

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université MOULOU D MAMMERI de Tizi-Ouzou

Faculté de Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département de Biologie Animale et Végétale



# MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

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

Spécialité : Protection de l'environnement

## Thème

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

Présenté par : YENNEK Mohamed

ZAUCHE Mouloud

Devant le jury :

Présidente : M<sup>me</sup> SADOUDI D.

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

Examineurs : M<sup>me</sup> HEJDAM H.

Professeur à L'U.M.M.T.O

M A A à L'U.M.M.T.O

M A A à L'U.M.M.T.O

La date de la soutenance : 19/07/2017

# Dédicace

*Je dédie ce modeste travail*

*A mes parents*

*A ma grande mère*

*A mes frères et ma sœur*

*A elle*

*A tous mes amis(es)*

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

*Mohamed*

# Dédicace

*Je dédie ce modeste travail*

*A mes parents*

*A mon frère et mes sœurs*

*A petite sœur Nounou*

*A elle*

*A tous mes amis (es)*

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

*Mousoud*

# REMERCIEMENTS

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux qui nous a donné le courage, volonté, l'amour du savoir et surtout la patience d'accomplir ce modeste travail.

C'est pour nous autant de plaisir qu'un devoir d'exprimer notre gratitude et notre reconnaissance à **M<sup>elle</sup> Ali Ahmed S.**, qui nous a orienté et guidée afin de mener à bien ce travail.

Nous remercions aussi très sincèrement les membres de jury la présidente **M<sup>me</sup> Sadoudi Dj.**, professeur au département de biologie à l'UMMTO d'avoir accepté de présider le jury et **M<sup>me</sup> HEDJAM H.**, Maitre assistante classe A l'U.M.M.T.O qui nous a fait l'honneur d'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 tenons à remercier **M<sup>elle</sup> Oltaf lynda** doctorante à l'U.M.M.T.O pour son aide, soutien et accompagnement durant notre travail.

Enfin nous tenons à remercier toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail à tous ceux qui nous ont apporté leur aide.

## Liste des abréviations

HAP : Hydrocarbure Aromatique Polycyclique

BTEX : benzène, toluène, éthyle benzène et xylènes

TPH : hydrocarbures pétroliers totaux

T : température

H : humidité

D : dose

MSR : méthode des surfaces de réponses

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : Différentes familles des hydrocarbures.....	4
<b>Tableau II</b> : Les différentes techniques biologiques (bioremédiation).....	10
<b>Tableau III</b> : les différents résultats et travaux de recherche sur la biostimulation.....	13
<b>Tableau IV</b> : les caractéristiques de sol utilisé dans l'expérimentation.....	17
<b>Tableau V</b> : Les résultats optimal donnés par le logiciel R.....	26

## Liste des figures

<b>Fig.1</b> : Schéma d'une station-service.....	5
<b>Fig.2</b> : composition du gasoil.....	6
<b>Fig.3</b> : composition de l'essence.....	6
<b>Fig.4</b> : représentation schématique des processus influençant le devenir des polluants da le sol.....	7
<b>Fig.5</b> : Triangle de la biodégradation.....	11
<b>Fig.6</b> : Image satillite de la station-service (AIT BENAMARA) de Boukhalfa.....	17
<b>Fig.7.a</b> : Schéma récapitulatif du dispositif expérimental de la biostimulation.....	18
<b>Fig.7.b</b> : Schéma récapitulatif du dispositif expérimental de la biostimulation.....	19
<b>Fig.8</b> : titrage acide-base pour quantifier le CO <sub>2</sub> dégagé par la respiration des microorganismes du sol.....	20
<b>Fig.09</b> : pH des déférents sols traités.....	22
<b>Fig.10</b> : La conductivité électrique des différents sols traités.....	23
<b>Fig. 11</b> : Taux de carbone dégagé des différents sols traités.....	24
<b>Fig.12</b> : taux de germination des graines de maïs des déférents les sols traités.....	25
<b>Fig.13</b> : Résultats de l'ACP des solutions optimales du taux de germination, a : cercle des corrélations, b : projection des individus.....	26

## TABLE DES MATIERES

<i>Introduction</i> .....	1
 <i>Chapitre I : synthèse bibliographique</i>	
I. Sols pollués aux hydrocarbures.....	3
I.1. Généralités sur les hydrocarbures.....	3
I.1.1. Définition.....	3
I.1.2. La classification des hydrocarbures.....	3
I.2 .Cas des stations-service.....	4
I.2.1. Les carburants.....	5
I.2.1.1. Essences.....	5
I.2.1.2. Gasoil.....	6
I.3. Devenir des hydrocarbures en contact avec l'environnement.....	7
I.4. Effets écotoxicologiques des hydrocarbures.....	7
I.4.1. Effets sur le sol.....	7
I.4.1.1. Effets sur les propriétés physiques et chimiques.....	8
I.4.1.2. Effets sur les propriétés biologiques.....	8
I.4.2. Effets sur le végétal.....	8
I.4.3. Effets sur l'Homme.....	8
II. La réhabilitation des sols pollués aux hydrocarbures.....	9
II.1. Traitements physiques.....	9
II.2. Traitements thermiques.....	9
II.3. Traitements chimiques.....	9
II.4. Les inconvénients des techniques non biologiques.....	9
II.5. Les techniques biologiques (bioremédiation).....	9
III. Biostimulation.....	11
III.1. Les avantages de la biostimulation.....	11
III.2. La biodégradation des hydrocarbures.....	11
III.3. Les facteurs environnementaux influencés la biodégradation des hydrocarbures.....	12
III.3.1. La température.....	12
III.3.2. L'humidité.....	12
III.3.3. Les nutriments.....	12
III.3.4. Le pH.....	13
III.3.5. Oxygène.....	13
III.3.6. L'état physique et concentration des hydrocarbures.....	13
III.4. Travaux de recherche sur la Biostimulation.....	13
IV. L'optimisation mathématique.....	15
IV.1. Les algorithmes génétiques.....	15

## **Chapitre II : matériels et méthodes**

<b>Introduction</b> .....	16
<b>I- Matériels</b> .....	16
I.1. Matériel biologique.....	16
I.2. Les fertilisants.....	16
I.2.1. Dipotassium phosphate.....	16
I.2.2. Sulfate d'ammonium.....	16
I.3. Le sol.....	16
<b>II-Méthodes</b> .....	18
II.1. Méthode d'échantillonnage.....	18
II.2. Protocole d'application de la Biostimulation.....	18
II.3. Mesure du pH.....	19
II.4. Mesure de la conductivité électrique.....	20
II.5. Activité biologique globale.....	20
II.6. Test de germination.....	21
II.7. Méthodes mathématiques.....	21
II.7.1. Analyse statistique.....	21
II.7.2. Optimisation mathématique.....	21

## **Chapitre III : résultats et discussion**

### **I. Résultats**

I.1. Le pH.....	22
I.2. La conductivité électrique (CE).....	23
I.3. L'activité biologique globale.....	24
I.4. Le taux de germination.....	25
I.5. l'optimisation mathématique.....	26

<b>II. Discussion</b> .....	27
-----------------------------	----

<b>Conclusion générale</b> .....	30
----------------------------------	----

<b>Références bibliographiques</b> .....	31
--	----

### **Annexes**

## Introduction générale

La pollution du sol par les hydrocarbures (pétrole, essence, gas-oil, 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, micro-organismes et la sante humain. Elle constitue une menace très sérieuse pour l'environnement en Algérie. Les pertes et les fuites ainsi que les déversements accidentels font craindre une situation écologique irréversible.

Les produits pétroliers, issus notamment des stations-service, sont les principales causes des pollutions constatées suite à la corrosion des cuves de stockage ou des fuites de canalisations entre les citernes et les ilots de pompes (Colin, 2001). D'après la direction de l'environnement de la Wilaya de Tizi Ouzou (2014), quatre-vingt-trois stations-service fonctionnelles sont implantées dans la wilaya, sept sont en cours de réalisation et quatorze sont en projet. Malheureusement, la majorité de ces stations sont implantées sur des terres agricoles.

L'usage des hydrocarbures émet dans le sol des quantités importantes de substances dangereuses. Le sol étant le support indispensable aux animaux, aux végétaux terrestres et à l'Homme, toute pollution de celui-ci induit un déséquilibre sur la flore, la faune et sur l'Homme lui-même (Koller, 2004), d'où la nécessité de rétablir cet équilibre perdu, grâce à différentes techniques (Lecomte, 1998).

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

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 en plein essor et suscite de très nombreux travaux dans le monde (Duchaufour, 2001).

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 biostimulation est un type d'assainissement naturel qui peut améliorer la dégradation des polluants en optimisant les conditions telles que l'aération, l'ajout de nutriments, le pH et le contrôle de la température (Margesin, *et al.*, 2001).

Des travaux réalisés au laboratoire sur la biostimulation des sols pollués aux hydrocarbures par l'ajout de fertilisants (azote et phosphore) (Nait abdelkader et Djenad, 2015 ; Hadjou et Rabhi, 2015) ou par ajout de nutriments et de biotensioactifs (Chergui et Dahmmani, 2009 ; Sadoudi- Ali Ahmed *et al.*, 2014) ont montré l'efficacité de cette technique à réhabiliter ces sols. Cette efficacité est toutefois dépendantes des paramètres environnementaux. Très peu d'études ont porté sur l'optimisation des paramètres de réhabilitation des sols par biostimulation.

C'est dans ce contexte que s'insère notre travail dont l'objectif principal est de réhabiliter un sol pollué aux carburants provenant d'une station-service, et d'optimiser la technique de biostimulation par la variation des différents paramètres environnementaux (température, humidité et doses des fertilisants), par la méthode mathématique utilisant les algorithmes génétiques.

Le présent mémoire se subdivise en trois chapitres. Le premier représente une synthèse bibliographique sur les hydrocarbures (leur nature, leur devenir et leurs impacts sur l'environnement et la santé humaine), ainsi que les méthodes de réhabilitations des sols pollués par les hydrocarbures et les facteurs environnementaux influençant leur biodégradabilité. Dans ce chapitre une synthèse sur l'optimisation mathématique par les algorithmes génétiques sera présentée également.

Le second chapitre est consacré à la présentation de la station d'étude, les 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. Ce travail se termine par une conclusion générale et quelques perspectives.

# CHAPITRE 1

- SYNTHESES BIBLIOGRAPHIQUE
-

## I. Sols pollués aux hydrocarbures

Les activités humaines sont à l'origine de nombreuses contaminations localisées ou diffuses au niveau des sols et sous-sols :

- Les activités industrielles :

-des accidents, incidents ou anomalies divers, lors de l'extraction du stockage, de la transformation et du transport de matières premières, de produits ou de déchets dangereux, ou lors de la distribution des produits dangereux.

-des transferts de pollution issus des rejets atmosphériques ou aqueux, vers les sols.

- les activités urbaines

- en lien avec des activités artisanales ou commerciales utilisant ou engendrant des produits et déchets dangereux au même titre que les activités industrielles.

-par retombées atmosphérique de nombreuses sources de pollution atmosphériques dans les villes ou à leur périphérie comme les usines d'incinération ou les véhicules motoriser.

La pollution par les hydrocarbures est due à des rejets, volontaires ou non, de produits pétroliers. Elle révèle à la fois de la pollution chimique et de la pollution organique (Colin, 2000).

### I.1. Généralités sur les hydrocarbures

#### I.1.1. Définition

Les hydrocarbures sont des composés organiques constitués uniquement d'atome de carbone et d'hydrogène, ainsi, ils possèdent une formule brute du types  $C_nH_m$ , avec  $n$  et  $m$  des entier naturels. Ces composés naissent dans les conditions bien particulières. En effet, ils sont formés par la décomposition d'organismes, enfouis et accumulées (Mathieu, 2008).

Outre les composés soufrés par exemple, 80% du pétrole sont constitués d'hydrocarbures saturés et aromatiques (Tarayre, 2012).

Les hydrocarbures regroupent différents produits pétroliers (pétrole brut, pétrole raffiné, kérosène, essences, fuel, lubrifiants, et huiles a moteurs). On définit les hydrocarbures par des familles de dérivés en fonction de leur utilisation, ces familles sont basées sur des coupes de raffinage pétrolier. Il est possible de préciser le nombre d'atomes des molécules et leurs composants (Lemière et *al.*, 2001).

#### I.1.2. Classification des hydrocarbures

Parmi les hydrocarbures, composés formés à partir de deux éléments, carbone et hydrogène. En distingue classiquement trois grandes familles (tableau 1) :

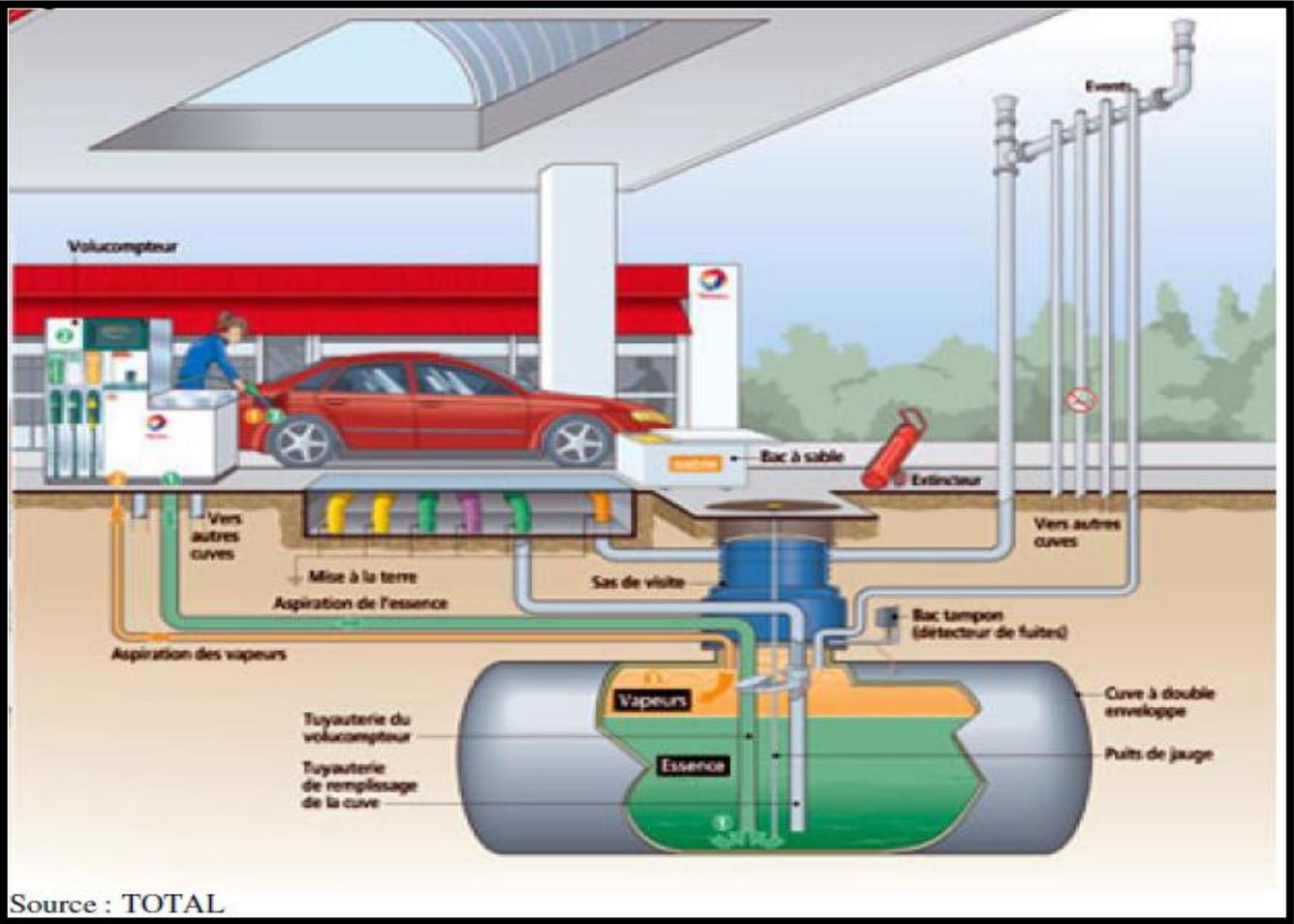
**Tableau 1** : Différentes familles des hydrocarbures (Colin, 2000).

Famille	Sous-familles	Substances (liste non exhaustive)
<b>les hydrocarbures saturés</b>	Alcanes	Méthane Ethane Propane Butane et isobutane Pentanes Hexanes ...
	Cyclanes	Cyclopropane Cyclobutane Cyclopentane...
<b>les hydrocarbures insaturés</b>	Alcènes	Éthylène Propylène Butènes Butadiènes Isoprène...
	Cyclènes	Cyclopentène Cyclohexène...
	Alcynes	Acétylène Méthylcétylène...
<b>les hydrocarbures aromatiques</b>	Monocycliques (HAM :BTEX)	Benzène Toluène Ethylbenzène xylènes
	Polycycliques(HAP)	Naphtalène Anthracène Phénanthrène Pyrène...

## I.2. Cas des stations-service

Les stations-service sont une source importante de pollution urbaine, l'autre côté la pollution accidentelle due au déversement d'hydrocarbures lors du remplissage des stockages de la station ou de la distribution de carburants.

Ce schéma d’une station-service nous aidera à visualiser les sources de pollution potentielle des sols (Piedrafita, 2007).



**Fig.1** : Schéma d’une station-service (Piedrafita, 2007).

**I.2.1. Les carburants**

Les carburants tels que l’essence et le gazole sont stockés et vendus dans les stations-service.

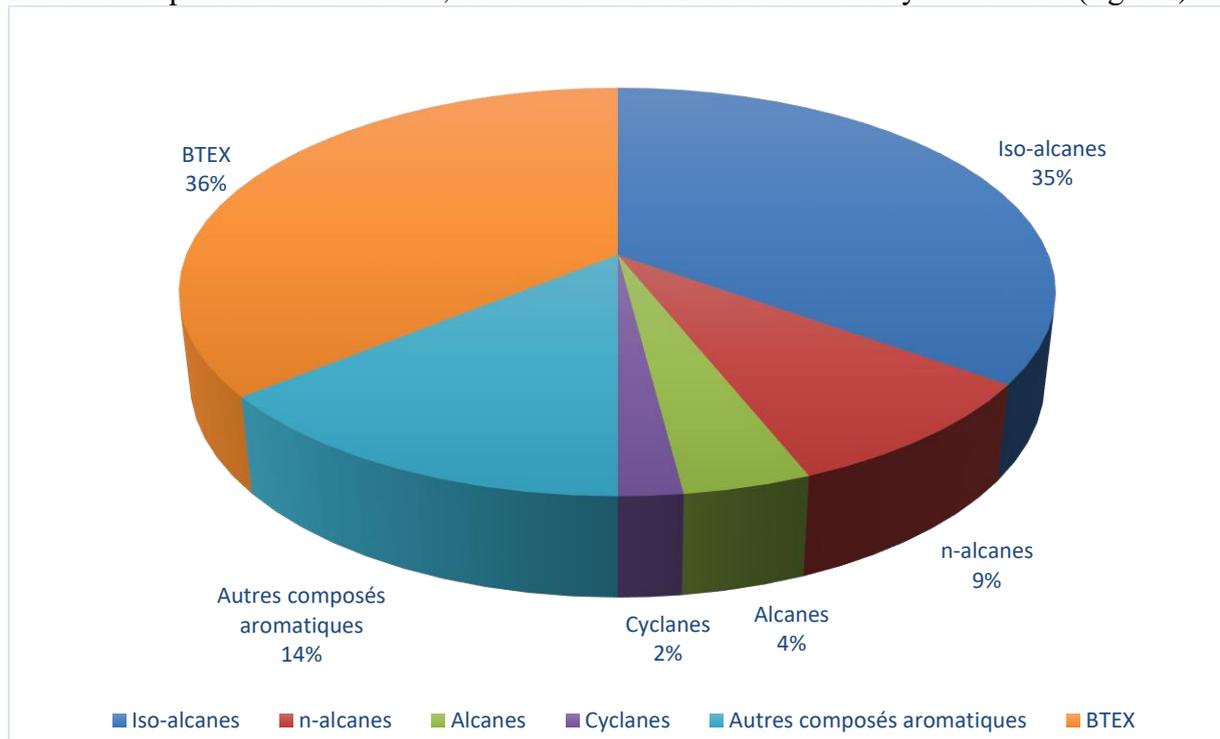
Il s’agit des mélanges complexes d’hydrocarbures pétroliers. La composition en hydrocarbures dépend de facteurs comme l’origine du pétrole brut soumis au raffinage et les conditions de raffinage.

En outre, divers additifs sont ajoutés en petites quantités (voire en traces) pour améliorer les propriétés techniques des carburants : produits antidétonants, anti oxydants, antigels, substituts du plomb et colorants (Muck, 2007).

**I.2.1.1. Essences**

D’après Marchal et al. (2003), les essences sont des liquides qui possèdent une grande densité d’énergie dont le nombre de carbone est compris entre 4 et 10.

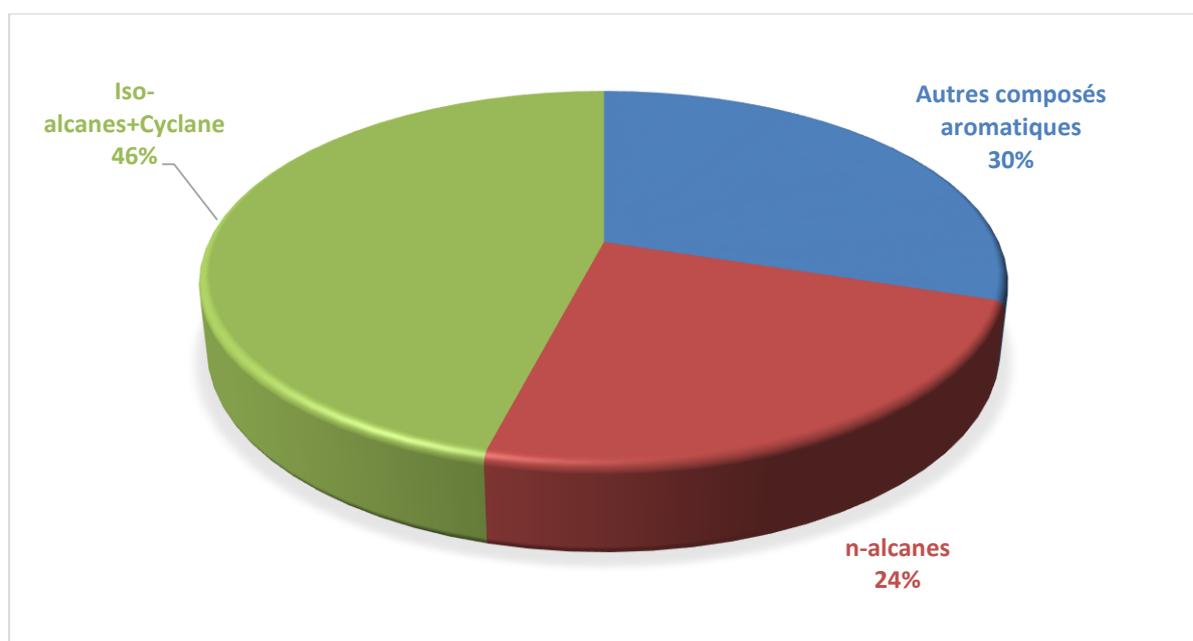
Dans la composition des essences, il existe environ 230 individus d'hydrocarbures (figure 2).



**Fig.2** : composition de l'essence (Marchal et *al.*, 2003).

### I.2.1.2. Gasoil

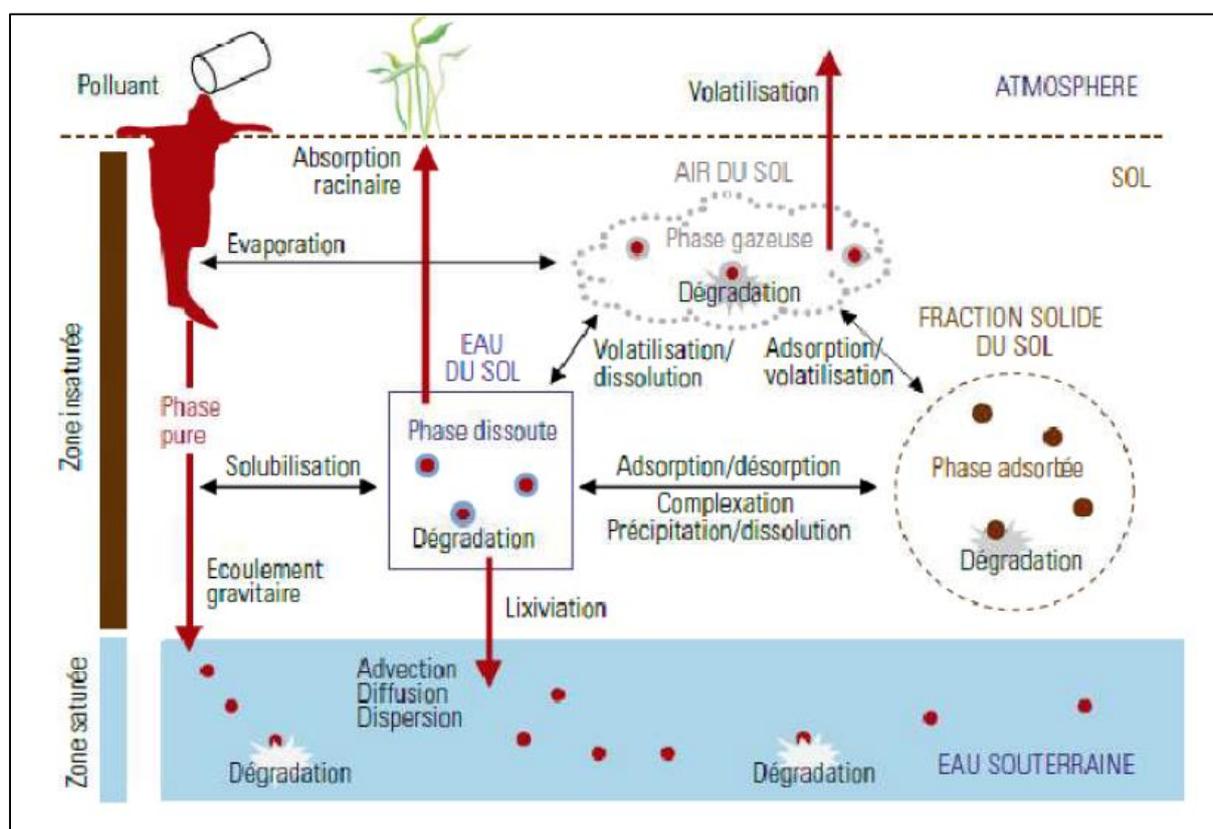
C'est l'un des principaux produits de distillation du pétrole brut (l'intervalle de sa distillation est compris entre 180 et 380°C). Il est, de même composé des trois classes fondamentales d'hydrocarbures (figure 3). Il contient 2000 à 4000 fractions d'hydrocarbures qui ne peuvent être totalement séparées par chromatographie en phase gazeuse (Marchal et *al.*, 2003).



**Fig.3** : composition du gasoil (Marchal et *al.*, 2003).

### I.3. Devenir des hydrocarbures en contact avec l'environnement

D'après Chalansonnet et Joyeux (2005), dès que les hydrocarbures se déversent dans le milieu terrestre, ils sont soumis à des processus d'altération et de modification de leurs propriétés physico-chimique initiale. Les processus qui entraînent les changements physiques sont notamment l'évaporation, l'adsorption, la percolation, la dissolution et la sédimentation, ceux qui entraînent les modifications chimique sont la photo-oxydation et la biodégradation (Bergue et Merienne, 1986) (figure 4).



**Fig.4** : processus influençant le devenir des polluants dans le sol (Maes et al., 2007).

### I.4. Effets écotoxicologiques des hydrocarbures

L'usage des hydrocarbures émet dans l'atmosphère, dans l'eau et dans le sol des quantités importantes de substances dangereuses. Le sol étant le support indispensable aux animaux, aux végétaux terrestres et à l'Homme, toute pollution de celui-ci retentira sur la flore, la faune et sur l'Homme lui-même (Koller, 2004).

### **I.4.1. Effets sur le sol**

#### **I.4.1.1. Effets sur les propriétés physiques et chimiques**

Rouquerol et ses collaborateurs (1987) ont avancé que l'imprégnation des sols par les hydrocarbures a un effet sur les propriétés physiques et cette structure assure une bonne circulation d'air et d'eau dans le sol, elle accroît le pouvoir de rétention ; les sols pollués aux hydrocarbures ont 2% d'humidité de plus que les sols non pollués. Quant aux effets sur les propriétés chimiques, une augmentation de la concentration des éléments tels que le Mn, Zn et le Fe. Une augmentation de la conductivité électrique (Sauchalli, 1969 in Fezani et Khider, 2007). Diminution du pH et la teneur en quelque sel minéral (potassium, calcium et phosphore) du sol contaminé par les hydrocarbures (Chaîneau et *al.*, 1996).

#### **I.4.1.2. Effets sur les propriétés biologiques**

L'apport des hydrocarbures dans le sol accroît de façon considérable l'activité microbienne. La modification de la microflore apparaît au bout du 54<sup>ème</sup> jour après le déversement des hydrocarbures (Oudot, 1975). 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 les champignons, les bactéries et les levures. 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 (Duchaufour, 2001).

### **I.4.2. Effets sur le végétal**

Les effets toxiques des hydrocarbures sur les végétaux sont très divers selon les familles et varient en fonction de la concentration (Colin, 2000). Le concept « phytotoxicité » désigne l'effet de réduire le développement de certains végétaux. Elle se manifeste par une inhibition de la germination des graines et/ou celle de la croissance végétative et du rendement (Chaîneau et *al.*, 1996).

Le contact entre les hydrocarbures et la surface foliaire des végétaux va entraîner des dégâts qui vont dépendre de la nature du produit lui-même et de la dose appliquée (Bergue et Mérienne, 1986).

### **I.4.3. Effets sur l'Homme**

Les hydrocarbures sont susceptibles d'induire l'apparition de cancers chez les organismes qui leur sont exposés par inhalation, ingestion, ou par contact. Les principaux hydrocarbures cancérigènes sont représentés par les HAP, ils constituent une classe de polluants dangereux car beaucoup d'entre eux sont de puissants cancérigènes. Ces derniers une fois absorbés (ou ingérés) par les organismes vivants, ces composés passent dans les réseaux trophiques, où ils présentent divers processus de bioaccumulation voire de bioamplification. La présence des substituants alkyles sur leurs molécules augmente leur cancérigénicité et leur halogénéation accroît leur toxicité aiguë pour les espèces animales (Ramade, 1992).

## II. La réhabilitation des sols pollués aux hydrocarbures

Les sols peuvent être soumis à des traitements chimiques, physiques thermiques ou biologiques. Ces derniers utilisent l'action de microorganismes ou de végétaux pour dépolluer les sols. Jugée rentable et efficace contre l'élimination de composés pétroliers et notamment des hydrocarbures (Mi Jin et *al.*, 2013).

### 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 (Scriban, 1999).

### II.2. 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.3. 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 *insitu* 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 (Masten et Davies, 1997).

### II.4. Les inconvénients des techniques non biologiques

D'après Colombano et *al.* (2010), les techniques de traitements physiques, chimiques et thermiques présentent plusieurs inconvénients et limites.

- Le coût élevé d'excavation et de transport.
- Pratiquement impossible à appliquer dans les sols argileux,.
- L'emploi des solutions parfois toxiques pour l'environnement.
- Consommation énergétique très importante.
- La surface des sols traités sont faible à chaque mise en place.
- La profondeur de traitement maximal est de 6m.
- Les propriétés texturales et de fertilisation des sols sont complètement détruites.
- Ces techniques détruit les populations de micro-organismes et organismes des sols dans et en périphéries des zones traitées.

## II.5. Les techniques biologiques (bioremédiation)

Les procédés biologiques (Tableau I) permettent de dégrader les polluants par l'action des organismes (bactéries, champignons, levures, plantes). Ils 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 bioremédiation des sols semble être une méthode d'intérêt d'un point de vue économique et écologique. Contrairement aux autres procédés (incinération, lessivage du sol...) où les polluants sont souvent transférés et non détruits, la biodégradation peut permettre la minéralisation du xénobiotique, et donc sa disparition. De plus, ces techniques sont particulièrement adaptées pour le traitement des hydrocarbures (Verdin et *al.*, 2004)(tableau I).

**Tableau I** : Les différentes techniques biologiques (bioremédiation).

Les techniques biologiques (bioremédiation)	
<b>phytoremédiation</b>	C'est le pouvoir décontaminant de certaines espèces végétales et des microorganismes présents dans la rhizosphère (Ballerini et Kandecastele, 1999), (Liste et Alexander, 2000).
<b>Bioaugmentation</b>	C'est une technique basée sur l'amélioration de la capacité d'une matrice contaminée (sol ou autre biotope) pour éliminer la pollution par l'introduction de souche ou de consortiums de microorganismes (El Fantroussi et Agathos, 2005).
<b>bioventilation</b>	Implique un système de ventilation permettant de transporter l'oxygène dans le sous-sol, où les organismes sont stimulés afin de métaboliser les composants de carburant (Dupont, 1993).
<b>biostimulation</b>	Un type d'assainissement naturel qui peut améliorer la dégradation des polluants en optimisant les conditions telles que l'aération, l'ajout de nutriments, le pH et le contrôle de la température. (Margesin, et al.,2001).
<b>Biopile et biotertre</b>	Consiste à mélanger des sols excavés avec un amendement (agent structurant). Les contaminants dans les sols sont ensuite biodégradés grâce à la mise en place de conditions idéales (température, taux d'humidité, nutriments, oxygène, pH...) (Colombano et autres, 2010).
<b>Biosparging</b>	Est un traitement qui consiste à stimuler la biodégradation dans la zone saturée et la zone capillaire par l'apport d'oxygène, permet le développement de la population microbienne pour favorise la désorption des polluants (Colombano et autres, 2010).

Parmi les techniques biologiques utilisées pour la décontamination des sols pollués, la biostimulation est la plus utilisée dans le monde :

### III. Biostimulation

La biostimulation est définie comme un type d'assainissement naturel qui peut améliorer la dégradation des polluants en optimisant les conditions telles que l'aération, l'ajout de nutriments, le pH et le contrôle de la température. La biostimulation peut être considérée comme une technique d'assainissement appropriée pour l'élimination des polluants pétroliers dans le sol et nécessite l'évaluation à la fois des capacités de dégradation de la microflore autochtone et des paramètres environnementaux impliqués dans la cinétique du processus *in situ* (Margesin, *et al.*, 2001).

#### III.1. Les avantages de la biostimulation

D'après Adams (2014), les avantages principaux de la biostimulation

- Évite les coûts d'excavation et du transport.
- La biodégradation sera effectuée par des microorganismes indigènes déjà présents qui sont bien adaptés à l'environnement.
- Permet aux additifs d'être facilement accessibles aux microorganismes souterrains
- L'ajout de nutriments favorise la croissance de microorganismes hétérotrophes.

#### III.2. Biodégradation des hydrocarbures

La biodégradation des hydrocarbures est l'un des premiers mécanismes conduisant à la transformation de ces polluants en produits moins toxiques. Les travaux de recherche sur l'oxydation des hydrocarbures par les microorganismes ont montré que ce processus dépend de la structure chimique des hydrocarbures et des conditions environnementales (Fig.5). Les facteurs physico-chimiques influant sur la vitesse de biodégradation microbienne (Atlas, 1981 ; Leahy et Colwell, 1990).

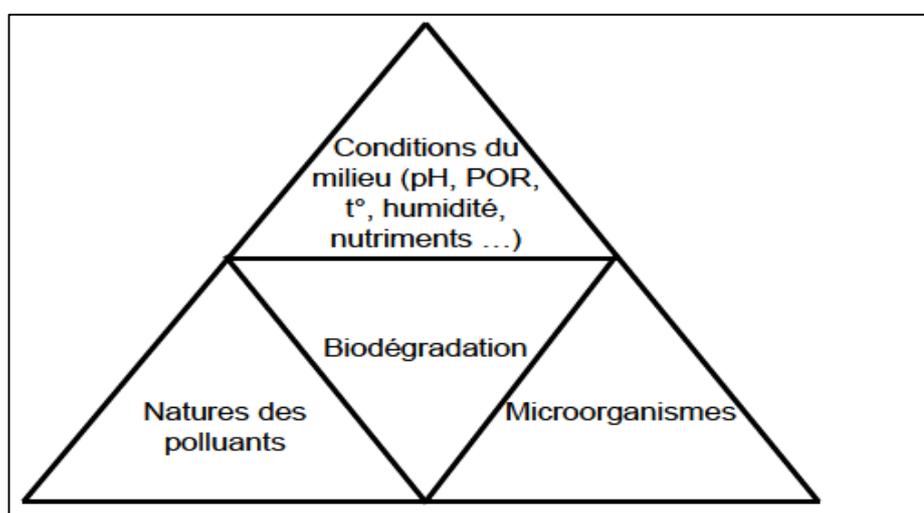


Fig.5 : Triangle de la biodégradation (Suthersan, 1997).

### III.3. Les facteurs environnementaux influençant la biodégradation des hydrocarbures

La biodégradation des hydrocarbures dépend de nombreux paramètres comme la température ou la présence d'eau dans les sols. Ainsi, il est important de connaître la structure et la nature du sol. L'humidité, la salinité, le pH, le taux d'oxygène ainsi que la composition chimique et la concentration aux hydrocarbures. L'apport de nutriments ainsi que la disponibilité en oxygène peuvent faciliter la biodégradation des hydrocarbures (Gaudu, 2014).

#### III.3.1. La température

La température peut avoir un effet marqué sur la dégradation 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).

Une diminution de la température est généralement accompagnée par une diminution de la vitesse de biodégradation qui peut être expliquée par une décroissance de l'activité enzymatique. Les températures plus élevées ont pour effet d'augmenter la vitesse de biodégradation (Sandvik *et al.*, 1986; Song *et al.*, 1990. Walworth *et al.* (2001).

Le maximum de l'activité métabolique des microorganismes est généralement observé à une température comprise entre 30 et 40 °C (Bossard et Bartha, 1984).

#### III.3.2. L'humidité

L'humidité est un paramètre important dans les processus de dégradation des composés organiques simples ou complexes. Il est connu que les faibles humidités, inférieures à 2%, limitent la vitesse de biodégradation (Davis et Madsen, 1996).

Inversement, des teneurs trop élevées vont influencer sur la perméabilité des sols aux gaz et générer des conditions de limitations de transfert d'oxygène et donc de limitation de métabolisme microbien aérobie (Ballerini, 1999).

#### III.3.3. 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) (Baroaah et Borthakor, 1999).

Hunt *et al.* (1973) ont constaté que l'application d'engrais aux sols subarctiques pollués par les hydrocarbures améliorés la dégradation microbiens.

Raymond *et al.* (1976) ont étudié la biodégradation des hydrocarbures dans le sol. Une plus grande dégradation de l'huile a été observée dans les sols recevant l'application d'engrais.

Selon Dibble et Bartha (1979), l'addition d'azote et de phosphore peut être utilisée pour stimuler la dégradation microbienne des hydrocarbures.

### III.3.4. Le pH

Les sols peuvent avoir des valeurs de pH très variables, allant de 2,5 à 11,0. Des valeurs extrêmes de pH, ce qui est le cas pour quelques types de sols, pourraient avoir une influence négative sur la capacité des microorganismes à dégrader les hydrocarbures (Soltani, 2004).

La croissance des bactéries hétérotrophes et des champignons est favorisée par un pH proche de la neutralité (Leahy et Colwell, 1990).

Dibble et Bartha (1979) et Hambrick et *al.* (1980) ont trouvé que la dégradation des hydrocarbures était plus élevée dans des conditions légèrement basiques.

### III.3.5. Oxygène

L'étape initiale du catabolisme des hydrocarbures 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 (Leahy et Colwell, 1990).

Les conditions aérobies sont, par suite, nécessaires pour cette voie d'oxydation microbienne des hydrocarbures dans l'environnement. Théoriquement, 3,5 g d'oxygène sont nécessaires pour l'oxydation complète de 1 g de pétrole (Zobell 1969).

### III.3.6. L'état physique et concentration des hydrocarbures

Les hydrocarbures pétroliers diffèrent par leur susceptibilité aux attaques microbiennes. Ainsi, la vitesse de biodégradation est plus élevée pour les hydrocarbures saturés, viennent ensuite les aromatiques légères, les aromatiques à haut poids moléculaire et les composés polaires ayant la vitesse de dégradation la plus faible (Soltani, 2004).

## III.4. Travaux de recherche sur la biostimulation

**Tableau III:** résultats de quelques travaux de recherche sur la biostimulation

Auteurs et années	Titre	Résumé et résultats
Margesin et Schinner (2001)	Bioremédiation (Atténuation naturelle et Biostimulation) des sols contaminés par un pétrole diesel dans une zone de ski alpin glaciaire.	Etude de la faisabilité de la bioremédiation comme option de traitement pour un sol pollué par l'huile dans une zone glacier alpin. Pour examiner l'efficacité de l'atténuation naturelle et de la Biostimulation, le niveau initial d'hydrocarbures a été réduit de 50 % et 70% dans le sol non fertilisé et fertilisé.
Seklemova et <i>al.</i> (2001)	Biostimulation-based bioremediation of diesel fuel: field démonstration	La bioremédiation ex situ du sol de la forêt cynamiquelixivié à la contamination initiale par huile diesel de 6000 mg kg <sup>-1</sup> , 4000 mg kg <sup>-1</sup> et 2000 mg kg <sup>-1</sup> a été étudiée après biototropes avec des engrais inorganiques. Il a été constaté que les nutriments ajoutés n'avaient aucun effet sur la décontamination des sols pollués.

Coulon et dellile (2003)	Effects of biostimulation on growth of indigenous bacteria in subantarctic soil contaminated with oil hydrocarbons.	Effets de traitement de Biostimulation sur la croissance de la bactérie indigène d'un sol subantarctique contaminé par les hydrocarbures. Les résultats démontrent une réponse significative du consortium microbien du sol étudié. Les deux types de contamination entraînent une large augmentation du nombre de bactéries hétérotrophes et spécifiques.
Fatima et al. (2005)	Bioremédiation comparative des sols contaminés par le diesel par atténuation naturelle, Biostimulation et Bioaugmentation.	cette étude est pour but d'évaluer les trois techniques sur la dégradation des hydrocarbures pétroliers totaux (TPH) dans le sol. En outre, le nombre de microorganismes dégradant le diesel présents et l'activité microbienne. les trois traitements ont montré des effets différents sur la dégradation de la lumière (C12-C23) et des fractions lourdes (C23-C40) de TPH dans les échantillons de sol une plus grande dégradation de la lumière (72,7%) et des fractions lourdes (75,2%) de TPH.
Tanee et Kinako (2008)	Comparative studies of biostimulation and phytoremediation in the mitigation of crude oil toxicity in tropical soil.	Etudes comparative de la Biostimulation à l'aide des matériaux locaux et phytoremédiation dans l'atténuation de la toxicité du pétrole brut sur le sol
Ndimele et Ndimele (2013)	Effets comparatifs de Biostimulation et phytoremédiation sur la dégradation du pétrole brut et de l'absorption par la jacinthe d'eau ( <i>Eichhornia crassipes</i> [Mart.] Solms)	Cette étude a examiné les effets de la modification des engrais inorganique (urée) sur la dégradation du pétrole brut et de l'absorption par la jacinthe d'eau ( <i>Eichhornia crassipes</i> )
Adams et al. (2015)	Bioremediation, Biostimulation and Bioaugmentation: A Review.	Cette étude se concentre sur ces technologies visent la manipulation éventuelle des processus d'assainissement visant à rendre la Bioremédiation techniquement et économiquement viable pour un traitement complet des sols contaminés par les hydrocarbures pétroliers.
Samuel et Agarry (2017)	L'optimisation statistique et les études cinétiques de la Bioremédiation améliorée de l'eau marine contaminée par l'huile brute en utilisant une stratégie combinée d'adsorption-Biostimulation.	La stratégie combinée d'hypothèse d'absorption (en utilisant les agents de modification) a entraîné un taux de biodégradation plus élevé constant, $k$ (0.0443 - 0.1183 jour <sup>-1</sup> ) et une demi-vie de biodégradation inférieure, $t_{1/2}$ (5.86 - 15.6 jours) de la biodégradation que la bioatténuation naturelle Avec moins $k$ (0,0144 jour <sup>-1</sup> ) et plus élevé $t_{1/2}$ (48,8 jours). Par conséquent, les agents de modification ont une application potentielle efficace comme outil de stratégie combinée d'adsorption-biostimulation dans l'assainissement de l'environnement aquatique contaminé par des hydrocarbures bruts.
MartínezÁlvarez et al. (2017)	Bioremediation of hydrocarbon-contaminated soils in cold regions: Development of a pre-optimized biostimulation biopile-scale field assay in Antarctica.	Cette étude montre que La stratégie appliquée était suffisamment efficace pour effectuer un essai sur le terrain en Antarctique qui réduisait considérablement les niveaux de contamination des sols; Et prouver que RSM représente un outil fondamental pour l'optimisation des niveaux de nutriments à appliquer lors de la bioremédiation des sols froids contaminés par le carburant.

DedeHeriYuliYantoa et al. (2017)	Biostimulation périodique avec addition d'éléments nutritifs et Bioaugmentation à l'aide de cultures mixtes de champignons pour maintenir l'oxydation enzymatique pendant la Bioremédiation prolongée des microcosmes du sol huileux.	Les résultats obtenus ont montré que le PBB a stimulé la biodégradation des huiles brutes et tous les systèmes de co-culture fongiques utilisés dans cette étude ont montré des activités enzymatiques plus fortes (C12O, MnP et laccase) après PBB. En outre, le PBB utilisant trois souches fongiques a présenté la dégradation la plus efficace, et il a été possible de maintenir des activités enzymatiques après une bioremédiation prolongée. Cette étude offre une stratégie importante pour remédier aux environnements contaminés par les PBP par PBB en utilisant des cultures fongiques mixtes, en particulier pour la biodégradation prolongée.
Al-Mailem et al. (2017)	Biostimulation des microorganismes indigènes pour la bioremédiation des microcosmes hypersaliens huileux du Golfe arabe Les régions koweïtiennes.	Traiter les microcosmes avec des cations et avec des produits naturels contenant des vitamines, améliorer les nombres microbiens et l'élimination de l'huile. L'efficacité des cations dans l'élimination du pétrole était dans l'ordre ; Fe <sup>3+</sup> + (94%) > Ca <sup>2+</sup> + (89%) > Mg <sup>2+</sup> + (85%) > K <sup>+</sup> + (82%). Ainsi, les microcosmes huileux modifiés avec des cations trivalents et divalents ont perdu la majeure partie de l'huile, et ceux modifiés avec des levures commerciales et avec du sang animal, en tant que sources de vitamines, ont perdu respectivement 78% et 72% d'huile.

#### IV. L'optimisation mathématique

L'optimisation est une branche des mathématiques cherchant à modéliser, analyser et résoudre analytiquement ou numériquement les problèmes qui consiste à maximiser une fonction sur un ensemble. On décompte plusieurs techniques et méthodes d'optimisation, mais la méthode des algorithmes est très efficace en calcul. Les algorithmes génétiques (AG) se révèlent être des outils d'optimisation très puissants, même pour des problèmes complexes.

##### IV.1. Les algorithmes génétiques

###### IV.1.1. Définition et leurs évolutions

Les algorithmes génétiques sont des algorithmes d'optimisation s'appuyant sur des techniques dérivées de la génétique et des mécanismes d'évolution de la nature : croisements, mutations, sélections, etc... Ils appartiennent à la classe des algorithmes évolutionnaires :

En 1860 Charles Darwin publie son livre intitulé *L'origine des espèces au moyen de la sélection naturelle ou la lutte pour l'existence dans la nature*. Dans ce livre, Darwin rejette l'existence «de systèmes naturels figés», déjà adaptés pour toujours à toutes les conditions extérieures, et expose sa théorie de l'évolution des espèces : sous l'influence des contraintes extérieures, les êtres vivants se sont graduellement adaptés à leur milieu naturel au travers de processus de reproductions.

En 20<sup>ème</sup> siècle la mise en évidence de l'existence de mutations génétiques. Les problèmes de traitement de l'information sont résolus de manières figés : lors de sa phase de conception, le système reçoit toutes les caractéristiques nécessaires pour les conditions d'exploitations connues au moment de sa conception ce qui empêche une adaptation à des conditions d'environnement inconnues, variables ou évolutives. Les chercheurs en informatique étudient

donc des méthodes pour permettent aux systèmes d'évoluer spontanément en fonction de nouvelles conditions.

En 1966 L. J. Fogel crée la programmation évolutionnaire.

En 1973 I. Rechenberg fonde la stratégie d'évolution.

Dans les années 1960, John Holland étudie les systèmes évolutifs et, en 1975, il introduit le premier modèle formel des algorithmes génétiques (*the canonical genetic algorithm AGC*) dans son livre *Adaptation in Natural and Artificial Systems*. Ce modèle servira de base aux recherches ultérieures.

En 1989 David Goldberg publie un ouvrage de vulgarisation des algorithmes génétiques.

Dans les années 1990 la programmation d'une panoplie d'algorithmes génétiques transcrits en C++, appelée GALib. Cette librairie contient des outils pour des problèmes d'optimisation en utilisant les AG. Elle est conçue pour servir de support de programmation.

#### IV.1.2. principes

Ces algorithmes travaillent sur toute une population de chaînes, afin d'effectuer des opérations de recherche sur un domaine de possibilité plus important. Ils diffèrent fondamentalement des méthodes classiques d'optimisation, par la technique de codage des paramètres et l'utilisation de règles de transition probabilistes. La population initiale, choisie au hasard, est constituée d'individus représentant des solutions plus ou moins adaptées. Son évolution, d'une génération à une autre, se fait au moyen de trois opérateurs principaux : la sélection, le croisement et la mutation. Lorsque le codage des individus est du type réel, le codage et le décodage des paramètres n'est plus nécessaire. Le temps de calcul se trouve ainsi réduit car les paramètres apparaissent directement dans le chromosome. Pour un codage réel, plusieurs types de croisement sont possibles. La mutation représente le phénomène, bien qu'assez rare, relatif aux altérations qui peuvent affecter certaines informations héréditaires pendant la phase de reproduction. Les types de mutation les plus connus sont la mutation uniforme et la mutation gaussienne (Christelle, 2007).

# CHAPITRE 2

- MATERIELS ET METHODES
-

## Chapitre 2 : Matériel et méthodes

Notre travail a pour but d'optimiser la biodégradation des hydrocarbures dans le sol par biostimulation, nous avons effectué une variation de trois paramètres (température, humidités et doses de fertilisants). Il a été mené au laboratoire de pathologie des écosystèmes à l'Université MOULOUD MAMMERI de Tizi ousou.

### I. Matériel

#### I.1. Matériel biologique

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est le maïs (*Zea mays.*), qui est une plante tropicale herbacée annuelle de la famille des graminées (Poacées), choisi pour sa grande sensibilité aux polluants. Elle a été utilisée pour quantifier le degré de décontamination du sol pollué aux carburants.

#### I.2. Les fertilisants

##### I.2.1. Dipotassium phosphate

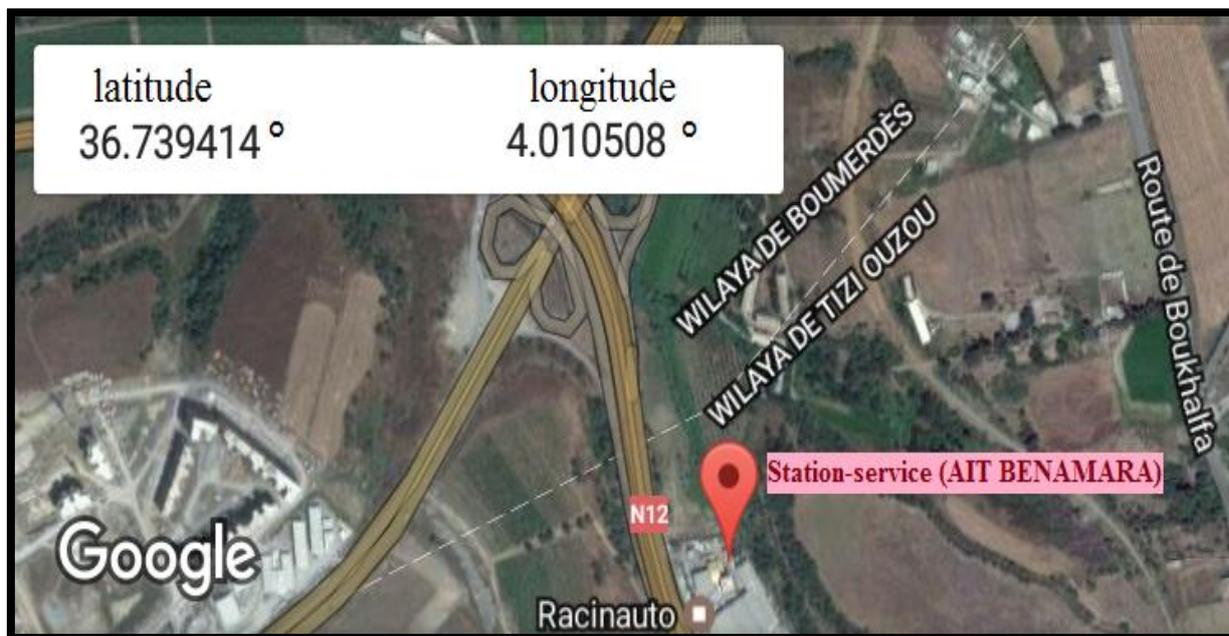
Le dipotassium phosphate, est un sel de formule  $K_2HPO_4$ . Il est une source de minéraux très soluble dans l'eau qui est souvent utilisé comme engrais, additif alimentaire et agent tampon. C'est une source commune de phosphore et de potassium.

##### I.2.2. Sulfate d'ammonium

Le sulfate d'ammonium est un corps chimique ionique de formule  $(NH_4)_2SO_4$ . Il s'agit d'un sel d'ammonium  $NH_4^+$  et d'acide sulfurique  $H_2SO_4$  qui possède de très nombreuses applications, Il est notamment utilisé comme engrais et pour accélérer le processus en fermentation.

#### I.3. Le sol

Le sol a été prélevé d'une zone contaminée à Boukhalfa dans une station-service qui se situe à  $36^\circ$  de latitude et  $4^\circ$  de longitude, elle est implantée 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 (Figure 6). La contamination est due au déversement du réservoir de stockage souterrain qui libère des carburants (gasoil, et essence super) par le trop-plein.



**Fig.6** : Image satellite de la station-service de Boukhalfa (Google maps, 2017).

Selon (Baize, 1989) les caractéristiques présentées dans le tableau IV, montrent que ce sol est de pH neutre, non salé et riche en carbone ce qui permet le développement des micro-organismes. Cependant, il est moyennement pourvu en azote et en phosphore. Le sol utilisé est de texture limono-argileuse avec une faible activité biologique.

**Tableau IV** : les caractéristiques de sol utilisé dans l'expérimentation (INRA,2014).

Caractéristiques du sol initial	Résultats
pH	7.2
Carbone organique	8.84 %
Azote total	0.3%
C /N	29.47
Phosphore assimilable P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	5.46 ppm (mg P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> /Kg de sol)
Salinité	0.74 mmhos /cm
Texture	limono- argileuse

## II. Méthodes

### II.1. Méthode d'échantillonnage

La méthode de prélèvement du sol choisie est l'échantillonnage en diagonale. Plusieurs prélèvements ont été effectués dans la parcelle contaminée à une profondeur de 20 cm où la population et l'activité microbienne sont plus importantes.

### II.2. Protocole d'application de la biostimulation

L'étude consiste à optimiser l'efficacité de la microflore indigène à dégrader les hydrocarbures présents dans le sol en faisant varier les facteurs de l'environnement: température, humidités et doses des fertilisants. Trois températures 15, 25 et 35°C, trois humidités 50, 70 et 90% de la capacité au champ du sol et trois doses de fertilisants (0.38 g  $K_2HPO_4$  + 2.20g  $(NH_4)_2SO_4$ , 0.77g  $K_2HPO_4$  + 4.41g  $(NH_4)_2SO_4$  et 1.54g  $K_2HPO_4$  + 8.82g  $(NH_4)_2SO_4$ ) ont été testées.

Les échantillons de sol pollué ont été homogénéisés et tamisés avec un tamis à mailles de 5mm de diamètre.

Le sol est réparti sur des flacons en verre de 250ml contenant à raison de 200g de sol par flacon. Après avoir apporté les fertilisants à différentes doses et ajusté l'humidité aux valeurs souhaitées, les flacons sont mis à incuber avec, à l'intérieur un tube à hémolyse contenant 5 ml d'une solution de NaOH 0,5N (figure 7.a).

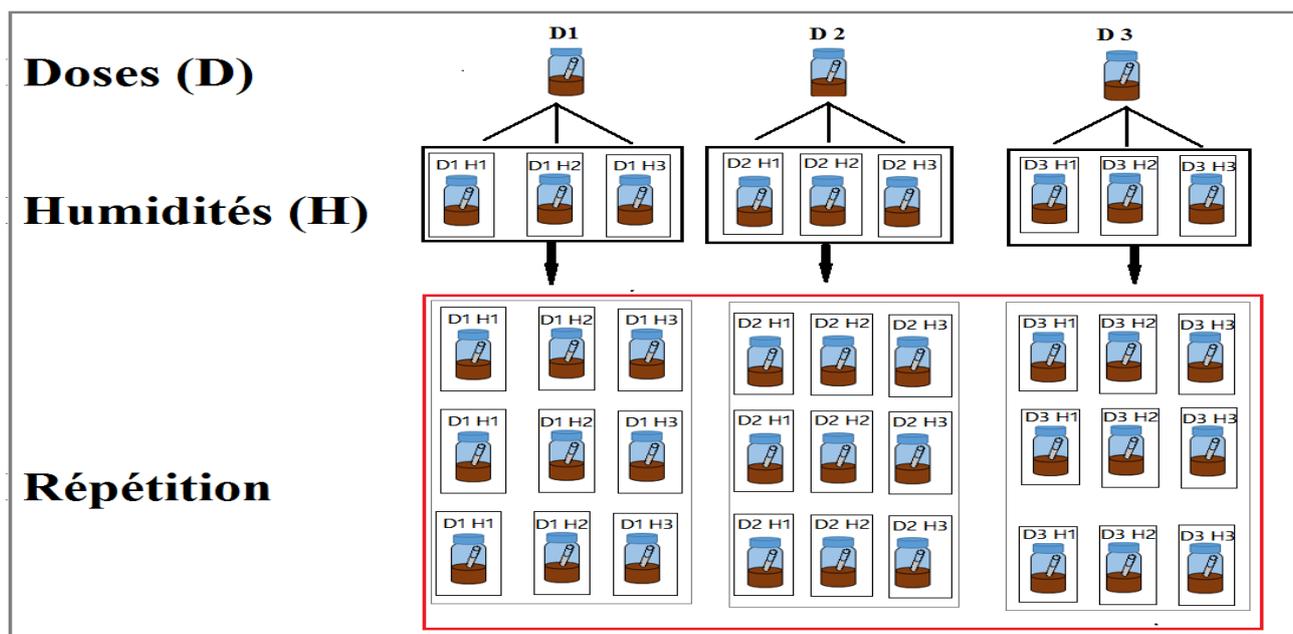


Fig.7.a : dispositif expérimental de la biostimulation.

Les flacons sont répartis en trois lots qui ont été incubés pendant 14 jours aux températures indiquées précédemment. Chaque combinaison des trois facteurs est répétée trois fois (figure7.b)

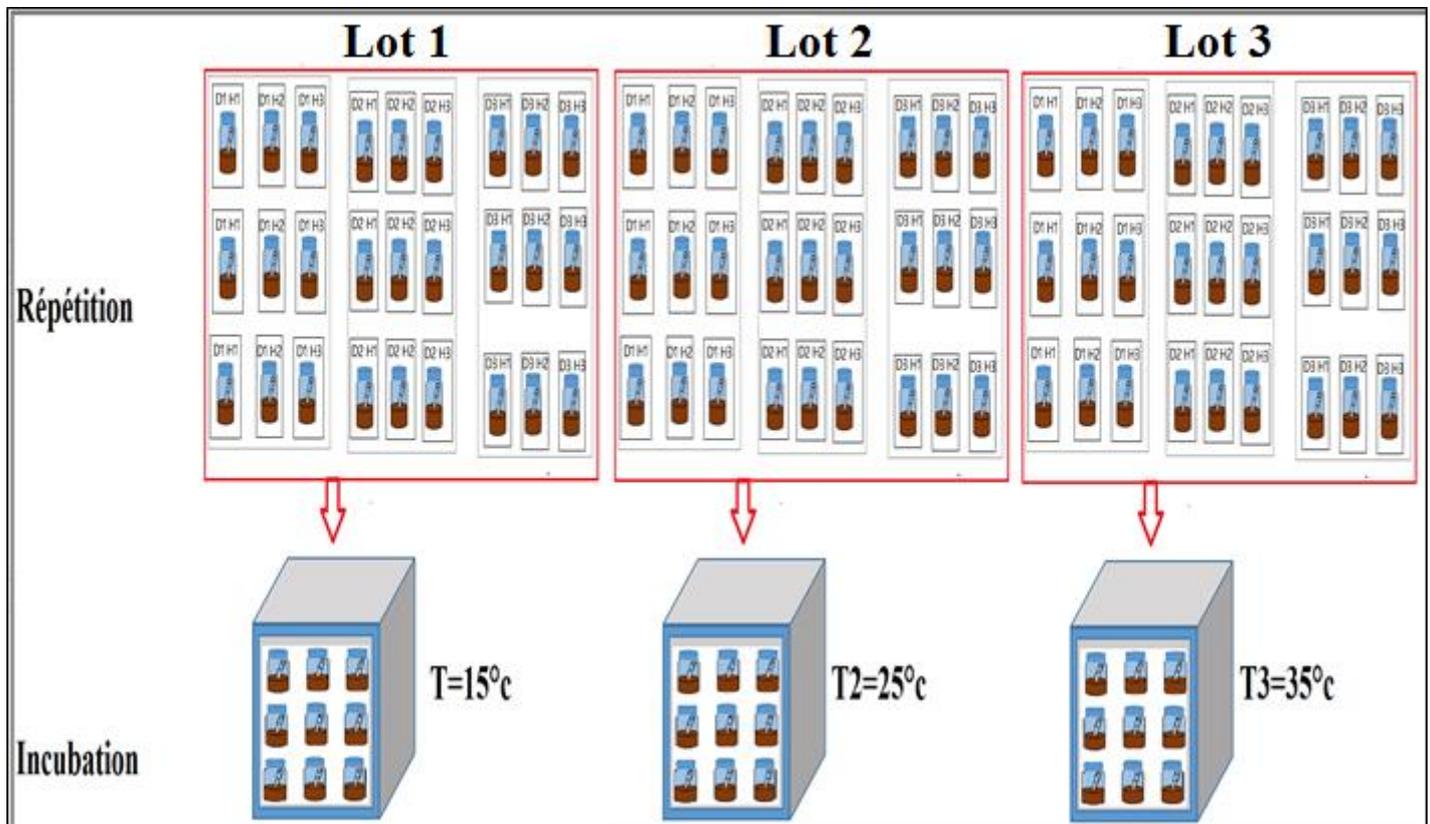


Fig.7.b : Schéma récapitulatif du dispositif expérimental de la biostimulation.

### II.3. Mesure du pH

A la fin de l'incubation, le pH est mesuré sur une suspension du sol dans l'eau au rapport de 2/5 (masse/volume) ayant décanté pendant deux heures, avec un pH mètre du type HI 2210.

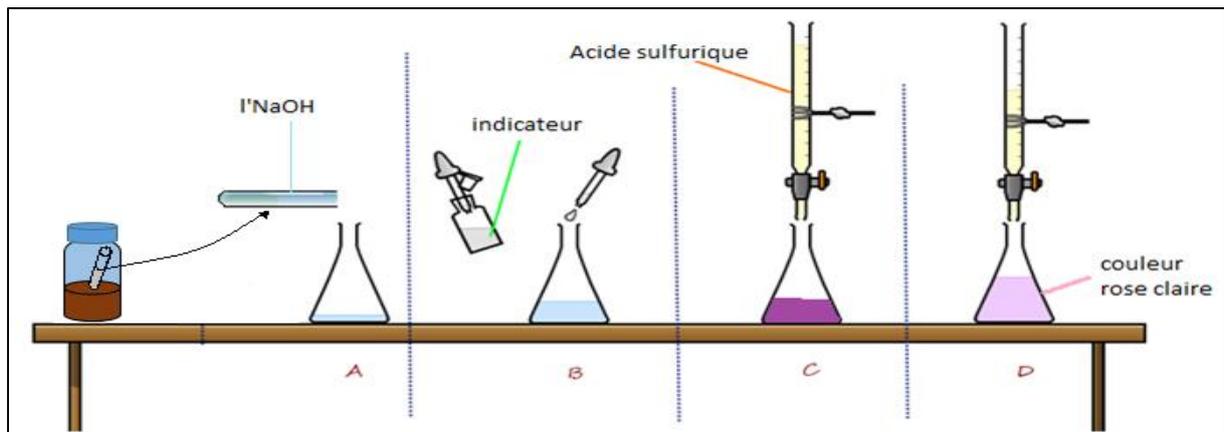
### II.4. Mesure de la conductivité électrique (CE)

La méthode utilisée est celle de l'extrait aqueux au rapport 1/5 (sol/eau). Après agitation et décantation, la solution est filtrée pour obtenir un liquide clair dans lequel on introduit l'électrode du conductimètre. La valeur lue sur un conductimètre de type (WTW D 1820 WEILHEIM LF 42) en mmohs/cm est utilisée pour calculer la CE en tenant compte de la constante de cellule et de la température de l'extrait.

$$\text{CE} = \text{Valeur lue} \times \text{Constante de cellule} \times \text{Chiffre de correction}$$

### II.5. Mesure de l'activité biologique globale

Elle est évaluée par la mesure du CO<sub>2</sub> dégagé lors de la respiration des microorganismes du sol pendant les 14 jours d'incubation. Le CO<sub>2</sub> dégagé est fixé par la solution de NaOH contenue dans le tube à hémolyse introduit dans le flacon au début de l'expérience. La soude n'ayant pas réagi avec le CO<sub>2</sub> est titré avec de l'acide sulfurique 0,25N en présence de quelques gouttes de phénolphtaléine (Figure 8).



**Fig.8 :** titrage acide-base pour quantifier le CO<sub>2</sub> dégagé par la respiration des microorganismes du sol

Le taux du carbone dégagé a été calculé avant traitement du sol contaminé, un taux de 1.04mg été obtenu. Le taux de minéralisation est ensuite calculé comme suit :  $TM\% = (C-CO_2 / COT) \times 100$ .

### II.6. Test de germination

Le but de ce test est d'évaluer, par le taux de germination des graines du maïs, l'effet du traitement et le degré de la remédiation du sol pollué.

Ce test consiste à semer 20 graines du maïs dans 50g de sol après incubation, dans les différents échantillons. Après deux semaines, le taux de germination est calculé par la formule suivante :

$$\text{Taux de germination} = \frac{\text{nombre de graines germées}}{\text{nombre de graines semées}} \times 100$$

Il est à signaler qu'un test de germination a été réalisé dans les mêmes conditions sur le sol contaminé avant l'application des traitements. Un taux de 18,33 % été obtenu dans ce sol-là.

## **II.7. Méthodes mathématiques**

Le traitement des résultats obtenus a été réalisé avec le logiciel R 3.0.2 la signification a été considérée au niveau de probabilité  $p < 0.05$  pour les tests statistiques appliqués.

### **II.7.1. Analyse statistique**

Les résultats obtenus ont été soumis à une analyse de la variance à trois critères de classification (température, humidité et dose). Dans les cas où la variable analysée ne suit pas une loi normale, nous avons appliqué le test de Kruskal-Wallis. Un test post-hoc est appliqué dans les deux cas pour établir les groupes homogènes lorsque les différences observées entre les moyennes étaient significatives.

### **II.7.2. Optimisation mathématique**

Les résultats du test de germination ont fait l'objet d'une optimisation mathématique en utilisant les algorithmes génétiques. Une régression multiple est d'abord calculée, et la fonction obtenue est optimisée pour déterminer les solutions optimales, c'est-à-dire les combinaisons des doses de fertilisant, des températures et des humidités qui donnent les meilleurs taux de germination.

# CHAPITRE 3

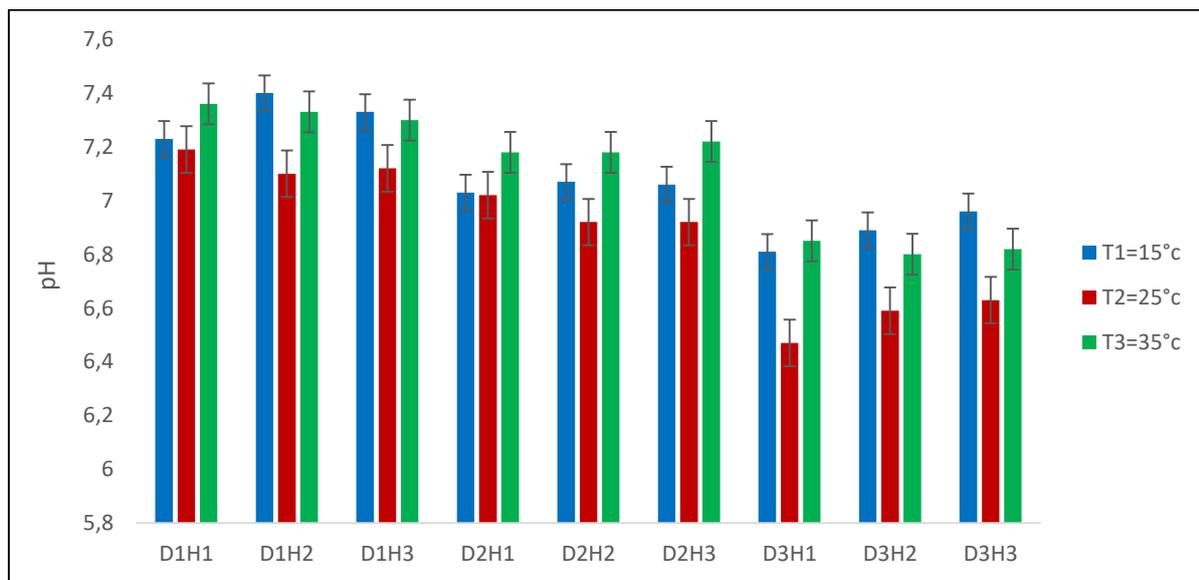
- RESULTATS ET DISCUSSION
-

## I. Résultats

Afin d'optimiser la biodégradation des hydrocarbures dans le sol par biostimulation, nous avons fait varier la température (T1=15°C, T2=25°C et T3=35°C), l'humidité du sol (H1= 50%, H2=70% et H3=90%), la dose des fertilisants (D1= 0.38 g K<sub>2</sub><sup>2+</sup>HPO<sub>4</sub> + 2.20g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, D2= 0.77g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> + 4.41g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et D3= 1.54g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> + 8.82g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

### I.1. Le pH

Les résultats de la mesure du pH des sols traités sont représentés par la figure 9.



**Fig.9 :** pH des sols traités.

Nous remarquons que le pH des différents sols traités varie entre 6,47 et 7,4. Selon la norme d'interprétation du pH (Baize, 1989), le pH des différents sols traités est neutre, sauf le sol (T2D3H1) qui a un pH de 6.44 c'est-à-dire faiblement acide. Une légère diminution du pH a été enregistrée par rapport au pH initial du sol (7.2).

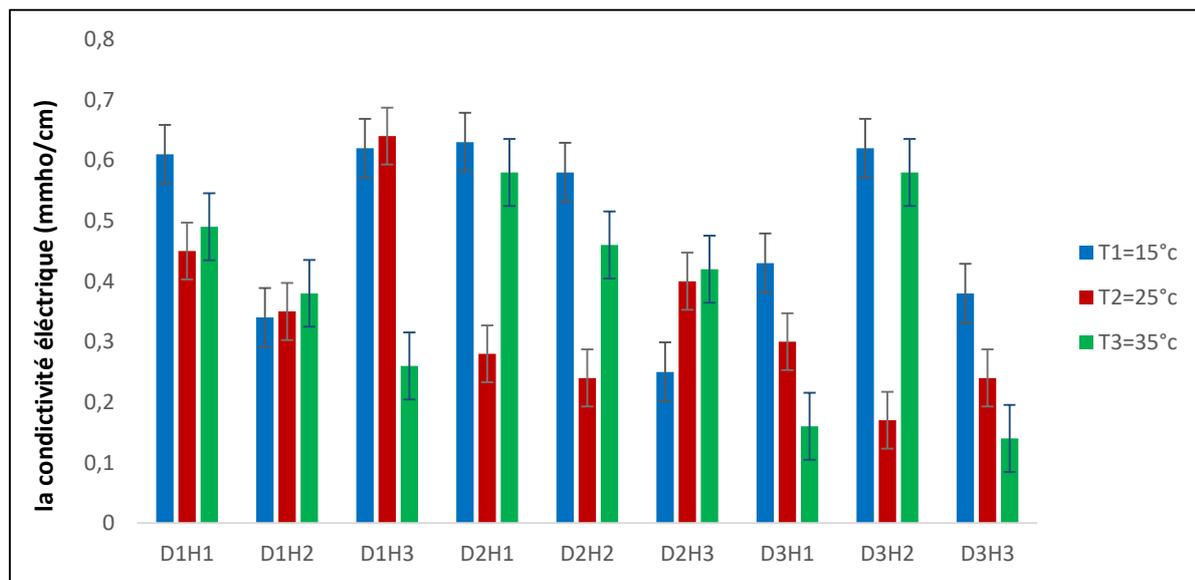
Le test de Kruskal-Wallis montre qu'il y a une différence hautement significative pour le paramètre température avec une P-value de 0.002086, une différence très hautement significative pour le paramètre dose avec une P-value de  $1.06 \cdot 10^{-10}$  et une différence non significative pour l'humidité avec une P-value de 0.7686574 (Annexe 02).

Le post-hoc de Kruskal-Wallis a fait ressortir deux groupes homogènes pour la température ; T3 et T1 sont classées dans le groupe A, T2 classée dans le groupe B. Pour le paramètre, dose trois groupes homogènes ont été obtenues ;

D1 classée dans le groupe A, D2 dans le groupe B et D3 dans le groupe C avec le pH le moins élevé (Annexe 02). Autrement dit, plus la température augmente, plus le pH du sol traité diminue.

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

La conductivité électrique nous renseigne sur le degré de salinité de la solution du sol et sa teneur en sels dissouts. Les résultats de la mesure de la conductivité électrique des différents sols traités sont représentés par la figure 10.



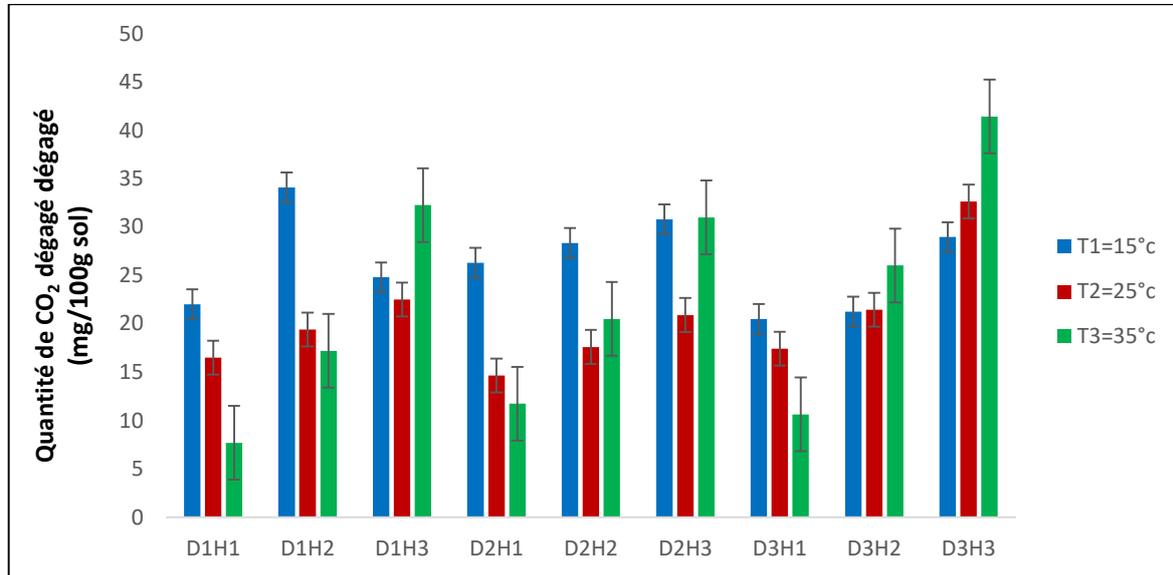
**Fig.10** : La conductivité électrique des différents sols traités.

L'ensemble des valeurs de la CE des différents sols traités sont inférieures à la valeur de conductivité électrique initiale du sol avant traitement (0.74 mmho/cm). Selon Baize (2000), tous les sols traités sont non salin.

Le test de Kruskal-Wallis révèle une différence non significative pour les trois paramètres température (P-value =0.3884), dose (P-value =0.3294) et humidité (P-value =0.4926) (annexe 02).

### I.3. L'activité biologique globale

Les résultats de la respirométrie, exprimés en quantité de CO<sub>2</sub> dégagé par la respiration des microorganismes dans les différents sols traités sont représentés par la figure 11.



**Fig. 11** : la quantité de CO<sub>2</sub> dégagé dans différents sols traités.

Une assez grande variation a été observée pour la quantité de CO<sub>2</sub> dégagée, elle est comprise entre 7,7 et 41,43 mg /100g de terre, ce qui correspond à des taux de minéralisation de 2,07 à 11,18 mg. La valeur la plus importante est enregistrée dans le sol traité par la D3 contenant 90% d'humidité et incubé à la température de 35°C (Annexe 01). Par rapport aux conditions initiales, la quantité du CO<sub>2</sub> dégagée dans tous les sols traités est supérieure au résultat obtenu dans le sol avant traitement (1,04 mg).

Le test de l'ANOVA a montré qu'il y avait une différence très hautement significative pour les paramètres température avec une P-value égale à  $1,04 \times 10^{-7}$  et humidité avec une P-value égale à  $2,2 \times 10^{-16}$  et une différence non significative pour la dose avec une P-value égale à 0,16058 (annexe 02).

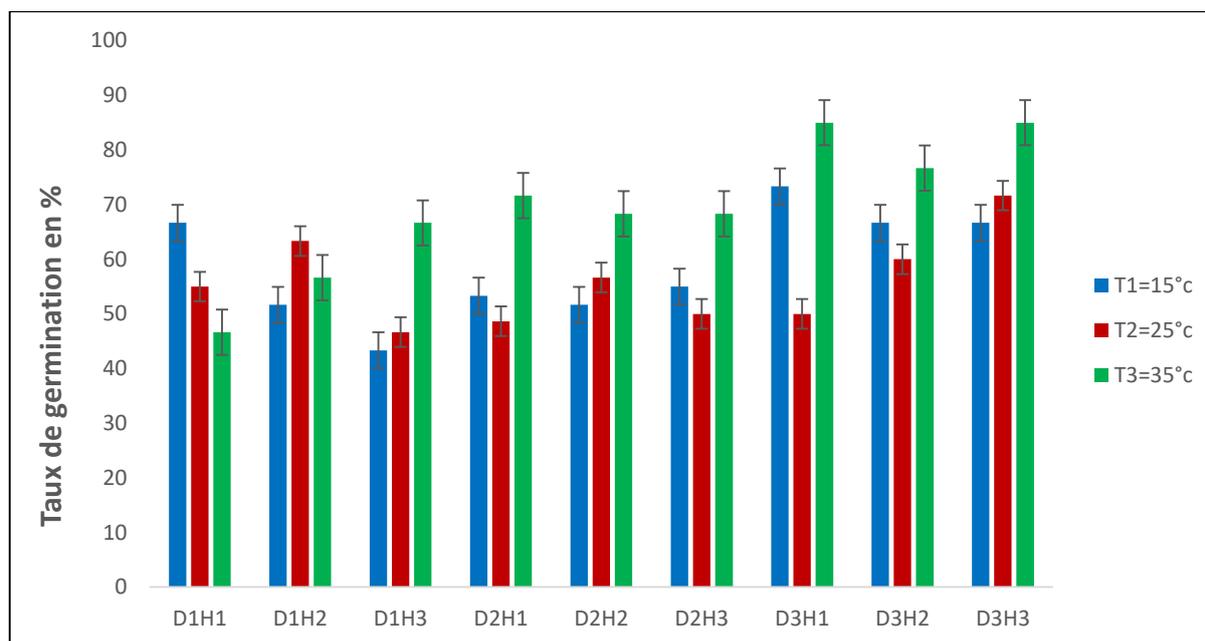
Les résultats du test Newman-Keuls ont fait ressortir deux groupes homogènes pour le paramètre température ; la T1 est classée dans le groupe A avec un taux de CO<sub>2</sub> dégagé élevé suivie des T3 et T2 classées dans le groupe B. Deux groupes ont été obtenus pour le paramètre dose, la D3 classé dans le groupe A avec un taux important, suivie de D2 et D1 classée dans groupe B. Pour le paramètre humidité, trois groupes homogènes ont été obtenus A, B et C qui comprennent respectivement H3, H2 et H1. La quantité de CO<sub>2</sub> dégagé est d'autant plus élevée

que la dose de fertilisants augmente et que l'humidité diminue dans le sol (Annexe 02).; H3 classée dans le groupe A, H2 dans le groupe B et H1 classé dans le groupe C (Annexe 02).

#### I.4. Taux de germination :

Ce test été réalisé afin d'évaluer l'efficacité du traitement par biostimulation et le degré de remédiation du sol pollué par des graines de maïs.

Les résultats du test de germination des différents sols traités sont représentés par la figure 10.



**Fig.11 :** taux de germination des graines de maïs dans les différents sols traités.

Nous avons remarqué que dans tous les sols traités, le taux de germination a dépassé le taux observé dans le sol avant qu'il ne soit traité (18.33%). La majorité des taux obtenus ont dépassé les 50%, treize d'entre eux sont supérieurs à 60%. C'est dans le sol traité avec la dose la plus élevée (D3) contenant 90% d'humidité et incubé à 35°C que le taux de germination a atteint la valeur la plus élevée (85%).

Les résultats de l'ANOVA pour le taux de germination montrent que la température et la dose ont eu un effet très hautement significatif avec des P-values respectives de  $7.163 \times 10^{-11}$  et  $4.03 \times 10^{-19}$ . En revanche l'humidité n'a pas eu d'effet significatif sur la germination des graines de maïs (annexe 02).

Le test de Newman-Keuls a fait ressortir deux groupes homogènes pour le paramètre température, T3 est classée dans le groupe A avec un taux de germination très élevé, T1 et T2

sont classées dans le groupe B. Deux groupes ont été obtenus pour le paramètre dose, D1 classée dans le groupe A, avec un taux moyen de 70.56 suivie de D2 et D3 classées dans le groupe B avec des taux de germination moins important (58.15% pour D2 et 57.41% pour D3 en moyenne) (Annexe 02).

**I.5. L'optimisation mathématique**

La régression multiple calculée a conduit à la fonction :

$$\text{Germination} = (0.537 \times \text{température}) + (0.0083 \times \text{dose P}) + (13.646 \times \text{humidité \%}) + 35.059$$

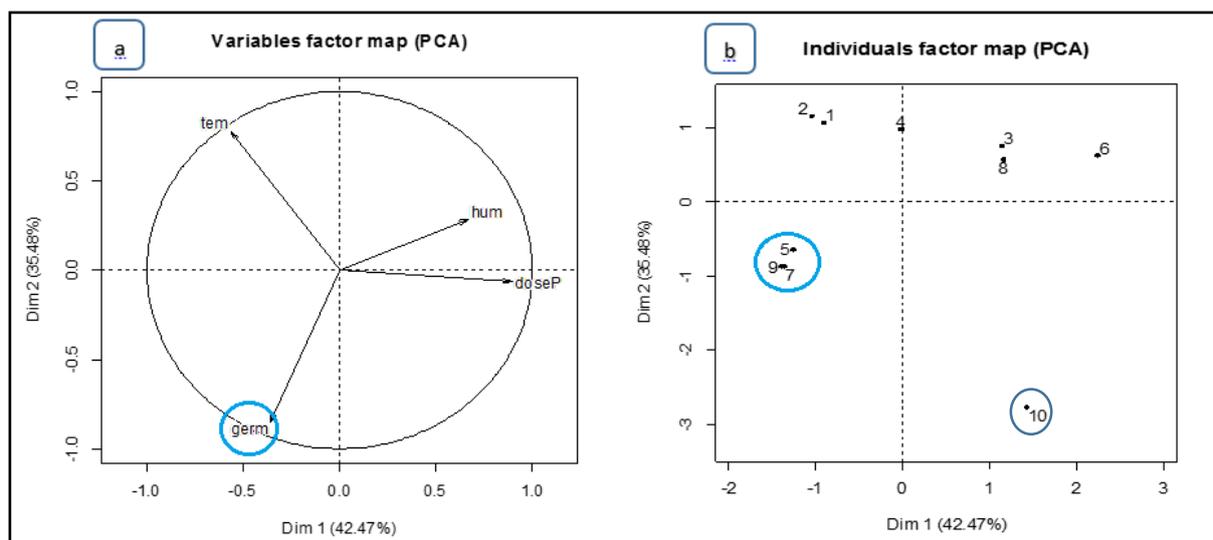
C'est cette fonction qui a été optimisée en utilisant les algorithmes génétiques.

Les résultats optimaux donnés par le logiciel R sont les suivants (tableau V) :

**Tableau V** : Les résultats optimal donnés par le logiciel R.

	Tem	Hum	Dose P	Dose N	Germ
1	29.46063	64.54553	0.9490503	5.4354699	82.30782
2	29.46474	64.80406	0.9430192	5,4009281	82.30616
3	29.38489	64.23898	0.9927943	5,6860037	82.17191
4	29.46338	64.44456	0.9753027	5,6860037	82.31128
5	29.42314	64.04431	0.95271	5,45643	82.69105
6	29.35813	69.16283	0.9803174	5,6145451	82.39018
7	29.41785	64.0371	0.9511362	5,4474164	82.74723
8	29.42229	65.60515	0.9933484	5,6891772	82.37851
9	29.41447	63.98641	0.9497941	5,4397298	82.73835
10	29.16807	64.42819	0.9875127	5,6557545	82.71306

Ces solutions optimales ont fait l'objet d'une acp dont les résultats sont présentés dans la figure 12.



**Fig.12** : Résultats de l'ACP des solutions optimales du taux de germination, a : cercle des corrélations, b : projection des individus.

Les résultats de l'ACP montre que la germination est inversement proportionnelle avec l'humidité et la température, pour les individus 5,7,9 et 10 qui reprennent le meilleur taux de germination.

## II. Discussion :

Nous avons remarqué que le pH des différents sols traités est neutre, ce qui favorise la croissance des microorganismes du sol, Leahy et Colwell (1990), note que la croissance des bactéries hétérotrophes et des champignons est favorisée par un pH proche de la neutralité. Selon Gabet (2004), le pH se situe dans l'intervalle [5 ; 9] plus particulièrement aux alentours de 7 favorise la croissance des bactéries et par conséquent optimiserait la biodégradation des hydrocarbures. La légère diminution du pH enregistrée par rapport au pH du sol avant le traitement, est peut-être due à la production des métabolites acides par les bactéries de dégradation des hydrocarbures.

La différence de pH enregistrée entre les traitements montre que le paramètre dose a eu un effet très marqué. Plus la dose des fertilisants augmente, plus le pH du sol diminue. Nos résultats concordent avec ceux de Yu et ses collaborateurs (2005) et Hadjou et Rabhi (2015), qui soutiennent l'idée que les traitements des sols pollués aux hydrocarbures par l'ajout des fertilisants diminuent le pH. Cela peut être causé par les métabolites organiques produits par la biodégradation. Selon Merkel et *al.* (2005) in Njuko et *al.* (2009), le pH du sol diminue en raison de la biodégradation du pétrole, cette diminution est due à l'accumulation d'acides organiques. Ce qui signifie que l'augmentation des doses stimule davantage la biodégradation des hydrocarbures.

Nous avons constaté que la conductivité électrique ne diffère pas significativement entre les différents sols traités. Un résultat similaire a déjà été obtenu par Nait Abdelkader et Djenad (2015). Malgré l'ajout de fertilisants aux sols, l'ensemble des sols traités était non salin après incubation, ce qui nous porte à dire que la microflore indigène a utilisé les fertilisants ajoutés quelle que soit la dose apportée, afin de biodégrader les hydrocarbures présents dans le sol.

Concernant l'activité biologique globale, les résultats montrent que la quantité de CO<sub>2</sub> dégagé dans les différents sols traités a atteint 41.43 mg, obtenue dans sol traité par la dose D3, contenant 90% d'humidité et incubé à 35°C. Ceci serait dû à la biodégradation des hydrocarbures présents dans les sols par les bactéries. Nous avons constaté que l'humidité avait une influence sur l'activité de la microflore, plus le taux d'humidité est important plus le dégagement du CO<sub>2</sub> s'intensifie. Davis et Madsen (1996) ont avancé que l'humidité était un

paramètre important dans les processus de dégradation des composés organiques simples ou complexes. Il est connu que les faibles humidités limitent la vitesse de biodégradation. Inversement, des teneurs trop élevées vont influencer sur la perméabilité des sols aux gaz et générer des conditions de limitations de transfert d'oxygène et donc de limitation du métabolisme microbien aérobie (Ballerini, 1999).

En ce qui concerne le test de germination effectué à la fin de l'incubation, nous avons constaté que dans l'ensemble des sols traités, le taux de germination a dépassé les 43.66%, et a été supérieur à 18.33% ; valeur obtenue dans le sol contaminé avant d'appliquer la biostimulation, ce qui signifie que le sol a probablement été réhabilité par cette technique avec une diminution de la toxicité dans les sols traités. Chergui et Dahmani (2009), ont observé également un faible taux de germination dans le sol pollué non traité. Quelle que soit la dose des fertilisants, la température ou l'humidité, la biostimulation a eu un effet bénéfique sur le taux de germination. Nous avons enregistré des taux de germination qui ont atteint les 85%, dans des sols traités par la dose D3 et incubé à 35°C aux différentes humidités. Plusieurs auteurs (atlas, 1981., Sandvik et al., 1986; Song et al., 1990. Walworth et al., 2001) ont confirmé que la température et l'ajout des fertilisants augmentaient la vitesse de biodégradation. Le maximum de l'activité métabolique des microorganismes est généralement observé à une température comprise entre 30 et 40 °C (Bossard et Bartha, 1984). En effet, Dibble et Bartha affirment que l'addition d'azote et de phosphore peut être utilisée pour stimuler la dégradation microbienne des hydrocarbures.

Les quatre meilleures combinaisons du taux de germination ont été données par l'optimisation mathématique par les algorithmes génétiques pour les individus 5, 7, 9 et 10 avec les caractéristiques suivantes, températures (29.42314, 29.41785, 29.41447 et 29.16807°C) avec les humidités (64.04431, 64.0371, 63.98641 et 64.42819%) associées aux doses de du phosphore (0.95271, 0.9511362, 0.9497941 et 0.9875127mg) et celles de l'azote (5,45643, 5,4474164, 5,4397298 et 5,6557545mg). En les comparant avec le taux de germination expérimental qui a été traité par la D3 (1.54g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> + 8.82g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), contenant 90% d'humidité et incubé à 35°C, par rapport à la température le résultat de l'optimisation est plus proche de T2 (25°C) que de T3 (35°C), les humidités ressortie de l'optimisation sont proches de H2 (70%), par contre les doses de fertilisants concorde avec les résultats optimaux proches de D3.

### Conclusion générale

Dans ce travail, nous avons comparé quelques propriétés d'un sol pollué aux carburants à celles du même sol après un essai de décontamination par biostimulation dans lequel nous avons fait varier la température, le taux d'humidité et la dose de fertilisants azotés et phosphorés afin de déterminer les conditions permettant d'optimiser la décontamination de ce sol.

D'après les résultats obtenus, nous concluons qu'il y a une diminution de la toxicité des hydrocarbures dans les différents sols traités, cela se traduit d'une part, par la diminution du pH qui tend vers la neutralité et de la conductivité électrique, et d'autre part, par l'augmentation de l'activité biologique, ainsi que l'élévation du taux de germination qui confirme la réhabilitation et l'amélioration de la qualité du sol.

Les paramètres biologiques et le pH, ont été influencés par la variation des températures, de l'humidité et des doses de fertilisants. Le taux de germination étant un indicateur biologique de la qualité du sol amélioré et a atteint la valeur maximale dans le sol traité avec la dose D3 incubé à 35°C. Ces conditions ont eu une influence sur la capacité des bactéries autochtones à dégrader les hydrocarbures dans le sol. L'humidité n'a pas eu d'effet sur la germination des graines de maïs. La meilleure réhabilitation a été enregistré dans les sols traités par la dose D3 contenant 90% d'humidité et incubé à 35°C. L'optimisation mathématique du taux de germination par les algorithmes génétiques a fait ressortir la meilleure combinaison entre les différents paramètres et qui correspond à une température de 29.41785°C, une humidité de 64.0371% de la capacité au champ, et aux doses de 0.9511362mg de phosphore associée 5,4474164mg d'azote.

Au terme de ce travail et afin de confirmer les résultats obtenus et de développer d'autres aspects, nous proposons en perspective de :

- Réaliser d'autres essais dans d'autres stations-service pour confirmer les résultats obtenus dans cet essai.
- Réaliser des essais sur le pétrole brut.
- Faire un essai sur le terrain (in situ) en testant les résultats donnés par l'optimisation.
- Penser au jumelage de la biostimulation avec le bioaugmentation.
- Faire une étude sur les souches bactériennes qui ont contribué le plus à la décontamination du sol.

- Adams G.O., Tawari-Fufeyin P., Igelnyah E., 2014.** Bioremediation of spent oil contaminated soils using poultry litter. *Research Journal in Engineering and Applied Sciences*. Vol.3.N°2. pp: 124-130.
- Adams G.O., Fufeyin, P.T., Okoro, S E., Ehinomen, I. 2015.** Bioremediation, Biostimulation and Bioaugmentation: A Review. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation*. Vol.3, N°1, pp: 28-39.
- Alik S., Belkacem L., 2015.** Essai de remédiation d'un sol pollué aux hydrocarbures par la technique de la biostimulation. Mémoire Master. UMMTO. 26p.
- Al-Mailem D.M., Al-Deieg M., Eliyas M., Radwan S. 2017.** Biostimulation des microorganismes indigènes pour la bioremédiation des microcosmes hypersaliens huileux du Golfe arabe Les régions koweïtiennes. *Journal of Environmental Management*. Vol.193, pp : 576-583.
- Atlas R.M. 1981.** Microbial degradation of petroleum hydrocarbons : an environmental perspective. *Microbiological Reviews*. Vol.45. pp : 180-209.
- Ballerini d., Vandecasteele J.P., 1999.** La restauration par voie microbiologique des sols contaminés par les polluants organiques. *In : biotechnologie, coordinateur R. scriban, 5ém édition, Edition TECH et DOC. 392 p.*
- Baize D., 2000.** Guide des analyses en pédologie. Edition I.N.R.A, Paris. 257P.
- Baize D., 1989.** Guide des analyses courantes en pédologie. Edition I.N.R.A *INRA*, Paris, 172P.
- Ballerini D., 1999.** La restauration par voie microbiologique des sols contaminés par les polluants organiques. *Biotechnologie. Coordinateur R Scriban. 5éme édition. Edition Tech et Doc. Pp : 835-865.*
- Ballerini D., Kandecasteele., 1999 .**Traitements biologique des sols .Technique de l'ingénieur, traité Environnement. G 2 620. pp: 1- 6 .
- Bewley J., 1997.** Seed germination and dormancy. *Plant cell* **9**, pp : 1055-1066.
- Bergue J.M., Mérienne D. 1986.** La pollution des sols par les hydrocarbures in nature. *Bull, liaison labo P. et ch.*-146.pp : 57-66.
- Bossard I., Bartha R., 1984.** The fat of petroleum in soil ecosystems. *In :Atlas R.M. (Ed.), Petroleum Microbiology. Macmillan. New York. pp : 440-445.*

**Colombano S., Saada A., Guerin V., Bataillard P., Bellenfant G., Beranger S., Hube D., Blanc C., Zornig C. et Girargeau L. 2010.** Quelles techniques pour quels traitements- Analyse coûts bénéfice : Rapport annuelle juin 2010 : BRGM/RP-58609-FR. pp : 1-403.

**Chalansonnet S., Joyeux G., 2005.** Comportement des hydrocarbures, marées noires et environnement. Institut d'océanographie, éd 408p.

**Chaineau, C.H., Morel J.L., Oudot J., 1996.** Biodegradation of fuel oil hydrocarbons in the rhizosphere of maize. International Phytoremediation Conference, May 8-10, 1996, Arlington, VA. International Business Communications, Southborough, MA.

**Christelle R., 2007.** Etude des Algorithmes génétiques et application aux données de protéomique. Thèse de doctorat. Université Montpellier I. 179p.

**Clement M., Pieltain F., 2003.** Analyse chimique des sols méthodes choisies. Ed. Lavoisier. 382p.

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

**Coulon F., Delille D. 2003.** Effets de traitements de biostimulation sur la croissance des bactéries indigènes d'un sol subantarctique contaminé par des hydrocarbures. *Oil & Gas Science and Technology - Rev. IFP*, Vol. 58. No.4, pp: 469-479.

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

**Dibble J.T., Bartha R. 1979.** Leaching aspects of oil sludge biodegradation in soil. *Soil Sci.* N°127. pp : 365-370.

**Dibble J.T., Bartha R., 1979.** Effect of environmental parameters on the biodegradation of oil sludge. *Applied and Environmental Microbiology* N°37. Pp : 729-739.

**Duchaufour P., 2001.** Introduction à la science du sol : sol, végétation et environnement 6<sup>em</sup> Edition MASSON. Paris milan Barcelone.498p.

**Dudois S., 2007.** Les hydrocarbures dans le monde : Etats de lieux et perspectives. Edition ellipses, 418p.

**Dupont R.R., 1993.** Fundamentals of Bioventing Applied to Fuel Contaminated Sites. Environmental Progress ENVPDI. Vol. 12. n°1.

**El fantroussi S., Agathos S.N., 2005.** Inbioaugmentation a feasible strategy for pollutant removal and site remediation ? Current Opinion in Microbiology.N°8.pp :1593-275.

**Fatima M.B., Flávio A.O., Benedict C.O., William T.F. 2005.** Bioremédiation comparative des sols contaminés par le diesel par atténuation naturelle, biostimulation et bioaugmentation. Bioressources Technologie. Vol 96. N°9. pp : 1049-1055.

**Fezani S., Khider F. 2007.** Toxicité des hydrocarbures vis-a-vis des plantes, leurs caractéristiques et leurs effets sur la microflore du sol. Mémoire d'Ingénieur d'Etat en biologie U.M.M.T.O. 73p.

**Gabet S., 2004.** Remobilisation d'hydrocarbures Aromatique Polycyclique (HAP) présents dans les sols contaminés à l'aide d'une tension d'origine biologique. Thèse doctorat. Université de Limoges. 177p.

**Gao Y.Z.,Zhu L.Z. 2005.**Phytoremediation for phenanthrene and pyrene contaminated soils, Journal of environmental sciences. vol.17. N° 1, p: 14-18.

**Gaudu F., 2014.** bioremédiation des sols pollués aux hydrocarbures. Biologie gestion marketing. Université de Rennes.26p

**Hadjou O., Rabhi S., 2015.** Essai de bioremédiation d'un sol pollué aux hydrocarbures par bioaugmentation et biostimulation. Mémoire de master. Université Mouloud Mammeri. Tizi-Ouzou. P30.

**Hambrick G.A., DeLaune R.D.,Patrick W.H.Jr., 1980.** Effect of estuarine sediment pH and oxidation-reduction potential on microbial hydrocarbon degradation. Applied Environmental Microbiology. Microbiological Reviews.vol. 54. pp: 305-315.

**Holland J.H., 1975.***Adaptation In Natural And Artificial Systems*, University of Michigan Press.

**Hunt P.G., W.E.Rickard F.J., Deneke F.R., Koutz R.P. Murrmann., 1973.** Terrestrial oil spills in Alaska : environmental effects and recovery. In Proceedings of the Joint P: 733-740. Conference on Prevention and Control of Oil Spills. American Petroleum Institute, Washington, D.C.

**Koller E., 2004.** Traitement des pollutions industrielles. Eau. Air. Déchets. Sols.Boues. Edt Dunod, Paris. Série Environnement et sécurité. L'usine nouvelle. 424p.

**Leahy J.G., Colwell R.R., 1990.** Microbial degradation of hydrocarbons in the environment.

**Lecomte P., 1998.** les sites pollués, traitement des sols et des eaux souterraines. 2<sup>em</sup> Edition. Edition TEC et DOC. Paris. 75p.

**Lemière B., Serguin J.J., Le guern C., Guyonnet D., Baranger Ph., 2001.** Guide sur le comportement des polluants dans les sols et les nappes. BRGM/RP-50662-FR.

**Liste H. , Alexander M., 2000.** Plant- promoted pyrene degradation in soil .Chemosphere. vol.40. pp:7-10.

**Maes E., Schadeck S., Brahy V., 2007.** Sol 5 – La contamination locale des sols. pp :500-519, in Chapitre [11]- Les sols et l'environnement terrestre.

**Margesin R., Schinner F., 2001.** Bioremediation (natural attenuation and biostimulation) of diesel-oil-contaminated soil in an alpine glacier skiing area. *Appl. Environ. Microbiol.* vol.67. pp : 3127-3133.

**Martínez Álvarez L.M., Lobalbob A., Mac cormacka W.P., 2017.** Bioremédiation des sols contaminés par des hydrocarbures dans les régions froides : Développement d'un essai de terrain biopile pré-optimisé en biopile en Antarctique. Science de l'environnement total. Vol. 590-591. pp: 194-203.

**Marchal R., Penet M., Solano-serena F., Vandecastelle J.P., 2003.** Gasoline and Diesel oil Biodegradation. Oil & Gas science and Technology- Rev. IFP, Vol 58. Edition Technip. pp : 441-448.

**Masten S.J., Davies S.H.R., 1997.** Efficacy of in-situ ozonation for the remediation of polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soils, J. Contam. Hydrol. vol. 28. pp:327-335.

**Mathieu S., (2008).** Analyse historiques des accidents dans les dépôts hydrocarbures. 25p .

**Mi Jin H., Choi E.J., Jeon C.O., 2013.** Isolation of a BTEX-degrading bacterium, Janibacter sp. SB2, from a sea-tidal flat and optimization of biodegradation conditions. Bioresource Technology .vol. 145. pp : 57–64.

**Muck J.C., 2007.** Les Carburants. <http://muck.jeanclaude.free.fr> (18 mai 2007).

- Nait abdelkader S., Djenad M., 2015.** Essai de remédiation d'un sol pollué par les hydrocarbures cas station-service. Mémoire master. UMMTO.27p.
- Ndimele P.E., Ndimele C.C., 2013.** Effets comparatifs de biostimulation et phytoremédiation sur la dégradation du pétrole brut et de l'absorption par la jacinthe d'eau (*Eichhornia crassipes* [Mart.] Solms). Journal of environmental studies.
- Njoku N., Akinola O., Oboh B.O., 2009.** Phytoremediation of crude oil contaminated soil. Edition marslandpress. pp :80-85.
- Oudot J., 1975.** Contribution à l'étude de la dégradation bactérienne des hydrocarbures. Produits et facteur susceptibles de modifier la cinétique du phénomène. Thèse doctorat. Science de la vie et de l'environnement. Université de Dijon. 121p.
- Piedrafita M. 2007.** La pollution ponctuelle des sols : Le cas des stations-service dans la Région de Bruxelles-Capitale. Mémoire de Fin d'Etudes. Diplôme d'Etudes Spécialisées en Gestion de l'Environnement. Université Libre de Bruxelles. 154p.
- Raymond R. L., Hudson J.O., Jamison V.W., 1976.** Oil degradation in soil. Appl. Environ. Microbiol. Vol.31. pp : 522-535.
- Ramade F., 1992.** Précis d'écotoxicologie. Edi.MASSOUN, Paris.300p
- Rougerol T., Amir H., Amir A. 1987.** Effet de l'épandage de résidu pétrolier de raffinerie sur l'évolution de la matière organique. L'activité microbienne d'un sol agricole, Revue d'écologie du sol. 156p.
- Sadoudi-Ali Ahmed D., Ali Ahmed S., Chergui R. et Dahmani Y. 2014.** Treatment of an oil polluted soil by injecting *Pseudomonas aeruginosa* and produced rhamnolipids. International Journal of Environmental Engineering Science and Technology Research. vol.2 N°1 pp : 1-9.
- Sandvik S., Lode A., Pederson T.A., 1986.** Biodegradation of oily sludge in Norwegian soils. Applied Microbiology Biotechnology.vol.23. pp : 297-301.
- Seklemova E., Pavlova A., kovacheva K., 2001.** Biostimulation-based bioremediation of diesel fuel: field demonstration. Vol.12. pp: 311–316
- Scriban R., 1999.** Biotechnologie : restauration par voie biologique des sols contaminés par les polluants organique 5eme édition, Ed lavoisirie.

**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 de l'université Paris 6, spécialité chimie analytique.284.

**Song, H.G., Wang, X., Bartha R., 1990.** Bioremediation potential of terrestrial fuel spills. Applied and Environmental Microbiology .vol.56.pp: 652-656.

**Suthersan S. S., 1997.** Remediation Engineering. Design concepte. CRC Press, Boca Raton, Floride, 362 p.

**Tanee F.B.G., Kinako P.D.S.,** Comparative Studies of Biostimulation and Phytoremediation in the Mitigation of Crude Oil Toxicity in Tropical Soil. Journal. Appl. Sci. Environ. Manage. Vol. 12.pp: 143 – 147.

**Tarayre C.,** Bioremédiation de sols pollués aux hydrocarbures. Editions Universitaires Européennes. 2012. 116p.

**TOTAL, Fiche de données de Sécurité,** « DIESEL 10s ; DIESEL NATURA 50s ; DIESEL EXCELLIUM 10s », 23 janvier 2007.

**Verdin A., Lounes-Hadj Sahraoui A., Durand R., 2004.** Les agents de la bioremédiation des sols pollués par les hydrocarbures polycycliques aromatiques.Revue francophone d'écologie industrielle. N° .36.pp: 33-37.

**Walworth J., Braddock J., Woolard., 2001.** Nutrient and temperature interactions in bioremediation of cryic soil. Cold Region Science and Technology .vol. 32. pp : 85-91.

**Yuli Yantoa D.H., Hidayatb A., Tachibanac S. 2017.** Biostimulation périodique avec addition d'éléments nutritifs et bioaugmentation à l'aide de cultures mixtes de champignons pour maintenir l'oxydation enzymatique pendant la bioremédiation prolongée des microcosmes du sol huileux. Biodégradation et biodégradation internationales. Vol .116.pp: 112-123.

**ZoBell C.E., 1969.** Microbial modification of crude oil in the sea. In: Proceedings of joint conferences on prevention and control of oil spills. American. Petroleum. Institute. Washington, D.C., pp: 317-326.

## Annexes 01 : Résultats des différents tests du protocole Biostimulation

- Résultats de la mesure du taux de minéralisation

	D	H	R1	R2	R3		R1	R2	R3		R1	R2	R3
	T1=15°C	D1	H1	5,94	6,237		5,643	T1=25°C	3,861		4,457	5,049	T1=35°C
H2			8,316	9,207	10,098	5,049	5,643		5,043	3,564	4,725	5,643	
H3			5,049	6,831	8,316	5,94	6,237		6,089	8,81	9,207	8,019	
D2		H1	7.128	8,316	5,643	3,861	4,457		3,564	2,2275	2,227	5,049	
		H2	7.122	8.91	6,3855	4,455	5,049		4,752	5,94	4,9	5,791	
		H3	8,316	9,504	7,128	5,643	5,246		5,94	10,395	6,831	8,019	
D3		H1	5,643	5,346	5,643	5,346	4,009		4,75	2,97	2,079	3,564	
		H2	5,94	5,346	5,94	9,504	7,722		9,207	8,019	5,346	7,722	
		H3	7.722	7.425	8.316	1,485	4,455		2,97	10,098	11,88	11,58	

- Résultats de la mesure du taux du carbone fixé

	D	H	R1	R2	R3		R1	R2	R3		R1	R2	R3
	T1=15°C	D1	H1	22	23,1		20,9	T1=25°C	14,3		16,5	18,7	T1=35°C
H2			30,8	34,1	37,4	18,7	20,9		18,7	13,2	17,6	20,9	
H3			18,5	25,3	30,8	22	23,1		22,55	33	34,1	29,7	
D2		H1	26,4	30,8	20,9	14,3	16,5		13,2	8,25	8,25	18,7	
		H2	28,6	33	23,65	16,5	18,7		17,6	22	18,1	21,45	
		H3	30,8	35,2	26,4	20,9	19,8		22	38	25,3	29,7	
D3		H1	20,9	19,8	20,9	19,8	14,84		17,6	11	7,7	13,2	
		H2	22	19,8	22	21,45	24,2		18,7	29,7	19,8	28,6	
		H3	28,6	27,5	30,8	35,2	28,6		34,1	37,4	44	42,9	

- Résultats de la mesure du Ph :

	D	H	R1	R2	R3		R1	R2	R3		R1	R2	R3
	T1=15°C	D1	H1	7.09	7.41		7.21	T1=25°C	7.23		7.22	7.12	T1=35°C
H2			7.22	7.29	7.70	7.04	7.13		7.12	7.36	7.34	7.30	
H3			7.43	7.39	7.17	7.16	7.09		7.17	7.14	7.38	7.38	
D2		H1	7.12	6.84	7.15	6.96	6.94		7.18	7.12	7.20	7.20	
		H2	7.02	7.01	7.19	6.82	6.92		7.04	7.20	7.13	7.20	
		H3	6.98	7.26	6.96	7.05	6.87		6.94	7.25	7.29	7.14	
D3		H1	6.64	6.83	6.96	6.42	6.57		6.44	6.82	6.92	6.83	
		H2	6.66	7.05	6.98	4.46	6.67		6.52	6.88	6.69	6.84	
		H3	7.18	7.27	7.12	6.68	6.64		6.59	6.82	6.82	6.83	

- Résultats de la mesure de la conductivité électrique

	D	H	R1	R2	R3		R1	R2	R3		R1	R2	R3
	<b>T1=15°C</b>	<b>D1</b>	H1	0,96	0,72		0,17	<b>T1=25°C</b>	0,48		0,70	0,19	<b>T1=35°C</b>
H2			0,25	0,10	0,67	0,14	0,79		0,13	0,11	0,10	0,94	
H3			0,80	0,53	0,54	0,89	0,53		0,50	0,14	0,10	0,11	
<b>D2</b>		H1	0,86	0,17	0,87	0,28	0,26		0,32	0,86	0,88	0,86	
		H2	0,81	0,83	0,10	0,25	0,23		0,26	0,11	0,22	0,76	
		H3	0,17	0,10	0,48	0,10	0,62		0,48	0,17	0,94	0,16	
<b>D3</b>		H1	0,94	0,21	0,16	0,61	0,12		0,18	0,13	0,10	0,26	
		H2	0,96	0,69	0,5	0,12	0,14		0,26	0,94	0,24	0,56	
		H3	0,64	0,12	0,40	0,18	0,22		0,32	0,12	0,21	0,11	

- Résultats du test de germination converti en (%)

	D	H	R1	R2	R3		R1	R2	R3		R1	R2	R3
	<b>T1=15°C</b>	<b>D1</b>	H1	65	65		70	<b>T1=25°C</b>	60		55	50	<b>T1=35°C</b>
H2			45	60	50	60	60		70	65	60	55	
H3			40	50	40	45	50		45	55	70	65	
<b>D2</b>		H1	45	60	55	45	50		50	70	80	65	
		H2	50	55	50	50	55		65	75	70	60	
		H3	60	55	50	55	50		45	75	70	60	
<b>D3</b>		H1	70	70	80	40	60		50	90	80	85	
		H2	50	75	75	40	65		75	75	75	80	
		H3	70	65	65	65	80		70	80	90	85	

**Annexe 02 : Résultats de l'analyse statistique**

<b>Le pH</b>													
Source de variation		moyenne	P- value	Groupe									
<b>T</b>	T3	48.35	0.002	A									
	T1	46.59		A									
	T2	28.06		B									
<b>D</b>	D1	62.07	1.06 <sup>-10</sup>	A									
	D2	42.19		B									
	D3	18.74		C									
<b>H</b>	H3	43.65		A									
	H1	40.04		A									
	H2	39.31		A									
<b>T : D</b>	T3 :D1	71.17	0.76	A									
	T1 :D1	66.44		A	B								
	T3 :D2	56.17		B	B	C							
	T2 :D1	48.61		C	C	D							
	T1 :D2	40.33		D	D	E							
	T1 :D3	33		E	E	E							
	T2 :D2	30.06		E	E	F							
	T3 :D3	17.72		F	F	G							
T2 :D3	5.5	G	G										
<b>T : H</b>	T1:H3	55.39	0.053	A									
	T3:H1	49.44		A	B								
	T3:H2	48.22		A	B	C							
	T3:H3	47.39		A	B	C							
	T1:H2	45.89		A	B	C							
	T1:H1	38.5		A	B	C	D						
	T2:H1	32.17		B	B	C	D						
	T2:H3	28.17		C	C	D	D						
	T2:H2	23.83		D	D								
<b>D : H</b>	D1:H1	64	1.18 <sup>-7</sup>	A									
	D1:H2	61.33		A									
	D1:H3	60.89		A									
	D2:H3	43.83		B									
	D2:H1	42.61		B	B								
	D2:H2	40.11		B	B	C							
	D3:H3	26.22		C	C	D							
	D3:H2	16.5		D	D	D							
D3:H1	13.5	D	D										
	T3:D1:H1	76	1.13 <sup>-5</sup>	A									
	T3:D1:H2	71.67		A	B								
	T1:D1:H2	70.67		A	B	C							
	T1:D1:H3	69.17		A	B	C							
	T3:D1:H3	65.83		A	B	C							
	T3:D2:H3	60.67		A	B	C	D						
	T1:D1:H1	59.5		A	B	C	D	E					
	T2:D1:H1	56.5		B	B	C	D	E	F				
	T1:D3:H3	54.83		B	B	C	D	E	F	G			
	T3:D2:H2	54.5		B	B	C	D	E	F	G			

# LES ANNEXES

<b>T :D :H</b>	T3:D2:H1	53.33				C	D	E	F	G	H							
	T2:D1:H3	47.67				D	E	F	G	H								
	T1:D2:H3	42.17					E	F	G	H	I							
	T2:D1:H2	41.67					E	F	G	H	I							
	T1:D2:H2	41						F	G	H	I							
	T1:D2:H1	37.83							G	H	I							
	T2:D2:H1	36.67								H	I	J						
	T2:D2:H3	28.67								H	I	J	K					
	T1:D3:H2	26									I	J	K	L				
	T2:D2:H2	24.83									I	J	K	L				
	T3:D3:H1	19										J	K	L	M			
	T3:D3:H2	18.5											K	L	M			
	T1:D3:H1	18.17											K	L	M			
	T3:D3:H3	15.67											K	L	M			
	T2:D3:H3	8.167												L	M			
	T2:D3:H2	5													M			
T2:D3:H1	3.333													M				

La conductivité électrique (CE)	Chi 2	ddl	P.value
T	1.8916	2	0.3884
D	2.2213	2	0.3294
H	1.4161	2	0.4926

Taux de carbone fixé											
Source de variance		P.value	moyenne	Groupe							
<b>T</b>	T1	1.04 <sup>-7</sup>	26.33	A							
	T3		22.06	B							
	T2		20.35	B							
<b>D</b>	D3	0.016	24.48	A							
	D2		22.41	B							
	D1		21.85	B							
<b>H</b>	H3	2.2 <sup>-16</sup>	29.49	A							
	H2		22.89	B							
	H1		16.36	C							
<b>T : D</b>	T1 :D2	1.33 <sup>-5</sup>	28.42	A							
	T1 :D1		26.99	A	B						
	T3:D3		26.03	A	B						
	T2:D3		23.83	B	B	C					
	T1:D3		23.59	B	B	C					
	T3:D2		21.08	C	C	D					
	T2:D1		19.49			D					
	T3:D1		19.07			D					
	T2:D2		17.72			D					



# LES ANNEXES

Taux de minéralisation													
Source de variance		P.value	moyenne	Groupe									
<b>T</b>	T1	7.11 <sup>-9</sup>	7.089	A									
	T3		5.957		B								
	T2		5.177			C							
<b>H</b>	H3	3.8 <sup>-15</sup>	7.313	A									
	H2		6.494		B								
	H1		4.417			C							
<b>T : H</b>	T3:H3	2.79 <sup>-13</sup>	9.427	A									
	T1:H3		7.623		B								
	T1:H2		7.474		B								
	T2:H2		6.269			C							
	T1:H1		6.171			C							
	T3:H2		5.739			C	D						
	T2:H3		4.889				D	E					
	T2:H1		4.373					E					
	T3:H1		2.706						F				
<b>T : D</b>	T1:D2	0.00019	7.606	A									
	T1:D1		7.293	A	B								
	T3:D3		7.029	A	B								
	T1:D3		6.369		B	C							
	T3:D2		5.709			C	D						
	T2:D3		5.494			C	D						
	T2:D1		5.263			C	D						
	T3:D1		5.134			C	D						
	T2:D2		4.774				D						
<b>T : D : H</b>	T3:D3:H3	1.78 <sup>-7</sup>	11.19	A									
	T1:D1:H2		9.207		B								
	T2:D3:H2		8.811		B								
	T3:D1:H3		8.679		B								
	T3:D2:H3		8.415		B	C							
	T1:D2:H3		8.316		B	C							
	T1:D3:H3		7.821		B	C	D						
	T1:D2:H2		7.472		B	C	D						
	T1:D2:H1		7.029		B	C	D	E					
	T3:D3:H2		7.029		B	C	D	E					
	T1:D1:H3		6.732		B	C	D	E					
	T2:D1:H3		6.089			C	D	E	F				
	T1:D1:H1		5.94			C	D	E	F				
	T1:D3:H2		5.742				D	E	F	G			
	T2:D2:H3		5.61				D	E	F	G			
	T1:D3:H1		5.544				D	E	F	G	H		
	T3:D2:H2		5.544				D	E	F	G	H		
	T2:D1:H2		5.245				D	E	F	G	H	I	
	T2:D2:H2		4.752					E	F	G	H	I	
	T2:D3:H1		4.702					E	F	G	H	I	
	T3:D1:H2		4.644					E	F	G	H	I	
	T2:D1:H1		4.456					E	F	G	H	I	
			3.961						F	G	H	I	J

# LES ANNEXES

	T2:D2:H1		3.168								G	H	I	J
	T3:D2:H1		2.97								G	H	I	J
	T2:D3:H3		2.871										I	J
	T3:D3:H1		2.079										I	J
	T3:D1:H1													J

Taux de germination														
Source de variation		P-value	moyenne	Groupe										
T	T3	7.16 <sup>-11</sup>	71.67	A										
	T1		58.7		B									
	T2		55.74		B									
D	D3	4.031 <sup>-9</sup>	70.56	A										
	D2		58.15		B									
	D1		57.41		B									
T : H	T3:H1	0.0038	74.44	A										
	T3:H3		72.22	A	B									
	T3:H2		68.33	A	B	C								
	T1:H1		64.44	A	B	C								
	T2:H2		60	A	B	C								
	T1:H2		56.67	A	B	C	D							
	T2:H3		56.11		B	C	D							
	T1:H3		55			C	D							
	T2:H1		51.11				D							
D : H	D1:H1	0.0095	64	A										
	D1:H2		61.33	A	B									
	D1:H3		60.89	A	B									
	D2:H3		43.83		B	C	D							
	D2:H1		42.61			C	D							
	D2:H2		40.11			C	D							
	D3:H3		26.22			C	D							
	D3:H2		16.5			C	D							
	D3:H1		13.5				D							

## Annexe 3 : les normes d'interprétation

- Norme d'interprétation du pH (Baize, 1989).

Valeur de pH	Quantification
<4	Extrêmes 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

- Norme d'Interprétation des valeurs de CE (Baize, 2000).

Conductivité électrique mmhos/cm	Désignation
<2,5	Non salé
2,5-5	Faiblement salé
5-10	Moyennement salé
10-15	Salé
15-20	Fortement salé
20-27,5	Très fortement salé
27,5-40	Excessivement salé
>40	Hyper salé

## Résumé :

L'objectif de notre travail est de décontaminer un sol pollué par les hydrocarbures (cas des stations-services) par une technique biologique la biostimulation en faisant varier trois paramètres de l'environnement (température, humidité et dose des fertilisants) en cherchant les conditions optimales de la micro flore autochtone en vue de dégrader les carburants présents dans le sol dans un essai mené au laboratoire.

Les résultats obtenus montrent une diminution du pH et de la conductivité électrique, une augmentation de l'activité biologique globale et du taux de germination du maïs, ce qui indique que le sol a été réhabilité. En fin nous avons effectué une optimisation mathématique par les algorithmes génétiques pour avoir les meilleures combinaisons des paramètres de l'environnement qui sont l'humidité, température et dose des fertilisants. La meilleure combinaison donnée par l'optimisation a été enregistrée dans l'individu qui porte les caractéristiques suivantes, températures 29.16807°C avec les humidités 64.42819%, associées aux doses de du phosphore (0.9875127mg) et celles de l'azote (5,6557545mg).

### Abstract:

The objective of our work is to decontaminate soil polluted by hydrocarbons (the case of service stations) by biological biostimulation technique by varying three parameters of the environment (temperature, humidity and dose of fertilizers) by looking for the conditions of the indigenous micro flora to degrade fuels present in the soil in a laboratory test.

The results showed a decrease in pH and electrical conductivity, an increase in overall biological activity and in the corn germination rate, indicating that the soil was rehabilitated. At the end we performed a mathematical optimization by genetic algorithms to have the best combinations of environmental parameters that are moisture, temperature and fertilizer dose. The best combination given by the optimization was recorded in the individual with the following characteristics, temperatures 29.16807 ° C with moisture 64.42819%, associated with the phosphorus doses (0.9875127mg) and those of nitrogen (5, 6557545mg).