

Cahier des charges : Caractérisation et essais en vue de l'application d'un traitement par biodégradation

1. Introduction

Cette mission de caractérisation et essais intervient après la présélection des techniques et la caractérisation préliminaire du sol, qui permet notamment de définir la nature des contaminants (métalliques, organiques) et leur teneur globale, ainsi que la composition granulométrique du sol.

Rappel de la problématique	<u>Caractéristiques de la zone polluée :</u> <u>Nature de la pollution :</u> <u>Situation de la pollution vis-à-vis de la zone saturée :</u> <u>Etat physique de la pollution :</u>
Limites liées à la mise en œuvre	<i>Mise en œuvre in situ : Enjeux environnementaux (proximité et niveau de protection des milieux) ; Maîtrise des écoulements des eaux souterraines : hétérogénéité de distribution des perméabilités et des polluants</i> <i>Mise en œuvre sur site ou hors site : selon la quantité à traiter</i>
Limites liées à la nature de la pollution	<i>Technique adaptée au traitement de pollutions organiques par des polluants partiellement ou totalement métabolisables par les microorganismes ; Des précautions sont nécessaires pour le traitement de polluants susceptibles de générer la formation d'espèces gazeuses et/ou toxiques par dégradation biologique</i> <i>Technique principalement adaptée pour les pollutions par des hydrocarbures pétroliers et des solvants chlorés</i> <i>Technique inadaptée au traitement des pollutions aux solvants chlorés les plus substitués tels que les Tétrachloro-éthène ou -éthane non biodégradables en aérobiose</i>
Limites liées aux caractéristiques générales de la pollution	<i>Hétérogénéité du sol et de répartition de la pollution ; profondeur minimale et volume minimum</i>
Limites liées aux caractéristiques du sol	<i>Teneur en argile inférieure à 40%</i> <i>Teneur en matières organiques : < 20 g/kg</i> <i>Perméabilité à l'air élevée</i> <i>Teneur minimale en azote (20 mg/kg) et phosphore (3 mg/kg)</i> <i>Activité microbiologique in situ (consommation d'oxygène)</i>
Limites liées à la concentration en polluant	<i>Concentrations en métaux inhibitrices des métabolismes biologiques</i>
Limites liées à d'autres paramètres spécifiques	<i>Accessibilité des polluants aux microorganismes</i>

Tableau 1 : Rappel des caractéristiques à la base de la présélection des techniques de biodégradation

Les délais et coûts maximaux attendus pour la réalisation des essais sont précisés ci-dessous. Le candidat à la réalisation des caractérisations et essais en vue de l'application d'un lavage par agents chimiques ou tensio-actifs précisera les délais et coûts qu'il prévoit pour la réalisation de sa prestation au regard de ces objectifs.

2. Essais d'orientation

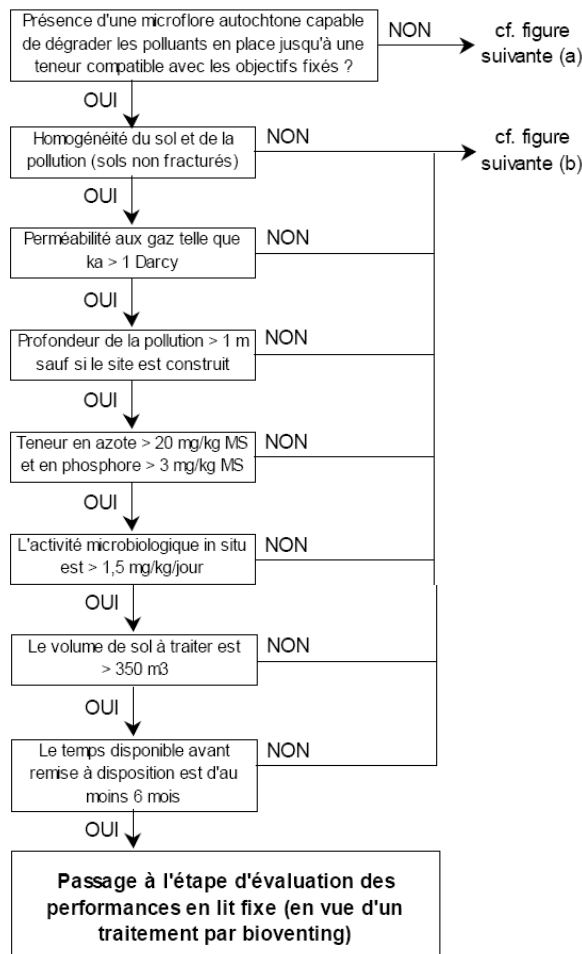


Figure 1 : Procédure d'essais d'orientation d'un traitement par biodégradation – Partie 1

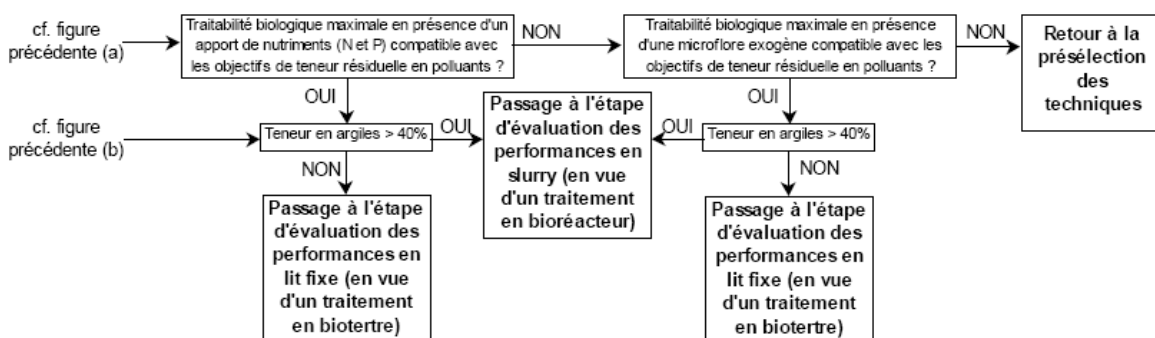


Figure 2 : Procédure d'essais d'orientation d'un traitement par biodégradation – Partie 2

Les essais d'orientation en matière de traitement biologique des pollutions organiques visent à établir la faisabilité d'un traitement par voie biologique et à rechercher le procédé le plus adapté parmi les procédés de traitement biologique disponibles : bioventing, biotertre, landfarming, bioréacteur pour le traitement de pollutions dont la biodégradabilité est envisageable et pour des concentrations en polluants non inhibitrices (cf. le chapitre Présélection des techniques).

La méthodologie proposée pour la détermination de la traitabilité d'un sol pollué par l'action du métabolisme de micro-organismes a été conçue de manière à s'appliquer aux cas les plus courants de pollution organique rencontrés dans les sols,

c'est à dire ceux qui concernent les hydrocarbures d'origine pétrolière, les hydrocarbures aromatiques polycycliques et les solvants chlorés. Les différentes familles seront cependant distinguées du fait de leurs utilisations métaboliques très différentes et l'option du traitement aérobie (in situ ou ex situ) sera également évoqué. Enfin, il convient de mentionner le développement des traitements biologiques passifs, tels que la MNA ("Monitored Natural Attenuation") ou la ENA ("Enhanced Natural Attenuation"), qui ne sont pas abordés dans ce document.

La validation des essais d'orientation pour le procédé choisi repose sur :

- la vérification de la présence d'une microflore indigène et de ses capacités dégradatives par rapport aux polluants,
- l'évaluation de la disponibilité et de l'accessibilité des polluants aux microorganismes

2.1. Bilan analytique de la pollution organique (rappel)

La nature et la concentration des polluants donnent déjà une première idée de la biodégradabilité des polluants. Ces critères ont été examinés dans le cadre de la présélection des techniques. On rappellera que, d'une manière générale, les fractions lourdes d'hydrocarbures (qu'elles reflètent la composition du produit ou qu'elles résultent de phénomènes d'atténuation naturelle) sont particulièrement difficiles à dégrader et que les composés organiques chlorés les plus substitués, tels que le Tétrachloroéthène (PCE) et le Tétrachlorure de carbone (CT) ne sont pas biodégradables par voie aérobie.

2.2. Recherche de la présence d'une microflore adaptée

L'absence d'une microflore autochtone adaptée signifie qu'il existe certainement, dans le sol à traiter, des conditions inhibant son développement. L'apport de micro-organismes est envisageable dans des applications en biotertre, landfarming ou bioréacteur. En revanche ce type d'opération est beaucoup plus délicat dans le cas d'un traitement par bioventing, compte tenu notamment des conditions mal maîtrisées de transfert des micro-organismes au contact de la zone polluée et des conditions environnementales vraisemblablement peu ou pas favorables au développement et à la survie de cette microflore.

La présence ou l'absence d'une microflore autochtone adaptée à la dégradation des polluants cibles est mise en évidence par un suivi de la biodégradation des polluants dans des conditions optimales d'incubation, en absence d'apport de microflore exogène.

Des essais témoins sont menés en parallèle dans des conditions abiotiques, en présence de chlorure mercurique à la concentration de 1 g/L, afin de vérifier que la consommation d'oxygène constatée relève bien d'un métabolisme biologique, et dans ce cas, afin également de quantifier la dégradation des polluants par l'analyse des quantités résiduelles dans les essais biotique et abiotique.

Pollutions par des hydrocarbures pétroliers ou par des HAP

L'avancement de la biodégradation est suivi en respiromètre par la mesure de la consommation d'oxygène. En divisant par 3 la consommation en oxygène, on obtient sensiblement la quantité d'hydrocarbures dégradés. Le bilan de biodégradation est fait après analyse de l'hydrocarbure résiduel qui est extrait en fin d'essai sur la totalité de la fraction de sol mise en œuvre et dosé par chromatographie en phase gazeuse.

Les essais sont menés sur 40 g de la fraction de sol passant à 4 mm et sur la même masse de sol brut (sans fractionnement granulométrique) à une température de 20 °C. La dégradation est suivie par la consommation d'oxygène au cours de la durée de l'essai, celui-ci étant stoppé lorsque la consommation devient très faible.

Il est possible que certains composés réducteurs présents dans le sol génèrent une consommation non biotique de l'oxygène. Dans ce cas il convient de remplacer la méthode de suivi de la consommation d'oxygène par le suivi de la production de CO₂ en prenant soin, par des essais témoins abiotiques, de vérifier l'origine biologique de cette production. La mesure du CO₂ est possible soit par spectrométrie infra-rouge, soit par titration après piégeage dans KOH.

Dans l'optique de la recherche et de l'évaluation de la capacité de la microflore indigène, dans le cas où l'apport de minéraux nutritifs est sans effet, la capacité intrinsèque de la microflore autochtone à dégrader les polluants cibles mérite d'être évaluée afin d'envisager une optimisation des conditions de dégradation (modification de l'accessibilité du polluant). Cet essai est également réalisé en respiromètre mais avec seulement 1 g de sol, afin d'apporter la microflore et d'éviter une addition trop importante de polluant provenant du sol, en présence du polluant de référence lorsqu'il est disponible. Ce type d'essai est envisageable notamment sur du gazole ou de la créosote (HAP), car des composés de référence sont disponibles.

- Si, dans ces conditions, le suivi de la consommation d'oxygène, en présence et en absence de milieu minimum minéral ne permet pas de mettre en évidence de dégradation des polluants, un apport de microflore exogène doit être prévu, excluant a priori la traitabilité in situ.
- Si la microflore autochtone présente une capacité intrinsèque de dégradation du polluant cible, la biodégradation en respiromètre des polluants doit être réévaluée dans des conditions optimisées (en particulier en présence d'un milieu minéral) afin d'évaluer à nouveau son aptitude à atteindre les objectifs de teneur en polluants résiduels.

Si la présence d'une microflore autochtone adaptée est mise en évidence ainsi que sa capacité à dégrader les polluants en place jusqu'à une teneur compatible avec les objectifs fixés, le passage à l'étape d'évaluation des performances sera possible selon l'une au moins des trois modalités suivantes :

- Traitabilité en vue d'un traitement par bioventing si les conditions suivantes sont remplies (rappel des paramètres limitants) :
 - Homogénéité du sol et de la répartition de la pollution ;
 - Perméabilité aux gaz (k_a) > 1 Darcy ;
 - Profondeur > ou égale à 1 mètre de la surface ;
 - Teneur suffisante en nutriments minéraux (20 mg(N)/kg de sol et 3 mg(P)/kg de sol) ;
 - Activité microbiologique in situ > 1,5 mg(O₂)/kg/j ;
 - Volume de la zone polluée > 350 m² ;
 - Distance séparant la pollution de la nappe > ou égale à 1,5 mètre ;
- Traitabilité en vue d'un traitement par biotertre ou par landfarming si la teneur en argiles est inférieure à 40% (rappel des paramètres limitants) ;
- Traitabilité en vue d'un traitement en bioréacteur dans tous les cas.

Dans le cas où ces objectifs ne seraient pas atteints à la vue des essais en respiromètre, l'utilisation d'une microflore de référence, lorsqu'elle est disponible, sera nécessaire pour pouvoir poursuivre la procédure. L'aptitude de la microflore exogène à dégrader les polluants sera mise en évidence selon le même protocole que pour la microflore autochtone.

Si aucune des conditions testées (microflore autochtone, apport de nutriments, microflore exogène) ne permet d'atteindre une teneur en polluants résiduelle compatible avec les objectifs fixés, la procédure d'essai de traitement par biodégradation ne sera pas poursuivie mais réorientée vers les essais d'orientation des autres techniques présélectionnées.

2.2.2. Pollutions par des solvants chlorés

Les évaluations doivent tenir compte des processus de dégradabilité aérobie "directe" ou par cométabolisme.

Cométabolisme

Selon la nature des solvants chlorés, le mécanisme de dégradation biologique aérobie des solvants chlorés peut être direct ou par cométabolisme. Dans ce dernier cas, les essais de traitabilité doivent prévoir la fourniture d'un substrat dit "inducteur", c'est-à-dire apte à stimuler la croissance de populations spécifiques et d'induire chez ces microorganismes la production des enzymes (oxygénases) responsables de la dégradation recherchée (exemple type : la dégradation aérobie du TCE). Les dispositifs d'essais consisteront en des fioles fermées dans le cas d'utilisation de substrats inducteurs gazeux et la consommation de ces substrats gazeux, toujours en présence d'oxygène, sera révélatrice de la présence de microflores adaptées. L'efficacité de cette microflore sera évaluée par le dosage des produits chlorés d'intérêt ainsi que par le suivi de la production de chlorures.

Dégradation "directe"

Quand les solvants chlorés peuvent être substrats de croissance, c'est à dire si et seulement si les produits sont les dichlorométhane ou -éthane (voire le chlorure de vinyle), l'évolution de l'activité microbiologique du sol est mesurée par le suivi de la consommation de l'oxygène (respiromètres) et par l'analyse de la concentration résiduelle en polluants ainsi qu'en chlorures en fin d'essai.

A l'issue de ces essais, et selon l'aptitude de la microflore autochtone à dégrader les polluants en place jusqu'à une teneur compatible avec les objectifs fixés, les mêmes conditions que dans le cas d'une pollution par des hydrocarbures seront examinées en vue du passage au stade d'évaluation des performances par bioventing ou par bioréacteur. La modalité biotertre ou landfarming n'est pas envisagée dans le cadre de la dégradation biologique des solvants chlorés.

Si aucune des conditions testées (microflore autochtone, apport de nutriments, microflore exogène) ne permet d'atteindre une teneur résiduelle en solvant chloré compatible avec les objectifs fixés, la procédure d'essai de traitement par biodégradation ne sera pas poursuivie mais réorientée vers les essais d'orientation des autres techniques présélectionnées.

3. Caractérisation en vue de l'évaluation des performances

Les performances de l'application d'un traitement par biodégradation doivent être jugées, en tenant compte des objectifs fixés, par comparaison des résultats d'analyses et essais obtenus sur le sol avant et après traitement.

Dans le cas d'essais de traitement en colonne, une meilleure représentativité peut être obtenue en prélevant un échantillon carotté non remanié en différents points (base, milieu, sommet) avant et après traitement.

4. Evaluation des performances

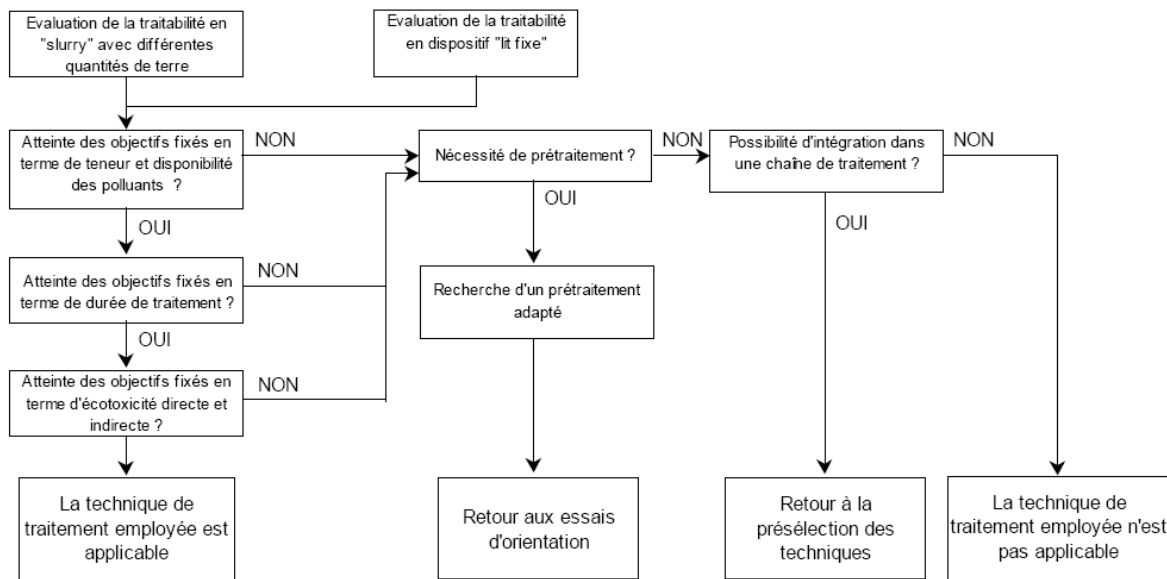


Figure 3 : Procédure d'essais d'évaluation des performances d'un traitement par biodégradation

La faisabilité du traitement par biodégradation sera évaluée à ce niveau de la procédure d'essais selon l'atteinte, dans les conditions pilotes optimisées, des objectifs fixés en termes de teneur en polluants, et de durée de traitement. L'évaluation sera ensuite complétée en terme de disponibilité des polluants et d'écotoxicité directe et indirecte du sol traité.

Ces essais qui visent à évaluer les performances de la biodégradation doivent permettre de valider sa faisabilité technique à une échelle pilote, plus proche des conditions réelles de traitement.

4.1. Essais de biodégradation

Pour les sols ayant satisfait aux essais d'orientation, et en fonction des paramètres limitant examinés dans le cadre de la présélection des techniques repris dans les logigrammes de la phase d'orientation, les essais de biodégradation (évaluation des performances) pourront être mis en œuvre, dans le cas de pollution par des hydrocarbures pétrolier ou des HAP :

- en lit fixe dans le cas où un traitement par biotertre ou landfarming serait envisagé,
- en réacteur agité (type slurry) dans le cas où un traitement en bioréacteur sera envisagé.

Dans le cas de pollution par des solvants chlorés, le traitement en bioréacteur sera simulé par un dispositif en fioles fermées.

4.1.1. Essais en lit fixe

Les essais sont effectués dans des flacons en verre, étanches, d'un volume total de 2 litres.

Les quantités de terres mises en œuvre sont de 125 g auxquelles sont ajoutés 125 g de sable, non pollué, humidifié au préalable par du milieu synthétique renfermant azote et phosphore. L'humidité du mélange terre-sable est réglée de façon à

obtenir un taux de l'ordre de 17 %. L'ajout de sable évite le "mottage" de la terre lors des périodes de remuage du sol et permet d'obtenir une meilleure circulation des flux (eau et air) à l'intérieur de la terre.

L'atmosphère gazeuse du flacon est renouvelée chaque jour pendant les deux premières semaines, puis une fois par semaine ensuite, en ouvrant le flacon.

Les essais doublés sont conduits sur une durée de 3 mois. Le bilan de biodégradation est effectué en fin d'essai, par extraction de la totalité du mélange terre-sable et analyse en CPG.

En référence, des tests abiotiques sont réalisés dans les mêmes conditions expérimentales, en présence de chlorure mercurique.

Les résultats de l'évaluation sont fournis en termes de :

- vitesse de biodégradation afin de calculer, avec un facteur correctif, la durée du traitement,
- niveau résiduel de pollution pour comparaison avec les objectifs de remédiation fixés.

4.1.2. Essais en mode slurry

Cette évaluation est pratiquée dans des conditions proches de celles que l'on met en œuvre en bioréacteur.

Les essais sont réalisés dans un respiromètre de type Sapromat dans lequel 40 g de terre sont mis en suspension dans l'eau (mode slurry) dans les conditions optimales définies par les essais d'orientation (apport de minéraux nutritif ou d'une flore exogène de référence).

La biodégradation est suivie par la consommation d'oxygène mesurée en continu, en fonction du temps, jusqu'à l'obtention d'un plateau signifiant l'arrêt de tout processus métabolique.

En divisant par 3 la consommation en oxygène, on obtient sensiblement la quantité d'hydrocarbures dégradés.

Les polluants sont analysés, en début et en fin du test de biotraitabilité, par chromatographie en phase gazeuse. Des tests abiotiques de référence sont réalisés dans les mêmes conditions expérimentales.

Les résultats de l'évaluation sont fournis en termes de :

- vitesse de biodégradation afin de calculer, avec un facteur correctif, la durée du traitement,
- niveau résiduel de pollution pour comparaison avec les objectifs de remédiation fixés.

4.1.3. Essais en colonne en mode in situ

Les essais sont conduits sur des colonnes pouvant contenir de 5 à 12 kg de terre selon les modèles.

La Figure ci-après représente le système pilote et le matériel associé mis en place sur les colonnes d'essai utilisées lors de cette étape.

Ce type de dispositif permet de simuler le traitement in situ d'une pollution située en zone saturée ou en zone non saturée. Il permet également l'injection de réactifs (nutriments, accepteur d'électrons, substrat inducteur) sous forme liquide ou gazeuse dans le sol. Le contact des réactifs liquides avec la pollution sera optimisé par une injection de la solution en bas de colonne de manière à noyer la colonne de sol par la solution. La colonne est ensuite vidangée si le dispositif doit représenter une pollution en zone non saturée.

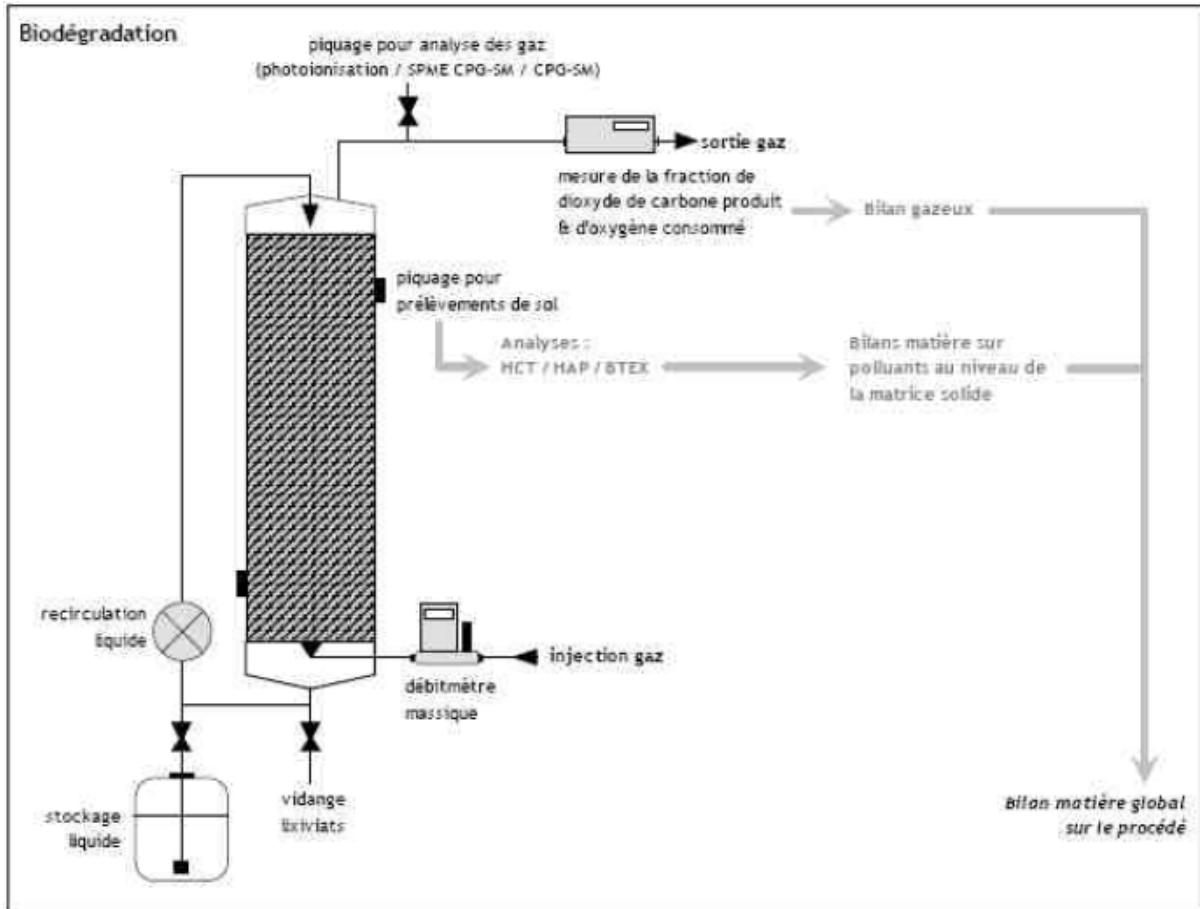


Figure 4 : Schéma général du système pilote utilisé pour la réalisation des essais d'évaluation des performances de la biodégradation *in situ*

Les concepts généraux et les essais mis en œuvre lors de cette étape sont présentés ci-dessous.

Biostimulation par apport d'accepteurs d'électrons

L'oxygène, principal accepteur d'électrons, est indispensable à la dégradation aérobie des composés organiques. Or, l'accepteur d'électrons constitue le plus souvent le principal facteur limitant des mécanismes de biodégradation. Dans le cadre de traitements biologiques, ce facteur limitant peut être écarté par un apport en continu d'oxygène sous forme gazeuse ou sous forme d'agent oxygéné libérant de l'oxygène dissout dans le milieu à traiter. Lorsque la pollution à traiter se situe en zone non saturée, les traitements par bioventing mettent en jeu une injection d'air pour apporter l'oxygène aux microorganismes, permettant ainsi d'augmenter les rendements de biodégradation. Lorsque la pollution à traiter se situe en zone saturée, l'oxygène peut être apporté également par injection d'air (air sparging) ou par injection d'agents oxygénés comme par exemple des peroxydes de magnésium, de calcium, voire d'hydrogène.

Biostimulation par apport de nutriments

Bien que nécessaires en quantités moindres que la source de carbone, les nutriments sont indispensables au développement et a fortiori aux activités cataboliques des microorganismes.

Parmi les principaux nutriments, on peut citer l'azote, le phosphore et les éléments traces tels que le potassium, le calcium, le sodium, le magnésium... Si certains de ces éléments sont en quantités trop faibles dans la matrice à traiter, il est envisageable d'apporter un complément pour favoriser le développement bactérien. Pour ce faire, un milieu minéral est réalisé : il s'agit d'une solution aqueuse contenant les nutriments précités (Na_2HPO_4 à 3 g/l, KH_2PO_4 à 2 g/l, NH_4NO_3 à 1 g/l, KCl à 0,7 g/l...).

Ce milieu minéral est ensuite injecté de façon séquentielle dans la matrice à traiter.

Bioaugmentation

Le sol contient naturellement des microorganismes, qualifiés d'endogènes. Le plus souvent, lorsqu'un sol est impacté par une pollution, la microflore présente évolue : certaines familles de microorganismes disparaissent (toxicité des polluants, incapacité à se développer dans le nouvel environnement...), d'autres survivent en présence des polluants et certaines mettent à profit la présence de ces nouvelles molécules carbonées en les utilisant pour leur développement. Ce sont ces dernières qui sont actives et sollicitées dans les procédés de bioremédiation. En revanche, si ces bactéries ne se développent pas suffisamment dans les terres à traiter, il est envisageable d'opter pour une approche par bioaugmentation. Le principe est d'apporter dans les sols une quantité plus importante de microorganismes pour accélérer les phénomènes de biodégradation. Soit ce sont les microorganismes endogènes qui sont isolés, cultivés et réinjectés en plus grande quantité ; soit un autre consortium bactérien exogène, dont les capacités de biodégradation envers les polluants d'intérêt sont connues, est utilisé pour accélérer les rendements de biodégradation.

Dans tous les cas, la dégradation biologique de la pollution est vérifiée par le suivi du bilan carbone et oxygène en identifiant les métabolites produits par l'activité biologique, présents dans les gaz ou solutions au contact de la pollution. La teneur résiduelle du sol en polluants est également suivie par un prélèvement ponctuel en au moins deux points de la colonne (un point haut et un point bas), en début et en fin d'essai et éventuellement à un stade intermédiaire.

4.2. Valeurs "guides"

À l'issue des essais de biodégradation, la traitabilité biologique de la pollution est évaluée par la vérification de l'atteinte des objectifs fixés en terme de teneur en polluants, de disponibilité des polluants, de durée de traitement. L'évaluation sera ensuite complétée en terme d'écotoxicité directe et indirecte du sol traité.

Les valeurs guide des paramètres d'évaluation sont fixées par les objectifs de traitement retenus. Pour mémoire, l'US EPA a fixé comme objectif de décontamination des sols pollués par des hydrocarbures pétroliers, des teneurs en BTEX et hydrocarbures totaux dans les lixiviats, préparés selon une procédure standardisée, respectivement égales à 1 mg/L et 100 mg/L.

5. Synthèse des résultats

Les résultats de faisabilité de ces techniques sur la base des essais d'orientation et de l'évaluation des performances du traitement par stabilisation physico-chimiques sont présentés selon le modèle de fiche ci-dessous.

DESCRIPTION DE LA PROBLEMATIQUE RENCONTREE ET DE L'USAGE PREVU	Typologie de pollution, caractéristiques du sol, du site, cibles à protéger, voies de transfert
OBJECTIFS DE REHABILITATION RECHERCHES	Réduction des risques sanitaires Réduction des risques environnementaux Réduction des nuisances et autres risques
RESULTATS DES ESSAIS D'ORIENTATION	<i>Passage à l'évaluation des performances</i> <i>Abandon de cette technique</i>
RESULTATS DE L'EVALUATION DES PERFORMANCES	<i>Technique applicable</i> <i>Technique non applicable</i>
COMPARAISON DES PERFORMANCES Teneur résiduelle / objectifs Concentration disponible / objectifs Ecotoxicité Aptitude à un support végétal /objectifs Durée de traitement / objectifs	
EQUIPEMENT COMPLEMENTAIRE NECESSAIRE (gestion des effluents)	
COMMENTAIRE	