

Université du Québec
Institut national de la recherche scientifique
Centre Eau, Terre et Environnement

**Décontamination de sols pollués par les HAP par
biodégradation en présence de substrats organiques**

Par

Nathalie Siméon
Ingénieur maître en Génie de l'Environnement

Mémoire présenté
pour l'obtention du grade de Maître ès sciences (M.Sc.)

Jury d'évaluation

Directeur de recherche	Monsieur Guy MERCIER INRS-ETE Université du Québec
Codirecteur de recherche	Monsieur Jean-François BLAIS INRS-ETE Université du Québec
Codirecteur de recherche	Madame Corinne LEYVAL LIMOS Université de Nancy
Codirecteur de recherche	Monsieur Jean-Louis GOERGEN Laboratoire des Sciences du Génie Chimique INPL
Examineur interne	Monsieur Mario BERGERON INRS-ETE Université du Québec
Examineur externe	Madame Catherine MULLIGAN Université Concordia

Mai 2007

REMERCIEMENTS

Je tiens avant tout à remercier mon directeur le Professeur Guy Mercier, de m'avoir permis de faire cette maîtrise au sein de l'INRS. Il a su me guider en laboratoire, me conseiller pour des choix pratiques voire même m'épauler lors de moments difficiles. Il a su se rendre très disponible pendant tous ces moments là. Merci beaucoup pour tout Guy.

Bien sûr, je remercie mon codirecteur le Professeur Jean-François Blais, pour son aide essentielle au niveau de l'élaboration de mes protocoles, de la mise en forme globale de mes résultats et de l'article, ainsi que du présent mémoire.

Ce projet n'aurait jamais pris forme sans l'aide indispensable de Myriam Chartier, notre agente de recherche. Grâce à elle, j'ai appris à manipuler la plupart des appareils dont j'ai eu besoin, j'ai pu mettre en place mes expérimentations dans les plus brefs délais, et évidemment j'ai profité de sa bonne humeur et de son entrain au laboratoire, ce qui m'a permis de ne pas relâcher mon attention quant à mon projet.

Enfin, je n'oublierais pas les moments de galère imposés par les caprices du GC-MS où j'ai pu faire appel au soutien précieux des étudiantes Julia Mouton et Aurélie Dhenain qui ont répondu présente à chaque fois. Merci les filles ! et bon courage pour la suite !

Au niveau de mon séjour en France, il va de soit que je remercie le Professeur Jean-Louis Goergen pour son accueil sympathique au sein de l'équipe du LSGC. Je gratifie également beaucoup Bernard Parisot pour son aide de « mise en route » au laboratoire, Stéphane Delaunay et Emanuel Guédon pour l'intérêt qu'ils ont porté à mon projet et leurs explications pertinentes des phénomènes entrant en jeu pendant les expériences.

Ce projet n'aurait jamais si bien fonctionné sans l'aide unanime des employés et des étudiants du Laboratoire Sol et Environnement. Je tiens à tous les remercier chaleureusement et en particulier, le directeur Mr Jean-Louis Morel pour son accueil, Noële Raoult pour avoir supervisé les échantillonnages de sol à Homécourt, et évidemment Stéphanie Ouvrard pour son aide indispensable et sans qui je n'aurais pas été capable d'abattre autant de travail à Nancy et de comprendre autant de phénomène quant à la problématique de mon sujet.

Je tiens en outre à remercier Mme Corinne Leyval, directrice du Laboratoire des Interactions Microorganismes-Minéraux-Matière Organique pour son aide efficace et décisive quant aux

choix des paramètres à tester lors de mon stage à Nancy. Au cours du temps que j'ai passé au sein des locaux du LIMOS, j'ai été très bien encadrée par Aurélie Cébron, étudiante en post-doctorat, à qui je dois une fière chandelle pour avoir terminé des analyses de biologie moléculaire à ma place.

Il y aurait évidemment d'autres personnes que je souhaiterai remercier, comme par exemple Denis Pandolfi qui m'a aidé pour échantillonner les boues de Pont à Mousson, Cédric Parisse pour m'avoir trouvé un HPLC qui fonctionnait lorsque j'en ai eu besoin, ou le personnel de l'INRS (Michelle, Pauline, Marc...), mais il est impossible de nommer tout le monde.

Je terminerai donc en remerciant les étudiants de Nancy, mes collègues du 2432 (Esther et Bruno), Mélanie Pinatton et Simon Bourgeois pour m'avoir soutenu et supporté lors des moments difficiles inhérents à la réalisation d'un projet de maîtrise.

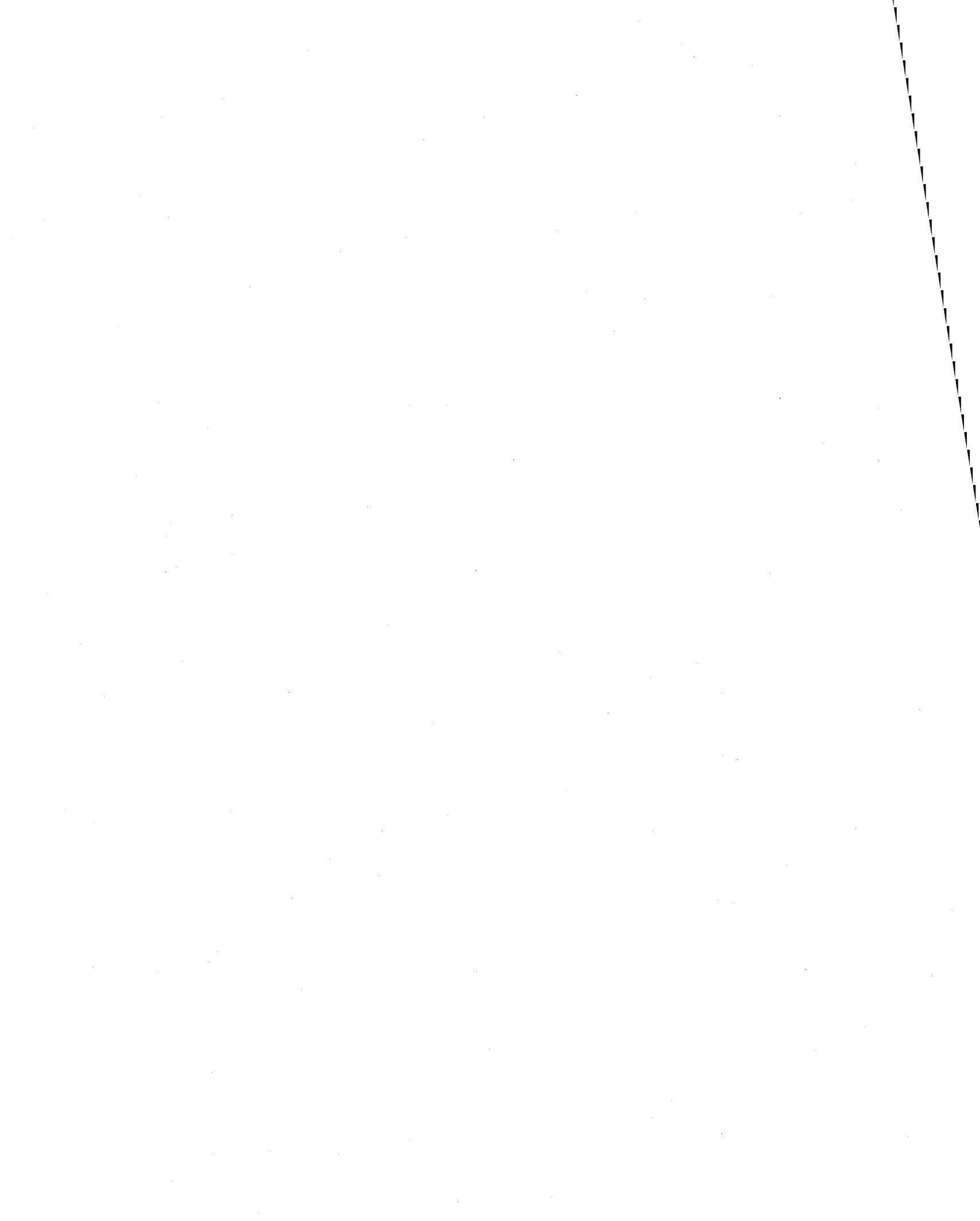
Sans oublier évidemment mes parents et mes grands-parents à qui je dédie ce mémoire.

Merci à tous...

AVANT PROPOS

Lors de cette étude l'élaboration d'un permis d'importation entre la France et le Québec (P-2005-04004) a été nécessaire pour effectuer les analyses à Québec. Le laboratoire d'Assainissement du Pr Mercier a ainsi été accrédité pour recevoir du matériel contaminé.

Les travaux de recherche, menés dans le cadre de ce projet de maîtrise, ont fait l'objet de la rédaction d'un article intitulé « Décontamination de sols pollués par les HAP par biodégradation en présence de substrats organiques » qui a été soumis à la revue *Canadian Journal of Environmental Engineering and Science* au mois de septembre 2007.



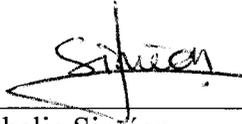
RÉSUMÉ

Les polluants organiques de type Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) sont connus pour être cancérigènes, mutagènes et pour avoir une incidence sur l'environnement. La plupart des techniques physico-chimiques de dépollution de sols sont généralement dispendieuses et produisent des polluants secondaires dans l'environnement. Pour parer à ces problèmes, l'utilisation de la biorémédiation, comme le compostage ou le « landfarming », est en plein essor du fait de son coût minime et de son approche écologique. Cette étude porte sur la biodégradation de certains HAP (les seize HAP de la liste prioritaire établie par l'Agence Américaine de Protection de l'Environnement) présents dans un sol industriel en utilisant des substrats organiques comme du lisier de porc, du compost de crevettes ou des boues d'épuration. Les boues municipales ou le lisier de porc contenant des microorganismes sont utilisés comme source d'*Inoculum* pour améliorer la biodégradation des HAP. L'acclimatation des microorganismes dans le cas des boues d'épuration permet une meilleure augmentation de la biodégradation. Les résultats expérimentaux ont montré un maximum de 60% d'enlèvement de la somme des 16 HAP en 16 semaines à 30°C avec un brassage manuel uniforme trois fois par semaine. Ce taux de dégradation a été obtenu dans le cas d'une biopile composée de 75% de sol pollué, 10% d'*Inoculum* (boues acclimatées), 10% de boues brutes et 3% de paille (pour améliorer le taux d'aération). Pour cette condition, le ratio sol/amendements est de 1.0 : 0.3 et le ratio C/N de 30. Un taux de $68 \pm 16\%$ de dégradation des HAP de 5-6 cycles a été obtenu lors de cet essai. Ces essais en piles sont menés sur deux sols d'origines différentes mais présentant une contamination organique en HAP relativement similaire. Un des deux sols provient d'un site d'une ancienne cokerie et possède une forte contamination en métaux et autres éléments toxiques, qui inhibent l'action des microorganismes lors de la dégradation.

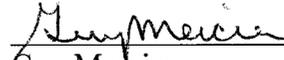
Un test en pulpe (10% p.v⁻¹ de boues/sol) a été mené pour étudier l'effet du ratio C/N sur la dégradation en fioles agitées à 150 rpm à 38°C pendant 28 jrs. La condition sans ajout de sources azotées ou carbonées (ratio C/N de 18) donne le meilleur taux d'enlèvement par rapport à des tests menés à un ratio C/N de 10 ou de 25.

Une identification moléculaire des souches bactériennes a été menée par amplification du gène de l'ADNr 16S par Polymerase Chain Reaction (PCR). Un criblage moléculaire du gène de la

HAP-dioxygénase par PCR en Temps Réel montre que la majorité de la population de dégradeurs appartient au Gram + et que l'acclimatation permet la prolifération de bactéries Gram - .



Nathalie Siméon
(Étudiante)



Guy Mercier
(Directeur de recherche)

TABLE DES MATIÈRES

Remerciements	iii
Avant propos.....	v
Résumé	vii
Table des matières	ix
Liste des tableaux	xv
Liste des figures.....	xvii
Liste des abréviations	xix
CHAPITRE I	1
1. Introduction	1
1.1. Problématique.....	2
1.2. Objectifs de la recherche	2
1.3. Méthodologie de la recherche.....	3
CHAPITRE II.....	5
2. Revue de littérature.....	5
2.1. Généralités sur les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques.....	5
2.1.1 <i>Définition</i>	5
2.1.2 <i>Sources des HAP</i>	6
2.1.3 <i>Propriétés et structure des HAP</i>	7
2.1.4 <i>Toxicité des HAP</i>	10
2.1.5 <i>Devenir des HAP dans l'environnement</i>	11
2.1.5.1 <i>Dégradation biologique des HAP</i>	12
2.1.5.2 <i>Microorganismes impliqués dans la biodégradation des HAP</i>	15
2.1.6 <i>Utilisation des HAP</i>	18

2.1.7	<i>Réglementation</i>	18
2.2.	Généralités sur les boues de station d'épuration-----	19
2.2.1	<i>Origine</i>	19
2.2.2	<i>Composition et dénomination</i>	20
2.2.3	<i>Options de valorisation</i>	21
2.3.	Différentes techniques de décontamination des sols pollués-----	22
2.3.1	<i>Méthodes physico-chimiques et thermiques</i>	23
2.3.1.1	Méthode physique : Extraction des vapeurs du sol-----	23
2.3.1.2	Méthode chimique : Lavage des sols.....	23
2.3.1.3	Méthode thermique : Désorption thermique à basse température	24
2.3.2	<i>Méthodes biologiques</i>	24
2.3.2.1	Généralités	24
2.3.2.2	Traitements in situ	26
2.3.2.2.1	Bioventing	26
2.3.2.2.2	Biobarbotage ou biosparging.....	27
2.3.2.3	Traitements ex situ.....	27
2.3.2.3.1	Bioterre, landfarming et biopile	28
2.3.2.3.2	Biosuspension ou biopulpe (traitement en réacteur)	30
Chapitre III	33
3.	Article	33
3.1.	Introduction	39
3.2.	Matériels et méthodes.....	42
3.2.1	<i>Échantillonnage et caractérisation des intrants</i>	42
3.2.1.1	Sol Noir.....	42

3.2.1.2	Sol Neuves-Maisons	42
3.2.1.3	Boues d'épuration de Bécancour	46
3.2.1.4	Boues d'épuration de Pont à Mousson	46
3.2.1.5	Autres intrants.....	46
3.2.2	<i>Essais à Québec</i>	46
3.2.2.1	Acclimatation.....	46
3.2.2.2	Essai de 16 semaines en tas	47
3.2.3	<i>Essai à Nancy</i>	48
3.2.3.1	Acclimatation accélérée.....	48
3.2.3.2	Essais en Erlenmeyer pour vérifier l'effet du rapport C/N.....	49
3.2.3.2.1	Essai FA-1	49
3.2.3.2.2	Essai FA-2	49
3.2.4	<i>Méthodes analytiques</i>	50
3.2.4.1	Extraction des HAP au Soxhlet à Québec	50
3.2.4.2	Analyse des HAP par GC-MS à Québec	50
3.2.4.3	Extraction des HAP par ASE à Nancy	51
3.2.4.4	Analyse des HAP par HPLC à Nancy	51
3.2.4.5	Biologie moléculaire.....	51
3.3.	Résultats et discussion	52
3.3.1	<i>Teneurs initiales en HAP dans les sols</i>	52
3.3.2	<i>Acclimatation des souches</i>	53
3.3.3	<i>Essais en tas de 16 semaines</i>	55
3.3.3.1	Sol Noir.....	56
3.3.3.1.1	Cas du tas C	57

3.3.3.2	Sol Neuves-Maisons	58
3.3.3.2.1	Cas du tas M	59
3.3.3.3	Essai FA-1	63
3.3.3.4	Essai FA-2	63
3.3.4	<i>Biologie moléculaire</i>	65
3.3.5	<i>Sol Neuves-Maisons vs Sol Noir</i>	66
3.4.	Conclusions	67
3.5.	Remerciements	68
3.6.	Bibliographie	69
Chapitre IV		75
4.	Résultats complémentaires	75
4.1.	Essais en tas à Nancy sur 12 semaines	75
4.1.1	<i>Méthodologie</i>	75
4.1.2	<i>Résultats</i>	77
4.2.	Comparaison des résultats en tas de Québec et de Nancy	77
Chapitre V.....		79
5.	Synthèse.....	79
5.1.	État de la situation actuelle.....	79
5.2.	Discussion.....	81
5.2.1	<i>Acclimatation de la biomasse</i>	81
5.2.2	<i>Biodégradation mésophile</i>	83
5.2.2.1	Échelle	83
5.2.2.2	Choix du substrat organique et des composants du compost	85
5.2.2.2.1	Amendements organiques et autres	85

5.2.2.2.2	Ratio C/N.....	87
5.2.3	<i>Nature des sols testés</i>	88
5.3.	Réglementation.....	91
5.4.	Difficultés liées au projet.....	92
5.5.	Conclusion.....	92
	Références	95
	Liste des Annexes.....	105



LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1	Structure des seize HAP présents dans la liste prioritaire de l'USEPA	6
Tableau 2.2	Propriétés physiques et chimiques de quelques HAP (Bernal-Martinez 2005).....	9
Tableau 2.3	Données toxicologiques relatives aux HAP (Hanna 2004)	11
Tableau 2.4	Demi-vies des HAP par biodégradation dans le sol (LCPE 1994).....	13
Tableau 2.5	Dégradation des HAP par cométabolisme (Cerniglia 1992)	14
Tableau 2.6	Principales souches bactériennes aérobies participant à la dégradation des HAP (Bernal-Martinez 2005)	17
Tableau 3.1	Caractéristiques des sols et des substrats organiques utilisés dans cette étude	43
Tableau 3.2	Teneurs initiales et fractions solubles en métaux dans les boues municipales, le lisier de porc et les sols et les normes en vigueur au Québec	44
Tableau 3.3	Teneurs initiales (mg kg ⁻¹) en HAP dans les sols et seuils réglementaires en vigueur au Québec et en France pour des usages commerciaux et/ou industriels.....	45
Tableau 3.4	Composition (g) des différents tas préparés pour les essais à Québec de biodégradation de HAP dans les sols	48
Tableau 3.5	Acclimatation des différentes biomasses en fioles agitées pendant 14 semaines à 38°C pour la biodégradation des HAP totaux présents dans le sol Noir.....	53
Tableau 3.6	Élimination des HAP totaux après 16 semaines de biodégradation à 30°C dans les différents tas.....	55
Tableau 3.7	Teneurs finales et élimination des HAP après 16 semaines de biodégradation à 30°C dans les tas C (Noir) et M (Neuves-Maisons).....	62
Tableau 3.8	Teneurs finales et élimination des HAP totaux dans le sol Neuves-Maisons après 28 jours de biodégradation à 38°C en fioles agitées.	64
Tableau 3.9	Populations bactériennes totales évaluées par la quantification du nombre de copies de gène codant pour l'ARN16S et quantification des bactéries Gram + et Gram	

– possédant un gène codant pour une HAP-dioxygénase (PAH-RHD_α) mesurées dans les boues, l'inoculum et le sol Neuves-Maisons.....65

Tableau 4.1 Composition des différents tas selon les conditions testées à Nancy76

Tableau 4.2 Teneurs finales (mg.kg⁻¹) et rendement de biodégradation dans les trois conditions testées à Nancy.....77

LISTE DES FIGURES

Figure 2.1	Voies générales de dégradation des HAP par des microorganismes (Cerniglia 1992).....	15
Figure 3.1	Enlèvement (%) des HAP totaux et en fonction du nombre de cycles après 16 semaines de biodégradation à 30°C dans le tas C (sol Noir).....	58
Figure 3.2	Enlèvement (%) des HAP totaux et en fonction du nombre de cycles après 16 semaines de biodégradation à 30°C dans le tas M (sol Neuves-Maisons).....	61

LISTE DES ABRÉVIATIONS

BAT :	Bulletin d'Assistance Technique
DNAPL :	Dense Non Aqueous Phase Liquid
GISFI :	Groupe d'Intérêt Scientifique Sur les Fiches Industrielles
HAP :	Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques
MEF :	Ministère Environnement et de la Faune
MES :	Matière En Suspension
MO :	Matière Organique
NCS :	Azote Carbone Soufre
NM :	Neuves-Maisons
POR :	Potentiel d'Oxydo-Réduction
RBS :	Réacteur Biologique Séquentiel
Rpm :	Rotation par minute
ST :	Solides Totaux
USEPA :	Agence Américaine de Protection de l'Environnement
VCI :	Valeur de Constat d'Impact

CHAPITRE I

1. INTRODUCTION

Depuis la révolution industrielle au 19^{ème} siècle, l'innovation technologique n'a cessé d'être en pleine expansion. De nos jours, elle utilise beaucoup de produits, entrant dans les processus de fabrication ou autres, qui sont toxiques voire très polluants pour notre environnement. Selon l'activité de l'entreprise, la pollution peut se retrouver dans les différents compartiments : eau, sol, air. Nos connaissances de plus en plus accrues en matière de gestion de risques pour l'homme et l'environnement ont abouties à la mise en place de législations visant à préserver au maximum l'héritage qui va être légué aux générations futures. En particulier, il existe une législation pour la réhabilitation des terrains pollués dont les critères varient selon l'usage futur du site et qui oblige les propriétaires des sites à les dépolluer sous certains seuils.

Le sol, objet principal de cette étude, provient d'une ancienne cokerie où il a été exposé à diverses sources de pollution : il est contaminé principalement en Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP). Ces composés organiques sont durs à dégradés voire récalcitrants du fait de leur structure. La méthode à l'essai dans cette étude doit pouvoir décontaminer efficacement une vaste zone à moindre coût : une méthode biologique a donc été choisie pour ces aspects économiques, écologiques et novateurs.

Ce mémoire de maîtrise comporte cinq chapitres : le chapitre I porte sur la problématique, les objectifs de recherche et sur la méthodologie utilisée. Le chapitre II fait état des connaissances actuelles sur le sujet. Le chapitre III est consacré à l'article « Décontamination de sols pollués par les HAP par biodégradation en présence de substrats organiques », qui a été soumis pour publication dans le *Canadian Journal of Environmental Engineering and Science*. Cet article regroupe les résultats les plus intéressants de cette recherche. Le chapitre IV présente les résultats qui n'ont pas été inclus dans l'article. Enfin, le chapitre V présente une synthèse générale du projet.

1.1. Problématique

La problématique de la requalification des sites industriels dégradés est liée aux profondes mutations industrielles de ces dernières années. Cela constitue un problème environnemental majeur qui se trouve relayé à la génération actuelle par les activités industrielles du passé. Outre leurs conséquences économiques, ces mutations ont entraîné l'apparition de milliers d'hectares de friches dont la reconquête se heurte quasi systématiquement à des pollutions très complexes. Nous retrouvons à ces endroits des sols contaminés par des composés organiques, ou encore, par des métaux. Cependant, ces zones contaminées sont tellement vastes qu'il faut trouver un moyen de les dépolluer sans que cela engendre des coûts trop importants.

Dans cette étude, on s'intéresse aux HAP provenant, en particulier, d'une ancienne industrie de fabrication de coke. Il existe déjà des méthodes d'élimination des HAP, cependant, ces techniques sont dispendieuses et présentent des risques de pollution par émanation de gaz à effet de serre, par exemple. Il faut alors trouver une méthode efficace qui soit économique et respectueuse de l'environnement. De plus en plus, une solution alternative à ces traitements physico-chimiques s'est mise en place : il s'agit du traitement par voie biologique ou biorémédiation. Celle-ci utilise le potentiel qu'ont les bactéries à dégrader certains composés organiques. Cependant, pour qu'il y ait une bonne dégradation, il faut que la flore soit présente et active. Pour cette raison, des essais sont réalisés en ajoutant des substrats organiques qui serviront comme source, de dégradeurs ou d'éléments nutritifs, pour augmenter et/ou stimuler la population indigène.

1.2. Objectifs de la recherche

Ce projet consiste en l'élaboration d'une technique de dépollution des sols contaminés par des HAP. Pour cela, elle vise à mettre en place une méthode de type compostage en utilisant des substrats organiques comme source de nutriments et/ou de bactéries. L'objectif principal est de développer une méthode expérimentale dont les conditions pourront facilement être reproduites sur le terrain ou en centre de traitement de sols, avec un coût minime. En effet, les quantités de sols pollués provenant des sites industriels sont généralement très importantes. Pour cette raison, des déchets comme des boues d'épuration ou du lisier de porc ont été retenus comme substrats

organiques, puisque ces matières tertiaires sont abondantes et gratuites, ce qui limite en partie le coût de la dépollution.

En résumé, l'objectif global de ce projet est de développer une solution biotechnologique fiable et la plus économique possible pour la décontamination des sols contaminés par les HAP, en particulier les HAP avec au minimum 4 cycles benzéniques. Cette étude s'inscrit donc dans une politique de développement durable car elle a comme objectif de dépolluer un sol tout en permettant une réutilisation de matières tertiaires comme substrat de croissance pour les bactéries dégradant les HAP.

1.3. Méthodologie de la recherche

Une étape préliminaire d'acclimatation des microorganismes, présents dans le substrat organique ou dans le sol, a été réalisée en fioles agitées à 38°C pendant 14 semaines. Cela avait pour but de sélectionner la flore dégradante par la mise en contact des microorganismes avec les contaminants pour une optimisation de la biodégradation ultérieure. Cette mixture a servi par la suite pour inoculer les tas de compost préparés avec : du sol, différents substrats organiques, un agent de texture et un surfactant. Les tests ont été conduits sur deux sols différents à 30°C pendant 16 semaines : un sol Noir dont la provenance est confidentielle et le sol de Neuves-Maisons provenant d'une ancienne cokerie française près de Nancy.

A l'issue de ce premier essai, des essais ont été réalisés en France. Une acclimatation accélérée uniquement à partir de boues municipales a été effectuée pendant 18 jrs à 38°C avec une agitation d'environ 600 rotations par minute (rpm). L'*Inoculum* ainsi préparé, a été ajouté lors d'un essai de compostage de 12 semaines à 30°C, testant l'effet de l'apport des boues brutes ou de cet *Inoculum*.

En parallèle, des tests en fioles d'Erlenmeyer ont été conduits pour évaluer l'effet du ratio C/N sur la biodégradation des HAP afin de savoir s'il est nécessaire d'ajouter d'autres compléments azotés ou carbonés.

Enfin, des essais de Polymerase Chain Reaction (PCR) ont été menés pour vérifier l'effet de l'acclimatation et pour quantifier la population de dégradeurs présente dans le sol de la cokerie.

CHAPITRE II

Ce chapitre se veut un complément au niveau de la revue de littérature exposée dans l'article au chapitre III.

2. REVUE DE LITTÉRATURE

Le sol de Neuves-Maisons, matrice principale de l'étude, provient d'une friche industrielle dont les activités passées ont engendré une pollution mixte. Dans ce projet, les contaminants ciblés principalement sont les HAP.

Ce chapitre expose donc des généralités quant aux HAP, aux boues d'épuration ainsi que les principales techniques de dépollution décrites dans la littérature. Au regard de l'étude bibliographique, le protocole de ce projet a pu être mis en place. Celui-ci est décrit dans la section « Matériels et méthodes » de l'article présenté au chapitre III.

2.1. Généralités sur les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques

2.1.1 Définition

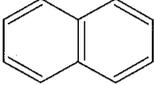
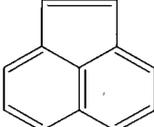
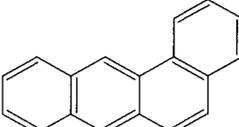
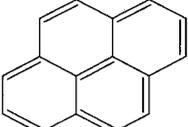
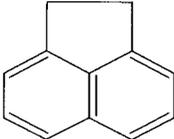
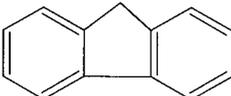
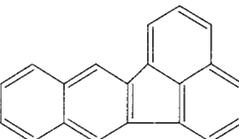
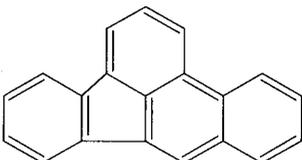
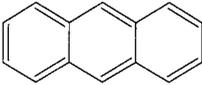
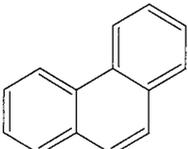
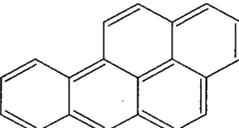
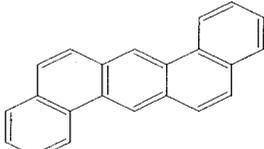
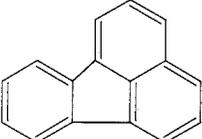
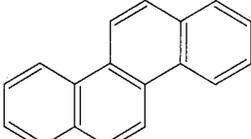
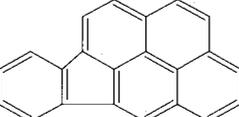
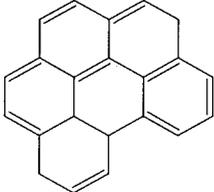
Les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques ou HAP sont des composés organiques de noyaux benzéniques fusionnés. Ils sont constitués uniquement d'atomes de carbone et d'hydrogène. Il existe d'autres HAP comportant sur les noyaux aromatiques des groupements alkyles, des halogènes ou dans la structure aromatique, des atomes de soufre, d'azote et d'oxygène.

Le plus léger HAP est le naphthalène avec ses deux noyaux benzéniques ($C_{10}H_8$), il est aussi le plus soluble et, par conséquent, le plus mobile. Le plus lourd avec ses sept cycles est le coronène ($C_{24}H_{12}$).

Ces composés sont des polluants qui peuvent causer préjudice non seulement à l'environnement mais également à l'Homme. Pour cette raison, l'Agence Américaine de Protection de l'Environnement (USEPA) a établi une liste prioritaire comprenant seize de ces composés

considérés comme les plus dangereux. Ces composés ainsi que leur structure sont présentés dans au Tableau 2.1. Ces seize composés sont les plus couramment étudiés et feront l'objet de la présente recherche.

Tableau 2.1 Structure des seize HAP présents dans la liste prioritaire de l'USEPA

Naphtalène	Acénaphylène	Benzo[a]anthracène	Pyrène
			
Acénaphène	Fluorène	Benzo[k]fluoranthène	Benzo[b]fluoranthène
			
Anthracène	Phénanthrène	Benzo[a]pyrène	Dibenzo[a,h]anthracène
			
Fluoranthène	Chrysène	Dibenzo[b,c]fluoranthène	Benzo[ghi]pérylène
			

2.1.2 Sources des HAP

Les HAP proviennent de la combustion incomplète de la matière organique (Garon et al. 2000) tels que, dans 99% des cas, des combustibles fossiles. Ces composés peuvent avoir une origine

naturelle, comme par les feux de forêt, les processus géochimiques, ou les activités volcaniques, ou bien une origine anthropogénique, comme par exemple par les émissions industrielles ou même celles des automobiles (Kastner 2000). La quantité de HAP synthétisés lors de ces phénomènes dépend de la température, du type de combustible, de la disponibilité de l'oxygène et la durée de la combustion. Dans l'environnement, les HAP sont rarement présents en très fortes concentrations. Leur particularité est surtout de se retrouver sous forme de mélanges plus ou moins complexes ; cela est dû entre autre à la diversité des sources de production des HAP et des mélanges possibles avec d'autres composés. Pour cette raison, le traitement des HAP est un processus complexe et relativement incertain.

Erickson et al. (1993) ont montré que les sous-produits du procédé de carbonisation du charbon sont présents sur les sites des cokeries. Dans ces sous-produits, 17% du poids des goudrons de houille contiennent les seize HAP de la liste prioritaire de l'USEPA (Haeseler et al. 1999).

2.1.3 Propriétés et structure des HAP

Les HAP sont une famille de composés organiques neutres, constitués exclusivement de carbone et d'hydrogène. La structure des molécules comprend au moins deux noyaux benzéniques fusionnés, dans un arrangement linéaire (anthracène), angulaire (fluoranthène), ou en grappe (pyrène). Leur poids moléculaire varie de 128 à plus de 300 g.mol⁻¹ : dans cette plage, il existe une multitude de composés différents par le nombre et par la position des noyaux aromatiques. Certains composés les plus légers (jusqu'à 4 noyaux) peuvent se retrouver en grande partie sous forme gazeuse dans l'atmosphère. À température ambiante, la majorité des HAP purs se présentent sous la forme de cristaux de couleur blanche, jaune ou verte (ATSDR 1995).

De façon générale, on considère les HAP comme hydrophobes puisque les composés les plus légers ont une solubilité variant de 1 à 30 mg.L⁻¹ et de 1 µg.L⁻¹ à 1 mg.L⁻¹ pour les plus lourds. Ces composés se comportent comme des DNALP (liquides immiscibles denses). Ils sont le plus souvent liposolubles, semi-volatils (point d'ébullition entre 200 et 530°C) et ils possèdent une faible pression de vapeur, ainsi qu'un point de fusion élevé (supérieur à 80°C) (ATSDR 1995). Ces propriétés font en sorte que les HAP tendent à s'adsorber à la matière organique, ainsi

qu'aux particules du sol. Les propriétés des seize HAP de la liste établie par l'USEPA sont présentées au Tableau 2.2.

La présence de cycles aromatiques confère à ces molécules une grande stabilité chimique, les angulaires étant les plus stables et les linéaires les moins stables (Blumer 1976). Ils peuvent en effet rester avec une structure inchangée pendant des années, même avec de bonnes conditions pour une dégradation efficace. Plus le nombre de cycles est élevé et plus la stabilité de ces composés est grande. Cette propriété structurale est la contrainte majeure lorsque l'on veut éradiquer les HAP du milieu considéré.

Tableau 2.2 Propriétés physiques et chimiques de quelques HAP (Bernal-Martinez 2005)

Composés HAP	Paramètres					
	Formule	Poids moléculaire (g.mole ⁻¹)	Nombre d'anneaux	Solubilité dans l'eau à 25°C (mg.L ⁻¹)	Log Kow*	Pression de vapeur à 20-25°C (mm Hg)
Naphtalène	C ₁₀ H ₈	128	2	31.7	3.37	4.9 x 10 ⁻²
Acénaphthylène	C ₁₂ H ₈	152	2	3.93	4.07	2.9 x 10 ⁻²
Acénaphène	C ₁₂ H ₁₀	154	2	1.93	3.98	4.47 x 10 ⁻³
Fluorène	C ₁₃ H ₁₀	166	3	1.68 – 1.98	4.18	3.2 x 10 ⁻⁴
Phénanthrène	C ₁₄ H ₁₀	178	3	1.2	4.45	6.8 x 10 ⁻⁴
Anthracène	C ₁₄ H ₁₀	178	3	0.076	4.45	1.7 x 10 ⁻⁵
Fluoranthène	C ₁₆ H ₁₀	202	3	0.20 – 0.26	4.9	5 x 10 ⁻⁶
Pyrène	C ₁₆ H ₁₀	202	4	0.077	4.88	6.8 x 10 ⁻⁷
Benzo(a) anthracène	C ₁₈ H ₁₂	228	4	0.0094	5.61	2.2 x 10 ⁻⁸
Chrysène	C ₁₈ H ₁₂	228	4	0.0018	5.63	6.3 x 10 ⁻⁷
Benzo(b)fluoranthène	C ₂₀ H ₁₂	252	5	0.0015	6.04	5 x 10 ⁻⁷
Benzo(k)fluoranthène	C ₂₀ H ₁₂	252	5	0.0008	6.06	9.59 x 10 ⁻¹¹
Benzo(a) pyrène	C ₂₀ H ₁₂	252	5	0.0016	6.06	5.6 x 10 ⁻⁹
Indéno (1.2.3-c,d) pyrène	C ₂₀ H ₁₂	276	5	0.062	6.58	10 ⁻¹¹ - 10 ⁻⁶
Dibenzo(a,h)anthracène	C ₂₂ H ₁₄	278	6	0.0005	6.84	1 x 10 ⁻¹⁰
Benzo(ghi)pérylène	C ₂₀ H ₁₂	276	6	0.0003	6.50	1.03 x 10 ⁻¹⁰

* *Logarithme du coefficient de partage (octanol/eau).*

Log Kow est le logarithme décimal du coefficient de partition Kow d'un composé dans un système standard octanol/eau.

2.1.4 Toxicité des HAP

Les seize HAP présentés au Tableau 2.1 font partis des cent vingt neuf substances classées dans la liste de polluants prioritaires de l'USEPA à cause de leur potentiel mutagène, tératogène et cancérigène (Kanaly et Harayama 2000). Les HAP peuvent pénétrer dans l'organisme soit par inhalation, absorption ou par contact avec la peau. Ils se concentrent essentiellement dans les reins et le foie, mais ils se retrouvent également dans la rate, les glandes surrénales et les ovaires où ils sont transformés en composés plus ou moins nocifs (Gouvernement du Canada 1994). Les HAP ne demeurent dans l'organisme que quelques jours avant d'être éliminés par les voies naturelles.

Certains HAP sont reconnus comme étant cancérigènes et mutagènes dont le benzo(a)anthracène, le benzo(b)fluoranthène, l'indéno(1.2.3-cd)pyrène et le benzo(g,h,i)pérylène (Gouvernement du Canada 1994). Le benzo(a)pyrène, le plus toxique des HAP, est susceptible d'accroître les risques de cancer des poumons (Santé Canada 2005a ; USEPA 1999). Le Tableau 2.3 ci-dessous présente quelques données toxicologiques relatives à certains HAP.

Tableau 2.3 Données toxicologiques relatives aux HAP (Hanna 2004)

HAP	Toxique	Mutagène	Cancérogène
Naphtalène	√	√	
Acénaphthylène		√	
Anthracène		√	
Phénanthrène	√	√	
Fluoranthène	√	√	
Pyrène	√	√	
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		√	√

2.1.5 Devenir des HAP dans l'environnement

Les HAP sont répartis dans tous les compartiments environnementaux : à la fois dans l'air, dans l'eau et dans les sols, sous forme d'un mélange complexe. On retrouve des HAP dans l'eau et dans les sols à cause du transfert *via* les précipitations, les ruissellements et les dépositions atmosphériques sèches d'une part, et d'autre part à cause de facteurs anthropiques, comme les déversements accidentels de pétrole, les fuites de réservoir ou l'enfouissement de déchets.

La plupart des HAP sont biodégradables, mais leur biodisponibilité est limitée par leur faible solubilité dans l'eau et leur fort pouvoir adsorbant. Les HAP présents dans l'air peuvent être éliminés en quelques jours voire quelques semaines par réaction photochimique ou par interaction avec des composés chimiques présents également dans l'air.

Outre les quelques réactions abiotiques que peuvent subir les HAP, il a été montré que la végétation avait un impact positif sur leur élimination dans l'atmosphère (Wagrowski et Hites 1997) ; dans l'eau et le sol, l'élimination se fait grâce à l'action de microorganismes. Cette épuration s'effectue en quelques semaines ou quelques mois dans des conditions bien spécifiques (ATSDR 1995).

L'étude du devenir des HAP dans l'environnement est rendue complexe du fait de la multitude de facteurs intervenant : les propriétés du sol, la durée de persistance dans le sol, la méthode de détermination de biodisponibilité (Liste et al. 2001).

La dégradation des HAP par voie biologique est donc un nouveau challenge auquel se retrouve confronté les industriels qui sont dans l'obligation de dépolluer un site, et pour lequel, la méthode la moins onéreuse est préconisée.

2.1.5.1 Dégradation biologique des HAP

Le métabolisme microbien est le processus majeur de dégradation des HAP dans les sols (ATSDR 1995). Les composés organiques sont dégradés et peuvent être oxydés jusqu'au stade gaz carbonique et eau (minéralisation). Ce phénomène dépend notamment de la température, de la quantité d'oxygène, de la présence de microorganismes dans le milieu considéré ainsi que des HAP présents : en effet, il s'avère que les HAP provenant des cokeries sont particulièrement récalcitrants à la biodégradation (Weissenfels et al. 1992). La solubilité des HAP est également considérée par certains auteurs comme un paramètre influençant la disponibilité aux bactéries. Ainsi, certains auteurs ont montré que les techniques d'amélioration de la biodisponibilité par des adjuvants sont d'un grand avantage dans la biorémediation des sols (Sabatini et al. 1996), d'autres suggèrent le contraire (Wilson et Madsen 1996). Cameotra et Bollag (2003) ont montré que plusieurs microorganismes sont aptes à produire des biosurfactants qui peuvent augmenter la biodisponibilité des HAP. Le développement de ce type de microorganismes a été retrouvé au cours d'essais de compostage (Déziel et al. 1996). Pour une biodégradation efficace, le polluant doit être transféré à la bactérie avant la dégradation (Feitkenhauer et Märkl 2003).

La biodégradation peut se faire en aérobie ou/et en anaérobiose, tant par métabolisme que par cométabolisme (Amellal 2004). 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). Généralement, le taux de dégradation est inversement proportionnel au nombre de cycles benzéniques de la molécule. Ceci conduit à des temps de demi-vie qui augmentent avec la taille de la molécule de HAP. Le Tableau 2.4 présente quelques exemples de temps de demi-vie de HAP dans le sol.

Tableau 2.4 Demi-vies des HAP par biodégradation dans le sol (LCPE 1994)

HAP	Temps de demi-vie
Fluorène	32 à 60 jours
Phénanthrène	2.5 à 210 jours
Anthracène	170 jours à 8 ans
Fluoranthène	268 à 377 jours
Pyrène	199 à 260 jours
Benzo[a]pyrène	0.3 à 58 ans

Si les petites molécules de HAP peuvent être éventuellement utilisées comme source d'énergie pour la croissance bactérienne, la dégradation complète des HAP à plus de 4 cycles nécessite en principe un cosubstrat plus facilement dégradable, et la dégradation se fait alors par cométabolisme (Juhasz et Naidu 2000). Dans ce cas, il y a une accumulation plus ou moins temporaire de produits de transformation susceptibles d'être dégradés par d'autres microorganismes. Ce type de dégradation, non reliée à la croissance, nécessite la présence d'un substrat organique permettant le développement et le maintien de l'activité des microorganismes impliqués. La dégradation cométabolique de certaines molécules de HAP nécessite donc une autre source de carbone et d'énergie, et la présence de composés organiques, présents ou ajoutés dans le sol, stimule généralement la capacité de dégradation de la microflore (Amellal 2004).

Le Tableau 2.5 ci-dessous présente les HAP de croissance de certaines souches ainsi que les cométabolismes associés.

Tableau 2.5 Dégradation des HAP par cométabolisme (Cerniglia 1992)

Souche	Utilisation des HAP comme co-substrat							
	HAP de croissance	Nap	Flu	Phe	Ant	Flt	Pyr	B[a]P
<i>Rhodococcus</i> sp.	Pyr	+	+					+
<i>Alcaligenes denitrificans</i>	Flt		+	+			+	-
<i>Rhodococcus</i> sp.	Nap		-	+	+	-	-	
<i>Rhodococcus</i> sp.	Flu	-		+	-	-	-	
<i>Pseudomonas cepacia</i>	Ant			+			-	-
<i>Mycobacterium</i>	Phe		+					

Nap : Naphtalène ; *Flu* : Fluorène ; *Phe* : Phénanthrène ; *Ant* : Anthracène ; *Flt* : Fluoranthène ; *Pyr* : Pyrène ; *B[a]P* : Benzo[a]pyrène.

+ cométabolisme.

- pas de cométabolisme.

La dégradation complète des molécules les plus récalcitrantes est le fait de l'intervention de plusieurs populations microbiennes assurant successivement les différentes étapes de la dégradation des HAP. Un composé organique type HAP est susceptible d'être biodégradé seulement si les microorganismes présents dans le sol possèdent l'équipement enzymatique adéquat (Amellal 2004). Si c'est le cas, 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 (Gabet 2004). Une étude montre que les microorganismes capables de dégrader la matière organique pourraient être responsables de la dégradation cométabolique des HAP (Gramss et al. 1999).

La Figure 2.1 décrit les principales voies de dégradation des HAP par des microorganismes.

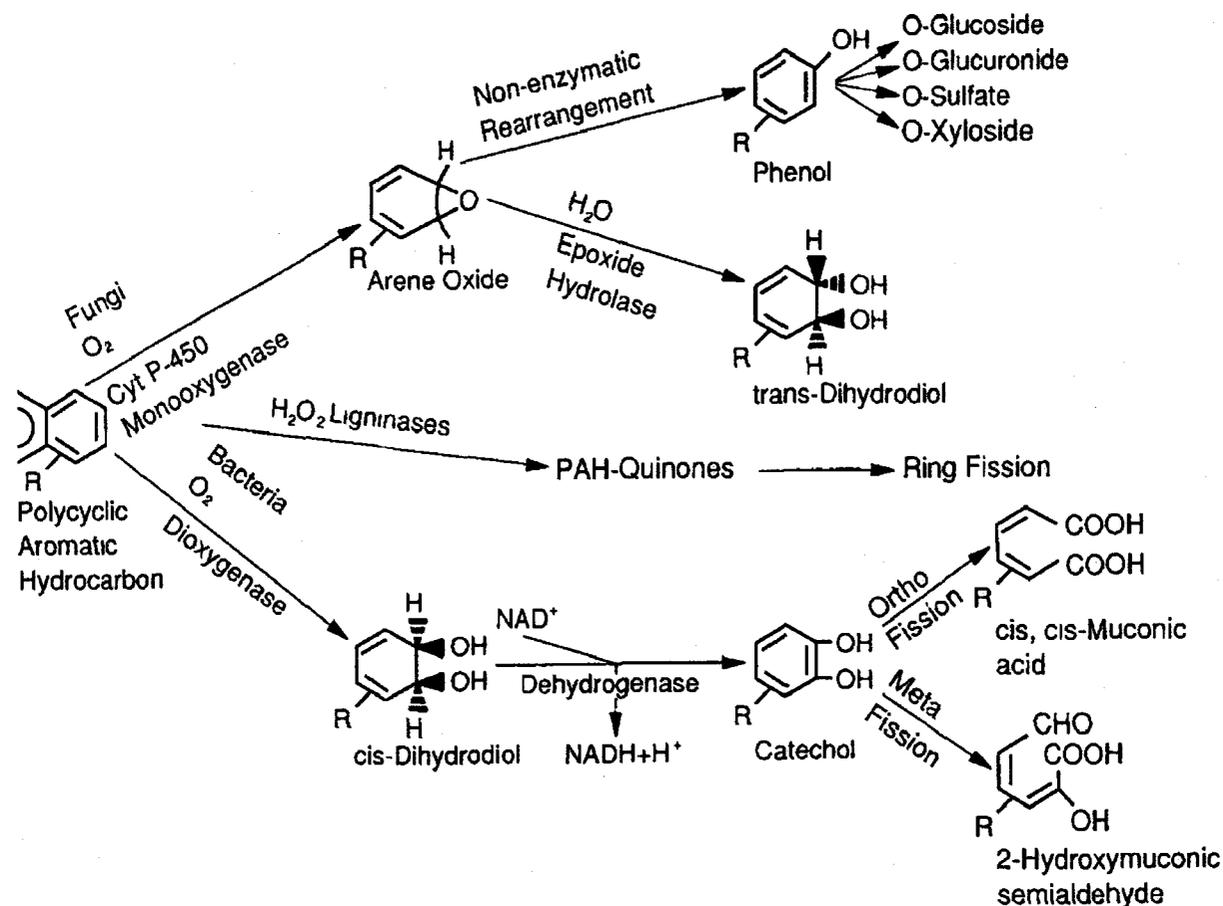


Figure 2.1 Voies générales de dégradation des HAP par des microorganismes (Cerniglia 1992)

2.1.5.2 Microorganismes impliqués dans la biodégradation des HAP

La dégradation dépend, d'une part, de la présence d'une microflore dégradante, souvent peu abondante dans les sols (Bogardt et Hemmingsen 1992) et d'autre part, de l'adaptation de cette microflore à la présence des HAP. Cette dernière a été démontrée, en effet, la biodégradation est plus rapide dans une matrice ayant déjà été exposée à la présence de HAP (Carmichael et Pfaender 1997). De nombreuses études ont permis d'isoler des microorganismes spécifiques capables de dégrader les HAP: il peut s'agir de bactéries, de moisissures ou d'algues.

Les études de biorémediation de sol contaminé par compostage du sol ou par application des champignons ligninocellulosiques permettent de mettre en évidence les principaux schémas

métaboliques. Juhasz et Naidu (2000) ont démontré qu'une grande variété de bactéries et de champignons ligninolytiques et non-ligninolytiques possède la capacité d'oxyder les HAP. Les champignons ligninolytiques possèdent des peroxydases de lignine, des peroxydases Mn-dépendantes et des laccases. Ces enzymes sont non spécifiques et peuvent oxyder une large variété de composés organiques tels que les HAP (Hammel et al. 1992). Il s'avère que dans le cas d'une biorémediation, les champignons sont plus efficaces que les bactéries, car ils évoluent généralement dans des milieux plus hostiles (Lamar et White 2001). Les mycobactéries sont reconnues pour dégrader les HAP avec au moins 4 noyaux benzéniques. La surface cellulaire hydrophobe doit être un avantage pour l'adhésion des HAP insolubles et cela facilite donc le transfert de masse à l'intérieur de la cellule (Harayama 1997).

Heitkamp et Cerniglia (1988) ont montré que *Mycobacterium* PYR-I minéralise le pyrène et le fluoranthène plus rapidement que le naphthalène et le phénanthrène. Cette souche peut transformer et non minéraliser le benzo(a)pyrène. *Mycobacterium* RJGII-135 minéralise le pyrène et le benzo(a)pyrène. Heitkamp et al. (1988) ont révélé que *Mycobacterium* BB1 croît sur du phénanthrène, du pyrène et du fluoranthène. Bien que les mycobactéries soient connues pour croître lentement, leur croissance sur les HAP est plus rapide que pour certains autres organismes, par exemple le taux de croissance sur du pyrène est de 0.056 h^{-1} pour *Mycobacterium* BB1, contre 0.023 h^{-1} pour *Rhodococcus* sp UW1.

Les espèces bactériennes du genre *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Rhodococcus* (Cutright et Lee 1994), *Sphingomonas*, *Mycobacterium* (Cheung et Kinkle 2001), *Alcaligenes* ou encore *Arthrobacter* ont été également amplement étudiées pour leur efficacité à dégrader les HAP dans les sols. Le Tableau 2.6 répertorie les microorganismes dégradant certains HAP et précise la nature des produits de dégradation.

Tableau 2.6 Principales souches bactériennes aérobies participant à la dégradation des HAP (Bernal-Martinez 2005)

HAP	Microorganismes	Produits
Naphtalène	<i>Pseudomonas sp.</i>	Acide salicylique, catéchol, acide gentisique
	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Acide salicylique
	<i>Mycobacterium sp.</i>	Acide salicylique, catéchol
	<i>Rhodococcus sp.</i>	Acide salicylique, acide gentisique
Fluorène	<i>Pseudomonas sp.</i>	1.1a-dihydroxy-1-9hydrofluorénone
	<i>Rhodococcus sp.</i> et <i>Mycobacterium sp.</i>	9-fluorenol, 9-fluorénone, 1-indanone
	<i>Staphylococcus auriculans</i>	4- et 1-hydroxy-9- fluorénone
Anthracène	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Acide salicylique et catéchol
	<i>Rhodococcus sp.</i>	-
Phénanthrène	<i>Pseudomonas sp.</i>	1.2-dihydroxynaphtalène
	<i>Pseudomonas paucimobilis</i> et <i>P. fluorescens</i>	CO ₂
Fluoranthène	<i>Pseudomonas paucimobilis</i> <i>Alcaligenes denitrificans</i> <i>Cunninghamella elegans</i>	3-hydroxymethyl-4.5-benzocoumarique
Pyrène	<i>Mycobacterium spp</i>	CO ₂
	<i>Rhodococcus sp</i>	
Benzo(a)anthracène	<i>Beijerinckia sp.</i>	Cis-10.11-dihydrodiol
Chrysène	<i>Rhodococcus sp.</i>	
Benzo(a)pyrène	<i>Beijerinckia sp.</i>	Cis-7.8-dihydrodiols Cis-9.10-ihydrodiols
	<i>Pseudomonas spp.</i>	

Certains auteurs montrent qu'il y a un rôle important des monooxygénases cytochrome P450 dans la dégradation des HAP, notamment dans la voie de dégradation du benzo(a)pyrène chez *Phanerochaete chrysosporium* (Masaphy *et al.* 1996), ou chez *Cunninghamella elegans* pour l'attaque initiale des HAP (Cerniglia 1992).

2.1.6 Utilisation des HAP

De part leur caractère nocif sur la santé et l'environnement, les HAP ne sont que très rarement utilisés comme produit brut dans l'industrie, si ce n'est pour la fabrication de produits étalons. Au Canada, la créosote, qui est en grande partie constituée par des HAP, est utilisée comme agent à usages industriels intensifs dans la préservation des traverses de chemins de fer, du bois de construction des ponts, des poteaux électriques (Gouvernement du Canada 1993). Avant l'apparition des normes de sécurité quant à leur utilisation, beaucoup de HAP étaient ainsi employés comme matière première pour la fabrication de teinture, de plastique ou de pesticides (INRS 1992, 1997). Le naphthalène, par exemple, était utilisé en médecine comme antiseptique et il est encore employé aujourd'hui comme antimite. Désormais, les HAP servent surtout de produit de départ dans la synthèse de composés organiques (INRS 1992, 1997).

2.1.7 Réglementation

Du fait du caractère toxique des HAP, des teneurs maximales admissibles sont réglementées pour éviter tout risque environnemental ou humain. Des valeurs dites guides, servant de référence, sont utilisées au Québec (Ministère de l'Environnement du Québec 2002) où un seuil de concentration est défini, correspondant à la valeur d'intervention au-dessus de laquelle le site doit être dépollué. En France, il n'existe pas de réglementation sur les teneurs en HAP des sols. Les seules données disponibles sont les VCI (Valeur de Constat d'Impact) (Ministère de l'Écologie et du Développement Durable 2002), au-delà desquelles une étude de la nature de la pollution et de ses impacts est nécessaire. Le Tableau 3.3, au sein de l'article, récapitule les valeurs retenues par ces gouvernements pour certains HAP.

En 1998 a été publiée la *Politique de protection des sols et de réhabilitation des terrains contaminés*, laquelle est basée sur quatre principes fondamentaux : prévention, réhabilitation/revalorisation, pollueur/payeur, et principe d'équité (Ministère de l'Environnement du Québec 1999). En termes de qualité des sols, le ministère de l'environnement du Québec définit quatre critères :

- Niveau A : Teneurs de fond pour les paramètres inorganiques et limite de quantification pour les paramètres organiques ;
- Niveau B : Limite maximale acceptable pour des terrains à vocation résidentielle, récréative et institutionnelle. Sont également inclus les terrains à vocation commerciale, situés dans un secteur résidentiel ;
- Niveau C : Limite maximale acceptable pour des terrains à vocation commerciale, non situés dans un secteur résidentiel, et pour des terrains à usage industriel ;
- Niveau D : Limites de pollution des sols acceptables en centre d'enfouissement (valeurs non exhaustives).

Dans cette étude, nous considérons le critère C comme critère de dépollution à appliquer.

A titre d'exemple, une quantité maximale de 10 000 mg HAP.kg⁻¹ est autorisée au Royaume-Uni pour des activités sur une aire avec recouvrement (Antizar-Ladislao et al. 2004), alors qu'en Italie une quantité maximale de 100 mg HAP.kg⁻¹ doit être atteinte pour un usage industriel ou commercial (Decreto Ministeriale 1999).

2.2. Généralités sur les boues de station d'épuration

2.2.1 Origine

Les boues municipales ou boues d'épuration constituent un déchet dans le traitement des eaux usées. Il en existe de trois sortes : les boues primaires, les boues physico-chimiques et les boues

dites biologiques. Selon le type de station, le nombre d'habitants ou le type d'effluent à traiter, il se peut que la station ne produise pas les trois sortes de boues.

Chacune de ces boues provient d'une étape distincte du traitement des eaux usées. Les boues primaires, proviennent du traitement primaire de la station, c'est-à-dire que les eaux usées ont uniquement subi une décantation qui vise à éliminer les matières en suspension (MES) décantables. Les boues physico-chimiques proviennent du traitement des eaux par floculation et/ou une coagulation, qui se fait par ajout d'agent chimique comme les sels métalliques de fer ou d'aluminium, pour la coagulation et des agents floculants (souvent des polymères organiques) pour la floculation. Enfin, les boues biologiques émanent du traitement biologique généralement par boues activées ; mais là encore il existe une multitude de techniques biologiques d'épuration des eaux. Pour maintenir l'activité biologique de la station à un bon niveau, une partie de la masse des bactéries est recirculée et l'autre partie ou "biomasse en excès" est prélevée régulièrement, entretenant ainsi la dynamique de reproduction bactérienne et favorisant ainsi l'élimination de la matière organique.

Selon Santé Canada (2005b), les boues d'épuration sont principalement générées par les traitements primaire et secondaire et elles représentent le plus important résidu solide provenant du traitement des eaux usées municipales. Le volume moyen de boues est d'environ 150 kg de matières sèches par 1 000 m³ d'eaux usées traitées.

Pour cette étude, deux types de boues biologiques ont été utilisées : boues issues d'un réacteur biologique séquentiel (RBS) ainsi que des boues provenant d'un traitement par boues activées.

2.2.2 Composition et dénomination

La composition exacte des boues varie en fonction de l'origine des eaux usées, de la période de l'année et du type de traitement et de conditionnement pratiqué dans la station d'épuration. Selon Pandolfi (2006), les boues biologiques sont essentiellement composées de bactéries vivantes et mortes, aérobies facultatives de petite taille allant du micromètre au millimètre.

En 1998, le Ministère Environnement et de la Faune du Québec (MEF) a déterminé les critères faisant d'un déchet une matière résiduelle : les boues sont alors considérées comme matières résiduelles. On emploie même le terme biosolides pour les désigner. Il s'agit de « produit solide

organique issu de traitements privés ou communautaires des eaux usées qui respecte les critères applicables pour leur utilisation bénéfique, notamment comme amendement des sols ». En effet, les boues résiduelles représentent une matière première composée de différents éléments comme : de la matière organique, des éléments fertilisants, des éléments traces métalliques, des éléments traces organiques et des agents pathogènes.

Aux vues de ces éléments, des solutions de valorisation sont mises en place ou sont encore à l'étude.

2.2.3 Options de valorisation

Les boues d'épuration brutes subissent une série de traitements au sein de la station même. En général, elles subissent une étape de stabilisation (biologique, chimique ou thermique) afin de contrôler les odeurs et la teneur en pathogènes. Puis, elles subissent différentes étapes d'élimination de l'eau : le conditionnement, utilisé pour favoriser la déstabilisation des colloïdes ce qui entraîne la coagulation qui est souvent suivi de la décantation ; l'épaississement et la déshydratation qui augmentent la siccité des boues jusqu'à environ 20 à 30% si la station utilise des filtres presses, par exemple. Il peut également y avoir une étape de séchage thermique ou naturel pour une élimination quasi-totale de l'eau résiduelle.

Les boues peuvent être éliminées ou valorisées de différentes façons. Les voies d'élimination les plus courantes à l'heure actuelle sont : l'incinération, l'enfouissement ou l'utilisation agricole comme amendements (Cai et al. 2007). Dans beaucoup de pays, le mode de disposition le plus répandu est l'épandage sur des terrains agricoles. Les critères agronomiques sont de plus en plus restrictifs pour cette pratique en raison des teneurs parfois élevées en polluants, pathogènes et métaux, ce qui rend cette pratique controversée voire difficile à mettre en œuvre.

Des solutions de valorisation sont actuellement à l'étude. A titre d'exemple, l'équipe du Professeur R.D. Tyagi (INRS-ETE) utilise les boues d'épuration comme sources pour la production des produits à haute valeur commerciale. Par exemple, l'un de ses projets vise à utiliser ces biosolides comme substrat de croissance à la bactérie *Bacillus thuringiensis* en vue de la production d'un biopesticide, ou comme biofertilisant avec le champignon *Rhizobium*.

Un autre exemple est le compostage de boues d'épuration pour éliminer les HAP (Cai et al. 2007). Cette approche permet de réduire le potentiel toxique des boues en agissant sur les concentrations des xénobiotiques et confère aux boues les critères acceptables, au niveau des composés organiques, pour être par la suite épandues.

Les boues, considérées comme matières résiduelles, ont un large potentiel dans les nouvelles technologies. Ces biosolides sont en effet une matière première abondante et gratuite, dont il faut se préoccuper pour mieux savoir l'utiliser.

2.3. Différentes techniques de décontamination des sols pollués

Les différentes méthodes de traitement des sols visent toutes à détruire les polluants ou à diminuer leurs concentrations jusqu'à des seuils acceptables selon les normes en vigueur et/ou à immobiliser les contaminants dans les sols. Il existe divers principes d'intervention pour la réhabilitation des sols pollués : les interventions *in situ*, *ex situ*, on site ou off site. Le traitement *in situ* peut impliquer le confinement du lieu, le captage et/ou traitement des eaux souterraines et des émissions atmosphériques qui génèrent le plus souvent des coûts conséquents. Le traitement *ex situ* fait appel en premier lieu à une excavation du sol, avant le traitement véritable sur place (*on site*) ou dans un autre lieu (*off site*).

À ce niveau, on distingue trois types de traitement possible : physico-chimique, thermique et biologique. Les sections suivantes donnent des exemples de techniques employées de nos jours, mais cette liste n'est pas exhaustive.

Le choix d'une technique dépend des caractéristiques des polluants présents (volatilité, adsorption, polarité, etc.), des caractéristiques du site (nature du sol, de la nappe, accessibilité, etc.), des coûts mis à disposition et du temps alloué pour effectuer la réhabilitation.

Une synthèse des principaux traitements de dépollution est exposée à l'Annexe 1.

2.3.1 Méthodes physico-chimiques et thermiques

La plupart des informations de cette section sont issues du site d'Environnement Canada (2002). Chacun des paragraphes suivants illustre un exemple de technique.

2.3.1.1 Méthode physique : Extraction des vapeurs du sol

L'extraction des vapeurs du sol est un processus d'induction d'air dans les sols non saturés qui vise à en retirer les contaminants volatilisés. Le flux d'air est induit en appliquant au sol une pompe à vide, au moyen d'un réseau de puits d'extraction. La technologie convient aux composés qui deviennent volatils lorsque soumis à de fortes pressions de vapeur et, par conséquent, aux hydrocarbures pétroliers. Il s'agit d'une méthode *in situ*.

Cette technique a l'avantage de permettre le contrôle de la migration des vapeurs vers les structures et contribue ainsi à réduire le risque d'inhalation et d'explosion. Cela n'engendre donc que très peu de perturbations sur le site, avec un coût d'investissement peu élevé.

Cependant, elle nécessite un système de traitement des effluents gazeux et une certaine homogénéité et perméabilité du sol traité. Cette méthode peut demander un temps d'exploitation relativement long. Son coût, estimé par le Bulletin d'Assistance Technique (BAT) de la région d'Ontario d'Environnement Canada (Environnement Canada 2002), est d'environ 25 000 à 50 000 \$ au titre de la conception et de l'installation et d'environ 75 \$.t⁻¹ au titre de l'exploitation et de l'entretien.

2.3.1.2 Méthode chimique : Lavage des sols

Le lavage des sols pour les polluants organiques consiste à séparer les contaminants généralement adsorbés, par le biais d'une solution aqueuse pouvant contenir un agent de lixiviation de base, un surfactant, un chélateur ou un correcteur d'acidité ; solution qui va avoir pour rôle de mobiliser les polluants. Après traitement, les sols sont ramenés au site d'excavation ou acheminés vers un lieu d'enfouissement sanitaire situé à l'extérieur du site.

Cette technique s'applique aux composés semi-volatils, aux hydrocarbures pétroliers et aux composés inorganiques (Mann 1998). Elle possède l'avantage de pouvoir être mise en place directement sur le site et de ne nécessiter que peu de temps pour le traitement.

Lors de ce traitement, il est important de traiter les eaux usées et les boues émanant du lavage et de connaître la composition de la pollution, afin d'optimiser l'efficacité du fluide nettoyant si il y a des mélanges de métaux et de composés organiques par exemple. Un autre inconvénient de cette technique est son coût relativement élevé, de l'ordre de 55 à 165 \$.t⁻¹ uniquement au titre de l'exploitation et de l'entretien (Environnement Canada 2002).

2.3.1.3 Méthode thermique : Désorption thermique à basse température

Le processus de désorption thermique à basse température a pour principe d'extraire les matières contaminées du sol par chauffage à une température variant entre 95 et 315°C. Dans cette plage de température et selon le temps de séjour, l'eau, les composés volatils et les hydrocarbures pétroliers deviennent volatils sans s'oxyder. Ces composés sont ensuite extraits des gaz atmosphériques au moyen de filtres d'adsorption au carbone.

Cette approche permet de travailler sur une plus large gamme de contaminants organiques que l'extraction des vapeurs du sol, au sein même du site.

L'inconvénient majeur de cette technique est son coût élevé (Dadkhah et Akgerman 2002), il est de l'ordre de 150 \$.t⁻¹ au titre de la conception, de l'installation, de l'excavation, de l'exploitation et de l'entretien (Environnement Canada 2002). Il est déconseillé de traiter un sol trop humide car les coûts énergétiques sont alors trop élevés.

2.3.2 Méthodes biologiques

2.3.2.1 Généralités

La biorémédiation est un processus qui utilise le potentiel qu'ont les microorganismes à dégrader des contaminants tels que les HAP. Suite à une série de réactions chimiques complexes, les déchets organiques sont métabolisés et transformés en eau, gaz carbonique et autres sous-

produits parfois toxiques, fournissant l'énergie aux microorganismes pour se développer, croître et se reproduire. Une fois les polluants dégradés, les microorganismes privés de leur source de carbone, meurent naturellement.

Les différents types de traitement se rattachant à la biorémédiation sont basés sur des concepts écologiques, à savoir :

- L'atténuation naturelle, qui est le fait de laisser se développer les bactéries indigènes. Cette approche est passive et le processus de biodégradation dépend uniquement des conditions naturelles du site. Une diminution significative des teneurs en polluants est alors très incertaine et ne peut être envisagée que sur du long terme ;
- La biostimulation, qui consiste à modifier les conditions naturelles d'un site pour en augmenter les taux de biodégradation par l'adjonction de nutriments et agents correcteurs du milieu. Cette méthode a le désavantage d'être non sélective, et donc de faire croître indifféremment tous les types de microorganismes présents naturellement sur le site avant intervention. De nombreuses techniques l'utilisent : *landfarming*, *bioventing*, *biosparging* ;
- La bioaugmentation, qui est une méthode qui consiste à ensemercer un site par une grande quantité de bactéries et/ou d'enzymes spécifiquement adaptées pour dégrader un type précis de polluant.

Le projet à l'étude ici pratique à la fois la biostimulation, en conférant au milieu les conditions les plus propices à une dégradation par des microorganismes, ainsi qu'une bioaugmentation en ajoutant une flore provenant des substrats organiques de type lisier de porc ou boues municipales.

2.3.2.2 *Traitements in situ*

Ces traitements sont pratiqués si le site est encore en activité ou que la pollution est trop profonde ou s'étend sur de grandes surfaces, rendant l'excavation des terres impossible et/ou très coûteuse.

Ces procédés *in situ* visent essentiellement à favoriser la dégradation aérobie des polluants par un apport optimisé d'air dans la zone polluée, l'oxygène étant souvent l'élément limitant des processus biologiques aérobies dans les sols. Les microorganismes indigènes sont sollicités dans ce type de traitement. L'utilisation d'approche moléculaire comme la Polymerase Chain Reaction (PCR) quantitative avec des amorces spécifiques de gènes provenant de bactéries dégradantes, est un bon moyen de détection et de caractérisation de populations de dégradeurs présentes sur les sites contaminés (Widada et al. 2002).

Voici quelques exemples de techniques *in situ*.

2.3.2.2.1 *Bioventing*

Le *bioventing* est un procédé consistant à faire circuler de l'air dans la zone contaminée de manière à en extraire les polluants, tout en assurant un apport en oxygène propice à une dégradation biologique additionnelle. Cette technique implique soit la mise en dépression de la zone insaturée, soit à injecter l'air (ou l'oxygène pur) dans les zones polluées. Contrairement à la technique d'extraction des vapeurs du sol, cette technologie utilise les taux de débit d'air de manière à fournir uniquement l'oxygène nécessaire pour accentuer la biodégradation, tout en minimisant la volatilisation des contaminants dans l'atmosphère. La technique entraîne la récupération des contaminants en surface, grâce à une pompe à vide. Les vapeurs polluées aspirées peuvent être traitées par oxydation catalytique, par condensation réfrigérée ou par adsorption sur charbon actif.

Cette technique est utilisée de façon optimale pour le nettoyage de la zone du sol insaturée et contaminée en produits organiques volatils, semi-volatils non-halogénés et/ou des hydrocarbures pétroliers. Elle est cependant peu efficace pour les pesticides. Elle est bien adaptée aux sols de perméabilité élevée (supérieure à 0.1 unité Darcy) et n'entraîne que peu de perturbations du site avec des coûts peu élevés. Le *bioventing* peut constituer une solution permanente. Le facteur le plus contraignant, qui limite l'utilisation de ce procédé, est la cinétique de biodégradation. Le

rendement de ce procédé varie avec les polluants, mais peut atteindre plus de 90%. Ceux-ci peuvent être meilleurs si l'on est en présence de trichloréthylène (TCE) ou de son produit de dégradation le chlorure de vinyle. Environnement Canada (2002) a estimé son coût à environ 30 \$.m⁻³ au titre de l'exploitation et de l'entretien.

2.3.2.2.2 *Biobarbotage ou biosparging*

Cette méthode permet de traiter localement la zone saturée. Elle consiste en l'injection d'air dans l'aquifère, par des puits verticaux ou horizontaux, en-dessous du niveau de la nappe d'eau. L'enrichissement en oxygène de l'aquifère pollué peut être aussi réalisé par l'injection de peroxyde d'oxygène (H₂O₂). Cependant, cette source d'oxygène présente trois inconvénients majeurs : son coût, son caractère corrosif qui attaque les puits d'injection (Colin 2000) et son pouvoir biocide, si celui-ci est utilisé à des concentrations dépassant 1 000 ppm. D'autres accepteurs d'électrons, tels que les nitrates, peuvent être introduits en zone saturée pour accélérer les processus biologiques de dégradation (Ambrosoli et al. 2005).

Cette technique permet de traiter des contaminants volatils, des solvants chlorés et des hydrocarbures pétroliers volatils (essences, kérosène, etc.) avec des rendements pouvant atteindre 99%. Son coût est plus élevé que l'extraction de vapeurs.

2.3.2.3 *Traitements ex situ*

Ce type de traitement est envisageable lorsque les terres polluées sont facilement accessibles. Les avantages liés au meilleur contrôle des procédés *ex situ* se traduisent par une volonté de réduction de la durée de traitement. Les conditions de biodégradation des polluants sont améliorées grâce à des opérations préalables de tamisage, de broyage, d'homogénéisation des terres, à l'addition de nutriments, d'accepteurs d'électrons et éventuellement des microorganismes, et, à une meilleure régulation de l'aération et du taux d'humidité. Ces traitements permettent de traiter une grande diversité de sols, d'obtenir de bons rendements et constituent une solution permanente.

2.3.2.3.1 Biotertre, *landfarming* et biopile

Ces désignations regroupent toutes les applications qui mettent en œuvre des tas de terre contaminées de différentes hauteurs, y compris ceux qui ont été additionnés de matières végétales (composts) (Gabet 2004).

Les biotertres désignent les technologies mettant en œuvre des volumes de terre polluée de dimensions variables, de 0.5 à 4 m³ sur des épaisseur allant de 0.5 à 1.5 m, alors que le *landfarming* consiste en l'épandage en plus faible épaisseur, de l'ordre de quelques dizaines de centimètres, sur des surfaces préparées préalablement afin d'éviter toute pollution du sous-sol. Cette méthode relève plutôt des pratiques agricoles, avec retournement régulier des terres polluées à l'aide d'engins de labour.

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, comme au 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 avec un système d'aspersion et un système de rigole. 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 vient recouvrir l'ensemble (Gabet 2004). Il est également possible d'isoler la pile pour favoriser la dégradation anaérobie et la production de méthane.

Parmi ces techniques de biorémediation, le traitement par compostage a été prouvé comme efficace dans la dégradation des HAP, avec de bons pourcentages d'enlèvement (jusqu'à 90%) et un temps de traitement plus court que du *landfarming* (Guérin 2000). Le compostage est considéré comme l'un des meilleurs moyens de gestion des déchets organiques par stabilisation. Il peut être employé avec des boues d'épuration, pour les dépolluer (Cai et al. 2007) ou pour des intérêts agricoles comme la production d'amendement ou comme agent qui améliore la structure du sol (Stelmachowski et al. 2003). Des facteurs sont à considérer pour améliorer le compostage de sols pollués : l'incorporation d'un substrat riche en composés organiques pour atteindre un bon ratio C/N, le maintien d'un taux d'humidité important et constant, l'ensemencement du sol pour augmenter l'activité microbienne, le maintien d'une porosité adéquate pour faciliter l'aération en ajoutant des agents dilatants à la matrice du sol (Adenuga et al. 1992).

Des résidus organiques facilement assimilables, comme le fumier, les eaux usées municipales, les boues municipales, le compost et les biosolides ont déjà été ajoutés à des sols contaminés, mais la stimulation de la dégradation microbienne reste une biotechnologie en plein essor (Namkoong et al. 2001). Ma et al. (2003) ont montré que d'inoculer un sol avec du compost âgé augmente significativement les quantités de bactéries et d'actinomycètes thermophiles mais ne permet pas une différence significative dans l'élimination de l'antracène au bout de 42 jrs, cet ajout accélère en fait le processus d'humification.

Généralement, la biorémédiation est efficace pour des rapports C/N de 25:1 à 35:1 (Ma et al. 2003; Moretto et al. 2005) avec une humidité comprise entre 50 et 60% (Antizar-Ladislao et al. 2004; Ma et al. 2003). Cette humidité et le ratio de l'amendement doivent être constants pour une élimination optimale des anciens HAP (Guérin 2000).

Différents amendements ont été testés selon différents ratios. Des essais montrent que le meilleur rendement, au niveau de la consommation en oxygène ainsi que la concentration finale minimale en hydrocarbures pétroliers totaux, est pour un ratio sol contaminé/amendement de 1:0.5 (Stegmann et al. 1991). La rémédiation de sols contaminés avec des produits pétroliers peut être également augmentée par l'ajout de 10% (p p⁻¹) de déchets de volailles (Williams et al. 1999; Wong et al. 2001). Une étude plus récente présente des rendements d'élimination de 61% des HAP en huit semaines avec un sol conditionné avec des déchets verts (ayant un ratio C/N entre 40 et 50) et mélangés avec 3% d'un mélange de denrées alimentaires végétales, 38% de sciure, 17% de feuilles, 27% d'herbe et 14% de paille de blé, selon un ratio sol/déchets verts de 0.8:1. Lors de cette étude, la température optimale a été fixée à 38°C. En effet, des tests effectués à 55°C et à 70°C ont montré qu'à ces températures la quantité de matière organique diminue peu ce qui démontre que la température diminue l'action microbienne. Cependant, la température peut jouer un rôle dans la biodégradation puisqu'elle peut augmenter la solubilité du naphthalène, par exemple, lorsque la température passe de 20°C à 75°C (Feitkenhauer et Märkl 2003). L'essai à 38°C a engendré une dégradation des HAP lourds de l'ordre de 43 ± 15% (Antizar-Ladislao et al. 2005b). Une étude a montré cependant qu'une minéralisation décroissante est interprétée comme une désorption lente des vieux polluants dans la phase eau du sol, ce qui est suggéré comme étant nécessaire pour rendre les polluants biodisponibles (Efroymsen et Alexander 1995). Il semble que l'application de boues de station d'épuration sur des sols, peut stimuler les bactéries et augmenter le taux de renouvellement des nutriments, avec un résultat ciblé sur la

dégradation des HAP (Wild et al. 1991). Le fumier, lui, donne l'opportunité aux organismes de croître pendant qu'ils s'adaptent aux hydrocarbures et de produire des enzymes nécessaires à la métabolisation d'hydrocarbures dans la matrice de compost (Diaz et al. 1996). Des résultats indiquent que le fumier est l'amendement le plus efficace par rapport aux boues ou au soja (Wan et al. 2000). Cependant, deux études, de l'effet du cocompostage de fumier de volaille avec du sol contaminé, ont montré qu'il reste des HAP lourds dans le sol à la fin d'une expérience de seize semaines en pilote et de onze mois en essai de *landfarming* à l'échelle (Atagana 2003, 2004). Le fumier et le vermicompost sont reconnus pour enrichir la flore bactérienne mais n'ont que peu d'effet sur la dégradation réelle des HAP (Álvarez-Bernal et al. 2006). Des études montrent que l'addition d'agent de foisonnement comme du compost, du blé ou de la sciure (Antizar-Ladislao et al. 2005a; Wong et al. 2001), dans un sol pollué par du pétrole brut, doit augmenter le taux de biodégradation des hydrocarbures en améliorant la structure du sol et son aération. De plus, des essais ont également été menés avec des copeaux ou de la laine de bois, de la tourbe, du bois de pin ou des flocons de son pour un traitement d'hydrocarbures pétroliers totaux par compostage (Baheri et Meysami 2002). Des stratégies antérieures de biorémédiation mirent également l'accent sur l'augmentation de la biodisponibilité des HAP en utilisant des solvants miscibles à l'eau (Bonten et al. 1999) et des surfactants non-ioniques (Madsen et Kristensen 1997 ; Tiehm et al. 1997). L'utilisation de surfactants en-dessous de la concentration critique de formation des micelles (CMC), devrait augmenter la désorption et stimuler la biorémédiation. Il peut cependant se produire une inhibition de la biodégradation qui peut avoir différentes causes : le surfactant ou les HAP solubilisés sont toxiques vis-à-vis des microorganismes, ou, il y a une utilisation du surfactant comme source de carbone et d'énergie (Harayama 1997).

2.3.2.3.2 *Biosuspension ou biopulpe (traitement en réacteur)*

Le principe consiste à réaliser et faciliter la biodégradation dans un contenant installé sur le site, en ajoutant au sol, les nutriments nécessaires aux microorganismes. Ce type de méthode est choisi pour les cas difficiles : hétérogénéité des sols, texture difficilement traitable (telle une teneur en argiles supérieure à 40%), faible accessibilité des polluants aux microorganismes, concentration élevée en polluant ou présence de contaminants peu biodégradables. Pour cela, 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% (p.v⁻¹) et introduit dans le réacteur par pompage (Gabet 2004). Différents modes de fonctionnement sont possibles, en continu ou en discontinu.

La technique est efficace pour des polluants présents à des concentrations comprises entre 2.5 et 250 g.kg⁻¹. Pour des HAP à trois noyaux aromatiques, le taux d'élimination est de 98-99%. Il diminue à 85-95% pour ceux à 4 noyaux et à 55-85% pour ceux à plus de 4 noyaux (ADEME 2003). Elle permet de dégrader une large gamme de composés organiques : pesticides, composés organiques halogénés, hydrocarbures dont les HAP. En revanche, elle est peu adaptée au traitement de pollutions inorganiques.

L'avantage de travailler en milieu confiné est de pouvoir optimiser les différents paramètres physico-chimiques afin d'aboutir à des vitesses de dégradation maximales. 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 (Gabet 2004). Des microorganismes peuvent également être ajoutés pour maintenir une bonne concentration en biomasse. Un brassage assure un contact et un transfert de masse maximum entre le polluant et les bactéries. Une aération complète le dispositif. Il semble que la fabrication d'un réacteur cylindrique permet une bonne distribution du flux d'air et prévient la formation de poches anaérobiques (Antizar-Ladislao 2005b). L'ajout d'air, dans les bioréacteurs, pour une biodégradation des hydrocarbures à fortes températures, est plus facile à cause du taux de transfert de l'oxygène qui augmente considérablement en présence d'hydrocarbures (Feitkenhauer et Märkl 2003). Les gaz produits lors du traitement sont traités à l'aide de filtres à charbon actif ou de biofiltre (Gabet 2004). Dean Ross (2005) ont montré qu'il y a une meilleure dégradation des HAP avec un taux de chargement du bioréacteur de 10%, contre 5 ou 20%.

Les principaux atouts de cette technique sont sa facilité à contrôler et maintenir de bonnes conditions de traitement. Les durées de mises en œuvre sont plus courtes et n'excèdent généralement pas six à neuf mois. Enfin, la structure du sol n'est pas trop altérée et sa réutilisation est envisageable pour des usages de reconstruction paysagère (Gabet 2004).

En revanche, la taille du réacteur limite beaucoup le taux de traitement. De plus, cette méthode est relativement dispendieuse, de l'ordre de 80 à 230 \$.t⁻¹ au titre de l'exploitation et de

l'entretien (Environnement Canada 2002). Il est recommandé de traiter les eaux usées émanant du procédé.

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⁻¹. Ces deux paramètres font que cette technique n'est actuellement pas économiquement viable.

CHAPITRE III

3. ARTICLE

Ce chapitre contient un article scientifique qui fait la synthèse des principales observations, analyses et conclusions de la présente étude. Cet article a été soumis pour publication à la revue *Canadian Journal of Environmental Engineering and Science*.

La première version de cet article est entièrement le fruit de mon travail. Par la suite, celle-ci a bénéficié des corrections successives et des commentaires de Guy Mercier, Jean-François Blais, Stéphanie Ouvrard, Jean-Louis Goergen, Corinne Leyval, Emmanuel Guedon et Aurélie Cébron.

L'approche méthodologique, l'intégration de données et la majeure partie des interprétations ainsi que des conclusions apportées dans cet article sont le résultat de mes travaux.

Décontamination de sols pollués par les HAP par biodégradation en présence de substrats organiques

**Nathalie Siméon^a, Guy Mercier^{a,*}, Jean-François Blais^a,
Stéphanie Ouvrard^b, Aurélie Cébron^c Corinne Leyval^c Jean-Louis Goergen^d, et Emmanuel
Guedon^d**

^a Institut national de la recherche scientifique (Centre Eau, Terre et Environnement),
Université du Québec, 490 rue de la couronne, Québec, Qc, Canada, G1K 9A9,
Tél : (418) 654-2633, Fax : (418) 654-2600, email : guy.mercier@ete.inrs.ca

^b Laboratoire Sols et Environnement (INPL-ENSAIA/INRA)
Institut National Polytechnique de Lorraine, 2 avenue de la Forêt de Haye 54501 Vandoeuvre-
lès-Nancy, France

^c Laboratoire des Interactions Micro-organismes Minéraux Matière Organique dans les Sols,
UMR 7137 CNRS, Université de Nancy, Faculté des Sciences, BP239, 54506 Vandoeuvre-lès-
Nancy cedex, France

^d Laboratoire des Sciences du Génie Chimique-UPR CNRS 6811
Institut National Polytechnique de Lorraine, 2 avenue de la Forêt de Haye 54501 Vandoeuvre-
lès-Nancy, France

Mai 2007

Résumé: Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont connus pour être cancérigènes et mutagènes. Cette étude a porté sur la biodégradation de certains HAP (les 16 HAP de la liste prioritaire établie par l'Agence Américaine de Protection de l'Environnement) présents dans un sol industriel en utilisant des substrats organiques comme du lisier de porc, du compost de crevettes ou des boues d'épuration. Les boues municipales et le lisier de porc ont été utilisés comme source d'*Inoculum* pour améliorer la biodégradation des HAP. Les résultats ont montré un maximum de 60% d'enlèvement de la somme des 16 HAP en 16 semaines à 30°C. Ce taux de dégradation a été obtenu dans le cas d'une biopile composée de 75% de sol pollué, 10% d'*Inoculum* (boues acclimatées), 10% de boues brutes et 3% de paille (pour améliorer le taux d'aération). Pour cette condition, le ratio sol/amendements était de 1.0:0.3 et le ratio C/N de 30. Un taux de $68 \pm 16\%$ de dégradation des HAP de 5-6 cycles a été obtenu lors de cet essai. Un criblage moléculaire du gène de HAP-dioxygénase par PCR en Temps Réel montre que la majorité des bactéries dégradantes provenant du sol contaminé sont des Gram + alors que l'*Inoculum* fait à partir des boues favorise le développement des bactéries dégradantes Gram-.

Mots clés : HAP, biodégradation, sol contaminé, boue, acclimatation, ratio C/N, HAP-dioxygénase.

Abstract: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are well known carcinogens and mutagens. In this study, biodegradation of several PAHs (16 major pollutants mentioned by USEPA) presents in industrial polluted-soil were carried out using different organic substrates such as pork manure, shrimp compost or sewage sludge. Wastewater sludge and pig manure were used as a source of *Inoculum* for enhanced biodegradation of PAHs. The results showed maximum 60% of biodegradation of total PAHs in 16 weeks at 30°C. The degradation rate obtained from the biopile consist of 75% of PAHs contaminated soil, 10% of *Inoculum* (acclimatized sludge), 10% of sludge (as organic and bacterial source) and 3% of straw (to increase aeration rate). The ratio of soil/amendment was 1.0:0.3 and the C/N ratio was found 30. The GC-MS results showed that microbial cultures effectively degraded aromatic compounds of 5-6 cycles at a total value of $68 \pm 16\%$. Molecular screening of PAH-dioxygenase genes in DNA extracted from soil, using Real-Time PCR (RT-PCR) showed that major bacterial degraders from the soil belongs to Gram positive bacteria, while in acclimated sludge (*Inoculum*)major degraders are Gram negative bacteria.

Key words: PAH, biodegradation, contaminated soil, sludge, acclimatization, C/N ratio, PAH-dioxygenase.

3.1. Introduction

Les mutations technologiques antérieures ont laissé place à d'anciens sites inexploités et pollués qu'il faut maintenant réhabiliter. Les polluants incriminés dans cette étude, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), sont des composés organiques de noyaux benzéniques fusionnés dont certains présentent un caractère mutagène, tératogène voire cancérigène (Cerniglia 1992; Kanaly et Harayama 2000). L'Agence Américaine de Protection de l'Environnement (USEPA) a établie une liste prioritaire comprenant seize HAP en raison de leur dangerosité (Haeseler et al. 1999). Les HAP d'origine naturelle ou anthropogénique, résultent de la combustion incomplète de la matière organique (Garon et al. 2000). Les activités industrielles, comme les procédés de transformation du charbon, sont les premières causes anthropiques.

L'étude du devenir des HAP dans le compartiment édaphique est complexe du fait de la multitude de facteurs intervenant : propriétés du sol, durée de persistance, méthode de détermination de la biodisponibilité (Liste et Alexander 2001). Ces composés sont le plus souvent liposolubles et semi-volatils (ATSDR 1995). Ces propriétés font que les HAP tendent à s'adsorber à la matière organique ainsi qu'aux particules du sol ou aux sédiments ralentissant ainsi la dégradation (Dean Ross 2005).

Des procédés spécifiques de dépollution ont ainsi été développés. Souvent complexes et coûteux, ils impliquent généralement les mises en œuvre de plusieurs procédés. Une solution alternative et novatrice à ces traitements physico-chimiques s'est mise en place, il s'agit de la biorémediation (Wilson et Jones 1993; Breedveld et Sparrevik 2000; Canet et al. 2001; Antizar-Ladislao et al. 2005b). Efficace et peu onéreuse, cette méthode utilise et maximise le potentiel de dégradation de microorganismes, avec un minimum de perturbation pour l'environnement (Dean Ross 2005). L'adaptation des microorganismes à la dégradation des HAP a été démontrée. En effet, la biodégradation est plus rapide dans une matrice ayant déjà été exposée à des HAP (Carmichaël et Pfaender 1997; Ma et al. 2003). Un composé organique est susceptible d'être biodégradé si les microorganismes présents possèdent l'équipement enzymatique adéquat (Amellal 2004). Deux types de biodégradation existent dans les sols : le métabolisme et le cométabolisme. La dégradation métabolique concerne les microorganismes qui possèdent les enzymes pour dégrader entièrement la molécule et l'utiliser comme source de carbone ou d'énergie (Amellal 2004). Le cométabolisme, mécanisme non spécifique, est important pour la dégradation de mélange de

HAP ou pour les HAP lourds. Les HAP de deux à quatre cycles eux, sont connus pour être des substrats de croissance pour les bactéries (Habe et Omori 2003). La majorité des voies de dégradation étudiées concerne les voies aérobies (Shuttleworth et Cerniglia 1995; Gibson et Parales 2000). L'étape initiale de dégradation est similaire à tous les HAP. Elle consiste en l'incorporation d'une molécule d'oxygène (O₂) sur un cycle ouvert, par l'intermédiaire d'une dioxygénase, et conduit à la formation de cis-dihydrodiols (Cerniglia 1992). Les études récentes des voies de dégradation aérobique des HAP ont surtout focalisé leurs efforts sur les gènes cataboliques homologues de la naphthalène-dioxygénase, que nous nommerons plus généralement gènes de HAP-dioxygénases. La plupart des études de biorémediation implique une biostimulation, ou une bioaugmentation. Avant la biostimulation d'un site contaminé, il faut que la présence de bactéries dégradant les HAP soit confirmée. L'utilisation d'approche moléculaire comme la Polymerase Chain Reaction (PCR) avec des amorces spécifiques ciblant des gènes présents chez les bactéries dégradantes, est un bon moyen de détection et de caractérisation de populations de dégradeurs (Widada et al. 2002). Très récemment une méthode de PCR quantitative en temps réel a même été développée pour quantifier spécifiquement les bactéries Gram + et Gram - possédant un gène de HAP-dioxygénase (Cébron et al. 2007).

Les HAP provenant des cokeries sont très récalcitrants à la biodégradation (Weissenfels et al. 1992). Les sols pollués contiennent peu de matière organique, ne favorisant ainsi pas l'activité bactérienne. Dans cette présente étude, des essais sont réalisés en ajoutant des amendements organiques. Cela permet d'apporter une flore bactérienne abondante et/ou de stimuler la flore indigène (Wong et al. 2001; Habe et Omori 2003). Parmi ces techniques de biorémediation des HAP, le traitement par compostage a été prouvé comme efficace. Il permet de bons pourcentages d'enlèvement et un temps de traitement plus court que du landfarming (Guérin 2000) : c'est un bon moyen de gestion des déchets organiques par stabilisation. Il peut être employé avec des boues d'épuration, pour les dépolluer (Cai et al. 2007), ou pour des intérêts agricoles (Stelmachowski et al. 2003). Des facteurs de contrôle sont à considérer pour améliorer le compostage de sols pollués : (i) l'incorporation d'un substrat riche en composés organiques pour atteindre un bon ratio C/N, (ii) le maintien d'un taux d'humidité important et constant, (iii) l'ensemencement pour augmenter la microflore dégradante, (iv) le maintien d'une porosité adéquate en ajoutant des agents dilatants (Adenuga et al. 1992). Des résidus organiques facilement assimilables, comme le fumier, les eaux usées municipales, les boues municipales, le

compost et les biosolides ont déjà été ajoutés à des sols contaminés. La stimulation de la dégradation microbienne reste encore une biotechnologie à l'étude (Namkoong et al. 2001). Généralement, la biorémédiation est efficace pour des rapports C/N de 25:1 à 35:1 (Ma et al. 2003; Moretto et al. 2005) avec une humidité maintenue entre 50 et 60% (Ma et al. 2003; Antizar-Ladislao et al. 2004). Différents amendements ont été testés selon différents ratios. Des essais montrent que le meilleur rendement pour éliminer des hydrocarbures pétroliers totaux, est pour un ratio sol contaminé/amendement de 1:0.5 (Stegmann et al. 1991). La rémédiation peut être accélérée grâce à l'ajout de 10% (p p⁻¹) de déchets de volailles (Williams et al. 1999; Wong et al. 2001). Une étude récente présente des rendements d'élimination de 60.8% des HAP en huit semaines avec un sol conditionné avec des déchets verts, selon un ratio sol/déchets verts de 0.8:1 (Antizar-Ladislao et al. 2005b). Lors de cette étude, la température optimale a été fixée à 38°C, et la dégradation des HAP lourds fut de l'ordre de 43 ± 15% (Antizar-Ladislao et al. 2005b). Des résultats indiquent que le fumier est l'amendement le plus efficace par rapport aux boues ou au soja (Wan et al. 2000). Cependant, deux études, de l'effet du co-compostage de fumier de volaille avec du sol contaminé, montrent qu'il reste des HAP lourds à la fin d'une expérience de 16 semaines en pilote et de 11 mois de landfarming (Atagana 2003, 2004). Le fumier et le vermicompost sont reconnus pour enrichir la flore bactérienne mais n'ont que peu d'effet sur la dégradation réelle des HAP (Álvarez-Bernal et al. 2006). Pour optimiser les rendements de dépollution, les tests de biodégradation des HAP dans les sols se font au préalable en bioréacteurs (Rutherford et al. 1998), et la densité de pulpe la plus efficace serait de 10% (p.p⁻¹) (Dean Ross 2005). Malgré, la multiplicité des études, les conditions les plus adéquates de rémédiation ne sont pas encore claires, c'est pourquoi nous avons décidé de tester différentes conditions expérimentales en laboratoire.

Lors de la présente étude, différents amendements organiques comme le compost de crevette, le lisier de porc et des boues municipales ont été testés en ajoutant de la paille comme agent de texture, ou même un surfactant pour améliorer la biodisponibilité. Au préalable, une acclimatation des bactéries présentes dans les boues de station d'épuration, a été faite en y mélangeant du sol contaminé en HAP. Un autre test en milieu liquide a été conduit pour tester l'effet des boues et du ratio C/N du milieu sur la biodégradation des HAP. La finalité de ce projet a été de mettre en place les premiers essais d'une technique de dépollution de sol en utilisant les

principes du compostage et du landfarming. L'objectif recherché est de dégrader efficacement les HAP de haut poids moléculaire (plus de quatre cycles benzéniques) à des coûts limités.

3.2. Matériels et méthodes

3.2.1 *Échantillonnage et caractérisation des intrants*

3.2.1.1 *Sol Noir*

Le sol Noir utilisé lors de l'acclimatation et des essais à Québec provient d'un site confidentiel. Il a été choisi pour sa forte contamination en HAP. Il est composé à 68% de particules de plus de 1 mm, de 30% de particules de taille comprises entre 250 et 500 μm et de 2% de particules très fines. Les caractéristiques générales de ce sol sont présentées dans les Tableaux 3.1, 3.2 et 3.3.

Il est à noter que ce sol ne contient pas d'acénaphthylène. Les rendements d'élimination sont donc basés sur la somme des quinze autres composés.

3.2.1.2 *Sol Neuves-Maisons*

La terre de Neuves-Maisons (Meurthe-et-Moselle, France) utilisée provient d'une friche industrielle proche de Nancy. Un échantillon homogénéisé à la pelle mécanique et criblé à 8 cm a été constitué le 10 octobre 2004 puis stocké sur le site expérimental du GISFI à Homécourt. Deux sous-échantillons ont été constitués pour les essais. Le premier, prélevé en décembre 2005 et tamisé à 5 mm, a été utilisé pour les essais réalisés au sein de l'INRS ETE. Le lot ainsi échantillonné a été importé au Québec pour les analyses (No. de permis ACIA : P- 2005-04004). Le second a été prélevé et tamisé à 5 mm directement sur le site d'Homécourt en septembre 2006.

Ce sol est composé à 70% de particules de plus de 1 mm, de 18% de particules de taille comprises entre 250 et 500 μm et de 12% de particules très fines. Les caractéristiques générales de ce sol sont également présentées aux Tableaux 3.1, 3.2 et 3.3.

Tableau 3.1 Caractéristiques des sols et des substrats organiques utilisés dans cette étude

Paramètres	Unités	Sol Noir	Sol Neuves Maisons	Inoculum	Lisier	Boues	Compost	Pailles
Solides totaux	% (p p ⁻¹)	88.3	89.0	34.2	2.63	3.00	82.8	99.7
Densité	g cm ⁻³	1.14	1.18	1.00	1.00	0.99	0.42	0.07
pH	-	7.25	6.50	7.25	6.95	7.95	6.60	7.35
CEC ^a	m Eq 100 g ⁻¹	17.4	79.8	-	-	-	-	-
Carbone total (C)	g kg ⁻¹	65	92	82	380	277	303	442
Azote total (N)	g kg ⁻¹	2.35	4.90	4.80	38.8	40.3	16.5	7.50
<i>Rapport C/N</i>	-	27.6	18.7	17.1	9.8	6.9	18.3	59.0
Soufre (S)	g kg ⁻¹	1.95	57.6	2.33	8.60	6.95	6.10	1.30
Phosphore (P)	g kg ⁻¹	0.64	2.48	0.48	0.58	0.54	3.89	0.68
Calcium (Ca)	g kg ⁻¹	8.15	105	2.56	0.95	0.27	25.4	1.60
Magnésium (Mg)	g kg ⁻¹	2.97	7.73	1.94	0.27	0.59	4.58	0.81
Sodium (Na)	g kg ⁻¹	0.71	2.08	0.19	0.25	0.07	1.67	0.13
Potassium (K)	g kg ⁻¹	1.66	4.21	1.29	0.69	0.11	7.62	2.81

^a *Capacité d'échange cationique en mEquivalent*

Tableau 3.2 Teneurs initiales et fractions solubles en métaux dans les boues municipales, le lisier de porc et les sols et les normes en vigueur au Québec

Métaux	Sol Noir		Sol Neuves Maisons		Normes MEF Critère C (mg kg ⁻¹)	Boues (mg kg ⁻¹)	Lisier (mg kg ⁻¹)
	Teneur initiale (mg kg ⁻¹)	Fraction soluble (mg L ⁻¹)	Teneur initiale (mg kg ⁻¹)	Fraction soluble (mg L ⁻¹)			
Aluminium (Al)	12 000	7.39 ± 0.32	26 230	2.15 ± 0.36	-	248	19.0
Arsenic (As)	23.7	0.00 ± 0.01	57	0.72 ± 0.87	50	0.4	0.0
Cadmium (Cd)	4.02	0.007 ± 0.001	4.60	0.012 ± 0.002	20	0.1	0.0
Chrome (Cr)	31.4	0.081 ± 0.006	409	0.174 ± 0.145	800	2.7	0.2
Cuivre (Cu)	119	0.359 ± 0.018	92.1	0.367 ± 0.102	500	40.6	8.1
Fer (Fe)	16 560	8.26 ± 2.58	143 200	12.27 ± 4.83	-	1 163	62.6
Manganèse (Mn)	384	0.283 ± 0.081	3 600	49.93 ± 3.67	2 200	10.0	16.2
Molybdène (Mo)	2.48	0.023 ± 0.016	10.0	0.060 ± 0.015	40	0.20	0.20
Nickel (Ni)	28.8	0.060 ± 0.001	89.7	0.232 ± 0.014	500	5.4	0.20
Plomb (Pb)	340	0.124 ± 0.022	521	0.230 ± 0.211	1 000	1.70	0.0
Zinc (Zn)	270	1.80 ± 0.46	2 184	1.51 ± 0.14	1 500	10.7	85.5
<i>Σ métaux</i>	<i>29 760</i>	<i>18.4 ± 3.5</i>	<i>176 400</i>	<i>67.6 ± 10.4</i>	-	<i>1 432</i>	<i>192</i>

Tableau 3.3 Teneurs initiales (mg kg⁻¹) en HAP dans les sols et seuils réglementaires en vigueur au Québec et en France pour des usages commerciaux et/ou industriels

Composition	Sol Noir	Sol Neuves Maisons		Normes MEF Critère C	Normes France
		Tests à Québec	Tests à Nancy		
Naphtalène	6.8	29.0	15.2	50	pvl ^a
<i>Somme des 2 cycles</i>	6.8	29.0	15	50	-
Acénaphène	11.5	55.0	43.5	100	-
Anthracène	32.9	38.0	44.7	100	pvl
Fluorène	14.8	54.9	41.1	100	-
Phénanthrène	119	149	114	50	-
<i>Somme des 3 cycles</i>	178	297	244	350	-
Benzo(a)anthracène	108	78.8	98.7	10	252
Chrysène	98.8	82.3	100	10	25 200
Fluoranthène	190	135	159	100	pvl
Pyrène	156	99.3	142	100	-
<i>Somme des 4 cycles</i>	553	396	500	220	-
Benzo(a)pyrène	97.4	72.6	73.8	10	25
Benzo(b,j,k)fluoranthène	153	143	187	10	2 520 ^b
Dibenzo(a,h)anthracène	19.5	49.0	115	10	-
<i>Somme des 5 cycles</i>	270	264	376	30	-
Benzo(g,h,i)pérylène	62.9	63.9	47.3	10	-
Indéno(1,2,3-c,d)pyrène	87.5	70.1	58.4	10	252
<i>Somme des 6 cycles</i>	150	134	106	20	-
<i>Σ HAP</i>	1 160	1 120	1 241	-	-

^a pvl : pas de valeur limite

^b valeur définie pour le benzo(k)fluoranthène

3.2.1.3 Boues d'épuration de Bécancour

Les boues d'épuration utilisées lors de l'acclimatation à Québec et lors des essais en tas, ont été collectées dans les bassins de réacteurs biologiques séquentiels (RBS) de la station de traitement des eaux usées de Haute-Bécancour (Black Lake, QC, Canada) en mai 2005. Les échantillons ont été conservés à 4°C avant d'être analysés. Les caractéristiques des boues sont présentées dans le Tableau 3.1.

3.2.1.4 Boues d'épuration de Pont à Mousson

Les boues utilisées pour les essais à Nancy proviennent de la station d'épuration de Pont à Mousson (France, 54). Elles ont été prélevées le 28 septembre 2006 dans le bassin des boues activées. Elles ont été conservées à 4°C pendant toute la durée de l'expérience.

3.2.1.5 Autres intrants

Les caractéristiques des intrants utilisés sont présentées dans le Tableau 3.1. Le lisier de porc a été conservé à 4°C. Le compost de crevette et la paille ont été entreposés à température ambiante à l'abri de la lumière. La paille a été coupée et tamisée à 3.8 mm. Le surfactant CAS a été utilisé à une concentration de 0.1%.

3.2.2 Essais à Québec

3.2.2.1 Acclimatation

L'étape de l'acclimatation des boues en présence de sol contaminé par des HAP, nommée ici *Inoculum*, s'est déroulée dans huit fioles avec chicanes pendant 14 semaines. La température a été maintenue à 38°C et l'agitation à 150 rotations par minute (rpm) avec un agitateur giratoire.

Quatre conditions ont été testées afin de déterminer la composition finale de l'*Inoculum* utilisé pour les essais en tas. Pour chaque condition, une pulpe à 10% (p.p⁻¹) a été préparée avec 20 g de sol Noir dans 200 mL de liquide constitué soit : (i) de 200 mL d'eau pour le *Contrôle*, (ii) de

50 mL de boues d'épuration et 150 mL d'eau pour la condition *Boues*, (iii) de 50 mL de lisier de porc et 150 mL d'eau pour la condition *Lisier* et (iv) de 25 mL de boues d'épuration, 25 mL de lisier de porc et 150 mL d'eau pour la condition *B + L*.

Des prélèvements de 10 mL ont été effectués aux temps 0, 10, 49, 70 et 98 jrs. Le pH et le potentiel d'oxydoréduction ont été mesurés dans les différentes conditions.

3.2.2.2 Essai de 16 semaines en tas

Le sol Neuves-Maisons et le sol Noir ont été séparés par quartage pour former six et huit tas de 750 g de sol placés dans des plats en acier inoxydable de 3 cm de hauteur. Puis, les autres composants (compost, boues, lisier, paille, surfactant) ont été pesés séparément et réparti dans chaque plat selon les conditions présentées dans le Tableau 3.4, pour obtenir un ratio sol/amendement d'environ 1:0.3.

La température de l'étuve a été maintenue à 30°C pendant 16 semaines. Quatre contenants en plastique d'un volume total de 8 L ainsi que six béciers de 250 mL ont été remplis d'eau distillée et ont servi à humidifier l'étuve. De l'eau a été ajoutée pour compenser l'évaporation et maintenir l'humidité des tas à environ 15%. Un brassage manuel dans un intervalle de 3 jrs, a servi au maintien de l'aération des tas. Des prélèvements ont été réalisés à divers temps selon la méthode d'échantillonnage composite.

Les caractéristiques des intrants du compostage sont présentées à l'Annexe 2.

Tableau 3.4 Composition (g) des différents tas préparés pour les essais à Québec de biodégradation de HAP dans les sols

Tas	Sols		Inoculum	Lisier	Boues	Compost	Pailles	Surfactant	Eau
	Noir	Neuves Maisons							
A	750	-	100	-	100	100	30	-	-
B	750	-	100	-	100	50	30	-	-
C	750	-	100	-	100	-	30	-	-
D	750	-	-	-	100	-	30	-	100
E	750	-	100	-	100	-	30	0.76	9
F	750	-	100	50	50	-	30	-	-
G	750	-	100	100	-	-	30	-	-
H	750	-	100	-	100	-	15	-	-
I	-	750	100	-	100	-	30	-	-
J	-	750	-	-	100	-	30	-	100
K	-	750	100	-	100	-	30	0.76	9
L	-	750	100	50	50	-	30	-	-
M	-	750	100	100	-	-	30	-	-
N	-	750	100	-	100	-	15	-	-

3.2.3 Essai à Nancy

3.2.3.1 Acclimatation accélérée

Les boues ont été mises en contact de façon progressive avec le sol Neuves-Maisons tamisé à 2 mm dans un bioréacteur *Biolafitte* de 2 L. Au cours du temps, une quantité croissante de sol a été ajoutée pour une quantité finale de 150 g de sol dans un volume de 1.5 L de boues. L'acclimatation a duré 18 jrs. La température a été maintenue à 38°C grâce à un bain-marie.

L'aération forcée a été d'environ 80 L h⁻¹ et l'agitation moyenne de 500 rpm. Le pH a été suivi et corrigé par ajout de soude lorsque des conditions trop acides apparaissaient.

3.2.3.2 Essais en Erlenmeyer pour vérifier l'effet du rapport C/N

3.2.3.2.1 Essai FA-1

Cet essai a été réalisé en fioles agitées (FA) à 150 rpm et 38°C pendant 28 jrs. Trois rapports C/N ont été testés : 10, 18, 25. À chacun de ces ratio C/N, deux conditions ont été évaluées: avec ajout de boues d'épuration ou ajout d'*Inoculum*. Les conditions ont été testées en pulpe à 10% (p.p⁻¹) avec 20 g de sol Neuves-Maisons, 150 mL d'eau et 50 mL de boues ou d'*Inoculum* selon la condition testée.

Les teneurs moyennes du sol brut Neuves-Maisons en carbone total et azote total étaient respectivement de 8.5% et de 0.46% ce qui représente un C/N de 18.6. Pour modifier le rapport C/N nous avons fait le choix d'ajouter différentes quantités d'azote sous forme de nitrate d'ammonium ou de carbone sous forme de cellulose.

3.2.3.2.2 Essai FA-2

Cet essai a été réalisé dans les mêmes conditions que FA-1 (150 rpm, 38°C, 28 jrs) mise à part la technique d'échantillonnage. Pour cette expérience, trois fioles ont été préparées par condition. À chaque temps de prélèvement une fiole a été sacrifiée : le contenu séché, puis homogénéisé et broyé avant d'être échantillonné en vue d'analyses. Cette précaution a été prise afin de limiter les écarts-types très importants dus à l'échantillonnage aléatoire pratiqué lors de l'expérience précédente.

Lors de cet essai, un contrôle a été préparé en pulpe à 10% p.p⁻¹, avec 20 g de sol Neuves-Maisons dans 200 mL d'eau distillée en triplicatas pour chaque ratio C/N testé (10, 18 et 25).

La condition ayant donné le meilleur taux de biodégradation (pour l'essai FA-1) a été reconduite lors de cet essai pour obtenir un pourcentage de biodégradation plus fiable.

3.2.4 Méthodes analytiques

Les solides totaux (ST) ont été mesurés selon le protocole 2540B de l'APHA et al. (1999). Les lectures de pH ont été effectuées à l'aide d'un pH-mètre *Accumet Research* modèle *AR 25 Dual Channel pH/Ion meter* de *Fisher Scientific* (Nepean, ON, Canada). Cet appareil est muni d'une électrode de pH Ag/AgCl de marque *Cole Parmer* (*Cole Parmer Instrument*, Anjou, QC, Canada). Les teneurs en N, C et S ont été déterminées par un analyseur élémentaire *Leco* (modèle *HCNS-932*, St-Joseph, MI, USA). Les métaux ont été déterminés par spectrophotométrie à émission de plasma induit (ICP-AES) sur un appareil *Varian* (modèle *Vista AX CCO Simultaneous ICP-AES*, Palo Alto, CA, USA). Les digestions des échantillons solides ont été réalisées selon la méthode *MENVIQ.89.12/213.Mét 1.3*. Un échantillon certifié CRM PQ-1 (lot #7110C513, *CANMET, Canadian Certified Reference Materials Project (CCRMP)*) a également été digéré en tant que contrôle. Des contrôles de qualité ont été effectués en analysant des échantillons liquides certifiés (lot SC0019251, no. catalogue 900-Q30-002, multi-éléments standard, *SCP Science*, Lasalle, QC, Canada). L'Annexe 3 présente ces différentes méthodes.

3.2.4.1 Extraction des HAP au Soxhlet à Québec

La détermination de la teneur initiale en HAP du sol Noir, du sol Neuves-Maisons ayant été importé, des boues de Bécancour et des tas, a été faite sur des échantillons préalablement extraits au Soxhlet selon la méthode no. 3540C de l'USEPA (1996), puis analysés selon la méthode du CEAEQ (2001).

3.2.4.2 Analyse des HAP par GC-MS à Québec

Les analyses de HAP ont été effectuées par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (appareil *Perkin Elmer*, modèle *Claruss 500*) et par chromatographie en phase gazeuse couplée à une détection par ionisation de flammes (appareil *Varian*, modèle *CP-3800*). La colonne chromatographique utilisée est une CP Sil-8 CB de 30 m de longueur avec un diamètre interne de 0.25 mm et une phase stationnaire de 0.25 µm. La température de la colonne

variait de 80 à 325°C et son débit était de 1.1 mL min⁻¹. Le volume d'injection était quant à lui de 1 µL.

3.2.4.3 Extraction des HAP par ASE à Nancy

Cet extracteur (marque *Dionex*, modèle *ASE 200*) concilie une percolation de solvants à haute température (100°C) sous une forte pression (140 bars). Le fluide collecteur était un mélange de 50% de dichlorométhane et 50% d'acétone. Les échantillons ont été placés dans des cylindres préparés pour l'extraction (filtre fibre de verre, sulfate sodium anhydre; silicate aluminium et silicate magnésium (*Florisil*®), échantillon à analyser). Une évaporation du fluide collecteur est effectuée pour un changement de solvant pour l'analyse dans un évaporateur de type *TurboVap*®LV (*Caliper Life Sciences*). On récupère les extraits grâce à une seringue munie d'un filtre SRP 25 de 0.2 µm. Les tubes sont conservés à -20°C.

3.2.4.4 Analyse des HAP par HPLC à Nancy

Les échantillons ont été analysés avec un HPLC de marque *Varian ProStar* muni d'un détecteur UV *Diodaray* de type *PDA Detector* (modèle 330). Une colonne en C₁₈ de 250 mm de longueur avec un diamètre de 4.6 mm et une phase stationnaire de 4 µm a été utilisée (*Waters 92*).

La méthode d'analyse utilise un gradient d'éluant sur 35 min avec une quantité d'eau millipore passant de 40 à 5%, et d'acétonitrile de 60 à 95% (Voir Annexe 4). Le débit était de 0.8 mL min⁻¹ et le volume d'injection de 10 µL. Deux canaux d'analyse ont été utilisés soient 210 nm et 239 nm : les chromatogrammes des canaux sont présentés aux Annexes 5 et 6.

3.2.4.5 Biologie moléculaire

L'ADN total des échantillons, préalablement conservés à -80°C, a été extrait par une méthode de *Bead Beating* par l'action combinée de détergents (SDS, CTAB) et de billes de verre (Cébron et al. 2007). Pour déterminer l'importance de la population de bactéries Gram - et Gram + possédant un gène de HAP- dioxygénase (PAH-RHD_α, Cébron et al. 2007), une quantification

par PCR en temps réel a été réalisée avec un appareil *BIO RAD (MyiQ™)*. Les conditions des expériences sont décrites à l'Annexe 7.

La PCR en temps réel nécessite 50 cycles. L'étape d'hybridation se déroule entre 54 et 58°C, températures spécifiques des amorces utilisées. Un fluorochrome (Sybr Green I) qui se fixe uniquement sur l'ADN double brin et dont l'émission est quantifiée à chaque cycle d'élongation est présent dans le mix PCR (iQ SYBR Green SuperMix, Biorad). La quantification des gènes a été déterminée grâce à une droite d'étalonnage faite à partir de concentrations connues en ADN (Cébron et al. 2007).

Trois PCR ont été effectuées : une pour quantifier la population totale de bactéries grâce à la quantification du nombre de copies de gène codant pour la petite sous-unité ribosomique (ARN 16S), une seconde où l'on quantifie la population de dégradeurs Gram+ (amorce PAH-RHD α GP1 : amplification produit de PCR de 290 pb) et une troisième où l'on quantifie la population de dégradeurs Gram- (amorce PAH-RHD α GN1 : amplification produit PCR de 214 pb). Le nombre de copies du gène recherché est différent du nombre de bactéries impliquées dans la dégradation, puisqu'il peut y avoir plusieurs copies du gène dans une même bactérie.

3.3. Résultats et discussion

3.3.1 Teneurs initiales en HAP dans les sols

Le Tableau 3.3 présente les concentrations en HAP de la liste USEPA dans les deux sols, ainsi que les normes en vigueur pour ces composés selon le critère C du Gouvernement du Québec (MEQ 1999), ainsi que les normes appliquées en France (MEDD 2002). Ce niveau représente la limite maximale acceptable pour des terrains à vocation commerciale, non situés dans un secteur résidentiel, et pour des terrains à usage industriel.

Le sol Neuves-Maisons contient plus de HAP ayant trois cycles que le sol Noir. Les deux types de sols ont des concentrations en HAP relativement similaire. Dans les trois caractérisations, le phénanthrène est en concentration supérieure à la valeur cible de 50 mg kg⁻¹ recommandée par le critère C. Sa concentration est en moyenne 2.5 fois supérieure à la norme. En ce qui concerne les HAP ayant quatre cycles aromatiques, ils sont tous en concentration supérieure aux normes, d'un

facteur 10 pour le benzo(a)anthracène et le chrysène et de 30 à 90 mg kg⁻¹ pour le fluoranthène et le pyrène. Il en va de même pour les HAP à cinq cycles. La somme des trois composés concernés est environ 10 fois supérieure à la norme. Le sol Noir contient davantage de HAP très lourds (six cycles) que les deux sols Neuves-Maisons, mais la différence n'est pas très significative.

3.3.2 Acclimatation des souches

Pour toutes les conditions, le pH diminue car le milieu s'acidifie suite à l'activité microbienne : il y a nitrification. Les différentes valeurs sont indiquées au Tableau 3.5.

Tableau 3.5 Acclimatation des différentes biomasses en fioles agitées pendant 14 semaines à 38°C pour la biodégradation des HAP totaux présents dans le sol Noir.

Substrats organiques	pH		POR (mV)		[Σ HAP] _f (mg kg ⁻¹)	Enlèvement (%)
	Initial	Final	Initial	Final		
Contrôle	7.70	7.73	72.5	87.5	789 ± 255	0
Boues	7.97	6.51	57.0	128	268 ± 32	84 ± 2
Lisier	8.28	7.30	- 220	103	562 ± 236	32 ± 30
Boues + Lisier	8.25	7.38	- 165	107	402 ± 130	68 ± 7

Il est à noter que dans cet article la charge en HAP n'est pas considérée comme de la matière organique.

Au cours de l'acclimatation, le POR augmente pour atteindre une valeur commune pour toutes les expériences (Tableau 3.5) ; il y a eu consommation de l'excès de matière organique carbonée dénoté par l'augmentation du POR au cours de l'expérience.

Il n'y a pas de dégradation significative dans le cas *Contrôle*. Ces valeurs montrent qu'il n'y pas d'atténuation naturelle dans les fioles au bout de 14 semaines.

La dégradation des HAP dans le cas *Lisier* est moindre. En effet, en considérant les erreurs imputées à l'échantillonnage et aux analyses, qui représente un coefficient de variation d'environ 30%, on peut dire que la dégradation est non-significative puisque celle-ci n'excède pas les 35%. Le lisier n'a donc pas été retenu comme condition pour l'acclimatation accélérée à Nancy. En effet, celui-ci contient trop de matière organique ce qui ne favorise pas la dégradation des HAP. En effet, la flore dégradante va choisir préférentiellement le substrat le plus facilement assimilable, sachant que celle-ci n'est pas adaptée aux conditions aérobies aux vues du POR négatif. De plus, les concentrations très élevées en ions ammonium dans le lisier ont probablement un effet toxique sur les microorganismes. Enfin, la présence probable d'antibiotiques dans le lisier peut provoquer une certaine toxicité (De Liguoro et al. 2003).

Une biodégradation plus importante des HAP a été constatée avec la condition *Boues*. Elle atteint une valeur d'environ 84%. La flore présente réagit bien à cette adaptation. Elle réussit à utiliser les HAP pour son métabolisme, signe d'un milieu favorable à sa croissance. Les boues d'épuration ainsi utilisées, peuvent servir à apporter des nutriments essentiels à la prolifération microbienne ou même les microorganismes eux-mêmes. Il s'agit bien dans ce cas d'un processus biologique, puisque le témoin ne présente aucune variation par rapport aux concentrations initiales. La microflore est aérobie due aux conditions de pré-stockage aérées.

La différence majeure entre les deux substrats est la quantité de matières organiques facilement assimilable; malgré le fait qu'ils possèdent une quantité équivalente de solides totaux (environ 3%). Il y a davantage de matière assimilable dans le lisier par rapport aux boues puisque le lisier est brut alors que les boues ont déjà subi un stockage aérobie. Lors de ce stockage la dégradation des matières facilement assimilables a déjà été faite. Pour le cas *Boues*, l'utilisation des HAP, par la flore microbienne présente, est donc relativement prioritaire par rapport aux autres sources de carbone puisque celles-ci sont en quantité moindre. Dans ces conditions, il semblerait que les boues d'épuration utilisées apportent des nutriments essentiels à la prolifération microbienne.

Alternativement, une acclimatation dans le cas *B+L* constitue un bon compromis puisque la biodégradation a atteint 68%. Cela pourrait alors permettre une gestion alternative du lisier de porc, qui représente, au même titre que les boues d'épuration, un déchet problématique.

Lors de la seconde acclimatation, les mêmes conditions qu'avec le cas *Boues* ont été reproduites avec le sol Neuves-Maisons à Nancy.

3.3.3 Essais en tas de 16 semaines

Les résultats de biodégradation de ces essais sont présentés dans le Tableau 3.6 et le suivi des caractéristiques de chaque tas aux Annexes 8 à 21. Les écarts-types très importants dénotent la grande hétérogénéité des systèmes étudiés à cause notamment : de la multitude des constituants du compost, de la répartition très aléatoire des molécules organiques du type HAP, ainsi que de la difficulté de représentativité de l'échantillonnage.

Tableau 3.6 Élimination des HAP totaux après 16 semaines de biodégradation à 30°C dans les différents tas

Sols	Tas	$[\Sigma \text{HAP}]_f$ (mg kg ⁻¹)	Enlèvement (%)
Noir	A	720 ± 171	27.7 ± 17.1
	B	872 ± 393	16.5 ± 37.5
	C	446 ± 161	59.8 ± 14.5
	D	944 ± 338	14.5 ± 30.6
	E	712 ± 455	37.5 ± 41.0
	F	634 ± 371	42.8 ± 33.4
	G	735 ± 322	33.7 ± 29.0
	H	518 ± 23	54.2 ± 2.0
Neuves Maisons	I	1 232 ± 218	0 ± 16
	J	1 212 ± 276	0 ± 21
	K	917 ± 36	14.6 ± 6.6
	L	986 ± 109	8.2 ± 7.33
	M	801 ± 247	25.4 ± 21.5
	N	966 ± 99	11.8 ± 9.46

3.3.3.1 Sol Noir

Avec ce sol, les taux de biodégradation sont les plus importants avec des écarts-types faibles. Dans les deux meilleurs cas, les tas sont composés de 75% sol, 10% *Inoculum*, 10% boues et soit 1.5% ou 3% paille (Tableau 3.5). Ces conditions entraînent respectivement 54 et 60% de biodégradation. La différence de biodégradation vient du fait qu'avec 3% paille, l'aération est plus importante dans le tas C. Un apport minimal en oxygène est nécessaire aux bactéries dégradant les HAP, puisqu'elles effectuent généralement une dégradation aérobie.

Aux vues des résultats, il est possible de dénoter un effet de chaque constituant sur le traitement par voie biologique en tas.

En comparant les trois tas compostage A, B et C (75% sol, 10% *Inoculum*, 10% boues, 3% paille), on remarque que la dégradation la plus importante a été observée en absence de compost de crevettes (tas C). Entre les deux conditions avec du compost, la biodégradation était plus efficace avec un ajout de 10% de compost par rapport à un ajout de 5%.

Il y a davantage de biodégradation des HAP avec 0.1% de surfactant CAS sans ajout de compost (tas E) qu'avec 10% de compost (tas B). Cependant le rendement de décontamination du tas E aurait pu être supérieur : la biodégradation a été inhibée, si le surfactant ou les HAP solubilisés sont toxiques vis-à-vis des microorganismes, ou s'il y a utilisation de ce surfactant comme source de carbone et d'énergie (Harayama 1997). En revanche, la dégradation la plus importante a été notée pour le cas sans ajout de surfactant, ni de compost (tas C).

Les rendements de dégradation des HAP avec 10% lisier ou avec 5% boues et 5% lisier sont relativement semblables, avec un meilleur taux pour le mélange lisier-boues (tas F).

L'essai sans *Inoculum* donne le taux de biodégradation le plus bas, soit environ 15% (tas D). L'ajout d'*Inoculum* a donc bien permis d'augmenter les rendements de biodégradation. Les bactéries ont eu le temps de s'adapter à la nouvelle source de carbone, les HAP, et ont été aptes à les dégrader plus facilement.

Aux vues des résultats et en considérant le temps de l'acclimatation (14 semaines), un test avec une acclimatation accélérée a été choisi pour les essais à Nancy.

3.3.3.1.1 Cas du tas C

Le tas C représente la condition pour laquelle le meilleur taux de dégradation a été obtenu, soit 60%, avec une composition de 75% sol, 10% *Inoculum*, 10% boues, 3% paille. Le ratio C/N est resté constant à une valeur de 30 et l'humidité a été maintenue entre 20 et 25%. La Figure 3.1 présente les rendements de biodégradation de la somme des HAP mesurés dans le tas C, ainsi que les tendances selon le nombre de cycles des HAP. Le Tableau 3.7 précise les concentrations finales de chaque HAP avec les pourcentages de biodégradation associés.

La majorité des cycles ont été dégradés selon la même tendance. De façon tout à fait classique, le naphthalène est dégradé plus rapidement que les autres puisqu'il s'agit de la molécule la plus simple. Les HAP à trois et quatre cycles aromatiques suivent exactement la tendance générale. Les HAP de cinq et six cycles sont très fortement dégradés, à hauteur de $68 \pm 16\%$, comme le montre le Tableau 3.7. D'un point de vue strictement réglementaire, seuls le pyrène et le dibenzo(a,h)anthracène ont une teneur en deçà des exigences imposées par le MEF suite au traitement.

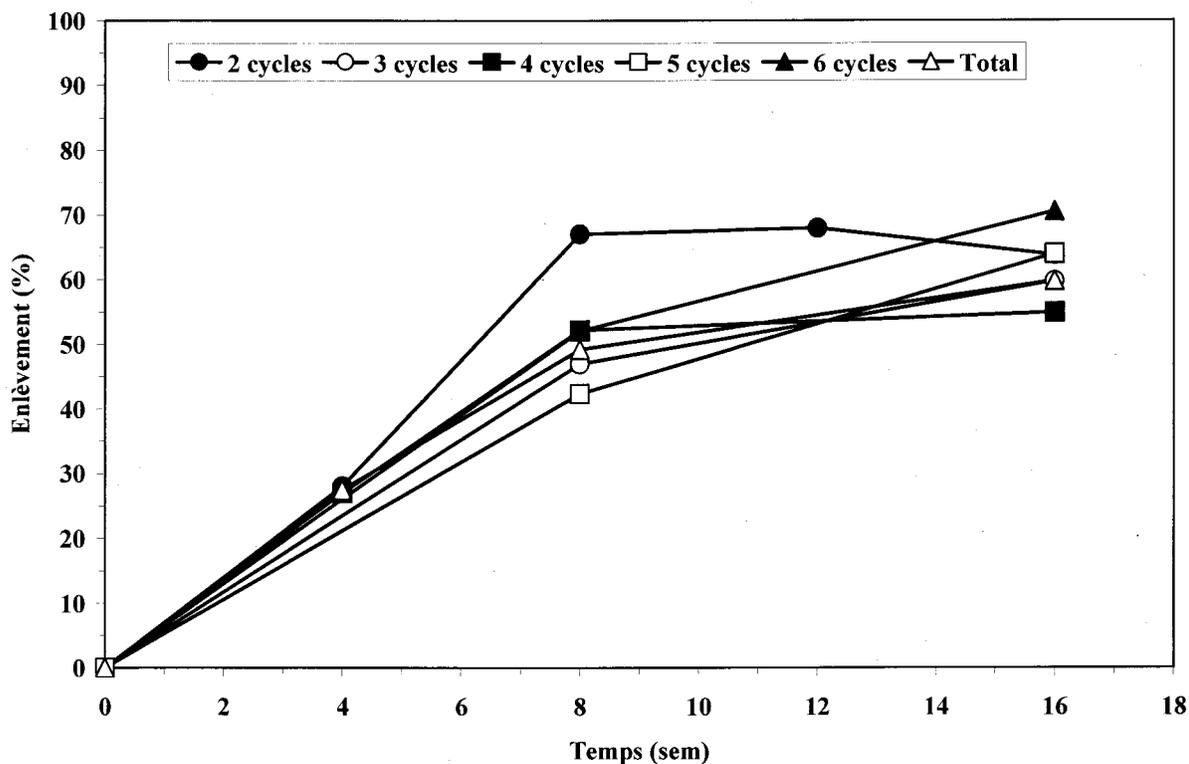


Figure 3.1 Enlèvement (%) des HAP totaux et en fonction du nombre de cycles après 16 semaines de biodégradation à 30°C dans le tas C (sol Noir).

3.3.3.2 Sol Neuves-Maisons

Des rendements de biodégradation des HAP de 0 à 25% ont été obtenus avec le sol Neuves-Maisons. La condition pour laquelle la biodégradation est nulle (tas I) correspond au cas ayant le mieux fonctionné dans le cas du sol Noir. Cette mauvaise dégradation provient du fait que les bactéries n'ont pas été acclimatées avec le sol Neuves-Maisons. De plus, ce sol est reconnu comme potentiellement toxique, aux vues de ses fortes teneurs en métaux (5 fois plus élevée dans le sol Neuves-Maisons que le sol Noir, Tableau 3.2). La fraction soluble émanant du sol Neuves-Maisons est très probablement toxique pour les microorganismes et une longue et efficace acclimatation serait requise pour obtenir un consortium microbien performant pour la dégradation des HAP. En effet, même si les bactéries du sol en place sont en contact depuis des années avec les HAP ; les métaux, eux, sont moins mobiles et risquent de moins les affecter. En

revanche, lors du processus de compostage il y a mobilisation des éléments du sol qui pourraient alors avoir un effet toxique sur la flore. C'est pourquoi, il est intéressant d'acclimater les bactéries en milieu semi-liquide afin d'imposer les conditions les plus défavorables aux microorganismes, et ainsi sélectionner les plus résistants aux pollutions multiples.

Contrairement aux résultats du sol Noir, la biodégradation est plus marquée dans le cas où un apport de surfactant est effectué. Dans ce cas, il y a une meilleure disponibilité des HAP pour les microorganismes, qui les dégradent à hauteur de 14% (tas K), contre une dégradation nulle en absence de surfactant (tas I).

Avec ce sol, une meilleure biodégradation des HAP a été dénotée avec du lisier de porc (25% d'enlèvement au tas M) plutôt que des boues municipales (14% d'élimination au tas K). Aucun enlèvement des HAP n'a été mesuré avec un ajout de 10% de boues (tas I), alors qu'avec le sol Noir, cette condition permettait le taux de biodégradation le plus important (tas C).

L'essai sans *Inoculum* et avec un ratio de paille commun aux autres tas donne une biodégradation nulle (tas J). Contrairement au sol Noir, l'apport de 1.5% paille (tas N) donne de meilleurs résultats qu'un ratio de 3% de ce substrat (tas I).

3.3.3.2.1 Cas du tas M

Le tas M représente la condition pour laquelle le meilleur taux de dégradation a été obtenu avec une composition de 75% sol, 10% *Inoculum*, 10% lisier, 3% paille. Le ratio C/N pour cette condition a été évalué à 19.5 au cours de l'expérience et l'humidité a été maintenue entre 20 et 25%. Le Tableau 3.7 précise les concentrations finales en chaque HAP avec les pourcentages de biodégradation associés. La Figure 3.2 présente les rendements de biodégradation de la somme des HAP mesurés dans le tas M, ainsi que les tendances selon le nombre de cycles des HAP. D'après cette figure, les HAP à deux et trois cycles aromatiques sont dégradés avec la cinétique la plus importante. En revanche, les HAP ayant quatre cycles ne subissent pas de biodégradation significative (1.5% d'enlèvement). Un problème de quantification au niveau des HAP de quatre cycles est sans doute survenu au cours de l'analyse. En effet, certains HAP lourds sont davantage dégradés que les HAP ayant quatre cycles : c'est le cas du dibenzo(a,h)anthracène qui est éliminé à hauteur de $76 \pm 11\%$. Ce pourcentage est très élevé par rapport aux autres HAP de cinq cycles.

Cela complique l'interprétation de la dégradation des HAP lourds, puisqu'en théorie les HAP les plus légers sont consommés avant les lourds. D'une façon générale, aucune classe de HAP ne suit la cinétique générale de dégradation.

Il est à noter que le tas M est supplémenté avec du lisier de porc, alors que le tas C avec des boues municipales. En effet, malgré une quantité abondante de matière organique facilement assimilable dans le lisier de porc, il faut également considérer les quantités importantes en zinc et la présence de cuivre (Tableau 3.2), qui peuvent inhiber le métabolisme microbien. Cependant, les boues contiennent davantage de cuivre que le lisier. L'action inhibitrice du lisier peut alors provenir de la présence très probable d'antibiotiques, provenant d'un traitement vétérinaire. Il est également possible de conclure que le sol Neuves-Maisons utilisé dans le cas du tas M soit une cause de l'inhibition de la biodégradation.

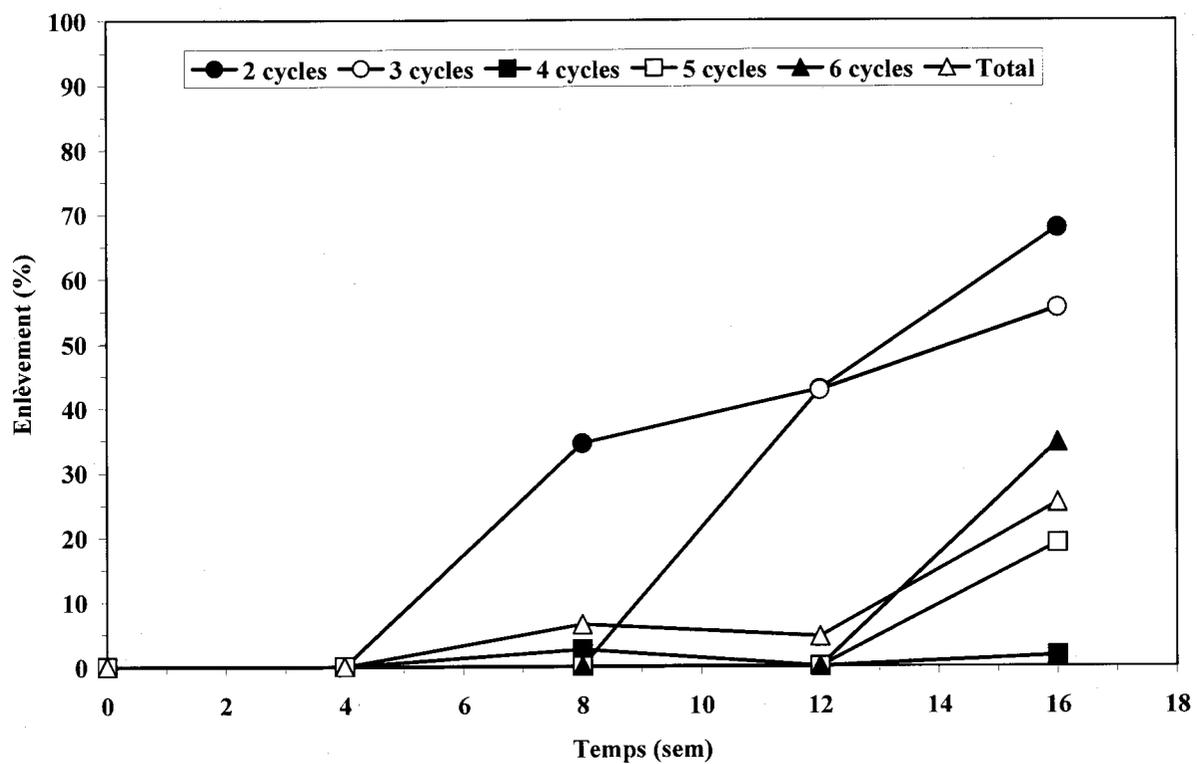


Figure 3.2 Enlèvement (%) des HAP totaux et en fonction du nombre de cycles après 16 semaines de biodégradation à 30°C dans le tas M (sol Neuves-Maisons).

Tableau 3.7 Teneurs finales et élimination des HAP après 16 semaines de biodégradation à 30°C dans les tas C (Noir) et M (Neuves-Maisons).

HAP	Sol Noir (Tas C)		Sol Neuves-Maisons (Tas M)	
	[HAP] _f (mg kg ⁻¹)	Enlèvement (%)	[HAP] _f (mg kg ⁻¹)	Enlèvement (%)
Naphtalène	2.40 ± 2.49	64 ± 37	8.62 ± 7.45	68 ± 27
<i>Somme des 2 cycles</i>	<i>2.40 ± 2.49</i>	<i>64 ± 37</i>	<i>8.62 ± 7.45</i>	<i>68 ± 27</i>
Acénaphène	3.56 ± 1.82	68 ± 16	21.0 ± 4.7	58 ± 9
Anthracène	11.7 ± 5.1	64 ± 15	17.5 ± 4.1	52 ± 11
Fluorène	4.71 ± 2.55	67 ± 17	19.6 ± 3.9	61 ± 7
Phénanthrène	50.8 ± 21.4	57 ± 18	67.7 ± 14.0	53 ± 9
<i>Somme des 3 cycles</i>	<i>70.7 ± 30.8</i>	<i>64 ± 16</i>	<i>125.8 ± 26.7</i>	<i>56 ± 9</i>
Benzo(a)anthracène	41.4 ± 13.7	60 ± 13	76.3 ± 20.8	0 ± 27
Chrysène	41.0 ± 13.8	57 ± 14	77.2 ± 21.8	3 ± 27
Fluoranthène	89.5 ± 27.2	51 ± 14	130 ± 30	3 ± 22
Pyrène	68.5 ± 21.5	55 ± 14	99.7 ± 25.2	0 ± 25
<i>Somme des 4 cycles</i>	<i>240 ± 76.2</i>	<i>56 ± 14</i>	<i>383 ± 98</i>	<i>1.5 ± 25</i>
Benzo(a)pyrène	39.3 ± 17.9	57 ± 19	56.9 ± 20.7	17 ± 30
Benzo(b,j,k)fluoranthène	47.1 ± 12.1	67 ± 8	133 ± 47	1 ± 34
Dibenzo(a,h)anthracène	4.67 ± 3.17	74 ± 17	10.5 ± 5.0	76 ± 11
<i>Somme des 5 cycles</i>	<i>91.0 ± 33.2</i>	<i>49 ± 14</i>	<i>200 ± 72.7</i>	<i>23 ± 25</i>
Benzo(ghi)pérylène	16.5 ± 11.2	72 ± 19	30.4 ± 14.1	49 ± 23
Indéno(1,2,3-c,d)pyrène	24.7 ± 16.1	70 ± 19	51.4 ± 23.6	21 ± 36
<i>Somme des 6 cycles</i>	<i>41.2 ± 27.3</i>	<i>71 ± 19</i>	<i>81.8 ± 37.7</i>	<i>35 ± 29</i>

3.3.3.3 Essai FA-1

Le meilleur rendement de biodégradation est obtenu pour un ratio C/N de 18, c'est-à-dire sans aucun apport extérieur, et avec ajout de boues d'épuration seules (Tableau 3.8). Dans ce cas, il y a une dégradation de plus de 20% pour tous les HAP, quel que soit leur nombre de cycle. Les pourcentages de dégradation des HAP à deux et six cycles, et des HAP à trois et cinq cycles sont équivalents, respectivement. Il y a peu de différence entre la biodégradation globale selon le nombre de cycles aromatiques et celle selon les polluants majoritaires. Les composés principalement dégradés sont donc les polluants présents en fortes concentrations : il s'agit du fluoranthène, du benzo(a)anthracène, du chrysène, du pyrène, du dibenzo(a,h)anthracène et du benzo(b)fluoranthène.

Les résultats avec ajout d'*Inoculum* diffèrent selon les ratios C/N. Pour un ratio C/N de 10, aucun changement n'est notable. Un ratio C/N de 25 n'entraîne que peu de biodégradation aux vues de l'écart-type important associé. Un ratio C/N de 18 reste le plus intéressant dans le cas où l'on ajoute de l'*Inoculum* puisqu'il y a moins de variation qu'avec un ratio C/N de 25. Pour toutes les conditions avec ajout d'*Inoculum*, les composés exclusivement dégradés sont le fluoranthène et le pyrène.

Cette expérience montre qu'il n'est pas judicieux de modifier le ratio C/N dans une pulpe à 10% (p.v⁻¹) lorsque l'on souhaite obtenir une bonne dégradation des HAP

3.3.3.4 Essai FA-2

Pour n'importe quel ratio C/N sans ajout de boues d'épuration, la dégradation est peu significative. L'apport de boues est donc jugé comme pertinent au niveau de la flore. Cependant, les modifications du ratio C/N n'ont pas d'effet. Ceux-ci constituent pourtant un apport en nutriments. L'importance de l'apport des nutriments *via* les boues est alors remise en question.

La condition C/N 18B (C/N de 18 avec ajout de boues) reproduite lors de cette seconde expérience donne un pourcentage de biodégradation bien inférieur à celui mentionné au cours de l'essai FA-1, 26% contre 53%. Les polluants les plus dégradés sont toujours ceux présents en plus grande quantité. La technique d'échantillonnage avec sacrifice de fioles permet donc

d'obtenir des résultats davantage significatifs. En effet, échantillonner directement dans une fiole (FA-1) ne pare pas au problème de la sédimentation. Celle-ci crée une répartition hétérogène des particules. Les lourdes composées de matières minérales vont se disposer au fond, et les particules légères en surface. Or, les HAP ne s'adsorbent pas de la même manière sur les particules grossières que sur les fines. De plus, en pulpe les HAP légers peuvent avoir tendance à se mettre en solution. Pour ces raisons, la technique par sacrifice a été jugée plus pertinente.

Les essais en fioles agitées montrent qu'un apport de nutriments n'est pas toujours justifié, ce qui importe c'est le ratio C/N intrinsèque du sol. En revanche, un apport en bactéries *via* des boues est conseillé. Les essais de biologie moléculaire ont alors servi à localiser la population de dégradeurs.

Tableau 3.8 Teneurs finales et élimination des HAP totaux dans le sol Neuves-Maisons après 28 jours de biodégradation à 38°C en fioles agitées.

Conditions	Essais	Rapport C/N					
		10		18		25	
		$[\Sigma \text{HAP}]_f$ (mg kg ⁻¹)	Enlèvement (%)	$[\Sigma \text{HAP}]_f$ (mg kg ⁻¹)	Enlèvement (%)	$[\Sigma \text{HAP}]_f$ (mg kg ⁻¹)	Enlèvement (%)
Contrôle	FA-2	1 539	0	1 433	0	1 380	6
Inoculum	FA-1	981 ± 174	0 ± 37	706 ± 68	30 ± 7	768 ± 272	31 ± 47
Boues	FA-1	921 ± 101	31 ± 4	722 ± 85	53 ± 11	862 ± 102	19 ± 27
Boues	FA-2	-	-	1 218	26	-	-

3.3.4 Biologie moléculaire

Le Tableau 3.9 présente les résultats obtenus pour la quantification de la population de dégradeurs microbiens dans les boues, dans l'*Inoculum*, ainsi que dans le sol Neuves-Maisons.

Les boues possèdent une flore globale numériquement supérieure à l'*Inoculum* et au sol Neuves-Maisons, celui-ci abritant le moins de bactéries. Cependant, il y a une plus forte proportion de bactéries dégradant les HAP dans le sol Neuves Maisons que dans les autres échantillons. Ce sol, ayant subi une pollution ancienne, a favorisé la prolifération de populations spécialisées. Il y a effectivement $3.09 \pm 1.81\%$ de dégradeurs Gram + et $0.66 \pm 0.42\%$ de dégradeurs Gram- dans ce sol : la population prédominante étant donc être des bactéries Gram+. L'ajout de sol dans les boues lors de l'acclimatation semble favoriser les bactéries dégradantes Gram – car leur proportion passe de 0.01% à 0.69% des boues à l'*Inoculum*, alors que les bactéries dégradantes Gram + reste en même proportion malgré l'apport par le sol.

Tableau 3.9 Populations bactériennes totales évaluées par la quantification du nombre de copies de gène codant pour l'ARN16S et quantification des bactéries Gram + et Gram – possédant un gène codant pour une HAP-dioxygénase (PAH-RHD_α) mesurées dans les boues, l'inoculum et le sol Neuves-Maisons

Populations	Boues	Inoculum	Sol Neuves-Maisons ^a
ARN16S (gènes g ⁻¹ sec)	8.28 x 10 ⁸	1.32 x 10 ⁸	3.13 x 10 ⁷
PAH-RHD _α GP1 (Gram +) (gènes g ⁻¹ sec)	7.87 x 10 ⁵	1.01 x 10 ⁵	6.60 x 10 ⁵
PAH-RHD _α GN1 (Gram -) (gènes g ⁻¹ sec)	8.46 x 10 ⁴	9.10 x 10 ⁵	1.05 x 10 ⁵
Ratio PAH-RHD _α GP1 (Gram +)/ ARN16S (%)	0.095	0.077	3.09 ± 1.81
Ratio PAH-RHD _α GN1 (Gram -)/ ARN16S (%)	0.010	0.689	0.66 ± 0.42

^a Analyses faites sur 20 échantillons.

3.3.5 *Sol Neuves-Maisons vs Sol Noir*

Les deux sols choisis pour cette étude ont une pollution en HAP relativement similaire, cependant, les résultats de biodégradation sont très différents. Dans l'essai à Québec, une acclimatation des bactéries a été faite à partir du sol Noir, et les résultats des traitements par ajouts de substrats organiques sont meilleurs pour les tas à base de ce sol. Cela confirme bien que l'acclimatation est conseillée lors d'un essai de biodégradation.

Les caractéristiques du sol Neuves-Maisons peuvent en partie expliquer les résultats de biodégradation. En effet, ce sol provient d'une ancienne friche industrielle, il contient donc les HAP qui n'ont pas pu être dégradés au fil du temps : il s'agit principalement de HAP lourds. Dans cette terre, il y a peu de HAP légers car ceux-ci ont été les premiers à être dégradés de façon biologique ou autre. Le problème majeur de cette pollution industrielle ancienne est la non-disponibilité des HAP à la dégradation. Que l'on apporte tous les nutriments nécessaires *via* les boues ou *via* le nitrate d'ammonium, ou de l'énergie carbonée par la cellulose, si les HAP ne sont pas biodisponibles, il n'y aura pas de dégradation biologique. En effet, les HAP peuvent être séquestrés ou adsorber sur les particules très fines du sol. Le sol Neuves-Maisons compte en effet 18% de particules très fines, contre 2% pour le sol Noir.

Les analyses révèlent également qu'il y a de fortes quantités de soufre, de cuivre, de zinc et de fer dans le sol Neuves-Maisons. En comparant ces valeurs au critère A du MEF (teneur naturelle dans un sol) (Ministère de l'Environnement du Québec 1999), ce sol s'apparente davantage à un résidu industriel qu'à un « vrai sol ». La teneur élevée en soufre dénote qu'il a été échantillonné proche du crassier de l'ancienne cokerie et indique la présence de résidu de charbon ou de scories de charbon en forte quantité. Ces fortes teneurs en métaux peuvent modifier la biodégradation des HAP. En effet, des études ont montré que la présence de métaux, comme le cadmium, le cuivre ou le zinc, dans le sol, augmente la toxicité des HAP vis-à-vis des microorganismes (Amellal 2004). La présence de métaux représenterait une contrainte importante à la biodégradation des HAP dans les sols entraînant une toxicité importante qui serait à l'origine du dysfonctionnement de la technique de dépollution.

Enfin, le traitement par compostage implique l'apport de beaucoup de matière organique qui peut perturber la biodégradation par adsorption ou compétition de substrat de croissance. Cependant, il a été montré que la présence de microorganismes dégradeurs change les taux de désorption de

contaminants adsorbés sur des surfaces (Calvillo et Alexander 1996). Il s'avère donc que si les HAP se solubilisent lors du traitement, il y aura davantage de désorption de ceux adsorbés à la matière organique. Il serait alors possible, grâce à l'action de surfactants, de mettre en solution un maximum de HAP et de les dégrader, dans une phase aqueuse, par des moyens biologiques ou chimiques.

3.4. Conclusions

La présente étude montre que l'ajout de substrat organique de type boues municipales permet de bons rendements d'enlèvement par rapport à l'ajout de lisier de porc ou de compost de crevettes pour une dépollution des HAP dans un sol industriel. Une acclimatation des microorganismes (*Inoculum*) est recommandée par mise en contact avec la matrice contaminée. Une biodégradation de 60% a été obtenue dans les conditions suivantes : 75% sol, 10% *Inoculum*, 10% boues de station d'épuration, ainsi que 3% paille. Pour cette condition, les HAP lourds ont été éliminés à hauteur de $68 \pm 16\%$.

L'étude de l'effet du rapport C/N en fioles agitées à 150 rpm à 38°C montre qu'il n'est pas pertinent d'ajouter des substrats azotés ou carbonés pour obtenir une bonne biodégradation, seul importe le ratio C/N du sol à traiter.

Un sol ayant été exposé à une pollution ancienne est susceptible d'abriter une flore adaptée à la dégradation des HAP, comme le montre les analyses de PCR en temps réel. La population de dégradeurs appartient à des Gram +, et l'acclimatation permet une prolifération d'organismes Gram -. Le sol doit cependant offrir des conditions adéquates pour le bon développement des bactéries : un faible taux d'adsorption sur les particules du sol, une bonne accessibilité des contaminants, une faible pollution en métaux, etc. Une pollution par HAP lourds est plus difficile à éliminer.

Tous les traitements mis en œuvre dans cette étude n'ont pas permis d'obtenir des résultats qui satisfont les exigences du MEF, exigences relativement sévères par rapport à la France.

En utilisant des boues d'épuration comme substrat organique et comme apport de flore dégradante, cela permettrait une diminution des problèmes de surplus de ces déchets qu'il faut gérer de façon sécuritaire, et qui engendre souvent des coûts élevés.

3.5. Remerciements

Les auteurs tiennent à exprimer leurs sincères remerciements à Mme Myriam Chartier, agente de recherche à l'INRS-ETE, qui a participé à l'élaboration et à la mise en œuvre du protocole expérimental à Québec, ainsi qu'à Stéphane Delaunay pour ses conseils judicieux.

3.6. Bibliographie

- Adenuga, A.O., Johnson, J.H., Cannon, J.N., et Wan, L. 1992. Bioremediation of PAH-contaminated soil via in-vessel composting, *Water Sci. Technol.* **26(9-11)** : 2331-2334.
- Álvarez-Bernal, D., Garcia-Díaz, E.L., Contreras-Ramos, S.M., et Dendooven, L. 2006. Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons from soil added with manure or vermicompost. *Chemosphere* **65** : 1642-1651.
- Amellal, S. 2004. Biodégradation, mobilité et stabilisation du phénanthrène dans deux sols agricoles, Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine, Laboratoire Sols et Environnement ENSAIA-INPL/INRA UMR 1120, Nancy, France. 163 p.
- Antizar-Ladislao, B., Lopez-Real, J.M., et Beck, A.J. 2004. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) contaminated waste using composting approaches. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **34** : 249–289.
- Antizar-Ladislao, B., Lopez-Real, J., et Beck, A.J. 2005a. In-vessel composting-bioremediation of aged coal tar soil : effect of temperature and soil/green waste amendment ratio. *Environment Int.* **31(2)** : 173-178.
- Antizar-Ladislao, B., Lopez-Real, J., et Beck, A.J. 2005b. Laboratory studies of the remediation of polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soil by in-vessel composting. *Waste Manag.* **25(3)** : 281-289.
- American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) et Water Pollution Control Federation (WPCF) 1999. Standards methods for examination of water and wastewaters. 20ième éd. American Public Health Association, American Water Works Association et Water Pollution Control Federation, Washington, D.C.

- ASTDR. 1995. Toxicological profile for polycyclic aromatic hydrocarbons. Rapport, Agency for toxic substances and disease registry, Atlanta, Georgie. 487 p.
- Atagana, H.I. 2004. Co-composting of PAH-contaminated soil with poultry manure. *Lett. Appl. Microbiol.* **39** : 163–168.
- Atagana, H.I. 2003. Bioremediation of creosote contaminated soil: a pilot-scale landfarming evaluation. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **19** : 571–581.
- Breedveld, G.D., et Sparrevik, M. 2000. Nutrient-limited biodegradation of PAHs in various soil strata at a creosote contaminated site. *Biodegradation* **11** : 391–399.
- Cai, Q.Y., Mo, C.H., Wu, Q.T., Zeng, Q.Y., Katsoyiannis, A., et Férard, J.F. 2007. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)-contaminated sewage sludge by different composting processes. *J. Hazard. Mater.* **142(1-2)** : 535-542.
- Calvillo, Y.M., et Alexander, M. 1996. Mechanism of microbial utilization of biphenyl sorbed to polyacrylic beads. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **45** : 383-390.
- Canet, R., Birnstingl, J.G., Malcolm, D.G., Lopez-Real, J.M., et Beck, A.J. 2001. Biodegradation of PAHs by native microflora and combinations of white rot fungi in a coal-tar contaminated soil. *Biores. Technol.* **76** : 113–117.
- Carmichaël, L.M., et Pfaender, F.K. 1997. Polynuclear aromatic hydrocarbon metabolism in soils: relationship to soil characteristics and preexposure. *Environ. Toxicol. Chemosphere.* **16** : 666-675.
- CEAEQ. 2001. Détermination des HAP : dosage par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse, MA. 400-HAP 1.1, Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec, Décembre 2001, Québec, QC, Canada.

- Cébron A, Norini MP., Beguiristain T. et Leyval C., Real Time PCR quantification of Gram positive and Gram negative PAH degrading bacteria in soil and sediment samples. En préparation pour Applied and Environmental Microbiology.
- Cerniglia, C.E. 1992. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Biodegradation* **3** : 351–368.
- Dean Ross, D. 2005. Biodegradation of selected PAH from sediment in bioslurry reactor. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **74** : 32-39.
- De Liguoro, M., Cibin, V., Capolongo, F., Halling-Sørensen, B. et Montesissa, C., 2003. Use of oxytetracycline and tylosin in intensive calf farming: Evaluation of transfer to manure and soil. *Chemosphere* **52(1)** : 203-212.
- Garon, D., Krivobok, S., et Seigle-Murandi, F. 2000. Fungal degradation of fluorene. *Chemosphere* **40** : 91–97.
- Gibson, D.T. et Parales, R.E. 2000. Aromatic hydrocarbon dioxygenases in environmental biotechnology. *Curr. Opin. Biotechnol.* **11** : 236-243.
- Guérin, T.F. 2000. The differential removal of aged polycyclic aromatic hydrocarbons from soil during bioremediation. *Environ. Sci. Pollut.* **R7** : 19-26.
- Habe, H. et Omori, T. 2003. Genetics of polycyclic aromatic hydrocarbon metabolism in diverse aerobic bacteria. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **67(2)** : 225-243.
- Haeseler, F., Blanchet, D., Werner, V., et Vandecasteele, J.P. 1999. Analytical characterisation of contaminated soils from former manufactured gas plants. *Environ. Sci. Technol.* **33** : 825-830.

- Harayama, S. 1997. Polycyclic aromatic hydrocarbon bioremediation design. *Curr. Opin. Biotechnol.* **8** : 268-273.
- Kanally, R.A., et Harayama, S. 2000. Biodegradation of high molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria. *J. Bacteriol.* **182(8)** : 2059–2067.
- Lamar, R.T., et White, R.B. 2001. Mycoremediation - commercial status and recent developments. *Dans Bioremediation symposium: wood-treating and phenolic wastes. Éditeurs : V.S. Magar, F.M. von Fahnestock et A. Leeson. Battelle Press, Columbus, OH. pp. 263–278.*
- Liste, H.H., et Alexander, M. 2001. Butanol extraction to predict bioavailability of PAH in soil. *Chemosphere* **46** : 1011-1017.
- Ma, Y., Zhang, J.Y., et Wong, M.H. 2003. Microbial activity during composting of anthracene-contaminated soil. *Chemosphere* **52** : 1505-1513.
- MEDD. 2002. Inventaire des sites et sols pollués. Ministère de l'Écologie et du Développement Durable, Paris, France. 10 p.
- MEQ. 1999. Politique de protection des sols et de réhabilitation des terrains contaminés. Ministère de l'Environnement du Québec, Québec, QC, Canada. 132 p.
- Moretto, L.M., Silvestri, S., Ugo, P., Zorzi, G., Abbondanzi, F., Baiocchi, C., et Iacondini, A. 2005. Polycyclic aromatic hydrocarbons degradation by composting in a soot-contaminated alkaline soil. *J. Hazard. Mater.* **B126** : 141-148.
- Namkoong, W., Hwang, E.Y., Park, J.S., et Choi, J.Y. 2001. Bioremediation of diesel-contaminated soil with composting. *Environ. Pollut.* **119** : 23-31.

- Rutherford, P.M., Banerjee, D.K., Luther, S.M., Gray, M.R., Dudas, M.J., McGill, W.B., Pickard, M.S., et Salloum M.J. 1998. Slurry-phase bioremediation of creosote and petroleum-contaminated soils. *Environ. Technol.* **19** : 683-696.
- Shuttleworth, K.L., et Cerniglia, C.E. 1995. Environmental aspects of PAH biodegradation. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **54** : 291-302.
- Stegmann, R., Lotter, S., et Heerenklage, J. 1991. Biological treatment of oil contaminated soils in bioreactors. *Dans On-site bioremediation: processes for xenobiotic and hydrocarbon treatment. Éditeurs* : R.E. Hinchee et R.E. Offenbuttel. Butterworth-Heinemann, Oxford, Angleterre. pp. 188–208.
- Stelmachowski, M., Jastrzębska, M., et Zarzycki, R. 2003. In-vessel composting of municipal sewage-sludge. *Appl. Energy* **75** : 249-256.
- USEPA. 1996. Method 3540C: soxhlet extraction. *Dans Test methods for evaluating solid waste: physical methods (SW-846). 3ième Édition, Update IV.* United States Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, D.C.
- Wan, C.K., Fang, M., et Wong, J.W.C. 2000. Bioremediation of PAH-contaminated soil using thermophilic composting system. 1st World Congress of the International Water Association, Paris, France, 3 au 7 juillet, (CDROM).
- Weissenfels, W.D., Klewer, H.J., and Langhoff, J. 1992. Adsorption of PAHs by soil particles – influence on biodegradability and biotoxicity. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **36** : 689-696.
- Widada, J., Nojiri, H., Kasuga, K., Yoshida, T., Habe, H., et Omori, T. 2002. Molecular detection and diversity of polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacteria isolated from geographically diverse sites. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **58** : 202-209.

- Williams, C.M., Grimes, J.L., et Mikkelsen, R.L. 1999. The use of poultry litter as co-substrate and source of inorganic nutrients and microorganisms for the ex-situ biodegradation of petroleum compounds. *Poultry Sci.* **78** : 956-964.
- Wilson, S.C., et Jones, K.C. 1993. Bioremediation of soil contaminated with polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs): a review. *Environ. Pollut.* **81** : 229-249.
- Wong, J.W.C., Wan, C.K., et Fang, M. 2001. Pig-manure as a co-composting material for biodegradation of PAH-contaminated soil. *Environ. Technol.* **23** : 15-26.

CHAPITRE IV

4. RÉSULTATS COMPLÉMENTAIRES

La présente partie fait état des résultats n'ayant pas été décrits dans l'article du chapitre III. Il s'agit en particulier des résultats des essais en tas effectués à Nancy. Pour ceux-ci, le protocole expérimental est également présenté dans cette partie.

4.1. Essais en tas à Nancy sur 12 semaines

Cet essai a été réalisé avec du sol de Neuves-Maisons échantillonné directement en France, sur le site expérimental du GISFI (Groupe d'Intérêt Scientifique Sur les Friches Industrielles). Sa caractérisation complète, au niveau des HAP et autres paramètres, est présentée aux Tableaux 3.2 et 3.3 de l'article.

4.1.1 Méthodologie

Le sol de Neuves-Maisons a servi de matrice pour cette expérience. Il a été tamisé à 5 mm directement sur le site d'Homécourt immédiatement après avoir été échantillonné. Lors de cette manipulation, trois conditions ont été testées : (i) une atténuation naturelle (tas témoin), (ii) l'effet des boues d'épuration, ainsi que (iii) l'influence de l'*Inoculum* mélangé avec des boues de station d'épuration selon les proportions mentionnées au Tableau 4.1.

Tableau 4.1 Composition des différents tas selon les conditions testées à Nancy

Conditions testées	Atténuation naturelle	Effet des boues	Effet combiné boues + <i>Inoculum</i>
	(S)	(SB)	(SBI)
Sol ¹ (poids sec)	750	750	750
Boues d'épuration ²	-	100	50
<i>Inoculum</i> ²	-	-	50
Eau ²	100	-	-

¹ Quantité exprimée en grammes.

² Quantité exprimée en millilitres.

NB : l'*Inoculum* dans cet essai provient de l'acclimatation accélérée à partir des boues d'épuration de Pont à Mousson et de sol de Neuves-Maisons (10% p.v⁻¹ sol/boues). Les conditions de cette étape préliminaire sont décrites dans la partie « Matériels et Méthodes » de l'article (chapitre III).

Pour chaque condition, les tas ont été préparés en triplicata. Ils ont été mis dans une étuve à 30°C. La durée du test était de 12 semaines. Les mélanges ont été placés dans des sacs plastiques dans des pots de fleurs de 15 cm de diamètre environ.

Les tas ont été retournés tous les 3 jrs à l'aide des sacs de plastique. L'humidité a été maintenue entre 70 et 80% de la capacité de rétention en eau du sol déterminée selon une méthode normalisée (voir Annexe 3). Pour cela, de l'eau distillée a été rajoutée en calculant la perte de poids par évaporation. L'étuve était également humidifiée par la présence de béciers remplis d'eau.

Un prélèvement a été effectué dans chaque pot toutes les 4 semaines. Un échantillonnage composite a été réalisé en combinant plusieurs prises dans le pot. La quantité prélevée était d'environ 10 g. Par la suite, pour déterminer la concentration en HAP, les échantillons ont subi une extraction, une évaporation puis ont été analysés par HPLC. Les différents protocoles sont décrits dans la partie « Matériels et Méthodes » du chapitre III. L'Annexe 4 présente les

conditions des analyses HPLC. Les chromatogrammes de base aux différentes longueurs d'ondes (210 et 239 nm) avec les temps de rétention de chaque molécule sont présentés en Annexe 5 et 6.

4.1.2 Résultats

Le Tableau 4.2 résume les teneurs finales de la somme des HAP analysés au terme de l'expérience de 12 semaines.

Tableau 4.2 Teneurs finales (mg.kg⁻¹) et rendement de biodégradation dans les trois conditions testées à Nancy

S		SB		SBI	
Teneurs finales (mg.kg ⁻¹)	Enlèvement (%)	Teneurs finales (mg.kg ⁻¹)	Enlèvement (%)	Teneurs finales (mg.kg ⁻¹)	Enlèvement (%)
1 236 ± 129	8.5 ± 16.0	1 386 ± 333	2.6 ± 14.7	909 ± 307	15.3 ± 35.4

L'expérience avec ajout de boues et d'*Inoculum* (SBI) a donné les meilleurs résultats avec 15% de biodégradation en 12 semaines. Cependant, il y a beaucoup de variations au niveau des résultats, aux vues des écart-types associés à ces valeurs et ces différences dans les résultats sont peu significatifs.

4.2. Comparaison des résultats en tas de Québec et de Nancy

Dans cette partie, une comparaison des résultats des essais en tas menés à Québec et à Nancy est réalisée, même si les temps d'expérimentation sont différents. Au Québec, l'étude a été menée sur 16 semaines alors qu'en France elle n'a duré que 12 semaines. En considérant les temps importants nécessaires en biorémediation, une différence de traitement de 4 semaines n'est pas très significative dans l'efficacité des traitements. Dans les deux cas, un traitement d'une durée plus importante aurait été plus révélateur.

Tout d'abord, les contenants utilisés n'offrent pas le même transfert d'oxygène. En effet, les pots utilisés à Nancy ont une hauteur approximative de 10 cm, contre 3 cm à Québec. L'apport d'oxygène a donc été plus important à Québec. En effet, à Nancy les tas ont été placés dans des sacs pour faciliter le retournement manuel, mais cela réduit fortement l'apport en oxygène puisque ces sacs étaient totalement hermétiques. Ils diminuent les échanges gazeux sur les côtés des pots : l'aération provient alors uniquement de la surface et limite ainsi énormément l'apport en oxygène plus en profondeur. L'activité de dégradation la plus importante ne se produit alors essentiellement qu'en surface et non dans tout le tas.

Autre paramètre jouant un rôle dans les échanges gazeux est la méthode de retournement qui diffère entre les deux tests. Dans un cas, des fourchettes ont été utilisées pendant une durée de 2 min, alors qu'à Nancy, un retournement manuel a été pratiqué, non chronométré, grâce au sac contenant la terre. À Québec, le brassage semble davantage uniforme avec des fourchettes puisque les dents permettent une bonne pénétration de l'air contrairement au brassage avec le sac qui avait tendance à former des mottes.

En outre, il y a davantage de composants qui ont été testés à Québec, plutôt qu'à Nancy. Cependant, des comparaisons sont quand même possible avec quelques tas, où le sol de Neuves-Maisons était testé. On peut en effet assimiler le tas J (75% Sol, 10% B, 3% P) aux tas SB de Nancy et le tas N (75% Sol, 10% I, 10% B, 1.5% P) aux tas SBI.

On remarque alors que le taux de biodégradation est très différent entre les conditions J et SB. En effet, dans le premier cas, on atteint jusqu'à 15% de biodégradation, alors que dans l'autre cas, on n'observe moins de 3% de biodégradation. La différence de traitement entre les deux n'est qu'un ajout de paille. Celle-ci aurait participé, au même titre que la forme du contenant, à l'activation des bactéries grâce à un meilleur apport en oxygène. Elle permet la formation de micropores qui facilite la répartition et le transfert d'oxygène.

Il y a davantage de similitudes entre les tas N et SBI. En effet, les taux de biodégradation sont respectivement de 12 et 15%. Dans ce cas, l'ajout de 1.5% de paille au tas N n'a eu aucun effet bénéfique sur la biodégradation, puisque le tas SBI, lui, n'a pas été supplémenté avec de la paille. En extrapolant, on pourrait dire que la condition SBI a mieux fonctionné puisqu'avec un temps supplémentaire de 4 semaines, la dégradation aurait probablement atteint un pourcentage encore plus élevé.

CHAPITRE V

5. SYNTHÈSE

5.1. État de la situation actuelle

La dépollution des sols en général est en plein essor. En effet, dans la majorité des pays, des lois sur la réhabilitation des sites, selon leur future utilisation, imposent des seuils de décontamination à respecter si le site est réutilisé. Les critères de dépollution diffèrent selon l'usage proposé : résidentiel, récréatif ou industriel et commercial. Les normes sont davantage sévères, plus le sol est en contact étroit avec la population. En effet, un site à vocation récréative, avec un usage prédominant par des enfants par exemple, subira une réhabilitation plus poussée que si le site doit être utilisé pour implanter une entreprise. Dans notre cas, les objectifs de décontamination sont ceux pour des terrains industriels, qui nécessitent moins d'attention, dont les normes sont alors plus permissives.

De nos jours, avec les recommandations internationales, comme le protocole de Kyoto par exemple, il est de moins en moins légitime de résoudre les problèmes liés à la pollution en utilisant l'incinération ou l'enfouissement. Ces méthodes ne font, en réalité, souvent que déplacer la contamination dans un autre compartiment. Pour cette raison, de nombreuses études sont menées afin de trouver des solutions viables tant au niveau du respect des critères exigés, que du temps imputé à cette dépollution. Il faut, de plus, que ces solutions soient acceptées par la population d'un point de vue éthique et quelles soient économiquement raisonnables. C'est la raison pour laquelle les méthodes de dépollution par voie biologique connaissent une telle expansion. En effet, celles-ci utilisent directement les capacités des êtres vivants à consommer les xénobiotiques, et n'utilisent généralement pas d'additifs chimiques qui soient préjudiciables envers l'environnement et, à plus long terme, l'Homme. Il est tout de même important de noter que la biodégradation des molécules organiques de type HAP, peut entraîner l'apparition de sous-produits de dégradation, qui peuvent être, autant, voire davantage nocifs que les molécules mères. Ceci constitue l'un des challenges à relever lors d'une biorémediation de terrains contaminés.

Les traitements actuels combinent généralement la mise en place de plusieurs techniques de dépollution, ce qui entraîne des coûts élevés et une mise en œuvre importante. La majorité des sites pollués le sont par des pollutions de types multiples : avec des mélanges de polluants organiques et inorganiques. De plus, le sol est un milieu très hétérogène et possédant souvent des caractéristiques propres selon sa localisation. Il est alors aisé de comprendre en quoi une pollution édaphique est difficile à traiter. Il s'agit la plupart du temps de traitements au cas par cas. Beaucoup d'études récentes montrent l'intérêt d'utiliser des tensioactifs, qui mobilisent une grande majorité de xénobiotiques, pour éradiquer la pollution de façon plus efficace. Cependant, ceux-ci sont souvent issus de procédés chimiques, ce qui n'entre pas dans une vraie politique de gestion durable. Pour cette raison, les efforts se tournent maintenant vers la découverte de tensioactifs, genre biosurfactants, d'origine biologique, afin qu'ils ne perturbent pas davantage le milieu considéré. Ceci, toujours dans un souci de préservation des milieux et de développement durable.

Des moyens sont également mis en place pour identifier les souches capables d'utiliser les HAP comme seule source de carbone. Celles-ci sont criblées et leur génome séquencé afin d'identifier les gènes responsables de la dégradation. Il s'agit souvent de gènes codant pour la synthèse d'enzymes, type dioxygénases, par exemple. Des banques de gènes sont alors créées. À partir de ces banques, des amorces spécifiques sont mises au point et utilisées lors d'essais de biologie moléculaire (PCR, par exemple). Il est alors possible de quantifier, si elle est présente, la flore dégradante, par recombinaison de l'amorce avec l'ADN de la souche. La quantification se fait alors grâce à une détection de fluorescence suite à une amplification des gènes cibles. Une fois identifiées et isolées, ces souches peuvent alors être introduites dans le site (bioaugmentation) comme « agents de dégradation ». Or, ces méthodes, bien que relativement efficaces, ne respectent pas l'intégrité du site. En effet, l'introduction de souches exogènes dans le milieu est un élément perturbateur de l'écosystème en place. La rémédiation peut alors se faire grâce aux microorganismes indigènes qui ne perturberont pas la niche écologique. Il est possible de favoriser leur action en leur fournissant des conditions de vie idéales (biostimulation). Ceci peut se faire grâce à l'ajout d'oxygène et/ou de nutriments, *via* des matières organiques par exemple. Les études actuelles portent sur la nature des substrats à apporter, et testent ainsi les différences de rendements de dégradation selon quelques paramètres importants : le taux d'humidité, la température, le ratio C/N, le ratio sol pollué/amendements, l'apport en bactéries exogènes, etc.

La particularité du projet mis en place ici est de concilier cet aspect de dépollution biologique et d'utiliser des substrats organiques, comme amendements pour le sol, qui sont des matières tertiaires problématiques à gérer. L'objectif final s'inscrivant alors dans une politique de développement durable : dépolluer un site tout en réutilisant un déchet dont la gestion va devenir problématique avec les quantités de plus en plus croissantes à traiter chaque année.

5.2. Discussion

5.2.1 *Acclimatation de la biomasse*

Les microorganismes s'adaptent de façon croissante aux conditions qui leur sont imposées. En effet, il s'induit un système de survie qui favorise ceux capable de résister aux variations du milieu. Pour cette raison, une acclimatation semble justifiée dans ce projet, acclimatation qui va permettre de sélectionner les microorganismes qui utilisent les HAP comme source de carbone. La biorémédiation nécessite des temps de mise en œuvre très importants, cette acclimatation ayant alors pour objectifs, non seulement d'augmenter la performance de dégradation, mais également le temps de la dépollution. Cela permettrait, à plus long terme, de posséder un *Inoculum* pré-acclimaté, sauvant ainsi des coûts liés à la durée d'exploitation.

À Québec, cette étape préliminaire a été testée avec différents substrats organiques, à savoir : du lisier de porc, des boues d'épuration ou un mélange des deux. La mise en contact avec les bactéries n'a pas été progressive, contrairement à l'acclimatation accélérée de Nancy où des quantités croissantes ont été ajoutées chaque jour, mais la quantité finale a été introduite en une fois. Le taux de dégradation des HAP a été mesuré, et celui-ci a été plus important dans le cas avec un mélange de sol et de boues d'épuration. Le lisier de porc est plus riche en matière organique que les boues municipales. Cette trop forte quantité en carbone, environ 380 g.kg^{-1} contre 277, ne favorise pas la dégradation par activation microbienne. Au contraire, les bactéries vont avoir tendance à choisir ce substrat plus facilement assimilable que les HAP. Aucun test de biologie moléculaire n'a été effectué sur le lisier, on ne connaît donc pas la quantité de dégradeurs présents dans ce substrat. Or, on peut se douter que la flore dégradante n'est pas numériquement importante et qu'en étant anaérobie, elle n'est pas apte à dégrader les HAP dans ces conditions. En effet, le lisier contient une quantité de HAP inférieure aux boues municipales

de Bécancour : 11 mg.kg^{-1} contre 40 pour les boues (voir Annexe 2). Les microorganismes présents dans les boues sont donc déjà habitués à cette pollution organique et c'est pourquoi il y a probablement davantage de dégradeurs dans les boues, et que l'acclimatation a mieux fonctionné dans ce cas.

Comme il n'y a pas eu de suivi biomoléculaire tout au long du projet, il est difficile de savoir quelle flore on acclimate. Il s'agit probablement davantage des bactéries des boues plutôt que du sol, car celles du sol sont en contact avec de fortes concentrations en HAP depuis longtemps. En effet, la pollution de Neuves-Maisons est une pollution industrielle ancienne de 30 ans, ce qui a laissé du temps aux bactéries pour s'adapter aux conditions du milieu.

Au cours de l'acclimatation accélérée, il y a eu de fortes variations de pH dans le bioréacteur qui ont été compensées par l'ajout de soude pour maintenir un pH proche de 6.5-7.0. Cette variation a probablement favorisé l'aspect toxique de ce sol en mobilisant des métaux, ce qui aurait inactivé la flore dégradante. En effet, les résultats des essais en tas à Nancy avec ajout d'*Inoculum* ont été moins concluants que ceux de Québec. Cette toxicité est sans doute à l'origine de ce dysfonctionnement, en plus de la toxicité inhérente de ce sol.

En outre, les boues utilisées lors des essais à Québec avaient été conservées depuis 7 mois à 4°C , alors que celles lors des expériences à Nancy étaient fraîches pour la préparation de l'*Inoculum* et avaient 3 mois de conservation à 4°C pour l'expérience en pulpe. Cela signifie que la microflore de Québec diffère de celle de Nancy. En effet, cette flore n'est pas celle de boues jeunes mais au contraire de boues très âgées, voire même en processus de minéralisation. A ce stade, la microfaune est essentiellement composée de rotifères et de nématodes, dont le comportement est différent de celui des bactéries présentes dans des boues activées fraîches. On peut alors penser que la biodégradation a dû être différente. Il est probable que ce ne soit pas les mêmes microorganismes qui aient effectué la dégradation dans les essais à Québec ou à Nancy.

5.2.2 Biodégradation mésophile

5.2.2.1 Échelle

Le projet ayant pris naissance lors de cette maîtrise, les essais n'ont été conduits qu'au premier stade expérimental. Après étude bibliographique, le choix s'est porté sur la mise en place d'un procédé de biodégradation similaire à du compostage. Or, dès les premiers essais en tas à Québec, aucune augmentation de température n'a été notée au cœur des tas. Les tas réalisés pour l'expérience avaient en effet un volume trop petit pour permettre un processus de compostage. Ceci du fait des contraintes expérimentales dues au manque de place dans l'incubateur, et également les restrictions de quantités pouvant être importées de France (maximum 5 kg).

Le procédé a alors davantage été assimilé à une biodégradation mésophile (à une température de 30°C) relativement similaire à du *landfarming*, puisque les tas sont retournés pour être aérés. Il s'avère que l'effet positif du retournement sur la disparition des hydrocarbures est attribué à une augmentation de l'aération et de la biodisponibilité des HAP grâce à une redistribution des composés dans le sol, ce qui augmente l'aire d'exposition du pétrole sur les microorganismes (Rhykerd et al. 1999). Lors d'un traitement par biopile, la compaction du sol réduit la diffusion de l'air causant ainsi une diminution de la dégradation, même si une injection d'oxygène est réalisée en continu. Un traitement par andain est alors préféré du fait du retournement régulier, qui participe à l'aération plus uniforme du tas (Chaîneau et al. 2005). Il y aurait davantage de dégradation en andain, qu'en biopile (Chaîneau et al. 2002), et selon les écart-types liés aux concentrations en hydrocarbures totaux, il y aurait davantage d'hétérogénéité en biopile qu'en andain (écart-types de 50% contre 25% en andain) et ce, toujours grâce aux retournements réguliers.

Les perspectives d'amélioration pour ce projet, consisteraient alors, à refaire les essais à une plus grande échelle, permettant ainsi de combiner l'effet de l'apport de substrats organiques et l'effet de l'augmentation de la température, due à une quantité de sol plus importante. Ce processus s'apparenterait alors davantage à un traitement par compostage en andains. Celui-ci permettrait une dégradation efficace grâce aux différents microorganismes qui se développent tout au long du processus. A cette échelle, l'efficacité serait augmentée puisque ce procédé concilierait les bienfaits du compostage avec l'apport de matières organiques contenant une flore active. Selon

cette perspective, la méthode devrait être efficace, puisque les sols pollués possèdent en général une faible teneur en matière organique et ont alors une faible activité bactérienne. L'ajout de substrat organique, de type boues d'épuration, permettrait alors d'atteindre et de maintenir un état thermophile stable, moteur de la dégradation par compostage.

Lors d'un traitement par compostage, il faut cependant tenir compte de la séquestration des contaminants. En effet, les HAP étant très hydrophobes, ils ont tendance à s'adsorber sur la matière organique ou sur les argiles, et pendant un processus de compostage, il s'agit particulièrement des substances humiques. Amir et al. (2005) ont montré qu'au début du compost, les HAP sont séquestrés ou liés aux métabolites oxydatifs à l'intérieur des substances humiques nouvellement formées. En phase de maturation, deux processus se produisent : au début de la maturation, il y a une augmentation de la teneur en HAP à cause de la décomposition du matériel ligno-cellulosique qui relâchent les HAP adsorbés, puis en fin de maturation, il y a une baisse dans la teneur en HAP car il y a séquestration dans les substances humiques. Enfin, lors de la phase de stabilisation, il y a encore une baisse de la teneur en HAP due à une séquestration de la matrice du compost. Cet effet est davantage notable pour HAP avec 4 cycles et plus, car l'adsorption le matériel ligno-cellulosique est plus forte du fait de leur caractère hydrophobe croissant avec le poids moléculaire. Ces variations de concentrations sont alors à prendre en compte lors de l'interprétation de la biodégradation : une quantification au stade de maturation du compost est alors davantage recommandée.

Les tests menés en condition semi-liquide (pulpe) ont été un bon moyen de connaître les paramètres à optimiser et de contrôler les apports en intrants, le pH, la température, et la quantité d'oxygène dans le système. Dans ces conditions quasi idéales, la biodégradation est accélérée par rapport aux tests en tas, car, en milieu liquide, il y a davantage de transfert d'oxygène et de contact entre les bactéries et les contaminants. On obtient deux fois moins de dégradation en 28 jrs qu'en 16 semaines (26% contre 60%), mais cela donne une bonne idée de la dégradation si celle-ci est relativement linéaire. Les tests en pulpe (*slurry*) sont donc une bonne étape à réaliser lors de la mise en place d'essais expérimentaux.

De plus, ce test a permis de valider la méthode d'échantillonnage par « sacrifice de fiole ». Cette méthode permet une réduction d'environ 50% de l'erreur imputée à la prise d'échantillons avec une pipette coupée (53% de dégradation contre 26% avec cette méthode). Il faut cependant noter,

que pour pratiquer la méthode par « sacrifice de fiole », il faut préparer et réaliser l'expérience pour un nombre de fioles égal au nombre de points d'échantillonnage. Cette méthode peut donc être difficile à mettre en place, si le matériel et/ou la place pour mettre en œuvre l'expérience, sont insuffisants. Il faut également s'assurer de préparer les fioles dans les mêmes conditions : bien homogénéiser et répartir le sol par quartage, et peser les mêmes quantités d'amendements à répartir dans les fioles.

5.2.2.2 *Choix du substrat organique et des composants du compost*

5.2.2.2.1 *Amendements organiques et autres*

Au cours de l'essai en tas à Québec, trois substrats organiques ont été testés : du compost de crevettes, du lisier de porc et des boues activées. Le premier a davantage été choisi pour son apport en matières organiques carbonées que pour sa flore intrinsèque, alors que les deux derniers ont été choisis pour ces deux aspects.

Le compost de crevettes, utilisé à hauteur de 10% du poids du tas donne des meilleurs résultats que lorsqu'il est utilisé à hauteur de 5% du mélange. Cela démontre bien l'importance de l'apport de nutriments de ce substrat organique. Cependant, même avec un ajout d'*Inoculum* dans les deux cas, la biodégradation n'est pas très importante ($27 \pm 17\%$ dans le meilleur cas). La présence de microorganismes dans le substrat organique est donc préconisée pour un meilleur rendement de décontamination.

Le lisier de porc n'ayant pas donné de bons résultats lors de l'acclimatation, il était à prévoir que celui-ci ne donnerait pas de bons rendements de dégradation lors du traitement en tas. En effet, en considérant les écart-types, la biodégradation est pour la plupart des cas, nulle (tas F et L), à l'exception du tas M où le taux de biodégradation est le plus important dans les conditions avec le sol de Neuves-Maisons. La flore du lisier s'est probablement mieux adaptée à ce sol plutôt qu'au sol Noir et ce, probablement du fait qu'il y a davantage de métaux disponibles provenant du sol de Neuves-Maisons plutôt que du sol Noir. Les bactéries du lisier étant en contact avec des métaux de part sa composition. La nature du substrat est à l'origine du mauvais rendement général de dégradation obtenu avec le lisier. En effet, la quantité trop importante de matière organique, que contient le lisier, entre en compétition pour le choix du substrat de croissance des

microorganismes. Ceux-ci choisissent le plus abondant et le plus facilement assimilable. De plus, il contient des composés, comme des métaux (cuivre et zinc) ou des éléments non-métalliques (comme le soufre), qui pourraient être à l'origine d'une inactivation de la flore dégradante. Cette perturbation a probablement été renforcée par la présence, quasi certaine, d'antibiotiques dans le lisier. Il existe un nombre limité de bactéries qui résistent à ces produits, ou il s'agit de résistances vis-à-vis des substances actives plus anciennes telles que la streptomycine, substance dont l'utilisation est tout de même moins courante avec l'apparition de nouvelles molécules.

Un agent de texture, ou agent de foisonnement, a été choisi pour cette étude. Il s'agit de la paille. Celle-ci a été préférée au foin à cause de son ratio C/N plus élevé : environ 59 contre 19 pour le foin. En effet, on cherchait à avoir un ratio C/N proche de 25 pour la mise place des tas de compost. De plus, la paille permet une bonne aération du milieu car elle crée des micropores laissant la diffusion possible de l'oxygène à travers le tas, favorisant ainsi l'activité bactérienne aérobie. Elle se dégrade difficilement au cours du traitement en tas, elle joue donc bien son rôle d'agent de texture tout au long de la biodégradation mésophile. Une étude montre que l'influence positive des agents de foisonnement, d'un recouvrement des tas pour augmenter la température ainsi que du retournement régulier des tas, n'est visible uniquement dans les premiers stades du processus (Chaîneau et al. 2002), puisque le taux de biodégradation final dans les différents traitements mis en place est identique.

L'utilisation d'un surfactant n'a pas permis d'améliorer significativement la dégradation. Celui-ci a probablement permis d'augmenter la biodisponibilité des HAP, en les solubilisant. Son action s'est aussi sans doute tournée vers les métaux en les rendant plus disponibles. En effet, si on considère les écart-types, l'élimination des HAP est nulle pour le sol Noir et très faible pour le sol de Neuves-Maisons. La mobilisation probable des métaux pourrait alors avoir eu un effet d'inhibition sur la dégradation, entraînant ainsi des rendements d'élimination nuls. Dans de nombreux cas, l'utilisation de tensioactifs améliore la dégradation. Il faudrait alors pouvoir identifier une bactérie capable d'utiliser les HAP comme source de carbone et qui produit un biosurfactant, facilitant ainsi l'assimilation des HAP.

5.2.2.2.2 *Ratio C/N*

Le ratio C/N est un paramètre important à considérer dans les essais de biorémediation. En effet, la balance entre les quantités de carbone, d'azote, et même de phosphore (ce paramètre n'est pas considéré ici), détermine l'efficacité d'un traitement par compostage. En effet, si la quantité d'azote est trop faible, il n'y aura pas d'augmentation de température. En revanche, si l'azote est dominant, la surchauffe produite affectera les microorganismes en les inactivant complètement. Le tas sera alors susceptible d'entrer en conditions anaérobiques qui provoqueront, entre autre, un refoulement d'odeurs nauséabondes. En général, un ratio C/N de 30 est recommandé pour le compostage, cependant, lors de ce projet, on a voulu tester l'effet de ce ratio sur la biodégradation avec un test en pulpe.

Bossert et Bartha (1984) ont montré que le ratio C/N/P optimum pour la dégradation, en biopile ou en andain, de sols contaminés avec du pétrole brut est de 100/10/1. Une étude plus récente montre que la fertilisation n'a pas toujours des points positifs sur la biodégradation des hydrocarbures. Elle révèle qu'une fertilisation appropriée est recommandée alors qu'une fertilisation excessive a un effet négatif sur la biodégradation (Carmichael et Pfaender 1997; Chaîneau et al. 2005). Ajouter une faible quantité de nutriments peut permettre une augmentation de 15% de la dégradation des hydrocarbures selon Chaîneau et al. (2005). L'effet des amendements est davantage prononcé sur l'assimilation des alcanes linéaires ou branchés, que sur les alcanes cycliques, indiquant que l'ajout de nutriments stimule préférentiellement les microorganismes qui assimilent les hydrocarbures paraffiniques par rapport à ceux qui assimilent les composés aromatiques. Le nombre de microorganismes est toujours plus important dans les sols les plus fertilisés. Chaîneau et al. (2005) ont montré qu'une quantité trop importante en azote peut cependant avoir un effet inhibiteur dans le cas d'une fertilisation trop importante. Or, dans notre cas, la flore apportée *via* les boues est déjà très abondante et active et, au sein des boues, il y a beaucoup d'éléments nutritifs. Il y aurait donc une quantité trop importante de microorganismes par rapport à la quantité de polluants à dégrader, en particulier pour le ratio C/N de 10 qui va favoriser la croissance bactérienne grâce à l'apport en azote. Cependant, dans le test en pulpe, le ratio C/N de 10 donne les moins bons résultats, même si la population a été stimulée. Une dégradation a été notable lorsque l'on n'a effectué aucun ajout, c'est-à-dire pour un

ratio C/N d'environ 18, qui est le ratio C/N propre au sol de Neuves-Maisons. La condition testant un ratio de 25 donne des rendements avec davantage de variations qu'avec un C/N de 18.

Lors des essais en pulpe, les éléments apportés pour faire varier les C/N sont facilement assimilables (cellulose et nitrate d'ammonium), on peut alors se demander si les ratios C/N fixés au temps initial ont vraiment joué un rôle dans la biodégradation, ou si ils ont été dégradés tout de suite. Ces essais ont été menés sur le sol de Neuves-Maisons et, dans tous les cas, le problème majeur de cette pollution industrielle ancienne est la non-disponibilité des HAP à la dégradation. Que l'on apporte tous les nutriments nécessaires *via* les boues ou *via* le nitrate d'ammonium, ou de l'énergie carbonée par la cellulose ; si les HAP ne sont pas biodisponibles, il n'y aura pas de dégradation biologique. Le C/N agit probablement sur l'activité biologique, mais si les contaminants sont non-disponibles, cela ne change rien.

Dans cette étude on préconise de ne rajouter aucune autre source d'azote ni de carbone. Il faut cependant que le ratio C/N du sol permette un bon développement des microorganismes et une biodégradation significative. L'objectif de ce projet est de mettre en place une nouvelle biotechnologie permettant une dégradation efficace des HAP. Or, pour réaliser cela il faut combiner un maximum de conditions favorables. Cela passe, entre autre, par l'utilisation raisonnée et efficace d'amendements, d'agent de texture ou même de tensioactifs pour l'élaboration d'andains. Certaines conditions testées, comme le brassage des tas avec un sac, auraient été davantage appropriées pour des utilisations agronomiques mais pas pour des essais de biotechnologie. Les essais auraient pu être effectués à température ambiante pour décrire davantage les conditions de terrain.

5.2.3 Nature des sols testés

Les terres utilisées lors de ce projet ont une contamination relativement similaire en HAP, tant au niveau de la teneur totale, que de la répartition par cycles. Cependant, la biodégradation mesurée est très différente, et cela, en raison de la provenance différente des deux sols. En effet, le sol Noir a une provenance confidentielle, alors que le sol de Neuves-Maisons provient d'un site d'une ancienne cokerie, site où la dissémination de contaminants multiples est très importante.

Cependant, aux vues des analyses de caractérisation de ce sol, on est en droit de se demander si on peut le considérer comme un « vrai sol ». En effet, les analyses révèlent qu'il y a des quantités importantes de soufre, de cuivre, de zinc et de fer dans ce sol. En comparant ces valeurs au critère A du MEF (teneur naturelle dans un sol) (Ministère de l'Environnement du Québec 1999), ce sol s'apparente davantage à un résidu industriel qu'à un « vrai sol » : il contient en effet des résidus en fortes quantités. Par exemple, la teneur élevée en soufre dénote qu'il a été échantillonné proche du crassier de l'ancienne cokerie et indique la présence de résidus de charbon ou de scories de charbon en forte quantité. Même lors des analyses de caractérisation de ce matériau à Québec (analyse NCS), le technicien a éprouvé de la difficulté pour quantifier le carbone et le soufre, tant les valeurs étaient élevées.

Les fortes teneurs en métaux quantifiées dans ce matériau, peuvent également modifier la biodégradation des HAP. En effet, des études ont montré que la présence de métaux, comme le cadmium, le cuivre ou le zinc, dans le sol, augmente la toxicité des HAP vis-à-vis des microorganismes (Amellal 2004). La présence de métaux pourrait donc représenter une contrainte importante à la biodégradation des HAP dans les sols. En comparaison, le sol Noir possède moins de composés inorganiques que celui de Neuves-Maisons. En effet, suite à un test de lixiviation à l'eau, les analyses en métaux de la fraction soluble, révèlent que le sol Noir en libère 18.4 mg.L^{-1} contre 67.6 mg.L^{-1} pour le sol Neuves-Maisons. Cette matrice est donc davantage toxique que le sol Noir comme milieu de croissance pour les microorganismes. Ceux-ci auront moins de facilité à coloniser le sol et par la suite à dégrader les HAP, puisque leur activité sera inhibée par la pollution inorganique. Le sol Noir a donc beaucoup moins d'impact négatif sur la flore dégradante aux vues des quantités moins importantes de métaux qu'il libère. Cette toxicité peut expliquer les pourcentages de dégradation très faibles répertoriés avec ce sol. Aux vues des résultats de biologie moléculaire, ce sol possède une flore dégradante relativement conséquente. Celle-ci ayant survécue à la présence de métaux et étant capable de dégrader les HAP, on peut conclure qu'il s'agit de souches très résistantes aux pollutions multiples et aux conditions de vie dans des milieux hostiles.

Lors des essais en tas menés à Québec, des spores blancs puis par la suite des pousses végétales sont apparus sur tous les tas avec du sol Noir et uniquement sur trois des six tas avec du sol de Neuves-Maisons. La quantité de pousses recensées sur les tas avec du sol Noir est largement supérieure aux pousses des autres tas. À titre d'exemple, trois pousses sont apparues sur le tas C,

contre une sur le tas M. Le caractère toxique de ce sol se fait encore ressentir dans cet exemple : sur le tas F avec du sol Noir, neuf pousses sont apparues. On ne peut évidemment pas parler ici de phytoremédiation, cependant, on remarque que le sol de Neuves-Maisons est moins apte à recevoir de la vie végétale, signe de sa toxicité.

En outre, le sol de Neuves-Maisons provient d'un site dont l'exploitation s'est achevée dans les années 70. Il s'agit alors d'une pollution relativement ancienne. Alexander (1995) a montré que les contaminants qui ont « vieilli » dans le sol ne sont pas disponibles pour la dégradation. La sorption est le facteur principal empêchant la biorémédiation complète de la contamination des sols par les hydrocarbures (Bosma et al. 1997). L'importance relative de ces mécanismes dépend de la façon dont le contaminant est séquestré. Le taux de séquestration d'un HAP est influencé par la capacité des microorganismes à réduire la concentration dans la phase aqueuse et la tendance des microorganismes à s'adhérer au sorbant (Calvillo et Alexander 1996). Or, dans notre étude, la pollution est présente depuis environ une trentaine d'années. On peut alors se dire que l'atténuation naturelle, même si ce processus est long, a déjà atteint son efficacité maximale. Les molécules les plus facilement dégradables ont déjà été consommées alors que celles qui le sont moins ont dû subir des attaques biologiques de la part de la flore indigène. Pour cette raison, les résultats sont beaucoup moins concluants avec ce sol, qu'avec le sol Noir. Les contaminants restant dans la matrice sont alors très probablement non disponibles à la biodégradation, raison pour laquelle aucune dégradation significative n'a été obtenue. En effet, il faut savoir que lors de la caractérisation de la matrice, l'extraction des HAP, *via* des solvants à forte température, est totale, et ne représente aucunement la part des HAP biodisponibles. Pour une meilleure estimation, il faudrait pouvoir extraire uniquement les HAP susceptibles de pouvoir être biodégradés, c'est à dire ceux qui sont biodisponibles.

Cependant, pour les conditions en pulpe par exemple, il y a eu une dégradation significative avec le sol de Neuves-Maisons contrairement aux essais en tas avec ce même sol. Le système semi-liquide a vraiment permis d'augmenter la biodisponibilité, probablement en augmentant la désorption des contaminants de la matrice et en fournissant aux microorganismes des conditions de vie favorables : pH, température, oxygène. En comparaison, les essais en tas avec ce sol n'ont pas donné de résultats positifs : les HAP probablement trop séquestrés dans la matrice, et récalcitrants à la dégradation, n'ont pas pu être consommés par les microorganismes. Cependant, si l'on veut traiter ce sol, la mise en place d'un réacteur suffisamment grand pour traiter les

milliers de tonnes du site demanderait un investissement trop important. Il serait peut-être mieux de traiter ce genre de résidu industriel par une autre méthode qu'une technique biologique.

Ainsi, pour prévoir le comportement des contaminants dans le sol il est nécessaire de bien comprendre les mécanismes d'interaction entre celui-ci, les contaminants et les microorganismes. Il est clair que plus de recherches sont nécessaires pour mieux préciser la disponibilité et la toxicité, dans un environnement aussi complexe et hétérogène que le sol. Une attention particulière doit également être portée sur le relargage des sous-produits métaboliques toxiques pendant l'assimilation des composés organiques, type HAP. Le point de mire de la biorémediation doit maintenant être mis sur la détermination chimique des résidus de la dégradation finale ainsi que des tests de toxicité aptes à cibler l'impact du sol traité sur l'environnement (Chaîneau et al. 2005).

5.3. Réglementation

Même après traitement, la teneur finale dans les tas ne respecte pas les exigences de réhabilitation selon le critère C, imposées par le gouvernement du Québec. Les sols bruts respectent ce critère au niveau des HAP légers seulement (2 cycles et 3 cycles). En ce qui concerne la condition pour laquelle on obtient le meilleur taux de biodégradation (tas C), seuls le pyrène et le dibenzo(a, h)anthracène ont une teneur en deçà des exigences imposées par le MEF, suite au traitement. En comparant les valeurs du MEF avec celles prescrites par le Gouvernement Français, on remarque que le Québec est très, voire trop strict en matière de décontamination de sols. Ces exigences sont très dures à atteindre surtout pour une dépollution biologique. Par exemple, des concentrations en chrysène de 10 mg.kg^{-1} sont préconisées par le Québec, alors qu'en France on autorise une quantité de $25\ 200 \text{ mg.kg}^{-1}$. Cette différence est énorme et nous amène à penser que soit l'un des gouvernements est trop permissif, soit l'autre est trop restrictif. Dans tous les cas, les valeurs dont on devrait tenir compte devraient être une moyenne des exigences de ces gouvernements. Il y a donc besoin de remettre en question les normes du Québec et de la France pour trouver des valeurs consensuelles. En réalité, la concentration maximale admise devrait être celle qui entraîne le niveau d'impact acceptable en tenant compte de toutes les contraintes.

5.4. Difficultés liées au projet

L'une des difficultés analytique majeure rencontrée lors de ce projet est la quantification des molécules organiques type HAP. En effet, les appareils de mesure, en particulier le GC-MS, ne détecte pas ces molécules avec la même précision à chaque utilisation. En effet, les temps de rétention de chaque molécule ont tendance à changer entre les analyses, et la colonne à s'encrasser rapidement. Il est alors difficile de quantifier précisément la concentration de chaque polluant, surtout lorsqu'il s'agit de concentrations très basses. Pour cette raison, lors de ce projet, on a raisonné sur la somme totale des seize HAP de la liste USEPA, en pensant que les erreurs de quantification allaient s'annuler. En ce qui concerne les analyses avec l'HPLC, celles-ci semblent davantage précises. Cependant, il faut vérifier tous les pics des chromatogrammes et l'identification des molécules est alors parfois incertaine.

Une autre difficulté rencontrée ici est lié au choix de la matrice test à dépolluer. En effet, un sol est un milieu très hétérogène où la pollution organique n'est pas répartie de façon homogène. Il a fallu alors s'assurer que les prises d'échantillons étaient les plus représentatives possibles, avec l'utilisation d'un riffleur par exemple, pour que les données soient validées.

Enfin, la perte en eau dans un incubateur à 30°C est un paramètre qu'il faut contrôler davantage qu'avec des béciers contenant de l'eau. En effet, pour permettre le maintien d'une humidité constante, des asperseurs seraient plus adaptés.

5.5. Conclusion

L'utilisation des capacités des microorganismes comme moyen de dépolluer un site, est une démarche qui est en pleine croissance actuellement. En effet, la biorémédiation se veut l'une des méthodes les plus respectueuses de l'environnement en conservant au maximum l'intégrité du sol du site, par exemple. Différentes techniques sont à l'essai et, dans ce projet, une méthode de biodégradation mésophile a été préconisée pour un sol contaminé, mais ne possédant pas trop de propriétés toxiques pour la flore dégradante. Des ajouts de différents substrats organiques ont été effectués et ceux qui ont été retenus sont les boues d'épuration. Un retournement des tas, pour favoriser l'aération, a été effectué plusieurs fois par semaine. Une étape préalable d'acclimatation des boues a été faite afin d'adapter les bactéries aux contaminants présents dans

le sol. Grâce à cette méthode, il a alors été possible d'atteindre des rendements de décontamination des HAP de l'ordre de 60% avec un mélange de 75% de sol, 10% de boues municipales, 10% d'*Inoculum* (boues acclimatées) et 1.5 ou 3% de paille. La dégradation des HAP lourds a été de l'ordre de $68 \pm 16\%$. Pour cette condition, le ratio sol/amendements est de 1.0 : 0.3 et le ratio C/N de 30. Une étude biomoléculaire montre que la population de dégradeurs appartient au Gram positifs et que l'acclimatation sélectionne des dégradeurs Gram - .

Il est encore difficile d'estimer les retombées socio-économiques d'un tel projet. Cependant, il est certain que l'augmentation de l'efficacité des procédés de dépollution amenée par cette étude mènera à de plus nombreuses décontaminations de sites par ces techniques, ce qui créera des emplois et permettra de revaloriser des sites contaminés qui sont aujourd'hui laissés à l'abandon.

Ce projet de recherche permettra, en outre, à l'INRS-ETE de s'établir dans un nouveau domaine de recherche soit : la biodégradation des HAP par des techniques de compostage et d'établir ainsi une collaboration internationale entre l'INRS-ETE, Nancy Université et le GISFI, ce qui est de la plus grande importance pour ces équipes de recherche respectives.

RÉFÉRENCES

- ADEME, 2003, Traitabilité des sols pollués – Guide méthodologique pour la sélection des techniques et l'évaluation de leurs performance, ADEME Editions, Paris, France, 580 p.
- Adenuga A.O., Johnson J.H., Cannon J.N. et Wan L., 1992. Bioremediation of PAH-contaminated soil via in-vessel composting, *Water Sci. Technol.*, **26 (9-11)**: 2331-2334.
- Alexander M., 1995. How toxic are toxic chemicals in soil? *Environ Sci Technol.* **29**: 2713-2717.
- Álvarez-Bernal D., Garcia-Díaz E.L., Contreras-Ramos S.M. et Dendooven L., 2006. Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons from soil added with manure or vermicompost. *Chemosphere*, **65**: 1642-1651.
- Ambrosoli R., Petruzzelli L, Minati J.L. et Marsan F.A., 2005. Anaerobic PAH degradation in soil by a mixed bacterial consortium under denitrifying conditions. *Chemosphere*, **60 (9)**: 1231-1236.
- Amellal S., 2004. *Biodégradation, mobilité et stabilisation du phénanthrène dans deux sols agricoles*, Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine, Laboratoire Sols et Environnement ENSAIA-INPL/INRA UMR 1120, Nancy, France, 163 p.
- Antizar-Ladislao B., Lopez-Real J.M. et Beck A.J., 2004. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) contaminated waste using composting approaches. *Crit Rev Environ Sci Technol*, **34**: 249–289.
- Antizar-Ladislao B., Lopez-Real J. et Beck A.J., 2005a. In-vessel composting-bioremediation of aged coal tar soil: effect of temperature and soil/green waste amendment ratio. *Environ Int*, **31 (2)**: 173-178.
- Antizar-Ladislao, B., Lopez-Real, J., et Beck, A.J. 2005b. Laboratory studies of the remediation of polycyclic aromatic hydrocarbons contaminated soil by in-vessel composting. *Waste Manag.* **25(3)**: 281-289.
- American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) et Water Pollution Control Federation (WPCF), 1999, Standards methods for examination

of water and wastewaters. 20ième éd. American Public Health Association, American Water Works Association et Water Pollution Control Federation, Washington, D.C.

Amir S., Hafidi M., Merlina G., Hamdi H. et Revel J.C., 2005. Fate of polycyclic aromatic hydrocarbons during composting of lagooning sewage sludge. *Chemosphere*, **58**: 449-458.

ASTDR, 2007. Disponible sur le site :

<http://www.atsdr.cdc.gov/toxfaq.html#bookmark01> [consulté en avril 2007].

ASTDR, 1995. *Toxicological profile for polycyclic aromatic hydrocarbons*. Rapport, Agency for toxic substances and disease registry, Atlanta, Georgie, États-Unis, 487 p.

Atagana H.I., 2003. Bioremediation of creosote contaminated soil: a pilot-scale landfarming evaluation. *World J Microb Biot*, **19**: 571–581.

Atagana H.I., 2004. Co-composting of PAH-contaminated soil with poultry manure. *Lett Appl Microbiol*, **39**: 163–168.

Baheri H. et Meysami P., 2002. Feasibility of fungi bioaugmentation in composting a flare pit soil. *J Hazard Mater*, **89B**: 279-286.

Bernal-Martinez A., 2005. *Élimination des hydrocarbures aromatiques polycycliques présents dans les boues d'épuration par couplage ozonation – digestion anaérobie*. Thèse de doctorat, Université Montpellier II, France, 231 p.

Bogardt A.H. et Hemmingsen B.B., 1992. Enumeration of phenanthrene-degrading bacteria by an overlay technique and its use in evaluation of petroleum-contaminated sites. *Appl Environ Microb*, **58**: 2579-2582.

Bonten L.T.C., Grotenhuis T.C. et Rulkens W.H., 1999, Enhancement of PAH biodegradation in soil by physico-chemical pre-treatment. *Chemosphere*, **38**: 3627-3636.

Blumer M., 1976. Polycyclic aromatic compounds in nature. *Sci Amer*, **234 (3)**: 35–45.

Bosma T.N.P., Middeldorp P.J.M., Schraa G. et Zehnder A.J.B., 1997. Mass transfer limitation of biotransformation: quantifying bioavailability. *Environ Sci Technol*, **31**: 248-252.

Bossert, I. et Bartha R., 1984, The fate of petroleum in soil ecosystem, in: Atlas, R.M. (Ed.), *Petrol Microb*. Macmillan Co., New York, 435–476.

- Breedveld G.D. et Sparrevik M., 2000. Nutrient-limited biodegradation of PAHs in various soil strata at a creosote contaminated site. *Biodegradation*, **11**: 391–399 .
- Cai Q.Y., Mo C.H., Wu Q.T., Zeng Q.Y., Katsoyiannis A. et Férard J.F., 2007. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)-contaminated sewage sludge by different composting processes. *J Hazard Mater*, **142 (1-2)**: 535-542.
- Calvillo Y.M. et Alexander M., 1996. Mechanism of microbial utilization of biphenyl sorbed to polyacrylic beads. *Appl Microb Biot*, **45**: 383-390.
- Cameotra S.S. et Bollag J.M., 2003, Biosurfactant-Enhanced Bioremediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Crit Rev Env Sci Tec*, **30 (2, 15)**, 111-126.
- Canet R., Birnstingl J.G., Malcolm D.G., Lopez-Real J.M. et Beck A.J., (2001). Biodegradation of PAHs by native microflora and combinations of white rot fungi in a coal–tar contaminated soil. *Biores Technol*, **76**, 113–117.
- Carmichaël L.M. et Pfaender F.K., 1997. Polynuclear aromatic hydrocarbon metabolism in soils: relationship to soil characteristics and preexposure. *Environ Toxicol Chem*, **16** : 666-675.
- Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec, Détermination du pH à l'eau dans les sols agricoles, MA 1010-pH 1.0 Edition : 2003-03-27.
- Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec, Détermination des HAP : dosage par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse, MA. 400-HAP 1.1 Edition : 2001-12-05.
- Cébron A, Norini MP., Beguiristain T. et Leyval C., Real Time PCR quantification of Gram positive and Gram negative PAH degrading bacteria in soil and sediment samples. En préparation pour *Applied and Environmental Microbiology*.
- Cerniglia C.E., 1992. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Biodegradation*, **3**: 351–368.
- Chaîneau C.H., Yéprémian C., Vidalie J.F., Ducreux J. et Ballerini D., 2002. Bioremediation of crude oil-polluted soil : biodegradation, leaching and toxicity assessments. *Water Air Soil Poll*, **144 (1-4)**: 419-440.

- Chaîneau C.H., Rougeux G., Yéprémian C. et Oudot J., 2005. Effects of nutrient concentration on the biodegradation of crude oil and associated microbial populations in the soil. *Soil Biol Biochem*, **37**: 1490–1497.
- Cheung P.Y. et Kinkle B.K., 2001. Mycobacterium diversity and pyrene mineralization in petroleum-contaminated soils. *Appl Environ Microb*, **67**: 2222-2229.
- Colin F., 2000. 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, Paris, France, 417 p.
- Collins J. F., Brown J. P., Alexeeff G. V. et Salomon A. G., 1998. Potency equivalency factors for some polycyclic aromatic hydrocarbons and polycyclic aromatic hydrocarbons derivatives. *Regul Toxicol Pharm*, **28**: 45-54.
- Cutright T.J. et Lee S.Y., 1994. Microorganisms and metabolic pathways for remediation of PAH contaminated soil. *Fresen Environ Bull*, **3**: 413-421.
- Dadkhah A.A. et Angerman A., 2002. Hot water extraction with *in situ* oxidation : PAHs removal from soil. *J Hazard Mater*, **B93**: 307-320.
- Dean Ross D., 2005. Biodegradation of selected PAH from sediment in bioslurry reactor. *B Enviro Contam Tox.*, **74**: 32-39.
- Decreto Ministeriale n. 471/99, 1999, Regolamento recante criteri, procedure e modalit'a per la messa in sicurezza, la bonifica e il ripristino ambientale dei siti inquinati, ai sensi dell'art. 17 del DL 5/2/97 n. 22 e successive modificazioni ed integrazioni, Rome, Italie.
- De Liguoro, M., Cibin, V., Capolongo, F., Halling-Sørensen, B. et Montesissa, C., 2003. Use of oxytetracycline and tylosin in intensive calf farming: Evaluation of transfer to manure and soil. *Chemosphere* **52(1)** : 203-212.
- 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. *Appl Environ Microb*, **62**: 1908–1912.

- Diaz L.F., Savage G.M. et Golueke C.G., 1996. Stabilization of hazardous wastes through biotreatment. In *The Science of Composting* ed. de Bertoldi, M., Bert, P. and Tiziano, P. 1152–1156. London: Blackie Academic and Professional, England.
- Efroymson R.A. et Alexander M., 1995. Reduced mineralization of low concentration of phenanthrene because of sequestering in non-aqueous-phase lipids. *Environ Sci Technol*, **29**: 515-521.
- Environnement Canada, 2002. Diponible sur le site :
<http://www.on.ec.gc.ca/pollution/ecnpd/tabs/tab22-f.html> [consulté en avril 2007].
- Erickson D.C., Loehr R.C. et Neuhauser E.F., 1993. PAH loss during bioremediation of manufactured gas plant site soils. *Water Res*, **27**: 911-919.
- Feitkenhauer H. et Märkl H., 2003. Biodegradation of aliphatic and aromatic hydrocarbons at high temperatures. *Water Sci Technol*, **43 (10)**: 123-130.
- Gabet S., 2004. *Remobilisation d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) présents dans les sols contaminés à l'aide d'un tensioactif d'origine biologique*, Thèse de doctorat, Université de Limoges, Laboratoire des Sciences de l'Eau et de l'Environnement, Limoges, France, 177 p.
- Garon D., Krivobok S. et Seigle-Murandi F., 2000. Fungal degradation of fluorene. *Chemosphere*, **40**: 91–97.
- Gibson D.T. et Parales R.E., (2000). Aromatic hydrocarbon dioxygenases in environmental biotechnology. *Curr Opin Biotech*, **11**: 236-243.
- Gouvernement du Canada, 1994. *Loi canadienne sur la protection de l'environnement. Liste des substances d'intérêt prioritaire. Hydrocarbures aromatiques polycycliques*. Rapport d'évaluation, Environnement Canada, Santé Canada, Ottawa, Ontario, Canada, 69 p.
- Gouvernement du Canada, 1993. *Matières résiduelles imprégnées de créosote*. Loi canadienne sur la protection de l'environnement, Liste des substances d'intérêt prioritaire, Rapport d'évaluation, Environnement Canada, Santé Canada, Ottawa, ON, Canada.
- Gramss G., Kirsche B., Voigt K.D., Günther Th. et Fritsche W., 1999. Conversion rates of five polycyclic aromatic hydrocarbons in liquid cultures of fifty-eight fungi and the concomitant production of oxidative enzymes. *Mycol Res*. **103**: 1009–1018.

- Guérin T.F., 2000. The differential removal of aged polycyclic aromatic hydrocarbons from soil during bioremediation. *Environ Sci Pollut*, **R7**: 19-26.
- Habe H. et Omori T., (2003). Genetics of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Metabolism in Diverse Aerobic Bacteria. *Biosci Biotech. Bioch*, **67 (2)**: 225-243.
- Haeseler F., Blanchet D., Werner V. et Vandecasteele J.P., 1999. Analytical characterisation of contaminated soils from former manufactured gas plants. *Enviro Sci Technol*, **33**: 825-830.
- Hammel K.E., Gai Z.G., Green B. et Moen M.A., 1992. Oxidative degradation of phenanthrene by the ligninolytic fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl Environ Microb*, **58**: 1831-1838.
- Hanna K., 2004. *Étude de faisabilité de l'utilisation de molécules 'cage' dans la dépollution des sols: Solubilisation et extraction de polluants organiques par les cyclodextrines*. Thèse de doctorat, INSA, Lyon, France, 287 p.
- Harayama S., 1997. Polycyclic aromatic hydrocarbon bioremediation design. *Curr Opin Biotech*, **8**: 268-273.
- Heitkamp M.A et Cerniglia C.E., 1998. Mineralization of polycyclic aromatic hydrocarbons by a bacterium isolated from a sediment below an oil field. *App Environ Microb*, **54**: 1612-1614.
- Heitkamp M.A., Freeman J.P., Miller D.W. et Cerniglia C.E., 1988. Pyrene degradation by a *Mycobacterium sp*: identification of a ring oxidation and ring fission products. *App Environ Microb*, **54**: 2556-2565.
- 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.
- INRS, Institut National de Recherche et de Sécurité, 1992. *Naphtalène*. Fiche toxicologique. Cahiers de notes documentaires—Hygiène et sécurité du travail. Paris, France, 4 p.
- INRS Institut National de Recherche et de Sécurité, 1997. *Benzo(a)pyrène*. Fiche toxicologique. Cahiers de notes documentaires—Hygiène et sécurité du travail. Paris, France, 6 p.

- Juhasz A.L. et Naidu R., 2000. Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons : a review of the microbial degradation of benzo(a)pyrene. *Int Biodeter Biodegr*, **45**: 57-88.
- Kanally R.A. et Harayama S., 2000. Biodegradation of highmolecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria. *J. Bacteriol*, **182 (8)**: 2059–2067.
- Kastner M., 2000. Degradation of aromatic and polyaromatic compounds. In: Rehm, H.J., Reed, G., Puhler, A., Stadler, P. (Eds.). *Biotechnol*, **11b**, Wiley-VCH, Weinheim, Allemagne, 211–239.
- Kubota H. et Nakasaki K. 1991. Accelerated thermophilic composting of garbage. *BioCycle* **32**: 66–68.
- Lamar R.T. et White R.B., 2001. Mycoremediation—commercial status and recent developments. In: Magar, V.S., von Fahnestock, F.M., Leeson, A. (Eds.). *Bioremediation Symposium: Wood-treating and Phenolic Wastes*, **6(6)**, Battelle Press, Columbus, OH, USA, 263–278.
- Liste H.H. et Alexander M., 2001. Butanol extraction to predict bioavailability of PAH in soil. *Chemosphere*, **46**: 1011-1017.
- LCPE, (Loi Canadienne sur la Protection de l'Environnement), 1994. *Liste des substances d'intérêt prioritaire*. Rapport d'évaluation Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques. 69 p.
- Ma Y., Zhang J.Y. et Wong M.H., 2003. Microbial activity during composting of anthracene-contaminated soil. *Chemosphere*, **52**: 1505-1513.
- Madsen T., Kristensen P., 1997. Effects of bacterial inoculation and nonionic surfactants on degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil, *Environ Toxicol Chem*, **16**: 631-637.
- Mann M.J., 1998. Full scale and pilot scale lavage de sol. *J Hazard Mater*, **66**: 119-136.
- Masaphy S., Levanon D., Henis Y., Venkateswarlu K. et Kelly S.L., 1996. Evidence for cytochrome P-450-mediated benzo(a)pyrene hydroxylation in the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*, *FEMS Microbiol Lett.*, **135**: 51-55.
- Ministère de l'Écologie et du Développement Durable, 2002. *Inventaire des sites et sols pollués*. Paris, France, 10 p.

- Ministère de l'Environnement du Québec, 1999. *Politique de protection des sols et de réhabilitation des terrains contaminés*, Québec, QC, Canada, 132 p.
- Ministère de l'Environnement du Québec, 2002. *Statistiques sur les terrains contaminés*. Québec, QC, Canada, 50 p.
- Ministère de l'Environnement du Québec, Digestion Métaux, MENVIQ.89.12/213 – MET 1.3.
- Moretto L.M., Silvestri S., Ugo P., Zorzi G., Abbondanzi F., Baiocchi C. et Iacondini A., 2005. Polycyclic aromatic hydrocarbons degradation by composting in a soot-contaminated alkaline soil. *J Hazard Mater*, **B126**: 141-148.
- Namkoong W., Hwang E-Y., Park J-S. et Choi J-Y., 2001. Bioremediation of diesel-contaminated soil with composting. *Environ Poll*, **119**: 23-31.
- Pandolfi D., 2006. *Caractérisation morphologique et physiologique de la biomasse des boues activées par analyse d'images*, Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine, Laboratoire des Sciences du Génie Chimique - CNRS - UPR 6811, Nancy, France, 142 p.
- Rhykerd R.L., Crews B., McInnes K.J. et Weaver R.W., 1999. Impact of bulking agents, forced aeration, and tillage on remediation of oil-contaminated soil. *Bioresource Technol*, **67 (3)**: 279-285.
- Rutherford P.M., Banerjee D.K., Luther S.M., Gray M.R., Dudas M.J., McGill W.B., Pickard M.S. et Salloum, 1998. Slurry-phase bioremediation of creosote and petroleum-contaminated soils. *Environ Technol*, **19**: 683-696.
- Sabatini D.A., Knox R.C., Harwell J.H., 1996. Surfactant-Enhanced DNAPL Remediation : Surfactant Selection, Hydraulic Efficiency, and Economic Factors, U.S. EPA Environmental Research Brief number EPA/600/S-96/002.
- Santé Canada, 2005a. Disponible sur le site :
http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/contaminants/psl1-lsp1/index_f.html [consulté en avril 2007].
- Santé Canada, 2005b. Disponible sur le site :
http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/eval/handbook-guide/vol_4/sludge-boues_f.html [consulté en mai 2007].

- Shuttleworth K.L. et Cerniglia C.E., (1995). Environmental aspects of PAH biodegradation. *Appl Biochem Biotech*, **54**: 291-302.
- Stegmann R., Lotter S. et Heerenklage J., 1991. Biological treatment of oil contaminated soils in bioreactors. In: Hincee, R.E., Offenbittel, R.E. (Eds.), *On-Site Bioremediation: Processes for Xenobiotic and Hydrocarbon Treatment*. Butterworth-Heinemann, Oxford, UK, 188–208.
- Stelmachowski M., Jastrzębska M. et Zarzycki R., 2003. In-vessel composting of municipal sewage-sludge. *Appl Energ*, **75**: 249-256.
- Tiehm A., Stieber M., Werner M., Frimmel F.H., 1997. Surfactant-enhanced mobilisation and biodegradation of PAHs in manufactured gas plant soil, *Environ Sci Technol*, **31**: 2570-2576.
- USEPA, 1999. Disponible sur le site : <http://www.epa.gov/OGWDW/uic/classv/pdfs/appd.pdf>, [consulté en avril 2007].
- USEPA, 1996. Method 3540C: Soxhlet Extraction. Dans: *Test Methods for Evaluating Solid Waste: Physical Methods (SW-846)*. 3rd Edition, Update IV, Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, D.C., USA.
- Wagrowski Q.M. et Hites R.A., 1997. Polycyclic aromatic hydrocarbon accumulation in urban, suburban and rural vegetation. *Environ Sci Technol*, **31**: 279-282.
- Wan C.K., Fang M. et Wong J.W.C., 2000. Bioremediation of PAH-contaminated soil using thermophilic composting system. 1st World Congress of the International Water Association, Paris, France, 3-7 July (CDROM).
- Weissenfels W.D., Klewer H.J., Langhoff J., 1992. Adsorption of PAHs by soil particles – influence on biodegradability and biotoxicity. *Appl Microbiol Biot*, **36**: 689-696.
- Widada J., Nojiri H., Kasuga K., Yoshida T., Habe H. et Omori T., 2002. Molecular detection and diversity of polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacteria isolated from geographically diverse sites. *Appl Microbiol Biot*, **58**: 202-209.
- Wild S.R., Obbard J.P., Munn C.I., Berrow M.L. et Jones K.C., (1991). The long-term persistence of polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs) in an agricultural soil amended with metal-contaminated sewage sludges. *Sci Total Environ*, **101**: 235-253.

- Williams C.M., Grimes J.L. et Mikkelsen R.L., 1999. The use of poultry litter as co-substrate and source of inorganic nutrients and microorganisms for the *Ex situ* biodegradation of petroleum compounds. *Poultry Sci*, **78**: 956-964.
- Wilson S.C. et Jones K.C., 1993. Bioremediation of soil contaminated with polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs): a review. *Environ Poll*, **81**: 229-249.
- Wilson M.S., Madsen E.L., 1996. Field extraction of a transient intermediary metabolite indicative of real time in situ naphthalene biodegradation. *Environ Sci Technol*, **30**: 2099-2103.
- Wong J.W.C., Wan C.K. et Fang M., 2001. Pig-manure as a co-composting material for biodegradation of PAH-contaminated soil, *Environ Technol*, **23**: 15-26.

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1	Synthèse des principaux traitements de dépollution (Colin 2000).....	107
Annexe 2	Caractéristiques des intrants du compostage	108
Annexe 3	Méthodes d'analyses utilisées et références	109
Annexe 4	Méthode HPLC avec gradient de solvants	110
Annexe 5	Chromatogrammes de référence pour les analyses HPLC à210nm	111
Annexe 6	Chromatogrammes de référence pour les analyses HPLC à239nm	112
Annexe 7	Conditions d'analyses de biologie moléculaire	113
Annexe 8	Suivi hebdomadaire du mélange de compost A	118
Annexe 9	Suivi hebdomadaire du mélange de compost B.....	119
Annexe 10	Suivi hebdomadaire du mélange de compost C.....	120
Annexe 11	Suivi hebdomadaire du mélange de compost D	121
Annexe 12	Suivi hebdomadaire du mélange de compost E.....	122
Annexe 13	Suivi hebdomadaire du mélange de compost F	123
Annexe 14	Suivi hebdomadaire du mélange de compost G	124
Annexe 15	Suivi hebdomadaire du mélange de compost H	125
Annexe 16	Suivi hebdomadaire du mélange de compost I.....	126
Annexe 17	Suivi hebdomadaire du mélange de compost J.....	127
Annexe 18	Suivi hebdomadaire du mélange de compost K	128
Annexe 19	Suivi hebdomadaire du mélange de compost L.....	129
Annexe 20	Suivi hebdomadaire du mélange de compost M.....	130
Annexe 21	Suivi hebdomadaire du mélange de compost N	131

Annexe 1 Synthèse des principaux traitements de dépollution (Colin 2000)

Technique	Principe du traitement	Estimation du coût (€.t ⁻¹)	Avantages et Inconvénients	Durée du traitement	Rendements
Pompage-écrémage	Pompage des produits flottants sur la nappe	20 à 80	Élimination rapide de la pollution	Durée brève	50%
Pompage et traitement	Entraînement des polluants avec l'eau	20 à 160	Risque de dissémination	3 à 18 mois	Varie avec la solution lavante
Confinement	Excavation et mise en décharge	600 à 1 000	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 1 100	Technique efficace mais coûteuse et toxicité des fumées émises		Jusqu'à 99%
Vitrification	Fusion du sol	180 à 240	Pas de réapparition de tapis végétal	Rapide : 3 à 5 t.h ⁻¹	
Traitement chimique	Ajout d'oxydants pour les transformer en espèces moins nocives	10 à 100	Procédé non spécifique		50 à 95% suivant le HAP
Biopulpe	Biodégradation	85 à 230	Facile à mettre en œuvre et à contrôler	2 à 3 semaines	Jusqu'à 95% suivant le HAP
Bioterre et landfarming		45 à 80	Facile à mettre en œuvre et à contrôler mais peu rapide	12 à 24 mois	Jusqu'à 80% suivant le HAP

Annexe 2 Caractéristiques des intrants du compostage

Composition	Unités Code	Sol Noir SNO	Sol Nancy SNA	Inoculum INO	Lisier LIP	Boues BOM	Pailles PAI	Compost COM	Surfactant CAS
Solides totaux (ST)	% (p p ⁻¹)	88,30	89,02	34,22	2,63	3,00	99,73	82,75	0,10
Humidité	% (p p ⁻¹)	11,70	10,98	65,78	97,37	97,00	0,27	17,25	99,90
Porosité totale (IRDA)	%	85,82	90,55	0,00	0,00	0,00	0,00	44,32	
Densité	g cm ⁻³	1,14	1,18	1,00	1,00	0,99	0,07	0,42	
pH	-	7,25	6,50	7,23	6,94	7,95	7,35	6,58	
Carbone total (C) (NCS)	g kg ⁻¹	65,00	92,00	82,10	380,00	277,00	442,00	303,50	
Carbone organique total (C.O.)	g kg ⁻¹	98,10	116,70	371,17	494,40	492,80	526,80	519,30	
Matière organique totale (M.O.)	g kg ⁻¹	169,12	201,21	742,30	988,89	985,52	908,17	895,32	
Éléments nutritifs									
Azote total (N) (NCS)	g kg ⁻¹	2,35	4,90	4,80	38,80	40,30	7,50	16,55	
Azote total Kjeldahl (NTK)	g kg ⁻¹	1,18	1,88	1,08	111,07	61,50	4,71	8,13	
Rapport C/N	-	27,66	18,78	17,10	9,79	6,87	58,93	18,34	
Soufre (S) (NCS)	g kg ⁻¹	1,95	57,55	2,33	8,60	6,95	1,30	6,10	
Phosphore (P) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	0,64	2,48	0,48	0,58	0,54	0,68	3,89	
Calcium (Ca) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	8,15	104,62	2,56	0,95	0,27	1,60	25,40	
Magnésium (Mg) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	2,97	7,73	1,94	0,27	0,59	0,81	4,58	
Sodium (Na) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	0,71	2,08	0,19	0,25	0,07	0,13	1,67	
Potassium (K) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	1,66	4,21	1,29	0,69	0,11	2,81	7,62	
Métaux (ICP-AES)									
Aluminium (Al)	mg kg ⁻¹	11975,8	26228,7	2633,0	19,0	247,7	126,6	3172,8	
Arsenic (As)	mg kg ⁻¹	23,7	57,0	3,8	0,0	0,4	0,0	4,5	
Cadmium (Cd)	mg kg ⁻¹	4,0	4,6	0,9	0,0	0,1	0,0	0,2	
Chrome (Cr)	mg kg ⁻¹	31,4	409,2	11,6	0,2	2,7	3,3	13,0	
Cobalt (Co)	mg kg ⁻¹	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	
Cuivre (Cu)	mg kg ⁻¹	119,2	92,1	32,0	8,1	40,6	3,42	61,8	
Fer (Fe)	mg kg ⁻¹	16562,3	143266,3	5701,0	62,6	1163,0	223,6	6384,8	
Manganèse (Mn)	mg kg ⁻¹	384,1	3598,5	79,7	16,2	10,0	12,3	197,6	
Molybdène (Mo)	mg kg ⁻¹	2,5	10,0	0,2	0,2	0,2	0,9	1,5	
Nickel (Ni)	mg kg ⁻¹	28,8	89,7	23,3	0,2	5,4	0,0	17,1	
Plomb (Pb)	mg kg ⁻¹	339,6	520,8	130,3	0,0	1,7	0,0	8,0	
Zinc (Zn)	mg kg ⁻¹	270,5	2183,5	76,7	85,5	10,7	25,2	107,8	
HAP (GC-MS)									
acénaphène	mg kg ⁻¹	11,46	55,00	17,70	0,00	0,04	0,00	0,00	
acénaphylène	mg kg ⁻¹	0,97	6,71	0,82	0,00	0,00	0,00	0,00	
anthracène	mg kg ⁻¹	32,95	37,99	52,10	0,00	0,30	0,00	0,00	
benzo(a)anthracène	mg kg ⁻¹	108,40	78,77	106,11	0,00	2,53	0,00	0,00	
benzo(a)pyrène	mg kg ⁻¹	97,38	72,61	57,36	2,22	0,59	0,00	0,00	
benzo(b,j,k)fluoranthène	mg kg ⁻¹	152,63	142,78	108,00	0,88	8,91	0,00	0,00	
benzo(c)phénanthrène	mg kg ⁻¹	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
benzo(ghi)pérylène	mg kg ⁻¹	62,94	63,92	33,43	0,00	0,45	0,00	0,00	
chrysène	mg kg ⁻¹	98,80	82,31	104,34	1,77	9,51	0,00	0,00	
dibenzo(a,h)anthracène	mg kg ⁻¹	19,52	48,98	8,01	0,00	0,00	0,00	0,00	
dibenzo(al)pyrène	mg kg ⁻¹	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
fluoranthène	mg kg ⁻¹	189,98	135,33	248,03	2,44	6,24	0,00	0,00	
fluorène	mg kg ⁻¹	14,79	54,85	20,38	0,00	0,04	0,00	0,00	
indéno(1,2,3-cd)pyrène	mg kg ⁻¹	87,47	70,09	41,01	0,00	0,53	0,00	0,00	
naphtalène	mg kg ⁻¹	6,84	29,01	9,08	0,00	0,00	0,00	0,00	
phénanthrène	mg kg ⁻¹	119,21	149,22	195,42	0,00	1,19	0,00	0,00	
pyrène	mg kg ⁻¹	156,26	99,29	198,48	3,77	9,06	0,00	0,00	

Annexe 3 Méthodes d'analyses utilisées et références

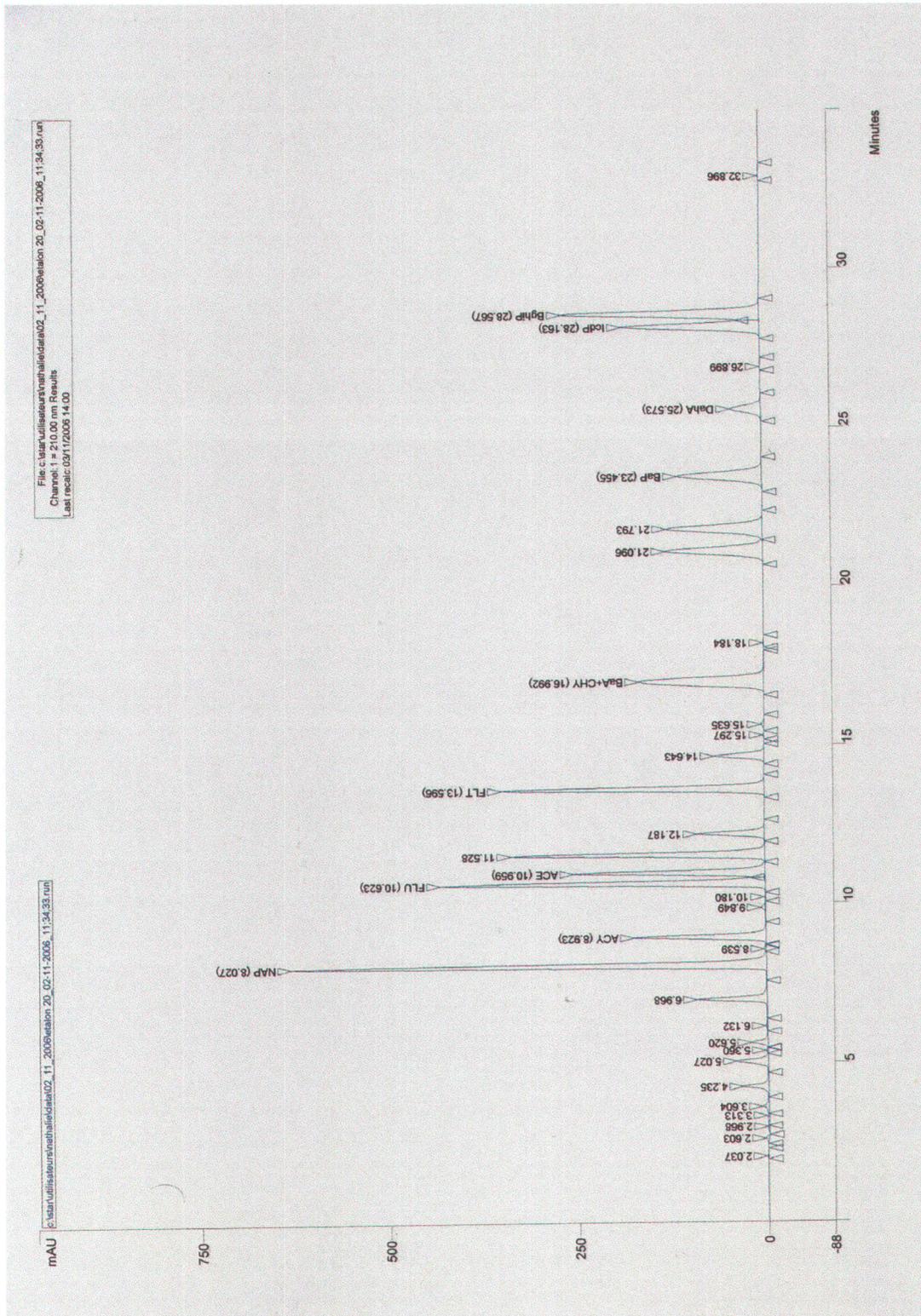
Paramètres	Titre	Méthode	Remarques
pH	Détermination du pH à l'eau dans les sols agricoles	MA 1010-pH 1.0 Edition 2003-03-27 CEAE ¹ du Québec	Analyses faites dans de l'eau distillée
Solides totaux		No. 2540 B (APHA)	
Densité et porosité apparente	Détermination des porosités et densité apparente	IRDA-AS-257-R1	-
Capacité de rétention en eau	Mesure de l'humidité des sols à différents pF	Norme NF ISO 11464, X31-412, décembre 1994	Utilisation de la méthode propre au LES : MO-LES-004
CEC ^a	-	-	Analyses faites par un laboratoire indépendant
Carbone total (C) Azote total (N) Soufre total (S)	-	LECO CHNS 932 Méthode 412.1	Analyses faites par un technicien de l'INRS ETE
Carbone org. (CO) Matière org. (MO)	Dosage de la matière volatile du sol par perte au feu	IRDA-AS-203-RO	Facteur de 1.85 pour les sols et les composts Facteur de 2 pour les boues et lisier
NTK digestion	Determination of total Kjeldahl nitrogen in soils and plants by flow injection analysis	QuikChem® Method 13-107-06-2-D	-
NTK analyse	Ammonia in surface water, wastewater	QuikChem® Method 10-107-06-2-B	-
Digestion partielle métaux	-	MENVIQ.89.12/213 – MET 1.3	-
HAP	Détermination des HAP : dosage par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse	MA. 400-HAP 1.1 Edition : 2001-12-05 CEAE ¹ du Québec	-

¹ Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec.

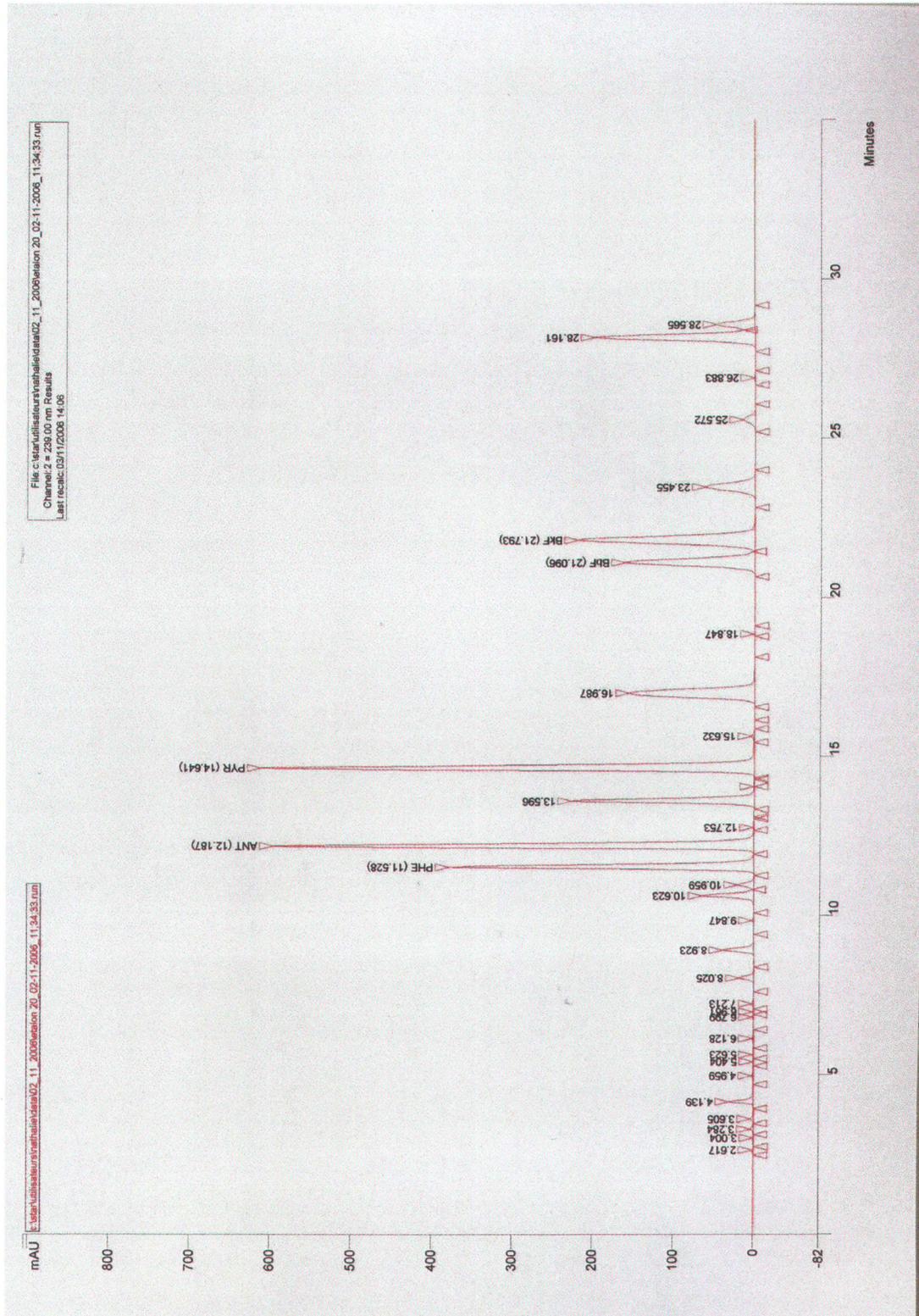
Annexe 4 Méthode HPLC avec gradient de solvants

Solvent A : no use
Solvent B : ACN
Solvent C : EAU
Maximum Pressure : 250 atm
Minimum Pressure : 6 atm
0.00 Relays : -----
0.00 Flow Rate : 0.80 ml/min
0.00 Composition : 0% A, 60% B, 40% C
0.00 Equilibration Time: 10.00 min
8.00 Relays : -----
8.00 Flow Rate : 0.80 ml/min
8.00 Composition : 0% A, 75% B, 25% C
18.00 Relays : -----
18.00 Flow Rate : 0.80 ml/min
18.00 Composition : 0% A, 75% B, 25% C
24.00 Relays : -----
24.00 Flow Rate : 0.80 ml/min
24.00 Composition : 0% A, 90% B, 10% C
35.00 Relays : -----
35.00 Flow Rate : 0.80 ml/min
35.00 Composition : 0% A, 95% B, 5% C
35.00 Method End Action : Equilibrate at End

Annexe 5 Chromatogrammes de référence pour les analyses HPLC à 210nm



Annexe 6 Chromatogrammes de référence pour les analyses HPLC à 239nm





PCR Quantification Report

PCR Base Line Subtracted Curve Fit Data

Current Date: **12-Jan-07 02:14 PM**
Data generated on: **12-Jan-07 at 09:56 AM.**

Optical data file name: **Data 12-Jan-07 16S.odm**
Plate Setup file used: **16S-120107.psm**
Protocol file used: **16S.tmo**

Sample volume: **25.00 ul**
Hot Start? **No**
Well factor collection: **Experimental Plate**

Protocol

Cycle 1: (1X)

Step 1: 95.0°C for 05:00

Cycle 2: (50X)

Step 1: 95.0°C for 00:30

Step 2: 56.0°C for 00:30

Step 3: 72.0°C for 00:30

Step 4: 82.0°C for 00:10

Data collection and real-time analysis enabled.

Cycle 3: (1X)

Step 1: 72.0°C for 07:00

Cycle 4: (1X)

Step 1: 95.0°C for 00:30

Cycle 5: (88X)

Step 1: 51.0°C for 00:10

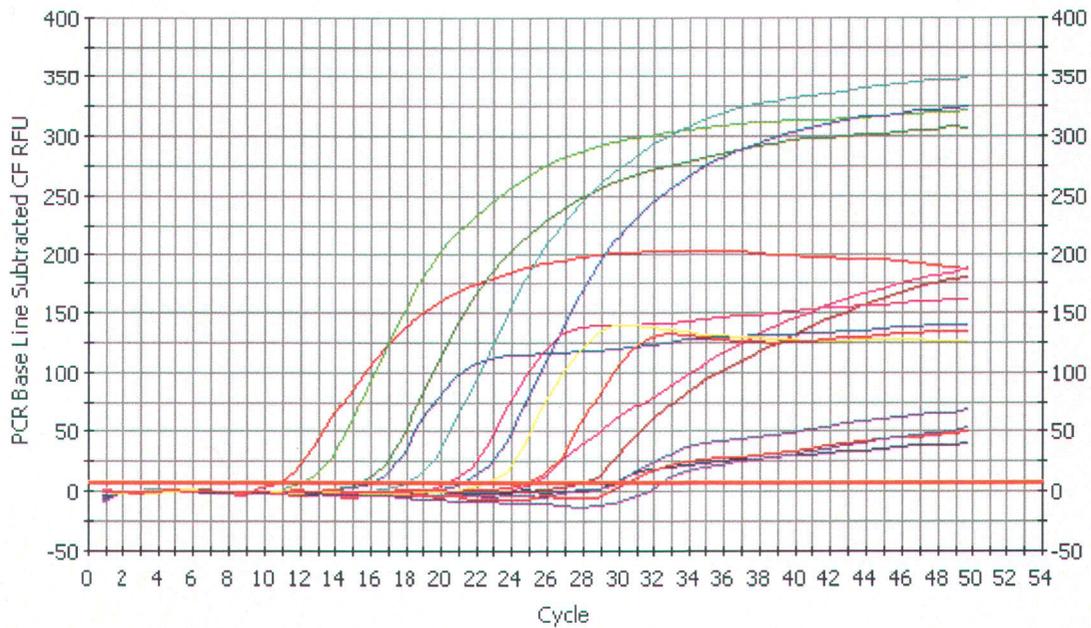
Increase setpoint temperature after cycle 2 by 0.5°C

Melt curve data collection and analysis enabled.

Cycle 6: (1X)

Step 1: 4.0°C HOLD

PCR Amp/Cycle Graph for SYBR-490



Data Analysis Parameters

Calculated threshold has been replaced by the user selected threshold **7.6**.

Per-well baseline cycles have been determined automatically.

Data analysis window is set at **95.00%** of a cycle, centered at **end** of the cycle.

Weighted Mean digital filtering has been applied. Global filtering is **off**.

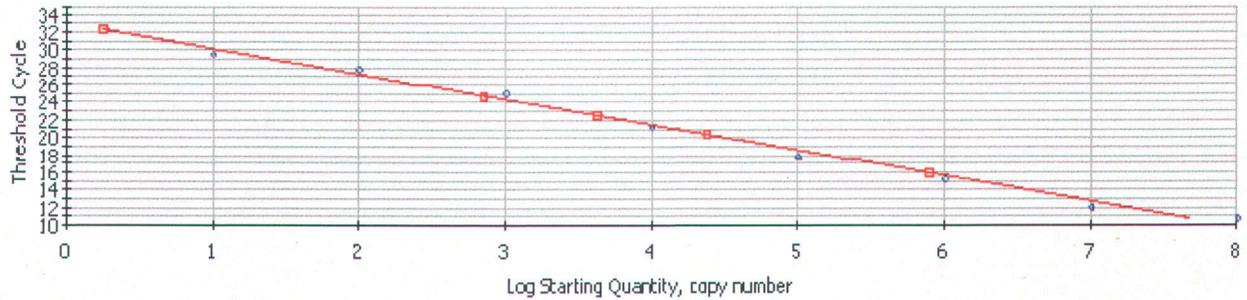
PCR Quantification Spreadsheet Data for SYBR-490

Well	Identifier	Ct	Setpoint
A01	NCIB9816-16S	10.81	
A02	NCIB9816-16S	12.18	
A03	NCIB9816-16S	15.32	
A04	NCIB9816-16S	17.99	
A05	NCIB9816-16S	21.22	
A06	NCIB9816-16S	25.20	
A07	NCIB9816-16S	27.94	
A08	NCIB9816-16S	29.76	
A09		30.00	
A11		30.52	
C01	I 10-1	16.00	
C02	I 10-2	20.42	
E01	Boue 10-3	32.43	
E02	Boue 10-4	22.61	
E03	Boue 10-5	24.84	

Standard Curve Graph for SYBR-490

Correlation Coefficient: 0.996 Slope: -2.909 Intercept: 33.143 $Y = -2.909 X + 33.143$
 PCR Efficiency: 120.7 %

□ Unknowns
 ● Standards



Data Analysis Parameters

Calculated threshold has been replaced by the user selected threshold **7.6**.

Per-well baseline cycles have been determined automatically.

Data analysis window is set at **95.00%** of a cycle, centered at **end** of the cycle.

Weighted Mean digital filtering has been applied. Global filtering is **off**.

Standard Curve Spreadsheet Data for SYBR-490 Units: copy number

Type	Identifier	Rep	Ct	Log SQ	SQ	SQ Mean	SQ SD	Ct Mean	Ct SD	Set Poir
A01	Standard NCIB9816-16S	1	10.81	8.000	1.00E+08	1.00E+08	N/A	10.81	N/A	
A02	Standard NCIB9816-16S	2	12.18	7.000	1.00E+07	1.00E+07	N/A	12.18	N/A	
A03	Standard NCIB9816-16S	3	15.32	6.000	1.00E+06	1.00E+06	N/A	15.32	N/A	
A04	Standard NCIB9816-16S	4	17.99	5.000	1.00E+05	1.00E+05	N/A	17.99	N/A	
A05	Standard NCIB9816-16S	5	21.22	4.000	1.00E+04	1.00E+04	N/A	21.22	N/A	
A06	Standard NCIB9816-16S	6	25.20	3.000	1.00E+03	1.00E+03	N/A	25.20	N/A	

A07 Standard NCIB9816-16S	7	27.94	2.000	1.00E+02	1.00E+02	N/A	27.94	N/A
A08 Standard NCIB9816-16S	8	29.76	1.000	1.00E+01	1.00E+01	N/A	29.76	N/A
C01 Unknown I 10-1	1	16.00	5.893	7.81E+05	7.81E+05	N/A	16.00	N/A
C02 Unknown I 10-2	2	20.42	4.374	2.37E+04	2.37E+04	N/A	20.42	N/A
E01 Unknown Boue 10-3	3	32.43	0.245	1.76E+00	1.76E+00	N/A	32.43	N/A
E02 Unknown Boue 10-4	4	22.61	3.621	4.17E+03	4.17E+03	N/A	22.61	N/A
E03 Unknown Boue 10-5	5	24.84	2.853	7.13E+02	7.13E+02	N/A	24.84	N/A

Wells Excluded from Analysis

No wells have been excluded from analysis.

Annexe 8 Suivi hebdomadaire du mélange de compost A

Composition	Unités Code	Temps (sem)																
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Masse humide	g	1080	1043	1039	1032	1020	1014	1009	1005	995	995	995	984	980	976	972	942	
Solides totaux (ST)	% (p p ⁻¹)	75,2	89,7	84,5	84,0	76,8	79,1	83,9	91,1	74,4	-	-	85,2	88,1	85,1	85,5	79,2	
Humidité	% (p p ⁻¹)	24,8	10,3	15,5	16,0	23,2	20,9	16,2	8,9	25,6	-	-	14,8	11,9	14,9	14,5	20,9	
Eau ajoutée	mL	0	272	565	375	450	255	160	325	275	360	575	300	300	375	450	410	
Porosité	%	80																
Densité	g cm ⁻³	1,15															58,27	
pH	-	7,59		7,34	7,57	7,15	7,13	7,67	7,44	7,51	-	-	6,86	7,70	7,72	7,88	0,97	
Carbone total (C) (NCS)	g kg ⁻¹	104,69				58,00				97,00			60,40				87,90	
Carbone organique total (C.O.)	g kg ⁻¹	169,77				151,65				169,71			116,81				150,49	
Matière organique totale (M.O.)	g kg ⁻¹	297,51				280,60				313,97			216,09				278,41	
Éléments nutritifs																		
Azote total (N) (NCS)	g kg ⁻¹	4,23				2,50				4,00			3,00				4,00	
Azote total Kjeldahl (NTK)	g kg ⁻¹	2,24				2,29				3,06			3,45				2,65	
Rapport C/N	-	24,75				23,20				24,25			20,13				21,98	
Soufre (S) (NCS)	g kg ⁻¹	2,38				1,60				2,00			1,60				2,20	
Phosphore (P) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	0,97				0,88				1,16			1,08				0,99	
Calcium (Ca) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	9,40				6,95				8,12			8,89				7,90	
Magnésium (Mg) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	3,00				2,53				2,63			2,37				2,46	
Sodium (Na) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	0,77				0,42				0,40			0,44				0,40	
Potassium (K) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	2,28				1,52				1,90			1,40				1,22	
Métaux (ICP-AES)																		
Aluminium (Al)	mg kg ⁻¹	10205,30				9536,0				9701,00			9464,00				8980,67	
Arsenic (As)	mg kg ⁻¹	19,93				14,6				8,67			15,01				8,92	
Cadmium (Cd)	mg kg ⁻¹	3,34				3,5				3,57			3,75				5,36	
Chrome (Cr)	mg kg ⁻¹	27,51				23,2				20,91			18,10				16,22	
Cobalt (Co)	mg kg ⁻¹	0,00				0,0				0,00			0,00				0,00	
Cuivre (Cu)	mg kg ⁻¹	105,14				80,3				91,84			82,65				82,38	
Fer (Fe)	mg kg ⁻¹	14408,81				11808,0				14045,00			13179,00				13078,67	
Manganèse (Mn)	mg kg ⁻¹	337,15				225,3				249,50			237,60				245,73	
Molybdène (Mo)	mg kg ⁻¹	2,21				3,9				1,83			2,59				2,25	
Nickel (Ni)	mg kg ⁻¹	26,19				34,8				24,82			18,98				17,30	
Plomb (Pb)	mg kg ⁻¹	283,26				114,4				125,20			253,90				132,87	
Zinc (Zn)	mg kg ⁻¹	235,72				269,8				281,20			221,40				248,57	
HAP (GC-MS)																		
acénaphthène	mg kg ⁻¹	10,09				7,86				13,01			4,87				5,53	
acénaphthylène	mg kg ⁻¹	0,83				2,08				0,64			1,73				0,86	
anthracène	mg kg ⁻¹	29,06				29,92				32,85			28,14				17,65	
benzo(a)anthracène	mg kg ⁻¹	92,87				91,80				60,55			48,90				60,15	
benzo(a)pyrène	mg kg ⁻¹	81,83				80,99				62,10			44,74				55,45	
benzo(b,j,k)fluoranthène	mg kg ⁻¹	129,04				128,19				151,38			67,32				99,07	
benzo(c)phénanthrène	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00			0,00				0,00	
benzo(ghi)pérylène	mg kg ⁻¹	52,73				58,84				36,80			29,78				39,17	
chrysène	mg kg ⁻¹	85,00				95,10				60,97			50,83				60,94	
dibenzo(a,h)anthracène	mg kg ⁻¹	16,26				18,04				9,30			6,44				10,33	
dibenzo(al)pyrène	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00			0,00				0,00	
fluoranthène	mg kg ⁻¹	165,39				179,95				137,14			104,01				131,04	
fluorène	mg kg ⁻¹	12,92				9,14				22,14			5,93				8,09	
indéno(1,2,3-cd)pyrène	mg kg ⁻¹	73,06				70,05				65,50			36,41				55,19	
naphthalène	mg kg ⁻¹	5,96				1,89				7,35			1,81				2,54	
phénanthrène	mg kg ⁻¹	105,45				105,47				80,73			57,85				73,48	
pyrène	mg kg ⁻¹	135,82				157,14				105,89			89,63				100,09	
Total		996,31				1036,47				846,33			578,38				719,59	

Annexe 9 Suivi hebdomadaire du mélange de compost B

Composition	Unités Code	Temps (sem)																
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Masse humide	g	1030	999	994	988	976	970	965	961	950	950	950	950	941	936	932	929	897
Solides totaux (ST)	% (p p ⁻¹)	74,8	89,2	84,8	84,0	79,5	85,5	86,9	92,5	74,7	-	-	-	86,2	84,5	86,9	85,6	81,1
Humidité	% (p p ⁻¹)	25,2	10,8	15,2	16,0	20,5	14,5	13,1	7,5	25,3	-	-	-	13,8	15,5	13,1	14,4	18,9
Eau ajoutée	mL	0	282	605	405	390	320	200	310	250	300	535	300	300	350	450	390	190
Porosité	%	80																59,71
Densité	g cm ⁻³	1,15																1,01
pH	-	7,54		7,42	7,53	7,28	7,28	7,37	7,22	7,53	-	-	-	6,49	7,68	7,81	7,99	7,10
Carbone total (C) (NCS)	g kg ⁻¹	94,02				57,00				78,00				44,90				70,70
Carbone organique total (C.O.) (NCS)	g kg ⁻¹	151,01				120,88				185,32				116,14				125,57
Matière organique totale (M.O.)	g kg ⁻¹	265,42				223,60				342,84				214,86				232,32
Éléments nutritifs																		
Azote total (N) (NCS)	g kg ⁻¹	3,57				2,30				3,40				2,30				2,80
Azote total Kjeldahl (NTK)	g kg ⁻¹	1,92				1,98				2,30				2,48				1,86
Rapport C/N	-	26,35				24,78				22,94				19,52				25,25
Soufre (S) (NCS)	g kg ⁻¹	2,18				2,00				2,10				1,30				1,80
Phosphore (P) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	0,81				0,81				0,86				0,81				0,77
Calcium (Ca) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	8,54				6,40				7,49				7,04				5,81
Magnésium (Mg) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	2,92				2,23				2,16				2,16				2,14
Sodium (Na) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	0,72				0,33				0,41				0,34				0,29
Potassium (K) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	2,00				1,39				1,25				0,99				0,87
Métaux (ICP-AES)																		
Aluminium (Al)	mg kg ⁻¹	10582,81				9323,50				10105,00				9031,00				8255,33
Arsenic (As)	mg kg ⁻¹	20,75				13,76				9,93				10,45				10,19
Cadmium (Cd)	mg kg ⁻¹	3,51				3,34				4,19				3,32				3,62
Chrome (Cr)	mg kg ⁻¹	28,29				21,00				18,05				17,69				35,51
Cobalt (Co)	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
Cuivre (Cu)	mg kg ⁻¹	107,47				91,32				93,12				78,29				80,24
Fer (Fe)	mg kg ⁻¹	14899,54				12477,00				13499,00				12429,00				11727,33
Manganèse (Mn)	mg kg ⁻¹	344,64				205,65				261,20				226,50				257,37
Molybdène (Mo)	mg kg ⁻¹	2,25				1,71				1,59				2,25				1,74
Nickel (Ni)	mg kg ⁻¹	26,68				30,16				24,33				22,19				116,63
Plomb (Pb)	mg kg ⁻¹	298,03				114,30				124,90				116,70				141,41
Zinc (Zn)	mg kg ⁻¹	242,59				258,60				270,30				326,60				276,37
HAP (GC-MS)																		
acénaphthène	mg kg ⁻¹	10,63				5,21				2,89				6,90				9,01
acénaphthylène	mg kg ⁻¹	0,87				1,49				4,02				0,45				0,16
anthracène	mg kg ⁻¹	30,62				22,16				15,21				21,09				25,88
benzo(a)anthracène	mg kg ⁻¹	97,86				54,84				79,39				55,56				69,88
benzo(a)pyrène	mg kg ⁻¹	86,22				45,30				63,54				66,42				67,14
benzo(b,j,k)fluoranthène	mg kg ⁻¹	135,97				70,19				99,28				122,12				114,01
benzo(c)phénanthrène	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
benzo(ghi)peryène	mg kg ⁻¹	55,57				29,46				39,60				29,73				45,52
chrysène	mg kg ⁻¹	89,56				55,55				81,30				56,15				72,06
dibenzo(a,h)anthracène	mg kg ⁻¹	17,13				6,94				8,95				6,92				12,29
dibenzo(al)pyrène	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
fluoranthène	mg kg ⁻¹	174,27				117,03				126,85				130,91				151,66
fluorène	mg kg ⁻¹	13,61				6,81				3,54				11,37				11,61
indéno(1,2,3-cd)pyrène	mg kg ⁻¹	76,98				35,90				47,44				50,98				64,61
naphthalène	mg kg ⁻¹	6,28				0,76				0,62				3,08				6,40
phénanthrène	mg kg ⁻¹	111,11				73,62				43,80				65,45				103,37
pyrène	mg kg ⁻¹	143,11				101,45				112,10				102,11				119,06
Total		1049,79				626,72				728,54				729,25				872,66

Annexe 10 Suivi hebdomadaire du mélange de compost C

Composition	Unités Code	Temps (sem)																
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Masse humide	g	980	938	935	930	918	913	908	904	894	894	894	894	884	879	876	872	842
Solides totaux (ST)	% (p p ⁻¹)	74,4	97,7	86,3	81,3	81,1	94,1	88,0	95,4	80,9	-	-	-	86,4	89,1	87,2	86,6	81,6
Humidité	% (p p ⁻¹)	25,6	2,3	13,7	18,7	18,9	6,0	12,0	4,6	19,1	-	-	-	13,6	10,9	12,8	13,4	18,4
Eau ajoutée	mL	0	270	545	360	350	395	250	300	225	290	505	300	250	325	390	370	185
Porosité	%	80																56,88
Densité	g cm ⁻³	1,15																0,97
pH	-	7,56	-	6,88	7,42	7,32	7,21	7,28	7,15	7,55	-	-	-	6,32	7,56	7,80	7,94	7,25
Carbone total (C) (NCS)	g kg ⁻¹	82,14				36,00				54,50				41,50				51,70
Carbone organique total (C.O.) (NCS)	g kg ⁻¹	130,12				123,96				128,42				101,81				117,62
Matière organique totale (M.O.)	g kg ⁻¹	229,68				229,30				237,57				188,34				217,60
Éléments nutritifs																		
Azote total (N) (NCS)	g kg ⁻¹	2,83				1,40				2,30				1,80				1,70
Azote total Kjeldahl (NTK)	g kg ⁻¹	1,57				1,34				1,70				1,74				1,17
Rapport C/N	-	29,00				25,71				23,70				23,06				30,41
Soufre (S) (NCS)	g kg ⁻¹	1,96				1,10				1,50				1,10				1,10
Phosphore (P) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	0,64				0,67				0,63				0,55				0,60
Calcium (Ca) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	7,59				5,11				6,42				4,86				5,89
Magnésium (Mg) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	2,82				2,26				2,12				3,08				2,03
Sodium (Na) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	0,66				0,32				0,29				0,24				0,23
Potassium (K) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	1,68				1,10				0,92				0,59				0,62
Métaux (ICP-AES)																		
Aluminium (Al)	mg kg ⁻¹	11003,15				9826,50				9923,00				7671,00				8680,33
Arsenic (As)	mg kg ⁻¹	21,67				13,81				10,82				13,26				9,26
Cadmium (Cd)	mg kg ⁻¹	3,70				3,85				3,50				5,37				3,59
Chrome (Cr)	mg kg ⁻¹	29,16				24,64				19,16				209,20				14,75
Cobalt (Co)	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
Cuivre (Cu)	mg kg ⁻¹	110,06				87,84				87,54				73,16				85,38
Fer (Fe)	mg kg ⁻¹	15319,15				18060,00				12598,00				11651,00				12953,67
Manganèse (Mn)	mg kg ⁻¹	352,98				229,40				233,40				222,70				218,57
Molybdène (Mo)	mg kg ⁻¹	2,30				1,38				1,05				1,45				2,14
Nickel (Ni)	mg kg ⁻¹	27,23				32,84				24,81				28,15				20,43
Plomb (Pb)	mg kg ⁻¹	314,48				110,00				118,60				870,00				113,20
Zinc (Zn)	mg kg ⁻¹	250,23				333,30				245,00				414,40				230,87
HAP (GC-MS)																		
acénaphthène	mg kg ⁻¹	11,24				20,88				7,07				5,83				3,56
acénaphthylène	mg kg ⁻¹	0,92				0,50				0,35				2,02				0,20
anthracène	mg kg ⁻¹	32,36				42,13				20,38				44,15				11,68
benzo(a)anthracène	mg kg ⁻¹	103,41				66,30				39,03				126,76				41,44
benzo(a)pyrène	mg kg ⁻¹	91,11				41,88				41,36				106,97				39,29
benzo(b,j,k)fluoranthène	mg kg ⁻¹	143,68				74,64				99,67				158,80				47,15
benzo(c)phénanthrène	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
benzo(ghi)peryène	mg kg ⁻¹	58,72				16,85				24,11				65,66				16,46
chrysène	mg kg ⁻¹	94,64				67,54				39,90				124,91				41,02
dibenzo(a,h)anthracène	mg kg ⁻¹	18,10				0,57				4,82				15,53				4,67
dibenzo(al)pyrène	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
fluoranthène	mg kg ⁻¹	184,15				141,20				100,57				265,30				89,48
fluorène	mg kg ⁻¹	14,39				28,81				11,81				10,01				4,71
indéno(1,2,3-cd)pyrène	mg kg ⁻¹	81,35				23,67				43,04				80,61				24,74
naphthalène	mg kg ⁻¹	6,64				4,78				2,19				2,13				2,40
phénanthrène	mg kg ⁻¹	117,41				160,62				53,89				132,26				50,78
pyrène	mg kg ⁻¹	151,23				114,73				75,60				223,36				68,47
Total		1109,34				805,09				563,80				1364,30				446,06

Annexe 11 Suivi hebdomadaire du mélange de compost D

Composition	Unités Code	Temps (sem)																
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Masse humide	g	980	937	931	926	913	908	903	899	888	888	888	888	878	873	870	867	837
Solides totaux (ST)	% (p p ⁻¹)	70,9	97,1	83,8	81,7	78,1	87,7	84,9	92,8	79,6	-	-	-	85,4	86,8	88,9	83,9	81,3
Humidité	% (p p ⁻¹)	29,1	2,9	16,2	18,3	21,9	12,3	15,1	7,2	20,4	-	-	-	14,6	13,2	11,1	16,1	18,7
Eau ajoutée	mL	0	290	550	310	340	315	200	300	230	900	500	300	250	325	375	370	180
Porosité	%	80																60,10
Densité	g cm ⁻³	1,15																1,04
pH	-	7,43		7,40	7,38	7,35	7,55	7,50	7,33	7,60	-	-	-	6,53	7,71	7,68	7,90	7,28
Carbone total (C) (NCS)	g kg ⁻¹	82,14				66,00				77,50				76,10				54,50
Carbone organique total (C.O.) (NCS)	g kg ⁻¹	118,25				138,27				200,35				99,69				117,44
Matière organique totale (M.O.)	g kg ⁻¹	204,45				255,80				370,64				184,42				217,27
Éléments nutritifs																		
Azote total (N) (NCS)	g kg ⁻¹	2,74				2,20				3,00				2,90				2,00
Azote total Kjeldahl (NTK)	g kg ⁻¹	1,59				1,77				1,66				1,92				1,13
Rapport C/N	-	30,03				30,00				25,83				26,24				27,25
Soufre (S) (NCS)	g kg ⁻¹	1,94				6,70				1,90				5,40				1,80
Phosphore (P) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	0,64				0,83				0,62				0,58				0,63
Calcium (Ca) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	7,84				14,91				5,13				5,80				7,03
Magnésium (Mg) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	2,87				3,55				2,07				1,94				2,48
Sodium (Na) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	0,69				0,31				0,25				0,32				0,31
Potassium (K) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	1,70				1,16				0,86				0,65				0,58
Métaux (ICP-AES)																		
Aluminium (Al)	mg kg ⁻¹	11415,17				11465,00				8645,00				9050,00				8900,33
Arsenic (As)	mg kg ⁻¹	22,55				12,50				10,75				10,76				12,38
Cadmium (Cd)	mg kg ⁻¹	3,83				3,74				3,40				3,25				3,65
Chrome (Cr)	mg kg ⁻¹	30,02				23,04				18,23				16,07				18,75
Cobalt (Co)	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
Cuivre (Cu)	mg kg ⁻¹	113,90				81,28				88,00				70,99				83,71
Fer (Fe)	mg kg ⁻¹	15792,60				15562,50				13345,00				12483,00				12710,67
Manganèse (Mn)	mg kg ⁻¹	366,44				274,35				280,80				210,80				225,33
Molybdène (Mo)	mg kg ⁻¹	2,40				1,70				1,77				2,00				3,89
Nickel (Ni)	mg kg ⁻¹	27,42				33,25				25,86				19,18				21,54
Plomb (Pb)	mg kg ⁻¹	323,55				105,80				111,20				1730,00				116,20
Zinc (Zn)	mg kg ⁻¹	258,78				252,90				237,10				272,60				472,13
HAP (GC-MS)																		
acénaphthène	mg kg ⁻¹	10,92				0,46				13,10				4,30				9,11
acénaphthylène	mg kg ⁻¹	0,93				0,43				0,47				0,33				0,27
anthracène	mg kg ⁻¹	31,39				13,72				24,86				16,29				27,35
benzo(a)anthracène	mg kg ⁻¹	103,28				42,43				46,11				57,33				83,26
benzo(a)pyrène	mg kg ⁻¹	92,77				61,06				49,18				68,07				77,03
benzo(b,j,k)fluoranthène	mg kg ⁻¹	145,44				56,60				107,41				118,48				122,68
benzo(c)phénanthrène	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
benzo(ghi)pérylène	mg kg ⁻¹	59,96				28,29				24,11				26,39				32,56
chrysène	mg kg ⁻¹	94,16				38,65				46,38				57,37				83,24
dibenzo(a,h)anthracène	mg kg ⁻¹	18,60				11,40				0,88				7,52				10,24
dibenzo(al)pyrène	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
fluoranthène	mg kg ⁻¹	181,01				78,42				100,15				119,55				175,02
fluorène	mg kg ⁻¹	14,09				5,64				21,20				8,11				11,60
indéno(1,2,3-cd)pyrène	mg kg ⁻¹	83,33				39,89				40,48				46,16				52,32
naphtalène	mg kg ⁻¹	6,52				2,19				6,93				2,39				3,93
phénanthrène	mg kg ⁻¹	113,57				53,32				100,50				65,19				116,78
pyrène	mg kg ⁻¹	148,90				73,90				77,68				97,69				138,99
Total		1104,87				506,41				659,42				695,17				944,37

Annexe 12 Suivi hebdomadaire du mélange de compost E

Composition	Unités Code	Temps (sem)															
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Masse humide	g	990	955	950	944	931	926	921	917	907	907	907	896	891	888	865	854
Solides totaux (ST)	% (p p ⁻¹)	73,7	97,5	86,9	78,4	79,5	86,9	83,7	94,5	80,3	-	-	85,6	85,5	86,0	86,6	82,5
Humidité	% (p p ⁻¹)	26,3	2,5	13,1	21,6	20,5	13,1	16,3	5,5	19,7	-	-	14,4	14,5	14,0	13,4	17,5
Eau ajoutée	mL	0	250	550	325	415	260	155	380	250	280	550	300	275	350	425	400
Porosité	%	80															62,52
Densité	g cm ⁻³	1,15															1,17
pH	-	7,51	-	7,41	7,42	7,33	7,23	7,42	7,27	7,59	-	-	6,55	7,55	7,52	7,82	7,29
Carbone total (C) (NCS)	g kg ⁻¹	82,14				52,00				55,40			47,80				56,00
Carbone organique total (C.O.) (NCS)	g kg ⁻¹	130,12				135,01				204,89			106,76				113,36
Matière organique totale (M.O.)	g kg ⁻¹	229,68				249,80				379,05			197,50				209,72
Éléments nutritifs																	
Azote total (N) (NCS)	g kg ⁻¹	2,83				1,80				2,00			2,20				2,20
Azote total Kjeldahl (NTK)	g kg ⁻¹	1,57				1,36				1,86			2,32				1,39
Rapport C/N	-	29,00				28,89				27,70			21,73				25,45
Soufre (S) (NCS)	g kg ⁻¹	1,96				1,40				1,60			1,60				1,80
Phosphore (P) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	0,64				0,74				0,66			0,61				0,63
Calcium (Ca) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	7,59				5,93				6,93			7,12				9,37
Magnésium (Mg) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	2,82				4,16				2,29			2,22				2,41
Sodium (Na) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	0,66				0,35				0,36			0,34				0,39
Potassium (K) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	1,68				1,03				1,00			0,78				0,80
Métaux (ICP-AES)																	
Aluminium (Al)	mg kg ⁻¹	11003,14				10092,00				10373,00			10185,00				9932,67
Arsenic (As)	mg kg ⁻¹	21,67				12,47				10,90			11,43				12,10
Cadmium (Cd)	mg kg ⁻¹	3,70				3,78				7,05			3,49				5,16
Chrome (Cr)	mg kg ⁻¹	29,16				26,15				19,06			18,69				22,18
Cobalt (Co)	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00			0,00				0,00
Cuivre (Cu)	mg kg ⁻¹	110,06				77,56				108,80			78,18				93,54
Fer (Fe)	mg kg ⁻¹	15319,13				14378,50				16703,00			14341,00				14379,00
Manganèse (Mn)	mg kg ⁻¹	352,98				252,15				285,00			250,20				298,60
Molybdène (Mo)	mg kg ⁻¹	2,30				1,35				1.1355 u			1,30				2,82
Nickel (Ni)	mg kg ⁻¹	27,23				54,75				27,80			25,74				21,29
Plomb (Pb)	mg kg ⁻¹	314,48				115,70				317,80			124,50				149,60
Zinc (Zn)	mg kg ⁻¹	250,23				247,65				406,20			301,30				760,43
HAP (GC-MS)																	
acénaphthène	mg kg ⁻¹	11,24				9,50				4,70			12,61				9,36
acénaphthylène	mg kg ⁻¹	0,92				0,00				0,29			0,29				0,24
anthracène	mg kg ⁻¹	32,36				33,66				13,88			29,05				17,12
benzo(a)anthracène	mg kg ⁻¹	103,41				78,17				30,12			69,20				63,34
benzo(a)pyrène	mg kg ⁻¹	91,11				78,87				33,39			75,08				56,45
benzo(b,j,k)fluoranthène	mg kg ⁻¹	143,68				80,77				82,75			137,30				98,57
benzo(c)phénanthrène	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00			0,00				0,00
benzo(ghi)peryène	mg kg ⁻¹	58,72				30,12				19,41			28,09				27,61
chryène	mg kg ⁻¹	94,64				74,01				31,06			69,34				68,43
dibenzo(a,h)anthracène	mg kg ⁻¹	18,10				16,81				4,22			7,90				8,68
dibenzo(al)pyrène	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00			0,00				0,00
fluoranthène	mg kg ⁻¹	184,15				178,96				72,16			149,36				128,21
fluorène	mg kg ⁻¹	14,39				11,23				6,81			19,31				5,94
indéno(1,2,3-cd)pyrène	mg kg ⁻¹	81,35				38,62				35,14			45,35				43,89
naphthalène	mg kg ⁻¹	6,64				4,50				1,66			9,55				1,91
phénanthrène	mg kg ⁻¹	117,41				130,80				36,56			110,76				68,59
pyrène	mg kg ⁻¹	151,23				155,35				54,45			122,32				114,33
Total		1109,34				921,36				426,61			885,53				712,69

Annexe 13 Suivi hebdomadaire du mélange de compost F

Composition	Unités Code	Temps (sem)																
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Masse humide	g	980	935	930	924	911	906	901	896	885	885	885	885	875	870	866	863	832
Solides totaux (ST)	% (p p ⁻¹)	74,4	92,9	87,4	82,6	79,9	91,5	84,8	92,1	80,6	-	-	-	87,2	84,9	87,1	86,8	81,5
Humidité	% (p p ⁻¹)	25,6	7,1	12,6	17,4	20,1	8,5	15,2	7,9	19,4	-	-	-	12,8	15,1	12,9	13,2	18,5
Eau ajoutée	mL	0	245	515	320	325	245	175	250	215	250	445	300	250	300	375	360	175
Porosité	%	80																64,03
Densité	g cm ⁻³	1,15																1,18
pH	-	7,92		7,44	7,44	7,41	7,55	7,51	7,52	7,70	-	-	-	6,60	7,73	7,48	7,91	7,40
Carbone total (C) (NCS)	g kg ⁻¹	82,28				40,00				49,30								48,30
Carbone organique total (C.O.) (NCS)	g kg ⁻¹	130,03				129,38				133,22				86,93				107,65
Matière organique totale (M.O.)	g kg ⁻¹	229,50				239,40				246,46				160,81				199,15
Éléments nutritifs																		
Azote total (N) (NCS)	g kg ⁻¹	2,82				1,60				2,00				1,80				1,80
Azote total Kjeldahl (NTK)	g kg ⁻¹	1,64				1,27				2,18				1,85				1,00
Rapport C/N	-	29,17				25,00				24,65				19,83				26,83
Soufre (S) (NCS)	g kg ⁻¹	1,96				1,10				1,70				1,40				1,40
Phosphore (P) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	0,64				0,63				0,65				0,72				0,64
Calcium (Ca) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	7,59				6,45				13,31				6,54				8,95
Magnésium (Mg) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	2,82				2,67				2,16				2,94				2,59
Sodium (Na) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	0,66				0,39				0,32				0,39				0,39
Potassium (K) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	1,68				1,05				1,10				0,91				1,01
Métaux (ICP-AES)																		
Aluminium (Al)	mg kg ⁻¹	11005,43				10540,50				9448,00				11493,00				10754,00
Arsenic (As)	mg kg ⁻¹	21,68				13,68				11,18				14,25				11,55
Cadmium (Cd)	mg kg ⁻¹	3,70				3,87				3,21				4,01				3,72
Chrome (Cr)	mg kg ⁻¹	29,16				23,76				16,98				26,38				22,45
Cobalt (Co)	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
Cuivre (Cu)	mg kg ⁻¹	110,02				78,99				87,74				102,90				130,51
Fer (Fe)	mg kg ⁻¹	15320,71				13822,00				11919,00				17524,00				15651,67
Manganèse (Mn)	mg kg ⁻¹	353,08				390,30				234,50				307,80				272,00
Molybdène (Mo)	mg kg ⁻¹	2,30				1,34				1,05				2,20				2,51
Nickel (Ni)	mg kg ⁻¹	27,22				30,85				25,23				31,29				22,08
Plomb (Pb)	mg kg ⁻¹	314,56				151,10				198,30				172,00				177,73
Zinc (Zn)	mg kg ⁻¹	250,43				282,75				238,50				265,30				288,13
HAP (GC-MS)																		
acénaphthène	mg kg ⁻¹	11,24				3,23				25,50				3,28				5,61
acénaphthylène	mg kg ⁻¹	0,92				0,70				8,48				0,25				0,19
anthracène	mg kg ⁻¹	32,37				8,55				40,47				11,57				18,65
benzo(a)anthracène	mg kg ⁻¹	103,43				32,79				102,72				31,94				55,13
benzo(a)pyrène	mg kg ⁻¹	91,14				46,75				104,99				37,30				43,89
benzo(b,j,k)fluoranthène	mg kg ⁻¹	143,70				44,54				243,57				73,70				79,40
benzo(c)phénanthrène	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
benzo(ghi)peryène	mg kg ⁻¹	58,73				30,01				56,09				14,77				19,69
chrysène	mg kg ⁻¹	94,65				33,20				107,97				34,41				60,77
dibenzo(a,h)anthracène	mg kg ⁻¹	18,11				18,98				19,89				0,61				5,78
dibenzo(al)pyrène	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
fluoranthène	mg kg ⁻¹	184,19				73,57				201,96				74,86				118,52
fluorène	mg kg ⁻¹	14,39				3,35				37,78				5,60				7,29
indéno(1,2,3-cd)pyrène	mg kg ⁻¹	81,37				35,63				93,27				24,86				30,99
naphthalène	mg kg ⁻¹	6,64				0,83				8,27				1,00				2,92
phénanthrène	mg kg ⁻¹	117,44				34,44				175,36				34,94				81,14
pyrène	mg kg ⁻¹	151,25				63,79				158,98				59,32				104,71
Total		1109,56				430,36				1385,29				408,41				634,67

Annexe 14 Suivi hebdomadaire du mélange de compost G

Composition	Unités Code	Temps (sem)																
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Masse humide	g	980	942	937	932	921	915	910	906	895	895	895	895	885	880	877	873	843
Solides totaux (ST)	% (p p ⁻¹)	74,4	91,2	83,7	84,4	79,4	92,0	88,1	93,0	79,3	-	-	-	85,4	82,9	86,7	87,5	82,4
Humidité	% (p p ⁻¹)	25,6	8,8	16,3	15,6	20,6	8,0	11,9	7,0	20,7	-	-	-	14,6	17,1	13,3	12,5	17,6
Eau ajoutée	mL	0	260	490	330	365	340	225	260	240	300	495	300	250	325	375	340	160
Porosité	%	80																61,06
Densité	g cm ⁻³	1,15																1,08
pH	-	8,21	-	7,57	7,27	7,49	7,34	7,47	7,41	7,82	-	-	-	6,71	7,81	7,61	8,02	7,48
Carbone total (C) (NCS)	g kg ⁻¹	82,41				52,00				42,30				57,20				78,70
Carbone organique total (C.O.) (NCS)	g kg ⁻¹	129,94				127,66				149,89				97,67				119,09
Matière organique totale (M.O.)	g kg ⁻¹	229,32				236,20				277,29				180,69				220,32
Éléments nutritifs																		
Azote total (N) (NCS)	g kg ⁻¹	2,81				2,00				1,90				2,40				2,80
Azote total Kjeldahl (NTK)	g kg ⁻¹	1,72				1,38				1,68				2,86				0,97
Rapport C/N	-	29,35				26,00				22,26				23,83				28,11
Soufre (S) (NCS)	g kg ⁻¹	1,97				1,60				1,40				1,70				1,90
Phosphore (P) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	0,64				0,63				0,68				0,55				0,61
Calcium (Ca) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	7,59				5,56				8,12				5,22				6,84
Magnésium (Mg) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	2,82				2,16				2,80				2,10				2,21
Sodium (Na) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	0,66				0,35				0,43				0,36				0,36
Potassium (K) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	1,68				1,44				1,21				0,88				1,00
Métaux (ICP-AES)																		
Aluminium (Al)	mg kg ⁻¹	11007,72				9871,00				12420,00				9347,00				9759,67
Arsenic (As)	mg kg ⁻¹	21,68				17,16				13,77				10,98				10,97
Cadmium (Cd)	mg kg ⁻¹	3,70				4,63				3,92				2,98				3,43
Chrome (Cr)	mg kg ⁻¹	29,16				33,36				19,71				16,63				17,41
Cobalt (Co)	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
Cuivre (Cu)	mg kg ⁻¹	109,97				113,60				78,07				60,07				87,32
Fer (Fe)	mg kg ⁻¹	15322,28				50518,00				15083,00				13386,00				12707,00
Manganèse (Mn)	mg kg ⁻¹	353,18				498,40				280,20				258,40				220,87
Molybdène (Mo)	mg kg ⁻¹	2,30				3,32				1,57				1,38				2,65
Nickel (Ni)	mg kg ⁻¹	27,22				41,68				24,31				17,63				18,75
Plomb (Pb)	mg kg ⁻¹	314,63				-				154,80				119,70				122,93
Zinc (Zn)	mg kg ⁻¹	250,62				353,35				270,60				202,50				256,93
HAP (GC-MS)																		
acénaphthène	mg kg ⁻¹	11,24				7,12				3,81				27,17				7,32
acénaphthylène	mg kg ⁻¹	0,92				0,00				0,41				2,90				0,07
anthracène	mg kg ⁻¹	32,37				20,50				11,38				76,94				21,33
benzo(a)anthracène	mg kg ⁻¹	103,45				62,88				33,93				162,07				63,13
benzo(a)pyrène	mg kg ⁻¹	91,16				88,54				37,06				152,07				52,81
benzo(b,j,k)fluoranthène	mg kg ⁻¹	143,72				83,65				97,59				292,12				94,60
benzo(c)phénanthrène	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
benzo(ghi)pérylène	mg kg ⁻¹	58,74				46,13				18,05				70,40				23,86
chrysène	mg kg ⁻¹	94,65				64,69				35,73				158,99				69,43
dibenzo(a,h)anthracène	mg kg ⁻¹	18,11				26,19				17,76				21,47				7,76
dibenzo(al)pyrène	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
fluoranthène	mg kg ⁻¹	184,23				147,66				78,75				349,04				131,94
fluorène	mg kg ⁻¹	14,39				8,09				5,93				46,12				9,27
indéno(1,2,3-cd)pyrène	mg kg ⁻¹	81,39				59,45				33,98				103,50				39,39
naphthalène	mg kg ⁻¹	6,64				2,68				1,19				11,03				3,58
phénanthrène	mg kg ⁻¹	117,47				86,45				30,71				279,92				94,40
pyrène	mg kg ⁻¹	151,28				124,16				60,24				273,56				116,61
Total		1109,78				828,19				466,51				2027,32				735,50

Annexe 15 Suivi hebdomadaire du mélange de compost H

Composition	Unités Code	Temps (sem)																
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Masse humide	g	965	924	920	914	901	896	892	887	876	876	876	876	866	862	858	855	826
Solides totaux (ST)	% (p p ⁻¹)	74,0	92,6	85,9	82,8	83,5	94,9	91,8	96,4	84,8	-	-	-	88,1	84,9	90,6	91,7	87,9
Humidité	% (p p ⁻¹)	26,0	7,4	14,1	17,2	16,5	5,1	8,2	3,6	15,2	-	-	-	11,9	15,1	9,4	8,3	12,2
Eau ajoutée	mL	0	270	515	270	290	305	215	250	225	255	405	250	250	275	300	225	110
Porosité	%	80																65,80
Densité	g cm ⁻³	1,15																1,24
pH	-	7,74	-	7,55	7,49	7,38	7,27	7,34	7,32	7,83	-	-	-	6,80	7,71	7,57	7,91	7,39
Carbone total (C) (NCS)	g kg ⁻¹	74,60				44,00				45,00				51,90				50,80
Carbone organique total (C.O.) (NCS)	g kg ⁻¹	121,81				110,02				109,06				81,86				109,99
Matière organique totale (M.O.)	g kg ⁻¹	215,48				203,50				201,77				151,45				203,48
Éléments nutritifs																		
Azote total (N) (NCS)	g kg ⁻¹	2,73				1,80				2,10				2,30				1,90
Azote total Kjeldahl (NTK)	g kg ⁻¹	1,50				1,46				1,52				3,48				1,47
Rapport C/N	-	27,28				24,44				21,43				22,57				26,74
Soufre (S) (NCS)	g kg ⁻¹	1,98				1,60				1,20				1,10				1,70
Phosphore (P) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	0,64				0,66				0,58				0,59				0,58
Calcium (Ca) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	7,71				6,48				6,13				7,02				5,90
Magnésium (Mg) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	2,87				1,98				2,50				2,10				2,00
Sodium (Na) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	0,67				0,31				0,37				0,51				0,30
Potassium (K) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	1,66				1,12				0,81				0,69				0,70
Métaux (ICP-AES)																		
Aluminium (Al)	mg kg ⁻¹	11230,89				9341,00				9630,00				10537,00				9425,00
Arsenic (As)	mg kg ⁻¹	22,12				14,92				12,65				16,15				12,03
Cadmium (Cd)	mg kg ⁻¹	3,78				4,00				3,57				3,44				3,48
Chrome (Cr)	mg kg ⁻¹	29,70				21,73				18,20				18,41				23,20
Cobalt (Co)	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
Cuivre (Cu)	mg kg ⁻¹	112,29				87,57				83,42				128,70				81,50
Fer (Fe)	mg kg ⁻¹	15635,23				15120,50				20465,00				13944,00				13487,00
Manganèse (Mn)	mg kg ⁻¹	360,12				237,65				273,60				491,00				244,73
Molybdène (Mo)	mg kg ⁻¹	2,33				3,04				2,50				2,64				1,75
Nickel (Ni)	mg kg ⁻¹	27,80				36,24				27,42				22,44				19,00
Plomb (Pb)	mg kg ⁻¹	321,07				219,60				113,90				117,10				134,72
Zinc (Zn)	mg kg ⁻¹	254,94				271,20				230,90				309,80				681,77
HAP (GC-MS)																		
acénaphthène	mg kg ⁻¹	11,47				6,21				11,42				5,56				4,52
acénaphthylène	mg kg ⁻¹	0,94				0,00				3,19				1,61				0,23
anthracène	mg kg ⁻¹	33,04				15,05				20,83				18,36				14,76
benzo(a)anthracène	mg kg ⁻¹	105,57				50,64				65,68				60,09				46,25
benzo(a)pyrène	mg kg ⁻¹	93,02				72,24				66,43				56,50				36,21
benzo(b,j,k)fluoranthène	mg kg ⁻¹	146,69				67,15				158,56				115,97				67,61
benzo(c)phénanthrène	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
benzo(ghi)peryène	mg kg ⁻¹	59,95				35,64				33,79				30,51				13,96
chrysène	mg kg ⁻¹	96,62				49,69				70,11				59,05				49,40
dibenzo(a,h)anthracène	mg kg ⁻¹	18,48				18,69				10,15				6,84				4,19
dibenzo(al)pyrène	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
fluoranthène	mg kg ⁻¹	188,01				112,30				151,56				109,40				100,93
fluorène	mg kg ⁻¹	14,69				7,42				19,88				9,50				6,44
indéno(1,2,3-cd)pyrène	mg kg ⁻¹	83,05				47,84				57,12				42,68				23,35
naphtalène	mg kg ⁻¹	6,78				3,88				4,05				1,48				2,71
phénanthrène	mg kg ⁻¹	119,87				66,83				88,76				51,96				63,37
pyrène	mg kg ⁻¹	154,39				95,21				118,89				90,17				84,30
Total		1132,57				648,81				880,43				659,69				518,22

Annexe 16 Suivi hebdomadaire du mélange de compost I

Composition	Unités Code	Temps (sem)																
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Masse humide	g	980	943	938	933	919	914	909	904	893	893	893	883	879	875	872	841	
Solides totaux (ST)	% (p p ⁻¹)	75,0	92,7	82,5	79,3	78,0	90,7	87,7	90,3	79,8	-	-	-	87,9	84,8	88,9	89,0	86,1
Humidité	% (p p ⁻¹)	25,0	7,3	17,5	20,7	22,0	9,3	12,3	9,7	20,2	-	-	-	12,1	15,2	11,1	11,0	13,9
Eau ajoutée	mL	0	260	505	285	275	290	185	185	200	225	400	250	200	250	300	240	110
Porosité	%	80																64,09
Densité	g cm ⁻³	1,15																1,13
pH	-	6,69	-	6,64	6,88	6,45	6,60	6,60	6,47	7,10	-	-	-	6,22	7,05	6,97	7,19	6,91
Carbone total (C) (NCS)	g kg ⁻¹	106,55				76,00				61,90				70,40				103,00
Carbone organique total (C.O.) (NCS)	g kg ⁻¹	146,78				137,16				135,62				95,00				98,86
Matière organique totale (M.O.)	g kg ⁻¹	258,40				253,70				250,89				175,76				182,89
Éléments nutritifs																		
Azote total (N) (NCS)	g kg ⁻¹	5,15				3,60				5,10				3,70				5,20
Azote total Kjeldahl (NTK)	g kg ⁻¹	2,20				2,04				1,90				2,65				2,50
Rapport C/N	-	20,71				21,11				12,14				19,03				19,81
Soufre (S) (NCS)	g kg ⁻¹	52,48				47,20				46,30				51,70				58,40
Phosphore (P) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	2,31				1,99				2,26				2,80				2,25
Calcium (Ca) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	95,24				82,61				99,83				151,05				117,68
Magnésium (Mg) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	7,15				6,40				7,34				12,29				9,49
Sodium (Na) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	1,91				1,41				1,64				1,32				0,93
Potassium (K) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	4,00				4,16				3,55				4,17				2,87
Métaux (ICP-AES)																		
Aluminium (Al)	mg kg ⁻¹	23960,90				22010,50				22988,00				37953,50				29497,33
Arsenic (As)	mg kg ⁻¹	51,97				72,60				49,45				81,38				34,97
Cadmium (Cd)	mg kg ⁻¹	4,22				2,87				3,00				3,71				2,26
Chrome (Cr)	mg kg ⁻¹	372,45				282,60				627,60				936,45				745,33
Cobalt (Co)	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
Cuivre (Cu)	mg kg ⁻¹	85,52				92,47				131,60				129,15				109,75
Fer (Fe)	mg kg ⁻¹	130455,11				120207,00				129023,00				130969,00				121602,67
Manganèse (Mn)	mg kg ⁻¹	3273,95				5703,00				10451,00				13108,00				11474,67
Molybdène (Mo)	mg kg ⁻¹	9,16				8,25				6,0078 u				24,31				27,95
Nickel (Ni)	mg kg ⁻¹	82,60				77,11				70,18				55,26				22,02
Plomb (Pb)	mg kg ⁻¹	479,32				387,50				368,00				494,90				637,93
Zinc (Zn)	mg kg ⁻¹	1988,63				1539,50				1619,00				2322,00				3753,00
HAP (GC-MS)																		
acénaphthène	mg kg ⁻¹	50,80				34,14				54,07				27,07				25,64
acénaphthylène	mg kg ⁻¹	6,14				13,27				15,17				35,19				20,08
anthracène	mg kg ⁻¹	36,95				28,55				25,22				49,45				32,47
benzo(a)anthracène	mg kg ⁻¹	76,52				92,97				67,10				83,68				77,86
benzo(a)pyrène	mg kg ⁻¹	68,65				153,25				84,99				81,11				96,18
benzo(b,j,k)fluoranthène	mg kg ⁻¹	134,80				171,25				204,15				167,30				217,56
benzo(c)phénanthrène	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
benzo(ghi)peryène	mg kg ⁻¹	59,64				80,52				42,59				63,80				70,35
chrysène	mg kg ⁻¹	79,69				93,40				71,02				86,68				81,30
dibenzo(a,h)anthracène	mg kg ⁻¹	44,88				30,13				18,00				18,50				22,32
dibenzo(al)pyrène	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
fluoranthène	mg kg ⁻¹	134,54				124,45				111,74				137,44				139,29
fluorène	mg kg ⁻¹	50,79				28,28				48,00				26,66				21,70
indéno(1,2,3-cd)pyrène	mg kg ⁻¹	65,60				125,29				68,90				82,84				107,83
naphthalène	mg kg ⁻¹	26,78				18,71				17,33				21,45				13,29
phénanthrène	mg kg ⁻¹	144,69				95,52				79,11				73,95				72,52
pyrène	mg kg ⁻¹	99,50				122,77				87,08				115,06				104,57
Total		1079,96				1212,52				994,45				1070,18				1102,96

Annexe 17 Suivi hebdomadaire du mélange de compost J

Composition	Unités Code	Temps (sem)															
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Masse humide	g	980	952	946	940	927	923	918	913	902	902	902	892	887	883	880	849
Solides totaux (ST)	% (p p ⁻¹)	71,5	95,1	83,5	82,6	79,4	-	85,5	90,4	78,8	-	-	87,4	88,4	89,3	89,7	84,8
Humidité	% (p p ⁻¹)	28,5	4,9	16,5	17,4	20,6	-	14,5	9,6	21,2	-	-	12,6	11,6	10,7	10,3	15,2
Eau ajoutée	mL	0	270	490	270	275	325	200	195	210	225	400	250	200	250	275	230
Porosité	%	80															65,06
Densité	g cm ⁻³	1,15															1,13
pH	-	6,76	-	6,65	6,76	6,51	6,76	6,41	6,67	7,05	-	-	6,11	7,03	7,00	6,99	6,93
Carbone total (C) (NCS)	g kg ⁻¹	107,74				60,00				52,10			79,10				66,00
Carbone organique total (C.O.) (NCS)	g kg ⁻¹	135,82				139,52				133,91			98,60				101,10
Matière organique totale (M.O.)	g kg ⁻¹	234,76				258,10				247,74			182,42				187,04
Éléments nutritifs																	
Azote total (N) (NCS)	g kg ⁻¹	5,16				3,40				2,60			4,10				3,90
Azote total Kjeldahl (NTK)	g kg ⁻¹	2,26				3,38				2,23			3,50				3,69
Rapport C/N	-	20,87				17,65				20,04			19,29				16,92
Soufre (S) (NCS)	g kg ⁻¹	54,93				37,70				28,30			52,40				59,60
Phosphore (P) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	2,40				2,30				2,53			2,71				2,17
Calcium (Ca) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	99,77				104,55				127,50			111,07				102,55
Magnésium (Mg) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	7,40				8,25				7,15			8,38				8,31
Sodium (Na) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	1,99				1,50				1,60			0,99				0,75
Potassium (K) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	4,13				4,37				3,83			3,19				2,08
Métaux (ICP-AES)																	
Aluminium (Al)	mg kg ⁻¹	25002,68				25504,00				24675,00			27268,50				25339,67
Arsenic (As)	mg kg ⁻¹	54,32				78,03				47,88			69,16				42,49
Cadmium (Cd)	mg kg ⁻¹	4,38				2,87				1,807			2,32				2,40
Chrome (Cr)	mg kg ⁻¹	390,08				626,05				879,70			608,30				746,03
Cobalt (Co)	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00			0,00				0,00
Cuivre (Cu)	mg kg ⁻¹	88,14				93,37				138,90			109,57				85,56
Fer (Fe)	mg kg ⁻¹	136548,85				125258,00				148271,00			131128,00				135569,33
Manganèse (Mn)	mg kg ⁻¹	3429,98				9434,00				12444,00			10196,00				12513,33
Molybdène (Mo)	mg kg ⁻¹	9,60				10,14				13,47			18,07				18,84
Nickel (Ni)	mg kg ⁻¹	85,50				69,99				59,74			57,74				18,28
Plomb (Pb)	mg kg ⁻¹	496,36				405,70				281,00			403,90				346,73
Zinc (Zn)	mg kg ⁻¹	2082,02				1580,50				1188,00			1706,50				1506,00
HAP (GC-MS)																	
acénaphthène	mg kg ⁻¹	52,42				26,83				39,47			29,12				25,35
acénaphthylène	mg kg ⁻¹	6,39				10,22				9,84			27,19				37,41
anthracène	mg kg ⁻¹	36,21				21,19				16,20			24,14				31,56
benzo(a)anthracène	mg kg ⁻¹	75,08				75,53				63,66			63,65				75,12
benzo(a)pyrène	mg kg ⁻¹	69,20				115,11				73,27			82,06				73,23
benzo(b,j,k)fluoranthène	mg kg ⁻¹	136,11				123,87				192,57			173,25				142,98
benzo(c)phénanthrène	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00			0,00				0,00
benzo(ghi)peryène	mg kg ⁻¹	60,92				59,61				29,27			73,62				57,46
chrysène	mg kg ⁻¹	78,48				73,54				68,46			66,48				80,71
dibenzo(a,h)anthracène	mg kg ⁻¹	46,68				28,01				1,33			25,13				14,98
dibenzo(a,l)pyrène	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00			0,00				0,00
fluoranthène	mg kg ⁻¹	129,00				138,38				98,31			101,50				125,93
fluorène	mg kg ⁻¹	52,27				22,83				35,04			28,33				24,28
indéno(1,2,3-cd)pyrène	mg kg ⁻¹	66,80				89,73				52,56			91,78				74,62
naphtalène	mg kg ⁻¹	27,65				14,49				18,43			15,37				16,92
phénanthrène	mg kg ⁻¹	142,21				74,28				60,06			59,35				59,03
pyrène	mg kg ⁻¹	94,66				110,86				77,00			80,86				104,13
Total		1074,08				984,48				835,47			941,82				843,71

Annexe 18 Suivi hebdomadaire du mélange de compost K

Composition	Unités Code	Temps (sem)																
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Masse humide	g	990	949	945	940	927	921	917	912	902	902	902	892	887	883	880	849	
Solides totaux (ST)	% (p p ⁻¹)	74,2	90,2	82,2	82,0	82,1	93,8	93,3	95,3	82,4	-	-	-	85,9	87,5	88,1	-	85,2
Humidité	% (p p ⁻¹)	25,8	9,8	17,8	18,0	17,9	6,3	6,7	4,7	17,6	-	-	-	14,1	12,5	11,9	-	14,8
Eau ajoutée	mL	0	270	555	310	275	275	250	215	190	200	370	250	200	275	275	235	125
Porosité	%	80																61,21
Densité	g cm ⁻³	1,15																1,02
pH	-	6,78	-	6,63	6,69	6,54	6,66	6,29	6,71	6,97	-	-	-	6,04	6,85	6,92	6,86	6,88
Carbone total (C) (NCS)	g kg ⁻¹	106,55				70,00				67,70				73,20				81,00
Carbone organique total (C.O.) (NCS)	g kg ⁻¹	146,78				124,67				120,74				97,98				108,86
Matière organique totale (M.O.)	g kg ⁻¹	258,40				230,60				223,37				181,27				201,40
Éléments nutritifs																		
Azote total (N) (NCS)	g kg ⁻¹	5,15				3,80				4,00				3,70				4,60
Azote total Kjeldahl (NTK)	g kg ⁻¹	2,20				2,52				1,95				3,44				3,90
Rapport C/N	-	20,71				18,42				16,93				19,78				17,61
Soufre (S) (NCS)	g kg ⁻¹	52,48				41,50				51,20				48,40				66,50
Phosphore (P) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	2,31				2,17				2,51				3,01				3,70
Calcium (Ca) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	95,24				97,78				106,25				103,92				93,12
Magnésium (Mg) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	7,15				8,95				6,70				9,64				7,53
Sodium (Na) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	1,91				1,67				1,73				1,02				0,85
Potassium (K) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	4,00				4,51				5,27				2,89				2,06
Métaux (ICP-AES)																		
Aluminium (Al)	mg kg ⁻¹	23960,87				27358,50				25856,00				25660,00				22368,67
Arsenic (As)	mg kg ⁻¹	51,97				50,40				51,60				90,89				70,91
Cadmium (Cd)	mg kg ⁻¹	4,22				2,55				2,73				2,92				2,98
Chrome (Cr)	mg kg ⁻¹	372,45				393,50				494,40				613,10				874,00
Cobalt (Co)	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
Cuivre (Cu)	mg kg ⁻¹	85,52				77,13				129,60				89,07				121,90
Fer (Fe)	mg kg ⁻¹	130454,97				115836,00				129893,00				160138,00				156494,67
Manganèse (Mn)	mg kg ⁻¹	3273,95				13080,00				9345,00				8935,00				9811,33
Molybdène (Mo)	mg kg ⁻¹	9,16				10,00				9,21				12,57				24,97
Nickel (Ni)	mg kg ⁻¹	82,60				69,88				69,05				61,64				36,32
Plomb (Pb)	mg kg ⁻¹	479,32				369,90				404,00				410,50				322,20
Zinc (Zn)	mg kg ⁻¹	1988,63				1372,00				1727,00				1690,50				1673,33
HAP (GC-MS)																		
acénaphthène	mg kg ⁻¹	50,80				26,95				48,812				33,13				25,23
acénaphthylène	mg kg ⁻¹	6,14				10,66				12,840				44,39				8,17
anthracène	mg kg ⁻¹	36,95				25,13				18,367				46,43				19,80
benzo(a)anthracène	mg kg ⁻¹	76,52				85,44				79,771				94,73				81,98
benzo(a)pyrène	mg kg ⁻¹	68,65				121,76				89,667				85,79				71,90
benzo(b,j,k)fluoranthène	mg kg ⁻¹	134,80				136,14				231,332				172,59				159,78
benzo(c)phénanthrène	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0				0,00				0,00
benzo(ghi)pérylène	mg kg ⁻¹	59,64				59,92				47,739				65,23				36,89
chrysène	mg kg ⁻¹	79,69				86,31				82,242				95,88				85,23
dibenzo(a,h)anthracène	mg kg ⁻¹	44,88				30,26				3,020				19,45				13,29
dibenzo(al)pyrène	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0				0,00				0,00
fluoranthène	mg kg ⁻¹	134,54				154,14				138,260				160,18				138,76
fluorène	mg kg ⁻¹	50,79				23,29				42,609				28,93				22,24
indéno(1,2,3-cd)pyrène	mg kg ⁻¹	65,60				88,35				77,019				83,26				64,85
naphtalène	mg kg ⁻¹	26,78				15,64				14,365				13,26				16,73
phénanthrène	mg kg ⁻¹	144,69				86,21				89,976				97,07				76,36
pyrène	mg kg ⁻¹	99,50				120,55				114,821				128,36				104,11
Total		1079,95				1070,75				1084,84				1168,70				925,32

Annexe 19 Suivi hebdomadaire du mélange de compost L

Composition	Unités Code	Temps (sem)																
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Masse humide	g	965	944	937	932	919	913	909	905	894	894	894	894	884	879	875	871	841
Solides totaux (ST)	% (p p ⁻¹)	74,6	96,0	80,5	80,7	78,7	92,1	93,9	95,4	82,6	-	-	-	87,2	86,2	89,5	87,6	84,4
Humidité	% (p p ⁻¹)	25,4	4,0	19,5	19,3	21,3	8,0	6,1	4,6	17,4	-	-	-	12,8	13,8	10,5	12,4	15,6
Eau ajoutée	mL	0	270	540	325	325	275	250	250	240	250	385	250	200	275	275	250	130
Porosité	%	80																60,42
Densité	g cm ⁻³	1,15																1,03
pH	-	6,81		6,69	6,70	6,52	6,57	6,34	6,73	6,91	-	-	-	6,17	6,88	6,83	6,91	6,90
Carbone total (C) (NCS)	g kg ⁻¹	99,57				72,00				77,30				55,00				95,00
Carbone organique total (C.O.) (NCS)	g kg ⁻¹	138,89				152,68				140,96				95,82				104,82
Matière organique totale (M.O.)	g kg ⁻¹	244,89				282,50				260,78				177,27				110,77
Éléments nutritifs																		
Azote total (N) (NCS)	g kg ⁻¹	5,10				3,30				3,70				3,30				4,50
Azote total Kjeldahl (NTK)	g kg ⁻¹	2,15				2,60				2,55				2,16				4,36
Rapport C/N	-	19,54				21,82				20,89				16,67				21,11
Soufre (S) (NCS)	g kg ⁻¹	53,55				40,40				50,90				38,40				59,80
Phosphore (P) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	2,34				2,02				2,47				2,10				2,28
Calcium (Ca) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	97,19				81,69				133,06				91,23				105,25
Magnésium (Mg) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	7,28				6,98				9,85				6,94				8,22
Sodium (Na) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	1,94				1,42				0,87				8,16				0,97
Potassium (K) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	4,02				5,50				3,08				9,03				2,89
Métaux (ICP-AES)																		
Aluminium (Al)	mg kg ⁻¹	24456,22				20528,00				30775,00				34465,50				26701,67
Arsenic (As)	mg kg ⁻¹	53,05				63,52				84,84				83,06				68,05
Cadmium (Cd)	mg kg ⁻¹	4,31				2,77				2,66				2,17				2,09
Chrome (Cr)	mg kg ⁻¹	380,12				459,30				469,70				424,50				547,50
Cobalt (Co)	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
Cuivre (Cu)	mg kg ⁻¹	87,23				248,50				110,90				70,45				82,62
Fer (Fe)	mg kg ⁻¹	133161,58				147521,00				130383,00				101832,00				126708,33
Manganèse (Mn)	mg kg ⁻¹	3341,73				7791,00				11958,00				8140,00				8640,33
Molybdène (Mo)	mg kg ⁻¹	9,34				20,69				21,30				12,74				19,68
Nickel (Ni)	mg kg ⁻¹	84,32				169,75				65,97				42,02				25,02
Plomb (Pb)	mg kg ⁻¹	489,28				376,30				357,50				368,60				387,97
Zinc (Zn)	mg kg ⁻¹	2029,44				1446,00				1576,00				1377,50				1535,33
HAP (GC-MS)																		
acénaphthène	mg kg ⁻¹	50,81				65,77				42,41				39,28				27,66
acénaphthylène	mg kg ⁻¹	6,14				12,11				15,52				25,82				10,30
anthracène	mg kg ⁻¹	36,95				42,23				16,92				26,71				21,01
benzo(a)anthracène	mg kg ⁻¹	76,54				93,26				69,07				84,35				91,66
benzo(a)pyrène	mg kg ⁻¹	68,67				131,15				82,37				104,20				71,97
benzo(b,j,k)fluoranthène	mg kg ⁻¹	134,82				143,03				208,66				226,71				167,25
benzo(c)phénanthrène	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
benzo(ghi)peryène	mg kg ⁻¹	59,65				63,37				43,82				51,44				39,45
chrysène	mg kg ⁻¹	79,69				97,31				74,90				86,08				93,72
dibenzo(a,h)anthracène	mg kg ⁻¹	44,89				33,66				2,63				18,01				13,82
dibenzo(al)pyrène	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
fluoranthène	mg kg ⁻¹	134,57				180,35				117,00				135,03				154,47
fluorène	mg kg ⁻¹	50,80				48,76				43,29				41,68				24,50
indéno(1,2,3-cd)pyrène	mg kg ⁻¹	65,61				93,60				71,25				74,43				66,93
naphtalène	mg kg ⁻¹	26,79				81,20				17,48				12,49				18,36
phénanthrène	mg kg ⁻¹	144,72				143,07				67,20				75,69				77,58
pyrène	mg kg ⁻¹	99,51				138,45				92,99				103,96				117,95
Total		1080,16				1367,33				965,50				1105,88				996,63

Annexe 20 Suivi hebdomadaire du mélange de compost M

Composition	Unités Code	Temps (sem)																
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Masse humide	g	965	945	940	936	923	918	914	909	898	898	898	898	888	883	879	875	844
Solides totaux (ST)	% (p p ⁻¹)	74,6	99,2	83,3	85,0	78,7	92,1	93,4	94,2	80,7	-	-	-	86,7	88,8	89,0	87,4	83,5
Humidité	% (p p ⁻¹)	25,4	0,8	16,7	15,0	21,3	7,9	6,6	5,8	19,3	-	-	-	13,3	11,2	11,0	12,6	16,5
Eau ajoutée	mL	0	280	525	265	300	275	245	240	220	225	375	250	200	250	275	250	140
Porosité	%	80																59,21
Densité	g cm ⁻³	1,15																0,97
pH	-	6,81	-	6,75	6,73	6,54	6,58	6,67	6,77	6,85	-	-	-	6,12	6,99	6,89	6,97	6,83
Carbone total (C) (NCS)	g kg ⁻¹	99,57				76,00				72,00				62,60				77,00
Carbone organique total (C.O.) (NCS)	g kg ⁻¹	138,89				138,54				161,91				108,49				110,77
Matière organique totale (M.O.)	g kg ⁻¹	244,89				256,30				299,54				200,71				204,93
Éléments nutritifs																		
Azote total (N) (NCS)	g kg ⁻¹	5,10				3,30				3,80				3,40				4,40
Azote total Kjeldahl (NTK)	g kg ⁻¹	2,15				1,64				2,92				2,62				4,10
Rapport C/N	-	19,54				23,03				18,95				18,41				17,50
Soufre (S) (NCS)	g kg ⁻¹	53,55				37,50				55,80				41,50				68,20
Phosphore (P) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	2,34				1,71				2,06				2,15				4,31
Calcium (Ca) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	97,19				83,62				125,51				102,77				107,29
Magnésium (Mg) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	7,28				8,00				8,56				7,97				7,96
Sodium (Na) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	1,94				1,08				0,86				0,89				1,00
Potassium (K) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	4,02				3,36				3,36				2,68				2,53
Métaux (ICP-AES)																		
Aluminium (Al)	mg kg ⁻¹	24456,22				21837,00				30264,00				24580,00				24234,00
Arsenic (As)	mg kg ⁻¹	53,05				48,01				66,59				58,91				57,43
Cadmium (Cd)	mg kg ⁻¹	4,31				2,94				3,55				2,06				2,75
Chrome (Cr)	mg kg ⁻¹	380,12				392,85				468,70				680,30				483,30
Cobalt (Co)	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
Cuivre (Cu)	mg kg ⁻¹	87,23				84,40				71,16				106,38				73,35
Fer (Fe)	mg kg ⁻¹	133161,58				98205,50				114121,00				143255,00				123849,00
Manganèse (Mn)	mg kg ⁻¹	3341,73				XX				11450,00				11576,00				9244,67
Molybdène (Mo)	mg kg ⁻¹	9,34				3,88				9,66				16,84				32,88
Nickel (Ni)	mg kg ⁻¹	84,32				76,43				61,52				45,16				28,51
Plomb (Pb)	mg kg ⁻¹	489,28				235,40				399,00				348,90				420,57
Zinc (Zn)	mg kg ⁻¹	2029,44				1306,00				1631,00				1384,50				1687,00
HAP (GC-MS)																		
acénaphthène	mg kg ⁻¹	50,82				112,17				29,93				32,19				21,08
acénaphthylène	mg kg ⁻¹	6,14				46,96				13,66				29,78				7,96
anthracène	mg kg ⁻¹	36,96				78,97				12,34				28,66				17,56
benzo(a)anthracène	mg kg ⁻¹	76,55				100,90				76,34				77,44				76,35
benzo(a)pyrène	mg kg ⁻¹	68,69				89,15				94,17				93,51				56,98
benzo(b,j,k)fluoranthène	mg kg ⁻¹	134,83				183,61				245,94				203,22				133,55
benzo(c)phénanthrène	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
benzo(ghi)peryène	mg kg ⁻¹	59,67				65,04				47,92				60,32				30,39
chrysène	mg kg ⁻¹	79,69				101,51				84,23				81,77				77,26
dibenzo(a,h)anthracène	mg kg ⁻¹	44,90				5,84				19,05				9,20				10,51
dibenzo(ah)pyrène	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
fluoranthène	mg kg ⁻¹	134,59				172,37				122,44				134,19				130,67
fluorène	mg kg ⁻¹	50,81				107,61				27,39				33,45				19,64
indéno(1,2,3-cd)pyrène	mg kg ⁻¹	65,63				84,32				80,25				85,28				51,47
naphthalène	mg kg ⁻¹	26,80				35,90				17,55				15,28				8,62
phénanthrène	mg kg ⁻¹	144,76				124,95				50,11				67,82				67,77
pyrène	mg kg ⁻¹	99,52				140,75				97,21				102,40				99,72
Total		1080,37				1450,05				1018,53				1054,51				809,53

Annexe 21 Suivi hebdomadaire du mélange de compost N

Composition	Unités Code	Temps (sem)																
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Masse humide	g	965	921	915	911	898	893	888	884	873	873	873	873	862	857	853	849	817
Solides totaux (ST)	% (p p ⁻¹)	74,6	93,1	80,6	84,0	80,4	94,5	95,1	92,4	82,1	-	-	-	87,5	-	90,5	89,3	83,5
Humidité	% (p p ⁻¹)	25,4	6,9	19,4	16,0	19,6	5,5	4,9	7,6	17,9	-	-	-	12,5	-	9,5	10,7	16,5
Eau ajoutée	mL	0	250	425	190	215	290	245	175	165	150	300	200	175	210	225	200	110
Porosité	%	80																64,89
Densité	g cm ⁻³	1,15																1,17
pH	-	6,81		6,73	6,77	6,61	6,60	6,63	6,75	6,87	-	-	-	6,15	6,81	6,94	7,03	6,91
Carbone total (C) (NCS)	g kg ⁻¹	99,57				63,00				67,50				57,50				77,00
Carbone organique total (C.O.) (NCS)	g kg ⁻¹	138,89				127,56				162,21				85,72				97,92
Matière organique totale (M.O.)	g kg ⁻¹	244,89				236,00				300,09				158,58				181,15
Éléments nutritifs																		
Azote total (N) (NCS)	g kg ⁻¹	5,10				3,70				3,90				3,50				4,30
Azote total Kjeldahl (NTK)	g kg ⁻¹	2,15				2,38				2,33				1,96				2,19
Rapport C/N	-	19,54				17,03				17,31				16,43				17,91
Soufre (S) (NCS)	g kg ⁻¹	53,55				36,80				47,10				46,90				66,20
Phosphore (P) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	2,34				1,79				2,55				2,28				2,06
Calcium (Ca) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	97,19				125,04				116,59				109,31				110,63
Magnésium (Mg) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	7,28				10,67				9,20				7,67				8,04
Sodium (Na) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	1,94				0,99				0,70				0,95				0,90
Potassium (K) (ICP-AES)	g kg ⁻¹	4,02				3,04				2,16				2,57				2,71
Métaux (ICP-AES)																		
Aluminium (Al)	mg kg ⁻¹	24456,22				32085,00				29196,00				27864,00				28116,00
Arsenic (As)	mg kg ⁻¹	53,05				49,69				61,44				75,91				50,25
Cadmium (Cd)	mg kg ⁻¹	4,31				3,25				3,49				2,08				2,24
Chrome (Cr)	mg kg ⁻¹	380,12				369,50				797,50				893,60				456,90
Cobalt (Co)	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
Cuivre (Cu)	mg kg ⁻¹	87,23				91,39				114,80				133,90				64,86
Fer (Fe)	mg kg ⁻¹	133161,58				110498,00				150510,00				136267,00				119820,67
Manganèse (Mn)	mg kg ⁻¹	3341,73				10354,00				13620,00				11669,00				9463,67
Molybdène (Mo)	mg kg ⁻¹	9,34				5,47				12,74				16,40				17,98
Nickel (Ni)	mg kg ⁻¹	84,32				81,72				65,16				55,18				28,56
Plomb (Pb)	mg kg ⁻¹	489,28				463,60				338,60				355,05				379,37
Zinc (Zn)	mg kg ⁻¹	2029,44				1943,50				1543,00				1660,00				1603,33
HAP (GC-MS)																		
acénaphthène	mg kg ⁻¹	51,85				34,89				48,09				28,67				28,90
acénaphthylène	mg kg ⁻¹	6,26				2,77				14,09				34,97				19,65
anthracène	mg kg ⁻¹	37,71				45,42				19,58				38,22				27,47
benzo(a)anthracène	mg kg ⁻¹	78,11				92,47				76,62				73,74				86,99
benzo(a)pyrène	mg kg ⁻¹	70,08				77,19				102,34				66,83				66,39
benzo(b,j,k)fluoranthène	mg kg ⁻¹	137,60				160,62				241,59				128,84				148,91
benzo(c)phénanthrène	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
benzo(ghi)peryliène	mg kg ⁻¹	60,88				54,73				39,25				48,19				44,43
chrysène	mg kg ⁻¹	81,34				91,27				81,27				73,38				88,36
dibenzo(a,h)anthracène	mg kg ⁻¹	45,81				16,62				16,89				4,01				13,56
dibenzo(al)pyrène	mg kg ⁻¹	0,00				0,00				0,00				0,00				0,00
fluoranthène	mg kg ⁻¹	137,34				158,51				112,79				123,28				153,71
fluorène	mg kg ⁻¹	51,84				36,17				38,67				27,81				26,14
indéno(1,2,3-cd)pyrène	mg kg ⁻¹	66,96				72,05				62,73				62,85				64,07
naphthalène	mg kg ⁻¹	27,34				23,82				21,19				14,13				13,95
phénanthrène	mg kg ⁻¹	147,70				89,98				80,07				68,76				87,29
pyrène	mg kg ⁻¹	101,57				126,01				92,00				101,29				116,25
Total		1102,40				1082,52				1047,18				894,95				886,06