

Titre: Modélisation des interactions entre constituants d'une
Title: contamination organique mixte (créosote) lors de son transport et
sa biodégradation en milieu poreux saturé

Auteur: Leila Gribaa
Author:

Date: 2006

Type: Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis

Référence: Gribaa, L. (2006). Modélisation des interactions entre constituants d'une
Citation: contamination organique mixte (créosote) lors de son transport et sa
biodégradation en milieu poreux saturé [Thèse de doctorat, École Polytechnique
de Montréal]. PolyPublie. <https://publications.polymtl.ca/7766/>

 **Document en libre accès dans PolyPublie**
Open Access document in PolyPublie

URL de PolyPublie:
PolyPublie URL: <https://publications.polymtl.ca/7766/>

**Directeurs de
recherche:** Robert P. Chapuis, & Denis Millette
Advisors:

Programme: Non spécifié
Program:

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

MODÉLISATION DES INTERACTIONS ENTRE CONSTITUANTS D'UNE
CONTAMINATION ORGANIQUE MIXTE (CRÉOSOTE) LORS DE SON
TRANSPORT ET SA BIODÉGRADATION EN MILIEU POREUX SATURÉ

LEILA GRIBAA

DÉPARTEMENT DES GÉNIES CIVIL, GÉOLOGIQUE ET DES MINES
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

THÈSE PRÉSENTÉE EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLÔME DE PHILOSOPHIAE DOCTOR (Ph.D.)
(GÉNIE CIVIL)
JUN 2006

© Leila Gribaa, 2006.



Library and
Archives Canada

Bibliothèque et
Archives Canada

Published Heritage
Branch

Direction du
Patrimoine de l'édition

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file Votre référence

ISBN: 978-0-494-20826-7

Our file Notre référence

ISBN: 978-0-494-20826-7

NOTICE:

The author has granted a non-exclusive license allowing Library and Archives Canada to reproduce, publish, archive, preserve, conserve, communicate to the public by telecommunication or on the Internet, loan, distribute and sell theses worldwide, for commercial or non-commercial purposes, in microform, paper, electronic and/or any other formats.

The author retains copyright ownership and moral rights in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

AVIS:

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque et Archives Canada de reproduire, publier, archiver, sauvegarder, conserver, transmettre au public par télécommunication ou par l'Internet, prêter, distribuer et vendre des thèses partout dans le monde, à des fins commerciales ou autres, sur support microforme, papier, électronique et/ou autres formats.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms may have been removed from this thesis.

Conformément à la loi canadienne sur la protection de la vie privée, quelques formulaires secondaires ont été enlevés de cette thèse.

While these forms may be included in the document page count, their removal does not represent any loss of content from the thesis.

Bien que ces formulaires aient inclus dans la pagination, il n'y aura aucun contenu manquant.


Canada

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Cette thèse intitulée :

MODÉLISATION DES INTERACTIONS ENTRE CONSTITUANTS D'UNE
CONTAMINATION ORGANIQUE MIXTE (CRÉOSOTE) LORS DE SON
TRANSPORT ET SA BIODÉGRADATION EN MILIEU POREUX SATURÉ

présentée par : GRIBAA Leila

en vue de l'obtention du diplôme de : Philosophiae Doctor

a été dûment acceptée par le jury d'examen constitué de :

Mme MILLETTE Louise, Ph.D., présidente

M. CHAPUIS Robert, D.Sc.A., membre et directeur de recherche

M. MILLETTE Denis, Ph.D., membre et codirecteur de recherche

M. ZAGURY Gérald, Ph.D., membre

M. MARTEL Richard, Ph.D., membre

REMERCIEMENTS

Ma reconnaissance s'adresse d'abord à l'école, plus particulièrement à la direction de l'encadrement, qui a fait en sorte que ce projet de doctorat aboutisse. J'exprime ma gratitude au professeur Robert Chapuis, mon directeur de recherche, qui a accepté de prendre en charge la suite de ce projet et qui m'a soutenu financièrement et humainement.

Je remercie le professeur associé Denis Millette, mon co-directeur de recherche, qui avec l'aide de l'école, a su trouver les ressources pour donner une autre vie à ce projet et pour sa contribution financière à sa poursuite.

Je remercie l'associé de recherche John Molson, pour sa disponibilité et pour le précieux encadrement qu'il m'a prodigué dans le domaine du transport des contaminants. Sa connaissance des méthodes numériques et sa grande expertise dans la modélisation ont été d'un apport estimable pour l'accomplissement de ce projet.

Je remercie, les professeurs, Réjean Samson et Louise Deschênes, pour les conditions matérielles qu'ils ont su fournir pendant les quatre premières années de ce projet de doctorat. Je remercie les partenaires de l'ancienne chaire en assainissement et gestion des sites pour leur aide financière. Je remercie Manon Leduc, pour son encadrement et pour son aide à maintenir les meilleures conditions de travail au laboratoire. Je tiens à témoigner ma profonde gratitude à Lucie Jean, pour son aide précieuse au laboratoire, pour ses précieux conseils en microbiologie, pour sa présence, son écoute et son amitié.

Je remercie mes collègues étudiants et post-doc de l'ancienne chaire en assainissement et gestion des sites : Sabria, Françoise, Simona, Carmen ... Une pensée particulière pour mon amie Carmen, qui a su partager généreusement ses connaissances et qui a fourni un terrain de discussion et d'échange fertile sur les

différents aspects de nos projets mutuels. Sa présence, ses qualités humaines et son amitié ont été d'une aide précieuse dans la poursuite de ce projet.

Je remercie Jalal Al-Hawari, chef de groupe, chimie environnementale et analytique de l'IRB, qui a mis à ma disposition les moyens nécessaires à la réalisation d'une partie des analyses chimiques. Je remercie Mme Chantale Beaulieu de l'IRB qui m'a suivi et conseillé lors de la réalisation de ces analyses.

Enfin, je remercie ma famille pour sa présence même en étant si loin et son soutien inconditionnel. A Oualid, mon futur époux, pour la présence attentionnée et le soutien sans faille...Merci.

RÉSUMÉ

L'intervention des interactions lors de la biodégradation des contaminants de la créosote dans un aquifère pollué a été étudiée qualitativement en conditions anoxiques et évaluée quantitativement par la modélisation des effets d'interactions en conditions de transport couplé à la biodégradation. Cette étude a été réalisée en trois parties : une expérience de biodégradation en batch pour identifier les interactions en conditions réductrices de nitrates, une modélisation visant à identifier les interactions à partir des données d'expérience, en dernier une modélisation visant à mesurer les situations d'intervention des interactions et leur impact dans un milieu aquifère.

Des essais de biodégradation en batch ont été réalisés pour vérifier si des interactions entre contaminants de la créosote ont lieu en conditions réductrices de nitrates. Des essais préalables avec les contaminants individuels ont montré un potentiel de biodégradation des o- et p-crésol, indole, et carbazole en conditions réductrices de nitrates. Les essais visant à déterminer les interactions et réalisés suivant un plan factoriel avec des mélanges de contaminants, n'ont pas donné de résultats probants quant à la présence d'interactions entre les contaminants. Par contre, des effets d'interaction sur la réduction des nitrates ont pu être mis en évidence. Une stimulation de l'utilisation des nitrates par les composés phénoliques (o-crésol + p-crésol) et une inhibition par les composés hétérocycles (dibenzofurane + dibenzothiophène) ont été observées. Les interactions entre contaminants n'ayant pas été observées, des données de biodégradation en colonnes (par Millette et al., 1998) impliquant des mélanges de contaminants de la créosote ont été utilisées pour la suite de l'étude.

Pour identifier les interactions par la modélisation, deux types d'interactions ont été intégrés dans un modèle de transport existant (BIONAPL), une inhibition compétitive et une co-utilisation (utilisation simultanée) en présence de différentes populations bactériennes actives. Le modèle ainsi modifié a été utilisé comme un outil d'identification ou de confirmation des interactions vraisemblables qui ont lieu dans les colonnes de Millette et al. (1998). Une détermination préalable des paramètres de biodégradation des contaminants individuels a été réalisée à partir de données de minéralisation des contaminants et en utilisant une autre version du

modèle modifié. La procédure d'identification des interactions a consisté d'abord en une comparaison des concentrations mesurées et celles obtenues par modélisation d'une biodégradation sans interactions. Elle est suivie par une adoption d'hypothèses sur les effets d'interaction présents, une modélisation de ces interactions avec ajustement des courbes des concentrations mesurées. Finalement, la vraisemblance des hypothèses adoptées est évaluée, menant à une validation des effets que la modélisation a pu reproduire.

Cette méthodologie a permis d'identifier dans les essais de Millette et al. (1998) certains effets qui n'avaient pu être déduits par ces auteurs. Elle a permis d'identifier les substrats de croissance (phenanthrène) et les substrats de non croissance (fluorène et carbazole). A court terme, des effets d'inhibition ont été identifiés du carbazole par le fluorène (mortalité bactérienne) et entre carbazole et phenanthrène (retard du début de la biodégradation). Une co-utilisation du carbazole et fluorène par le phenanthrène ou ses métabolites (avec effets de compétition) a été déduite. A long terme, une mortalité des dégradeurs du carbazole en présence de fluorène ou de phenanthrène a été aussi notée.

Dans la suite, une analyse des situations où les interactions peuvent se produire dans un aquifère a été réalisée en simulant une contamination hypothétique d'un aquifère par une phase liquide non aqueuse. Cette source est constituée d'un mélange binaire de classes de contaminants de la créosote. L'analyse réalisée en absence de biodégradation a montré que, plus les coefficients de retard des classes sont proches, plus la surface de contact (zone de contact) entre panaches de contamination, où les interactions sont susceptibles d'avoir lieu, est importante. Si les classes sont de solubilités liquides proches, la fraction molaire initiale d'une classe à la source peut influencer les interactions par des concentrations dominantes sur une plus grande surface de la zone de contact entre panaches de contamination. La masse de contaminants à la source peut influencer les interactions car plus elle est importante et plus l'étendue de la zone de contact entre panaches est importante et plus les concentrations des classes y sont élevées.

En présence d'une biodégradation influencée par une interaction de type inhibition ou co-utilisation, l'analyse a permis de montrer qu'il serait important de tenir compte des interactions pour des classes de contaminants de mobilités proches

dans les situations suivantes : lorsque la classe la moins facilement biodégradable (classe la plus persistante dans la zone de contact entre panaches en absence d'interactions) est responsable d'une inhibition, ou lorsque la classe la plus facilement biodégradable (classe la moins persistante dans la zone de contact entre panaches en absence d'interactions) est responsable d'une co-utilisation. Il serait également important de tenir compte de la limitation du milieu en accepteur d'électrons qui a pour effet de modifier l'impact des interactions.

ABSTRACT

The occurrence of substrate interactions in a creosote contaminated groundwater was qualitatively investigated under anoxic conditions and quantitatively assessed by modeling interaction effects during contaminant transport and biodegradation. This study included three sections: a batch test experiment to screen interactions under nitrate-reducing conditions, a numerical modeling to identify interactions from experimental data, and a numerical modeling to identify situations where interactions can occur and evaluate their impact under field conditions.

Batch biodegradation tests were carried out to screen interactions under nitrate reducing conditions. Preliminary tests with individual contaminants showed biodegradation of o-cresol, p-cresol, indole and carbazole under nitrate reducing conditions. Screening tests with contaminant mixtures following a factorial design did not allow identification of interactions among contaminant species. On the other hand, interaction effects on nitrate reduction were observed. Stimulation of nitrate utilization by phenolic compounds (o-cresol + p-cresol) and inhibition by heterocyclic compounds (dibenzofurane + dibenzothiophene) were observed. As no contaminant interactions have been observed, biodegradation data of creosote contaminant mixtures in column systems (by Millette and al., 1998) were used for the continuation of the study.

Two types of interactions were introduced in a transport model (BIONAPL) to identify interactions by modeling: 1) a competitive inhibition and 2) a co-utilization (simultaneous biodegradation), with multiple active bacterial populations. The modified model was used as a tool to identify or confirm interactions in the columns of Millette and al. (1998). An estimation of the biodegradation parameters of the individual contaminants was carried out using data of mineralization tests and another version of the modified model. The identification of interactions was conducted in a three-step approach. The first step consisted of the comparison of the measured contaminant concentrations in the columns with the concentrations obtained by modeling biodegradation without interactions. This comparison allowed making assumptions relative to the interaction effects present. In a second step, biodegradation modeling was carried out by calibrating the measured

concentration curves to the actual concentration curves by adjusting interaction variables. In a third step, the validity of the assumptions was made was evaluated with a validation of the interaction effects reproduced by the model.

This methodology allowed the identification of some interaction effects in the experiments of Millette and al. (1998) previously not deduced by these authors. It allowed the identification of growth substrates (phenanthrene) and non-growth substrates (fluorene and carbazole). In the short term, inhibition of carbazole by fluorene (bacterial mortality) and between carbazole and phenanthrene (lag time before biodegradation) was identified, and a co-utilization of carbazole and fluorene by phenanthrene or its metabolites (with competition effects) was also deduced. In the long term, the observed effect was a mortality of the carbazole degraders in the presence of fluorene or phenanthrene.

Finally, an analysis of the situations where interactions can occur under field conditions was carried out by simulating a hypothetical aquifer contamination by a non-aqueous liquid phase (NALP). The source consisted of a binary mixture of creosote contaminant classes. The analysis without biodegradation showed that the closer the retardation coefficient of the classes, the greater the surface contact (contact zone) between plumes of contamination, where interactions are likely to occur. If the classes have similar liquid solubilities, the initial molar fraction of the class in the source can influence the interactions with higher concentrations in the contact zone between contamination plumes. The mass of contaminants in the source can influence interactions as follows: The greater the mass in the source, the greater the extent of the contact zone and the concentration of the class of contaminant in this zone.

The analysis showed that when biodegradation is influenced by inhibition or co-utilization, it would be important to take into account interactions for contaminant classes of similar retardation, and in the following situations: when the least easily biodegradable class (the most persistent class in the contact zone between plumes in the absence of interactions) produces an inhibition, or when the most easily biodegradable class (the least persistent class in the contact zone between plumes in the absence of interactions) is responsible for a co-utilization. It would also be

important to take into account the availability of electron acceptors in the medium, which modifies the impact of the interactions on contaminant removal.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	IV
RÉSUMÉ.....	VI
ABSTRACT	IX
TABLE DES MATIÈRES	XII
LISTE DES TABLEAUX	XVI
LISTE DES FIGURES	XVIII
LISTE DES ANNEXES	XXVI
LISTE DES SYMBOLES	XXVII
CHAPITRE I INTRODUCTION ET REVUE DE LITTÉRATURE.....	1
1.1.1 Hypothèse de recherche.....	3
1.1.2 Objectifs.....	3
1.2 Mécanismes de biodégradation et de croissance bactérienne.....	6
1.2.1 Croissance bactérienne et biodégradation en présence d'un substrat limitant .6	
1.2.1.1 Dynamique de la croissance bactérienne et de la biodégradation.....	6
1.2.1.2 Cinétiques de croissance et de biodégradation	8
1.2.2 Croissance bactérienne et biodégradation en présence de plusieurs substrats limitants	11
1.3 Interactions lors de la biodégradation de mélanges de substrats organiques	13
1.3.3 Cas de la créosote.....	25
1.4.2 Modèles tenant compte de la dissolution des contaminants à la source.....	37
1.5 Résumé	39

CHAPITRE II IDENTIFICATION DES INTERACTIONS ENTRE CONTAMINANTS MODELES DE LA CREOSOTE LORS DE LEUR BIODEGRADATION EN CONDITIONS REDUCTRICES DE NITRATE41

2.1	Introduction.....	41
2.2	Essais de biodégradation avec le sol de Borden	42
2.2.1	Méthodologie expérimentale	42
2.2.1.1	Le sol	42
2.2.1.2	Les contaminants.....	43
2.2.1.3	Préparation des solutions mères contaminées.....	45
2.2.1.4	Préparation et suivi des microcosmes	46
2.2.2	Résultats.....	51
2.2.2.1	Essais avec les contaminants individuels	51
2.2.2.2	Essais avec les mélanges de contaminants	56
2.3	Essais de biodégradation avec le mélange des sols de Borden et Bagotville	57
2.3.1	Méthodologie expérimentale	57
2.3.1.1	Le sol	57
2.3.1.2	Les contaminants.....	58
2.3.1.3	Préparation et suivi des microcosmes	58
2.3.2	Résultats.....	61
2.3.2.1	Essais avec les contaminants individuels	61
2.3.2.2	Essais avec les mélanges de contaminants	63
2.4	Discussion et conclusions.....	74

CHAPITRE III MODELISATION DES INTERACTIONS ENTRE SUBSTRATS DURANT LE TRANSPORT ET BIODEGRADATION D'UNE CONTAMINATION ORGANIQUE MIXTE EN MILIEU POREUX .78

3.1	Introduction.....	78
3.2	Méthode.....	79
3.2.1	BIONAPL - Modélisation du transport couplé à la biodégradation	80
3.2.1.1	Équations de base du modèle.....	80
3.2.1.2	BIONAPL modifié - Modélisation de la minéralisation en batch	84

3.2.1.3	BIONAPL modifié – Modélisation des interactions lors du transport.....	85
3.2.2	Données de laboratoire et objectifs de la modélisation.....	94
3.2.2.1	Essais de minéralisation en batch.....	94
3.2.2.2	Essais de biodégradation en colonne.....	95
3.3	Résultats	98
3.3.1	Détermination des paramètres de biodégradation des contaminants individuels	98
3.3.1.1	Estimation de la biomasse, de la mortalité et du rendement bactérien.....	98
3.3.1.2	Estimation du rendement en CO ₂	103
3.3.1.3	Détermination des paramètres de biodégradation k_{\max}^{α} et K_C^{α}	105
3.3.1.4	Validation des paramètres de biodégradation en colonnes.....	110
3.3.2	Identification des interactions vraisemblables dans les essais en colonnes .	117
3.3.2.1	Interactions entre carbazole et fluorène (R2).....	119
3.3.2.2	Interactions entre carbazole et phenanthrène (R3).....	123
3.3.2.3	Interactions entre carbazole, fluorène et phenanthrène (R4r).....	128
3.3.2.4	Interactions entre carbazole, fluorène, phenanthrène et p-crésol (R4p)....	134
3.4	Discussion et conclusions.....	144

CHAPITRE IV ANALYSE DES FACTEURS CONTROLANT LES INTERACTIONS ENTRE SUBSTRATS DURANT LE TRANSPORT ET BIODEGRADATION D'UNE CONTAMINATION MIXTE DANS UN MILIEU AQUIFERE150

4.1	Objectifs	150
4.2	Méthode.....	151
4.2.1	Description du cas de figure simulé.....	151
4.2.2	Définition des paramètres d'analyse	155
4.3	Simulations et analyse.....	157
4.3.1	Comportement du système étudié.....	158
4.3.2	Étude de l'influence des caractéristiques de la source	161
4.3.2.1	Influence des solubilités	162
4.3.2.2	Influence des fractions molaires à la source	166

4.3.2.3	Influence du contenu massique de la source.....	174
4.3.2.4	Conclusions.....	182
4.3.3	Étude de l'influence des interactions	184
4.3.3.1	Effet de la biodégradation sans interactions	186
4.3.3.2	Effet de l'inhibition	188
4.3.3.3	Effet d'une co-utilisation	199
4.3.3.4	Conclusions.....	209
CHAPITRE V CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS		212
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....		218
ANNEXES.....		235

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1-1 Expressions de cinétiques de croissance normalisées proposées dans la littérature	10
Tableau 2-1 Propriétés des contaminants étudiés.....	44
Tableau 2-2 Concentrations utilisées dans les essais de biodégradation et de minéralisation des contaminants individuels avec le sol de Borden	47
Tableau 2-3 Premier bloc ^a de traitements du plan factoriel avec le sol de Borden....	49
Tableau 2-4 Concentrations des contaminants dans le plan factoriel avec le sol de Borden.....	50
Tableau 2-5 Comparaison entre les masses théoriques de nitrates nécessaires pour biodégrader les contaminants d'intérêt et les masses réelles consommées lors des essais réalisés avec le sol de Borden.....	56
Tableau 2-6 Bloc de traitements ^a du plan factoriel avec le mélange des sols de Borden et Bagotville	60
Tableau 2-7 Concentrations des contaminants dans le plan factoriel avec le mélange des sols de Borden et Bagotville.....	60
Tableau 2-8 Comparaison entre les masses théoriques de nitrates nécessaires pour biodégrader carbazole et phénanthrène et les masses réelles consommées, lors des essais avec le mélange des sols de Borden et Bagotville	63
Tableau 2-9 Effets principaux et effets d'interactions des facteurs pour le plan factoriel réalisé avec le mélange des sols de Borden et Bagotville	68
Tableau 2-10 Activités de biodégradation et de minéralisation observées en conditions réductrices de nitrates en présence du sol de Borden et du mélange des sols de Borden et Bagotville.....	74
Tableau 2-11 Résumé des effets observés lors des essais de biodégradation de mélanges de contaminants de la créosote en présence du mélange des sols de Borden et Bagotville	76
Tableau 3-1 Concentrations initiales de contaminants utilisées dans les essais de minéralisation	95
Tableau 3-2 Liste des contaminants injectés dans les colonnes à modéliser et leur concentration dans l'affluent.....	96

Tableau 3-3 Discrétisation spatiale de la colonne de Millette et al. (1998).....	97
Tableau 3-4 Récapitulatif des paramètres de biodégradation des contaminants estimés et ajustés à partir des courbes de minéralisation	109
Tableau 3-5 Effets des contaminants sur la croissance bactérienne, déduits par la modélisation	145
Tableau 3-6 Résumé des interactions identifiées par la modélisation et comparaison avec celles identifiées par Millette et al. (1998) en utilisant l’outil statistique.....	146
Tableau 4-1 Discrétisation du domaine d’étude.....	151
Tableau 4-2 Données hydrogéologiques du site de Borden.....	153
Tableau 4-3 Descriptif des classes de contaminants identifiées dans la créosote	154
Tableau 4-4 Paramètres liés à la PLNA	155
Tableau 4-5 Paramètres utilisés pour étudier l’influence des propriétés de la source	162
Tableau 4-6 Paramètres de biodégradation des classes de contaminants CL4 et CL5	185
Tableau 4-7 Paramètres d’interactions utilisés pour l’étude de l’effet de l’inhibition et de la co-utilisation.....	185
Tableau 5-1 Caractéristiques du sol de l’aquifère de Borden (d’après Mackay et al., 1986).....	236
Tableau 5-2 Caractéristiques de l’eau souterraine du site de Borden (d’après Mackay et al., 1986).....	236
Tableau 5-3 Paramètres de partition des contaminants modélisés	246
Tableau 5-4 Calcul de la biomasse qui s’est développé dans la colonne R4p entre le temps $t = 0$ j et $t = 60$ j.....	252
Tableau 5-5 Calcul de la masse de p-crésol injectée dans la colonne entre 0 et 60 j d’expérience	253
Tableau 5-6 Liste des contaminants des différentes classes de la créosote définies en fonction des solubilités liquides des contaminants.	259

LISTE DES FIGURES

Figure 1-1 Schéma des phases de croissance d'une culture bactérienne, évolution dans le temps de la masse cellulaire et de la concentration en substrat (d'après Bellgardt, 1991).	8
Figure 1-2 Exemples de schémas de variation des concentrations des substrats lorsqu'ils sont biodégradés simultanément ou séquentiellement.	15
Figure 1-3 Exemples de contaminants appartenant aux trois classes de la créosote. .	27
Figure 2-1 Minéralisation et biodégradation, avec le sol de Borden, du p-crésol (Pc) et o-crésol (Oc) et consommation de nitrates observée.	52
Figure 2-2 Minéralisation et biodégradation de l'indole (Ind), biodégradation du naphthalène (Nap) avec le sol de Borden et consommation de nitrate observée.	53
Figure 2-3 Minéralisation et biodégradation, avec le sol de Borden, du Fluorène (Fluo) et Carbazole (Carb) et consommation de nitrates observée.	54
Figure 2-4 Minéralisation du carbazole et phenanthrène avec le mélange des sols de Borden et Bagotville et consommation de nitrate observée.	62
Figure 2-5 Consommation de nitrate dans un témoin biotique constitué d'un milieu MSM sans contaminants avec le mélange des sols de Borden et Bagotville. .	62
Figure 2-6 Variation des concentrations des nitrates et nitrites dans les traitements 1 à 4 du plan factoriel réalisé avec le mélange des sols de Borden et Bagotville (Tableau 2-6); HAP= (Fluo+Phen), HET=(Dbf+Dbt) , OPC=(Pc+Oc); (+) et (-) étant les modalités des facteurs ;	66
Figure 2-7 Variation des concentrations des nitrates et nitrites dans les traitements 5 à 8 du plan factoriel réalisé avec le mélange des sols de Borden et Bagotville (Tableau 2-6); HAP= (Fluo+Phen), HET=(Dbf+Dbt) , OPC=(Pc+Oc); (+) et (-) étant les modalités des facteurs ;	67
Figure 2-8 Effets observés sur la consommation de nitrates et la production de nitrites (avec le mélange des sols de Borden et Bagotville) : Effets des facteurs principaux HAP = (Fluo+Phen), HET=(Dbf+Dbt) et OPC=(Pc+Oc)	70
Figure 2-9 Effets observés sur la consommation de nitrates et la production de nitrites (avec le mélange des sols de Borden et Bagotville) : Interactions à deux facteurs HAPxHET, OPCxHET et OPCxHAP.	71

Figure 3-1 Schéma de la structure de base du modèle BIONAPL (A) et de la structure du modèle modifié (B).....	86
Figure 3-2 Variation de la concentration de deux contaminants (C^1 et C^2) lorsque biodégradés par une même population bactérienne (A) ou par deux populations spécifiques (B) ; ($k_{max}^1 = 1,8 \text{ j}^{-1}$, $k_{max}^2 = 1,0 \text{ j}^{-1}$, $K_c^1 = K_c^2 = 10^{-3} \text{ g/l}$, $Y^0 = Y^1 = Y^2 = 0,5$)	88
Figure 3-3 Comparaison du modèle BIONAPL et du modèle VERIF1 simulant la biodégradation de deux contaminants (C^1 et C^2) en absence d'inhibition (A) ; avec inhibition de C^2 par C^1 (B) ; avec inhibition de C^1 par C^2 (C) ; avec inhibition mutuelle entre C^1 et C^2 (D) ; ($k_{max}^1 = 1,8 \text{ j}^{-1}$, $k_{max}^2 = 1,0 \text{ j}^{-1}$, $K_c^1 = K_c^2 = 10^{-3} \text{ g/l}$, $Y^1 = Y^2 = 0,5$, $K_i^{1/2} = K_i^{2/1} = 10,0$)	91
Figure 3-4 Comparaison du modèle BIONAPL et du modèle VERIF2 simulant la biodégradation de deux contaminants (C^1 et C^2) en absence de co-utilisation (A) ; avec co-utilisation de C^1 avec C^2 (B) ; avec co-utilisation de C^2 avec C^1 (C); ($k_{max}^1 = 1,8 \text{ j}^{-1}$, $k_{max}^2 = 1,0 \text{ j}^{-1}$, $K_c^1 = K_c^2 = 10^{-3} \text{ g/l}$, $Y^1 = Y^2 = 0,5$, $\alpha_{co}^{1/2} = \alpha_{co}^{2/1} = 10,0$)	94
Figure 3-5 Schéma de la colonne de sol réalisée par Millette et al. (1998); de diamètre intérieur de 7,2 cm ; avec des ports d'échantillonnage (P1, P2, P3) situés à 3,8, 21,6 et 39,4 cm du début du sol.....	96
Figure 3-6 Variation théorique en fonction du temps de la concentration d'un contaminant à un point d'échantillonnage de la colonne, pour diverses valeurs du rendement bactérien ($b = 10^{-2} \text{ j}^{-1}$ pour $Y \neq 0$ et $b = 0$ pour $Y = 0$).	101
Figure 3-7 Variation de la concentration en fonction du temps du carbazole, fluorène et phenanthrène au Port P1 d'échantillonnage des colonnes. Les concentrations d'injection sont (Carb+) $1,66 \cdot 10^{-4} \text{ g/l}$, (Fluo-) $4,8 \cdot 10^{-5} \text{ g/l}$, (Fluo+) $2,38 \cdot 10^{-4} \text{ g/l}$, (Phen-) $3,3 \cdot 10^{-5} \text{ g/l}$, (Phen+) $1,65 \cdot 10^{-4} \text{ g/l}$, (Pc+) 10^{-2} g/l	102
Figure 3-8 Compte total des bactéries cultivables en fonction du temps au trois ports d'échantillonnage de la colonne R4p (d'après (Hosein et al., 1997)).	103
Figure 3-9 Position des atomes de carbones dans les molécules de phenanthrène et fluorène.....	104

Figure 3-10 Courbes de minéralisation du carbazole et courbes ajustées par BIONAPL pour des concentrations initiales de (Carb+) $1,71 \times 10^{-4}$ g/l, (Carb-) $3,70 \times 10^{-5}$ g/l.....	107
Figure 3-11 Courbes de minéralisation du fluorène et courbes ajustées par BIONAPL pour des concentrations initiales de (Fluo+) $2,44 \times 10^{-4}$ g/l, (Fluo-) $4,97 \times 10^{-5}$ g/l.....	107
Figure 3-12 Courbes de minéralisation du phenanthrène et courbes ajustées par BIONAPL pour des concentrations initiales de (Phen+) $1,64 \times 10^{-4}$ g/l, (Phen-) $3,30 \times 10^{-5}$ g/l.....	108
Figure 3-13 Courbes de minéralisation du p-crésol et courbes ajustées par BIONAPL pour des concentrations initiales de (Pc+) $1,38 \times 10^{-1}$ g/l, (Pc-) $2,76 \times 10^{-2}$ g/l.....	108
Figure 3-14 Comparaison des concentrations de carbazole mesurées dans la colonne CTRL et calculées par BIONAPL en utilisant les paramètres de biodégradation déterminés en batch de façon indépendante.....	112
Figure 3-15 Comparaison des concentrations de fluorène mesurées dans la colonne R3 et calculées par BIONAPL en utilisant les paramètres de biodégradation déterminés en batch, pour une biomasse initiale de $X_0=2,78 \times 10^{-5}$ et $X_0=2,00 \times 10^{-4}$	114
Figure 3-16 Comparaison des concentrations de phenanthrène mesurées dans la colonne R4r et calculées par BIONAPL en utilisant les paramètres de biodégradation déterminés en batch.	115
Figure 3-17 Comparaison des concentrations de p-crésol mesurées dans la colonne R4p et calculées par BIONAPL en utilisant les paramètres de biodégradation déterminés en batch, pour une biomasse initiale de $X_0=2,78 \times 10^{-5}$ et $X_0=1,11 \times 10^{-3}$	117
Figure 3-18 Schéma des scénarios de simulation testés pour identifier les interactions entre carbazole et fluorène (colonne R2).	119
Figure 3-19 Variation des concentrations de Carb et Fluo mesurées dans l'affluent à l'entrée de la colonne R2 et celles adoptées comme donnée d'entrée du modèle.	121

Figure 3-20 Concentrations du carbazole et fluorène mesurées (colonne R2) et calculées par BIONAPL : Simulation (A) sans interactions ; Simulation (B) avec inhibition du Carb par le Fluo.	122
Figure 3-21 Concentrations du carbazole et fluorène mesurées (colonne R2) et calculées par BIONAPL : Simulation (C) avec une mortalité de la population dégradant le Carb de $b=2,5 \times 10^{-2} \text{ j}^{-1}$ et sans aucun autre effet de la part du fluorène.	123
Figure 3-22 Schéma des scénarios de simulation testés pour identifier les interactions entre carbazole et phenanthrène (colonne R3).	124
Figure 3-23 Variation des concentrations de Carb et Phen mesurées dans l'affluent à l'entrée de la colonne R3 et celles adoptées comme donnée d'entrée du modèle.	126
Figure 3-24 Concentrations du carbazole et phenanthrène mesurées (colonne R3) et calculées par BIONAPL : Simulation (A) sans interactions ; Simulation (B) avec inhibition mutuelle et co-utilisation du Carb.	127
Figure 3-25 Concentrations du carbazole et phenanthrène mesurées (colonne R3) et calculées par BIONAPL : Simulation (C) identique à la simulation (B) avec une mortalité de la population dégradant le Carb égale à $b=5,0 \times 10^{-2} \text{ j}^{-1}$	128
Figure 3-26 Schéma des scénarios de simulation testés pour identifier les interactions entre carbazole, fluorène et phenanthrène (colonne R4r).	129
Figure 3-27 Variation des concentrations de Carb, Fluo et Phen mesurées dans l'affluent à l'entrée de la colonne R4r et celles adoptées comme donnée d'entrée du modèle.	132
Figure 3-28 Concentrations du carbazole, fluorène et phenanthrène mesurées (colonne R4r) et calculées par BIONAPL : Simulation (A) sans interactions ; Simulation (B) avec co-utilisation du Fluo avec le Phen et inhibition mutuelle entre Fluo et Carb.	133
Figure 3-29 Concentrations du Carb, Fluo et Phen mesurées (colonne R4r) et calculées par BIONAPL : Simulation (C) identique à la simulation (B) avec en plus co-utilisation du Fluo et Carb avec un métabolite du Phen (Met).	134
Figure 3-30 Schéma des scénarios de simulation testés pour identifier les interactions entre carbazole, fluorène, phenanthrène et p-crésol (colonne R4p); Met1, Met2, Met3 : métabolites de Phen ; Met4 : métabolite de Pc.	136

Figure 3-31 Variation des concentrations de Carb, Fluo, Phen et Pc mesurées dans l'affluent à l'entrée de la colonne R4p et celles adoptées comme donnée d'entrée du modèle.....	141
Figure 3-32 Concentrations du Carb, Fluo, Phen et Pc mesurées (colonne R4r) et calculées par BIONAPL, Simulation (A) sans interactions, Simulation (B) avec inhibition par le Pc, inhibition mutuelle entre Carb et Fluo et co-utilisation avec le Phen et ses métabolites (Met).	142
Figure 3-33 Concentrations du carbazole, fluorène, phenanthrène et p-crésol mesurées (colonne R4r) et calculées par BIONAPL, Simulation (C) Avec inhibition mutuelle entre Carb, Fluo et Phen, co-utilisation du Carb et Fluo avec un métabolite (Met) du Pc.	143
Figure 4-1 Discrétisation spatiale du domaine d'étude.....	152
Figure 4-2 Évolution des concentrations à la source des classes de contaminants CL1, ..CL7 en fonction du temps.	159
Figure 4-3 Panaches de contamination des classes constituant la créosote (CL1,.. CL7) au temps de simulation T=500 j.	160
Figure 4-4 Bilan de masse dans l'aquifère pour la classe de contaminants CL4.	160
Figure 4-5 Superficie des panaches de contamination des classes constituant la source et de la zone de contact entre panaches : cas des classes CL1 et CL5 à la source.	163
Figure 4-6 Superficie des panaches des 2 classes de contaminants constituant la source.	165
Figure 4-7 Superficie de la zone de contact entre panaches pour différents mélanges binaires de classes contaminants constituant la source.	165
Figure 4-8 Superficie des panaches des classes CL1 et CL4 constituant la source (a) et celle de la zone de contact entre panaches (b), pour des fractions molaires respectives de 0.25, 0.75 (Cas A), 0.5, 0.5 (Cas B), 0.75, 0.25 (Cas C)	167
Figure 4-9 Superficie des panaches des classes CL4 et CL5 constituant la source (a) et celle de la zone de contact entre panaches (b), pour des fractions molaires respectives de 0.25, 0.75 (Cas A), 0.5, 0.5 (Cas B), 0.75, 0.25 (Cas C)	167
Figure 4-10 Limite des panaches de CL1 et CL4 et distribution du rapport $R_{4/1}$ pour des fractions molaires respectives de ces classes de 0.25, 0.75 (Cas A).	170

Figure 4-11 Limite des panaches de CL1 et CL4 et distribution du rapport $R_{4/1}$ pour des fractions molaires respectives de ces classes de 0.75, 0.25 (Cas C).....	170
Figure 4-12 Distribution des concentrations des classes CL1 et CL4 en fonction de X pour des fractions molaires respectives de 0.25, 0.75 (a), et 0.75, 0.25 (b). ...	171
Figure 4-13 Limite des panaches de CL4 et CL5 et distribution du rapport $R_{5/4}$ pour des fractions molaires respectives de ces classes de 0.25, 0.75 (Cas A).	173
Figure 4-14 Limite des panaches de CL4 et CL5 et distribution du rapport $R_{5/4}$ pour des fractions molaires respectives de ces classes de 0.75, 0.25 (Cas C).....	173
Figure 4-15 Distribution des concentrations des classes CL1 et CL4 en fonction de X pour des fractions molaires respectives de 0.25, 0.75 (a), et 0.75, 0.25 (b). ...	174
Figure 4-16 Superficie des panaches (a) et de la zone de contact entre panaches (b) des classes CL1 et CL4 pour une source de créosote de 1 kg (Cas A), de 5 kg (Cas B), 10 kg (Cas C) et de 20 kg (Cas D) /m linéaire.	175
Figure 4-17 Superficie des panaches (a) et de la zone de contact entre panaches (b) des classes CL4 et CL5 pour une source de créosote de 1 kg (Cas A), de 5 kg (Cas B), 10 kg (Cas C) et de 20 kg (Cas D) /m linéaire.	175
Figure 4-18 Concentrations de CL1 et CL4 en fonction de X, pour une masse initiale égale à celle contenue dans une source de créosote de 1 kg (Cas A), 5 kg (Cas B), 10 kg (Cas C) et 20 kg (Cas D).	177
Figure 4-19 Concentrations de CL4 et CL5 en fonction de X, pour une masse initiale égale à celle contenue dans une source de créosote de 1 kg (Cas A), 5 kg (Cas B), 10 kg (Cas C) et 20 kg (Cas D).	178
Figure 4-20 Limites des panaches de CL1 et CL4 et distribution du rapport $R_{4/1}$ à T=35 j pour une source de créosote de 1 kg (Cas A), 5 kg (Cas B), 10 kg (Cas C) et 20 kg (Cas D).	180
Figure 4-21 Limites des panaches de CL1 et CL4 et distribution du rapport $R_{4/1}$ à T=505 j pour une source de créosote de 1 kg (Cas A), 5 kg (Cas B), 10 kg (Cas C) et 20 kg (Cas D).	180
Figure 4-22 Limites des panaches de CL4 et CL5 et distribution du rapport $R_{5/4}$ à T=505 j pour une source de créosote de 1 kg (Cas A), 5 kg (Cas B), 10 kg (Cas C) et 20 kg (Cas D).	181
Figure 4-23 Limites des panaches de CL4 et CL5 et distribution du rapport $R_{5/4}$	

à T=1505 j pour une source de créosote de 1 kg (Cas A), 5 kg (Cas B), 10 kg (Cas C) et 20 kg (Cas D).	181
Figure 4-24 Panaches de contamination des deux classes de contaminants CL4 et CL5, pour les Cas A1 et A2, où la biodégradation a lieu sans interactions.	187
Figure 4-25 Distribution des concentrations des populations bactériennes dégradatrices de CL4 et CL5 (X^4 et X^5) dans le Cas A1 et Cas A2 où la biodégradation a lieu sans interactions.	187
Figure 4-26 Distribution des valeurs du paramètre $R_{5/4}$ dans le Cas A1 et Cas A2 où la biodégradation a lieu sans interactions.....	188
Figure 4-27 Panaches de contamination des deux classes de contaminants CL4 et CL5, pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7 et dans le cas où O_2 est en excès.	190
Figure 4-28 Distribution des concentrations des populations bactériennes dégradatrices de CL4 et CL5 (X^4 et X^5) pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7.....	191
Figure 4-29 Efficacité d'enlèvement des classes CL4 et CL5 pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7 et dans le cas où O_2 est en excès.....	192
Figure 4-30 Distribution des valeurs du paramètre $R_{5/4}$ pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7 et dans le cas où O_2 est en excès.....	193
Figure 4-31 Panaches de contamination des deux classes de contaminants CL4 et CL5, pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7 et dans le cas où O_2 est limitant.	195
Figure 4-32 Distribution des concentrations des populations bactériennes dégradatrices de CL4 et CL5 (X^4 et X^5) pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7.....	195
Figure 4-33 Distribution des concentrations de l'oxygène dans l'aquifère pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7 et dans le cas où O_2 est limitant.....	196
Figure 4-34 Efficacité d'enlèvement des classes CL4 et CL5 pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7 et dans le cas où O_2 est limitant.	198
Figure 4-35 Distribution des valeurs du paramètre $R_{5/4}$ pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7 et dans le cas où O_2 est limitant.....	199

Figure 4-36 Panaches de contamination des deux classes de contaminants CL4 et CL5, pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7 et dans le cas où O_2 est en excès.....	200
Figure 4-37 Distribution des concentrations des populations bactériennes dégradatrices de CL4 et CL5 (X^4 et X^5) pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7.....	201
Figure 4-38 Efficacité d'enlèvement des classes CL4 et CL5 pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7 et dans le cas où O_2 est en excès.....	202
Figure 4-39 Distribution des valeurs du paramètre $R_{5/4}$ pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7 et dans le cas où O_2 est en excès.....	203
Figure 4-40 Panaches de contamination des deux classes de contaminants CL4 et CL5, pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7 et dans le cas où O_2 est limitant.....	204
Figure 4-41 Distribution des concentrations des populations bactériennes dégradatrices de CL4 et CL5 (X^4 et X^5) pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7.....	204
Figure 4-42 Distribution des concentrations d'oxygène dans l'aquifère pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7 et dans le cas où O_2 est limitant.....	205
Figure 4-43 Efficacité d'enlèvement des classes CL4 et CL5 pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7 et dans le cas où O_2 est limitant.....	207
Figure 4-44 Distribution des valeurs du paramètre $R_{5/4}$ pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7 et dans le cas où O_2 est limitant.....	208
Figure 5-1 Compte total des bactéries cultivables au niveau des trois ports d'échantillonnage de la colonne R4p aux temps $t = 0$ et 60 j (Données d'après Hosein et al., 1997).....	251

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE I : Caractéristiques de l'aquifère et de l'eau souterraine de l'aquifère de Borden	236
ANNEXE II : Codes des programmes VERIF1 et VERIF2	237
ANNEXE III : Paramètres utilisés dans la modélisation des essais de Millette (1995).....	246
ANNEXE IV : Fichier d'entrée du modèle BIONAPL	247
ANNEXE V : Calcul du rendement bactérien du p-crésol	251
ANNEXE VI : Paramètres d'interactions ajustés pour les colonnes R2, R3, R4r, R4p.....	254
ANNEXE VII : Classification des contaminants de la créosote	259

LISTE DES SYMBOLES

A	concentration de l'accepteur d'électrons [$M.L^{-3}$]
b	taux de mortalité ou de respiration endogène [T^{-1}]
b_d	constante de 1 ^{er} ordre du processus de désactivation des bactéries [T^{-1}]
C^i	concentration du substrat (contaminant) organique i dans le milieu [$M.L^{-3}$]
C_l	solubilité du contaminant organique pur à l'état liquide [$M.L^{-3}$]
C_{lim}	seuil de concentration pour la détection des contaminants [$M.L^{-3}$]
CL_i	classe de contaminants de la créosote
C_o	solubilité du contaminant organique pur [$M.L^{-3}$]
C_s	solubilité effective [$M.L^{-3}$]
(CO_2)	concentration en CO_2 exprimée par volume de milieu liquide [$M.L^{-3}$]
CO_2^c	concentration en CO_2 calculée [$M.L^{-3}$]
CO_2^m	concentration en CO_2 mesurées [$M.L^{-3}$]
D	coefficient de distribution entre les phases aqueuse, solide et gazeuse d'un milieu fermé [-]
D^α	coefficient de diffusion moléculaire dans l'eau de l'espèce α [$L^2.T^{-1}$]
D_{ij}	coefficient de dispersion hydrodynamique [$L^2.T^{-1}$]
d_{50}	diamètre médian des grains [L]
Eff	efficacité d'enlèvement par biodégradation d'un contaminant dissout dans un aquifère [$M.M^{-1}$]
E^m	rendement de production du métabolite m [$M.M^{-1}$]
F_a	fraction de la population bactérienne active vis à vis cométabolisme [-]

$F^{\alpha,n}$	ratio massique d'accepteur d'électron n consommé par contaminant organique α biodégradé [M.M ⁻¹]
f_{oc}	fraction de carbone organique dans la matrice poreuse [M.M ⁻¹]
H	constante d'Henry [-]
I^n	fonction d'inhibition de l'accepteur d'électrons n [-]
K_A	constante à demi-saturation de l'accepteur d'électrons [M.L ⁻³]
K_B	constante de saturation de Blackman [L ³ .M ⁻¹]
K_C	constante à demi-saturation de Monod [M.L ⁻³]
K_{Ct}	constante de saturation de Contois [-]
K_d	coefficient de sorption à l'équilibre [L ³ .M ⁻¹]
$K_i^{j/k}$	constante d'inhibition du substrat k par le substrat j [-]
K_I^n	coefficient d'inhibition de l'accepteur d'électrons n [M.L ⁻³]
K_m	constante de Michaelis-Menton [M.L ⁻³]
k_{\max}	taux maximal spécifique de biodégradation [M.M ⁻¹ .T ⁻¹]
K_N	constante à demi-saturation des nutriments [M.L ⁻³]
K_{oc}	coefficient de partition entre l'eau et le carbone organique [L ³ .M ⁻¹]
m_{sol}	masse de milieu poreux [M]
M_w	Masse moléculaire [M]
n	nombre de moles [-]
N	concentration des nutriments [M.L ⁻³]
q	taux spécifique de biodégradation [M.M ⁻¹ .T ⁻¹]
r	ordre de réaction de la cinétique de Moser [-]
r_i	résidu de la $i^{\text{ème}}$ observation de la courbe de minéralisation [M.L ⁻³]
R	coefficient de retard [-]
Sf_i	superficie du panache du contaminant i dans le plan XZ [L ²]

$Sf_{i \cap j}$	superficie de la zone de contact entre panaches des contaminants i et j dans le plan XZ [L^2]
Sh	nombre de Sherwood [-]
t	temps [T]
T	température du système [θ]
T_c^b	masse de co-substrat transformé par cométabolisme et en absence de mortalité par unité de masse cellulaire [$M.M^{-1}$]
T_c^p	masse de co-substrat transformée par cométabolisme par unité de masse de substrat primaire consommée durant la croissance [$M.M^{-1}$]
T_M	température de fusion [θ]
V_{aq}	volume de la phase aqueuse [L^3]
V_g	volume de la phase gazeuse [L^3]
v_i	vitesse de l'eau souterraine dans la direction i [$L.T^{-1}$]
w_i	coefficient de pondération affecté à la $i^{ème}$ observation [-]
X	concentration des bactéries [$M.L^{-3}$]
x^α	fraction molaire du contaminant organique α dans une PLNA [-]
x_i	dimension spatiale ($x_i = x, y, z$) [L]
X_0	concentration bactérienne initiale [$M.L^{-3}$]
Y	rendement bactérien [$M.M^{-1}$].
Y^{CO}	rendement en CO_2 dans le milieu [$M.M^{-1}$]
α_{CO}	coefficient de co-utilisation d'un contaminant en présence d'un autre [-]
ϕ	fonction objective
λ_{CO}	terme de co-utilisation [T^{-1}]
λ_{bio}^α	coefficient de biodégradation [T^{-1}]
λ_{diss}^α	coefficient de dissolution [T^{-1}]

μ	taux spécifique de croissance bactérienne [$M.M^{-1}.T^{-1}$]
μ_{\max}	taux de croissance bactérienne spécifique maximal [$M.M^{-1}.T^{-1}$]
ρ_b	masse volumique du milieu poreux [$M.L^{-3}$]
ρ_{PLNA}	masse volumique de la phase liquide non aqueuse [$M.L^{-3}$]
θ	porosité du milieu poreux [-]
τ	fonction de saturation en substrat ou cinétique de croissance normalisée [-]

CHAPITRE I Introduction et revue de littérature

1.1 Introduction

La créosote est un mélange complexe et variable de plus de 300 composés (Environment Canada, 1993). Produite par distillation du goudron de houille, dérivant de la carbonisation de la houille à haute température (AWPA, 1977), elle était employée comme agent de préservation des structures extérieures en bois. Sa manipulation dans les usines de distillation et de traitement, et l'usage dont elle a fait l'objet comme agent de préservation, est à l'origine d'un certain nombre de sites contaminés. Aux USA par exemple, ont été rapportées entre 415 et 550 usines de traitement du bois (Mueller et al., 1989), constituant des sites de contamination potentiels par les constituants de la créosote. Environ 1000 sites contaminés ont été recensés en Allemagne (Pyka, 1993), et 56 sites en Ontario au Canada (Raven et Beck, 1990).

La créosote est constituée principalement d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (environ 85-90 %), de phénols divers (environ 1-10%) et de composés hétérocycliques qu'on retrouve à environ 5-13% (Environment Canada, 1993; Mueller et al., 1989). Plusieurs des constituants de la créosote sont connus pour être cancérigènes et sont capables de produire différents effets néfastes sur la santé en plus du cancer (Environment Canada, 1993). Des standards de concentrations ont d'ailleurs été établis pour l'eau potable et qui peuvent être inférieures au µg/l comme dans le cas du Benzo[a]pyrène (0.2 µg/l) (USEPA, 2004). Un grand nombre des contaminants de la créosote se retrouvent dans les eaux souterraines des sites contaminés à des concentrations diverses (Godsy et al., 1992; Goerlitz et al., 1985). Habituellement il s'agit des contaminants dont la solubilité est supérieure au mg/l, essentiellement des composés phénoliques et une grande partie des composés hétérocycles. Les HAP de plus faibles poids moléculaires arrivent également à

s'infiltrer dans les eaux souterraines, malgré des solubilités inférieures au mg/l pour la plupart.

Le devenir de ces contaminants dans les eaux souterraines est influencé par différents processus tels que la partition entre la source non-aqueuse et l'eau (dissolution) et entre l'eau et le sol (sorption). La biodégradation semble être par contre le principal processus d'enlèvement de ces contaminants des sols et eaux souterraines. De nombreuses études se sont intéressées au potentiel de biodégradation des contaminants de la créosote en conditions aérobies (Bouchez et al., 1999; Cerniglia, 1984; Dyreborg et al., 1997a; Heitkamp et Cerniglia, 1988; 1989; Heitkamp et al., 1989). La biodégradation de ces contaminants dans d'autres conditions redox reste relativement peu documentée surtout dans le contexte de contamination des sols et eaux souterraines (Karthikeyan et Bhandari, 2001). Ces conditions redox sont observées à la suite de l'épuisement de l'oxygène du milieu, menant à une diminution du potentiel redox qui rend favorable la croissance de populations dénitrifiantes, sulfato-réductrices et même méthanogènes. Dans les conditions dénitrifiantes qui prévalent à la suite de la disparition de l'oxygène, on a rapporté un potentiel de biodégradation des composés HAP et hétérocycles de plus faibles poids moléculaires (Dyreborg et al., 1997a; Fetzner, 1998; Mihelcic et Luthy, 1988; Rockne et al., 2000; Rockne et Strand, 1998; Rockne et Strand, 2001). Même si les voies métaboliques inhérentes à ces conditions ne sont pas encore élucidées (Karthikeyan et Bhandari, 2001; Makkar et al., 2003), ces travaux montrent un potentiel d'atténuation biologique des constituants de la créosote en absence d'oxygène.

Certains travaux ont tenté de reproduire la complexité du mélange que constitue la créosote et ont examiné la biodégradation de mélanges divers de ses constituants notamment en conditions aérobies (Bouchez et al., 1999; Dyreborg et al., 1997b; Dyreborg et al., 1996c; Kelley et Cerniglia, 1995; Meyer et Steinhart, 2000; Millette et al., 1995; Millette et al., 1998; Stringfellow et Aitken, 1995). Ces études sont arrivées à la conclusion que la biodégradation des contaminants dans les mélanges complexes suit souvent des schémas différents des schémas observés lorsque les contaminants sont biodégradés seuls. Ces études ont permis de mettre en évidence la nécessité de mieux comprendre les processus d'interaction qui ont lieu

lors de la biodégradation des contaminations mixtes notamment en conditions anoxiques, voire anaérobies, étant données les faibles quantités d'oxygène présentes dans les eaux souterraines. Peu d'études se sont, par contre, engagées dans cette voie et les interactions entre voies métaboliques de biodégradation des contaminants de la créosote restent peu connues en absence d'oxygène.

La connaissance des interactions qui peuvent se produire entre contaminants de mélanges complexes, peut permettre de les modéliser et de mieux reproduire les processus de biodégradation lors du transport des contaminants dans les eaux souterraines. Plusieurs cinétiques de biodégradation ont été développées dans le but de simuler la transformation des contaminants en tenant compte de l'effet des interactions (Bielefeldt et Stensel, 1999; Chang et al., 1993; Criddle, 1993; Reardon et al., 2000; Semprini et McCarty, 1992; Yoon et al., 1977). Ces cinétiques ont été relativement peu utilisées pour simuler le transport et biodégradation des mélanges complexes. La prise en compte des différents processus d'interactions qui peuvent avoir lieu lors de la biodégradation de mélanges de contaminants est un outil qui peut permettre de mieux comprendre le comportement des contaminants dans les eaux souterraines.

1.1.1 Hypothèse de recherche

L'hypothèse de recherche sur laquelle repose ce projet est la suivante :

Des interactions peuvent avoir lieu entre contaminants de la créosote présents dans un aquifère pollué, lors de la biodégradation de ces contaminants en conditions réductrices de nitrates. Ces interactions peuvent modifier les cinétiques de biodégradation des contaminants et avoir un effet sur la persistance des contaminants dans une nappe aquifère.

1.1.2 Objectifs

Les objectifs du projet seront les suivants :

- Développer une approche expérimentale permettant d'identifier les interactions entre contaminants modèles de la créosote lors de leur biodégradation par la microflore d'un sol d'aquifère en conditions réductrices de nitrates;

- Adapter un modèle numérique de transport et devenir des contaminants à certains processus d'interactions intervenant dans les cas de contaminations mixtes;
- Développer une approche par modélisation permettant de tester et d'identifier les interactions par calage de données expérimentales et/ou de terrain;
- Évaluer par la modélisation l'importance des interactions dans un contexte de contamination réelle où les contaminants sont rejetés à partir d'une source non aqueuse selon leurs solubilités.

Afin d'atteindre ces objectifs, une revue de littérature sera présentée en deuxième partie de ce chapitre, sur l'état actuel de la recherche dans ce domaine d'étude. Cette revue de littérature permettra d'introduire les mécanismes de biodégradation et de croissance bactérienne, ainsi que les modèles cinétiques les décrivant. Elle permettra ensuite de passer en revue les interactions entre voies métaboliques de biodégradation évoquées dans la littérature, ainsi que les cinétiques utilisées pour les décrire. Les modèles de transport seront également évoqués, et notamment ceux qui ont été développés dans le but de simuler le transport et la biodégradation de mélanges de contaminants. La prise en compte des mécanismes de dissolution à partir d'une source non-aqueuse comme la créosote sera abordée en particulier, puisque ces mécanismes contrôlent la distribution et le contact entre contaminants dans les eaux souterraines.

Dans le deuxième chapitre de cette thèse, une approche expérimentale sera développée afin d'identifier les interactions éventuelles entre contaminants modèles de la créosote lors de leur biodégradation en conditions réductrices de nitrates.

Dans le troisième chapitre, un modèle numérique de transport multi-constituants (BIONAPL) sera modifié en y intégrant de nouveaux processus relatifs aux interactions. Ainsi modifié, le modèle sera utilisé dans une approche d'identification des interactions à partir de données expérimentales de biodégradation. Les données expérimentales utilisées mettront en jeu la biodégradation d'un mélange de 2 à 4 contaminants modèles de la créosote lors de leur transport et biodégradation dans des colonnes de sol. Une détermination

préalable des paramètres de biodégradation des contaminants individuels sera réalisée à partir de données d'essais de minéralisation en batch, et en utilisant une autre version modifiée du modèle.

Dans le quatrième chapitre, la possibilité d'occurrence des interactions sera analysée dans un contexte de contamination réelle en tenant compte de l'effet de la source sur la distribution des contaminants dans un milieu aquifère. Des simulations seront réalisées avec un mélange de contaminants pour examiner l'effet de différents paramètres sur la possibilité d'intervention des interactions, et évaluer l'impact de ces interactions sur la persistance des contaminants dans le milieu.

Tous les travaux et analyses de laboratoire abordés au chapitre deux ont été réalisés dans le cadre de cette thèse. Les données d'expérience utilisées au chapitre trois ont été obtenues à partir des travaux de Millette (1995), Millette et al. (1998) et de Hosein et al. (1997). Le modèle BIONAPL utilisé au chapitre trois et quatre a été développé par John Molson, il a été modifié dans le cadre de la présente étude pour rencontrer les objectifs visés.

1.2 Mécanismes de biodégradation et de croissance bactérienne

La biodégradation peut être définie comme un processus, catalysé par des microorganismes, qui mène à une réduction de la complexité des espèces chimiques (Alexander, 1994). Dans le cas des espèces organiques, elle mène à une transformation des espèces vers d'autres espèces organiques qui peuvent soit être dégradées à leur tour soit s'accumuler dans le milieu. La transformation ultime des espèces organiques donne lieu à une conversion du carbone et autres éléments qui les constituent en produits de dégradation inorganiques tels que le CO₂. Cette dégradation des composés organiques en produits inorganiques est qualifiée de minéralisation, et son effet détoxifiant justifie son utilisation pour des fins de bio-restauration.

1.2.1 Croissance bactérienne et biodégradation en présence d'un substrat limitant

Durant le processus de biodégradation, les composés organiques sont habituellement utilisés par les microorganismes comme source de carbone et d'énergie pour leurs besoins de croissance. Ils sont transformés par les voies métaboliques propres à ces microorganismes et le processus de biodégradation est dans ce cas lié à la croissance bactérienne. Dans certaines situations, les composés organiques peuvent être métabolisés par les bactéries sans contribuer à leur croissance, la biodégradation fournit uniquement le carbone nécessaire pour maintenir la viabilité des cellules. Le processus de biodégradation est dans ce cas indépendant de la croissance (Suthersan, 1999).

1.2.1.1 Dynamique de la croissance bactérienne et de la biodégradation

Dans le cas général où les processus de biodégradation et de croissance sont couplés, leur dynamique peut être décrite par les équations suivantes :

$$\frac{dC}{dt} = q(C).X \quad (\text{E 1-1})$$

$$\frac{dX}{dt} = \mu(C) \cdot X - b \cdot X \quad (\text{E 1-2})$$

Avec : $q(C) = \frac{1}{Y} \mu(C)$

C et X étant respectivement les concentrations du substrat organique et des bactéries dans le milieu $[\text{M.L}^{-3}]$, $q(C)$ et $\mu(C)$ étant respectivement les taux spécifiques de biodégradation et de croissance bactérienne $[\text{M.M}^{-1}.\text{T}^{-1}]$, b étant le taux de mortalité ou de respiration endogène qui caractérise l'énergie dépensée par les bactéries pour maintenir leur viabilité $[\text{T}^{-1}]$, Y étant le rendement bactérien $[\text{M.M}^{-1}]$.

Ces équations décrivent le fait que lors de la biodégradation du substrat responsable de la croissance, la population bactérienne va croître et sa concentration va augmenter. Cette croissance suit généralement plusieurs phases (Figure 1-1) (Bellgardt, 1991). La première est une phase de latence qui est une phase d'adaptation de la culture bactérienne aux conditions du milieu. Elle est suivie par une phase de croissance exponentielle où la croissance a lieu à un taux maximal. Pendant ces deux premières phases, le substrat est en excès dans le milieu. A un certain stade du processus, un épuisement du substrat et une certaine inhibition par les produits de dégradation mènent à une phase stationnaire où le taux de croissance devient nul. Elle est suivie par une phase de déclin où la masse cellulaire diminue par métabolisme endogène et lyse cellulaire.

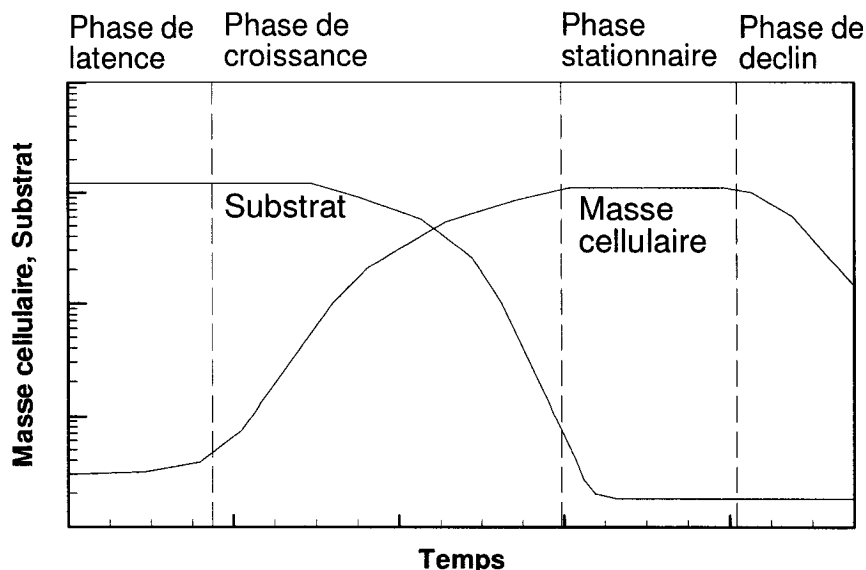


Figure 1-1 Schéma des phases de croissance d'une culture bactérienne, évolution dans le temps de la masse cellulaire et de la concentration en substrat (d'après Bellgardt, 1991).

1.2.1.2 Cinétiques de croissance et de biodégradation

Le taux de croissance des microorganismes dépend d'un grand nombre de variables environnementales (pH, température...). Une description mathématique exacte de la croissance bactérienne étant extrêmement complexe, un certain empirisme est donc introduit pour simplifier le formalisme mathématique et réduire le nombre de variables (Roels, 1982). Ceci est justifié par les observations réalisées dans des systèmes naturels et artificiels qui ont montré qu'une approche semi-empirique est souvent suffisante pour décrire la croissance bactérienne et celle des changements dans les espèces aqueuses associées (Kovárová-Kovar et Egli, 1998).

Plusieurs cinétiques ont été ainsi proposées pour décrire la dépendance du taux de croissance des bactéries à la concentration d'un substrat limitant. Le terme limitant, utilisé pour qualifier un substrat qui limite la croissance bactérienne, signifie que le substrat contrôle le taux de croissance des bactéries par sa « faible » concentration dans le milieu (Kovárová-Kovar et Egli, 1998). Durant la croissance, la masse cellulaire est formée à un taux spécifique de croissance μ qui est souvent écrit sous la forme d'un produit du taux de croissance maximal des bactéries, et d'une fonction décrivant la saturation en substrat dans le milieu (Bellgardt, 1991) :

$$\mu(C) = \mu_{\max} \cdot \tau(C) \quad (\text{E 1-3})$$

$\tau(C)$ est la fonction de saturation en substrat ou la cinétique de croissance normalisée [-], elle représente l'impact de la concentration du substrat sur le taux de croissance spécifique des bactéries, μ_{\max} est le taux de croissance spécifique maximal [$\text{M.M}^{-1}.\text{T}^{-1}$].

Le taux de biodégradation spécifique peut être également exprimé de la même façon en fonction d'un taux de biodégradation spécifique maximal k_{\max} :

$$q(C) = k_{\max} \cdot \tau(C) \quad (\text{E 1-4})$$

Dans des conditions données d'apport en substrat dans le milieu, le taux maximal de croissance μ_{\max} reste constant. Les bactéries sont, par contre, capables d'augmenter leur taux spécifique maximal d'enlèvement d'un substrat, en réponse à l'augmentation de son apport dans le milieu, mais ceci jusqu'à atteindre le potentiel d'enlèvement ultime correspondant au niveau enzymatique maximal pouvant être atteint par les cellules (Grady et al., 1996). Pour décrire la saturation en substrat, plusieurs modèles ont été proposés dans la littérature (Tableau 1-1). Un modèle qui est souvent cité par les microbiologistes, est le modèle de Blackman (Tableau 1-1) (Blackman, 1905). Ce modèle suppose qu'il existe une relation linéaire entre le taux de croissance et la disponibilité du substrat limitant mais ceci jusqu'à un certain seuil de concentration. Au-dessus de ce seuil, le taux de croissance ne montre aucune augmentation supplémentaire. Cette équation n'est autre qu'une approximation de l'équation de Michaelis-Menton utilisée en enzymologie ($v = v_{\max} \cdot C / (K_m + C)$ où K_m est une constante) pour décrire le taux de réaction v d'une enzyme en fonction de sa concentration C dans le milieu. Elle peut exprimer le fait qu'aux fortes concentrations en substrats, des facteurs autres que le substrat sont limitants pour la croissance bactérienne.

Tableau 1-1 Expressions de cinétiques de croissance normalisées proposées dans la littérature

Référence	Fonction de saturation
(Blackman, 1905)	$\tau(C) = \min(1, K_B \cdot C) \quad (\text{E 1-5})$ <p>K_B est la constante de saturation de Blackman [$\text{L}^3 \cdot \text{M}^{-1}$]</p>
(Monod, 1942)	$\tau(C) = \frac{C}{K_C + C} \quad (\text{E 1-6})$ <p>K_C est la constante à demi-saturation de Monod [$\text{M} \cdot \text{L}^{-3}$]</p>
(Moser, 1958)	$\tau(C) = \frac{C^r}{K_C^r + C^r} \quad (\text{E 1-7})$ <p>r est l'ordre de réaction de la cinétique de Moser [-]</p>
(Contois, 1959)	$\tau(C) = \frac{C}{K_{Cf} \cdot X + C} \quad (\text{E 1-8})$ <p>K_{Cf} est la constante de saturation de Contois [-]</p>
(Powel, 1967)	$\tau(C) = \frac{C - K_i \cdot \tau(C)}{K_C + C - K_i \cdot \tau(C)} \quad (\text{E 1-9})$ <p>K_i est une constante d'inhibition [$\text{M} \cdot \text{L}^{-3}$]</p>

Le modèle de Monod (Tableau 1-1) est le plus communément utilisé en microbiologie (Monod, 1942). Ce modèle exprime le fait que le taux de croissance bactérien augmente d'abord rapidement suite à l'utilisation du substrat, subit ensuite un ralentissement jusqu'à atteindre un niveau maximal qui ne dépend pas de la concentration du substrat. Contrairement aux autres cinétiques proposées dans la littérature et qui sont purement empiriques, le principal avantage de la cinétique de Monod, est sa similitude avec l'équation de Michaelis-Menton qui décrit la vitesse de réaction enzymatique. Cette similitude a permis de tracer un parallèle entre le taux de réaction enzymatique et le taux spécifique métabolique des cultures bactériennes.

Des modèles semblables au modèle de Monod ont été également proposés. Ces modèles sont purement empiriques, utilisent des paramètres cinétiques supplémentaires, et certains ont permis de donner de meilleurs ajustements des données expérimentales que le modèle de Monod (Bellgardt, 1991). L'équation de

Moser (Moser, 1958) utilise un paramètre empirique r qui permet de mieux adapter l'impact de la concentration du substrat à la croissance bactérienne (Tableau 1-1). L'équation de Contois (Contois, 1959) considère que la concentration des cellules (X) a un effet inhibiteur sur le taux spécifique de croissance bactérienne, celui-ci diminuant lorsque la concentration de la biomasse augmente (Tableau 1-1). Cet effet est dû entre autres aux limitations de la diffusion du substrat, dues à l'augmentation de la densité bactérienne, et qui sont prises en compte en introduisant un terme à demi-saturation proportionnel à la concentration cellulaire. La cinétique de Powell (Powel, 1967) intègre un terme de flux diffusionnel pour tenir compte de la diffusion du substrat dans les cellules. Ces modèles montrent plus de flexibilité dans l'ajustement des données expérimentales que le modèle de Monod, mais ils restent peu utilisés à cause de leur caractère purement empirique et de leur nature ad hoc.

1.2.2 Croissance bactérienne et biodégradation en présence de plusieurs substrats limitants

Plusieurs types de cinétiques de croissance ont été proposés dans la littérature pour décrire la croissance des microorganismes en présence de plusieurs substrats limitants (Bellgardt, 1991), la plupart sont des extensions des cinétiques élémentaires proposées pour la dégradation d'un seul substrat limitant. Les substrats participant à la croissance peuvent être des substrats essentiels, c'est à dire qu'il ne peut y avoir croissance si l'un d'eux est absent du milieu. Ils peuvent aussi être des substrats alternatifs (aux substrats essentiels), substrats pouvant jouer le même rôle que l'un des substrats essentiels (Bellgardt, 1991).

Pour croître les bactéries hétérotrophes d'un milieu ont besoin d'utiliser plusieurs substrats essentiels en même temps : une source de carbone et d'énergie, un accepteur d'électrons et des nutriments. La dépendance du taux de croissance des microorganismes à la concentration des substrats essentiels, est exprimée en combinant les cinétiques élémentaires de consommation des différents substrats essentiels limitants (Bellgardt, 1991).

Deux modèles ont été abondamment utilisés dans la littérature pour décrire le taux de croissance bactérienne en présence de substrats essentiels limitants. Ces

modèles supposent que tous les substrats essentiels sont utilisés selon des cinétiques de type Monod. Dans le premier modèle (modèle de croissance interactif), tous les substrats limitants contrôlent en même temps la croissance des bactéries (Bellgardt, 1991):

$$\mu(C, A, N) = \mu_{\max} \frac{C}{C+K_C} \frac{A}{A+K_A} \frac{N}{N+K_N} \quad (\text{E 1-10})$$

A étant la concentration de l'accepteur d'électrons [M.L^{-3}], K_A la constante à demi-saturation de l'accepteur d'électrons [M.L^{-3}], N étant la concentration des nutriments [M.L^{-3}], K_N la constante à demi-saturation des nutriments [M.L^{-3}].

Le deuxième modèle (modèle de croissance non-interactif) considère que parmi tous les substrats, le plus limitant est celui qui contrôle le taux de croissance des microorganismes (Bellgardt, 1991):

$$\mu(C, A, N) = \mu_{\max} \cdot \text{Min} \left(\frac{C}{C+K_C}; \frac{A}{A+K_A}; \frac{N}{N+K_N} \right) \quad (\text{E 1-11})$$

Ces modèles se réduisent à de simples cinétiques de Monod lorsque seul un substrat est limitant dans le milieu (ex. source de carbone). Bien qu'en termes de résultats, l'écart entre les deux modèles soit peu important (Bellgardt, 1991), le modèle interactif est celui qui a été le plus souvent utilisé pour reproduire les limitations en nutriments, accepteurs d'électrons et sources de carbone dans les milieux souterrains (Borden et Bedient, 1986; Clement et al., 1998; Essaid et al., 1995; MacQuarrie et al., 1990; Semprini et McCarty, 1992; Waddill et Widdowson, 1998).

En plus des substrats essentiels, les bactéries peuvent également utiliser des substrats alternatifs qui ne sont autres que des homologues des substrats essentiels. Ce sont des substrats présents en même temps dans le milieu, et pouvant être utilisés alternativement par les bactéries (Bellgardt, 1991). Il peut s'agir par exemple d'une autre source de carbone et d'énergie, ou d'un autre accepteur d'électrons. Dépendamment des cas, les substrats alternatifs sont utilisés séquentiellement ou en même temps que les substrats essentiels analogues, chacun d'eux pouvant contribuer à la croissance des microorganismes. La consommation des substrats essentiels et

alternatifs est souvent reproduite dans la littérature en faisant appel au modèle interactif pour tenir compte des substrats essentiels à la croissance, et en additionnant ensuite les taux de croissance sur l'ensemble des substrats alternatifs (Bellgardt, 1991). En présence de plusieurs sources de carbone et accepteurs d'électrons le taux de croissance peut ainsi s'écrire comme suit :

$$\mu = \sum_{i,j,k} \mu_{\max}^{i,j,k} \frac{C^i}{K_C^i + C^i} \frac{A^j}{K_A^j + A^j} \frac{N^k}{K_N^k + N^k} \quad (\text{E 1-12})$$

$i = 1, n ; j = 1, m ; k = 1, p$

C^i , A^j et N^k représentant les concentrations en source de carbone, en accepteur d'électrons et en nutriments [M.L^{-3}]. Cette relation tient compte de la contribution des différents substrats ($i=1, n$), accepteur d'électrons ($j=1, m$) et nutriments ($k=1, p$) à la croissance bactérienne.

Ce type de modèle a notamment été utilisé pour décrire la croissance des bactéries en milieu souterrain et pour reproduire l'utilisation de plusieurs sources de carbone, et accepteurs d'électrons (Waddill et Widdowson, 1998 ; Widdowson et al., 1988, Essaid et al., 1995; Prommer et al., 1999).

1.3 Interactions lors de la biodégradation de mélanges de substrats organiques

Dans la suite on appellera interaction entre substrats organiques, toutes les interférences entre voies métaboliques de biodégradation qui donnent lieu à des schémas de biodégradation différents de ceux attendus si les substrats étaient biodégradés seuls. Ces interactions peuvent avoir lieu entre substrats contribuant à la croissance bactérienne (substrats de croissance) comme elles peuvent se produire avec des substrats ne pouvant soutenir la croissance bactérienne (substrats de non-croissance).

Les interactions entre voies métaboliques des substrats organiques de croissance peuvent relever de la régulation métabolique, c'est à dire que les bactéries établissent une stratégie pour consommer les différents substrats de croissance,

stratégies qui sont exprimées par le biais de l'inhibition/activation ou la répression/dé-répression cataboliques (Paigen et Williams, 1970). Les interactions entre substrats de croissance peuvent également se situer au niveau des réactions enzymatiques, avec des réactions croisées accidentelles entre la voie métabolique de biodégradation d'un substrat avec d'autres substrats du milieu (Reardon, 1994). Ce type d'interactions est également observé entre substrats de croissance et substrats de non-croissance.

Si une comparaison était établie entre la biodégradation d'un substrat seul et sa biodégradation dans un mélange, les interactions mèneraient soit à une stimulation de sa biodégradation ou à une inhibition de son utilisation par les bactéries (Guha et al., 1999). Pour reproduire ces effets, des termes d'interactions sont introduits dans les cinétiques usuelles de biodégradation. Ceci a donné lieu soit à des modèles purement prédictifs, contenant des paramètres d'interaction déterminés par des expériences de biodégradation de chaque substrat seul, soit à des modèles dont les paramètres d'interaction doivent être ajustés à partir des données tirées des essais de biodégradation des mélanges.

1.3.1 Interactions entre substrats de croissance

1.3.1.1 Inhibition et répression cataboliques

D'une manière générale lorsque plusieurs substrats de différentes natures sont présents dans un même milieu de culture, deux types de schémas de biodégradation peuvent être observés, les substrats sont biodégradés simultanément ou sont biodégradés séquentiellement (Kovárová-Kovar et Egli, 1998).

Ces comportements ont été souvent observés en laboratoire en suivant des cultures en milieu liquide en batch ou en continu (chemostat). Une consommation séquentielle des substrats organiques (Figure 1-2) est observée si le substrat préférentiel est en excès (fortes concentrations de substrat dans les cultures en batch, faible taux de dilution en chemostat) (Krivan, 2006). Le substrat préférentiel est celui, dans le milieu, qui permet à la cellule bactérienne d'atteindre la croissance la plus importante. Aussi longtemps que le substrat préférentiel peut soutenir un taux de croissance suffisamment important, il y a inhibition ou répression des enzymes

impliqués dans la dégradation des autres substrats (Bellgardt, 1991). Lorsque le substrat préférentiel devient limitant dans une culture en batch, les enzymes impliqués dans la dégradation des autres substrats sont induits ou dé-réprimés, cette induction nécessite un certain temps de latence avant que les enzymes deviennent actives. Ce schéma de dégradation donne lieu à une consommation séquentielle des substrats et une croissance diphasique (diauxie) lorsqu'on est en présence de deux substrats.

Lorsque le substrat préférentiel est partiellement limitant (faibles concentrations de substrat dans une culture en batch, taux de dilution importants en chemostat), et que les cellules bactériennes ne peuvent atteindre une croissance suffisamment importante par ce seul substrat, il est possible d'assister à une consommation simultanée des substrats du milieu (Krivan, 2006).

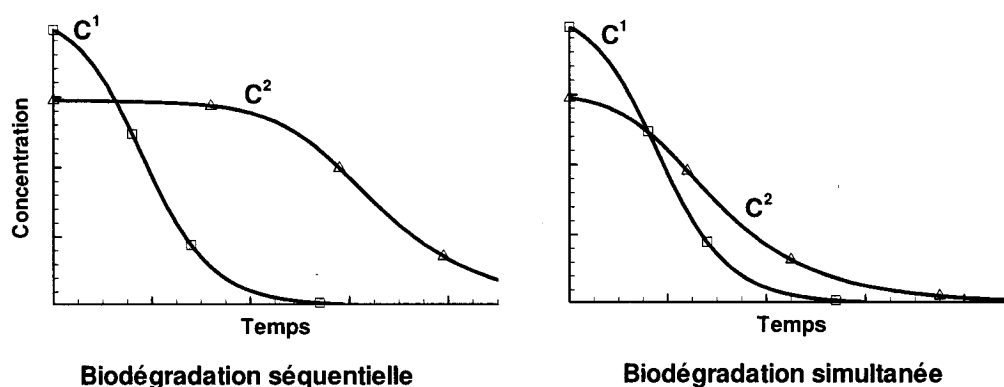


Figure 1-2 Exemples de schémas de variation des concentrations des substrats lorsqu'ils sont biodégradés simultanément ou séquentiellement.

1.3.1.2 Inhibition enzymatique entre substrats

Une autre forme d'inhibition peut être observée lors de la biodégradation de mélanges de substrats organiques, il s'agit d'une inhibition des enzymes impliquées dans la dégradation d'un substrat suite à des réactions accidentelles avec d'autres substrats du milieu (Reardon, 1994). Cette inhibition peut donner lieu à une augmentation du temps de latence précédant la consommation du substrat inhibé, à

une diminution de son taux de biodégradation ou à une augmentation des concentrations résiduelles dans le milieu (Meyer et Steinhart, 2000).

Dans certains cas, ces réactions peuvent donner lieu à une transformation simultanée du substrat inhibiteur, qui est due soit à la non spécificité des enzymes induits, ou à la convergence des voies cataboliques des différents substrats (Rogers et Reardon, 2000). En d'autres termes, il est possible d'assister à une biodégradation simultanée des substrats inhibiteurs, s'ils peuvent être transformés par les mêmes systèmes enzymatiques.

L'inhibition entre substrats partageant les mêmes voies métaboliques peut être modélisée en s'inspirant des cinétiques d'inhibition enzymatiques. Des termes d'inhibition sont incorporés dans les cinétiques de croissance ou de biodégradation pour reproduire une inhibition de type compétitive, non compétitive ou incompétitive (Segel, 1975). Dans le cas d'une inhibition purement compétitive, substrat et inhibiteur entrent en compétition pour le site actif d'un même enzyme, l'inhibiteur en se liant au site actif empêche la transformation du substrat. Le taux de croissance spécifique peut être exprimé dans ce cas par la somme de cinétiques purement compétitives (E 1-13). Cette équation indique effectivement qu'une croissance a lieu en présence d'un mélange de substrats i subissant une inhibition de type compétitive par un ou plusieurs substrats j . Dans le cas d'une inhibition non compétitive, substrat et inhibiteur se lient au même temps à l'enzyme libre sur deux sites différents pour former un complexe non réactif (E 1-14). Dans le cas d'une inhibition incompétitive, l'inhibiteur n'est pas en compétition avec le substrat pour l'enzyme, mais se lie au complexe formé par l'enzyme et le substrat pour l'inactiver (E 1-15).

Inhibition compétitive (Segel, 1975):

$$\mu(C^1, C^2 \dots C^n) = \sum_{i=1}^n \frac{\mu_{\max}^i \cdot C^i}{K_C^i \left(1 + \sum_{j=1, j \neq i}^N \frac{C^j}{K_C^j} \right) + C^i} \quad (\text{E 1-13})$$

Inhibition non compétitive (Segel, 1975):

$$\mu(C^1, C^2 \dots C^n) = \sum_{i=1}^n \frac{\mu_{\max}^i \cdot C^i}{(K_C^i + C^i) \left(1 + \sum_{j=1, j \neq i}^N \frac{C^j}{K_C^j} \right)} \quad (\text{E 1-14})$$

Inhibition incompétitive (Segel, 1975):

$$\mu(C^1, C^2 \dots C^n) = \sum_{i=1}^n \frac{\mu_{\max}^i \cdot C^i}{K_C^i + C^i \cdot \left(1 + \sum_{j=1, j \neq i}^N \frac{C^j}{K_C^j} \right)} \quad (\text{E 1-15})$$

Où K_C^i et K_C^j les constantes à demi-saturation des substrats i et j lorsqu'ils sont dégradés seuls, j étant l'inhibiteur de i .

Ces modèles sont purement prédictifs puisqu'ils ne contiennent que des paramètres qui peuvent être déterminés par des expériences de biodégradation de chaque substrat seul. Le modèle d'inhibition compétitive a permis de prédire de façon satisfaisante les courbes de biodégradation (en conditions aérobies) d'un mélange de naphthalène, de phénanthrène et de pyrène (HAPs de 2, 3 et 4 cycles aromatiques) par une culture mixte. Il a pu reproduire l'inhibition du naphthalène, une stimulation de la biodégradation du pyrène et le mélange des deux effets observés sur le phénanthrène (Guha et al., 1999). En effet, la cinétique d'inhibition compétitive prévoit qu'il existe un effet de diminution de la biodégradation pour chaque composant du mélange. Cet effet est atténué par une croissance significative de la population dégradatrice qui est due à la contribution des différents substrats à la croissance.

En partant de la cinétique d'inhibition compétitive, Bielefeldt et Stensel (1999) déduisent une expression simplifiée pour pouvoir prédire le taux de biodégradation d'un composé BTEX dans un mélange (q_m) à partir de son taux de biodégradation seul (q). Cette relation a pour but de tenir compte de l'effet de compétition entre cinq composés BTEX pour le même système enzymatique, elle suppose que chacun des composés est inhibé par les quatre autres. Les composés sont supposés présenter des constantes à demi-saturation K_C^j ($j=1,5$) de même ordre de grandeur et des concentrations significativement supérieures à K_C^j :

$$\frac{q_m(C^i)}{q(C^i)} = \frac{C^i + K_C^i}{C^i + K_C^i \left(1 + \sum_{j, j \neq i} \frac{C^j}{K_C^j} \right)} \approx \frac{C^i}{\sum_j C^j} \quad (\text{E 1-16})$$

Où q_m est le taux de biodégradation du composé i dans le mélange, q son taux de biodégradation seul, C^i et C^j sont les concentrations des substrats i et j . Cette approche prédictive simplifiée a permis de donner des résultats comparables à ceux obtenus en appliquant le modèle d'inhibition compétitive tels quel.

Des modèles non prédictifs ont été utilisés lorsque les modèles prédictifs d'inhibition n'ont pu reproduire les données expérimentales. En effet, même si le phénol, toluène et benzène sont métabolisés par les mêmes systèmes enzymatiques, aucun des trois modèles d'inhibition enzymatique n'a pu modéliser la biodégradation simultanée de ces trois composés (Reardon et al., 2000). Ce fait suggère que les interactions inhibitives entre substrats, même métabolisés par la même voie enzymatique peuvent ne pas correspondre à un schéma purement compétitif, non-compétitif ou incompétitif. Reardon et al. (2000) suggèrent d'utiliser une somme de cinétiques incorporant un type d'inhibition non spécifique pour décrire la biodégradation et la croissance bactérienne:

$$\mu(C^1, C^2 \dots C^n) = \sum_{k=1}^n \frac{\mu_{\max}^k \cdot C^k}{K_C^k + C^k + \sum_{j=1, j \neq k}^N C^j \cdot K_i^{j/k}} \quad (\text{E 1-17})$$

Cette cinétique indique qu'une croissance a lieu en présence d'un mélange de substrats k subissant chacun une inhibition (non spécifique) par des substrats j . Le coefficient d'interaction $K_i^{j/k}$ indique le degré d'inhibition du substrat k par le substrat j [-].

Ce modèle appelé SKIP (*Sum Kinetics with Interaction Parameters*) a été formulé au départ par Yoon et al. (1977). L'ajustement des paramètres d'inhibition a permis entre autres de reproduire le temps de latence séparant la biodégradation des substrats lorsque biodégradés séquentiellement, et de reconstituer de façon réussie la biodégradation simultanée des composés du mélange de toluène, phénol et benzène (Reardon et al., 2000). Cette cinétique a été aussi testée par Rogers et Reardon

(2000) qui ont montré que ce modèle s'ajuste aussi au schéma de biodégradation simultanée du mélange binaire de toluène et de phénol.

Pour décrire une amélioration de la biodégradation d'un substrat lors de sa transformation dans un mélange, il n'existe pas de cinétiques de biodégradation spécifiques qui ont été développées dans la littérature. Il faut d'abord mentionner que pour la plupart des contaminants qui sont éliminés biologiquement, il est difficile de savoir avec certitude si la biodégradation qui a lieu dans l'environnement est le résultat de l'enrichissement des cellules compétentes (augmentation du nombre de cellules) ou le résultat de l'induction des enzymes appropriés des dégradeurs potentiels (augmentation du degré d'induction des enzymes) (Kovárová-Kovar et Egli, 1998). Ce fait peut être important pour une description mathématique plus appropriée des mécanismes de biodégradation, qu'ils soient contrôlés de façon plus dominante par la régulation enzymatique ou l'enrichissement cellulaire.

Guha et al. (1999) ont pu reproduire avec succès un effet de stimulation de la biodégradation d'un composé HAP (pyrène) lors de sa transformation en présence de naphthalène et de phénanthrène. Ces auteurs ont considéré que ces substrats sont biodégradés par une même population bactérienne, dont le taux de croissance est égal à la somme de la contribution des différents substrats. La croissance ainsi améliorée se reflète sur les taux de biodégradation des substrats respectifs. Ces auteurs ont utilisé une culture mixte isolée à partir d'un sol contaminé aux HAP, ce qui peut suggérer que les enzymes impliquées dans la biodégradation des HAP sont à un degré d'induction relativement avancé et qu'un enrichissement de la population est la cause probable du schéma observé.

Dans le cas général, pour déterminer les paramètres d'interaction entre substrats lors de leur biodégradation dans un mélange, une question qui se pose est si les paramètres d'interaction entre paires de substrats ne peuvent permettre de décrire les interactions dans le mélange. Ce fait peut être possible comme l'ont montré Reardon et al. (2000) qui, à partir de paramètres d'interactions binaires, ont pu prédire les taux de croissance et de biodégradation d'un mélange de benzène, de toluène et de phénol en tenant compte des interactions. Dans d'autres cas, où les interactions dans des mélanges binaires de naphthalène, phénanthrène et pyrène étaient moins significatives que celles observées dans le mélange ternaire, il n'a pas

été possible de prédire les interactions dans le système ternaire à partir des observations réalisées sur les systèmes binaires (Guha et al., 1999).

1.3.2 Interactions entre substrats de croissance et substrats de non croissance

Par substrat de non-croissance on entend tout substrat qui ne peut, à lui seul, permettre la croissance des bactéries. Ce fait peut être lié à l'une des situations suivantes : 1) Le substrat ne peut permettre l'induction des enzymes nécessaires à sa biodégradation, sa transformation souvent incomplète se fait par des enzymes non spécifiques induits par d'autres substrats 2) Le substrat est transformé par des enzymes adéquats mais spécifiques à un substrat similaire (qu'il peut induire ou pas selon le cas) et sa transformation peut être dans certains cas complète, et en l'occurrence il peut participer à la croissance des bactéries 3) Le substrat est présent à une concentration telle qu'il ne peut soutenir la croissance des microorganismes (Grady, 1985). On rencontre ces différents cas respectivement dans les réactions de cométabolisme, de biodégradation fortuite et d'utilisation de substrats secondaires.

1.3.2.1 Cométabolisme et biodégradation fortuite

Le cométabolisme est l'oxydation concomitante mais non complète d'un composé ne pouvant soutenir la croissance des microorganismes et d'un composé pouvant être utilisé comme source de carbone et d'énergie. Le substrat cométabolisé ou co-substrat n'est pas capable, à lui seul, de fournir l'énergie nécessaire pour soutenir la croissance bactérienne, sa transformation implique l'utilisation de systèmes enzymatiques non spécifiques déjà existants (Grady, 1985).

La biodégradation fortuite a lieu lorsqu'une enzyme existante peut avoir une activité catalytique adéquate envers un substrat autre que le substrat naturel (ou substrat primaire). Cela dépend dans une large mesure de la similarité de structure entre les deux substrats (Grady, 1985). Le substrat biodégradé fortuitement peut être utilisé comme seule source de carbone et d'énergie, si après sa transformation fortuite, les produits de dégradation peuvent être métabolisés par d'autres enzymes jusqu'à atteindre une structure biogénique qui peut s'ajuster au métabolisme normal de la cellule (Grady, 1985).

Contrairement à la biodégradation fortuite, un grand effort de modélisation a été apporté à la modélisation du phénomène de cométabolisme (Criddle, 1993; Daun et al., 1999; Dyreborg et al., 1997b; El-Farhan et al., 2000; El-Farhan et al., 1998; Ely et al., 1995; Wang et Loh, 2000). Certains travaux ont même fait l'effort de tenir compte de la production de métabolites dans le milieu suite à la biodégradation du co-substrat (Daun et al., 1999).

Ce qui pourrait différencier la modélisation du cométabolisme de celle de la biodégradation fortuite des substrats organiques se situe essentiellement au niveau de la description de la croissance bactérienne. En effet, puisque les cinétiques de biodégradation décrivent une disparition des substrats, les mêmes types de cinétiques peuvent être utilisés dans le cas de la biodégradation fortuite et du cométabolisme. Par contre, la modélisation de la croissance bactérienne dans un processus de cométabolisme doit tenir compte d'une certaine énergie dépensée pour la biodégradation du co-substrat et qui est puisée dans l'énergie apportée par le substrat primaire aux bactéries pour leurs besoins de croissance et de maintenance (Criddle, 1993). Dans la biodégradation fortuite, le co-substrat finit par devenir un substrat qui participe à la croissance, alors il apporte sa propre contribution à la croissance bactérienne au lieu d'être transformé aux dépens de l'énergie apportée par le substrat primaire.

Pour décrire la disparition du substrat primaire et du co-substrat dans un processus de cométabolisme, il est possible de citer plusieurs modèles. En l'absence d'inhibition entre le substrat primaire de croissance et le co-substrat, le taux d'utilisation spécifique du substrat de croissance peut être décrit par la cinétique de Monod :

$$(Criddle, 1993) \quad q_P = k_{\max}^P \frac{C^P}{K_C^P + C^P} \quad (E 1-18)$$

q_P étant le taux de biodégradation spécifique du substrat primaire (de croissance), C^P sa concentration, k_{\max}^P son taux d'utilisation spécifique maximal, K_C^P sa constante à demi saturation.

Dans le modèle de Criddle (1993), le taux de biodégradation spécifique du co-substrat est dépendant du taux de consommation spécifique du substrat primaire.

Il présente également un terme de biodégradation en absence du substrat primaire, qui représente une certaine activité des cellules au repos (en absence du substrat primaire):

$$(Criddle, 1993) \quad q_c = (T_c^P \cdot q_P + k_{\max}^c) \frac{C^c}{K_C^c + C^c} \quad (E 1-19)$$

T_c^P étant la masse de co-substrat transformée par unité de masse de substrat primaire consommée durant la croissance, C^c est la concentration du co-substrat, k_{\max}^c son taux d'utilisation spécifique maximal, K_C^c sa constante à demi saturation.

Lorsque le substrat primaire et le co-substrat s'inhibent mutuellement des termes d'inhibition compétitive peuvent être introduits dans les cinétiques de biodégradation du substrat primaire et du co-substrat (Criddle, 1993). Le taux de croissance cellulaire spécifique est exprimé en fonction des taux de consommation du substrat de croissance et du co-substrat, le substrat de croissance contribuant à la formation de la biomasse et le co-substrat, aussi bien que la respiration endogène, causant sa disparition:

$$(Criddle, 1993) \quad \mu = Y \cdot q_P - b - \frac{q_c}{T_c^b} \quad (E 1-20)$$

Où b est le taux de mortalité cellulaire, Y le rendement de croissance, T_c^b la masse de co-substrat transformé par unité de masse cellulaire en absence de mortalité, q_c/T_c^b le taux de décroissance cellulaire attribué au co-métabolisme.

Le modèle de Criddle suppose que la décroissance de la biomasse dépend du taux de transformation du co-substrat. Cette hypothèse a été vérifiée expérimentalement par Chang et al. (1993). Ces auteurs observent après disparition du substrat de croissance, une décroissance de la biomasse proportionnelle au taux de transformation du co-substrat. Le modèle de Criddle a pu être appliqué avec succès pour reproduire le cométabolisme du p-xylène en présence de toluène comme substrat primaire (Chang et al., 1993).

Certains auteurs ont modélisé le cométabolisme en utilisant de simples cinétiques d'inhibition compétitive (Semprini et McCarty, 1992). Un processus de désactivation des bactéries a été, par contre, introduit par ces auteurs pour exprimer

le fait que lorsque le substrat primaire est épuisé du milieu, une fraction de la biomasse décroissante avec le temps reste active par rapport à la transformation cométabolique. Le taux de biodégradation spécifique du substrat primaire a été exprimé par une simple cinétique de Monod (E 1-16) et le taux de biodégradation spécifique du co-substrat a été exprimé par la cinétique suivante :

$$(Semprini \text{ et } McCarty, 1992) \quad q_c = F_a \cdot k_{\max}^c \frac{C^c}{C^c + K_C^c \left(1 + \frac{C^p}{K_C^p} \right)} \quad (E 1-21)$$

F_a étant la fraction de la population active vis à vis de la transformation cométabolique ($F_a = 1$ lorsque $dX/dt > 0$ et $dF_a/dt = -b_d \cdot F_a$ lorsque $dX/dt < 0$, b_d étant la constante de 1^{er} ordre du processus de désactivation des bactéries), C^p et C^c étant les concentrations du substrat primaire et du co-substrat.

Dans le modèle de Semprini et McCarty (1992), le taux de biodégradation du co-substrat n'est pas exprimé en fonction du taux de biodégradation du substrat primaire comme c'est le cas dans le modèle de Criddle (1993) précédent (E 1-17). Le substrat primaire est considéré comme un simple inhibiteur compétitif. Le modèle de Semprini et McCarty (1992) a pu reproduire de façon satisfaisante des réactions de cométabolisme à l'échelle naturelle, d'éthènes chlorés en présence de méthane comme substrat primaire.

Dans les travaux de Dyreborg et al. (1997b), le substrat primaire (benzène) et le co-substrat (thiophène) sont considérés comme des inhibiteurs mutuels, chacun est un inhibiteur compétitif de l'autre. En considérant que le métabolisme du benzène et du thiophène est réalisé par la même population bactérienne, en divisant le taux de biodégradation du benzène par celui du thiophène et en intégrant, ces auteurs ont pu déduire une relation entre les concentrations de ces substrats:

$$(Dyreborg \text{ et al., } 1997b) \quad \frac{C^c}{C^{c0}} = \exp \left[\frac{K_C^p}{k_{\max}^p} \cdot \frac{k_{\max}^c}{K_C^c} \cdot \ln \left(\frac{C^p}{C^{p0}} \right) \right] \quad (E 1-22)$$

C^p et C^c étant les concentrations de benzène (substrat primaire) et thiophène (co-substrat), C^{p0} et C^{c0} étant leurs concentrations initiales, K_C^p et K_C^c les constantes à demi saturation et k_{\max}^p et k_{\max}^c les taux maximaux de dégradation. Sans avoir à

décrire la croissance bactérienne et à déduire la concentration de la biomasse dans le milieu, le modèle de Dyreborg et al. (1997b) a permis de décrire la biodégradation concomitante du benzène et thiophène.

Pour décrire la transformation cométabolique anaérobie du trinitrotoluène (TNT) et ses métabolites en présence de glucose comme substrat primaire, Daun et al. (1999) comparent la performance des modèles métaboliques aux modèles empiriques. Les modèles métaboliques tiennent compte dans leur formalisme mathématique des réactions métaboliques intermédiaires. Deux modèles empiriques ont été testés, le premier repose sur la forme simple des cinétiques de Monod et le second est analogue au modèle de (Criddle, 1993). Le modèle qui s'ajuste le mieux aux données expérimentales est un modèle empirique basé sur les cinétiques de Monod, où le taux de réduction des co-substrats (TNT et ses métabolites) n'est pas lié directement à celui du substrat primaire:

$$(Daun \text{ et al., } 1999) \quad q_{ci} = k_{\max}^{ci-1} \frac{C^{ci-1}}{K_C^{ci-1} + C^{ci-1}} - k_{\max}^{ci} \frac{C^{ci}}{K_C^{ci} + C^{ci}} \quad (E \ 1-23)$$

q_{ci} étant le taux de réduction spécifique du co-substrat i (TNT ou l'un de ses métabolites), l'indice i réfère aux co-substrats dans l'ordre de leur consommation dans le milieu, C^{ci} étant la concentration du co-substrat i , k_{\max}^{ci} son taux de réduction maximal et K_C^{ci} sa constante à demi-saturation. Le taux de biodégradation du substrat primaire ainsi que le taux de croissance des bactéries, sont exprimés par une simple cinétique de Monod en fonction de la concentration du substrat primaire (E 1-16).

D'autres modèles plus élaborés encore se sont intéressés à la modélisation du cométabolisme (Champagne et al., 1998; Wang et Loh, 2000). Le point commun entre ces modèles est que la plupart s'expriment en fonction de cinétiques de type Monod pour exprimer la biodégradation du substrat primaire et du co-substrat. La plupart aussi considèrent qu'une certaine biodégradation du co-substrat peut avoir lieu même en absence du substrat primaire par les enzymes encore actifs des cellules au repos.

1.3.2.2 Utilisation de substrats secondaires

L'utilisation de substrats secondaires a été souvent observée lorsque des composés se trouvent en traces dans le milieu (LaPat-Polasko et al., 1984; Schmidt et Alexander, 1985; Stratton et al., 1983). Les bactéries obtiennent le carbone et l'énergie nécessaire à leur croissance à partir d'un substrat primaire tout en métabolisant un substrat secondaire dont la concentration est trop faible pour soutenir leur croissance (Stratton et al., 1983). Le substrat primaire peut être un seul ou un mélange de plusieurs composés dont aucun n'est capable de soutenir la croissance des bactéries mais dont l'ensemble permet de fournir suffisamment d'énergie pour la croissance (McCarty et al., 1984). Plusieurs études ont permis de mettre en évidence un seuil de concentration minimal au-dessous duquel les bactéries ne sont pas capables de métaboliser un substrat donné (Schmidt et Alexander, 1985; Schmidt et al., 1985; Stratton et al., 1983). Ce seuil correspond à la concentration de substrat à partir de laquelle l'énergie fournie pour la croissance des microorganismes devient égale à celle dépensée en énergie de maintenance et en pertes cellulaires (Stratton et al., 1983).

Des interactions peuvent aussi affecter la biodégradation des substrats primaires et secondaires. Le taux d'utilisation du chlorure de méthyle en substrat secondaire augmente lorsque l'acétate est présent en substrat primaire, alors que le taux d'utilisation de l'acétate en substrat secondaire est diminué lorsque le méthyle chlorure joue le rôle de substrat primaire (LaPat-Polasko et al., 1984). Il n'existe pas de cinétiques spécifiques pour modéliser la biodégradation des substrats secondaires. Étant donné qu'il s'agit de substrats qui ne peuvent soutenir la croissance des microorganismes, des cinétiques de biodégradation similaires à celles décrivant le cométabolisme peuvent raisonnablement être utilisées.

1.3.3 Cas de la créosote

Différentes interactions parmi celles décrites précédemment sont susceptibles d'avoir lieu lors de la biodégradation de la créosote. En effet, il a déjà été mentionné précédemment, que la créosote forme un mélange complexe de plus de 300 contaminants (Environment Canada, 1993) appartenant à la classe des HAP (85%),

des hétérocycles (5%) et des composés phénoliques (10%) (Mueller et al., 1989). Les HAP sont caractérisés par plusieurs cycles aromatiques accolés (Figure 1-3), tandis que les composés phénoliques présentent un cycle aromatique avec un groupement OH. Les composés hétérocycles sont constitués de plusieurs cycles aromatiques avec un atome autre que le carbone ou l'hydrogène, comme l'azote, l'oxygène ou le soufre.

Le potentiel de biodégradation des constituants de la créosote dépend dans une large mesure de leur partition entre les différentes phases des milieux. Dans le cas des HAP qui sont modérément solubles dans l'eau, une forte affinité pour les fractions organiques (Hertel et al., 1998) les rend peu biodisponibles dans les sols et eaux souterraines. Les hétérocycles qui présentent des solubilités d'un ordre de grandeur plus élevées que celles des HAP, sont plus biodisponibles dans les sols et pourtant réputés pour être récalcitrants à la biodégradation (Dyreborg et al., 1997a). Les composés phénoliques sont beaucoup plus solubles que les deux autres classes de contaminants, et donc très mobiles dans les sols. Ils sont également plus facilement biodégradables et ont moins tendance à s'accumuler dans l'environnement.

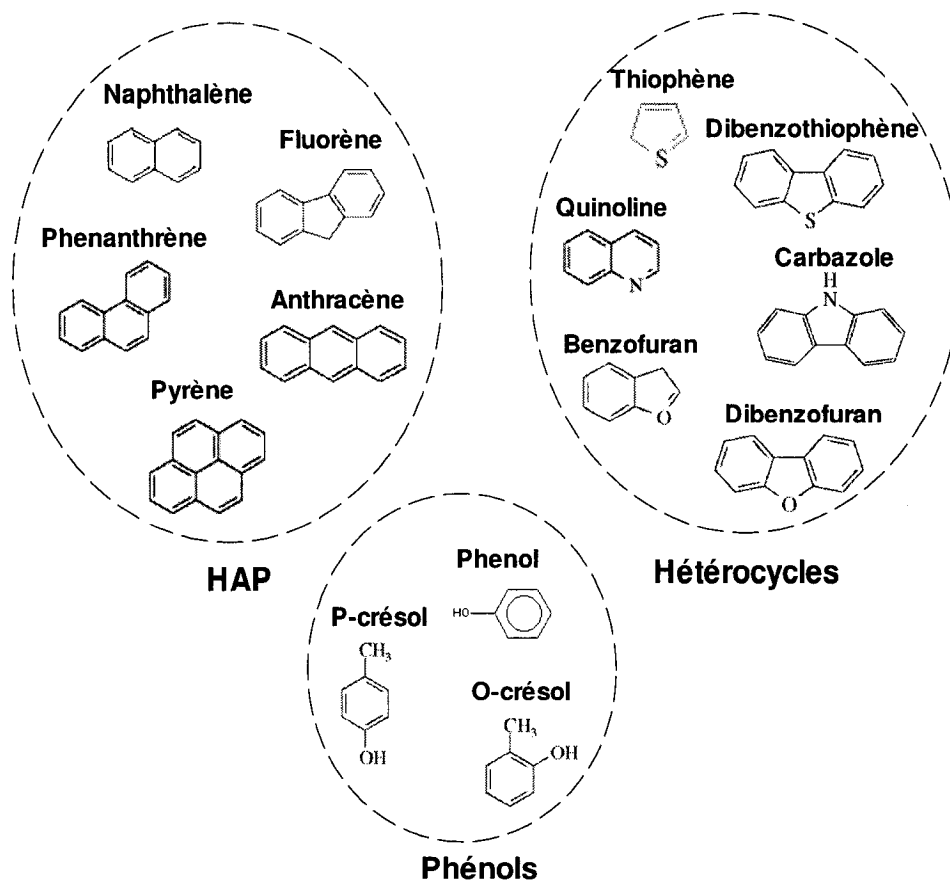


Figure 1-3 Exemples de contaminants appartenant aux trois classes de la créosote.

1.3.3.1 Potentiel de biodégradation et interactions en conditions aérobies

La biodégradation des constituants de la créosote en conditions aérobies a été largement étudiée (Bouchez et al., 1999; Cerniglia, 1984; Dyreborg et al., 1997a; Heitkamp et Cerniglia, 1988; Heitkamp et Cerniglia, 1989; Heitkamp et al., 1989). Il a été prouvé que les HAP présentant 4 cycles aromatiques et moins, sont potentiellement biodégradables en présence d'oxygène, alors que ceux présentant plus de 4 cycles aromatiques sont plus récalcitrants (Hertel et al., 1998). Différentes expériences de biodégradation ont été réalisées dans des systèmes sol-eau et qui ont montré une biodégradation intensive des HAP de 2 à 3 cycles aromatiques comme seule source de carbone et d'énergie (Durant et al., 1995a; Heitkamp et Cerniglia, 1987; Heitkamp et Cerniglia, 1989; McGinnis et al., 1988; Park et al., 1990).

Plusieurs chercheurs ont même isolé des microorganismes capables de minéraliser des HAP de 4 cycles aromatiques (Mueller et al., 1990; Walter et al., 1991).

La biodégradation des composés hétérocycles en conditions aérobies a été beaucoup moins étudiée que celle des composés HAP. Les composés hétérocycles qu'on retrouve dans les sites contaminés à la créosote et contenant un atome d'oxygène, d'azote ou de soufre, présentent un potentiel de biodégradation variable d'un composé à un autre (Dyreborg et al., 1996c; Meyer et Steinhart, 2000). Les composés S- et O- substitués, sont très difficilement biodégradables (Dyreborg et al., 1996c), ceux contenant du soufre semblent moins susceptibles d'être biodégradés, que ceux contenant un atome d'oxygène ou d'azote (Meyer et Steinhart, 2000). Le thiophène, le benzothiophène, composés hétérocycles contenant du soufre ne peuvent être biodégradés seuls, alors que le benzofurane, composé hétérocycle contenant de l'oxygène peut être utilisé comme seule source de carbone et d'énergie par les bactéries (Dyreborg et al., 1996c). Une biodégradation des N-hétérocycles comme l'indole, la quinoline (Fetzner, 1998) et même une minéralisation du carbazole (Millette et al., 1995; Millette et al., 1998) ont déjà été rapportées dans la littérature.

Pour la biodégradation des composés phénoliques, il a été rapporté qu'il existe une grande variété de microorganismes capables de transformer le phénol et les phénols substitués en conditions aérobies (Mueller et al., 1989). Cependant, leur transformation dépend entre autres de leur degré de substitution. Le phénol et les mono-méthylphénols semblent être biodégradés lors de leur transport dans des eaux souterraines contaminées à la créosote en Pensacola (USA), contrairement aux phénols plus hautement substitués, tels que le 2,4-diméthylphénol ou le 3,5-diméthylphénol, qui semblent plus récalcitrants à la dégradation (Goerlitz et al., 1985). La transformation du phénol dépend fortement de sa concentration; à faibles concentrations (0,01-0,1 % du poids du sol), il semble facilement biodégradable et permet la croissance des populations bactériennes, à plus fortes concentrations (0,1-1,0 % du poids du sol) il présente un effet inhibiteur qui va en croissant et qui s'accompagne d'une mortalité de la population bactérienne (McGinnis et al., 1988).

L'exposition des microorganismes à des mélanges des contaminants de la créosote peut avoir différents effets sur les processus de biodégradation et sur la

toxicité des composés pour les microorganismes. Ces effets ont été observés aussi bien pour des mélanges d'une même classe de contaminants que pour des mélanges de contaminants de classes différentes.

Pour des mélanges de composés HAP la tendance est au métabolisme compétitif et à une biodégradation de certains composés par cométabolisme (Bouchez et al., 1999). Un métabolisme compétitif a été observé pour des mélanges binaires de HAP où le phénanthrène est biodégradé avec du naphthalène, du méthyl-naphthalène ou du fluorène (Stringfellow et Aitken, 1995). Cette compétition se traduit par une inhibition de la biodégradation et une diminution de l'affinité des microorganismes pour les composés par rapport à leur biodégradation lorsqu'ils sont seuls.

Cette inhibition compétitive est parfois accompagnée d'un cométabolisme. Un cométabolisme du fluorène en présence de phénanthrène ou de naphthalène (Stringfellow et Aitken, 1995) comme substrats primaires, du fluoranthène en présence du pyrène ou de l'anthracène (Dean-Ross et al., 2002), ont été observés en plus d'une inhibition compétitive. Des transformations cométaboliques mettant en jeu des contaminants habituellement utilisés comme substrats primaires par les bactéries ont été également observées. Il est possible de citer effectivement le cométabolisme du phénanthrène, fluoranthène et anthracène en présence de fluorène comme substrat primaire (Van Herwijnen et al., 2003a; Van Herwijnen et al., 2003b).

Dans les mélanges contenant des composés HAP et hétérocycles, on a souvent rapporté des effets d'inhibition des contaminants entre eux (Meyer et Steinhart, 2000). Il a été montré que des composés hétérocycles N, S, et O substitués peuvent inhiber la biodégradation des composés HAP (Meyer et Steinhart, 2000) et cette inhibition résulte en la variation d'au moins une de ces trois caractéristiques de la biodégradation : une augmentation du temps de latence précédant la consommation des composés, une diminution du taux de biodégradation ou une augmentation des concentrations résiduelles à la fin de l'expérience.

Il semble cependant que les HAP présentant 4 à 5 cycles aromatiques sont moins affectés par la présence des hétérocycles que ceux à 3 cycles aromatiques (Meyer et Steinhart, 2000). Il semble également que l'ordre de biodégradation des HAP dans un mélange est quand même maintenu malgré l'inhibition par les

hétérocycles, et que pour des HAP de 2 à 5 cycles aromatiques, ceux contenant le moins de cycles aromatiques restent les plus facilement biodégradables (Meyer et Steinhart, 2000).

Il a été rapporté que, dans certains cas, les HAP peuvent inhiber la biodégradation de certains des hétérocycles de 2 à 3 anneaux aromatiques (Meyer et Steinhart, 2000) mais qu'ils peuvent aussi dans d'autres cas améliorer leur biodégradation (Dyreborg et al., 1996c). La biodégradation de la quinoline (N-hétérocycle) se trouve ralentie par la présence de HAP dans le milieu, de même qu'une forte inhibition est observée lors de la biodégradation du carbazole (N-hétérocycle) et du dibenzofurane (O-hétérocycle) (Meyer et Steinhart, 2000). Il a été rapporté aussi que le phénanthrène inhibe la biodégradation du carbazole dans un système simulant la dégradation des composés de la créosote en milieu souterrain (Millette et al., 1995).

Il semble, cependant, que cette inhibition de la biodégradation des composés hétérocycles par les composés HAP soit aussi liée à leur degré de biodisponibilité dans le milieu. En effet, la biodégradation des composés les plus polaires donc les plus disponibles (ex. indole, benzothiophène et dibenzofurane) n'est pas affectée par la présence des HAP les plus hydrophobes, alors que celle de la quinoline qui est également polaire mais moins biodisponible à cause de sa basicité, est influencée par la présence des HAP dans le milieu (Meyer et Steinhart, 2000). La basicité de la quinoline entraîne, effectivement, une sorption à la matrice du sol par échange cationique qui diminue sa biodisponibilité dans le milieu. Ces résultats rejoignent ceux de Millette et al. (1995) qui ont montré que, durant leur biodégradation, les composés les plus hydrophobes, donc les moins biodisponibles, sont les plus affectés par la présence des autres composés de la créosote.

Des études ont montré que certains composés HAP et hétérocycles ne peuvent être biodégradés sans la présence concomitante d'un autre substrat qui sert comme source de carbone et d'énergie pour les bactéries (Dyreborg et al., 1996c; Stringfellow et Aitken, 1995). Cette amélioration de la biodégradation a été observée pour des hétérocycles contenant du soufre, comme le thiophène et le benzothiophène, qui n'ont pu être utilisés comme substrat de croissance par les bactéries mais qui ont pu être biodégradés en présence d'autres contaminants comme

le toluène (Dyreborg et al., 1996c). Il a été aussi montré que la biodégradation du fluorène, qui souvent ne peut être utilisé comme substrat de croissance par les bactéries, peut se produire en présence d'autres HAP comme le phénanthrène ou le naphthalène (Stringfellow et Aitken, 1995). Il a été aussi rapporté que pour certains hétérocycles qui peuvent être utilisés comme seule source de carbone et d'énergie, comme le dibenzofurane, la présence de HAP comme le naphthalène ou le 1-méthyl-naphthalène permet d'améliorer leur biodégradation (Dyreborg et al., 1996c).

Dans les mélanges, les composés phénoliques ont tendance à être toxiques aux fortes concentrations (Wang et Loh, 2000; Yu et Loh, 2002). Il a été rapporté que le p-crésol peut stimuler la biodégradation de composés HAP et hétérocycles comme le fluorène et le carbazole et ceci lorsqu'il est alimenté en continu dans des colonnes de sol à une concentration de 10 mg/l (Millette et al., 1998). Le p-crésol semble par contre fortement inhiber la biodégradation du carbazole en batch et lorsqu'il est présent à des niveaux de concentrations de 20 à 100 mg/l (Millette et al., 1995). Cette biodégradation du carbazole en présence de p-crésol ne semble plus avoir lieu lorsque la concentration du p-crésol dépasse les 120 mg/l (Yu et Loh, 2002). Il semble aussi que la présence de composés phénoliques permet une prolifération de populations bactériennes diversifiées (Mueller et al., 1989). Ces populations utilisent une variété de voies métaboliques pouvant participer à la dégradation d'autres composés aromatiques, et ceci étant donné la nature convergente des voies métaboliques des composés aromatiques.

Toutes ces considérations permettent de dire que des effets d'interaction significatifs peuvent apparaître lors de la biodégradation des contaminants de la créosote. Les composés phénoliques, à des concentrations peu élevées, peuvent stimuler la croissance bactérienne et faciliter la biodégradation d'autres composés aromatiques. Les HAP peuvent permettre d'améliorer la biodégradation de certains hétérocycles récalcitrants, mais ces derniers peuvent par contre avoir un effet inhibiteur significatif sur la biodégradation des autres composés de la créosote.

1.3.3.2 Potentiel de biodégradation et interactions en conditions dénitrifiantes

Lorsque l'oxygène disparaît du milieu, les bactéries utilisent d'autres accepteurs d'électrons. Pour des considérations thermodynamiques, les bactéries utilisent préférentiellement le nitrate comme accepteur d'électrons en absence d'oxygène, ensuite le fer ferrique, le sulfate et finalement le dioxyde de carbone (conditions méthanogènes). Après l'oxygène, le nitrate est théoriquement l'accepteur d'électrons qui fournit le plus d'énergie aux bactéries pour leur métabolisme (Nies et Jafvert, 1999). Ceci explique l'intérêt porté dans cette étude aux processus de biodégradation des contaminants de la créosote, en condition réductrices de nitrates, voire dénitrifiantes.

De nombreux travaux ont rapporté la biodégradation de composés HAP et phénoliques dans des conditions autres que les conditions aérobies (Durant et al., 1995a; Fetzner, 1998; McNally et al., 1998; Rockne et al., 2000; Rockne et Strand, 1998; Rockne et Strand, 2001). Il a été rapporté que des cultures enrichies en conditions anaérobies se sont révélées capables de dégrader le phénol sous différentes conditions redox (Vargas et al., 2000). Différents composés phénoliques dont les crésols ont pu être biodégradés en conditions réductrices de nitrates par les bactéries d'eaux souterraines provenant d'un site contaminé à la créosote (Flyvbjerg et al., 1993). Dans un système de colonnes séquentielles de sol simulant différentes conditions redox (en allant des conditions méthanogènes, réductrices de sulfate, de nitrate aux conditions aérobies) le nitrophénol est toujours éliminé dans la première colonne méthanogène (Nay et al., 1999a).

Il a été rapporté que, dans des systèmes sol-eau, le naphthalène et l'acénaphthène sont biodégradés en conditions dénitrifiantes à partir de concentrations de l'ordre du mg/l, et que si la biodégradation aérobie nécessite une période d'acclimatation approximative de 2 jours, la biodégradation en conditions dénitrifiantes nécessite approximativement 2 semaines d'acclimatation (Mihelcic et Luthy, 1988). D'autres travaux ont aussi rapporté une biodégradation de l'anthracène, du phénanthrène et du pyrène par des cultures pures en conditions réductrices de nitrate, avec des taux de biodégradation du phénanthrène et du pyrène

par la bactérie SAG-R similaires à ceux observés en conditions aérobies (McNally et al., 1998).

D'autres travaux ont pu démontrer la minéralisation du naphthalène par des cultures pures (Rockne et al., 2000) ou la minéralisation du naphthalène, du phénanthrène et du biphenyl par des cultures enrichies en conditions réductrices de nitrate (Rockne et Strand, 1998; Rockne et Strand, 2001). Des essais de biodégradation de différents HAP (phenanthrène, fluorène, pyrène, anthracène et acénaphthène) dans différentes conditions anaérobies, ont montré que les taux de biodégradation de ces contaminants étaient les plus rapides en conditions sulfato-réductrices, suivies par les conditions méthanogène et étaient les moins rapides en conditions réductrices de nitrates (Chang et al., 2002).

Des travaux ont aussi mis en évidence la biodégradation de certains composés hétérocycles en conditions réductrices de nitrates, notamment les N-hétérocycles de faible poids moléculaire (Dyreborg et al., 1997a; Johansen et al., 1997; Liu et al., 1994; Liu et Kuo, 1996). Une biodégradation de la pyridine, de la quinoline, et de l'indole (N-hétérocycles) a été observée en conditions réductrices de nitrates en présence d'un sol de sédiments (Liu et al., 1994). Une comparaison des taux de biodégradation entre différentes conditions anaérobies a montré une biodégradation de l'indole et de la quinoline qui était plus rapide en conditions sulfato-réductrices qu'en conditions dénitrifiantes ou méthanogènes (Dyreborg et al., 1997a; Liu et Kuo, 1996).

Plusieurs études se sont penchées sur le potentiel de biodégradation de mélanges complexes de composés aromatiques en conditions réductrices de nitrate (Genthner et al., 1997; Langenhoff et al., 1996; Nay et al., 1999b; Rockne et Strand, 1998), seulement aucune ne s'est intéressée spécifiquement aux interactions qui peuvent avoir lieu entre les différents composants des mélanges.

Il a été rapporté que dans un mélange de naphthalène, toluène et benzène introduit dans une colonne avec le nitrate comme accepteur d'électron, le naphthalène n'est que partiellement transformé (Langenhoff et al., 1996). Il est possible que la persistance du naphthalène soit due à une inhibition par les autres substrats du mélange, cette hypothèse n'a pas été vérifiée par les auteurs. Il a été aussi rapporté qu'une addition d'acétate, de lactate et de phénol n'a aucun effet sur la

biodégradation du naphthalène alors qu'un ajout de benzoate a amélioré sa biodégradation en conditions réductrices de nitrate (Langenhoff et al., 1996). Ces résultats suggèrent que le naphthalène peut être transformé par des enzymes impliquées dans la voie métabolique du benzoate.

D'autres études ont montré qu'une biodégradation limitée est observée pour un mélange contenant des composés HAP de 2, 3, 4 et 5 cycles aromatiques, en présence de nitrate comme accepteur d'électrons (Genthner et al., 1997). Ces auteurs suggèrent que la réduction de nitrate a pu être inhibée par le mélange de HAP, seulement cette hypothèse n'a pas été vérifiée par des essais de biodégradation des contaminants individuels.

Des colonnes de sol en séquence ont été utilisées pour simuler les conditions redox présentes dans un panache de contamination (des conditions méthanogènes aux conditions aérobies). Ces colonnes ont permis de suivre la biodégradation d'un mélange contenant entre autres des composés phénoliques, du naphthalène et du toluène (Nay et al., 1999b). Il en ressort que les composés phénoliques sont rapidement biodégradés et que la biodégradation du naphthalène et du toluène a lieu de façon concomitante essentiellement dans les deux dernières colonnes en présence de nitrate et d'oxygène comme accepteurs d'électrons (Nay et al., 1999b).

Même si les travaux réalisés sur la biodégradation des constituants de la créosote en conditions réductrices de nitrates restent limités, les expériences de biodégradation de mélanges de composés aromatiques laissent soupçonner la présence d'interactions entre voies métaboliques de biodégradation. Ces expériences peuvent suggérer que des interactions peuvent aussi jouer un rôle dans la biodégradation de la créosote en conditions réductrices de nitrate

1.4 Transport et biodégradation de contaminations mixtes en milieu poreux saturé

Plusieurs travaux se sont intéressés au transport et à la biodégradation de contaminations mixtes en milieux poreux. Quelques uns se sont penchés sur le suivi qualitatif des contaminations mixtes à l'échelle naturelle (King et Barker, 1999; King et al., 1999), d'autres ont procédé par des colonnes en laboratoire afin de suivre

notamment les interactions qui peuvent affecter l'atténuation des contaminants (Millette et al., 1998). Pour mieux comprendre le devenir des contaminations mixtes dans les eaux souterraines, les modèles de transport ont été mis à contribution en incorporant les cinétiques des différents processus auxquels sont soumis les contaminants.

1.4.1 Modélisation du transport couplé à la biodégradation de contaminants multiples

Plusieurs travaux de modélisation se sont intéressés à la biodégradation de mélanges de contaminants et contaminations mixtes en milieu poreux saturé et sous différentes conditions redox. Dans ces modèles une équation de transport est écrite pour chacune des espèces organiques figurant dans la description mathématique des cinétiques de biodégradation. Dans le cas où des espèces inorganiques biologiquement réactives (accepteurs d'électrons) participeraient à ces réactions, une équation semblable est écrite pour chacune des espèces considérées.

Des modèles pouvant simuler la biodégradation de substrats organiques multiples en présence d'accepteurs d'électrons multiples ont été présentés par Ahn et al. (1996); Chen et al. (1992); Clement et al. (1998); Essaid et al. (1995); Kindred et Celia (1989); Prommer et al. (1999); Waddill et Widdowson (1998). La plupart de ces modèles ne tiennent pas compte des interactions éventuelles entre contaminants dans leur formulation des cinétiques de biodégradation. Quelques modèles de transport ont été développés en tenant compte des interactions (Ahn et al., 1996; Kindred et Celia, 1989), certains ont été utilisés pour reproduire des interactions à l'échelle du terrain ou en laboratoire mais uniquement entre mélanges binaires de contaminants (El-Farhan et al., 1998; Semprini et McCarty, 1992).

Dans la plupart des modèles de transport couplés à la biodégradation, les bactéries sont considérées attachées au milieu poreux ce qui permet de négliger leur transport. Par ailleurs, les limitations en transfert de masse entre la phase fluide et les bactéries sont considérées négligeables. La cinétique de biodégradation du contaminant est donc incorporée dans l'équation de transport comme un terme réservoir macroscopique. Ce type de modèle a été largement utilisé dans des applications à la biorémediation, des exemples de ces modèles peuvent être retrouvés

dans des travaux de Sykes et al. (1982), Borden et Bedient (1986), Kindred et Celia (1989), Chiang et al. (1991).

Dans ces modèles, les équations de transport des substrats et accepteurs d'électrons sont couplées à une équation de croissance bactérienne. La description mathématique de la croissance bactérienne obéît souvent aux mêmes cinétiques dans les différents modèles, mais le choix du nombre de populations actives varie d'un modèle à un autre. Ce choix peut être important dans la simulation de la biodégradation de mélanges de contaminants et éventuellement dans la prise en compte des effets d'interaction. En effet, certains auteurs ont choisi de modéliser la biodégradation d'un mélange de HAP (en milieu fermé) par une même population bactérienne pour obtenir un effet de stimulation de la biodégradation par une croissance rapide (Guha et al., 1999).

Dans les modèles de transport cités dans la littérature, plusieurs populations bactériennes actives sont souvent considérées. Dans certains modèles, les populations bactériennes sont classées en fonction de la source de carbone consommée, chaque contaminant étant biodégradé par une population bactérienne donnée (Chen et al., 1992), et les mélanges complexes peuvent être répertoriés en sous-classes de contaminants, chaque classe étant biodégradée par une population bactérienne spécifique capable d'utiliser différents accepteurs d'électrons (Nicol et al., 1994).

Dans d'autres travaux, à chaque accepteur d'électrons considéré est associée une population bactérienne active (Essaid et al., 1995; Kindred et Celia, 1989; Prommer et al., 1999; Waddill et Widdowson, 1998; Wilson et Stevens, 1988). Les contaminants d'un mélange sont donc consommés par un consortium bactérien composé de différentes populations, opérant chacune à une condition redox différente.

Parmi les modèles de transport où des cinétiques d'interactions ont été introduites, la plupart sont restés au stade conceptuel et rares sont ceux qui ont été validés par des données de terrain ou de laboratoire. La compétition entre substrats (Ahn et al., 1996), le cométabolisme et la biodégradation de plusieurs substrats par un même système enzymatique bactérien ont été intégrés dans des modèles de transport couplés à la biodégradation mais sans validation par des données de terrain ou de laboratoire (Kindred et Celia, 1989).

Le cométabolisme du TCE en présence de toluène lors de leur transport dans une colonne de milieu poreux, a pu être étudiée en laboratoire et reproduite avec succès par un modèle de transport et de biodégradation par El-Farhan et al. (1998). La modélisation du cométabolisme des éthènes chlorés en présence d'un substrat primaire lors de leur transport en milieu souterrain, a permis de reproduire avec succès des données observées à l'échelle du terrain (Semprini et McCarty, 1992). D'autres auteurs comme Chen et al. (1992) ont modélisé le transport et biodégradation du benzène et toluène dans des colonnes au laboratoire mais sans tenir compte des interactions. Ces auteurs ont observé des divergences entre les données de laboratoire et les résultats du modèle, qu'ils ont attribué entre autres à des interactions entre contaminants lors de leur biodégradation.

D'un autre côté, il existe des travaux qui se sont intéressés à la biodégradation de mélanges de contaminants lors de leur transport en milieu poreux, mais qui sont restés au stade qualitatif et qui n'ont pas été suivis par un travail de modélisation. Millette et al. (1998) ont pu identifier des interactions entre mélanges de composés de la créosote, lors de leur transport et biodégradation dans des colonnes de milieu poreux saturé. De même, Stratton et al. (1983) ont suivi la biodégradation de mélanges de substrats dans des colonnes de milieu poreux, et ont noté une certaine différence dans leur biodégradation lorsqu'ils sont en mélanges.

L'étude (Bouchez et al., 1999; Chen et al., 1992; Dyreborg et al., 1996a; Dyreborg et al., 1996b; Dyreborg et al., 1996c; Meyer et Steinhart, 2000; Stringfellow et Aitken, 1995) et dans certains cas la modélisation (Guha et al., 1999; Reardon et al., 2000; Rogers et al., 2000) des interactions entre contaminants organiques s'est surtout limitée aux systèmes fermés, et aux systèmes libres alimentés en continu. Ces systèmes ne reproduisent pas forcément les conditions des milieux souterrains.

1.4.2 Modèles tenant compte de la dissolution des contaminants à la source

Certains modèles de transport se sont intéressés à la modélisation de la dissolution des contaminations mixtes à partir des phases non aqueuses (Brauner et

Widdowson, 2001; Essaid et al., 2003; Gallo et Manzini, 2001; Molson, 2005). La modélisation de la dissolution des phases liquides non aqueuses (PLNA) mixtes permet de mieux reproduire la façon dont les différents contaminants sont introduits dans les milieux aquifères en fonction de leur solubilité.

Cet élément peut être important dans la simulation des interactions entre contaminants, étant donné que le comportement de la source peut contrôler les contaminants qui sont susceptible d'être en contact dans les eaux souterraines. Les interactions peuvent effectivement être liées au temps pendant lequel les contaminants sont injectés dans l'aquifère, et au temps pendant lequel ils restent en contact. Les interactions peuvent également être liées aux concentrations des contaminants après leur dissolution, donc à leurs solubilités lorsqu'ils sont dissous à partir de la PLNA mixte.

La dissolution d'une contamination mixte à partir d'une phase non aqueuse est souvent modélisée par la loi de Raoult pour les mélanges idéals. Cette loi stipule que la solubilité dans l'eau d'une espèce organique solubilisée à partir d'un mélange non aqueux est proportionnelle au produit de sa fraction molaire dans la PLNA et de sa solubilité pure. Cette solubilité est introduite dans une cinétique traduisant le transfert de masse des contaminants de la zone non aqueuse à l'eau souterraine selon la théorie de la couche limite (Sherwood et al., 1975). Des cinétiques de dissolution sont ainsi incorporées dans des modèles de transport afin de reproduire le transport couplé à la dissolution de contaminations mixtes à partir de phases non aqueuses (Brauner et Widdowson, 2001; Essaid et al., 2003; Frind et al., 1999; Gallo et Manzini, 2001; Molson et al., 2002c).

Même si la compréhension de la dissolution à l'échelle du terrain des PLNA mixtes reste encore limitée (Khachikian et Harmon, 2000), certains travaux ont tenté de simuler des expériences de dissolution (Frind et al., 1999) en tenant compte en plus de la biodégradation des contaminants (Brauner et Widdowson, 2001; Essaid et al., 2003; Molson et al., 2002b). Ainsi, le modèle BIONAPL a pu simuler avec succès des expériences de dissolution en milieu souterrain d'une PLNA à la base des Forces Canadienne de Borden, composée de PCE, TCM et TCE (Frind et al., 1999). Le modèle SEAM3D a pu également simuler la dissolution, le transport et la biodégradation sous différentes conditions redox de composés BTEX à la base

aérienne de Columbus au Mississippi (Brauner et Widdowson, 2001). Le modèle BIOMOC a pu être utilisé avec succès dans une modélisation inverse du transport couplé à la dissolution et à la biodégradation de composés BTEX au site de recherche de l'USGS près de Bemidji (Essaid et al., 2003).

Tous ces travaux ont permis de reproduire la manière dont les contaminants sont introduits dans les eaux souterraines dépendamment de la source d'où ils proviennent. La modélisation de la dissolution ainsi couplée au transport permet de mieux reproduire l'infiltration et la distribution des contaminants dans les eaux souterraines, et ceci permet une meilleure évaluation des éventuelles interactions pouvant avoir lieu entre les contaminants.

1.5 Résumé

La créosote est une phase liquide non-aqueuse, responsable d'un certain nombre de cas de contamination des sols et eaux souterraines dans les sites où elle est produite ou utilisée. Elle est constituée d'un nombre important de contaminants des classes des HAP, phénols et hétérocycles dont plusieurs sont toxiques et cancérigènes.

Les contaminants de la créosote qu'on retrouve dans les eaux souterraines des sites contaminés sont sujets à différents processus tels que la dissolution à partir de la phase non aqueuse résiduelle, la sorption avec la phase solide ainsi que la biodégradation. Il a été prouvé que la biodégradation des différents constituants de la créosote en conditions aérobies peut donner lieu à des interactions entre voies métaboliques de biodégradation des contaminants, pouvant influencer leur enlèvement. L'occurrence de telles interactions en absence d'oxygène reste peu documentée, malgré le fait que les eaux souterraines peu riches en oxygène présentent des conditions favorables aux processus anaérobies. Cette thèse se propose dans un prochain chapitre de vérifier si des interactions peuvent avoir lieu entre contaminants de la créosote en absence d'oxygène et en présence de nitrates comme accepteurs d'électrons.

Les interactions qui peuvent avoir lieu entre différents contaminants servant de substrats pour les bactéries peuvent être dues à la régulation métabolique. En l'occurrence les bactéries utilisent les substrats séquentiellement, par ordre de

préférence lorsqu'ils sont présents de façon abondante dans le milieu. Les bactéries peuvent, par contre, consommer les substrats simultanément lorsqu'ils sont disponibles en faibles concentrations. En dehors de la régulation métabolique, les interactions peuvent également être provoquées par des réactions accidentelles des enzymes avec des substrats autres que leur substrat naturel dans le milieu. Ces interactions peuvent mener à une inhibition des réactions enzymatiques impliquées dans les processus de biodégradation. Elles peuvent également donner lieu à une biodégradation accidentelle de certains contaminants, qui est qualifiée de cométabolisme ou de biodégradation fortuite selon le cas.

L'effet de ces interactions est habituellement mis en évidence de façon expérimentale, et l'interprétation de l'expérience est souvent réalisée de façon qualitative. La modélisation des interactions peut constituer un outil pouvant aider à une meilleure interprétation des résultats d'expérience. Plusieurs des interactions qui ont lieu lors de la biodégradation de contaminations mixtes peuvent être prises en compte dans les cinétiques de biodégradation des contaminants. Ces cinétiques incorporées dans des modèles de transport peuvent reproduire l'atténuation biologique des contaminations mixtes. Ces modèles peuvent ainsi permettre d'identifier des comportements inhérents à certains effets d'interaction et apporter une meilleure compréhension des données d'expérience ou de terrain. Cette approche sera mise en œuvre dans le chapitre 3 de cette thèse.

La connaissance des situations favorisant l'occurrence des interactions et notamment leur impact dans un contexte de contamination réelle reste peu documentée dans la littérature. Le rôle joué par une source non aqueuse comme la créosote et l'effet de ses propriétés sur les mécanismes de dissolution et de distribution des contaminants dans un aquifère peut avoir un impact sur l'intervention des interactions. Ces propriétés vont contrôler entre autres les contaminants qui sont dissous au même temps et qui sont susceptibles d'entrer en contact dans l'aquifère. La prise en compte des interactions et des mécanismes de dissolution dans les modèles de transport permettra de mieux évaluer l'importance des interactions qui risquent d'avoir lieu en fonction de la distribution des contaminants dans les eaux souterraines. Le dernier chapitre de cette thèse permettra d'aborder cet aspect de la problématique.

CHAPITRE II Identification des interactions entre contaminants modèles de la créosote lors de leur biodégradation en conditions réductrices de nitrate

2.1 Introduction

Plusieurs études se sont intéressées à la biodégradation des contaminants de la créosote en conditions aérobies. Certaines se sont penchées sur les processus de biodégradation des contaminants individuels (Guha et Jaffé, 1996; Knightes et Peters, 2000). D'autres ont examiné la biodégradation des contaminants sous forme de mélanges complexes, comme c'est le cas dans la créosote (Bouchez et al., 1999; Guha et al., 1999). Des interactions ont été mises en évidence lors de la biodégradation des mélanges de contaminants, et qui ont pour effet de modifier les cinétiques de biodégradation des contaminants individuels (McNally et al., 1998; Meyer et Steinhart, 2000; Millette et al., 1995; Millette et al., 1998; Stringfellow et Aitken, 1995; Yu et Loh, 2002). Ces interactions peuvent influencer l'atténuation naturelle des contaminants dans les aquifères pollués. Il est donc important de mieux comprendre leurs effets sur les cinétiques de biodégradation des contaminants.

L'étude des interactions entre contaminants de la créosote a porté essentiellement sur les processus de biodégradation aérobies. Les interactions entre ces contaminants lors de leur transformation en absence d'oxygène sont encore peu connues. Dans une optique d'atténuation naturelle, l'identification des interactions en condition anaérobie, peut être d'importance pour les cas de contamination des eaux souterraines. Celles-ci sont effectivement peu riches en oxygène et une grande partie de l'activité de biodégradation qui s'y produit a lieu en conditions anoxiques.

La problématique de la biodégradation des contaminants de la créosote en conditions anoxiques est encore peu explorée. Quelques études ont rapporté un potentiel de biodégradation de certains contaminants de la créosote en conditions réductrices de nitrates (Liu et al., 1994; Mihelcic et Luthy, 1988; Rockne et al., 2000;

Rockne et Strand, 1998; Rockne et Strand, 2001) et d'autres ont tenté de suivre le devenir de mélanges de ces contaminants dans ces conditions redox (Genthner et al., 1997; Langenhoff et al., 1996; Nay et al., 1999a). Toutefois, ces études donnent peu d'informations concernant les interactions qui peuvent avoir lieu entre les différents contaminants de la créosote dans ces conditions redox.

Le but de ce chapitre est de tenter d'identifier les interactions éventuelles qui peuvent se produire entre certains contaminants de la créosote lors de leur biodégradation en conditions réductrices de nitrates. Pour répondre à cet objectif, des essais de biodégradation ont été réalisés sur des sols, avec des mélanges de contaminants modèles de la créosote. Ces essais ont mis en jeu l'activité indigène de deux sols différents : le sol de Borden et le sol de Bagotville.

2.2 Essais de biodégradation avec le sol de Borden

2.2.1 Méthodologie expérimentale

Le plan expérimental prévoit d'abord des essais préliminaires de biodégradation et de minéralisation de contaminants modèles de la créosote. Le but de ces essais est de déterminer le potentiel de transformation de ces contaminants en conditions réductrices de nitrates.

Ces essais sont suivis par des essais de biodégradation de mélanges de ces contaminants. L'objectif est de déterminer les interactions qui peuvent influencer la biodégradation d'un des contaminants du mélange.

2.2.1.1 Le sol

Le sol qui a été choisi en premier lieu pour réaliser les essais expérimentaux est celui de l'aquifère de Borden. Il s'agit d'un sol sablonneux non contaminé qui a été échantillonné en septembre 2001, au niveau de la nappe aquifère de la base des Forces Canadiennes de Borden. Les caractéristiques physico-chimiques du sol de Borden sont rapportées en ANNEXE I. Ce sol a été utilisé par Millette et al. (1995) et Millette et al. (1998) pour réaliser des essais de biodégradation aérobies, et a permis de mettre en évidence des interactions entre certains contaminants de la créosote. Dans l'objectif de poursuivre ces études, et afin de savoir si de telles

interactions existent en conditions réductrices de nitrates, ce sol sera utilisé pour déterminer les interactions entre contaminants de la créosote lors de leur biodégradation dans cette condition redox.

2.2.1.2 Les contaminants

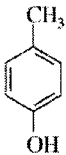
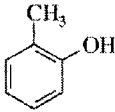
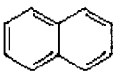
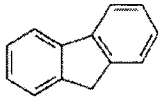
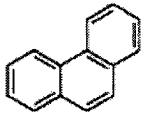
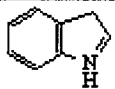
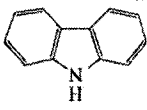
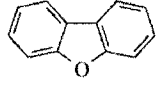
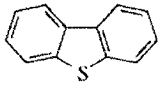
Les contaminants utilisés lors des essais sont des représentants des trois classes de contaminants de la créosote (phénols, HAPs, hétérocycles). Ils ont été choisis parmi les contaminants les plus solubles de ces classes, donc les plus susceptibles de migrer dans les aquifères contaminés.

Les produits radio-marqués utilisés sont les suivants: [UL-¹⁴C]naphthalène (17,8 mCi/mmol), [9-¹⁴C]fluorène (17 mCi/mmol), p-[UL-¹⁴C]crésol (3,4 mCi/mmol), o-[UL-¹⁴C]crésol (4,8 mCi/mmol), [UL-¹⁴C]carbazole (7,9 mCi/mmol), fournis par Sigma (St Louis, Mo); le [2-¹⁴C]Indole (40000 mCi/mmol) fourni par Moravek Biochemicals (Brea, CA).

Les produits non radio-marqués utilisés sont les suivants: le naphthalène (99+% de pureté), le phénanthrène (>96% de pureté), le fluorène (98% de pureté), le Carbazole (95% de pureté), fournis par Sigma; le p-crésol (99% de pureté), l'o-crésol (99+% de pureté), l'indole (99% de pureté), le dibenzofurane (99% de pureté), le dibenzothiophene (99+% de pureté) fournis par Aldrich (Milwaukee, WI).

La structure de ces contaminants, leur solubilité dans l'eau ainsi que leur fraction massique dans la créosote sont présentées dans le Tableau 2-1.

Tableau 2-1 Propriétés des contaminants étudiés

Nom	Structure moléculaire	Solubilité du composé pur ^a C ₀ (mg/l)	Fraction massique dans la créosote ^b (%)
P-crésol		24 000,0 (40 °C)	1,4
O-crésol		25 920,0 (25 °C)	1,4
Naphthalène		31,7 (25 °C)	10,5
Fluorène		2,0 (25 °C)	6,5
Phenanthrène		1,3 (25 °C)	10,5
Indole		1 874,0 (20 °C)	-
Carbazole		1,0 (20 °C)	0,5
Dibenzofurane		2,0 (25 °C)	0,5
Dibenzothiophène		10,0 (25 °C)	0,5

^a Données d'après Mueller et al. (1989) excepté pour l'indole (Yaws, 1999) ;

^b D'après la composition typique de la créosote présentée dans Mueller et al. (1989), excepté pour l'indole dont la fraction n'a pas été prise en compte.

2.2.1.3 Préparation des solutions mères contaminées

Une procédure a été mise au point pour la préparation des solutions contaminées anoxiques qui ont servi pour constituer les microcosmes. Des solutions concentrées de chacun des contaminants d'intérêt sont préparées dans du méthanol. Les contaminants marqués au ^{14}C (s'il y a lieu) sont également solubilisés dans le même solvant. La procédure consiste à étaler sur les parois d'une bouteille munie d'un système de fermeture étanche un certain volume de méthanol (quelques dizaines à quelques centaines de μl) correspondant à la masse requise de contaminant. Le solvant est ensuite évaporé en effectuant un mouvement de rotation de la bouteille entre les mains. Si la solution mère visée est composée d'un mélange de contaminants, ces derniers sont adsorbés un à un sur les parois de la bouteille.

Parallèlement, une eau est portée à ébullition pendant au moins 20 min afin d'enlever l'oxygène contenu, puis introduite dans la bouteille contenant le ou les contaminants adsorbés (au $\frac{3}{4}$ du volume désiré). Celle-ci est ensuite rapidement refermée, agitée à la main afin de dissoudre le ou les contaminants et placée sous atmosphère d'azote pour refroidir.

Par la suite, les manipulations sont réalisées sous atmosphère d'azote dans des sacs à gants 27x37 cm (Cole-Parmer Canada Inc., Anjou, PQ). Un milieu salin minimal (MSM) concentré est préparé de façon anoxique, il comprend (dans 1 l d'eau déionisée dé-oxygénée) : 5000 mg NaH_2PO_4 , 11300 mg K_2HPO_4 , 4454 mg NH_4Cl , 820 mg MgCl_2 . Une solution de métaux traces contenant (dans 1 l d'eau dé-ionisée dé-oxygénée) : 238 mg $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 241 mg $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 171 mg $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 137 mg ZnCl_2 , 3139 mg $\text{FeCl}_2 \cdot 10,4\text{H}_2\text{O}$, 1979 mg $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 482 mg $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 1471 mg $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ est également préparée séparément. La procédure de préparation des solutions mères nutritives non contaminées est enfin complétée par la préparation d'une solution de NaNO_3 (1 M) dans une eau déionisée dé-oxygénée et la stérilisation de l'ensemble de ces solutions nutritives par filtration (0,2 μm).

Un certain volume de MSM (1/10 du volume final de la solution mère contaminée), de solution trace (1 ml/l), et de solution de NaNO_3 est introduit dans la solution mère contaminée dont le volume est ensuite réajusté avec une eau dé-

oxygénée. La solution mère est finalement bullée à l'azote pendant 30 min pour enlever les traces d'oxygène résiduel.

2.2.1.4 Préparation et suivi des microcosmes

Cette procédure a été suivie pour le montage des essais de biodégradation des contaminants individuels et celui des essais de biodégradation des mélanges de contaminants.

Dans la première étape de préparation des microcosmes, une masse de 46 g de sol humide est pesée dans des bouteilles sérologiques de 120 ml. Les bouteilles sont placées dans des sacs à gants 17x27 cm (Cole-Parmer Canada Inc., Anjou, PQ) qui sont purgés à l'azote tous les jours pendant 15 jours, afin d'enlever l'oxygène du sol. Par la suite, les microcosmes sont préparés sous atmosphère d'azote dans des sacs à gants 27x37 cm, en rajoutant 92 ml de solution mère contaminée à chacune des bouteilles, en les bullant quelques minutes à l'azote et en les fermant avec des valves Mininert. Dans ces microcosmes, le milieu poreux est saturé en eau et reproduit ainsi les conditions d'un aquifère saturé.

Les microcosmes sont réalisés en triplicatas avec un témoin abiotique traité au chlorure de mercure (HgCl_2) pour une concentration finale d'environ 250 mg/l. Le HgCl_2 a été utilisé par Hutchins et al (1991) avec l'azoture de sodium (NaN_3) lors d'essais de biodégradation en microcosmes en conditions dénitrifiantes, et agit comme un inhibiteur de la biodégradation (Trevors, 1996).

Pour les essais de biodégradation avec les mélanges de contaminants, le HgCl_2 a été remplacé par le NaN_3 (500 mg/l). Ce changement a été réalisé suite aux essais de biodégradation des contaminants individuels dont les résultats (section 2.2.2.1 suivante) laissent soupçonner une réaction possible de certains contaminants avec le HgCl_2 . Le NaN_3 agit également comme un inhibiteur de l'activité bactérienne et est plus souvent utilisé dans les essais réalisés en conditions anaérobies (Trevors, 1996).

Les microcosmes sont ensuite incubés tête en bas, sous atmosphère d'azote dans des sacs à gants 17x27 cm, à 15 °C et à l'abri de la lumière. L'échantillonnage des microcosmes est réalisé sous atmosphère d'azote dans des sacs à gants 27x37 cm en utilisant des seringues purgées à l'azote.

2.2.1.4.1 Essais avec les contaminants individuels

Ces essais sont réalisés pour un ensemble de contaminants de la créosote, dans le but de déterminer leur potentiel de biodégradation par le sol choisi et en conditions réductrices de nitrates. Des essais de biodégradation et de minéralisation sont réalisés pour le o- et p-crésol (composés phénoliques), le naphthalène et fluorène (HAPs), indole et carbazole (hétérocycles).

Les essais de biodégradation sont réalisés pour les concentrations initiales des contaminants listées dans le Tableau 2-2. Les essais de minéralisation sont réalisés avec les mêmes concentrations initiales que les essais de biodégradation, mais avec une fraction du contaminant utilisé marquée au ^{14}C . Une activité de 0.9 μCi a été prévue pour chacun des microcosmes.

Tableau 2-2 Concentrations utilisées dans les essais de biodégradation et de minéralisation des contaminants individuels avec le sol de Borden

	Contaminants					
	O-crésol (Oc)	P-crésol (Pc)	Naphthalène (Nap)	Fluorène (Fluo)	Indole (Ind)	Carbazole (Carb)
Concentration (mg/l)	3,70	3,80	1,60	1,10	1,00	0,97

Ces essais réalisés en triplicatas, ont nécessité la préparation de 24 microcosmes en tout incluant 6 témoins abiotiques. Le suivi des essais de biodégradation et de minéralisation est réalisé par échantillonnage de la phase liquide des microcosmes (2,5 ml). La concentration des contaminants dans la phase aqueuse est analysée par HPLC-UV-fluorescence (TSP, pompe P4000, Autosampler As3000, détecteur UV FOCUS, fluorescence FL 3000). Un échantillon de 10 μl est injecté dans une colonne C18 à phase inversée de 250 x 4,6 mm (CSC-SIL 80A/ODS2; No. Cat. 107-305, CSC Inc., Montreal, PQ). Il est élué de façon isocratique avec une phase mobile (1 ml/min) constituée de 80% d'acétonitrile et 20% d'eau. La quantification des contaminants par détection UV se fait aux longueurs d'ondes (nm), 254 (Nap et Fluo), 214 (Oc et Pc), et 233 (Ind et Carb). La quantification par détection à fluorescence a lieu aux longueurs d'ondes d'excitation et d'émission

(nm), 220 et 340 (Nap), 230 et 320 (Fluo), 284 et 310 (Oc et Pc), 290 et 334 (Ind et Carb).

Le suivi de la minéralisation est réalisé par quantification du $^{14}\text{CO}_2$ produit, en utilisant un échantillon aqueux (2ml) du microcosme dont la moitié est traitée à avec un acide (1ml, H_3NO_3 1N) et l'autre avec une base (1 ml KOH, 1N). Un volume de 10 ml de cocktail à scintillation (Opti-phase Hisafe-3, Wallac, Montreal, Canada) est ensuite rajouté et mélangé à chacun des échantillons dont l'activité est déterminée sur un compteur à scintillation (Wallac, modèle 1409, Montreal, Canada). La quantité de $^{14}\text{CO}_2$ dissous est enfin établie comme étant la différence de radioactivité entre les vials acidifiés et basifiés.

La réduction de nitrates a été suivie en analysant la concentration des nitrates au HPLC-UV, en considérant les nitrates utilisés uniquement comme accepteur d'électrons étant donné la présence d'ammonium en excès dans le milieu. L'analyse est réalisée par HPLC-UV suivant la méthode de Schroeder (1987). L'échantillon est mélangé dans une proportion de (4 : 1) avec une solution contenant du KH_2PO_4 (0,3 mol/l) et H_3PO_4 (0,075 mol/l). Un volume de 10 μl est injecté dans une colonne C18 à phase inversée adapté aux pH acides (InertSil 150A-ODS2, 250 x 4,6 mm; CSC Inc, No. Cat. 907-305). Il est élué (1 ml/min) par une phase mobile aqueuse contenant du KH_2PO_4 (0,06 mol/l) et du H_3PO_4 (0,015 mol/l). La détection UV se fait à la longueur d'onde 210 nm.

2.2.1.4.2 Essais avec les mélanges de contaminants

Les essais de biodégradation avec les mélanges de contaminants sont réalisés selon un plan factoriel statistique. Ce plan est constitué de 6 variables indépendantes (facteurs) et d'une variable dépendante (variable réponse). La variable dépendante est le naphthalène (Nap), dont la variation (diminution temporelle) de la concentration est la variable réponse suivie. Les facteurs sont les autres contaminants (p-crésol, fluorène, phenanthrène, indole, dibenzofurane, dibenzothiophène), dont les effets seront étudiés sur la variable réponse choisie. Ces facteurs représentent les différentes classes de contaminants présents dans la créosote (phénols, HAP, hétérocycles).

Le plan factoriel est à 2 modalités, les modalités étant définies comme la concentration des facteurs. Il est constitué du quart d'un plan factoriel complet, soit un plan de 2^{6-2} traitements, répartis en deux blocs de 8 traitements, le 2^{ème} bloc étant la réflexion du 1^{er} (Millette et al., 1995). Le 1^{er} bloc du plan factoriel est décrit dans le Tableau 2-3, et les modalités des facteurs sont précisées dans le Tableau 2-4.

Les modalités des facteurs varient entre une 1^{ère} concentration égale à zéro (contaminants absents du mélange) et une 2^{ème} concentration fixée à une valeur inférieure à la concentration à saturation. La concentration à saturation est celle des contaminants lorsqu'ils sont dissous dans une eau pure en équilibre avec la matrice de créosote. Elle est calculée suivant la loi de Raoult, connaissant la fraction molaire de chacun des contaminants dans la créosote et la solubilité du contaminant pur lorsqu'il est à l'état liquide (Shui et al., 1988). Les fractions molaires des contaminants sont déterminées en se basant sur la composition typique de la créosote rapportée par Mueller et al. (1989). Les concentrations des contaminants correspondant à la 2^{ème} modalité des facteurs reflètent les concentrations pouvant être retrouvées dans l'eau souterraine à la suite de la dissolution des contaminants d'une source de créosote.

Tableau 2-3 Premier bloc^a de traitements du plan factoriel avec le sol de Borden

<i>Traitement</i>	<i>Pc</i>	<i>Fluo</i>	<i>Phen</i>	<i>Ind</i>	<i>Dbf</i>	<i>Dbt</i>
1	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	+	+	+
3	-	+	+	+	+	-
4	-	+	+	-	-	+
5	+	+	-	-	+	+
6	+	+	-	+	-	-
7	+	-	+	+	-	+
8	+	-	+	-	+	-

^a (-) 1^{ère} modalité ; (+) 2^{ème} modalité ; dans le deuxième bloc de traitements, tous les signes + et - dans le tableau sont inversés ; facteurs : Pc=p-crésol, Oc=o-crésol, Phen=phenanthrène, Fluo=fluorène, Dbf=dibenzofurane, Dbt=Dibenzothophène.

Tableau 2-4 Concentrations des contaminants dans le plan factoriel avec le sol de Borden

Contaminant	Concentration à saturation (µg/l) ^c	Concentrations	
		1 ^{ère} modalité (-) (µg/l)	2 ^{ème} modalité (+) (µg/l)
Nap	14 004	0	10 000
Pc	405 655	0	10 000
Phen	660	0	600
Fluo	950	0	900
Ind	1 874 000	0	3 000
Dbf	2 000	0	1 000
Dbt	43	0	40

^c Concentrations à saturation des contaminants lorsque dissous à partir de la créosote (Millette et al., 1995) sauf pour l'indole où il s'agit de la concentration à saturation du composé pur (Yaws, 1999);

Ces essais ont été réalisés en triplicatas et ont nécessité la préparation de 64 microcosmes incluant 16 témoins abiotiques. Le suivi des essais de biodégradation des mélanges de contaminants est réalisé par échantillonnage de la phase aqueuse (1,5 ml). La concentration des contaminants est déterminée par SPME-GC/MS (Micro-extraction en phase solide et analyse au GC/MS). Une fibre mince en polyacrylate (85 µm, Supelco, Bellefonte, CA) est immergée dans un échantillon de 1 ml pendant 10 min à l'aide d'un échantillonneur automatique (Varian, modèle 8200). La fibre est ensuite introduite dans l'injecteur du GC (Varian, modèle 3400) où les contaminants sont désorbés pendant 2 min à 250 °C. Ils sont entraînés par la phase mobile dans la colonne (ZB 624, 60m x 0,32 mm x 1,8 µm, Phenomenex, Torrance, CA) qui est maintenue à 50 °C pendant 2 min, soumise à un gradient de température de 20 °C/min jusqu'à atteindre 260 °C, où elle y est maintenue pendant 2,5 min. La détection des contaminants est réalisée par un spectromètre de masse (trappe ionique VARIAN, Saturn 4D MS/MS).

2.2.2 Résultats

2.2.2.1 Essais avec les contaminants individuels

Les essais de biodégradation des contaminants individuels en conditions réductrices de nitrates ont montré une certaine activité de biodégradation des contaminants les plus solubles. En effet, o-crésol, p-crésol, et indole ont été biodégradés et minéralisés par les bactéries indigènes du sol, alors que le naphthalène a été uniquement biodégradé (Figure 2-1, Figure 2-2). Cette activité de biodégradation ou de minéralisation était couplée à une consommation de nitrates dans le milieu, ce qui peut suggérer qu'elle a eu lieu en conditions réductrices de nitrates.

L'activité de minéralisation du o-crésol et celle d'utilisation de nitrate en présence de ce contaminant (Figure 2-1), sont moins significatives que celles observées en présence de p-crésol. Ceci rejoint les observations de Flyvbjerg et al. (1993) qui constatent que le o-crésol est plus résistant à la biodégradation que le p-crésol en conditions réductrices de nitrates.

Le taux de minéralisation maximal de l'indole (Figure 2-2) est plus significatif que ceux des o- et p-crésol. Toutefois, l'indole met plus temps à disparaître des microcosmes (40 jours environ) que les crésols (autour de 15 jours). Dans les essais de biodégradation de l'indole, une disparition totale du contaminant dans le témoin abiotique et dès le début de l'essai laisse croire qu'une réaction chimique a eu lieu. En l'occurrence, il s'agit probablement d'une réaction chimique entre le chlorure de mercure et l'indole. Il est possible que cette réaction soit due à une réaction de substitution avec le mercure de l'un des atomes d'hydrogène du cycle aromatique de l'indole contenant l'atome d'azote, et qui peut donner lieu par la suite à la formation d'un précipité dans le milieu (Yudin et al., 1971).

Lors de ces essais, aucune minéralisation du naphthalène n'a été observée. Cette minéralisation du naphthalène en conditions réductrices de nitrates semble pourtant possible. Elle a été observée par Durant et al. (1995b) en présence d'échantillons de sol provenant d'un site contaminé aux HAPs (7-13% de minéralisation). Elle a été également rapportée (17%) par Rockne et Strand (2001) qui

ont été les premiers à mettre en évidence la dépendance du processus de minéralisation du naphthalène à la présence de nitrates dans le milieu.

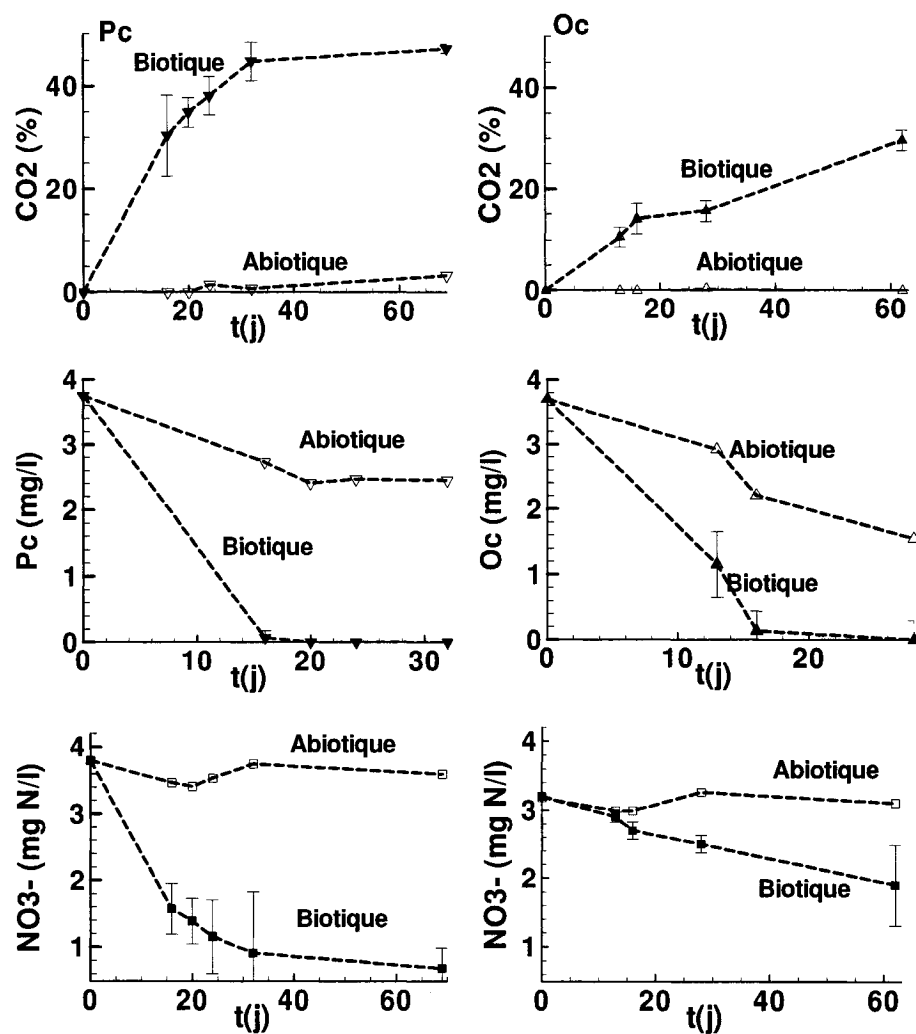


Figure 2-1 Minéralisation et biodégradation, avec le sol de Borden, du p-crésol (Pc) et o-crésol (Oc) et consommation de nitrates observée.

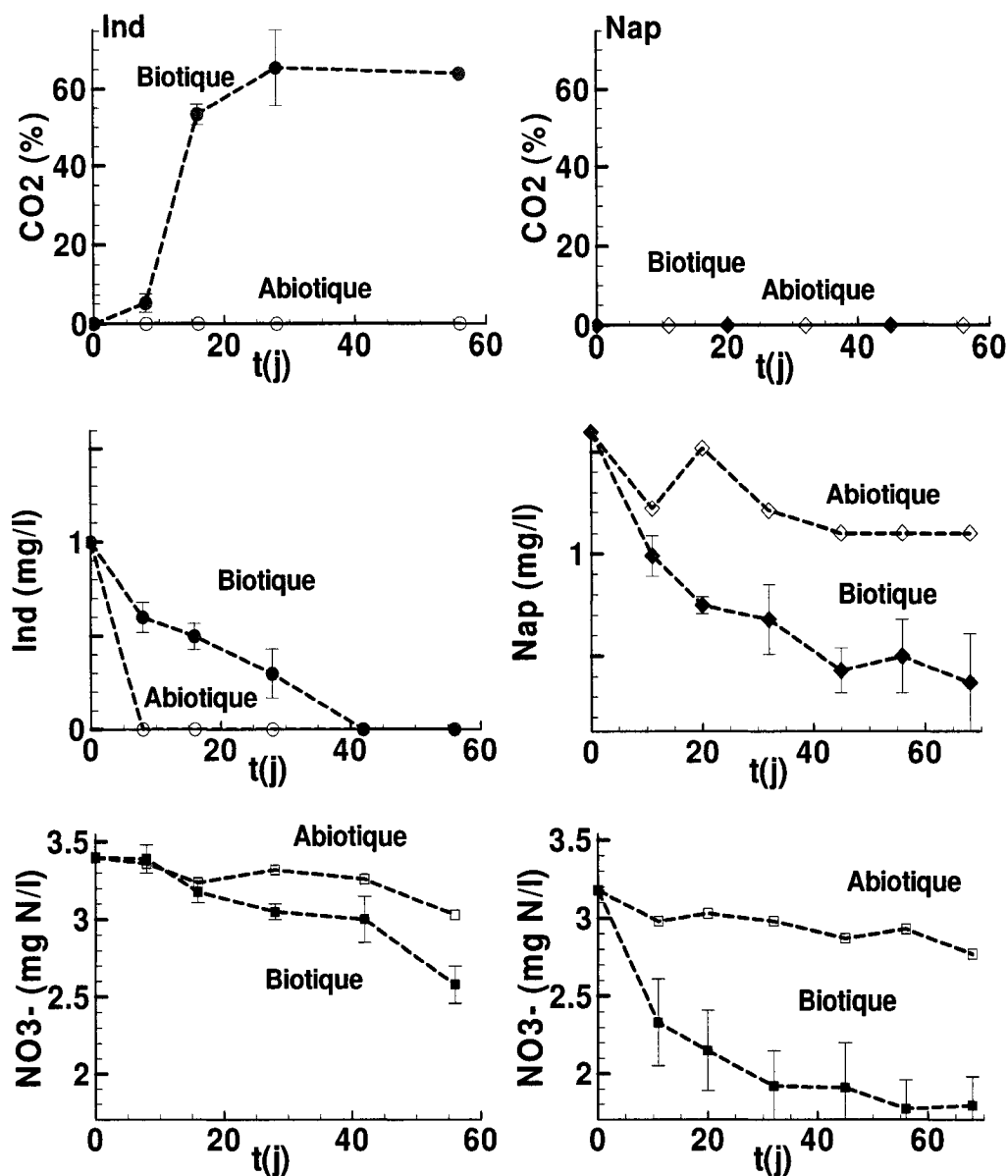


Figure 2-2 Minéralisation et biodégradation de l'indole (Ind), biodégradation du naphthalène (Nap) avec le sol de Borden et consommation de nitrate observée.

Pour les contaminants les moins solubles (fluorène et carbazole), aucune minéralisation ou biodégradation n'est observée dans les conditions redox étudiées (Figure 2-3). En effet, la variation de la concentration des nitrates semble peu significative, et celle de la concentration des contaminants l'est également si l'on tenait compte de l'adsorption. Ce fait est visible sur les courbes de concentration du

fluorène (biotique et abiotique) qui semblent suivre la même variation. Par contre, ce fait est masqué dans le cas du carbazole, probablement par une interférence chimique qui donne lieu à une disparition rapide du carbazole du témoin abiotique. Un effet semblable a été noté dans le cas de l'indole, où l'hypothèse d'une réaction avec le chlorure de mercure a été émise pour expliquer sa disparition du témoin abiotique. Le carbazole et l'indole étant tous les deux des N-hétérocycles, il est possible que ces deux composés présentent une réactivité semblable avec le chlorure de mercure.

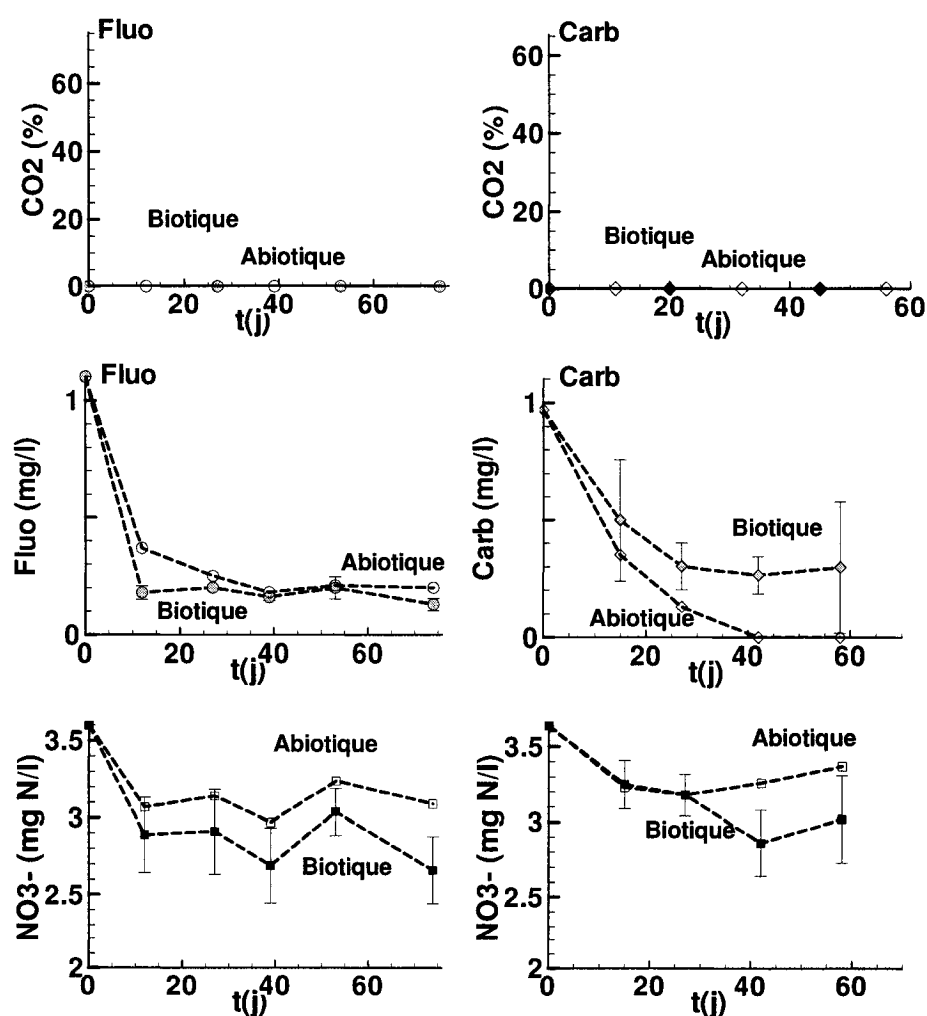


Figure 2-3 Minéralisation et biodégradation, avec le sol de Borden, du Fluorène (Fluo) et Carbazole (Carb) et consommation de nitrates observée.

Lors de ces essais, quelques difficultés d'ordre analytique sont apparues, notamment pour les contaminants les moins solubles dont les concentrations dans la phase liquide ont beaucoup diminué sous l'effet de l'adsorption. Même si la méthode analytique a été calibrée pour des concentrations de l'ordre de quelques dizaines de $\mu\text{g/l}$, un bruit de fond relativement important diminuait la résolution des pics des chromatogrammes des données brutes. Ce bruit de fond était dû entre autres à la dissolution de la fraction soluble de la matière organique qui interférait lors de la détection par fluorescence.

Afin d'évaluer l'activité de réduction de nitrates ayant eu lieu lors de ces essais, une comparaison est réalisée entre les quantités de nitrates consommées et les quantités théoriques nécessaires pour biodégrader les contaminants introduits. Cette comparaison est réalisée pour les contaminants qui ont montré une certaine biodégradation couplée à une utilisation de nitrates dans le milieu (Pc, Oc, Nap et Ind). Les masses de nitrates théoriques sont calculées en se basant sur les ratios stœchiométriques théoriques. Ces ratios sont obtenus en supposant une transformation totale des contaminants en CO_2 couplée à une dénitrification totale en N_2 (Rockne et Strand, 2001). Les masses de nitrates utilisées ne tiennent pas compte de l'adsorption des nitrates dans les témoins abiotiques.

Les masses de nitrates théoriques, les masses de nitrates utilisées, ainsi que le rapport entre ces deux masses sont rapportés dans le Tableau 2-5. Les valeurs de ce rapport indiquent que les masses de nitrates consommées sont de 83 à 95 % des masses théoriques nécessaires pour biodégrader le Pc, le Nap et l'Ind. Les masses de nitrates utilisées les plus proches des masses théoriques concernent le Pc et l'Ind qui présentent les plus importants pourcentages de minéralisation observés dans ces essais. Dans le cas du Oc, ce rapport est beaucoup plus faible, et pourrait indiquer la présence d'une biodégradation aérobie avec des traces d'oxygène résiduel dans le milieu.

Le sol de Borden présente donc un potentiel de biodégradation en conditions réductrices de nitrates. Ce potentiel de biodégradation concerne essentiellement le Pc et l'indole (composés aromatiques de plus faible poids moléculaire) et semble moins évident pour les composés aromatiques de poids moléculaires plus élevés.

Tableau 2-5 Comparaison entre les masses théoriques de nitrates nécessaires pour biodégrader les contaminants d'intérêt et les masses réelles consommées lors des essais réalisés avec le sol de Borden

Contaminant	Ratio théorique (mol NO ₃ ⁻ / mol composé)	Masse théorique requis de NO ₃ ⁻ (mgN/l)	Masse utilisée de NO ₃ ⁻ (mgN/l)	Rapport Util./theo. (mg/mg %)
Pc	6,8	3,31	3,11 ±0,30	94 ±9
Oc	6,8	3,26	1,30 ±0,59	40 ±18
Nap	9,6	1,68	1,39 ±0,19	83 ±11
Ind	7,2	0,86	0,81 ±0,12	95 ±14

2.2.2.2 Essais avec les mélanges de contaminants

Les essais de biodégradation réalisés avec les mélanges de contaminants avaient pour but de déterminer l'effet de la présence des trois classes de contaminants de la créosote sur la biodégradation du naphthalène. Ces essais n'ont pas donné de résultats tangibles. D'une part, l'analyse des contaminants par SPME/GC-MS qui avait pour but d'assurer une meilleure précision des analyses a montré quelques défaillances en cours d'essai. La fibre se détériorait rapidement lors de l'analyse consécutive des échantillons notamment à cause de la matière organique solubilisée et les échantillons étaient ainsi perdus. Par ailleurs, aucune utilisation de nitrates n'a été observée pendant au moins 60 jours d'expérience, indiquant une absence de toute activité de biodégradation par réduction de nitrates.

2.3 Essais de biodégradation avec le mélange des sols de Borden et Bagotville

Suite à la faible activité de biodégradation observée avec le sable de Borden pour les composés d'intérêt de plus de deux anneaux aromatiques, un deuxième sol a été choisi afin de poursuivre les essais. Afin de s'assurer que ce sol présente un potentiel de biodégradation des contaminants visés en conditions réductrices de nitrates, il a été choisi parmi trois sols contaminés et qui ont été testés pour détecter la présence de bactéries dénitrifiantes (section 2.3.1.1 suivante).

La même démarche que précédemment a été suivie pour réaliser les essais : essais préliminaires avec des contaminants individuels pour déterminer leur potentiel de biodégradation suivis d'essais avec des mélanges de contaminants.

Quelques modifications dans la méthodologie expérimentale (préparation et suivie des microcosmes) imposent une brève description des aspects traités différemment.

2.3.1 Méthodologie expérimentale

2.3.1.1 Le sol

Le sol a été choisi parmi trois sols qui ont déjà été exposés à une contamination par les composés visés donc déjà acclimatés. Deux de ces sols proviennent de la base militaire de Bagotville, l'un contaminé aux HAPs à des concentrations de l'ordre du mg/kg (sol A) et le second à des concentrations de l'ordre de centaines de mg/kg (sol B), ce dernier étant en plus contaminé aux nitrates (~ 20 mg/kg). Le troisième sol est un sol contaminé à la créosote à des concentrations inférieures au mg/kg (sol C) provenant d'un site contaminé dans la région de Montréal. Ces trois sols ont été soumis à un dénombrement des dénitrifiants totaux par des comptes NPP selon la méthode de Britton et Greeson (1987). Parmi les trois sols testés, le sol B a montré la plus importante activité de dénitrification avec un compte des dénitrifiants totaux de $1,05 \times 10^6$ cellule/g. Ce sol a donc été retenu pour la suite des essais.

2.3.1.2 Les contaminants

Les contaminants radio-marqués utilisés sont le [9-¹⁴C]phénanthrène (13,3 mCi/mmol) et le [UL-¹⁴C]carbazole (7,9 mCi/mmol), fournis par Sigma. Les contaminants non radio-marqués utilisés ont été décrits précédemment.

2.3.1.3 Préparation et suivi des microcosmes

Un mélange des sols de Borden et de Bagotville est utilisé pour réaliser ces microcosmes. Le sol de Bagotville est mélangé avec le sol de Borden afin de réduire les éventuels effets de toxicité dus à son degré de contamination élevé. Les microcosmes sont réalisés avec des volumes plus faibles que précédemment, l'échantillonnage étant réalisé en procédant par des sacrifices. Ce choix a pour but de garder le système fermé et d'éviter d'éventuelles intrusions d'oxygène lors des échantillonnages.

Pour la préparation des microcosmes, une masse de 3,4 g du sol de Borden et de 3,4 g du sol de Bagotville sont pesées dans des bouteilles sérologiques de 20 ml. Suivant la même procédure que les microcosmes préparés précédemment, les bouteilles sont d'abord placées sous atmosphère d'azote, puis sont complétées par un rajout de 13,5 ml de solution mère contaminée anoxique. Une activité de 0,06 µCi a été prévue pour chacun des microcosmes contenant du carbazole radiomarqué, et de 0,18 µCi pour ceux contenant du phénanthrène radio-marqué.

Les microcosmes ont été réalisés en triplicata avec un témoin abiotique traité au NaN₃ (500 mg/l). Les bouteilles sont scellées avec des bouchons épais en butyl (N. Cat. FSSP9717931, Fisher Scientific, Ottawa, Ont) très étanches, dont le fond est couvert par un film de teflon. Elles sont incubées à l'envers, sous atmosphère d'azote et à 15 °C. Cette procédure a été suivie pour le montage des essais de minéralisation des contaminants individuels et celui des essais de biodégradation des mélanges de contaminants.

2.3.1.3.1 Essais avec les contaminants individuels

Les essais de minéralisation sont réalisés pour le phénanthrène et carbazole individuellement. Ces contaminants présentent des poids moléculaires plus élevés

que ceux qui ont pu être biodégradés par le sol de Borden. Il a été choisi de suivre la minéralisation des contaminants et non pas leur biodégradation afin de contourner les problèmes analytiques rencontrés précédemment. Lors de ces essais, une concentration initiale de 1 mg/l a été utilisée pour les deux contaminants.

Ces essais réalisés en triplicata, ont nécessité la préparation de 48 microcosmes en tout, incluant 12 témoins abiotiques. Le suivi des essais est réalisé en sacrifiant 3 microcosmes biotiques et 1 microcosme abiotique à chaque échantillonnage. L'analyse de la production de $^{14}\text{CO}_2$ ainsi que celle de la concentration des nitrates est réalisée comme précédemment.

La réduction de nitrates est aussi mise en évidence par une analyse de la concentration des nitrites dans la phase aqueuse suivant la méthode de diazotisation (HACH, 1997). Dans un volume de 10 ml d'échantillon est introduit le contenu d'un sachet Nitriver 3 (Cat No 21071-69, HACH, Loveland, CO). Après un temps de réaction, la concentration des nitrites est lue au spectrophotomètre (HACH, modèle DR/2010).

2.3.1.3.2 Essais avec les mélanges de contaminants

Les essais de biodégradation des mélanges de contaminants sont réalisés selon un plan factoriel statistique. Ce plan est constitué de 3 variables indépendantes ou facteurs qui sont les trois groupes de contaminants suivants : (p-crésol + o-crésol), (phenanthrène + fluorène) et (dibenzofurane + dibenzothiophène). La variable dépendante est le carbazole (CARB), dont la variation de la concentration est la réponse suivie. Ce plan est à deux modalités (concentrations), il s'agit d'un plan factoriel complet à 2^3 traitements. Le plan est décrit dans le Tableau 2-6, les modalités des facteurs sont décrites dans le Tableau 2-7.

Lors de ces essais, la concentration de carbazole utilisée (0,33 mg/l) est inférieure à celle utilisée dans les essais préliminaires (1 mg/l) avec le mélange des sols de Borden et Bagotville. Cette concentration est égale à la moitié de la concentration à saturation du carbazole lorsqu'il est solubilisé dans l'eau à partir de la créosote. Ce choix a pour but de reproduire les concentrations de ce contaminant à l'intérieur d'un panache, et en aval de la source, après avoir subi une certaine atténuation notamment par la biodégradation aérobie.

Tableau 2-6 Bloc de traitements^a du plan factoriel avec le mélange des sols de Borden et Bagotville

Traitements	Pc+Oc ^b	Phen+Fluo ^c	Dbf+Dbt ^d
1	-	-	-
2	+	-	-
3	-	+	-
4	+	+	-
5	-	-	+
6	+	-	+
7	-	+	+
8	+	+	+

^a (-) 1^{ère} modalité ; (+) 2^{ème} modalité ; ^b Pc=p-crésol, Oc=o-crésol ; ^c Phen=phenanthrène, Fluo=fluorène ; ^d Dbf=difenzofurane, Dbt=Dibenzothophène

Tableau 2-7 Concentrations des contaminants dans le plan factoriel avec le mélange des sols de Borden et Bagotville

Contaminant	Concentration à	Concentrations	
	saturation	1 ^{er} modalité (-)	2 ^{ème} modalité (+)
	(µg/l) ^c	(µg/l)	(µg/l)
Carb	660	0	330
Pc	405 655	0	10 000
Oc	400 803	0	10 000
Phen	660	0	330
Fluo	950	0	475
Dbf	2 000	0	80
Dbt	43	0	50

^c Concentrations à saturation d'après Millette et al. (1995) et d'après les données de Mueller et al. (1989).

Ces essais réalisés en triplicatas, ont nécessité la préparation de 192 microcosmes (pour l'ensemble des traitements) incluant 48 témoins abiotiques. Le

suivi de ces essais est réalisé selon la même procédure employée pour le suivi de la minéralisation des contaminants individuels (section 2.3.1.3.1).

2.3.2 Résultats

2.3.2.1 Essais avec les contaminants individuels

Les essais réalisés avec le carbazole et le phenanthrène individuellement ont montré une certaine activité de minéralisation (Figure 2-4). L'activité de minéralisation observée pour le phenanthrène est moins évidente que celle constatée pour le carbazole étant donné l'ordre de grandeur des écarts-types obtenus sur les répliques. Cette activité a été accompagnée d'une importante consommation de nitrates en présence des deux contaminants. Dans un microcosme témoin, où seul le milieu salin a été introduit, aucune consommation de nitrates n'a été observée malgré la contamination résiduelle déjà présente dans le sol (Figure 2-5).

Dans ces essais (Figure 2-4), le pourcentage maximal de minéralisation du carbazole est proche des taux observés en conditions aérobies (environ 30%) (Millette et al., 1995), et celui du phenanthrène est de moindre importance (7% dans ces essais, 60% en conditions aérobies d'après Millette et al. (1995)). La minéralisation des composés HAP et hétérocycles en conditions réductrices de nitrates, a été très peu étudiée dans la littérature. Les travaux de Durant et al. (1995b) ont permis d'observer une minéralisation du naphthalène à des taux de 7 à 13% par un sol contaminé aux HAPs. Les travaux de Rockne et Strand (2001) ont mis en évidence une minéralisation du naphthalène (17%) et du phenanthrène (96%) en milieu liquide par une culture acclimatée aux HAPs. Le phenanthrène étant de poids moléculaire plus élevé que le naphthalène, le potentiel de minéralisation de ces contaminants, en conditions réductrices de nitrates, ne semble pas lié à la complexité de ces molécules.

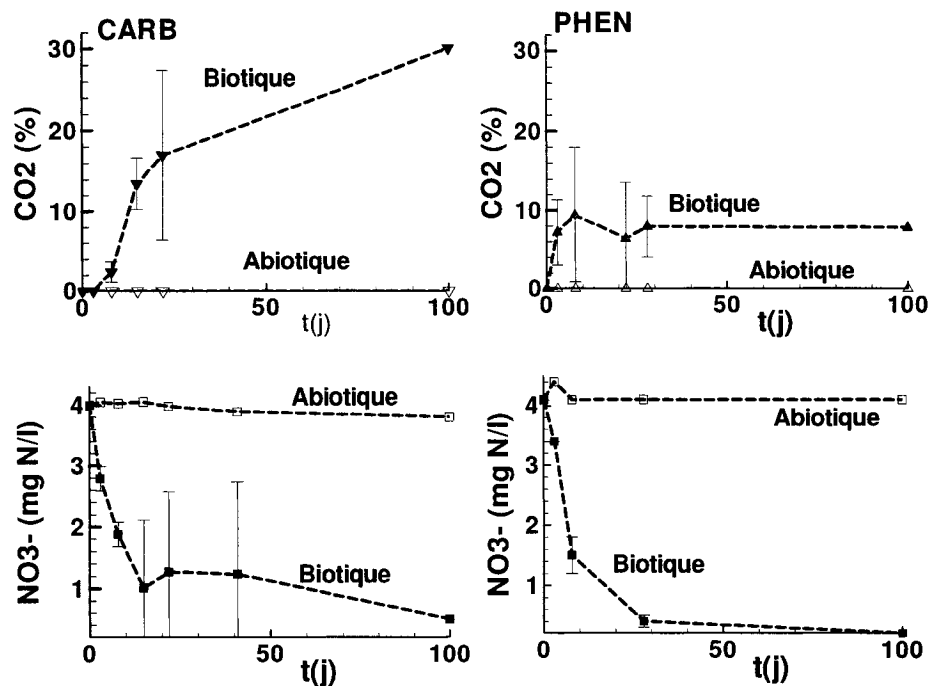


Figure 2-4 Minéralisation du carbazole et phénanthrène avec le mélange des sols de Borden et Bagotville et consommation de nitrate observée.

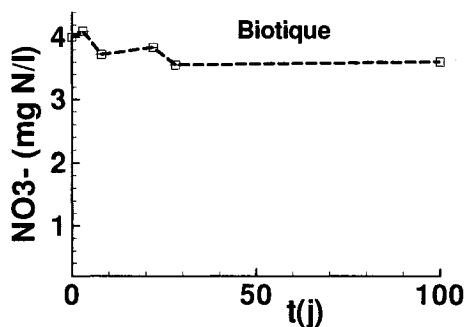


Figure 2-5 Consommation de nitrate dans un témoin biotique constitué d'un milieu MSM sans contaminants avec le mélange des sols de Borden et Bagotville.

Pour évaluer l'importance de l'activité de réduction de nitrate observée, une comparaison est réalisée entre les masses de nitrates consommées et les masses de nitrates nécessaires pour biodégrader ces contaminants (Tableau 2-8). Les résultats montrent que la quantité de nitrate consommée est au moins trois fois plus importante que celle nécessaire pour biodégrader le carbazole ou le phénanthrène.

Cette consommation de nitrates est, par contre, insignifiante dans le témoin biotique en présence du milieu salin non contaminé. Ces contaminants semblent avoir induit une biodégradation d'autres composants du milieu en présence de nitrate comme accepteur d'électrons. Il peut s'agir d'une biodégradation de la matière organique du sol, ou encore de la vieille contamination aux HAPs.

Tableau 2-8 Comparaison entre les masses théoriques de nitrates nécessaires pour biodégrader carbazole et phenanthrène et les masses réelles consommées, lors des essais avec le mélange des sols de Borden et Bagotville

Contaminant	Ratio théorique	Masse théorique	Masse utilisée	Rapport
	(mol NO ₃ ⁻ /mol composé)	requise de NO ₃ ⁻ (mgN/l)	de NO ₃ ⁻ (mgN/l)	Util./theo. (mg/mg %)
CARB	10,8	0,90	3,50 ±0,0	376 ±0
PHEN	13,2	1,04	3,10 ±0,0	387 ±0

2.3.2.2 Essais avec les mélanges de contaminants

2.3.2.2.1 Effets d'interactions sur la minéralisation du carbazole

Le but de ces essais était de déterminer l'effet de trois groupes de contaminants (phenanthrène+fluorène), (o-crésol+p-crésol) et (dibénofurane+dibenzothiophène) sur la minéralisation du carbazole. Ce dernier a déjà montré une activité de minéralisation en conditions réductrices de nitrates, lorsqu'il est présent seul à une concentration de 1 mg/l.

Lors du suivi de ces essais, aucune minéralisation du carbazole n'a été observée dans tous les traitements du plan factoriel, et pendant toute la durée de l'expérience. Même les microcosmes du traitement 1 où seule la variable réponse (carbazole) était présente dans le milieu, n'a montré aucune activité de minéralisation.

Une explication possible à ce résultat serait que, la concentration de carbazole utilisée dans ces essais (330 µg/l) était inférieure au seuil de biodégradation de ce contaminant. En conditions aérobies, une concentration du carbazole aussi faible que

33 µg/l, a pu être minéralisée à 30% par le sol de Borden (Millette, 1995). En conditions dénitrifiantes, l'un des rares travaux qui se sont intéressés à la minéralisation des contaminants de la créosote à 2 anneaux aromatiques et plus sont ceux de Rockne et Strand (2001). Ces auteurs ont pu montrer une minéralisation du naphthalène et phenanthrène dans ces conditions redox à des concentrations de 150 à 180 µg/l. Ils ont utilisé une culture en suspension enrichie et préalablement acclimatée aux HAPs, ce qui peut suggérer que les enzymes impliquées étaient déjà à un degré d'induction relativement avancé. Il est possible que ce ne soit pas le cas du sol de Bagotville utilisé, même s'il a déjà été exposé à une contamination aux HAPs et aux nitrates, et même s'il est riche en dénitrifiants totaux.

Aucun effet d'interaction sur la minéralisation du carbazole n'a donc pu être mis en évidence, étant donné l'absence de minéralisation du contaminant. Par contre, une consommation importante de nitrate et une production de nitrite, différentes d'un traitement à un autre, ont été observées. Ceci pourrait indiquer un effet d'interaction des facteurs sur l'activité de réduction des nitrates dans le milieu.

2.3.2.2.2 Interactions sur la réduction de nitrates

Contrairement à l'expérience factorielle réalisée avec le sol de Borden, une consommation importante de nitrates a été observée lors de l'expérience factorielle réalisée avec le mélange des sols Borden-Bagotville. Cette consommation de nitrates était accompagnée d'une importante production de nitrites dans le milieu. Les concentrations des nitrates et nitrites observées dans les différents traitements du plan factoriel sont rapportées sur la Figure 2-6 et la Figure 2-7. Étant donné l'épuisement du nitrate dans la plupart des microcosmes autour du 20^{ème} jour d'expérience, un rajout de nitrates dans les bouteilles a été réalisé au 22^{ème} jour d'expérience.

La variation des concentrations des NO_3^- et NO_2^- dans les différents traitements, montre que les proportions de nitrates qui se retrouvent sous forme de nitrites atteignent au plus 45% environ. Des pourcentages de conversion des nitrates en nitrites plus importants, et variant entre 40 et 80% ont été signalés par Flyvbjerg et al. (1993) lors de la biodégradation de composés phénoliques.

La Figure 2-6 et la Figure 2-7 montrent que pendant les 20 premiers jours d'expérience, les nitrates sont pratiquement épuisés du milieu dans la plupart des traitements. Après rajout de nitrates au 22^{ème} jour d'expérience, sa consommation continue dans la plupart des traitements. Étant donnée la quantité importante de nitrates consommés tout le long de l'essai, ceci pourrait indiquer l'utilisation d'une source de carbone autre que les contaminants introduits.

Les figures précédentes montrent des cinétiques d'utilisation des nitrates et de production de nitrites qui sont différentes d'un traitement à un autre. Ceci pourrait suggérer la présence d'un effet des facteurs sur la réduction des nitrates dans le milieu. Puisque le nitrate, comme le carbazole, était présent de façon égale dans tous les mélanges, le nitrate peut être traité comme une variable réponse dans le plan statistique réalisé.

Une analyse factorielle des nitrates consommés pourrait nous renseigner sur d'éventuels effets des facteurs sur le processus d'utilisation des nitrates. D'un autre côté, une analyse factorielle de la production de nitrites, pourrait permettre une meilleure interprétation des effets observés.

Le plan factoriel ainsi interprété permet de déterminer l'effet de la variation des concentrations des facteurs sur la réduction de nitrates en présence de carbazole. Tous les effets observés seront relatifs à la situation de référence où le carbazole est présent seul dans le milieu. Ainsi, un effet inhibiteur ou stimulateur, le serait par rapport à la situation où le carbazole est présent individuellement dans le milieu.

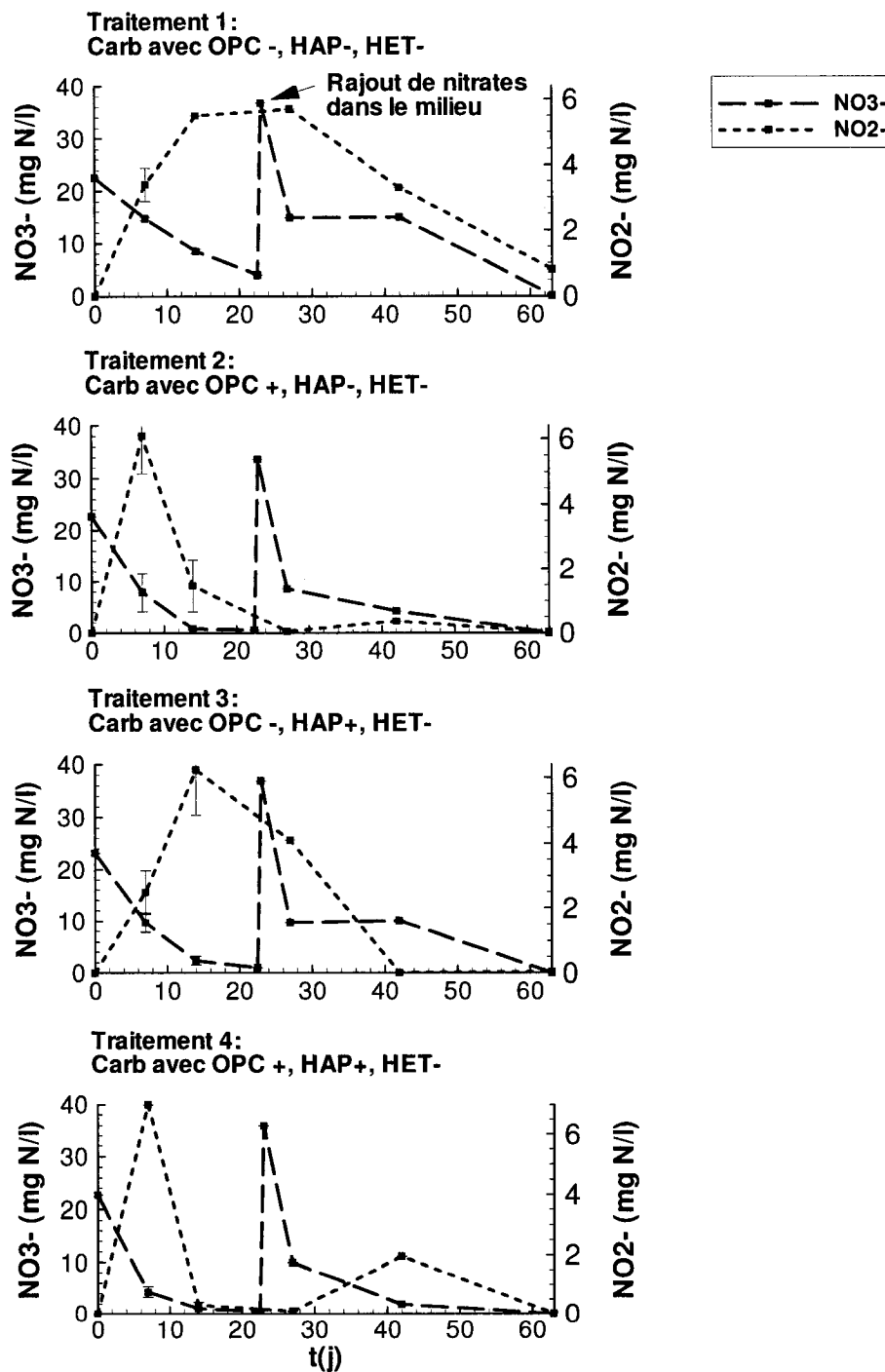


Figure 2-6 Variation des concentrations des nitrates et nitrites dans les traitements 1 à 4 du plan factoriel réalisé avec le mélange des sols de Borden et Bagotville (Tableau 2-6); HAP= (Fluo+Phen), HET=(Dbf+Dbt), OPC=(Pc+Oc); (+) et (-) étant les modalités des facteurs ;

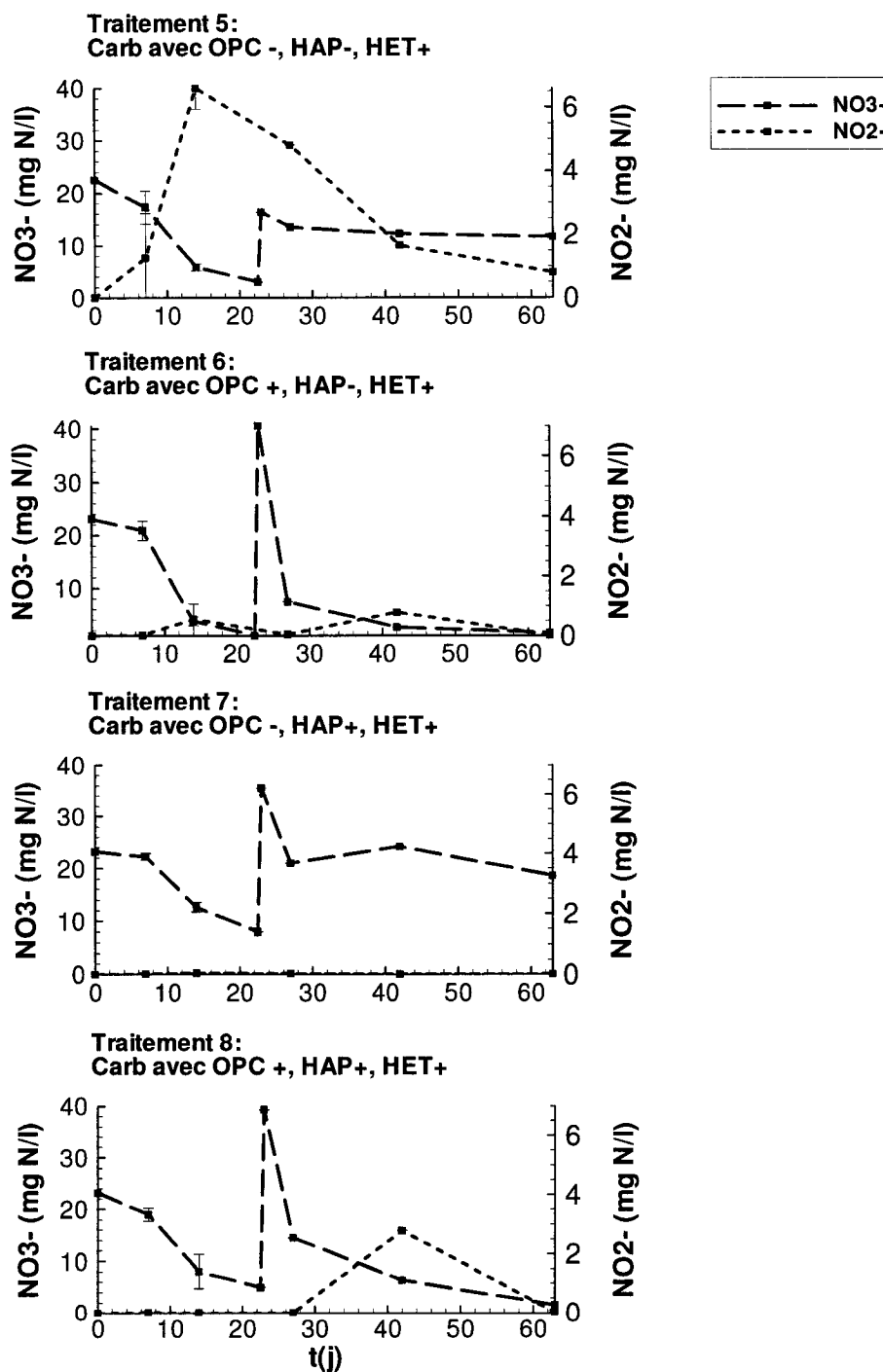


Figure 2-7 Variation des concentrations des nitrates et nitrites dans les traitements 5 à 8 du plan factoriel réalisé avec le mélange des sols de Borden et Bagotville (Tableau 2-6); HAP= (Fluo+Phen), HET=(Dbf+Dbt) , OPC=(Pc+Oc); (+) et (-) étant les modalités des facteurs ;

L'analyse factorielle, a pour but de déterminer les effets principaux des facteurs (OPC, HAP, HET), et éventuellement les interactions doubles (OPC x HAP, OPC x HET, HAP x HET) ou triple (OPC x HAP x HET).

Les effets principaux et les interactions sont déterminés à partir du Tableau 2-9, en multipliant la colonne de l'effet recherché par la colonne des valeurs de la variable réponse et en moyennant (ex : effet(OPC) = $1/4 * (-Y1+Y2-Y3+Y4-Y5+Y6-Y7+Y8)$). Les effets principaux OPC, HAP, et HET traduisent l'effet moyen de la variation des modalités des facteurs (du – au +) sur la variable réponse. Les interactions traduisent le degré de différence de la réponse obtenue en combinant les facteurs, par rapport à la somme des effets séparés des facteurs (Berger et Maurer, 2002).

Tableau 2-9 Effets principaux et effets d'interactions des facteurs pour le plan factoriel réalisé avec le mélange des sols de Borden et Bagotville

Traitements	OPC	HAP	HET	OPC x HAP	OPC x HET	HAP x HET	OPC x HAP x HET	NO_3^- / NO_2^-
1	-	-	-	+	+	+	-	Y1^a
2	+	-	-	-	-	+	+	Y2
3	-	+	-	-	+	-	+	.
4	+	+	-	+	-	-	-	.
5	-	-	+	+	-	-	+	.
6	+	-	+	-	+	-	-	.
7	-	+	+	-	-	+	-	.
8	+	+	+	+	+	+	+	Y8

^a Y1,..Y8 étant la variable réponse suivie (NO_3^- consommé, NO_2^- produit)

L'analyse factorielle a été réalisée avec le logiciel STATISTICA en utilisant la procédure ANOVA. Les quantités de nitrates consommés (mgN/l) et de nitrites produits (mgN/l), sont les variables dépendantes. Une analyse est réalisée séparément avec les 3 variables indépendantes (OPC, HAP, HET) pour les jours d'échantillonnage 7, 14, 27, 42 et 63.

L'analyse de variance a été conduite de façon différente pour les jours 7 et 14, et pour les autres jours d'échantillonnage (27, 42, 63). En effet, aux jours 7 et 14 les microcosmes ont été échantillonnés en triplicata, tous les effets d'interactions ont été pris en compte dans l'analyse de variance (23 degrés de liberté). Pour les autres jours d'échantillonnage, un seul réplica a été échantillonné en attendant de voir l'évolution de la minéralisation du carbazole. Pour ces données, une première analyse a été réalisée (7 degrés de liberté) en tenant compte des interactions doubles pour déterminer les effets les plus significatifs. Elle est suivie par une deuxième analyse où les effets les moins significatifs sont négligés. Les effets significatifs ($p < 0,05$) déterminés par l'analyse de variance sont montrés sur la Figure 2-8 et la Figure 2-9.

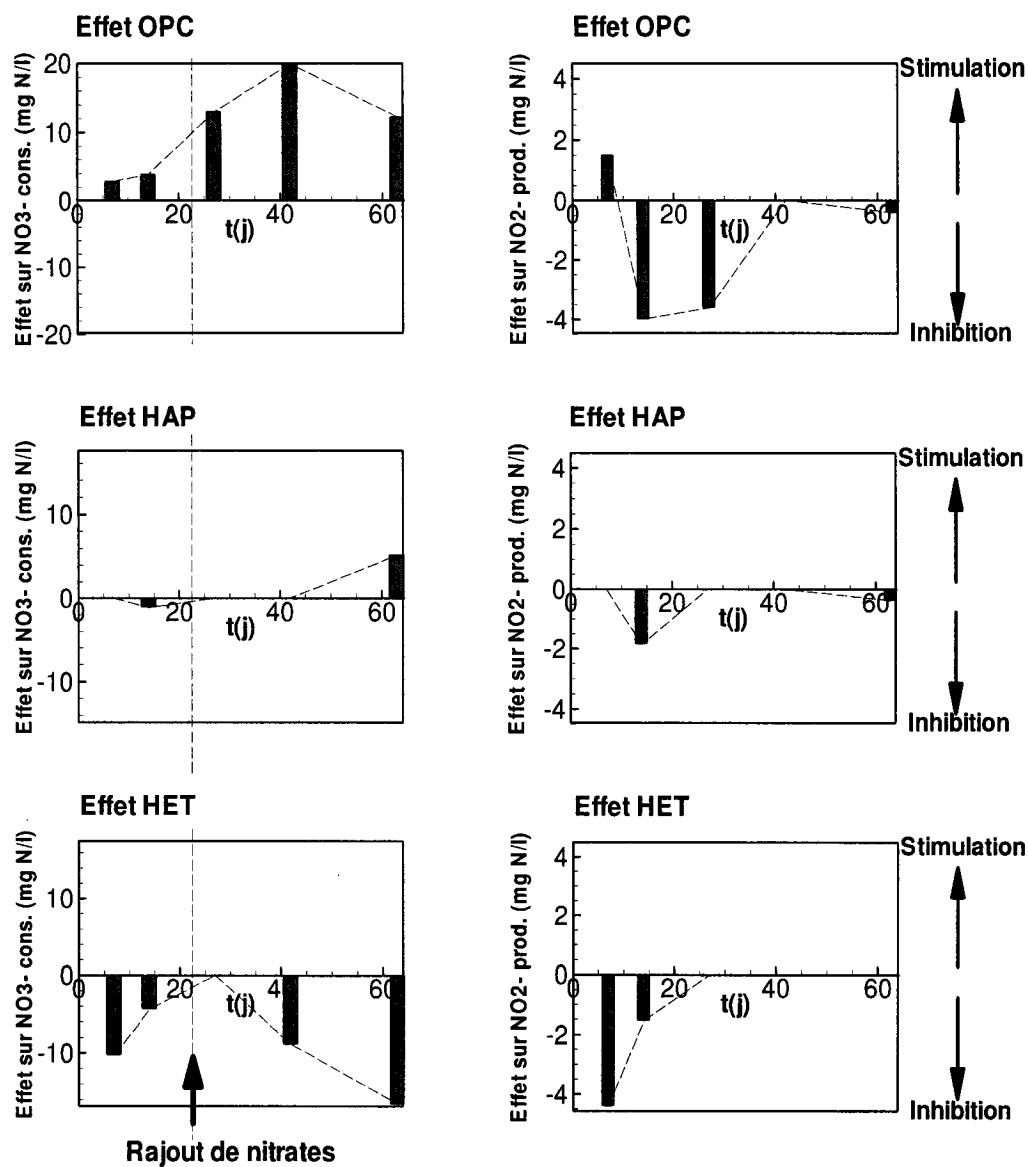


Figure 2-8 Effets observés sur la consommation de nitrates et la production de nitrites (avec le mélange des sols de Borden et Bagotville): Effets des facteurs principaux HAP = (Fluo+Phen), HET=(Dbf+Dbt) et OPC=(Pc+Oc) .

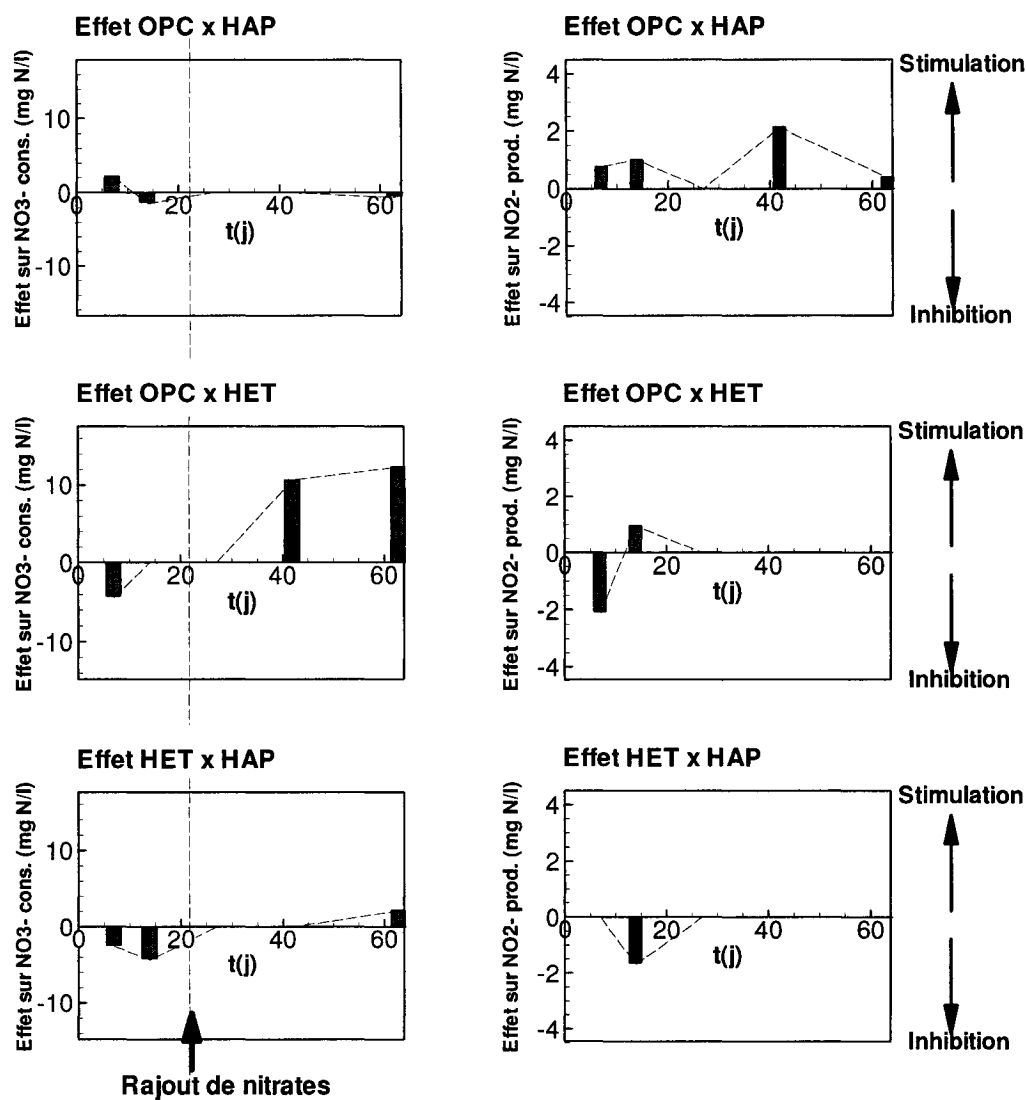


Figure 2-9 Effets observés sur la consommation de nitrates et la production de nitrites (avec le mélange des sols de Borden et Bagotville) : Interactions à deux facteurs HAPxHET, OPCxHET et OPCxHAP.

Les graphiques de la Figure 2-8, décrivant les effets principaux des facteurs, montrent que les OPC et les HET sont responsables des effets les plus importants sur la consommation de nitrates et la production de nitrites. Pour ces deux facteurs, l'ordre de grandeur des effets (sur NO_3^- et NO_2^-) est comparable, et ne semble pas être corrélé aux concentrations des facteurs (dizaines de mg/l pour OPC, et dizaines de $\mu\text{g/l}$ pour les HET).

L'effet des HAP, sur l'utilisation des NO_3^- et la production des NO_2^- est moins significatif que celui des OPC, mais les deux semblent suivre des tendances comparables. En effet, OPC semble stimuler l'utilisation des nitrates en début d'essais, et cette stimulation a tendance à augmenter après rajout de nitrates au 22^{ème} jour d'expérience. Par ailleurs, l'effet des HAP, faible au début, semble évoluer vers une stimulation de la consommation des nitrates à long terme. Les deux facteurs OPC et HAP, semblent inhiber la production de nitrites au 14^{ème} jour et juste avant le rajout de nitrates, inhibition qui tend à diminuer après le 22^{ème} jour.

Les courbes des concentrations des NO_3^- et NO_2^- dans les traitements 2 et 3 (Figure 2-6) où OPC et HAP sont présents seuls, montrent une consommation de NO_3^- importante avant et après rajout de nitrates, et une production de nitrite en diminution à long terme. Il est possible que cet effet d'inhibition ne soit que le reflet d'une limitation en accepteur d'électrons, qui tend à s'atténuer lorsque ce dernier devient disponible dans le milieu.

L'effet du groupe des HET semble aller dans le même sens, que ce soit pour l'utilisation des nitrates ou pour la production de nitrites. Ce facteur exerce une inhibition sur ces deux processus, et notamment en début d'essais. Cette inhibition diminue à mesure que le nitrate est consommé dans le milieu et ceci jusqu'au 20^{ème} jour d'expérience. Après rajout de nitrates dans le milieu (22^{ème} jour), l'inhibition de sa consommation reprend, et va en croissant. La courbe des concentrations des NO_3^- du traitement 5 (Figure 2-7) où seuls les HET sont présents avec le carbazole, montre une persistance de nitrates après leur rajout. La courbe des NO_2^- pour ce même traitement montre des concentrations de nitrites en hausse jusqu'au 14^{ème} jour puis en chute graduelle après rajout de nitrates. Il est clair que le facteur HET exerce une inhibition importante sur la réduction des nitrates qui peut aller jusqu'à l'arrêt total du processus.

En ce qui concerne les interactions à deux facteurs (Figure 2-9), les effets les plus importants sont ceux exercés par la combinaison des facteurs OPC et HET sur l'utilisation des nitrates. Les autres effets à deux facteurs (OPC x HAP et HET x HAP) semblent comparables et de moindre importance.

En premier lieu, les combinaisons de facteurs comprenant les HET (OPC x HET, HET x HAP) montrent une certaine inhibition en début d'essai que ce

soit pour l'utilisation des nitrates ou la production de nitrites. Cette inhibition est visible pendant les 14 premiers jours dans le cas de l'interaction double HET x HAP mais semble plus éphémère dans le cas de l'interaction OPC x HET (7^{ème} jour uniquement).

L'inhibition observée en début d'essai et due à l'interaction OPC x HET s'estompe rapidement (Figure 2-9). L'effet est même inversé vers une stimulation de l'utilisation de nitrates et de la production de nitrites. D'ailleurs, les effets (OPC x HET) produits sur les nitrates sont de même ordre de grandeur que les effets principaux produits par les OPC. Ainsi, même si l'inhibition engendrée par les HET seuls était relativement importante, la combinaison avec les OPC a produit un effet antagoniste qui est au moins aussi significatif que l'inhibition observée au départ.

Lorsque les OPC sont combinés aux HAP, un effet d'interaction OPC x HAP donne lieu à une stimulation de la production de nitrites pratiquement tout le long de l'expérience. Cet effet est également antagoniste aux effets principaux des facteurs OPC et HAP.

Ces observations nous montrent que des interactions sur la réduction de nitrates, en présence de carbazole, peuvent avoir lieu. Ces interactions exhibent des effets significatifs induits par un, ou une combinaison des facteurs étudiés.

Dans la mesure où la biodégradation et l'utilisation des accepteurs sont deux processus couplés, les interactions influençant les accepteurs d'électrons devraient aussi influencer le processus de biodégradation. Ainsi, si la biodégradation du carbazole a lieu dans le milieu, elle devrait être affectée par les effets d'interactions produits sur la réduction de nitrates.

2.4 Discussion et conclusions

Cette étude a été menée dans le but de déterminer les interactions éventuelles qui peuvent avoir lieu entre certains des contaminants de la créosote lors de leur biodégradation en conditions réductrices de nitrates.

Des essais préliminaires ont été réalisés d'abord avec le sol de Borden ensuite avec un mélange des sols de Borden et de Bagotville. Le premier sol a montré une activité de minéralisation des crésols et de l'indole ainsi qu'une activité de biodégradation du naphthalène. Le mélange des deux sols a montré une certaine activité de minéralisation du carbazole. Les résultats de ces essais sont résumés dans le Tableau 2-10.

Tableau 2-10 Activités de biodégradation et de minéralisation observées en conditions réductrices de nitrates en présence du sol de Borden et du mélange des sols de Borden et Bagotville

Sol testé	Activité en conditions réductrices de nitrates ^a		
	Aucune activité	Biodégradation seule	Biodégradation et minéralisation
Sol de Borden	Fluorène (1,1 mg/l) Carbazole (0,97 mg/l)	Naphthalène (1,6 mg/l)	p-crésol (3,8 mg/l) o-crésol (3,7 mg/l) Indole (1,0 mg/l)
Sol de Borden + Sol de Bagotville	-	-	Carbazole (1,0 mg/l)

^a Concentration initiale des contaminants dans l'eau indiquée entre parenthèses.

Ces résultats rejoignent certaines observations relatées dans la littérature. En effet, une biodégradation rapide des composés phénoliques en conditions réductrices

de nitrates a souvent été rapportée (Flyvbjerg et al., 1993; Nay et al., 1999b; Vargas et al., 2000). La biodégradation de certains N-hétérocycles comme l'indole et la quinoline a été également observée en conditions réductrices de nitrates (Licht et al., 1996; Liu et al., 1994). Les composés hétérocycles semblent par contre en général récalcitrants que ce soit en conditions aérobies ou anaérobies (Dyreborg et al., 1997a). Parmi les composés HAPs dont la biodégradation a été le plus étudiée en conditions dénitrifiantes figure le naphthalène (Langenhoff et al., 1996; Mihelcic et Luthy, 1988; Nay et al., 1999b; Rockne et al., 2000; Rockne et Strand, 1998). Ce contaminant fait partie des HAP les plus biodégradables dans cette condition redox. Quelques études ont pu observer par ailleurs une biodégradation du phenanthrène (McNally et al., 1998), ainsi qu'une activité de minéralisation (McNally et al., 1998; Rockne et Strand, 1998; 2001) en conditions réductrices de nitrates. Une biodégradation du pyrène et anthracène par des souches pures a été également mise en évidence (McNally et al., 1998). Ces études restent par contre relativement limitées.

Suite aux essais de biodégradation des contaminants individuels, des essais de biodégradation de mélanges de contaminants ont été réalisés. Le but de ces essais était de suivre l'effet des différents contaminants présents sur la biodégradation du naphthalène (essai avec le sol de Borden), et sur la minéralisation du carbazole (essai avec le sol de Borden + Bagotville).

Dans les essais avec le sol de Borden, le comportement du naphthalène en présence du mélange de contaminants n'a pu être suivi pour cause de problèmes analytiques. Par contre, aucune réduction de nitrates n'a été observée en présence de ce mélange de contaminants, suggérant qu'ils persistaient dans le milieu. Des effets similaires ont été relatés par Genthner et al. (1997) en présence d'un mélange de composés HAP, effets qui ont été attribués à une inhibition de la réduction de nitrates par le mélange de contaminants.

Dans les essais avec le mélange des sols de Borden et Bagotville, aucune minéralisation du carbazole n'a pu avoir lieu, mais une activité de réduction de nitrates relativement importante a été observée. L'absence de minéralisation du carbazole a été attribuée à sa faible concentration dans le milieu (330 µg/l). L'activité

de réduction de nitrates relativement élevée semble liée à une biodégradation des composants du sol (matière organique ou vieille contamination).

Des effets d'interaction sur le processus de réduction des nitrates en présence de carbazole ont été mis en évidence. Les différents effets observés sur l'utilisation de nitrates sont récapitulés dans le Tableau 2-11.

Tableau 2-11 Résumé des effets observés lors des essais de biodégradation de mélanges de contaminants de la créosote en présence du mélange des sols de Borden et Bagotville

	Réduction de nitrates en présence d'un mélange de contaminants	Interactions sur l'utilisation des nitrates ^a	
		<i>Court terme</i>	<i>Long terme</i>
Sol de Borden	Non détectée (N.D)	N.D	N.D
Sol de Borden + Sol de Bagotville	Détectée ^b	OPC ↑ HET ↓ HAP ↓ HET x OPC ↓ HET x HAP ↓	OPC ↑ HET ↓ HAP ↑ HET x OPC ↑ HET x HAP ↑

^a ↑ stimulation ; ↓ inhibition ; ^b détectée avec des effets d'interactions sur la réduction de nitrates en présence de carbazole dans le milieu.

Une stimulation de la réduction des nitrates a été observée en présence de composés phénoliques OPC tout le long de l'expérience, et des composés HAP à long terme. Cette stimulation semble effective tant que l'accepteur d'électrons est abondant dans le milieu.

Une inhibition de la réduction des nitrates est observée en présence de composés hétérocycles HET à court et à long terme. Les interactions à double facteurs impliquant les HET montrent également une inhibition à court terme (interactions HET x HAP ou HET x OPC), mais leur effet est inversé vers une stimulation de l'utilisation des nitrates à long terme.

Ainsi, des effets d'interactions sur le processus de réduction des nitrates ont pu être mis en évidence. Étant donnée le peu d'études qu'il y a eu sur les interactions en conditions réductrices de nitrates, il est difficile de comparer les effets observés avec des résultats de littérature. Malgré cela, les effets principaux d'interactions semblent confirmer ce qui est rapporté dans la littérature. En l'occurrence, ces effets suggèrent indirectement une disparition rapide des composés phénoliques en conditions réductrices de nitrates, et une transformation relativement lente des composés hétérocycles et HAP, et leur récalcitrance pour la biodégradation anaérobie.

Chapitre III Modélisation des interactions entre substrats durant le transport et biodégradation d'une contamination organique mixte en milieu poreux

3.1 Introduction

Dans le chapitre II, des expériences au laboratoire ont été réalisées dans le but d'identifier des interactions entre contaminants de la créosote lors de leur biodégradation en conditions réductrices de nitrates. Ces expériences devaient permettre par la suite de modéliser les interactions observées par les cinétiques appropriées. N'ayant pas pu obtenir les résultats visés, d'autres résultats de biodégradation de mélanges de contaminants en conditions aérobies (Millette et al., 1998) seront utilisés dans le but de reproduire les interactions par un travail de modélisation.

La modélisation des interactions qui influencent la biodégradation des mélanges de contaminants, est un outil qui peut permettre d'approfondir notre compréhension des mécanismes qui gouvernent ce processus. De nombreuses expériences de laboratoire ont été menées afin d'identifier la nature des interactions pouvant affecter certains mélanges de contaminants (Dyreborg et al., 1997b; Meyer et Steinhart, 2000; Millette et al., 1995; Millette et al., 1998; Molina et al., 1999; Oh et al., 1994; Reardon et al., 2000; Sun et al., 1998; Yu et Loh, 2002). Ces expériences permettent de suivre un nombre limité de variables, tels que la disparition des contaminants, la croissance bactérienne totale ou celle d'une population spécifique. L'interprétation des résultats permet une compréhension de l'expérience qui est limitée par la quantité de données disponible.

La modélisation permet d'améliorer cette compréhension du processus. En effet, par une connaissance de l'effet de la variation de chacun des paramètres impliqués dans le processus, elle permet d'identifier des effets qui n'ont pu être

décelés par les seuls résultats de l'expérience. Toutefois, des données de base sont nécessaires pour le modèle, en l'occurrence les cinétiques de biodégradation des contaminants lorsqu'ils sont biodégradés seuls, et ceci afin de pouvoir distinguer l'effet des interactions pouvant avoir lieu.

Le but de ce chapitre est de modéliser la biodégradation d'un mélange de 2 à 4 contaminants de la créosote dans des colonnes de sol en laboratoire, et ceci afin de reproduire et d'essayer d'identifier les mécanismes d'interaction qui s'y produisent. Pour cela, un modèle de transport, BIONAPL (Molson, 2005), sera utilisé et verra sa structure modifiée pour intégrer certains processus d'interactions. Des résultats d'essais de minéralisation en batch (Millette, 1995) seront d'abord utilisés pour déterminer les paramètres de biodégradation de chaque contaminant lorsque biodégradé seul. Ceci sera réalisé en utilisant une nouvelle version du modèle BIONAPL modifié dans le cadre de la présente étude pour pouvoir simuler des expériences de minéralisation en batch.

3.2 Méthode

Des résultats d'essais de minéralisation en batch et de biodégradation en colonnes (Millette, 1995), réalisés sur le sol de l'aquifère de Borden, seront utilisés dans cette étude. Ces essais ont mis en jeu la biodégradation de deux composés HAPs (phenanthrène et fluorène), un composé hétérocycle (carbazole) et un composé phénolique (p-crésol). Les essais en batch avaient pour but de suivre la minéralisation de chaque contaminant individuellement et les essais en colonnes visaient à identifier les interactions produites sur la biodégradation du carbazole par ces différents contaminants (Millette et al., 1998).

Afin de déterminer les paramètres de biodégradation des contaminants individuels, le modèle BIONAPL a été modifié pour pouvoir calibrer les courbes de minéralisation de ces composés. Par la suite, et afin de déterminer les mécanismes d'interaction, le modèle a été également modifié de façon à intégrer quelques processus d'interactions. Les équations du modèle ainsi que les modifications introduites sont présentées dans ce qui suit.

3.2.1 BIONAPL - Modélisation du transport couplé à la biodégradation

3.2.1.1 Équations de base du modèle

Le modèle BIONAPL est un modèle 3D pouvant simuler la biodégradation de composants multiples ainsi que leur dissolution à partir d'une phase liquide non aqueuse (PLNA) dans un milieu poreux. Il couple un modèle d'écoulement transitoire avec un modèle de transport convectif dispersif multi-constituants. Dans ce chapitre, BIONAPL sera utilisé uniquement pour simuler le transport et la biodégradation. La dissolution sera intégrée dans le prochain chapitre pour simuler un cas de contamination plus réaliste.

Le modèle résout une équation de transport pour chaque contaminant et accepteur d'électrons, et une équation de croissance pour chaque population bactérienne. Il a été vérifié et utilisé dans plusieurs études pour simuler le transport réactif de composés multiples et la dissolution de phases liquides non aqueuses (Molson et al., 2002a; Molson et al., 2002c; Schirmer et al., 2001; Schirmer et al., 2000). Les équations du modèle telles que décrites dans le guide du modèle (Molson, 2005) sont présentées ci-dessous. L'équation de transport en 3D d'un contaminant α s'écrit comme suit :

$$R^\alpha \frac{\partial C^\alpha}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x_i} \left(D_{ij} \frac{\partial C^\alpha}{\partial x_j} \right) - v_i \frac{\partial C^\alpha}{\partial x_i} + \lambda_{diss}^\alpha (C_s - C^\alpha) - \lambda_{bio}^\alpha C^\alpha \quad (E\ 3-1)$$

$$\text{Avec : } R^\alpha = 1 + \rho_b K_d^\alpha / \theta$$

t est le temps, [T]

x_i est la dimension spatiale ($x_i = x, y, z$), [L]

R^α est le coefficient de retard, [-]

C^α est la concentration du contaminant organique α , [M.L⁻³]

D_{ij} est le coefficient de dispersion hydrodynamique, [L².T⁻¹]

v_i est la vitesse de l'eau souterraine dans la direction i , [L.T⁻¹]

λ_{diss}^α est le coefficient de dissolution, [T⁻¹]

C_S est la solubilité effective, [M.L⁻³]

λ_{bio}^α est le coefficient de biodégradation, [T⁻¹]

K_d^α est le coefficient de sorption à l'équilibre, [L³.M⁻¹]

ρ_b est la masse volumique du milieu poreux, [M.L⁻³]

θ est la porosité du milieu poreux, [-]

Dans le terme de dissolution, le coefficient de dissolution est défini par :

$$\lambda_{diss}^\alpha = \frac{Sh D^\alpha}{(d_{50})^2} \quad (E\ 3-2)$$

$$C_S = C_l^\alpha \cdot x^\alpha \quad (E\ 3-3)$$

Sh est le nombre de Sherwood, [-]

D^α est le coefficient de diffusion dans l'eau du contaminant α de la PLNA, [L².T⁻¹]

d_{50} est le diamètre médian des grains, [L]

C_l^α est la solubilité du contaminant organique pur à l'état liquide, [M.L⁻³]

x^α est la fraction molaire du contaminant organique à la source, [-]

Dans le terme de biodégradation, le coefficient de biodégradation est défini par:

$$\lambda_{bio}^\alpha = \sum_{n=1}^{N_A} \left[k_{\max}^{\alpha,n} X^n \left(\frac{1}{K_C^{\alpha,n} + C^\alpha} \right) \cdot \left(\frac{A^n}{K_A^{\alpha,n} + A^n} \right) \cdot I^n \right] \quad (E\ 3-4)$$

$$\text{Avec : } I^{n=1} = 1 ; \quad I^{n>1} = \prod_{i=2}^n \left(\frac{1}{1 + A^{i-1} / K_I^{i-1}} \right)$$

N_A est le nombre d'accepteurs d'électrons,

$k_{\max}^{\alpha,n}$ est le taux de biodégradation spécifique maximal du contaminant α ,
[M.M⁻¹.T⁻¹]

X^n est la concentration bactérienne, [M.L⁻³]

$K_C^{\alpha,n}$ est la constante à demi saturation du contaminant α , [M.L⁻³]

A^n est la concentration de l'accepteur d'électrons n , [M.L⁻³]

$K_A^{\alpha,n}$ est la constante à demi saturation de l'accepteur d'électrons n , [M.L⁻³]

I^n est une fonction d'inhibition qui permet la transition d'un accepteur d'électrons à un autre en fonction de leurs concentrations dans le milieu, [-]

K_I^i est le coefficient d'inhibition de l'accepteur d'électrons i , [M.L⁻³]

L'équation de transport de l'accepteur d'électrons s'écrit sous la même forme que l'équation (E 3-1) en exprimant le coefficient de biodégradation comme suit :

$$\lambda_{bio}^n = \sum_{\alpha} \left[F^{\alpha,n} k_{\max}^{\alpha,n} X^n \left(\frac{C^{\alpha}}{K_C^{\alpha,n} + C^{\alpha}} \right) \cdot \left(\frac{1}{K_A^{\alpha,n} + A^n} \right) \cdot I^n \right] \quad (E\ 3-5)$$

$F^{\alpha,n}$ est le ratio massique d'accepteur d'électron consommé par contaminant organique biodégradé [M.M⁻¹].

Le modèle suppose à la base qu'il existe une population bactérienne par accepteur d'électrons dans le milieu et qui peut biodégrader tous les contaminants présents. Cette population est considérée attachée au milieu poreux, et sa croissance obéit à l'équation suivante :

$$\frac{\partial X^n}{\partial t} = \sum_{\alpha} \left[Y^{\alpha,n} k_{\max}^{\alpha,n} X^n \left(\frac{C^{\alpha}}{K_C^{\alpha,n} + C^{\alpha}} \right) \cdot \left(\frac{A^n}{K_A^{\alpha,n} + A^n} \right) \cdot I^n \right] - b \cdot X^n \quad (E\ 3-6)$$

$Y^{\alpha,n}$ est le coefficient de rendement bactérien [$M.M^{-1}$], b est le taux de mortalité bactérienne [T^{-1}].

Le modèle permet actuellement de simuler une production de métabolites (produits de réaction), qui sont transportés de la même façon que les autres espèces et qui peuvent à leur tour être biodégradés, et donner naissance à d'autres produits de réaction. L'équation de transport d'un métabolite s'écrit comme suit :

$$R^{m\alpha} \frac{\partial C^{m\alpha}}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x_i} \left(D_{ij} \frac{\partial C^{m\alpha}}{\partial x_j} \right) - v_i \frac{\partial C^{m\alpha}}{\partial x_i} + E^{m\alpha} (\lambda_{bio}^{\alpha} \cdot C^{\alpha}) - \lambda_{bio}^{m\alpha} \cdot C^{m\alpha}$$

(E 3-7)

$C^{m\alpha}$ est la concentration du métabolite $m\alpha$ de l'espèce α [$M.L^{-3}$]

$E^{m\alpha}$ est le rendement de production du métabolite $m\alpha$, [$M.M^{-1}$]

$\lambda_{bio}^{m\alpha}$ est le coefficient de biodégradation de $m\alpha$ et s'écrit de la même manière que l'équation (E 3-4).

Les équations (E 3-1 à E 3-7) régissant le comportement de chacune des espèces (organiques et accepteurs d'électrons) dans le milieu poreux sont résolues selon le schéma de discrétisation aux éléments finis rectangulaires de Galerkin. Les vitesses d'écoulement sont calculées par résolution d'une équation d'écoulement saturé (voir Molson (2005)) en régime transitoire. Le modèle permet également une résolution de l'écoulement en utilisant des éléments déformables avec un ajustement itératif du niveau de la nappe. Dans le cas de ce chapitre, la vitesse d'écoulement sera considérée constante et unidirectionnelle.

Le transport est couplé à l'écoulement. Les conditions aux limites pour le transport peuvent être une concentration fixée (condition de Dirichlet), un gradient de concentration fixé (condition de Neuman), ou encore un flux de masse fixé (condition de Cauchy). Les processus de biodégradation et de dissolution non-linéaires sont couplés au transport et résolus selon un schéma itératif de Picard centré dans le temps. La convergence du transport obéit à un critère (seuil de convergence) imposé pour chacun des contaminants dans le fichier d'entrée du modèle. Elle est assurée lorsque la variation relative de la concentration des

contaminants entre deux itérations ne dépasse pas le critère de convergence imposé (pris égal à 5%).

Dans le cadre de cette thèse, certaines modifications seront introduites au modèle pour pouvoir simuler une minéralisation en batch et déterminer les paramètres de biodégradation des contaminants. D'autres modifications seront ensuite apportées au modèle afin de pouvoir modéliser deux types d'interactions avec des effets différents, et découpler la biodégradation des contaminants en introduisant une population bactérienne par contaminant biodégradé.

3.2.1.2 BIONAPL modifié - Modélisation de la minéralisation en batch

Un système batch est un milieu fermé contenant une certaine masse de milieu poreux, un certain volume aqueux, et dans le cas de cette étude, une phase gazeuse. Le contaminant dissout dans l'eau, se distribue entre les différentes phases du milieu et est sujet à la biodégradation en présence d'oxygène comme seul accepteur d'électrons. La transformation complète du contaminant peut conduire à une certaine croissance bactérienne et donne lieu à une production de CO₂ selon un certain rendement. Cette production de CO₂ est en partie due à la respiration endogène ou à la transformation des constituants cellulaires (Panikov, 1995b). En supposant selon le modèle de Dorofeyev et Panikov (1994) que ces constituants cellulaires entrent dans le compartiment des substrats et sont ré-utilisés avec la même efficacité que les exo-substrats, les équations du modèle s'écrivent comme suit :

$$D \frac{\partial C^\alpha}{\partial t} = - \lambda_{bio}^\alpha C^\alpha + b \cdot X \quad (E\ 3-8)$$

$$\frac{\partial X}{\partial t} = Y^\alpha \cdot \lambda_{bio}^\alpha C^\alpha - b \cdot X \quad (E\ 3-9)$$

$$\frac{\partial (CO_2)}{\partial t} = Y^{CO} \cdot \lambda_{bio}^\alpha C^\alpha \quad (E\ 3-10)$$

Avec :

$$D = \left(\frac{V_{aq} + H V_g + K_d m_{sol}}{V_{aq}} \right) \quad (\text{Schirmer et al., 1999})$$

D est le coefficient de distribution entre les différentes phases du milieu, [-]

V_{aq} est le volume de la phase aqueuse, [L³]

V_g est le volume de la phase gazeuse, [L³]

H est la constante d'Henry, [-]

m_{sol} est la masse de milieu poreux, [M]

(CO_2) est la concentration en CO₂ exprimée par volume de milieu liquide, [M.L⁻³]

Y^{CO} est le rendement en CO₂ dans le milieu, [M.M⁻¹]

Les concentrations C^α , X et (CO_2) sont exprimées en masses de carbone.

L'oxygène étant en excès dans le milieu, le terme de biodégradation peut être simplifié et s'écrit:

$$\lambda_{bio}^\alpha = k_{\max}^\alpha X \left(\frac{1}{K_C^\alpha + C^\alpha} \right) \quad (E\ 3-11)$$

Les équations du modèle BIONAPL sont ainsi transformées (selon les équations E 3-8 à E 3-10) de façon à intégrer la production de CO₂ dans le milieu due à la transformation des contaminants et la respiration endogène. Le modèle permettra ainsi de simuler la minéralisation des contaminants en batch, et de calibrer les courbes de production de CO₂ afin de déterminer les paramètres de biodégradation (Y^α , k_{\max}^α et K_C^α) de chacun des contaminants.

3.2.1.3 BIONAPL modifié – Modélisation des interactions lors du transport

3.2.1.3.1 Définition des populations bactériennes actives

Il a déjà été mentionné que BIONAPL considère actuellement que tous les contaminants sont biodégradés par une population bactérienne unique pour une même condition redox. Cela suppose que la biodégradation de tous les contaminants est liée à la base au comportement de cette population dans le milieu et que finalement la biodégradation de l'un peut affecter celle de l'autre. Dans la perspective d'une modélisation des interactions, cette structure du modèle peut être

handicapante dans la mesure où le mécanisme de biodégradation de chaque contaminant présente peu de degrés de liberté.

En vue d'ajouter une certaine flexibilité à la modélisation de la biodégradation de substrats multiples, le modèle est transformé en introduisant une population bactérienne par contaminant (Figure 3-1).

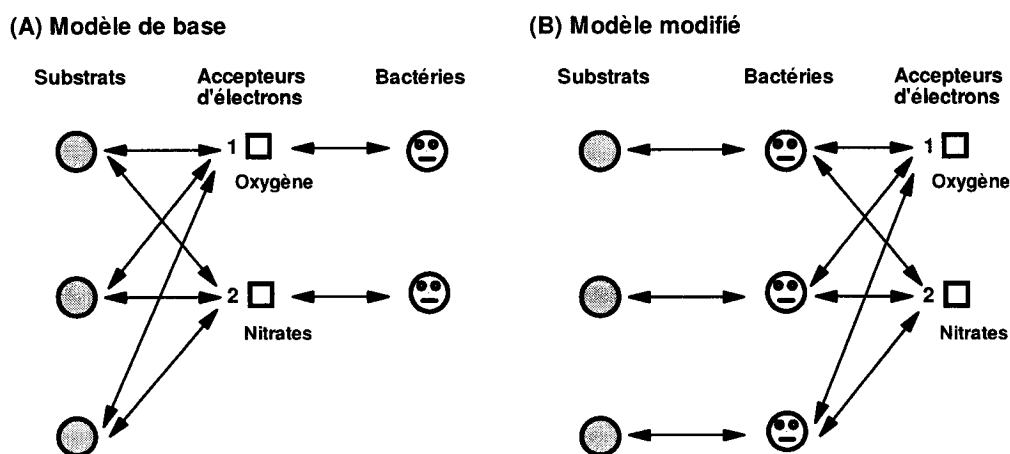


Figure 3-1 Schéma de la structure de base du modèle BIONAPL (A) et de la structure du modèle modifié (B).

Chaque population va dégrader un seul des contaminants d'intérêt dans les différentes conditions redox, mais selon une cinétique différente dans chacune des conditions. Par ailleurs, cette population sera caractérisée par une concentration initiale propre, et une respiration endogène ou un taux de mortalité différent. L'équation de croissance bactérienne dans le cas général, pour une population dégradant le contaminant α , va s'écrire comme suit :

$$\frac{\partial X^\alpha}{\partial t} = \sum_n \left[Y^{\alpha,n} k_{\max}^{\alpha,n} X^\alpha \left(\frac{C^\alpha}{K_C^{\alpha,n} + C^\alpha} \right) \cdot \left(\frac{A^n}{K_A^{\alpha,n} + A^n} \right) \cdot I^n \right] - b^\alpha \cdot X^\alpha \quad (\text{E 3-12})$$

X^α étant la concentration de la population dégradatrice du contaminant α , b^α étant le taux de mortalité qui lui est affecté. Tous les autres paramètres ont été définis précédemment. Il est à noter que le taux de croissance bactérienne qui était égal à la

somme des cinétiques de biodégradation des différents contaminants transformés dans une même condition redox, est devenu égal à la somme des cinétiques de biodégradation d'un même contaminant dans les différentes conditions redox.

Dans le cas de cette étude, la modélisation sera réalisée dans une même condition redox, en présence d'oxygène comme accepteur d'électrons qui est en excès dans le milieu. L'équation de croissance bactérienne se simplifie comme suit :

$$\frac{\partial X^{\alpha}}{\partial t} = Y^{\alpha} k_{\max}^{\alpha} X^{\alpha} \left(\frac{C^{\alpha}}{K_C^{\alpha} + C^{\alpha}} \right) - b^{\alpha} \cdot X^{\alpha} \quad (\text{E 3-13})$$

Pour illustrer l'effet d'une telle modification du modèle sur le comportement des contaminants, un exemple est rapporté sur la Figure 3-2. Dans cet exemple, une comparaison est réalisée entre le cas où deux contaminants (de concentrations C^1 et C^2) sont biodégradés par une même population bactérienne (modèle de base) et le cas où ils sont transformés par des populations bactériennes spécifiques (modèle modifié).

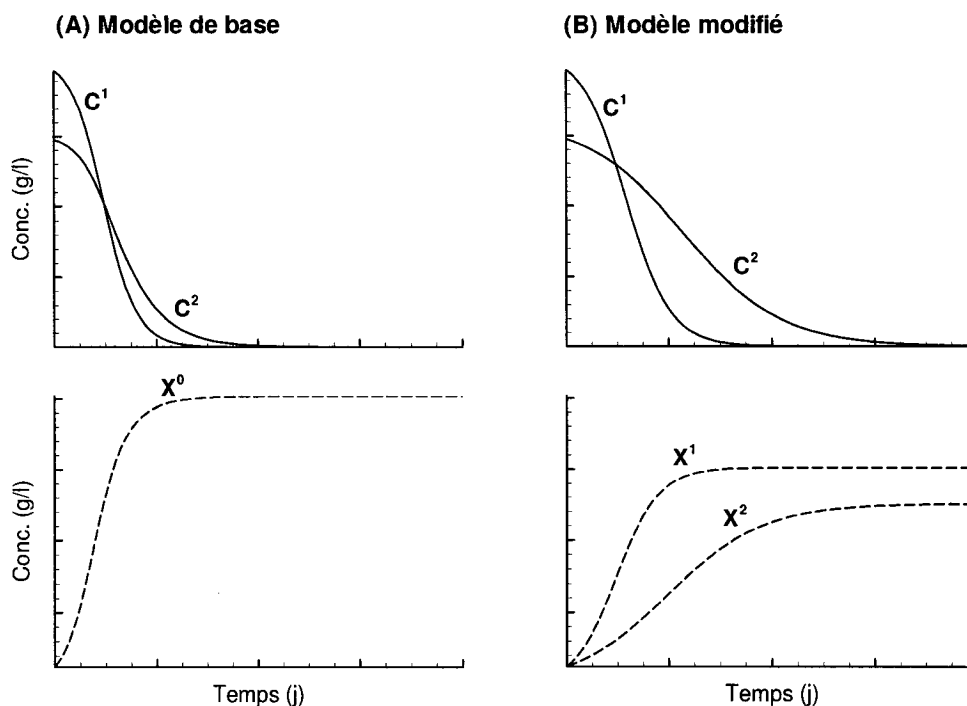


Figure 3-2 Variation de la concentration de deux contaminants (C^1 et C^2) lorsque biodégradés par une même population bactérienne (A) ou par deux populations spécifiques (B) ; ($k_{max}^1 = 1,8 \text{ j}^{-1}$, $k_{max}^2 = 1,0 \text{ j}^{-1}$, $K_{C^1} = K_{C^2} = 10^{-3} \text{ g/l}$, $Y^0 = Y^1 = Y^2 = 0,5$)

Dans cet exemple, les paramètres de biodégradation des contaminants ainsi que les rendements bactériens sont les mêmes dans les cas (A) et (B). Il est possible de constater que dans le cas (A), où les deux contaminants sont biodégradés par une même population, la croissance bactérienne est plus significative étant donnée la contribution des deux contaminants à la croissance. Cette croissance plus significative mène à une biodégradation plus rapide des deux contaminants et notamment de celui dont le taux de biodégradation est le plus faible (C^2). Dans le cas (B) où chaque contaminant est transformé par une population spécifique, la croissance des deux populations est plus modérée puisque la biodégradation des contaminants est découplée.

Cette structure du modèle permet une plus grande flexibilité dans la modélisation de la biodégradation des mélanges de contaminants. Ainsi transformé,

il sera utilisé pour modéliser les interactions selon les cinétiques appropriées. Ces cinétiques sont présentées dans ce qui suit.

3.2.1.3.2 Intégration des interactions dans le modèle de transport

Afin de modéliser les interactions qui peuvent avoir lieu lors de la biodégradation d'un mélange de contaminants, les cinétiques de biodégradation ont été modifiées pour pouvoir simuler deux types d'interactions : une inhibition des contaminants ou une co-utilisation (transformation d'un contaminant par une population dégradant un autre). Ces deux types d'interactions présentent des effets antagonistes, le premier a pour effet de limiter la biodégradation et le second a pour effet de la stimuler.

Modélisation de l'inhibition

Lorsqu'un contaminant $\alpha 1$ inhibe la biodégradation d'un contaminant $\alpha 2$, selon la cinétique d'inhibition compétitive, le coefficient de biodégradation de ce dernier dans l'équation (E 3-1) s'écrit sous la forme (Segel, 1975) :

$$\lambda_{bio}^{\alpha 2} = k_{\max}^{\alpha 2} X \left(\frac{1}{K_C^{\alpha 2} + C^{\alpha 2} + K_i^{\alpha 1/\alpha 2} C^{\alpha 1}} \right) \quad (E\ 3-14)$$

$K_i^{\alpha 1/\alpha 2}$ est le coefficient d'inhibition de $\alpha 2$ par $\alpha 1$

En présence d'une inhibition par plusieurs contaminants, cette équation s'écrit :

$$\lambda_{bio}^{\alpha 2} = k_{\max}^{\alpha 2} X \left(\frac{1}{K_C^{\alpha 2} + C^{\alpha 2} + \sum_{\alpha k \neq \alpha 2} K_i^{\alpha k/\alpha 2} C^{\alpha k}} \right) \quad (E\ 3-15)$$

Cette cinétique a été introduite dans le modèle BIONAPL, qui a été ensuite vérifié en comparant les résultats d'une modélisation de l'inhibition à ceux produits par un programme indépendant (VERIF1). Ce programme développé de façon indépendante simule la biodégradation de deux contaminants par deux populations bactériennes spécifiques dans une configuration batch. Ces contaminants peuvent par

ailleurs être soumis à une inhibition compétitive obéissant à la cinétique (E 3-14). Le code du programme VERIF1 est rapporté en ANNEXE II. La Figure 3-3 montre la variation de concentration de deux contaminants (C^1 et C^2) simulée par les deux modèles (BIONAPL et VERIF1), en absence d'inhibition et sous l'effet d'une inhibition de la biodégradation d'un contaminant par un autre ou d'une inhibition mutuelle. Il est possible de constater que les courbes produites par les deux modèles concordent parfaitement, ce qui constitue une vérification du modèle BIONAPL tels que modifié.

La Figure 3-3 permet de montrer par ailleurs l'effet reproduit par la cinétique d'inhibition compétitive sur le comportement des contaminants. Cette cinétique permet de simuler un effet de ralentissement de la biodégradation dans le temps (Figure 3-3, (C) et (D)), voire un effet de retard du début de la biodégradation (Figure 3-3, (B)).

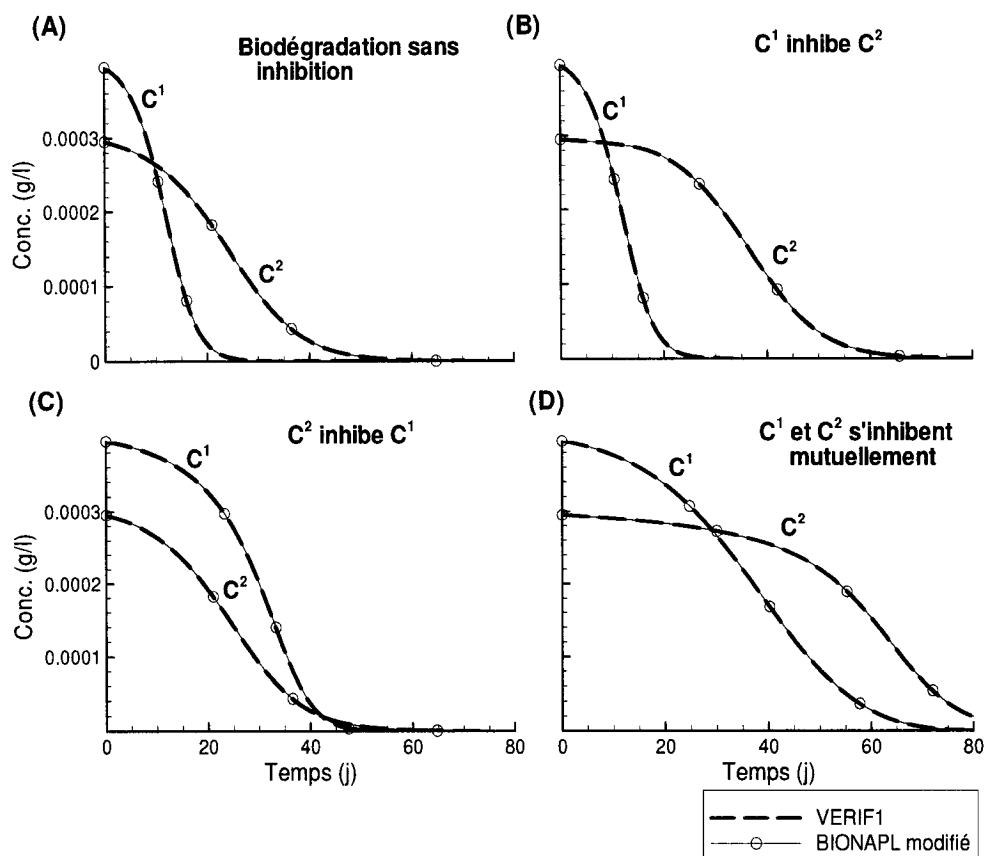


Figure 3-3 Comparaison du modèle BIONAPL et du modèle VERIF1 simulant la biodégradation de deux contaminants (C^1 et C^2) en absence d'inhibition (A) ; avec inhibition de C^2 par C^1 (B) ; avec inhibition de C^1 par C^2 (C) ; avec inhibition mutuelle entre C^1 et C^2 (D) ; ($k_{max}^1 = 1,8 \text{ j}^{-1}$, $k_{max}^2 = 1,0 \text{ j}^{-1}$, $K_{c^1} = K_{c^2} = 10^{-3} \text{ g/l}$, $Y^1 = Y^2 = 0,5$, $K_i^{1/2} = K_i^{2/1} = 10,0$)

Modélisation d'une co-utilisation

Lorsqu'un contaminant $\alpha 2$ est co-utilisé en présence d'un contaminant $\alpha 1$, cela suppose que ce dernier est biodégradé par une population bactérienne différente qui stimule la biodégradation du premier. Si $\alpha 2$ ne participe pas à la croissance de la population qui le co-utilise, il s'agit d'un cométabolisme, autrement il s'agit d'une biodégradation fortuite. Ayant peu d'informations sur la croissance bactérienne et la contribution des différents contaminants à cette croissance, cette transformation (de $\alpha 2$ en présence de $\alpha 1$) sera qualifiée de co-utilisation dans le présent manuscrit.

La cinétique de co-utilisation qui sera utilisée est à la base celle du modèle de Criddle (1993) pour le cométabolisme, dans laquelle l'activité des cellules au repos, spécifique au cométabolisme, a été supprimée et n'a été retenu que l'effet de biodégradation simultanée des contaminants. Par ailleurs, le cas qui sera considéré est le cas général où le contaminant co-utilisé ($\alpha 2$) peut être biodégradé par une autre population pour laquelle il représente un substrat de croissance. Les termes de biodégradation des deux contaminants ($\alpha 1$ et $\alpha 2$) dans l'équation (E 3-1), et les équations de croissance bactérienne s'écrivent comme suit :

$$\lambda_{bio}^{\alpha 1} = k_{\max}^{\alpha 1} X^{\alpha 1} \left(\frac{1}{K_C^{\alpha 1} + C^{\alpha 1}} \right) \quad (E\ 3-16)$$

$$\lambda_{bio}^{\alpha 2} = k_{\max}^{\alpha 2} X^{\alpha 2} \left(\frac{1}{K_C^{\alpha 2} + C^{\alpha 2}} \right) + \lambda_{CO} \quad (E\ 3-17)$$

$$\frac{\partial X^{\alpha 1}}{\partial t} = Y^{\alpha 1} \cdot \lambda_{bio}^{\alpha 1} \cdot C^{\alpha 1} - b^{\alpha 1} \cdot X^{\alpha 1} \quad (E\ 3-18)$$

$$\frac{\partial X^{\alpha 2}}{\partial t} = Y^{\alpha 2} \cdot (\lambda_{bio}^{\alpha 2} - \lambda_{CO}) \cdot C^{\alpha 2} - b^{\alpha 2} \cdot X^{\alpha 2} \quad (E\ 3-19)$$

$$\text{Avec : } \lambda_{CO} = \alpha_{CO} \cdot (\lambda_{bio}^{\alpha 1} \cdot C^{\alpha 1}) \cdot \left(\frac{1}{K_C^{\alpha 2} + C^{\alpha 2}} \right)$$

α_{CO} est le coefficient de co-utilisation du contaminant $\alpha 2$ en présence de $\alpha 1$.

Le terme de co-utilisation λ_{CO} qui vient se rajouter au terme de biodégradation du contaminant $\alpha 2$, améliorant ainsi son taux de biodégradation, est proportionnel au taux de biodégradation du contaminant $\alpha 1$. Ainsi, tant que le contaminant $\alpha 1$ est présent dans le milieu, la co-utilisation reste active et proportionnelle à son activité de biodégradation. En présence d'une co-utilisation due à la présence de plusieurs substrats de croissance, le terme de co-utilisation du contaminant $\alpha 2$ sera exprimé comme suit :

$$\lambda_{CO} = \sum_{\alpha k \neq \alpha 2} \alpha_{CO}^k \cdot (\lambda_{bio}^{\alpha k} \cdot C^{\alpha k}) \cdot \left(\frac{1}{K_C^{\alpha 2} + C^{\alpha 2}} \right) \quad (E\ 3-20)$$

Le terme de co-utilisation λ_{CO} suppose que la transformation du contaminant $\alpha 2$ a lieu selon une constante à demi-saturation ($K_C^{\alpha 2}$). En se basant sur le modèle de Criddle (1993), cette constante est théoriquement déterminée avec le paramètre α_{CO} par ajustement non-linéaire des courbes de biodégradation des contaminants. N'ayant souvent pas suffisamment de données pour réaliser cet ajustement, cette constante a été prise égale à la constante à demi-saturation avec laquelle le contaminant co-utilisé est biodégradé par ailleurs par sa propre population.

Après intégration de la cinétique de co-utilisation dans le modèle BIONAPL, le modèle a été vérifié par comparaison avec un programme indépendant (VERIF2). Ce programme simule la biodégradation de deux contaminants par deux populations bactériennes, avec co-utilisation de l'un lors de la transformation de l'autre. Le code du programme est rapporté en ANNEXE II. La Figure 3-4 montre la variation de concentration de deux contaminants (C^1 et C^2) simulée par les deux modèles (BIONAPL et VERIF2), sous l'effet d'une biodégradation sans co-utilisation ou avec co-utilisation d'un contaminant en présence de l'autre. Il est possible de constater que les résultats des deux modèles sont en accord, ce qui constitue une vérification des modifications introduites dans BIONAPL. La Figure 3-4 permet de montrer également l'effet reproduit par la cinétique de co-utilisation sur le comportement du contaminant co-utilisé. Il est possible de voir une accélération de la biodégradation du contaminant co-utilisé mais dont l'effet dépend du taux de biodégradation du contaminant responsable de la co-utilisation.

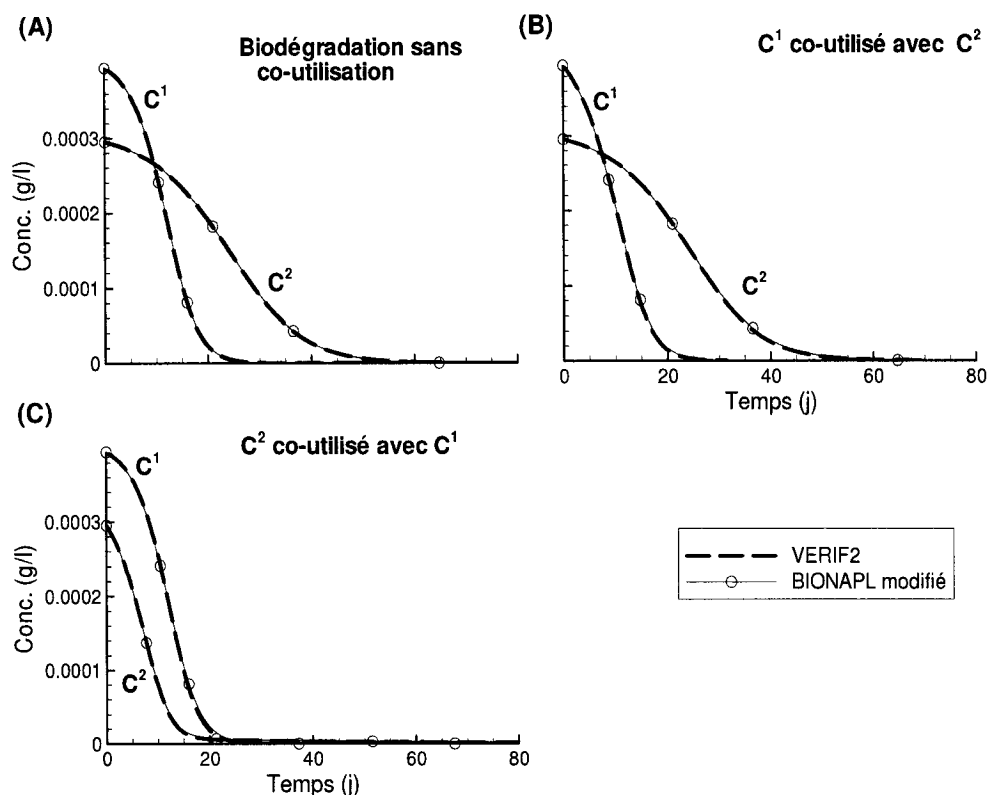


Figure 3-4 Comparaison du modèle BIONAPL et du modèle VERIF2 simulant la biodégradation de deux contaminants (C^1 et C^2) en absence de co-utilisation (A) ; avec co-utilisation de C^1 avec C^2 (B) ; avec co-utilisation de C^2 avec C^1 (C); ($k_{max}^1 = 1,8 \text{ j}^{-1}$, $k_{max}^2 = 1,0 \text{ j}^{-1}$, $K_{C^1} = K_{C^2} = 10^{-3} \text{ g/l}$, $Y^1 = Y^2 = 0,5$, $\alpha_{co}^{1/2} = \alpha_{co}^{2/1} = 10,0$)

3.2.2 Données de laboratoire et objectifs de la modélisation

3.2.2.1 Essais de minéralisation en batch

Pour déterminer les paramètres de biodégradation spécifiques à chacun des contaminants utilisés, des résultats d'essais de minéralisations en batch réalisés par (Millette, 1995) ont été utilisés. Ces essais ont été réalisés dans des réacteurs contenant 50 g de sol de Borden humide, 17 ml de MSM avec une phase gazeuse d'environ 85 ml.

Ces essais ont été menés en utilisant deux concentrations initiales différentes pour chacun des contaminants (Tableau 3-1). La concentration bactérienne initiale n'ayant pas été déterminée lors de ces essais, un compte bactérien rapporté par

(Hosein et al., 1997), réalisé sur les mêmes échantillons de sol de l'aquifère, sera utilisé. Les coefficients de partition à l'équilibre et les constantes d'Henry utilisés pour les différents contaminants sont rapportés en ANNEXE III.

Tableau 3-1 Concentrations initiales de contaminants utilisées dans les essais de minéralisation

	<i>Carbazole</i> (<i>Carb</i>)	<i>Fluorène</i> (<i>Fluo</i>)	<i>Phenanthrène</i> (<i>Phen</i>)	<i>p-crésol</i> (<i>Pc</i>)
Concentrations (g/l)	$3,70 \times 10^{-5}$ $1,71 \times 10^{-4}$	$4,97 \times 10^{-5}$ $2,44 \times 10^{-4}$	$3,30 \times 10^{-5}$ $1,64 \times 10^{-4}$	$2,76 \times 10^{-2}$ $1,38 \times 10^{-1}$

3.2.2.2 Essais de biodégradation en colonne

Afin de modéliser les interactions qui ont lieu entre ces contaminants, des résultats d'essais de biodégradation en colonne de sol de Borden seront utilisés (Millette et al., 1998). Ces colonnes ont été réalisées à la base pour déterminer les interactions qui affectent la biodégradation du carbazole en présence d'autres contaminants de la créosote. Ces colonnes sont au nombre de sept, réalisées selon un plan statistique, cinq d'entre elles seront utilisées dans la modélisation des interactions.

Pour les besoins de l'étude, certaines caractéristiques des colonnes sont à préciser. Ces colonnes sont de 45,8 cm de longueur, dans lesquelles le sol occupe une longueur de 43,2 cm avec une porosité moyenne de 0,35 (Figure 3-5). Elles présentent trois ports d'échantillonnage (ports P1, P2, P3) positionnés respectivement à 3,8, 21,6 et 39,4 cm du début du sol. Elles sont alimentées de bas en haut par un milieu minimal salin dans lequel sont dissous les contaminants d'intérêt aux concentrations visées (Tableau 3-2). Le milieu ainsi préparé s'écoule dans les colonnes à une vitesse de pore de 0,18 m/j. Les colonnes sont maintenues saturées en oxygène (~ 50 mg/l) par bullage à l'O₂ du milieu salin injecté. Le détail du montage des colonnes et leur mode d'opération est rapporté dans la publication de Millette et al. (1998).

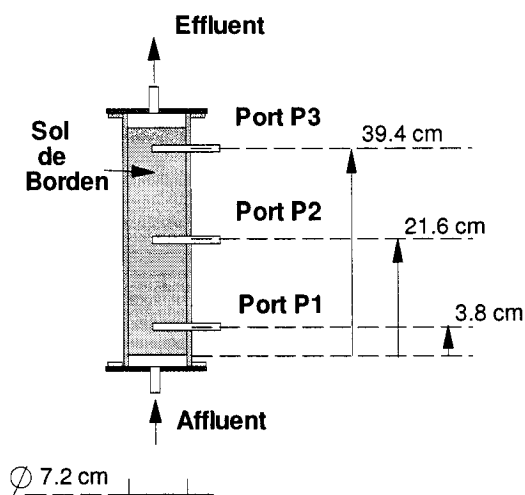


Figure 3-5 Schéma de la colonne de sol réalisée par Millette et al. (1998); de diamètre intérieur de 7,2 cm ; avec des ports d'échantillonnage (P1, P2, P3) situés à 3,8, 21,6 et 39,4 cm du début du sol.

Tableau 3-2 Liste des contaminants injectés dans les colonnes à modéliser et leur concentration dans l'affluent

Colonnes	Concentration de l'affluent (g/l)*			
	Phen	Fluo	Pc	Carb
CTRL	0	0	0	$1,66 \times 10^{-4}$
R2	$3,30 \times 10^{-5}$	$2,38 \times 10^{-4}$	0	$1,66 \times 10^{-4}$
R3	$1,65 \times 10^{-4}$	$4,8 \times 10^{-5}$	0	$1,66 \times 10^{-4}$
R4r	$1,65 \times 10^{-4}$	$2,38 \times 10^{-4}$	0	$1,66 \times 10^{-4}$
R4p	$1,65 \times 10^{-4}$	$2,38 \times 10^{-4}$	$1,0 \times 10^{-2}$	$1,66 \times 10^{-4}$

* en gras les concentrations des contaminants qui seront modélisés dans chaque colonne et dont il sera fait mention à la section 3.3.2.

Les colonnes seront modélisées dans la suite par un système 1D selon Z, discrétisé en éléments rectangulaires de 6,4 cm de côté et dont les dimensions selon Z sont listées dans le Tableau 3-3 et sont conformes au critère de Peclet. Pour résoudre le problème de transport, une condition de Dirichlet pour les concentrations

transitoires a été imposée à la frontière d'entrée du système ($Z = 0$) et une condition de Neuman à la sortie ($Z = 43.2$ cm) avec un gradient de concentration nul. Les simulations ont été réalisées avec un pas de temps de 0,05 j en présence des contaminants les plus retardés (Carb, Fluo et Phen), et un pas de temps de 0,01 j en présence du contaminant le moins retardé (p-crésol), satisfaisant ainsi au critère de Courant (voir coefficients de retard, ANNEXE III). Un exemple de fichier d'entrée du modèle BIONAPL simulant la colonne R4p est rapporté en ANNEXE IV.

Tableau 3-3 Discretisation spatiale de la colonne de Millette et al. (1998)

<i>Direction</i>	<i>Intervalle d'éléments du maillage</i>	<i>Dimension des éléments (cm)</i>
Z	$1 \leq i \leq 6$	0,5
	$7 \leq i \leq 11$	0,2
	$12 \leq i \leq 45$	0,5
	$46 \leq i \leq 49$	0,3
	$50 \leq i \leq 83$	0,5
	$84 \leq i \leq 88$	0,2
	$89 \leq i \leq 94$	0,5

Les résultats des essais en colonne seront utilisés pour modéliser les interactions qui ont été identifiées qualitativement par Millette et al. (1998). Ces résultats seront également mis à contribution pour tenter, par la modélisation et connaissant les caractéristiques de biodégradation des contaminants individuels, de mettre en évidence les interactions qui n'ont pas pu être déterminées au laboratoire. Certaines caractéristiques bactériennes du sol seront déterminées à partir des travaux de Hosein et al. (1997), qui ont réalisé des décomptes bactériens dans le temps sur trois des six colonnes de Millette et al. (1998).

3.3 Résultats

3.3.1 Détermination des paramètres de biodégradation des contaminants individuels

Les équations décrivant l'expérience de minéralisation (E 3-8, E 3-9, et E 3-10) comptent cinq inconnues (k_{\max}^{α} , K_C^{α} , Y^{α} , b , Y^{co}), en plus de la concentration bactérienne initiale X_0 qui n'a pas été déterminée.

Les résultats disponibles des essais de minéralisation comptent deux courbes de minéralisation pour chacun des contaminants, correspondant à deux concentrations initiales différentes. Afin de s'assurer de l'unicité de la solution, certains des paramètres inconnus seront déterminés de façon indépendante.

3.3.1.1 Estimation de la biomasse, de la mortalité et du rendement bactérien

3.3.1.1.1 Concentration bactérienne initiale

Comme il a été précisé précédemment, aucun décompte bactérien n'a été réalisé avant et après les essais de minéralisation. La concentration bactérienne qui sera considérée pour l'estimation des paramètres de biodégradation est basée sur le compte bactérien sur plaques qui a été rapportée par Hosein et al. (1997). Ce compte (5×10^2 à 2×10^4 UFC/gr) est celui des hétérotrophes totaux cultivables du sol de Borden avant son utilisation dans les essais en colonne. Un ratio de 10^{-12} gC/UFC sera considéré pour calculer la biomasse (Panikov, 1995a), dont la concentration sera ensuite exprimée en gC/l de liquide de microcosme.

Les concentrations obtenues en biomasse cultivable dans le sol varient donc entre $1,25 \times 10^{-6}$ et 5×10^{-5} gC/l ($1,5 \times 10^{-5}$ à $6,0 \times 10^{-4}$ g/l de biomasse). La plus faible de ces valeurs sera utilisée pour éviter de surestimer la biomasse dégradatrice des aromatiques. En effet, Schirmer et al. (1999) ont pu estimer le pourcentage des dégradeurs des aromatiques (BTEX) pour le sol de Borden à 0,02% des hétérotrophes totaux viables (cultivables et non cultivables). Ils rapportent une concentration de 3×10^{-6} g/l de dégradeurs spécifiques pour un compte total de $1,474 \times 10^{-3}$ g/l. La concentration bactérienne qui sera utilisée dans cette étude est

proche de celle utilisée par Schirmer et al. (1999), compte tenu du rapport sol/eau choisi (20 g pour 50 ml d'eau pour Schirmer et al. (1999) et 50 g pour 17 ml d'eau pour Millette et al. (1995)).

3.3.1.1.2 Taux de mortalité

La respiration endogène ou la mortalité bactérienne b sera fixée à partir de la littérature faute de données supplémentaires sur la biomasse. Ce paramètre a été trouvé égal à $1,3 \times 10^{-2} \text{ j}^{-1}$ (Schoefs et al., 2005) pour une population bactérienne provenant d'un sol de surface non contaminé. Il a été estimé à $3,8 \times 10^{-2} \text{ j}^{-1}$ par Guha et Jaffé (1996) pour une population bactérienne enrichie provenant d'un sol contaminé aux hydrocarbures. Un taux de $1,2 \times 10^{-1} \text{ j}^{-1}$ a été déterminée par Woo et al. (2001) pour des bactéries isolées à partir d'un sol contaminé aux HAPs, et un taux de $1,008 \times 10^{-1} \pm 4,56 \times 10^{-2} \text{ j}^{-1}$ a été estimée par Knightes et Peters (2000) pour un consortium dégradeur de HAPs. Un taux de mortalité de 10^{-2} j^{-1} a été utilisé par Borden et Bedient (1986) et par Essaid et al. (1995) pour modéliser le transport et la biodégradation dans les eaux souterraines. Pour cette étude, la respiration endogène sera prise égale à 10^{-2} j^{-1} .

3.3.1.1.3 Rendement bactérien

Dans les essais en batch, la croissance bactérienne en présence de carbazole, fluorène et phénanthrène sera considérée peu significative (X constante) étant donnée les concentrations relativement faibles de ces contaminants (33 à 240 $\mu\text{g/l}$).

Dans les essais en colonnes, ces contaminants sont injectés en continu et la croissance bactérienne peut être plus significative. Cette croissance bactérienne peut être observée à partir des données de biodégradation en colonnes. En l'occurrence, la forme des courbes représentant les concentrations des contaminants en fonction du temps en un point d'échantillonnage de la colonne, semble renseigner sur la croissance bactérienne qui a lieu. En effet, des simulations théoriques (Figure 3-6) ont permis de constater qu'une courbe en plateau indique une population bactérienne constante donc un rendement bactérien nul (et une mortalité nulle), alors qu'une courbe en cloche indique la présence d'une croissance bactérienne, donc un rendement non nul. Par ailleurs, la pente de la courbe en cloche, s'il y a croissance

bactérienne et mortalité selon un taux donné, dépend de la valeur du rendement bactérien et permet ainsi d'avoir une estimation de ce paramètre.

En observant les courbes des concentrations des contaminants en fonction du temps dans les différentes colonnes (Figure 3-7), il apparaît que d'une façon générale, les courbes des concentrations du carbazole et fluorène oscillent autour d'un plateau, alors que celles du phenanthrène est en cloche. Ces observations ont permis de supposer que carbazole et fluorène sont biodégradés en présence d'une population bactérienne constante en colonne ($Y^\alpha = 0$, $b = 0$) alors que le phenanthrène est capable de soutenir une certaine croissance bactérienne (Y^α non nul). Le rendement bactérien du phenanthrène sera déterminé dans les essais en colonnes à partir de la pente de la courbe des concentrations en fonction du temps de la colonne R4r (section 3.3.1.4.3).

Le rendement du p-crésol, qui est présent à des concentrations plus significative en batch (27 à 138 mg/l) et en colonne (10 mg/l), sera déterminé à partir des comptes bactériens totaux réalisés sur la colonne R4p par Hosein et al. (1997). En effet, ces auteurs constatent en réalisant des comptes totaux des bactéries cultivables sur les colonnes CTRL, R4r et R4p, qu'une croissance bactérienne importante est observée dans la colonne R4p contrairement aux deux autres où la population bactérienne reste relativement constante. La croissance dans la colonne R4p sera supposée essentiellement due au p-crésol étant donnée sa concentration élevée par rapport à celle des autres contaminants.

Le rendement bactérien du p-crésol sera estimé à partir des comptes bactériens réalisés au jour 60 d'expérience (Figure 3-8). En effet la population bactérienne semble se stabiliser entre 30 et 60 j (Hosein et al., 1997), et entre 60 et 80 j les variations des comptes bactériens semblent peu significatives. Le compte bactérien est intégré entre les trois ports d'échantillonnage de la colonne, et la biomasse est exprimée en g/l de milieu liquide contenu dans les pores. Le rapport entre la biomasse ainsi calculée et la masse totale de p-crésol injectée dans la colonne permet de déduire le rendement lié à ce contaminant. Le détail des calculs du rendement est rapporté en ANNEXE V.

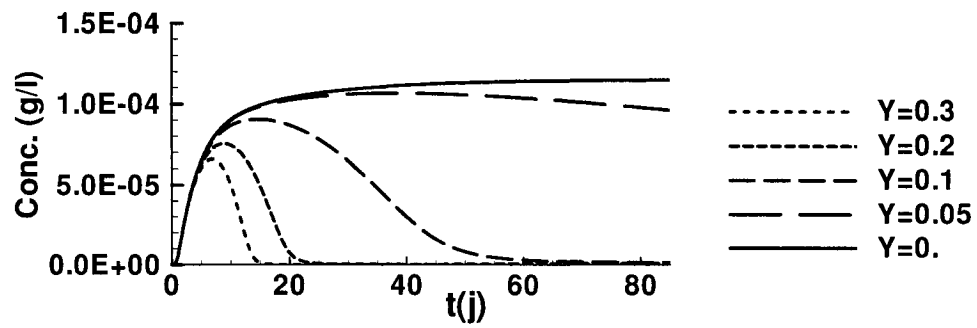


Figure 3-6 Variation théorique en fonction du temps de la concentration d'un contaminant à un point d'échantillonnage de la colonne, pour diverses valeurs du rendement bactérien ($b = 10^{-2} j^{-1}$ pour $Y \neq 0$ et $b = 0$ pour $Y = 0$).

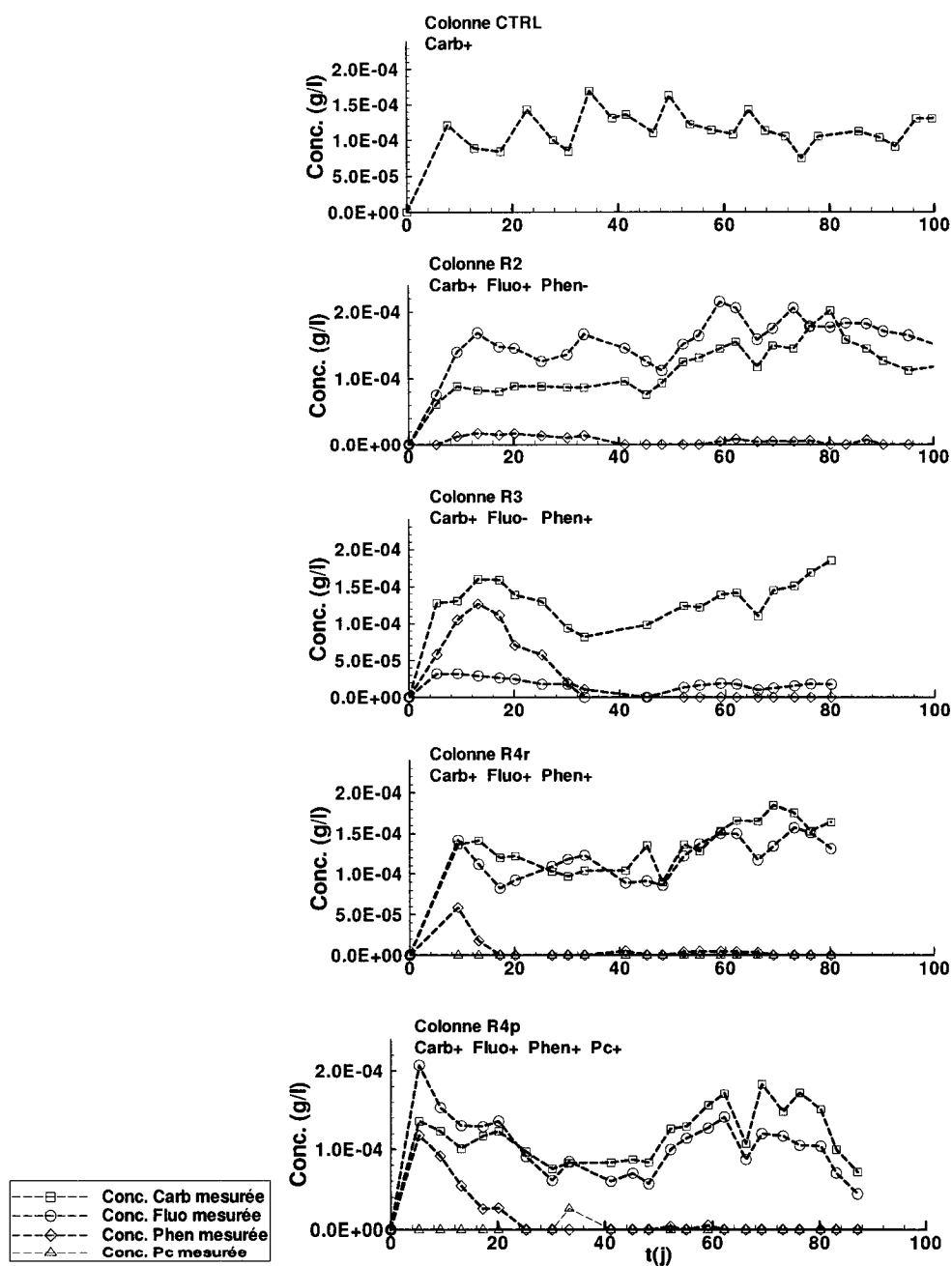


Figure 3-7 Variation de la concentration en fonction du temps du carbazole, fluorène et phénanthrène au Port P1 d'échantillonnage des colonnes. Les concentrations d'injection sont (Carb+) $1,66 \cdot 10^{-4}$ g/l, (Fluo-) $4,8 \cdot 10^{-5}$ g/l, (Fluo+) $2,38 \cdot 10^{-4}$ g/l, (Phen-) $3,3 \cdot 10^{-5}$ g/l, (Phen+) $1,65 \cdot 10^{-4}$ g/l, (Pc+) 10^{-2} g/l.

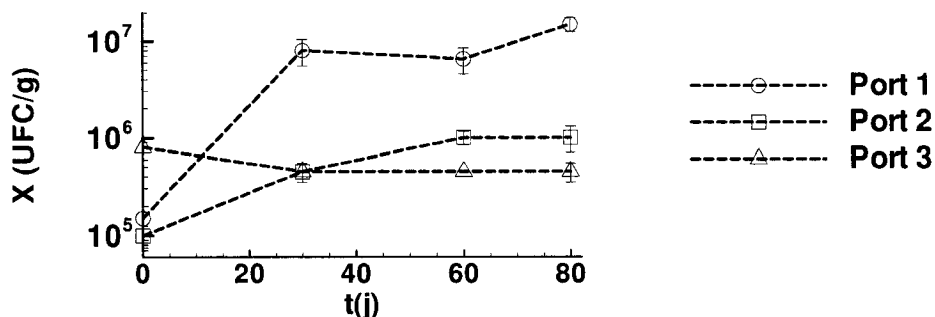


Figure 3-8 Compte total des bactéries cultivables en fonction du temps au trois ports d'échantillonnage de la colonne R4p (d'après Hosein et al., 1997).

3.3.1.2 Estimation du rendement en CO₂

Le rendement en CO₂ sera estimé à partir des courbes de minéralisation des contaminants. Certaines hypothèses seront d'abord adoptées. Le pourcentage (en carbone du substrat initial) de ¹⁴CO₂ produit dans le milieu, est supposé représentatif du pourcentage total de production de CO₂ par la minéralisation du contaminant et la respiration endogène s'il y a lieu. Cette hypothèse est adoptée, puisque seule une fraction du substrat initial est marquée au ¹⁴C. Il sera supposé, par ailleurs, qu'en fin d'essai de minéralisation tout le contaminant présent est biodégradé, le rendement en CO₂, Y^{CO} sera donc égal au rapport de la concentration en CO₂ produit en fin d'essai et de la concentration initiale du contaminant dans le milieu, ou tout simplement au pourcentage total de carbone transformé en CO₂.

La première hypothèse est probablement vraie lorsque les contaminants sont uniformément marqués (cas du carbazole et p-crésol), l'attaque d'une molécule par les bactéries étant aléatoire, le pourcentage de récupération du carbone en ¹⁴CO₂ est donc représentatif de la minéralisation de l'ensemble des molécules marquées et non marquées. Par contre, lorsque le contaminant est marqué par un seul ¹⁴C (cas du fluorène et phénanthrène), le pourcentage de ¹⁴C récupéré en CO₂ est probablement représentatif seulement de la minéralisation des carbones situés dans la position marquée de la molécule. Les premiers carbones attaqués de la molécule sont les premiers transformés en CO₂ et présentent probablement le pourcentage le plus élevé de récupération en CO₂, les derniers carbones susceptibles d'être attaqués de la

molécule présentent le pourcentage le moins élevé parce que la biodégradation peut s'arrêter au niveau d'un métabolite donné.

Le phenanthrène marqué qui a été utilisé dans les essais de minéralisation est marqué à la position au carbone 9 (C9) (Figure 3-9). Le phenanthrène est généralement métabolisé par une dioxygénation initiale des carbones C3 et C4, ou des carbones C1 et C2 (Evans et al., 1965; Fernley et al., 1964), même si certaines espèces peuvent attaquer la molécule aux positions C9-C10 (Moody et al., 2001; Sutherland et al., 1990). Le fluorène utilisé dans les essais de minéralisation est marqué également au carbone C9. Ce contaminant est habituellement attaqué par une dioxygénation aux positions C3-C4 et C1-C2, une monooxygénation à la position C9 semble aussi possible (Casellas et al., 1997; Grifoll et al., 1992). L'attaque des molécules de phenanthrène et fluorène au niveau du carbone C9 étant peu commune, lors d'une attaque initiale de la molécule aux positions C3-C4 ou C1-C2, le carbone C9 est transformé en CO₂ lorsque le deuxième cycle aromatique du phenanthrène ou du fluorène est clivé. Ce carbone est donc transformé en CO₂ en milieu de voie métabolique. Dépendamment du degré de transformation des molécules de fluorène et phenanthrène, le pourcentage de ¹⁴CO₂ récupéré peut ne pas refléter le pourcentage de minéralisation du carbone total de ces molécules. Les courbes de minéralisation seront quand même exploitées telles quelles pour déterminer le rendement en CO₂, faute de données supplémentaires sur la minéralisation de ces contaminants par le sol d'intérêt.

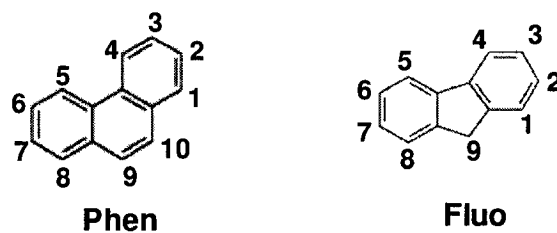


Figure 3-9 Position des atomes de carbones dans les molécules de phenanthrène et fluorène.

3.3.1.3 Détermination des paramètres de biodégradation k_{\max}^{α} et K_C^{α}

Ayant déterminé certains paramètres du modèle indépendamment des essais de minéralisation, le nombre d'inconnues à solutionner par ajustement des courbes de minéralisation a été ainsi diminué. Pour les quatre contaminants visés, il reste à déterminer les paramètres de Monod k_{\max}^{α} et K_C^{α} uniquement. Ce couple de paramètres à déterminer devra fournir le meilleur ajustement des deux courbes de minéralisation obtenues à partir des concentrations initiales de chaque contaminant.

Pour réaliser cet ajustement et alléger la procédure d'optimisation, un modèle de calibrage automatique, PEST (Parameter Estimation, Doherty, 2004), sera utilisé. En effet, PEST se charge d'exécuter le modèle autant de fois qu'il est nécessaire pour minimiser l'écart entre les concentrations en CO_2 calculées et mesurées. En premier lieu, PEST modifie la valeur des paramètres à calibrer dans le fichier d'entrée du modèle, il exécute ensuite le modèle, et va chercher ensuite la variable à ajuster (la concentration en CO_2) dans le fichier de sortie. A ce niveau il compare le résultat du modèle aux courbes expérimentales en calculant une fonction objective ϕ qui n'est autre que la somme du carré des résidus pondérés. Si cette fonction objective n'a pas atteint sa valeur minimale, PEST reprend la même procédure en modifiant de nouveau les paramètres à calibrer dans le fichier d'entrée du modèle et ceci jusqu'à minimiser la fonction ϕ . Cette fonction s'écrit comme suit :

$$\phi = \sum_{i=1}^n (w_i \cdot r_i)^2 \quad (E\ 3-21)$$

Avec : $r_i = (CO_2^m - CO_2^c)_i$

r_i étant le résidu de la $i^{ème}$ observation, $[M.L^{-3}]$

n étant le nombre de points d'observation,

CO_2^m et CO_2^c étant les concentrations en CO_2 mesurées et calculées, $[M.L^{-3}]$

w_i étant le coefficient de pondération affecté à la $i^{\text{ème}}$ observation, il sera pris égal à $(1/\sqrt{n-1})$ afin de maintenir un même poids entre les courbes de minéralisation présentant un nombre différent de points d'observation (Schirmer et al., 1999)

L'ajustement des courbes de minéralisation est réalisé selon la méthode de Schirmer et al. (1999) en utilisant PEST, décrit plus haut, pour accélérer la procédure. Le principe consiste à exécuter le modèle (BIONAPL) pour différentes combinaisons de k_{max}^{α} et K_C^{α} , variant sur des intervalles de $0 \leq k_{\text{max}}^{\alpha} \leq 20 \text{ j}^{-1}$ et $0 \leq K_C^{\alpha} \leq 10^{-3} \text{ g/l}$, en changeant un paramètre à la fois. Pour une valeur de K_C^{α} fixée dans le fichier d'entrée de PEST, PEST exécute le modèle un certain nombre de fois jusqu'à retrouver la valeur de k_{max}^{α} qui minimise la fonction ϕ . La valeur de K_C^{α} est ensuite modifiée par l'utilisateur, et la même opération est répétée jusqu'à couvrir l'étendue de l'intervalle de K_C^{α} . Cette procédure, réalisée à part pour chacune des courbes de minéralisation de chaque contaminant, permet de retrouver un couple de valeurs $(K_C^{\alpha}, k_{\text{max}}^{\alpha})$ qui minimise la fonction ϕ pour les deux courbes de minéralisation au même temps. Ce couple n'est autre que la solution recherchée.

L'ajustement des courbes de minéralisation du carbazole, fluorène, phénanthrène et p-crésol est rapporté sur les figures qui suivent (Figure 3-10 à Figure 3-13).

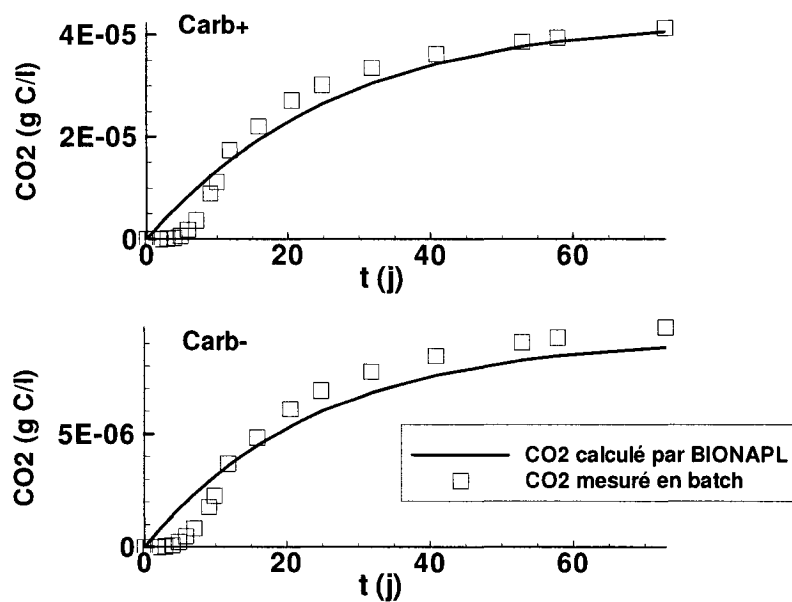


Figure 3-10 Courbes de minéralisation du carbazole et courbes ajustées par BIONAPL pour des concentrations initiales de (Carb+) $1,71 \times 10^{-4}$ g/l, (Carb-) $3,70 \times 10^{-5}$ g/l.

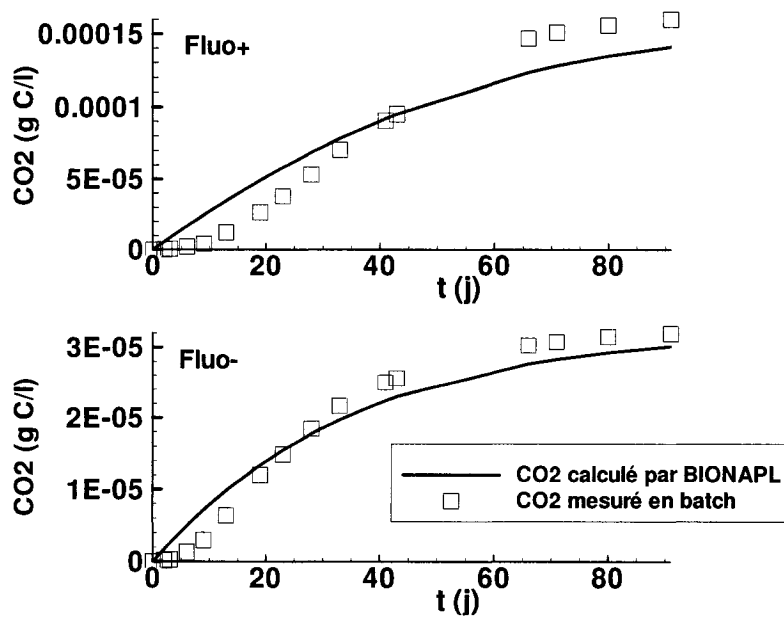


Figure 3-11 Courbes de minéralisation du fluorène et courbes ajustées par BIONAPL pour des concentrations initiales de (Fluo+) $2,44 \times 10^{-4}$ g/l, (Fluo-) $4,97 \times 10^{-5}$ g/l.

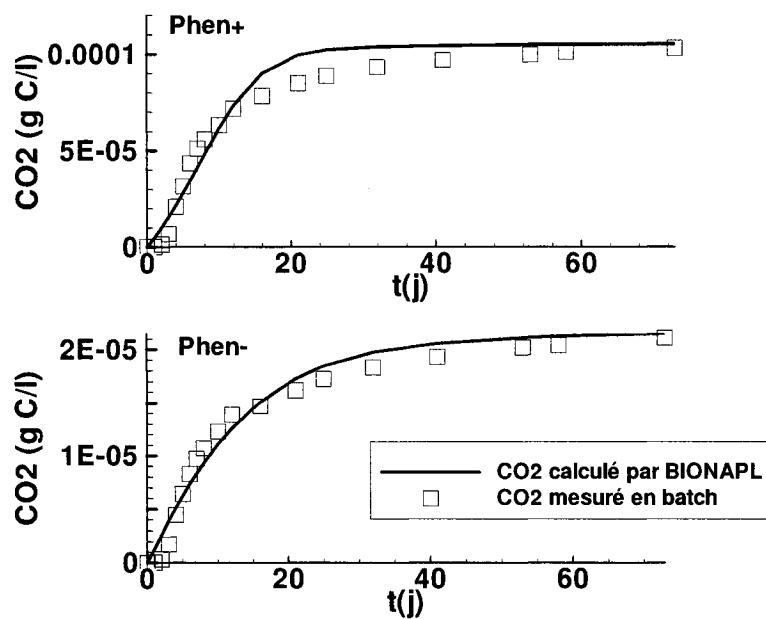


Figure 3-12 Courbes de minéralisation du phenanthrène et courbes ajustées par BIONAPL pour des concentrations initiales de (Phen+) $1,64 \times 10^{-4}$ g/l, (Phen-) $3,30 \times 10^{-5}$ g/l.

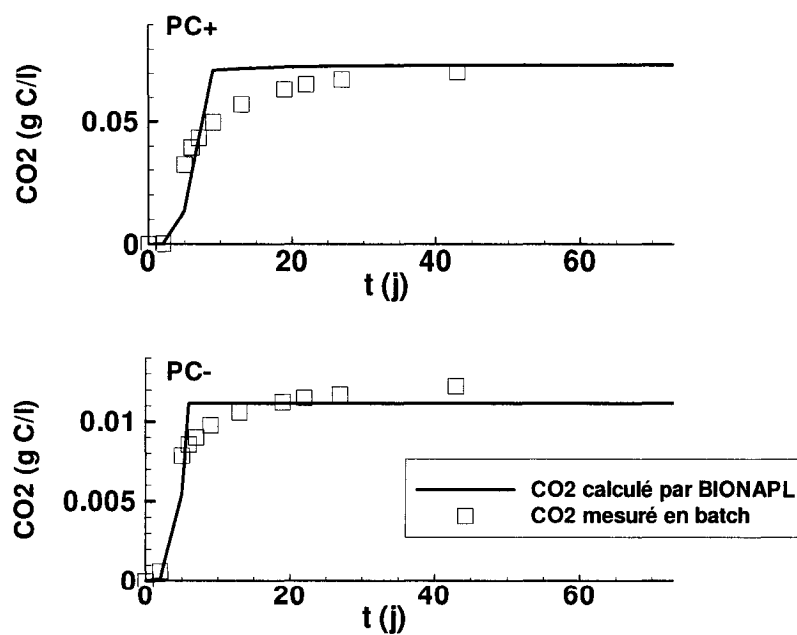


Figure 3-13 Courbes de minéralisation du p-crésol et courbes ajustées par BIONAPL pour des concentrations initiales de (Pc+) $1,38 \times 10^{-1}$ g/l, (Pc-) $2,76 \times 10^{-2}$ g/l.

Tableau 3-4 Récapitulatif des paramètres de biodégradation des contaminants estimés et ajustés à partir des courbes de minéralisation

<i>Contaminant</i>	$Y^{CO} \text{ (g/g)}$	$Y^{\alpha} \text{ (g/g)}^a$	$k_{\max}^{\alpha} \text{ (g/g.j)}$	$K_C^{\alpha} \text{ (g/l)}$
Carb	0,93	0,00	3,60	$2,50 \times 10^{-4}$
Fluo	2,35	0,00	1,50	$1,85 \times 10^{-4}$
Phen	2,32	0,00	1,61	$2,10 \times 10^{-5}$
Pc	1,88	0,67	2,26	$2,50 \times 10^{-3}$

^a Valeurs du rendements Y^{α} utilisées en batch, et qui seront utilisées en colonnes sauf pour le Phen.

Les paramètres de biodégradation déterminés pour les différents contaminants sont rapportés dans le Tableau 3-4. Ces paramètres ont permis de retrouver des concentrations en CO_2 en accord avec les valeurs mesurées pour les deux courbes de minéralisation correspondant aux deux concentrations initiales de contaminants. Ces paramètres ont été déterminés en considérant une même concentration bactérienne initiale de $1,25 \times 10^{-6}$ gC/l ($1,5 \times 10^{-5}$ g/l de biomasse) dans les microcosmes pour tous les contaminants.

La concentration bactérienne estimée influence dans une large mesure les paramètres cinétiques de biodégradation déterminés dans les sols (Alvarez et al., 1991). En plus de la concentration bactérienne, ces paramètres dépendent de l'historique de la population bactérienne avant les essais de biodégradation, d'où la variabilité des paramètres rapportés dans la littérature (Grady et al., 1996). L'information disponible sur la biomasse est le compte des bactéries totales cultivables, rapporté par Hosein et al. (1997) et qui se situe sur une plage de valeurs. C'est la valeur minimale de ce compte qui a été utilisée afin d'éviter de surestimer la concentration des dégradeurs spécifiques. Cette valeur correspond, par ailleurs, à une concentration bactérienne qui est en accord avec celle déterminée par Schirmer et al. (1999) pour les dégradeurs d'aromatiques (BTEX) du sol de Borden.

Les rendements en CO_2 (Y^{CO}) peuvent également varier en fonction des espèces bactériennes. Un rendement de 0,58 gC/gC ($\approx 1,66$ g/g) a été rapporté par Bouchez et al. (1997) lors de la minéralisation du phenanthrène par une culture pure,

et un rendement de 1,5 g/g a été rapporté par Guha et Jaffé (1996) pour la minéralisation de ce même contaminant par un consortium mixte provenant d'un sol contaminé aux hydrocarbures. Ces valeurs sont plus proches des rendements Y^{CO} obtenus pour le p-crésol que ceux observés pour le fluorène et phenanthrène. Il est possible que les valeurs du rendement Y^{CO} pour le fluorène et phenanthrène surestiment la quantité de carbone minéralisée par substrat biodégradé, ce qui (d'après l'équation E 3-10) pourrait sous-estimer les taux de biodégradation déterminés à partir des courbes de minéralisation.

Afin de vérifier si les cinétiques déterminées peuvent reproduire le comportement de biodégradation des contaminants d'intérêt, la biodégradation sera modélisée dans les essais en colonnes et les résultats comparés aux observations de laboratoire.

3.3.1.4 Validation des paramètres de biodégradation en colonnes

Dans la section précédente, des essais de minéralisation en batch ont permis de déterminer les paramètres de biodégradation des contaminants individuels, dont les interactions seront modélisées en colonne. Ces paramètres seront d'abord validés en reproduisant le comportement de ces contaminants dans les colonnes où ils ne sont pas affectés par les interactions.

Les paramètres de biodégradation du carbazole seront validés dans la colonne CTRL, où il est biodégradé seul. Les paramètres du fluorène seront testés dans la colonne R3, où il ne semble pas affecté par la présence du carbazole (Millette et al., 1995). Les paramètres du phenanthrène seront validés dans la colonne R4r où il n'y a pas d'évidence d'un effet d'interaction engendré par les autres contaminants. Finalement, les paramètres de biodégradation du p-crésol seront validés dans la colonne R4p, où il est clair que sa biodégradation n'est influencée par aucun autre contaminant (Millette et al., 1998).

Les essais en colonne ont été réalisés avec le même sol de Borden que les essais en batch, mais ont subi un traitement supplémentaire avant l'injection des contaminants. En effet un milieu minimal salin saturé en oxygène (50 mg/l) a été injecté dans les colonnes pendant environ 10 jours afin d'équilibrer les réactions abiotiques d'oxydo-réduction. Il en a résulté une augmentation de la biomasse totale

cultivable qui était de 5×10^2 à 2×10^4 UFC/g et qui a atteint 1×10^5 à 3×10^6 UFC/g (Hosein et al., 1997). Il est possible que cette variation de la biomasse totale ait un effet sur les populations spécifiques qui dégradent les contaminants, c'est ce qui sera vérifié en validant les paramètres de biodégradation des différents contaminants.

3.3.1.4.1 Cas du carbazole

Les paramètres de biodégradation du carbazole seront testés en modélisant la colonne CTRL où il est injecté seul à une concentration de $1,65 \times 10^{-4}$ g/l. La concentration bactérienne utilisée est la même que dans les essais en batch, mais convertie en g/l de milieu liquide de colonne, ce qui donne une concentration en biomasse de $2,78 \times 10^{-5}$ g/l.

La variation de la concentration du carbazole mesurée et simulée dans l'affluent de la colonne ainsi qu'aux trois ports d'échantillonnages sont représentés sur la Figure 3-14. Avec les paramètres de biodégradation déterminés en batch, le modèle arrive à reproduire les tendances de variation des concentrations du carbazole le long de la colonne CTRL. Ainsi, une biodégradation du carbazole, en présence d'autres contaminants, qui s'écarte de cette cinétique peut indiquer la présence d'un effet d'interaction.

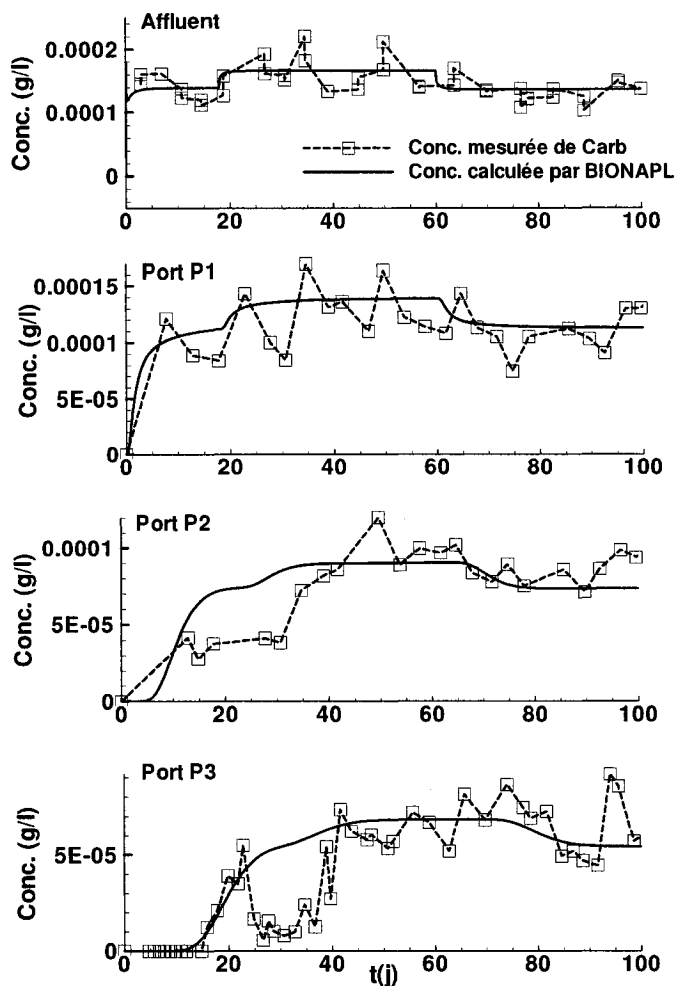


Figure 3-14 Comparaison des concentrations de carbazole mesurées dans la colonne CTRL et calculées par BIONAPL en utilisant les paramètres de biodégradation déterminés en batch de façon indépendante.

3.3.1.4.2 Cas du fluorène

Afin de tester les paramètres de biodégradation du fluorène, son transport et biodégradation seront simulés dans la colonne R2. La concentration en biomasse considérée est équivalente à celle utilisée pour simuler les essais en batch et égale à $2,78 \times 10^{-5}$ g/l. La variation de la concentration du fluorène dans la colonne est reportée sur la Figure 3-15. Une première simulation avec la concentration bactérienne choisie surestime la concentration du fluorène dans les trois ports d'échantillonnage. Il est possible que la cinétique déterminée par le fluorène marqué

par un seul ^{14}C dans les essais en batch sous-estime la cinétique de biodégradation. Ainsi dépendamment de la position d'attaque initiale de la molécule par les bactéries et du rendement de minéralisation, le taux minéralisation de ce carbone peut être représentatif du taux de biodégradation de la molécule comme il peut le sous-estimer. Par ailleurs, il est possible également que ce fait soit dû à une augmentation de la biomasse pendant l'équilibrage de la colonne par le milieu salin et avant l'injection des contaminants. Ainsi une biomasse plus importante serait responsable d'une plus importante biodégradation.

Une deuxième simulation avec une concentration bactérienne de 2×10^{-4} g/l correspondant à un compte bactérien intermédiaire, permet de reproduire le comportement du fluorène le long de la colonne (Figure 3-15). Cette concentration reste dans la plage des comptes bactériens rapportés pour le sol avant son utilisation dans les essais en colonne (5×10^2 - 2×10^4 UFC/g correspondant en colonne à $2,78 \times 10^{-5}$ - $1,11 \times 10^{-3}$ g/l) et bien au-dessous des valeurs rapportées après équilibrage de la colonne. Cette deuxième hypothèse sera retenue pour la suite de l'étude, et la concentration bactérienne ainsi testée sera utilisée pour modéliser la biodégradation du fluorène en présence des autres contaminants.

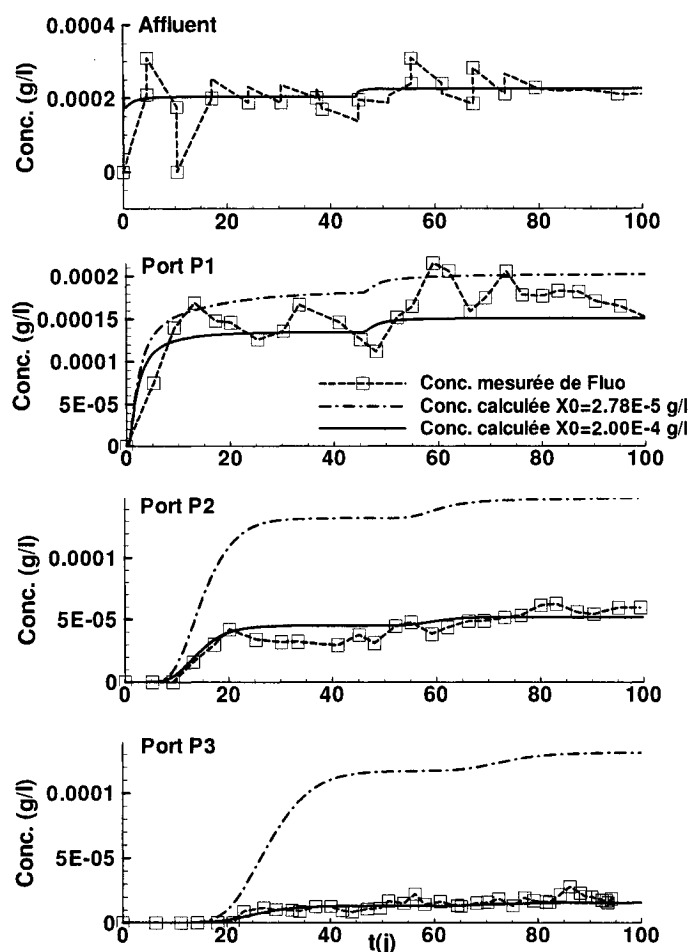


Figure 3-15 Comparaison des concentrations de fluorène mesurées dans la colonne R3 et calculées par BIONAPL en utilisant les paramètres de biodégradation déterminés en batch, pour une biomasse initiale de $X_0=2,78 \times 10^{-5}$ et $X_0=2,00 \times 10^{-4}$.

3.3.1.4.3 Cas du phénanthrène

Afin de valider les paramètres de biodégradation du phénanthrène, sa biodégradation dans la colonne R4r sera modélisée. De même que dans les cas précédents, une concentration bactérienne de $2,78 \times 10^{-5}$ g/l équivalente à celle utilisée en batch, sera considérée. Comme décrit précédemment, en utilisant les paramètres k_{max} et K_C déterminés en batch, le rendement bactérien du phénanthrène en colonne est déterminé en ajustant la pente de la courbe des concentrations calculées au port P1 de la colonne R4r. Ceci a donné un rendement bactérien $Y = 0.30$ g/g.

La variation de la concentration du phénanthrène dans la colonne au niveau du port d'échantillonnage P1 est reportée sur Figure 3-16. Les concentrations de ce contaminant au niveau des ports P2 et P3, ont été omises étant donné qu'il n'y est pas détecté pendant l'expérience et que les concentrations calculées par le modèle y sont nulles. Les concentrations calculées sont donc en accord avec les concentrations mesurées au port P1 notamment aux points mesurés au 9^{ème} et au 13^{ème} jour d'échantillonnage. Les paramètres de biodégradation déterminés seront donc utilisés pour modéliser la biodégradation du phénanthrène en présence des autres contaminants.

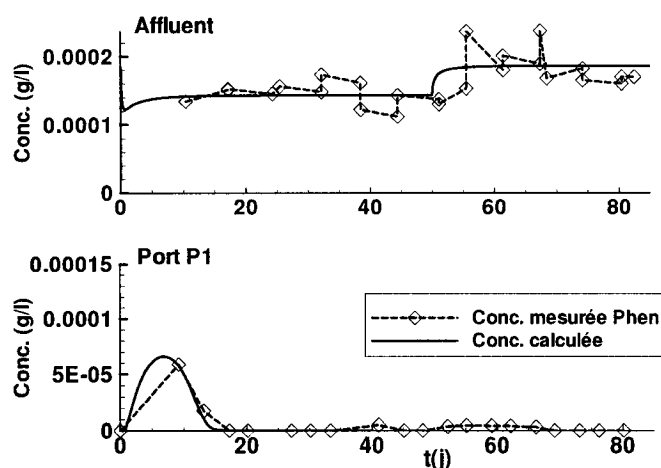


Figure 3-16 Comparaison des concentrations de phénanthrène mesurées dans la colonne R4r et calculées par BIONAPL en utilisant les paramètres de biodégradation déterminés en batch.

3.3.1.4.4 Cas du p-crésol

Les paramètres de biodégradation du p-crésol tels que déterminés en batch seront testés en simulant sa biodégradation dans la colonne R4p. Une première simulation est réalisée en utilisant la même concentration bactérienne que dans les cas précédents ($2,78 \times 10^{-5}$ g/l). La variation des concentrations dans la colonne en fonction du temps est reportée sur la Figure 3-17. Il apparaît que la cinétique de biodégradation déterminée en batch sous-estime la transformation du p-crésol. Sachant que le p-crésol utilisé dans les essais de minéralisation est uniformément marqué, il semble probable que la concentration bactérienne active dans la colonne

soit plus importante que celle considérée. Une deuxième simulation est réalisée avec une concentration bactérienne de $1,11 \times 10^{-3}$ g/l qui n'est autre que la concentration bactérienne maximale dans le sol avant son utilisation dans les essais en colonne. Cette concentration reste aussi bien inférieure à celles correspondant aux comptes bactériens rapportés après équilibrage de la colonne ($6,7 \times 10^{-3}$ - 2×10^{-2} g/l pour un compte bactérien de 1×10^5 - 3×10^6 CFU/g) et après injection du p-crésol dans la colonne R4p (Figure 3-8). La courbe des concentrations du p-crésol ainsi modélisée semble mieux reproduire le comportement du p-crésol dans la colonne R4p (Figure 3-17). Le p-crésol étant un contaminant facilement biodégradable, il est possible qu'une croissance bactérienne ait eu lieu également à l'entrée de la colonne dans la partie qui sépare l'entrée de l'affluent du début du milieu poreux. Ceci peut expliquer entre autres sa disparition de la colonne dans les cinq premiers jours d'expérience. Les paramètres de biodégradation déterminés, ainsi qu'une concentration bactérienne initiale de $1,11 \times 10^{-3}$ g/l, seront retenus pour modéliser la biodégradation du p-crésol en présence des autres contaminants.

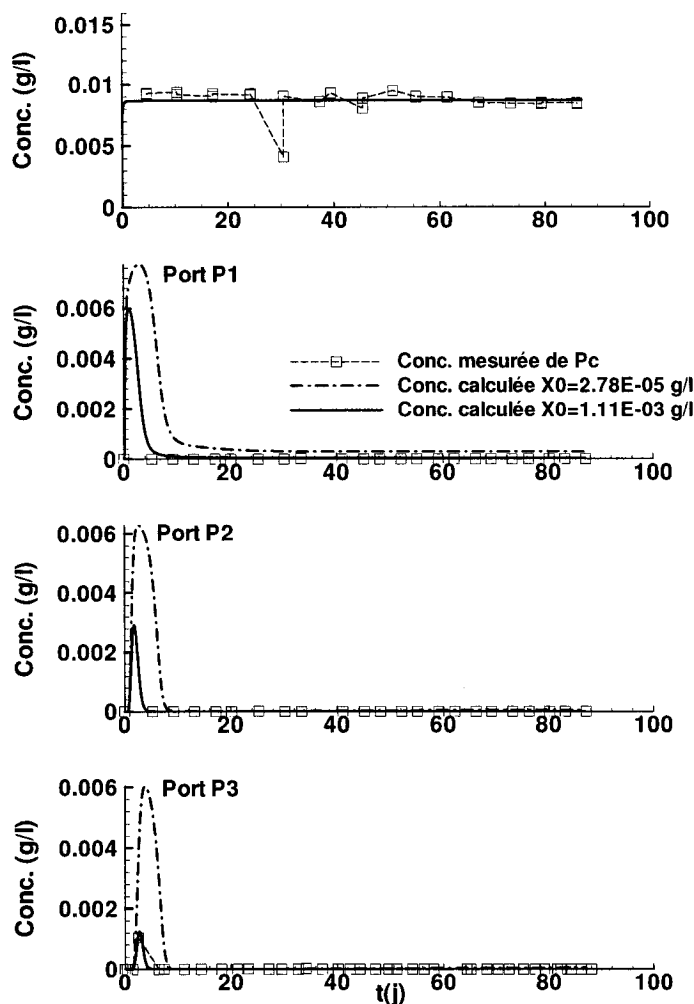


Figure 3-17 Comparaison des concentrations de p-crésol mesurées dans la colonne R4p et calculées par BIONAPL en utilisant les paramètres de biodégradation déterminés en batch, pour une biomasse initiale de $X_0=2,78 \times 10^{-5}$ et $X_0=1,11 \times 10^{-3}$.

3.3.2 Identification des interactions vraisemblables dans les essais en colonnes

Dans la section précédente, la validité des cinétiques de biodégradation déterminées en batch a été discutée, ainsi que celle des concentrations bactériennes adoptées. Ceci a été réalisé en modélisant le transport et la biodégradation des contaminants individuels dans les colonnes où ils ne sont pas affectés par les interactions. Dans la

suite, la biodégradation des mélanges de contaminants sera simulée. En l'occurrence la liste des contaminants injectés dans les différentes colonnes ainsi que leur concentration sont rapportées dans le Tableau 3-2 (section 3.2.2.2).

Pour simuler la biodégradation de ces contaminants, la présence des contaminants en faible concentration (phenanthrène dans la colonne R2 et fluorène dans la colonne R3) sera ignorée. Seul le comportement des autres contaminants (dont la concentration est en gras dans le Tableau 3-2) sera pris en compte. Ceci a été considéré en s'appuyant sur les observations de Millette et al. (1998) qui constatent que l'effet de ces contaminants est négligeable à ces niveaux de concentrations.

Ainsi en modélisant les colonnes R2, R3, R4r et R4p, la stratégie consistera à simuler la biodégradation d'un mélange de deux contaminants (colonnes R2 et R3), puis de trois (colonne R3) et quatre contaminants (colonne R4p). Le but de ces simulations est de tenter de reproduire le comportement des contaminants aux 3 ports d'échantillonnage des colonnes dans l'objectif d'identifier les interactions probables ayant lieu entre eux. Un parallèle sera établi avec les interactions identifiées par Millette et al. (1998), à partir de ces mêmes essais en colonnes, en se basant sur des calculs statistiques.

Pour reproduire le comportement des contaminants dans les colonnes un ajustement manuel des courbes des concentrations mesurées aux trois ports d'échantillonnage des colonnes sera réalisé. Le but de cet ajustement est de vérifier la vraisemblance d'une hypothèse par rapport à l'occurrence d'une interaction donnée en utilisant la cinétique qui la modélise. L'ajustement manuel (et non point l'ajustement automatique) a été l'option retenue, étant donné que le résultat recherché est plus d'identifier la cinétique d'interaction la plus vraisemblable (et donc l'effet qui lui est inhérent) que de déterminer les paramètres d'interaction descriptifs.

Les paramètres d'interactions ajustés dans les simulations qui vont suivre sont regroupés en ANNEXE VI.

3.3.2.1 Interactions entre carbazole et fluorène (R2)

Afin de modéliser le comportement du carbazole et du fluorène lorsqu'ils sont biodégradés dans la colonne R2, les effets d'interaction observés par Millette et al. (1998) seront d'abord rapportés. Ces derniers constatent la présence d'une inhibition du carbazole par le fluorène lorsque la colonne atteint un état quasi-permanent, c'est à dire à partir du 40^{ème} au 50^{ème} jour d'expérience. L'état quasi-permanent est considéré atteint lorsque les oscillations des concentrations mesurées deviennent de l'ordre de la variabilité inhérente à l'erreur expérimentale qui est de 10% (en tenant compte de la variation du niveau de l'affluent) (Millette et al., 1998).

Dans la suite des simulations seront réalisées afin d'identifier par la modélisation les interactions entre carbazole et fluorène, et ceci en testant certains scénarios d'interactions (Figure 3-18).

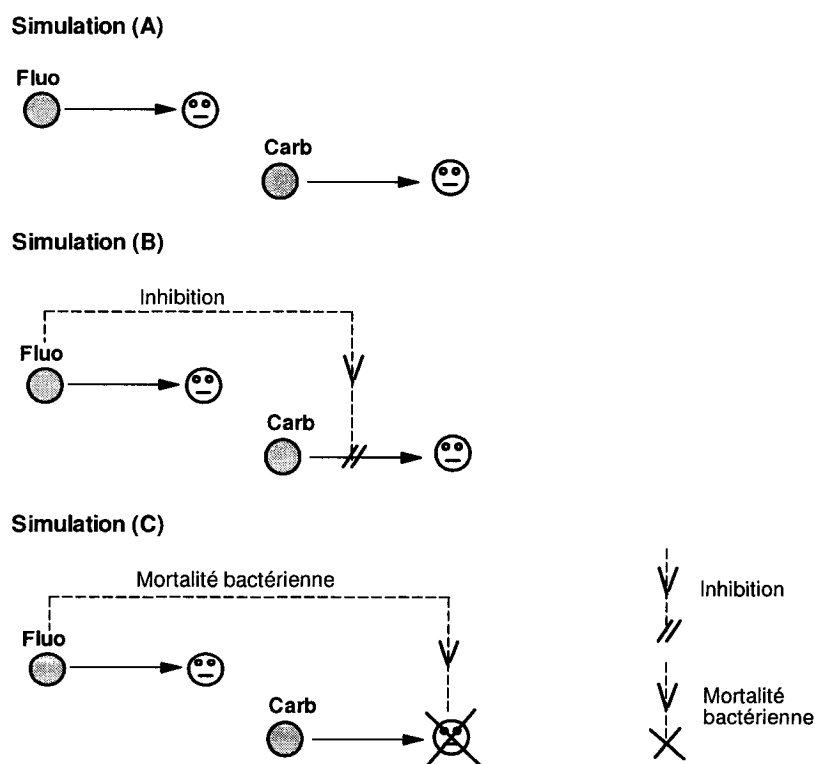


Figure 3-18 Schéma des scénarios de simulation testés pour identifier les interactions entre carbazole et fluorène (colonne R2).

Simulation (A)

Une première simulation de la biodégradation des contaminants sera réalisée sans tenir compte des interactions. Les contaminants sont injectés dans la colonne selon des plateaux de concentration qui permettent d'approcher les concentrations des contaminants dans l'affluent (Figure 3-19). Chacun des contaminants est biodégradé suivant la cinétique déterminée précédemment et par une population bactérienne différente dont la concentration initiale est celle fixée dans la section précédente.

La variation des concentrations dans la colonne en fonction du temps (simulation (A), Figure 3-20) montre qu'en ne tenant compte d'aucune interaction, les cinétiques de biodégradation permettent de reproduire le comportement du fluorène pendant toute la durée de l'essai et d'approcher celui du carbazole jusqu'à autour du 50^{ème} jour d'expérience. En effet à partir de ce temps d'échantillonnage, la biodégradation du carbazole semble de moins en moins importante et les concentrations mesurées vont en augmentant. Cet effet semble de plus en plus prononcé en passant du port P1 au port P2 et du port P2 au port P3.

Simulation (B)

Afin d'expliquer les observations précédentes, une simulation de la biodégradation du carbazole a été réalisée en considérant une inhibition par le fluorène (Simulation (B), Figure 3-18) comme il a été rapporté par Millette et al. (1998).

Le coefficient d'inhibition a été ajusté manuellement de façon à minimiser l'écart entre les courbes des concentrations calculées et mesurées dans la colonne. La Figure 3-20 (Simulation (B)) montre qu'une inhibition par le fluorène permet de mieux reproduire le comportement général du carbazole. Par contre, si le calibrage est meilleur après le 50^{ème} jour d'échantillonnage, il semble de moins bonne qualité pendant les 50 premiers jours d'expérience, notamment au port P2. En effet, l'inhibition simulée par le fluorène va agir pendant toute la durée de l'expérience, alors que l'inhibition observée ne semble prendre de l'effet qu'à partir du 50^{ème} jour d'expérience. Par ailleurs l'inhibition observée semble plus significative vers la fin que vers le début de la colonne.

Simulation (C)

Une autre explication possible à ces observations serait une accumulation de métabolites du carbazole sous l'effet de l'inhibition par le fluorène. Cette accumulation serait responsable d'une certaine toxicité et d'une mortalité de la population dégradant le carbazole, qui ferait en sorte que la biodégradation du carbazole diminue et que sa concentration augmente. Jusqu'ici les populations bactériennes dégradant ces deux contaminants ont été considérées constantes. Une simulation sera réalisée où la population dégradant le carbazole sera supposée subir une certaine mortalité, le carbazole n'étant soumis à aucun autre effet dû à la présence de fluorène (Simulation (C), Figure 3-18).

Les courbes des concentrations en fonction du temps obtenues sont représentées sur la Figure 3-21. Le modèle arrive à mieux reproduire les tendances de variation des concentrations du carbazole le long de la colonne et pendant la durée de l'expérience. Il est donc probable que les variations de concentrations observées soient en rapport avec une modification de la population dégradatrice de carbazole sous l'effet du fluorène plutôt qu'à une inhibition directe du carbazole par le fluorène.

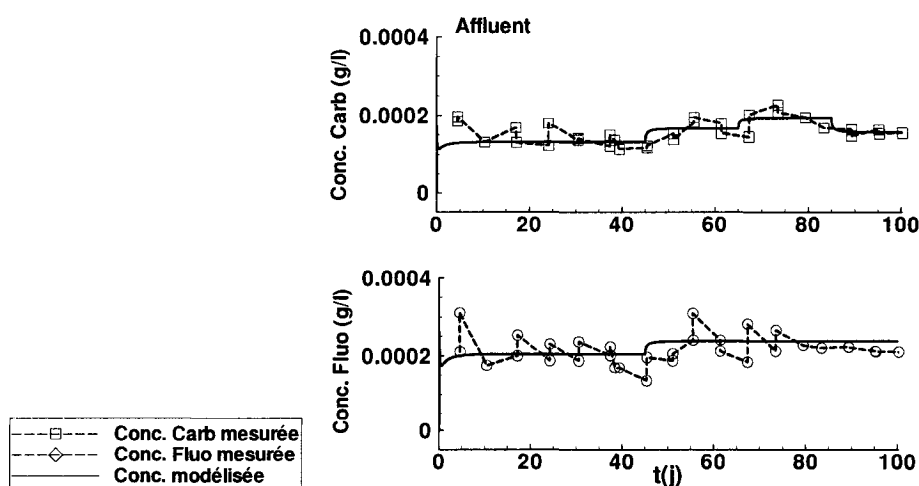
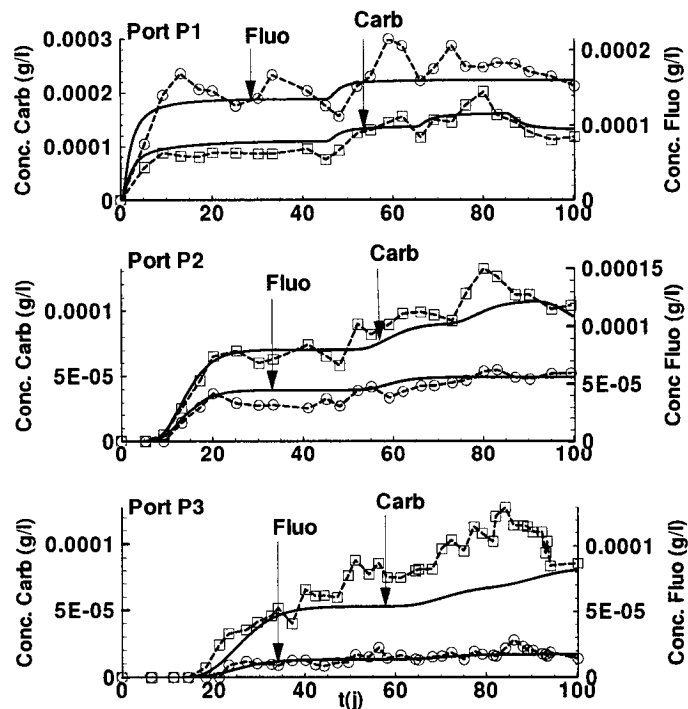


Figure 3-19 Variation des concentrations de Carb et Fluo mesurées dans l'affluent à l'entrée de la colonne R2 et celles adoptées comme donnée d'entrée du modèle.

Simulation (A)



Simulation (B)

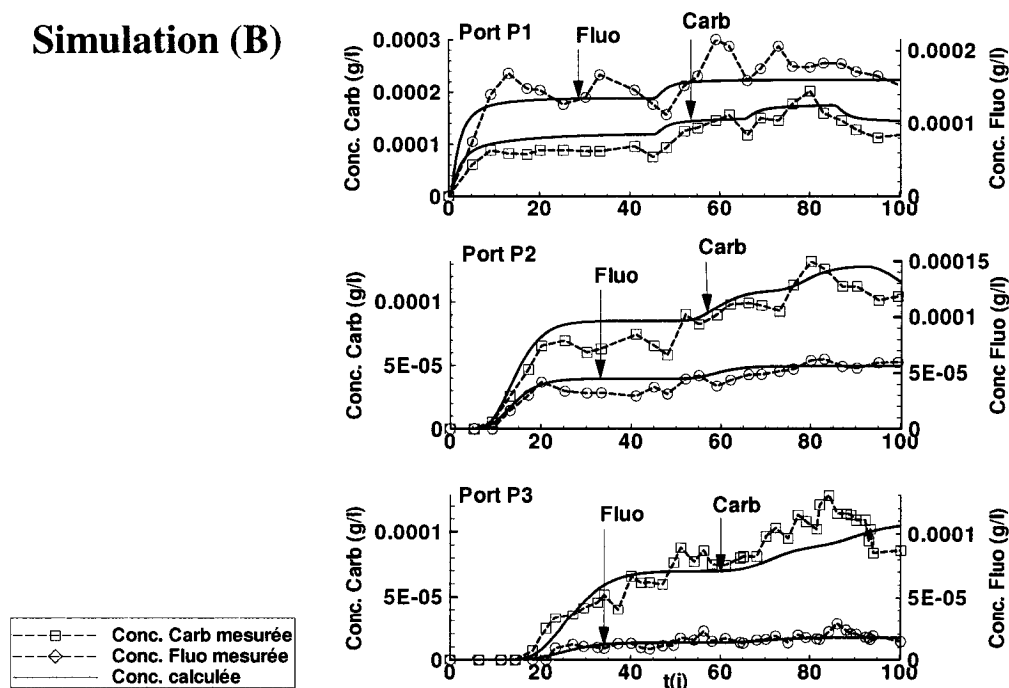


Figure 3-20 Concentrations du carbazole et fluorène mesurées (colonne R2) et calculées par BIONAPL : Simulation (A) sans interactions ; Simulation (B) avec inhibition du Carb par le Fluo.

Simulation (C)

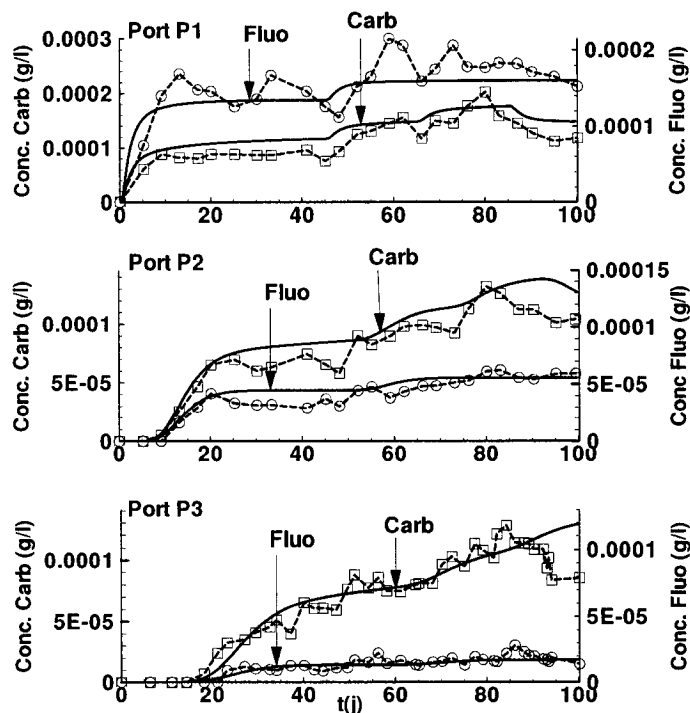


Figure 3-21 Concentrations du carbazole et fluorène mesurées (colonne R2) et calculées par BIONAPL : Simulation (C) avec une mortalité de la population dégradant le Carb de $b=2,5 \times 10^{-2} \text{ j}^{-1}$ et sans aucun autre effet de la part du fluorène.

3.3.2.2 Interactions entre carbazole et phénanthrène (R3)

Pour comprendre les interactions qui ont lieu entre carbazole et phénanthrène dans la colonne R3, les observations de (Millette et al., 1998) ont servi de point de référence. Ces auteurs rapportent que l'effet du phénanthrène avant l'état quasi-permanent (à partir de 40-50 jours) est négligeable, mais qu'ensuite la biodégradation du carbazole se trouve être inhibée. Dans la suite, des simulations de la colonne R3 seront réalisées, en testant certains scénarios, afin d'identifier les interactions qui ont lieu entre carbazole et phénanthrène (Figure 3-22).

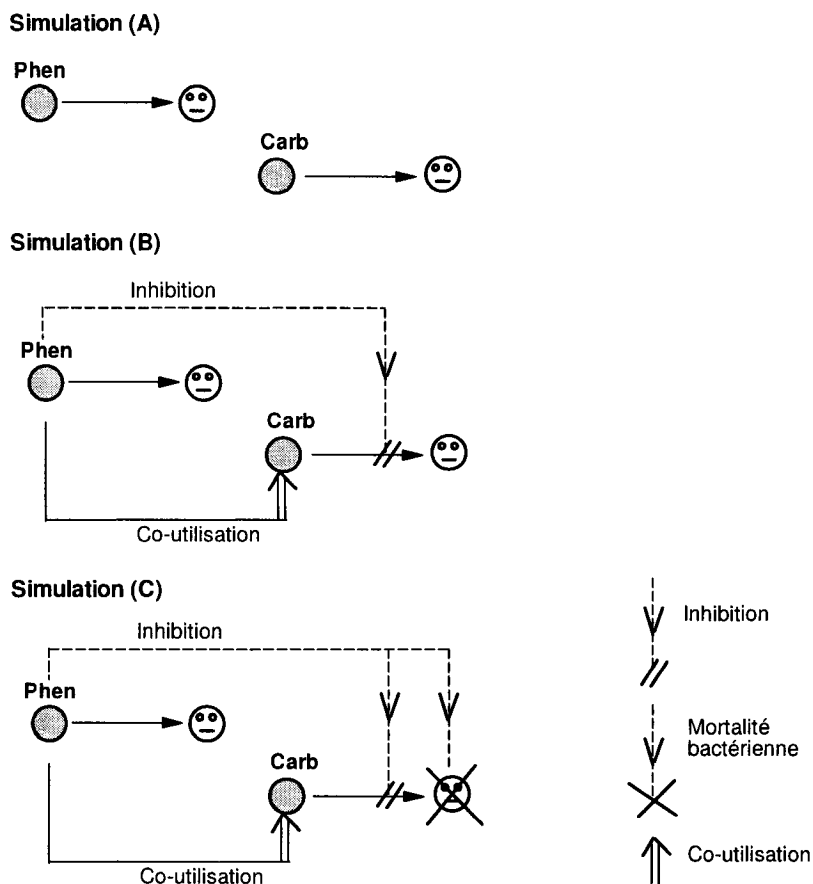


Figure 3-22 Schéma des scénarios de simulation testés pour identifier les interactions entre carbazole et phenanthrène (colonne R3).

Simulation (A)

La biodégradation des contaminants sera d'abord modélisée sans tenir compte des interactions et les résultats seront comparés aux courbes des concentrations mesurées. Les deux contaminants seront biodégradés selon les cinétiques déterminées précédemment, par deux populations bactériennes différentes de même concentration initiale égale à celle déterminée précédemment. Les concentrations adoptées dans l'affluent de la colonne sont rapportées sur la Figure 3-23.

La Figure 3-24 (simulation (A)) montre un écart entre les concentrations calculées et mesurées qui est significatif au niveau du port d'échantillonnage P1 et peu significatif au niveau des deux autres ports. Au niveau du port P1, les concentrations mesurées dépassent celles simulées entre les 20 à 30 premiers jours

d'expérience, il semble donc que pendant cette période carbazole et phenanthrène soient inhibés. En observant la courbe des concentrations mesurées, il apparaît que les courbes des concentrations des deux contaminants accusent une diminution qui suit pratiquement une même pente entre le 15^{ème} et le 35^{ème} jour de simulation. Ainsi, la courbe de biodégradation du carbazole qui est habituellement en plateau, semble pendant cette période de temps suivre une décroissance due à une biodégradation par une population qui est croissante. Pendant la phase qui suit la disparition du phenanthrène au port P1, la courbe des concentrations du carbazole subit une inflexion puis les concentrations commencent à augmenter signe d'une biodégradation qui diminue. Ce comportement a été observé précédemment lorsque le carbazole est biodégradé en présence de fluorène.

Simulation (B)

Des simulations seront réalisées en supposant que carbazole et phenanthrène s'inhibent mutuellement, et que pendant la biodégradation du phenanthrène le carbazole se trouve être co-utilisé (Simulation (B), Figure 3-22).

Les paramètres d'inhibition et de co-utilisation sont ajustés manuellement. Les courbes obtenues (simulation (B), Figure 3-24) semblent mieux reproduire le comportement du carbazole et phenanthrène pendant les 45 premiers jours de simulation surtout au port P1. En effet, les courbes de concentration aux ports P2 et P3 surestiment la biodégradation du carbazole après les 40 premiers jours de simulation, et sous-estiment la biodégradation du phenanthrène dont le pic apparaît à ces deux ports alors qu'en réalité il n'est plus détecté.

Simulation (C)

Comme dans la section précédente, la présence de phenanthrène sera supposée être la cause d'une accumulation de métabolites et d'une certaine mortalité de la population dégradatrice du carbazole. Les hypothèses adoptées dans la simulation précédente (inhibition et co-utilisation) seraient également retenues (Simulation (C), Figure 3-22).

Les courbes obtenues (simulation (C), Figure 3-25) reproduisent mieux le comportement du carbazole à partir du 40^{ème} jour de simulation, mais le calibrage

semble de moins bonne qualité pour les 40 premiers jours notamment au port P3. Par ailleurs, le calibrage des courbes du phénanthrène ne semble pas meilleur au port P2 et P3, et la disparition complète du phénanthrène avant le port P2 n'a pu être reproduite par le modèle.

Il est possible qu'une distribution bactérienne différente soit la cause de ce fait. Il est possible aussi que l'inhibition observée pendant les 15 premiers jours de simulation au port P1, et dont le carbazole et phénanthrène font l'objet, soit juste liée à un processus d'acclimatation bactérienne et non pas à une inhibition mutuelle entre ces contaminants. En effet, une simulation du transport sans biodégradation aucune (résultats non montrés) montre que les courbes abiotiques du carbazole et phénanthrène s'ajustent parfaitement aux courbes mesurées au port P1 pendant les 15 premiers jours de simulation, suggérant une absence d'activité bactérienne.

Cette acclimatation serait à l'origine d'un retard des processus de biodégradation du carbazole et phénanthrène et n'aura pas un effet d'inhibition du phénanthrène par le carbazole qui persiste comme c'est le cas dans cette simulation. Cette inhibition qui persiste est probablement la raison pour laquelle le pic de phénanthrène apparaît aux ports P2 et P3. En supposant plutôt la présence d'un effet d'acclimatation, la biodégradation du phénanthrène ne serait pas limitée comme elle semble l'être par la présence du carbazole et sa biodégradation serait plus importante le long de la colonne.

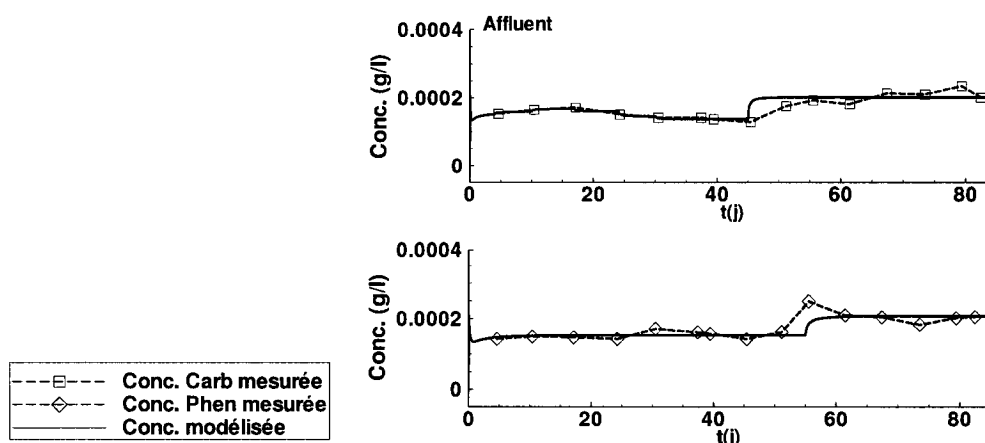
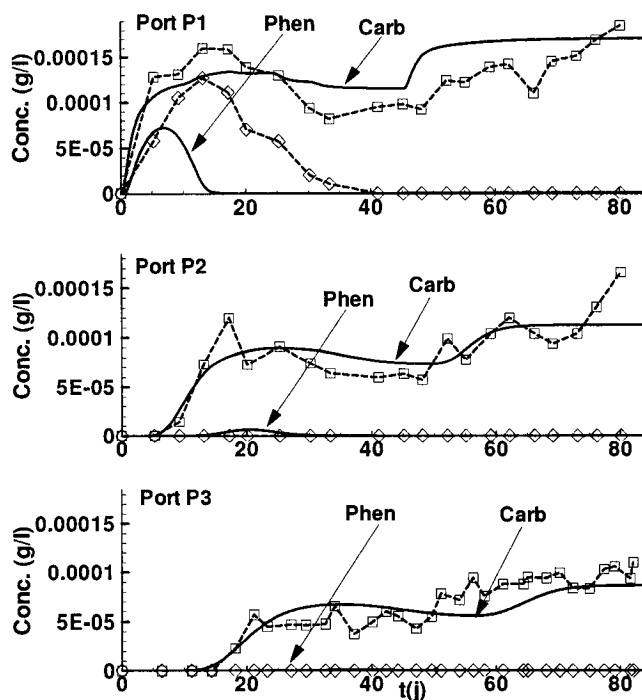


Figure 3-23 Variation des concentrations de Carb et Phen mesurées dans l'affluent à l'entrée de la colonne R3 et celles adoptées comme donnée d'entrée du modèle.

Simulation (A)



Simulation (B)

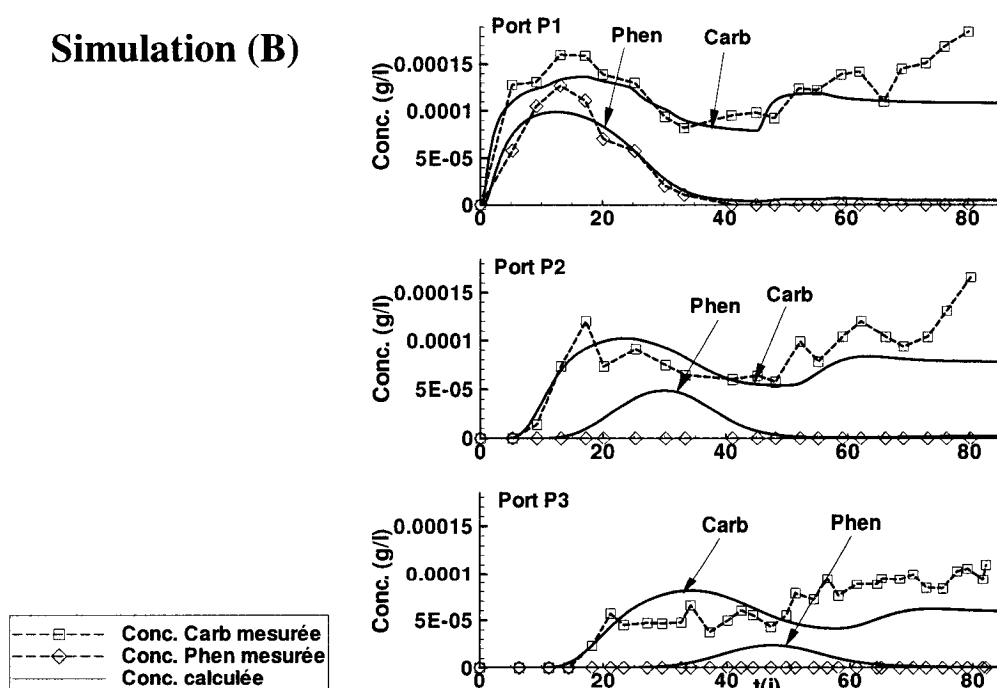


Figure 3-24 Concentrations du carbazole et phénanthrène mesurées (colonne R3) et calculées par BIONAPL : Simulation (A) sans interactions ; Simulation (B) avec inhibition mutuelle et co-utilisation du Carb.

Simulation (C)

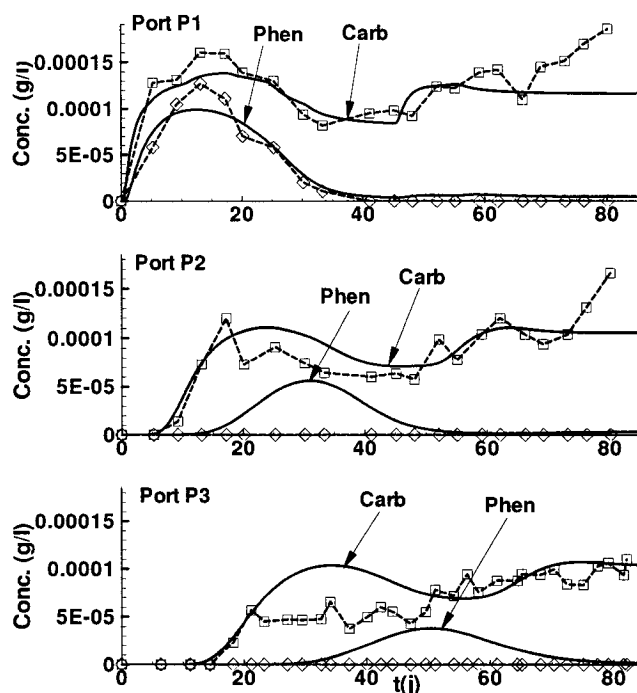


Figure 3-25 Concentrations du carbazole et phénanthrène mesurées (colonne R3) et calculées par BIONAPL : Simulation (C) identique à la simulation (B) avec une mortalité de la population dégradant le Carb égale à $b=5,0 \times 10^{-2} \text{ j}^{-1}$.

3.3.2.3 Interactions entre carbazole, fluorène et phénanthrène (R4r)

Il a été démontré par Millette et al. (1998) que la présence concomitante du fluorène et phénanthrène pendant la biodégradation du carbazole donne les mêmes effets que lorsque le carbazole est présent avec chacun d'eux séparément, c'est à dire une inhibition de la biodégradation du carbazole à l'état quasi-permanent. Afin de retrouver les interactions qui ont lieu entre ces contaminants, des simulations seront réalisées dans la suite en adoptant certains scénarios (Figure 3-26).

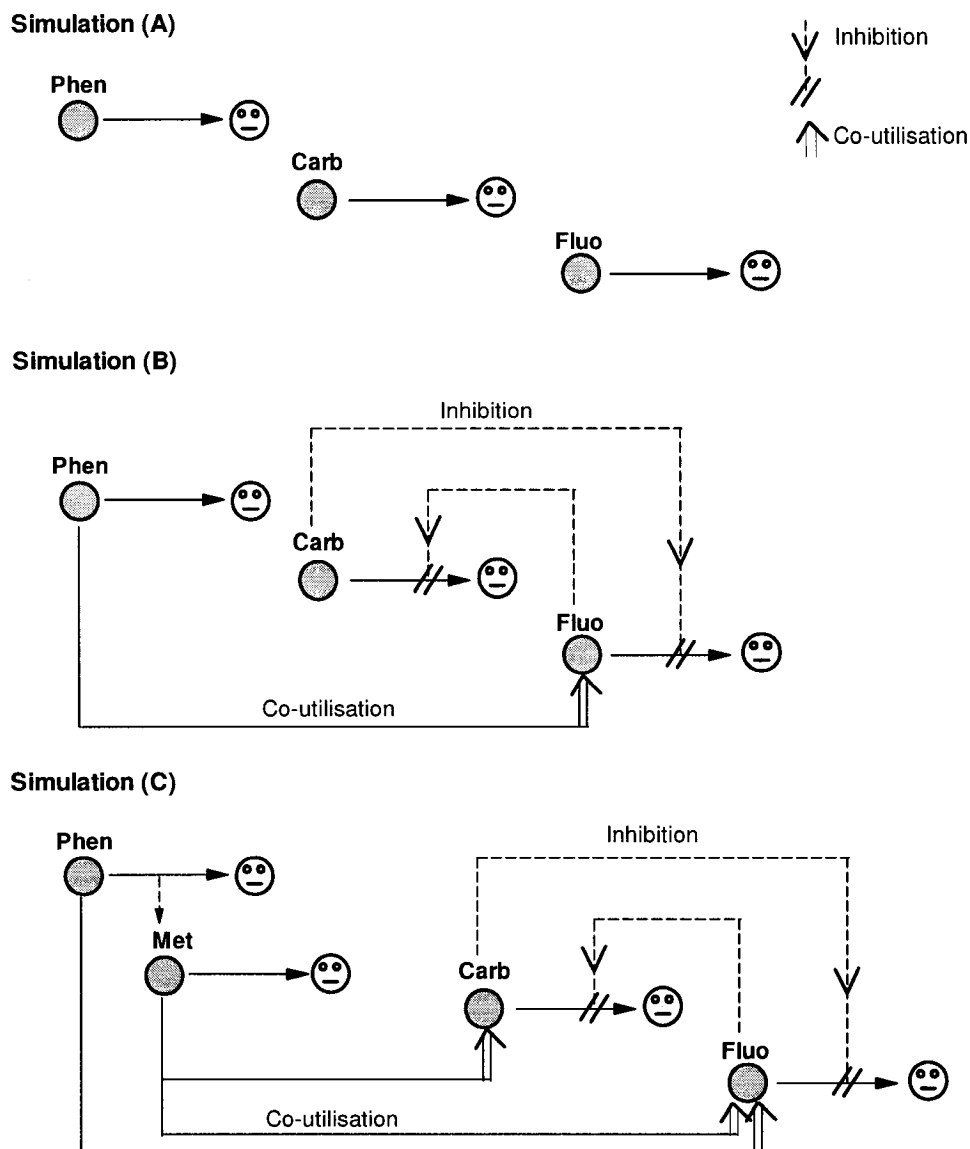


Figure 3-26 Schéma des scénarios de simulation testés pour identifier les interactions entre carbazole, fluorène et phénanthrène (colonne R4r).

Simulation (A)

Afin de vérifier ces observations, une première simulation de la biodégradation sera réalisée sans tenir compte des interactions qui ont lieu. Les concentrations des contaminants à l'affluent de la colonne sont rapportées sur la Figure 3-27. Chacun des contaminants est biodégradé suivant la cinétique déterminée et validée précédemment, et par une population bactérienne propre.

Les courbes des concentrations mesurées et simulées en ne tenant pas compte des interactions sont montrées sur la Figure 3-28 (Simulation (A)). Ces courbes montrent des concentrations simulées des trois contaminants qui sont proches des concentrations mesurées au port P1. A partir du port P2, la courbe du fluorène surestime largement la biodégradation du fluorène et celle du carbazole reste proche des concentrations mesurées tout en surestimant légèrement la biodégradation.

En observant de plus près les concentrations mesurées des contaminants, il apparaît que la courbe du fluorène accuse une baisse, entre le 10^{ème} et le 20^{ème} jour, qui suit pratiquement la même pente que celle du phenanthrène au port P1. Ce comportement du fluorène rappelle celui observé par le carbazole dans la section précédente (3.3.2.2), lorsqu'il est biodégradé seul avec le phenanthrène. Dans le cas présent où le carbazole est présent avec le fluorène et phenanthrène, sa biodégradation ne semble pas, à priori, influencée par cette co-utilisation.

Il est possible à ce niveau d'émettre l'hypothèse que le fluorène est co-utilisé avec le phenanthrène, et qu'il entre en compétition avec le carbazole pour la voie métabolique responsable de cette co-utilisation. Il est possible aussi d'avancer que le fluorène arrive à dominer ce processus de co-utilisation et inhibe le carbazole. Il est visible, par ailleurs que la forte inhibition dont la biodégradation du phenanthrène était l'objet en présence de carbazole (section 3.3.2.2) n'est plus observée, la présence du fluorène semble avoir atténué cet effet inhibiteur du carbazole.

Simulation (B)

Une simulation est réalisée en considérant une inhibition mutuelle entre fluorène et carbazole ainsi qu'une co-utilisation du fluorène par la population dégradatrice du phenanthrène (Simulation (B), Figure 3-26). Les paramètres d'inhibition et de co-utilisation ont été ajustés manuellement pour minimiser l'écart entre les concentrations calculées et mesurées.

Les courbes simulées arrivent à mieux reproduire le comportement général des trois contaminants dans la colonne (simulation (B), Figure 3-28). L'inhibition du carbazole, observée dans les sections précédentes (3.3.2.1, 3.3.2.2) à l'état quasi-permanent en présence de fluorène ou de phenanthrène, est moins prononcée dans le

cas présent où ces deux contaminants sont présents dans le mélange. En effet, la seule simulation de l'inhibition du carbazole par le fluorène a permis d'approcher les comportements des courbes expérimentales, et ceci sans tenir compte d'une mortalité de la population dégradatrice du carbazole.

Il est donc possible à ce niveau d'émettre l'hypothèse que le mélange du fluorène et phénanthrène présente moins d'effet toxique sur la population dégradatrice de carbazole que chacun de ces contaminants individuellement. Il ne reste pas moins vrai que le modèle n'arrive pas à reproduire les légères variations de concentration du carbazole notamment aux ports P1 et P3, et qu'il sous-estime par ailleurs la biodégradation du fluorène au port P3.

Simulation (C)

Les hypothèses adoptées dans la simulation précédente ont permis d'approcher la biodégradation du fluorène aux ports P1 et P2, mais sous-estiment cette biodégradation au port P3. La simulation d'une co-utilisation plus importante par le phénanthrène peut améliorer l'ajustement au port P3 mais au dépens de l'ajustement aux ports P1 et P2 (résultats non montrées).

Une simulation est réalisée en supposant la présence d'une co-utilisation du fluorène par un métabolite du phénanthrène, en plus de sa co-utilisation par le phénanthrène. Le métabolite simulé serait produit selon un certain rendement lors de la biodégradation du phénanthrène et aurait les mêmes propriétés de biodégradation que le phénanthrène. Une co-utilisation du carbazole en présence de ce même métabolite du phénanthrène est également simulée afin de mieux approcher les courbes mesurées du carbazole aux ports P1 et P3. Toutes les hypothèses adoptées dans la simulation précédente seraient gardées par ailleurs (Simulation (C), Figure 3-26).

Cette simulation permet de donner un meilleur ajustement de la courbe du fluorène au port P3 (Figure 3-29, Simulation (C)). La courbe des concentrations du métabolite simulé est reportée avec celles des autres contaminants sur la Figure 3-29. Les courbes simulées arrivent à mieux reproduire les variations locales du comportement du carbazole aux ports P1 et P3. Il est possible que ces variations locales soient le résultat d'un artefact de mesure, d'ailleurs la tendance générale du

comportement du carbazole a pu être reproduite avec les hypothèses adoptées dans la Simulation (B). Il est également tout à fait possible que ces variations soient le résultat de l'activité de biodégradation, que le carbazole soit réellement affecté par cette co-utilisation qui influence le fluorène, étant données leurs structures moléculaires similaires. Ceci expliquerait l'ajustement de meilleure qualité des variations locales de la courbe du carbazole.

Ces simulations ont permis de mettre en évidence une interaction vraisemblable du phenanthrène et ses métabolites sur la biodégradation du fluorène et carbazole. En effet, le phenanthrène et les métabolites impliqués dans sa voie métabolique semblent pouvoir influencer la transformation de chacun des carbazole et fluorène par un processus de co-utilisation.

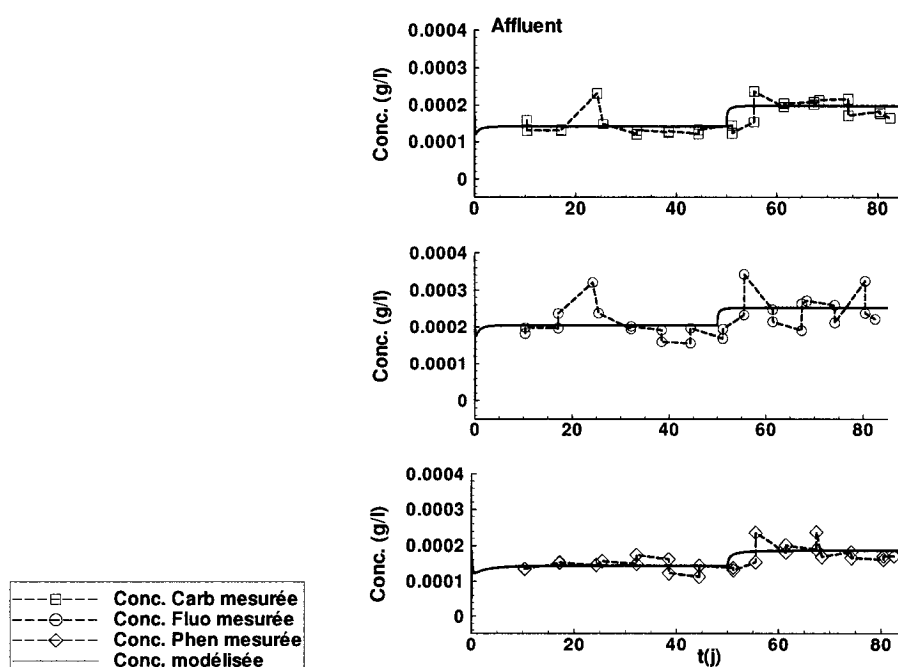
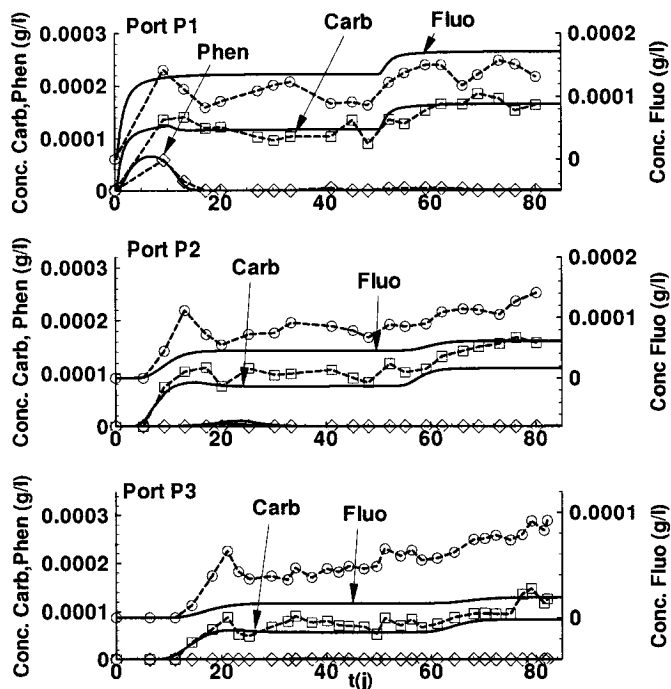


Figure 3-27 Variation des concentrations de Carb, Fluo et Phen mesurées dans l'affluent à l'entrée de la colonne R4r et celles adoptées comme donnée d'entrée du modèle.

Simulation (A)



Simulation (B)

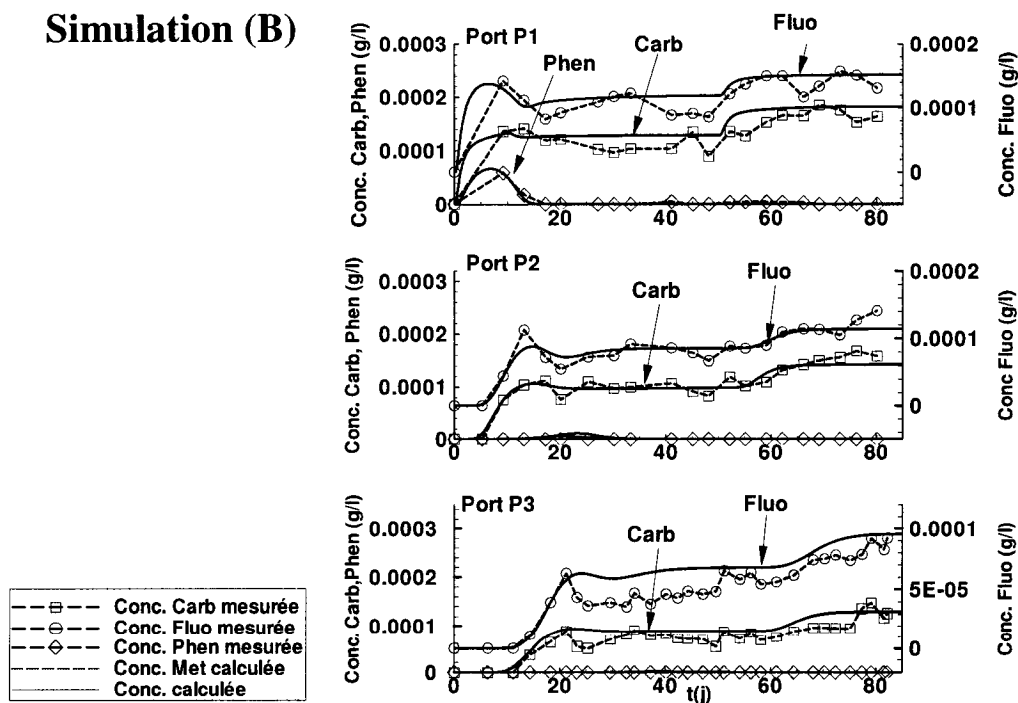


Figure 3-28 Concentrations du carbazole, fluorène et phenanthrène mesurées (colonne R4r) et calculées par BIONAPL : Simulation (A) sans interactions ; Simulation (B) avec co-utilisation du Fluo avec le Phen et inhibition mutuelle entre Fluo et Carb.

Simulation (C)

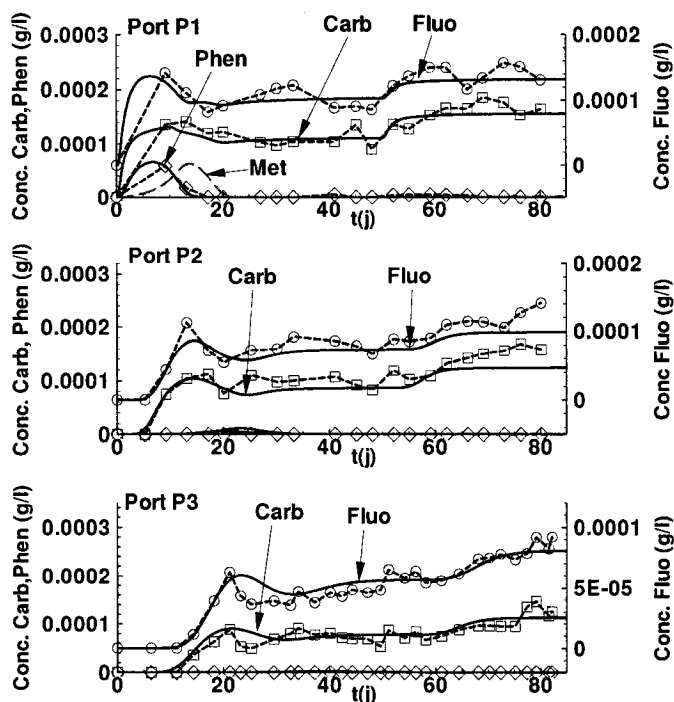


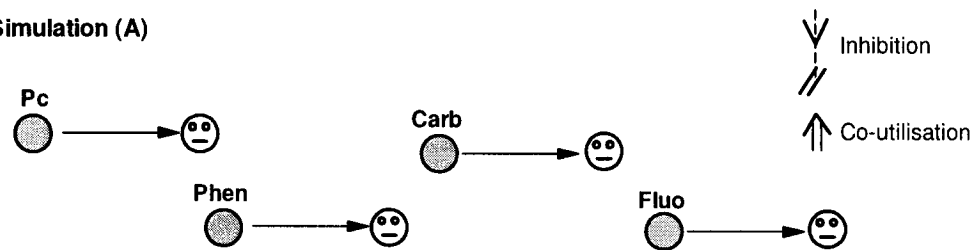
Figure 3-29 Concentrations du Carb, Fluo et Phen mesurées (colonne R4r) et calculées par BIONAPL : Simulation (C) identique à la simulation (B) avec en plus co-utilisation du Fluo et Carb avec un métabolite du Phen (Met).

3.3.2.4 Interactions entre carbazole, fluorène, phenanthrène et p-crésol (R4p)

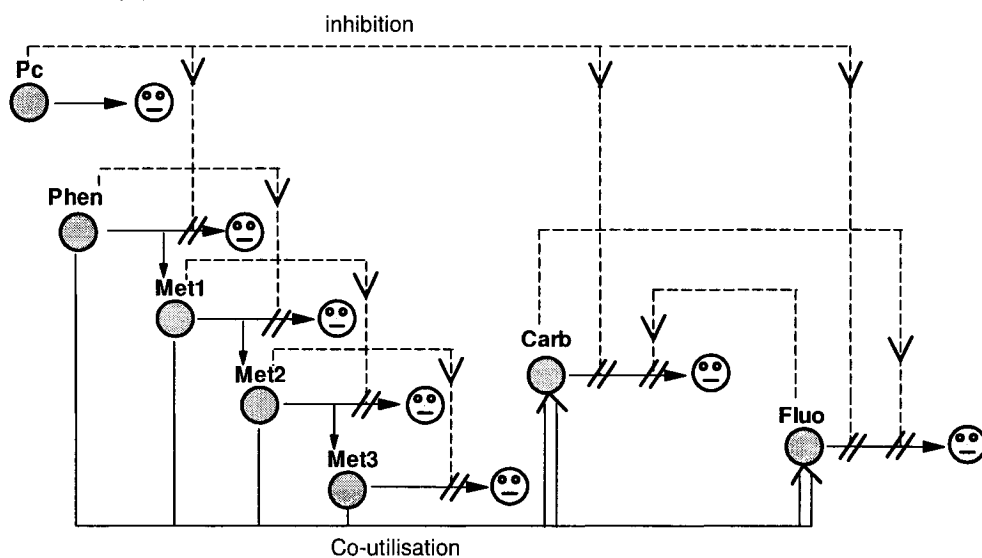
Il a été observé dans les sections précédentes que la biodégradation du carbazole est inhibée en présence de fluorène seul ou en présence de phenanthrène seul à court terme et à l'état quasi-permanent. Il a été aussi constaté que l'inhibition du carbazole à l'état quasi-permanent était moins importante lorsque les trois contaminants étaient présents ensemble dans la colonne. Une co-utilisation du carbazole ou fluorène a été également observée avec le phenanthrène ou un de ses métabolites : co-utilisation du carbazole avec le phenanthrène seul, co-utilisation du fluorène avec le phenanthrène et un de ses métabolites et celle du carbazole avec ce métabolite lorsque les trois contaminants sont présents ensemble dans la colonne.

Dans cette section seront modélisées les interactions dans la dernière colonne R4p, où le p-crésol est injecté avec les trois contaminants simulés jusqu'à présent. D'après Millette et al. (1998), le p-crésol aurait pour effet de retarder la biodégradation de ces contaminants en début d'essai, et d'améliorer leur biodégradation à l'état quasi-permanent. Des simulations seront réalisées dans ce qui suit, moyennant certains scénarios (Figure 3-30), afin d'identifier les interactions qui ont lieu entre ces contaminants.

Simulation (A)



Simulation (B)



Simulation (C)

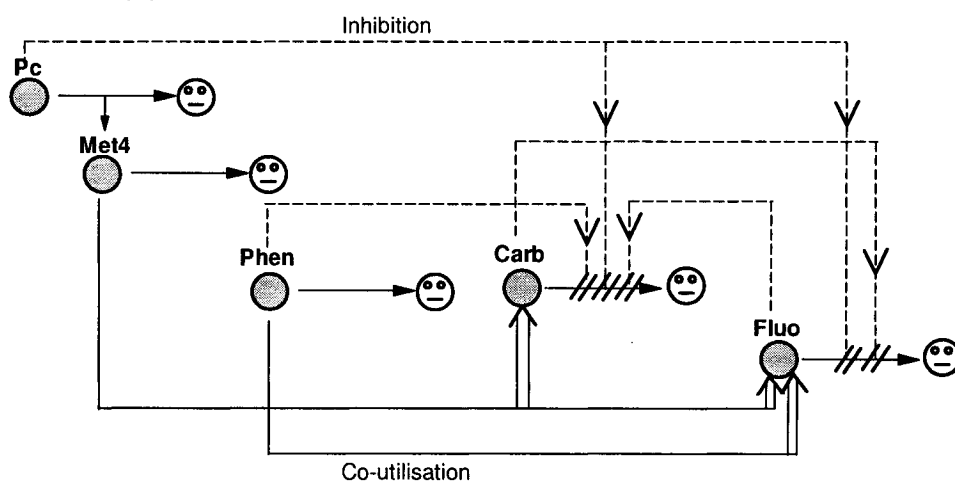


Figure 3-30 Schéma des scénarios de simulation testés pour identifier les interactions entre carbazole, fluorène, phénanthrène et p-crésol (colonne R4p); Met1, Met2, Met3 : métabolites de Phen ; Met4 : métabolite de Pc.

Simulation (A)

Une première simulation de la biodégradation de ces contaminants sans modélisation des effets d'interactions, permettra de comparer les concentrations observées à celles attendues en absence d'interactions. Les concentrations adoptées dans l'affluent sont rapportées sur la Figure 3-31.

Les courbes des concentrations mesurées et simulées en ne tenant pas compte des interactions sont montrées sur la Figure 3-32 (Simulation (A)). Le p-crésol disparaît de la colonne avant le 5^{ème} jour de simulation. La courbe des concentrations simulées du phenanthrène surestime la biodégradation de ce dernier, le phenanthrène semble donc être inhibé. Pour le carbazole et fluorène la tendance est différente d'un port d'échantillonnage à un autre.

Pour le carbazole, la courbe simulée au port P1 est proche de la courbe mesurée en début de simulation (jusqu'au tour du 20^{ème} jour) et en fin de simulation (entre le 55^{ème} et le 80^{ème} jour). En début de simulation, la courbe simulée est proche de celle mesurée tout en surestimant légèrement la biodégradation pendant les 10 premiers jours de simulation, ce qui pourrait indiquer une inhibition du carbazole.

La courbe simulée du carbazole au port P2 est proche de la courbe mesurée en début d'essai uniquement (jusqu'au tour du 20^{ème} jour), elle surestime ensuite les concentrations mesurées qui suivent une pente décroissante. Cette courbe suppose une activité de biodégradation plus faible que ce qui est observé en réalité, ce qui pourrait indiquer la présence d'un effet de stimulation de la biodégradation du carbazole à long terme.

Au port P3, la courbe simulée du carbazole reste également proche des concentrations mesurées jusqu'au tour du 20^{ème} jour également, et contrairement à ce qui est observé aux ports P1 et P2, la courbe mesurée passe au-dessus de la courbe simulée entre le 20^{ème} et 40^{ème} jour de simulation. A partir du 50^{ème} jour la tendance est similaire à celle observée au port P2 avec une décroissance de la courbe des concentrations mesurées et une courbe simulée qui sous-estime la biodégradation.

Pour le fluorène la courbe simulée au port P1 surestime la biodégradation pendant les 10 premiers jours de simulation et dépasse la courbe mesurée par la suite et jusqu'à la fin de la simulation. Ceci suggère une inhibition du fluorène en début d'essai et une stimulation de la biodégradation dans la suite de l'essai.

La courbe simulée du fluorène au port P2 surestime la biodégradation jusqu'à autour du 35^{ème} jour de simulation, l'écart entre la courbe mesurée et simulée diminue ensuite et les courbes deviennent proches. A partir du 65^{ème} jour de simulation, les concentrations mesurées deviennent décroissantes, et la courbe simulée sous-estime largement la biodégradation. Ceci pourrait suggérer des effets semblables à ceux du port P1, à savoir une inhibition en début d'essai et une stimulation de la biodégradation en fin d'essai.

Au port P3, la tendance observée est similaire à celle constatée au port P2, avec une courbe simulée qui passe au-dessous des concentrations mesurées jusqu'à autour du 45^{ème} jour de simulation. Les courbes simulée et mesurée deviennent ensuite proches entre le 50^{ème} et 70^{ème} jour de simulation, suite à quoi les concentrations mesurées deviennent décroissantes à partir du 70^{ème} jour de simulation.

En observant les concentrations mesurées du carbazole et fluorène au port P1, Il apparaît qu'en début d'essai, les courbes ont tendance à baisser entre le 5^{ème} et le 30^{ème} jour de simulation, avec une pente qui est proche de celle de la courbe du phenanthrène. Il est possible que la co-utilisation observée dans la section précédente (3.3.2.3) soit encore active même en présence de p-crésol dans le milieu.

Simulation (B)

Une deuxième simulation est réalisée en supposant que l'inhibition du phenanthrène, carbazole et fluorène soit due à la présence de p-crésol dans la colonne. Il sera également supposé que fluorène et carbazole sont co-utilisés lors de la biodégradation du phenanthrène et trois de ses métabolites et qu'ils s'inhibent mutuellement (Simulation (B), Figure 3-30). Les paramètres d'inhibition et de co-utilisation sont ajustés manuellement pour minimiser l'écart entre les concentrations mesurées et calculées.

Cette simulation permet de mieux reproduire les variations de concentration des contaminants en début d'essai notamment aux ports d'échantillonnage P1 et P2 (simulation (B), Figure 3-32). La co-utilisation du carbazole et fluorène par le phenanthrène et ses métabolites permet d'approcher la décroissance des concentrations mesurées notée en début d'essai, mais ne permet pas de justifier la

baisse des concentrations à plus long terme. En effet les courbes des concentrations simulées du fluorène et carbazole restent bien au-dessus des courbes mesurées aux ports P2 et P3, indiquant une activité de biodégradation plus importante que ce qui est prévu par le modèle.

Simulation (C)

La stimulation de la biodégradation constatée à long terme pour le carbazole et fluorène est probablement due à l'injection de p-crésol dans la colonne. Seulement, étant facilement biodégradable, le p-crésol disparaît rapidement en tête de colonne. Cet effet de stimulation à long terme pourrait donc être dû aux métabolites que le p-crésol génère dans le milieu.

Une simulation est réalisée en supposant que la biodégradation du p-crésol libère un métabolite qui peut être utilisé comme substrat de croissance par des populations pouvant dégrader le carbazole et fluorène. Ce métabolite qui génère une certaine croissance bactérienne va permettre une co-utilisation de ces deux contaminants. Cette simulation a pour but d'évaluer la possibilité d'une contribution des produits de dégradation du p-crésol à la stimulation de la biodégradation du fluorène et carbazole qui a lieu à long terme.

Pour reproduire les effets observés à court terme, il sera considéré que le p-crésol inhibe la biodégradation de tous les contaminants, que le fluorène est co-utilisé avec le phénanthrène, que fluorène et carbazole s'inhibent mutuellement et que le phénanthrène inhibe la biodégradation du carbazole (Simulation (C), Figure 3-30). Les différents paramètres d'interactions ont été ajustés manuellement pour minimiser l'écart entre les concentrations calculées et mesurées (Simulation (C), Figure 3-33). Suite à cette simulation, les courbes des concentrations calculées du fluorène arrivent à mieux simuler la biodégradation du contaminant jusqu'au tour du 65^{ème} jour d'expérience notamment aux ports P2 et P3. En effet, à partir du 65^{ème} jour, la courbe des concentrations mesurées au niveau de ces ports semble décroître suivant une pente plus importante. Ceci suggère la présence d'une biodégradation avec une croissance bactérienne plus accrue, probablement résultant de l'activité d'une autre population bactérienne de rendement bactérien plus élevé.

L'ajustement des courbes de concentration du carbazole pose par contre plus de difficultés. S'il semble que fluorène et carbazole soient biodégradés par des populations bactériennes avec les mêmes caractéristiques de croissance au port P2, puisque leurs concentrations mesurées présentent une même pente de diminution, au port P3 ces contaminants ne semblent pas suivre les mêmes schémas de biodégradation. En effet au port P3, la courbe des concentrations mesurées du carbazole montre une stabilisation (entre le 20^{ème} et le 35^{ème} jour) avant de commencer à baisser selon une pente plus importante que celle du fluorène. Ceci pourrait suggérer que sa biodégradation en fin de colonne a lieu par une autre population que celle co-utilisant le fluorène et pourrait expliquer les divergences observés entre les concentrations mesurées et celles calculées par le modèle.

Par la seule présence du p-crésol qui est un substrat facilement biodégradable, les populations bactériennes actives du sol semblent gagner en diversité. En effet les différentes phases de biodégradations observées sur les courbes de variation des concentrations en fonction du temps, semblent suggérer une implication de populations bactériennes multiples dans la biodégradation des contaminants d'intérêt.

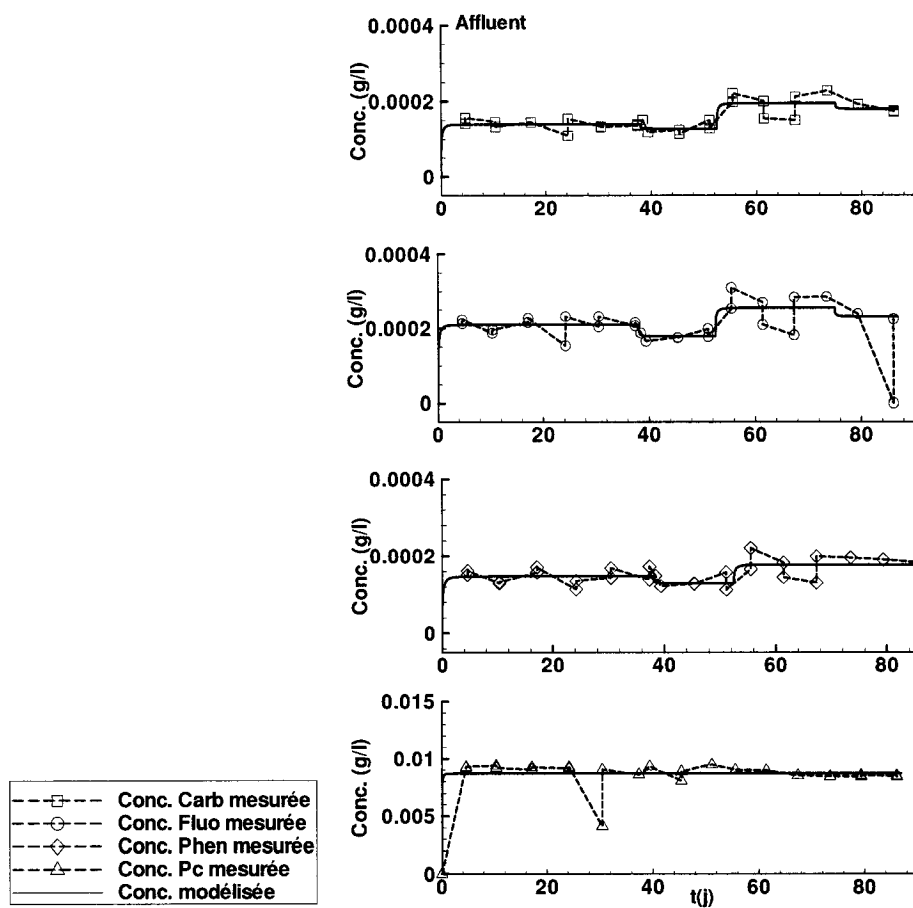
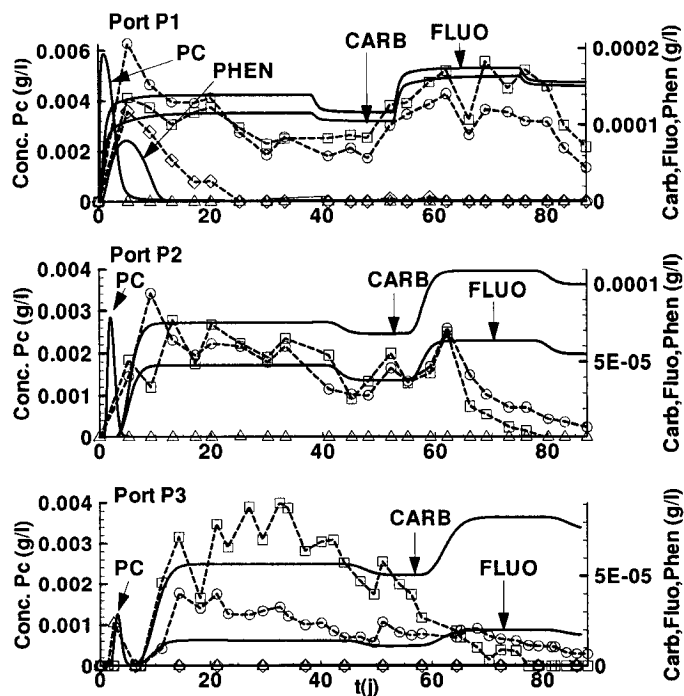


Figure 3-31 Variation des concentrations de Carb, Fluo, Phen et Pc mesurées dans l'affluent à l'entrée de la colonne R4p et celles adoptées comme donnée d'entrée du modèle.

Simulation (A)



Simulation (B)

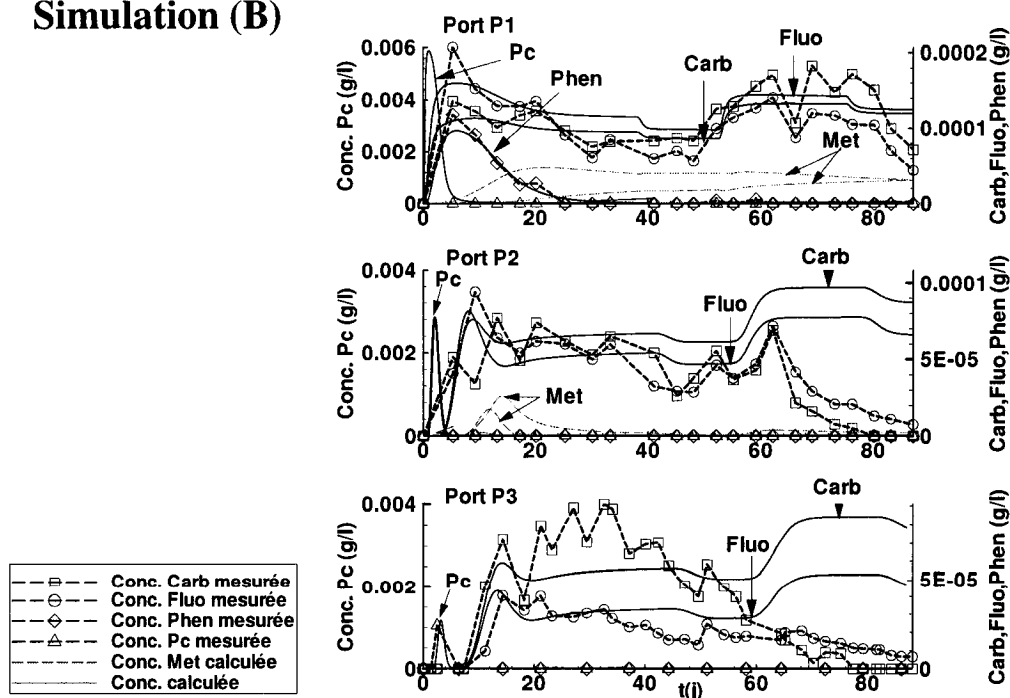


Figure 3-32 Concentrations du Carb, Fluo, Pheno et Pc mesurées (colonne R4r) et calculées par BIONAPL, Simulation (A) sans interactions, Simulation (B) avec inhibition par le Pc, inhibition mutuelle entre Carb et Fluo et co-utilisation avec le Pheno et ses métabolites (Met).

Simulation (C)

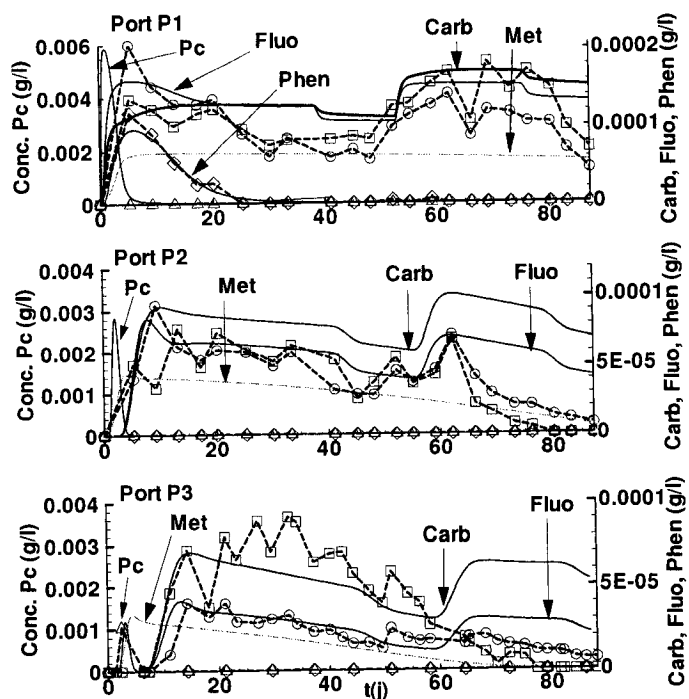


Figure 3-33 Concentrations du carbazole, fluorène, phénanthrène et p-crésol mesurées (colonne R4r) et calculées par BIONAPL, Simulation (C) Avec inhibition mutuelle entre Carb, Fluo et Phen, co-utilisation du Carb et Fluo avec un métabolite (Met) du Pc.

3.4 Discussion et conclusions

Dans cette étude, un travail de modélisation a été réalisé et a permis d'analyser le comportement de mélanges de contaminants dans l'objectif d'identifier les interactions les plus vraisemblables intervenant lors de leur biodégradation.

Ce travail de modélisation a pu être réalisé en introduisant des modifications au modèle de transport BIONAPL, et en y intégrant de nouveaux processus. Une modélisation du processus de minéralisation des contaminants dans une configuration de milieu fermé, a permis d'utiliser le modèle pour une identification des paramètres de Monod des contaminants individuels. Une intégration des processus d'interaction dans le modèle (inhibition et co-utilisation), et une re-définition des populations bactériennes actives (une population par contaminant), a permis de retracer les interactions vraisemblables entrant en jeu lors de la biodégradation de mélanges de contaminants.

L'identification des mécanismes d'interaction vraisemblables a été appliquée à des résultats d'essais de biodégradation en colonne de sol, de mélanges de contaminants de la créosote (Millette, 1995). La méthodologie suivie comporte trois étapes principales :

- Une modélisation de la biodégradation sans interactions dont le résultat est comparé aux observations de laboratoire ;
- Une modélisation de la biodégradation avec interactions moyennant des hypothèses quant aux interactions vraisemblables ayant lieu ;
- Une évaluation de la vraisemblance des interactions simulées en se basant sur la capacité du modèle à reproduire les tendances observées et menant éventuellement à l'adoption de nouvelles hypothèses.

Le travail d'identification des interactions réalisé dans cette étude a été comparé à une analyse réalisée précédemment par Millette et al. (1998) en s'aidant des outils statistiques. Le résumé des résultats obtenus dans ces deux études est présenté dans le Tableau 3-5 et le Tableau 3-6.

Dans la présente étude, cette identification a permis d'abord de distinguer les contaminants pouvant être biodégradés tout en soutenant une croissance bactérienne.

Dans le Tableau 3-5, sont précisés les contaminants ayant servi de substrat de croissance et ceux jouant le rôle de substrats de non croissance. Le carbazole et fluorène semblent être biodégradés en présence de populations bactériennes constantes, ce qui pourrait suggérer que ces deux contaminants ne peuvent soutenir de croissance bactérienne. Il a déjà été signalé dans la littérature, que le fluorène n'est pas toujours capable de soutenir la croissance bactérienne des microorganismes dégradeurs de HAPs (Boldrin et al., 1993; Stringfellow et Aitken, 1995).

Le phénanthrène et p-crésol sont biodégradés en présence de populations bactériennes croissantes. Cet effet de croissance en présence de p-crésol a été également signalé par Hosein et al. (1997) lors des décomptes bactériens réalisés sur la colonne R4p de Millette et al. (1998).

Tableau 3-5 Effets des contaminants sur la croissance bactérienne, déduits par la modélisation

Contaminant	Substrat de croissance	Substrat de non croissance
Carb		✓
Fluo		✓
Phen	✓	
Pc	✓ ^a	

^a Effet déduit également par Hosein et al. (1997) par des décomptes bactériens réalisés sur les colonnes de Millette et al. (1998) ;

Dans le Tableau 3-6 suivant, sont résumées les interactions vraisemblables identifiées dans la présente étude par la modélisation des colonnes de Millette et al. (1998) et les interactions identifiées statistiquement par Millette et al. (1998) pour ces mêmes colonnes. Contrairement à Millette et al. (1998) dont l'outil statistique a permis d'identifier uniquement les effets résultant des interactions (stimulation ou inhibition de la biodégradation), la modélisation a permis dans la présente étude de poser des pistes quant aux mécanismes inhérents à ces effets (co-utilisation, compétition, croissance ou mortalité bactérienne...).

Tableau 3-6 Résumé des interactions identifiées par la modélisation et comparaison avec celles identifiées par Millette et al. (1998) en utilisant l'outil statistique

Mélange	Interactions (Présente étude) ^a		Interactions (Millette et al., 1998)	
	Court terme	Long terme	Court terme	Long terme
Carb + Fluo	↓ Carb par Fluo (<i>mortalité bactérienne</i>)	↓ Carb par Fluo (<i>mortalité bactérienne</i>)	Ø	↓ Carb par Fluo
Carb + Phen	↓ Carb par Phen (<i>retard</i>) ↓ Phen par Carb (<i>retard</i>) ↑ Carb par Phen (<i>co-utilisation</i>)	↓ Carb par Phen (<i>mortalité bactérienne</i>)	Ø	↓ Carb par Phen
Carb + Fluo + Phen	↓ Carb par Fluo (<i>compétition</i>) ↓ Fluo par Carb (<i>compétition</i>) ↑ Carb et Fluo par Phen (<i>co-utilisation</i>)	↓ Carb par Fluo (<i>compétition</i>)	Ø	↓ Carb par Phen x Fluo ^b ↓ Fluo par Phen
Carb + Fluo + Phen + Pc	↓ Carb, Fluo et Phen par Pc (<i>retard</i>)	↑ Carb et Fluo par Pc (<i>croissance bactérienne</i>)	↓ Carb par Pc	↑ Carb par Pc ↑ Fluo par Pc

^a ↓ Inhibition de la biodégradation ; ↑ stimulation de la biodégradation ; Ø pas d'interaction ;

^b Interaction due à la présence du Phen avec le Fluo ;

Le Tableau 3-6 montre que la plupart des effets identifiés par Millette et al. (1998) ont été confirmés par ceux retrouvés dans la présente étude et qui sont décrits dans ce qui suit avec les mécanismes inhérents. Ce tableau montre également que cette étude a permis d'identifier d'autres effets d'interaction qui n'ont pu être déduits par Millette et al. (1998).

Dans le mélange carbazole et fluorène, le fluorène agit comme un inhibiteur de la biodégradation du carbazole. L'effet d'inhibition du carbazole est observé à court et à long terme, mais il est plus accentué à long terme et semble être dû à une mortalité bactérienne de la population dégradatrice de carbazole.

La présence concomitante du carbazole et phenanthrène donne lieu à un retard de la biodégradation à court terme. Ce retard ne semble pas dû à une inhibition mutuelle entre contaminants, mais plus vraisemblablement à une phase d'acclimatation des bactéries du milieu. Par la suite, le carbazole est co-utilisé avec le phenanthrène pendant sa biodégradation. À long terme, le carbazole subit un effet d'inhibition semblable à celui observé en présence de fluorène, et qui semble inhérent à une mortalité bactérienne de la population dégradant le carbazole.

Dans le mélange carbazole, fluorène et phenanthrène, fluorène et carbazole semblent être co-utilisés par la population dégradatrice de phenanthrène ou celles dégradant ses métabolites. Par ailleurs, carbazole et fluorène s'inhibent mutuellement, probablement sous l'effet d'une compétition pour la voie métabolique responsable de la co-utilisation. La mortalité à long terme de la population dégradatrice de carbazole, notée précédemment en présence de fluorène ou de phenanthrène, ne semble plus visible en présence des deux contaminants.

La présence de p-crésol lors de la biodégradation des trois contaminants modifie les effets à très court terme et à long terme. En effet tant que le p-crésol est présent dans le milieu la biodégradation des autres contaminants est inhibée. A moyen terme, l'effet de co-utilisation du carbazole et du fluorène en présence de phenanthrène ou ses métabolites semble encore avoir lieu. A long terme, l'effet d'inhibition précédemment observé et dont les effets ont été associés à une certaine mortalité bactérienne, se trouve être inversé. Au lieu de cela, une croissance bactérienne est observée et qui est reflétée par une décroissance des courbes de concentration en fonction du temps du carbazole et fluorène. L'utilisation des

métabolites du p-crésol comme substrats de croissance par des populations dégradatrices de fluorène et carbazole, peut être à l'origine de ces observations.

Certains des effets d'interactions qui ont été mis en évidence par la modélisation ont déjà été évoqués dans la littérature. Le cométabolisme du fluorène en présence de phenanthrène a souvent été observé (Boldrin et al., 1993; Bouchez et al., 1999; Stringfellow et Aitken, 1995). L'effet de retard de la biodégradation du carbazole par le p-crésol (Millette et al., 1995; Yu et Loh, 2002), et du phenanthrène par le p-crésol a déjà été signalé en batch (Millette et al., 1995).

Un effet qui a été moins évoqué dans la littérature, est l'effet d'inhibition à long terme du carbazole qui augmente dans le temps et qui a été attribué dans cette étude à une mortalité bactérienne dans la colonne. Dans des expériences de biodégradation en colonne où un sol est amendé avec différents types de substrats, (Panikov, 1995a) constate des changements de la composition de la communauté microbienne du sol à long terme. La dynamique de ces changements trouve sa source dans la compétition et les interactions coopératives entre groupes fonctionnels de microorganismes du sol.

Ce phénomène n'est pas observé lorsque le carbazole est biodégradé seul, mais lorsqu'il se trouve en présence de fluorène ou de phenanthrène. Une mortalité bactérienne dans la colonne semble être une explication possible de ce phénomène puisque sa modélisation permet de mieux reproduire l'expérience qu'une simple inhibition entre contaminants. Il est possible d'avancer l'hypothèse qu'un effet de compétition entre populations bactériennes dégradant les différents substrats est à l'origine de cet effet éventuel de mortalité bactérienne observée à long terme.

Parmi les effets qui ont également été notés lors de la modélisation, figure la biodégradation du carbazole et fluorène en présence de p-crésol par plus d'une population bactérienne croissante. En effet, la décroissance des courbes de biodégradation semble suivre différentes phases, et semble obéir à différents processus d'un point de la colonne à un autre, suggérant le développement d'une multitude de populations actives dans le système. Ces populations vont contribuer à améliorer l'enlèvement des contaminants relativement récalcitrants comme le carbazole, et à stimuler la biodégradation des autres contaminants.

La modélisation des interactions dans cette étude a permis d'identifier certains effets d'interactions (biodégradation améliorée ou diminuée), de séparer les effets liés à des populations bactériennes différentes, et de poser des hypothèses quant aux mécanismes qui s'y rattachent. L'analyse des mécanismes inhérents à ces processus d'interactions est réalisée en adoptant des hypothèses basées sur les effets connus dans la littérature et n'est en aucun cas exhaustive. Cette analyse permet de poser des pistes et d'orienter vers un choix plus éclairé des expériences à poursuivre éventuellement pour une meilleure compréhension des mécanismes.

Chapitre IV Analyse des facteurs contrôlant les interactions entre substrats durant le transport et biodégradation d'une contamination mixte dans un milieu aquifère

4.1 Objectifs

L'objectif de ce chapitre est d'étudier les situations où des interactions entre contaminants peuvent avoir lieu dans un aquifère, d'analyser les facteurs qui peuvent les influencer et ceci dans un contexte de contamination réelle.

Un contexte de contamination réelle est un contexte où les contaminants organiques sont libérés à partir d'une source non aqueuse, selon leur affinité pour la phase aqueuse. L'affinité des contaminants pour la phase aqueuse est un facteur déterminant pour les interactions puisque les mécanismes de dissolution à la source et la partition des contaminants entre la phase solide et la phase aqueuse vont définir les contaminants auxquels les bactéries vont être exposées et ceux qui seront présents au même moment dans l'aquifère. Plusieurs contaminants présents au même moment dans un aquifère peuvent constituer des substrats pour les bactéries indigènes et risquent d'interagir par le biais de leurs mécanismes de biodégradation.

En partant du principe que l'intervention des interactions est liée à la présence concomitante des substrats dans un milieu, les facteurs qui influencent la répartition des contaminants dans un aquifère seront étudiés afin d'identifier les cas où les interactions risquent d'avoir lieu. Les facteurs sur lesquels cette étude va porter seront d'abord les caractéristiques de la source qui vont régir les mécanismes de dissolution, ensuite les caractéristiques de biodégradation des contaminants soumis à différents types d'interactions qui vont avoir un impact sur l'enlèvement des contaminants.

4.2 Méthode

Afin d'étudier l'influence des différents facteurs sur la répartition des contaminants dans un aquifère, un cas de contamination par une phase liquide non aqueuse (PLNA) sera considéré. Cette PLNA est constituée de classes de contaminants de la créosote qui sont identifiées en fonction de leur facilité à être libérés de la source, soit en fonction de leurs solubilités liquides. La solubilité liquide est la solubilité d'un composé (solide à la température du système) lorsque dissous dans l'eau à partir d'une phase organique liquide (Shui et al., 1988).

4.2.1 Description du cas de figure simulé

Un cas hypothétique 2D (en coupe verticale) sera simulé en s'inspirant du cas de contamination à la créosote qui a été réalisé au site expérimental de la Base des Forces Canadiennes de Borden (King et Barker, 1999) où une source de créosote a été placée en milieu souterrain, pour le suivi de son atténuation naturelle dans l'espace et le temps. La modélisation sera réalisée avec le modèle BIONAPL-modifié.

Le domaine sera modélisé en conservant les caractéristiques du site de Borden, aura pour dimensions 60 m de longueur et 6 m de profondeur, et sera discrétisé en 80 x 60 éléments dans les directions X et Z. La dimension des éléments est listée dans le Tableau 4-1 et permet de satisfaire au critère de Peclet. Le maillage du domaine est représenté sur la Figure 4-1. Les simulations seront réalisées avec des pas de temps variant entre 5×10^{-5} et 1 j, permettant de satisfaire au critère de Courant pour tous les cas de figure simulés.

Tableau 4-1 Discrétisation du domaine d'étude

Direction	Intervalle d'éléments du maillage	Dimension des éléments
X	$1 \leq i \leq 20$	0,5 m
	$21 \leq i \leq 60$	1,0 m
Z	$1 \leq k \leq 60$	0,1m

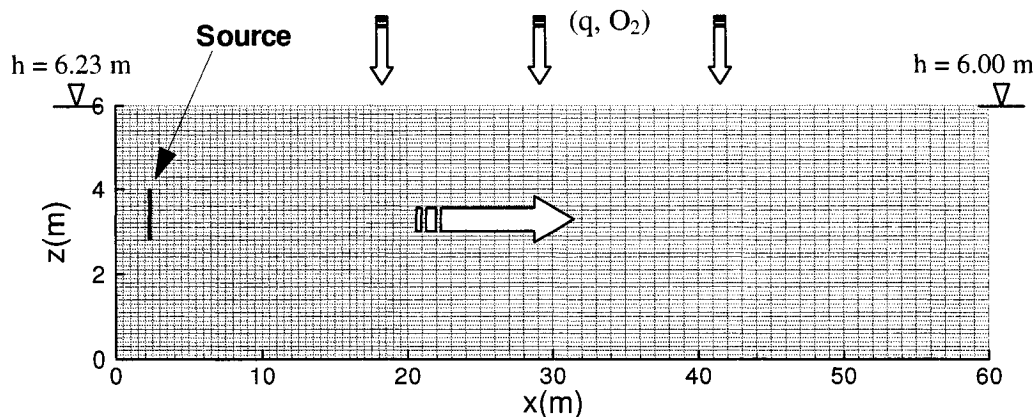


Figure 4-1 Discrétisation spatiale du domaine d'étude.

Le problème d'écoulement sera résolu en fixant le gradient hydraulique le long du domaine à 0,3 % (charge fixée à 6.23 m à la frontière gauche et à 6.00 m à la frontière droite du domaine) et en considérant une recharge à la surface de 265 mm/an. La résolution du problème d'écoulement sera réalisée en régime permanent, au moyen d'un maillage déformable.

Le problème de transport sera modélisé en utilisant certains des paramètres hydrogéologiques rapportés par King et Barker (1999) et relatifs à l'aquifère de Borden (Tableau 4-2). Les conditions aux limites considérées pour le transport des contaminants sont une concentration initiale nulle dans l'aquifère et une condition de Neuman (gradient de concentration nul) aux différentes frontières du domaine. Un seul accepteur d'électrons sera considéré, en l'occurrence l'oxygène, dont la concentration initiale dans le domaine sera fixée à 8 mg/l. Les conditions aux frontières considérées pour l'oxygène sont : une condition de Dirichlet à la frontière gauche du domaine (égale à la concentration initiale), une condition de Cauchy à la frontière supérieure avec un flux de 265 mm/an et une concentration égale à 8 mg/l, et une condition de Neuman (gradient de concentration nul) aux autres frontières du domaine.

Tableau 4-2 Données hydrogéologiques du site de Borden

Porosité	Densité du sol	Diamètre moyen des grains	Vitesse de Darcy	Conductivité hydraulique	Dispersivité	
θ	ρ_b (kg/m ³)	d_{50} (mm)	q (m/j)	K_h (m/s)	α_L (m)	α_{Th} (m)
0,33 ⁽¹⁾	1810 ⁽¹⁾	0,15	0,028 ⁽²⁾	$8,8 \times 10^{-5}$ ⁽³⁾	0,36 ⁽⁴⁾	0,005

(1) (Mackay et al., 1986), (2) (Linderfeldt, 1994), (3) (Martin, 2004) , (4) (Freyberg, 1986)

Une source hypothétique de contamination non aqueuse sera modélisée (Figure 4-1). Cette source est de grande largeur (selon Y) et de dimensions en X et Z inspirés de celles de la source de Borden (0,5 m de longueur et 1,2 m de profondeur). Cette source sera constituée de deux ou plusieurs classes de contaminants de la créosote tels que définies dans le Tableau 4-3. Dans ces classes ont été regroupés les constituants de la créosote ayant des solubilités liquides de mêmes ordres de grandeurs. Ceci implique que ces classes de contaminants sont caractérisées par des comportements de dissolution à la source qui sont semblables.

Pour chacune de ces classes, ont été déterminés un poids moléculaire moyen, un nombre de mole équivalent par kg de créosote, une solubilité liquide moyenne et un coefficient de partition à l'équilibre moyen. Ces valeurs moyennes sont déterminées sans aucune pondération.

Le poids moléculaire moyen est égal à la moyenne des poids moléculaires des contaminants appartenant à la classe. Le nombre de moles équivalent par kg de créosote, est égal à la somme des nombres de moles équivalents des différents contaminants de la classe. Le nombre de mole équivalent de chaque contaminant est déterminé à partir de la masse du contaminant par kg de créosote (d'après les données de Mueller et al. (1989)) et du poids moléculaire moyen de la classe. La solubilité liquide moyenne est égale à la moyenne des solubilités liquides des contaminants appartenant à la classe en question. Le coefficient de partition à l'équilibre moyen est égal à la moyenne des coefficients de partition déterminés à partir d'une formule empirique liant la solubilité pure au coefficient de partition (Kenega et Goring, 1980).

Les contaminants constituant chacune des classes ainsi que les détails des calculs sont rapportés dans le Tableau 5-6 (ANNEXE VII), le résumé des caractéristiques de ces classes est listé dans le Tableau 4-3. Les deux premières classes sont constituées de composés phénoliques uniquement, la troisième de composés phénoliques et hétérocycles de faible poids moléculaire, la quatrième et la cinquième de composés HAP et de composés hétérocycles de poids moléculaire faible à moyen, et les deux dernières de composés HAP uniquement de poids moléculaire moyen à élevé. D'une classe à une autre la solubilité liquide varie d'un facteur de 10. Par contre, les coefficients de partition sont pratiquement de même ordre de grandeur pour les classes CL2 et CL3 et les classes CL4 et CL5.

Tableau 4-3 Descriptif des classes de contaminants identifiées dans la créosote

Classe	Contenu ¹	Masse moléculaire moy Mw (g/mol)	Masse/kg Creosote ² m (g)	Moles equiv/kg créosote n (mole)	Solubilité liquide moy C _l (g/l)	Coeff de partition moy K _d (m ³ /kg)
CL1	PH	94	19,0	0,202	1,18x10 ⁻²	1,73x10 ⁻⁶
CL2	PH	117	57,0	0,488	1,72x10 ⁻¹	6,36x10 ⁻⁶
CL3	PH+HT	118	16,6	0,140	3,82x10 ⁰	8,41x10 ⁻⁶
CL4	HAP+HT	143	114,5	0,799	1,38x10 ⁻¹	3,55x10 ⁻⁴
CL5	HAP+HT	160	407,6	2,567	2,11x10 ⁻²	3,86x10 ⁻⁴
CL6	HAP	190	258,4	1,817	4,24x10 ⁻³	2,23x10 ⁻³
CL7	HAP	240	24,2	0,101	2,41x10 ⁻⁴	2,40x10 ⁻²

¹ PH : composés phénoliques, HT : composés Hétérocycles, HAP : composés aromatiques polycycliques ; ² Masses déterminées à partir des données de (Mueller et al., 1989) et représentent 90% du contenu de 1kg de créosote.

La dissolution de la source sera modélisée en utilisant les paramètres listés dans le Tableau 4-4. Le nombre de Sherwood et la densité de la phase non aqueuse sont ceux utilisés par Martin (2004) pour modéliser la dissolution des HAP de la source de créosote de l'aquifère de Borden. Dans toutes les simulations réalisées par la suite, la PLNA sera supposée immobile et son degré de saturation (volume de

PLNA/volume des vides) sera inférieur à 10%. L'effet de cette saturation sur la perméabilité relative de l'eau est pris en compte dans le modèle BIONAPL (Frind et al., 1999).

Tableau 4-4 Paramètres liés à la PLNA

Densité de la PLNA ρ_{PLNA} (kg/m ³)	Coefficient de diffusion des contaminants D (m ² /s)	Nombre de Sherwood Sh (-)
1100	$5,0 \times 10^{-10}$	$2,0 \times 10^{-3}$

4.2.2 Définition des paramètres d'analyse

Dans l'objectif d'examiner les cas de figure où les interactions peuvent avoir lieu, des paramètres d'analyse seront définis afin de caractériser la distribution relative des contaminants dans l'aquifère. Une interaction sera considérée possible si les contaminants sont présents au même moment et au même endroit dans l'aquifère. Sachant que chaque contaminant occupe un certain volume de l'aquifère qui n'est autre que le panache de contamination, les interactions sont susceptibles d'avoir lieu dans un volume occupé par différents panaches, ou tout simplement dans une zone d'intersection entre panaches. Dans cette étude, le problème sera abordé dans une configuration 2D et les panaches seront caractérisés par des surfaces plutôt que des volumes. Les paramètres d'analyse qui seront considérés sont donc relatifs à cette configuration.

En premier lieu, sera définie la surface Sf_i d'un panache donné dans le domaine d'étude, qui est la surface dans le plan (XZ) de la zone où la classe de contaminants est présente à des concentrations supérieures à un seuil de détection C_{lim} :

$$Sf_i = \iint_{x,z} dx dz \quad (x,z) \text{ tels que } C^i(x,z) \geq C_{lim}$$

$C^i(x,z)$ étant la concentration de la classe de contaminants CLi.

En second lieu, sera définie la superficie de « la zone de contact entre panaches de contaminants ». Il s'agit de la superficie dans le plan (XZ) de la zone où les classes modélisées sont présentes au même temps au même point de l'espace à des concentrations supérieures au seuil C_{lim} :

$$Sf_{i \cap j} = \iint_{x,z} dx dz \quad (x,z) \text{ tels que } C^i(x,z) \geq C_{lim} \text{ et } C^j(x,z) \geq C_{lim}$$

$C^i(x,z)$ et $C^j(x,z)$ étant les concentrations des classes CLi et CLj.

Le seuil C_{lim} sera fixé à la concentration limite admise en eau potable d'un contaminant modèle, soit le Benzo[a]pyrène qui est l'un des HAPs les moins solubles dans l'eau. Ce seuil sera pris égal à 0.2 µg/l selon les recommandations de l'USEPA (2004).

Afin d'étudier la distribution des concentrations des classes de contaminants dans la zone de contact entre panaches, un rapport des concentrations de ces classes ($R_{j/i}$) sera calculé. Ce rapport est défini pour un système binaire de deux classes de contaminants à la source et sera égal à la concentration de la classe la moins soluble divisée par la concentration de la classe la plus soluble. Les contaminants présents dans la zone de contact entre panaches ont par définition des concentrations supérieures au seuil C_{lim} donc non nulles.

$$R_{j/i}(x,z) = \frac{C^j(x,z)}{C^i(x,z)} \quad (i,j) \text{ tels que } C_l^j < C_l^i$$

C_l^i et C_l^j étant les solubilités liquides des classes CLi et CLj.

Une échelle de grandeur sera établie pour ce paramètre afin de pouvoir distinguer quelles interactions peuvent être d'importance dans le système étudié. Cette échelle repose sur le principe qui veut que plus la concentration d'un contaminant responsable d'une interaction est importante et plus l'effet observé l'est également jusqu'à une certaine limite. Ce principe est à la base même de la plupart des cinétiques utilisées pour modéliser les interactions.

Trois intervalles de valeurs du paramètre $R_{j/i}$ seront définis :

Le domaine (I) : $R_{j/i} > 10$

Le domaine (II) : $10^{-1} < R_{j/i} < 10$

Le domaine (III) : $R_{j/i} < 10^{-1}$

Le domaine (I), caractérisé par des concentrations de la classe CLj (la moins soluble) plus de dix fois plus importantes que celles de la classe CLi (la plus soluble), sera le domaine où seules les interactions induites par la classe CLj (s'il y a lieu) seront considérées significatives, celles induites par la classe CLi seront considérées négligeables.

Le domaine (II) caractérisé par des concentrations des classes CLi et CLj à des valeurs allant de 10 % à 1000 % l'une de l'autre, sera celui où les interactions induites par l'un ou l'autre des contaminants ou encore les interactions mutuelles (s'il y a lieu) seront considérées significatives.

Le domaine (III) caractérisé par des concentrations de CLi plus de dix fois plus importantes que celles de CLj, est celui où seul l'effet des interactions induites par la classe CLi (s'il y a lieu) sera considéré significatif.

Afin d'examiner l'effet des interactions sur l'efficacité de l'atténuation naturelle des contaminants par l'activité biologique dans l'aquifère, une efficacité d'enlèvement des contaminants $Eff(t)$ sera définie en s'inspirant des travaux de Sun et al. (1998). Elle sera égale au rapport de la masse totale biodégradée dans le système par la masse totale dissoute de la source à un temps t donné :

$$Eff(t) = \frac{\int_u \int_0^t M_B(t) dt du}{\int_u \int_0^t M_D(t) dt du}$$

où $M_B(t)$, $M_D(t)$ sont respectivement les masses biodégradées et dissoutes dans le système, u étant le volume total du domaine.

4.3 Simulations et analyse

Dans ce qui suit, des simulations hypothétiques seront réalisées pour étudier l'influence des facteurs évoqués plus haut sur la distribution des contaminants dans un aquifère et l'effet de cette distribution sur les interactions qui peuvent avoir lieu.

En premier lieu, le comportement du système étudié sera décrit en simulant la dissolution à la source et l'atténuation des classes de contaminants dans l'aquifère sans l'effet de la biodégradation.

En second lieu, l'effet des différentes caractéristiques de la source sur la distribution relative des contaminants dans l'aquifère sera examiné également sans tenir compte de l'effet de la biodégradation.

En dernier lieu, la biodégradation des contaminants dissous influencée par les interactions sera analysée et son effet sur la distribution et l'enlèvement des contaminants sera exposé.

4.3.1 Comportement du système étudié

Le comportement général du système étudié sera décrit en simulant la dissolution d'une source constituée des sept classes de contaminants de la créosote. La source est supposée contenir l'équivalent de 10 kg de créosote (/m linéaire selon Y) et son atténuation est simulée pendant 1500 jours (4 années environ).

La Figure 4-2 montre l'évolution de la concentration des différentes classes de contaminants à la source (eau des pores) lors de leur dissolution. La vitesse de dissolution de chacune des classes dépend de sa solubilité effective qui est égale au produit de sa solubilité liquide et de sa fraction molaire dans la phase non aqueuse (équation E 3-3, chapitre3). Les classes les plus solubles présentant les solubilités effectives les plus importantes (CL1, CL2) sont les plus rapides à se dissoudre dans l'aquifère. Les fractions molaires des classes les moins solubles augmentent au fur et à mesure que les classes les plus solubles disparaissent de la source et leur vitesse de dissolution augmente au fur et à mesure. Les classes de contaminants sont ainsi dissoutes une à une dans l'aquifère.

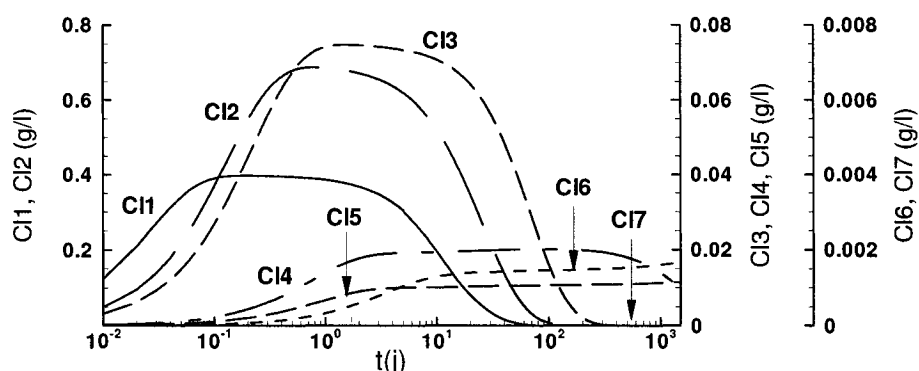


Figure 4-2 Évolution des concentrations à la source des classes de contaminants CL1, ..CL7 en fonction du temps.

Suite à la dissolution, les contaminants migrent dans l'aquifère suivant les mécanismes de transport. La Figure 4-3 montre l'évolution des panaches de contamination des différentes classes de la créosote au temps $T=500$ j. Il est possible de constater que les classes CL1 et CL2 et les classes CL4 et CL5 migrent à des vitesses similaires. Ces classes présentent des coefficients K_d (et par conséquent des facteurs de retard R) de même ordre de grandeur et semblent être plus longtemps en contact dans l'aquifère que les autres classes.

Un exemple de bilan de masse dans l'aquifère réalisé pour la classe CL4 (Figure 4-4), montre l'évolution de la répartition de la masse entre les différentes phases du milieu. Il est possible de constater que dans le cas de la classe CL4, la masse adsorbée dans le système est plus importante que la masse aqueuse. Ceci est lié à l'hydrophobicité des contaminants HAP et hétérocycles constituant la classe et qui implique une faible biodisponibilité dans le milieu. Par ailleurs, il est possible de vérifier que la masse totale est conservée dans le système.

Dans la suite de l'étude et dans l'objectif de simplifier le système, la source sera supposée contenir uniquement deux classes de contaminants de la créosote. Ceci permettra de mieux comprendre l'effet d'une classe sur une autre. Le choix de ces classes et leurs caractéristiques à la source seront fixés par la suite.

T=500j

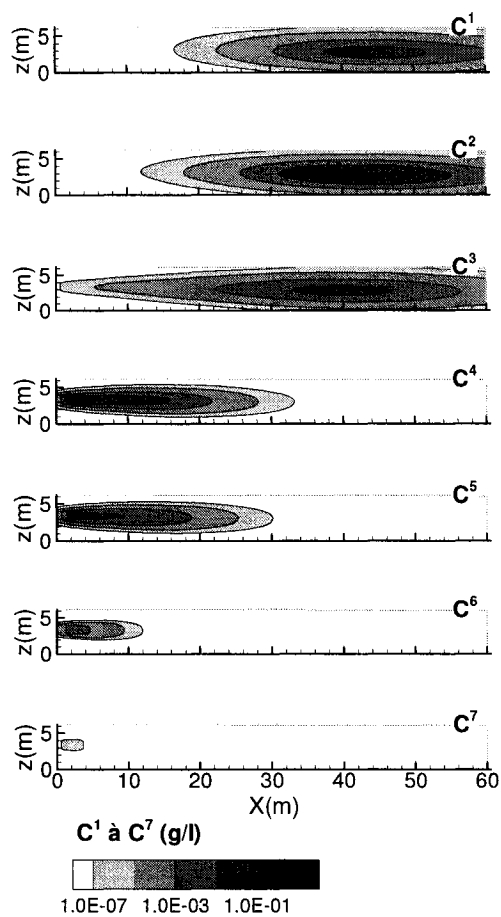


Figure 4-3 Panaches de contamination des classes constituant la créosote (CL1,... CL7) au temps de simulation T=500 j.

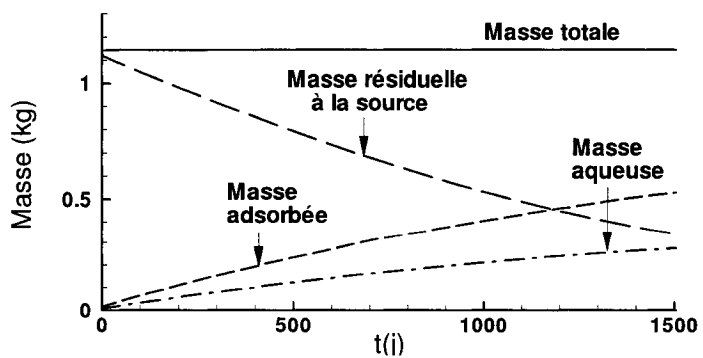


Figure 4-4 Bilan de masse dans l'aquifère pour la classe de contaminants CL4.

4.3.2 Étude de l'influence des caractéristiques de la source

Dans la suite de cette étude, sera examiné l'effet des caractéristiques de la source sur la répartition des classes de contaminants dans l'aquifère.

L'étude de l'effet des propriétés de la source sur la distribution des contaminants dans l'aquifère comprend d'abord, l'effet de la solubilité des classes de contaminants contenues dans la source. Cet effet sera étudié en simulant la dissolution d'une source constituée de différents mélanges binaires de classes de contaminants avec différentes solubilités liquides. Il s'agira également de garder les autres variables égales (fraction molaire et contenu massique). Par la suite deux mélanges de classes de contaminants seront retenus pour étudier l'effet de la fraction molaire.

Cet effet de la fraction molaire sera étudié en faisant varier la fraction molaire de chacune des classes de contaminants pour les mélanges binaires choisis. L'effet du contenu massique de la source sera étudié en fixant la proportion molaire des classes à celles observées dans la créosote pour chacun des mélanges binaires. Il s'agira ensuite de faire varier le contenu massique des classes pour chacun des mélanges. Les différents paramètres adoptés dans les simulations qui vont suivre sont listés dans le Tableau 4-5.

Tableau 4-5 Paramètres utilisés pour étudier l'influence des propriétés de la source

Effet étudié	Classes	Identification des Simulations	Moles/classe ¹	Masse de créosote équivalente ¹
Influence des solubilités	CL1+CL2	-	1,0 + 1,0	-
	CL1+CL3		1,0 + 1,0	
	CL1+CL4		0,9 + 0,9	
	CL1+CL5		0,8 + 0,8	
	CL1+CL6		0,7 + 0,7	
	CL1+CL7		0,6 + 0,6	
Influence de la fraction molaire	CL1+CL4	Cas A	1,0 + 3,0	-
		Cas B	2,1 + 2,1	
		Cas C	3,2 + 1,1	
	CL4+CL5	Cas A	1,0 + 3,0	-
		Cas B	2,2 + 2,2	
		Cas C	3,7 + 1,2	
Influence du contenu massique de la source	CL1+CL4	Cas A	0,2 + 0,8	1 kg
		Cas B	1,0 + 4,0	5 kg
		Cas C	2,0 + 8,0	10 kg
		Cas D	4,0 + 16,0	20 kg
	CL4+CL5	Cas A	0,8 + 2,1	1 kg
		Cas B	4,0 + 10,5	5 kg
		Cas C	8,0 + 21,0	10 kg
		Cas D	16,0 + 42,0	20 kg

¹ Le nombre de moles et la masse sont exprimés /m linéaire (selon Y)

4.3.2.1 Influence des solubilités

Pour étudier l'influence des solubilités des deux classes contaminants présents à la source sur leur répartition dans l'aquifère, des simulations sont réalisées en considérant que la source est composée de la classe CL1 et de l'une des autres classes définies précédemment (Tableau 4-3). La source sera donc constituée d'un

mélange de deux classes de contaminants dont les solubilités sont de plus en plus éloignées.

Comme indiqué dans le Tableau 4-5 résumant les simulations, le nombre de moles des différents mélanges simulés à la source a été choisi de façon à ce que les classes aient une fraction molaire égale dans le mélange et à ce que la masse totale de la source soit fixée. Le nombre de mole des classes des différents mélanges varie entre 1 et 0,6 moles. Une mole représente par exemple la quantité de contaminant de la classe CL1 contenue dans 5 kg de créosote. Il est possible de préciser aussi qu'environ 1 kg de créosote contiendrait environ 6 moles de contaminants, toutes classes incluses.

Lors des simulations, les superficies des panaches de contamination et celle de la zone de contact entre panaches ont été calculées en fonction du temps. Un exemple de l'étendue de ces superficies est représenté sur la Figure 4-5. Cette figure montre les panaches de contamination des classes CL1 et CL5 lorsqu'elles sont présentes à la source. Au temps $T=100$ j, les deux panaches sont superposés et la superficie de CL5 (Sf_5) est confondue avec la superficie de la zone de contact entre panaches ($Sf_{1\cap5}$). Au temps $T=300$ j, les deux panaches commencent à se séparer, la superficie de la zone de contact constitue juste une partie des superficies Sf_1 et Sf_5 .

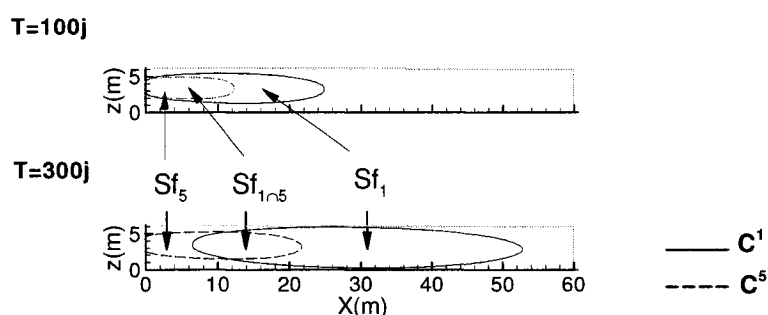


Figure 4-5 Superficie des panaches de contamination des classes constituant la source et de la zone de contact entre panaches : cas des classes CL1 et CL5 à la source.

L'évolution des superficies des panaches modélisés et celles des zones de contact entre panaches en fonction du temps sont représentées sur la Figure 4-6 et la Figure 4-7. Sur la Figure 4-6 sont représentées les superficies des panaches de

chaque mélange binaire simulé à la source. La superficie du panache de CL1 (Sf_1) augmente dans le temps à mesure que la classe est dissoute dans l'aquifère et qu'elle migre le long du domaine. A partir de 400j de simulation, Sf_1 commence à diminuer puisque le panache commence à sortir du domaine modélisé.

Il est possible de constater que les classes CL1, CL2 et CL3 et les classes CL4 et CL5 produisent des panaches de superficies semblables, même si elles présentent des solubilités liquides différentes donc des caractéristiques de dissolution à la source différentes. Toutefois, ces classes ont en commun l'ordre de grandeur du coefficient de partition à l'équilibre qui caractérise leur affinité pour la phase solide.

La superficie de la zone de contact entre panaches (Figure 4-7) est aussi pratiquement la même pour le mélange CL1-CL2 et CL1-CL3, et pour les mélanges CL1-CL4 et CL1-CL5. D'ailleurs, plus les coefficients de partition des deux contaminants constituant la source sont proches plus la superficie de la zone de contact entre panaches est importante.

Il semble donc dans le cas présent, que c'est le coefficient de partition avec la phase solide du milieu plutôt que la solubilité liquide, qui détermine quels contaminants sont en contact dans l'aquifère à un temps donné. Les valeurs relatives des coefficients de partition de ces contaminants vont contrôler la durée pendant laquelle ces contaminants vont être en contact ainsi que l'étendue de la zone où ils seront en contact.

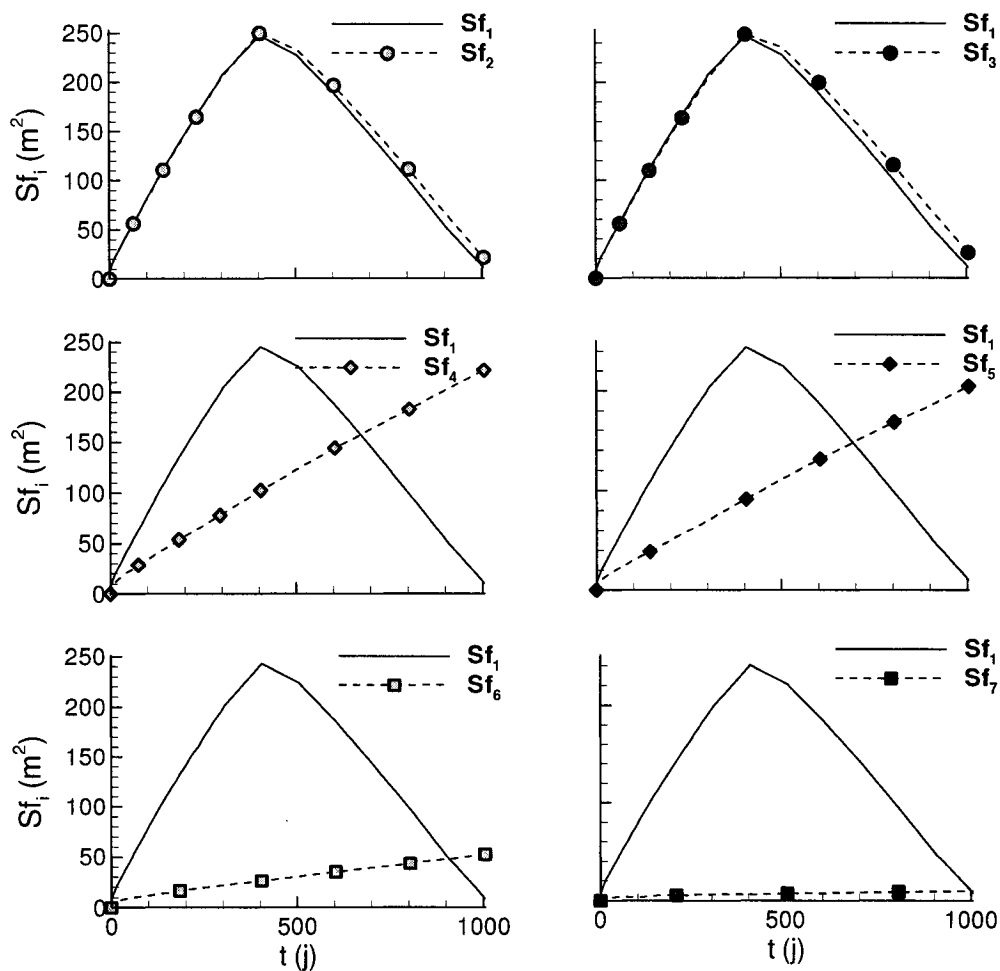


Figure 4-6 Superficie des panaches des 2 classes de contaminants constituant la source.

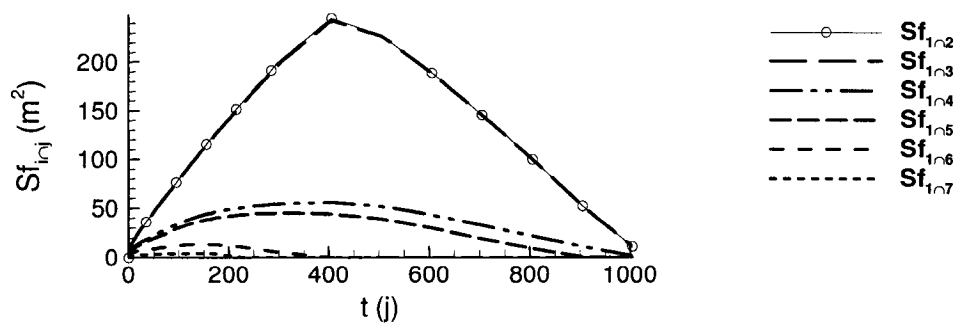


Figure 4-7 Superficie de la zone de contact entre panaches pour différents mélanges binaires de classes contaminants constituant la source.

4.3.2.2 Influence des fractions molaires à la source

Il a été observé que ce qui va contrôler le temps et la surface de contact entre classes de contaminants dissous à partir d'une source non aqueuse est le coefficient de partition avec la phase solide plutôt que les solubilités des contaminants à la source.

Dans ce qui suit, sera étudiée l'influence de la fraction molaire des contaminants à la source sur leur distribution dans l'aquifère. Pour cela deux cas de mélanges binaires seront testés: un cas où les classes de contaminants à la source présentent des coefficients de partitions à l'équilibre différents (CL1 et CL4) et un cas où ils présentent des coefficients de même ordre de grandeur (CL4 et CL5). La fraction molaire des classes de contaminants présents sera variée et les effets de cette variation seront suivis sur la répartition des contaminants dans l'aquifère.

La variation en fonction du temps des superficies des panaches et celle des zones de contact entre panaches des différentes simulations sont représentées sur la Figure 4-8 et la Figure 4-9. La Figure 4-8 montre ces variations pour le mélange des classes CL1 et CL4 à la source et la Figure 4-9 pour le mélange des classes CL4 et CL5. D'une simulation à une autre, chaque classe prend tour à tour une fraction molaire d'une valeur de 0,25, 0,50 ou de 0,75 (Cas A, Cas B, cas C). La masse totale de la source sera gardée constante et le nombre de moles des classes pour chacune de ces fractions est précisé dans le Tableau 4-5.

La Figure 4-8 et la Figure 4-9 montrent que les superficies des panaches de contamination montrent une légère variation lorsque la fraction molaire des classes de contaminants varie. En effet, lorsque la fraction molaire de CL1 augmente (et que celle de CL4 diminue) sa superficie montre une certaine augmentation, tandis que celle CL4 montre une certaine baisse. Le même effet est observé pour le mélange CL4-CL5 à la source, il est probablement dû à la variation du temps de dissolution de chaque classe du mélange en fonction de sa fraction molaire. Par contre, cette variation de la fraction molaire du mélange d'une simulation à une autre semble avoir relativement peu d'effet sur la superficie de la zone de contact entre panaches.

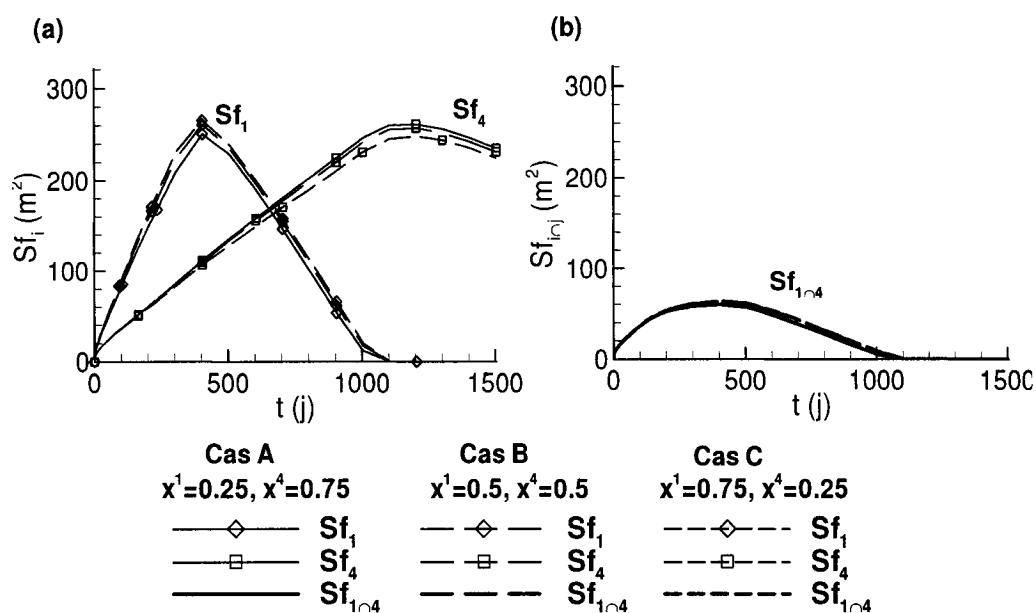


Figure 4-8 Superficie des panaches des classes CL1 et CL4 constituant la source (a) et celle de la zone de contact entre panaches (b), pour des fractions molaires respectives de 0.25, 0.75 (Cas A), 0.5, 0.5 (Cas B), 0.75, 0.25 (Cas C) .

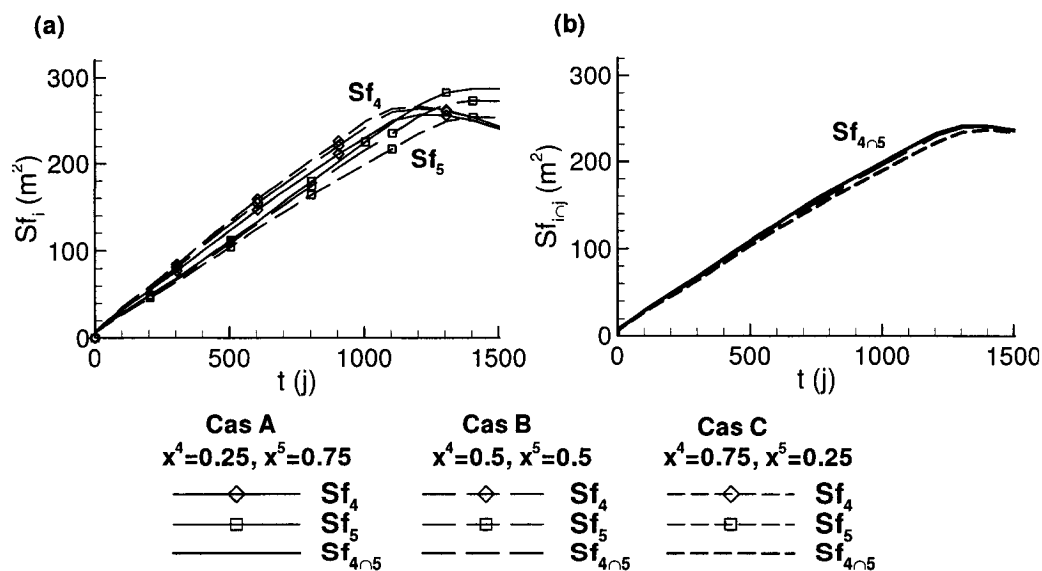


Figure 4-9 Superficie des panaches des classes CL4 et CL5 constituant la source (a) et celle de la zone de contact entre panaches (b), pour des fractions molaires respectives de 0.25, 0.75 (Cas A), 0.5, 0.5 (Cas B), 0.75, 0.25 (Cas C) .

Pour le mélange des classes CL1 et CL4 (Figure 4-8), les panaches restent superposés pendant environ les 100 premiers jours de simulation ($Sf_{1\cap 4}$ et Sf_4 égales) et la zone de contact entre panaches est confondue avec le panache de plus faible solubilité. Pour le mélange des classes CL4 et CL5 (Figure 4-9) les superficies des panaches sont très proches pendant toute la durée de la simulation, les panaches sont donc pratiquement confondus. La zone de contact s'étend pendant la moitié de la simulation sur la surface du panache du contaminant CL5 le moins mobile ($Sf_{4\cap 5}$ et Sf_5 égales).

L'étendue des panaches de contamination ainsi que la distribution des rapports de concentration des classes $R_{4/1}$ et $R_{5/4}$ pour les différents cas simulés sont représentés sur les figures qui suivent (Figure 4-10 à Figure 4-14). La Figure 4-10 et la Figure 4-11 montrent la limite des panaches des classes CL1 et CL4 et la distribution du rapport $R_{4/1}$ dans la zone de contact entre panaches (pour le Cas A et le Cas C). Les limites des panaches correspondent à la ligne de contour où les concentrations sont égales au seuil C_{lim} . En passant du cas A au Cas C, la fraction molaire de CL1 passe de 25% à 75%, celle de CL4 de 75% à 25%. Ces deux cas représentent deux cas extrêmes où la fraction molaire de l'une des classes est dominante par rapport à celle de l'autre.

Il est possible de constater d'après la limite des panaches que ces derniers sont complètement superposés aux premiers temps de simulation ($T=35$ j et $T=105$ j), mais commencent à se séparer ensuite. En effet, aux temps $T=300$ j et 505 j, les zones centrales des panaches (les plus concentrées) ne sont plus en contact et les panaches se croisent par leurs extrémités.

Il est possible également de constater qu'il existe peu de différence entre les contours des panaches obtenus dans le Cas A et le Cas C. Le détachement des panaches (de la source) aux derniers temps de simulations ($T=300$ et 505 j) semble plus rapide lorsque la fraction molaire de la classe la moins soluble est plus faible (Cas C).

La distribution du rapport $R_{4/1}$ dans la zone de contact entre panaches, semble similaire dans le Cas A et C. En effet, il est possible de voir que la zone de contact entre panaches est généralement subdivisée en trois parties. Une première partie est

visible en aval des panaches, où le paramètre $R_{4/1}$ est du domaine III (CL1 plus abondante) et où les interactions significatives, s'il y a lieu, sont celles induites par la classe CL1. Une deuxième zone apparaît au milieu des panaches, où le rapport $R_{4/1}$ est du domaine II (concentration de CL1 et CL4 relativement proches) et où les interactions significatives s'il y a lieu sont celles induites par les deux classes (interactions mutuelles). Une dernière zone est visible en amont des panaches du domaine I où les interactions sont essentiellement celles induites par le contaminant CL4 qui est le plus abondant.

En comparant l'étendue des domaines entre le Cas A et Cas C, peu de variations sont visibles entre les surfaces de ces domaines, sauf aux premiers temps de simulation ($T=35$ et 105 j) où les panaches de contamination sont encore superposés. En effet, en passant du Cas A au Cas C, la fraction molaire de CL4 passe de $0,75$ à $0,25$, et ce faisant le domaine où cette classe est la plus abondante (I) devient de moindre importance ou inexistant (aux temps $T=35$ et 105 j). Il semble donc que l'effet de la fraction molaire des contaminants sur leur distribution dans l'aquifère est plus significatif lorsque les panaches sont superposés. Cependant, l'effet observé dans le cas présent reste relativement peu significatif. La solubilité de la classe de contaminant CL1 étant relativement élevée, sa dissolution semble rapide même si sa fraction molaire initiale change. La fraction molaire de la classe CL4 la moins soluble augmente rapidement et se retrouve égale à l'unité à la suite de la dissolution de CL1, et sa dissolution est ainsi indépendante de sa fraction molaire initiale.

Cas A : $x^1=0.25, x^4=0.75$

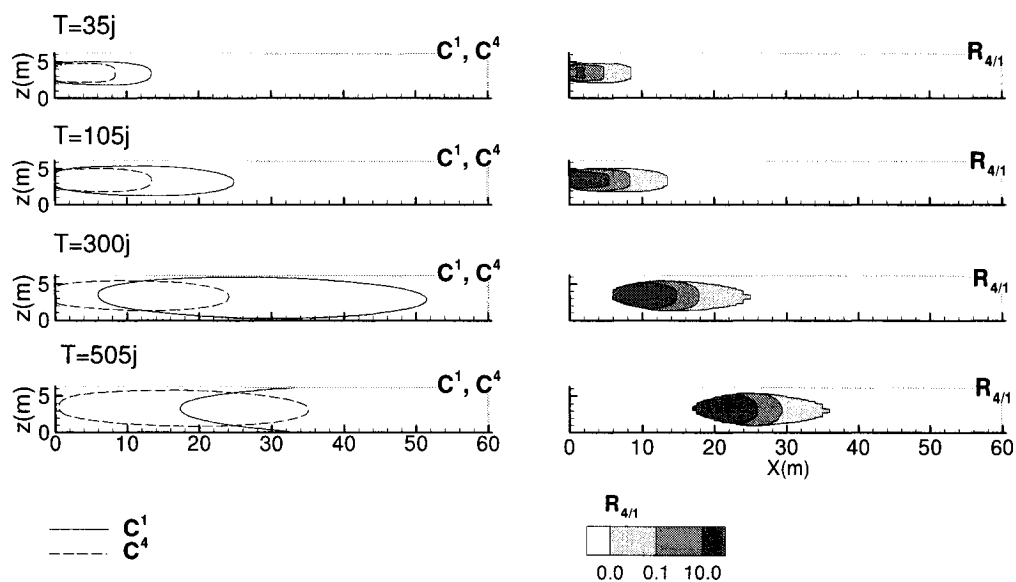


Figure 4-10 Limite des panaches de CL1 et CL4 et distribution du rapport $R_{4/1}$ pour des fractions molaires respectives de ces classes de 0.25, 0.75 (Cas A).

Cas C : $x^1=0.75, x^4=0.25$

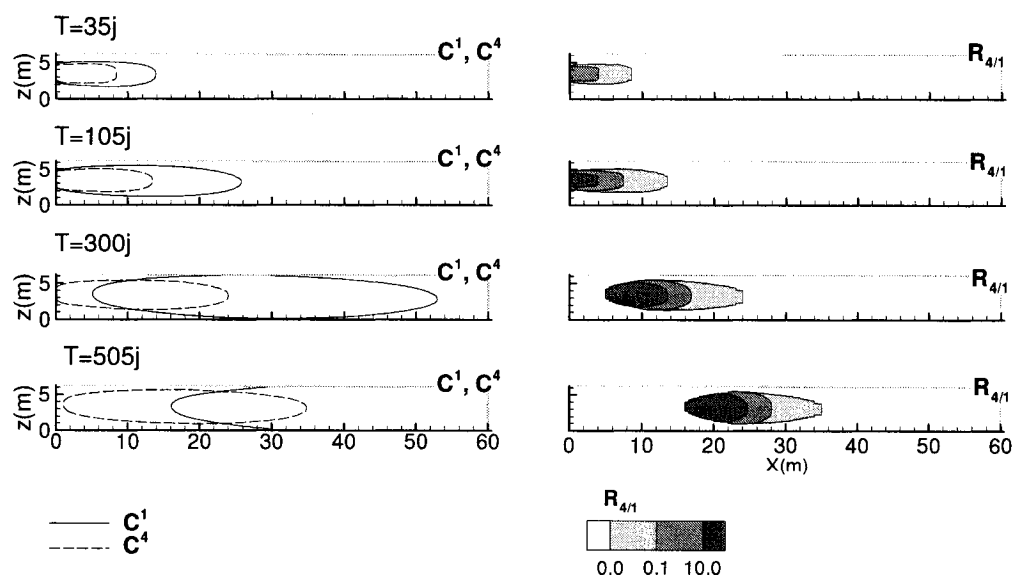


Figure 4-11 Limite des panaches de CL1 et CL4 et distribution du rapport $R_{4/1}$ pour des fractions molaires respectives de ces classes de 0.75, 0.25 (Cas C).

La Figure 4-12 montre la concentration des classes CL1 et CL4 dans une section longitudinale au domaine et passant par le centre de la source. Il est possible de constater qu'en passant du Cas A au Cas C, la variation des concentrations de CL1 et CL4 peut avoir un effet significatif sur le rapport $R_{4/1}$ au temps $T=35$ j puisque les zones les plus concentrées des panaches sont en contact. Par contre, au temps $T=505$ j, cette variation de la concentration est de moindre importance dans la zone de contact puisqu'elle ne concerne que les extrémités des panaches.

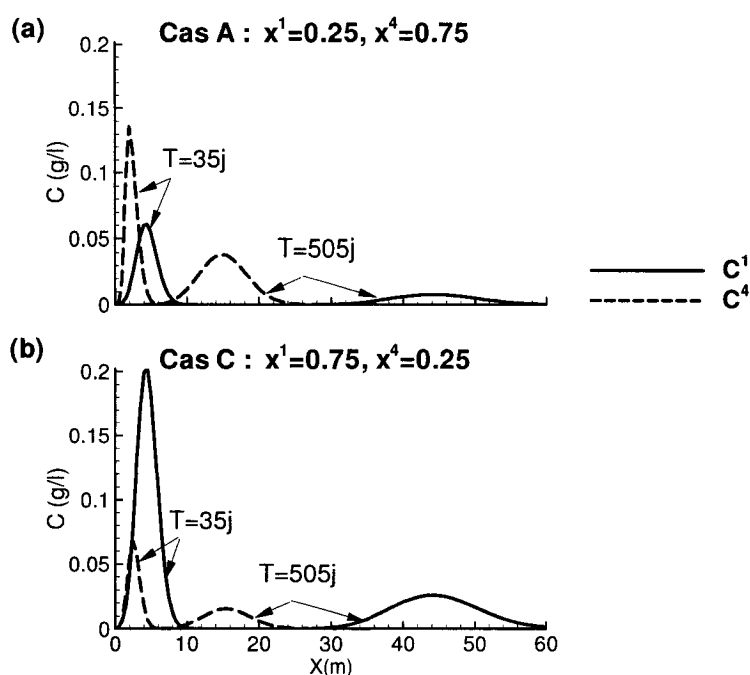


Figure 4-12 Distribution des concentrations des classes CL1 et CL4 en fonction de X pour des fractions molaires respectives de 0.25, 0.75 (a), et 0.75, 0.25 (b).

En ce qui concerne le mélange des classes CL4 et CL5 à la source, les limites des panaches, ainsi que les rapports des concentrations $R_{5/4}$ (pour les Cas A et C) sont représentés sur la Figure 4-13 et la Figure 4-14. En comparant le contour des panaches entre le Cas A et le Cas C, il est possible de voir que les panaches se détachent plus rapidement de la source lorsque la classe la moins soluble est moins abondante à la source (Cas C). Un temps de dissolution plus faible est à l'origine de ce comportement. Il est possible de constater également d'après les limites des

panaches, que même si les deux panaches ne sont plus totalement superposés après 500 j de simulation, les zones centrales les plus concentrées restent en contact pratiquement tout le long de la simulation.

La distribution du rapport $R_{5/4}$ montre une certaine différence entre le Cas A et le Cas C. D'abord, les domaines I, II et III des valeurs de $R_{5/4}$ semblent visibles dans les deux cas de simulation. Toutefois, l'étendue de ces trois domaines varie du Cas A au Cas C. Contrairement au mélange CL1-CL4 à la source, l'étendue du domaine II semble comparable sinon plus importante que celle des domaines I et III. En effet, la proximité des deux panaches fait en sorte que le domaine II où les concentrations des classes sont relativement proches soit relativement important par rapport aux deux autres domaines.

Par ailleurs, lorsque CL5 est plus abondant à la source (Cas A), le domaine I où sa concentration est relativement importante et où les interactions significatives s'il y a lieu sont générées par cette classe, est plus important que le domaine III. D'un autre côté, lorsque CL4 est prédominante à la source (Cas C), la situation contraire se produit et le domaine III est de plus grande étendue que le domaine I.

La répartition de la concentration des classes de contaminants dans une section longitudinale passant par la source est montrée sur la Figure 4-15. La dissolution de la classe CL5 est plus étalée dans le temps (Cas A) lorsque sa fraction molaire à la source est la plus élevée. Dans ce cas de figure, la dissolution semble limitée par la valeur de solubilité relativement faible de cette classe. Par ailleurs, il est possible de constater que les classes CL4 et CL5 restent plus longtemps en contact dans le domaine à des concentrations relativement proches. Finalement, le décalage entre les courbes de concentrations des deux classes et qui n'est autre que le résultat du retard de CL5 par rapport à CL4 est à l'origine des domaines I et III visibles aux extrémités de la zone de contact entre panaches.

Cas A : $x^4=0.25, x^5=0.75$

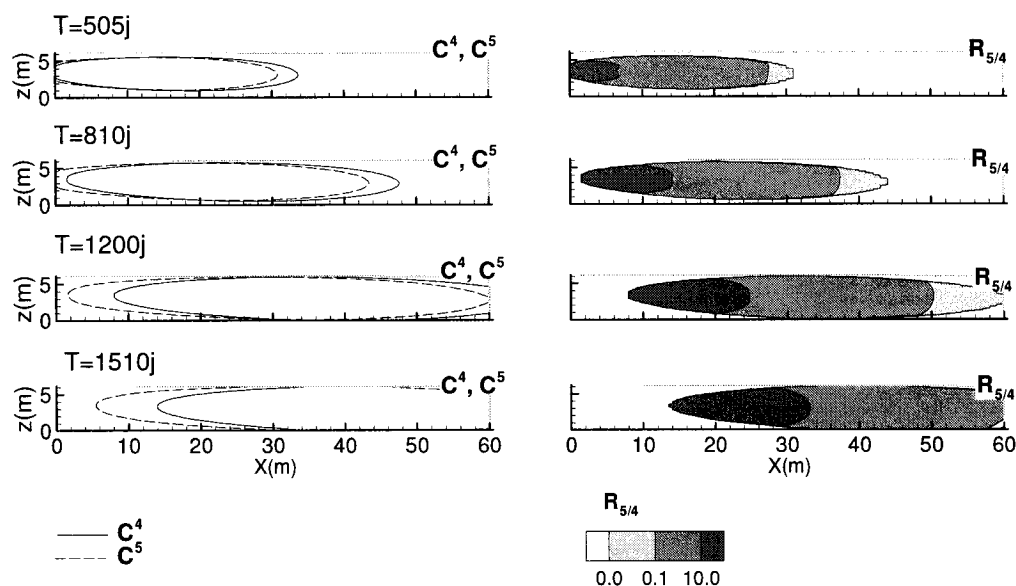


Figure 4-13 Limite des panaches de CL4 et CL5 et distribution du rapport $R_{5/4}$ pour des fractions molaires respectives de ces classes de 0.25, 0.75 (Cas A).

Cas C : $x^4=0.75, x^5=0.25$

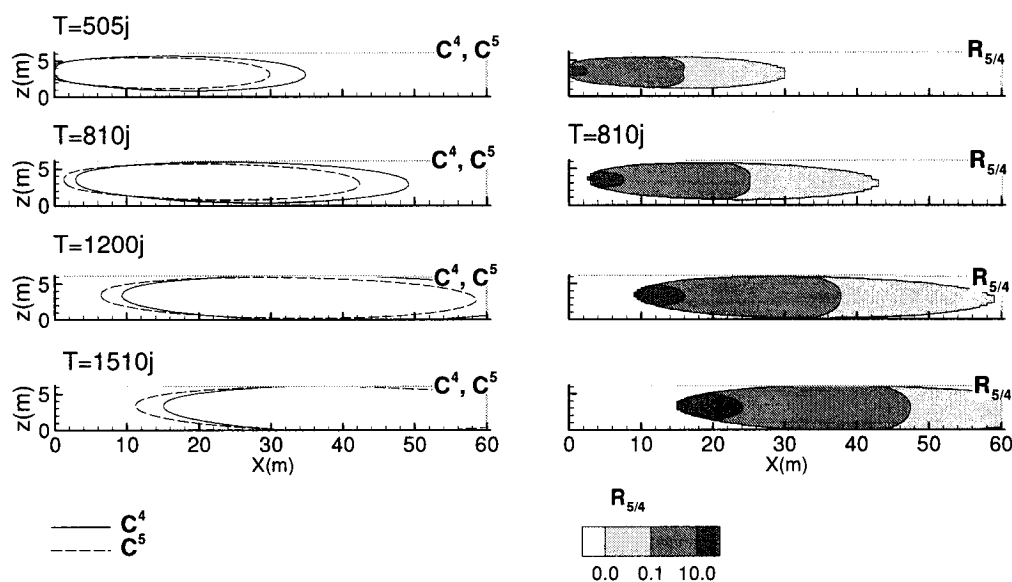


Figure 4-14 Limite des panaches de CL4 et CL5 et distribution du rapport $R_{5/4}$ pour des fractions molaires respectives de ces classes de 0.75, 0.25 (Cas C).

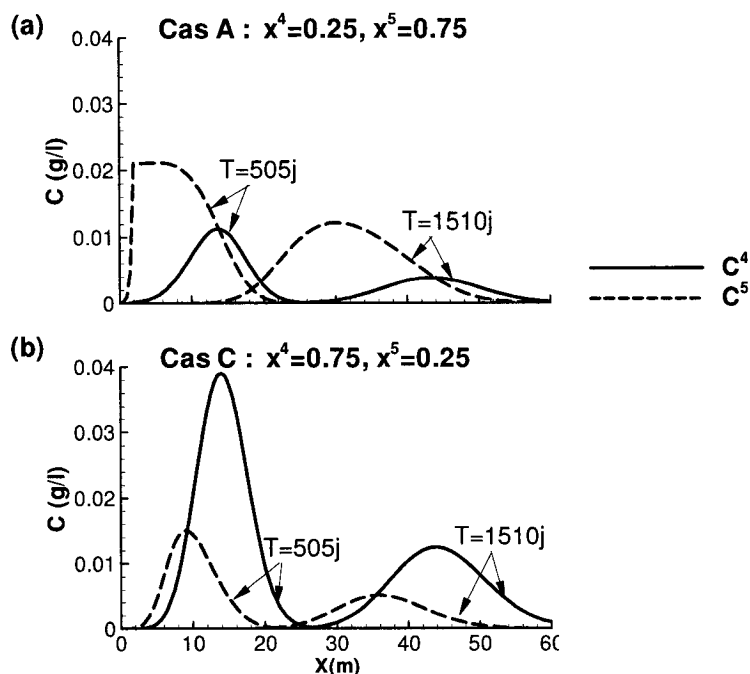


Figure 4-15 Distribution des concentrations des classes CL1 et CL4 en fonction de X pour des fractions molaires respectives de 0.25, 0.75 (a), et 0.75, 0.25 (b).

4.3.2.3 Influence du contenu massique de la source

La section précédente a permis de montrer que la fraction molaire des contaminants présents à la source avait peu d'effet sur la superficie de la zone de contact entre panaches, mais qu'elle avait une influence sur la distribution des concentrations des contaminants dans cette zone. Dans cette section, l'effet du contenu massique de la source sur la répartition des contaminants dans l'aquifère sera examiné. Pour cela, les proportions molaires réelles des mélanges des classes CL1-CL4 et CL4-CL5 tels que présents dans la créosote, seront adoptées (Tableau 4-5). La dissolution et le transport de ces mélanges seront simulés pour différentes masses initiales de ces classes correspondant à celles contenues dans certaines masses de créosote (1 kg, 5 kg, 10 kg et 20 kg de créosote/m linéaire).

La variation des superficies des panaches et celles des zones de contact entre panaches en fonction du temps pour les différentes simulations sont représentées sur la Figure 4-16 et la Figure 4-17. Ces figures montrent que lorsque la masse de la

source augmente, les superficies des panaches ainsi que celle de la zone de contact entre panaches ont tendance à augmenter. Il est probable que ce fait soit lié à une augmentation du temps de dissolution des contaminants à la source.

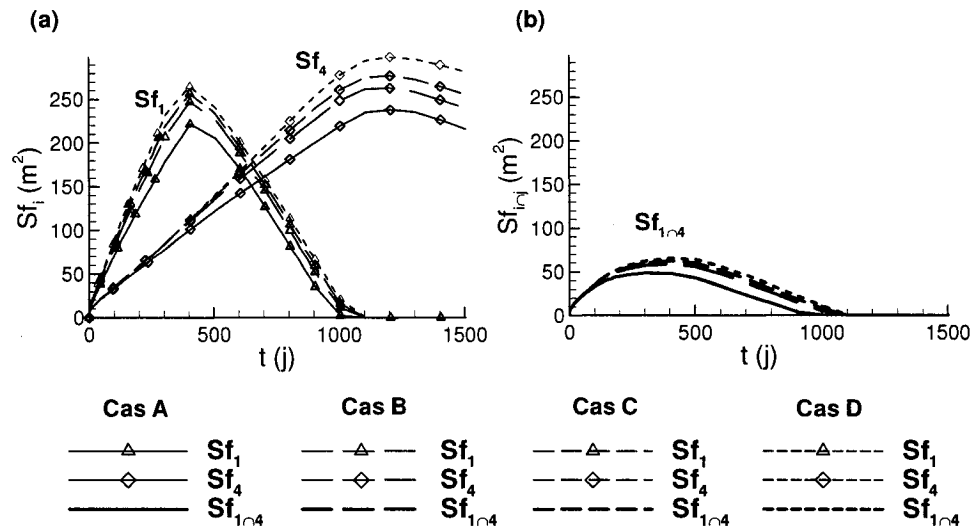


Figure 4-16 Superficie des panaches (a) et de la zone de contact entre panaches (b) des classes CL1 et CL4 pour une source de créosote de 1 kg (Cas A), de 5 kg (Cas B), 10 kg (Cas C) et de 20 kg (Cas D) /m linéaire.

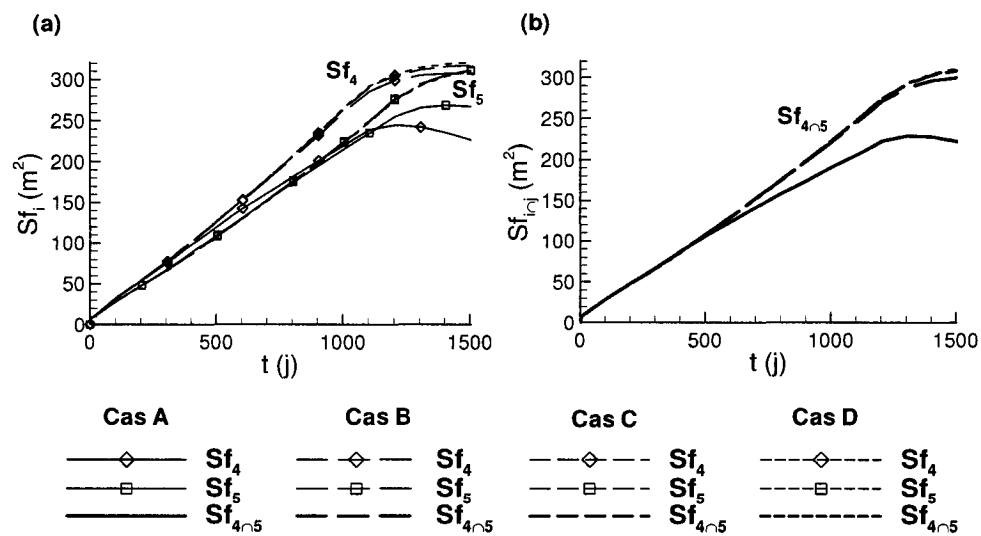


Figure 4-17 Superficie des panaches (a) et de la zone de contact entre panaches (b) des classes CL4 et CL5 pour une source de créosote de 1 kg (Cas A), de 5 kg (Cas B), 10 kg (Cas C) et de 20 kg (Cas D) /m linéaire.

La Figure 4-18 et la Figure 4-19 montrent la concentration des classes de contaminants dans une section longitudinale passant par la source aux temps $T=35$ et 505 j. Il est possible de constater que lorsque la masse de la source augmente (du Cas A au Cas D), les concentrations des contaminants dans l'aquifère semblent augmenter dans les mêmes proportions et ceci reste vrai dans la limite des solubilités effectives des contaminants.

Cet effet est visible avec le mélange des classes CL1-CL4 (Figure 4-18). Lorsque la masse de la source augmente de 1 à 5 kg (du Cas A au Cas B), le pic de concentration de CL4 au temps $T=35$ j augmente jusqu'à une certaine concentration, il reste ensuite plafonné à cette concentration lorsque le poids de la source augmente encore (Cas C et D). Cette concentration correspond à sa limite de solubilité dans le milieu ou sa solubilité effective qui traduit la solubilité du contaminant dans la phase aqueuse compte tenu de sa solubilité liquide et de sa fraction molaire à la source.

Cet effet est également visible avec le mélange des contaminants CL4 et CL5 (Figure 4-19), la concentration maximale du contaminant CL5 au temps $T=505$ j est à sa solubilité effective pour une masse de la source de 1 kg (cas A), et le pic de concentration de ce contaminant reste plafonné à cette valeur de la solubilité effective même si le poids de la source augmente encore. Par contre, il est possible de voir que la valeur de la solubilité effective de ce contaminant diminue légèrement d'une simulation à une autre. Ceci reflète le fait que la dissolution est plus lente pour un poids supérieur de la source, la fraction molaire de CL4 le plus soluble diminue plus lentement pour une masse plus importante à la source, celle de CL5 augmente plus lentement aussi dans le temps et il en est de même de sa solubilité effective.

Ainsi la dissolution devient plus étalée dans le temps pour une masse plus importante de la source notamment lorsque le taux de dissolution d'une classe est limité par sa solubilité dans le milieu (cas des classes CL4 et CL5). Il en résulte que la courbe en cloche des concentrations (en fonction de X) va avoir tendance à s'étaler et prendre la forme d'un plateau à mesure que la masse de la source augmente. Cet effet est surtout observé pour les classes CL4 et CL5 que ce soit dans le mélange CL1-CL4 ou CL4-CL5, étant donnée leurs solubilités relativement réduites (Figure 4-18, Figure 4-19). Dans le cas du mélange CL4-CL5 où les panaches restent longtemps superposés, plus la masse de la source est importante plus la dissolution

est étalée dans le temps, et plus longtemps les deux classes sont en contact à des concentrations relativement élevées.

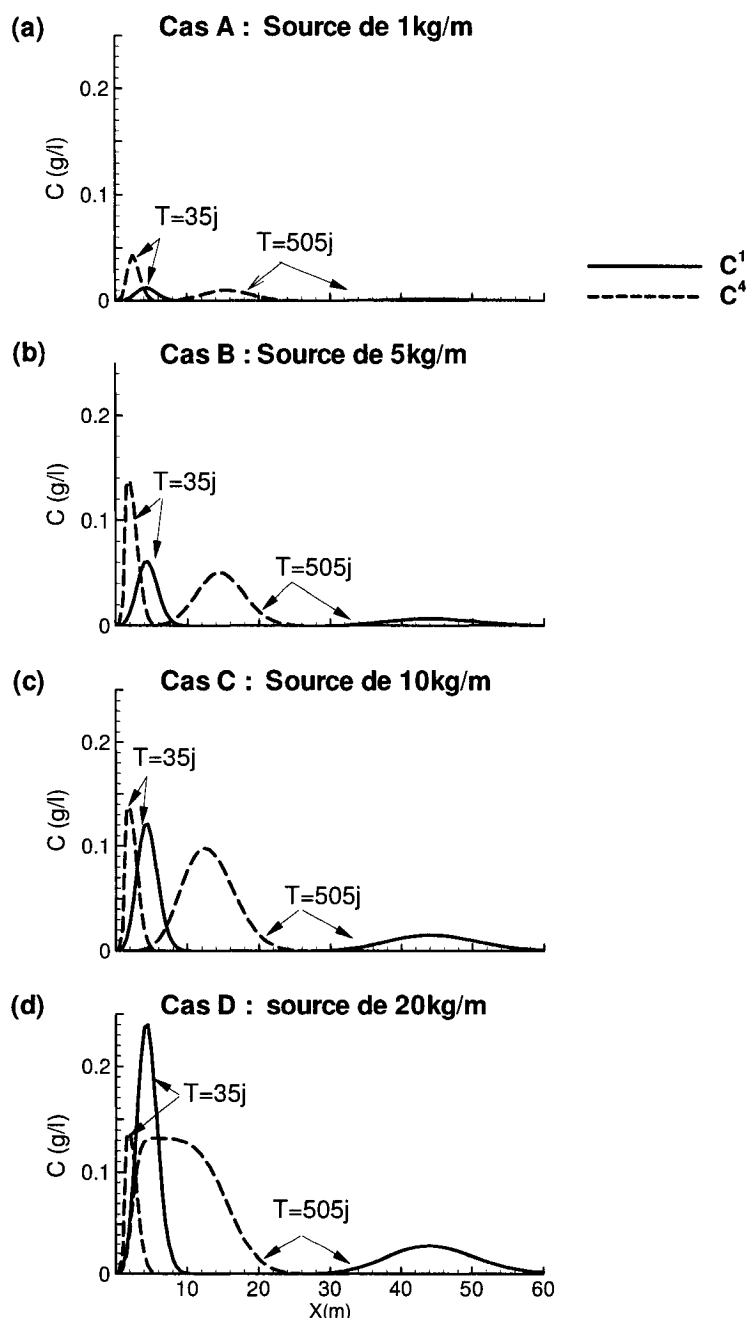


Figure 4-18 Concentrations de CL1 et CL4 en fonction de X , pour une masse initiale égale à celle contenue dans une source de créosote de 1 kg (Cas A), 5 kg (Cas B), 10 kg (Cas C) et 20 kg (Cas D).

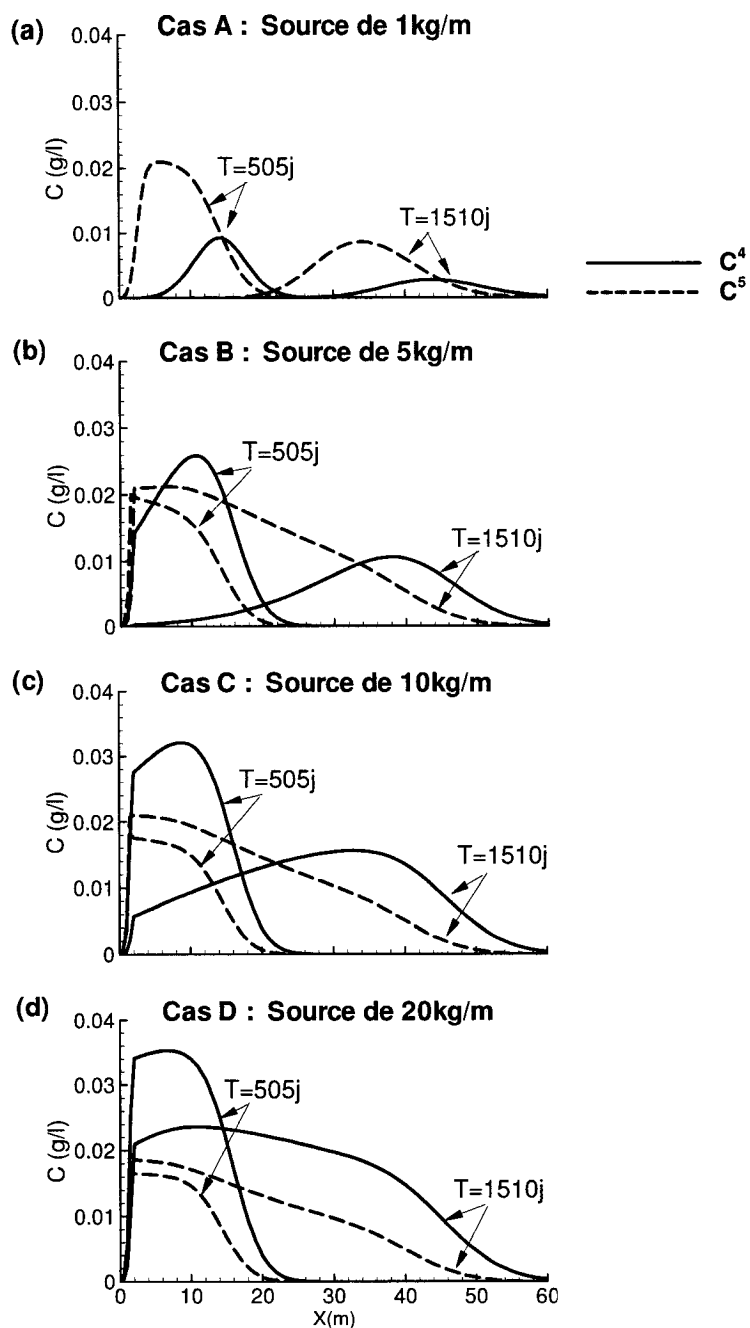


Figure 4-19 Concentrations de CL4 et CL5 en fonction de X , pour une masse initiale égale à celle contenue dans une source de créosote de 1 kg (Cas A), 5 kg (Cas B), 10 kg (Cas C) et 20 kg (Cas D).

Ces effets se reflètent sur la distribution du rapport $R_{j/i}$ qui semble influencé par la variation de la masse initiale de la source (Figure 4-20 à Figure 4-23). Lorsque

la masse de la source augmente, l'effet observé aux premiers temps de simulation ($T=35$ j pour CL1-CL4 et $T=505$ j pour CL4-CL5) semble être le même pour les deux mélanges de classes. Il s'agit d'une augmentation de la surface du domaine II où les interactions significatives sont celles induites par les deux contaminants (interactions mutuelles) aux dépens du domaine I où les seules interactions d'importance sont celles engendrées par le contaminant le moins mobile (CL1 ou CL4).

Dans le cas du mélange CL1-CL4, cet effet observé au temps $T=35$ j où les panaches sont encore superposés, est dû à une augmentation des concentrations du contaminant CL1 dont la solubilité est relativement élevée, par rapport à celles du contaminant CL4 qui restent plafonnées à des valeurs relativement basses. Dans le cas du mélange CL4-CL5, cet effet semble être dû à la dissolution de plus en plus prolongée des deux classes de contaminants lorsque la masse de la source augmente.

Pour des temps de simulations avancés ($T=505$ j pour CL1-CL4 et $T=1505$ j pour CL4-CL5), il est possible de voir que l'augmentation de la masse de la source engendre un effet de recul du contour du panache le plus soluble. En effet, une dissolution prolongée entraîne un détachement retardé du panache le plus soluble ce qui a pour effet d'augmenter la superficie de la zone de contact entre panaches.

T=35j

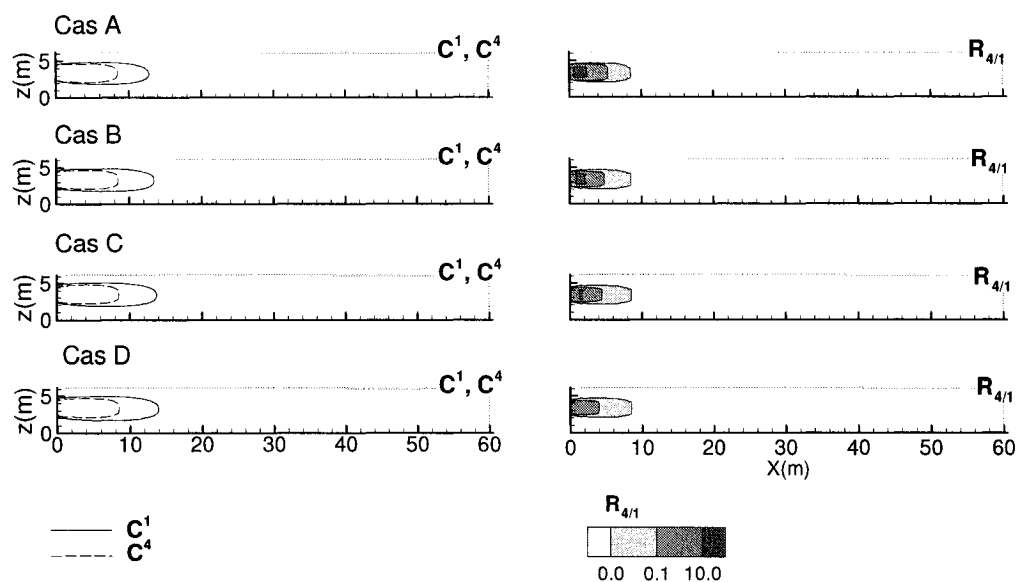


Figure 4-20 Limites des panaches de CL1 et CL4 et distribution du rapport $R_{4/1}$ à $T=35j$ pour une source de créosote de 1 kg (Cas A), 5 kg (Cas B), 10 kg (Cas C) et 20 kg (Cas D).

T=505j

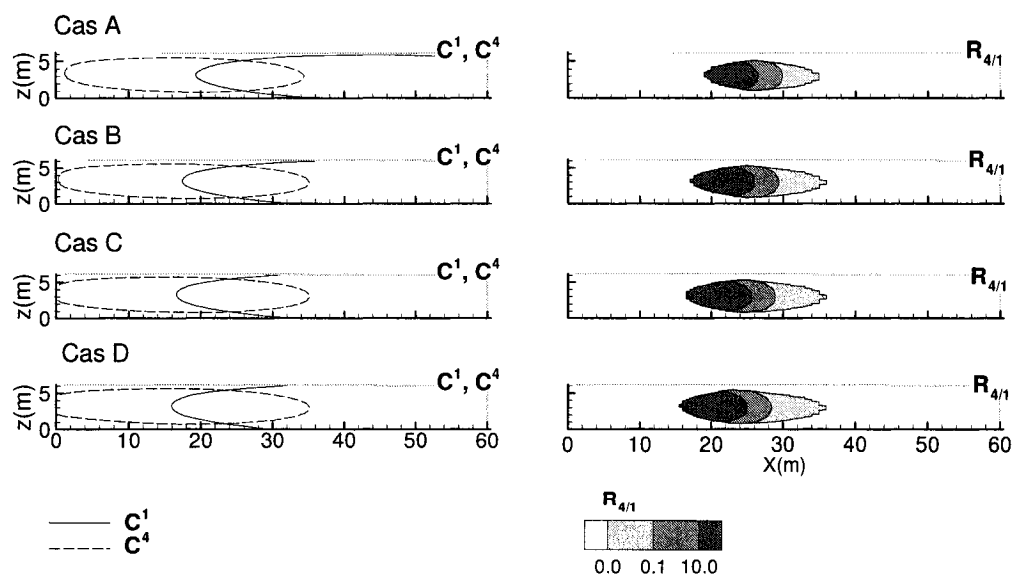


Figure 4-21 Limites des panaches de CL1 et CL4 et distribution du rapport $R_{4/1}$ à $T=505j$ pour une source de créosote de 1 kg (Cas A), 5 kg (Cas B), 10 kg (Cas C) et 20 kg (Cas D).

T=505j

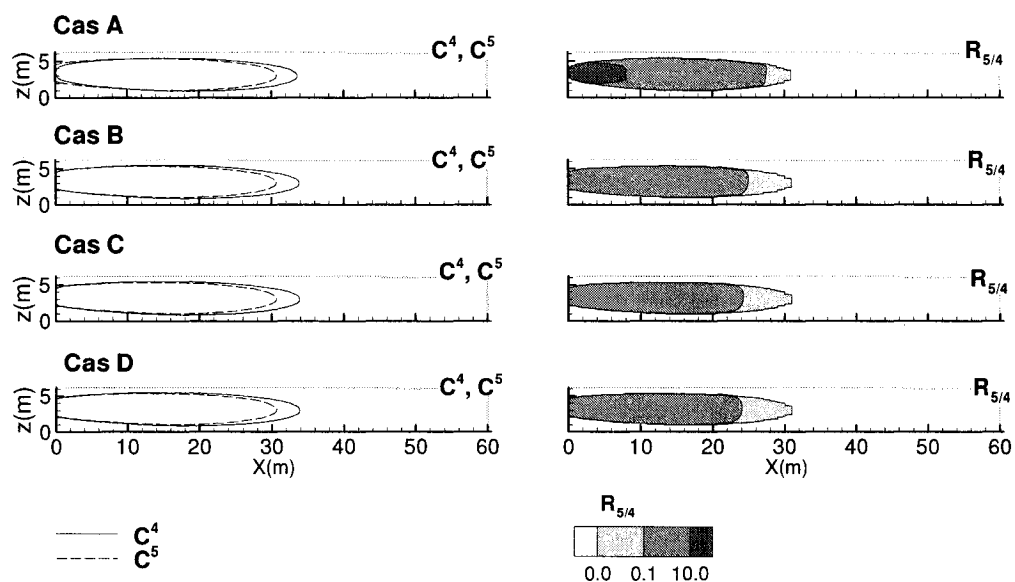


Figure 4-22 Limites des panaches de CL4 et CL5 et distribution du rapport $R_{5/4}$ à $T=505$ j pour une source de créosote de 1 kg (Cas A), 5 kg (Cas B), 10 kg (Cas C) et 20 kg (Cas D).

T=1505j

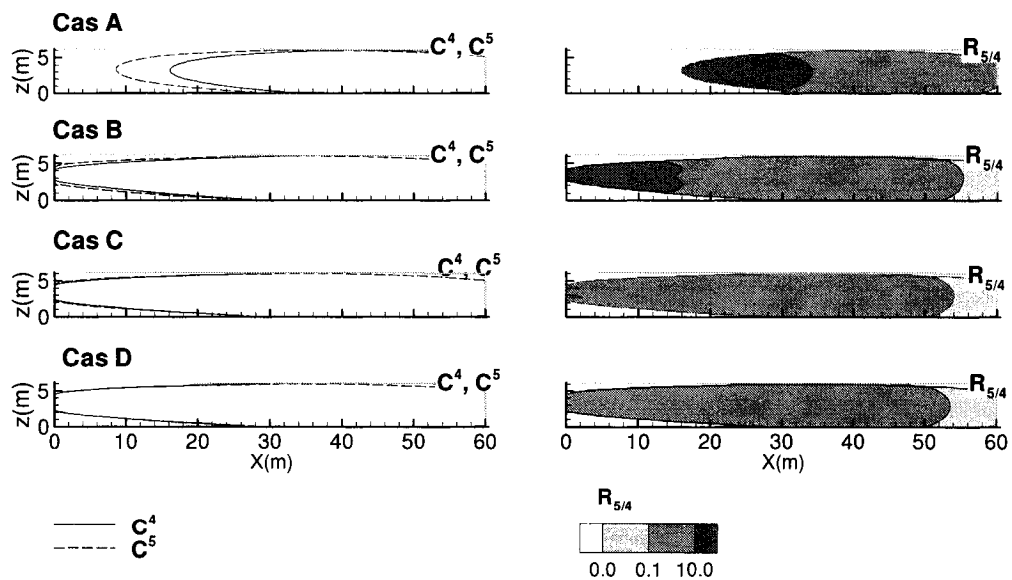


Figure 4-23 Limites des panaches de CL4 et CL5 et distribution du rapport $R_{5/4}$ à $T=1505$ j pour une source de créosote de 1 kg (Cas A), 5 kg (Cas B), 10 kg (Cas C) et 20 kg (Cas D).

4.3.2.4 Conclusions

L'influence des propriétés de la source sur la répartition d'un mélange binaire de contaminants dans un aquifère suite à sa dissolution, a été étudiée. Plus spécifiquement, la distribution des concentrations des contaminants dissous notamment dans la zone où les deux panaches sont en contact dans l'aquifère a été examinée. Cette zone de contact est définie comme étant l'étendue de la surface où les deux contaminants sont présents au même temps à des concentrations supérieures à un seuil de détection donné.

L'étendue de la zone de contact entre panaches semble être contrôlée par la partition des contaminants avec la phase solide du milieu, plus les coefficients de partition sont proches, plus la superficie de cette zone est proche de celle des deux panaches et plus longtemps les contaminants vont rester en contact dans l'aquifère.

Dans la zone de contact entre panaches, trois domaines de concentrations ont pu être distingués. Un premier en aval des panaches où les concentrations du contaminant le plus mobile sont les plus élevées (III) et où les interactions les plus significatives, s'il y a lieu, sont celles induites par ce dernier. Un domaine intermédiaire où les concentrations des deux contaminants sont relativement proches (II) et où les interactions d'importance s'il y a lieu sont les interactions mutuelles (ou induites par les deux contaminants). Un dernier domaine en amont des panaches où les concentrations du contaminant le moins mobile sont les plus élevées (I) et où les interactions les plus significatives sont celles engendrées par ce dernier. Dépendamment des cas, les propriétés de la source vont avoir une influence sur l'étendue de ces domaines les uns par rapport aux autres dans la zone de contact entre panaches.

L'effet de la fraction molaire initiale sur la superficie de la zone de contact entre panaches semble être peu significatif. Par contre, la fraction molaire semble influencer la répartition des contaminants dans la zone de contact entre panaches notamment lorsque les solubilités liquides sont proches.

En effet, si les solubilités liquides des contaminants sont différentes et à quelques ordres de grandeurs l'une de l'autre, la dissolution du contaminant le plus soluble se fait beaucoup plus rapidement que celle du contaminant le moins soluble

et ceci quelque soit sa fraction molaire initiale. Le contaminant le moins soluble se retrouve rapidement seul à la source (fraction molaire = 1) et sa dissolution se fera ainsi au même taux quelque soit sa fraction molaire initiale à la source. Par contre, si les contaminants présents à la source sont de solubilités proches, leurs taux de dissolution seront également proches et la durée de dissolution de chacun des contaminants dépendra de sa fraction molaire initiale. Lorsque la fraction molaire d'un contaminant est dominante à la source, le domaine où les seules interactions significatives sont celles induites par ce contaminant (I ou III) sera prépondérant dans la zone de contact entre panaches.

Le contenu massique de la source influence, d'une part, la superficie de la zone de contact entre panaches qui devient plus importante lorsque la masse de la source est plus élevée, et d'autre part la distribution des concentrations dans cette zone. En l'occurrence, une source de masse plus élevée est plus lente à se dissoudre et la limite aval du panache le plus mobile recule à mesure que cette masse augmente ce qui entraîne une augmentation de la superficie de la zone de contact. Tant que le contaminant le plus mobile n'a pas atteint sa limite de solubilité les superficies des domaines I, II et III augmentent à des proportions similaires. Autrement, le domaine II, où les interactions significatives sont celles induites par les deux contaminants devient prépondérant dans la zone de contact entre panaches.

Ces facteurs vont avoir un effet sur la répartition des contaminants dans un aquifère indépendamment de la biodégradation dont les effets vont se superposer à ceux observés jusqu'ici. Il est probable que la biodégradation (sans l'effet des interactions) vienne modifier encore la distribution des contaminants dans l'aquifère, et ceci dépendamment des taux de biodégradation de chacun. En schématisant l'effet des interactions comme une modification du taux de biodégradation spécifique d'un contaminant lorsqu'il se trouve en présence d'un autre, l'effet des taux de biodégradation des contaminants sur les masses présentes dans l'aquifère sera d'abord examiné avant de se pencher sur l'effet des interactions sur leur enlèvement.

4.3.3 Étude de l'influence des interactions

Pour étudier l'effet des interactions sur l'atténuation des contaminants présents dans l'aquifère, des simulations ont été réalisées en utilisant le mélange des classes de contaminants CL4 et CL5. Des deux mélanges testés, ce mélange constitue le cas le plus défavorable ou le plus exposé aux interactions étant données la surface et la durée, plus importantes de contact entre panaches. Dans les simulations réalisées, la proportion molaire de ces classes est celle retenue précédemment et qui est spécifique à la créosote (Tableau 4-3). La masse initiale utilisée pour chacune de ces classes est celle retrouvée dans une source de créosote de 17.5 kg/m linéaire (cas de la source de Borden).

Les paramètres de biodégradation pour CL4 et CL5 seront fixés en s'inspirant des valeurs observés dans la littérature (Cheng, 1999). La biodégradation des contaminants sera supposée avoir lieu en présence d'un seul accepteur d'électrons, qui est en l'occurrence l'oxygène. Les paramètres de biodégradation utilisés pour les classes CL4 et CL5 sont indiqués dans le Tableau 4-6. Chacune des classes de contaminants est biodégradée par une population bactérienne différente (X^4 et X^5), présente dans l'aquifère à une concentration de 5×10^{-5} g/l (concentration bactérienne dans l'aquifère de Borden).

Afin d'étudier l'effet des interactions sur la biodégradation des classes de contaminants présents dans l'aquifère, deux types d'interactions seront testés et dont les effets sont contraires : une inhibition des classes entre elles dont l'effet est de limiter la biodégradation, et une co-utilisation d'une classe en présence d'une autre dont l'effet est de stimuler la biodégradation.

L'effet des interactions sera étudié en supposant d'abord que l'accepteur d'électrons est présent en excès dans l'aquifère (cas simulé en considérant $K_A = 0$), ou encore en supposant qu'il est limitant. Ceci a pour but de séparer l'effet des interactions de l'effet de la limitation en accepteur d'électrons. Le cas où l'oxygène est en excès représente également la situation où l'accepteur d'électrons (oxygène ou autre) est introduit dans le milieu afin d'améliorer l'enlèvement des contaminants.

Les paramètres d'interaction considérés dans les différentes simulations sont rapportés dans le Tableau 4-7. Les paramètres d'inhibition ont été choisis de façon à

simuler une inhibition maximale entre les classes (compte tenu de leurs concentrations dans le milieu). Les paramètres de co-utilisation, ont été choisis en se basant sur les valeurs des coefficients rapportés par (Chang et al., 1993) pour le cométabolisme du xylène en présence de toluène.

Tableau 4-6 Paramètres de biodégradation des classes de contaminants CL4 et CL5

Classe de contaminants	Paramètres de biodégradation				
	k_{\max} (j ⁻¹)	K_C (g/l)	Y (g/g)	K_A^1 (g/l)	F (g/g)
CL4	5×10^{-1}	10^{-3}	0.5	4×10^{-3}	2,97
CL5	5×10^{-2}	10^{-4}	0.5	4×10^{-3}	2,97

1 D'après les données de Martin (2004), valeur du paramètre lorsque l'oxygène est limitant dans le milieu;

Tableau 4-7 Paramètres d'interactions utilisés pour l'étude de l'effet de l'inhibition et de la co-utilisation

Identification des Simulations	Disponibilité de O ₂	Paramètres d'inhibition		Paramètres de co-utilisation	
		$K_i^{4/5}$	$K_i^{5/4}$	$\alpha_{co}^{4/5}$	$\alpha_{co}^{5/4}$
Cas A1	Excès	-	-	-	-
Cas A2	limitant	-	-	-	-
Cas B1	Excès	100,0	0,0	-	-
Cas B2	limitant	100,0	0,0	-	-
Cas C1	Excès	0,0	10,0	-	-
Cas C2	limitant	0,0	10,0	-	-
Cas D1	Excès	100,0	10,0	-	-
Cas D2	limitant	100,0	10,0	-	-
Cas E1	Excès	-	-	0,5	0,0
Cas E2	limitant	-	-	0,5	0,0
Cas F1	Excès	-	-	0,0	0,5
Cas F2	limitant	-	-	0,0	0,5

4.3.3.1 Effet de la biodégradation sans interactions

L'effet de la biodégradation sur l'atténuation des panaches sera d'abord analysé en absence de toute interaction. Cet effet sera étudié en présence d'oxygène en excès dans le milieu, ou encore lorsque l'oxygène est limitant (Cas A1, A2). Les résultats des simulations sont représentés sur les figures qui suivent (Figure 4-24 à Figure 4-26).

La distribution de la concentration de CL4 et CL5 dans les panaches de contamination est représentée sur la Figure 4-24. La croissance bactérienne des populations dégradant ces classes de contaminants est représentée sur la Figure 4-25. La distribution du rapport $R_{5/4}$ est représentée sur la Figure 4-26. Chacune des figures montre le résultat des simulations en présence d'oxygène en excès (Cas A1) et lorsque l'oxygène est limitant (Cas A2).

Lorsque l'oxygène est présent de façon abondante, le panache de CL4 (Cas A1, Figure 4-24) est presque deux fois moins étendu que le panache de CL5. Le taux de biodégradation plus élevé de CL4 est à l'origine de ce comportement. La croissance bactérienne des populations dégradant les classes CL4 et CL5 (Cas A1, Figure 4-25) est significative dans la zone de l'espace la plus concentrée des panaches de CL4 et CL5 (concentrations des contaminants entre 10^{-3} et 10^{-5} g/l).

Le paramètre $R_{5/4}$ dans la zone de contact entre panaches (Cas A1, Figure 4-26), montre une distribution où le domaine I (des valeurs de ce paramètre) est dominant. Cela implique que, compte tenu des taux de biodégradation de chacune des classes de contaminants, les interactions dont l'effet peut être significatif sont celles induites par la classe CL5.

Lorsque l'oxygène est limitant dans l'aquifère, les panaches de CL4 et CL5 (Cas A2, Figure 4-24) sont plus étendus que lorsque l'oxygène est en excès. Ceci est notamment vrai pour le panache CL4 qui semble plus affecté par les limitations en oxygène que le panache CL5, étant donné son taux de biodégradation plus important. Une croissance bactérienne de la population X^4 (Cas A2, Figure 4-25) a lieu dans la zone adjacente à la source et à la périphérie du panache de CL4, là où l'oxygène est disponible. Par contre, aucune croissance n'est observée pour X^5 , probablement par manque d'accepteur d'électrons dans le milieu. La zone de contact entre panaches

(Cas A2, Figure 4-26) est plus étendue que lorsque l'oxygène est en excès. La distribution du paramètre $R_{5/4}$ dans la zone de contact entre panaches montre des valeurs de ce paramètre du domaine II qui dominent cette zone. Dans ce domaine, la concentration des deux classes de contaminants est relativement proche et les interactions (s'il y a lieu) induites par l'un ou l'autre des contaminants ou les interactions mutuelles peuvent être significatives.

T=1200j

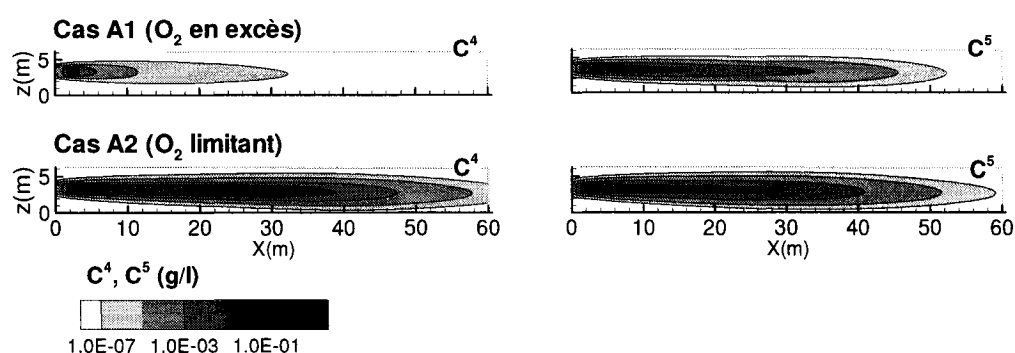


Figure 4-24 Panaches de contamination des deux classes de contaminants CL4 et CL5, pour les Cas A1 et A2, où la biodégradation a lieu sans interactions.

T=1200j

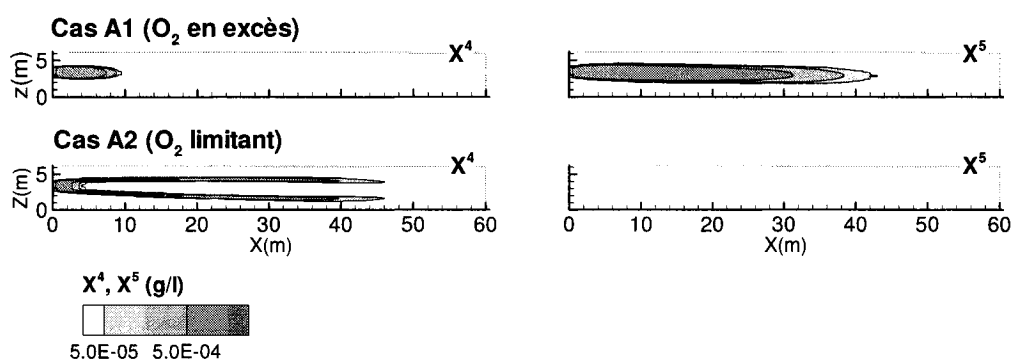


Figure 4-25 Distribution des concentrations des populations bactériennes dégradatrices de CL4 et CL5 (X^4 et X^5) dans le Cas A1 et Cas A2 où la biodégradation a lieu sans interactions.

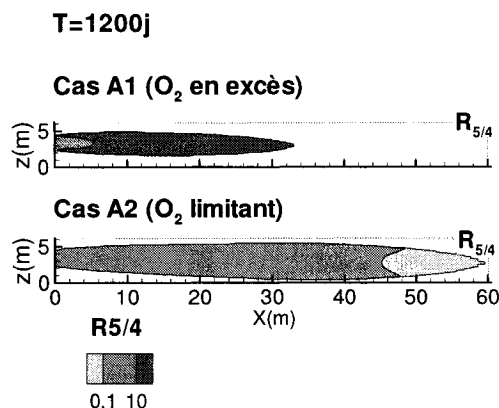


Figure 4-26 Distribution des valeurs du paramètre $R_{5/4}$ dans le Cas A1 et Cas A2 où la biodégradation a lieu sans interactions.

La distribution du rapport des concentrations $R_{j/i}$ a permis jusqu'ici de distinguer quelles interactions pourraient être significatives dans la zone où les panaches sont en contact. En simulant la biodégradation des contaminants en tenant compte des interactions, la distribution du rapport des concentrations permettra d'indiquer l'effet résultant de l'interaction dans l'aquifère. L'effet de l'interaction va effectivement avoir lieu dans la zone où les panaches sont en contact. Une zone de contact plus étendue pourrait suggérer une accumulation des contaminants sous l'effet des interactions et une zone plus réduite pourrait suggérer une amélioration de l'enlèvement. Les différents domaines de cette zone permettront d'indiquer les contaminants qui persistent dans la zone de contact entre panaches.

4.3.3.2 Effet de l'inhibition

L'effet de l'inhibition sera analysé en comparant les résultats des simulations des Cas A1 et A2 où la biodégradation a lieu sans interactions, à trois autres cas de simulations. Dans le premier cas de simulation (Cas B1, B2) CL4 est considéré inhibé par CL5. Dans le deuxième cas de simulation CL5 est considéré inhibé par CL4 (Cas C1, C2). Dans un dernier cas de simulation CL4 et CL5 sont supposés s'inhiber mutuellement (Cas D1, D2). Ces mêmes simulations seront réalisées dans le cas où l'oxygène est en excès dans le milieu et dans le cas où il est limitant.

4.3.3.2.1 Cas de l'oxygène en excès

Les résultats des simulations des cas d'inhibition en présence d'oxygène en excès, pour le jour 1200 de simulation sont représentés sur la Figure 4-27, la Figure 4-28 et la Figure 4-30.

La Figure 4-27 montre les panaches de contamination des classes CL4 et CL5 pour les différents cas de simulation. La Figure 4-28 montre la croissance bactérienne des populations dégradatrices des deux classes de contaminants. La Figure 4-30 montre la distribution du paramètre $R_{5/4}$ indiquant la répartition relative des deux classes de contaminants dans l'aquifère.

Lorsque CL5 inhibe CL4 (Cas B1), la Figure 4-27 montre que le panache de CL4 est presque deux fois plus étendu qu'en absence d'inhibition (Cas A1) et de plus grande épaisseur selon Z. La croissance de la population bactérienne X^4 dégradatrice de CL4 (Cas B1, Figure 4-28), a lieu là où la concentration de CL4 est relativement élevée (10^{-3} à 10^{-5} g/l), excepté dans la zone près de la source où la concentration de l'inhibiteur CL5 est la plus élevée, et où la croissance de X^4 est inhibée par CL5.

Lorsque CL5 est inhibé par CL4 (Cas C1), la Figure 4-27 montre que le panache de CL5 est légèrement plus long et plus épais que dans le Cas A1 où la biodégradation a lieu sans interactions. L'effet de l'inhibition de CL5 est surtout visible près de la source au niveau des contours les plus concentrés du panache, là où les concentrations de l'inhibiteur CL4 sont les plus élevées. Ceci étant, l'inhibition de CL5 par CL4 semble avoir moins d'effet sur le panache que l'inhibition de la classe CL4 par CL5. Ceci est dû au fait que le taux de biodégradation de l'inhibiteur est supérieur à celui de la classe inhibée, son effet reste donc relativement limité. La réparation de la population X^5 (Cas C1, Figure 4-28) est semblable à celle observée sans interactions (Cas A1), excepté dans la zone adjacente à la source où la croissance de X^5 semble inhibée par les concentrations élevées de CL4.

Lorsque CL4 et CL5 s'inhibent mutuellement (Cas D1), la Figure 4-27 montre que le panache CL4 est deux fois plus étendu et plus épais qu'en absence d'interactions. Le panache de CL5 semble plus étendu qu'en absence d'inhibition mais l'effet observé semble moins significatif (que pour le panache de CL4) et concerne notamment la zone la plus concentrée du panache. La croissance

bactérienne de X^4 est peu significative (Cas D1, Figure 4-28), a lieu en aval du panache de CL4 là où la concentration de l'inhibiteur CL5 commence à s'atténuer. Aucune croissance bactérienne n'est observée pour la population X^5 , même là où la concentration de CL4 est faible, puisque la concentration de CL5 l'est aussi et ne permet pas suffisamment de croissance.

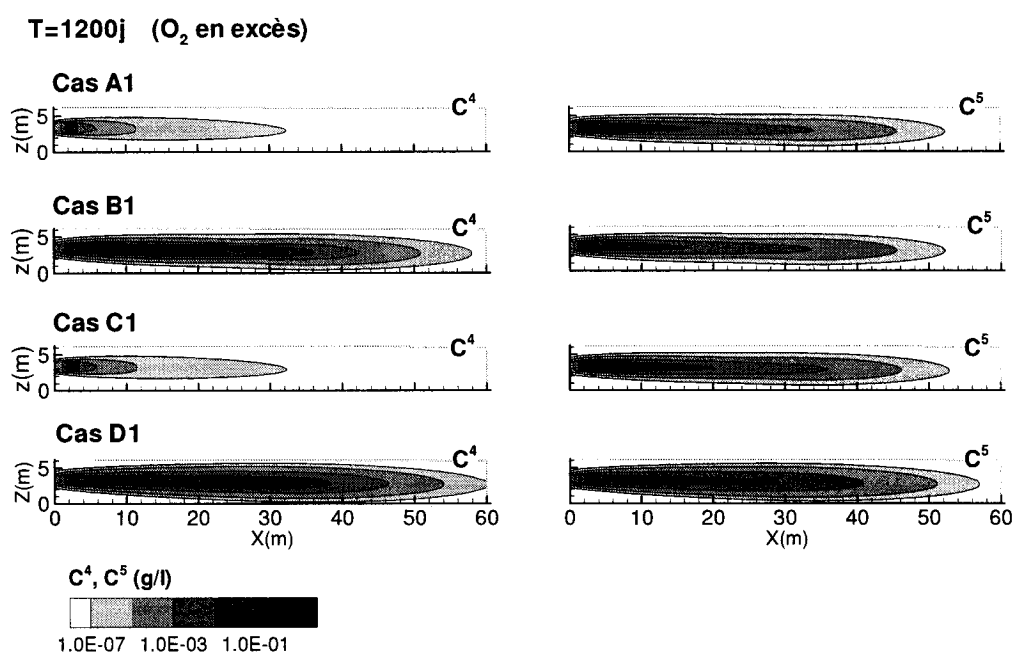


Figure 4-27 Panaches de contamination des deux classes de contaminants CL4 et CL5, pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7 et dans le cas où O_2 est en excès.

T=1200j (O_2 en excès)

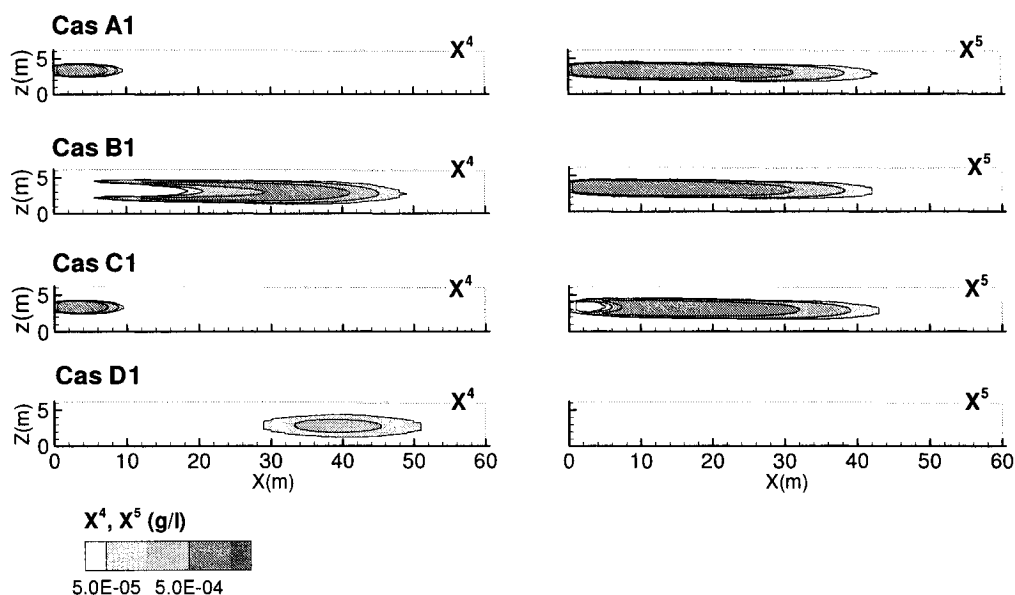


Figure 4-28 Distribution des concentrations des populations bactériennes dégradatrices de CL4 et CL5 (X^4 et X^5) pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7.

La Figure 4-29 montre l'efficacité d'enlèvement Eff en fonction du temps calculée en absence d'interactions (Cas A1) et pour les différents cas d'inhibition (Cas B1, C1, et D1).

En absence d'inhibition (Cas A1) l'efficacité d'enlèvement de la classe CL4 approche les 100% au bout de 1500j de simulation, tandis que celle de CL5 atteint environ 55%. En comparant l'efficacité d'enlèvement obtenue pour les différents cas d'inhibition (Cas B1 à D1), il est possible de constater que l'enlèvement le moins important est observé dans le Cas B1 et D1. Dans le Cas B1, l'efficacité d'enlèvement de CL4 est de l'ordre de 35%, et dans le Cas D1 ce paramètre ne dépasse pas les 5% pour les deux classes. Le point commun entre ces deux cas de simulation est l'inhibition par CL5, dans le Cas B1 l'inhibiteur est la classe CL5 et dans le Cas D1 les deux classes CL4 et CL5 sont inhibitrices l'une de l'autre.

Ce résultat est en accord avec ce que suggère la répartition du rapport $R_{5/4}$ en absence d'interactions. Cette répartition a permis effectivement de supposer que,

lorsque l'O₂ est en excès, les interactions les plus significatives seraient celles induites par la classe CL5 (section 4.3.3.1).

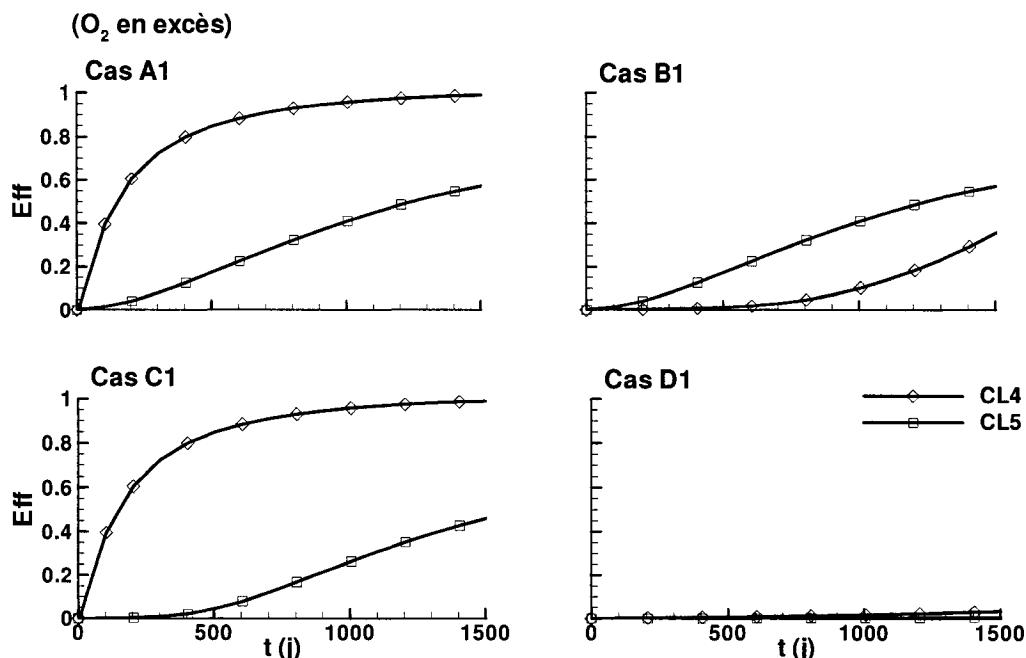


Figure 4-29 Efficacité d'enlèvement des classes CL4 et CL5 pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7 et dans le cas où O₂ est en excès.

La Figure 4-30 montre la répartition du paramètre $R_{5/4}$ résultant des différents cas d'inhibition. Cette répartition permet de montrer la distribution des deux classes de contaminants dans la zone de contact entre panaches compte tenu de l'efficacité d'enlèvement observée.

Il est possible de voir dans les Cas B1 et D1, où l'inhibition a le plus d'effet, la persistance des deux classes de contaminants dans la zone de contact entre panaches. Cette accumulation des contaminants dans le Cas B1 est caractérisée par une zone où la classe CL4 est plus abondante en aval de la zone de contact et une zone en amont où les deux classes persistent à des concentrations proches. Dans le Cas D1, les deux classes de contaminants persistent aux mêmes niveaux de concentrations dans la zone de contact entre panaches.

T=1200j (O_2 en excès)

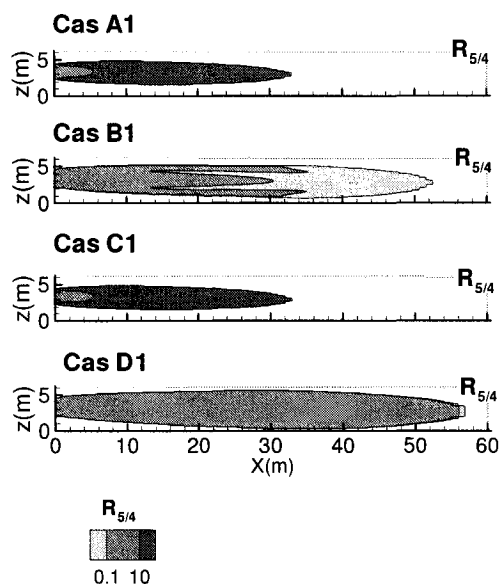


Figure 4-30 Distribution des valeurs du paramètre $R_{5/4}$ pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7 et dans le cas où O_2 est en excès.

4.3.3.2.2 Cas de l'oxygène limitant

Les résultats des simulations des cas d'inhibition lorsque l'oxygène est limitant, pour le jour 1200 de simulation sont représentés sur les figures qui suivent (Figure 4-31 à Figure 4-33).

La Figure 4-31 montre les panaches de contamination des classes CL4 et CL5 pour les différents cas d'inhibition simulés. Lorsque CL4 est inhibé par CL5 (Cas B2), la Figure 4-31 montre que le panache de CL4 n'est pas plus étendu qu'en absence d'inhibition, sa longueur est même légèrement réduite. Par contre, l'épaisseur du panache est plus importante selon Z. La biodégradation de CL4, relativement limitée dans la première moitié du domaine, là où l'inhibiteur CL5 est le plus concentré, semble plus significative en aval du panache, d'où une longueur du panache légèrement réduite. Le panache de CL5 semble légèrement moins étendu et moins épais qu'en absence d'inhibition (de la classe CL4), l'oxygène qui était

consommé pour la biodégradation de CL4 est plutôt utilisé pour la biodégradation de CL5.

La croissance bactérienne de X^4 (Cas B2, Figure 4-32) a lieu dans la zone où la concentration de l'inhibiteur CL5 commence à s'atténuer, dans la deuxième moitié du domaine. Ceci libère suffisamment d'oxygène pour la croissance de la population X^5 dans la première moitié du domaine.

Lorsque CL5 est inhibé par CL4 (Cas C2), la Figure 4-31 montre que les panaches de CL4 et CL5 sont semblables à ceux observés en absence d'inhibition (Cas A2). La croissance de la population X^4 (Cas C2, Figure 4-32) est la même que dans le Cas A2, celle de X^5 est complètement inhibée.

Lorsque CL4 et CL5 s'inhibent mutuellement (Cas D2), la Figure 4-31 montre que les panaches de CL4 et CL5 sont légèrement moins étendus qu'en absence d'interactions, mais de plus grande épaisseur. L'effet de l'inhibition mutuelle est plus significatif dans la zone adjacente à la source où les concentrations des classes de contaminants sont plus importantes. Par contre, cette inhibition de la biodégradation près de la source libère de l'oxygène pour que la biodégradation ait lieu à l'extrémité des deux panaches. La croissance bactérienne de X^4 (Cas D2, Figure 4-32) a lieu en aval du panache de CL4 là l'inhibition par CL5 est moins significative, celle de la population X^5 semble complètement inhibée.

T=1200j (O₂ limitant)

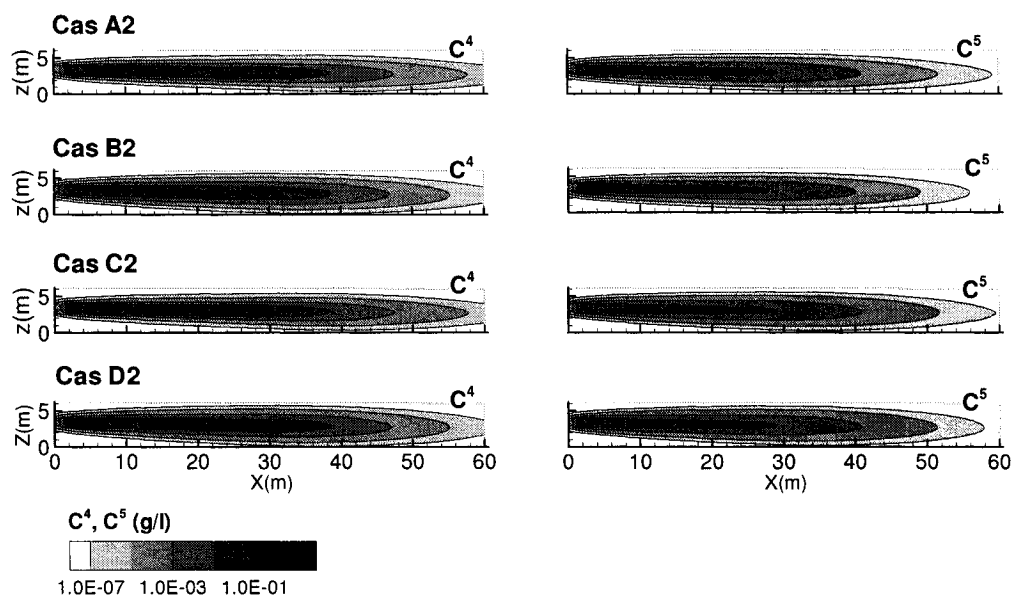


Figure 4-31 Panaches de contamination des deux classes de contaminants CL4 et CL5, pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7 et dans le cas où O₂ est limitant.

T=1200j (O₂ limitant)

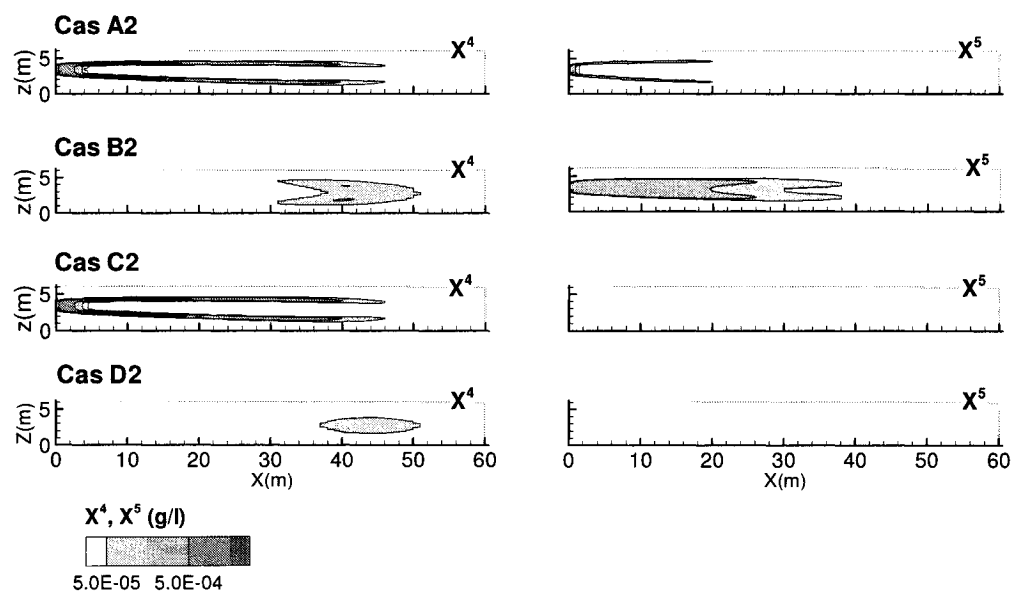


Figure 4-32 Distribution des concentrations des populations bactériennes dégradatrices de CL4 et CL5 (X⁴ et X⁵) pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7.

La distribution de la concentration d'oxygène dans l'aquifère pour le cas où la biodégradation a lieu sans interactions (Cas A2), et pour les différents cas d'inhibition simulés (Cas B2 à D2) est montrée sur la Figure 4-33. Il est possible de constater que la consommation d' O_2 est la plus importante lorsque CL4 ne subit aucune inhibition (Cas A2, C2). En l'occurrence, la concentration d'oxygène dans la zone qui correspond à l'intérieur du panache de CL4 est presque nulle. Cette consommation significative d'oxygène est due aux taux de biodégradation plus élevés de CL4 et qui ont pour effet de limiter la biodégradation de la classe CL5. Par contre, lorsque CL4 se trouve être inhibée (cas B2), les concentrations d'oxygène sont plus importantes dans la zone intérieure des panaches, ceci est lié au taux de biodégradation relativement faible de CL5. Lorsque CL4 et CL5 s'inhibent mutuellement, la concentration d'oxygène dans la zone des panaches (6 mg/l) est à peine moins importante que la concentration dans l'aquifère (8 mg/l), suggérant une faible activité de biodégradation dans le milieu.

T=1200j (O_2 limitant)

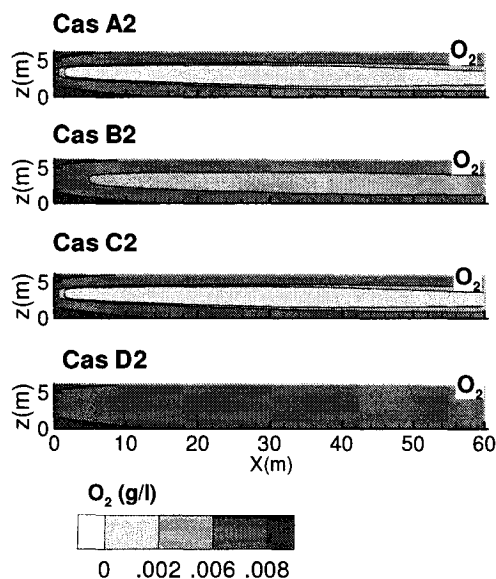


Figure 4-33 Distribution des concentrations de l'oxygène dans l'aquifère pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7 et dans le cas où O_2 est limitant.

La Figure 4-34 montre l'efficacité d'enlèvement Eff en fonction du temps calculée en absence d'interactions (Cas A2) et pour les cas d'inhibition simulés (Cas B2 à D2) lorsque l'oxygène est limitant.

En absence de toute inhibition (Cas A2), l'efficacité d'enlèvement de la classe CL4 atteint 20% au maximum, celle de la classe CL5 est inférieure à 5%. L'enlèvement des contaminants est donc relativement faible, sans l'effet de l'inhibition.

Une comparaison de Eff calculée pour les différents cas d'inhibition (Cas B2 à D2), montre que l'inhibition présente un effet visible dans les Cas B2 et D2 qui ont en commun l'effet d'inhibition de la classe CL4 par la classe CL5 la plus persistante. Ce résultat est celui qui a été également observé lorsque l'oxygène est en excès dans le milieu. La seule différence réside dans le Cas B2 où l'effet observé concerne non seulement l'enlèvement de la classe inhibée (CL4) mais également l'enlèvement de la classe inhibitrice (CL5). En effet, comme attendu, l'enlèvement de la classe inhibée diminue, mais celui de la classe inhibitrice augmente.

Ce résultat est en accord avec la répartition du rapport $R_{5/4}$ en absence d'interactions et lorsque l' O_2 est limitant (Cas A2, Figure 4-26). Cette répartition suggérait que l'effet de l'une ou l'autre des classes ou celui des deux pouvait être significatif. Ce résultat reste avant tout en accord avec la répartition du rapport $R_{5/4}$ en absence d'interactions et lorsque l'oxygène est en excès (Cas A1, Figure 4-26) et qui suggérait un effet plus significatif de la classe CL5 la plus persistante.

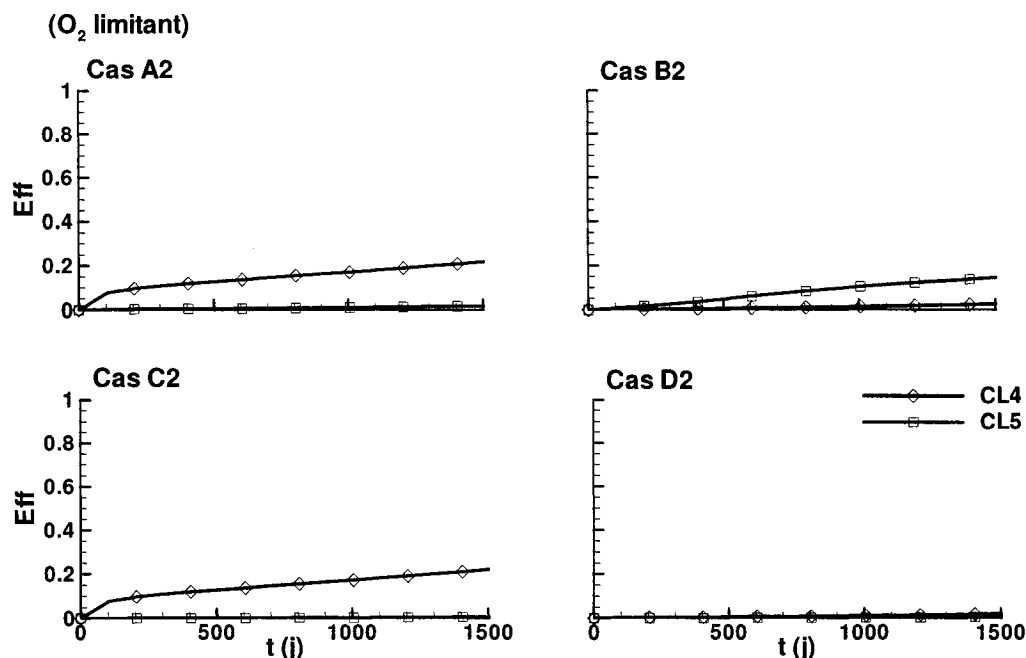


Figure 4-34 Efficacité d'enlèvement des classes CL4 et CL5 pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7 et dans le cas où O₂ est limitant.

La Figure 4-35 montre la répartition du paramètre $R_{5/4}$ résultant des différents cas d'inhibition (Cas B2 à D2), comparée à celle observée en absence d'inhibition (Cas A2). Cette distribution montre la répartition des deux classes de contaminants dans la zone de contact entre panaches due à l'inhibition subie.

La distribution du rapport $R_{5/4}$ montre peu de variations par rapport à la situation où la biodégradation a lieu sans inhibition (Cas A2). Par contre, il est possible de voir que l'inhibition présente plus d'effet sur la persistance des classes de contaminant dans le Cas D2. En effet, une répartition de $R_{5/4}$ du domaine II, où les concentrations de CL4 et CL5 sont proches, domine la zone de contact entre panaches avec des valeurs plus élevées du rapport $R_{5/4}$. De plus, une zone du domaine I apparaît à la périphérie de la zone de contact entre panaches et où la classe CL5 devient plus abondante que CL4.

T=1200j (O₂ limitant)

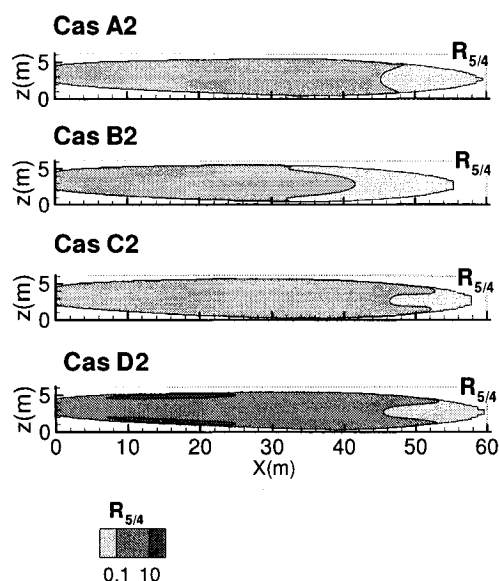


Figure 4-35 Distribution des valeurs du paramètre $R_{5/4}$ pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7 et dans le cas où O₂ est limitant.

4.3.3.3 Effet d'une co-utilisation

L'effet de la co-utilisation sera étudié en comparant deux cas de simulations. Dans le premier cas de simulation (Cas E1, E2), CL4 est co-utilisé avec CL5 lors de sa biodégradation, dans le deuxième cas de simulation (Cas F1, F2) CL5 est co-utilisé en présence de CL4. Cet effet de la co-utilisation sur l'atténuation des panaches de contamination sera étudié en supposant l'oxygène en excès dans l'aquifère, ou encore en supposant qu'il est limitant.

4.3.3.3.1 Cas de l'oxygène en excès

Les résultats des simulations des cas de co-utilisation en présence d'oxygène en excès sont représentés sur les figures qui suivent (Figure 4-36 à Figure 4-39).

La Figure 4-36 montre les panaches de contamination de CL4 et CL5 en absence d'interactions (Cas A1) et pour les différents cas de co-utilisation simulés (Cas E1, F1). Lorsque CL4 est co-utilisé avec CL5 (Cas E1), la Figure 4-36 montre que le panache CL4 est plus réduit en longueur, l'effet de la co-utilisation est plus

visible dans la zone la moins concentrée du panache (en aval du panache CL4). Le taux de biodégradation de CL5 étant plus faible que celui de CL4, la co-utilisation permet l'enlèvement d'une masse relativement réduite de CL4. Son effet est donc visible dans la zone la moins concentrée du panache et reste imperceptible au centre du panache. Le panache de CL5 reste par ailleurs inchangé. La croissance de la population X^4 (Cas E1, Figure 4-37) est similaire à celle observée en absence de co-utilisation et reste confinée dans la zone la plus concentrée du panache de CL4.

Lorsque CL5 est co-utilisé par CL4 (Cas F1), la Figure 4-36 montre que le panache de CL5 est plus réduit en longueur et en épaisseur. L'effet de la co-utilisation touche l'ensemble du panache de la zone la moins concentrée à la zone la plus concentrée. Le panache de CL5 devient pratiquement de même longueur que celui de la classe CL4, qui de part son taux de biodégradation relativement élevé contrôle probablement l'enlèvement de CL5. La croissance bactérienne de X^5 (Cas F1, Figure 4-37) est plus faible que précédemment puisqu'une partie des contaminants de la classe CL5 a pu être transformée en présence de la classe X^4 , et n'a donc pas contribué à la croissance de X^5 .

T=1200j (O_2 en excès)

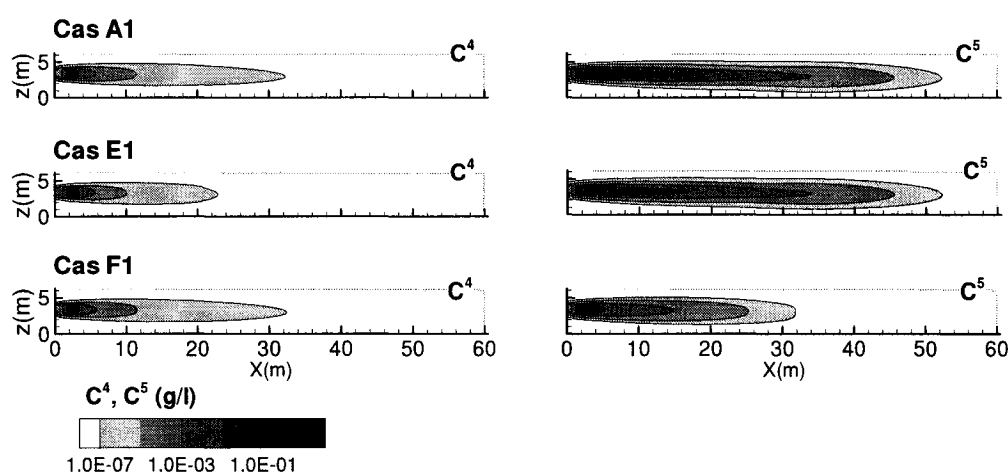


Figure 4-36 Panaches de contamination des deux classes de contaminants CL4 et CL5, pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7 et dans le cas où O_2 est en excès.

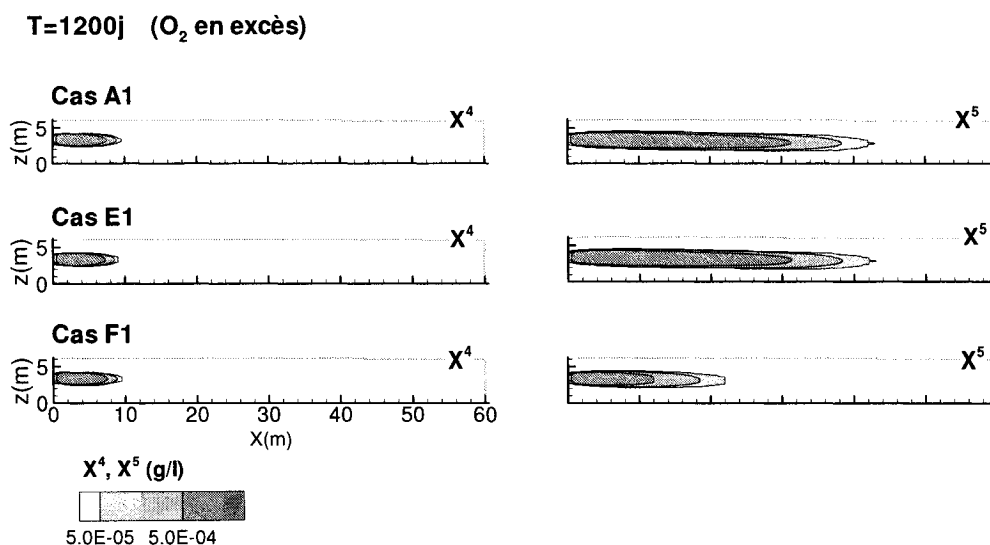


Figure 4-37 Distribution des concentrations des populations bactériennes dégradatrices de CL4 et CL5 (X^4 et X^5) pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7.

La Figure 4-38 montre l'efficacité d'enlèvement Eff en fonction du temps en absence d'interactions (Cas A1) et pour les différents cas de co-utilisation simulés lorsque l'oxygène est en excès (Cas E1 et F1).

En comparant l'efficacité d'enlèvement obtenue pour les deux cas de co-utilisation avec celle observée en absence d'interactions, il est possible de constater que l'enlèvement le plus significatif est observé dans le Cas F1. Il s'agit du cas où la classe CL5 est co-utilisée avec la classe CL4 et où l'effet de la co-utilisation est le plus significatif.

La répartition du rapport $R_{5/4}$ pour le cas de la biodégradation en absence d'interactions (Cas A1, Figure 4-26) montrait une zone dominante où les concentrations de CL5 étaient plus importantes que celles de CL4 et où CL4 était la classe la plus rapidement enlevée des deux. Dans le cas de l'inhibition, cette répartition était interprétée comme un indicateur d'un effet d'interaction plus significatif pouvant être exercé par la classe CL5 la plus persistante. Dans le cas d'une co-utilisation, il semble que cette répartition (en absence d'interactions) indique un effet contraire à celui suggéré dans le cas d'une inhibition. En effet, contrairement à l'inhibition c'est la classe de contaminants la moins persistante dans

la zone de contact entre panaches (en absence d'interactions) qui présente les effets les plus significatifs dans le cas d'une co-utilisation (Cas F1, Figure 4-38). Les résultats observés dans ces simulations sont en accord avec ce que suggère la répartition du rapport $R_{5/4}$ en absence d'interactions à condition de tenir compte de la nature de l'interaction qui est en jeu.

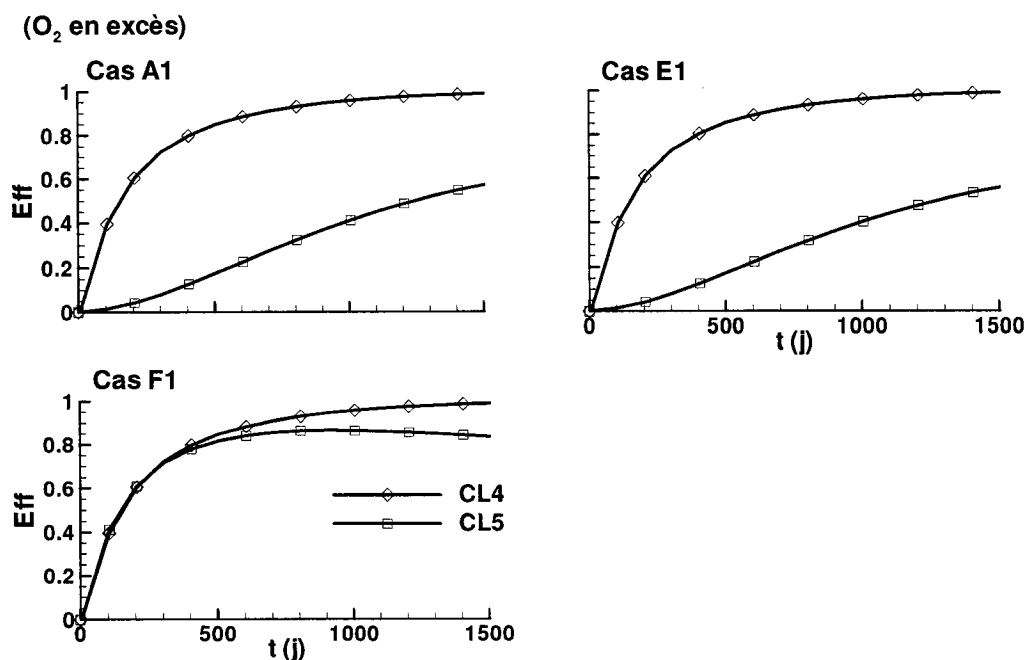


Figure 4-38 Efficacité d'enlèvement des classes CL4 et CL5 pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7 et dans le cas où O₂ est en excès.

La Figure 4-39 montre la répartition du paramètre $R_{5/4}$ résultant des deux cas de co-utilisation simulés. Cette répartition permet de montrer la distribution des deux classes de contaminants dans la zone de contact entre panaches compte tenu de l'enlèvement observé. Il est possible de voir que les Cas E1 et F1 simulés, la répartition $R_{5/4}$ reste similaire à celle observée en absence d'interactions (Cas A1) avec une surface dominante où la classe CL5 est plus abondante (domaine I). Par contre, dans le cas E1 où l'effet de la co-utilisation est peu significatif, la zone de contact entre panaches est moins étendue que dans le cas F1 où l'effet de la co-utilisation sur l'enlèvement est plus important (Figure 4-38). En l'occurrence, une

diminution de la surface de la zone de contact sous l'effet de l'interaction n'est pas indicatrice d'un enlèvement plus important de la masse totale de contaminants.

T=1200j (O_2 en excès)

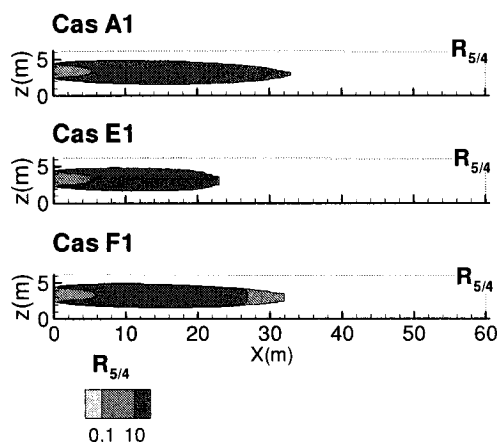


Figure 4-39 Distribution des valeurs du paramètre $R_{5/4}$ pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7 et dans le cas où O_2 est en excès.

4.3.3.3.2 Cas de l'oxygène limitant

Les résultats des simulations des cas de co-utilisation lorsque l'oxygène est limitant sont représentés sur les figures qui suivent (Figure 4-40 à Figure 4-42).

Lorsque CL4 est co-utilisé avec CL5 (Cas E2), la Figure 4-40 montre que les panaches sont semblables à ceux observés en absence d'interaction (Cas A1). A cause de la limitation en oxygène, l'effet de la co-utilisation due à la classe CL5, dont le taux de biodégradation était déjà relativement faible, devient insignifiant. La croissance bactérienne de la population X^4 (Cas E2, Figure 4-41) est semblable à celle observée en absence de co-utilisation (Cas A2, Figure 4-41).

Lorsque CL5 est co-utilisé avec CL4 (Cas F2, Figure 4-40), le panache de CL5 est pratiquement de même longueur qu'en absence d'interaction (Cas A2) mais de plus faible épaisseur. La croissance bactérienne de X^5 (Cas F2, Figure 4-41) est moins significative que précédemment, signe qu'une partie de la biodégradation dont était responsable X^5 n'a plus lieu à la périphérie. Cette biodégradation est prise en charge par la co-utilisation.

T=1200j (O_2 limitant)

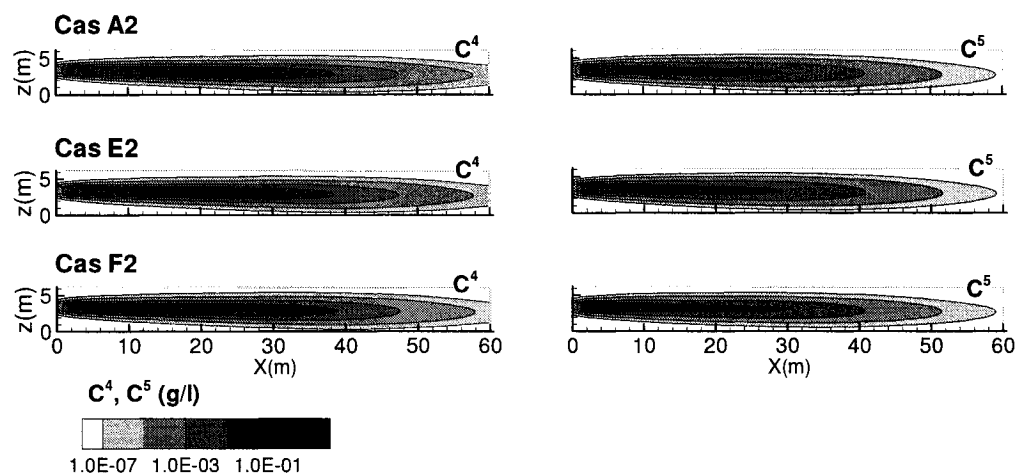


Figure 4-40 Panaches de contamination des deux classes de contaminants CL4 et CL5, pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7 et dans le cas où O_2 est limitant.

T=1200j (O_2 limitant)

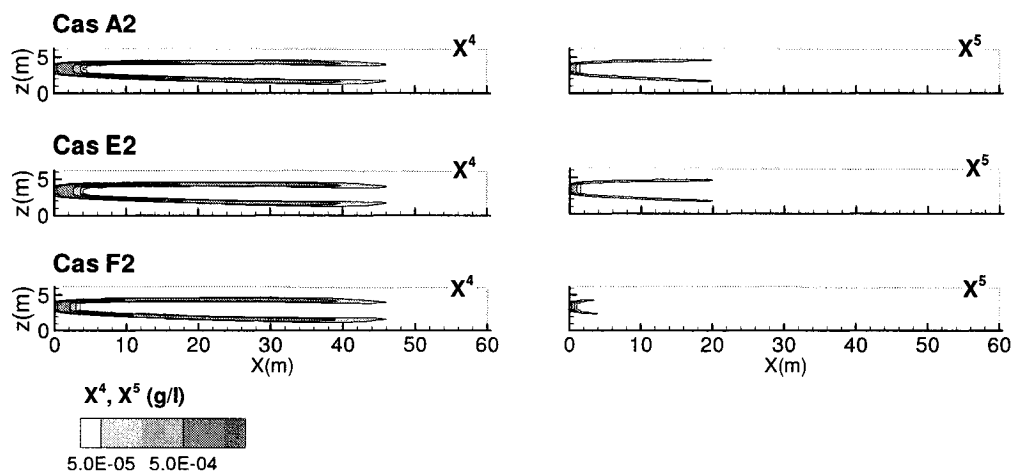


Figure 4-41 Distribution des concentrations des populations bactériennes dégradatrices de CL4 et CL5 (X^4 et X^5) pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7.

La distribution de la concentration d'oxygène, lorsque la biodégradation a lieu sans interactions et dans les différents cas de co-utilisation, est montrée sur la Figure 4-42. Cette figure montre que la consommation d' O_2 est quasiment la même, en absence d'interactions (Cas A2) et dans les deux cas de co-utilisation (Cas E2, F2). Par un mécanisme de compétition entre cinétiques de biodégradation, la même quantité d'oxygène est partagée entre les processus de transformation des contaminants dans les deux cas simulés. Par contre, le processus le plus rapide (processus de biodégradation de CL4 ou bénéficiant d'une co-utilisation avec CL4) est celui qui consomme le plus d'oxygène dans le milieu.

T=1200j (O_2 limitant)

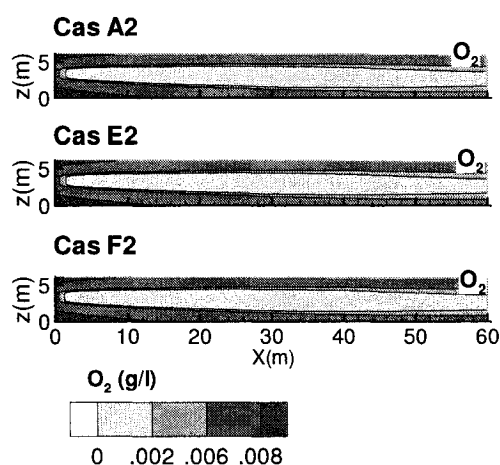


Figure 4-42 Distribution des concentrations d'oxygène dans l'aquifère pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7 et dans le cas où O_2 est limitant.

La Figure 4-43 montre l'efficacité d'enlèvement Eff en fonction du temps en absence d'interactions (Cas A2) et pour les deux cas de co-utilisation (Cas E2 et F2) lorsque l'oxygène est limitant. Lorsque CL4 est co-utilisé avec CL5 (Cas E2), l'efficacité d'enlèvement est équivalente à celle observée en absence d'interactions (avec un maximum de 22%). Lorsque CL5 est co-utilisé lors de la biodégradation de CL4 (Cas F2), l'efficacité d'enlèvement de CL5 augmente et atteint pratiquement les 10%, celle de CL4 diminue jusqu'autour de 15%.

Ce résultat est similaire à celui observé lorsque l'oxygène est en excès dans le milieu, avec un effet de la co-utilisation qui n'est visible que dans le Cas F2 où la classe CL5 est co-utilisée avec la classe CL4 la moins persistante. Par contre, une différence peut être notée par rapport à la situation où O_2 est en excès. Dans le Cas F2 présent, l'enlèvement de la classe co-utilisée augmente comme attendu, mais celui de la classe responsable de la co-utilisation diminue, probablement sous l'effet de la limitation en oxygène dans le milieu.

En effet, la quantité d'oxygène disponible limite la quantité de contaminants enlevée de l'aquifère. Cette quantité d'oxygène se distribue entre les différents processus en fonction de leurs vitesses de réaction. Ainsi, l'importance de l'enlèvement des contaminants concerne une classe de contaminants plus qu'une autre dépendamment de son taux de transformation.

Ce résultat est en accord avec la répartition du rapport $R_{5/4}$ en absence d'interactions et lorsque l' O_2 est limitant (Cas A2, Figure 4-26). Cette répartition suggérerait que l'effet de l'une ou l'autre des classes pouvait être significatif. Ce résultat reste avant tout en accord avec la répartition du rapport $R_{5/4}$ en absence d'interactions et lorsque l'oxygène est en excès (Cas A1, Figure 4-26) et qui suggérerait un effet plus significatif de la classe CL4 la moins persistante dans le cas d'une co-utilisation.

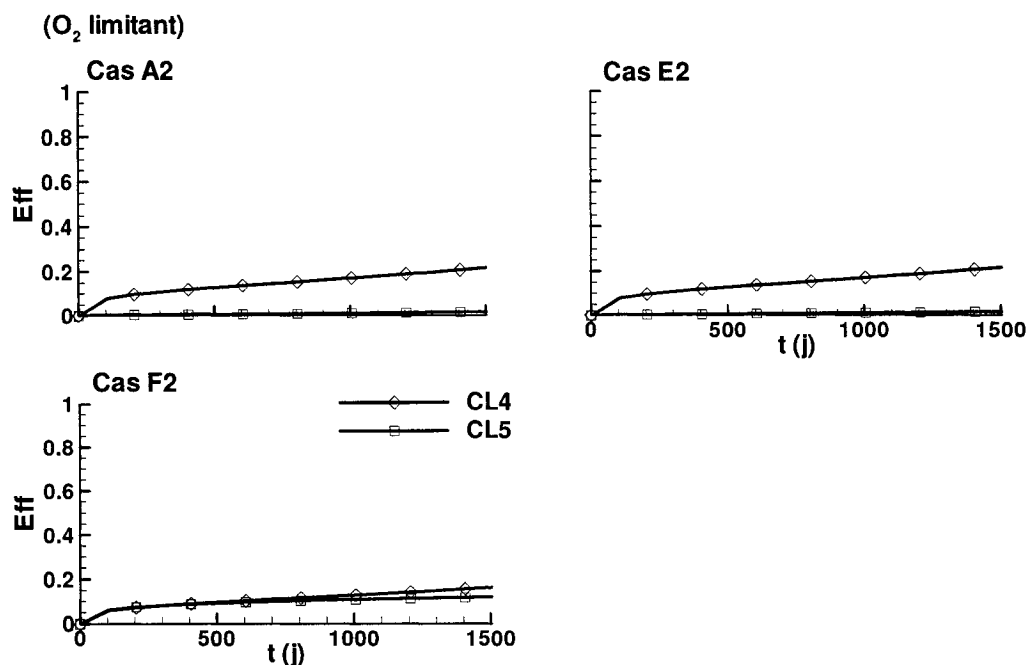


Figure 4-43 Efficacité d'enlèvement des classes CL4 et CL5 pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7 et dans le cas où O_2 est limitant.

La Figure 4-44 montre la répartition du paramètre $R_{5/4}$ dans les deux cas de co-utilisation. Cette répartition permet de montrer la distribution des deux classes de contaminants dans la zone de contact entre panaches compte tenu de l'enlèvement observé. Il est possible de constater que la co-utilisation donne lieu à une zone de contact entre panaches qui est de longueur similaire à celle observée en absence de co-utilisation (Cas A2). Par contre, l'épaisseur de cette zone dans le Cas F2 est légèrement moins importante que celle observée dans le Cas E2 ou encore en absence de co-utilisation. Ceci est lié au fait que la limitation en O_2 , engendre une biodégradation qui est plus significative à la périphérie des panaches (notamment si l'effet de la co-utilisation est important) et là où l'oxygène est disponible.

La zone de contact entre panaches dans le Cas F2, où CL5 est co-utilisé avec CL4, est par ailleurs dominée par une surface où les concentrations de ces classes sont relativement proches (domaine II) avec une aire où CL4 est plus abondante en aval de la zone de contact.

T=1200j (O₂ limitant)

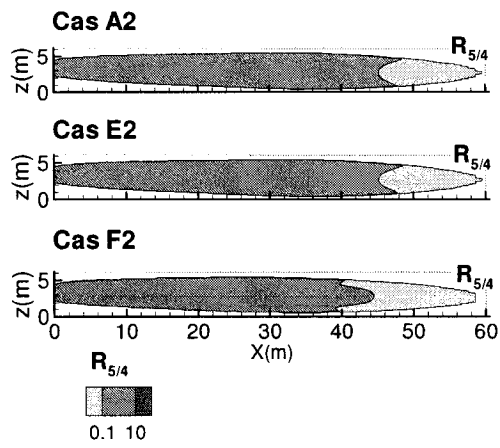


Figure 4-44 Distribution des valeurs du paramètre $R_{5/4}$ pour les simulations décrites dans le Tableau 4-7 et dans le cas où O₂ est limitant.

4.3.3.4 Conclusions

L'influence des interactions sur la répartition d'un mélange binaire de deux classes de contaminants dissous à partir d'une PLNA et sur son enlèvement de l'aquifère a été analysée par la modélisation. Ceci a été réalisé en simulant l'écoulement et le transport couplé à la biodégradation en considérant les hypothèses suivantes : milieu homogène, écoulement saturé permanent, dissolution à l'équilibre avec absence d'effets de densité, biodégradation en présence d'un seul accepteur d'électrons dans le milieu.

La notion de classes de contaminants a été introduite dans cette étude afin de regrouper les contaminants ayant les mêmes caractéristiques de dissolution à la source. Ainsi, les conclusions qui concernent deux classes de contaminants concernent également les contaminants qu'ils représentent.

Le mélange binaire sur lequel l'étude a porté est constitué de deux classes de contaminants de coefficients de partition de même ordre de grandeur et par conséquent de mobilités équivalentes dans l'aquifère.

Le choix de ce mélange constitue la configuration la plus défavorable pour l'intervention des interactions. Ceci est dû à l'importance du temps de contact entre panaches de contamination et à l'étendue dans l'espace de la surface où le contact entre panaches a lieu. Des paramètres de biodégradation ont été considérés pour ces classes de contaminants résultant en des taux de biodégradation initiaux à un facteur 10 environ l'un de l'autre.

Les interactions dont les effets ont été analysés sont une inhibition entre classes de contaminants, ou une co-utilisation d'une classe de contaminants en présence d'une autre. Ces interactions ont été étudiées en présence d'oxygène comme accepteur d'électrons, mais les effets observés pourraient être transposés à d'autres accepteurs d'électrons. L'effet de ces interactions a été examiné dans le cas où l'accepteur d'électrons est présent de façon abondante dans le milieu ou encore lorsqu'il est limitant. Le cas de figure où l'oxygène est en excès est un cas hypothétique qui vise à examiner l'effet des interactions indépendamment des limitations du milieu en accepteurs d'électrons et à séparer ainsi les effets. Ce cas de figure s'applique, par ailleurs, aux situations où l'accepteur d'électrons (oxygène ou

autre) est introduit dans le milieu (par aération par exemple) dans le but d'améliorer l'enlèvement des contaminants.

Les simulations réalisées ont permis de mettre en évidence que l'effet des interactions en termes d'enlèvement peut être peu significatif, dans certaines situations, et indépendamment de la disponibilité du milieu en accepteur d'électrons :

- Dans le cas d'une inhibition exercée par la classe de contaminants la plus facilement biodégradable.
- Dans le cas d'une co-utilisation exercée par la classe de contaminants la moins facilement biodégradable.

Ainsi, dans la modélisation de l'atténuation naturelle des contaminants, il serait important de considérer les interactions entre contaminants de même mobilité dans l'aquifère, mais plus spécifiquement dans les situations suivantes :

- Dans le cas où la classe de contaminants la moins facilement biodégradable (classe la plus persistante dans la zone de contact entre panaches en absence d'interactions) est responsable d'une inhibition.
- Dans le cas où la classe de contaminants la plus facilement biodégradable (classe la moins persistante dans la zone de contact entre panaches en absence d'interactions) est responsable d'une co-utilisation.

Par ailleurs, la prise en compte de la disponibilité de l'accepteur d'électrons est essentielle puisqu'elle implique un effet des interactions qui est différent selon la situation. Lorsque l'accepteur d'électron est disponible de façon abondante, l'effet de l'interaction se reflète uniquement sur l'élément qui subit cette interaction. Par contre, lorsque l'accepteur d'électrons est limitant, les interactions affectent aussi bien l'élément subissant l'interaction que l'élément responsable de cette interaction. En effet, la modification de la distribution de l'accepteur d'électrons entre les différents processus de biodégradation sous l'effet des interactions, affecte la biodégradation de l'élément responsable de l'interaction. Ainsi, l'enlèvement de l'inhibiteur augmente par une plus grande disponibilité de l'accepteur d'électrons, moins utilisé par l'élément inhibé. Par ailleurs, l'enlèvement de l'élément

responsable de la co-utilisation diminue par une plus faible disponibilité de l'accepteur d'électrons, plus utilisé par l'élément co-utilisé.

CHAPITRE V Conclusions et recommandations

La contamination des eaux souterraines par la créosote constitue une problématique environnementale étant donnée la toxicité de ses contaminants. Son potentiel de biodégradation en conditions aérobies, laisse entrevoir une perspective d'atténuation naturelle dans les eaux souterraines par voie biologique, mais qui nécessite une meilleure compréhension des mécanismes qui entrent en jeu. En effet, la biodégradation des contaminants de la créosote est potentiellement exposée à des interactions entre voies de biodégradation qui influencent l'enlèvement des contaminants. Il est donc important d'identifier ces interactions notamment en conditions anoxiques, puisque les eaux souterraines sont pauvres en oxygène et constituent des environnements propices à une biodégradation dans d'autres conditions redox. Cette connaissance des interactions permet de mieux comprendre les situations où ces interactions peuvent avoir lieu sur le terrain et leurs impacts sur l'enlèvement des contaminants.

Cette thèse s'est proposée d'identifier les interactions pouvant avoir lieu entre certains contaminants de la créosote en conditions réductrices de nitrates, d'utiliser ensuite la modélisation comme un outil d'identification des interactions à partir de données de laboratoire. En dernier lieu, cette thèse s'est proposée d'analyser par la modélisation les situations où les interactions peuvent avoir lieu dans un contexte de contamination réelle et de déterminer leur impact sur l'enlèvement des contaminants.

Pour répondre à ces objectifs, cette thèse a mené à la réalisation d'essais de biodégradation pour identifier qualitativement les interactions pouvant intervenir entre contaminants de la créosote en conditions réductrices de nitrates. En deuxième lieu une intégration de nouveaux processus relatifs aux interactions a été réalisée dans le modèle de transport existant BIONAPL. Ce modèle de transport ainsi modifié a été utilisé comme un outil d'identification des interactions vraisemblables à partir de données de biodégradation en colonnes de mélanges de contaminants. Il a permis, en dernier lieu, d'analyser les situations où les interactions entre contaminants

peuvent se produire dans un contexte de contamination réelle d'un milieu aquifère par une source non aqueuse et d'évaluer l'impact de ces interactions.

Des essais préliminaires de biodégradation en batch réalisés avec des contaminants individuels ont montré un potentiel de biodégradation des o- et p-crésol, indole, et carbazole en conditions réductrices de nitrates.

Les essais de biodégradation réalisés selon un plan factoriel pour déterminer les interactions en conditions réductrices de nitrates n'ont pas donné de résultats probants quant à la présence d'interactions entre contaminants de la créosote. Par contre, des effets d'interaction produits par les contaminants de la créosote sur la réduction de nitrates ont été observés :

- Une stimulation de la réduction de nitrates par les composés phénoliques (o-crésol + p-crésol) et une inhibition par les composés hétérocycles (dibenzofurane + dibenzothiophène);
- Une inhibition à court terme et une stimulation à long terme due à une interaction à double facteurs impliquant composés hétérocycles et composés phénoliques ou composés HAP (fluorène + phenanthrène).

Les expériences précédentes devaient permettre de réaliser par la suite des essais en colonnes, mais n'ayant pu obtenir les résultats visés en batch, les essais en colonnes n'ont pas été réalisés. Pour la poursuite de l'étude, d'autres résultats de biodégradation de mélanges de contaminants de la créosote dans des colonnes de sol (par Millette et al., 1998) en conditions aérobies ont été utilisés.

La modélisation de la biodégradation des contaminants lors de leur transport en tenant compte des interactions, a été utilisée comme un outil d'identification des interactions les plus vraisemblables dans ces essais en colonne. La méthodologie adoptée est la suivante :

- Dans une **1^{ère} étape**, une comparaison est réalisée entre les concentrations mesurées des contaminants dans les colonnes et les concentrations obtenues par modélisation de la biodégradation sans interactions. L'accomplissement de cette étape nécessitait la connaissance des paramètres de biodégradation des contaminants individuels, qui ont pu être déterminés par ajustement des résultats de minéralisation en batch de chacun des contaminants.

- Dans une 2^{ème} étape, une modélisation de la biodégradation tenant compte des interactions est réalisée en ajustant les courbes des concentrations mesurées. Cette deuxième étape est réalisée moyennant certaines hypothèses sur les effets d'interaction présents.
- Dans une 3^{ème} étape, la vraisemblance des hypothèses adoptées est évaluée, en se basant sur la capacité du modèle à reproduire les tendances observées, menant ainsi à une validation des effets que la modélisation a pu reproduire, et à l'isolement des effets que le modèle n'a pu prendre en compte.

Cette méthodologie a été appliquée aux données de biodégradation en colonnes de mélange de contaminants de la créosote de Millette et al. (1998) et a permis de mettre en lumière certains effets qui n'ont pu être déduits par ces auteurs :

- Identification des contaminants pouvant être biodégradés sans soutenir de croissance bactérienne (fluorène et carbazole) et ceux dont la biodégradation est accompagnée de croissance bactérienne (phenanthrène).
- Identification, à court terme, d'une inhibition du carbazole par le fluorène (mortalité bactérienne), d'une inhibition mutuelle entre carbazole et phenanthrène (retard du début de la biodégradation), d'une co-utilisation du carbazole et fluorène par le phenanthrène ou ses métabolites (avec effet de compétition).
- Identification, à long terme, d'une mortalité de la population bactérienne dégradatrice de carbazole en présence de fluorène ou de phenanthrène.

L'analyse des situations où les interactions entre contaminants peuvent se produire dans les conditions du terrain a été ensuite réalisée. Ceci a été mis en œuvre via la modélisation d'une contamination hypothétique d'un aquifère, causée par une source liquide non-aqueuse constituée d'un mélange binaire de classes de contaminants de la créosote. Des paramètres d'analyse ont été définis afin de caractériser les situations où des interactions peuvent avoir lieu et afin de mesurer l'impact de ces interactions.

L'analyse des situations où les interactions peuvent avoir lieu a été réalisée en absence de biodégradation, et a mené aux résultats suivants :

- Le coefficient de retard des contaminants présents à la source (ou leur mobilité) est l'élément qui contrôle la disposition des panaches dans l'aquifère et la surface où ils sont en contact. Cette surface définit la zone de l'espace où les interactions sont susceptibles d'avoir lieu. Plus la mobilité des contaminants est proche et plus la situation est favorable à l'intervention des interactions puisqu'elle implique un temps de contact plus élevé et une étendue de la surface de contact entre panaches de contamination plus importante.
- La fraction molaire initiale des contaminants à la source a peu d'effets sur la superficie de la zone où les panaches sont en contact, mais influence la distribution relative des contaminants dans cette zone lorsqu'ils sont de solubilités liquides proches. Dans ce cas, la fraction molaire d'une classe peut influencer l'intervention des interactions, car plus elle est importante à la source et plus la concentration de cette classe est importante sur une plus grande étendue de la zone de contact.
- La masse de contaminants à la source a un impact aussi bien sur la superficie de la zone où les panaches sont en contact que sur la distribution relative des contaminants dans cette zone. Cette masse peut influencer l'intervention des interactions dans la mesure où, plus elle est importante et plus l'étendue de la zone de contact où les interactions risquent d'avoir lieu est importante et plus la concentration des contaminants y est importante.

En tenant compte de la biodégradation influencée par des interactions type inhibition (compétitive) ou co-utilisation (utilisation simultanée), l'analyse a permis d'identifier les situations où l'effet des interactions est peu significatif en termes d'enlèvement. Ceci a lieu dans les situations suivantes :

- Dans le cas d'une inhibition exercée par la classe de contaminants la plus facilement biodégradable (classe la moins persistante dans la zone de contact entre panaches).
- Dans le cas d'une co-utilisation exercée par la classe de contaminants la moins facilement biodégradable (classe la plus persistante dans la zone de contact entre panaches).

Ainsi, il serait important de considérer les interactions entre contaminants dans la modélisation de l'atténuation naturelle des contaminants, d'abord lorsqu'ils sont de mobilités similaires dans l'aquifère, mais plus spécifiquement dans les situations suivantes :

- Dans le cas où la classe de contaminants la moins facilement biodégradable (classe la plus persistante dans la zone de contact entre panaches en absence d'interactions) est responsable d'une inhibition.
- Dans le cas où la classe de contaminants la plus facilement biodégradable (classe la moins persistante dans la zone de contact entre panaches en absence d'interactions) est responsable d'une co-utilisation.

Il serait également essentiel de tenir compte des limitations du milieu en accepteur d'électrons puisque cette limitation modifie l'effet des interactions. En effet, en présence d'une limitation en accepteur d'électrons, les interactions affectent également la classe responsable de l'interaction par une modification de la distribution de l'accepteur d'électrons entre les différents processus de biodégradation.

A la base des résultats obtenus dans cette thèse, certaines recommandations sont à proposer pour orienter les recherches à venir. Ces recommandations concernent les volets suivants :

Le volet expérimental

Dans le but de faciliter l'identification des interactions, et faciliter le suivi analytique de la transformation des contaminants :

- Acclimater un sol dans des conditions réductrices de nitrates (6 mois à 1 an) avant son utilisation dans les essais d'identification des interactions entre contaminants de la créosote.
- Caractériser le sol utilisé et réaliser des dénombrements bactériens des dénitrifiants spécifiques pour évaluer l'activité présente dans le sol.

- Réaliser des équilibres du sol avant son utilisation avec une solution contaminée pour saturer les sites d'adsorption ou encore réaliser des essais en colonnes, afin d'améliorer le suivi des concentrations dans la phase aqueuse.

- Réaliser des équilibres du sol pour saturer les sites d'adsorption et l'utiliser dans des essais en batch avec un plus grand volume de sol et un plus faible volume d'eau. Le suivi de la biodégradation est réalisé par des sacrifices et des extractions du sol.

Le volet modélisation

- Améliorer les capacités du modèle en introduisant une population dégradatrice par contaminant et par accepteur d'électrons.

- Étudier l'effet d'autres facteurs (paramètres hydrodynamiques, modes de recharge...) sur la dissolution d'une source de contamination non aqueuse, sur la distribution relative des contaminants dans un aquifère et l'impact des interactions.

- Étudier l'effet des interactions en présence d'un mélange de contaminants plus complexe que binaire à la source et inclure une classe plus persistante pour représenter la fraction non soluble de la source.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AHN I-S, LION LW, SHULER ML. 1996. Microscale-based modeling of polynuclear aromatic hydrocarbon transport and biodegradation in soil. Water Resources Research 51:1-14.
- ALEXANDER M. 1994. Biodegradation and bioremediation. California, USA: Academic Press.
- ALVAREZ PJJ, ANID PJ, VOGEL TM. 1991. Kinetics of aerobic biodegradation of benzene and toluene in sandy aquifer material. Biodegradation 2:43-51.
- AWPA. 1977. Book of Standards. American Wood Preservation Association. AWWA, editor. Bethesda, MD.
- BALKWILL DL, LEACH FR, WILSON JT, MCNABB JF, WHITE DC. 1988. Equivalence of microbial biomass measures based on membrane lipid and cell wall components, adenosine triphosphate, and direct counts in subsurface aquifer sediments. Microbial Ecology 16:73-84.
- BELLGARDT K-H. 1991. Cell models. In: Biotechnology (Volume 4) Measuring, Modeling and Control. Schügerl K, Rehm H-J, Reed G. 2nd edition. Weinheim: VCH Verlag, p 267-298.
- BERGER PD, MAURER RE. 2002. Experimental Design with applications in management, engineering, and the sciences. Belmont, CA. USA: Thomson Learning. 480p.
- BIELEFELDT AR, STENSEL HD. 1999. Modeling competitive inhibition effects during biodegradation of BTEX mixtures. Water Research 33(3):707-714.
- BLACKMAN FF. 1905. Optima and limiting factors. Annals of Botany 19(74):281-293.
- BOLDRIN B, TIEHM A, FRITZSCHE C. 1993. Degradation of phenanthrene, fluorene, fluoranthene, and pyrene by Mycobacterium sp. Applied and Environmental Microbiology 61:357-362.
- BORDEN RC, BEDIENT PB. 1986. Transport of dissolved hydrocarbons influenced by oxygen-limited biodegradation, 1. Theoretical development. Water Resources Research 22:1973-1982.

- BORROK D, FREIN JB, KULPA CF. 2004. Proton and Cd adsorption onto natural bacteria consortia : Testing universal adsorption behavior. Geochimica and Cosmochimica 68:3231-3238.
- BOUCHEZ M, BLANCHET D, BARDIN V, HAESELER F, VANDECASTEELE J-P. 1999. Efficiency of defined stains and of soil consortia in the biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) mixtures. Biodegradation 10:429-435.
- BOUCHEZ M, BLANCHET D, BESNAINOU B, LEVEAU J-Y, VANDECASTEELE J-P. 1997. Kinetic studies of biodegradation of insoluble compounds by continuous determination of oxygen consumption. Journal of Applied Microbiology 82:310-316.
- BRAUNER JS, WIDDOWSON MA. 2001. Numerical simulation of natural attenuation experiment with a petroleum hydrocarbon NAPL source. Ground Water 39(6):939-952.
- BRITTON LJ, GREESON PE. 1987. Methods for the collection and analysis of aquatic biological and microbiological samples. In: In Techniques of Water-Resources Investigations of the US Geological Survey, Book 5. U.S. Geological Survey.
- CASELLAS M, GRIFOLL M, BAYONA J, SOLANAS A. 1997. New metabolites in the degradation of fluorene by *Arthrobacter* sp. strain F101. Applied Environmental Microbiology 63(3):819-826.
- CERNIGLIA CE. 1984. Microbial metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons. Advances in Applied Microbiology 30:31-71.
- CHAMPAGNE P, VAN GEEL PJ, PARKER WJ. 1998. A proposed transient model for cometabolism in biofilm systems. Biotechnology and Bioengineering 60(5):541-550.
- CHANG BV, SHIUNG LC, YUAN SY. 2002. Anaerobic biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbon in soil. Chemosphere 48:717-724.
- CHANG M-K, VOICE TC, CRIDDLE CS. 1993. Kinetics of competitive inhibition and cometabolism in the biodegradation of benzene, toluene, and p-xylene by two *Pseudomonas* isolates. Biotechnology and Bioengineering 41(11):1057-1065.

- CHEN Y-M, ABRIOLA LM, ALVAREZ PJJ, ANID PJ, VOGEL TM. 1992. Modeling transport and biodegradation of benzene and toluene in sandy aquifer material: Comparisons with experimental measurements. Water Resources Research 28(7):1833-1847.
- CHENG L. 1999. Modeling of natural attenuation of creosote constituents of the Borden emplaced source plume [Master thesis]. Germany: University of Tuebingen. 40p.
<http://www.uni-tuebingen.de/geo/msc-aeg/pdf/1999/lirong.pdf>
- CHIANG CY, DAWSON CN, WHEELER MF. 1991. Modeling for in-situ bioremediation of organic compounds in groundwater. Transport in Porous Media 6:667-702.
- CLEMENT TP, SUN Y, HOOKER BS, PETERSEN JN. 1998. Modeling multispecies reactive transport in ground water. Ground Water Monitoring and Remediation 18(2):79-92.
- CONTOIS DE. 1959. Kinetics of bacterial growth: Relationship between population density and specific growth rate of continuous culture. The Journal of General Microbiology 21(1-2):40-49.
- CRIDDLE CS. 1993. The kinetics of cometabolism. Biotechnology and Bioengineering 41(11):1048-1056.
- DAUN G, LENKE H, KNACKMUEß H-J, REUEß M. 1999. Experimental investigations and kinetic models for the cometabolic biological reduction of trinitrotoluene. Chemical engineering and technology 21(4):308-313.
- DEAN-ROSS D, MOODY J, CERNIGLIA CE. 2002. Utilization of mixtures of polycyclic aromatic hydrocarbons by bacteria isolated from contaminated sediment. FEMS Microbiology Ecology 41:1-7.
- DOHERTY J. 2004. PEST, Model-independent Parameter Estimation, User manual. 5th edition.: <http://www.sspa.com/pest>.
- DOROFYEV AG, PANIKOV NS. 1994. Mass-balance technique for determining of intracellular pool of respiratory substrates. Microbiology (Mikrobiologiya) 63(5).
- DURANT ND, JONKERS CAA, WILSON LP, BOUWER EJ. 1995a. Enhanced biodegradation of naphthalene in MGP aquifer microcosms. In: Intrinsic

- Bioremediation. Hinchee RE, Wilson JT, Downey DC. Columbus, Ohio: Battelle Press. p 189-196.
- DURANT ND, WILSON LP, BOUWER EJ. 1995b. Microcosms studies of subsurface PAH-degrading bacteria from a former manufactured gas plant. Journal of Contaminant Hydrology 17:213-237.
- DYREBORG S, ARVIN E, BROHOLM K. 1996a. Effects of creosote compounds on the aerobic biodegradation of benzene. Biodegradation 7:191-201.
- DYREBORG S, ARVIN E, BROHOLM K. 1996b. The influence of creosote compounds on the aerobic degradation of toluene. Biodegradation 6:97-107.
- DYREBORG S, ARVIN E, BROHOLM K. 1997a. Biodegradation of NSO-compounds under different redox-conditions. Journal of Contaminant Hydrology 25:177-197.
- DYREBORG S, ARVIN E, BROHOLM K. 1997b. Concomitant aerobic biodegradation of benzene and thiophene. Environmental Toxicology and Chemistry 17(5):851-858.
- DYREBORG S, ARVIN E, BROHOLM K, CHRISTENSEN J. 1996c. Biodegradation of thiophene, benzothiophene, and benzofuran with eight different primary substrates. Environmental Toxicology and Chemistry 15(12):2290-2292.
- EL-FARHAN YH, SCOW KM, FAN S, ROLSTON DE. 2000. Kinetics of trichloroethylene cometabolism and toluene biodegradation: Model application to soil batch experiments. Journal of Environmental Quality 29:778-786.
- EL-FARHAN YH, SCOW KM, JONGE LW, ROLSTON DE, MOLDRUP P. 1998. Coupling transport and biodegradation of toluene and trichloroethylene in saturated soils. Water Resources Research 34(3):437-445.
- ELY RL, WILLIAMSON KJ, GUENTHER RB, HYMAN MR, ARP DJ. 1995. A cometabolic kinetics model incorporating enzyme inhibition, inactivation, and recovery: I. Model development, analysis, and testing. Biotechnology and Bioengineering 46(3):218-231.
- ENVIRONMENT CANADA. 1993. Creosote-impregnated Waste Materials. Priority Substances List Assessment Report. Canadian Environmental Protection Act.

http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/alt_formats/hecs-sesc/pdf/pubs/contaminants/psl1-lsp1/creosote/creosote_e.pdf.

- ESSAID HI, BEKINS BA, GODSY EM, WARREN E. 1995. Simulation of aerobic and anaerobic biodegradation processes at a crude oil spill site. Water Resources Research 31(12):3309-3327.
- ESSAID HI, COZZARELLI IM, EGANHOUSE RP, HERKELRATH WN, BEKINS BA, DELIN GN. 2003. Inverse modeling of BTEX dissolution and biodegradation at the Bemidji, MN crude-oil spill site. Journal of Contaminant Hydrology 67:269-299.
- EVANS WC, FERNLEY HN, GRIFFITHS E. 1965. Oxidative metabolism of phenanthrene and anthracene by soil Pseudomonads. Biochemistry Journal 95:819-831.
- FENDINGER NJ, GLOTFELTY DE. 1990. Henry's law constants for selected pesticides, PAHS and PCBS. Environmental Toxicology and Chemistry 9:731-735.
- FERNLEY HNE, GRIFFITHS E, EVANS WC. 1964. Oxidative metabolism of phenanthrene and anthracene by soil bacteria: the initial ring-fission step. Biochemistry Journal 15-16.
- FETZNER S. 1998. Bacterial degradation of pyridine, indole, quinoline and their derivatives under different redox conditions. Applied Microbiology and Biotechnology 49:237-250.
- FLYVBJERG J, ARVIN E, JENSEN BK, OLSEN S. 1993. Microbial degradation of phenols and aromatic hydrocarbons in creosote-contaminated groundwater under nitrate-reducing conditions. Journal of Contaminant Hydrology 12:133-150.
- FREYBERG DL. 1986. A natural gradient experiment on solute transport in a sand aquifer: 2. Spatial moments and the advection and dispersion of nonreactive tracers. Water Resources Research 22:2031-2046.
- FRIND EO, MOLSON JW, SCHIRMER M. 1999. Dissolution and mass transfer of multiple organics under field conditions: The Borden emplaced source. Water Resources Research 35(3):683-694.

- FUKUDA R, OGAWA H, T. N, KOIKE I. 1998. Direct determination of carbon and nitrogen contents of natural bacterial assemblages in marine environments. Applied and Environmental Microbiology 64(9):3352-3358.
- GALLO C, MANZINI G. 2001. A fully coupled numerical model for two-phase flow with contaminant transport and biodegradation kinetics. Communications in Numerical Methods in Engineering 17:325-336.
- GENTHNER BRS, TOWNSEND GT, MUELLER JG. 1997. Persistence of polycyclic aromatic hydrocarbon components of creosote under anaerobic enrichment conditions. Archives of Environmental Contamination and Toxicology 32:99-105.
- GODSY EM, GOERLITZ DF, GRIBIC-GRIBIC D. 1992. Methanogenic biodegradation of creosote contaminants in natural and simulated groundwater ecosystems. Ground Water 30(2):232-242.
- GOERLITZ DF, TROUTMAN DE, GODSY EM, FRANKS BJ. 1985. Migration of wood-preserving chemicals in contaminated groundwater in a sand aquifer at Pensacola, Florida. Environmental Science and Technology 19(10):955-961.
- GRADY CPLJ. 1985. Biodegradation: Its measurement and microbiological basis. Biotechnology and Bioengineering 27:660-674.
- GRADY CPLJ, SMETS BF, BARBEAU DS. 1996. Variability in kinetic parameter estimates: A review of possible causes and a proposed terminology. Water Research 30(3):742-748.
- GRIFOLL M, CASELLAS M, BAYONA JM, SOLANAS AM. 1992. Isolation and characterization of a fluorene-degrading bacterium: identification of ring oxidation and ring fission products. Applied Microbiology and Biotechnology 58:2910-2917.
- GUHA S, JAFFÉ PR. 1996. Determination of Monod kinetic coefficients for volatile hydrophobic organic compounds. Biotechnology and Bioengineering 50:693-699.
- GUHA S, PETERS CA, JAFFÉ PR. 1999. Multisubstrate biodegradation kinetics of naphthalene, phenanthrene, and pyrene mixtures. Biotechnology and Bioengineering 65(5):491-499.

- HACH. 1997. DR/2010 Spectrophotometer Procedures Manual. Loveland, CO: Hach Company.
- HEITKAMP MA, CERNIGLIA CE. 1987. Effects of chemical structure and exposure on the microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in freshwater and estuarine ecosystems. Environmental Toxicology and Chemistry 6:535-546.
- HEITKAMP MA, CERNIGLIA CE. 1988. Mineralization of polycyclic aromatic hydrocarbons by a bacterium isolated from sediment below an oil field. Applied and Environmental Microbiology 54:1612-1614.
- HEITKAMP MA, CERNIGLIA CE. 1989. Polycyclic aromatic hydrocarbon degradation by a Mycobacterium sp. in microcosms containing sediment and water from a pristine ecosystem. Applied and Environmental Microbiology 55:1968-1973.
- HEITKAMP MA, FRANKLIN W, CERNIGLIA CE. 1989. Microbial metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons: isolation and characterization of a pyrene-degrading bacterium. Applied and Environmental Microbiology 54:2549-2555.
- HERTEL RF, ROSNER G, KIELHORN J, MENICHINI E. 1998. Selected non-heterocyclic Polycyclic aromatic hydrocarbons. Environmental health criteria 202. Geneva: World health organization, U.S. EPA.
- HINE J, MOOKERJEE PK. 1975. The intrinsic hydrophilic character of organic compounds. Correlations in terms of structural contributions. Journal of Organic Chemistry 40:292-298.
- HOSEIN SG, MILLETTE D, BUTLER BJ, GREER CW. 1997. Catabolic gene probe analysis of an aquifer microbial community degrading creosote-related polycyclic aromatic and heterocyclic compounds. Microbial Ecology 34:81-89.
- HUTCHINS SR, SEWELL GW, KOVACS DA, SMITH GA. 1991. Biodegradation of aromatic hydrocarbons by aquifer microorganisms under denitrifying conditions. Environmental Science & Technology 25: 68-76

- JOHANSEN SS, ARVIN E, MOSBAEK H, HANSEN AB. 1997. Degradation pathway of quinolines in biofilm system under denitrifying conditions. Environmental Toxicology and Chemistry 16(9):1821-1828.
- KARTHIKEYAN R, BHANDARI A. 2001. Anaerobic biotransformation of aromatic and polycyclic aromatic hydrocarbons in soil microcosms: a review. Journal of Hazardous Substance Research 3:1-19.
- KELLEY I, CERNIGLIA CE. 1995. Degradation of mixture of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by *Mycobacterium* stain PYR-1. Journal of Soil Contamination 4(1):77-91.
- KENEGA EE, GORING CAI. 1980. Relationship between water solubility, soil sorption, octanol-water partitioning, and concentration of chemicals in biota. In: Aquatic toxicology. Parrish PR, Hendricks AC. Philadelphia, PA: American Society for Testing and Materials, ASTM STP 707. p 78-1613.
- KHACHIKIAN C, HARMON TC. 2000. Nonaqueous phase liquid dissolution in porous media: current state of knowledge and research needs. Transport in Porous Media 38:3-28.
- KINDRED JS, CELIA MA. 1989. Contaminant transport and biodegradation 2. Conceptual model and test simulations. Water Resources Research 25(6):1149-1159.
- KING MWG, BARKER JF. 1999. Migration and natural fate of coal tar creosote plume: 1. Overview and plume development. Journal of Contaminant Hydrology 39:249-279.
- KING MWG, BARKER JF, DEVLIN JF, BUTLER BJ. 1999. Migration and natural fate of a coal tar creosote plume: 2. Mass balance and biodegradation indicators. Journal of Contaminant Hydrology 39:281-307.
- KNIGHTES CD, PETERS CA. 2000. Statistical analysis of nonlinear parameter estimation for Monod biodegradation kinetics using bivariata data. Biotechnology and Bioengineering 69:160-170.
- KOVÁROVÁ-KOVAR K, EGLI T. 1998. Growth kinetics of suspended microbial cells: from single-substrate-controlled growth to mixed-substrate kinetics. Microbiology and Molecular Biology Reviews 62(3):646-666.

- KRIVAN V. 2006. The ideal free distribution and bacterial growth on two substrates. Theoretical Population Biology 69:181-191.
- LANGENHOFF AAM, ZEHNER AJB, SCHRAA G. 1996. Behavior of toluene, benzene and naphthalene under anaerobic conditions in sediment columns. Biodegradation 7:267-274.
- LAPAT-POLASKO LT, MCCARTY PL, ZEHNER AJB. 1984. Secondary substrate utilization of methylene chloride by an isolated strain of *Pseudomonas* sp. Applied and Environmental Microbiology 47(4):825-830.
- LICHT D, AHRING BK, ARVIN E. 1996. Effects of electron acceptors, reducing agents, and toxic metabolites on anaerobic degradation of heterocyclic compounds. Biodegradation 7:83-90.
- LINDERFELDT WR. 1994. Field study of capture zones in a shallow sand aquifer [PhD Thesis]. Socorro, New Mexico: New Mexico Institute of Mining and Technology.
- LIU SM, JONES WJ, ROGERS JE. 1994. Influence of redox potential on the anaerobic biotransformation of nitrogen-heterocyclic compounds in anoxic freshwater sediments. Applied Microbiology and Biotechnology 41:717-724.
- LIU SM, KUO CL. 1996. Microbial potential for the anaerobic transformation of simple homocyclic and heterocyclic compounds in sediments of the Tsengwen River, Taiwan. Chemical Ecology 12:41-56.
- MACKAY DM, FREYBERG DL, ROBERTS PV. 1986. A natural gradient experiment on solute transport in a sand aquifer: 1. Approach and overview of plume movement. Water Resources Research 22:2017-2029.
- MACQUARRIE KTB, SUDICKY EA, FRIND EO. 1990. Simulation of biodegradable organic contaminants in groundwater 1. Numerical formulation in principal directions. Water Resources Research 26(2):207-222.
- MAKKAR RS, MITTAL M, ROCKNE KJ. 2003. Novel metabolites of anaerobic naphthalene biodegradation by pure cultures. In Situ and On-Site Bioremediation-2003. Proceedings of the Seventh International In Situ and On-Site Bioremediation Symposium. Orlando, FL: Magar VS, Kelly ME editors. Columbus, OH: Battelle Press.

- MARTIN CA. 2004. Modeling a controlled-sourced, multichemical plume undergoing natural attenuation [Master of Science]: University of Waterloo. Waterloo, Ontario.
- MCCARTY PL, RITTMANN BE, BOUWER EJ. 1984. Microbiological processes affecting chemical transformations in groundwater. In: Groundwater Pollution Microbiology. New York: John Wiley & Sons Inc. p 89-115.
- MCGINNIS GD, BORAZJANI H, MCFARLAND LK, POPE DF, STROBEL DA. 1988. Characterization and laboratory soil treatability studies for creosote and pentachlorophenol sludges and contaminated soil. Ada, Oklahoma: U.S EPA. Report nr EPA/600/2-88/055.
- MCNALLY DL, MIHELCIC JR, LUEKING DR. 1998. Biodegradation of three- and four-ring polycyclic aromatic hydrocarbons under aerobic and denitrifying conditions. Environmental Science and Technology 32(17):2633-2639.
- MEYER S, STEINHART H. 2000. Effects of heterocyclic PAHs (N, S, O) on the biodegradation of typical tar oil PAHs in a soil / compost mixture. Chemosphere 40:359-367.
- MIHELCIC JR, LUTHY RG. 1988. Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbon compounds under various redox conditions in soil-water systems. Applied and Environmental Microbiology 54(4):1182-1187.
- MILLETTE D. 1995. Substrate interaction during aerobic biodegradation of creosote-related compounds in groundwater [PhD thesis]: University of Waterloo. Waterloo, Ontario.
- MILLETTE D, BARKER JF, COMEAU Y, BUTLER BJ, FRIND EO, CLÉMENT B, SAMSON R. 1995. Substrate interaction during aerobic biodegradation of creosote-related compounds: a factorial batch experiment. Environmental Science and Technology 29(8):1944-1951.
- MILLETTE D, BUTLER BJ, FRIND EO, COMEAU Y, SAMSON R. 1998. Substrate interaction during aerobic biodegradation of creosote-related compounds in columns of sandy aquifer material. Journal of Contaminant Hydrology 29:165-183.

- MOLINA M, ARAUJO R, HODSON RE. 1999. Cross-induction of pyrene and phenanthrene in *Mycobacterium* sp. isolated from polycyclic aromatic hydrocarbon river sediments. Canadian Journal Microbiology 45:520-529.
- MOLSON J. 2005. BIONAPL/3D: A 3D model for groundwater flow, multi-component NAPL dissolution and biodegradation. User Guide.
- MOLSON JW, BARKER J, FRIND EO, SCHIRMER M. 2002a. Modelling the impact of ethanol on the persistence of benzene in gasoline-contaminated groundwater. Water Resources Research 38(1):1-12.
- MOLSON JW, FRIND EO, VAN STEMPVOORT DR, LESAGE S. 2002b. Humic acid enhanced remediation of an emplaced diesel source in groundwater. Journal of Contaminant Hydrology 54:277-305.
- MOLSON JW, FRIND EO, VAN STEMPVOORT DR, LESAGE S. 2002c. Humic acid-enhanced remediation of an emplaced diesel source in groundwater 2: Numerical model development and application. Journal of Contaminant Hydrology 54(3-4):277-305.
- MONOD J. 1942. Recherches sur la croissance des cultures bactériennes. Paris: Hermann et Cie.
- MOODY JD, FREEMAN JP, DOERGE DR, CERNIGLIA CE. 2001. Degradation of Phenanthrene and Anthracene by Cell Suspensions of *Mycobacterium* sp. Strain PYR-1. Applied and Environmental Microbiology 67(4):1476-1483.
- MOSER H. 1958. The dynamics of bacterial populations maintained in the chemostat. Washington, DC: The Carnegie Institution, Publication 614.
- MUELLER JG, CHAPMAN PJ, BLATTMANN BO, PRITCHARD PH. 1990. Isolation and characterization of a fluoranthene-utilizing strain of *Pseudomonas paucimobilis*. Applied and Environmental Microbiology 56(4):1079-1086.
- MUELLER JG, CHAPMAN PJ, PRITCHARD PH. 1989. Creosote-contaminated sites. Environmental Science and Technology 23(10):1197-1201.
- NAY M, SNOZZI M, ZEHNER AJB. 1999a. Behavior of chemical contaminants under controlled redox conditions in an artificial sequential soil column system and in batch cultures. Biodegradation 10:405-414.

- NAY M, SNOZZI M, ZEHNER AJB. 1999b. Fate and behavior of organic compounds in an artificial saturated subsoil under controlled redox conditions: the sequential soil column system. Biodegradation 10:75-82.
- NICOL J-P, WISE WR, MOLZ FJ, BENEFIELD LD. 1994. Modeling biodegradation of residual petroleum in a saturated porous column. Water Resources Research 30(12):3313-3325.
- NIES L, JAFVERT CT. 1999. Biodegradation. The Handbook of Groundwater Engineering. 2ème Edition. Delleur jw editor. Boca Raton: CRC Press.
- OH Y-S, SHAREEFDEEN Z, BALTZIS BC, BARTHA R. 1994. Interactions between benzene, toluene, and p-xylene (BTX) during their biodegradation. Biotechnology and Bioengineering 44(4):533-538.
- PAIGEN K, WILLIAMS B. 1970. Catabolite repression and other control mechanisms in carbohydrate utilization. In: Advances in Microbial Physiology. Rose AH, Wilkinson JF. London: Academic Press Inc.
- PANIKOV NS. 1995a. Microbial Growth in soil. In: In Microbial growth kinetics. 1st edition. London, UK: Chapman & Hall.
- PANIKOV NS. 1995b. Microbial growth under homogeneous conditions. In: In Microbial growth kinetics. London, UK: Chapman & Hall.
- PARK KS, SIMS RC, DUPONT R. 1990. Transformation of PAHs in soils systems. Journal of Environmental Engineering 116(3):632-640.
- POWEL EO. 1967. The growth rate of microorganisms as a function of substrate concentration. In: Continuous Cultivation Culture. P.E.O. Salisbury, U. K: H. M. Stationery Office. p 34-55.
- PROMMER H, BARRY DA, DAVIS GB. 1999. A one-dimensional reactive multi-component transport model for biodegradation of petroleum hydrocarbons in groundwater. Environmantal Modelling and Software 14:213-223.
- PYKA W. 1993. Aqueous solubility of coal-tar constituents under equilibrium conditions. Contaminated Soils '93, 4. International KfK/TNO Conference on Contaminated Soil. Berlin, Germany: Arendt F, Annokkee GJ, Bosman R, editors. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publisher. p 549-555.
- RAVEN KG, BECK P. 1990. Coal tar and creosote contamination in Ontario. Subsurface Contamination by Immiscible Fluids, International Conference on

- Subsurface Contamination by Immiscible Fluids. Calgary, Canada: Weyer U, editor. Balkema, Rotterdam: The International Association of Hydrogeologist. p 401-410.
- REARDON KF. 1994. Challenges for *in situ* bioremediation of chemical mixtures. In: Toxicology of chemical mixtures: case studies, mechanisms, and novel approaches. Yang RS-H. San Diego, Calif: Academic Press Inc. p 505-538.
- REARDON KF, MOSTELLER DC, ROGERS JDB. 2000. Biodegradation kinetics of benzene, toluene, and phenol as single and mixed substrates for *Pseudomonas putida* F1. Biotechnology and Bioengineering 69(4):385-395.
- ROCKNE KJ, CHEE-SANFORD JC, SANFORD RA, HEDLUND BP, STALEY JT, STRAND SE. 2000. Anaerobic naphthalene degradation by microbial pure cultures under nitrate-reducing conditions. Applied and Environmental Microbiology 66(4):1595-1601.
- ROCKNE KJ, STRAND SE. 1998. Biodegradation of bicyclic and polycyclic aromatic hydrocarbons in anaerobic enrichments. Environmental Science and Technology 32(24):3962-3967.
- ROCKNE KJ, STRAND SE. 2001. Anaerobic biodegradation of naphthalene, phenanthrene, and biphenyl by denitrifying enrichment culture. Water Research 35(1):291-299.
- ROELS JA. 1982. Energetics and kinetics in biotechnology. New York: Elsevier. 330p.
- ROGERS JB, DUTEAU NM, REARDON KF. 2000. Use of 16S-rRNA to investigate microbial population dynamics during biodegradation of toluene and phenol by binary culture. Biotechnology and Bioengineering 70(4):433-445.
- ROGERS JB, REARDON KF. 2000. Modeling substrate interaction during the biodegradation of mixtures of toluene and phenol by Burkholderia species JS150. Biotechnology and Bioengineering 70(4):428-435.
- SCHIRMER M, BUTLER BJ, ROY JW, FRIND EO, BARKER JF. 1999. A relative least-square technique to determine unique Monod kinetic parameters of BTEX compounds using batch experiments. Journal of Contaminant Hydrology 37:69-86.

- SCHIRMER M, DURRANT GC, MOLSON JW, FRIND EO. 2001. Influence of Transient Flow on Contaminant Biodegradation. Ground Water 39(2):276-282.
- SCHIRMER M, MOLSON JW, FRIND EO, BARKER JF. 2000. Biodegradation modelling of a dissolved gasoline plume applying independent lab and field parameters. Journal of Contaminant Hydrology 46(4):339-374.
- SCHMIDT SK, ALEXANDER M. 1985. Effects of dissolved organic carbon and second substrates on the biodegradation of organic compounds at low concentrations. Applied and Environmental Microbiology 49(4):822-827.
- SCHMIDT SK, SIMKINS S, ALEXANDER M. 1985. Models for the kinetics of biodegradation of organic compounds not supporting growth. Applied and Environmental Microbiology 50(2):323-331.
- SCHOEFS O, JEAN L, ELLERT A, PERRIER M, SAMSON R. 2005. Modeling the kinetics of contaminant biodegradation by a mixed microbial consortium Based on carbon mass balance. Soil and Sediment Contamination 14:171-182.
- SCHROEDER DC. 1987. The analysis of nitrate in environmental samples by reversed-phase HPLC. Journal of Chromatographic Science 25:405-408.
- SEGEL IH. 1975. Enzyme Kinetics. John Wiley & Sons, New York. 957 p.
- SEMPRINI L, MCCARTY PL. 1992. Comparison between model simulations and field results for in-situ bioremediation of chlorinated aliphatics: Part 2. Cometabolic transformations. Ground Water 30(1):37-44.
- SHERWOOD TK, PIGFORD RL, WILKE CL. 1975. Mass transfert. New York: McGraw-Hill.
- SHUI WY, NG ALY, MACKAY DM. 1988. Preparation of aqueous solutions of sparingly soluble organic substances: ii. Multicomponent systems-hydrocarbon mixtures and petroleum products. Environmental Toxicology and Chemistry 7:125-137.
- STRATTON RG, NAMKUNG E, RITTMANN BE. 1983. Secondary utilization of trace organics by biofilms on porous media. Journal AWWA:463-469.

- STRINGFELLOW WT, AITKEN MD. 1995. Competitive metabolism of naphthalene, methylnaphthalenes, and fluorene by phenanthrene-degrading Pseudomonads. Applied and Environmental Microbiology 61(1):357-362.
- SUN Y, PETERSEN JN, CLEMENT TP, HOOKER BS. 1998. Effect of reaction kinetics on predicted concentration profiles during subsurface bioremediation. Journal of Contaminant Hydrology 31:359-372.
- SUTHERLAND JB, FREEMAN JP, SELBY AL, FU PP, MILER DW, CERNIGLIA CE. 1990. Stereoselective formation of k-region dihydrodiol from phenanthrene by *Streptomyces flavovirens*. Archives of Microbiology 154:260-266.
- SUTHERSAN SS. 1999. In situ bioremediation. Remediation engineering: design concept. Suthersan SS editor. Boca Raton: CRC Press LLC.36p.
<http://www2.bren.ucsb.edu/~keller/courses/esm223/SuthersanCh05Bioremediation.pdf>
- SYKES JF, SOYUPAK S, FARQUHAR GJ. 1982. Modeling of leachate organic migration and attenuation in ground waters below sanitary landfills. Water Resources Research 18:135-145.
- TREVORS JT. 1996. Sterilization and inhibition of microbial activity in soil. Journal of Microbiological Methods 26:53-59.
- USEPA. 2000. Inventory of US Greenhouse Gas Emissions and sinks : 1990-2000. Chapter 2.
<http://yosemite.epa.gov/oar/globalwarming.nsf/content/ResourceCenterPublicationsGHGEmissions.html>. 76 p.
- USEPA. 2004. 2004 Edition of the Drinking Water Standards and Health Advisories. EPA 822-R-04-005. Washington, DC: Office of Water.
- USEPA. 2006. Estimaed Henry's law constant. EPA on-line tools for site assessment calculation. U.S. Environmental Protection Agency.
<http://www.epa.gov/athens/learn2model/part-two/onsite/esthenry.htm>.
- VAN HERWIJNEN R, VAN DE SANDE BF, VAN DER WIELEN FWM, SPRINGAEL D, GOVERS HAJ, PARSONS JR. 2003a. Influence of phenanthrene and fluoranthene on the degradation of fluorene and glucose by

- Sphingomonas sp. strain LB126 in chemostat cultures. FEMS Microbiology Ecology 46:105-111.
- VAN HERWIJNEN R, WATTIAU P, BASTIAENS L, DAAL L, JONKER L, SPRINGAEL D, GOVERS HAJ, PARSONS JR. 2003b. Elucidation of the metabolic pathway of fluorene and cometabolic pathways of phenanthrene, fluoranthene, anthracene and dibenzothiophene by Sphingomonas sp. LB126. Research in Microbiology 154:199-206.
- VARGAS C, SONG B, CAMPS M, HÄGGBLOM MM. 2000. Anaerobic degradation of fluorinated aromatic compounds. Applied Microbiology and Biotechnology 53:342-347.
- WADDILL DW, WIDDOWSON MA. 1998. Three-dimensional model for subsurface transport and biodegradation. Journal of Environmental Engineering 124(4):336-344.
- WALTER U, BEYER M, KLEIN J, REHM H-J. 1991. Degradation of pyrene by Rhodococcus sp. UW1. Applied Microbiology and Biotechnology 34:671-676.
- WANG S-J, LOH K-C. 2000. Growth kinetics of *Pseudomonas putida* in cometabolism of phenol and 4-chlorophenol in the presence of a conventional carbon source. Biotechnology and Bioengineering 68(4):437-447.
- WIDDOWSON MA, MOLZ FJ, BENEFIELD LD. 1988. A numerical transport model for oxygen- and nitrate-based respiration linked to substrate and nutrient availability in porous media. Water Resources Research 24:1533-1565.
- WILSON DC, STEVENS C. 1988. Problems arising from the redevelopment of Gas Works and similar sites. 2nd edition. London: HMSO.
- WOO SH, PARK JM, RITTMANN BE. 2001. Evaluation of the interactions between biodegradation and sorption of phenanthrene in soil-slurry systems. Biotechnology and Bioengineering 73:12-24.
- YAWS CL, editor. 1999. Chemical property handbook: McGraw-Hill. 779p.
- YOON H, KLINZING G, BLANCH HW. 1977. Competition for mixed substrates by microbial populations. Biotechnology and Bioengineering 19:1193-1210.

- YU Y-G, LOH K-C. 2002. Inhibition of p-cresol on aerobic biodegradation of carbazole, and sodium salicylate by *Pseudomonas putida*. Water Research 36:1794-1802.
- YUDIN LG, KOST AN, PAVLYUCHENKO AI. 1971. Mercuration of 1-methylindoles. Indole Chemistry.
<http://www.springerlink.com/media/64mjtgtxxqlpb2xydff7/contributions/l/3/3/6/1336412682134417.pdf>

ANNEXES

**ANNEXE I : Caractéristiques de l'aquifère et de l'eau souterraine de l'aquifère
de Borden**

Tableau 5-1 Caractéristiques du sol de l'aquifère de Borden (d'après Mackay et al., 1986)

<i>Paramètre</i>	<i>Valeur</i>
Fraction de carbone organique	0,02 % en moyenne
Minéralogie	58 % quartz, 19 % feldspaths, 14 % carbonates, 7 % amphiboles, 2 % chlorite
Porosité	0,33
Densité	2,71 g/cm ³

Tableau 5-2 Caractéristiques de l'eau souterraine du site de Borden (d'après Mackay et al., 1986)

<i>Paramètre</i>	<i>Valeur</i>
COD	< 0,7 mg/l
OD	0 - 8,5 mg/l
Nitrates	< 0,6 – 6 mg/l
Température	6 – 15 °C
pH	7,1 – 7,9

ANNEXE II : Codes des programmes VERIF1 et VERIF2**(en Fortran 95)**


```

c  VERIF1
c
c  Modèle analytique pour la vérification de BIONAPL
c  Code simulant l'inhibition (inhibition type compétitive)
c
c  Modélise une biodégradation dans un système batch (statique)
c  contenant un milieu poreux saturé
c
c  Code en langage : Fortran95
c  utilise l'algorithme de runge kutta de 4ème ordre
c
=====
=====
c
c  c      : concentration du contaminant
c  D      : coefficient de distribution dans le milieu
c          (=1+rk*d*rhob/teta)
c  h      : longueur du pas de temps
c  maxt    : nombre maximal de pas de temps
c  max_comp : nombre maximal de contaminants
c  rhob    : densité du milieu poreux
c  rk*d    : coefficient de partition à l'équilibre
c  teta    : porosité du milieu poreux
c  uhs     : constante à demi-saturation
c  vmax    : taux maximal de biodégradation
c  x       : concentration bactérienne
c  xk(i,j) : paramètre d'inhibition de i par j
c  y       : rendement bactérien
c
      implicit real*8(a-h,o-z)
      parameter (maxt=100001,max_comp=2)
      dimension c(max_comp,maxt),t(maxt),xk(max_comp,max_comp)
      dimension vmax(max_comp),uhs(max_comp)
      dimension rk*d(max_comp),y(max_comp),D(max_comp)
      dimension x(max_comp,maxt)

      ncomp=2

c  lecture de la valeur des paramètres

```

```

c -----
open(5,file='biocheck.data',status='old')
read(5,*) h
read(5,*) (rkd(i),i=1,ncomp)
read(5,*) (vmax(i),uhs(i),y(i),i=1,ncomp)
read(5,*) ((xk(i,j),j=1,ncomp),i=1,ncomp)
open(6,file='biocheck.lst')
write(6,300) ((xk(i,j),j=1,ncomp),i=1,ncomp)      !xk(i,i)=0
300 format(/10x,'xk(i,j): ',(/10x,2f20.1))

c conditions initiales
c -----
t(1) = 0.
c(1,1) = 3.95e-4      !g/L
c(2,1) = 2.95e-4      !g/L
x(1,1) = 5.0e-5       !g/L
x(2,1) = 5.0e-5       !g/L
rhob = 1810.          !kg/m3
teta = 0.33

c itérations sur les pas de temps
c -----
do i=2,maxt
t(i) = t(i-1) + h
told = t(i-1)

c composé k
c -----
do k=1,ncomp

c terme d'inhibition
c -----
sum=0.
do kc=1,ncomp
sum = sum + xk(k,kc)*c(kc,i-1)
enddo

c calcul de la concentration C
c -----

```

```

xold = x(k,i-1)
cold = c(k,i-1)
D(k) = 1 + rkd(k)*(rhob/teta)

z1 = h* f(told,cold,xold,vmax(k),uhs(k),sum)
+      /D(k)
z2=
h*f(told+h/2.,cold+(z1/2.),xold+(z1/2.),vmax(k),uhs(k),sum)
+      /D(k)
z3
=
h*f(told+h/2.,cold+(z2/2.),xold+(z2/2.),vmax(k),uhs(k),sum)
+      /D(k)
z4 = h*f(told+h,cold+z3,xold+z3,vmax(k),uhs(k),sum)
+      /D(k)

c(k,i) = c(k,i-1) + (1./6.)*(z1 + (2.*z2) + (2.*z3) + z4)

c      calcul de la concentration X
c      -----
vmax1=-y(k)*vmax(k)

z11 = h* f(told,cold,xold,vmax1,uhs(k),sum)
z22
=
h*f(told+h/2.,cold+(z11/2.),xold+(z11/2.),vmax1,uhs(k),sum)
z33
=
h*f(told+h/2.,cold+(z22/2.),xold+(z22/2.),vmax1,uhs(k),sum)
z44 = h*f(told+h,cold+z33,xold+z33,vmax1,uhs(k),sum)

x(k,i) = x(k,i-1) + (1./6.)*(z11 + (2.*z22) + (2.*z33) + z44)

enddo

enddo

c      impression des concentrations
c      -----
open(20, file='biocheck.plt')
write(20,100) maxt
100  format(10x,'variables="time","c1","c2"',/, 'zone i= ',i6)

```

```

        write(20,101) (t(i), (c(k,i),k=1,ncomp),i=1,maxt)
101  format(3e20.9)
        close(20)

        stop
        end
c
c -----

        function f(told,cold,xold,vmax,uhs,sum)
        implicit real*8(a-h,o-z)
        f = vmax*cold*xold / (uhs + cold + sum)
        return
        end

```

```

c  VERIF2
c
c  Modèle analytique pour la vérification de BIONAPL
c  Code simulant la co-utilisation (selon le modèle de
c  criddle(1993))
c
c  Modélise une biodégradation dans un système batch (statique)
c  contenant un milieu poreux saturé
c
c  Code en langage : Fortran95
c  utilise l'algorithme de runge kutta de 4ème ordre
c
=====
=====
c
c  c      : concentration du contaminant
c  D      : coefficient de distribution dans le milieu
c          (=1+rkD*rhob/teta)
c  h      : longueur du pas de temps
c  maxt    : nombre maximal de pas de temps
c  max_comp : nombre maximal de contaminants
c  rhob    : densité du milieu poreux
c  rkD     : coefficient de partition à l'équilibre
c  teta    : porosité du milieu poreux
c  uhs     : constante à demi-saturation
c  vmax    : taux maximal de biodégradation
c  x       : concentration bactérienne
c  alco(i,j): paramètre de co-utilisation de i par j
c  y       : rendement bactérien
c
      implicit real*8(a-h,o-z)
      parameter (maxt=100001,max_comp=2)
      dimension c(max_comp,maxt),t(maxt),alco(max_comp,max_comp)
      dimension vmax(max_comp),uhs(max_comp)
      dimension rkD(max_comp),y(max_comp),D(max_comp)
      dimension x(max_comp,maxt)

```

```

ncomp=2

c    lecture de la valeur des paramètres
c    -----
open(5,file='biocheck.data',status='old')
read(5,*) h
read(5,*) (rkd(i),i=1,ncomp)
read(5,*) (vmax(i),uhs(i),y(i),i=1,ncomp)
read(5,*) ((alco(i,j),j=1,ncomp),i=1,ncomp)
open(6,file='biocheck.lst')
write(6,300)                ((alco(i,j),j=1,ncomp),i=1,ncomp)
!alco(i,i)=0
300  format(/10x,'xk(i,j): ',(/10x,2f20.1))

c    conditions initiales
c    -----
t(1) = 0.
c(1,1) = 3.95e-4            !g/L
c(2,1) = 2.95e-4            !g/L
x(1,1) = 5.0e-5             !g/l
x(2,1) = 5.0e-5             !g/l
rhob = 1810.                !kg/m3
teta = 0.33

c    itérations sur les pas de temps
c    -----
do i=2,maxt
t(i) = t(i-1) + h
told = t(i-1)

c    component k
c    -----
do k=1,ncomp

c    terme de co-utilisation
c    -----
a=0.
do kc=1,ncomp
if(kc.ne.k)then

```

```

xold1 = x(kc,i-1)
cold1 = c(kc,i-1)
    a = alco(k,kc)*f(told,cold1,xold1,vmax(kc),uhs(kc))
end if
enddo

c    calcul de la concentration C
c    -----
D(k) = 1 + rkd(k)*(rhob/teta)
xold = x(k,i-1)
cold = c(k,i-1)

z1 = h*( f(told,cold,xold,vmax(k),uhs(k))
+         + a*f1(told,cold,uhs(k)) )/D(k)
z2 = h*( f(told+h/2.,cold+(z1/2.),xold+(z1/2.),vmax(k),uhs(k))
+         + a*f1(told+h/2.,cold+(z1/2.),uhs(k)) )/D(k)
z3 = h*( f(told+h/2.,cold+(z2/2.),xold+(z2/2.),vmax(k),uhs(k))
+         + a*f1(told+h/2.,cold+(z2/2.),uhs(k)) )/D(k)
z4 = h*( f(told+h,cold+z3,xold+z3,vmax(k),uhs(k))
+         + a*f1(told+h,cold+z3,uhs(k)) )/D(k)

c(k,i) = c(k,i-1) + (1./6.)*(z1 + (2.*z2) + (2.*z3) + z4)

c    calcul de la concentration X
c    -----
vmax1=-y(k)*vmax(k)

z11 = h*f(told,cold,xold,vmax1,uhs(k))
z22 = h*f(told+h/2.,cold+(z11/2.),xold+(z11/2.),vmax1,uhs(k))
z33 = h*f(told+h/2.,cold+(z22/2.),xold+(z22/2.),vmax1,uhs(k))
z44 = h*f(told+h,cold+z33,xold+z33,vmax1,uhs(k))

x(k,i) = x(k,i-1) + (1./6.)*(z11 + (2.*z22) + (2.*z33) + z44)

enddo

enddo

c    impression des concentrations

```

```

c -----
      open(20, file='biocheck.plt')
      write(20,100) maxt
100  format(10x,'variables="time","c1","c2"',/, 'zone i= ',i6)
      write(20,101) (t(i), (c(k,i),k=1,ncomp),i=1,maxt)
101  format(3e20.9)
      close(20)

      stop
      end
c
c -----

      function f(told,cold,xold,vmax,uhs)
      implicit real*8(a-h,o-z)
      f = vmax*cold*xold / (uhs + cold)
      return
      end

      function f1(told,cold,uhs)
      implicit real*8(a-h,o-z)
      f1 = cold / (uhs + cold)
      return
      end

```


**ANNEXE III : Paramètres utilisés dans la modélisation des essais de Millette
(1995)**

Tableau 5-3 Paramètres de partition des contaminants modélisés

<i>Contaminant</i>	<i>K_d (m³/kg) ^a</i>	<i>R^a (-)</i>	<i>H^b (-)</i>
Carb	9.17x10 ⁻⁴	5.8	1.14x10 ⁻⁷ (25 °C)
Fluo	2.6x10 ⁻³	8.5	2.60x10 ⁻³ (25°C)
Phen	4.93x10 ⁻³	26.8	9.53x10 ⁻⁴ (25°C)
Pc	5.73x10 ⁻⁵	1.3	3.24x10 ⁻⁵ (25°C)

^a D'après Millette (1998) ;

^b D'après l'USEPA (2006) pour Carb et Fluo, d'après Hine et Mookerjee (1975) pour Pc et d'après Fendinger et Glotfelty (1990) pour Phen ;

ANNEXE IV : Fichier d'entrée du modèle BIONAPL

MODELE BIONAPL -

94x1x1 elements - Colonne Millette et al. (1998), transport

May 2005

0 2 0 0 0 0 0 0 0 1 0 1 ;

kp,kcn,kwt,kint,kintv,kgo,kg,kranb,kranb,kbio,mode,keqm,krtype

7 1 1 ;ngx, ngy, ngz # de sections uniformes par direction

3.e-02 4.e-02 21.e-02 22.2e-02 39.2e-02 40.2e-02 43.2e-02 ;xlim longueur des sections

6.4e-02 ;ylim en [m]

6.4e-02 ;zlim en [m]

6 5 34 4 34 5 6 ;nlx # d'elements par section

1 ;nly

1 ;nlz

0 00. 0.0 0.0 1810. ;nwtl,datum,gamma,sdecay,rhob

1 1 1 2 +1 ;Inflow

11 1 1 2 +1 ;Port P1

48 1 1 2 +1 ;Port P2

85 1 1 2 -1 ;Port P3

0 ;INIT

1 95 1 2 1 2 10.00e-2 +1 ; condition initiale charge

1 1 1 2 1 2 10.01e-2 +1 ; condition initiale charge frontière gauche

95 95 1 2 1 2 10.00e-2 -1 ; condition initiale charge frontière droite

2 0 0 0 0 0 ;C.L (ecoulement)

1 1 1 1 7.2e-07 -1 ;flux entrant frontière gauche

1 94 8.8e-5 8.8e-5 8.8e-5 -1 ;1-NEL,KX,KY,KZ (m/s)

0 0 0 0 0 0 0.e-4 0.e-4 0.e-5 -1 ;K de la source source

1 1 1 2 1 2 0.05e-0 -1 ;saturation de la source

94 94 1 2 1 2 ;Aire de suivi (sortie de colonne)

0.0e-3 0.346 0.05 1.5e-4 ;SS,POR,srw,diamètre grains

5 1 ;# de composés,# accepteurs d'électrons

Carbazole

1100 0.1672 0.239 0.0 0.002 0.0 7.E-4 0.0 1.0e-10 0 0.

;rho,mw,aqs,#m,Sh,b,kc,km,D,kdp,xdp

Fluorene

1100 0.1662 0.0159 0.0 0.002 0.0 7.e-4 0.0 1.0e-10 0 0.

;rho,mw,aqs,#m,Sh,b,kc,km,D,kdp,xdp

Phenanthrene

1100 0.1782 0.0099 0.0 0.002 0.0 2.E-3 0.0 1.0e-10 0 0.

;rho,mw,aqs,#m,Sh,b,kc,km,D,kdp,xdp

P-cresol

1100 0.1081 30.014 0.0 0.002 0.0 5.7E-05 0.0 1.0e-10 0 0.

;rho,mw,aqs,nbm,Sh,b,kc,km,D,kdp,xdp

Métabolite P-cresol

1100 0.1081 30.014 0.0 0.002 0.0 5.7E-05 0.0 1.0e-10 4 0.25

;rho,mw,aqs,nbm,Sh,b,kc,km,D,kdp,xdp

3.60 2.50E-4 0.004 2.97 0.0 9999. ;utils,uhs,uho,ros,ym,cinib Carb

1.50 1.85E-4 0.004 2.97 0.0 9999. ;utils,uhs,uho,ros,ym,cinib Fluo

1.61 2.1E-05 0.004 2.96 0.3 9999. ;utils,uhs,uho,ros,ym,cinib Phen

2.26 2.5E-03 0.004 2.52 0.67 9999. ;utils,uhs,uho,ros,ym,cinib Pc

1.50 1.85E-4 0.004 2.97 0.02 9999. ;utils,uhs,uho,ros,ym,cinib Met-Pc

2 0 0 0 ; # comp responsable de la co-utilisation (pour carb)

0 3 0 5 ; (pour fluo)

0 0 0 0 ; (pour Phen)

0 0 0 0 ; (pour Pc)

0 0 0 0 ; (pour Met-Pc)

0.08 0. 0. 0. ; paramètres de co-util (alphaco) carbazole

0 0.08 0. 0.03 ; alphaco fluo

0 0 0. 0. ; alphaco Phen

0 0 0. 0. ; alphaco PC

0 0 0. 0. ; alphaco M-PC

0. 100. 1. 0. ;paramètres d'inhib (Ki) carb

```

5. 0. 1. 0. ;Ki fluo
0. 0. 1. 0. ;Ki phen
0. 0. 0. 0. ;Ki Pc
0. 0. 0. 1. ;Ki Met-Pc
1. 9999. ;reto,xkin
1000. 1.0E-02 1.0E-02 1.0E-2 1.0E-02 1.00E-2 0.001 ;retm,bm,ymmax
0.0500 2.78E-05 2.0E-04 2.E-04 1.1E-03 2.E-04
; CONC. initiale EA1,EA2...-M1,M2...
0.0500 2.78E-05 2.0E-04 2.E-04 1.1E-03 2.E-04
;CONC. initiale SOURCE EA1,M1, EA2,M2
0.0000 0.00000 ;threshold S,EA1,EA2...
1 95 1 2 1 2 1 0.0 0.0 +1 ;condition initiale Carb
1 95 1 2 1 2 2 0.0 0.0 +1 ;condition initiale Fluo
1 95 1 2 1 2 3 0.0 0.0 +1 ;condition initiale PHen
1 95 1 2 1 2 4 0.0 0.0 +1 ;condition initiale pc
1 95 1 2 1 2 5 0.0 0.0 +1 ;condition initiale M-pc
1 95 1 2 1 2 7 0.05 0.05 -1 ;condition initiale Oxygène
3 0 0 0 0 0 ;C.L (TRANSPORT comp) -
1 2 1 2 1 7.2e-07 16.6e-05 +1 Carb
1 2 1 2 2 7.2e-07 23.8e-05 +1 Fluo
1 2 1 2 3 7.2e-07 16.5e-05 +1 Phen
1 2 1 2 4 7.2e-07 0.010 -1 pc
1 0 0 0 0 0 ;CL (TRANSPORT AH) -
1 2 1 2 -1
1 0 0 0 0 0 ;C.L (Transport Oxygène) -
1 2 1 2 -1
0 1.0 .0 0.47 0.000 ;ka,n,xmtc,feqm,qha(kgHA/kgsol) (HA sorption)
1 2.08E-06 0. 0. ;IVEL,VX,VY,VZ (Vpore=0.18 m/j=2.08e-06 m/s)
1 94 1 1 1 1 0.69e-02 0.1e-02 0.1e-02 0.000 -1
;AL,ATH,ATV,décroissance par elm
0.01 0.001 2 2 ;CCP,CCc(i)%,CCW,MAXIT1,MAXIT2
1.0 1.00 ;OVER-RELAX charges, temp

```

```

0 0 0 0 0 ;KNOX(1),(2) SECTION Transv.
1 0 0 0 0 ;KNOY(1),(2) SECTION Long.
1 ;KNOZ
00. 00. 00. 00. 00. ;Temps d'impression 3d (jours)
0. 38. 0.01 20 5 +1 ;t0,t1,dt,kplot(jours),kmom
5. 5. 5. 5. 5. 5. 5. ;nouveau critère convergence
0.000 1. 0. 0 ;hinc,rinc,eqmfact,kha
0.84 0.88 0.89 0.87 0. 1. 1. 1. 1. ;sfqct(k)
1 1 1 1 1 -0.0 0. 0.0 -1 ;ix,iy,iz1,iz2,kcomp,q(m3/s)conc,rad,more
38. 52.5 0.01 20 5 +1 ;t0,t1,dt,kplot(jours),kmom
5. 5. 5. 5. 5. 5. 5. ;nouveau critère convergence
0.000 1. 0. 0 ;hinc,rinc,eqmfact,kha
0.76 0.75 0.78 0.87 0. 1. 1. 1. 1. ;sfqct(k)
1 1 1 1 1 -0.0 0. 0.0 -1 ;ix,iy,iz1,iz2,kcomp,q(m3/s)conc,rad,more
52.5 75. 0.01 20 5 +1 ;t0,t1,dt,kplot(jours),kmom
5. 5. 5. 5. 5. 5. 5. ;nouveau critère convergence
0.000 1. 0. 0 ;hinc,rinc,eqmfact,kha
1.17 1.07 1.07 0.87 0. 1. 1. 1. 1. ;sfqct(k)
1 1 1 1 1 -0.0 0. 0.0 -1 ;ix,iy,iz1,iz2,kcomp,q(m3/s)conc,rad,more
75. 87. 0.01 20 5 -1 ;t0,t1,dt,kplot(jours),kmom
5. 5. 5. 5. 5. 5. 5. ;nouveau critère convergence
0.000 1. 0. 0 ;hinc,rinc,eqmfact,kha
1.08 0.97 1.07 0.87 1. 1. 1. 1. 1. ;sfqct(k)
1 1 1 1 1 -0.0 0. 0.0 -1 ;ix,iy,iz1,iz2,kcomp,q(m3/s)conc,rad,more

```

ANNEXE V : Calcul du rendement bactérien du p-crésol

Pour calculer le rendement bactérien en présence de p-crésol, le compte bactérien (UFC/g) sera intégré par la méthode des trapèzes entre les différents ports d'échantillonnage. Le compte bactérien en tête de colonne (TC) est supposée être le même qu'au port P1 qui est distant de 3,8 cm (Figure 5-1). Les calculs sont rapportés dans le Tableau 5-4. Le volume correspondant à chaque partie de colonne a d'abord été calculé, la masse de sol contenue dans chaque partie en a été déduite pour pouvoir intégrer le compte bactérien (X) au temps $t = 0$ et $t = 60$ j. La variation de biomasse a été ensuite intégrée dans chaque partie de la colonne et sommée sur toute la colonne.

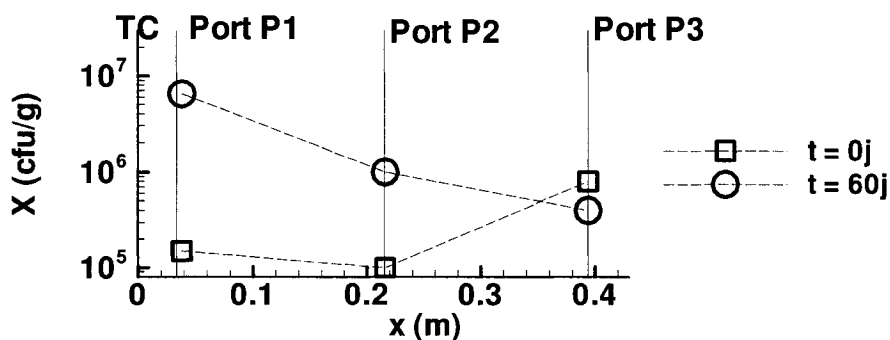


Figure 5-1 Compte total des bactéries cultivables au niveau des trois ports d'échantillonnage de la colonne R4p aux temps $t = 0$ et 60 j (Données d'après Hosein et al., 1997).

Tableau 5-4 Calcul de la biomasse qui s'est développé dans la colonne R4p entre le temps $t=0$ j et $t=60$ j

Partie de la colonne	V_{sol} hum. (m ³)	M_{sol} sec. ¹ (g)	M_{sol} hum. ² (g)	$X(t=0j)^3$ (CFU)	$X(t=60j)^3$ (CFU)	Delta X (CFU)	Biomasse ⁴ (gC)	Biomass ⁵ (g)
TC-P1	1,56x 10 ⁻⁴	2,82x 10 ⁺²	3,24x 10 ⁺²	4,86x 10 ⁺⁷	2,10x 10 ⁺⁹	2,06x 10 ⁺⁹	2,06x 10 ⁻³	2,28x 10 ⁻²
P1-P2	7,29x 10 ⁻⁴	1,32x 10 ⁺³	1,52x 10 ⁺³	1,90x 10 ⁺⁸	5,69x 10 ⁺⁹	5,50x 10 ⁺⁹	5,50x 10 ⁻³	6,10x 10 ⁻²
P2-P3	7,29x 10 ⁻⁴	1,32x 10 ⁺³	1,52x 10 ⁺³	6,83x 10 ⁺⁸	1,06x 10 ⁺⁹	3,79x 10 ⁺⁸	3,79x 10 ⁻⁴	4,21x 10 ⁻³
Total :								8,80x 10 ⁻²

¹ La masse volumique du sol est de 1,81 g/cm³

² L'humidité des échantillons de sol est de 15%. La masse de sol humide est déterminée car les comptes rapportés dans Hosein et al. (1997) sont exprimés par masse de sol humide (Millette, 1995)

³ Les valeurs de $X(t=0)$ et $X(t=60)$ représentent les comptes bactériens intégrés entre les ports d'échantillonnage ;

⁴ Le calcul de la biomasse (gC) à partir des comptes bactériens (CFU) est réalisé en utilisant le ration de 10^{-12} gC/CFU (Panikov, 1995a)

⁵ Le calcul de la biomasse exprimée en g à partir de la biomasse exprimée en gC est réalisé en utilisant le facteur de conversion de $1,72 \times 10^{-13}$ g/cellule bactérienne déterminé pour des microorganismes d'aquifères (Balkwill et al., 1988) et en

supposant une fraction de carbone organique par poids de cellule bactérienne de 45% (USEPA, 2000), un rapport poids sec par poids humide des bactéries de 20% (Borrok et al., 2004). Ceci donne lieu à une concentration de $15,5 \times 10^{-15}$ gC/cellule, qui est en accord avec les valeurs présentées dans la littérature qui peuvent se situer autour de 12×10^{-15} gC/cellule pour des échantillons bactériens océaniques et atteindre 30×10^{-15} gC/cellule pour des échantillons bactériens de régions côtières (Fukuda et al., 1998).

Tableau 5-5 Calcul de la masse de p-crésol injectée dans la colonne entre 0 et 60 j d'expérience

<i>Vdarcy</i> (m/j)	<i>Débit Q¹</i> (l/j)	<i>Vol. eau (0-60j)</i> (l)	<i>M p-crésol (0-60j)²</i> (g)
$6,20 \times 10^{+2}$	$2,52 \times 10^{-1}$	$1,51 \times 10^{+1}$	$1,31 \times 10^{-1}$

¹ La section de la colonne est égale à $4,07 \times 10^{-3} \text{ m}^2$

² La concentration de p-crésol moyenne mesurée à l'entrée de la colonne est de $8,7 \times 10^{-3} \text{ g/l}$.

La rendement bactérien obtenu : $Y = \text{Biomasse (0-60j)} / M \text{ p-crésol (0-60j)}$
 $= 0,67 \text{ (g/g)}$.

**ANNEXE VI : Paramètres d'interactions ajustés pour les colonnes R2, R3, R4r,
R4p**

Colonne R2 (Carbazole + Fluorène) :

Simulation (A)

	Inhibition (Ki) par		Co-utilisation (α_{Co}) par	
	Carb	Fluo	Carb	Fluo
Carb	-	0,00	-	0,00
Fluo	0,00	-	0,00	-

Simulation (B)

	Inhibition (Ki) par		Co-utilisation (α_{Co}) par	
	Carb	Fluo	Carb	Fluo
Carb	-	4,00	-	0,00
Fluo	0,00	-	0,00	-

Simulation (C)

	Inhibition (Ki) par		Co-utilisation (α_{Co}) par	
	Carb	Fluo	Carb	Fluo
Carb*	-	0,0	-	0,00
Fluo	0,00	-	0,00	-

* Simulation d'une mortalité bactérienne de la population dégradatrice de carbazole
 $b=2,5 \times 10^{-2} \text{ j}^{-1}$

Colonne R3 (Carbazole +Phenanthrène) :**Simulation (A)**

	Inhibition (Ki) par		Co-utilisation (α_{Co}) par	
	Carb	Phen	Carb	Phen
Carb	-	0,00	-	0,00
Phen	0,00	-	0,00	-

Simulation (B)

	Inhibition (Ki) par		Co-utilisation (α_{Co}) par	
	Carb	Phen	Carb	Phen
Carb	-	10,00	-	1,66
Phen	1,50	-	0,00	-

Simulation (C)

	Inhibition (Ki) par		Co-utilisation (α_{Co}) par	
	Carb	Phen	Carb	Phen
Carb*	-	10,00	-	1,66
Phen	1,50	-	0,00	-

* Simulation d'une mortalité bactérienne de la population dégradatrice de carbazole
 $b=5,0 \times 10^{-2} \text{ j}^{-1}$

Colonne R4r (Carbazole + Phenanthrène + Fluorène) :**Simulation (A)**

	Inhibition (Ki) par			Co-utilisation (α_{Co}) par		
	Carb	Fluo	Phen	Carb	Fluo	Phen
Carb	-	0,00	0,00	-	0,00	0,00
Fluo	0,00	-	0,00	0,00	-	0,00
Phen	0,00	0,00	-	0,00	0,00	-

Simulation (B)

	Inhibition (Ki) par			Co-utilisation (α_{Co}) par		
	Carb	Fluo	Phen	Carb	Fluo	Phen
Carb	-	10,00	0,00	-	0,00	0,00
Fluo	10,00	-		0,00	-	4,60
Phen	0,00		-	0,00	0,00	-

Simulation (C)

	Inhibition (Ki) par			Co-utilisation (α_{Co}) par			
	Carb	Fluo	Phen	Carb	Fluo	Phen	Met*
Carb	-	10,00	0,00	-	0,00	0,00	1,85
Fluo	10,00	-		0,00	-	4,60	1,85
Phen	0,00		-	0,00	0,00	-	-
Met							

* Met : métabolite du phenanthrène produit avec un rendement $E^{Met} = 0,8$; Les paramètres de biodégradation de Met sont (mêmes paramètres que Phen):

$$k_{max} = 1,61 \text{ j}^{-1} \quad K_c = 2,1 \times 10^{-5} \text{ g/l} \quad Y = 0,30$$

Colonne R4p (Carbazole + Phenanthrène + Fluorène + p-crésol) :**Simulation (A)**

	Inhibition (K_i)				Co-utilisation (α_{Co})			
	par				par			
	Carb	Fluo	Phen	Pc	Carb	Fluo	Phen	Pc
Carb	-	0,00	0,00	0,00	-	0,00	0,00	0,00
Fluo	0,00	-	0,00	0,00	0,00	-	0,00	0,00
Phen	0,00	0,00	-	0,00	0,00	0,00	-	0,00
Pc	0,00	0,00	0,00	-	0,00	0,00	0,00	-

Simulation (B)

	Inhibition (K_i)							Co-utilisation (α_{Co})						
	par							par						
	Carb	Fluo	Phen	Pc	Met1	Met2	Met3	Carb	Fluo	Phen	Pc	Met1	Met2	Met3
Carb	-	5,00	0,00	1,00	0,00	0,00	0,00	-	0,00	1,30	0,00	0,92	0,92	0,92
Fluo	5,00	-	0,	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	1,85	0,00	1,85	1,85	1,85
Phen	0,00		-	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	0,00	0,00	0,00	0,00
Pc	0,00	0,00	0,	-	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	0,00	0,00	0,00
Met1	0,00	0,00	10,00	0,00	-	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-	0,00	0,00
Met2	0,00	0,00	0,00	0,00	10,0	-	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		-	0,00
Met3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	10,0	-	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	-

* Met1, Met2, Met3 : métabolites du phenanthrène (Met1 produit par dégradation du Phen, Met2 par dégradation de Met1, et Met3 par dégradation de Met2) produits selon un rendement $E^{Met1} = E^{Met2} = E^{Met3} = 0,9$; Les paramètres de biodégradation des métabolites (mêmes paramètres que Phen mais avec un rendement bactérien plus faible):

$$k_{max} = 1,61 \text{ j}^{-1} \quad K_c = 2,1 \times 10^{-5} \text{ g/l} \quad Y = 0,03$$

Simulation (C)

	Inhibition (K_i)					Co-utilisation (α_{C_0})				
	par					par				
	Carb	Fluo	Phen	Pc	Met4	Carb	Fluo	Phen	Pc	Met4
Carb	-	10,00	100,00	1,00	0,00	-	0,00	0,00	0,00	1,50
Fluo	5,00	-	0,00	1,00	0,00	0,00	-	1,50	0,00	0,55
Phen	0,00	0,00	-	1,00	0,00	0,00	0,00	-	0,00	0,00
Pc	0,00	0,00	0,00	-	0,00	0,00	0,00	0,00	-	0,00
Met4	0,00	0,00	0,00	1,00	-	0,00	0,00	0,00	0,00	-

* Met4 : métabolite du p-crésol produit avec un rendement $E^{\text{Met4}} = 0,25$; Les paramètres de biodégradation considérés pour Met4 sont :

$$k_{\max} = 1,5 \text{ j}^{-1} \quad K_c = 1,85 \times 10^{-4} \text{ g/l} \quad Y = 0,02$$

ANNEXE VII : Classification des contaminants de la créosote

Tableau 5-6 Liste des contaminants des différentes classes de la créosote définies en fonction des solubilités liquides des contaminants.

Classe	Liste des contaminants	Mw (g/mol)	Fraction Massique ¹ (-)	Masse / kg créosote (g)	Moles équivalentes / kg créosote (mol)	Solubilité pure C ₀ (g/l)	Solubilité Liquide ² C ₁ (g/l)	Coefficient de partition ³ K _d (m ³ /kg)
CL1	Phenol	94	0,0200	19,0	0,202	8,20E+01	1,18E+02	1,73E-06
CL2	o-Cresol	108	0,0100	9,5	0,081	2,59E+01	2,97E+01	3,26E-06
	m-cresol	108	0,0100	9,5	0,081	2,35E+01	1,75E+01	3,44E-06
	p-cresol	108	0,0100	9,5	0,081	2,40E+01	3,00E+01	3,40E-06
	2,5-Xylenol	122	0,0075	7,1	0,061	3,54E+00	1,10E+01	9,75E-06
	3,5-Xylenol	122	0,0075	7,1	0,061	4,89E+00	1,30E+01	8,17E-06
	2,3-Xylenol	122	0,0050	4,8	0,041	4,57E+00	1,43E+01	8,47E-06
	2,6-Xylenol	122	0,0050	4,8	0,041	6,23E+00	1,05E+01	7,14E-06
	3,4-Xylenol	122	0,0050	4,8	0,041	6,05E+00	1,19E+01	7,26E-06
CL3	2,4-Xylenol	122	0,0050	4,8	0,040	4,77E+00	6,38E+00	8,28E-06
	Aniline	93	0,0025	2,4	0,020	3,40E+00	1,68E+00	9,97E-06
	Quinoline	129	0,0050	4,8	0,040	6,72E+00	2,56E+00	6,86E-06
	Isoquinoline	129	0,0050	4,8	0,040	4,52E+00	4,68E+00	8,52E-06
CL4	Naphthalene	128	0,1105	105,0	0,733	3,17E-02	1,11E-01	1,30E-04
	Benzo[b]thio- -phene	134	0,0050	4,8	0,033	1,30E-01	1,53E-01	6,00E-05
	Carbazole	167	0,0050	4,8	0,033	1,00E-03	1,51E-01	8,73E-04
CL5	1-Methylnaph- -thalene	142	0,0680	64,6	0,454	2,85E-02	9,75E-03	1,38E-04
	2-Methylnaph- -thalene	142	0,1105	105,0	0,647	2,54E-02	3,16E-02	1,47E-04
	Biphenyl	154	0,0680	64,6	0,398	7,50E-03	2,12E-02	2,88E-04
	Acenaphthene	154	0,0340	32,3	0,199	3,90E-03	1,84E-02	4,13E-04

	2,3-Dimethyl -naphthalene	156	0,0340	32,3	0,199	3,00E-03	1,86E-02	4,77E-04
	2,6-Dimethyl -naphthalene	156	0,0340	32,3	0,199	2,00E-03	1,36E-02	5,96E-04
	Fluorene	166	0,0680	64,6	0,398	2,00E-03	1,59E-02	5,96E-04
	Dibenzofuran	168	0,0050	4,8	0,029	1,00E-02	3,67E-02	2,46E-04
	Acridine	179	0,0025	2,4	0,015	5,00E-03	3,48E-02	3,60E-04
	Dibenzo -thiophene	184	0,0050	4,8	0,029	2,00E-03	1,08E-02	5,96E-04
CL6	Phenanthrene	178	0,1105	105,0	0,738	1,30E-03	7,28E-03	7,56E-04
	Anthracene	178	0,1105	105,0	0,738	7,00E-05	5,47E-03	3,77E-03
	Pyrene	202	0,0170	16,2	0,114	1,40E-04	2,43E-03	2,57E-03
	Fluoranthene	203	0,0340	32,3	0,227	2,60E-04	1,77E-03	1,83E-03
CL7	Chrysene	228	0,0170	16,2	0,067	2,00E-06	3,80E-04	2,66E-02
	Benzo[a]pyrene	252	0,0085	8,1	0,034	3,00E-06	1,01E-04	2,13E-02

¹ D'après Mueller et al. (1989)

$$^2 \quad C_l = C_o \cdot \exp \left(6.8 * \left(\frac{T_M}{T} - 1 \right) \right) \quad (\text{Shui et al., 1988})$$

où C_o est la solubilité pure, T_M (°K) la température de fusion, T (°K) la température du système.

$$^3 \quad K_d = K_{oc} f_{oc}$$

où K_d est le coefficient de partition à l'équilibre, K_{oc} le coefficient de partition entre l'eau et le carbone organique, f_{oc} la fraction de carbone organique dans la matrice poreuse.

$$\log K_{oc} = -0,55 \log C_o + 3.64 \quad (\text{Kenega et Goring, 1980})$$

où C_o (mg/l).