

UNIVERSITE DE LIMOGES

Faculté des Sciences et Techniques

*Ecole Doctorale Science, Technologie, Santé*

Laboratoire des Sciences de l'Eau et de l'Environnement

Année 2004

Thèse n° : 12-2004

THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LIMOGES

*Discipline : Chimie et Microbiologie de l'Eau*

Présentée et soutenue le 9 juillet 2004 par

Sophie GABET

---

Remobilisation d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques  
(HAP) présents dans les sols contaminés à l'aide d'un  
tensioactif d'origine biologique

---

Directeurs de Thèse : Michel BAUDU et Pierre LAFRANCE

**Jury**

Rapporteurs	M <sup>me</sup> Marie-Odile SIMONNOT	Professeur, INPL, Nancy
	M. André AMBLES	Professeur, Université de Poitiers
Examineurs	M. Jean DUCREUX	Ingénieur, IFP
	M. Robert GRANET	Ingénieur de recherche-HDR, Limoges
	M. Pierre LAFRANCE	Professeur, INRS-ETE, Québec
	M. François BORDAS	Maître de Conférences, Limoges
	M. Michel BAUDU	Professeur, Université de Limoges



UNIVERSITE DE LIMOGES

Faculté des Sciences et Techniques

*Ecole Doctorale Science, Technologie, Santé*

Laboratoire des Sciences de l'Eau et de l'Environnement

Année 2004

Thèse n° : 12-2004

THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LIMOGES

*Discipline : Chimie et Microbiologie de l'Eau*

Présentée et soutenue le 9 juillet 2004 par

Sophie GABET

---

Remobilisation d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques  
(HAP) présents dans les sols contaminés à l'aide d'un  
tensioactif d'origine biologique

---

Directeurs de Thèse : Michel BAUDU et Pierre LAFRANCE

**Jury**

Rapporteurs	M <sup>me</sup> Marie-Odile SIMONNOT	Professeur, INPL, Nancy
	M. André AMBLES	Professeur, Université de Poitiers
Examineurs	M. Jean DUCREUX	Ingénieur, IFP
	M. Robert GRANET	Ingénieur de recherche-HDR, Limoges
	M. Pierre LAFRANCE	Professeur, INRS-ETE, Québec
	M. François BORDAS	Maître de Conférences, Limoges
	M. Michel BAUDU	Professeur, Université de Limoges



*A mes Parents,*

*A ma sœur,*

*A Franck*



# Remerciements

Ce travail a été réalisé au laboratoire des Sciences de l'Eau et de l'Environnement de Limoges. J'exprime ma reconnaissance au professeur Michel Baudu pour la confiance qu'il m'a témoignée en m'accueillant au sein de son laboratoire pendant ces années de recherche.

Je remercie Monsieur François Bordas, Maître de conférences, d'avoir accepté d'encadrer ce travail jusqu'à son aboutissement et pour la grande liberté qu'il m'a laissée dans mon travail, tant en recherche que pour la rédaction de ce mémoire.

Je remercie Monsieur Lafrance, Professeur à l'INRS-ETE du Québec pour l'intérêt qu'il a porté à ce travail en acceptant de co-diriger cette étude, pour sa disponibilité, ses orientations et ses remarques fructueuses. Qu'il trouve ici ma profonde gratitude. Merci également au Professeur Villemur qui nous a gracieusement fourni le tensioactif utilisé pour effectuer cette étude.

Je suis sensible à l'honneur que m'ont fait Madame Simonnot, présidente de ce jury, Professeur à l'Institut National Polytechnique de Lorraine (INPL), et Monsieur Amblès, Professeur à l'Université de Poitiers, d'être rapporteurs de ce travail, et je les en remercie. J'apprécie les commentaires constructifs que vous m'avez fourni.

Mes remerciements s'adressent également à Messieurs Ducreux, Ingénieur à l'Institut Français du Pétrole et Granet, Ingénieur de Recherche à Limoges, pour avoir accepté d'examiner ce travail et faire partie du jury.

Je tiens également à remercier Martine Casteignau, Christiane Savary et Michel Redon pour leur aide et leur bonne humeur quotidienne ... qu'est ce que l'on ferait sans vous ?

Merci aussi à toutes les personnes, compagnons de thèse, DEA et amis, qui ont contribué au bon déroulement du travail. Toute mon amitié à Julien, mon premier "élève" ... j'espère avoir rempli mon rôle comme il le fallait! Un merci tout particulier pour Véro ... ton soutien sans faille aux mauvaises heures et les parties de foot dans les couloirs et autres pitreries à qui "mieux-mieux" resteront dans ma mémoire ... merci ma cop's !!!

Une pensée amicale à Rachida ... merci pour avoir répondu à mes questions et pour m'avoir écoutée quand j'en avais besoin ...

Je ne pourrais terminer mes remerciements sans y associer mes parents et ma soeur qui m'ont apporté tout leur soutien dans les bons comme les mauvais moments... qu'ils trouvent ici l'expression de ma reconnaissance et de mon affection... je vous aime fort. Merci pour tout ce que vous m'apportez au quotidien. Une pensée également à ceux qui ne sont plus à mes côtés, mais qui sont dans mon coeur ... Enfin, je tiens à remercier celui qui a su rallumer la petite étincelle de mon coeur ... Franck, merci de ton soutien au quotidien et de ta patience, courage, tu soutiens bientôt ...





# Table des matières

<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>15</b>
<b>SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	<b>19</b>
<b>I. Les HAP dans les sols</b> .....	<b>21</b>
I.1. Définitions et origines .....	21
I.2. Présence de HAP dans les sols pollués .....	22
I.3. Propriétés chimiques .....	23
I.3.1. Solubilité .....	23
I.3.2. Pression de vapeur.....	24
I.3.3. Coefficient de partage octanol/eau ( $K_{ow}$ ).....	24
I.4. Toxicité.....	24
I.4.1. Le fluorène .....	25
I.4.2. Le fluoranthène .....	26
I.4.3. Le pyrène.....	26
I.5. Réglementations .....	27
<b>II. Devenir des HAP dans les sols</b> .....	<b>28</b>
II.1. Le sol : système polyphasique.....	28
II.2. Sorption des HAP dans les sols.....	29
II.2.1. Définition de la MO .....	29
II.2.2. Description quantitative de la sorption des HAP .....	30
II.2.3. Mobilité et transport des HAP dans les sols.....	33
II.3. Dégradations biotiques et abiotiques des HAP dans les sols .....	34
II.3.1. La volatilisation.....	34
II.3.2. La biodégradation.....	35
<b>III. Méthodes de réhabilitation des sols pollués par les HAP</b> .....	<b>37</b>
III.1. Les techniques physiques .....	38
III.1.1. Les procédés physiques par piégeage.....	38
III.1.2. Les procédés par évacuation .....	39

III.1.3.	Technique du pompage-écrémage.....	40
III.2.	Les procédés thermiques .....	40
III.3.	Les traitements chimiques.....	41
III.3.1.	Les méthodes de mobilisation et d'extraction .....	41
III.3.2.	Les réactions chimiques .....	42
III.4.	Les méthodes biologiques .....	43
III.4.1.	Biodégradation par traitement <i>in situ</i> .....	43
III.4.2.	Traitement en réacteur ou Bioslurry.....	43
III.4.3.	Bioterre et Landfarming.....	44
III.4.4.	La phytoremédiation .....	45
III.5.	Conclusions sur les méthodes de réhabilitation des sols pollués .....	46
<b>IV.</b>	<b>Remédiation des sols pollués par les HAP à l'aide de tensioactifs biologiques.....</b>	<b>48</b>
IV.1.	Présentation des différents biosurfactants .....	48
IV.1.1.	Définition .....	48
IV.1.2.	Utilisation des biosurfactants .....	49
IV.2.	La production des surfactants biologiques .....	50
IV.2.1.	Les organismes producteurs .....	51
IV.2.2.	Paramètres influençant la production.....	52
IV.2.3.	Extraction des biosurfactants du milieu de croissance.....	54
IV.3.	Propriétés physico-chimiques des biotensioactifs.....	54
IV.3.1.	Concentration Micellaire Critique (CMC).....	54
IV.3.2.	Structure des surfactants et paramètres influençant leur micellisation .....	55
IV.3.3.	Solubilité des tensioactifs en fonction de la température.....	56
IV.3.4.	Rapport Molaire de Solubilisation (RMS) et coefficient de partage micelle/eau ( $K_m$ ) .....	57
IV.4.	Sorption des biosurfactants sur les solides.....	58
IV.4.1.	Mécanismes d'adsorption .....	58
IV.4.2.	Paramètres influant sur la sorption au sol .....	59
IV.5.	Toxicité et biodégradabilité.....	60
IV.6.	Remobilisation des HAP par utilisation des biosurfactants .....	61
IV.6.1.	Modes d'action .....	61
IV.6.2.	Optimisation des conditions d'injection .....	64

IV.6.3. Comparaison de l'efficacité des biosurfactants par rapport aux surfactants chimiques .....	65
IV.7. Conclusion.....	67
<b>MATERIELS ET METHODES .....</b>	<b>69</b>
<b>I. Sol et HAP étudiés .....</b>	<b>71</b>
I.1. Le sol.....	71
I.1.1. Localisation .....	71
I.1.2. Caractérisation physico-chimique du sol .....	71
I.1.3. Caractérisation du complexe absorbant.....	73
I.2. HAP étudiés.....	74
<b>II. Production et caractérisation du biotensioactif.....</b>	<b>75</b>
II.1. Production du tensioactif.....	75
II.2. Nature du mélange .....	76
II.3. Détermination du pourcentage de rhamnose.....	76
II.4. Détermination de la masse molaire apparente et du pKa apparent .....	76
II.5. Détermination de la Concentration Micellaire Critique (CMC) dans l'EUP par tensiométrie.....	77
<b>III. Protocoles expérimentaux.....</b>	<b>78</b>
III.1. Contamination du sol .....	78
III.2. Préparation des solutions tensioactives.....	79
III.3. Système statique : études en réacteurs discontinus .....	79
III.3.1. Sorption du biotensioactif .....	79
III.3.2. Modélisation mathématique des isothermes de sorption.....	80
III.3.3. Cinétiques de désorption des HAP.....	82
III.3.4. Rapport Molaire de Solubilisation (RMS).....	82
III.3.5. Taux de contamination .....	83
III.4. Système dynamique : études en colonnes de sol.....	83
III.4.1. Montage expérimental.....	83
III.4.2. Courbes de percée du traceur non réactif et conservatif .....	86
<b>IV. Méthodes analytiques.....</b>	<b>87</b>

IV.1.	Dosage des HAP.....	87
IV.1.1.	Cas du fluorène.....	87
IV.1.2.	Cas du fluoranthène.....	88
IV.1.3.	Cas du pyrène.....	88
IV.2.	Dosage du rhamnose.....	89
IV.3.	Estimation de la Matière Organique Dissoute (MOD).....	90
IV.3.1.	Estimation par spectrophotométrie UV.....	90
IV.3.2.	Dosage du COD.....	90
IV.4.	Extraction chimique des HAP à partir du sol.....	91
IV.4.1.	Principe de fonctionnement.....	91
IV.4.2.	Choix du solvant et optimisation des conditions opératoires.....	91
<b>RESULTATS ET DISCUSSION .....</b>		<b>93</b>
<b>I. Caractéristiques physico-chimiques du sol et du biosurfactant.....</b>		<b>95</b>
I.1.	Le sol.....	95
I.1.1.	Caractérisation physico-chimique du sol.....	95
I.1.2.	Complexe absorbant.....	96
I.1.3.	Charge de surface du sol.....	97
I.2.	Le biosurfactant.....	98
I.2.1.	Caractérisation du biosurfactant.....	98
I.2.2.	Sorption du biosurfactant en réacteur discontinu.....	104
<b>II. Efficacité du biosurfactant à solubiliser et remobiliser les HAP .....</b>		<b>109</b>
II.1.	Etude en système statique : Rapport Molaire de Solubilisation (RMS) et coefficient de partage micellaire ( $K_m$ ).....	110
II.1.1.	Etude cinétique.....	110
II.1.2.	Solubilisation des composés simples.....	111
II.1.3.	Solubilisation en mélange ternaire.....	115
II.2.	Etude en système dynamique.....	116
II.2.1.	Etape de saturation en eau du sol.....	116
II.2.2.	Etude en composé simple.....	118
II.2.3.	Etude en mélange ternaire.....	122

II.3.	Comparaison de l'efficacité de l'UG2 et du 57SJ à solubiliser le fluoranthène et le pyrène .....	124
II.3.1.	Caractérisation du biosurfactant.....	124
II.3.2.	Remobilisation du pyrène et du fluoranthène (système simple) .....	125
II.4.	Conclusion.....	127
<b>III.</b>	<b>Influence du taux de contamination sur la remobilisation des HAP.....</b>	<b>128</b>
III.1.	Etude cinétique.....	128
III.1.1.	Horizon A.....	129
III.1.2.	Horizon B.....	129
III.2.	Mobilisation en mélange ternaire : Horizon A.....	130
III.3.	Horizon B : résultats de mobilisation.....	134
III.3.1.	Mélange ternaire.....	135
III.3.2.	Contamination par un seul composé .....	137
III.4.	Exploitation des résultats : isothermes de remobilisation .....	139
III.5.	Influence de la matière organique sur l'adsorption des HAP .....	141
III.5.1.	Oxydation de la matière organique par l'eau oxygénée.....	141
III.5.2.	Remobilisation en mélange ternaire en fonction du contenu en matière organique du sol .....	142
III.5.3.	Conclusion.....	144
	<b>CONCLUSION.....</b>	<b>145</b>
	<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>151</b>
	<b>ANNEXES.....</b>	<b>171</b>



## Liste des tableaux

Tableau 1 : Concentrations ubiquitaires dans l'environnement des trois HAP étudiés (INERIS, 2003).....	22
Tableau 2 : Concentration des HAP (mg.kg <sup>-1</sup> de sol) dans les sols contaminés (adapté de Juhasz et Naidu, 2000) .....	23
Tableau 3 : Valeur d'écotoxicité aiguë et chronique pour diverses espèces envers le fluorène	25
Tableau 4 : Valeur d'écotoxicité aiguë et chronique pour diverses espèces envers le fluoranthène.....	26
Tableau 5 : Valeurs guides québécoises et VCI françaises pour différents HAP .....	27
Tableau 6 : Exemple de composition élémentaire d'acides humique et fulvique issus d'un sol cultivé (d'après Martin <i>et al.</i> , 1998) .....	29
Tableau 7 : Corrélations entre le log K <sub>oc</sub> , le coefficient de partage octanol/eau (K <sub>ow</sub> ) et la solubilité aqueuse (S <sub>w</sub> en mol.L <sup>-1</sup> ) (adapté de Wilcke, 2000) .....	31
Tableau 8 : Demi-vies des HAP par biodégradation dans le sol (LCPE, 1994) .....	36
Tableau 9 : Synthèse des principaux traitements de dépollution (Ballerini,1998 ; Colin, 2000) .....	47
Tableau 10 : Utilisations potentielles des biosurfactants (d'après Banat <i>et al.</i> , 2000) .....	50
Tableau 11 : Principaux types de surfactants biologiques (adapté de Desai et Banat, 1997 et Banat <i>et al.</i> , 2000) .....	52
Tableau 12 : Toxicité de biotensioactifs comparée à celle de surfactants chimiques (d'après Christofi et Ivshina, 2002).....	61
Tableau 13 : Tableau récapitulatif de différentes études en colonnes de sol avec des tensioactifs biologiques et chimiques.....	66
Tableau 14 : Propriétés physico-chimiques des HAP étudiés.....	75
Tableau 15 : Rendements d'extraction des HAP, exprimés en %, suivant le solvant (n=5) ....	92
Tableau 16 : Optimisation des conditions opératoires (n=5) .....	92
Tableau 17 : Caractéristiques physico-chimiques du sol étudié .....	95
Tableau 18 : Caractéristiques du complexe absorbant .....	96
Tableau 19 : Masses molaires de rhamnolipides produits par différentes souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	100
Tableau 20 : Pourcentages molaires relatifs des constituants du mélange de rhamnolipides	101

Tableau 21 : Tensions de surface et concentrations micellaires critiques de divers rhamnolipides (adapté de Lang et Wullbrandt, 1999).....	104
Tableau 22 : Solubilité des HAP dans l'eau et dans une solution de biotensioactif de concentration inférieure à la CMC .....	112
Tableau 23 : CMC efficace de solubilisation du biosurfactant .....	112
Tableau 24 : Rapport Molaire de Solubilisation et coefficient de partage micelle/eau ( $\log K_m$ ) de chaque HAP.....	113
Tableau 25 : Coefficients de partage octanol/eau et micelle/eau des HAP seuls ou en mélange .....	115
Tableau 26 : Pourcentage relatif des constituants du mélange de rhamnolipides de l'UG2...	125
Tableau 27 : Rendements d'extraction des HAP par le 57SJ et le dichlorométhane.....	130
Tableau 28 : Comparaison des solubilités apparentes obtenues avec ou sans sol pour chaque HAP en mélange ternaire .....	132



## Liste des figures

Figure 1 : Différentes voies de biodégradation du fluoranthène par des bactéries en conditions aérobies (d'après Kanaly et Harayama, 2000).....	35
Figure 2 : Représentation schématique d'un pompage et traitement avec injection de tensioactif.....	40
Figure 3 : Représentation schématique d'une micelle de surfactant.....	55
Figure 4 : Représentation schématique d'une molécule de surfactant (d'après Bai <i>et al.</i> , 1998).....	56
Figure 5 : Solubilité d'un tensioactif ionique en fonction de la température (d'après Shinoda et Fontell, 1995).....	57
Figure 6 : Représentation schématique de l'adsorption de surfactant sur un sol (d'après West et Harwell, 1992).....	59
Figure 7 : Représentation schématique des processus contrôlant la solubilité des HAP en présence de surfactant (d'après Edward <i>et al.</i> , 1994).....	63
Figure 8 : Détermination de la tension de surface suivant la méthode de DuNouy.....	78
Figure 9 : Conception et dimensions d'une colonne de sol.....	84
Figure 10 : Montage expérimental des expériences en colonne de sol.....	85
Figure 11 : Evolution de l'intensité de la réponse du fluorimètre en fonction des longueurs d'ondes d'excitation et d'émission pour le fluorène.....	87
Figure 12 : Evolution de l'intensité de la réponse du fluorimètre en fonction des longueurs d'ondes d'excitation et d'émission pour le fluoranthène.....	88
Figure 13 : Evolution de l'intensité de la réponse du fluorimètre en fonction des longueurs d'ondes d'excitation et d'émission pour le pyrène.....	88
Figure 14 : Droite d'étalonnage utilisée pour le dosage du rhamnose.....	89
Figure 15 : Droite de corrélation entre l'absorbance UV à 400 nm et le COD.....	91
Figure 16 : Triangle textural (Baize, 1990).....	96
Figure 17 : Détermination des $pK_a^s$ et du $pH_{zpc}$ pour l'horizon A.....	97
Figure 18 : Détermination des $pK_a^s$ et du $pH_{zpc}$ pour l'horizon B.....	98
Figure 19 : Dosage acido-basique d'une solution de biosurfactant à $1 \text{ g.L}^{-1}$ par HCl à $2.10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$ et courbe de dérivée.....	99
Figure 20 : Molécules constituant le biosurfactant.....	100
Figure 21 : Tension de surface en fonction de la concentration en biosurfactant.....	103

Figure 22: Tension de surface en fonction du log $C_{57SJ}$ .....	103
Figure 23 : Cinétique d'adsorption du 57SJ ( $0,15 \text{ g.L}^{-1}$ ) sur les deux horizons (HA et HB) .	105
Figure 24 : Pourcentage de 57SJ sorbé en fonction de la concentration en solution après 24 heures de temps de contact.....	106
Figure 25 : Isothermes de sorption du biosurfactant suivant la représentation directe .....	107
Figure 26 : Isotherme de Freundlich pour la sorption du 57SJ sur l'horizon A .....	108
Figure 27 : Isotherme de Freundlich pour la sorption du 57SJ sur l'horizon B .....	108
Figure 28 : Cinétique de solubilisation du pyrène en présence de biosurfactant ( $2,5 \text{ g.L}^{-1}$ )..	110
Figure 29 : Solubilisation des HAP considérés indépendamment par le 57SJ.....	111
Figure 30 : Augmentation de la solubilité apparente des HAP en fonction de la concentration en 57SJ .....	114
Figure 31 : Corrélacion entre les log $K_{ow}$ et log $K_m$ pour les trois HAP dans une solution de 57SJ de concentration égale à $2,5 \text{ g.L}^{-1}$ .....	115
Figure 32 : Evolution de la concentration en COD dans l'effluent des colonnes au cours de l'étape de saturation en eau du sol lors des différents essais .....	117
Figure 33 : Concentration en HAP des percolats pour l'étude en composé simple.....	118
Figure 34 : Pourcentage cumulé de remobilisation des HAP seuls.....	121
Figure 35 : Suivi du COD et du pH.....	122
Figure 36 a : Comportement du fluoranthène seul et en mélange ternaire .....	123
Figure 37 : Comportement du fluorène seul et en mélange ternaire .....	124
Figure 38 a et b : Influence du biotensioactif sur les concentrations de fluoranthène (a) et pyrène (b) en solution – Horizon A.....	126
Figure 39 a et b : Influence du biotensioactif sur le pourcentage de HAP cumulé.....	126
Figure 40 : Suivi du pH et du COD lors de l'injection de deux biosurfactants différents.....	127
Figure 41 : Cinétique de désorption des trois HAP pour l'horizon A .....	129
Figure 42 : Cinétique de désorption des trois HAP pour l'horizon B.....	129
Figure 43 : Concentration remobilisée en fonction du taux de contamination du sol (Horizon A).....	131
Figure 44 : Augmentation de la solubilité apparente des HAP en fonction du taux de contamination.....	132
Figure 45 : Pourcentage de remobilisation des HAP en mélange sur l'horizon A.....	133
Figure 46 : Suivi du pH et du COD de l'horizon A.....	134
Figure 47 : Suivi du biotensioactif pour l'horizon A.....	134

Figure 48 : Concentration remobilisée en fonction du taux de contamination du sol (horizon B).....	135
Figure 49 : Pourcentage de remobilisation des HAP en mélange sur l'horizon B .....	135
Figure 50 : Suivi du pH et du COD de l'horizon B .....	137
Figure 51 : Suivi du biotensioactif pour l'horizon B .....	137
Figure 52 : Comparaison de la remobilisation du fluoranthène (a) et du pyrène (b), seul ou en mélange sur l'horizon B.....	138
Figure 53 : Comparaison de la remobilisation du fluorène seul ou en mélange sur l'horizon B .....	139
Figure 54 : Représentation directe de la quantité résiduelle en HAP ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$ de sol) en fonction de la concentration solubilisée pour les isothermes de remobilisation en mélange ternaire sur l'horizon A (a), en système seul (b) ou mélange ternaire (c) sur l'horizon B .....	141
Figure 55 : Oxydation de la matière organique de l'horizon A par $\text{H}_2\text{O}_2$ .....	142
Figure 56 : Remobilisation en mélange ternaire après attaque de la matière organique de l'horizon A par $\text{H}_2\text{O}_2$ .....	142
Figure 57 : Suivi du pH et du COD.....	144

## Liste des annexes

Annexe 1 : Propriétés physico-chimiques (à 20°C) des 16 HAP classés par l'USEPA (d'après Mackay *et al.*, 1992).....173

Annexe 2 : Classification du type de carcinogène pour les 16 HAP prioritaires (adapté de Peters *et al.*, 1999 et Collins *et al.*, 1998).....175

## Liste des abréviations

AF : Acide Fulvique

AH : Acide Humique

CEC : Capacité d'Echange Cationique

CMC : Concentration Micellaire Critique

CO : Carbone Organique

COD : Carbone Organique Dissous

COH : Composé Organique Hydrophobe

DSS : Dodécyle sulfate de sodium

EUP : Eau Ultra Pure

FBC : Facteur de Bioconcentration

HAP : Hydrocarbure Aromatique Polycyclique

MO : Matière Organique

MOD : Matière Organique Dissoute

MOF : Matière Organique Fraîche

MON : Matière Organique Naturelle

NAPL : Non Aqueous Phase Liquids

BPC : Biphényle polychloré

RMS : Rapport Molaire de Solubilisation

SEAR : Remédiation assistée par agent de surface

SOM : Matière Organique du Sol (Soil Organic Matter)

VCI : Valeur de Constat d'Impact

$V_p$  : Volume de Pore



**INTRODUCTION**





Les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) sont des molécules organiques issues de la combustion incomplète de matières carbonées, suite à des processus naturels (volcanisme), mineurs, et des processus anthropiques, majoritaires. Ils sont libérés dans tous les compartiments de l'environnement.

La majeure partie des sources sont émises dans l'atmosphère et sont le plus souvent reliées à la densité de population humaine (chauffage, transport ...). Les sols et les eaux sont également touchés par cette pollution, suite à des dépôts atmosphériques ou des déversements accidentels de type créosote ou d'hydrocarbures. Désormais largement répandus, la concentration des HAP dans l'environnement a fortement augmenté depuis les 150 dernières années.

Les HAP présentent un risque toxicologique important même à de faibles concentrations, notamment par leurs propriétés cancérogènes et/ou mutagènes. Du fait de leur forte hydrophobicité liée à la présence de noyaux aromatiques, ces molécules s'adsorbent fortement aux matières particulaires rendant leur élimination et/ou leur transformation par réaction chimique difficile. De plus, les HAP sont peu biodégradables car faiblement biodisponibles, ce qui les rend persistants dans l'environnement. Ainsi leur sort dans l'environnement est devenu un sujet préoccupant.

De nombreuses études ont montré que les sols constituaient le principal point de fuite environnementale des HAP (LCPE, 1994). Or du fait de leur caractère rémanent et toxique, il est nécessaire de surveiller et de limiter cette pollution. L'U.S. EPA (United States Environmental Protection Agency) a répertorié seize HAP à éliminer des sols lorsqu'ils y sont détectés. Le devenir des HAP dans les sols est principalement contrôlé par des phénomènes d'adsorption, la matière organique du sol étant la fraction active impliquée dans ce processus.

Bien que sur les 3735 sites industriels pollués recensés en France (BASOL, 2004), 16 % soient contaminés par les HAP, il n'existe actuellement aucun décret concernant les concentrations limites en HAP présents dans les sols. Ce manque de réglementation est compensé par la mise en place de valeurs de constat d'impact (VCI). Les VCI représentent des valeurs cibles au-delà desquelles des études doivent être mises en oeuvre. Ainsi, lorsqu'une réhabilitation des sols est envisagée des valeurs guides canadiennes ou hollandaises sont utilisées.

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 : l'excavation, la vitrification ou l'incinération.... Une des techniques largement utilisée pour traiter les sols *in situ* est le "pompage et traitement", qui consiste en une circulation d'eau dans la zone de pollution, celle-ci étant retraitée en sortie. Cependant, du fait de la faible solubilité des HAP, les rendements obtenus demeurent faibles, et il est souvent nécessaire d'ajouter des substances supplémentaires pour favoriser la désorption. Dans la plupart des cas, des co-solvants organiques ou des tensioactifs chimiques sont employés, mais ceux-ci sont toxiques et peu biodégradables. Ainsi, afin de ne pas induire de pollution supplémentaire, l'intérêt se porte depuis quelques années sur la remédiation assistée par des tensioactifs d'origine biologique ou biosurfactant.

C'est dans cette optique que ce travail de thèse a été mené. En effet, nous avons choisi d'étudier l'efficacité d'un tensioactif biologique, produit par une nouvelle souche de *Pseudomonas*, à solubiliser trois HAP fréquemment détectés dans les sols pollués.

Le présent mémoire se subdivise en trois parties. La première est une analyse de la littérature scientifique où sont exposées les données relatives aux HAP (sources, toxicité, normes...), suivies de l'étude de leur devenir dans les sols (sorption, dégradation...). Après avoir défini les différentes techniques de réhabilitation utilisées, notre attention se portera sur les biosurfactants (caractérisation, propriétés et modes d'action).

Dans la seconde partie, les matériels et méthodes seront présentés, ainsi que les caractéristiques des appareillages et des produits utilisés ; les protocoles expérimentaux seront également détaillés.

La troisième partie de ce mémoire est consacrée à la présentation et la discussion des résultats obtenus concernant :

- ✓ La caractérisation du sol et du biosurfactant utilisés.
- ✓ L'étude de la solubilisation des HAP, seuls ou en mélange ternaire, par le biosurfactant. Les expériences ont d'abord été menées en réacteurs statiques, suivies d'études en systèmes dynamiques (colonnes de sol).
- ✓ Enfin, l'incidence du taux de contamination et de la teneur en matière organique du sol sur la remobilisation ont été évaluées.

Les résultats expérimentaux obtenus lors de cette étude contribueront à une meilleure connaissance des propriétés du biotensioactif étudié ainsi que des mécanismes de solubilisation des HAP à partir de sols pollués. Ces connaissances permettront d'appréhender les potentialités d'utilisation de ce tensioactif dans le cadre de la réhabilitation de sites pollués.

**SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**



## I. Les HAP dans les sols

### I.1. Définitions et origines

Les HAP sont des composés organiques aromatiques hydrophobes fréquemment retrouvés dans l'environnement. Ce sont des sous-produits issus de la combustion incomplète de la matière organique (Samanta *et al.*, 2002). Les HAP sont constitués d'atomes de carbone et d'hydrogène formant au moins deux anneaux aromatiques condensés (Menzie *et al.*, 1992 ; Li et Chen, 2002).

Les HAP sont émis dans l'environnement par trois processus : la diagenèse, la combustion et la pyrolyse de matières carbonées ou par biogenèse. Ces processus sont généralement regroupés en deux sources principales : les sources naturelles et les sources anthropiques.

Les premières incluent les émissions liées aux feux de forêts, aux éruptions volcaniques, mais aussi les réactions biogènes dans les plantes et les bactéries (Juhász et Nái du, 2000 ; Wilcke, 2000), ainsi que les réactions géologiques associées à la production de fuel fossile et minéral (LCPE, 1994). Dans tous les cas, il s'agit de sources diffuses. Les sources anthropiques sont majoritaires et regroupent aussi bien les processus de combustion de fuel fossile (automobiles, usines de production de coke, etc., Menzie *et al.*, 1992) que les processus de transformation, tels que la production et l'utilisation de la créosote, la raffinerie du pétrole (Hill et Goshal, 2002). Ces sources sont donc suivant les cas, diffuses ou ponctuelles, les dernières représentant les cas de contamination les plus critiques.

Le fluorène, le phénanthrène et l'acénaphène, font partie des HAP majoritaires émis dans la phase gazeuse et dans la phase particulaire des émissions diesel. Le fluoranthène et le pyrène font partie des HAP les plus répandus dans l'environnement (Rababah et Matsuzawa, 2002) et sont répertoriés dans la liste de l'USEPA. Le fluoranthène est un des HAP recherchés dans les eaux en France. Sa concentration dans les eaux destinées à la consommation humaine ne doit pas dépasser  $0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$ .

Le Tableau 1 regroupe les concentrations ubiquitaires dans l'environnement des trois HAP étudiés dans ce mémoire. Ces valeurs ont été estimées par le HSDB (Hazardous Substances Data Bank, 2001) et l'OMS IPCS (World Health Organisation, International Program on Chemical Safety) en Europe pour l'air et les eaux. En ce qui concerne les sols, les données sont issues de l'OMS et celles concernant les sédiments proviennent des Etats-Unis.

Tableau 1 : Concentrations ubiquitaires dans l'environnement des trois HAP étudiés (INERIS, 2003)

Milieu	Concentrations		
	Fluorène	Fluoranthène	Pyrène
Air	< 5 ng.m <sup>-3</sup>	≈1 ng.m <sup>-3</sup>	≈2 ng.m <sup>-3</sup>
Eau			
-eaux de surface	< 2 ng.L <sup>-1</sup>		< 15 ng.L <sup>-1</sup>
-eaux de pluie	< 50 ng.L <sup>-1</sup>	< 50 ng.L <sup>-1</sup>	< 50 ng.L <sup>-1</sup>
-eaux souterraines	< 0,1 µg.L <sup>-1</sup>	< 200 ng.L <sup>-1</sup>	/
Sol	< 10 µg.kg <sup>-1</sup>	< 40 mg.kg <sup>-1</sup>	< 20 mg.kg <sup>-1</sup>
Sédiments	< 500 µg.kg <sup>-1</sup>	< 1 mg.kg <sup>-1</sup>	/

Bien que la majorité des HAP soit émise dans l'atmosphère, le sol et les sédiments constituent le principal point de fuite environnementale de ces polluants (LCPE, 1994 ; Wilcke, 2000). En effet, Wild et Jones (1995) estiment que 90 % des HAP émis dans l'environnement sont stockés dans les sols, ce chiffre ne prenant pas en compte les sites contaminés suite à des activités industrielles (usines à gaz, raffineries de pétrole ou usines de traitement de bois). Dans ce cas, la pollution s'étend vers les horizons plus profonds du sol.

## I.2. Présence de HAP dans les sols pollués

Les concentrations en HAP dans les sols industrialisés ont commencé à augmenter dès le milieu du 19<sup>ième</sup> siècle, pour atteindre un maximum dans les années 1950-1960 (Juhász et Naidu, 2000). Les sources de rejets de HAP dans les sols sont diverses et comprennent les processus de dispersion de matières créosotées (chemins de fer), les déversements d'hydrocarbures accidentels, les procédés industriels (brai de goudron, asphalte et épandage de boues), les effluents municipaux ou les précipitations et dépôts atmosphériques (Kim *et al.*, 2003). Ces derniers semblent constituer une source importante d'intrants dans les sols (Trapido, 1999 ; Motelay-Massei *et al.*, 2004). En effet, de part leur caractère hydrophobe, les HAP fixés sur des particules sont facilement transportés dans l'atmosphère. Wild et Jones (1995) estiment les émissions de 11 HAP dans l'atmosphère britannique à 700 t.a<sup>-1</sup> et le taux de déposition moyen à 8,4 g.ha<sup>-1</sup>.a<sup>-1</sup>. En France, l'inventaire du CITEPA (Centre Interprofessionnel Technique d'Etude de la Pollution atmosphérique) fournit des valeurs d'émission atmosphérique pour l'année 2002 de 251 t.a<sup>-1</sup>.

Les concentrations en HAP d'origine naturelle varient de 1 à 10 µg de HAP individuel par kg de sol (Wilcke, 2000) et celles liées aux sources anthropiques augmentent avec l'impact des industries, du trafic routier ou avec le chauffage domestique (Wilcke, 2000 ; Motelay-Massei *et al.*, 2004). Généralement, les concentrations en HAP dans les sols diminuent de manière exponentielle à la distance de la source émettrice (Crépineau *et al.*, 2003). Une étude réalisée par Motelay-Massei *et al.* (2004) sur des sols issus du bassin parisien révèle que le fluoranthène et le pyrène sont des HAP majoritairement retrouvés dans les sols, suite à des dépôts urbains. Wilcke (2000) rajoute de plus que les benzo[b+j+k]fluoranthènes sont également fréquemment retrouvés dans les sols. Cependant, comme le montre le Tableau 2, les HAP majoritaires varient avec le type d'exploitation industrielle du site, en concentration ou en espèces majoritaires.

Tableau 2 : Concentration des HAP (mg.kg<sup>-1</sup> de sol) dans les sols contaminés (adapté de Juhasz et Naidu, 2000)

HAP (mg.kg <sup>-1</sup> de sol)	Production de créosote	Stockage de bois	Sites		
			Usine à gaz	Pétrochimique	Usine à gaz (COGEMA)
Naphtalène	1131	3925	/	186	/
Acénaphthalène	33	49	/	/	28
Acénaphène	/	1368	2	43	2
Fluorène	650	1792	225	87	4
Phénanthrène	1595	4434	379	156	51
Anthracène	334	3307	156	53	58
Fluoranthène	682	1629	2174	137	195
Pyrène	642	1303	491	99	173
Chrysène	614	481	345	/	52
Benzo[a]pyrène	/	171	317	33	88
Benzo[b,k]fluoranthène	/	2271	498	/	99
Dibenzo[a,h]anthracène	/	192	2451	12	/
Indéno[1,2,3-c,d]pyrène	/	120	207	/	46
Ø HAP	5863	70633	7331	821	974

### I.3. Propriétés chimiques

Le devenir et la mobilité des HAP dans l'environnement sont principalement contrôlés par leurs propriétés chimiques.

A l'état pur, les HAP sont des solides souvent colorés et cristallins à température ambiante. Leurs propriétés physico-chimiques varient avec leur masse molaire et leur structure. L'Annexe 1 regroupe les principales propriétés physico-chimiques des 16 HAP prioritaires classés par l'Agence de Protection de l'Environnement américaine (USEPA).

Les HAP se subdivisent en deux groupes : les légers, dont la masse molaire est comprise entre 150 et 180 g.mol<sup>-1</sup> (HAP de moins de quatre cycles) et les lourds (au moins quatre cycles) ; dont les masses molaires varient de 200 à 280 g.mol<sup>-1</sup>.

Les HAP ont un point de fusion supérieur à 100°C et un point d'ébullition élevé (supérieur à 300°C). Ce sont des composés neutres et non polaires.

#### I.3.1. Solubilité

La solubilité, exprimée en mol.L<sup>-1</sup> ou en mg.L<sup>-1</sup>, correspond à la concentration du produit en phase aqueuse lorsque l'équilibre est atteint. La solubilité augmente avec la température et peut être un bon indicateur de la tendance d'un produit à être entraîné par les eaux du sol. Excepté pour le naphtalène, les solubilités des HAP dans l'eau sont modérées (30 mg.L<sup>-1</sup>) à très faibles (2.6 10<sup>-4</sup> mg.L<sup>-1</sup>) pour les HAP lourds. La solubilité est également fonction de la fraction molaire de chaque composé dans le mélange de polluant, ainsi que de la teneur en MO de la phase particulaire (Ballerini *et al.*, 1998).

### I.3.2. Pression de vapeur

Ce paramètre sert à estimer la tendance d'un produit à se volatiliser et donc à passer en phase gazeuse à partir d'une phase aqueuse, du sol ou de la phase organique. Les tensions de vapeur sont modérément élevées à faibles. A partir de  $10^{-5}$  kPa, les composés sont considérés comme volatils.

### I.3.3. Coefficient de partage octanol/eau ( $K_{ow}$ )

Ce coefficient traduit la répartition d'une molécule d'un soluté entre la phase lipophile (octan-1-ol) et la phase hydrophile (eau). Ce coefficient donne une indication sur sa capacité à s'adsorber sur des surfaces hydrophobes. Par exemple, ce coefficient est un bon indicateur de la capacité des polluants à pénétrer les membranes biologiques qui sont des bicouches lipidiques, et donc à s'accumuler dans les organismes vivants. Pour les HAP, les  $\log K_{ow}$  varient de 3,37 à 6,5 (Mackay *et al.*, 1992).

Les  $K_{ow}$  sont relativement élevés, ce qui indique un fort potentiel d'adsorption sur les matières particulaires, mais aussi sur la matière organique des sols. Du fait de ces valeurs de  $K_{ow}$  élevées, les HAP pourront être extraits par des solvants organiques ou des tensioactifs.

## I.4. Toxicité

L'homme est exposé aux HAP par l'ingestion de denrées alimentaires (légumes, viandes grillées...). Phillips (1999) indique que l'alimentation est la source majoritaire d'exposition aux HAP pour les non fumeurs (70 % de l'exposition). Des études menées dans différents pays ont montré que la quantité de HAP ingérée variait de 1,2 à 5  $\mu\text{g}\cdot\text{jour}^{-1}$ . Par comparaison, la fumée de cigarette ajoute 2 à 5  $\mu\text{g}\cdot\text{jour}^{-1}$  pour une consommation d'un paquet.jour<sup>-1</sup>.

Les tests de toxicité sont souvent effectués sur des animaux ou des micro-organismes ; cela représente donc un problème pour extrapoler et évaluer la toxicité des HAP envers les humains. Des tests d'écotoxicologie permettent de caractériser un niveau de toxicité des polluants présents dans les sols. Pour cela, il est possible de faire des tests sur les plantes ou sur les organismes du sol (bactéries, vers de terre) mais ils sont coûteux, longs et les micro-organismes doivent être au préalable adaptés aux polluants.

Une autre méthode consiste à réaliser des bio-essais sur les lixiviats du sol. Différents tests sont utilisés en laboratoire, et l'un des plus sensibles et des plus rapides à mettre en oeuvre pour les HAP est le test Microtox<sup>®</sup> (Renoux *et al.*, 1999 ; Bispo *et al.*, 1999) qui repose sur l'extinction de luminescence de la bactérie *Vibrio fischeri*. Ce test permet de déterminer la concentration de polluant nécessaire pour diminuer de moitié la luminescence initiale de la bactérie. La toxicité d'une molécule est différente lorsqu'elle est seule ou en mélange. Par exemple, Renoux *et al.* (1999) reportent une toxicité plus élevée du fluorène lorsqu'il est en mélange avec du phénanthrène et du *p*-crésol ; ceci indique des effets de synergie entre les molécules.



Les HAP peuvent s'accumuler dans une grande variété d'organismes. Des facteurs de bioconcentration (FBC) compris entre 4 et 7800 ont été signalés pour divers HAP dans des algues unicellulaires (LCPE, 1994). La vitesse d'élimination chez les invertébrés aquatiques est beaucoup plus faible que le taux d'absorption (CNRC, 1983), ce qui explique la longue demi-vie des HAP chez ces derniers.

L'IARC (International Agency for Research on Cancer, 1983) indique que les HAP les plus potentiellement carcinogènes sont les benzofluoranthènes, le benzo[a]pyrène, le benzo[a]anthracène, le dibenzo[a,h]anthracène et l'indéno[1,2,3-cd]pyrène. L'Annexe 2 regroupe les données fournies par l'USEPA (United States Environmental Protection Agency) pour les 16 HAP prioritaires.

La toxicité des HAP peut s'exprimer selon différents modes. Plusieurs mécanismes toxiques sont mis en jeu suivant la molécule, le type d'exposition (aiguë ou chronique), les cellules et l'organisme touchés ainsi que les conditions environnementales. Les trois mécanismes de toxicité cités dans la littérature sont : la narcose non polaire (toxicité de base, non corrélée avec le  $K_{ow}$ ), la toxicité photo-induite par les UV et l'activation biochimique qui est responsable des effets tératogènes et cancérigènes. Nous allons développer plus en détail la toxicité des trois HAP sélectionnés pour cette étude.

#### I.4.1. Le fluorène

Bien que classé parmi les 16 HAP de l'USEPA, le fluorène n'est pas répertorié comme carcinogène humain par les différents organismes (Union Européenne, CIRC-IARC et USEPA), et n'est pas génotoxique. Peu de données existent sur sa toxicité. Cependant, son squelette est retrouvé dans des HAP mutagènes et/ou carcinogènes, comme le 2-aminofluorène ou le 2-nitrofluorène (Garon *et al.*, 2002). L'exposition aiguë au fluorène induit principalement des troubles hépatiques chez les animaux ; A l'heure actuelle, il n'existe pas de données concernant ce type de toxicité chez l'homme. Il en est de même pour la toxicité chronique. Par contre en ce qui concerne les animaux, des troubles hématologiques viennent se rajouter aux troubles hépatiques.

Des valeurs d'écotoxicité aiguë et chronique sont reportées dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Valeur d'écotoxicité aiguë et chronique pour diverses espèces envers le fluorène

Ecotoxicité	Espèce	Critère d'effet	Valeur ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )	Références
Aiguë	<i>Daphnia magna</i>	CL <sub>50</sub> (24 et 48 h)	408	INERIS, 2003
Chronique	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	CE <sub>10</sub> (72h)	82	
	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	CE <sub>10</sub> (7j)	25	
	<i>Folsomia fimetaria</i>	CL <sub>50</sub> (21 J) CE <sub>50</sub> (21 J) CE <sub>10</sub> (21 J)	39 14 (mg/kg ps) 7,7	Sverdrup <i>et al.</i> , 2001

CL<sub>50</sub> : Concentration létale pour 50 % des organismes,

CE<sub>50</sub> : concentration effective à 50 %, c'est à dire affectant 50 % de la population testée.

### I.4.2. Le fluoranthène

L'USEPA, comme les autres organismes de référence, le classe comme agent non carcinogène pour l'homme (groupe D). Cependant, sa toxicité est augmentée par l'irradiation UV (Rababah et Maturawa, 2002 ; Hatch et Burton, 1999).

Peu d'études de toxicité aiguë sont disponibles chez les animaux, quelle que soit la voie d'exposition. Toutefois, une  $DL_{50}$  de  $2000 \text{ mg.kg}^{-1}$  de poids corporel a été calculée chez le rat alors que  $3180 \text{ mg.kg}^{-1}$  de poids corporel de fluoranthène sont susceptibles d'entraîner dans 50 % des cas la mort de lapins après une exposition par voie cutanée (Smyth *et al.*, 1962).

Chez l'homme, une seule étude traite de l'effet induit par une exposition par voie pulmonaire au fluoranthène. Dans cette étude, les salariés ont été exposés par voie pulmonaire à un mélange de HAPs contenant du fluoranthène, du perylène, du pyrène, du benz[a]pyrène, du chrysène, du benzo[a]anthracène, du dibenz[a,h]anthracène et du benzo[g,h,i]perylène. L'exposition à de fortes concentrations de ce mélange (concentration non précisée) induit une diminution du taux d'immunoglobulines sériques (IgA, IgG et IgM). Cette étude n'a toutefois pas permis d'identifier l'effet spécifique du fluoranthène (INERIS, 2003).

Chez l'animal, aucune étude concernant l'effet induit par une exposition chronique au fluoranthène n'est disponible. Par contre, de nombreuses données écotoxicologiques sont disponibles dans la littérature. Le Tableau 4 répertorie différentes valeurs d'écotoxicité aiguë et chronique.

Tableau 4 : Valeur d'écotoxicité aiguë et chronique pour diverses espèces envers le fluoranthène

Ecotoxicité	Espèce	Critère d'effet	Valeur ( $\text{mg.L}^{-1}$ )	Références
Aiguë	<i>Daphnia magna</i>	NOEC (21j)	0,017	INERIS, 2003
Chronique	<i>Pseudokirchneriella subcapitata (D)</i>	NOEC (72h)	0,0086	
	<i>Daphnia magna</i>	NOEC (21j)	0,017	

NOEC : No Observed Effect Concentration (concentration à partir de laquelle on n'observe pas d'impact)

### I.4.3. Le pyrène

Il existe peu de données sur la toxicité du pyrène envers les hommes. Les études mises en oeuvre ont été réalisées sur des mélanges et bien qu'induisant des effets cancérigènes, elles n'ont donc pas pu mettre en évidence le caractère toxique du pyrène seul.

L'IARC a classé le pyrène non carcinogène envers les animaux et il a été testé de façon négative ou non concluante dans tous les tests de "GENOTOX de l'USEPA". Les équipes de recherche évaluant la toxicité d'une molécule s'accordent à dire que le pyrène n'est pas un carcinogène humain, mais il est cependant classé comme tératogène. En ce qui concerne sa toxicité chronique envers les hommes ou les animaux, aucune donnée ne sont disponibles à

l'heure actuelle. Des expositions orales sub-chroniques ont produit chez les souris des néphropathies, des augmentations de la taille du foie et des changements hématologiques (RAIS, 1993). Aucuns bioessais par voie orale ou inhalation ne sont disponibles pour évaluer le caractère cancérigène de cette molécule. Les autres voies d'exposition (dermique, subcutanée) fournissent en général des résultats négatifs (RAIS, 1993). Des tests effectués sur les animaux donnent une DL<sub>50</sub> de 2700 mg.kg<sup>-1</sup> chez le rat suite à une ingestion orale et une DL<sub>50</sub> de 170 mg.m<sup>-3</sup> par inhalation.

## I.5. Réglementations

Du fait du caractère toxique des HAP, il est important de légiférer sur les teneurs maximales admissibles pour éviter tout risque environnemental ou humain. En ce qui concerne les eaux, le décret n° 2001-1220 du 20 décembre 2001 relatif aux eaux destinées à la consommation humaine (à l'exception des eaux minérales naturelles) indique que la somme des concentrations en benzo(b)fluoranthène, benzo(k)fluoranthène, benzo(a)pyrène, benzo(g,h,i)pérylène et indéno(1, 2, 3-cd)pyrène ne doit pas excéder 0,1 µg.L<sup>-1</sup>. Il est à noter que la concentration en benzo[a]pyrène ne doit pas dépasser la valeur de 0,01 µg.L<sup>-1</sup>.

A l'heure actuelle, il n'existe pas en France de réglementation sur les teneurs en HAP des sols. Les seules données disponibles sont les VCI (Valeur de Constat d'Impact), au-delà desquelles une étude de la nature de la pollution et de ses impacts est nécessaire. Des valeurs dites guides, servant de référence, sont utilisées au Québec [Ministère de l'Environnement du Québec, 1988] où un seuil de concentration est défini, correspondant à la valeur d'intervention au-dessus de laquelle le site doit être dépollué. Le Tableau 5 récapitule les valeurs retenues par ces gouvernements :

Tableau 5 : Valeurs guides québécoises et VCI françaises pour différents HAP

	Critères québécois pour les sols (mg.kg <sup>-1</sup> matière sèche)			VCI françaises (mg.kg <sup>-1</sup> matière sèche)	
	Niveau A	Niveau B	Niveau C	Usage sensible	Usage non sensible
Naphtalène	0,1	5	50	46	pvl
Fluorène		10	100		
Phénanthrène		5	50		
Anthracène		10	100	pvl	pvl
Fluoranthène		10	100	6100	pvl
Pyrène		10	100		
Benzo(a)anthracène		1	10	13,9	252
Chrysène		1	10	10350	25200
benzo(a)pyrène				7	25
Benzo(g,h,i)pérylène					
Benzo(k)fluoranthène				900	2520
Indéno(1,2,3-cd)pyrène				16,1	252

pvl : pas de valeur limite.

Le niveau A représente le bruit de fond ou la limite de détection du contaminant. Le niveau B constitue le seuil de contamination pour lequel des analyses approfondies sont nécessaires, et à partir du niveau C, des techniques de dépollution doivent être mises en oeuvre. En ce qui concerne les sols, l'USEPA a classé seize HAP à rechercher en priorité ; Le fluorène, le fluoranthène et le pyrène en font partie. Leurs principales caractéristiques sont récapitulées dans l'Annexe 1.

## II. Devenir des HAP dans les sols

### II.1. Le sol : système polyphasique

Le sol peut être défini comme la couche supérieure de la croûte terrestre composée de particules minérales, de matière organique, d'eau, d'air et d'organismes.

D'un point de vue pédologique, le sol représente la partie des formations naturelles superficielles soumises aux processus pédologiques et subissant des évolutions plus ou moins importantes de la composition chimique et de la constitution minéralogique. Le sol résulte de l'évolution de la roche mère sous jacente transformée en surface par divers facteurs (climat, nature de la roche, activité biologique...).

Le sol est donc un système hétérogène et complexe. Il est composé d'une phase solide représentée par les particules du sol, une phase liquide représentée par l'eau du sol (qui peut être enrichie en de nombreux composés et particules) et une phase gazeuse constituée par l'air emprisonné dans le sol. Ceci permet de déterminer un domaine non saturé et un domaine saturé. La zone non saturée constitue une interface entre l'atmosphère et l'hydrosphère. Dans cette partie, les pores du sol ne sont que partiellement remplis par l'eau et le gaz y prédomine. La zone saturée est une zone où l'ensemble des pores est rempli d'eau.

Nous ne présenterons pas dans cette partie une description détaillée des différentes classifications des sols, mais nous nous contenterons de présenter les deux fractions intervenant principalement dans la sorption des HAP, à savoir les fractions organique et minérale.

- ✓ La fraction minérale est principalement constituée de minéraux primaires (quartz, feldspaths, micas ...) et de minéraux secondaires, les oxydes métalliques ou les argiles (Duchaufour, 2001). Généralement, cette fraction n'intervient pas ou peu dans la sorption des HAP sauf quand la teneur en carbone organique ( $f_{CO}$ ) du sol est faible, c'est à dire lorsque  $f_{CO} < 0,001$  (Schwarzenbach et Westall, 1981 ; Murphy *et al.*, 1990 ; Schlautman et Morgan, 1994 ; Mader *et al.*, 1997 ; Hwang *et al.*, 2003).
- ✓ La fraction organique est formée en grande partie de cellulose et d'hémicellulose, de lignine et de tanins en plus faibles pourcentages, venant du matériel décomposé. Cette matière organique (MO) contient également de petites quantités de protéines et des fragments d'hydrates de carbone, des composés aminés, phénoliques ou aromatiques issus de l'activité biologique (Pignatello, 1998). D'autres types de molécules peuvent

entrer dans la composition de la MO du sol, tels que les acides gras, qui sont incorporés à la matrice organique par estérification (Gobé *et al.*, 2000).

## II.2. Sorption des HAP dans les sols

### II.2.1. Définition de la MO

La matière organique est la partie non vivante de la fraction organique du sol. Elle est constituée d'un mélange hétérogène de résidus de décomposition microbienne et de matière organique fraîche (MOF) (Kögel-Knabner, 2002). Les couches de surface des sols sous culture contiennent généralement entre 1 et 3 % de CO. Cependant, il existe des sols organiques possédant des teneurs beaucoup plus élevées (tourbes).

La minéralisation de la MO est un processus continu, mais les différentes phases de décomposition engendrent de nombreux produits de dégradation. Ainsi, on distingue la litière, qui est une fraction de la MO faiblement décomposée, et l'humus qui représente la MO transformée et qui est généralement incorporée à la phase minérale du sol (Duchaufour, 2001). La teneur en MO est fonction du type de sol et le classement suivant est généralement constaté : sols sous prairie > sols forestiers > sols arides.

L'humus se divise en :

- ✓ Humines, insolubles en solution alcaline ou acide.
- ✓ Acides humiques (AH), solubles dans une solution alcaline diluée mais qui précipitent en milieu acide. Ce sont des substances amphiphiles dont la masse molaire se situe entre 10 000 et 50 000 Da.
- ✓ Acides fulviques (AF) solubles quel que soit le pH et dont la masse molaire varie de 500 à 7000 Da ; ils présentent également des propriétés amphiphiles.

Un exemple de la composition d'une fraction de la MO est donné par le Tableau 6.

Tableau 6 : Exemple de composition élémentaire d'acides humique et fulvique issus d'un sol cultivé (d'après Martin *et al.*, 1998)

Composant	Unité	Acide humique	Acide fulvique
C	%	41,6	30,8
O	%	38,8	55,5
H	%	5,7	5,1
N	%	13,8	8,5
COOH	me.g <sup>-1</sup>	3,6	2,0
Phénolique OH	me.g <sup>-1</sup>	1,6	7,0

Du fait du caractère très hétérogène de cette MO, de récentes études distinguent la MO amorphe et la MO condensée, le type influant sur la sorption des HAP.

## II.2.2. Description quantitative de la sorption des HAP

### II.2.2.1. Le partage linéaire

Par définition, la sorption est un processus au cours duquel les solutés, ici les HAP, 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). Par conséquent, le devenir des HAP dans l'environnement dépend fortement de sa capacité à se sorber et à se désorber.

Pour les molécules organiques non ioniques, la matière organique est le sorbant principal des sols (Luthy *et al.*, 1997 ; Wilcke, 2000 ; Hwang *et al.*, 2003). L'adsorption se déroule en deux étapes : une première phase rapide et le plus souvent réversible, suivie d'une période de sorption lente se déroulant sur plusieurs semaines, mois ou années (Hatzinger et Alexander, 1995 ; Pignatello et Xing, 1996). La phase de sorption rapide correspondrait à une adsorption sur des sites de surface de macromolécules organiques, alors que la deuxième serait liée à une diffusion progressive des HAP dans les sites tridimensionnels internes (et donc peu accessibles) de la MO (Rao, 1990 ; White *et al.*, 1999).

Les premières recherches portant sur la sorption des composés organiques hydrophobes (COH) décrivaient un partage linéaire des HAP entre l'eau et la MO des sols (Karickhoff *et al.*, 1979), selon un processus réversible, pour des concentrations en COH inférieures à la moitié de leur solubilité dans l'eau. Ceci est largement repris dans la littérature ; cependant il existe des exceptions décrites dans le paragraphe II.2.2.2. Le modèle de partage linéaire considère la MO des sols comme une phase de type gel et amorphe, et qu'il n'y a pas de limitation du nombre de sites offerts à la sorption lorsque la concentration en soluté augmente.

Ce partage est décrit par des isothermes linéaires de type :

$$S = K_d C \quad (\text{Équation 1})$$

avec S = Quantité de COH adsorbé par masse de sol (mol.kg<sup>-1</sup>)

C = Concentration du COH en solution (mol.L<sup>-1</sup>)

K<sub>d</sub> = Coefficient de partage (L.kg<sup>-1</sup>)

Comme la MO est le principal sorbant des HAP, différents auteurs ont tenté de relier la fraction en carbone organique naturel (f<sub>OC</sub>) du milieu considéré au coefficient de partage K<sub>d</sub> (Karickhoff *et al.*, 1979 ; Schwarzenbach et Westall, 1981) :

$$K_d = K_{oc} f_{oc} \quad (\text{Équation 2})$$

avec f<sub>OC</sub> : pourcentage de CO de l'adsorbant

K<sub>oc</sub> : coefficient de partage du HAP entre le carbone organique et l'eau (L.kg<sup>-1</sup>)

Pour chaque couple COH/MO, il existe un K<sub>oc</sub> spécifique. Plusieurs études ont montré qu'il était possible de corrélérer ce coefficient avec le coefficient de partage octanol/eau des

molécules. Mais la solubilité d'un composé permet également d'estimer son coefficient de partage entre le CO et l'eau (Tableau 7).

Tableau 7 : Corrélations entre le log  $K_{oc}$ , le coefficient de partage octanol/eau ( $K_{ow}$ ) et la solubilité aqueuse ( $S_w$  en mol.L<sup>-1</sup>) (adapté de Wilcke, 2000)

Relation	Polluant	R <sup>2</sup>	Sorbant	Références
Log $K_{oc} = 0,904 \log K_{ow} - 0,543$	BPC	0,996	sol	Chiou <i>et al.</i> , 1998
Log $K_{oc} = \log K_{ow} - 0,21$	HAP et substitués	1	sédiments	Karickhoff <i>et al.</i> , 1979
Log $K_{oc} = \log K_{ow} - 0,317$	HAP	0,98	sol	Means <i>et al.</i> , 1980
Log $K_{oc} = -0,54 \log S_w + 0,44$	HAP et substitués	0,93	sédiments	Karickhoff <i>et al.</i> , 1979
Log $K_{oc} = -0,54 \log S_w + 0,44$	HAP	0,94	sol	Means <i>et al.</i> , 1980
Log $K_{oc} = -0,57 \log S'_w + 5,19$	HAP	0,90	acide humique	Nielsen <i>et al.</i> , 1997

$S_w$  est exprimée en mol.L<sup>-1</sup> et  $S'_w$  est exprimée en mg.L<sup>-1</sup>.

Il ne semble pas exister d'autres relations systématiques reliant  $K_d$  aux autres propriétés physico-chimiques des sols. Means *et al.* (1980) n'ont trouvé aucune corrélation entre les valeurs de  $K_d$  mesurées pour quatre HAP et les propriétés des absorbants (pH, CEC, teneur en silice, fer ou aluminium...). Cependant, il est nécessaire de prendre en compte les argiles contenues dans les sols. En effet, ces dernières, lorsqu'elles sont en quantité suffisante et que la MO des sols est inférieure à 6 %, affectent la sorption des HAP (Karimi-Lotfabad *et al.*, 1996 ; Hwang *et al.*, 2003).

#### II.2.2.2. Sorption non linéaire

Bien que la plupart des auteurs décrivent la sorption des HAP suivant un modèle linéaire, de nombreuses études ont mis en évidence des sorptions non linéaires sur les sols riches en MO. Des isothermes de type Freundlich (Equation 3) sont alors largement utilisées pour décrire les phénomènes de sorption (White *et al.*, 1999 ; Appert-Collin *et al.*, 1999 ; Chefetz *et al.*, 2000 ; Hwang *et al.*, 2003).

$$S = K_f C^n \quad (\text{Équation 3})$$

Le paramètre  $K_f$  est la constante de Freundlich (mol.kg<sup>-1</sup>), et  $n$  est la constante caractérisant l'affinité d'adsorption du sol.

Huang *et al.* (2003) indiquent que les isothermes de sorption non linéaires dépendent des propriétés des sols ainsi que des caractéristiques physico-chimiques et de la concentration des COH (Appert-Collin *et al.*, 1999). Il semblerait que cet écart à la linéarité soit corrélé avec le rapport atomique O/C de la MO du sol.

Les études portant sur la sorption non linéaire des HAP mettent toutes en cause les propriétés du sol, donc la structure et le type de la MO. De récentes études sur la MO des sols permettent l'émergence d'un nouveau concept : la SOM serait constituée de deux catégories de

MO ; une partie condensée ("hard" ou "glassy") et une autre dite extensible ("soft" ou "rubbery"), ces deux catégories de MO ayant des propriétés de sorption différentes. Luthy *et al.* (1997) et Huang *et al.* (2003) indiquent que dans le cas d'une structure condensée en carbone, il est possible d'avoir une combinaison de comportement linéaire et non linéaire.

Les isothermes de Freundlich décrivant les phénomènes de sorption non linéaire ont des paramètres "*n*" inférieurs à l'unité. Salloum *et al.* (2002) ont réalisé une étude avec du phénanthrène et différents types de sorbants. Ceux riches en constituants aromatiques (lignine ou AH) fournissent des valeurs de 0,67 et de 0,65 respectivement. Les échantillons dont la portion aliphatique prédomine fournissent des valeurs de "*n*" variant de 0,72 à 0,89, suggérant que le mécanisme de sorption entre ces deux types de MO peut différer. A travers ces résultats, les auteurs rapprochent la sorption des HAP aux domaines aliphatiques à celle observée sur la MO condensée. Ceci rejoint les résultats obtenus par Pignatello (1998) qui explique que la non linéarité augmente avec la densité de la MO.

#### II.2.2.3. *Un cas particulier : la sorption sur les sols faiblement chargés en MO*

Les relations obtenues dans le Tableau 7 ne sont valables que pour des sols riches en constituants organiques. En effet, différents auteurs révèlent que le  $K_{oc}$  déterminé avec ce type d'équation sous-estime largement la valeur du  $K_{oc}$  mesuré avec des sols pauvres en MO (Schlautman et Morgan, 1994 ; Mader *et al.*, 1997).

Lorsque le pourcentage en CO est inférieur à 0,001 %, il semblerait que les surfaces minérales contribuent de façon significative à la sorption totale des COH. Cependant les mécanismes mis en jeu ne sont pas totalement identifiés. Huang *et al.* (1996) et Mader *et al.* (1997) signalent que les isothermes obtenues sont linéaires jusqu'à 50 % de la solubilité du COH, et que la sorption est réversible. Dans tous les cas, les interactions entre surface minérale et COH sont plus faibles que celles intervenant avec la MO des sols.

Les variations de  $K_d$  peuvent être expliquées par différents paramètres, comme la surface spécifique ou le type de minéral, le premier jouant un rôle prépondérant. En effet, Wilcke (2000) indique que la sorption des HAP dépend de la surface spécifique et augmente dans l'ordre suivant : sable de mer < sable recouvert de goethite < montmorillonite. Dans les conditions expérimentales choisies, les isothermes ne sont pas linéaires, le sable et la montmorillonite présentant une saturation. La sorption est totalement réversible pour tous les supports.

Huang *et al.* (1996) ont réalisé une étude portant sur l'adsorption du phénanthrène sur huit types de minéraux possédant trois types de surfaces différentes : une surface externe (quartz, kaolinite,  $SiO_2$  et  $Al_2O_3$ ), une surface interne constituée de mésopores pour trois types de gel de silice et une surface inter-couche avec de la bentonite. Le quartz adsorbe plus le phénanthrène que la kaolinite, alors que sa surface spécifique est égale à la moitié de celle de la kaolinite. Pour les minéraux possédant une surface interne, aucune différence notable n'a été observée. Les auteurs indiquent donc que les différences de sorption observées résultent d'une différence d'accessibilité du HAP, celle-ci étant affectée par la géométrie des pores et l'adsorption préférentielle de l'eau. Cette hypothèse a également été reprise par Mader *et al.* (1997) qui expliquent que la sorption des COH peut-être liée aux interactions électrostatiques et à la réorganisation des molécules d'eau.



Suivant la nature de la fraction minérale, l'effet du pH ou de la force ionique sur l'adsorption peut être différent. Mader *et al.* (1997) ont observé qu'une augmentation de pH de la solution (5,7 à 9,6) ou une variation de la force ionique d'un facteur 50 n'affectait pas la sorption des HAP sur les oxydes de fer et d'aluminium étudiés. Ces résultats sont en désaccord avec ceux obtenus par Schlautman et Morgan (1994) qui ont constaté que le taux d'adsorption du pérylène sur la silice variait avec le pH et la force ionique, ceci étant attribué à la présence de  $\text{Na}^+$  et  $\text{Ca}^{2+}$  dans le milieu. En effet, la présence d'ions sodium diminue le taux d'adsorption tandis que le calcium l'augmente. Une diminution du pH augmente pour sa part l'adsorption du pérylène sur la silice amorphe. Les raisons de cette différence ne sont pas élucidées, mais les auteurs pensent qu'elle peut être liée à la structure de l'eau à la surface solution/silice qui varie en présence de cations différents à la région interfaciale.

### II.2.3. Mobilité et transport des HAP dans les sols

Bien que les HAP soient fortement sorbés aux couches superficielles riches en MO, ils sont également retrouvés dans les couches plus profondes du sol, caractéristique d'un phénomène de lessivage (Wild et Jones, 1995 ; Wilcke, 2000). Le partage des HAP entre le sol, l'eau du sol et la matière organique dissoute (MOD) est crucial pour observer le lessivage.

Une étude réalisée par Jones *et al.* (1989) sur des sols issus de sites pollués estime les taux de lessivage des HAP à 0,009-0,14  $\text{mg}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{a}^{-1}$ . Ces auteurs indiquent que le taux ne diminue pas avec l'augmentation de la masse molaire. Ceci indiquerait que le transport des HAP lourds se ferait par l'intermédiaire de la MOD des sols ou par association à des particules. Cette idée est reprise dans la littérature car le transport des HAP est décrit par des modèles prenant en compte le solide, une phase dissoute et une phase associée aux particules ou aux colloïdes (Johnson et Amy, 1995). La MOD peut agir comme un "transporteur" de HAP, facilitant ainsi leur mobilité. Cependant, chaque type de MO n'a pas le même effet sur le transport. En effet, Totsche *et al.* (1997) ont montré que la portion hydrophile de la MO est mobile par rapport aux groupements hydrophobes.

Différents paramètres peuvent influencer sur la sorption et donc la mobilité des HAP. Wilcke (2000) indique que la qualité de la MOD et les propriétés des solutions comme le pH ou sa composition ionique sont plus importants pour les associations HAP-MOD que pour les associations HAP-MO du sol. En effet, dans le premier cas, les associations dépendent de la polarité, de la taille et de la configuration des molécules ainsi que de la composition chimique des molécules support. Il a été montré que les molécules de plus forte masse molaire contenant des domaines non polaires (AH) ont une plus grande capacité de liaisons avec les COH que les AF plus polaires.

Des études en colonnes de sols contenant à la fois des sols riches et pauvres en carbone, révèlent que la présence de MOD peut également réduire la mobilité des HAP du fait de la sorption de celle-ci au sol (cosorption de HAP, Totsche *et al.*, 1997). Ces mêmes auteurs reportent que des horizons inférieurs riches en oxydes de fer, comme les horizons spodiques, peuvent être un obstacle au transport des HAP car la MOD est fortement retenue. Wilcke (2000) a étudié l'effet de variations de pH sur le transport du benzo[a]pyrène dans un sol lessivé par de l'eau. Il a été montré qu'une acidification de 5,7 à 3,3 augmente la quantité de MOD en sortie de colonne, mais diminue le lessivage du benzo[a]pyrène, ceci étant

probablement lié au relargage des acides hydrophiles, qui ont une plus faible affinité pour les HAP.

L'influence de la matière organique naturelle (MON) n'est pas la même suivant le HAP considéré et varie avec le taux de carbone du milieu. En effet, Johnson et Amy (1995) indiquent que la MON à des concentrations environnementales facilite le transport et la désorption des HAP dans des sédiments pauvres en carbone. Il semblerait que le matériel humique dérivant des sols soit plus efficace que celui issu du milieu aquatique. De plus, ces auteurs indiquent que l'effet est plus évident pour les HAP les plus hydrophobes.

Bien que la sorption des COH ait pour effet de diminuer la mobilité des polluants, il peut y avoir contamination des eaux souterraines par les HAP suite à de la lixiviation à travers les sols, surtout quand ils sont accompagnés de solvants organiques mobiles. Par exemple, du naphthalène issu d'un mélange de créosote a été détecté à une profondeur de 3 m, et les concentrations de ce HAP atteignaient 5 % de celles observées entre 0,2 et 0,5 m. De même, une contamination des eaux souterraines a également été observée après application de boues huileuses au sol (LCPE, 1994).

### II.3. Dégradations biotiques et abiotiques des HAP dans les sols

Les HAP une fois sorbés au sol peuvent subir des dégradations abiotiques (volatilisation, hydrolyse ou réactions photochimiques) et des transformations biotiques liées aux micro-organismes des sols. L'hydrolyse et les réactions photochimiques sont négligeables devant le processus de volatilisation.

#### II.3.1. La volatilisation

La volatilisation peut être un important phénomène de perte de HAP, particulièrement pour ceux de faibles masses. Différents paramètres influent sur la volatilisation.

Ophoff *et al.* (1996) pensent que l'humidité du sol a une influence indirecte sur les taux de volatilisation du fluoranthène via l'évaporation de l'eau du sol. Ces auteurs ont de plus observé une fluctuation diurne de la volatilisation et ont conclu que la température de l'air avait une influence sur le taux de volatilisation.

Le taux de volatilisation dépend également du HAP sorbé au sol. En effet, Wilcke (2000), reporte un taux de volatilisation de 30 % pour du naphthalène fraîchement introduit dans deux sols pauvres en CO (humidité de 60 %) en 2 jours. Les HAP à trois cycles (anthracène et phénanthrène) ne se volatilisent quasiment pas (moins de 0,1 %). Les quelques expériences de volatilisation réalisées jusqu'ici sont effectuées peu de jours après la contamination artificielle. Ces taux maxima de disparition ne tiennent pas compte de l'âge de la contamination, qui a pour effet de réduire les taux.

La volatilisation est également influencée par le potentiel redox des sols. Wilcke (2000) indique que les pertes d'acénaphthène, acénaphthylène, fluorène et anthracène en conditions dénitrifiantes sont beaucoup plus faibles qu'en conditions aérobies.

### II.3.2. La biodégradation

Le métabolisme microbien est le processus majeur de dégradation des HAP dans les sols (ATSDR, 1995). Le fluorène est utilisé comme structure modèle pour étudier la biodégradation des HAP. Cette dernière se fait le plus souvent en conditions aérobies (Kanaly et Harayama, 2000 ; Samanta *et al.*, 2002). L'attaque se fait au niveau d'un anneau, en général terminal, grâce à une enzyme, la dioxygénase, donnant une structure de type catéchol. Ensuite, par action d'une seconde dioxygénase, il y a rupture de la structure formée (en ortho ou méta des groupes hydroxyles), suivie par d'autres ruptures. Les sous-produits formés sont généralement plus solubles, plus mobiles et peuvent présenter une toxicité. La Figure 1 montre les différentes voies de biodégradation du fluoranthène par des bactéries en condition aérobies. Ho *et al.* (2000) ont montré que les bactéries capables de dégrader le pyrène étaient Gram (+) alors que celles dégradant le fluoranthène étaient Gram (-).

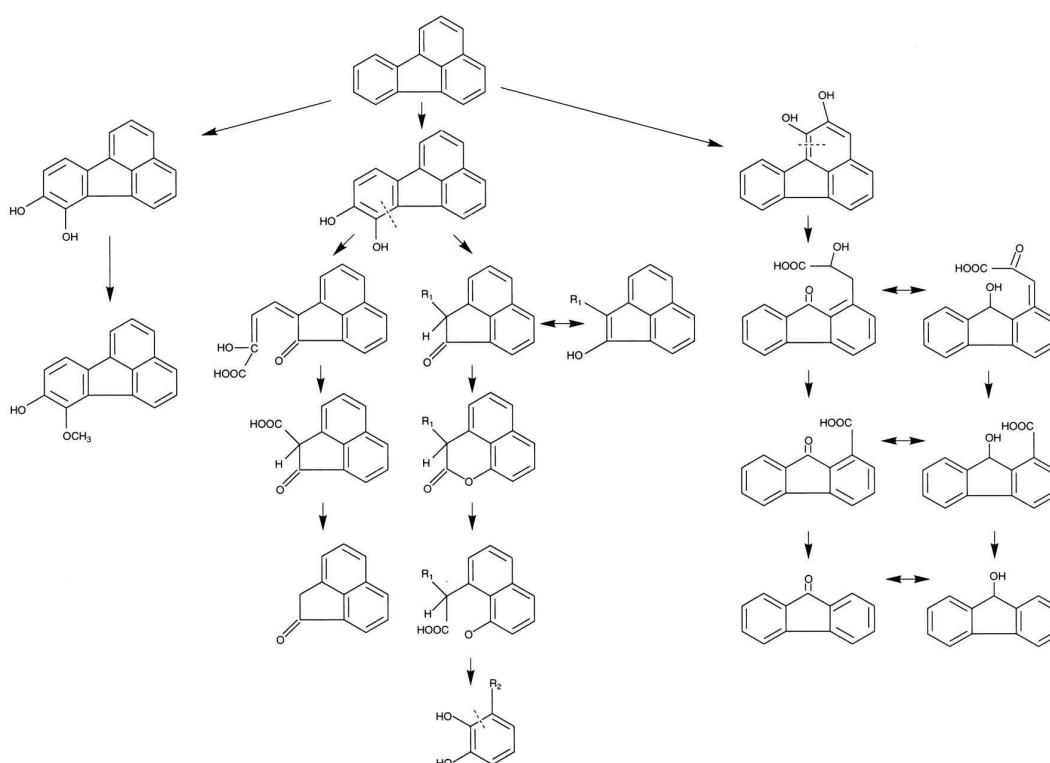


Figure 1 : Différentes voies de biodégradation du fluoranthène par des bactéries en conditions aérobies (d'après Kanaly et Harayama, 2000)

A titre de comparaison, le métabolisme du pyrène se fait par l'oxydation des liaisons 1-2 et 4-5 et a pour métabolite principal le 1-hydroxypyrene ; Pour le fluorène, Casellas *et al.* (1997) ont mis en évidence deux voies de métabolisme par une souche d'*Arthrobacter*. L'attaque se fait via une mono-oxygénation en C<sub>9</sub> et une autre via une di-oxygénation en C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> ou en C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>.

Le Tableau 8 récapitule les demi-vies de plusieurs HAP dans les sols. Les valeurs varient suivant les auteurs, mais dans tous les cas, les demi-vies de biodégradation des HAP de plus de quatre cycles augmentent considérablement (> 20 jours à des centaines de jours).

En effet, la biodégradabilité est fonction du coefficient de partage octanol/eau : plus il est important et moins le composé sera biodégradable (Erickson *et al.*, 2000). Cependant les HAP de plus de cinq cycles peuvent être co-métabolisés (Ho *et al.*, 2000 ; Juhasz et Naidu, 2000 ; Kanaly et Harayama, 2000). La co-métabolisation se fait avec un HAP plus léger.

Tableau 8 : Demi-vies des HAP par biodégradation dans le sol (LCPE, 1994)

HAP	Demi-vie
Fluorène	32 à 60 jours
Phénanthrène	2,5 à 210 jours
Anthracène	170 jours à 8 ans
Fluoranthène	268 jours à 377 jours
Pyrène	199 à 260 jours
Benzo[a]pyrène	0,3 à 58 ans

Le processus de biodégradation est un phénomène complexe et largement dépendant des conditions influant sur l'activité bactérienne, à savoir la toxicité des polluants, les conditions environnementales ou la biodisponibilité des éléments nutritifs.

Généralement, les sites industriels pollués par les HAP sont dits multi-polluants. Par exemple, les sites de traitement du bois (créosote) sont également contaminés par des composés phénoliques. La présence de contaminants type métaux ou cyanures et/ou de fortes concentrations en solution peuvent ralentir, voire inhiber les processus métaboliques des bactéries (ATSDR, 1995 ; Hurst *et al.*, 1996), le degré et le mécanisme de toxicité variant avec les micro-organismes exposés.

Le pH optimal de dégradation se situe entre 7 et 7,8 et la température optimale est de 20-30°C, l'humidité du sol doit également être suffisante (25 à 90 %).

Les nutriments essentiels, N et P, doivent être sous forme disponible et être à des concentrations et des rapports appropriés. En effet, en théorie, le rapport molaire optimal entre C, N et P est de 120/10/1.

Dans les sols, le taux de biodégradation est influencé par le contenu en oxygène, le pH, la température (Nam et Alexander, 2001), l'humidité et le contenu en nutriment (Hurst *et al.*, 1996).

Erickson *et al.* (2000) ont montré l'influence de la structure du sol sur le transport de l'oxygène dans les sols. Cet auteur indique que plus un sol est dense, moins les nutriments et l'O<sub>2</sub> sont transportés vers la flore indigène du milieu, responsable de la biodégradation. De même, Nam *et al.* (2003) ont observé que les agrégats de sols réduisaient la biodégradation. Sous certaines conditions, la dégradation anaérobie peut se produire. En effet, McNally *et al.* (1998), Rockne et Strand (1998) et Chang *et al.* (2002) ont montré que certains HAP (naphtalène, fluorène, phénanthrène, anthracène, fluoranthène et pyrène) étaient dégradés anaérobiquement lorsque des nitrates ou des sulfates assuraient le rôle de réducteur. Le taux

de biodégradation est plus lent en conditions anaérobies car les HAP ont tendance à être extrêmement stables (Rockne et Strand, 1998).

De nombreux auteurs indiquent que les HAP ne peuvent être biodégradés que lorsqu'ils sont biodisponibles. Généralement, plus le taux en MO des sols est élevé et moins les HAP sont biodisponibles du fait des fortes interactions hydrophobes entre le polluant et le sol. Lorsque la contamination est ancienne, c'est à dire lorsque les HAP diffusent lentement dans la MO (âge de la contamination), la biodégradation est réduite (Hatzinger et Alexander, 1995). Il semblerait que cette "séquestration" se produise pour les forts comme pour les faibles taux de contamination (Chung et Alexander, 1999).

Ainsi, pour rendre les HAP biodisponibles en vue d'une biodégradation future, des tensioactifs, chimiques ou biologiques, des solvants organiques ou la matière organique dissoute peuvent être employés. En effet, ils permettent de mettre en solution ces polluants. Les taux de tensioactifs appliqués doivent être inférieurs à la CMC (concentration micellaire critique), cependant, les taux de HAP remobilisés risquent d'être faibles. Macur et Inskeep (1999) ont montré qu'à des concentrations supérieures à la CMC, la dégradation de l'hexane et du phénanthrène a été fortement diminuée. Ces auteurs pensent que la biodisponibilité du phénanthrène lié aux micelles limite le transfert de masse vers les bactéries ou que le tensioactif inhibe les bactéries responsables de la dégradation des COH. Deschênes *et al.* (1996) ont observé des résultats similaires avec d'autres tensioactifs, mais ont attribué le ralentissement de la biodégradation à l'utilisation préférentielle des tensioactifs comme substrat.

### III. Méthodes de réhabilitation des sols pollués par les HAP

Comme nous l'avons vu dans les paragraphes précédents, les HAP présentent un risque pour la santé humaine et les écosystèmes si leur concentration et leur mobilité sont trop importantes. Pour éviter la diffusion des HAP des sites contaminés vers les profondeurs des sols, des mesures doivent être prises. Beaucoup de paramètres sont à prendre en compte avant de faire le choix d'une méthode particulière de dépollution : type de polluant et variabilité de leur comportement (volatilité, adsorbabilité, polarité...), diversité des conditions locales (nature du sol, de la nappe, accessibilité, disponibilité de surfaces utilisables à proximité, zone urbaine ou non), pollution récente ou ancienne, étendue ou non. En plus, les exigences économiques et administratives sont à prendre en compte. Tout ceci nécessite un diagnostic préalable.

En fonction de ces différents aspects, trois grandes catégories d'actions peuvent être menées :

- ✓ Le confinement qui consiste à isoler la pollution à l'aide d'ouvrages étanches,

- ✓ Les méthodes *ex situ* qui consistent en l'excavation des sols contaminés. On parlera de méthode "hors site" si le sol est évacué vers un centre de traitement spécialisé, ou de méthode "sur site" si le sol excavé est redéposé sur le site pour être traité,
- ✓ Les méthodes *in situ* pour lesquelles l'opération de dépollution s'effectue sans excavation du sol. Cette option est souvent choisie pour traiter des sites en activité ou lorsque la zone polluée est trop étendue pour avoir recours à l'excavation (Ballerini *et al.*, 1998).

La dépollution peut être mise en oeuvre à travers les techniques suivantes :

- ✓ physiques,
- ✓ chimiques qui font appel à un principe réactionnel (action d'un solvant, oxydation...) pour transformer le polluant en un composé moins toxique et inerte vis-à-vis de l'environnement,
- ✓ thermiques qui consistent à chauffer le matériel contaminé pour en extraire le polluant et le détruire,
- ✓ biologiques qui favorisent la biodégradabilité des produits.

### III.1. Les techniques physiques

Elles constituent la majorité des techniques mises en oeuvre actuellement ; elles consistent à transférer et concentrer les polluants, sans les modifier ou les détruire, vers des points de récupération en se servant, pour leur transport, de fluides (eau ou gaz) injectés ou présents dans les sols. On distingue deux grands types de méthodes : celles par piégeage et celles par évacuation.

#### III.1.1. Les procédés physiques par piégeage

Le **confinement** consiste à isoler la source de pollution à l'aide de matériaux argileux et/ou synthétiques. Ils sont utilisés en couverture, en parois verticales et horizontales, en injections dans le sol ou en enrobage des déchets (encapsulation). En règle générale, le site est recouvert de manière à éviter le lessivage et reste sous surveillance à l'aide de piézomètres.

La **solidification-stabilisation** s'applique principalement sur des sols excavés. Les polluants sont piégés dans une matrice constituée d'un mélange de sol et de réactifs pouzzolaniques, cimentants ou polymérisants, formant ainsi un matériau composite solide, peu perméable et non réactif. La stabilisation à la chaux ou par des argiles est employée pour des pollutions liées à la créosote ou des déversements de pétrole (naufrages de pétroliers). Cette technique est aujourd'hui délaissée au profit de techniques de traitement plus efficaces (Colin, 2000).

### III.1.2. Les procédés par évacuation

L'**excavation** est la méthode la plus simple à mettre en oeuvre et qui permet de supprimer rapidement une source de pollution locale. Généralement, les terres excavées sont acheminées vers un centre de traitement spécialisé ou vers un centre d'enfouissement technique. Pour les traiter, le "**soil flushing**" peut être utilisé. Un schéma classique de traitement consiste à tamiser le sol à sec afin d'éliminer la fraction la plus grossière (diamètre > 4-5 mm). De l'eau est ajoutée et le mélange sol-eau est homogénéisé puis tamisé en plusieurs fractions. Les sables sont séparés des limons et des argiles par des opérations successives d'hydrocyclonage. Les polluants se concentrent dans les fractions les plus fines que l'on fait flocculer puis passer à l'épaississeur et dans un filtre presse pour être finalement traités. Le système fonctionne en circuit fermé. Pour améliorer la récupération des HAP, des tensioactifs sont ajoutés au fluide de lessivage permettant ainsi la dispersion des polluants dans la phase liquide.

Les excavations sont rebouchées avec le sol traité ou avec du matériel propre. Pour des pollutions étendues, cette méthode est coûteuse et présente un risque de migration des produits organiques peu solubles plus denses que l'eau vers les profondeurs, car on intervient sur la cohésion du sol.

Le "**pompage et traitement**" permet de confiner hydrauliquement la pollution (Figure 2) et de procéder à une décontamination en surface de l'eau pompée afin de pouvoir la réinjecter. Cette technique nécessite souvent l'ajout de tensioactif pour favoriser la désorption des HAP (Côme et Ducreux, 2001). En effet, de nombreux auteurs (Thiem *et al.*, 1997 ; Lafrance et Lapointe, 1998 ; Bordas et Lafrance, 2001) ont démontré en laboratoire (colonnes de sol) l'inefficacité de cette méthode sans ajout de tensioactifs. Cette technique est la plus classique et est parfaitement maîtrisée (Colin, 2000). Les principaux intérêts de cette méthode sont une mise en oeuvre assez rapide et une durée de traitement qui varie de 3 à 18 mois, dans des conditions optimales. Cependant le risque de dissémination de la pollution peut être important si l'ouvrage est mal implanté et attire la pollution vers une zone non contaminée. Il est possible d'améliorer le "pompage et traitement" en utilisant des conditions techniques différentes. En effet, une étude réalisée par Dadkhah et Akgerman (2002), montre qu'il est possible d'utiliser une extraction par injection de vapeur (230 à 270 °C) en la combinant à une oxydation chimique (O<sub>2</sub> ou H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Les rendements obtenus dépassent largement ceux obtenus avec la technique habituelle, et de plus, les HAP sont transformés en composés moins toxiques.

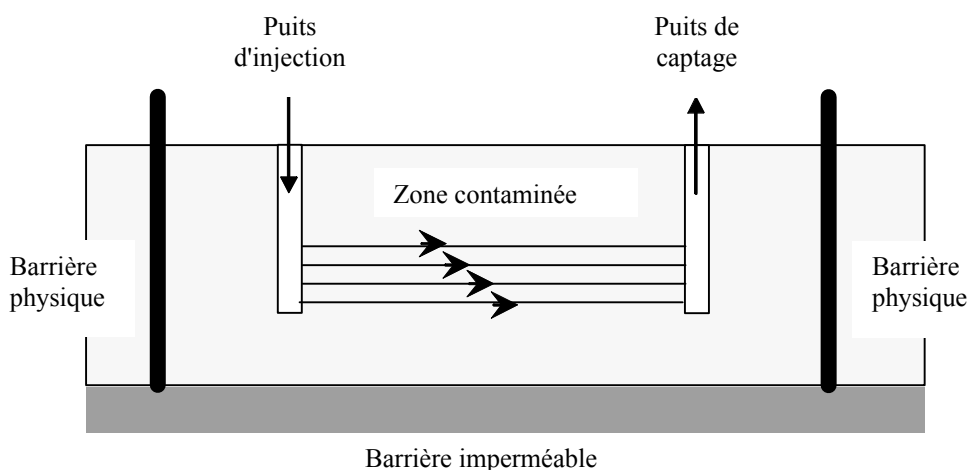


Figure 2 : Représentation schématique d'un pompage et traitement avec injection de tensioactif

### III.1.3. Technique du pompage-écrémage

Une autre méthode, est celle du **pompage-écrémage** qui est basée sur le pompage sélectif d'un produit flottant. Cette technique s'applique donc pour des produits organiques en phase flottante au toit de la nappe, comme des hydrocarbures. Cette méthode est en général couplée à un rabattement de nappe (méthode passive à l'aide d'une tranchée ou fossé de drainage, ou méthode active à l'aide de pompes) qui facilite l'écoulement du toxique vers le point de captage. L'intérêt principal de cette méthode repose sur l'élimination rapide d'une grande quantité de polluant et, si le rabattement n'est pas trop fort, elle n'induit pas de pollution en profondeur supplémentaire. Cette technique ne s'emploie pas seule et est toujours couplée à des méthodes permettant de traiter le polluant restant, qui représente en moyenne 50 % de la quantité initiale contenue dans le sol (Colin, 2000). Ce même auteur indique que les coûts globaux, hors pompage de rabattement, se situent entre 23 000 et 76000 € pour une opération moyenne typique, une station service par exemple.

D'autres techniques, comme l'extraction sous vide et la ventilation ("venting") existent mais sont peu applicables aux HAP, car ils sont peu volatils.

## III.2. Les procédés thermiques

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

L'incinération est la seule technique qui détruit réellement les polluants. Cependant cette technique est extrêmement coûteuse (380 €.t<sup>-1</sup>) et les fumées toxiques qui se dégagent lors de la combustion nécessitent d'importants traitements qui engendrent des surcoûts (Dadkhah et Akgerman, 2002).



L'incinération se réalise en deux étapes ; une première à 400 °C, dite de volatilisation et une seconde dite de destruction à une température supérieure à 1000 °C. La méthode la plus largement utilisée est celle du désorbent ou four rotatif (Lecomte, 1995 ; Colin, 2000) dans lequel le sol, débarrassé des fractions grossières, est porté à une température suffisamment élevée pour permettre la désorption de l'humidité et des contaminants. Le sol est constamment agité pendant l'opération et les gaz émis sont traités en sortie. Ce procédé est bien adapté aux sols contaminés par des hydrocarbures.

La **vitrification** consiste à transformer par élévation de température, un sol contaminé en un matériau fondu inerte. C'est donc une méthode thermique *in situ* se rapprochant de la stabilisation. Cette méthode est utilisée sur des sites difficiles à traiter par d'autres méthodes. La fusion du sol est obtenue en enfonçant dans le sol des électrodes jusqu'à une profondeur nécessaire pour le traitement, et en provoquant, par un courant électrique, une intense augmentation de température, de l'ordre de 2000 °C. A cette température, la matrice du sol entre en fusion et est transformée par pyrolyse en un verre silicaté, où tous les composés présents sont fondus ou vaporisés. Cette méthode évite l'excavation et le déplacement de composés hétérogènes. Elle minimise le risque d'exposition aux contaminants, tout en étant durable. De plus, sa vitesse d'exécution est rapide : 3 à 5 tonnes par heure. Le produit obtenu a un taux de lessivage très bas (Colin, 2000). Il existe cependant quelques inconvénients à cette méthode : la position des électrodes, qui limite la profondeur et la surface à traiter. De plus, il peut se produire un dégagement de gaz toxiques, qui doivent être traités. Elle nécessite un potentiel énergétique important et coûteux : la consommation est évaluée à 750 kWh.t<sup>-1</sup>. Enfin, bien que permettant une bonne stabilité du matériau, cette méthode empêche la réapparition d'un tapis végétal (Lecomte, 1995 ; Colin, 2000).

### III.3. Les traitements chimiques

Ils ont pour but de détruire les polluants ou de les transformer en une forme moins nocive pour l'environnement, en provoquant des réactions chimiques entre le polluant et le réactif ajouté. Ils peuvent être applicables *in situ* ou après excavation des sols. La majorité des procédés exigent que les sols soient sous forme de boues ou que les contaminants soient mobilisés dans un milieu liquide.

#### III.3.1. Les méthodes de mobilisation et d'extraction

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

La principale difficulté de cette technique est la surveillance du panache de pollution qui ne doit pas migrer hors de la zone de récupération. De plus, cette technologie est inopérante pour des sols à granulométrie fine (type argiles et limons fins) car elle altère l'état du sol et provoque des colmatages. De plus, ces sols peu perméables présentent une faible conductivité hydraulique qui limite la récupération des polluants mobilisés en phase aqueuse. Ainsi, dans le cas d'utilisation de surfactant, les tensioactifs anioniques seront préférés aux

tensioactifs cationiques qui sont reconnus pour se sorber au sol et provoquer des colmatages des ouvrages (West et Harwell, 1992). Le surfactant choisi doit être préférentiellement non toxique envers les micro-organismes du sol et être biodégradable. Ainsi, l'utilisation de tensioactifs biologiques semble être conseillée. En effet, leur efficacité a été démontrée au cours de plusieurs études (Mccray et Brusseau, 1998).

Dans le cas d'une application sur site, le sol est excavé et traité par la technique du "soil flushing" expliqué au paragraphe III.1.2. Les avantages de cette méthode sont sa facilité de mise en place et son coût peu élevé, dans la mesure où la solution de lessivage l'est, et d'autre part son rendement intéressant. Les principaux inconvénients à prendre en compte concernent l'état du sol après traitement : les lessivages par des solutions toxiques et l'effet de colmatage plus ou moins prononcé peuvent altérer l'état des sols de façon irréversible. Il faut également rajouter un risque de migration non contrôlée de la pollution, latéralement ou vers des couches plus profondes de l'aquifère dans le cas d'un traitement *in situ*.

### III.3.2. Les réactions chimiques

Elles permettent de transformer les polluants en des composés moins toxiques et de mobilité différente. Ce type de traitement est habituellement appliqué sur site. L'oxydation est la seule méthode applicable aux HAP car la réduction ne se fait que sur des produits halogénés.

En pratique, peu d'oxydants peuvent être utilisés car ils sont très sensibles au pH et la forme sous laquelle ils sont disponibles n'est pas nécessairement compatible avec un traitement à grande échelle. Les plus utilisés pour traiter les HAP sont l'ozone (O<sub>3</sub>) et le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Dans tous les cas, les oxydants n'ont pas une action spécifique, et une partie est consommée par des réactions avec la MO des sols, altérant donc ces derniers. Ces réactions induisent un coût supplémentaire.

L'**ozone** sert à traiter les effluents liquides mais peut être utilisée *in situ*. En effet, Masten et Davies (1997) ont obtenu des rendements de plus de 95 % d'élimination du phénanthrène pour une durée d'ozonation de 2,3 heures et un flux d'ozone de 250 mg.h<sup>-1</sup>. En ce qui concerne le pyrène, 91 % ont été éliminés après 4 heures de traitement et un flux d'ozone de 600 mg.h<sup>-1</sup>. Des rendements plus faibles ont été obtenus avec l'anthracène (50 %). Ces auteurs indiquent que cette technique était applicable car la demande en ozone (taux de dégradation) du sable étudié était faible.

L'**eau oxygénée** est utilisée pour dégrader directement les composés organiques complexes et réfractaires à la biodégradation. Son action peut être catalysée par l'action des rayons ultra-violets ou du fer ferreux (Réactif de Fenton), qui activent la décomposition du peroxyde d'hydrogène en radicaux OH<sup>•</sup>. Ces radicaux réagissent avec les composés organiques et provoquent leur décomposition en produits inoffensifs comme H<sub>2</sub>O et CO<sub>2</sub>. L'utilisation commerciale de l'eau oxygénée permet de traiter les zones saturées (Ballerini *et al.*, 1998), mais présente de nombreux inconvénients. En effet, ce processus, bien qu'efficace, n'est pas spécifique.

Kawahara *et al.* (1995) ont montré une augmentation importante (13 à 56 %) de l'extractabilité des HAP sur un site d'utilisation de composé de préservation du bois (créosote), après 1 heure de traitement d'un sol argileux par le réactif de Fenton. Bogan *et al.* (2003) ont obtenu des résultats similaires, mais en ajoutant en plus de l'huile végétale (biodégradable) dans le sol. L'huile permet d'introduire une phase organique qui va faciliter la dissolution des HAP dans cette phase. Ces auteurs indiquent que l'efficacité est encore plus visible pour les HAP lourds de type benzo[a]pyrène ou dibenzo[a,h]anthracène.

### III.4. Les méthodes biologiques

Les procédés biologiques permettent de dégrader les polluants par l'action de micro-organismes (bactéries, champignons...) 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.

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

Pour la dégradation des hydrocarbures, différents micro-organismes sont utilisés tels que *Arthrobacter*, *Novocardia* ou *Pseudomonas*. Si la flore locale est inadaptée à la dégradation des polluants ou est peu abondante, des souches bactériennes performantes allochtones sont ajoutées au sol.

#### III.4.1. Biodégradation par traitement *in situ*

Cette technique fait appel au pompage et injection de l'oxygène sous forme gazeuse (O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>) ou liquide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et injection de nutriments nécessaires à l'activité microbienne. La source d'oxygène est le principal inconvénient de ce système, car l'injection d'eau saturée en air n'est pas suffisante. L'apport d'oxygène s'effectue de plus en plus en phase liquide surtout à partir de peroxyde d'hydrogène. Cependant cette source d'oxygène présente trois inconvénients majeurs : son coût, le caractère corrosif de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, qui attaque les puits d'injection (Colin, 2000) et le pouvoir désinfectant de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> si celui-ci est utilisé à de fortes concentrations.

Du fait de la lenteur des processus de dégradation des HAP, notamment attribuable à leur forte adsorption au sol, il peut être nécessaire d'augmenter la biodisponibilité des HAP par ajouts de tensioactifs. Kosaric (2001) a observé une réduction significative de la concentration en HAP après 22 jours de bioremédiation et ajout de biotensioactif.

#### III.4.2. Traitement en réacteur ou Bioslurry

Le principe consiste à réaliser et faciliter la biodégradation dans un contenant installé sur le site, en ajoutant au sol les nutriments nécessaires aux micro-organismes.

Le sol est excavé et subit diverses opérations de broyage, tamisage et d'homogénéisation ; il est ensuite mélangé à de l'eau, généralement en proportions de 30 % en

poinds / volume et introduit dans le réacteur par pompage. Différents modes de fonctionnement sont possibles, en continu ou en discontinu.

La plupart des dispositifs sont constitués de plusieurs réacteurs en chaîne, ce qui permet de transférer la boue d'un réacteur à l'autre. Les quantités de nutriments, calculées en fonction de la quantité initiale de polluant, sont ajoutées régulièrement afin de maintenir un rapport optimum entre les taux de carbone, azote et phosphore. Des micro-organismes peuvent également être ajoutés pour maintenir la concentration en biomasse. Dans chaque réacteur, un brassage assure un contact et un transfert de masse maximum entre le polluant et les bactéries. Une aération complète le dispositif. Les gaz produits sont traités à l'aide de filtres à charbon actif ou de biofiltre. Après séparation du solide et de l'eau, la terre recueillie est stockée puis remise sur site et l'eau contenant les micro-organismes est recyclée.

Cette technique s'adresse à des sols pollués par des substances peu biodégradables, type HAP, et pour des sols généralement difficiles à traiter comme les sols argileux. L'ADEME indique que la technique est efficace pour des polluants présents à des concentrations comprises entre 2,5 et 250 g.kg<sup>-1</sup>. Pour des HAP à trois noyaux aromatiques, le taux d'élimination est de 98-99 % ; il diminue à 85-95 % pour ceux à quatre noyaux et à 55-85 % pour ceux à plus de quatre noyaux.

Les coûts sont généralement plus élevés que ceux des autres traitements biologiques mais moins chers que l'incinération. Ils se situent entre 85 et 230 €.t<sup>-1</sup>.

Les principaux atouts de cette technique sont sa facilité à contrôler et maintenir les conditions optima de traitement ; les durées de mises en oeuvre sont plus courtes et n'excèdent généralement pas 6 à 9 mois ; enfin la structure du sol n'est pas trop altérée et sa réutilisation est envisageable pour des usages de reconstruction paysagère.

Le principal inconvénient est le coût de la méthode par rapport aux autres techniques biologiques et une efficacité moindre pour des HAP de masse élevée ; dans ce cas l'ajout de tensioactif rend ces polluants plus accessibles aux micro-organismes et améliore les rendements. Un deuxième inconvénient à l'utilisation de cette technique peut être la toxicité des sous-produits formés au cours du processus de bioremédiation (Dubourguier, 2000).

En France, ce procédé a été utilisé couplé à une oxydation chimique (réactif de Fenton). L'étude menée par Herviou *et al.* (2000) a été réalisée sur deux sols pollués par des HAP lourds. Les auteurs obtiennent des rendements de biodégradation de 29 et 41 % suivant le sol, le coût de l'opération ayant été évalué à 107 €.t<sup>-1</sup>. Ces deux paramètres font que cette technique n'est actuellement pas économiquement viable.

### III.4.3. Biotertre et Landfarming

Le **biotertre** et le **landfarming** regroupent toutes les applications qui mettent en oeuvre des tas de terre contaminées de différentes hauteurs, y compris ceux qui ont été additionnés de matières végétales (composts).

Pour cela, le sol est étalé après excavation sur une grande surface imperméable, sur une épaisseur de quelques dizaines de centimètres et la terre est ensuite retournée avec d'éventuels ajouts favorisant la biodégradation.

Les coûts sont de l'ordre de 45 à 80 €. $t^{-1}$  et la durée de traitement est de 12 à 24 mois pour les HAP, pour un taux moyen d'élimination de 80 % (le rendement varie selon la molécule). Lorsque le taux n'est pas suffisamment élevé, de la biostimulation peut être effectuée par ajout de nutriments spécifiques, ou bioaugmenté par ajout de bactéries adaptées à la pollution. Straube *et al.* (2003) ont constaté une réelle amélioration des taux de dégradation des HAP après avoir ajouté de l'azote (augmentation de 10 % du taux de biodégradation). De même, Juhasz et Naidu (2000) révèlent que la bioaugmentation est une solution pour favoriser la dégradation des HAP lourds (benzo[a]pyrène) ou le traitement des sols fortement contaminés.

Pour des sols pollués contenant des contaminants volatils en quantités non négligeables, ou dans des pays où la législation interdit le traitement de dépollution à l'air libre (Québec par exemple), l'utilisation de la "**biopile**" est nécessaire. Les réacteurs à l'air libre sont alors remplacés par des réacteurs où les flux de gaz et de liquide sont parfaitement contrôlés. On réalise une pile de plusieurs mètres de haut que l'on place sur une couche drainante. Un système d'aspersion et un système de rigole sont mis en place. Pour les gaz, le procédé utilise le plus souvent un système de ventilation/extraction qui permet d'aspirer les composés émis ou d'injecter de l'air frais. Une couverture étanche (géomembrane) vient recouvrir l'ensemble.

Cette technique est utilisée pour traiter les HAP. Lecomte (1995) indique qu'après 9 mois de traitement, 80 % en masse des HAP avaient été dégradés.

#### III.4.4. La phytoremédiation

Certaines plantes permettent de transformer (phytoremédiation) ou stabiliser (phytostabilisation) les polluants dans les sols. Les racines de celles-ci sont étroitement associées à une microflore bactérienne et fongique, ce qui facilite la dégradation des COH (Liste et Alexander, 2000). Jusqu'alors la phytoremédiation était essentiellement appliquée aux métaux lourds, mais de récentes études ont montré que cette technique était utilisable pour les HAP (Ballerini, 1998). Cependant, les mécanismes sont encore mal compris (Binet *et al.*, 2000).

La phytoremédiation peut se faire à l'aide de diverses espèces végétales : avoine, lupin, colza (Liste et Alexander, 2000), ray-grass (Binet *et al.*, 2000). Dans la plupart des cas, la phytoremédiation a été étudiée sur des sols riches en argile. Ballerini (1998) indique que le système fibreux racinaire de l'herbe facilite à la fois l'accessibilité des contaminants et le métabolisme microbien.

Les rendements d'élimination varient avec le nombre de cycles des HAP. Binet *et al.* (2000) ont observé une augmentation de la dissipation ou de la biotransformation de plusieurs HAP, incluant ceux de cinq et six noyaux aromatiques. Ces auteurs indiquent cependant que les meilleurs taux d'élimination sont obtenus pour les HAP de trois cycles, comme le

phénanthrène ou l'anthracène. Liste et Alexander (2000) ont obtenu en 8 semaines 74 % d'élimination du pyrène sur un sol avec des plantes. Les rendements chutent à moins de 40 % pour un sol sans plantes.

### III.5. Conclusions sur les méthodes de réhabilitation des sols pollués

La problématique des sols contaminés par les HAP étant de plus en plus préoccupante, l'ADEME (2003) a mis en place un "Guide Méthodologique pour la sélection de techniques et l'évaluation de leurs performances". Ce guide répertorie l'ensemble des techniques envisageables pour traiter les sols pollués par divers contaminants (HAP, métaux lourds...) et fournit des exemples de rendements obtenus au cours de traitements. Pour les HAP, il existe de nombreuses méthodes (Tableau 9) permettant de traiter les sols. Le choix des techniques dépend du type de pollution (étendue, profondeur, ancienneté...), des objectifs visés, des impératifs législatifs, des conditions de terrain et des coûts économiques. Ces techniques sont plus ou moins efficaces et aucune ne présente que des avantages ou des inconvénients.

- ✓ Les techniques par pompage sont faciles à mettre en oeuvre et fournissent des rendements satisfaisants mais leurs durées sont longues. Leur principal inconvénient repose sur le risque de dissémination de la pollution.
- ✓ Les techniques de confinement, stabilisation, incinération et vitrification sont efficaces mais présentent un inconvénient majeur, la dégradation de la qualité des sols, qui les rend impropres pour une future utilisation.
- ✓ Les techniques biologiques semblent être prometteuses, mais elles nécessitent des durées de traitement élevées, les sous-produits formés au cours de la dégradation microbienne peuvent présenter un risque de toxicité.

Il est à noter que les rendements de ces techniques sont en général largement améliorés par l'utilisation de tensioactifs. Les tensioactifs chimiques souvent utilisés jusqu'ici pourraient être délaissés au profit de tensioactifs d'origine biologique, qui possèdent les mêmes propriétés, sans être toxiques. Le paragraphe IV développera ces aspects.

Tableau 9 : Synthèse des principaux traitements de dépollution (Ballerini,1998 ; Colin, 2000)

Technique	Principe du traitement	Estimation du coût (€·t <sup>-1</sup> )	Avantages et Inconvénients	Durée de traitement	Rendements
Pompage-écrémage	Pompage des produits flottants sur la nappe	20 à 80	Elimination rapide de la pollution	Durée brève	50 %
Pompage et traitement	Entraînement des polluants avec l'eau	20 à 160	Risque de dissémination de la pollution	3 à 18 mois	Varie avec la solution lavante
Confinement	Excavation et mise en décharge	600 à 1000	Isole la pollution, Dégradation du sol		
Stabilisation	Injection de produits liants pour fixer la pollution	20 à 200	Technique désuète Dégradation du sol		
Incinération	Incinération en four tournant à haute température	270 à 1100	Technique efficace mais coûteuse et toxicité des fumées émises		Jusqu'à 99 %
Vitrification	Fusion du sol	180 à 400	Pas de réapparition de tapis végétal	Rapide : 3 à 5 t.h <sup>-1</sup>	
Traitement chimique	Ajout d'oxydants pour les transformer en espèces moins nocives	10 à 100	Procédé non spécifique		50 à 95 % suivant le HAP
Bioslurry	Biodégradation	85 à 230	Facile à mettre en oeuvre et à contrôler	2 à 3 semaines	Jusqu'à 95 % suivant le HAP
Bioterre et Landfarming		45 à 80	Facile à mettre en oeuvre et à contrôler, mais peu rapide	12 à 24 mois	Jusqu'à 80 % suivant le HAP

## IV. Remédiation des sols pollués par les HAP à l'aide de tensioactifs biologiques

Bien souvent, il est nécessaire de combiner différentes techniques entre elles, et l'ajout de tensioactif pour favoriser la désorption des molécules est souvent choisi.

Les tensioactifs, ou "surfactants" ("Surface Active Agent") sont des molécules capables de réduire les tensions inter-faciales entre une ou deux phases de polarités différentes comme l'huile et l'eau, l'air et l'eau ou encore l'eau et un solide (Fiechter, 1992 ; West et Harwell, 1992 ; Banat *et al.*, 2000). Ils sont principalement utilisés en tant qu'agents émulsifiants ou dispersants.

La production mondiale actuelle de surfactants chimiques se chiffre à plus de 3 millions de tonnes par année (Banat *et al.*, 2000). La plupart des surfactants commercialement disponibles sont d'origine chimique et sont des produits dérivés du pétrole. Ils présentent un risque pour l'environnement car ils sont généralement toxiques et non biodégradables (Para *et al.*, 1989 ; Healy *et al.*, 1996 ; Page *et al.*, 1999 ; Vipulanandan et Ren, 2000). C'est pourquoi, depuis plusieurs années, et grâce à l'essor de la biotechnologie, les scientifiques se sont intéressés à des surfactants produits par des organismes vivants : les tensioactifs biologiques ou biosurfactants. Ceux-ci possèdent les mêmes propriétés tensioactives que leurs homologues chimiques, mais ont l'avantage d'être biodégradables, non toxiques et sont également efficaces, dans le cas de micro-organismes extrémophiles, à des températures, des pH et des salinités extrêmes (Banat *et al.*, 2000). Cependant, leurs coûts de production demeurent encore assez élevés et freinent leur utilisation (Bognolo, 1999). Les substrats de croissance pour les micro-organismes producteurs de biosurfactants sont peu coûteux mais le faible taux de production et les procédures de purification font que leurs coûts peuvent être parfois supérieurs à ceux des tensioactifs chimiques (Van Dyke *et al.*, 1991 ; Fiechter, 1992).

### IV.1. Présentation des différents biosurfactants

#### IV.1.1. Définition

Les biosurfactants sont des molécules amphiphiles constituées d'une partie hydrophile polaire et d'une partie hydrophobe non polaire. Généralement, le groupement hydrophile est constitué d'acides aminés, peptides ou de polysaccharides (mono ou di) ; le groupement hydrophobe est constituée d'acides gras saturés ou non saturés (Desai et Banat, 1997).

La portion hydrophile de la molécule permet de distinguer quatre types de tensioactifs chimiques (Parra *et al.*, 1989 ; West et Harwell, 1992) : les cationiques qui possèdent une charge positive ; les anioniques, agents de surface possédant un ou plusieurs groupes fonctionnels s'ionisant en solution aqueuse pour donner des ions chargés négativement ; les non ioniques, sans charge et les amphotères (zwitterioniques) qui possèdent deux groupements hydrophiles



## ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE : Remédiation des sols à l'aide de tensioactifs biologiques

différents : l'un anionique et l'autre cationique. Selon le pH de la solution, ils peuvent agir en tant qu'espèce anionique, cationique ou neutre.

La portion hydrophobe, quant à elle, influe sur la chimie du surfactant par son aromaticité, son nombre de carbones ou son degré de ramification (West et Harwell, 1992).

Les biosurfactants sont classés suivant la nature biochimique du surfactant produit par le micro-organisme. La revue bibliographique révèle que la majorité des biosurfactants produits sont de type anionique ou non ionique (Cameotra et Makkar, 1998 ; Bognolo, 1999). Il existe peu de structures cationiques (Mulligan *et al.*, 2001) : cependant et dans certains cas, la présence de groupements contenant des atomes d'azote confère un certain caractère cationique à la molécule, ce qui va influencer ses propriétés d'adsorption ou de floculation par exemple.

On distingue cinq grandes classes de biosurfactants : les glycolipides, les lipopeptides, les phospholipides, les liposaccharides et les lipides neutres (Healy *et al.*, 1996).

- ✓ Les glycolipides sont constitués d'hydrates de carbone en combinaison avec une longue chaîne d'acides aliphatiques ou d'acides hydroxyaliphatiques (Healy *et al.*, 1996 ; Ron et Rosenberg, 2002). Les glycolipides les plus étudiés sont les rhamnolipides, les tréhalolipides et les sophorolipides,
- ✓ Les lipopeptides sont composés d'un lipide attaché à une chaîne polypeptide. Les lipides d'ornitine sont les plus connus,
- ✓ Les phospholipides sont formés de groupements alcool et phosphate et de chaîne lipidique (Healy *et al.*, 1996). Bognolo (1999) indique que bien que présents dans tous les micro-organismes, il y a peu d'exemples de production extracellulaire,
- ✓ Les lipopolysaccharides ou polymériques sont constitués d'une ou plusieurs unités saccharides et d'acides gras. Ce sont les biosurfactants qui possèdent la masse molaire la plus élevée,
- ✓ Les acides gras et lipides neutres.

Du fait de leur forte production et de leurs propriétés tensioactives importantes, les biotensioactifs les plus communs et les plus étudiés sont les glycolipides et les phospholipides (Falatko et Novak, 1992 ; Desai et Banat, 1997).

### IV.1.2. Utilisation des biosurfactants

Les biosurfactants sont reconnus pour être non toxiques, biodégradables et peuvent être utilisés dans des conditions extrêmes (Desai et Banat, 1997 ; Banat *et al.*, 2000). C'est pourquoi ils peuvent être utilisés dans de nombreux domaines (Tableau 10). Cependant, il

## ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE : Remédiation des sols à l'aide de tensioactifs biologiques

semblerait que les biosurfactants soient principalement utilisés par l'industrie pétrochimique (Desai et Banat, 1997 ; Christofi et Ivshina, 2002).

Tableau 10 : Utilisations potentielles des biosurfactants (d'après Banat *et al.*, 2000)

Fonction	Champ d'application
Emulsifiant et dispersant	Cosmétiques, peintures
Solubilisant et micro-émulsions	Pharmaceutique, articles de toilette
Agent mouillant et pénétrant	Pharmaceutique, industrie textile, peinture
Détergent	Nettoyants ménagers, produits de l'agriculture ou de haute technologie
Agent moussant	Cosmétiques, articles de toilette, flottation de minerais
Agent épaississant	Peintures
Agent séquestrant des métaux	Minerais
Aide à la croissance bactérienne	Traitement d'huiles usagées pour boues de STEP, fermentation
Dé-émulsifiant	Traitement de déchets
Agent réducteur de viscosité	Transport par pipeline
Dispersant	Séparation des mélanges goudron/pétrole ou goudron/eau
Récupération de ressources	Récupération assistée de pétrole

### IV.2. La production des surfactants biologiques

Le principal frein à l'utilisation des biosurfactants est leur coût. En effet, Bognolo (1999) indique que les prix varient de 8 €.mg<sup>-1</sup> pour de la Surfactine purifiée à 98 % (utilisations bio-médicales) à 1 à 3 €.kg<sup>-1</sup> pour des formulations d'Emulsan utilisées dans les années 80 pour le nettoyage des cuves. De récentes estimations indiquent un coût de revient de 2 à 16 €.kg<sup>-1</sup>.

Lang et Wullbrandt (1999) indiquent que pour la production de rhamnolipides en grande quantité dans des fermenteurs de 20 à 100 m<sup>3</sup>, les coûts diminuent de 16 à 4 €.kg<sup>-1</sup>. Par comparaison, les coûts de surfactants chimiques sont de l'ordre de 0,5 à 2 €.kg<sup>-1</sup>.

Ainsi, le succès de l'utilisation et la production des biotensioactifs passe par une diminution des coûts de production ; Cette diminution pourra être atteinte grâce à la valorisation de substrats de croissance de produits à faible coût. Par exemple, Makkar et Cameotra (2002) indiquent qu'il est possible d'utiliser des déchets et des produits agricoles d'une part pour diminuer les coûts, mais aussi pour diminuer les quantités de déchets à traiter de diverses entreprises (huiles de moteurs usagées...). Une étude réalisée par Mercadé et Manresa (1994) reporte des taux de production de rhamnolipides de 1,4 g.L<sup>-1</sup> pour des *Pseudomonas* cultivées sur des sous-produits industriels.

#### IV.2.1. Les organismes producteurs

Les biosurfactants sont principalement produits par des micro-organismes se développant de manière aérobie (Mulligan *et al.*, 2001) dans un milieu aqueux contenant une ou plusieurs sources de carbone, comme des hydrates de carbone, des huiles ou des hydrocarbures (Bognolo, 1999 ; Mulligan *et al.*, 2001). Ces organismes sont en général des levures, des champignons ou des bactéries (Tableau 11). Les plantes, les animaux ou les humains sont également capables d'en produire (Christofi et Ivshina, 2002).

Le principal rôle physiologique du tensioactif est de permettre aux micro-organismes de se développer sur des substrats insolubles en réduisant la tension interfaciale entre l'eau et le substrat, rendant ce dernier plus facilement accessible (Fiechter, 1992 ; Mata-Sandoval *et al.*, 2000).

Les bactéries utilisées pour produire les biosurfactants sont en général issues de sols contaminés par des molécules hydrophobes comme les HAP. Elles sont donc isolées de leur milieu naturel et sont cultivées en laboratoire. Ceci permet de faire des tests pour choisir la meilleure source de carbone et d'optimiser les milieux de culture afin d'obtenir un taux de production maximum. Dans tous les cas, le biosurfactant obtenu est un mélange de plusieurs molécules. Par exemple dans le cas du biosurfactant produit par une souche de *Pseudomonas aeruginosa* UG2, on obtient un mélange de deux, voire quatre rhamnolipides (Van Dyke *et al.*, 1993). Abalos *et al.* (2001) indiquent que sept homologues de rhamnolipides ont été identifiés dans des cultures de *Pseudomonas aeruginosa* AT10.

Bien que de nombreuses espèces produisent des biotensioactifs, la régulation de leur synthèse est encore mal connue, sauf pour les souches de *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus subtilis* qui sont actuellement les bactéries les plus étudiées (Banat *et al.*, 2000). La biosynthèse des rhamnolipides par des souches de *Pseudomonas aeruginosa* se réalise pendant la phase exponentielle de croissance et est due à un transfert séquentiel glycosyl catalysé par des transférases rhamnosyl spécifiques : il y a intervention de donneurs rhamnosyl, les TPD transférases. Deux transférases différentes permettent la formation de quatre rhamnolipides différents (Koch *et al.*, 1991). Les molécules de biosurfactant sont associées aux membranes des bactéries et sont aussi secrétées dans le milieu (Thangamani et Shreve, 1994).

Les bactéries produisent des molécules de faible masse molaire, qui diminuent efficacement les tensions interfaciales, ainsi que des polymères de masses molaires élevées, qui se lient fortement aux surfaces (Ron et Rosenberg, 2002). Les biosurfactants de faibles masses molaires sont généralement des glycolipides, alors que ceux de masses molaires élevées sont constitués de polysaccharides, de protéines, de lipopolysaccharides ou des lipoprotéines. Ces derniers sont moins efficaces pour réduire les tensions interfaciales, mais plus efficaces pour entourer les gouttes d'huiles et empêcher leur coalescence.

Une des techniques utilisées pour suivre la production de biosurfactant est l'ADSA-P ("Axysymmetric Drop Shape Analysis by Profile") qui détermine simultanément l'angle de contact et la tension de surface du liquide grâce au profil d'une goutte restant sur une surface

## ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE : Remédiation des sols à l'aide de tensioactifs biologiques

de solide. Les gouttes contenant les organismes producteurs sont placées sur une surface en fluoroéthylène-propylène et le profil de la goutte est déterminé.

D'autres méthodes ont été décrites comme l'hémolyse du sang, qui est une caractéristique connue de certains biosurfactants et un index d'émulsification (E-24) obtenu sur kérosine (Banat, 1995). Le test du "drop-collapsing" est utilisé pour voir les colonies bactériennes produisant les biosurfactants : des gouttes contenant des cellules en suspension sont placées sur une surface recouverte d'huile ; si la goutte reste stable, cela démontre l'absence de tensioactif (Jain *et al.*, 1991).

Tableau 11 : Principaux types de surfactants biologiques (adapté de Desai et Banat, 1997 et Banat *et al.*, 2000)

Groupe	Biosurfactant	Micro-organisme
Glycolipides	Rhamnolipides	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Trehalolipides	<i>Rhodococcus sp.</i> , <i>Nocardia</i> , <i>Mycobacterium</i>
	Sophorolipides	<i>Candida bombicola</i> , <i>Candida antartica</i>
Lipopeptides et lipoprotéines	Surfactine	<i>Bacillus subtilis</i>
	Viscosine	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Phospholipides	Phospholipide	<i>Corynebacterium insidiosum</i>
Acides gras	Acide gras	<i>Corynebacterium lepus</i>
Lipides neutres	Lipides neutres	<i>Clostridium pasteurianum</i>
Lipopolysaccharides ou polymériques	Emulsan	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>

### IV.2.2. Paramètres influençant la production

Le type et la quantité de biotensioactifs produits varient avec la composition du milieu (source de carbone ou autres nutriments) et les conditions de culture (température, agitation, pH, etc).

#### IV.2.2.1. Influence de la source de carbone

La source de carbone est un des paramètres influençant le plus la production des biotensioactifs, soit par induction, soit par diminution de la quantité produite. La revue bibliographique a montré que des sources de carbone solubles dans l'eau (glycérol, glucose, mannitol ou éthanol) sont utilisées pour produire des rhamnolipides : cependant les rendements semblent être inférieurs à ceux obtenus sur des substrats insolubles (Desai et Banat, 1997 ; Cameotra et Makkar, 1998), comme des n-alcane ou de l'huile d'olive. En effet,

les bactéries ont la capacité de croître sur des substrats hydrophobes. Par exemple, une souche de *Pseudomonas aeruginosa* 19SJ a produit des tensioactifs sur un substrat constitué de phénanthrène ou de naphthalène (Déziel *et al.*, 1996), la production étant plus faible pour le phénanthrène que pour le naphthalène.

Mata-Sandoval *et al.* (2000) reportent que les huiles végétales sont parmi les substrats qui fournissent des taux de production de rhamnolipides les plus élevés lorsqu'ils sont utilisés comme seule source de carbone et avec certaines souches de *Pseudomonas aeruginosa*. Le changement du substrat carboné altère la structure des molécules produites. En effet, Fiechter (1992) indique que le remplacement du substrat initial par du sucrose entraîne la formation de glycolipides à base de sucrose au lieu de glycolipides à base de tréhalose. Il est également possible d'ajouter d'autres sources de carbone afin d'augmenter les rendements de production. Desai et Banat (1997) indiquent qu'un ajout d'hexadécane dans le milieu constitué de D-glucose pendant la phase de croissance stationnaire provoque une augmentation de rendement.

#### IV.2.2.2. Influence de l'azote

De nombreuses études ont montré que la synthèse de rhamnolipides se produisait lorsqu'il y avait un excès de carbone dans le milieu ou lorsque l'azote était en quantité limitante (Desai et Banat, 1997 ; Cameotra et Makkar, 1998 ; Lang et Wullbrandt, 1999). L'azote peut être apporté sous différentes formes selon les bactéries productrices : par exemple, la production de tensioactif par *Arthrobacter paraffineus* ATCC 19558 est favorisée en présence d'ammonium plutôt qu'en présence de nitrates. Par contre, Robert *et al.* (1989) indiquent que la production de surfactant à partir de *Pseudomonas* 44T1 cultivées sur de l'huile d'olive donnait de meilleurs rendements avec du nitrate de sodium. Hommel *et al.* (1994) indiquent que la production des sophorolipides par *Candida apicola* augmente avec la concentration initiale en sulfate d'ammonium et que la proportion des deux isomères produits varie aussi avec la concentration initiale en ammonium. Des résultats semblables ont été obtenus par Manresa *et al.* (1991) à partir d'une souche de *Pseudomonas aeruginosa*.

Pour avoir des rendements de production optimum, il est donc nécessaire d'avoir un rapport C/N idéal, et surtout que l'azote soit un facteur limitant (stress) pour favoriser la production de biotensioactif. Par exemple, Guerra-Santos *et al.* (1986) ont obtenu une production maximale pour un rapport C/N variant de 16/1 à 18/1, alors qu'ils n'ont pas observé de production pour des rapports inférieurs à 11/1, où l'azote n'est pas limitant.

#### IV.2.2.3. Autres facteurs

Arino *et al.* (1996) et Desai et Banat (1997) indiquent que pour une souche de *Pseudomonas aeruginosa*, le pH du milieu de culture doit se situer entre 6,0 et 6,5. A des pH inférieurs ou supérieurs, la production de tensioactif chute rapidement. D'autres souches comme *Norcardia corynebacteroides* sont in affectées par des pH variant de 6,5 à 8,0.

Ishigami *et al.* (1987) et Champion *et al.* (1995) ont montré que suivant le pH, les rhamnolipides produits avaient une structure différente et s'organisaient différemment. Par exemple, à un pH de 5,5, la structure était de forme lamellaire alors qu'à des pH supérieurs, des vésicules étaient formées.

Il semblerait qu'une concentration limitante en ions magnésium, calcium, potassium sodium ou éléments traces induise une augmentation de production (Guerra-Santos *et al.*, 1986).

La disponibilité de l'oxygène peut également affecter la production à travers son effet sur l'activité cellulaire ou la croissance.

Les milieux de culture sont agités lors de la production de tensioactifs. Pour les bactéries, une augmentation de la vitesse d'agitation induit une augmentation des vitesses de cisaillement et donc un rendement moindre. L'effet inverse est observé lorsque les organismes producteurs sont des levures (Desai et Banat, 1997).

#### IV.2.3. Extraction des biosurfactants du milieu de croissance

Pour extraire le biotensioactif du milieu de croissance, il est d'abord nécessaire de séparer les bactéries de ce milieu de culture (par centrifugation par exemple).

La récupération des biotensioactifs dépend principalement de leur charge ionique, de leur solubilité et de leur localisation (intracellulaire, extracellulaire ou lié aux cellules). Les techniques les plus utilisées sont des extractions par solvants : chloroforme/méthanol, butanol, acétate d'éthyle, etc. (Desai et Banat, 1997) ou des techniques reposant sur la précipitation du tensioactif. Ces extractions peuvent être réalisées directement ou après sédimentation des cellules productrices.

Il est possible d'acidifier le milieu puis d'extraire le tensioactif par un mélange de solvants (chloroforme/méthanol) comme l'ont fait Parra *et al.* (1989). Généralement, l'acidification permet une précipitation du tensioactif. Suite à cette précipitation, une étape de centrifugation puis de lavage est nécessaire pour récupérer et purifier le tensioactif.

Il existe des techniques de récupération en continu. Reiling *et al.* (1986) ont réalisé une adsorption sur de l'Amberlite XAD-2 suivie d'une purification et lyophilisation, donnant des rendements variant de 60 à 90 % en pureté.

La capacité des biosurfactants à s'agréger aux surfaces a également été utilisée pour les retenir sur des membranes de filtration. Par exemple, une membrane XM-50, dont le seuil de coupure est de 5000 D, a été utilisée sur une surfactine pure à 97 % et un taux de récupération de 98 % est obtenu, alors qu'une membrane avec un seuil de coupure plus élevé (10 000 D) fournit un rendement de récupération de 92 % (Desai et Banat, 1997).

### IV.3. Propriétés physico-chimiques des biotensioactifs

#### IV.3.1. Concentration Micellaire Critique (CMC)

La CMC est par définition la concentration en solution d'un agent de surface au-dessus de laquelle une partie des molécules dispersées au sein de la solution se rassemblent pour former des micelles (Poré, 1992). Les micelles se forment lorsque les portions hydrophobes,

incapables de former des liaisons hydrogène en phase aqueuse, créent une forte augmentation de l'énergie libre du système. Une façon d'abaisser cette énergie est d'isoler la partie hydrophobe de l'eau par adsorption sur des matrices organiques ou de former des micelles (Haigh, 1996). En effet, dans les micelles, les parties hydrophobes se regroupent vers le centre, et les portions hydrophiles restent en contact avec l'eau (Figure 3).

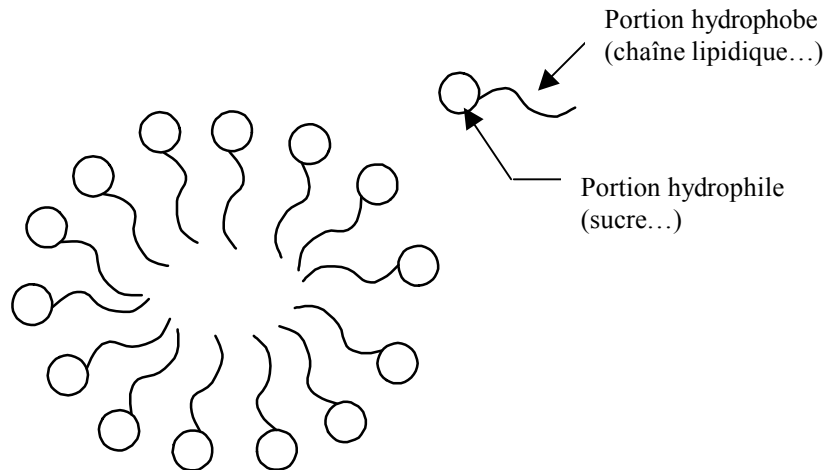


Figure 3 : Représentation schématique d'une micelle de surfactant

La CMC peut également être définie comme étant la concentration pour laquelle la tension superficielle devient minimale (environ  $30 \text{ mN.m}^{-1}$  en solution aqueuse). Pour de nombreux tensioactifs, la tension superficielle minimale est à peu près identique mais la CMC varie en fonction de leur structure. La plupart des biosurfactants ont des CMC inférieures et des nombres d'agrégation supérieurs aux surfactants synthétiques : leur efficacité est donc meilleure (Mata-Sandoval *et al.*, 2000). Les CMC obtenues pour les biosurfactants varient de 1 à  $200 \text{ mg.L}^{-1}$  (Zhang et Miller, 1992 ; Abalos *et al.*, 2001).

La CMC d'un surfactant varie avec sa structure, la température de la solution, la présence d'électrolytes ou de composés organiques (Edwards *et al.*, 1991). Les effets des électrolytes sur la CMC sont plus prononcés pour les surfactants ioniques. La variation de la taille de la région hydrophobe est un facteur important et en général, la CMC diminue lorsque le caractère hydrophobe du surfactant augmente (Haigh, 1996).

Haba *et al.* (2003) indiquent que le rapport et la composition des homologues de surfactant, la présence de liaisons insaturées, la ramification et la longueur de la chaîne alkyle ou la taille de la tête hydrophile affectent la valeur de la CMC. La CMC des composés insaturés est supérieure à leurs homologues saturés. Ceci peut être attribué à des facteurs stériques pendant la formation des micelles.

#### IV.3.2. Structure des surfactants et paramètres influençant leur micellisation

Les micelles de surfactants s'arrangent en différentes micro-structures sphériques, globulaires ou cylindriques, mais des vésicules sphériques et irrégulières, des bi-couches

tubulaires ou des structures lamellaires sont le plus souvent rencontrées (Champion *et al.*, 1995).

Le volume intérieur des micelles dépend de la forme des micelles et du nombre d'agrégation (nombre de monomères constituant la micelle). Généralement, il faut de 50 à 100 monomères pour former une micelle (Christofi et Ivshina, 2002).

Le nombre d'agrégation augmente quand l'aire de la section transversale de la partie hydrophile ( $a_h$ ) diminue (Figure 4). Quand le nombre d'agrégation augmente, le volume intérieur de la micelle augmente.

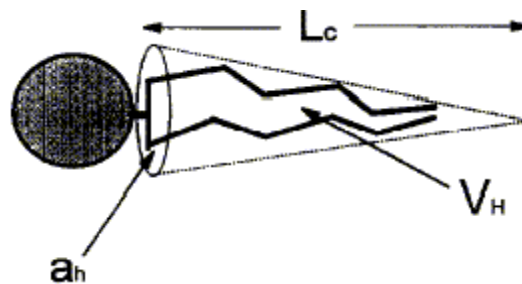


Figure 4 : Représentation schématique d'une molécule de surfactant (d'après Bai *et al.*, 1998)

$L_c$  représente la longueur de la chaîne hydrophobe et  $V_H$  le volume occupé par celle-ci. La forme de la micelle dépend également de la structure du surfactant. À l'aide d'une approche géométrique, la forme de la micelle peut être déterminée par le rapport  $V_H/(a_h * L_c)$  (Bai *et al.*, 1998). Si ce rapport est inférieur à  $1/3$ , la micelle est de forme sphérique.

La morphologie des agrégats varie avec le pH, la concentration en surfactant, la température ou la force ionique (Champion *et al.*, 1995). Par exemple, lorsqu'un cation comme  $Na^+$  est ajouté en solution, il compense la charge négative de la tête du surfactant (anionique), réduisant ainsi les répulsions électrostatiques entre têtes polaires, entraînant une diminution de  $a_h$ . Ceci va augmenter le nombre d'agrégation des micelles et le volume intérieur de ces micelles ; et ainsi la solubilisation sera favorisée.

#### IV.3.3. Solubilité des tensioactifs en fonction de la température

Pour les tensioactifs ioniques, la courbe représentant la solubilité en fonction de la température (Figure 5) fait apparaître un comportement irrégulier : à partir d'une certaine température  $T_k$ , dite température de Krafft, la solubilité augmente brusquement. Sur ce même graphe, la courbe représentant la CMC en fonction de la température a été ajoutée. La température de Krafft correspond à l'intersection de la courbe de solubilité et celle de la CMC.

En dessous du point de Krafft, la solubilité est faible ; elle est uniquement due aux monomères présents en solution. Lorsque ces derniers atteignent la saturation (à la CMC), le tensioactif précipite sous forme de solide hydraté. Au-dessus de  $T_k$ , la solubilité croît rapidement avec la température : ceci est lié à la formation de micelles puisque l'activité des micelles reste constante (Shinoda et Fontell, 1995). Ce sont les micelles qui font croître la solubilité. Le tensioactif se retrouve à la fois sous forme de micelles et de monomères.



La température de Krafft des tensioactifs anioniques varie en fonction de la nature du groupement hydrophobe, mais également des ions présents en solution.

Les tensioactifs non ioniques ne présentent pas de température de Krafft, mais se caractérisent par une température appelée point de trouble.

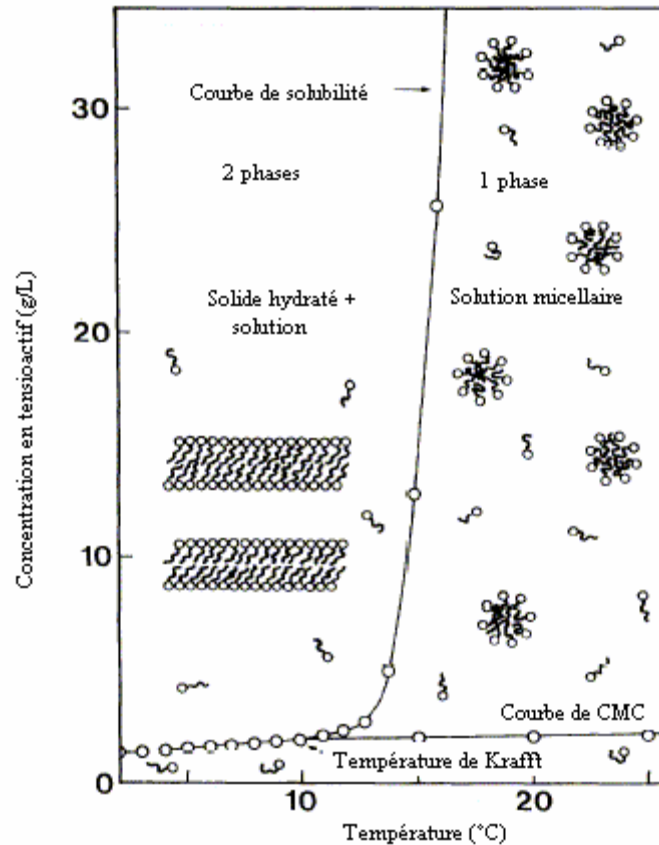


Figure 5 : Solubilité d'un tensioactif ionique en fonction de la température (d'après Shinoda et Fontell, 1995)

#### IV.3.4. Rapport Molaire de Solubilisation (RMS) et coefficient de partage micelle/eau ( $K_m$ )

La capacité d'un surfactant à solubiliser un HAP est représentée par le RMS : c'est le rapport entre le nombre de moles de HAP solubilisé dans la pseudo-phase hydrophobe et le nombre de moles de surfactant constituant la phase micellaire (Edwards *et al.*, 1991 ; Pennel *et al.*, 1993). Le RMS peut être décrit par l'Equation 4.

$$\text{RMS} = \frac{S_{\text{hap, mic}} - S_{\text{hap, cmc}}}{C_{\text{surf}} - \text{CMC}} \quad (\text{Équation 4})$$

où  $S_{\text{hap, mic}}$  est la solubilité apparente totale du HAP en  $\text{mol.L}^{-1}$  pour une concentration en surfactant ( $C_{\text{surf}}$ ) supérieure à la CMC ;

$S_{\text{hap, cmc}}$  est la solubilité apparente du HAP en  $\text{mol.L}^{-1}$  à la CMC.

Une approche complémentaire pour quantifier l'efficacité de solubilisation du surfactant consiste à caractériser le partage d'un composé organique entre les micelles et la phase aqueuse avec un coefficient de partage micelle/eau.  $K_m$  est défini comme le rapport entre la fraction molaire du HAP dans la pseudo-phase micellaire  $X_m$  et la fraction molaire du HAP dans la phase aqueuse  $X_a$ . La valeur de  $K_m$  dépend de la chimie du surfactant et de l'élément solubilisé ainsi que de la température (Edwards *et al.*, 1991).  $K_m$  peut se calculer de la façon suivante :

$$K_m = X_m / X_a \quad (\text{Équation 5})$$

$$\text{Avec } X_m = \frac{S_{\text{hap, mic}} - S_{\text{hap, cmc}}}{(C_{\text{surf}} - \text{CMC}) + (S_{\text{hap, mic}} - S_{\text{hap, cmc}})} \quad (\text{Équation 6})$$

Ce qui, exprimé par rapport au rapport molaire de solubilisation, donne :

$$X_m = \frac{\text{RMS}}{1 + \text{RMS}} \quad (\text{Équation 7})$$

Pour des solutions diluées, la fraction molaire de HAP dans la phase aqueuse est :

$$X_a = S_{\text{hap, cmc}} V_w \quad (\text{Équation 8})$$

où  $V_w$  est le volume molaire de l'eau,  $1,805 \cdot 10^{-2} \text{ L.mol}^{-1}$  à  $25^\circ\text{C}$ .

#### IV.4. Sorption des biosurfactants sur les solides

Les surfactants utilisés lors des traitements de sols pollués voient leur efficacité diminuer suite à deux phénomènes principaux : la précipitation du tensioactif ou la sorption de ce dernier au sol. Ces deux phénomènes aboutissent à une réduction en phase aqueuse de la concentration active en surfactant pour mobiliser et transporter les contaminants organiques dans les sols (West et Harwell, 1992) et parallèlement à une augmentation des coûts de dépollution.

##### IV.4.1. Mécanismes d'adsorption

L'adsorption résulte d'interactions "énergétiquement" favorables entre l'adsorbat (le sol) et le soluté. C'est un processus complexe car il peut être influencé par tout composé solide, solvant ou soluté présent dans le système (Somasundaran et Krishnakumar, 1997). Cette adsorption peut-être de nature physique ou chimique, la différence entre les deux dépendant de la nature des forces mises en jeu.

Plusieurs auteurs (Abdul et Gibson, 1991 ; West et Harwell, 1992 ; Edwards *et al.*, 1994) travaillant avec des surfactants chimiques anioniques ont proposé un modèle selon lequel l'adsorption des tensioactifs comprendrait trois étapes (Figure 6). La première serait un recouvrement partiel de la surface des sols ou sédiments par des monomères. Cette étape est contrôlée par des interactions électrostatiques entre les monomères anioniques du biosurfactant et les sites de surface de charge opposée. Au fur et à mesure de l'augmentation

de la concentration en surfactant, les monomères s'auto-associent sous l'effet de forces électrostatiques et hydrophobes, pour donner des hémimicelles puis des admicelles.

Une fois que la concentration en surfactant sorbé à la surface du sol est maximale, tout ajout supplémentaire de tensioactif restera en solution pour solubiliser les HAP.

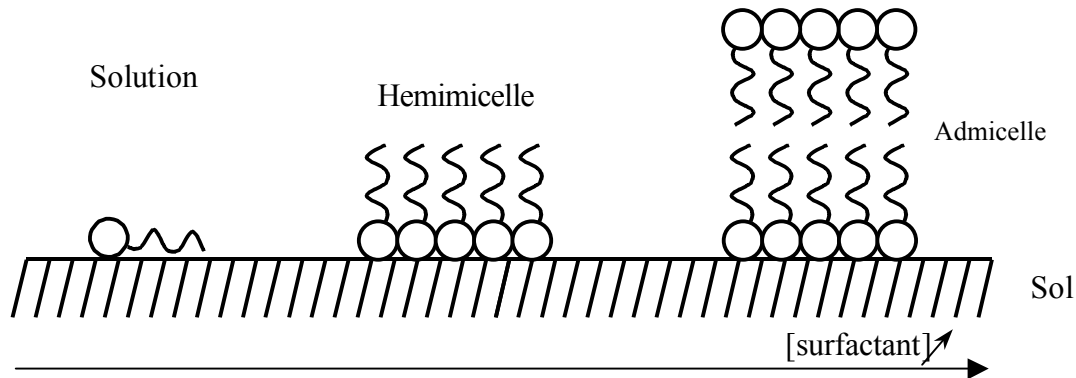


Figure 6 : Représentation schématique de l'adsorption de surfactant sur un sol (d'après West et Harwell, 1992)

Le type de surfactant influe sur sa sorption. Par exemple, Somasundaran et Krishnakumar (1997) indiquent que l'adsorption des surfactants non ioniques diffère de celle des surfactants ioniques du fait de l'absence d'interactions électrostatiques.

Les biosurfactants anioniques sont préférentiellement choisis lors des traitements de sols pollués car ils se sorbent moins aux surfaces minérales (Jafvert et Heath, 1991 ; Kuhnt, 1993 ; Rouse *et al.*, 1993 ; Dwarakanath *et al.*, 1999), mais ils ont la particularité de précipiter et de déstabiliser les particules fines des sols (Kuhnt, 1993 ; Haigh, 1996).

#### IV.4.2. Paramètres influant sur la sorption au sol

##### IV.4.2.1. Concentration, structure et nature du tensioactif

Van Dyke *et al.* (1993) ont constaté que l'adsorption de l'UG2, biosurfactant anionique, de type rhamnolipide, sur le sol étudié, diminuait avec l'augmentation de sa concentration : des concentrations de 0,5 à 5 g.L<sup>-1</sup> ont été utilisées, et les taux d'adsorption variaient de 74 à 20 % ; ce phénomène étant lié à la saturation progressive du sol. Des résultats similaires ont été obtenus par Jafvert et Heath (1991) ou Adeel et Luthy (1995). Ceci est lié au fait qu'à de faibles concentrations, le tensioactif est sous forme de monomères.

Rouse *et al.* (1993) ont constaté que des surfactants anioniques chimiques possédant deux groupements sulfonates se sorbaient beaucoup moins que leurs homologues n'ayant qu'un seul groupement, tout en maintenant des taux de solubilisation élevés. Cette différence de comportement est liée aux contraintes stériques : en effet, les deux groupements sulfonates étant plus encombrants, le tensioactif se sorbe moins au sol.

Noordman *et al.* (2000 a) ont travaillé avec de l'UG2, contenant six rhamnolipides anioniques possédant des longueurs de chaînes lipidiques différentes, et comportant un ou deux groupements rhamnose. Les expériences en colonnes de sol révèlent que le rhamnolipide le plus hydrophobe se sorbe préférentiellement.

Ces mêmes auteurs ont de plus observé que l'adsorption n'était pas corrélée au contenu en carbone organique du sol : ces résultats suggèrent que l'adsorption de ce biosurfactant n'est pas un processus de partage mais plutôt un processus d'adsorption interfaciale, gouverné par des interactions hydrophobes entre les rhamnolipides. Ces résultats sont en désaccord avec ceux obtenus par Paterson *et al.* (1999). En effet, ces auteurs ont étudié la sorption de cinq surfactants chimiques non ioniques et ont conclu que les masses adsorbées étaient d'une part liées à la CMC du surfactant et d'autre part liées au contenu en MO du sol. De ce fait, les différences observées semblent être fonction de la nature du tensioactif.

#### *IV.4.2.2. Environnement chimique de tensioactif*

Torrens *et al.* (1998) révèlent qu'une augmentation de la force ionique permet de réduire les répulsions électrostatiques à l'interface surfactant/particule de sol, ce qui modifie la sorption du rhamnolipide étudié. De même, Abdul et Gibson (1991) et Shen (2000) indiquent que la masse de surfactant non ionique adsorbée varie en fonction du pH.

La composition minérale du sol peut également influencer sur la sorption d'un surfactant. Shen (2000) indique que la capacité de sorption des sols envers le surfactant chimique non ionique étudié diminue avec l'augmentation progressive de la maturité du sol. En effet, au cours du temps les sols voient leur composition varier. Le rapport  $Si/(Al+Fe)$  semblerait être un indicateur de la "maturité" du sol : plus ce rapport est élevé et plus le sol est mature. Ainsi, cet auteur indique que la capacité de sorption d'un sol envers les surfactants non ioniques décroît progressivement avec l'évolution de la maturité des sols.

### IV.5. Toxicité et biodégradabilité

Il existe de nombreux travaux sur la toxicité des surfactants chimiques, mais peu de recherches ont été effectuées sur les biosurfactants. Edwards *et al.* (2003) ont comparé la toxicité de trois surfactants chimiques et biologiques sur deux invertébrés marins (*Mysidopsis Bahia* et *Menidia Beryllina*). Ces auteurs concluent que les biotensioactifs ont des toxicités intermédiaires à celles des chimiques. Par exemple, l'Emulsan qui est le biosurfactant le moins toxique de l'étude, présente une  $CL_{50}$  (concentration létale) supérieure à  $200 \text{ mg.L}^{-1}$ . A titre de comparaison, le Triton X 100, d'origine chimique et largement utilisé dans l'industrie, a une  $CL_{50}$  de 2,5 à  $6 \text{ mg.L}^{-1}$ . Le Tableau 12 regroupe quelques valeurs de concentrations effectives, et montre qu'en général les biosurfactants sont moins toxiques que leurs analogues chimiques.

Des tests de toxicité (oculaires et dermiques) réalisés par Haba *et al.* (2003) ont montré que les rhamnolipides produits par une souche de *Pseudomonas aeruginosa* étaient classés comme produits non irritants et non toxiques.

Tableau 12 : Toxicité de biotensioactifs comparée à celle de surfactants chimiques (d'après Christofi et Ivshina, 2002)

Surfactant	Origine	CE <sub>50</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )
<i>Rhodococcus ruber</i> AC 235 glycolipide complexe		650
Tréhalose dicorynomycolate de <i>R. erythropolis</i>		49
Tréhalose tétraester de <i>R. erythropolis</i>	Biologique	286
Rhamnolipides de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>		50
Stéarate de sucrose (DK 50)		67
Finasol OSR-5	Chimique	7
Corexit 9597		5
Inipol EAP 22		0,004

CE<sub>50</sub> : concentration effective à 50 %, c'est à dire affectant 50 % de la population testée

De nombreux auteurs indiquent que les biotensioactifs sont biodégradables (Parra *et al.*, 1989 ; Herman *et al.*, 1995 ; Banat *et al.*, 2000 ; Vipulanandan et Ren, 2000). Une étude réalisée par Deschênes *et al.* (1996) reporte que l'UG2, biosurfactant produit par une souche de *Pseudomonas aeruginosa* n'affectait pas l'activité microbienne globale, même à de fortes concentrations (500 µg de tensioactif.g<sup>-1</sup> de sol). Ces auteurs indiquent de plus que le surfactant était biodégradable. De même, Vipulanandan et Ren (2000) ont prouvé que la biodégradation du biosurfactant produit par une souche de *Pseudomonas* était en compétition avec la biodégradation du naphthalène. Ces résultats sont en accord avec ceux de Page *et al.* (1999) qui expliquent le phénomène par le fait que les biotensioactifs sont des sous-produits ou des constituants membranaires des micro-organismes. Il faut cependant noter que la biodégradation des tensioactifs biologiques pose un problème économique : en effet, pour éviter toute perte d'efficacité de dépollution, il est nécessaire d'augmenter les taux de tensioactifs appliqués, ce qui induit un surcoût.

#### IV.6. Remobilisation des HAP par utilisation des biosurfactants

Bien qu'utilisés dans de nombreux domaines, les tensioactifs d'origine biologique voient une utilisation de plus en plus prometteuse dans les techniques de remédiation des sols.

##### IV.6.1. Modes d'action

La remédiation assistée par les biosurfactants présente de nombreux avantages. West et Harwell (1992) indiquent que les tensioactifs cationiques se sorbent fortement aux sols. Or, les molécules d'origine biologique ont le plus souvent un caractère non ionique ou anionique qui les rendent moins sensibles à la sorption sur les sols. De plus, ils ont des CMC moindres que leur homologues chimiques, ce qui les rend efficaces à de plus faibles concentrations. Enfin le caractère peu toxique et biodégradable des biotensioactifs facilite leur utilisation.

Les études réalisées jusqu'à présent portent le plus souvent sur la remédiation assistée (SEAR) par des surfactants d'origine chimique. De nombreux auteurs (West et Harwell ; 1992 ; Pennel *et al.*, 1993 ; Noordman *et al.*, 1998 ; Bettahar *et al.*, 1999 ; McCray *et al.*, 2001) expliquent que les tensioactifs agissent de façons différentes : par mobilisation et par solubilisation.

#### IV.6.1.1. La mobilisation

Par définition, la mobilisation dépend de la capacité des surfactants à diminuer les tensions interfaciales entre les NAPL (non aqueous phase liquids) et l'eau lorsque les molécules de tensioactifs se partagent à la surface du NAPL (McCray *et al.*, 2001). La mobilisation se subdivise en deux étapes : une étape de déplacement et une étape de dispersion. Le déplacement correspond à la libération des gouttes de NAPL du milieu poreux grâce à la réduction des tensions interfaciales (Abdul et Gibson, 1991 ; Bai *et al.*, 1997). La dispersion est le processus au cours duquel les NAPL se dispersent dans la phase aqueuse sous forme de fines émulsions.

La réduction des tensions interfaciales diminue les forces capillaires piégeant les globules de NAPL, permettant ainsi leur remobilisation. Cependant, le contrôle hydrodynamique des NAPL ainsi solubilisés est difficile à maintenir, et bien qu'ayant un potentiel plus grand pour la réhabilitation, cette technique est peu utilisée (West et Harwell, 1992 ; Bettahar *et al.*, 1999).

#### IV.6.1.2. La solubilisation

C'est le mode d'action privilégié pour traiter les sols ; elle résulte de la formation de micelles. La solubilisation est basée sur la capacité des solutions micellaires à augmenter la solubilité des contaminants hydrophobes. Généralement, en deçà de la CMC, les monomères en solution n'ont pas ou peu d'effets sur la plupart des COH (Pennel *et al.*, 1993). Au-dessus de la CMC, le phénomène d'incorporation des COH dans les micelles apparaît, permettant ainsi une augmentation de leur solubilité apparente. Bai *et al.* (1998) indiquent qu'à de fortes concentrations, la solubilisation est le mécanisme principal. La Figure 7 schématise le mode d'action des tensioactifs. Comme le montre ce schéma, la remédiation résulte de différentes interactions qui peuvent parfois être en compétition.

Du fait de leur caractère hydrophobe, les HAP ont une tendance naturelle à se sorber aux sols. Leur concentration en phase aqueuse dépend fortement de l'équilibre d'adsorption/désorption des HAP avec le sol. La capacité de sorption d'un sol ou d'un sédiment peut être décrit par un coefficient de distribution  $K_d$  entre la phase solide et la phase aqueuse du milieu,  $K_d$  dépend principalement de la teneur en carbone organique des sols (Karickhoff *et al.*, 1979). En présence de tensioactif, Edwards *et al.* (1994) ont défini un coefficient de partage  $K_{d,cmc}$  qui représente le coefficient de partage du HAP entre le sol et la phase aqueuse en présence d'une solution micellaire. Ceci est représenté par l'équilibre (1) de la Figure 7.

Comme nous l'avons vu dans le paragraphe IV.4, les monomères de tensioactifs peuvent se sorber sur les sols (équilibre 2 de la Figure 7), entraînant une perte d'efficacité pour le traitement des sols et il en résulte une concentration en tensioactif dans la phase

aqueuse inférieure à la concentration totale en tensioactif. Ainsi, pour que les micelles se forment, il faut ajouter suffisamment de tensioactif pour que la concentration en phase aqueuse atteigne la CMC réelle. En effet, Liu *et al.* (1991) ont montré que l'augmentation de la solubilité apparente de l'antracène, du phénanthrène et du pyrène en présence de sol et de tensioactifs chimiques non ioniques et anioniques se produisait à des concentrations en tensioactif beaucoup plus grandes que la CMC. La sorption dépend de la concentration de tensioactif en solution (Van Dyke *et al.*, 1993). Edwards *et al.* (1994) indiquent de plus que les monomères sorbés peuvent agir comme des sorbants envers les HAP. Le rôle principal du tensioactif est de solubiliser les molécules hydrophobes en les piégeant dans la pseudo-phase hydrophobe formée par les micelles, permettant ainsi d'augmenter la solubilité apparente des polluants. Ceci est représenté par l'équilibre 3 sur la Figure 7, et est décrit par le coefficient de partage micelle/eau ( $K_m$ ).

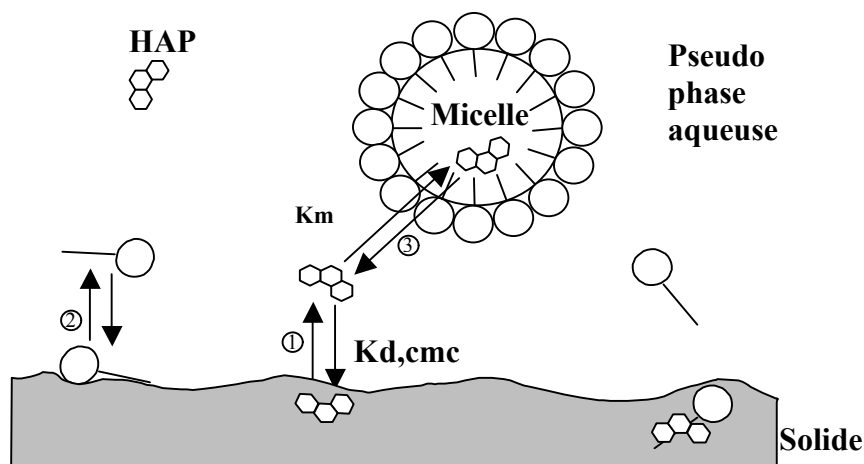


Figure 7 : Représentation schématique des processus contrôlant la solubilité des HAP en présence de surfactant (d'après Edward *et al.*, 1994)

Les études de remobilisation réalisées en laboratoire se font le plus souvent en considérant un seul HAP. Les résultats obtenus montrent que la solubilité apparente des HAP augmente de façon linéaire à la concentration sub-micellaire (Edwards *et al.*, 1991 et 1994). Cependant, tous les HAP ne voient pas leur solubilité augmenter de la même façon : généralement les HAP les plus hydrophobes voient leur solubilité augmenter le plus avec la concentration en biosurfactant (Brusseau *et al.*, 1994 ; Noordman *et al.*, 2000 b).

De même, lorsque les HAP sont en mélange, il semblerait que la solubilisation des HAP les plus hydrophobes soit favorisée par la présence de HAP moins hydrophobes. En effet, Guha *et al.* (1998) ainsi que Chun *et al.* (2002) ont montré avec des tensioactifs chimiques, que le HAP le moins hydrophobe se solubilisait à la région interfaciale hydrophobe des micelles, ce qui induisait une diminution de la tension interfaciale entre le cœur hydrophobe des micelles et la solution. Cette réduction de tension interfaciale permet d'obtenir un volume intérieur de micelle plus grand et ainsi d'accroître le potentiel de solubilisation.

D'un point de vue pratique, le mécanisme de solubilisation nécessite l'injection de grandes quantités de solutions tensioactives par rapport au mécanisme de solubilisation. Cela peut représenter un inconvénient majeur en terme de coût de dépollution.

#### IV.6.2. Optimisation des conditions d'injection

Différents paramètres peuvent influencer sur les rendements de dépollution : la solution en elle-même (concentration, force ionique, pH, etc.), ou les conditions d'injections (vitesse, arrêt de l'injection, etc.).

##### IV.6.2.1. La solution

La concentration est un paramètre clé de la réussite de la remédiation. Comme nous l'avons vu précédemment, si il n'est pas présent en concentration suffisante, le biosurfactant se perd par sorption. Une des solutions est d'augmenter cette concentration, mais West et Harwell (1992) indiquent que si la concentration en tensioactif anionique est trop élevée, il peut précipiter et provoquer des colmatages de pores du sol et ainsi faire échouer la remédiation. Il faut de plus noter que dans les systèmes où le sol est présent, la solubilité apparente des HAP ne présente pas une relation linéaire avec la concentration en tensioactif (pour des valeurs sub CMC).

Tous les paramètres qui influencent le volume interne des micelles permettent de favoriser la remédiation. Une étude réalisée par Bai *et al.* (1998) avec un biosurfactant a montré que la solubilité de l'hexadécane était favorisée par l'ajout de cations ( $\text{Na}^+$  ou  $\text{Mg}^{2+}$ ) ; En effet ces ions permettent de réduire les répulsions électrostatiques entre les portions hydrophiles du biotensioactif anionique, permettant ainsi d'augmenter le volume interne des micelles et donc le nombre de monomères de surfactant dans les micelles. Ces auteurs ont de plus remarqué que l'ajout de  $\text{Ca}^{2+}$  induisait une perte de biosurfactant par précipitation.

Bai *et al.* (1998) ont également fait varier le pH de la solution : la diminution d'une unité de pH (7 à 6) permet d'éliminer 13 % d'hexadécane supplémentaire. Cette augmentation de l'efficacité par diminution du pH est cependant rapidement limitée par la précipitation du tensioactif.

Lors de l'injection de surfactants chimiques, des diminutions de conductivités hydrauliques ont été reportées (Bettahar *et al.*, 1999). Les auteurs expliquent que ce phénomène est lié à l'agglomération des micelles ; l'ajout de 4 % d'alcool butylique sous des conditions spécifiques améliore l'injectabilité et l'efficacité du surfactant. De même, une optimisation de la formulation du surfactant (mélange de deux tensioactifs et co-solvant) permet de pallier à la diminution de conductivité hydraulique et améliore les rendements de plus de 70 %.

##### IV.6.2.2. Les conditions d'injection

La plupart des tests sont effectués avec des surfactants chimiques. Lafrance et Lapointe (1998) ont réalisé des essais de dépollution d'un sol contaminé par du pyrène avec un tensioactif biologique produit par *Pseudomonas aeruginosa* UG2. Deux paramètres ont été



modifiés : la vitesse d'écoulement de la solution et le temps d'arrêt d'injection de la solution lavante. Les auteurs reportent que la mobilisation du pyrène ne dépend pas ou peu de la vitesse d'écoulement (variation de 15 à 26 cm.h<sup>-1</sup>), ni du temps d'arrêt du flux (5 ou 15 h). Lafrance et Lapointe (1998) expliquent ce résultat par le fait que dans les conditions utilisées (contamination récente en laboratoire), la mobilisation n'est pas limitée.

Ces résultats diffèrent de ceux obtenus par Pennel *et al.* (1993), qui ont réalisé le même type de test, avec du dodécane et un surfactant chimique non ionique. Les arrêts et reprises de flux de la solution tensioactive provoquent une augmentation de la concentration de dodécane dans l'éluat. Plus la durée est longue et plus la concentration à la reprise de l'éluat est proche de celle obtenue en batch, c'est à dire à l'équilibre. L'arrêt du flux favorise la diffusion du tensioactif dans les pores du sol, ce qui permet d'augmenter le temps de contact entre la solution micellaire et le dodécane résiduel et ainsi favoriser la solubilisation des HAP. Inversement, lorsque la vitesse de pore est élevée, la concentration dans l'éluat diminue.

D'une manière générale, la remobilisation peut se subdiviser en deux étapes : la première au cours de laquelle les concentrations de HAP en solution sont élevées, puis une seconde phase au cours de laquelle ces concentrations diminuent. Par exemple, Abdul et Gibson (1991) reportent que 76 % du BPC étudié (Arochlor) sont éliminés pendant les dix premiers volumes de pores ( $V_p$ ) injectés, ensuite, seulement 10 % supplémentaires sont éliminés au cours de la percolation de 10  $V_p$  additionnels.

#### IV.6.3. Comparaison de l'efficacité des biosurfactants par rapport aux surfactants chimiques

Afin de valider l'efficacité des tensioactifs d'origine biologique, il est nécessaire de comparer les rendements obtenus à ceux de leurs homologues chimiques (Lafrance et Lapointe, 1998). Le Tableau 13 reporte les résultats obtenus lors de différentes études, à partir de tensioactifs de différentes origines.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE : Remédiation des sols à l'aide de tensioactifs biologiques

Tableau 13 : Tableau récapitulatif de différentes études en colonnes de sol avec des tensioactifs biologiques et chimiques

Tensioactif et concentration	Polluant	Débit (Q en ml.min <sup>-1</sup> ) ou Vitesse de pore (V en cm.h <sup>-1</sup> )	Remobilisation				Références
			Nb V <sub>p</sub> pour 50 % d'élimination		Nb V <sub>p</sub> pour 90 % d'élimination		
Biosurfactant UG2 (500 mg.L <sup>-1</sup> )	Phénanthrène	Sol 1, Q= 2 Sol 2, Q= 0,4 Sol 3, Q= 0,6 Sol 4, Q= 2	EUP	BS	EUP	BS	Noordman <i>et al.</i> (2000 a)
88			17	337	135		
5,3			3,1	22	9,6		
9,8			3,6	53	51		
91			19	585	166		
Biosurfactant 57SJ (g.L <sup>-1</sup> ) 2,5 1,75 1,0 0,6	Pyrène (50 µg.g <sup>-1</sup> de sol)	Q= 0,4	% remobilisé après 26 V <sub>p</sub>				Bordas et Lafrance (2001)
			75				
			50				
			20				
(500 mg.L <sup>-1</sup> ) Biosurfactant ATCC 9027 Dodecyl Sulfate Sodium	Hexadécane	V = 15	Sable 20/30 mesh	Sable 40/50 mesh	Bai <i>et al.</i> (1997)		
			84	22			6,1
Witconol SN70 (g.L <sup>-1</sup> ) 5 10 20	BPC : Arochlor (1728 µg.g <sup>-1</sup> )	Q= 1	% remobilisé après 20 V <sub>p</sub>				Abdul et Gibson (1991)
			66				
			86				
Biosurfactant UG2 (g.L <sup>-1</sup> ) 2,5 / 5 DSS 2,5 / 5	Pyrène (50 µg.g <sup>-1</sup> de sol)	V = 15	% remobilisé après 8 V <sub>p</sub>				Lafrance et Lapointe (1998)
			18 / 42				
			4 / 32				
DSS (17 g.L <sup>-1</sup> )	Anthracène 188 µg.g <sup>-1</sup> 19 µg.g <sup>-1</sup>	Q=300	13 % éliminés après 2,5 V <sub>p</sub> 90 % éliminés après 4 V <sub>p</sub>				Roy <i>et al.</i> (1994)

Ces études (Tableau 13) sont difficilement comparables du fait d'une grande diversité de conditions opératoires utilisées (types de sols et de polluants, conditions d'extraction, nature du surfactant, etc.). Néanmoins, les études de laboratoire semblent montrer les bonnes "prédispositions" des biosurfactants pour la dépollution. En effet ces derniers possèdent des efficacités comparables voire supérieures à leurs homologues chimiques. Ceci, associé à leurs propriétés non agressives envers l'environnement laisse entrevoir un fort potentiel d'utilisation de ces tensioactifs pour la remédiation de sols contaminés.

#### IV.7. Conclusion

Les sites contaminés par les HAP peuvent ainsi être traités par différentes techniques ; Comme il n'existe pas de technique universelle, les études *in situ* doivent combiner plusieurs techniques afin d'atteindre les objectifs de dépollution fixés.

La revue bibliographique a montré que les tensioactifs biologiques avaient un fort potentiel pour la remédiation de sols pollués par les HAP. Ce type de traitement est encore trop peu usité sur le terrain et nécessite d'être optimisé. En effet, il serait nécessaire de travailler sur de nouvelles souches de bactéries capables de produire des quantités de biosurfactants plus importantes à partir de substrats de croissance de faible coût. Les études en laboratoire constituent une suite logique et nécessaire devant permettre d'anticiper l'efficacité du biotensioactif utilisé dans le cadre d'une utilisation pour dépolluer les sols. Ces études en laboratoire permettront également d'optimiser les conditions d'injection du produit, via des études en systèmes dynamiques (colonnes de sol) afin d'obtenir les meilleurs rendements de décontamination par rapport au sol à traiter (nature du sol, taux de contamination, etc.). De plus, les études en laboratoire menées jusqu'ici ne prennent bien souvent pas en compte les systèmes multi-polluants, qui constituent la majorité des cas de terrain, il est donc nécessaire d'explorer ces voies.

Une meilleure compréhension des mécanismes mis en jeu lors de la mobilisation des HAP par des solutions tensioactives passe par la modélisation des phénomènes observés, modélisation qui doit s'appuyer sur des expériences les plus représentatives possible d'un cas réel de décontamination des sols. La modélisation deviendra alors un outil de décision et d'anticipation lors de la mise en place d'une stratégie de réhabilitation des sols pollués.

L'étude exposée dans ce mémoire s'insère dans une volonté de mieux comprendre les phénomènes mis en jeu au cours de la remobilisation. C'est pourquoi nous avons travaillé avec un nouveau biosurfactant, produit par une souche bactérienne récemment isolée à partir d'un sol contaminé. Après l'avoir caractérisé, nous étudierons sa capacité à solubiliser trois HAP cibles : le fluorène, le fluoranthène et le pyrène. Cette étude se fera en système simple ou en mélange ternaire. Cette étude serait incomplète sans procéder à des essais en système dynamique. Ces essais seront réalisés avec un sol contaminé de manière artificielle par les HAP seuls ou en mélange.

La dernière partie de cette étude portera sur l'incidence du taux de contamination sur l'efficacité de la remobilisation des HAP. Cette étude se fera avec deux horizons différents d'un même sol afin d'évaluer l'incidence du taux de carbone organique (CO) des sols sur la remobilisation.



**MATERIELS ET METHODES**



# I. Sol et HAP étudiés

## I.1. Le sol

### I.1.1. Localisation

Au cours de cette étude, nous avons utilisé un sol de la série Fleury prélevé au Québec dans le Comté de Richelieu, dont les horizons A et B ont été extraits. Par définition, les horizons d'un sol sont des couches de sol horizontales et successives constituant le profil pédologique du sol et témoignant de la nature de son évolution (pédogenèse). Les horizons supérieurs, riches en matière organique, sont généralement bruns ou noirs, les horizons inférieurs étant plus clairs.

Les sols de ces horizons ont été séchés à 105 °C et tamisés (< 2 mm) suivant la norme AFNOR X 31-101 (AFNOR, Qualité des sols, 1994) puis homogénéisés et ont été conservés à l'abri de la lumière. Afin de mieux appréhender les divers phénomènes observés au cours des expériences, il est important et nécessaire de caractériser les sols.

### I.1.2. Caractérisation physico-chimique du sol

La caractérisation physico-chimique des sols a été réalisée à partir des techniques normalisées AFNOR (1994) sur les différents horizons. La granulométrie et la détermination des cations échangeables ont été réalisées par la Chambre d'Agriculture Départementale de la Haute-Vienne (Laboratoire d'analyse des sols).

#### *I.1.2.1. Analyse granulométrique*

La granulométrie est déterminée suivant la norme AFNOR X 31-107 (AFNOR, Qualité des sols, 1994) et permet de déterminer l'importance pondérale des particules minérales en différenciant les argiles (< 2 µm), des limons (2<d<50µm) et des sables (50<d<2000µm).

Les méthodes les plus fréquemment utilisées (car plus simples et plus fiables) reposent sur la loi de Stokes (Baize, 1990). Après agitation "homogénéisante" d'un échantillon de sol de masse connue (10 g) dans une allonge pleine d'eau, la sédimentation s'effectue sous la seule action de la gravité. Un prélèvement à la pipette des particules de grosseur "x" est effectué à une profondeur "p", au bout d'un temps "t". Après évaporation de l'eau de l'aliquote, le poids des particules inférieures au seuil de grosseur "x" est déterminé par pesée. La détermination de la fraction particulaire inférieure à 20 µm se fait d'abord, puis est suivie de celle des argiles, dont le diamètre est inférieur à 2 µm.

Une analyse granulométrique est considérée comme valable lorsque la somme des fractions constitutives du sol est comprise entre 95 et 101 % (sable grossier (SG) + sable fin (SF) + limon grossier (LG) + limon fin (LF) + argile (A) + matière organique (MO)). Pour le

sol étudié, les pourcentages obtenus pour les horizons A et B sont respectivement de 100,1 % et de 101 %.

#### *I.1.2.2. Détermination du $pH_{eau}$ et $pH_{KCl}$*

Les pH des solutions de sol ou des lixiviats sont mesurés par un pH-mètre CRISON (Micro pH 2000).

##### *I.1.2.2.1. Mesure du pH en solution aqueuse*

Le  $pH_{eau}$  est déterminé selon la norme AFNOR X 31-103 (AFNOR, Qualité des sols, 1994) par la mesure du pH d'une suspension de sol dans l'eau (rapport masse/volume = 2/5) après 1 heure d'agitation puis décantation.

Le  $pH_{eau}$  ne constitue cependant pas un paramètre décrivant le mieux les échanges d'ions à l'interface liquide-solide. En effet, l'équilibre dans l'eau ( $pH_{eau}$ ) ne rend pas compte de la totalité des ions acides (protons et ions alumineux) fixés sur le complexe argilo-humique qui est notamment responsable de la capacité d'échange du sol. Cependant, ces ions acides fixés constituant l'acidité potentielle effective, ou l'acidité d'échange au pH du sol, peuvent être déplacés avec un ion tel que  $K^+$  d'une solution non tamponnée de KCl normal. C'est pourquoi le  $pH_{KCl}$  est mesuré.

##### *I.1.2.2.2. Mesure du pH en solution de chlorure de potassium*

Le  $pH_{KCl}$  est déterminé selon la norme AFNOR X 31-104 (AFNOR, Qualité des sols, 1994) par la mesure du pH d'une suspension de sol dans une solution de KCl à  $1 \text{ mol.L}^{-1}$  (rapport masse/volume = 2/5) après 1 heure d'agitation puis décantation.

#### *I.1.2.3. Détermination de la teneur en carbone organique*

Le carbone organique est dosé suivant la norme AFNOR X 31-109 (AFNOR, Qualité des sols, 1994). Le sol à analyser est broyé de telle sorte que tout l'échantillon passe à travers un tamis de  $315 \mu\text{m}$ . La prise d'essais pour la détermination du carbone organique varie selon la teneur présumée en carbone.

Le principe du dosage repose sur l'oxydation du carbone de la matière organique par le bichromate de potassium en excès, en milieu sulfurique et à  $135^\circ\text{C}$ . L'excès de bichromate non réduit est dosé par une solution de sel de Mohr ( $\text{Fe}^{2+}$ ).

Ce taux en carbone organique permet d'estimer le taux de matière organique en multipliant le résultat obtenu par 2 (Baize, 1990), mais ces coefficients multiplicateurs ne sont pas parfaitement adaptés à toutes les matières organiques, notamment forestières.

Le Carbone Total (CT) des horizons a été déterminé par un analyseur CS (Eltra, CS-2000).



### I.1.3. Caractérisation du complexe absorbant

#### I.1.3.1. Détermination des cations échangeables (S)

Cette méthode permet de déterminer la quantité de cations ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$ ) extractibles d'un sol par l'acétate d'ammonium molaire à pH 7 selon la norme AFNOR X 31-108 (AFNOR, Qualité des sols, 1994).

L'extraction est réalisée sur 5 g de sol traités par 100 mL de  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  ( $1 \text{ mol.L}^{-1}$ ), sous agitation et pendant 1 heure. Après centrifugation, le surnageant est filtré (membrane de porosité  $0,45 \mu\text{m}$ ) puis est analysé par spectrométrie d'absorption atomique pour déterminer les teneurs en ions.

#### I.1.3.2. Détermination de la Capacité d'Echange Cationique ou CEC

Par définition, la capacité d'échange cationique d'un sol est la quantité totale de cations que celui-ci peut retenir sur son complexe adsorbant, à un pH donné. La CEC est déterminée selon la norme AFNOR X 31-130 (AFNOR, Qualité des sols, 1994) par la méthode à l'oxalate d'ammonium : les cations échangeables du sol sont déplacés par la solution d'oxalate d'ammonium jusqu'à ce que les ions  $\text{NH}_4^+$  saturant le sol. Ces derniers sont analysés par chromatographie ionique (DX-120, Dionex). La totalité des ions adsorbés en méq/100 g de sol représente la CEC.

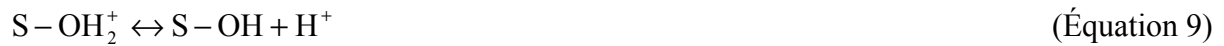
Il faut noter que la CEC ne permet d'obtenir qu'un ordre de grandeur du nombre de sites de surface du sol, car elle varie avec le pH, avec la nature du cation saturant et avec les conditions opératoires.

De plus, elle ne permet pas de faire la distinction entre les cations liés avec un ou plusieurs sites de surface.

#### I.1.3.3. Détermination de la charge de surface et du $\text{pH}_{zpc}$

Les propriétés acido-basiques de surface des deux horizons ont été déterminées par titrage potentiométrique selon le protocole de Sigg et Stumm (1981) ; les titrages ont été réalisés à l'aide d'acide nitrique  $\text{HNO}_3$  et d'hydroxyde de sodium  $\text{NaOH}$  ( $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$ ) dans une solution d'électrolyte  $\text{NaNO}_3$  ( $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$ ) pour fixer la force ionique. La prise d'essais est de 1 g de sol sec, les dosages sont réalisés à l'aide de burettes graduées et les mesures de pH sont effectuées avec une électrode de verre combinée ( $\text{Ag/AgCl/KCl}$   $3 \text{ mol.L}^{-1}$ ) Micro pH 2000.

Les constantes d'acidité de surface ont été déterminées selon le modèle de complexation de Stumm (1992). Ce modèle est basé sur le modèle de double couche de Gouy-Chapman ; il montre que la charge électrostatique de surface résulte de réactions acido-basiques de surfaces. Ces réactions sont décrites uniquement par les équations de masse, basées sur les réactions des groupements hydroxyles de surface, déterminées par analogie avec les composés amphotères :



dont la constante d'acidité est  $K_{a1}^s = \frac{[H^+][S - OH]}{[S - OH_2^+]}$  (Équation 10)



et la constante d'acidité est  $K_{a2}^s = \frac{[H^+][S - O^-]}{[S - OH]}$  (Équation 12)

Le nombre total de sites de surface est  $S_{tot}$  et est égal à :

$$[S]_{tot} = [S - OH_2^+] + [S - OH] + [S - O^-] \quad (\text{Équation 13})$$

Il est alors possible de déterminer le  $pH_{zpc}$  pour lequel la charge du solide est globalement nulle :

$$\text{Avec } pH_{zpc} = \frac{1}{2}(pK_{a1}^s + pK_{a2}^s) \quad (\text{Équation 14})$$

Pour chaque point de titrage acido-basique, on obtient la charge de surface  $Q$  :

$$Q = \frac{C_a - C_b + [OH^-] - [H^+]}{m} \quad (\text{Équation 15})$$

avec  $Q$  : charge de surface en  $mol.g^{-1}$ ,  
 $C_a$  : quantité d'acide ajoutée en  $mol.L^{-1}$ ,  
 $C_b$  : quantité de base ajoutée en  $mol.L^{-1}$ ,  
 $m$  : prise d'essai en  $g.L^{-1}$ .

## I.2. HAP étudiés

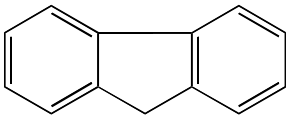
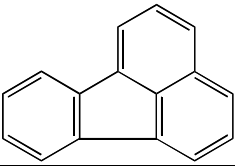
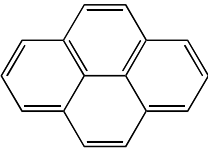
Pour réaliser cette étude, nous avons choisi 3 HAP "modèles" fréquemment retrouvés dans l'environnement et en particulier dans les sols contaminés (Wilcke, 2000 ; Motelay-Massei *et al.*, 2004). Ces substances sont le fluorène, le fluoranthène et le pyrène.

Les propriétés physico-chimiques des molécules étudiées ainsi que leur principales caractéristiques ont été répertoriées dans le Tableau 14.

Les HAP choisis diffèrent principalement par leur solubilité aqueuse et leur hydrophobicité. Le fluorène est le HAP le plus soluble de l'étude et le moins hydrophobe. Le

pyrène et le fluoranthène ont une hydrophobicité voisine ; la solubilité du pyrène est égale à la moitié de celle du fluoranthène.

Tableau 14 : Propriétés physico-chimiques des HAP étudiés

	Fluorène	Fluoranthène	Pyrène
Formule semi développée			
Formule brute	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub>	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub>	C <sub>16</sub> H <sub>10</sub>
Forme à l'état pur	poudre blanche	solide cristallisé sous forme d'aiguilles jaune pâle à température ambiante.	poudre cristallisée sans couleur à température ambiante, mais la présence de tétracène, contaminant usuel, lui donne une couleur jaune.
Masse molaire (g.mol <sup>-1</sup> )	166,22	202,26	202,26
Point de fusion (°C)	116	108-111	156
Point d'ébullition (°C)	295	375-384	404
Pression de vapeur (Pa à 25 °C)	0,715	8,72 10 <sup>-3</sup>	0,0119
Constante de Henry (Pa.m <sup>3</sup> .mol <sup>-1</sup> )	9,2	1,5.10 <sup>-6</sup>	1,9.10 <sup>-3</sup>
Solubilité aqueuse (mg.L <sup>-1</sup> à 25°C)	1,89	0,26	0,135
Coefficient de partage octanol/eau (log K <sub>ow</sub> )	4,18	5,2	5,18

## II. Production et caractérisation du biotensioactif

Les propriétés d'un tensioactif dépendent fortement de ses conditions de production et de ses caractéristiques moléculaires. Nous allons donc caractériser le biotensioactif utilisé pour réaliser cette étude.

### II.1. Production du tensioactif

Le biotensioactif a été produit par une souche de *Pseudomonas aeruginosa* 57SJ isolée par Déziel *et al.* (1999). Cette souche provient d'un sol sableux contaminé par des déchets pétroliers. Ce biotensioactif de type anionique appartient au groupe des glycolipides et a été produit par l'équipe du Professeur Villemur (INRS-Institut-Armand-Frappier, Université du

Québec, Canada). Suite à une collaboration avec l'INRS-Eau-Terre-Environnement, ou INRS-ETE (Québec), cette production a été faite pour le compte du Professeur Lafrance. Cette production a été réalisée sur un substrat dont la source unique de carbone était le glycérol. Le biotensioactif a été purifié par trois cycles consécutifs de précipitation acide à pH 2 (HCl) et solubilisation à pH 7 (NaOH). Enfin, il a été lyophilisé pour assurer sa conservation. Le terme de "57SJ" sera utilisé tout au long de cette étude pour désigner le mélange de rhamnolipides obtenu à partir de cette souche.

## II.2. Nature du mélange

La revue bibliographique a montré que les tensioactifs biologiques étaient constitués d'un mélange de plusieurs congénères. Une des techniques simples pour séparer les principales molécules est d'utiliser la chromatographie sur couche mince (CCM). Cette CCM a été effectuée sur des feuilles d'aluminium, Merck, gel de silice 60 F<sub>254</sub> (épaisseur de couche 0,2 mm).

Une solution de biotensioactif à 10 g.L<sup>-1</sup> est réalisée dans du méthanol et est concentrée 10 fois par bullage sous azote. Une goutte de la solution est déposée en bas de la plaque de silice. Cette dernière est déposée dans une cuve contenant le mélange des trois solvants, en évitant que le solvant soit en contact direct avec l'échantillon. La phase mobile fournissant la meilleure séparation des molécules est un mélange d'acétate d'éthyle, d'isopropanol et d'Eau Ultra-Pure (EUP) dans les proportions respectives 12/2/1. Lorsque le front de solvant a parcouru la quasi-totalité de la plaque, elle est retirée du récipient et séchée. Les constituants du mélange sont révélés sous atmosphère d'iode, ce qui permet de révéler les chaînes lipidiques des molécules (Para *et al.*, 1989).

## II.3. Détermination du pourcentage de rhamnose

Le biotensioactif est constitué d'un mélange de plusieurs molécules de rhamnolipides. Par conséquent la détermination de la concentration en rhamnose dans la solution nous permettra de suivre la concentration en tensioactif lors des différentes expériences. Pour cela, nous avons réalisé une droite d'étalonnage (Figure 14), élaborée à partir de L(+)-Rhamnose (Merck), qui relie la masse de rhamnose en solution avec leur absorbance. Le protocole utilisé est le même que celui explicité dans le paragraphe "Méthodes analytiques" (Paragraphe IV.2)

Afin de déterminer le pourcentage de rhamnose du biotensioactif, nous avons réalisé une solution à 50 mg.L<sup>-1</sup> en tensioactif, préparée comme explicité dans le paragraphe III.2. Des aliquotes de 1 mL ont été utilisés pour effectuer le dosage. La masse de rhamnose contenue dans la solution de 57SJ a été obtenue en reportant les valeurs d'absorbances sur la courbe d'étalonnage du L(+)-rhamnose. Connaissant la masse de 57SJ incorporée au départ dans la solution tensioactive, le pourcentage (m/m) de rhamnose du tensioactif a été calculé.

## II.4. Détermination de la masse molaire apparente et du pKa apparent

La masse molaire apparente correspond à la masse molaire du mélange de rhamnolipides pris dans son ensemble, sans faire de distinction entre les différents composés.

Le produit étant partiellement purifié, la présence d'impuretés peut entraîner une légère surestimation lors de la détermination de la masse molaire apparente.

La masse molaire est évaluée par un dosage acido-basique de la fonction acide carboxylique des rhamnolipides. Une solution de tensioactif à  $1\text{g.L}^{-1}$  est préparée puis filtrée sur membrane Whatman de porosité  $0,45\ \mu\text{m}$  en nitrate de cellulose. Juste avant le dosage, le pH du filtrat est ajusté à 11.

Le dosage par HCl ( $2.10^{-2}\ \text{mol.L}^{-1}$ ) est réalisé sous atmosphère d'azote grâce à un titrateur automatique de type Metrohm 716 DMS Titrino, utilisé en mode DET (Dynamic Equivalent point Titration). Les paramètres utilisés ont été choisis comme suit : densité de points égale à 2, dérive du signal de  $5\ \text{mV.min}^{-1}$  et une température de dosage de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  (utilisation d'un bain thermostaté). Une électrode de verre combinée (Ag / AgCl / KCl  $3\ \text{mol.L}^{-1}$ ) Metrohm a été utilisée pour suivre les valeurs de pH.

Le dosage permet d'obtenir le point d'équivalence correspondant au titrage de la fonction carboxylique et donc le nombre de moles de biotensioactif en solution. Ce nombre de moles rapporté à la quantité de tensioactif introduit permet de calculer la masse molaire du tensioactif. Trois dosages ont été réalisés et la masse molaire a été calculée en faisant une moyenne des trois valeurs.

La valeur du pKa apparent est déterminée par lecture graphique du pH à la demi-équivalence ; ce pKa est représentatif du mélange de rhamnolipides étudié.

## II.5. Détermination de la Concentration Micellaire Critique (CMC) dans l'EUP par tensiométrie

La tension de surface est la mesure de l'énergie de cohésion présente à une interface. Les molécules d'un liquide s'attirent l'une l'autre et interagissent entre elles. Ces interactions entre molécules du liquide s'équilibrent avec des forces attractives dirigées dans toutes les directions. Ainsi, à l'interface liquide/air, il y a un déficit de force qui entraîne la présence d'énergie libre. Cet excès d'énergie est appelé énergie libre de surface et peut être quantifié par la mesure du rapport énergie/aire.

Les unités de mesure des tensions de surface sont le  $\text{dynes.cm}^{-1}$  ou le  $\text{mN.m}^{-1}$  ; ces unités étant équivalentes. Les mesures ont été réalisées à l'aide d'un tensiomètre Sigma 70 de KSV Instruments.

Les liquides polaires possèdent des tensions de surface élevées car ils présentent de très fortes interactions intermoléculaires. Tout facteur réduisant ces interactions, par exemple une augmentation de la température, diminuera la tension de surface. L'utilisation de tensioactifs permet également de diminuer les tensions.

Les mesures ont été effectuées avec un anneau de DuNouy. Cette méthode (Figure 8) est basée sur l'interaction d'un anneau de platine avec la solution à tester. En début d'expérience (étape 1), l'anneau est au-dessus de la surface du liquide (une hauteur de 6 mm a été utilisée). Ensuite, il est descendu lentement jusqu'à affleurer la surface du liquide (étape 2)

puis l'anneau pénètre la surface du liquide (étape 3), créant ainsi une force négative et descend jusqu'à 5 mm en dessous de la surface de la solution (étape 4). Enfin, l'anneau remonte et la force exercée commence à augmenter (étapes 5 et 6) jusqu'à un maximum (étapes 7 et 8). Lorsque ce maximum est atteint, il y a une légère diminution de la force jusqu'à la rupture du ménisque.

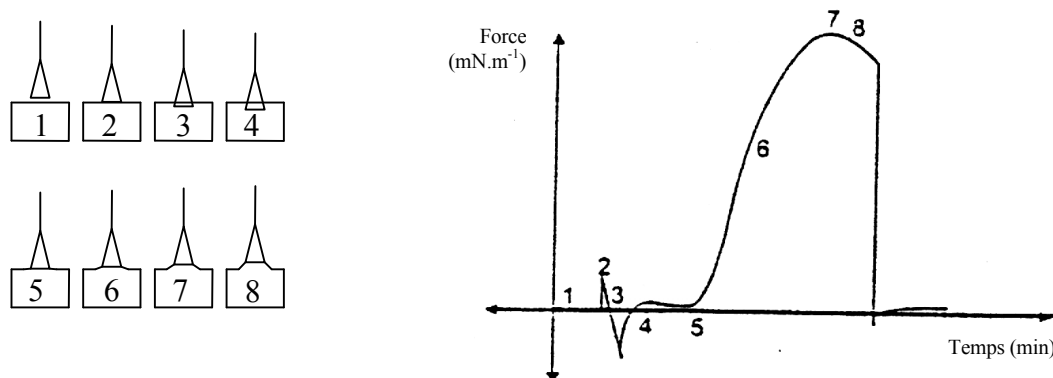


Figure 8 : Détermination de la tension de surface suivant la méthode de DuNouy

Comme la méthode utilisée est très sensible, il est nécessaire de nettoyer le matériel avec précaution : les béchers utilisés sont immergés une nuit dans de l'acide sulfochromique et l'anneau est passé à la flamme bleue avant chaque série de mesures.

D'un point de vue expérimental, une solution mère à  $1 \text{ g.L}^{-1}$  a été préparée suivant le protocole décrit au paragraphe III.2. Cette solution est conservée à  $4 \text{ °C}$  pendant au maximum 4 jours. Les solutions filles sont obtenues par dilutions successives et leur pH est ajusté à 7 juste avant utilisation. Ces solutions sont préparées tous les jours et sont utilisées dans la journée. La technique utilisée est influencée par les variations de températures. Nous avons donc vérifié que celle-ci n'évoluait pas au cours de la mesure ( $23,0 \text{ °C} \pm 0,3$ ).

La détermination de la CMC est obtenue en traçant graphiquement la courbe représentant le logarithme de la tension de surface en fonction de la concentration en tensioactif. La courbe obtenue présente une pente décroissante jusqu'à la CMC puis devient constante par la suite.

### III. Protocoles expérimentaux

#### III.1. Contamination du sol

Dans le présent travail, les études en systèmes statique et dynamique ont le plus souvent été réalisées avec un taux de contamination de  $50 \text{ } \mu\text{g}$  de HAP individuel. $\text{g}^{-1}$  de sol sec. Ce taux se situe entre les critères B qui constitue le seuil de contamination pour lequel des analyses approfondies sont nécessaires ( $10 \text{ } \mu\text{g.g}^{-1}$  de sol pour les trois HAP étudiés), et C

(100  $\mu\text{g.g}^{-1}$ ), seuil à partir duquel des mesures de décontamination doivent être mises en oeuvre (Gouvernement du Québec, 1988).

La procédure de contamination est celle décrite par Roy *et al.* (1994). Une solution mère de HAP (seul ou en mélange) à 1  $\text{g.L}^{-1}$  est préparée dans de l'éthanol anhydre (ACROS). La solution obtenue est diluée puis mélangée avec le sol avec un rapport sol/solution égal à 2 (m/v) pendant 60 minutes. Ensuite, le solvant est évaporé sous hotte pendant 3 heures, à  $20 \pm 2$  °C et le sol est régulièrement homogénéisé au cours du séchage. Les expériences de mobilisation sont réalisées 12 heures après la fin du séchage pour éviter un biais lié à l'âge de la contamination par les HAP. En effet, plusieurs auteurs (Hatzinger et Alexander, 1995 ; Namhyun et Alexander, 1998 ; Hwang et Cutright, 2002) ont montré une augmentation de l'adsorption avec le temps de contact entre les HAP et les sols.

### III.2. Préparation des solutions tensioactives

Toutes les expériences sont réalisées à température ambiante ( $20 \pm 2$  °C). Les solutions tensioactives sont préparées par mise en solution d'une masse de solide donnée dans de l'Eau Ultra-Pure (EUP). Cette EUP produite par le système Millipore "Milli-Q plus", à partir d'eau osmosée, présente une résistivité de 18,2  $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$  et un pH de  $5,5 \pm 0,1$  et une concentration en carbone organique inférieure à 10 ppb.

Du fait de son caractère anionique, le biotensioactif libère des ions  $\text{H}^+$  en solution provoquant une diminution de pH, c'est pourquoi le pH est ajusté à 7 par ajout de NaOH 0,5 et/ou 0,1  $\text{mol.L}^{-1}$ . Après mise en solution sous agitation du tensioactif pendant 24 h à 4°C (pour minimiser le risque de croissance de micro-organismes), les solutions ont été filtrées sur membrane en fibre de verre GF/D Whatman de porosité 2,7  $\mu\text{m}$ , puis sur membrane en nitrate de cellulose Whatman de porosité 0,45  $\mu\text{m}$  pour éliminer d'éventuelles particules insolubles, qui représentent moins de 0,5 % (m/m). Durant l'étape de filtration, seule une perte négligeable de biotensioactif a été notée.

Les solutions préparées sont utilisées tout de suite après leur préparation, afin de conserver leurs propriétés.

### III.3. Système statique : études en réacteurs discontinus

#### III.3.1. Sorption du biotensioactif

La littérature révèle que l'efficacité d'un tensioactif peut-être diminuée s'il se sorbe au sol. Nous avons fait le choix pour cette étude de travailler avec un biotensioactif anionique qui se sorbe moins au sol en comparaison à des tensioactifs cationiques ou non-ioniques (West et Harwell, 1992).

Les expériences de sorption sont réalisées sur les deux horizons du sol dans des flacons bruns de 60 mL. Une étude cinétique préliminaire a été réalisée afin de déterminer le temps nécessaire à l'obtention d'un pseudo-équilibre d'adsorption. Le pseudo-équilibre est atteint après 15 heures ; ainsi, un temps de 24 heures a été choisi pour effectuer les

isothermes. La concentration en biotensioactif choisie est de  $0,15 \text{ g.L}^{-1}$ . En effet, des essais préliminaires à une concentration de  $2,5 \text{ g.L}^{-1}$  ne nous ont pas permis d'observer une quelconque sorption. C'est pourquoi nous nous sommes placés à la CMC du biotensioactif, déterminée par tensiométrie.

La fraction de tensioactif fixé au sol est obtenue par le calcul suivant :

$$\% \text{ adsorbé} = \frac{C_0 - C_r}{C_0} \times 100 = \frac{C_{ad}}{C_0} \times 100 \quad (\text{Équation 16})$$

avec  $C_0$  : concentration initiale en biotensioactif ( $\text{mg.L}^{-1}$ ),  
 $C_r$  : concentration résiduelle en biotensioactif ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) au temps  $t$ ,  
 $C_{ad}$  : concentration adsorbée au temps  $t$  ( $\text{mg.g}^{-1}$ ).

La tracé de l'évolution de la concentration adsorbée en fonction du temps ( $C_{ad} = f(t)$ ) permet d'obtenir la vitesse d'adsorption apparente grâce à l'équation suivante :

$$v_i = \frac{C_{ad(t_2)} - C_{ad(t_1)}}{t_2 - t_1}, \text{ si } t_2 > t_1 \quad (\text{Équation 17})$$

Avec  $C_{ad(i)}$  correspondant à la concentration adsorbée au temps  $t_i$ ,  $v_i$  est exprimée en  $\text{mg.L}^{-1}.\text{temps}^{-1}$ .

Les isothermes, comme la cinétique, sont réalisées en mettant en contact 1 g de sol et 20 mL de la solution de biotensioactif à température constante ( $20 \text{ }^\circ\text{C}$ ). Les concentrations en biotensioactif varient de  $0,1$  à  $2,5 \text{ g.L}^{-1}$  et il a été vérifié qu'aucune perte de tensioactif ne se produisait au cours des expériences.

### III.3.2. Modélisation mathématique des isothermes de sorption

Afin de caractériser l'adsorption du tensioactif, des représentations mathématiques de type Langmuir ou Freundlich ont été utilisées. En effet, plusieurs auteurs (Edwards *et al.*, 1994 et Adeel et Luthy, 1995) utilisent ce type de modèle pour décrire la sorption des molécules tensioactives.

#### III.3.2.1. Isotherme de type Langmuir

Ce modèle est basé sur les hypothèses suivantes :

- ✓ L'adsorption est localisée et n'autorise pas la fixation d'autres solutés sur un site déjà occupé.
- ✓ L'adsorption est en monocouche.
- ✓ L'énergie d'adsorption de tous les sites est identique et indépendante de la présence de particules adsorbées sur les sites voisins (surface homogène et pas d'interaction entre molécules adsorbées).



Ce modèle s'applique lors de l'adsorption monomoléculaire du soluté à la surface de l'adsorbat à l'équilibre.

Si  $q$  est la capacité d'adsorption par unité de masse de sol ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ), et  $q_m$  la capacité maximale d'adsorption ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ), la relation s'écrit :

$$q = \frac{q_m K_L C_r}{1 + K_L C_r} \quad (\text{Équation 18})$$

La linéarisation de la fonction par passage aux inverses donne :

$$\frac{1}{q} = \frac{1}{q_m K_L} \frac{1}{C_r} + \frac{1}{q_m} \quad (\text{Équation 19})$$

L'équation obtenue est celle d'une droite de pente  $1/(q_m K_L)$  et d'ordonnée à l'origine  $1/q_m$ . Cette équation permet d'obtenir les deux paramètres d'équilibre  $q_m$  et  $K_L$  qui sont respectivement la capacité maximale d'adsorption du sol par unité de masse de sol et la constante de Langmuir.

### III.3.2.2. Isotherme de type Freundlich

Ce type d'isotherme peut être utilisé pour décrire l'adsorption sur les sols dans la mesure où les concentrations testées restent faibles (Calvet, 1980).

Elle se présente sous la forme suivante :

$$q = K_F C_r^{1/n} \quad (\text{Équation 20})$$

Où  $q$  est la capacité d'adsorption par unité de masse de sol ( $\text{mg.kg}^{-1}$ )

$K_F$  et  $1/n$  sont les constantes de Freundlich caractéristiques de l'affinité du sol vis-à-vis d'un soluté donné.

Par linéarisation de l'Équation 20, on obtient :

$$\log q = \log K_F + \frac{1}{n} \log C_r \quad (\text{Équation 21})$$

Il s'agit d'une droite de pente  $1/n$  et d'ordonnée à l'origine  $\log(K_F)$ . On peut distinguer différents types d'isothermes suivant les valeurs prises par  $1/n$ . La forme de l'isotherme d'adsorption est une caractéristique importante car elle fournit des informations quant au mécanisme d'adsorption mis en jeu (Calvet, 1980). La revue bibliographique reporte principalement deux formes d'isothermes pour l'adsorption des biotensioactifs : une forme S et une forme C ; ce sont donc les deux seules formes que nous développerons ici.

- ✓ L'isotherme concave de type S ( $1/n > 1$ ). L'adsorption devient plus facile à mesure que la concentration du soluté en phase liquide augmente.
- ✓ L'isotherme linéaire type C ( $1/n = 1$ ). Cette isotherme correspond à un partage constant du soluté entre l'eau et le sol, pour toute la gamme de concentration étudiée. Pour ce type d'isothermes,  $K_F = K_d$ . Des valeurs de  $K_d$  élevées signifient que le composé

présente une plus grande affinité pour le matériau adsorbant que pour l'eau, ce qui est le cas des composés hydrophobes.

### III.3.3. Cinétiques de désorption des HAP

Les expériences sont réalisées dans des flacons de 60 mL en verre brun munis d'un septum en téflon recouvert de papier aluminium pour éviter tout risque de sorption des HAP. Dans chaque flacon, 20 mL de solution de biotensioactif de concentration égale à 2,5 g.L<sup>-1</sup> sont ajoutés à 1 g de sol contaminé par 50 µg de HAP.g<sup>-1</sup> de sol. Les flacons sont placés sur une table oscillante (Ika Labortechnik KS 250 basic) avec une vitesse d'agitation constante (400 tr.min<sup>-1</sup>).

La désorption des HAP est mesurée en fonction du temps. Des échantillons sont prélevés à intervalles définis, puis analysés ; les durées d'agitation variant de 5 minutes à 144 heures. La cinétique de désorption est achevée lorsque pour un temps suffisamment long, on n'observe plus de variations de la concentration des filtrats, c'est à dire lorsque un pseudo-équilibre est atteint. Ce temps sera retenu pour réaliser les isothermes.

Au temps de prélèvement "t", le contenu total du flacon est centrifugé à 3000 g pendant 10 minutes, puis le surnageant est filtré sur un filtre seringue en PTFE (Minisart SRP 15, Sartorius) de porosité 0,45 µm.

L'étape de filtration nécessite une attention toute particulière. En effet, les HAP, contaminants fortement hydrophobes, ont la propriété de se fixer sur les matériaux. Un test préliminaire a permis de vérifier que moins de 0,5 % des HAP se perdait par sorption lorsque des filtres en PTFE préalablement saturés par 2 mL de solution étaient utilisés. Le filtrat est ensuite analysé par CLHP pour connaître la concentration des HAP en solution.

### III.3.4. Rapport Molaire de Solubilisation (RMS)

Les expériences du RMS sont réalisées sans sol. Une solution mère de HAP (seul ou en mélange) est réalisée dans du méthanol (qualité CLHP, Fischer). Dans des flacons de 60 mL en verre brun, une quantité suffisante de solution est injectée à l'aide d'une micro-seringue afin que la concentration en HAP dans le flacon soit égale à 500 fois sa solubilité dans l'eau pure. Les flacons sont placés sous hotte pendant 12 heures pour que le solvant s'évapore, permettant ainsi une recristallisation des HAP. Ensuite, 10 mL de solution tensioactive sont introduits dans les flacons et le mélange est soumis à une agitation constante à 400 tr.min<sup>-1</sup> pendant 24 heures, à température constante (25 ± 2°C). Enfin, le mélange est filtré sur membrane 0,45 µm en PTFE. Avant chaque filtration, une vérification de la présence visuelle de cristaux de HAP est effectuée pour s'assurer de l'excès de HAP. Les concentrations en biotensioactif varient de 0,1 à 2,5 g.L<sup>-1</sup>. Le pH de chaque solution est ajusté à 7. Les expériences sont réalisées en duplicata, les résultats présentés sont la moyenne des deux expériences.

### III.3.5. Taux de contamination

Afin de voir l'incidence du taux de contamination sur la remobilisation des HAP, nous avons fait varier le taux de contamination des sols de  $4,94 \cdot 10^{-2}$  à  $9,88 \mu\text{mol de HAP.g}^{-1}$  de sol sec, soit de 10 à  $2000 \mu\text{g.g}^{-1}$  de sol sec pour le fluoranthène et le pyrène, et de 8,2 à  $1642 \mu\text{g.g}^{-1}$  de sol sec pour le fluorène. Le premier taux constitue la valeur limite inférieure du critère B québécois et le second taux représente une limite raisonnable expérimentale (mise en solution des HAP) et une valeur fréquemment retrouvée dans des sols réellement contaminés. Pour réaliser ces expériences de désorption, 20 mL de solution tensioactive à  $2,5 \text{ g.L}^{-1}$  ont été mis en contact avec 1 g de sol contaminé.

Les solutions de sol sont placées pendant 24 heures sur une table oscillante ( $400 \text{ tr.min}^{-1}$ ) à température ambiante, puis sont centrifugées et filtrées avant analyse comme décrit précédemment.

### III.4. Système dynamique : études en colonnes de sol

L'étude de la désorption est complétée par des essais de remobilisation de HAP dans des colonnes de sol contaminé à travers lesquelles percolent les solutions de biotensioactif. Les essais sont réalisés avec les horizons A et B. Cependant, les résultats des expériences menées avec l'horizon B n'ont pu être exploités du fait d'un colmatage systématique des colonnes. Le colmatage est attribuable à la dispersion des fines particules de sol, telles que l'argile, par le biotensioactif : ceci conduit à un transport et à une accumulation de fines particules vers la sortie de la colonne, bloquant ainsi l'écoulement lors de l'essai. De ce fait, seuls les résultats obtenus avec l'horizon A seront présentés.

Les résultats qui seront donnés dans la partie "Résultats et discussion" de ce mémoire seront issus d'une moyenne arithmétique obtenue à partir de deux expériences indépendantes.

#### III.4.1. Montage expérimental

Les colonnes de sol sont constituées d'un cylindre en acier inoxydable ( $\phi$  interne : 2 cm et de hauteur égale à 6,5 cm). La hauteur de la colonne est égale à plus de trois fois son diamètre afin de limiter les effets de bords. Des filtres en fibre de verre GF/D (porosité  $2,7 \mu\text{m}$ , Whatman) sont installés à chaque extrémité de la colonne et, en sortie de colonne, un filtre GF/A (porosité  $1,6 \mu\text{m}$ , Whatman) est ajouté (Figure 9). Ces filtres évitent toute perte de particules. De part et d'autre de la colonne, des grilles percées sont placées afin d'éviter de déchirer les filtres.

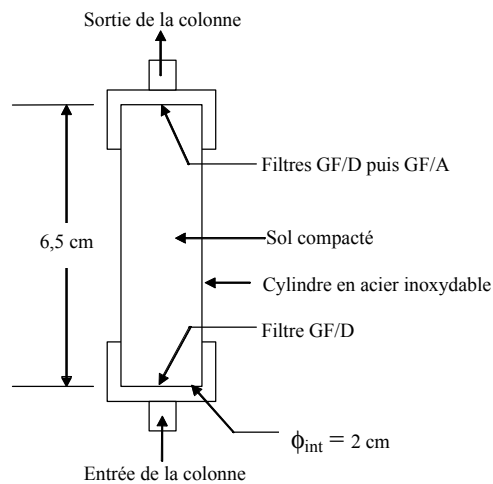


Figure 9 : Conception et dimensions d'une colonne de sol

La procédure de remplissage de la colonne est adaptée de celle utilisée par Martel et Gélinas (1996). Le sol sec contaminé est compacté par incréments de 3 mm, chaque couche est striée en surface pour éviter une stratification du sol dans la colonne. La compaction est assurée par un outil constitué d'une masse glissant un nombre de fois déterminé le long d'une tige. Cette méthode permet d'obtenir des densités reproductibles comprises entre 1,70 et 1,75 g.cm<sup>-3</sup>. Ce degré de compaction supérieur à 1,70 permet de prévenir l'écoulement préférentiel dans la colonne. L'alimentation se fait en mode ascendant à l'aide d'une pompe péristaltique (Ismatec MS-Réglo 4), comme le montre la Figure 10.

L'injection des solutions par le bas des colonnes favorise une répartition uniforme des liquides lors de leur progression à travers la matrice de sol, tandis que par injection descendante, la répartition des liquides est moins homogène du fait de l'influence de la force gravitationnelle.

Les tuyaux permettant l'alimentation en solution tensioactive de la colonne sont en PVC et sont raccordés à un tuyau inox en entrée de colonne. Du fait du caractère hydrophobe des HAP, le tuyau placé en sortie de colonne est également en inox, ce qui évite toute perte des polluants par adsorption.

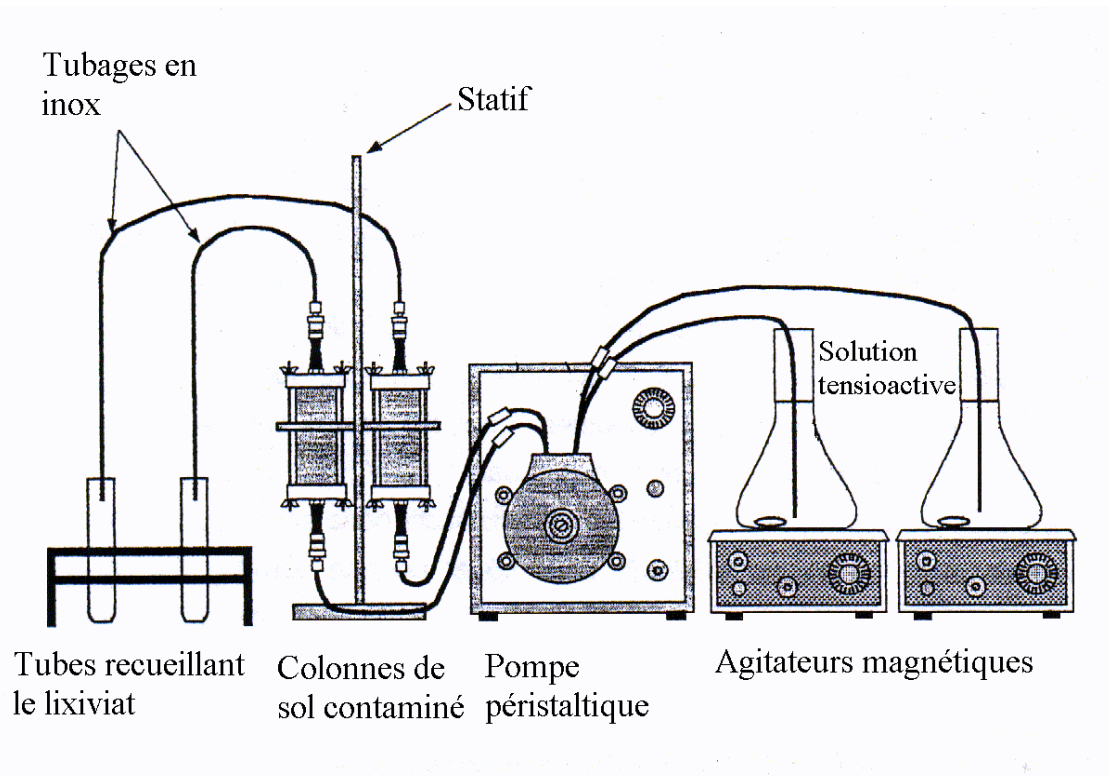


Figure 10 : Montage expérimental des expériences en colonne de sol

Le sol est d'abord saturé en eau en injectant de l'EUP dans la colonne à un débit moyen de  $0,4 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , ce qui correspond à une vitesse de pore proche de  $20 \text{ cm}\cdot\text{h}^{-1}$  ( $\pm 2\%$ ). Cette valeur est dans l'ordre de grandeur des vitesses généralement rencontrées dans les aquifères ou utilisées dans les techniques de remédiation. En effet, Pennel *et al.* (1993) reportent des vitesses variant de 6 à  $25 \text{ cm}\cdot\text{h}^{-1}$ .

La porosité du sol ( $e$ ) dans les colonnes (Équation 22) est obtenue en divisant le volume de pore dans le cylindre ( $V_p$ ) par le volume total occupé par le sol dans le cylindre ( $V_{cy}$ ).

$$e = \frac{V_p}{V_{cy}} \quad (\text{Équation 22})$$

Le volume de pore a été déterminé par différence de pesée avant et après saturation de la colonne en eau. Le  $V_p$  ainsi déterminé représente alors la totalité de la porosité du sol contenu dans la colonne.

La phase de saturation est maintenue pendant 10 volumes de pores ( $V_p$ ) et permet une stabilisation de la concentration en COD (carbone organique dissous) à l'effluent de la colonne.

La vitesse de pore ( $v$ ) des solutions injectées (eau ou solution tensioactives) dans les colonnes a été calculée à l'aide de l'Équation 23 :

$$v = \frac{Q}{e A} \quad (\text{Équation 23})$$

où  $v$  est la vitesse de pore ( $\text{cm.h}^{-1}$ )  
 $Q$  est le débit moyen ( $\text{mL.min}^{-1}$ )  
 $e$  est la porosité du sol  
 $A$  est l'aire de la section de la colonne perpendiculaire à l'écoulement ( $\text{cm}^2$ ).

Le débit,  $Q$ , est calculé à partir de la masse de lixiviat recueillie en fonction du temps. Au cours des expériences de remobilisation, des variations de débit inférieures à 2 % se sont produites.

Après l'étape de saturation à l'EUP, la solution de biotensioactif est injectée avec la même vitesse de pore. Les concentrations en biotensioactif utilisées pour les expériences de remobilisation sont égales à  $2,5 \text{ g.L}^{-1}$  (0,25 %). Cette valeur est très largement supérieure à la CMC du biotensioactif ( $0,15 \text{ g.L}^{-1}$  soit 0,015 %).

L'effluent des colonnes est recueilli par fractions de 8 à 9 mL, ce qui représente approximativement 1 volume de pore. Les fractions sont analysées pour déterminer la concentration en HAP remobilisé, la concentration en biotensioactif, le COD ainsi que le pH.

#### III.4.2. Courbes de percée du traceur non réactif et conservatif

Pour s'assurer des bonnes conditions d'écoulement dans les colonnes, un traceur non réactif a été utilisé. De plus, la comparaison des courbes de percée du traceur et du biosurfactant permettent de déterminer le facteur retard ( $R$ ) des biosurfactants dû à leur interaction avec le sol.

Du fait des conditions expérimentales, le choix d'un traceur ne modifiant pas les propriétés tensioactives du biotensioactif a été essentiel. Les sels de type NaCl ont donc été éliminés. L'eau tritiée (Chemsyn) a alors été utilisée comme traceur. L'activité spécifique de l'eau tritiée est de  $101 \mu\text{C.mL}^{-1}$ . Son suivi analytique a été réalisé grâce à un compteur à scintillation liquide (Wallac, modèle 1414 Winspectral) équipé d'une correction de quench automatique.

Les conditions d'injection de traceur sont les mêmes que celles habituellement utilisées : un débit de  $0,4 \text{ mL.min}^{-1}$ , une vitesse de pore de  $20 \text{ cm.h}^{-1}$  et une densité de  $1,7 \text{ g.cm}^{-3}$ . Nous avons respecté une étape de stabilisation des colonnes pendant  $10 V_p$  avec de l'eau ultra-pure, puis l'eau tritiée est injectée. Les lixiviats sont recueillis tous les  $0,3 V_p$  dans les phases de percée et d'élution du traceur ; un plateau est maintenu pendant  $5 V_p$ . Ensuite, l'élution du traceur est effectuée par injection d'EUP pendant  $5 V_p$ .

La symétrie et l'absence de trainée dans la courbe de fuite du traceur non réactif (résultat non présenté) suggère que la fraction immobile de l'eau dans la colonne a un effet négligeable lors du transport de la solution à travers la colonne.

## IV. Méthodes analytiques

### IV.1. Dosage des HAP

Le dosage des HAP s'effectue par CLHP (Chromatographie Liquide Haute Pression). La chaîne chromatographique est constituée d'une pompe à gradient (L-7100, Merck Hitachi), d'un injecteur automatique (L-7200, Merck) possédant une boucle d'injection de 100  $\mu\text{L}$  et d'un détecteur spectrofluorimétrique (L-7485, Merck). Les volumes d'injection sont de 40 et 50  $\mu\text{L}$ . Les données sont acquises et traitées grâce au logiciel Multi-HSM Manager (Merck). La séparation des HAP est assurée par une colonne RP-18 (Merck Lichrospher 100, 5  $\mu\text{m}$ , 254  $\times$  4 mm), à l'aide d'un mélange constitué de méthanol/EUP (90/10 en volume). L'élution est réalisée en condition isocratique avec un débit de 1  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ .

La détection par spectrofluorimétrie est largement utilisée pour détecter les HAP (Méthode 8310 de l'Agence Américaine de Protection de l'Environnement USEPA et norme AFNOR NF T 90-115). En effet, les HAP sont naturellement fluorescents. La revue bibliographique a révélé une hétérogénéité des longueurs d'onde d'excitation et d'émission utilisées, c'est pourquoi une optimisation a été nécessaire.

Des droites d'étalonnage, pour des concentrations en étalon variant de 0,05 à 5  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , sont obtenues et réalisées pour chacun des HAP. Les coefficients des droites de régression sont supérieurs à 0,99 pour chacun des produits. Les équations Surface = f(Concentration) permettent ensuite d'obtenir les concentrations inconnues des échantillons. La limite de détection déterminée pour cette étude est de 10  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  pour chaque HAP considéré.

#### IV.1.1. Cas du fluorène

Le fluorène (Aldrich, 98 %) a un temps de rétention de 6,3 minutes. Les longueurs d'ondes optima pour la détection sont une excitation à 280 nm et une émission à 330 nm (Figure 11).

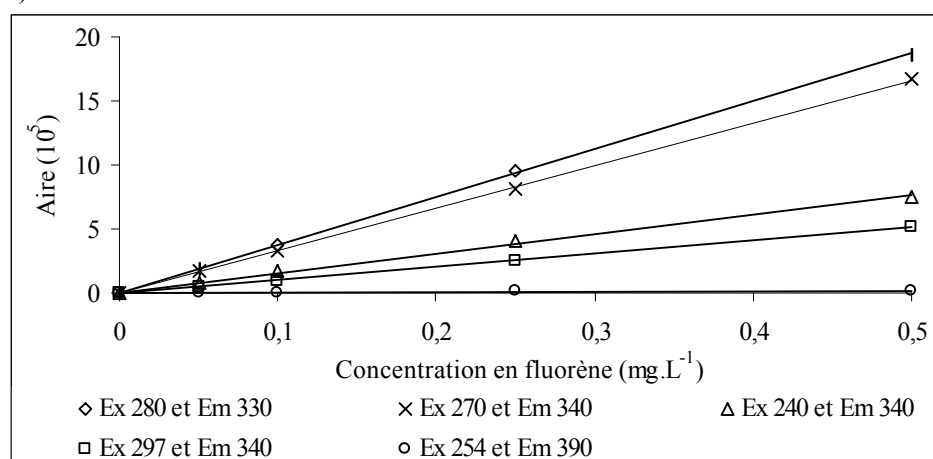


Figure 11 : Evolution de l'intensité de la réponse du fluorimètre en fonction des longueurs d'ondes d'excitation et d'émission pour le fluorène

## IV.1.2. Cas du fluoranthène

Le temps de rétention du fluoranthène (Fluka, 97 %) est de 8,5 min. Les longueurs d'ondes optima pour la détection sont une excitation à 286 nm et une émission à 460 nm (Figure 12).

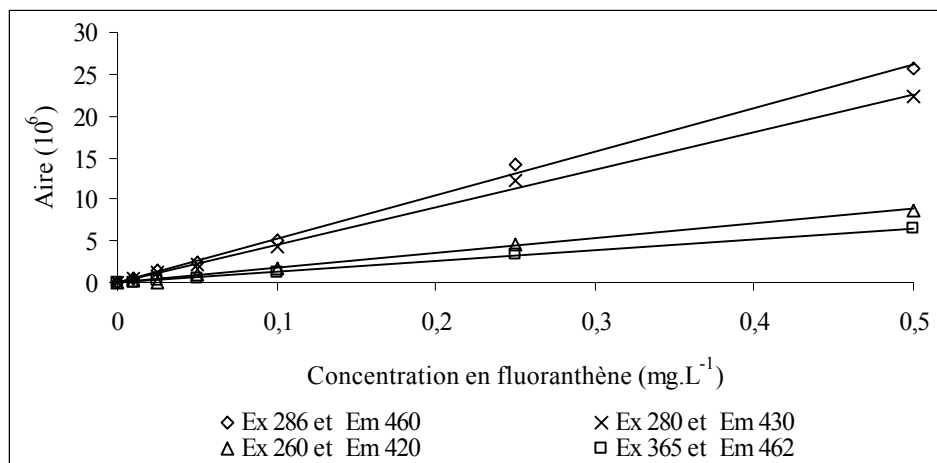


Figure 12 : Evolution de l'intensité de la réponse du fluorimètre en fonction des longueurs d'ondes d'excitation et d'émission pour le fluoranthène

## IV.1.3. Cas du pyrène

Le pyrène (Aldrich, 98 %) a un temps de rétention de 9,6 minutes. Les longueurs d'ondes optima pour la détection sont une excitation à 230 nm et une émission à 387 nm (Figure 13).

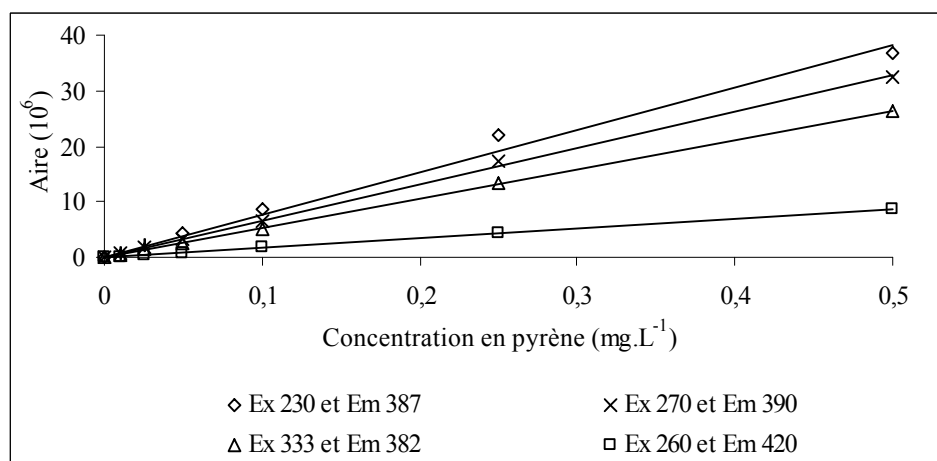


Figure 13 : Evolution de l'intensité de la réponse du fluorimètre en fonction des longueurs d'ondes d'excitation et d'émission pour le pyrène



Lorsque les HAP sont en mélange, les longueurs d'onde d'excitation et d'émission du pyrène et du fluoranthène ont été modifiées : la longueur d'onde d'excitation choisie est de 260 nm et la longueur d'onde d'émission est de 420 nm. En effet, la faible différence de leur temps de rétention ne permettait pas une stabilisation suffisante du détecteur.

## IV.2. Dosage du rhamnose

Le dosage des rhamnolipides est réalisé par l'intermédiaire de la mesure du rhamnose par spectrophotométrie UV selon la méthode décrite par Chandrasekaran et Bemiller (1980). Dans un premier temps, ce dosage sert à quantifier le pourcentage de rhamnose présent dans les biotensioactifs et permet de mesurer la concentration du biotensioactif au cours des diverses expériences.

Une droite d'étalonnage est initialement réalisée (Figure 14) grâce à une solution standard de L(+)-Rhamnose monohydraté (Merck, pureté > 99%). Les concentrations de la gamme étalon varient de 5 à 50 mg.L<sup>-1</sup>.

Des aliquotes de 0 à 1 mL d'échantillon sont introduits dans des tubes à essais, le volume étant complété à 1 mL avec de l'eau distillée. Ensuite, 5 mL d'un mélange d'acide sulfurique et d'eau (90/10 en volume) sont ajoutés et le tout est plongé pendant 10 minutes dans un bain-marie à 100°C. Après refroidissement, 100 µL d'une solution constituée d'acide thioglycolique (Fluka) à 0,03 % sont ajoutés. Après agitation, les tubes sont conservés à l'abri de la lumière pendant 3 heures. Nous avons vérifié que le complexe était stable 3 heures de plus. L'absorbance des échantillons a été finalement mesurée à une longueur d'onde de 400 nm à l'aide d'un spectrophotomètre Agilent 8453.

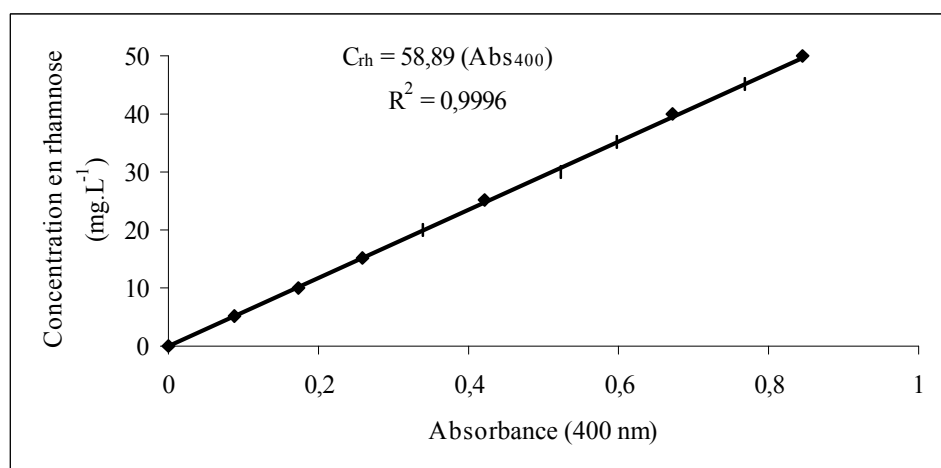


Figure 14 : Droite d'étalonnage utilisée pour le dosage du rhamnose  
 $C_{rh}$  représente la concentration en rhamnose (mg.L<sup>-1</sup>).

### IV.3. Estimation de la Matière Organique Dissoute (MOD)

La matière organique dissoute libérée par le sol au cours des différents essais a été évaluée selon deux méthodes : l'absorbance UV à 400 nm et le dosage du COD.

#### IV.3.1. Estimation par spectrophotométrie UV

Les mesures d'absorbance sont faites à l'aide d'un spectrophotomètre AGILENT, dans des cuves en quartz de trajet optique de 1 cm. Une étude préalable a été effectuée pour observer l'incidence de la filtration (membrane en acétate de cellulose de porosité 0,45 µm) sur l'absorbance UV des percolats. Du fait de la faible différence entre les absorbances des échantillons filtrés et non filtrés, les mesures effectuées pour chaque série de colonnes se feront sans filtration. Nous avons de plus vérifié qu'à 400 nm, le tensioactif n'interférerait pas sur le dosage.

Pour les expériences en système dynamique, une corrélation (Figure 15) entre le taux de carbone relargué (mesuré par COT-mètre) et l'absorbance UV à 400 nm a été déterminée. Ainsi, pour les lixiviats recueillis, l'absorbance est alors rapportée en COD par l'intermédiaire de cette droite.

L'utilisation de la spectrophotométrie UV présente deux intérêts. En effet, c'est une technique simple d'utilisation, et il n'est pas possible de doser le COD de nos échantillons : d'une part, les volumes de lixiviats sont très faibles (9 mL au maximum) et d'autre part la présence du tensioactif et des HAP dans les échantillons induirait une augmentation de la teneur en carbone si ce dernier était dosé par un analyseur de carbone.

#### IV.3.2. Dosage du COD

Ce dosage a été réalisé grâce à un analyseur de carbone organique total DOHRMANN PHOENIX 800, utilisant un système d'oxydation chimique par voie humide. L'oxydation est réalisée par une solution de persulfate de potassium en présence d'une lampe UV. Le CO<sub>2</sub> formé par oxydation de la matière organique est balayé par un courant d'azote et est mesuré par un détecteur infrarouge non dispersif. La concentration en carbone des échantillons est exprimée en mg de carbone par litre (mg C.L<sup>-1</sup>).

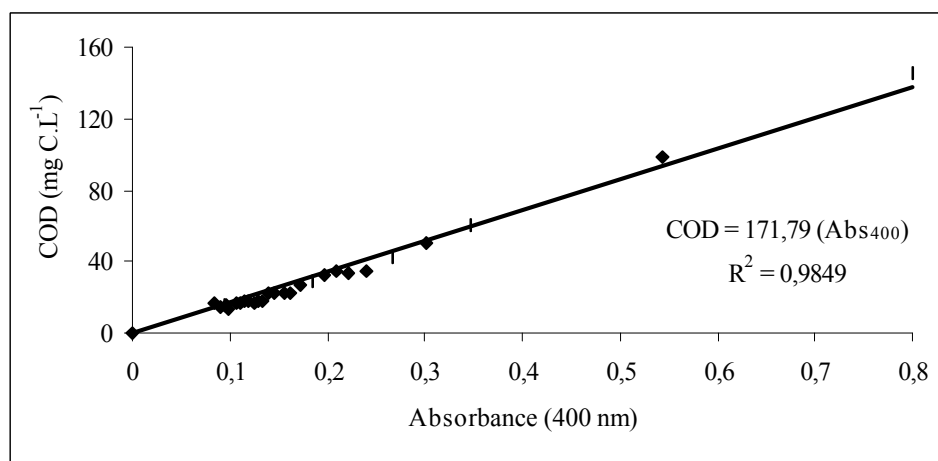


Figure 15 : Droite de corrélation entre l'absorbance UV à 400 nm et le COD

#### IV.4. Extraction chimique des HAP à partir du sol

Des extractions liquide/solide ont été réalisées avec un extracteur semi-automatique 2055 Soxtec (Foss Tecator). Le fonctionnement de cet appareil repose sur le principe du Soxhlet, mais permet de diminuer les temps d'extraction ainsi que les volumes de solvants consommés. Ces extractions, dites dures, constituent une méthode de référence, qui nous permettra d'évaluer l'efficacité du biotensioactif utilisé pour réhabiliter des sols pollués.

Des échantillons de sol (horizon B) sont séchés chimiquement avec du  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (rapport 1/1 en masse), et placés dans des cartouches d'extraction en cellulose. Avant utilisation, le sulfate de sodium anhydre a subi un séchage de 4 heures dans un four à moufle réglé à  $500\text{ }^\circ\text{C}$ , puis a été conservé dans un dessiccateur après refroidissement.

##### IV.4.1. Principe de fonctionnement

L'extraction se déroule en trois étapes. Les échantillons sont d'abord immergés dans le solvant (80 mL) porté à ébullition pendant un temps "t" (étape 1) ; les vapeurs produites étant refroidies grâce à un réfrigérant. Ensuite, l'échantillon est placé au dessus du solvant, qui reflue, et il est rincé par le solvant condensé (étape 2). Puis le solvant est évaporé (étape 3), permettant une concentration du polluant.

Les extraits sont analysés par CLHP avec les conditions opératoires décrites au paragraphe IV.1.

##### IV.4.2. Choix du solvant et optimisation des conditions opératoires

Après avoir effectué une revue bibliographique, il s'avère que les auteurs utilisent différents solvants, seuls ou en mélange. Le choix du solvant dépend des molécules à extraire mais aussi des conditions analytiques, ainsi que de la nature de la matrice polluée. Plusieurs solvants ont été testés à savoir le dichlorométhane, l'acétone, l'hexane, le méthanol et un mélange dichlorométhane/acétone (1/1). Tous les solvants utilisés sont de qualité *Pestnorm*

(Prolabo). Un test préliminaire a permis de vérifier que les HAP ne s'adsorbent pas sur les cartouches.

Il est à noter que les extractions effectuées dans l'hexane et l'acétone n'ont pu être analysées par chromatographie car les trois produits étudiés sont élués avec le même temps de rétention.

Les tests ont été réalisés sur des sols fraîchement contaminés, pour éviter un biais lié à l'âge de la contamination. Le Tableau 15 montre les rendements d'extraction obtenus pour un temps d'ébullition d'une heure et une phase de rinçage d'une heure. Le type d'appareillage utilisé permet un gain de temps important par rapport à l'utilisation d'un extracteur de type Soxhlet. En effet, la norme XP X 33-012 reporte des temps d'extraction de 6 heures pour l'extraction de HAP dans des boues. Ici, du fait des caractéristiques de l'appareillage, les temps d'extraction sont diminués à un peu plus de 2 h.

Tableau 15 : Rendements d'extraction des HAP, exprimés en %, suivant le solvant  
(n=5)

Solvant	Fluorène	Fluoranthène	Pyrène
Méthanol	52	69	/
Dichlorométhane	78 ± 4	96 ± 5	105 ± 6
Dichlorométhane/acétone (1/1)	74 ± 3	80 ± 3	74 ± 2

Le dichlorométhane est donc le solvant qui extrait le mieux les trois HAP ; afin d'améliorer les rendements avec ce solvant, différentes conditions opératoires ont été successivement testées. Les résultats obtenus sont répertoriés dans le Tableau 16.

Tableau 16 : Optimisation des conditions opératoires (n=5)

Conditions opératoires	Fluorène	Fluoranthène	Pyrène
1 h d'ébullition, 1 h de rinçage à 50°C	73 ± 4	86 ± 5	79 ± 5
5 h d'ébullition, 1 h de rinçage à 50°C	62 ± 1	77 ± 2	75 ± 2
1 h d'ébullition, 1 h de rinçage à 110°C	78 ± 4	96 ± 5	105 ± 6
2 h d'ébullition, 2 h de rinçage à 110°C	64 ± 2	82 ± 3	79 ± 3
1 h d'ébullition, 1 h de rinçage à 125°C	72 ± 1	86 ± 1	91 ± 2

Le Tableau 16 révèle que les meilleurs rendements d'extraction sont obtenus avec 1 heure d'ébullition et 1 heure de rinçage à 110°C.

## **RESULTATS ET DISCUSSION**



# I. Caractéristiques physico-chimiques du sol et du biosurfactant

## I.1. Le sol

### I.1.1. Caractérisation physico-chimique du sol

L'Horizon A possède une couleur brun-grisâtre très foncé alors que l'horizon B est de couleur brune.

La caractérisation du sol a été effectuée en utilisant les différentes normes AFNOR décrites dans la partie "Matériels et méthodes". Le Tableau 17 reprend les résultats obtenus.

Tableau 17 : Caractéristiques physico-chimiques du sol étudié

Horizon	pH		Carbone		% N	Granulométrie (%)				
	Eau	KCl	% CT	% CO		SG	SF	LG	LF	Argile
A	7,5 ± 0,3	6,9 ± 0,1	2,75	1,56	0,16	9,7	65,5	4,1	11,4	3,6
B	7,1 ± 0,4	6,1 ± 0,1	0,13	0,11	0,02	6,7	79,8	5,0	8,0	1,0

CT : Carbone Total (%), CO : Carbone Organique (%)

N : Azote (%)

SG et SF : sables grossiers (200<d<2000 µm) et fins (50<d<200 µm)

LG et LF : limons grossiers (20<d<50 µm) et fins (2<d<20 µm)

Argile : d < 2 µm

Les valeurs de pH<sub>eau</sub> des sols montrent que les sols sont neutres (pH compris entre 6,5 et 7,5), l'horizon A étant en limite inférieure des pH basiques fixés par le référentiel pédologique (INRA, 1995).

L'analyse granulométrique montre que la fraction prépondérante est celle des sables (plus de 75 % dans les deux cas). Les horizons étudiés sont donc classés comme des horizons très sableux selon le triangle textural du Groupement d'Études des Problèmes de Pédologie Appliquée : GEPPA (Figure 16). Nous constatons donc que les deux horizons ont une texture similaire, leur principale différence réside dans la teneur en carbone total, et donc dans les teneurs en carbone organique dont l'influence sur la sorption des HAP est reconnue (Karickhoff, 1979 ; Rao, 1990 ; Luthy *et al.*, 1997 ; Chefetz *et al.*, 2000, Salloum *et al.*, 2002).

Le classement utilisé dans la littérature internationale donne des dénominations différentes pour les horizons étudiés. L'horizon A sera dans ce cas classé comme un loam sableux fin alors que l'horizon B sera répertorié comme un sable fin.

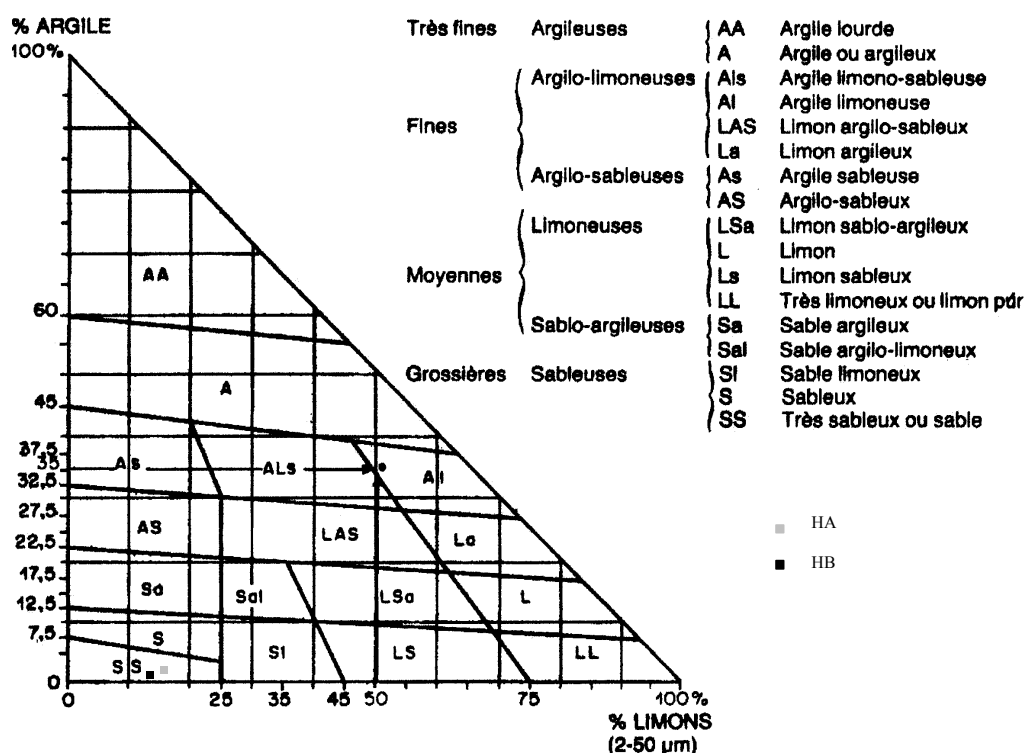


Figure 16 : Triangle textural (Baize, 1990)

Les valeurs de C/N obtenues montrent que ces sols sont de type agricole (Pansu et Gautheyrou, 2003).

### I.1.2. Complexe absorbant

Les résultats de la caractérisation du complexe absorbant, c'est à dire la somme des bases échangeables et la détermination de la Capacité d'Echange Cationique (CEC) sont regroupés dans le Tableau 18 :

Tableau 18 : Caractéristiques du complexe absorbant

Horizon	Bases échangeables (még/100g)				CEC (még/100g)
	CaO	MgO	K <sub>2</sub> O	Na <sub>2</sub> O	
A	12,13	2,49	0,46	/	7,70
B	2,98	1,05	0,13	/	2,50

La CEC représente l'ensemble des cations échangeables par le complexe absorbant et détermine en partie le pouvoir de fixation de ce dernier. Les valeurs obtenues sont plutôt faibles. Les deux horizons présentent un écart dans la valeur de la CEC. Ceci semble normal



du fait de leur différence de teneur en carbone organique et de leur composition semblable (Duchaufour, 2001).

Dans les bases échangeables, nous observons une prédominance du calcium ; il représente respectivement pour les horizons A et B, 80 et 72 % des bases échangeables mesurées. La prédominance de ce cation indique que le sol a tendance à être neutre ou alcalin, ce qui est vérifié par les pH des horizons.

### I.1.3. Charge de surface du sol

Le  $pH_{zpc}$  de chacun des horizons a été déterminé (Figure 17 et Figure 18) par titrage acido-basique. Le  $pH_{zpc}$  est le pH où la charge protonique de surface est globalement nulle. Ainsi, en dessous du  $pH_{zpc}$  d'un adsorbant, la charge de surface a une dominance de sites positifs favorables à l'adsorption de molécules anioniques.

#### I.1.3.1. Horizon A

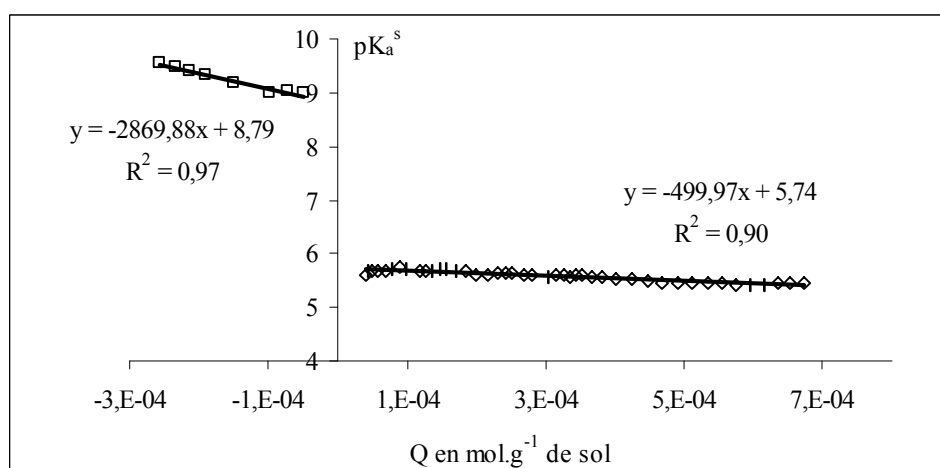


Figure 17 : Détermination des  $pK_a^s$  et du  $pH_{zpc}$  pour l'horizon A

D'après la Figure 17, les constantes d'acidité intrinsèques ( $pK_a^s$  obtenus pour  $Q = 0$ ) sont les suivantes :  $pK_{a_1}^s = 5,7$  et  $pK_{a_2}^s = 8,7$  Ces deux valeurs permettent d'obtenir le  $pH_{zpc}$ , dont la valeur est égale à 7,3.

I.1.3.2. *Horizon B*

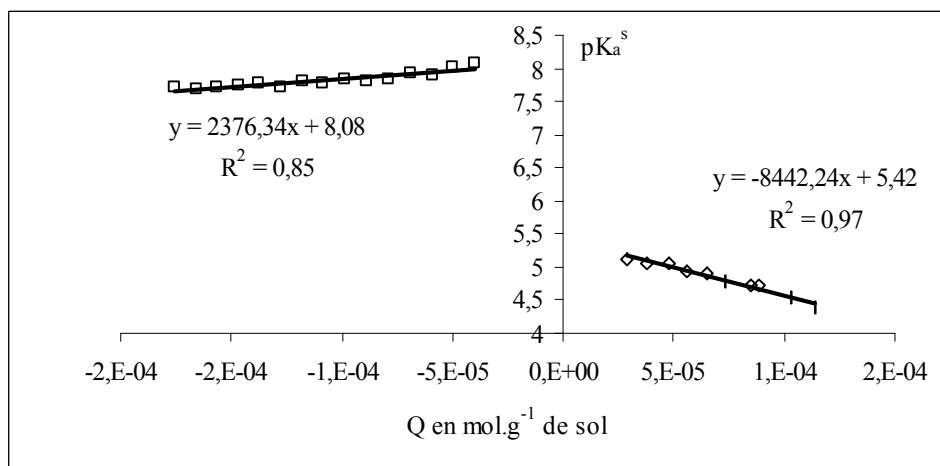


Figure 18 : Détermination des  $pK_a^s$  et du  $pH_{zpc}$  pour l'horizon B

D'après la Figure 18, les constantes d'acidité intrinsèques sont  $pK_{a_1}^s = 5,4$  et  $pK_{a_2}^s = 8,1$ . Le  $pH_{zpc}$ , est égal à 6,7. Le coefficient de la droite qui permet de déterminer  $pK_{a_2}^s$  est positif, contrairement à toutes les autres valeurs (Figures 17 et 18).

Les deux horizons étudiés présentent une différence de pente de la droite permettant le calcul de  $pK_a^s$ . Ceci peut être relié à la différence des constituants des horizons. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Dupuis-Kedziorec (1997) et Davranche *et al.* (2002). En effet, ces auteurs indiquent que pour des solides non carbonatés, les pentes obtenues étaient positives alors que pour des solides calcaires, la pente devenait négative. Les différences de teneur en calcium des horizons A et B pourraient donc expliquer ces différences.

## I.2. Le biosurfactant

### I.2.1. Caractérisation du biosurfactant

Une caractérisation du 57SJ a été effectuée afin de déterminer le pourcentage de rhamnose qu'il contient, sa masse molaire et sa concentration micellaire critique (CMC).

#### I.2.1.1. *Analyse par Chromatographie sur couche mince (CCM) du mélange tensioactif*

Afin d'évaluer le nombre de constituants principaux présents dans le 57SJ, une étude par Chromatographie sur Couche Mince (CCM) a été réalisée. La CCM montre l'existence de trois composés principaux. Les facteurs retard des rhamnolipides obtenus sont respectivement de 0,48-0,70 et 0,87 respectivement pour  $R_1$ ,  $R_2$  et  $R_3$ . Les résultats de cette étude concordent avec les travaux déjà réalisés sur la caractérisation de tensioactifs de souches apparentées (Para *et al.*, 1989 ; Van Dyke *et al.*, 1993 ; Arino *et al.*, 1996). Ces auteurs indiquent que ces composés pourraient correspondre à des mono et di-rhamnolipides.

A l'heure actuelle il existe des outils analytiques plus performants (RMN, HPLC MS, etc.) pour connaître de façon très précise les constituants d'un mélange de rhamnolipides.

### I.2.1.2. Détermination de la masse molaire apparente

Comme l'a montré l'analyse par CCM, le tensioactif est composé d'un mélange de plusieurs rhamnolipides qui ont été partiellement purifiés. Nous définirons donc une masse molaire apparente, c'est à dire la masse molaire représentative du mélange.

La masse molaire a été déterminée de deux façons différentes : une détermination basée sur un dosage acido-basique, qui permet d'obtenir une masse molaire dite apparente (purification partielle) et une autre effectuée par CLHP-MS-MS qui fournit une masse molaire réelle. Cette dernière a été réalisée à l'Institut Armand Frappier (Québec) par le Dr Lépine, en collaboration avec le Dr Lafrance de l'INRS-Eau-Terre-Environnement (Québec).

#### I.2.1.2.1. Dosages acido-basique

Ce dosage repose sur une titration (Figure 19) des fonctions carboxyliques COOH du tensioactif sous azote et après dégazage de la solution. Les dosages ont été répétés trois fois et une valeur moyenne a été calculée.

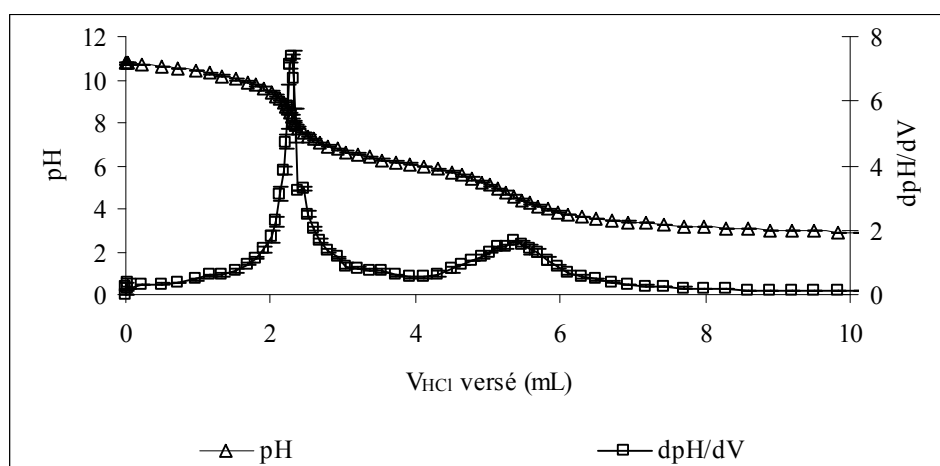


Figure 19 : Dosage acido-basique d'une solution de biosurfactant à  $1 \text{ g.L}^{-1}$  par HCl à  $2 \cdot 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$  et courbe de dérivée

La courbe ci-dessus présente deux points d'inflexion. Ces deux points correspondent respectivement à la neutralisation de la base forte (NaOH) introduite en excès et à la neutralisation des groupements carboxylates  $\text{COO}^-$  du mélange de rhamnolipides par l'acide fort HCl. La Figure 19 permet également d'obtenir le  $pK_a$  apparent du rhamnolipide ; il est de  $6,0 \pm 0,1$ . Bai *et al.* (1998) trouvent une valeur de 5,6 pour un autre biosurfactant ; Thangamani et Shreve (1994) indiquent que les  $pK_a$  des biosurfactants varient de 4,4 à 4,9 pour des acides gras possédant entre 6 et 10 atomes de carbone dans la chaîne carbonée. La valeur que nous obtenons donc pour cette étude est comparable à celles obtenues avec d'autres biosurfactants (rhamnolipides).

## RESULTATS ET DISCUSSION - Caractéristiques du sol et du biosurfactant

Le nombre de moles de biosurfactant en solution a été déterminé à partir de la quantité d'acide nécessaire pour neutraliser les groupements carboxylates du biosurfactant. Ce nombre de moles ( $6,48 \cdot 10^{-5}$ ) rapporté à la quantité de biotensioactif introduit permet de calculer la masse molaire du biosurfactant.

La masse molaire apparente obtenue pour le 57SJ est égale à  $504 \pm 27 \text{ g.mol}^{-1}$ . Compte tenu de la purification partielle, une sous- ou surestimation de la masse molaire peut avoir lieu, mais la masse apparente obtenue est en accord avec les données bibliographiques (Tableau 19). La masse molaire du biosurfactant dépend de la souche microbienne produisant les rhamnolipides et du substrat sur lequel il se développe ; il est donc difficile de comparer les valeurs entre elles.

Tableau 19 : Masses molaires de rhamnolipides produits par différentes souches de *Pseudomonas aeruginosa*

Masse molaire apparente ( $\text{g.mol}^{-1}$ )	Référence
504	Bai <i>et al.</i> , 1998
504	Torrens <i>et al.</i> , 1998
588	Noordman <i>et al.</i> , 2000 a
624	Mata-Sandoval <i>et al.</i> , 2002

### I.2.1.2.2. CLHP-MS-MS (source : INRS-IAF et INRS-ETE)

Une analyse plus complète du mélange de rhamnolipides a été réalisée par CLHP-MS-MS. Cette technique a permis d'identifier tous les constituants présents dans le biosurfactant. Les tests ont été effectués à partir du biosurfactant partiellement purifié et lyophilisé.

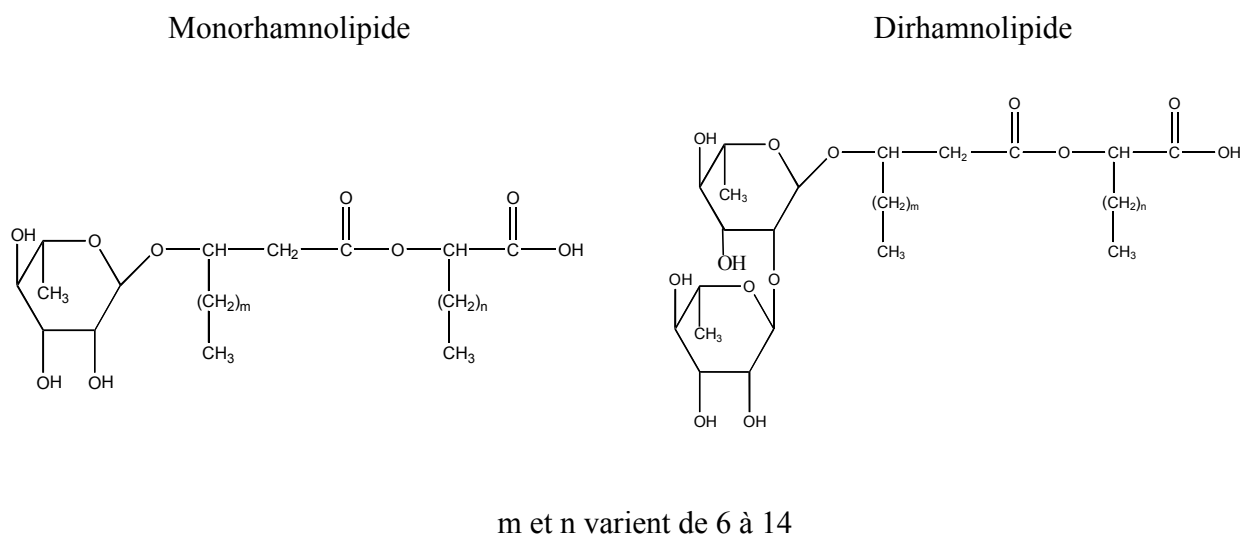


Figure 20 : Molécules constituant le biosurfactant

Le mélange est constitué de monorhamnolipides et de dirhamnolipides, les monorhamnolipides représentent 30 % (pourcentage massique) du mélange et les

## RESULTATS ET DISCUSSION - Caractéristiques du sol et du biosurfactant

dirhamnolipides, majoritaires, en représentent 59,5 %. Dans les deux cas, les constituants en C<sub>10</sub>C<sub>10</sub> sont majoritaires (Tableau 20). Les 10,5 % restants sont constitués par des dilipides.

La masse molaire calculée à partir de ces données est de 550 g.mol<sup>-1</sup> sans tenir compte des dilipides. Il est à noter que ces dilipides, qui sont des précurseurs dans la biosynthèse de ces biosurfactants, n'ont été que très récemment considérés comme étant des constituants d'intérêt dans les mélanges isolés de rhamnolipides (Dr Lépine, INRS-Institut-armand-Frappier, communication personnelle). De ce fait, ces dilipides n'ont pas, à notre connaissance encore été quantifiés de façon précise dans d'autres mélanges de rhamnolipides utilisés lors d'études de remédiation des sols contaminés. Cependant, ces composés semblent avoir certaines propriétés tensioactives et ne doivent donc pas être éliminés du mélange. De plus, leur présence dans le mélange implique de considérer leur masse dans la détermination de la masse molaire des rhamnolipides. Ainsi, la masse molaire du mélange est de 590 g.mol<sup>-1</sup>.

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Déziel *et al.* (1999) qui indiquent que les deux principaux rhamnolipides produits par des *Pseudomonas aeruginosa* RP sont les L-rhamnosyl-3-hydroxydecanoyl-3-hydroxydecanoate (Rha-C<sub>10</sub>-C<sub>10</sub>) et les L-rhamnosyl-L-rhamnosyl-3-hydroxydecanoyl-3-hydroxydecanoate (Rha-Rha-C<sub>10</sub>-C<sub>10</sub>).

Ces valeurs sont proches de celles obtenues avec d'autres biosurfactants : Mata-Sandoval *et al.* (2001) reportent pour l'UG2, un pourcentage de 60 pour le dirhamnolipide de formule Rh<sub>2</sub>C<sub>10</sub>C<sub>10</sub>, un pourcentage de 21 pour un monorhamnolipide de formule RhC<sub>10</sub>C<sub>10</sub> et un pourcentage de 19 pour un mélange de dirhamnolipide Rh<sub>2</sub>C<sub>10</sub>C<sub>12</sub> et Rh<sub>2</sub>C<sub>10</sub>C<sub>12</sub>-H<sub>2</sub> pour un "dehydro-dirhamnolipide". De même, Haba *et al.* (2003) obtiennent une valeur de dirhamnolipides égale à 71,3 % et pour les monorhamnolipides, un pourcentage de 29,6 %, ce tensioactif ayant été produit par une souche de *Pseudomonas aeruginosa* 47T2.

Tableau 20 : Pourcentages molaires relatifs des constituants du mélange de rhamnolipides

Monorhamnolipides								
	C <sub>8</sub> C <sub>8</sub>	C <sub>8</sub> C <sub>10</sub>	C <sub>10</sub> C <sub>10</sub>	C <sub>10</sub> C <sub>12</sub>	C <sub>12</sub> C <sub>12</sub>	C <sub>8</sub> C <sub>12:1</sub>	C <sub>10</sub> C <sub>12:1</sub>	C <sub>12</sub> C <sub>12:1</sub>
%	0	4,2	19,7	2,3	0,1	0,4	3,2	0,1

Dirhamnolipides								
	C <sub>8</sub> C <sub>8</sub>	C <sub>8</sub> C <sub>10</sub>	C <sub>10</sub> C <sub>10</sub>	C <sub>10</sub> C <sub>12</sub>	C <sub>12</sub> C <sub>12</sub>	C <sub>8</sub> C <sub>12:1</sub>	C <sub>10</sub> C <sub>12:1</sub>	C <sub>12</sub> C <sub>12:1</sub>
%	0	8,2	38,0	6,7	0,3	0,6	5,1	0,6

### I.2.1.2.3. Comparaison des deux méthodes

Les deux méthodes utilisées pour déterminer la masse molaire du mélange donnent pour le titrage une valeur de 504 g.mol<sup>-1</sup> et pour la CLHP-MS-MS une valeur de 590 g.mol<sup>-1</sup>. La première technique s'effectue en solution aqueuse alors que la deuxième est réalisée par mise en solution dans de l'acétonitrile. Les deux valeurs sont assez proches l'une de l'autre, et l'écart entre les deux masses molaires est proche de 15 %. La technique de titration, beaucoup plus aisée à mettre en oeuvre donne ainsi des résultats satisfaisants pour le mélange de biotensioactif partiellement purifié. La valeur de 504 g.mol<sup>-1</sup> a été retenue pour faire les

## RESULTATS ET DISCUSSION - Caractéristiques du sol et du biosurfactant

calculs ultérieurs car cette valeur est basée sur la quantification des fonctions carboxyliques des composés tensioactifs constituant le mélange des biosurfactants. Elle prend ainsi en compte directement les constituants intervenant dans la tensioactivité, soit à la fois les rhamnolipides et les constituants lipidiques (partie hydrophobe) présentant une fonction carboxylique (partie hydrophile).

### *1.2.1.3. Détermination du pourcentage de rhamnose*

Pour déterminer le pourcentage de rhamnose du biotensioactif, nous avons réalisé une solution tensioactive à  $50 \text{ mg.L}^{-1}$ , préparée et traitée comme expliqué dans les paragraphes II.3 et III.2 du "Matériels et Méthodes". Des aliquotes de 0,5 et 1 mL ont été utilisés et analysés au spectrophotomètre. Les valeurs d'absorbance obtenues sont respectivement de  $0,184 \pm 0,008$  et  $0,371 \pm 0,025$  ( $n = 15$ ). La masse de rhamnose contenue dans la solution de 57SJ est obtenue en reportant ces valeurs d'absorbance sur la courbe d'étalonnage (Figure 14). Connaissant la masse de biosurfactant incorporée au départ en solution, le pourcentage (m/m) de rhamnose du 57SJ a été calculé. Le biotensioactif contient  $39,6 \pm 0,5 \%$  de rhamnose. Cette valeur sera par la suite utilisée pour effectuer la détermination des concentrations de biosurfactant en solution.

Le pourcentage de rhamnose peut être évalué à partir de l'analyse par CLHP-MS-MS ; une valeur de 41,4 %, très proche de celle déterminée par la méthode spectrophotométrique est obtenue.

Cette valeur est proche de celle reportée par Noordman *et al.* (1998) qui, pour le mélange de rhamnolipides produit par l'UG2, obtiennent un pourcentage de 44. Ces mêmes auteurs en 2000 ont déterminé un pourcentage de 45 pour un mélange de six rhamnolipides. Lafrance et Lapointe (1998) ont obtenu un pourcentage de  $40,4 \pm 5,6 \%$  de rhamnose avec l'UG2. Il est cependant difficile de comparer les valeurs entre elles car la composition du biosurfactant dépend d'une part de la souche microbienne, et d'autre part des conditions de production, d'ailleurs les différents pourcentages obtenus pour l'UG2 en sont un exemple. C'est pourquoi ce paramètre est peu cité dans la littérature.

### *1.2.1.4. Détermination de la CMC dans l'eau pure*

La concentration micellaire critique (CMC) est la concentration à partir de laquelle les monomères de surfactant s'agrègent pour former des micelles. A la CMC, le biosurfactant commence à devenir efficace pour mobiliser les COH adsorbés au sol.

La détermination a été effectuée à  $23,0 \pm 0,3 \text{ }^\circ\text{C}$ .

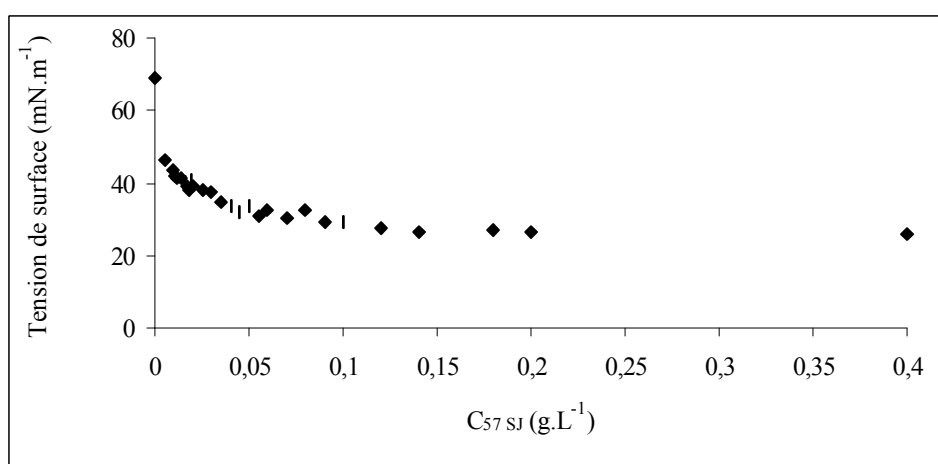


Figure 21 : Tension de surface en fonction de la concentration en biosurfactant

La tension de surface de l'eau pure a une valeur proche de  $70 \text{ mN.m}^{-1}$ . La Figure 21 représente la tension de surface en fonction de la concentration en biosurfactant. Cette figure montre que la tension de surface décroît de manière exponentielle, jusqu'à atteindre un minimum proche de  $26 \text{ mN.m}^{-1}$ , pour une concentration en biosurfactant supérieure ou égale à  $0,15 \text{ g.L}^{-1}$  ( $2,97 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ ). Cette valeur est comparable aux tensions de surface de biosurfactants (rhamnolipides purs) dont les concentrations varient de 1 à  $100 \text{ mg.L}^{-1}$  (Bognolo, 1999). D'une manière générale, les rhamnolipides peuvent diminuer les tensions de surface à des valeurs comprises entre 25 et  $30 \text{ mN.m}^{-1}$  (Rahman *et al.*, 2002 ; Haba *et al.*, 2003).

Afin de déterminer de manière plus précise la valeur à partir de laquelle la tension de surface est minimum, il est nécessaire d'utiliser une linéarisation par transformation en logarithme des concentrations en biotensioactif (Figure 22).

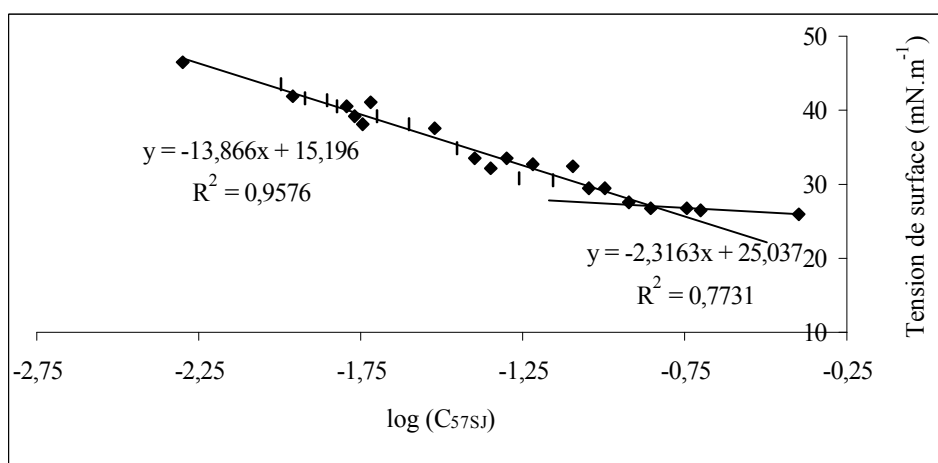


Figure 22: Tension de surface en fonction du  $\log C_{57Sj}$

## RESULTATS ET DISCUSSION - Caractéristiques du sol et du biosurfactant

La CMC dans l'eau pure est déterminée par l'intersection des deux parties linéaires. La valeur obtenue pour la CMC est de  $0,15 \text{ g.L}^{-1}$ , soit  $2,98 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ .

A titre de comparaison, des rhamnolipides produits par de l'UG2 (masse molaire de  $588 \text{ g.mol}^{-1}$ ) ont une CMC égale à  $0,20 \text{ g.L}^{-1}$ , soit  $3,40 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$  (Noordman *et al.*, 1998).

Le Tableau 21 fournit différentes valeurs obtenues dans la littérature.

Tableau 21 : Tensions de surface et concentrations micellaires critiques de divers rhamnolipides (adapté de Lang et Wullbrandt, 1999)

Souche	Tension de surface ( $\text{mN.m}^{-1}$ )	CMC ( $\text{g.L}^{-1}$ )
<i>P. aeruginosa</i> S7-B <sub>1</sub>	40	0,05
<i>P. sp</i> DSM 2874	26	0,02
<i>P. sp</i> DSM 2874	28	0,02
<i>P. sp</i> DSM 2874	27	0,01
<i>P. sp</i> DSM 2874	25	0,20
<i>P. sp</i> DSM 2874	30	0,20
<i>P. aeruginosa</i> 44T1	25	0,01
<i>P. aeruginosa</i> 44 T1	25	0,01
<i>P. aeruginosa</i> BOP100	28	0,26
<i>P. aeruginosa</i> BOP100	31	0,40

Le tensioactif que nous utilisons pour cette étude provoque un abaissement de tension de surface similaire à celles fréquemment retrouvées pour des souches de *Pseudomonas*. Pour la CMC, la valeur obtenue ( $0,15 \text{ g.L}^{-1}$ ) est élevée par rapport aux valeurs les plus faibles du tableau, mais reste dans les ordres de grandeurs des données de la littérature. Ainsi, du fait de la CMC légèrement plus élevée que la moyenne, il semblerait que l'utilisation du 57 SJ soit moins rentable en terme de traitement des sols.

Les CMC dans l'eau pure sont en général assez faibles. Lorsque le tensioactif est mis en contact avec des sols, une partie s'adsorbe sur cette matrice, et le tensioactif devient donc moins efficace. C'est pourquoi on définit une CMC dite effective, qui est supérieure à celle obtenue dans l'EUP. Cette CMC effective ne peut pas être évaluée par tensiométrie car l'appareil ne peut se stabiliser sur des solutions de sols.

### I.2.2. Sorption du biosurfactant en réacteur discontinu

Comme nous l'avons souligné dans l'étude bibliographique, l'efficacité d'un tensioactif peut être diminuée par sa sorption au sol. Deux horizons ont été utilisés pour cette étude. Une étude cinétique préalable a été réalisée à  $20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$  pour estimer le temps nécessaire à l'obtention d'un pseudo-équilibre de sorption ; ce temps expérimental déterminé, des isothermes ont été tracées.

#### I.2.2.1. Cinétiques d'adsorption sur les horizons A et B

La réalisation de cinétiques permet d'obtenir la vitesse d'adsorption du biosurfactant sur le sol. La courbe  $C_{\text{ad}} = f(t)$  a été tracée (Figure 23).



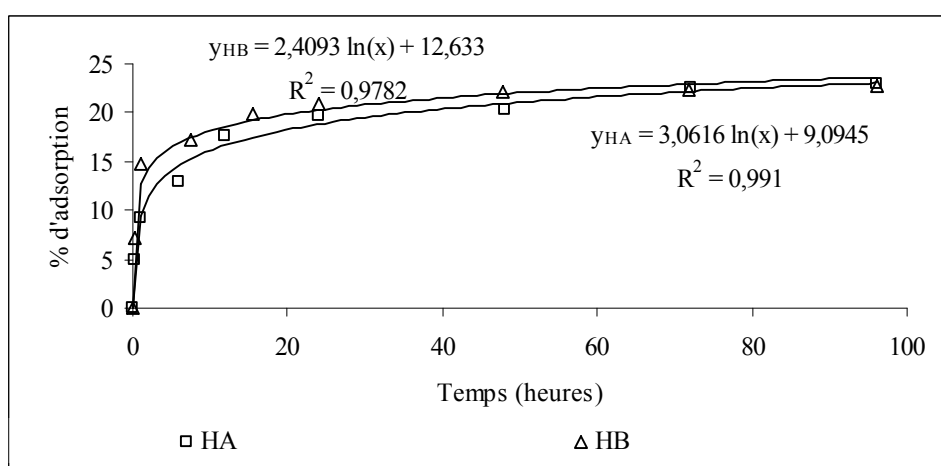


Figure 23 : Cinétique d'adsorption du 57SJ ( $0,15 \text{ g.L}^{-1}$ ) sur les deux horizons (HA et HB)

La Figure 23 montre que pour les deux horizons, le biosurfactant s'adsorbe rapidement ; un pseudo-équilibre est atteint à partir de 20 heures. Afin de réaliser les isothermes, une durée de 24 heures sera respectée ; ce temps est suffisamment court pour éviter une croissance bactérienne. En effet, nous avons vérifié qu'aucune perte de biosurfactant ne se produisait pendant la période de l'étude (5 jours).

Les cinétiques d'adsorption ont été réalisées à une concentration en tensioactif égale à  $0,15 \text{ g.L}^{-1}$  qui représente la CMC du biosurfactant dans l'EUP et donc la concentration à partir de laquelle se forment les micelles. Ceci représente un cas défavorable en terme d'application car la majeure partie du tensioactif va se perdre par sorption et ainsi devenir inefficace en terme de traitement : en effet, la CMC effective (en présence de sol) étant plus élevée que la CMC dans l'EUP, les monomères auront tendance à se sorber au sol plutôt qu'à former des micelles, ce qui semble être confirmé par la Figure 24. En effet, la représentation de la fraction de biotensioactif sorbé en fonction de la concentration en solution montre qu'en dessous de la CMC effective, la fraction de surfactant sorbée varie de 25 à 35 %, puis ce taux décroît avec l'augmentation de la concentration en solution. Ces résultats rejoignent ceux de Van Dyke *et al.* (1993), qui ont obtenus avec l'UG2 des valeurs variant de 74 à 20 % pour des concentrations en solution variant de  $0,5$  à  $5 \text{ g.L}^{-1}$ . Il est à noter qu'aux concentrations en biotensioactif où nous travaillerons par la suite ( $2,5 \text{ g.L}^{-1}$ ), seulement 5 % du surfactant se sorbe au sol.

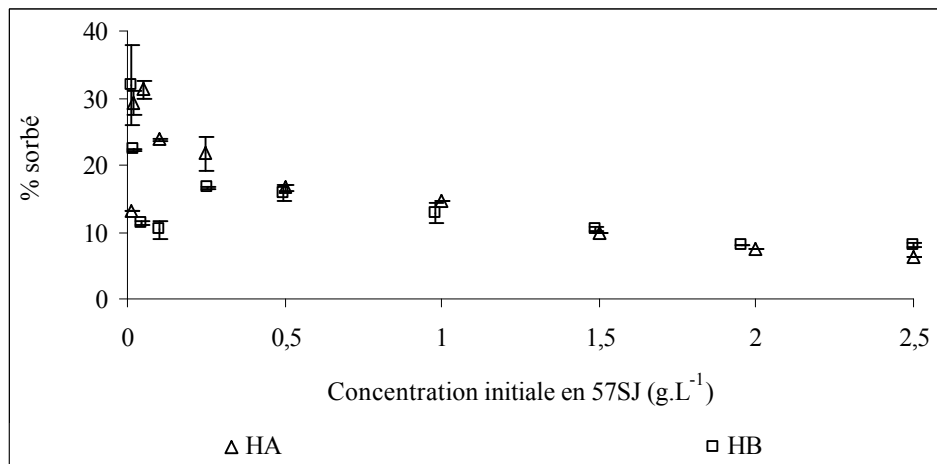


Figure 24 : Pourcentage de 57SJ sorbé en fonction de la concentration en solution après 24 heures de temps de contact

Nous observons que le 57SJ se sorbe plus rapidement et en plus grande quantité sur l'horizon B que sur le A aux faibles concentrations en tensioactif. Les vitesses d'adsorption apparentes ( $dC/dt$ ) calculées sont de  $0,49 \text{ mg.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$  et de  $0,71 \text{ mg.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$  respectivement pour l'horizon A et B. L'adsorption du biotensioactif ne se corrèle pas avec le contenu en MO des horizons. Ce résultat rejoint ceux de Noordman *et al.* (2000 a), qui ont observé des résultats similaires avec de l'UG2, tensioactif biologique produit par une souche de *Pseudomonas*, et des sols différents.

Au pH des expériences (7), et compte tenu du  $\text{pH}_{\text{zpc}}$  des sols (7,3 pour l'horizon A et 6,7 pour l'horizon B), il apparaît que l'horizon A est chargé positivement et le B négativement. Il faut cependant noter qu'au pH de l'étude les sols des horizons sont peu chargés. De plus, le  $\text{pK}_a$  apparent du tensioactif est de 6, donc, au pH de l'étude, les fonctions carboxyliques du tensioactif sont dissociées. Ainsi, les interactions électrostatiques ne peuvent pas expliquer le comportement du tensioactif vis-à-vis du sol. La sorption sur l'horizon B pourrait être liée à une fraction minérale plus importante qui posséderait une surface spécifique plus grande, ou pourrait révéler une accessibilité différente aux pores des horizons.

#### 1.2.2.2. Isothermes d'adsorption

Les isothermes de sorption ont été réalisées sur les deux horizons à  $20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ . Des isothermes de type direct ont été tracés. Différents modèles mathématiques (Freundlich et Langmuir) ont également été utilisés pour traduire les résultats de l'adsorption.

I.2.2.2.1. Isotherme de type direct

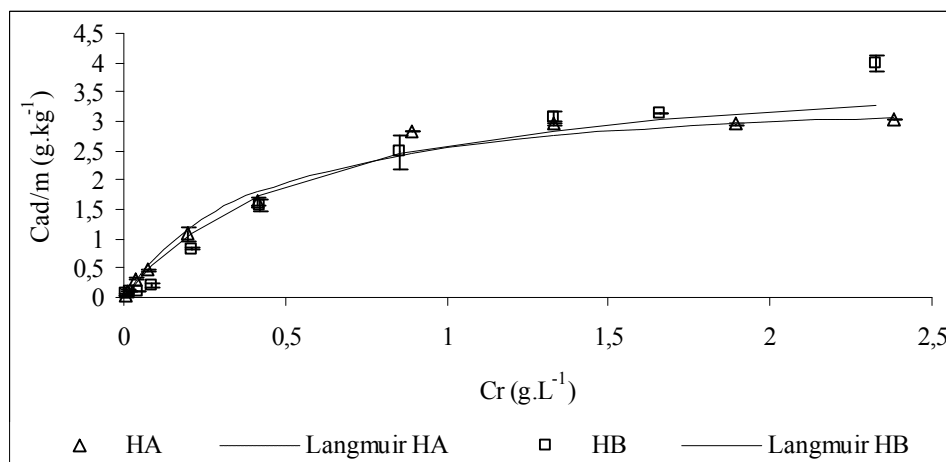


Figure 25 : Isothermes de sorption du biosurfactant suivant la représentation directe

La Figure 25 représente la capacité de sorption en fonction de la concentration résiduelle de tensioactif en solution. Nous observons que les deux horizons sorbent le tensioactif de façon similaire.

Pour l'horizon A, un maximum d'adsorption est atteint à partir d'une concentration en surfactant égale à 1 g.L<sup>-1</sup>. Dans la gamme de concentrations étudiées (0 à 2,5 g.L<sup>-1</sup>), il semblerait que la saturation des sites de sorption de l'horizon soient atteinte, la quantité maximale de surfactant adsorbée restant faible.

Au vu de la forme obtenue pour cette isotherme, il est possible de décrire la sorption avec un modèle de type Langmuir. Les valeurs obtenues de  $q_m$  (capacité maximum de biosurfactant sorbé au sol) et  $K_L$  (constante de Langmuir) sont respectivement de 3,61 g.kg<sup>-1</sup> et de 2,35 L.kg<sup>-1</sup> soit 7,15 10<sup>-3</sup> mol.kg<sup>-1</sup> et 1184 L.mol<sup>-1</sup>. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Adeel et Luthy (1995) lors d'une étude portant sur l'adsorption du Triton X-100, surfactant chimique non ionique, sur un sable fin ( $q_m=967$  L.mol<sup>-1</sup> et  $K_L=6,5$  10<sup>-3</sup> mol.kg<sup>-1</sup>). L'horizon A utilisé lors de notre étude possède une capacité d'adsorption du tensioactif plus élevée, ce résultat pouvant probablement s'expliquer par les différences entre la nature des sols et les tensioactifs étudiés.

De même, pour l'horizon B, les valeurs obtenues par calage pour  $q_m$  et  $K_L$  sont respectivement égales à 4,05 g.kg<sup>-1</sup> et 1,77 L.kg<sup>-1</sup>. Ces valeurs sont donc proches de celles obtenues avec l'horizon A, ainsi les deux horizons ont une capacité de sorption proche. Il apparaît donc que la sorption n'est pas corrélée à la quantité de MO contenue dans le sol. Par conséquent, d'autres interactions que celles mettant en jeu la MO interviennent. Ceci confirme ce qui a été observé par l'étude cinétique. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Noordman *et al.* (2000 a) avec de l'UG2, qui n'ont pas observé de corrélation entre la sorption du tensioactif et le contenu en MO.

I.2.2.2.2. Isothermes de Freundlich

La représentation de Freundlich (Figure 26 et Figure 27 respectivement pour les horizons A et B) donne des isothermes de type S, qui décrivent une adsorption défavorable, en terme de traitement. Il est possible de subdiviser ces isothermes en trois parties, comme l'ont suggéré Edwards *et al.* (1994) ou Adeel et Luthy (1995), pour le Triton X-100 (surfactant chimique non ionique).

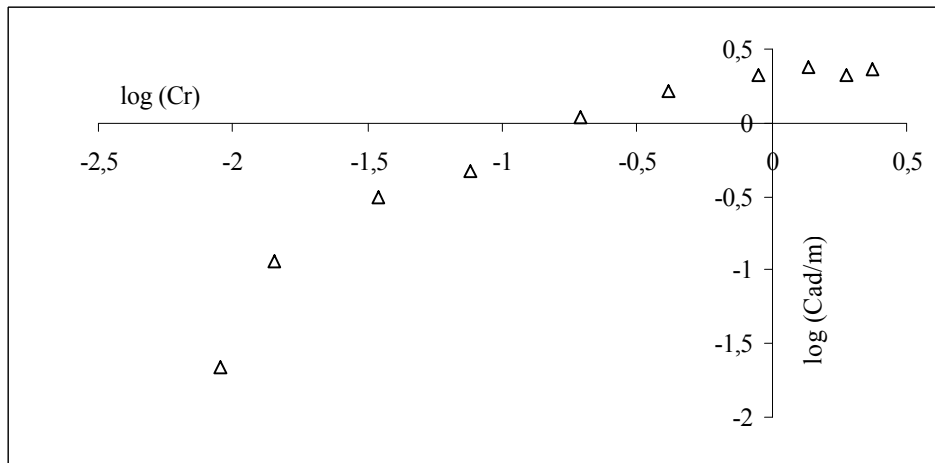


Figure 26 : Isotherme de Freundlich pour la sorption du 57SJ sur l'horizon A

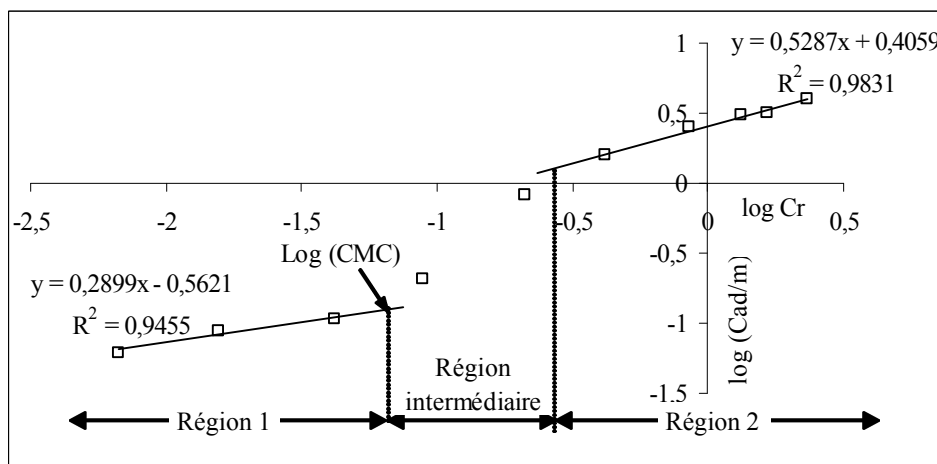


Figure 27 : Isotherme de Freundlich pour la sorption du 57SJ sur l'horizon B

Pour l'horizon A (Figure 26), l'isotherme de Freundlich est difficilement interprétable.

Edwards *et al.* (1994) ont divisé l'isotherme de Freundlich du Triton X-100 (surfactant chimique non ionique) sur un sédiment en deux régions. La modélisation de l'isotherme de l'horizon B (Figure 27) fait apparaître ces mêmes régions. Cette isotherme a de plus une forme de S, caractéristique de la sorption des tensioactifs, chimiques ou biologiques (Abdul et Gibson, 1991 ; Edwards *et al.*, 1994 ; Adeel et Luthy, 1995 ; Somasundaran et Krishnakumar, 1997 ; Noordman *et al.*, 2000 a).

La première partie (Région 1) correspond à l'adsorption des monomères de biosurfactant à la surface du solide. Lorsque la concentration en biosurfactant augmente, les monomères de biosurfactant ont tendance à s'auto-associer du fait de forces électrostatiques et hydrophobes. Cette auto-association entraîne la formation d'une monocouche (hémimicelle), cette étape se produit dans la région intermédiaire, qui débute à la CMC et se termine à l'intersection du deuxième segment linéaire de l'isotherme. Le regroupement en double couche (admicelle) s'effectue dans la région 2.

### I.2.2.2.3. Conclusion sur l'adsorption des biosurfactants

Le tensioactif utilisé se sorbe faiblement aux horizons étudiés. Les taux de perte du biosurfactant par sorption sont plus faibles que ceux généralement observés dans la littérature. Les taux de sorption sont proches de 35 % pour des concentrations en solution inférieures à la CMC, et ce taux diminue à 5 % pour des concentrations en biotensioactif élevées.

L'horizon B adsorbe autant le biosurfactant que l'horizon A, malgré une fraction en carbone organique bien plus faible. Donc pour ce sol, l'adsorption du biosurfactant ne dépendrait pas uniquement de la MO contenue dans les horizons. Il aurait été nécessaire d'effectuer des analyses minéralogiques ainsi que des mesures de surface spécifique afin d'expliquer le phénomène observé. En effet, la composition minérale des sols pourrait avoir un rôle dans la sorption. Ces hypothèses rejoignent celles de différents auteurs : Shen (2000) explique que suivant la composition en minéraux (Si, Al et Fe), la sorption varie. Les premières interactions entre la première couche de biosurfactant et le sol résulteraient de réactions d'échange d'ions impliquant le groupe carboxylique du biosurfactant, via un phénomène de complexation de surface ou de liaisons hydrogène, impliquant le rhamnose de la portion hydrophile. Ensuite, les interactions hydrophobes entre les rhamnolipides prédominent.

Toutes ces observations montrent que les mécanismes de sorption mis en jeu dépendent de différents facteurs, comme le type de sol, le tensioactif en lui-même et sa concentration. Le biotensioactif sélectionné pour cette étude semble être un bon candidat pour une utilisation future de remédiation de sol, compte tenu de son interaction modérée avec le sol.

## II. Efficacité du biosurfactant à solubiliser et remobiliser les HAP

Avant de choisir un tensioactif en vue de sa future utilisation pour traiter un sol pollué, il est nécessaire de pouvoir évaluer sa capacité à solubiliser les molécules ciblées. Ces études sont en général réalisées en laboratoire, en réacteurs discontinus, avec un maximum de paramètres connus. Ainsi, nous avons étudié la capacité de solubilisation du 57SJ envers chaque HAP, seul puis en mélange ternaire, pour voir l'effet de synergie entre les produits.

Pour ne pas faire intervenir de variables supplémentaires, nous avons choisi de travailler à pH constant, sans fixer la force ionique (ajout de cations). En effet, les cations

ajoutés peuvent soit faciliter la solubilisation des molécules en diminuant les tensions de surface entre la solution de surfactant et les COH (Bai *et al.*, 1998), soit avoir un effet inverse en favorisant la précipitation du tensioactif. Il est cependant à noter qu'en conditions réelles de terrain, la présence de concentrations significatives de cations pourrait conduire à un comportement des biosurfactants différent de celui observé ici et qui a été obtenu sans ajout de cations.

## II.1. Etude en système statique : Rapport Molaire de Solubilisation (RMS) et coefficient de partage micellaire ( $K_m$ )

### II.1.1. Etude cinétique

Afin de déterminer le temps nécessaire à l'obtention d'un pseudo-équilibre, des études cinétiques ont été réalisées en utilisant une concentration en tensioactif égale à  $2,5 \text{ g.L}^{-1}$ . Au vu des résultats obtenus (Figure 28), nous ne présentons ici que le cas du pyrène, HAP le plus hydrophobe et donc le moins soluble de l'étude. En effet, des courbes similaires ont été obtenues pour les autres molécules.

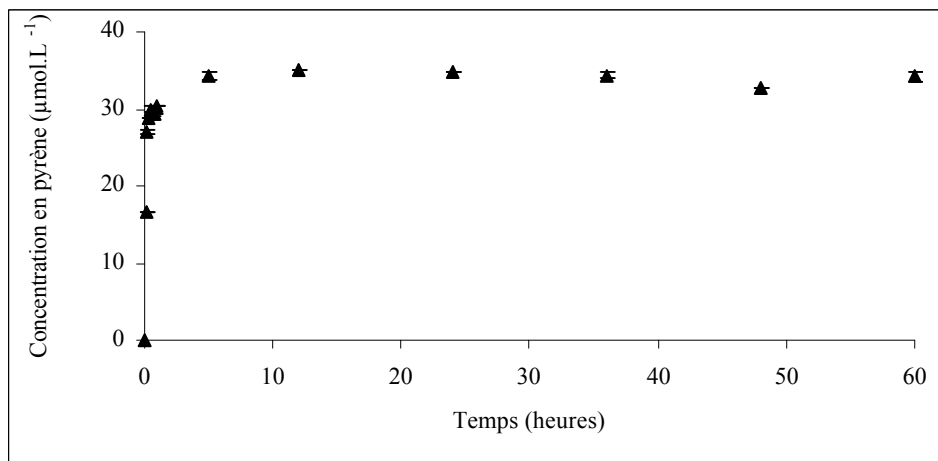


Figure 28 : Cinétique de solubilisation du pyrène en présence de biosurfactant ( $2,5 \text{ g.L}^{-1}$ )

L'équilibre de solubilisation est obtenu après 12 heures de temps de contact entre HAP et solution tensioactive. Les expériences de RMS ont ainsi été effectuées avec un temps de contact de 24 heures.

Afin de comparer les trois produits entre eux, nous avons calculé la vitesse apparente de solubilisation dans les cinq premières minutes de contact,  $v$ , grâce à l'équation suivante :

$$v = \frac{C_5 - C_0}{t_5 - t_0} \quad (\text{Équation 24})$$

avec  $C_5$  : concentration du HAP en solution à  $t=5 \text{ min}$  ( $\text{mol.L}^{-1}$ ),  
 $C_0$  : concentration du HAP en solution à  $t=0 \text{ min}$  ( $\text{mol.L}^{-1}$ ), donc 0,

$t_5$  : temps (min), soit ici 5 min,  
 $t_0$  : temps initial (0 min).

La vitesse de solubilisation calculée est de  $1,99 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ . Celle obtenue pour le fluorène, HAP le moins hydrophobe de l'étude, est de  $5,30 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ . Donc le fluorène se solubilise plus vite en présence du biosurfactant que le pyrène. Ceci peut être lié à sa solubilité plus élevée.

### II.1.2. Solubilisation des composés simples

L'étude de la solubilisation a d'abord été réalisée en considérant les différents HAP de façon séparée (Figure 29).

#### II.1.2.1. Influence de la concentration en biosurfactant sur la solubilisation - CMC effectives

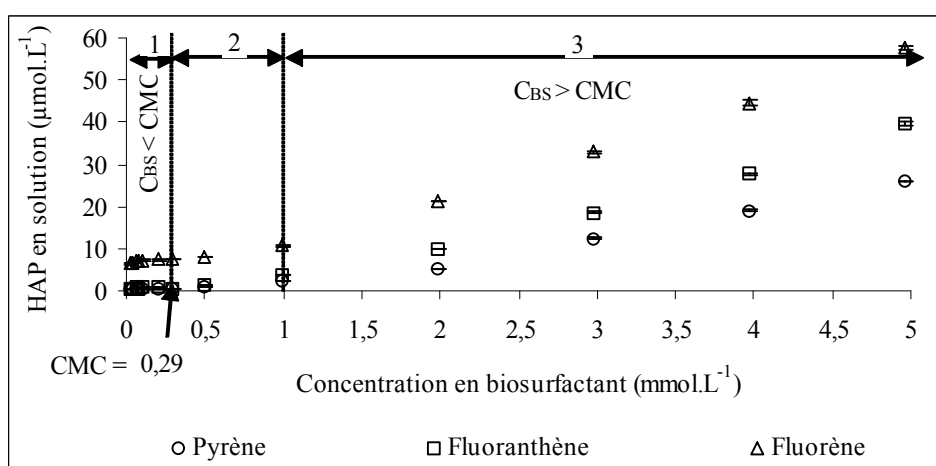


Figure 29 : Solubilisation des HAP considérés indépendamment par le 57SJ

La Figure 29 montre la solubilisation des HAP en fonction de la concentration en biosurfactant. La courbe obtenue peut être divisée en trois parties : la première (notée 1 sur la Figure 29) pour des concentrations inférieures à la CMC dans l'EUP, la seconde (2) dont les concentrations en tensioactif sont supérieures à la CMC dans l'EUP, comprises entre 0,29 et 1 mmol.L<sup>-1</sup> et la dernière pour des concentrations supérieures à 1 mmol.L<sup>-1</sup>.

Le Tableau 22 répertorie les solubilités obtenues pour les concentrations inférieures à la CMC, qui sont à mettre en parallèle avec la région 1 de la Figure 29. Nous constatons qu'en dessous de la CMC, la concentration en HAP est constante et est proche des solubilités aqueuses (aux incertitudes près), si l'on tient à la fois compte du fait que l'on ne soit pas dans l'eau pure ni totalement à l'équilibre.

Tableau 22 : Solubilité des HAP dans l'eau et dans une solution de biotensioactif de concentration inférieure à la CMC

	Fluorène	Fluoranthène	Pyrène
Solubilité aqueuse ( $\mu\text{mol.L}^{-1}$ )	11,43	1,29	0,64
Solubilité ( $\mu\text{mol.L}^{-1}$ ) apparente dans la zone 1 (<CMC)	$7,95 \pm 0,29$	$0,86 \pm 0,20$	$0,65 \pm 0,04$

Nous constatons de plus que le HAP le plus soluble de notre étude (fluorène) est celui qui a sa solubilité apparente la plus éloignée de sa solubilité dans l'eau. Ce résultat rejoint celui obtenu par Kile et Chiou (1989) avec du TCB (plus soluble) et du DDT. L'effet moindre obtenu avec le TCB est attribué à sa plus grande solubilité aqueuse, qui en fait réduit l'efficacité de partage avec la fraction organique diluée du surfactant. Li et Chen (2002) ont observé le même phénomène avec le fluorène et le pyrène avec un tensioactif chimique nonionique.

La région 2 de la courbe est une zone légèrement concave ; c'est à ce moment que débute l'agrégation des monomères en micelles. La courbure observée est liée au fait que le biosurfactant utilisé est constitué d'un mélange de plusieurs rhamnolipides, ce qui perturbe les équilibres mis en jeu. Kile et Chiou (1989) indiquent en effet qu'une telle courbure résulte de la micellisation successive de monomères hétérogènes (ici le biosurfactant est un mélange de plus de 10 congénères et est partiellement purifié), ce qui induit une large zone de transition "monomères-micelles". Les études portant sur la capacité d'un tensioactif à solubiliser les HAP ont jusqu'ici été réalisées le plus souvent avec des surfactants chimiques seuls. De ce fait, dans la plupart des cas, la portion 2 de la Figure 29 n'existe pas (Edwards *et al.*, 1991). Le Tableau 23 donne les concentrations micellaires critiques efficaces du biosurfactant vis-à-vis d'un polluant. Ces CMC ont été déterminées expérimentalement et sont obtenues par l'intersection de deux segments de droite en représentation logarithmique (figure non présentée ici).

Tableau 23 : CMC efficace de solubilisation du biosurfactant

	Fluorène	Fluoranthène	Pyrène
Log $K_{ow}$	4,18	5,22	5,18
CMC efficace ( $\text{g.L}^{-1}$ )	0,40	0,18	0,19

Edwards *et al.* (1991) ont montré que même si les techniques de détermination des CMC étaient différentes, il est possible de comparer les CMC expérimentales, déterminées graphiquement, aux CMC déterminées dans l'EUP par tensiométrie.

Nous constatons que les valeurs des CMC diffèrent avec le polluant présent dans le milieu : la CMC efficace du fluorène est supérieure à celle du pyrène et du fluoranthène, et celles du fluoranthène et du pyrène sont très voisines. Les CMC efficaces en présence du fluoranthène et du pyrène sont proches de celle obtenue dans l'EUP ( $0,15 \text{ g.L}^{-1}$ ), et celle du fluorène est de 2,66 fois supérieure à la CMC dans l'eau déionisée. Ce résultat est semblable à



## RESULTATS ET DISCUSSION - Efficacité du biosurfactant à solubiliser les HAP

ceux obtenus par Chun *et al.* (2002), qui expliquent que la CMC d'un surfactant en phase aqueuse et en équilibre avec un solubilisé peut varier car l'activité du surfactant est changée par l'introduction de ce solubilisé. C'est pourquoi, pour des polluants possédant des propriétés chimiques proches, en particulier des  $K_{ow}$ , les CMC sont proches. En ce qui concerne le fluorène, sa plus grande solubilité ainsi que sa plus faible hydrophobicité permettent une solubilisation plus aisée.

La portion 3 de la courbe (Figure 29) montre qu'au-dessus de la CMC effective, la quantité de HAP solubilisée augmente de façon linéaire avec des concentrations croissantes de biosurfactant. En effet, la quantité de surfactant ajoutée au-delà de cette CMC reste en grande partie en solution et permet d'accroître le volume des micelles formées et donc d'augmenter le volume de la pseudo-phase micellaire hydrophobe disponible pour la solubilisation des HAP. Ceci rejoint les études de Thangamani et Shreve (1994), de Li et Chen (2002) ou Zhu et Feng (2003).

### II.1.2.2. Rapport Molaire de Solubilisation et $\log K_m$

Le Rapport Molaire de Solubilisation est donné par la pente des droites de la Figure 29 (zone 3), et permet d'estimer par la suite le coefficient de partage micelle/eau. En ce qui concerne le RMS des HAP (Tableau 24), nous constatons que chaque polluant a une valeur qui lui est propre ; le RMS le plus élevé est obtenu pour le fluorène, HAP le plus soluble de l'étude, et la plus faible est pour le pyrène, qui est le polluant le plus hydrophobe. D'un point de vue structural, le fluorène dont le volume molaire est de  $138 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$  et qui est un HAP à trois cycles, est stériquement moins "encombrant" que le pyrène (HAP de quatre cycles) dont le volume molaire égal à  $214 \text{ cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ . Ainsi, il pénètre plus facilement dans les micelles, d'où son RMS plus élevé. Ceci est en accord avec une étude réalisée par Hill et Ghoshal (2002), avec du phénanthrène et du naphthalène.

Les valeurs de RMS dépendent des tensioactifs utilisés. Par exemple, Li et Chen (2002) ont obtenu des valeurs de RMS égales à 0,142 et 0,038 pour le fluorène et le pyrène, avec du Tergitol 15-S-7, surfactant chimique non ionique, les expérimentations ayant été effectuées à  $22^\circ\text{C}$ . Les valeurs que nous obtenons sont différentes.

Tableau 24 : Rapport Molaire de Solubilisation et coefficient de partage micelle/eau ( $\log K_m$ ) de chaque HAP

	Fluorène	Fluoranthène	Pyrène
$\log K_m$	$4,91 \pm 0,01$	$5,80 \pm 0,09$	$5,76 \pm 0,05$
RMS ( $10^{-3}$ )	$12,16 \pm 0,30$	$9,96 \pm 0,31$	$6,81 \pm 0,31$

Le coefficient de partage micelle/eau ( $K_m$ ) représente le partage des HAP entre la pseudo-phase organique non polaire constituée par l'intérieur des micelles et la phase aqueuse polaire.

Les  $K_m$  varient avec le HAP ; la valeur la plus élevée est obtenue pour le fluoranthène et la moins élevée pour le fluorène. Ce partage semble être lié à l'hydrophobicité des

molécules étudiées, comme le montre la Figure 30. En effet, plus le coefficient de partage octanol/eau d'une molécule hydrophobe est élevé, et plus il aura tendance à se partager dans les micelles. Ainsi, dans notre étude, le pyrène sera le HAP pour lequel l'augmentation de la solubilité est la plus élevée (Figure 30). Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Li et Chen (2002) qui ont travaillé avec trois tensioactifs chimiques non ioniques et quatre HAP (naphtalène, fluorène, phénanthrène et pyrène). Ces auteurs ont en effet observé que le pyrène, HAP le plus hydrophobe de leur étude, était celui qui voyait sa solubilité augmenter le plus.

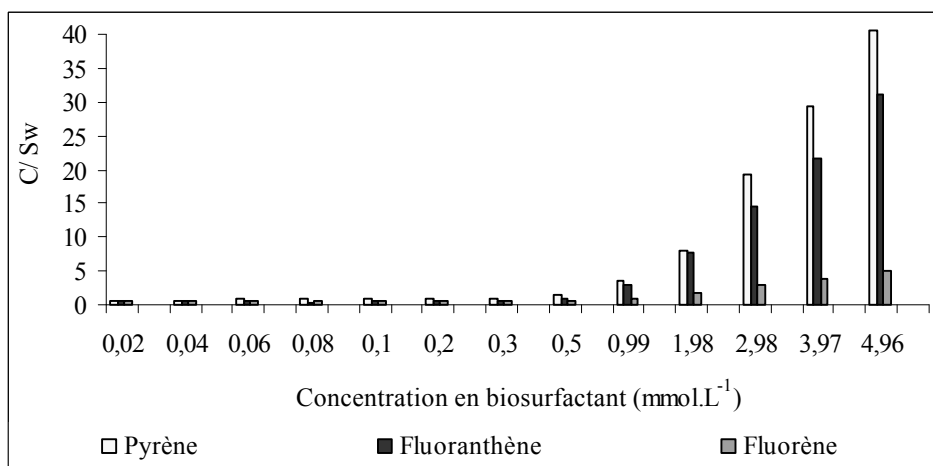


Figure 30 : Augmentation de la solubilité apparente des HAP en fonction de la concentration en 57SJ

Plusieurs auteurs ont essayé de corréler les coefficients de partage micelle/eau ( $K_m$ ) et de partage octanol/eau ( $K_{ow}$ ). Ces études ont jusqu'ici été effectuées à partir de tensioactifs chimiques, anioniques ou non ioniques. Edwards *et al.* (1991) et Li et Chen (2002) obtiennent des pentes de 0,78 et 0,85 respectivement. Dans notre cas, et bien que nous ne disposions que de trois points, nous obtenons des valeurs légèrement différentes (Figure 31). Ceci peut être expliqué principalement par la nature du surfactant utilisé et des molécules le constituant, mais aussi la température à laquelle les expérimentations sont réalisées. En effet, Li et Chen (2002) indiquent qu'une élévation de température de 15 à 30 °C augmente le nombre d'agrégation du Tergitol 15-S-7 de 65 % et cela favorise la micellisation des HAP et donc augmente les valeurs de RMS.

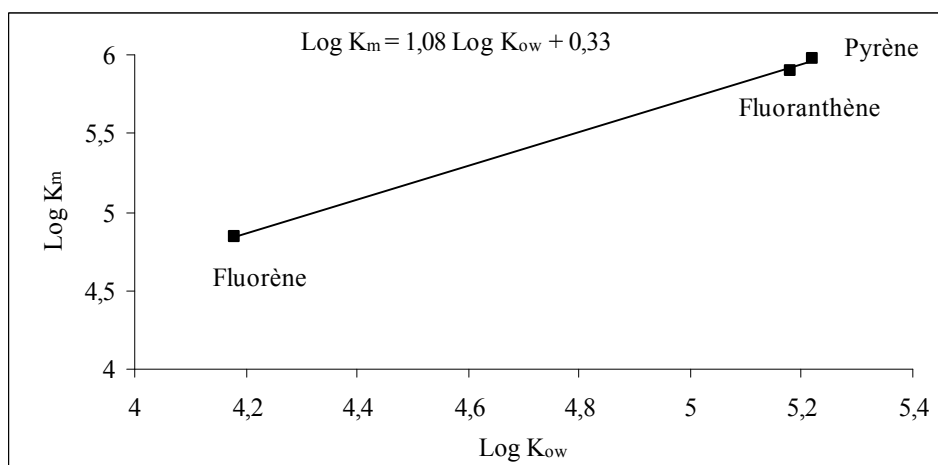


Figure 31 : Corrélation entre les log  $K_{ow}$  et log  $K_m$  pour les trois HAP dans une solution de 57SJ de concentration égale à  $2,5 \text{ g.L}^{-1}$

### II.1.3. Solubilisation en mélange ternaire

Comme nous l'avons souligné dans la revue bibliographique, la pollution ne concerne jamais un seul composé. Généralement, d'autres molécules, différentes ou du même type s'y retrouvent également. C'est pourquoi nous avons choisi de compléter les résultats obtenus en composé simple par une étude en mélange ternaire équimolaire de chaque HAP.

Les courbes représentant la solubilité des HAP en fonction de la concentration en biosurfactant en mélange ternaire sont similaires à celles obtenues à la Figure 29, aussi, elles ne seront pas présentées ici.

Tableau 25 : Coefficients de partage octanol/eau et micelle/eau des HAP seuls ou en mélange

		Fluorène	Fluoranthène	Pyrène
	Log $K_{ow}$	4,18	5,22	5,18
HAP seul	Log $K_m$	$4,91 \pm 0,01$	$5,80 \pm 0,09$	$5,76 \pm 0,05$
Mélange ternaire	Log $K_m$	$4,84 \pm 0,01$	$5,90 \pm 0,09$	$5,98 \pm 0,05$

Le Tableau 25 répertorie les valeurs des coefficients de partage obtenus en considérant les HAP de façon indépendante ou en mélange. Nous pouvons distinguer deux comportements différents : l'un suivi par le pyrène et le fluoranthène qui sont des HAP possédant une hydrophobicité très voisine, et l'autre par le fluorène, HAP le plus soluble de cette étude. Dans le premier cas, nous constatons que le  $K_m$  des deux HAP a augmenté, et dans le second qu'il a diminué. Ceci est lié à l'effet synergétique des HAP entre eux.

Si les solutés entrent en compétition lors de la solubilisation micellaire, il va y avoir une diminution de solubilité d'un soluté en présence d'autres molécules (Chaiko *et al.*, 1984 ; Guha *et al.*, 1998 ; Chun *et al.*, 2002 ; Prack et Pritchard, 2002). En effet, des composés plus hydrophobes comme le pyrène ou le fluoranthène déplacent probablement le fluorène (beaucoup moins hydrophobe que ses congénères) du cœur des micelles et diminuent ainsi sa

solubilité apparente. Inversement, un composé tel que le fluorène modifie peu la solubilité apparente de composés hydrophobes car il est peu compétitif du pyrène et du fluoranthène lors de la partition micellaire.

De plus, le volume à l'intérieur des micelles est limité. Aussi, les HAP les plus hydrophobes vont réaliser des liaisons énergétiquement plus fortes avec l'intérieur des micelles par rapport au HAP moins hydrophobe. Dans ces conditions, le fluorène se retrouve à la région interfaciale du cœur hydrophobe, ce qui réduit les tensions interfaciales entre l'eau et la pseudo-phase hydrophobe. La tension interfaciale ainsi réduite peut supporter un volume de cœur micellaire plus grand pour la même énergie interfaciale et provoque ainsi une diminution du  $K_m$  du fluorène.

Ces études en systèmes statiques montrent qu'en présence de plusieurs polluants, des synergies peuvent apparaître et ainsi modifier le comportement individuel des polluants. Afin d'optimiser les rendements de traitements, il est donc nécessaire d'étudier l'interaction qu'ont les polluants entre eux. Cependant, pour pouvoir extrapoler ces résultats à des traitements réels, il est nécessaire d'effectuer des expériences en système dynamique, c'est à dire des colonnes de sol.

## II.2. Etude en système dynamique

Les colonnes de sol utilisées pour l'étude ont été décrites dans le paragraphe III.4.1 de la partie "Matériels et Méthodes". Pour rappel, les colonnes, réalisées avec l'horizon A, subissent une phase de stabilisation à l'EUP puis le biosurfactant est injecté à un débit de  $0,4 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$  soit une vitesse de pore de  $21 \text{ cm} \cdot \text{h}^{-1}$ . Pour les conditions expérimentales choisies, les porosités sont proches de  $0,41 \pm 0,01$ , et les volumes de pores  $V_p$  sont proches de  $8,19 \pm 0,17 \text{ mL}$ .

La concentration en biosurfactant est de  $2,5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ . En effet, comme la solubilisation des HAP est proportionnelle à la concentration en tensioactif, nous avons choisi de nous placer dans les conditions les plus favorables en terme d'extraction et permettant de rester dans des coûts raisonnables.

### II.2.1. Etape de saturation en eau du sol

Lors des expériences en colonnes de sol, il est nécessaire de procéder à une étape de saturation par de l'EUP afin de saturer le sol en eau et de stabiliser la concentration en carbone organique dissous (COD) à l'effluent avant l'injection du biotensioactif (Figure 32).

Un électrolyte support aurait pu être utilisé pour réaliser l'étape de stabilisation, cependant les ions en solution sont reconnus pour avoir une incidence sur le volume des micelles et donc sur la remobilisation des HAP. C'est pourquoi nous avons travaillé avec de l'EUP.

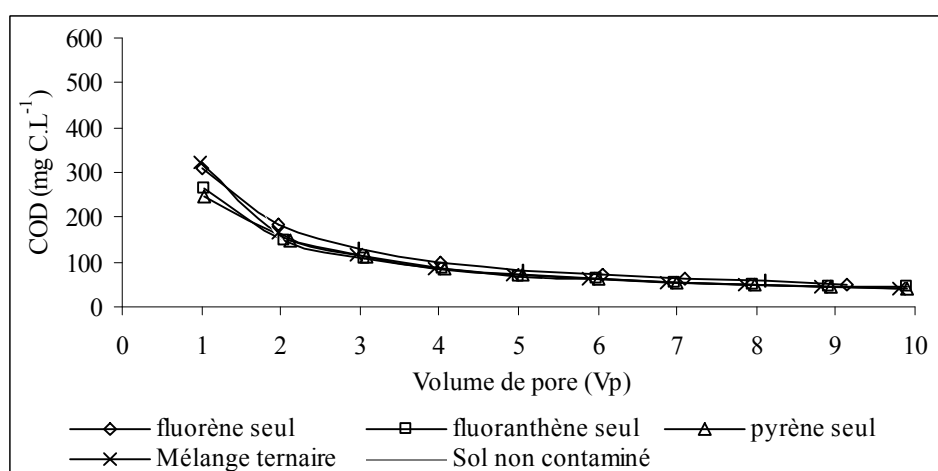


Figure 32 : Evolution de la concentration en COD dans l'effluent des colonnes au cours de l'étape de saturation en eau du sol lors des différents essais

La Figure 32 montre qu'au premier volume de pore élué, la concentration en COD est élevée, avec des valeurs pouvant atteindre 600 mg C.L<sup>-1</sup>. Lors des différents essais réalisés, nous avons observé des écart-types de l'ordre de 40 mg C.L<sup>-1</sup>. Après ce premier volume de pore (V<sub>p</sub>) d'eau injectée, le contenu en COD de l'effluent diminue très rapidement et se stabilise à partir du huitième volume de pore à 25 mg C.L<sup>-1</sup>. Cette stabilisation du taux de carbone permet l'injection du tensioactif. En effet, une concentration variable en COD de l'ordre de 600 mg C.L<sup>-1</sup> lors de l'injection du tensioactif pourrait avoir un impact mesurable sur la remobilisation des HAP. Après percolation de 10 V<sub>p</sub> d'EUP, la quantité de COD lessivé représente moins de 4 % du COD initialement présent dans les colonnes de sol.

La Figure 33 montre le suivi de la concentration en HAP en fonction des volumes de pore d'EUP percolés dans la colonne. Avant injection du tensioactif (V<sub>p</sub> < 10), les HAP ne sont pas ou peu remobilisés. Par exemple, pour le fluorène, qui est le HAP le plus soluble de l'étude, moins de 0,1 % de la masse initialement présente dans le sol est remobilisée. La concentration dans l'effluent est faible (0,025 mg.L<sup>-1</sup>) et reste constante au cours des dix premiers volumes de pore. Cette concentration demeure très faible par rapport à la solubilité du fluorène dans l'eau (1,9 mg.L<sup>-1</sup>). Ce résultat peut être lié en partie aux conditions hydrodynamiques (vitesse de pore élevée) qui créent un état de non équilibre pour la solubilisation du HAP ou peut être lié aux propriétés hydrophobes des HAP, qui les rend peu solubles dans l'eau.

Les deux autres HAP, beaucoup plus hydrophobes, ne sont pas remobilisés. Des résultats similaires ont été obtenus par Thiem *et al.* (1997) sur un sol réellement contaminé, dont les taux de contamination en pyrène et fluoranthène initialement présents dans le sol étaient respectivement de 448 et 681 µg.g<sup>-1</sup>. La concentration dans l'effluent obtenue pour ces deux HAP est inférieure à 50 µg.L<sup>-1</sup>. De même, Lafrance et Lapointe (1998) ont remobilisé moins de 0,6 % du pyrène total pour un taux de contamination du sol identique au nôtre, et un taux de COD plus faible. Aux concentrations utilisées lors des expériences de remobilisation (50 µg.g<sup>-1</sup> de sol sec), il apparaît normal de ne pas mobiliser ces deux hydrocarbures. Ainsi, l'eau seule possède une très faible capacité à mobiliser les HAP du sol. Ceci est d'autant plus

évident que le COH étudié est hydrophobe : par exemple, une étude réalisée par Roy *et al.* (1994) sur un sable contaminé par de l'antracène a montré que ce HAP n'était pas remobilisé. Le taux de carbone organique du sol explique également ces résultats. Une étude réalisée par Bordas et Lafrance (2001) sur l'horizon B contaminé par le pyrène (50  $\mu\text{g.g}^{-1}$  de sol), révèle que moins de 1,5 % du pyrène initial était remobilisé pendant cette phase. La différence de teneur de CO explique cet écart de remobilisation.

Au cours de cette étape de saturation en eau, le pH des fractions recueillies a été vérifié et est proche de 7,2, sachant que le  $\text{pH}_{\text{eau}}$  du sol est de  $7,5 \pm 0,3$ . De plus, aucune variation de ce paramètre n'a été observée.

Ainsi, après injection de 10  $V_p$  d'EUP, les conditions de pH et de COD étaient stables pour débiter l'injection du tensioactif.

### II.2.2. Etude en composé simple

Pour chaque graphique de cette sous-partie, l'étape de saturation en eau est d'abord représentée, suivie de celle de la mobilisation des polluants par le tensioactif. Toutes les courbes sont issues d'une moyenne de deux essais, et dans tous les cas les écarts sont inférieurs à 5 %.

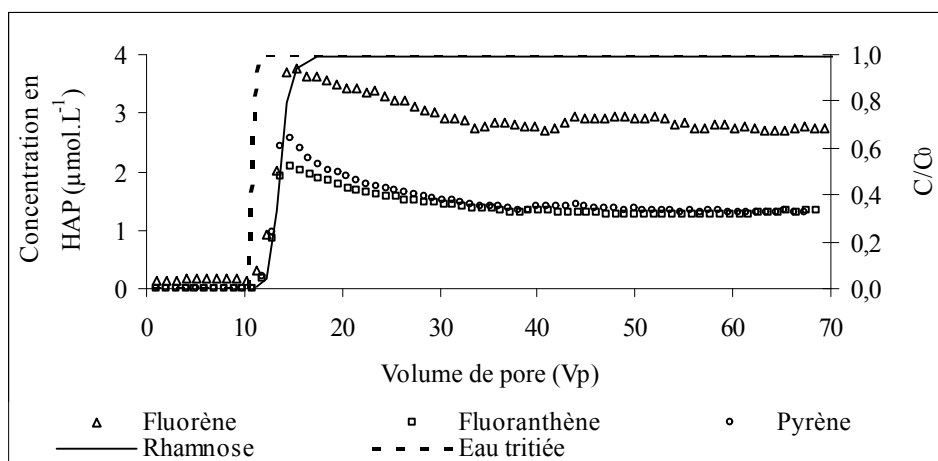


Figure 33 : Concentration en HAP des percolats pour l'étude en composé simple

#### II.2.2.1. Rhamnose

La solution de biotensioactif ( $2,5 \text{ g.L}^{-1}$ ) a été injectée après stabilisation des colonnes pendant dix volumes de pores avec de l'EUP. Le dosage du rhamnose permet de suivre la concentration du surfactant à l'effluent de la colonne. La Figure 33 montre qu'à partir de cinq volumes de pore de solution tensioactive injectée, la concentration relative du biosurfactant se stabilise à 1. La totalité du biotensioactif injecté se retrouve alors en sortie de colonne, il n'y a donc pas de perte par dégradation ou précipitation.

Le retard relatif du biosurfactant par rapport au traceur (R) a été déterminé par le rapport des aires comprises en-dessous des courbes de fuite du traceur et du biosurfactant.

Une telle approche a été utilisée par Noordman *et al.* (2000 b) pour des biosurfactants dont l'isotherme d'adsorption n'était pas linéaire.

La valeur obtenue pour le facteur retard est de 1,24. A titre de comparaison, Noordman *et al.* (1998) obtiennent un facteur retard de 7,2 pour l'UG2 dont la concentration est égale à  $0,5 \text{ g.L}^{-1}$ , ces auteurs ayant travaillé à la même vitesse de pore sur un sol différent. Les valeurs des facteurs retard dépendent à la fois du débit utilisé, mais aussi de la concentration initiale en tensioactif. En effet, plus cette concentration est élevée et plus le facteur retard est faible.

Le faible facteur retard obtenu ainsi que le nombre limité de volumes de pores pour atteindre une concentration relative en tensioactif égale à un indiquent qu'il existe une faible interaction entre le biotensioactif et le sol.

La quantité de biotensioactif sorbée au cours des expériences peut être quantifiée. En effet, l'intégration de l'aire sous jacente à la courbe de percée du traceur et sous jacente à celle du biotensioactif ( $C/C_0 = 1$ ) nous permet d'obtenir une valeur de  $0,954 \text{ g.kg}^{-1}$ . Cette valeur est éloignée de celle obtenue en système statique ( $3,61 \text{ g.kg}^{-1}$ ). Ceci est lié aux conditions hydrodynamiques utilisées qui ne permettent pas d'obtenir des conditions d'équilibre. En effet, le temps de séjour dans la colonne est de 20 minutes, or nous avons établi qu'en système statique, l'équilibre était obtenu au bout de 24 h. Dans les conditions dynamiques choisies, le biosurfactant n'a pu être pas accès à la totalité de la porosité du sol. Pour vérifier cette hypothèse, il serait nécessaire de faire des expériences à des débits différents, et/ou de faire des colonnes en "stop-flow", c'est à dire en stoppant pendant un temps "t" l'écoulement du tensioactif. Cet écart peut également être attribué à la présence de forces de cisaillement lors de l'écoulement. Ces forces peuvent gêner voir empêcher la formation des hémimicelles à la surface et ainsi défavoriser la sorption. Noordman *et al.* (2000 a) ont obtenu des résultats similaires lors d'études en batch et en colonne avec différents sols et de l'UG2.

#### II.2.2.2. Impact du tensioactif sur la mobilisation des HAP

La deuxième partie de la courbe (Figure 33) montre l'influence du tensioactif sur la remobilisation des HAP. Nous observons que son effet est immédiat. En effet, lors de l'injection du surfactant, il y a une augmentation rapide de la concentration en HAP en solution, et ce, dès le premier volume de pore. En effet, l'eau dans la colonne est progressivement remplacée par la solution de biosurfactant et permet ainsi une augmentation de la solubilité apparente des polluants. Un maximum est atteint pour chaque HAP après percolation de  $5 V_p$  de biotensioactif. Ce maximum est à relier avec celui obtenu par le biosurfactant ( $C/C_0=1$ ). Ce maximum de solubilité peut être lié à une fraction de HAP adsorbé plus facilement accessible au biosurfactant et peut être dû en partie à la solubilisation rapide d'une fraction de HAP qui existerait sous forme de cristaux par suite de la contamination artificielle du sol (Lafrance et Lapointe, 1998). Bien que ce maximum de solubilisation soit significatif, son importance en terme de traitement reste faible. En effet, la fraction facilement remobilisable représente moins de 2 % du pourcentage cumulé total (Figure 34).

Pour ce maximum de solubilisation, nous avons calculé le rapport entre la concentration en solution et la solubilité aqueuse théorique de chaque HAP. Les valeurs

varient suivant la molécule considérée. En effet, il est de 0,33 pour le fluorène, de 1,63 pour le fluoranthène et de 3,86 pour le pyrène. Ainsi le 57SJ s'associe préférentiellement aux molécules les plus hydrophobes. Ces résultats obtenus en système dynamique sont en accord avec ceux obtenus lors des expériences de solubilisation en batch, et coïncident également avec ceux obtenus par Falatko et Novak (1992), Roy *et al.* (1997), Thiem *et al.* (1997), Mccray et Brusseau (1998) et Noordman *et al.* (2000 b). Thiem *et al.* (1997) obtenaient lors d'essais en colonnes de sol, et avec des concentrations en tensioactif chimique de type non ionique égales à  $5 \text{ mmol.L}^{-1}$ , des concentrations en solution de fluoranthène et de pyrène égale à 50 fois leur solubilité et pour le chrysène, beaucoup plus hydrophobe, des valeurs supérieures à 1000 fois sa solubilité dans l'eau pure. Il faut cependant noter que le transfert de masse d'un HAP dépend de sa concentration initiale dans les sols (Thiem *et al.*, 1997) ainsi que de l'âge de la contamination (Hatzinger et Alexander, 1995). A concentration de HAP égale ( $50 \mu\text{g.g}^{-1}$  de sol), il semblerait que le fluorène ait un transfert de masse limité par rapport aux deux autres HAP. Pour expliquer ce phénomène, deux paramètres sont à prendre en compte : la sorption entre le HAP et le sol, décrit par le coefficient  $K_d$ , mais aussi la partition du HAP entre les micelles et l'eau, décrit par le coefficient  $K_m$ . Le fluorène est moins hydrophobe que les deux autres HAP de l'étude, il aura donc tendance à se sorber moins fortement sur la MO du sol. Cependant, l'étude en système statique montrait que le fluorène possédait le plus petit coefficient de partage micelle/eau ( $K_m$ ). Ainsi, du fait de sa moins grande proportion à se solubiliser dans les micelles, le fluorène voit sa solubilité apparente le moins augmenter.

Lorsque l'on compare les valeurs obtenues pour le RMS, sans sol, le rapport  $C/S_w$  est beaucoup plus élevé (Figure 30). Pour une concentration en biosurfactant égale à  $4,96 \text{ mmol.L}^{-1}$  ( $2,5 \text{ g.L}^{-1}$ ), ce rapport est de 40 pour le pyrène, de 31 pour le fluoranthène et de 5 pour le fluorène. Les interactions sol/HAP sont donc énergétiquement plus élevées que celles entre biosurfactant et HAP. De plus, le sol utilisé possède un taux de carbone relativement élevé qui facilite la sorption des molécules hydrophobes.

Suite à ce maximum, nous observons une lente décroissance de la concentration de HAP en solution, puis, à partir de 35-40  $V_p$ , un régime stationnaire est atteint : les concentrations solubilisées restent constantes. Ce résultat suggère qu'il existe une fraction de HAP facilement extractible, associée ou non avec une fraction de la MO. La portion de la courbe (Figure 33) où le relargage de HAP est plus lent peut être attribué à une fraction de HAP plus fortement liée à la MO moins accessible par le biosurfactant.



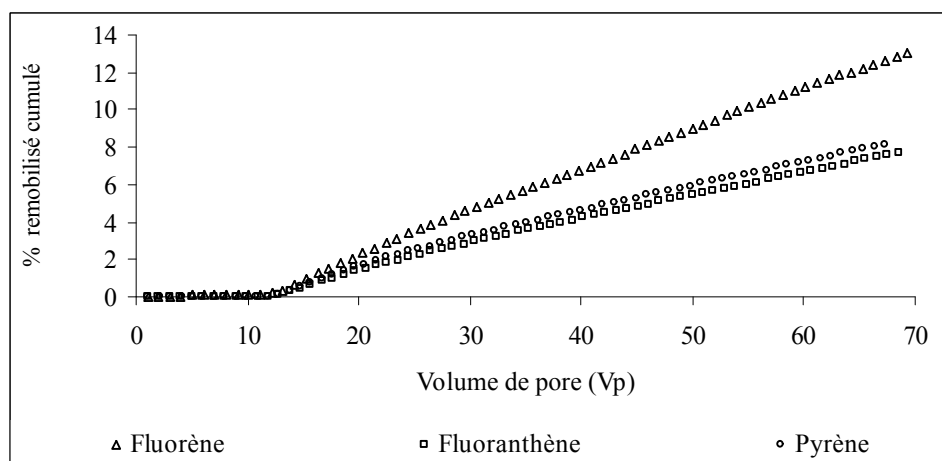


Figure 34 : Pourcentage cumulé de remobilisation des HAP seuls

La Figure 34 représente le pourcentage cumulé de remobilisation de chaque HAP en fonction des volumes de pore de solution tensioactive injectée. Nous constatons que le fluoranthène et le pyrène ont un comportement similaire et sont remobilisés en même quantité ; ceci semble être lié aux propriétés physico-chimiques proches de ces deux HAP. Après percolation de  $60 V_p$  de biotensioactif dans les colonnes, le pourcentage cumulé s'élève à 7 %, alors que pour le fluorène, il est de 14 %. Si nous considérons une remobilisation linéaire jusqu'à élimination de 100 % des HAP, il faudrait théoriquement percoler  $500 V_p$  pour obtenir de tels rendements avec le fluorène et le double pour les deux autres HAP. Des courbes similaires ont été obtenues par Noordman *et al.* (1998), sur différents sols contaminés artificiellement par du phénanthrène et avec un biosurfactant anionique ( $C=0,5 \text{ g.L}^{-1}$ ), l'UG2 ; ces auteurs ayant utilisés des vitesses de pores de  $90 \text{ cm.h}^{-1}$ . Nos courbes restent dans la phase ascendante de pourcentage cumulé remobilisé, car les volumes de tensioactif percolés sont plus faibles. Les rendements obtenus lors de nos expériences sont moins élevés que ceux de Noordman *et al.* (1998). En effet, après percolation de  $70 V_p$ , leurs rendements sont proches de 80 %. Deux phénomènes peuvent expliquer la différence observée. D'une part le HAP étudié, le phénanthrène est moins hydrophobe que les trois molécules de notre étude, il est donc plus facilement remobilisé. D'autre part, les sols de cette étude sont faiblement chargés en CO (de 0,03 à 0,36 %), et retiennent donc moins les HAP. Enfin, il se pourrait que le tensioactif n'ait pas totalement accès aux HAP, du fait des conditions hydrodynamiques utilisées.

Afin de comparer l'efficacité du biosurfactant injecté à mobiliser les HAP, nous avons calculé la masse de HAP éliminée pour  $60 V_p$  de solution tensioactive percolée par gramme de biosurfactant. Les valeurs obtenues sont de  $120 \mu\text{g.g}^{-1}$  de biosurfactant,  $111 \mu\text{g.g}^{-1}$  et  $193 \mu\text{g.g}^{-1}$  respectivement pour le pyrène, le fluoranthène et le fluorène : ainsi le biosurfactant étudié remobilise préférentiellement les HAP moins hydrophobes. A titre de comparaison, Lapointe (1996) a obtenu, dans les mêmes conditions dynamiques, sur l'horizon B et avec de l'UG2 ( $2,5 \text{ g.L}^{-1}$ ) un taux de  $2520 \mu\text{g.g}^{-1}$ . Cette différence s'explique principalement par la différence de taux de CO contenu dans les horizons de ce sol.

II.2.2.3. COD et pH

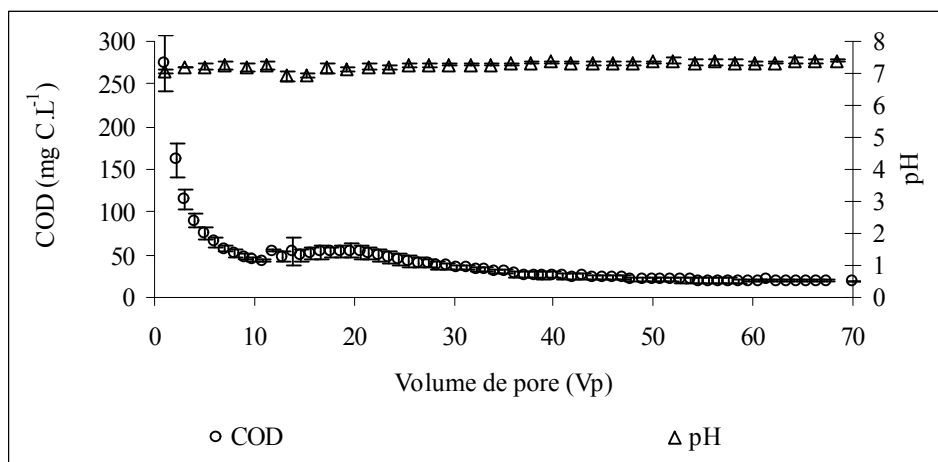


Figure 35 : Suivi du COD et du pH

Une estimation du COD et des mesures de pH ont été réalisées pour toutes les fractions percolées. Jusqu'à 10  $V_p$ , il y a une diminution régulière de la concentration en COD ; cela indique que la matière organique dissoute est entraînée par l'EUP. Puis le biosurfactant est injecté. La Figure 35 montre que le tensioactif interagit faiblement avec la matière organique du sol. En effet, durant la remobilisation, la concentration en COD à l'effluent des colonnes n'augmente que très légèrement durant l'injection de biosurfactant. Celui-ci a donc un faible impact sur le carbone organique du sol. De plus, il semblerait que seuls les HAP "libres" soient remobilisés plutôt qu'un complexe matière organique-HAP. En effet, la solubilité apparente des HAP atteint un maximum après percolation de 5  $V_p$  de biosurfactant alors que le maximum de concentration du COD est obtenu après 2  $V_p$ . Ceci est en accord avec Bordas et Lafrance (2001) qui ont obtenu des résultats similaires avec le pyrène seul.

Le pH n'évolue pas au cours de l'expérience et reste constant à une valeur de  $7,3 \pm 0,3$ , ce qui correspond au pH du sol dans l'eau pure.

II.2.3. Etude en mélange ternaire

Après avoir étudié le comportement des polluants dans des systèmes simples, l'étape suivante est une étude en mélange ternaire. En effet, actuellement il existe peu d'études réalisées en système dynamique avec des sols contaminés par plusieurs polluants. Une représentation des courbes comparant composé simple et composé en mélange ternaire a été choisie. En effet, les courbes obtenues présentent les mêmes tendances. Ainsi, en procédant de cette façon, nous avons pu remarquer deux types de comportement : celui des molécules fortement hydrophobes (fluoranthène et pyrène) et celui du fluorène, qui est le HAP le moins hydrophobe de l'étude.

Nous avons également vérifié que les taux de COD et les valeurs de pH ne variaient pas lorsque le milieu contenait des HAP seuls ou en mélange. Il en est de même pour le dosage du rhamnose.

II.2.3.1. Comportement du pyrène et du fluoranthène

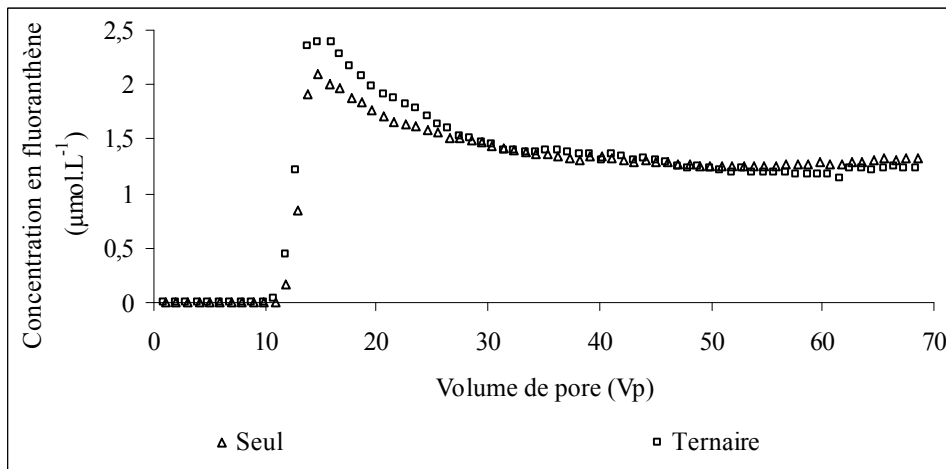


Figure 36 a : Comportement du fluoranthène seul et en mélange ternaire

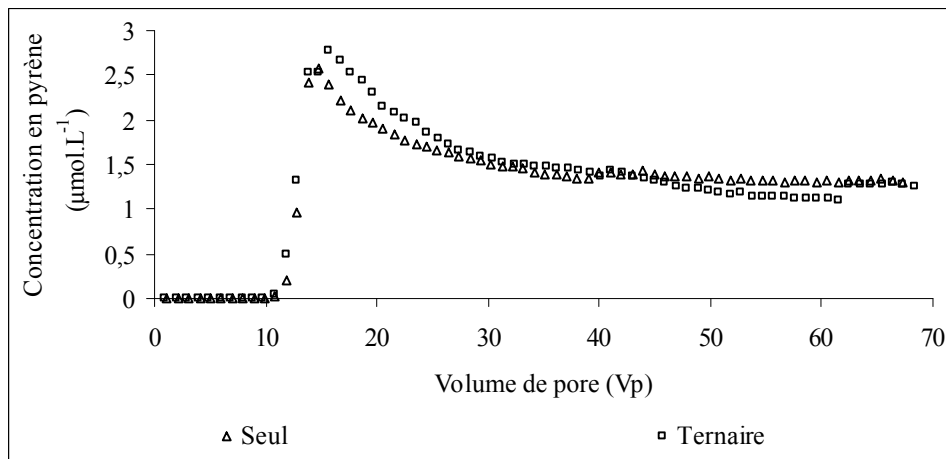


Figure 36 b : Comportement du pyrène seul et en mélange ternaire

Les Figures 36 a et b représentent les concentrations des lixiviats des colonnes en fonction des volumes de pore de solution tensioactive injectée. Comme dans le cas des HAP seuls, la phase de stabilisation de la colonne ne permet pas de remobiliser les deux HAP hydrophobes. L'injection du biosurfactant entraîne une augmentation rapide de la solubilité apparente des molécules, suivie d'une décroissance et d'un plateau. La partie initiale de la courbe montre que les solubilités apparentes des deux HAP les plus hydrophobes sont plus élevées en mélange ternaire que lorsque les molécules sont seules. Au bout de 40  $V_p$  totaux, les paliers des deux courbes se rejoignent. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus lors de l'étude en système statique. Il faut cependant noter que ceci est valable pour la fraction de HAP la plus facilement remobilisable ou facilement accessible. Ensuite, quand cette fraction est épuisée, les interactions entre la MO et les HAP prédominent ou l'encapsulation dans des sites plus profonds pourraient expliquer le phénomène observé.

II.2.3.2. Comportement du fluorène

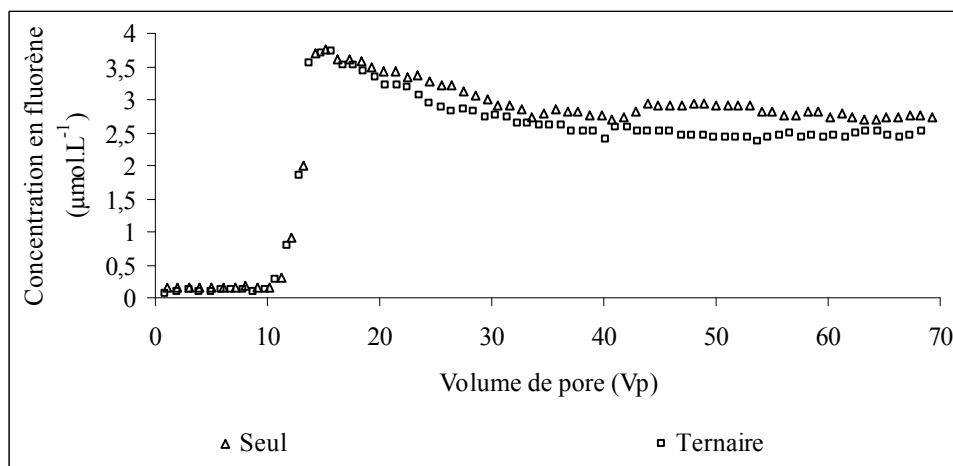


Figure 37 : Comportement du fluorène seul et en mélange ternaire

De façon similaire, nous avons tracé la Figure 37. Dans ce cas, la solubilité apparente du fluorène est légèrement plus faible en mélange ternaire qu'en composé seul. Ce résultat confirme ce qui a été observé lors de l'étude en système statique, à savoir que le fluorène, HAP le moins hydrophobe de l'étude, facilite la solubilisation des deux HAP les plus hydrophobes à l'interface micelle/eau. Il faut cependant noter que les écarts entre les valeurs obtenues en système ternaire et en système simple sont moins flagrants que ceux obtenus en système statique lors de la détermination du RMS. On peut penser que ces écarts sont atténués sous l'effet des interactions HAP/MO énergétiquement plus élevées que celles intervenant entre les micelles et les polluants.

II.3. Comparaison de l'efficacité de l'UG2 et du 57SJ à solubiliser le fluoranthène et le pyrène

Le tensioactif utilisé pour l'étude a été produit à partir d'une souche bactérienne récemment isolée d'un sol contaminé. Afin d'évaluer ses capacités de solubilisation, nous avons comparé en système dynamique (horizon A), le comportement des deux HAP les plus hydrophobes avec le même sol, mais avec un biosurfactant produit par une souche de *Pseudomonas aeruginosa* UG2. Ce biotensioactif est connu depuis plusieurs années et a fait l'objet de nombreuses études.

II.3.1. Caractérisation du biosurfactant

L'UG2 est un biosurfactant anionique qui a été produit à partir d'une souche de *Pseudomonas aeruginosa* UG2 en utilisant le glucose comme substrat de croissance.

Nous avons déterminé ses principaux paramètres physico-chimiques, à savoir sa masse molaire apparente, sa composition, sa CMC et son pourcentage de rhamnose. Les expériences sont les mêmes que celles réalisées avec le 57SJ.

## RESULTATS ET DISCUSSION - Efficacité du biosurfactant à solubiliser les HAP

### II.3.1.1. Masse molaire apparente et composition

La masse molaire apparente a été déterminée par CLHP-MS-MS (source : INRS-IAF et INRS-ETE) et par titration. La valeur obtenue pour la CLHP est de  $646 \text{ g.mol}^{-1}$ , et celle obtenue par titration est de  $574 \text{ g.mol}^{-1}$ . La composition, déterminée par CLHP-MS-MS est présentée dans le Tableau 26.

Tableau 26 : Pourcentage relatif des constituants du mélange de rhamnolipides de l'UG2

Monorhamnolipides								
	C <sub>8</sub> C <sub>8</sub>	C <sub>8</sub> C <sub>10</sub>	C <sub>10</sub> C <sub>10</sub>	C <sub>10</sub> C <sub>12</sub>	C <sub>12</sub> C <sub>12</sub>	C <sub>8</sub> C <sub>12:1</sub>	C <sub>10</sub> C <sub>12:1</sub>	C <sub>12</sub> C <sub>12:1</sub>
%	0	0,1	1,1	0,1	0	0	0,1	0

Dirhamnolipides								
	C <sub>8</sub> C <sub>8</sub>	C <sub>8</sub> C <sub>10</sub>	C <sub>10</sub> C <sub>10</sub>	C <sub>10</sub> C <sub>12</sub>	C <sub>12</sub> C <sub>12</sub>	C <sub>8</sub> C <sub>12:1</sub>	C <sub>10</sub> C <sub>12:1</sub>	C <sub>12</sub> C <sub>12:1</sub>
%	0	18,4	66,5	7,1	0,2	0,8	5,3	0,3

Les dirhamnolipides sont donc largement majoritaires : ils représentent 98,6 % du mélange, les monorhamnolipides représentant 1,4 %. Notons de plus qu'il n'y a pas de dilipides dans le milieu. Le 57SJ est respectivement constitué de 30 % et 59,5 % de mono- et dirhamnolipides. Leur composition est assez différente, ce qui va à priori influencer les rendements de remédiation et la sorption du tensioactif.

### II.3.1.2. CMC dans l'EUP et pourcentage de rhamnose

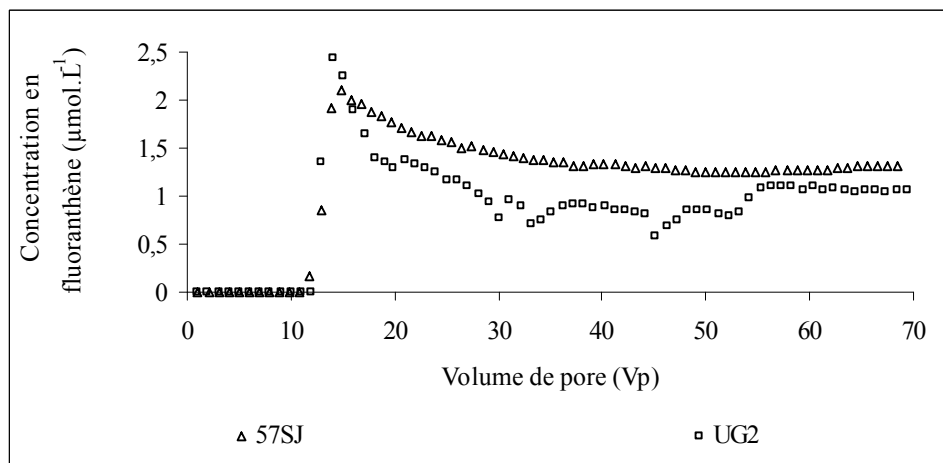
La CMC dans l'EUP du biosurfactant a été obtenue par tensiométrie et s'élève à  $0,08 \text{ g.L}^{-1}$  (soit  $1,39 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ ). Cette valeur est plus faible que celle obtenue avec le 57SJ.

Le pourcentage de rhamnose de l'UG2 est de 49,5 %.

## II.3.2. Remobilisation du pyrène et du fluoranthène (système simple)

### II.3.2.1. Comportement du fluoranthène et du pyrène

a-



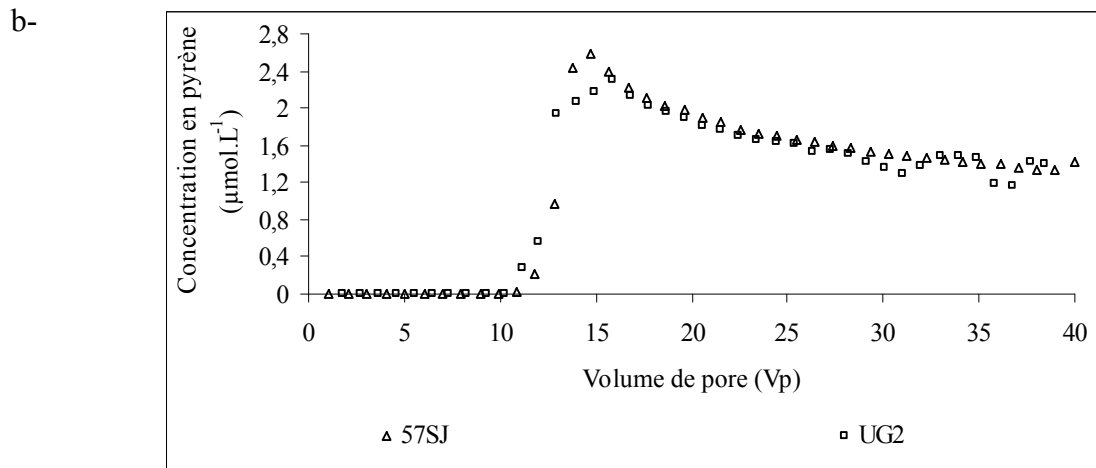


Figure 38 a et b : Influence du biotensioactif sur les concentrations de fluoranthène (a) et pyrène (b) en solution – Horizon A

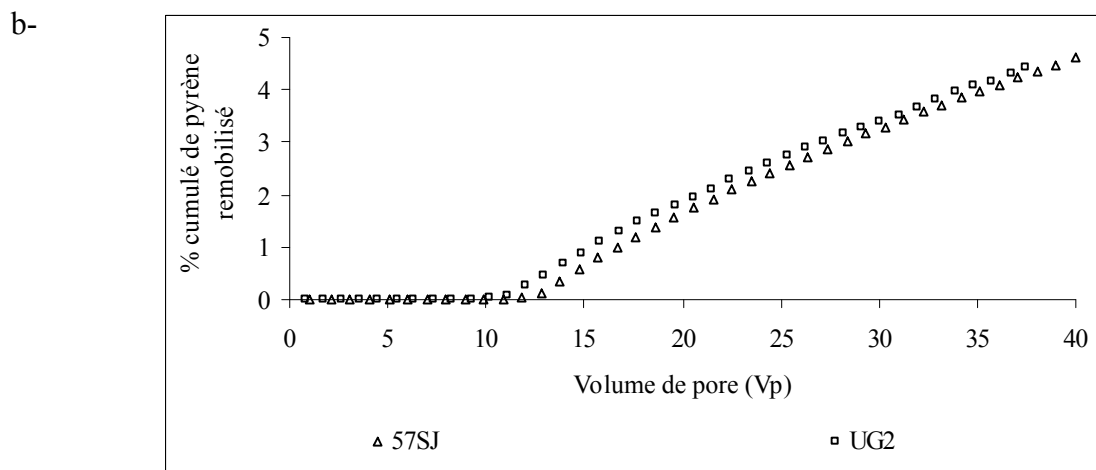
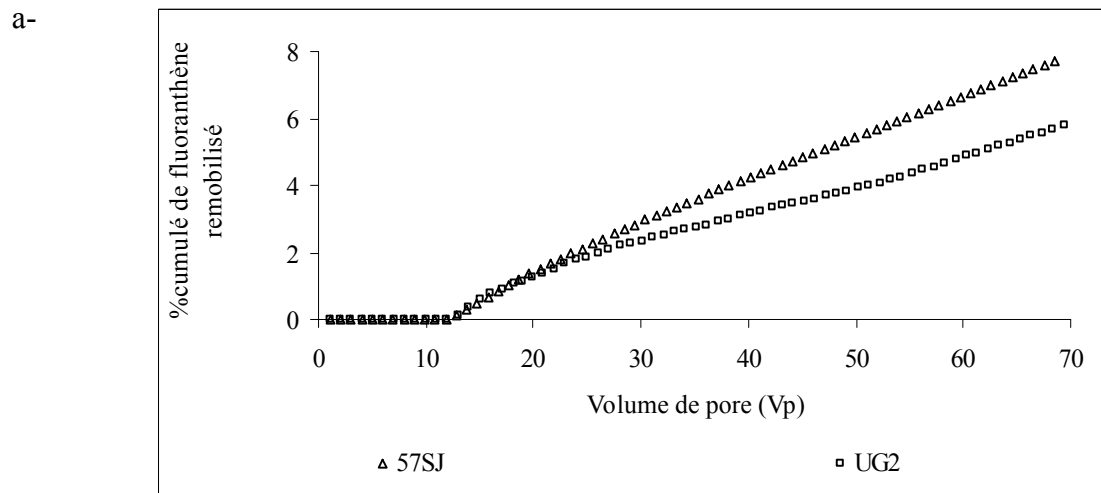


Figure 39 a et b : Influence du biotensioactif sur le pourcentage de HAP cumulé

## RESULTATS ET DISCUSSION - Efficacité du biosurfactant à solubiliser les HAP

Les Figures 38 a et b représentent les concentrations en solution du pyrène et du fluoranthène avec deux biosurfactants différents. Quel que soit le tensioactif, les courbes sont similaires : elles présentent un maximum qui est suivi d'une décroissance régulière. Les Figure 39 a et b représentent le pourcentage de HAP cumulé en fonction des volumes de pore.

Ces figures nous montrent cependant que l'affinité du biotensioactif vis-à-vis des HAP varie : l'augmentation de la solubilité apparente du fluoranthène est plus élevée avec le 57SJ qu'avec l'UG2. Par contre pour le pyrène, nous n'observons pas de différences. Ces différences observées peuvent être liées d'une part à la composition des tensioactifs : l'UG2 est principalement constitué de di-rhamnolipides alors que le 57SJ possède à la fois des mono et di-rhamnolipides ainsi que des dilipides. Ces pourcentages différents créent une polarité différente du tensioactif. L'UG2 majoritairement constitué de molécules possédant deux groupements rhamnose sera plus polaire que le 57SJ. Ainsi, du fait des solubilités différentes des HAP (0,13 et 0,26 mg.L<sup>-1</sup> respectivement pour le pyrène et le fluoranthène) et des différences de polarités, la remobilisation sera plus élevée pour le fluoranthène que pour le pyrène.

### II.3.2.2. COD et pH

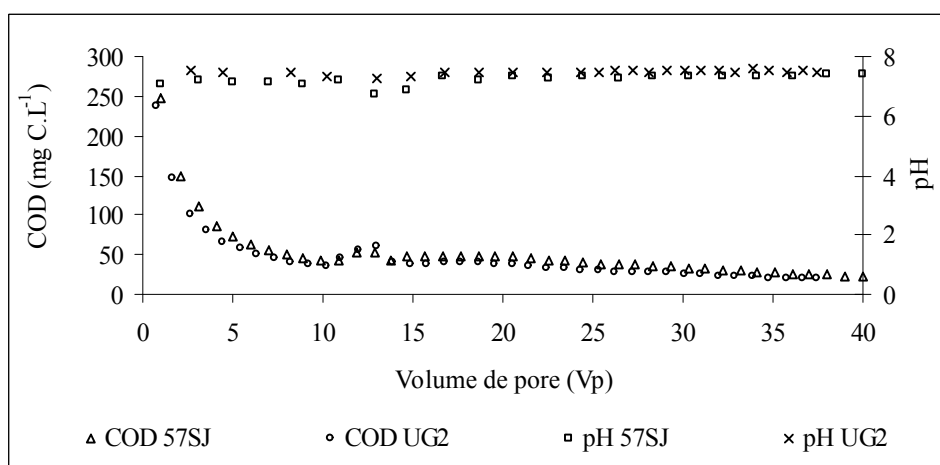


Figure 40 : Suivi du pH et du COD lors de l'injection de deux biosurfactants différents

Dans les deux cas, les biosurfactants utilisés agissent peu sur la MO de l'horizon A étudié ; en effet, le pH demeure constant tout au long de l'expérimentation, et son action sur le COD est réduite.

Les résultats obtenus montrent que le 57SJ présente un fort potentiel pour la remobilisation des HAP. En effet, les taux de remobilisation sont au moins aussi élevés que ceux obtenus avec l'UG2, biosurfactant dont l'efficacité est reconnue dans la littérature.

## II.4. Conclusion

Le biotensioactif 57SJ utilisé pour cette étude est donc un bon candidat à la remédiation ; en effet, il conserve l'intégrité des sols, que ce soit au niveau des pH ou de la

matière organique. De plus, sa faible sorption sur le sol permet d'avoir une concentration en solution plus élevée, et donc lui permet d'être efficace plus rapidement.

Les études réalisées en système statique nous ont permis d'appréhender de façon détaillée les comportements des molécules selon qu'ils étaient seuls ou en mélange. Lorsqu'ils sont seuls, les quantités de HAP remobilisés suivent les paramètres physico-chimiques et en particulier l'hydrophobicité des molécules. En mélange, des interactions supplémentaires sont mises en jeu : le polluant le moins hydrophobe facilite la solubilisation et donc l'élimination des HAP les plus hydrophobes. En effet, il permet de diminuer les tensions interfaciales entre HAP et biosurfactant, permettant ainsi d'augmenter le volume intérieur des micelles pour une même tension de surface.

### III. Influence du taux de contamination sur la remobilisation des HAP

Jusqu'ici, les études ont été menées avec un taux de contamination unique égal à  $0,25 \mu\text{mol.g}^{-1}$ , soit  $50 \mu\text{g.g}^{-1}$  de sol pour les deux HAP les plus hydrophobes, et  $41 \mu\text{g.g}^{-1}$  de sol pour le fluorène. Bien que peu étudiés, les taux de contamination doivent être pris en compte pour appliquer des concentrations en tensioactifs suffisantes pour atteindre les objectifs de dépollution visés.

Dans cette troisième partie du mémoire, les expériences ont été réalisées sur les deux horizons de sol, en système statique et en mélange ternaire. La concentration de la solution tensioactive utilisée pour remobiliser les HAP est de  $2,5 \text{ g.L}^{-1}$  et le taux de contamination du sol a varié entre  $0,05$  et  $10 \mu\text{mol.g}^{-1}$ , soit respectivement pour le fluoranthène et le pyrène une variation de  $10$  à  $2000 \mu\text{g.g}^{-1}$  et pour le fluorène une variation de  $8,2$  à  $1642 \mu\text{g.g}^{-1}$  de sol sec.

#### III.1. Etude cinétique

Une étude cinétique préalable a été réalisée afin de déterminer le temps nécessaire à l'obtention d'un pseudo-équilibre pour chacun des deux horizons. La concentration en HAP est de  $0,25 \mu\text{mol.g}^{-1}$  ( $50 \mu\text{g.g}^{-1}$  pour les deux plus hydrophobes et  $41 \mu\text{g.g}^{-1}$  pour le fluorène) pour chaque HAP.



### III.1.1. Horizon A

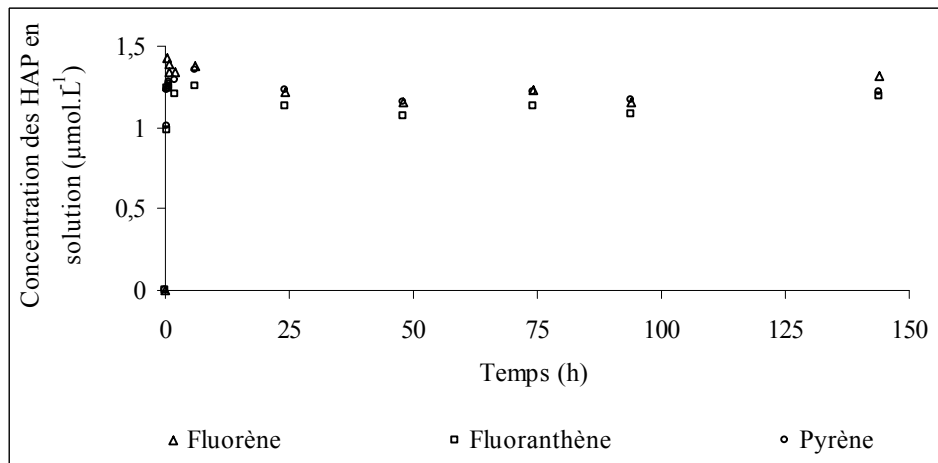


Figure 41 : Cinétique de désorption des trois HAP pour l'horizon A

Pour l'horizon A, l'atteinte d'un équilibre pour la désorption des HAP est obtenue très rapidement ; dès 45 minutes, un palier est atteint. Si on calcule la vitesse apparente de désorption après quinze minutes de temps de contact entre solution tensioactive et sol pour chaque HAP. Les valeurs obtenues sont de  $0,102 - 6,56 \cdot 10^{-2}$  et  $6,76 \cdot 10^{-2} \mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$  respectivement pour le fluorène, le fluoranthène et le pyrène. Donc le fluorène est le HAP qui se désorbe le plus rapidement de cet horizon. Ce phénomène peut être expliqué par l'hydrophobicité moindre de ce composé par rapport à ses congénères. En effet, le pyrène et le fluoranthène, qui ont des  $\log K_{ow}$  similaires, ont des vitesses apparentes de désorption proches.

### III.1.2. Horizon B

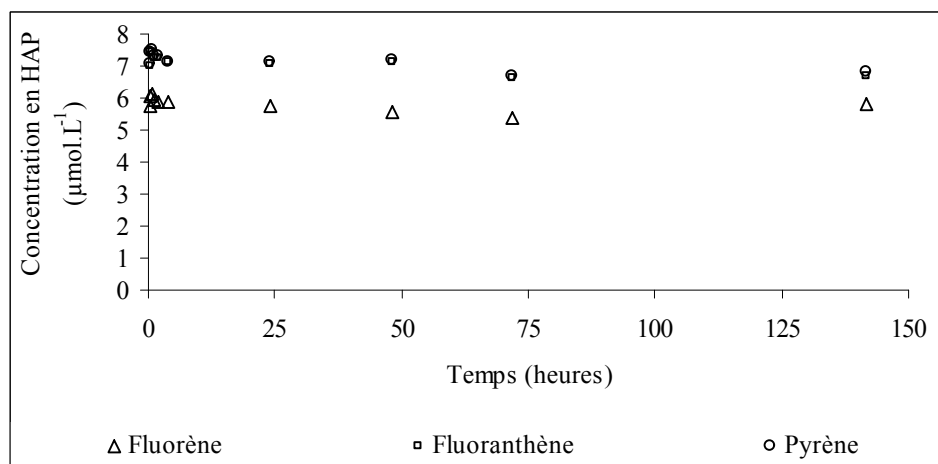


Figure 42 : Cinétique de désorption des trois HAP pour l'horizon B

Pour l'horizon B, la cinétique de désorption semble aussi rapide que dans le cas de l'horizon A. En ce qui concerne les concentrations des HAP en solution, les valeurs obtenues pour l'horizon B sont quatre à cinq fois supérieures à celles obtenues pour l'horizon A. Ces

## RESULTATS – DISCUSSION : Incidence du taux de contamination sur la remobilisation

différences sont liées à la teneur en MO des deux sols. Cependant, dans le cas de l'horizon B, le fluorène, introduit en même quantité molaire que les deux autres HAP, est moins remobilisé que le pyrène et le fluoranthène. De même si nous calculons les vitesses de désorption apparentes (à  $t = 15$  min) de chaque HAP, nous obtenons les valeurs suivantes :  $0,385 - 0,469$  et  $0,469 \mu\text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$  respectivement pour le fluorène, le fluoranthène et le pyrène. Pour cet horizon, le fluorène se désorbe le moins rapidement. Si l'on compare ces vitesses à celles obtenues sur l'horizon A, nous observons qu'elles sont de 3,7 à 7 fois supérieures (pour le fluorène et les deux autres HAP respectivement). On peut donc supposer qu'en plus des écarts entre les teneurs en MO, des interactions de nature ou de force différentes interviennent, comme par exemple des interactions entre HAP et la fraction minérale de l'horizon B.

En parallèle de l'étude cinétique, nous avons effectué des extractions chimiques avec le dichlorométhane sur l'horizon B, afin de comparer l'efficacité obtenue par le tensioactif et une méthode d'extraction dite "dure" par solvant chimique. Les études ont été menées en système statique. Le Tableau 27 récapitule les données obtenues.

Tableau 27 : Rendements d'extraction des HAP par le 57SJ et le dichlorométhane

Technique	Fluorène	Fluoranthène	Pyrène
Biosurfactant	$38 \pm 0,6$	$47 \pm 0,5$	$43 \pm 0,5$
Dichlorométhane	$78 \pm 4$	$96 \pm 3$	$105 \pm 6$

Pour les deux types d'extraction, le fluorène est le HAP qui est le moins extrait des horizons. Du fait de sa plus petite taille, il pourrait avoir accès à des sites en profondeur qui rendent son extraction plus difficile.

Les rendements d'extraction par le dichlorométhane sont très élevés. A titre de comparaison, ceux obtenus avec le biosurfactant sur l'horizon B sont de l'ordre de 40 %, ce qui représente la moitié de ce qui est extrait avec l'extraction chimique.

Bien que moins efficace qu'un traitement chimique ; l'extraction par biosurfactant élimine la fraction la plus mobile des HAP, c'est à dire celle présentant le plus de risques écotoxicologiques. Du fait de leur caractère biologique, les biosurfactants sont moins toxiques pour l'environnement, car ils sont biodégradables.

Il faut cependant garder à l'esprit qu'il subsiste une fraction récalcitrante de HAP à la remobilisation, même dans des conditions d'extractions dures. Dans le cas étudié, le fluorène, HAP le plus soluble et le moins hydrophobe, est celui dont la fraction résiduelle est la plus grande (22 %).

### III.2. Mobilisation en mélange ternaire : Horizon A

Les résultats obtenus sont présentés Figure 43 et Figure 45.

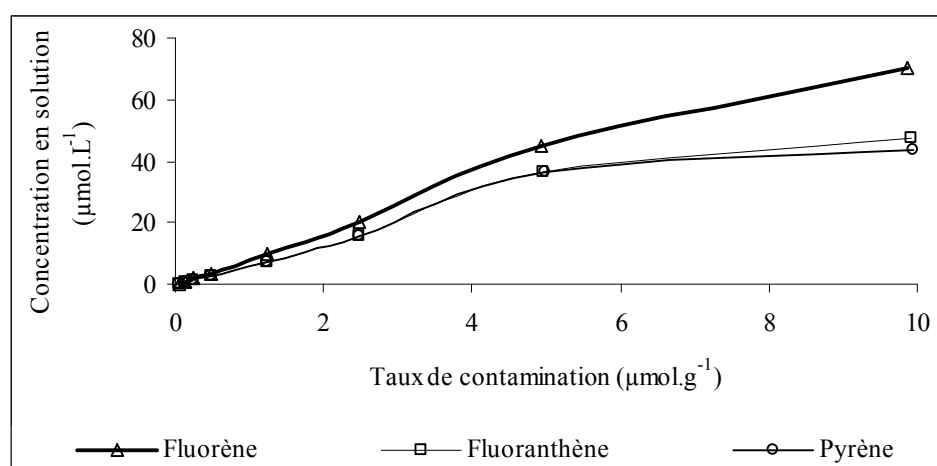


Figure 43 : Concentration remobilisée en fonction du taux de contamination du sol (Horizon A)

La Figure 43 représente les concentrations de HAP en solution en fonction du taux de contamination du sol. Les trois HAP se comportent de la même façon, c'est à dire que la concentration en solution augmente avec le taux de contamination du sol. Nous constatons cependant que les quantités de fluorène remobilisé sont supérieures à celles obtenues pour le fluoranthène et le pyrène, ces deux derniers ayant des concentrations en solution similaires. Il est possible de subdiviser les courbes en deux parties :

Pour des taux de contamination inférieurs à 5 µmol.g<sup>-1</sup> de sol (soit 831 µg.g<sup>-1</sup> pour le fluorène et 1011 µg.g<sup>-1</sup> pour le fluoranthène et le pyrène), nous observons qu'il existe une relation quasi-linéaire entre le taux de contamination et la concentration de HAP solubilisée. Les coefficients de régression, non représentés ici, sont tous supérieurs à 0,99. Ce résultat est en accord avec ceux obtenus par Thiem *et al.* (1997) qui indiquent que le transfert de masse d'un HAP dépend de sa concentration initiale dans les sols.

Le fluorène, qui est le HAP le plus soluble de l'étude, est la molécule qui est la plus solubilisée. La Figure 44 permet de différencier l'action du biosurfactant sur les différents HAP : le pyrène, HAP le plus hydrophobe, présente une augmentation la plus importante de sa solubilité apparente. Pour les taux de contamination les plus élevés, elle est égale à 70 fois sa solubilité. A des taux de contamination inférieurs à 2,5 µmol.g<sup>-1</sup>, et pour ce produit, il existe une relation linéaire entre C/S<sub>w</sub> et le taux de contamination. Le fluoranthène, qui possède une hydrophobicité très proche de celle du pyrène voit sa solubilité apparente multipliée par 36, sachant qu'il a une solubilité double de celle du pyrène. Il semble donc qu'il y ait une relation directe avec la solubilité. Enfin, le fluorène, HAP le plus soluble, est celui qui voit sa solubilité apparente le moins augmenter ; elle est multipliée par 6 et présente une relation linéaire quel que soit le taux de contamination. Son affinité pour le biosurfactant et le sol est moindre que celle de ses congénères. McCray et Brusseau (1998) et Noordman *et al.* (2000 b) ont observé de tels phénomènes avec des HAP et des biosurfactants différents : le HAP le plus hydrophobe est celui qui voit sa solubilité apparente le plus augmenter.

## RESULTATS – DISCUSSION : Incidence du taux de contamination sur la remobilisation

Pour des taux de contamination supérieurs à  $5 \mu\text{mol.g}^{-1}$ , la quantité de HAP solubilisé semble limitée par la quantité de biosurfactant en solution. En effet, un maximum de solubilité est obtenu pour le fluoranthène et le pyrène. Les micelles peuvent être saturées par ces HAP. En effet, ceux-ci possèdent des volumes molaires plus élevés que celui du fluorène.

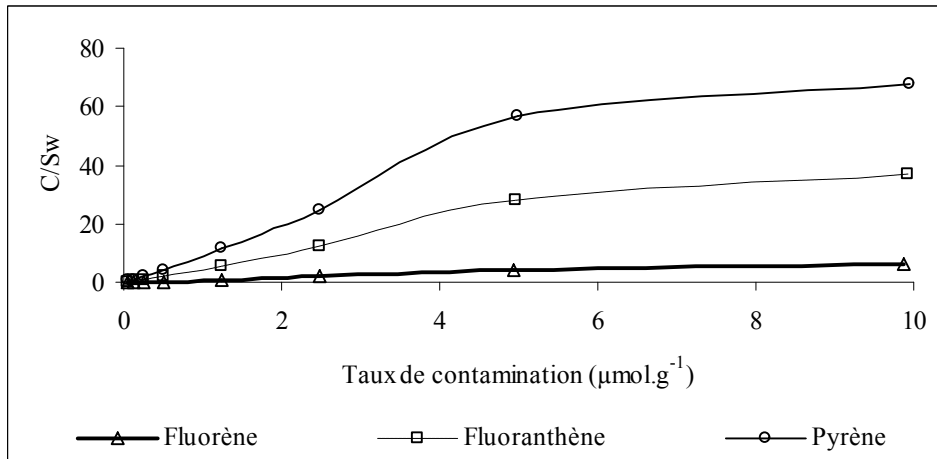


Figure 44 : Augmentation de la solubilité apparente des HAP en fonction du taux de contamination

Afin d'observer l'incidence du sol sur la remobilisation des molécules, nous avons comparé les valeurs de solubilité apparente de chacune d'elles à celles obtenues lors du RMS (Tableau 28).

Tableau 28 : Comparaison des solubilités apparentes obtenues avec ou sans sol pour chaque HAP en mélange ternaire

	Fluorène	Fluoranthène	Pyrène
Solubilité apparente ( $10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ ) pour le RMS	5,84	3,83	2,72
Solubilité apparente maximum ( $10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ ) pour le taux de contamination $10 \mu\text{mol.g}^{-1}$	7,03	4,73	4,34

Dans tous les cas, nous observons que la solubilité apparente des trois HAP est plus élevée en présence de sol. Ce résultat est surprenant car, bien que le surfactant se sorbe peu sur l'horizon, une faible perte de ce dernier s'effectue et cela devrait induire une diminution de cette solubilité. Si nous comparons les résultats pour chaque HAP, nous constatons que le pyrène est la molécule pour laquelle l'effet est plus visible. En effet, la différence de quantité solubilisée est de 37 % pour le pyrène, de 19 et 28 % respectivement pour le fluoranthène et le fluorène. On peut penser qu'une fraction de la MO solubilisée à partir du sol participe à l'augmentation du taux d'élimination des HAP. Du fait de son caractère plus hydrophobe, le pyrène est le composé pour lequel l'effet est plus visible. Cependant, les bases échangeables du sol peuvent également avoir une incidence sur la solubilité. En effet, lors de la mise en contact de la solution tensioactive avec le sol, des cations sont libérés en solutions et vont

## RESULTATS – DISCUSSION : Incidence du taux de contamination sur la remobilisation

augmenter le volume micellaire. Ceci favorise donc la solubilisation des HAP (Bai *et al.*, 1998).

La Figure 45 représente le pourcentage de HAP remobilisé en fonction du taux de contamination du sol. On peut à nouveau subdiviser les courbes en deux parties de part et d'autre de  $5 \mu\text{mol.g}^{-1}$ . En deçà de ce taux, la limite de solubilité n'est pas atteinte, et donc le pourcentage de HAP solubilisé augmente avec le taux de contamination ; ainsi, plus le sol est contaminé et plus la fraction de HAP solubilisé augmente.

Au-delà de  $5 \mu\text{mol.g}^{-1}$ , la concentration de HAP en solution reste constante car la limite de solubilité est atteinte et la quantité de tensioactif est limitante. Ainsi, la solubilisation est limitée et le pourcentage remobilisé diminue avec le taux de contamination.

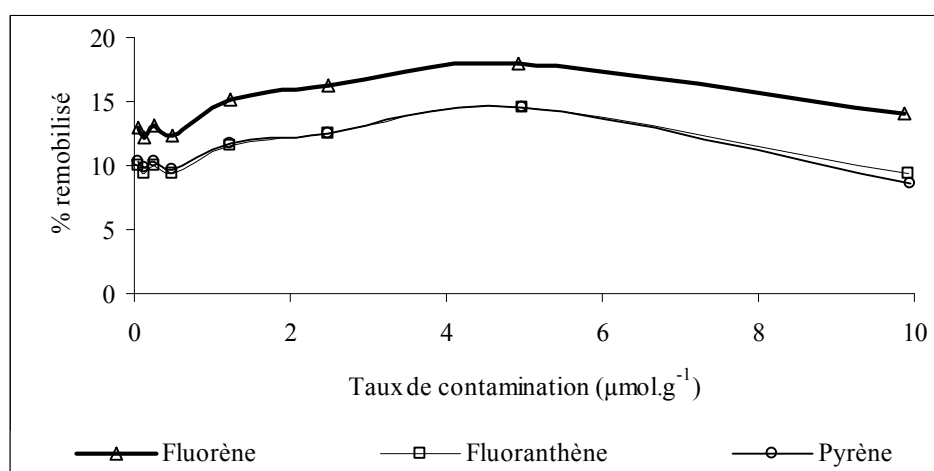


Figure 45 : Pourcentage de remobilisation des HAP en mélange sur l'horizon A

Dans le cas de l'horizon A, les taux remobilisés sont conformes aux propriétés respectives des HAP. D'une part, le fluorène est le HAP le plus remobilisé du fait de sa plus grande solubilité dans l'eau et son caractère hydrophobe plus faible, qui induisent une adsorption plus faible sur la MO du sol. Le pyrène et le fluoranthène, de faible solubilité et d'hydrophobicité proche ( $\log K_{ow}=5,22$  et  $5,18$  respectivement pour le fluoranthène et le pyrène), sont moins remobilisés que le fluorène.

Les pH et taux de COD ont également été suivis au cours de ces expériences. Nous n'avons remarqué aucune variation notable. La mobilisation des HAP se fait indépendamment de la solubilisation du carbone organique (Figure 46).

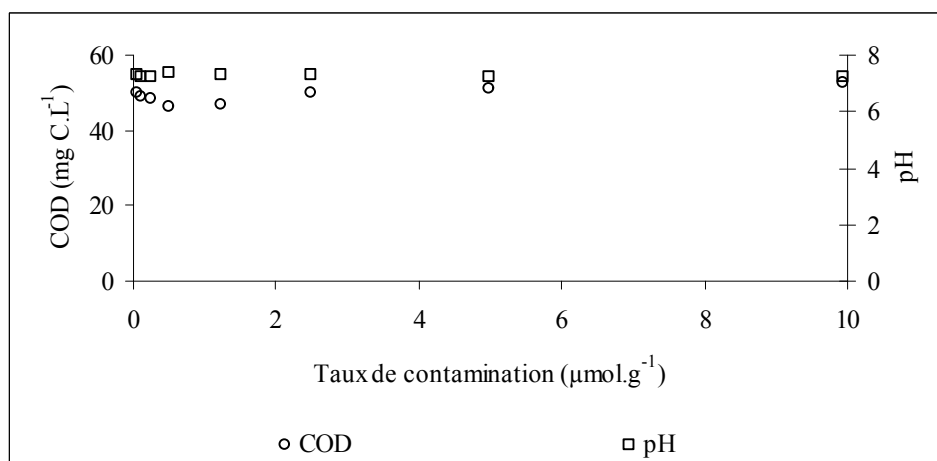


Figure 46 : Suivi du pH et du COD de l'horizon A

La concentration en biosurfactant a été vérifiée au cours de chaque essai ; Plus de 95 % était en solution, ce qui montre ses faibles pertes durant l'expérience que ce soit par adsorption, biodégradation ou précipitation (Figure 47).

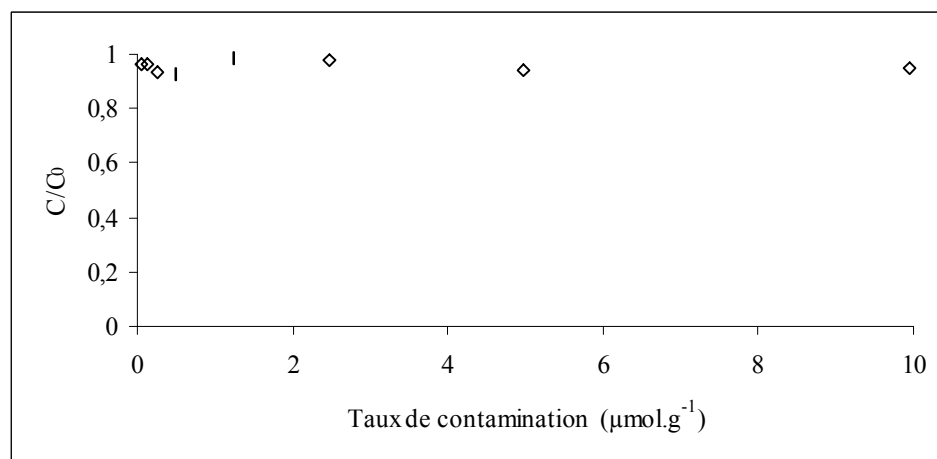


Figure 47 : Suivi du biotensioactif pour l'horizon A

### III.3. Horizon B : résultats de mobilisation

Les mêmes expériences ont été réalisées en considérant l'horizon B.

### III.3.1. Mélange ternaire

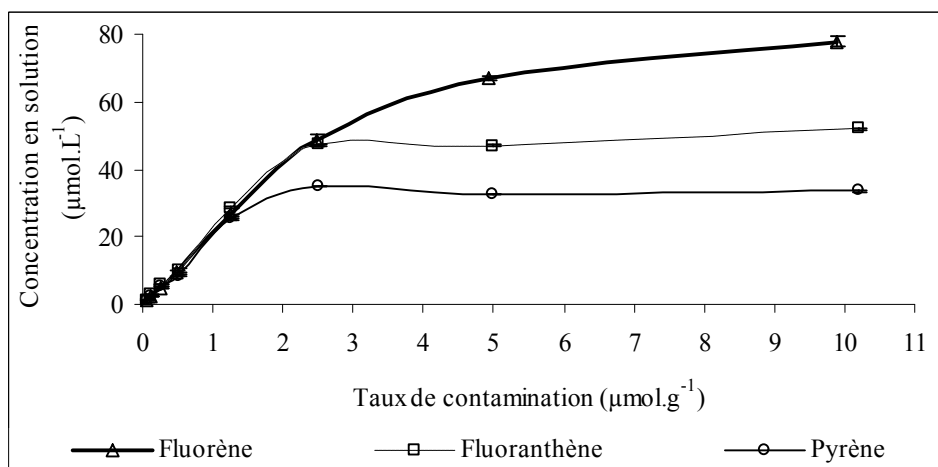


Figure 48 : Concentration remobilisée en fonction du taux de contamination du sol (horizon B)

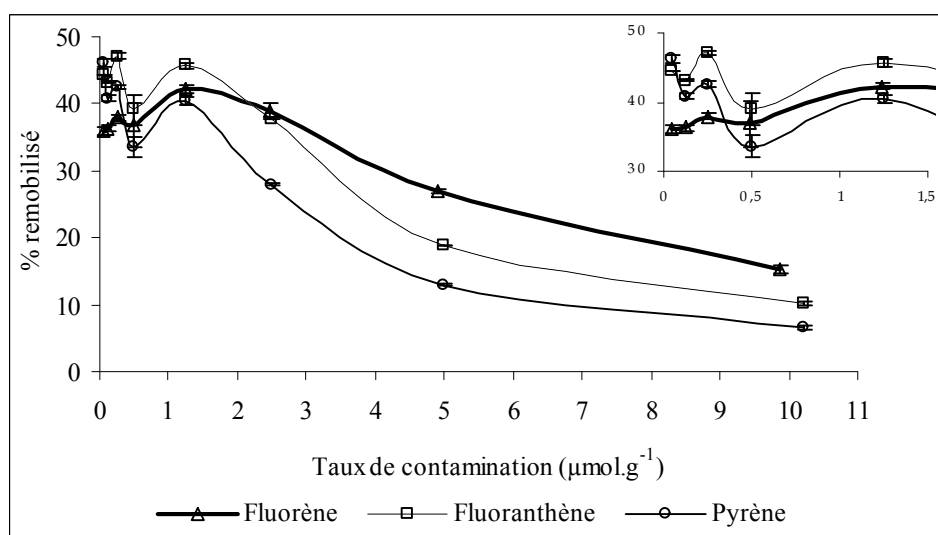


Figure 49 : Pourcentage de remobilisation des HAP en mélange sur l'horizon B

Comme pour l'horizon A, nous avons représenté sur la Figure 48 la concentration de HAP en solution en fonction du taux de contamination pour l'horizon B, et sur la Figure 49, le pourcentage de HAP remobilisé en fonction de ce même taux.

La remobilisation sur l'horizon B est plus importante que sur l'horizon A, cette différence étant liée aux écarts de teneur en carbone organique des horizons. En effet, la fraction de CO (carbone organique) de l'horizon A s'élève à 1,5 % alors que celle du B est égale à 0,11 %. L'horizon supérieur possède donc plus de sites potentiels d'adsorption de HAP mettant en jeu des interactions hydrophobes, énergétiquement plus fortes que celles liées à la matière minérale.

## RESULTATS – DISCUSSION : Incidence du taux de contamination sur la remobilisation

La Figure 48 montre que la concentration en HAP augmente avec le taux de contamination du sol et met en évidence deux parties différentes. Pour des taux de contamination supérieurs à  $2,5 \mu\text{mol.g}^{-1}$ , les quantités remobilisées suivent les propriétés physico-chimiques des HAP, et plus particulièrement les solubilités aqueuses. En effet, le fluoranthène, qui est deux fois plus soluble que le pyrène, voit son comportement changer par rapport à celui obtenu sur l'horizon A : sa concentration en solution diffère de celle obtenue pour le pyrène. De plus, pour chaque HAP, la solubilité apparente maximale est atteinte pour des taux de contamination en sol plus faibles que ceux de l'horizon A ( $2,5 \mu\text{mol.g}^{-1}$  sur l'horizon B contre  $5 \mu\text{mol.g}^{-1}$  pour l'horizon A). Ces observations sont à corrélérer avec la chute du pourcentage remobilisé observée à la Figure 49 pour des taux supérieurs  $2,5 \mu\text{mol.g}^{-1}$ .

Il faut de plus remarquer que la chute du pourcentage remobilisé est beaucoup plus élevée pour cet horizon que pour le A. Cela signifierait que l'élimination des HAP facilement disponibles ou solubilisables est atteinte plus rapidement dans le cas de l'horizon B qui contient moins de MO.

Pour les taux de contamination inférieurs à  $2,5 \mu\text{mol.g}^{-1}$ , il est possible de différencier deux zones (Figure 49) :

- ✓ La première zone regroupe les taux de contamination inférieurs à  $1 \mu\text{mol.g}^{-1}$ . Dans cette portion, la solubilisation diminue dans un premier temps. Le fluorène est le HAP le moins solubilisé jusqu'à un taux de contamination égal à  $0,3 \mu\text{mol.g}^{-1}$ . Au-dessus de cette valeur, le pyrène devient le HAP le moins solubilisé, suivi du fluorène et du fluoranthène. La plus faible quantité de fluorène remobilisée avant  $0,3 \mu\text{mol.g}^{-1}$  peut provenir du fait qu'aux faibles quantités de polluant, le biosurfactant a plus d'affinité pour les molécules les plus hydrophobes.
- ✓ Au-delà de  $1 \mu\text{mol.g}^{-1}$ , la solubilisation des HAP diminue avec le taux de contamination, car la solubilité apparente maximale des molécules devient le paramètre limitant. Le maximum de solubilisation est atteint beaucoup plus rapidement que dans le cas de l'horizon A, du fait de la plus faible quantité de matière organique.

Aucunes variations notables de pH et COD n'ont été observées au cours des expériences : elles ne peuvent ainsi expliquer cet ordre de remobilisation (Figure 50).



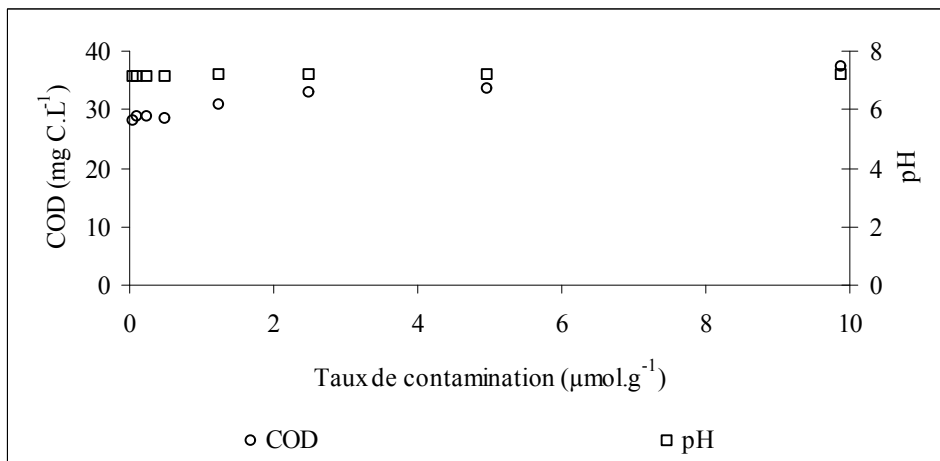


Figure 50 : Suivi du pH et du COD de l'horizon B

Plus de 95 % du biotensioactif a été dosé en solution pour chaque essai (Figure 51).

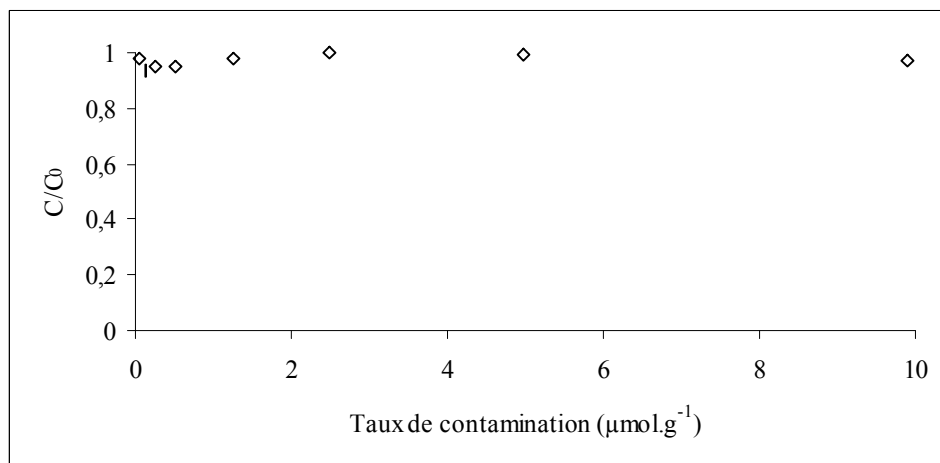


Figure 51 : Suivi du biotensioactif pour l'horizon B

Les inversions observées dans l'ordre de solubilisation des HAP peuvent être dues à des phénomènes de compétition entre les trois HAP lors de la solubilisation ou de l'adsorption. La nature des interactions entre le sol et les polluants pourrait également être responsable de ce comportement. Aussi, pour déterminer si une compétition entre les HAP avait lieu, des remobilisations en composé seul ont été réalisées et comparées aux résultats obtenus en mélange ternaire.

### III.3.2. Contamination par un seul composé

#### III.3.2.1. Cas du fluoranthène et du pyrène

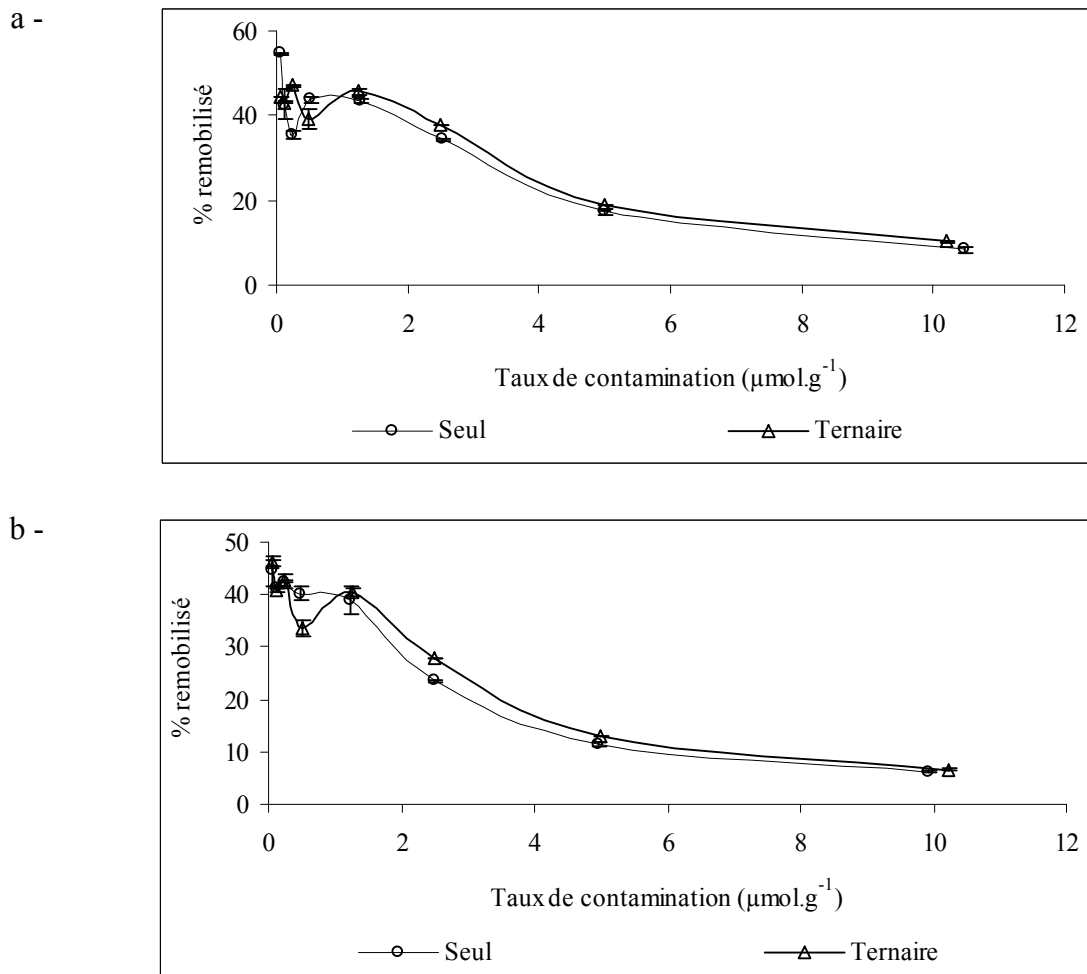


Figure 52 : Comparaison de la remobilisation du fluoranthène (a) et du pyrène (b), seul ou en mélange sur l'horizon B

La Figure 52 (a et b) montre que la remobilisation des deux HAP les plus hydrophobes est similaire lorsqu'ils sont seuls ou en mélange. Cependant, la remobilisation est légèrement supérieure en mélange ternaire. Pour les taux de contaminations supérieurs à  $1,5 \mu\text{mol.g}^{-1}$ , les deux HAP sont plus solubilisés en mélange ternaire que seuls. Ceci pourrait être lié au fait que le HAP le plus soluble (fluorène), favorise la micellisation des deux autres par réduction des tensions interfaciales et augmentation parallèle du ~~cor~~ des micelles.

Ces résultats indiquent qu'il n'y a pas de compétition en mélange ternaire lors de l'adsorption ou de la remobilisation, en ce qui concerne le pyrène et le fluoranthène.

### III.3.2.2. Cas du fluorène

Une étude similaire a été effectuée avec le fluorène.

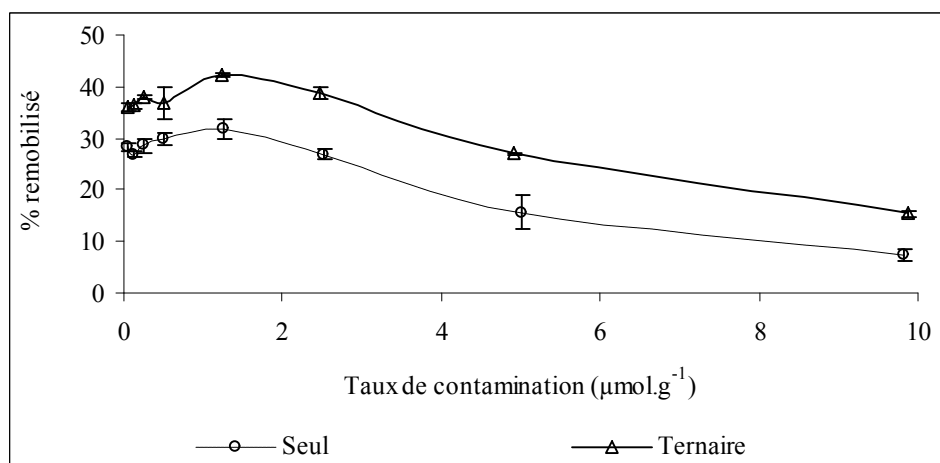


Figure 53 : Comparaison de la remobilisation du fluorène seul ou en mélange sur l'horizon B

Nous observons un écart significatif entre le pourcentage de remobilisation en système ternaire et celui en composé simple.

Ces résultats ne sont pas en accord avec ceux obtenus jusqu'ici, et ne corroborent donc pas avec ceux de la littérature (Guha *et al.*, 1998 ; Chun *et al.*, 2002). En effet, en présence de biosurfactant, la solubilité du pyrène et du fluoranthène augmente au détriment de celle du fluorène, lorsqu'ils sont en mélange ternaire. Ainsi, il serait plus probable que les interactions entre fluorène et le sol puissent expliquer cette différence de comportement. En effet, comme nous l'avons remarqué dans le paragraphe I.2.2, le 57SJ ne se sorbe pas ou peu sur les horizons étudiés. De ce fait, les sites d'adsorption du sol seront principalement occupés par les HAP. L'horizon dont nous disposons est faiblement chargé en matière organique, il possède donc peu de sites potentiels de sorption. Lorsque le fluorène est seul, il va s'adsorber sur des sites d'interactions hydrophobes de forte énergie. En mélange, le fluoranthène et le pyrène, plus hydrophobes, vont occuper les sites hydrophobes de la matière organique. Ainsi, le fluorène serait totalement ou en partie adsorbé sur la matière minérale. Du fait de ces interactions de plus faible énergie en comparaison aux interactions hydrophobes, le fluorène serait plus facilement remobilisable en mélange. Plusieurs auteurs ont en effet constaté que la matière minérale pouvait influencer la sorption des HAP (Scharzenbach et Westall, 1981 ; Murphy *et al.*, 1990 ; Hwang *et al.*, 1996 ; Luthy *et al.*, 1997 ; Hwang *et al.*, 2003). Cependant, les mécanismes mis en jeu sont encore mal identifiés.

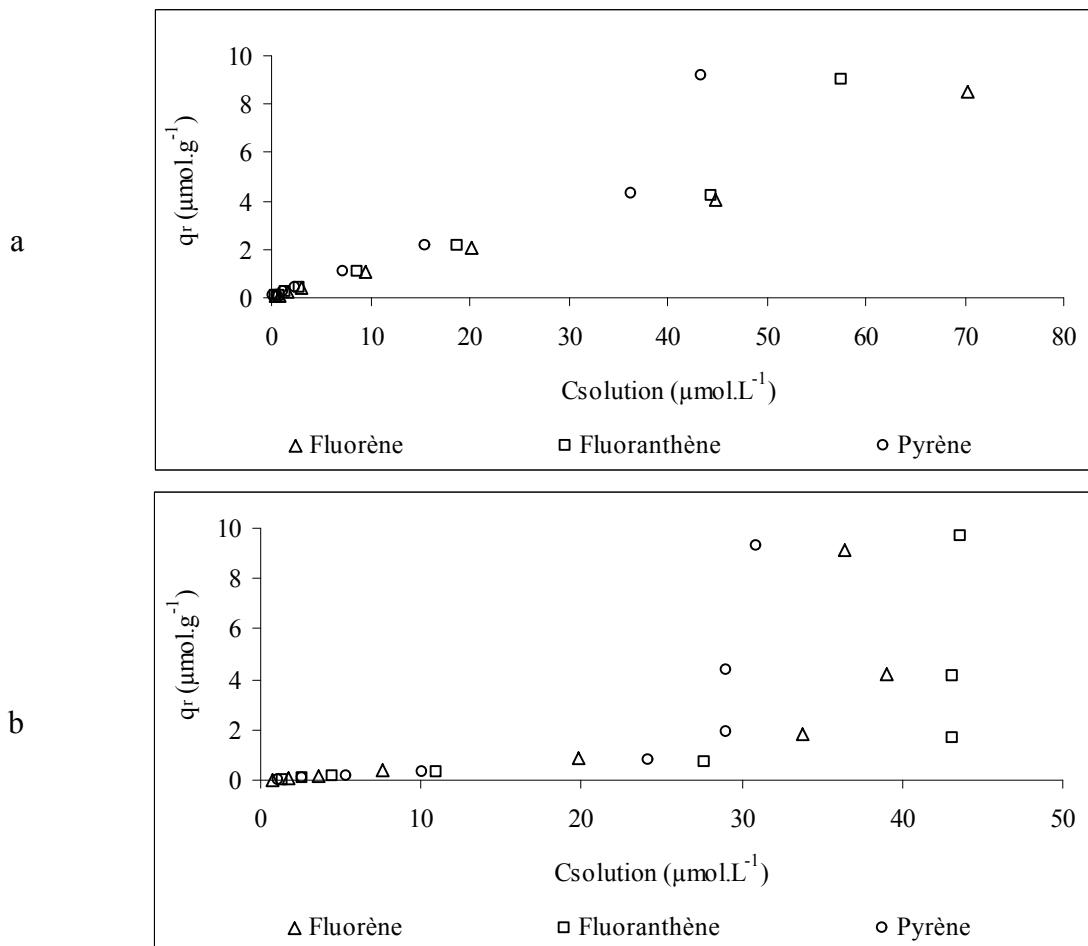
### III.4. Exploitation des résultats : isothermes de remobilisation

Afin d'approfondir ce qui a été observé dans le paragraphe précédent, nous avons représenté des isothermes de remobilisation. Ce terme de remobilisation a été préférentiellement choisi au terme de désorption car il ne s'agit pas d'isothermes traditionnelles. En effet, les études reportées jusqu'alors dans la bibliographie mettent à la fois en oeuvre des isothermes de sorption et de désorption. Notre étude ne porte que sur la remobilisation des HAP, et nous avons donc du adapter les isothermes à nos expériences. Ces isothermes regroupent les résultats obtenus sur les deux horizons en composé simple ou en mélange ternaire.

## RESULTATS – DISCUSSION : Incidence du taux de contamination sur la remobilisation

Les isothermes de type direct tracées à la Figure 54 représentent la quantité de HAP résiduelle du sol ( $q_r$ ) en fonction de la concentration de HAP en solution micellaire.

Pour l'horizon A, nous observons que la quantité de HAP résiduelle du sol augmente jusqu'à ce que les concentrations en solution atteignent 35 à 45  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ , puis, une asymptote est atteinte pour le fluoranthène et le pyrène. Pour l'horizon B, la quantité résiduelle du sol reste faible pour des concentrations en solution allant jusqu'à 30  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ , puis apparaît une asymptote pour laquelle la concentration résiduelle du sol augmente sans que la concentration en solution n'augmente. Par conséquent, pour les deux horizons étudiés et toutes les conditions de dopage effectuées, nous observons l'apparition d'une concentration maximale de HAP en solution qu'il est apparemment impossible de dépasser. Ceci indique donc que les HAP ne se désorbent plus du sol et cela traduit une saturation des micelles par les HAP, la concentration de saturation variant suivant le HAP et l'horizon. Ceci confirme ce qui a été observé sur la Figure 43 et à la Figure 48 : la concentration maximale (pour les conditions opératoires utilisées ici) atteinte, la solution tensioactive ne peut plus solubiliser les molécules de HAP, et la solubilité apparente maximum des HAP est ainsi obtenue.



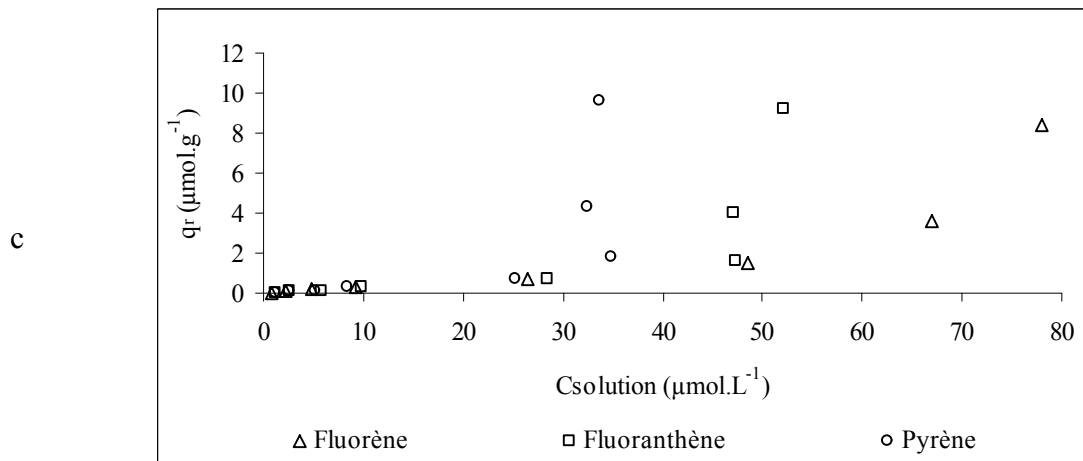


Figure 54 : Représentation directe de la quantité résiduelle en HAP ( $\mu\text{mol.g}^{-1}$  de sol) en fonction de la concentration solubilisée pour les isothermes de remobilisation en mélange ternaire sur l'horizon A (a), en système seul (b) ou mélange ternaire (c) sur l'horizon B

Ce type de représentation a permis à d'autres auteurs (Schlupen *et al.*, 1999) de représenter la désorption de composés organiques d'un sol, cependant pour leurs conditions expérimentales, la solubilité maximale des HAP étudiés n'était pas atteinte. Nos résultats diffèrent de ceux obtenus dans ces études.

### III.5. Influence de la matière organique sur l'adsorption des HAP

L'étude physico-chimique des sols a montré que les horizons A et B avaient une composition presque similaire. Ils diffèrent principalement par leur teneur en matière organique. Pour étudier l'impact de la matière organique sur la remobilisation, l'horizon A a été traité par de l'eau oxygénée. Un taux de contamination de  $0,25 \mu\text{mol.g}^{-1}$  a été utilisé, car c'est à ce taux de contamination que le fluorène est le moins remobilisé, ce qui à priori n'est pas en accord avec ses propriétés physico-chimiques.

#### III.5.1. Oxydation de la matière organique par l'eau oxygénée

Pour déterminer l'influence de la MO et de la matière minérale des sols sur l'adsorption des HAP, l'horizon A est traité par une gamme de  $\text{H}_2\text{O}_2$  de 0,01 % à 30 % avant la contamination (Figure 55). Pour cela, un gramme de sol pour 100 mL d'eau oxygénée sont laissés à température ambiante pendant 12 heures, puis le tout est séché dans une étuve à  $40^\circ\text{C}$ . Le CO est alors dosé par un analyseur CS (Eltra, CS-2000).

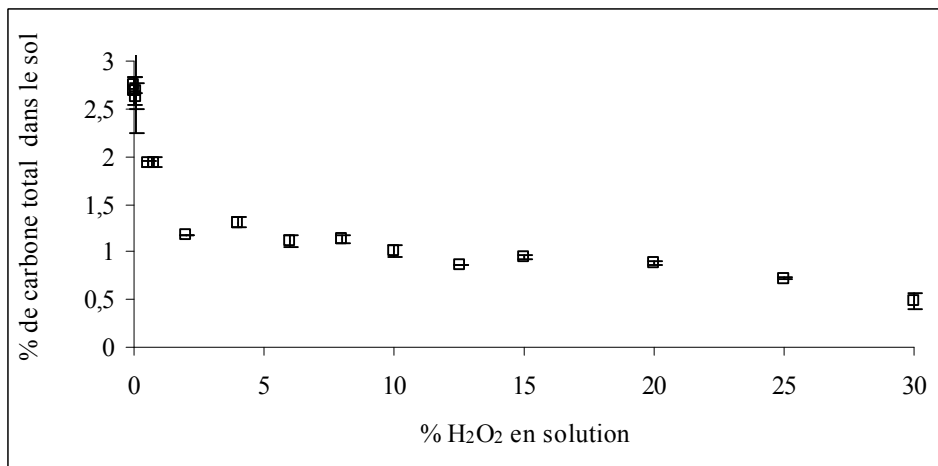


Figure 55 : Oxydation de la matière organique de l'horizon A par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

L'attaque par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> permet au plus d'éliminer 85 % du carbone total de l'horizon A. La fraction restante étant constituée de carbone minéral et de matière organique réfractaire à ce lessivage. Même lorsque la totalité de la MO n'a pas été éliminée, sa structure a pu être modifiée.

### III.5.2. Remobilisation en mélange ternaire en fonction du contenu en matière organique du sol

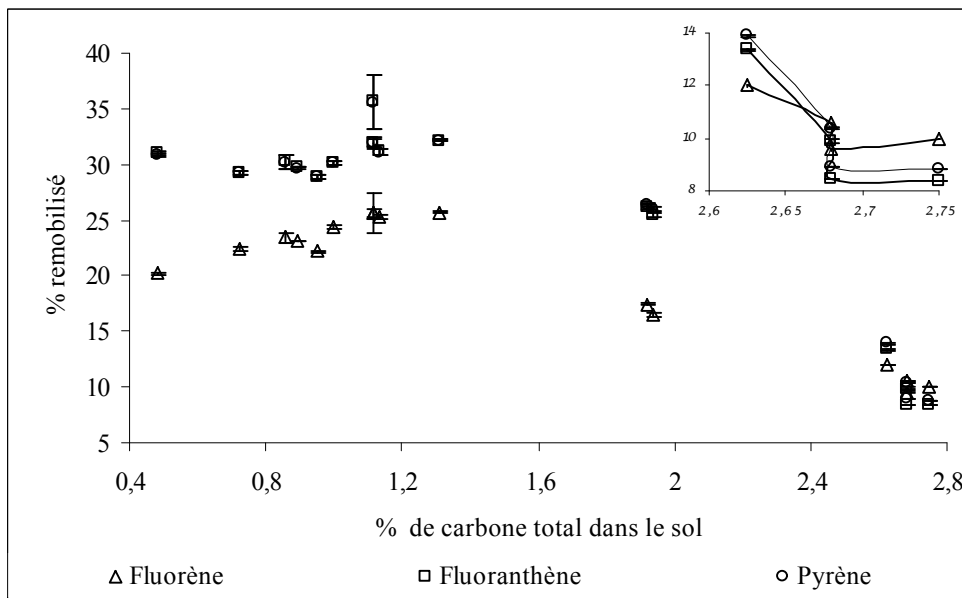


Figure 56 : Remobilisation en mélange ternaire après attaque de la matière organique de l'horizon A par H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

D'après la Figure 56, et ce d'une manière générale, la fraction de HAP remobilisé diminue lorsque la teneur en MO du sol augmente. Cela paraît conforme aux interactions

## RESULTATS – DISCUSSION : Incidence du taux de contamination sur la remobilisation

hydrophobes entre les HAP et la MO, et est en accord avec les résultats de la littérature (Johnson et Amy, 1995 ; Raber *et al.*, 1997 ; Kögel-Knaber *et al.*, 2000).

Nous pouvons distinguer sur la Figure 56 deux domaines suivant le taux de carbone total contenu dans le sol.

Le premier s'étend pour des teneurs en carbone total comprises entre 2,68 et 2,75 %. L'ordre de remobilisation y est identique à celui de l'horizon A (Figure 45) : le fluorène est le HAP le plus solubilisé, puis le pyrène suivi du fluoranthène. Le second domaine s'étend de 0,4 à 2,68 % où l'ordre de remobilisation est identique à celui observé sur l'horizon B (Figure 49) : dans cette gamme de carbone total, le pyrène et le fluoranthène sont plus solubilisés que le fluorène. En système ternaire et dans les conditions expérimentales étudiées, l'ordre de solubilisation des HAP dépend donc de la teneur en carbone total du sol.

Après destruction d'un faible pourcentage de carbone total (0,10 %), l'ordre de remobilisation change. Lors de l'oxydation de la matière organique, l'eau oxygénée va tout d'abord attaquer la matière organique la plus accessible c'est à dire celle de surface. L'aspect visuel du sol nous le confirme, la couleur variant d'un brun-noir à marron clair après diminution de 0,10 % du carbone total. Pour expliquer la plus faible solubilisation du fluorène par rapport au pyrène et au fluoranthène lorsque la teneur en carbone organique du sol est élevée, on peut penser que le fluorène, molécule plus petite que le pyrène et le fluoranthène, aurait accès à des sites d'adsorption sur la matière organique réfractaire à l'oxydation sur lesquels les deux autres HAP seraient exclus stériquement. En faible présence de carbone organique, le pyrène et le fluoranthène s'adsorberaient principalement sur la matrice minérale tandis que le fluorène aurait accès à la fraction réfractaire de la matière organique, ce qui expliquerait que le fluorène serait plus faiblement solubilisé après destruction de la matière organique située à la surface du solide.

L'adsorption et la désorption du pyrène et du fluoranthène seraient principalement contrôlées par la matière organique se situant à la surface des particules. En effet, le pourcentage remobilisé de pyrène et fluoranthène reste constant pour des quantités de CT comprises entre 0,48 et 1,31 %, la destruction de la matière organique n'affecte plus la mobilisation de ces deux HAP, ce qui confirmerait que ceux-ci n'ont pas accès à une partie de la matière organique.

Entre 0,48 et 1,31% de carbone total, le pourcentage remobilisé du fluorène croît. Au fur et à mesure de la destruction de la matière organique, le fluorène s'adsorberait sur une fraction organique de plus en plus interne de la matrice. L'accessibilité aux pores du solide par les micelles de biosurfactant pourrait aussi contribuer à ce phénomène. Le fluorène occuperait des sites inaccessibles aux micelles, ce qui limiterait sa solubilisation.

Le suivi du pH (Figure 57) montre une légère diminution de ce paramètre qui serait probablement liée à la destruction de la matière organique. Dans tous les flacons, plus de 95 % du tensioactif a été récupéré.

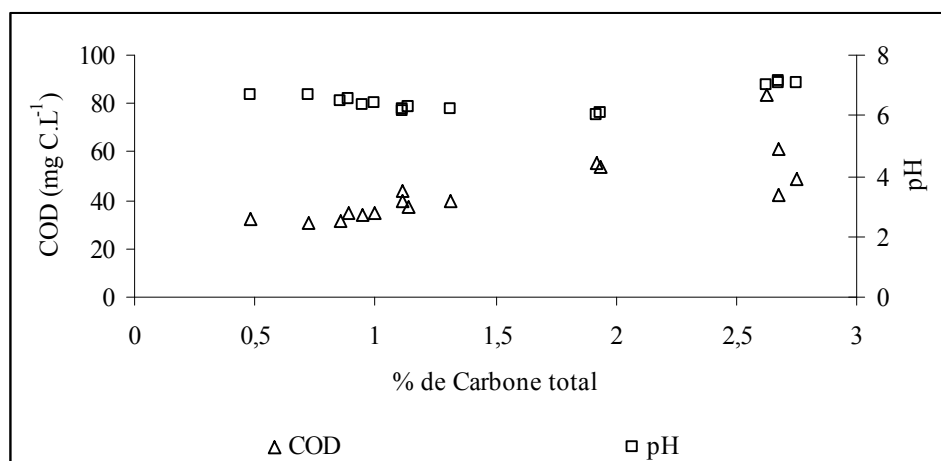


Figure 57 : Suivi du pH et du COD

Le suivi du COD montre une légère diminution du COD dissous quand le carbone total diminue. Ce paramètre ne semble pas contribuer au phénomène observé pour la remobilisation des HAP.

### III.5.3. Conclusion

Le but de cette dernière partie de l'étude était d'observer l'incidence de la MO sur la remobilisation. Nous avons observé que lorsque le sol contenait suffisamment de MO, l'ordre de remobilisation suivait les propriétés physico-chimiques des HAP, comme ce qui a été obtenu avec l'horizon A. Par contre, lorsque le taux de MO diminue, cet ordre de remobilisation varie et se rapproche des résultats obtenus avec l'horizon B.

Bien que la technique utilisée soit discutable, les objectifs visés ont été atteints. Il faut noter que cette méthode de destruction de la MO des sols est souvent citée dans la littérature scientifique, bien que modifiant la structure du sol et de la MO.



**CONCLUSION**



L'objectif de ce travail était d'étudier la remobilisation d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) modèles (fluorène, fluoranthène et pyrène) présents dans un sol contaminé. Le tensioactif d'origine biologique utilisé pour cette étude, est issu d'une souche de *Pseudomonas aeruginosa* récemment isolée d'un sol contaminé par des déchets pétroliers.

La première partie de l'étude s'est intéressée à la caractérisation du biotensioactif produit par *Pseudomonas aeruginosa* 57SJ et sa sorption en conditions statiques et dynamiques. Les résultats obtenus ont montré une faible interaction entre le biosurfactant et le sol ; cette sorption ne se corrèle pas au taux de matière organique contenu dans les deux horizons du sol. La perte de biotensioactif a été évaluée à 5 % pour une concentration en biosurfactant de 2,5 g.L<sup>-1</sup>. Ces faibles interactions sont dues au caractère anionique du biosurfactant. La faible sorption mesurée, associée à de bonnes propriétés tensioactives lui confère une bonne aptitude pour la remédiation de sols pollués car seule une faible proportion sera immobilisée lors de sa percolation à travers des sols.

La seconde partie de l'étude nous a permis d'évaluer l'efficacité du biotensioactif à solubiliser et remobiliser les HAP. Les études en système statique portant sur la solubilisation des composés en système simple ont montré qu'au-dessus de la concentration micellaire critique il existait une relation linéaire entre la quantité de HAP solubilisée et les concentrations croissantes en biosurfactant. Ces données ont permis de calculer le Rapport Molaire de Solubilisation et le coefficient de partage micelle/eau ( $K_m$ ) qui indiquent que le HAP le plus hydrophobe est celui qui est solubilisé le plus facilement dans les micelles. Lorsque les HAP sont en mélange ternaire, il apparaît que la présence d'un soluté moins hydrophobe (le fluorène), partagé à l'interface micelle/eau, peut diminuer les tensions interfaciales et favoriser la solubilisation de composés plus hydrophobes.

La remobilisation a été évaluée en système dynamique sur un horizon de sol artificiellement contaminé. L'injection du biosurfactant permet une remobilisation rapide des HAP, suivie d'une lente décroissance de la concentration des HAP en solution. Ces résultats montrent qu'il existe une fraction de HAP facilement extractible. Une autre fraction des HAP est plus fortement liée à la matière organique ou à une fraction du sol moins accessible par le biosurfactant. Les expériences menées en système dynamique (système simple ou en mélange ternaire) sont en accord avec les résultats obtenus lors de l'étude en système statique. Des synergies ont lieu lors de la remobilisation des HAP par le biosurfactant, un HAP tel que le fluorène favoriserait la remobilisation des HAP plus hydrophobes tels que le fluoranthène ou le pyrène. Enfin, et dans les conditions étudiées, le biotensioactif a un faible impact sur le carbone organique du sol, seul les HAP semblent mobilisés et non des complexes MO-HAP. La conservation de l'intégrité de la matière organique du sol est un point positif pour une possible application *in situ*.

Le travail a été complété par l'étude de l'incidence du taux de contamination sur la remobilisation des HAP. Les résultats obtenus montrent que dans les conditions expérimentales choisies, la quantité de HAP remobilisée augmente avec le taux de contamination du sol, jusqu'à saturation des micelles du biotensioactif, et ceci quel que soit l'horizon utilisé. Les pourcentages de HAP remobilisés dépendent à la fois de la molécule étudiée et du taux de matière organique contenu dans le sol.

Dans le cas d'un horizon relativement chargé en matière organique, la remobilisation du fluorène est supérieure à celle du pyrène et du fluoranthène quel que soit le taux de contamination du sol. Ce comportement semble être en accord avec les propriétés physico-chimiques des HAP étudiés et les interactions hydrophobes entre la matière organique du sol et les HAP.

Dans le cas d'un horizon plus faiblement chargé en MO, l'adsorption s'effectuerait à la fois sur la fraction organique et minérale du sol. Le fluorène, molécule plus petite que ses congénères, aurait accès à des sites d'adsorption pour lesquels le fluoranthène et le pyrène seraient exclus. Ces derniers semblent s'adsorber sur la MO de surface.

Nous avons pu comparer l'efficacité du tensioactif à remobiliser les HAP avec une technique de référence : l'extraction chimique avec un solvant organique, le dichlorométhane. Les résultats obtenus avec le dichlorométhane sont très probants. Bien que fournissant des rendements d'extraction largement inférieurs à la méthode de référence, le tensioactif possède des atouts quant à son utilisation pour le traitement des sols pollués. En effet, il n'altère que peu les sols (faible sorption et faible relargage de MO), et élimine la fraction facilement mobilisable des HAP, fraction représentant le plus de risques pour l'environnement.

Au vu des résultats obtenus, un certain nombre de perspectives de travail s'offrent à nous. Des expériences de "coating" de matière organique sur les particules du sol pourraient apporter de nouveaux éléments de compréhension des phénomènes impliqués. L'étude de HAP ayant un encombrement stérique différent permettrait d'approfondir la compréhension de l'accessibilité des HAP vis-à-vis de certains sites. Il serait alors intéressant d'utiliser des techniques telle que la microscopie électronique pour caractériser les solides et l'association des HAP avec les particules du sol. Ensuite, il serait nécessaire d'évaluer les rendements de décontamination obtenus avec d'autres composés organiques hydrophobes (BPC) et d'autres types de sols (sol argileux), et de vérifier la dégradabilité du biotensioactif dans les sols. L'âge de la contamination devrait être pris en compte pour évaluer l'efficacité des solutions tensioactives, la mobilité des polluants pouvant diminuer fortement avec le temps de contact entre le polluant et le sol.

Comme les pollutions des sols par les HAP sont souvent associées à une pollution métallique, et que certains métaux sont connus pour influencer la remobilisation (volume des micelles), il serait nécessaire de compléter le travail présenté ici par l'étude de l'influence de métaux afin de se rapprocher de conditions de traitement réelles. Tout ceci pourrait aboutir à l'utilisation de pilote de remobilisation en utilisant des sols prélevés sur des sites réellement contaminés. En effet, la technique de contamination des sols utilisée ici n'est pas représentative d'un sol réellement contaminé, mais est toutefois nécessaire pour pouvoir appréhender et comprendre les mécanismes mis en jeu lors de la dépollution. Il serait donc intéressant de travailler avec un sol pollué par un goudron de houille.

La bonne compréhension des mécanismes de solubilisation des HAP à partir de sols pollués permettra d'appréhender les potentialités d'utilisation de biotensioactif dans le cadre de la réhabilitation de sites pollués. L'élucidation des mécanismes et processus de remobilisation survenant dans des sols réellement contaminés constituerait la première étape

permettant d'élaborer une modélisation, et donc une optimisation technique, du rendement de la décontamination de sol par l'utilisation de biotensioactifs.



**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**





**A**

ABALOS A., PINAZO A., INFANTE M.R., CASALS M., GARCIA F. et MANRESA A., (2001), Physicochemical and Antimicrobial Properties of New Rhamnolipids Produced by *Pseudomonas aeruginosa* AT10 from Soybean Oil Refinery Wastes, *Langmuir*, **17**, (5), 1367-1371.

ABDUL A.A. et GIBSON T.L., (1991), Laboratory studies of surfactant-enhanced washing of biphenyl from sandy material, *Environ. Sci. Technol.*, **25**, (4), 665-671.

ADEEL Z. et LUTHY R.G., (1995), Sorption and transport kinetics of a nonionic surfactant through an aquifer sediment, *Environ. Sci. Technol.*, **29**, (4), 1032-1042.

APPERT-COLLIN J.C., DRIDI-DHAOUADI S., SIMONNOT M.O et SARDIN M., (1999), Nonlinear sorption of naphthalene and phenanthrene during saturated transport in natural porous media, *Phys. Chem. Earth (B)*, **24**, (6), 543-548.

ARINO S., MARCHAL R. et VANDECASTEELE J.P., (1996), Identification and production of rhamnolipidic biosurfactant by a *Pseudomonas* species, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **45**, 162-168.

**B**

BAI G., BRUSSEAU M. L. et MILLER R. M., (1997), Biosurfactant-enhanced removal of residual hydrocarbon from soil, *J. Contam. Hydrol.*, **25**, 157-170.

BAI G., BRUSSEAU M. L. et MILLER R. M., (1998), Influence of cation type, ionic strength, and pH on solubilization and mobilization of residual hydrocarbon by biosurfactant, *J. Contam. Hydrol.*, **30**, 265-279.

BANAT I.M., (1995), Biosurfactants production and possible uses enhanced oil recovery and oil pollution remediation: a review, *Bioresource Technology*, **51**, 1-12.

BANAT M., MAKKAR R.S. et CAMEOTRA S.S., (2000), Potential commercial applications of microbial surfactants, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **53**, 495-508.

BETTAHAR M., SCHAFER G. et BAVIERE M., (1999), An optimized surfactant formulation for the remediation of diesel oil polluted sandy aquifers, *Environ. Sci. Technol.*, **33**, (8), 1269-1273.

BINET P., PORTAL J.M. et LEYVAL C., (2000), Dissipation of 3-6 ring polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere of ryegrass, *Soil Biology & Biochemistry*, **32**, 2011-2017.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BISPO A., JOURDAIN M.J. et JAUZEIN M., (1999), Toxicity and genotoxicity of industrial soils polluted by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), *Organic Geochemistry*, **30**, 947-952.

BOGAN B.W., TRBOVIC V. et PATEREK J.R., (2003), Inclusion of vegetable oils in Fenton's chemistry for remediation of PAH-contaminated soils, *Chemosphere*, **50**, 15-21.

BOGNOLO G., (1999), Biosurfactant as emulsifying agents for hydrocarbons, *Colloids and Surfaces A: Physico-Chemical and Engineering Aspects*, **152**, (1-2), 41-52.

BORDAS F. et LAFRANCE P., (2001), Utilisation de biosurfactants (rhamnolipides) pour le traitement d'un sol sableux contaminé par le pyrène – Essais en colonne de sol, *Etude et gestion des sols*, **8**, (3), 181-188.

BRUSSEAU M.L., WANG X. et HU Q., (1994), Enhanced transport of low-polarity organic compounds through soil by cyclodextrin, *Environ. Sci. Technol.*, **28**, (5), 952-956.

## C

CALVET R., (1980), Adsorption of organic chemicals in soils, *Environmental Health Perspectives*, **83**, 145-177.

CAMEOTRA S.S. et MAKKAR R.S., 1998, Synthesis of biosurfactants in extreme conditions, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **50**, 520-529.

CASELLAS M., GRIFOLL M., BAYONA J.M. SOLANAS A.M., (1997), New metabolites in the degradation of fluorène by *Arthrobacter* sp. Strain F101, *Applied and Environmental Microbiology*, **63**, (3), 819-826.

CHAIKO M.A., NAGARAJAN R. et RUCKENSTEIN E., (1984), Solubilization of single-component and binary mixtures of hydrocarbons in aqueous micellar solutions, *Journal of Colloid and Interface Science*, **99**, (1), 168-182.

CHAMPION J.T., GILKEY J.C., LAMPARSKI H., RETTERER J. et MILLER R.M., (1995), Electron microscopy of rhamnolipid (biosurfactant) morphology: effects of pH, cadmium and octadecane, *J. Environ. Qual.*, **24**, 19-28.

CHANDRASEKARAN E.V. et BEMILLER J.N., (1980), "[11] Constituent analysis of glycosaminoglycans", *Methods in carbohydrate chemistry*, vol. III, pp 89-96.

CHANG B.V., SHIUNG L.C. et YUAN S.Y., (2002), Anaerobic biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbon in soil, *Chemosphere*, **48**, 717-724.

CHEFETZ B., DESHMUKH A.P., HATCHER P.G. et GUTHRIE E.A., (2000), Pyrene sorption by natural organic matter, *Environ. Sci. Technol.*, **34**, (14), 2925-2930.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

CHIOU C.T., MCGRODDY S.E. et KILE D.E., (1998), Partition characteristics of polycyclic aromatic hydrocarbons on soils and sediments, *Environ. Sci. Technol.*, **32**, (2), 264-269.

CHRISTOFI N. et IVSHINA I.B., (2002), A review: microbial surfactants and their use in field studies of soil remediation, *Journal of Applied Microbiology*, **93**, 915-929.

CHUN C. L., LEE J-J. et PARK J-W., (2002), Solubilization of PAH mixtures by three different anionic surfactants, *Environ. Pollut.*, **118**, 307-313.

CHUNG N. et ALEXANDER M., (1999), Effect of concentration on sequestration and bioavailability of two polycyclic aromatic hydrocarbons, *Environ. Sci. Technol.*, **33**, (20), 3605-3608.

COLLINS J. F., BROWN J. P., ALEXEEFF G. V. et SALMON A. G., (1998), Potency equivalency factors for some polycyclic aromatic hydrocarbons and polycyclic aromatic hydrocarbons derivatives, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, **28**, 45-54.

COME J.M. et DUCREUX J., (2001), Dépollution par injection de tensioactifs d'un forage d'alimentation en eau potable contaminé par du fioul domestique, *L'Eau, l'Industrie, les Nuisances*, **240**, 41-47.

CREPINEAU C., RYCHEN G., FEIDT C., LE ROUX Y., LICHTFOUSE E. et LAURENT F., (2003), Contamination of pastures by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the vicinity of a highway, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 4841-4845.

## D

DADKHAH A.A. et AKGERMAN A., (2002), Hot water extraction with *in situ* oxidation: PAHs removal from soil, *Journal of Hazardous Material*, **B93**, 307-320.

DAVRANCHE M., BEAUFRETON S. et BOLLINGER J.C., (2002), Influence of carbonates on surface charge of a natural solid, *Journal of Colloid and Interface Science*, **249**, 113-118.

DESAI J.D. et BANAT I.M., (1997), Microbial production of surfactants and their commercial potential, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **61**, (1), 47-64.

DESCHENES L., LAFRANCE P., VILLENEUVE J.-P. et SAMSON R., (1996), Adding sodium dodecyl sulfate and *Pseudomonas aeruginosa* UG2 biosurfactants inhibits polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation in a weathered creosote-contaminated soil, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **46**, 638-646.

DÉZIEL E., PAQUETTE G., VILLEMUR R., LÉPINE F. et BISAILLON J.-G., (1996), Biosurfactant production by a soil *Pseudomonas* strain growing on polycyclic aromatic hydrocarbons, *Applied Environ. Microbiol.*, **62**, (6), 1908-1912.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

DÉZIEL E., LEPINE F., DENNIE B., BOISMENU D., MAMER O.A., (1999), Liquid chromatograph/mass spectrometry analysis of mixture of rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* strain RP grown on mannitol or naphthalene, *Biochim. Biophys. Acta*, **1440**, 244-252.

DUBOURGUIER H.C., (2000), From the laboratory to industrial scale: Composting of polluted soils from former coal industry and gas plants: future research needs, NATO Advanced Research Workshop the Utilization of Bioremediation to Reduce Soil Contamination: Problems and Solutions, Liblice Castle, Czech republic, June 14-19.

DWARAKANATH V., KOSTARELOS K., POPE G.A., SHOTTS D. et WADE W.H., (1999), Anionic surfactant remediation of soil columns contaminated by nonaqueous phase liquids, *J. Contam. Hydrol.*, **38**, (4), 465-488.

## E

EDWARDS D. A., LUTHY R.G. et LIU Z., (1991), Solubilization of polycyclic aromatic hydrocarbons in micellar nonionic surfactant solutions, *Environ. Sci. Technol.*, **25**, (1), 127-133.

EDWARDS D. A., ADEEL Z. et LUTHY R.G., (1994), Distribution of nonionic surfactant and phenanthrene in a sediment/aqueous system, *Environ. Sci. Technol.*, **28**, (8), 1550-1560.

EDWARDS K.R., LEPO J.E. et LEWIS M.A., (2003), Toxicity comparison of biosurfactants and synthetic surfactants used in oil spill remediation to two estuarine species, *Marine Pollution Bulletin*, **46**, 1309-1316.

ERIKSON M., DALHAMMAR G. et BORG-KARLSON A.K., (2000), Biological degradation of selected hydrocarbons in an old PAH/creosote contaminated soil from a gas work site, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **53**, 619-626.

## F

FALATKO D.M. et NOVAK J.T., (1992), Effects of biologically produced surfactants on the mobility and biodegradation of petroleum hydrocarbon, *Water Environmental Research*, **64**, (2), 163-169.

FIECHTER A., (1992), Biosurfactants: moving towards industrial application, *Tibtech*, **10**, 3-12.

## G

GARON D., KRIVOBOK S., WOUESSIDJEW D. et SEIGLE-MURANDI F., (2002), Influence of surfactants on solubilization and fungal degradation of fluorene, *Chemosphere*, **47**, 303-309.

GOBE V., LEMEE L. et AMBLES A., (2000), Structure elucidation of soil macromolecular lipids by preparative pyrolysis and thermochemolysis, *Organic Geochemistry*, **31**, 409-419.

GUERRA-SANTOS L.H., KAPPELI O. et FIECHTER A., (1986), Dependence of *Pseudomonas aeruginosa* continuous culture biosurfactant production on nutritional and environmental factors, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **24**, 443-448.

GUHA S., JAFFÉ P.R. et PETERS C.A., (1998), Solubilization of PAH mixtures by a nonionic surfactant, *Environ. Sci. Technol.*, **32**, (7), 930-935.

## H

HABA E., PINAZO A., JAUREGUI O., ESPUNY M.J., INFANTE M.R. et MANRESA A. (2003), Physicochemical characterization and antimicrobial properties of rhamnolids produced by *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 NCBIM 40044, *Biotechnology and Bioengineering*, **81**, (3), 316-322.

HAIGH S.D., (1996), A review of the interaction of surfactants with organic contaminants in soil, *The Science of the Total Environment*, **185**, 161-170.

HATCH A.C. et BURTON Jr G.A., (1999), Photo-induced toxicity to *Hyaella azteca* and *Chironomus tentans*: effects of mixtures and behavior, *Environ. Pollut.*, **106**, 157-167.

HATZINGER P.B. et ALEXANDER M., (1995), Effect of aging of chemicals in soil on their biodegradability and extractability, *Environ. Sci. Technol.*, **29**, (2), 537-545.

HEALY M.G., DEVINE C.M. et MURPHY R., (1996), Microbial production of biosurfactants, *Resources, Conservation and Recycling*, **18**, 41-57.

HERMAN D.C., ARTIOLA J.F. et MILLER R.M., (1995), Removal of cadmium, lead and zinc from soil by a rhamnolipid biosurfactant, *Environ. Sci. Technol.*, **29**, (9), 2280-2285.

HERVIOU P., BONIN H., DUFAY S. et RIGAUD G., (2000), HAP lourds : traitement par voie biologique ?, *L'Eau, L'Industrie, Les Nuisances*, **230**, 51-55.

HILL A.J. et GHOSHAL S., (2002), Micellar solubilization of naphthalene and phenanthrene from nonaqueous-phase liquids, *Environ. Sci. Technol.*, **36**, (18), 3901-3907.

HO Y., JACKSON M., YANG Y., MUELLER J.G. et PRITCHARD P.H., (2000), Characterization of fluoranthene- and pyrene-degrading bacteria isolated from PAH-contaminated soils and sediments, *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, **24**, 100-112.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

HOMMEL R.K., STEGNER S., WEBER L. et KLEBER H.P., (1994), Effect of ammonium ions on glycolipid production by *Candida (Torulopsis) apicola*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **42**, 192-197.

HUANG W., SCHLAUTMAN M.A. et WEBER W.J., (1996), A distributed reactivity model for sorption by soil and sediments. 5 - The influence of near-surface characteristics in mineral domains, *Environ. Sci. Technol.*, **30**, (10), 2993-3000.

HUANG W., PENG P., YU Z. et FU J., (2003), Effect of organic matter heterogeneity on sorption and desorption of organic contaminants by soils and sediments, *Applied Geochemistry*, **18**, 955-972.

HURST C.J., SIMS R.C., SIMS J. L., SORENSEN D.L., MCLEAN J.E et HUMING S., (1996), Polycyclic aromatic biodegradation as a function of oxygen tension in contaminated soil, *Journal of Hazardous Materials*, **51**, 193-208.

HWANG S. et CUTRIGHT T.H, (2002), The impact of contact time on pyrene sorptive behavior by a sandy-loam soil, *Environ. Pollut.*, **117**, 371-378.

HWANG S., RAMIREZ N., CUTRIGHT T.J. et JU L.K., (2003), The role of soil properties in pyrene sorption and desorption, *Water, Air and Soil Pollution*, **143**, 65-80.

## I

ISHIGAMI Y., GAMA Y., NAGAHORA H., YAMAGUCHI M., NAKAHARA H. et KAMATA T., (1987), The pH-sensitive conversion of molecular aggregates of rhamnolipid biosurfactant, *Chemistry Letters*, 763-766.

## J

JAFVERT C.T. et HEATH J.K., (1991), Sediment- and saturated-soil-associated reactions involving an anionic surfactant (dodecylsulfate) 1. Precipitation and micelle formation, *Environ. Sci. Technol.*, **25**, (6), 1031-1038.

JAIN D.K., COLLINS-THOMPSON D.L., LEE H. et TREVORS J.T., (1991), A drop-collapsing test for screening surfactant-producing microorganisms, *Journal of Microbiological Methods*, **13**, 271-279.

JOHNSON W.P. et AMY G.L., (1995), Facilitated transport and enhanced desorption of polycyclic aromatic hydrocarbons by natural organic matter in aquifer sediments, *Environ. Sci. Technol.*, **29**, (3), 807-817.

JONES K.C., STRATFORD J.A., TIDRIDGE P., WATERHOUSE K.S. et JOHNSTON A.E., (1989), Polycyclic aromatic hydrocarbons in an agricultural soil: long term changes in profile distribution, *Environ. Pollut.*, **56**, 337-351.

JUHASZ A.L. et NAÏ DU R., (2000), Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of the microbial degradation of benzo[a]pyrene, *International Biodeterioration & Biodegradation*, **45**, 57-88.

## K

KANALY R.A. et HARAYAMA S., (2000), Biodegradation of high-molecular-weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by bacteria - Minireview, *Journal of Bacteriology*, **182**, (8), 2059-2067.

KARICKHOFF S.W., BROWN D.S. et SCOTT T.A., (1979), Sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments, *Wat. Res.*, **13**, 241-248.

KARIMI-LOTFABAD S., PICKARD M.A. et GRAY M.R., (1996), Reactions of polynuclear aromatic hydrocarbons on soil, *Environ. Sci. Technol.*, **30**, (4), 1145-1151.

KAWAHARA F.K., DAVILA B., AL-ABED S.R., VESPER S.J., IRELAND J.C. et ROCK S., (1995), Polynuclear aromatic hydrocarbon (PAH) release from soil during treatment with Fenton's Reagent, *Chemosphere*, **31**, (9), 4131-4142.

KILE D.E. et CHIOU C.T., (1989), Water solubility enhancements of DDT and trichlorobenzene by some surfactants below and above the critical micelle concentration, *Environ. Sci. Technol.*, **23**, (7), 832-838.

KIM E.J., OH J.E. et CHANG Y.S., (2003), Effects of forest fire on the level and distribution of PCDD/Fs and PAHs in soil, *The Science of the Total Environment*, **311**, (1-3), 177-189.

KOCH A.K., KÄPPELI O., FIECHTER A. et REISER J., (1991), Hydrocarbon assimilation and biosurfactant production in *Pseudomonas aeruginosa* mutants, *Journal of Bacteriology*, **173**, (13), 4212-4219.

KÖGEL-KNABNER I., (2002), The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter, *Soil Biology & Biochemistry*, **34**, 139-162.

KOSARIC N., (2001), Biosurfactants and their application for soil bioremediation, *Food Technol. Biotechnol.*, **39**, (4), 295-304.

KUHNT G., (1993), Behavior and fate of surfactants in soil, *Environmental Toxicology and Chemistry*, **12**, 1813-1820.

## L

LAFRANCE P. et LAPOINTE M., (1998), Mobilization and co-transport of pyrene in the presence of *Pseudomonas aeruginosa* UG2 biosurfactants in sandy soil columns, *Ground Water Monitoring and Remediation*, **18**, (4), 139-147.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

LANG S. et WULLBRANDT D., (1999), Rhamnose lipids biosynthesis – Microbial production and application potential, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **51**, 22-32.

LI J. et CHEN B.H., (2002), Solubilization of model polycyclic aromatic hydrocarbons by nonionic surfactants, *Chemical Engineering Science*, **57**, (14), 2825-2835.

LISTE H. et ALEXANDER M., (2000), Plant-promoted pyrene degradation in soil, *Chemosphere*, **40**, 7-10.

LIU Z., LAHA S. et LUTHY R.G., (1991), Surfactant solubilization of polycyclic aromatic hydrocarbon compounds in soil-water suspensions, *Wat. Sci. Tech.*, **23**, 475-485.

LUSTER-TEASLEY S.L., YAO J.J., HERNER H.H., TROSKO J.E. et MASTEN S.J., (2002), Ozonation of chrysene: evaluation of byproduct mixtures and identification of toxic constituent, *Environ. Sci. Technol.*, **36**, (5), 869-876.

LUTHY R.G., AIKEN G.R., BRUSSEAU M.L., CUNNINGHAM S.D., GSCHWEND P.M., PIGNATELLO J.J., REINHARD M., TRAINA S.J., WEBER W.J. et WESTALL J.C., (1997), Sequestration of hydrophobic organic contaminants by geosorbents, *Environ. Sci. Technol.*, **31**, (12), 3341-3347.

## M

MACUR R.E. et INSKEEP W.P., (1999), Effects of a nonionic surfactant on biodegradation of phenanthrene and hexadecane in soil, *Environmental Toxicology and Chemistry*, **18**, (9), 1927-1931.

MADER B.T., UWE-GOSS K., EISENREICH S.T., (1997), Sorption of nonionic, hydrophobic organic chemicals to mineral surfaces, *Environ. Sci. Technol.*, **31**, (4), 1079-1086.

MAKKAR R.S. et CAMEOTRA S.S., (2002), An update on the use of unconventional substrates for biosurfactant production and their new applications, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **58**, 428-434.

MANRESA M.A., BASTIDA J., MERCADÉ M.E., ROBERT M., DE ANDRÉS C., ESPUNY M.J. et GUINEA J., (1991), Kinetic studies on surfactant production by *Pseudomonas aeruginosa* 44T1, *Journal of Industrial Microbiology*, **8**, 133-136.

MARTEL R. et GELINAS P., (1996), Surfactant solutions developed for NAPL recovery in contaminated aquifers, *Ground Water*, **34**, (1), 143-154.

MARTIN D., SRIVASTAVA P.C., GHOSH D. et ZECH W., (1998), Characteristics of humic substances in cultivated and natural forest soils of Sikkim, *Geoderma*, **84**, 345-362.



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- MASTEN S.J. et DAVIES S.H.R., (1997), Efficacy of in-situ ozonation for the remediation of polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soils, *J. Contam. Hydrol.*, **28**, 327-335.
- MATA-SANDOVAL J.C, KARNS J. et TORRENTS A., (2000), Effect of rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* UG2 on the solubilization of pesticides, *Environ. Sci. Technol.*, **34**, (23), 4923-4930.
- MATA-SANDOVAL J.C, KARNS J. et TORRENTS A., (2001), Effect of nutritional and environmental conditions of the production and composition of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa* UG2, *Microbiol. Res.*, **155**, 249-256.
- MATA-SANDOVAL J.C., KARNS J. et TORRENTS A., (2002), Influence of rhamnolipids and Triton X-100 on the desorption of pesticides from soils, *Environ. Sci. Technol.*, **36**, (21), 4669-4675.
- MCCRAY J.E. et BRUSSEAU M.L., (1998), Cyclodextrin-enhanced in situ flushing of multiple-component immiscible organic liquid contamination at the field scale: mass removal effectiveness, *Environ. Sci. Technol.*, **32**, (9), 1285-1293.
- MCCRAY J.E., BAI G., MAIER R.M. et BRUSSEAU M.L., (2001), Biosurfactant-enhanced solubilization of NAPL mixtures, *J. Contam. Hydrol.*, **48**, 45-68.
- MCNALLY D.L., MIHELICIC J.R. et LUEKING D.R., 1998, Biodegradation of three and four ring polycyclic aromatic hydrocarbons under aerobic and denitrifying conditions, *Environ. Sci. Technol.*, **32**, (17), 2633-2639.
- MEANS J.C., WOOD G.S., HASSETT J.J., BANWART W.L., (1980), Sorption of polynuclear aromatic hydrocarbons by sediments and soils, *Environ. Sci. Technol.*, **14**, (12), 1524-1528.
- MENZIE C.A., POTOCKI B.B. et SANTODONATO J., (1992), Exposure to carcinogenic PAHs in the environment, *Environ. Sci. Technol.*, **26**, (7), 1278-1284.
- MERCADE M.E. et MANRESA M.A., (1994), The use of agroindustrial by-products for biosurfactant production, *J.A.O.C.S.*, **71**, (1), 61-64.
- MOTELAY-MASSEI A., OLLIVON D., GARBAN B., TEIL M.J., BLANCHARD M. et CHEVREUIL M., (2004), Distribution and spatial trends of PAHs and BPCs in soils in the Seine River basin, France, *Chemosphere*, **55**, (4), 555-565.
- MULLIGAN C.N., YOUNG R.N. et GIBBS B.F., (2001), Surfactant-enhanced remediation of contaminated soil: a review, *Engineering Geology*, **60**, 371-380.
- MURPHY E.M., ZACHARA J.M., SMITH S.C., (1990), Influence of mineral-bound humic substances on the sorption of hydrophobic organic compounds, *Environ. Sci. Technol.*, **24**, (10), 1507-1516.

## N

NAM K. et ALEXANDER M., (2001), Relationship between biodegradation rate and percentage of a compound that becomes sequestered in soil, *Soil Biology & Biochemistry*, **33**, 787-792.

NAM K., KIM J.Y. et OH D.I., (2003), Effect of soil aggregation on the biodegradation of phenanthrene aged in soil, *Environ. Pollut.*, **121**, 147-151.

NAMHYUN C. et ALEXANDER M., (1998), Differences in sequestration and bioavailability of organic compounds aged in dissimilar soils, *Environ. Sci. Technol.*, **32**, (7), 855-860.

NIELSEN T., SIIGUR K., HELWEG C., JØRGENSEN O., HANSEN P.E. et KIRSO U., (1997), Sorption of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments to humic acid as studied by high-performance liquid chromatography, *Environ. Sci. Technol.*, **31**, (4), 1102-1108.

NOORDMAN W.H., WEI J.I., BRUSSEAU M.L. et JANSSEN D.B., (1998), Effects of rhamnolipid biosurfactant on removal phenanthrene from soil, *Environ. Sci. Technol.*, **32**, (12), 1806-1812.

NOORDMAN W.H., BRUSSEAU M.L. et JANSSEN D. B., (2000, a), Adsorption of a multicomponent rhamnolipid surfactant to soil, *Environ. Sci. Technol.*, **34**, (5), 832-838.

NOORDMAN W.H., BRUINING J.W., WIETZES P. et JANSSEN D. B., (2000, b), Facilitated transport of PAH mixture by a rhamnolipid biosurfactant in porous silica matrices, *J. Contam. Hydrol.*, **44**, 119-140.

## O

OPHOFF H., STORK A., VEERKAMP W. et FUHR F., (1996), Volatilization and mineralization of [3-<sup>14</sup>C]fluoranthene after soil incorporation and soil surface application, *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, **64**, 97-109.

## P

PAGE C.A., BONNER J.S., KANGA S.A., MILLS M.A. et AUTEURIETH R.L., (1999), Biosurfactant solubilization of polycyclic-aromatic hydrocarbons, *Environmental Engineering Science*, **16**, (6), 465-474.

PARRA J.L., GUINEA J., MANRESA M.A., ROBERT M., MERCADÉ M.E., COMELLES F. et BOSCH M.P., (1989), Chemical characterization and physicochemical behavior of biosurfactants, *J.A.O.C.S.*, **66**, (1), 141-145.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

PATERSON I.F., CHOWDHRY B.Z., CAREY P.J. et LEHARNE S.A., (1999), Examination of the adsorption of ethylene oxide-propylene oxide triblock copolymers to soils, *J. Contam. Hydrol.* **40**, (13), 3095-3107.

PENNELL K.D., ABRIOLA L.M. AND WEBER W.J., (1993), Surfactant-enhancement solubilization of residual dodecane in soil columns. 1 - Experimental Investigation, *Environ. Sci. Technol.*, **27**, (12), 2332-2340.

PETERS C.A., KNIGHTES C.D. et BROWN D.G.,(1999), Long term composition dynamics of PAH-containing NAPLs and implications for risk assessment, *Environ. Sci. Technol.*, **33**, (24), 4499-4507.

PHILLIPS D.H., (1999), Polycyclic aromatic hydrocarbons in the diet, *Mutation Research*, **443**, 139-147.

PIGNATELLO J.J. et XING B., (1996), Mechanisms of slow sorption of organic chemicals to natural particles – Critical review, *Environ. Sci. Technol.*, **30**, (1), 1-11.

PIGNATELLO J.J., (1998), Soil organic matter as a nanoporous sorbent of organic pollutants, *Advances in Colloid and Interface Science*, **76-77**, 445-467.

PRACK D.J.L. et PRITCHARD P.H., (2002), Solubilization of polycyclic aromatic hydrocarbon mixtures in micellar non-ionic surfactant solutions, *Wat. Res.*, **36**, (14), 3463-3472.

## R

RABABAH A. et MATSUZAWA S., (2002), Treatment system for solid matrix contaminated with fluoranthene. II - Recirculating photodegradation technique, *Chemosphere*, **46**, 49-57.

RAHMAN K.S.M., RAHMAN T.J., McCLEAN S., MARCHANT R. et BANAT I.M., (2002), Rhamnolipid biosurfactant production by strains of *Pseudomonas aeruginosa* using low cost raw materials, *Biotechnol. Prog.*, **18**, (6), 1277-1281.

RAO P. S.C., (1990), Sorption of organic contaminants, *Wat. Sci. Tech.*, **22**, (6), 1-6.

REILING H.E., THANEI-WYSS U., GUERRA-SANTOS L.H., HIRT R., KÄPPELI O. et FIECHTER A., (1986), Pilot plant production of rhamnolipid biosurfactant by *Pseudomonas aeruginosa*, *Applied and Environmental Microbiology*, **51**, (5), 985-989.

RENOUX A.Y., MILLETTE D., TYAGY D. et SAMSON R., (1999), Detoxification of fluorene, phenanthrene, carbazole and p-cresol in columns of aquifer sand as studied by the Microtox<sup>®</sup> assay, *Wat. Res.*, **33**, (9), 2045-2052.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ROBERT M., MERCADÉ M.E., BOSCH M.P., PARRA J.L., ESPUNY M.J., MANRESA M.A. et GUINEA J., (1989), Effect of carbon source on biosurfactant production by *Pseudomonas aeruginosa* 44T1, *Biotechnology letters*, **11**, (12), 871-874.

ROCKNE K.J. et STRAND S.E., (1998), Biodegradation of bicyclic and polycyclic aromatic hydrocarbons in anaerobic enrichments, *Environ. Sci. Technol.*, **32**, (24), 3962-3967.

RON E.Z. et ROSENBERG E., (2002), Biosurfactants and oil remediation, *Current Opinion in Biotechnology*, **3**, 249-252.

ROUSE J.D., MARWELL J.H. et SABATINI D.A., (1993), Minimizing surfactant losses using twin-head anionic surfactants in subsurface remediation, *Environ. Sci. Technol.*, **27**, (10), 2072-2078.

ROY D., LIU M. et WANG G.-T.E., (1994), Modeling of anthracene removal from soil columns by surfactant, *J. Environ. Sci. Health*, A29, **1**, 197-213.

ROY D., KOMMALAPATI R.R., MANDAVA S.S., VALSARAJ K.T. et CONSTANT W.D., (1997), Soil washing potential of natural surfactant, *Environ. Sci. Technol.*, **31**, (3), 670-675.

## S

SALLOUM M.J., CHEFETZ B. et HATCHER P.G., (2002), Phenanthrene sorption by aliphatic rich natural organic matter, *Environ. Sci. Technol.*, **36**, (9), 1953-1958.

SAMANTA S.K., SINGH O.M. et JAIN R.K., (2002), Polycyclic aromatic hydrocarbons: environmental pollution and bioremediation – review, *Trends in Biotechnology*, **20**, (6), 243-248.

SCHLAUTMAN M.A. et MORGAN J.J., (1994), Sorption of perylene on a nonporous inorganic silica surface: effects of aqueous chemistry on sorption rates, *Environ. Sci. Technol.*, **28**, (12), 2184-2190.

SCHLUPEN J., HAEGEL F.H., KUHLMANN J., GEISLER H. et SCHWUGER M.J., (1999), Sorption hysteresis of pyrene on zeolite, *Colloids and Surfaces A: Physico-Chemical and Engineering Aspects*, 156, 335-347.

SCHWARZENBACH R.P. et WESTALL J., (1981), Transport of nonpolar organic compounds from surface water to groundwater. Laboratory sorption studies, *Environ. Sci. Technol.*, **15**, (11), 1360-1367.

SHEN Y.H., (2000), Sorption of non-ionic surfactants to soil: the role of soil mineral composition, *Chemosphere*, **41**, 711-716.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

SHINODA K. et FONTELL K., (1995), Ionic surfactants capable of being used in hard water, *Advances in Colloid and Interface Science*, **54**, 55-75.

SIGG L. et STUMM W., (1981), The interaction of anion and weak acids with the hydrous goethite ( $\alpha$ -FeOOH) surface, *Colloids Surface*, **2**, 101-107.

SMYTH H.F., CARPENTER C.P., WEIL C.S., POZZANI U.C. et STRIEGEL J.A., (1962), Range finding toxicity data: List VI., *Am. Ind. Hyg. J.*, **23**, 95-107.

SOMASUNDARAN P. et KRISHNAKUMAR S., (1997), Adsorption of surfactants and polymers at the solid-liquid interface, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering aspects*, **123-124**, 491-513.

STRAUBE W.L., NESTLER C.C., HANSEN L.D., RINGLEBERG D., PRITCHARD P.H. et JONES-MEEHAN J., (2003), Remediation of polycyclic hydrocarbons (PAHs) through Landfarming with Biostimulation and Bioaugmentation, *Acta Biotechnol.*, **23**, (2-3), 179-196.

SVERDRUP L.E., KELLEY A.E., KROGH P.H., NIELSEN T., JENSEN J., SCOTT-FORDSMAND J.J. et STENERSEN J., (2001), Effects of eight polycyclic aromatic compounds on the survival and reproduction of the springtail *Folsomia fimetaria*, *Environ. Toxicol Chem.*, **20**, (6), 1332-1338.

## T

THANGAMANI S. et SHREVE G.S., (1994), Effect of anionic biosurfactant on hexadecane partitioning in multiphase systems, *Environ. Sci. Technol.*, **28**, (12), 1993-2000.

THIEM A., STIEBER M., WERNER P. et FRIMMEL F.H., (1997), Surfactant-enhanced mobilization and biodegradation of polycyclic-aromatic hydrocarbons in manufactured gas plant soil, *Environ. Sci. Technol.*, **31**, (9), 2570-2576.

TORRENS J.L., HERMAN D.C. et MILLER-MAIER R.M., (1998), Biosurfactant (rhamnolipid) sorption and the impact on rhamnolipid-facilitated removal of cadmium from various soils under saturated flow conditions, *Environ. Sci. Technol.*, **32**, (6), 776-781.

TOTSCHKE K.U., DANZER J. et KÖGEL-KNABNER I., (1997), Dissolved organic matter-enhanced retention of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil miscible displacement experiments, *J. Environ. Qual.*, **26**, 1090-1100.

TRAPIDO M., (1999), Polycyclic aromatic hydrocarbons in Estonian soil: contamination and profiles, *Environ. Pollut.*, **105**, 67-74.

## V

VAN DYKE M.I., LEE H. et TREVORS J.T., (1991), Applications of microbial surfactants, *Biotechnol. Adv.*, **9**, 241-252.

VAN DYKE M.I., COUTURE P., BRAUER M., LEE H. et TREVORS J.T., (1993), *Pseudomonas aeruginosa* UG2 rhamnolipid biosurfactants: structural characterization and their use in removing hydrophobic compounds from soil, *Can. J. Microbiol.*, **39**, 1071-1078.

VIPULANANDAN C. et REN X., (2000), Enhanced solubility and biodegradation of naphthalene with biosurfactant, *Journal of Environmental Engineering*, **126**, (7), 629-634.

## W

WEST C.C. et HARWELL J.H., (1992), Surfactants and subsurface remediation, *Environ. Sci. Technol.*, **36**, (12), 2324-2330.

WHITE J.C., ALEXANDER M. et PIGNATELLO J.J., (1999), Enhancing the bioavailability of organic compounds sequestered in soil and aquifer solids, *Environ. Sci. Technol.*, **18**, (2), 182-187.

WILCKE W., (2000), Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in soils – a review, *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, **163**, 229-248.

WILD S.R. et JONES K.C., (1995), Polycyclic aromatic hydrocarbons in the United Kingdom environment: a preliminary source inventory and budget, *Environ. Pollut.*, **88**, 91-108.

## Z

ZHANG Y. et MILLER R.M., (1992), Enhanced octadecane dispersion and biodegradation by a *Pseudomonas* rhamnolipid surfactant (biosurfactant), *Applied and Environmental Microbiology*, **58**, (10), 3276-3282.

ZHU L. et FENG S., (2003), Synergistic solubilization of polycyclic aromatic hydrocarbons by mixed anionic-nonionic surfactants, *Chemosphere*, **53**, 459-467.

## Ouvrages imprimés

ADEME, *Traitabilité des sols pollués – Guide méthodologique pour la sélection des techniques et l'évaluation de leurs performances*, ADEME Editions, (2003), 580 p.

AFNOR, *Recueil des normes françaises, Qualité des sols*, AFNOR Edition, (1994), 250 p.

BAIZE D., *Guide des analyses courante en pédologie : choix, expression, présentation, interprétation*, INRA, (1990), 173 p.

BALLERINI D., GATELLIER C. et VOGEL T., *Techniques de traitement par voie biologique des sols pollués*, ADEME Editions, (1998), 198 p.

COLIN F., *Pollution localisée des sols et des sous-sols par les hydrocarbures et par les solvants chlorés*, Académie des sciences, rapport n° 44, Editions Tec&Doc, (2000), 417 p.

Conseil National de Recherches Canada (CNRC), *Les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans le milieu aquatique : formation, source, devenir et effets sur le biote*, n° de publication CNRC 18981, Ottawa, Ont., (1983), 209 p.

DUCHAUFOR P., *Introduction à la science du sol - Sol, Végétation, Environnement*, 6ème Edition de l'Abrégé de pédologie, Dunod sciences, Paris, (2001), 331 p.

Gouvernement du Québec, *Politique de réhabilitation des terrains contaminés*. Sainte-Foy, Ministère de l'Environnement et de la faune, direction des substances dangereuses, (1988), 54 p.

IARC (International Agency for Research on Cancer), *Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Polynuclear Aromatic Compounds*. Lyon. Part 1, volume 32. (1983).

INRA, *Référentiel pédologique*. Association Française d'Etude des sols, INRA, 1995, 332 p.

MACKAY D., SHIU W.Y. et MA K.C., *Illustrated handbook of physical-chemical properties and environmental fate for organic chemicals*. Lewis Publishers, 2, (1992).

LECOMTE P., *Les sites pollués : traitement des sols et des eaux souterraines*, Edition Lavoisier, Tec & Doc. (1995),

Loi Canadienne sur la Protection de l'Environnement (LCPE), *Liste des substances d'intérêt prioritaire-Rapport d'évaluation-Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques*, (1994), 69p.

PANSU M. et GAUTHEYROU J., *L'analyse du sol minéralogique, organique et minérale*, Springer Verlag France, (2003), 994 p.

PORE J., *Emulsions, micro-émulsions, émulsions multiples*, Editions Techniques et Industries des Corps Gras, (1992), 270 p.

STUMM W., (1992), Chemistry of solid-water interface, Wiley, New-York.

## Chapitre dans un ouvrage imprimé

CIRC, *Polynuclear Aromatic Compounds, Part 1, chemical, Environmental and Experimental Data*, IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, **32**, Lyon, France, (1983), 33-91.

LANG S. et WAGNER F., *Structure and properties of biosurfactants*. Dans Kosaric N., Cairns W.L. Gray N.C.C. (Eds), *Biosurfactants and Biotechnology*. Marcel Dekker, New York, (1987), p 21-45.

## Travaux universitaires

DUPUIS-KEDZIOREC M., *Mobilité naturelle et provoquée de polluants métalliques dans les sols et sédiments*, Thèse de Doctorat, Université de Limoges, 14 novembre 1997, 156 p.

LAPOINTE M., *Mobilisation en colonne d'un hydrocarbure aromatique polycyclique (pyrène) adsorbé au sol au moyen d'un biotensioactif produit par Pseudomonas aeruginosa*, Mémoire de Maîtrise es Sciences, Université de Québec, Sainte-Foy, (1996), 164 p.

## Sites web consultés

ATSDR, (1995), Toxicological Profiles for substance - Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, GA: U.S department of Health and Human Services, Public Health Services. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxpro2.html>.

BASOL, (2004), Base de données sur les sites et sols pollués (ou potentiellement) pollués appelant une action des pouvoirs publics, à titre préventif ou curatif, <http://www.basol.environnement.gouv.fr>

CITEPA, (2004), Centre Interprofessionnel Technique d'Etude de la Pollution atmosphérique, [http://www.citepa.org/emissions/nationale/pop/pop\\_hap.htm](http://www.citepa.org/emissions/nationale/pop/pop_hap.htm)

HSDB, (2001), Hazardous Substances Data Bank, National Library of Medicine. <http://www.toxnet.nlm.nih.gov>.

INERIS, (2003), Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques, Fluoranthène <http://www.ineris.fr/download/fluoranthene.pdf> et Fluorène <http://www.ineris.fr/download/fluorene.pdf>

OMS IPCS (1998) - Environmental Health Criteria 202 - Selected non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. World Health Organisation, International Programme on chemical Safety. <http://www.inchem.org>.



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

RAIS, 1993, [http://rais.ornl.gov/tox/profiles/pyrene\\_f\\_V1.shtml#te](http://rais.ornl.gov/tox/profiles/pyrene_f_V1.shtml#te), site consulté le 25/07/02




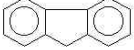
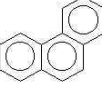
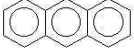
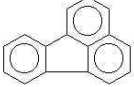
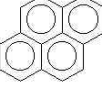
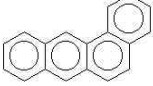
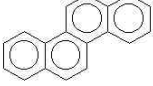

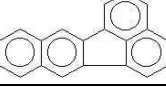
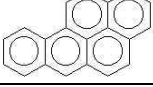

US EPA, (1990), Chemical Fate Rate Constants for SARA Section 113 Chemicals and Superfund Health Evaluation Manual Chemicals. US Environmental Protection Agency, Office of Toxic Substances, Washington, DC. 6-02-4254. <http://www.epa.gov>.



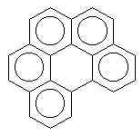
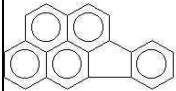
**ANNEXES**



Annexe 1 : Propriétés physico-chimiques (à 20°C) des 16 HAP classés par l'USEPA (d'après Mackay *et al.*, 1992)

Composé	Formule semi développée	Formule brute	Masse molaire (g.mol <sup>-1</sup> )	Solubilité dans l'eau S <sub>w</sub> (mg.L <sup>-1</sup> )	Coefficient de partage octanol/eau log K <sub>ow</sub>	Pression de vapeur (Pa)
Naphtalène		C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>	128,2	31	3,37	36,8
Acenaphthylène		C <sub>12</sub> H <sub>8</sub>	150,2	16,1	4	4,14
Acénaphthène		C <sub>12</sub> H <sub>10</sub>	154,2	3,8	3,92	1,52
Fluorène		C <sub>13</sub> H <sub>10</sub>	166,2	1,9	4,18	0,715
Phénanthrène		C <sub>14</sub> H <sub>10</sub>	178,2	1,10	4,57	0,113
Anthracène		C <sub>14</sub> H <sub>10</sub>	178,2	0,045	4,54	0,0778
Fluoranthène		C <sub>16</sub> H <sub>10</sub>	202,3	0,26	5,22	8,72 10 <sup>-3</sup>
Pyrène		C <sub>16</sub> H <sub>10</sub>	202,3	0,132	5,18	0,0119
Benzo[a]anthracène		C <sub>18</sub> H <sub>12</sub>	228,3	0,011	5,91	6,06 10 <sup>-4</sup>
Chrysène		C <sub>18</sub> H <sub>12</sub>	228,3	0,002	5,6	8,4 10 <sup>-7</sup>
Benzo[b]fluoranthène		C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>	252,3	0,0015	5,8	6,7 10 <sup>-5</sup>
Benzo[k]fluoranthène		C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>	252,3	0,0008	6	4,12 10 <sup>-6</sup>
Benzo[a]pyrène		C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>	252,3	0,0038	6,04	2,13 10 <sup>-5</sup>
Dibenzo[a,h]anthracène		C <sub>22</sub> H <sub>14</sub>	278,3	0,0006	6,75	9,16 10 <sup>-8</sup>

## ANNEXES

Dibenzo[g,h,i] pérylène		$C_{21}H_{16}$	268,4	0,00026	6,5	$2,25 \cdot 10^{-5}$
Indéno[1,2,3- c,d]pyrène		$C_{18}H_{12}$	276,03	0,062	6,6	$1,3 \cdot 10^{-8}$

Annexe 2 : Classification du type de carcinogène pour les 16 HAP prioritaires  
(adapté de Peters *et al.*, 1999 et Collins *et al.*, 1998)

Molécule	USEPA	
	Groupe 2B	Groupe D
Naphtalène		×
Acénaphthylène		×
Acenaphthène		
Fluorène		×
Phénanthrène		×
Anthracène		×
Fluoranthène		×
Pyrène		
Benzo[a]anthracène	×	
Chrysène	×	
Benzo[b]fluoranthène	×	
Benzo[k]fluoranthène	×	
Benzo[a]pyrène	×	
Dibenzo[a,h]anthracène	×	
Benzo[g,h,i]pérylène		
Indéno[1,2,3-c,d]pyrène	×	

Pour l'USEPA, le groupe 2B représente les molécules possiblement carcinogènes pour les humains, alors que le groupe D représente les molécules non classifiables comme carcinogènes.







## Résumé

Les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) sont des polluants organiques issus de la combustion incomplète de matières carbonées. Emis dans l'environnement, les sols constituent leur principal point de fuite. Faiblement solubles dans l'eau et peu biodégradables, ce sont des polluants rémanents souvent associés à un caractère toxique et cancérigène. Les techniques actuelles de dépollution des sols reposent sur des moyens lourds, coûteux et présentant souvent des risques environnementaux. Ainsi, l'utilisation de surfactants d'origine biologique présente un potentiel intéressant pour favoriser la remobilisation.

L'objectif de ce travail est de caractériser les propriétés d'un biotensioactif produit à partir d'une souche bactérienne récemment isolée d'un sol contaminé, de tester son efficacité à solubiliser trois HAP modèles (fluorène, fluoranthène et pyrène) et de préciser les mécanismes de solubilisation mis en jeu.

L'étude de l'adsorption du biotensioactif en réacteurs discontinus et continus a montré une faible sorption vis-à-vis du sol étudié. L'efficacité du biotensioactif pour solubiliser les HAP seuls ou en mélange ternaire a été étudiée en système statique en déterminant le Rapport Molaire de Solubilisation (RMS). Il apparaît que la présence d'un soluté moins hydrophobe partagé à l'interface micelle/eau peut favoriser la solubilisation de composés plus hydrophobes. Les résultats obtenus en colonnes de sols montrent une remobilisation rapide des HAP après injection du biosurfactant, l'efficacité de la solution tensioactive vis-à-vis des HAP pouvant être reliée à leurs valeurs de RMS.

Ce travail a été poursuivi par l'étude de l'incidence du taux de contamination sur la remobilisation des HAP. Une augmentation de la quantité de HAP remobilisée avec le taux de contamination du sol est observée jusqu'à saturation des micelles du biotensioactif. Les pourcentages remobilisés dépendent de la molécule et du taux de Matière Organique (MO) des sols. En effet, sur l'horizon de sol plus fortement chargé en MO, la remobilisation suit les propriétés physico-chimiques des polluants, contrairement à un horizon plus pauvre en MO où la fraction minérale semble jouer un rôle non négligeable sur l'adsorption.

**Mots clés :** HAP, biotensioactif, sol, remédiation, partage micellaire, solubilisation

## Abstract

Polycyclic aromatic Hydrocarbons (PAH) are organic pollutants released into the environment by combustion processes; Due to their high sorption capacity, soils constitute their main environmental sink. PAH are hydrophobic and weakly biodegradable, moreover they are toxic and considered as potent human carcinogen. Various technologies are used for the remediation of PAH-contaminated soils, but they are not cost effective and may be hazardous for the environment. Some recent studies suggest that the use of biosurfactants is a promising method that enhances the removal of PAHs from soils.

This study investigates the properties and the impact of a new biosurfactant, on the mobilization of three PAH (fluorene, fluoranthene and pyrene). The biosurfactant seems to be weakly sorbed on the soil studied. Solubilizing effects have been studied by the Molar Solubilization Ratio (MSR). In the ternary mixture, the less hydrophobic PAH (fluorene) favors the micellar solubilization of the most hydrophobic one by decreasing interfacial tensions. The soil column studies revealed that the biosurfactant was rapidly efficient. Results obtained in dynamic studies were consistent with those obtained in static studies.

This work also investigated the effect of the contamination level on PAH remobilization. The study reveals that PAH solubilization increases with the contamination level until micelle saturation. The percentage remobilized depends on the contaminant studied and the content of organic matter rate. As a matter of fact, for the soil containing the higher OM rate, remobilization follows physico-chemical properties of the PAH. For the soil containing less OM, the mineral fraction seems to play a significant role on PAH adsorption.

**Key-words:** PAH, biosurfactant, soil, remediation, micellar partitioning, solubilization