, fuel.