

Titre: Potentiel de minéralisation des hydrocarbures aliphatiques et aromatiques polycycliques pendant le compostage d'un sol contaminé
Title:

Auteur: Andreas Haderlein
Author:

Date: 2000

Type: Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis

Référence: Haderlein, A. (2000). Potentiel de minéralisation des hydrocarbures aliphatiques et aromatiques polycycliques pendant le compostage d'un sol contaminé [Thèse de doctorat, École Polytechnique de Montréal]. PolyPublie.
Citation: <https://publications.polymtl.ca/8867/>

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

URL de PolyPublie: <https://publications.polymtl.ca/8867/>
PolyPublie URL:

Directeurs de recherche: Robert Legros, & Bruce A. Ramsay
Advisors:

Programme: Non spécifié
Program:

NOTE TO USERS

Page(s) not included in the original manuscript and are unavailable from the author or university. The manuscript was microfilmed as received.

75

This reproduction is the best copy available.

UMI ®

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

POTENTIEL DE MINÉRALISATION DES HYDROCARBURES ALIPHATIQUES ET
AROMATIQUES POLYCYCLIQUES PENDANT LE COMPOSTAGE D'UN SOL
CONTAMINÉ

ANDREAS HADERLEIN

DÉPARTEMENT DE GÉNIE CHIMIQUE
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

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

Mars 2000

© Andreas Haderlein, 2000.



National Library
of Canada

Bibliothèque nationale
du Canada

Acquisitions and
Bibliographic Services

Acquisitions et
services bibliographiques

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file Votre référence

Our file Notre référence

The author has granted a non-exclusive licence allowing the National Library of Canada to reproduce, loan, distribute or sell copies of this thesis in microform, paper or electronic formats.

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque nationale du Canada de reproduire, prêter, distribuer ou vendre des copies de cette thèse sous la forme de microfiche/film, de reproduction sur papier ou sur format électronique.

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

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

0-612-53534-7

Canada

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Cette thèse intitulée :

POTENTIEL DE MINÉRALISATION DES HYDROCARBURES ALIPHATIQUES ET
AROMATIQUES POLYCYCLIQUES PENDANT LE COMPOSTAGE D'UN SOL
CONTAMINÉ

présentée par : HADERLEIN Andreas

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

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

M. JOLICOEUR Mario, Ph.D., président

M. LEGROS Robert, Ph.D., membre et directeur de recherche

M. RAMSAY Bruce, Ph.D., membre et codirecteur de recherche

Mme. DESCHÊNES Louise, Ph.D., membre

M. SMETS Barth F., Ph.D., membre

À mes parents

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je tiens à remercier mes directeurs, le Dr Bruce Ramsay de l'Université Queens et le Dr Robert Legros de l'École Polytechnique pour m'avoir guidé tout au long de cette thèse ainsi que pour l'appui et la patience qu'ils ont su manifester à mon égard. Je veux également souligner ma reconnaissance envers les membres du jury, les Docteurs Louise Deschênes, Barth Smets et Mario Jolicoeur, pour le temps qu'ils ont consacré à la lecture et à la critique de ma thèse ainsi qu'envers le représentant du doyen de l'Université de Montréal, le Dr Gilles Savard.

Je voudrais exprimer ma gratitude envers le CRSNG et ESTAC ainsi qu'envers mes directeurs pour l'appui financier alloué au cours de mes études doctorales.

Je tiens également à remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, en particulier Marie-Claire Bonin Aly Hassan, mais aussi Alexis Ballez, Alfred Bograh, Manon Leduc, Gino Robin, Robert Delisle, Yannick Matteau et tous mes collègues et amis.

Je veux remercier du fond de mon cœur ma compagne Flaviane Junqueira Rezek, mes parents Annemarie et Peter Haderlein ainsi que ma sœur Veronika Haderlein pour leur appui et leurs encouragements inépuisables.

RÉSUMÉ

Le compostage des sols est une technologie peu coûteuse pour l'assainissement des sols contaminés à certains composés chimiques. Il comprend l'addition de sources de carbone et d'azote organiques au sol afin d'assurer une croissance abondante de la microflore. Parmi les contaminants traités se trouvent notamment les hydrocarbures pétroliers aliphatiques et aromatiques polycycliques (HAP).

Bien que la diminution de ces contaminants pendant le traitement par compostage soit bien documentée, aucune étude portant sur leur potentiel de minéralisation n'a été effectuée à ce jour. Ainsi, il reste à savoir si ces contaminants sont complètement transformés en dioxyde de carbone et en eau.

Dans ce contexte, les objectifs de cette thèse étaient d'étudier les vitesses de dégradation du traitement par compostage actif d'un sol contaminé aux hydrocarbures pétroliers aliphatiques et aux HAP par compostage en réacteur cuvée (*batch*) ; de développer une méthode permettant l'étude du potentiel de minéralisation d'un sol composté ; d'étudier le potentiel d'un sol composté à minéraliser ces contaminants ; et finalement d'étudier l'effet de la présence de la matière humique d'un sol composté sur le potentiel de minéralisation des contaminants.

L'étude des vitesses de dégradation du traitement par compostage actif d'un sol contaminé a révélé que le compostage réduit considérablement les concentrations des hydrocarbures pétroliers dans la plage C_{10} - C_{50} . Des conditions thermophiles semblaient favorables surtout à la dégradation de la fraction C_{17} - C_{50} . Le taux de dégradation des HAP diminuaient avec le nombre d'anneaux, les HAP à 5 anneaux n'étant pas dégradés. La dégradation des HAP à 4 anneaux avait surtout lieu pendant la phase de maturation.

Le microcosme aéré qui a été développé pour l'étude de minéralisation de sols compostés tient compte de leur demande élevée en oxygène. Il a été démontré que lors des études de minéralisation sur des sols compostés, les microcosmes habituellement utilisés ne peuvent satisfaire la demande en oxygène biaisant ainsi les résultats obtenus.

En utilisant l'hexadécane comme composé modèle, il a été démontré que le compostage n'est pas plus performant concernant l'augmentation du potentiel de minéralisation que l'addition de nutriments au sol.

Une minéralisation rapide du pyrène (4 anneaux) a été observée dans le sol composté mature tandis que les sols compostés des phases mésophiles et thermophiles ne minéralisaient le pyrène qu'après une phase de latence d'environ 3 semaines. À des températures thermophiles, aucune minéralisation du pyrène n'a été observée. Les tests effectués avec du benzo(a)pyrène dans le sol composté mature n'ont pas donné de résultats positifs.

Lors de l'étude sur l'ajout de différentes fractions de la matière humique contenue dans le sol composté, il a été démontré, pour la première fois, que la fraction des acides humiques contribue de manière significative au potentiel élevé de minéralisation du pyrène. Ainsi, le taux initial de minéralisation du pyrène a pu être multiplié par environ quatre grâce à l'ajout d'acides humiques. Au-delà d'une certaine concentration en acides humiques, le taux de minéralisation diminue. Bien que la présence de grandes quantités d'acides humiques dépasse la capacité tampon du sol et diminue le pH, l'effet inhibiteur des concentrations élevées en acides humiques ne peut être attribué qu'à ce phénomène.

L'ensemble des résultats obtenus suggèrent que le compostage des sols est bénéfique s'ils sont contaminés aux hydrocarbures aliphatiques à longues chaînes (C_{17} - C_{50}). Pour les sols contaminés aux HAP, l'ajout de compost mature serait suffisant. Afin d'éviter de larges quantités de sols traités, l'ajout d'acides humiques extraits de composts pourrait être une solution à envisager.

ABSTRACT

Composting of soils is a cost effective technology for soil remediation of certain contaminants. It comprises the addition of organic carbon and nitrogen sources that also serve as bulking agents in order to enhance microbial activity. Among others, aliphatic petroleum hydrocarbons and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) can be treated by this technology.

Although decreasing concentrations of contaminants during the composting of soils is well documented, no study investigating the mineralization potential of these contaminants has been done to date. The question of whether these contaminants are completely transformed into carbon dioxide and water has thus never been addressed.

The objectives of this thesis were to verify the degradation rates during active composting of a petroleum aliphatic hydrocarbons and PAH-contaminated in a batch reactor; to develop a method to assess the mineralization potential of composted soil; to study the potential to mineralize the contaminants; and finally to study the effect of the presence of humic matter of composted soil on the mineralization potential.

The investigation of the degradation rates during active composting showed that composting considerably reduced the concentration of aliphatic petroleum hydrocarbons in the C₁₀-C₅₀ range. Thermophilic conditions seem to especially enhance the degradation

of the C₁₇-C₅₀ fraction. The degradation rate of PAH decreased with the number of rings, the 5-ring-PAH remaining undegraded. Degradation of PAH having 4 rings takes place essentially during the curing stage.

An aerated microcosm device developed for the mineralization assessment of composted soils takes into account the high oxygen demand. It was shown that when assessing the mineralization potential of composted soils, typical unaerated microcosms cannot satisfy the oxygen demand, thus distorting the results.

Using hexadecane as the model compound, it was shown that composting is not any more effective at increasing alkane mineralization than mineral salt supplementation.

Rapid mineralization of pyrene (4 rings) was observed in mature composted soil whereas the composted soils from the mesophilic and thermophilic phases were capable of mineralizing pyrene only after a lag phase of about 3 weeks. No pyrene mineralization was observed at thermophilic temperatures. No positive response was obtained during the assessment of benzo(a)pyrene (5 rings) mineralization in mature composted soil.

When assessing the addition of different humic matter fractions contained in the composted soil to contaminated soil, it was shown for the first time that the humic acids fraction contributes significantly to the increased pyrene mineralization potential. The initial pyrene mineralization rate could be increased about the four-fold by the addition of

humic acids. Beyond of a certain humic acids concentration the mineralization rates decrease. Although the presence of large quantities of humic acids can decrease the pH, the inhibitory effect of high humic acids concentrations cannot solely be attributed to this phenomenon.

The results suggest that composting of soils is beneficial if they are contaminated with long chain aliphatic hydrocarbons, i.e. in the C_{17} - C_{50} range. As for PAH contaminated soils, the addition of mature compost would be sufficient (as opposed to active composting). In order to avoid increasing the volume of treated soil, the addition of humic acids extracted from compost could be an attractive alternative to active composting or the addition of mature compost.

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE	iv
REMERCIEMENTS	v
RÉSUMÉ	vi
ABSTRACT	ix
TABLE DES MATIÈRES.....	xii
LISTE DES TABLEAUX.....	xvii
LISTE DES FIGURES	xix
LISTE DES SIGLES ET ABBRÉVIATIONS.....	xxii
CHAPITRE I : INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
1.1 L'objet de recherche	1
1.1.1 La contamination des sites aux hydrocarbures aliphatiques et aromatiques polycycliques.....	2
1.1.2 Restauration des sites par voie biologique.....	5
1.1.2.1 L'épandage.....	5
1.1.2.2 Le traitement en biopile.....	6
1.1.2.3 Le compostage.....	8
1.1.3 La biodégradation des hydrocarbures aliphatiques.....	12
1.1.4 La biodégradation des HAP	14

1.1.4.1 La dégradation des HAP par les bactéries.....	14
1.1.4.2 La dégradation des HAP par les champignons.....	16
1.1.5 La problématique du devenir des contaminants pendant le compostage	17
1.1.5.1 Formation de résidus «liés».....	17
1.1.5.2 Minéralisation.....	18
1.1.5.3 L'influence de la matière humique sur la dégradation	21
1.1.6 Le vieillissement de la contamination (<i>aging</i>).....	25
1.2 Les hypothèses et objectifs de la thèse	26
1.3 L'organisation de la thèse.....	30

CHAPITRE II : ETUDE DES VITESSES DE DÉGRADATION LORS DU TRAITEMENT D'UN SOL CONTAMINÉ AUX HYDROCARBURES ALIPHATIQUES ET AROMATIQUES POLYCYCLIQUES PAR COMPOSTAGE ACTIF EN RÉACTEUR CUVÉE	32
2.1 Introduction.....	32
2.2 Matériel et méthodes.....	33
2.2.1 Le réacteur en cuvette	33
2.2.2 Sol et matière organique utilisés	35
2.2.3 Méthodes analytiques.....	36
2.2.4 Démarche expérimentale	37
2.2.5 Modélisation de la dégradation de la matière organique et des hydrocarbures aliphatiques (C ₁₀ -C ₅₀).....	38
2.3 Résultats et discussion	45
2.3.1 Dégradation de la matière organique	45
2.3.2 La concentration des C ₁₀ -C ₅₀	52
2.3.3 La concentration des HAP	57
2.3.4 Conclusion	60

CHAPITRE III : THE DESIGN AND USE OF AERATED MICROCOSMS IN MINERALIZATION STUDIES..... 61

3.1 Abstract.....	62
3.2 Introduction.....	63
3.3 Materials and methods	64
3.3.1 Preparation of the compost	64
3.3.2 Microcosm apparatus and experimental	65
3.3.3 Chemicals.....	67
3.3.4 Analyses	67
3.4 Results and discussion	67
3.4.1 The necessity for continuous aeration.....	67
3.4.2 Design of CO ₂ traps	70
3.4.3 Verification of the alkaline trap efficiency	72
3.5 Acknowledgement	74
3.6 References.....	74

CHAPITRE IV : MINERALIZATION OF ¹⁴C-LABELED n-HEXADECANE, PYRENE AND BENZO(A)PYRENE IN COMPOSTED SOIL FROM DIFFERENT COMPOSTING STAGES..... 76

4.1 Abstract.....	78
4.2 Introduction.....	79
4.3 Materials and Methods.....	83
4.3.1 Chemicals.....	83
4.3.2 Soil and amended organic material.....	83
4.3.3 Soil composting	84
4.3.4 Microcosm apparatus and experimental	85
4.3.5 Quantification of mineralization and radioactivity balance.....	86
4.3.6 Calculation of lag phase and maximum mineralization rate.....	87
4.4 Results and Discussion	88

4.4.1 Radiolabeled-carbon balance	88
4.4.2 n-Hexadecane mineralization.....	88
4.4.3 Pyrene mineralization	93
4.4.4 Benzo(a)pyrene mineralization.....	97
4.4.5 Implications for process design	98
4.5 Acknowledgements.....	98
4.6 References.....	98

CHAPITRE V : ENHANCING PYRENE MINERALIZATION IN CONTAMINATED SOIL BY THE ADDITION OF MATURE COMPOSTED CONTAMINATED SOIL OR HUMIC ACIDS.....	103
5.1 Abstract.....	104
5.2 Introduction.....	105
5.3 Materials and Methods.....	107
5.3.1 Chemicals.....	107
5.3.2 Contaminated soil and composted PAH-contaminated soil.....	107
5.3.3 Extraction and fractionation of humic matter	108
5.3.4 Organic carbon content, humic matter concentration and molar aromaticity..	109
5.3.5 Microcosm apparatus and experimental	110
5.3.6 Quantification of mineralization	111
5.4 Results and discussion	112
5.4.1 Characterization of humic matter in the soil and mature composted PAH- contaminated soil.....	112
5.4.2 Addition of mature composted PAH-contaminated soil and different humic fractions	114
5.5 Variation of the concentration of humic acids fraction	118
5.6 Acknowledgements.....	120
5.7 References.....	121

CONCLUSION GÉNÉRALE.....	125
RECOMMANDATIONS	129
RÉFÉRENCES.....	132
ANNEXES	154

LISTE DES TABLEAUX

<u>Tableau 1.1</u> : Sources principales et principaux mécanismes de transports des HAP dans l'environnement.....	4
<u>Tableau 1.2</u> : Contaminants dont le traitement par compostage a été prouvé comme étant efficace.....	10
<u>Tableau 2.1</u> : Concentrations initiales des HAP prioritaires de l'US-EPA dans le sol contaminé.....	35
<u>Tableau 2.2</u> : Calcul des expressions pour la concentration adimensionnelle des fractions C_{10} - C_{16} et C_{17} - C_{50}	43
<u>Tableau 2.3</u> : Constantes de cinétique pour la dégradation des fractions C_{10} - C_{16} et C_{17} - C_{50}	55
<u>Tableau 2.4</u> : Constantes de cinétique pour la dégradation des HAP obtenues par régression non-linéaire.....	59
<u>Table 3.1</u> : Radioactivity values measured after 19h in four vials connected to a microcosm incubated at ambient temperature and to one incubated at 55°C.....	73
<u>Table 4.1</u> : Lag phases and maximum minerlization rates for pyrene and n-hexadecane mineralization in different compost-soil mixtures.....	90
<u>Table 5.1</u> : Organic carbon (OC) content, concentrations of humic and fulvic acids fractions in contaminated soil and in mature composted soil and their molar aromaticity.....	113

<u>Table 5.2:</u> Initial and final pH values in soil and soil amended with different organic matrices.....	118
<u>Tableau A.1 :</u> Spécifications du GC et du programme utilisé	157
<u>Tableau A.2 :</u> Concentrations initiales des HAP et contenu en cendres (matière minérale) de l'essai à profil de température naturel simulé : calculée à partir de la dilution des concentrations du sol contaminé, réellement mesurée et la moyenne des deux	164
<u>Tableau A.3 :</u> Concentrations corrigées des HAP et contenu en cendres (matière minérale) de l'essai à profil de température naturel simulé en fonction du temps.....	165

LISTE DES FIGURES

<u>Figure 1.1</u> : Structures chimiques, caractéristiques physiques et toxicologiques des HAP	3
<u>Figure 1.2</u> : Actions conjuguées des paramètres du compostage, à humidité et aération optimales	8
<u>Figure 1.3</u> : Dégradation des alcanes par oxydation terminale au moyen d'un mono-oxygénase et par oxydation β pour donner le CoA acétylique	13
<u>Figure 1.4</u> : Étapes initiales des voies métaboliques pour l'oxydation microbienne des hydrocarbures aromatiques polycycliques	15
<u>Figure 2.1</u> : Corrélations pour le taux de consommation d'oxygène observés pour une pluralité de mélanges et types de réacteurs	41
<u>Figure 2.2</u> : Suivi des principaux paramètres pendant le compostage d'un sol contaminé à profil de température naturel simulé.....	47
<u>Figure 2.3</u> : Suivi des principaux paramètres pendant le compostage d'un sol contaminé à température constante.....	48
<u>Figure 2.4</u> : Suivi des principaux paramètres pendant le compostage d'un sol non-contaminé à température constante.....	49
<u>Figure 2.5</u> : Comparaison des modèles avec les valeurs mesurées pour la dégradation de la matière organique	50
<u>Figure 2.6</u> : Comparaison des modèles sans facteur de correction et avec facteur de correction.	56

Figure 2.7 : Concentrations corrigées des HAP à 2 et 3 anneaux rapportées à leur valeur initiale	58
Figure 2.8 : Concentrations corrigées des HAP à 4 anneaux rapportées à leur valeur initiale	59
Figure 3.1: Experimental apparatus used for tests with continuous aeration and periodical flushing	66
Figure 3.2 The effect of continuous aeration on the mineralization of glucose in thermophilic-phase compost-soil compared to periodical flushing	69
Figure 3.3: The effect of aeration on the mineralization of hexadecane in mesophilic-phase compost-soil.....	70
Figure 4.1: CO ₂ generation rate and temperature profile during composting of contaminated soil in the 11 L reactor used for the preparation of composted soil	80
Figure 4.2: Variation in the concentrations of the C ₁₀ -C ₁₆ aliphatics, pyrene (4 ring PAH), and benzo(a)pyrene (5 ring PAH) during active composting of a contaminated soil	82
Figure 4.3: Mineralization of n-hexadecane in samples from different stages of composting contaminated soil.....	89
Figure 4.4: Mineralization of n-hexadecane with different mixtures of mature compost and contaminated soil.	92
Figure 4.5: Mineralization of pyrene in samples from different stages of composting of contaminated soil.	94
Figure 4.6: Mineralization of pyrene with different mixtures of mature composted soil and contaminated soil	96

<u>Figure 5.1</u> : Mineralization of pyrene in contaminated soil amended with mature composted PAH-contaminated soil or fractions thereof.....	115
<u>Figure 5.2</u> : Difference in mineralization of pyrene in contaminated soil amended with the humic fraction of mature composted PAH-contaminated soil and in unamended PAH-contaminated soil.	116
<u>Figure 5.3</u> : Mineralization enhancement (ratio of initial mineralization rate in amended PAH-contaminated soil and initial mineralization rate in unamended PAH-contaminated soil) and final pH values versus the nondimensional concentration ξ of added humic acids fraction.	119
<u>Figure A.1</u> : Réacteur cuvée (<i>batch</i>) avec un volume de 11 litres	155
<u>Figure A.2</u> : Régressions pour la valeur de $k_{m.o.}$	160
<u>Figure A.3</u> : Régressions pour la valeur de $k_{C10-C16}$	161
<u>Figure A.4</u> : Régressions pour la valeur de $k_{C17-C50}$	162

LISTE DES SIGLES ET ABBRÉVIATIONS

$C_{10}-C_{16}$	Hydrocarbures pétroliers aliphatiques à longueurs de chaînes entre C_{10} à C_{16}
$C_{17}-C_{50}$	Hydrocarbures pétroliers aliphatiques à longueurs de chaînes entre C_{16} à C_{50}
$C_{10}-C_{50}$	Hydrocarbures pétroliers aliphatiques à longueurs de chaînes entre C_{10} à C_{50}
$c_{C10-C16,corr}$	Concentration de la fraction $C_{10}-C_{16}$ corrigée pour la diminution de la masse de la matière organique [mg/kg]
$c_{C17-C50,corr}$	Concentration de la fraction $C_{17}-C_{50}$ corrigée pour la diminution de la masse de la matière organique [mg/kg]
$c_{HA,soil}$	Concentration des acides humiques initialement présents dans le sol (concentration of humic acids initially present in the soil) [mg OC/mg]
$c_{HA,added}$	Concentration des acides humiques ajoutés au sol (concentration of humic acids added to the soil) [mg OC/mg]
d_b	Diamètre de bulles (bubble size diameter) [mm]
d_p	Diamètre de particules (particle diameter) [mm]
$f(T)$	Facteur de correction de température [-]
FA	Acides fulviques (fulvic acids)
HA	Acides humiques (humic acids)
HAP	Hydrocarbures aromatiques polycycliques
HGM	Huiles et Graisses Minérales
$k_{C10-C16}$	Constante de cinétique de dégradation de la fraction $C_{10}-C_{16}$ [d ⁻¹]
$k_{C17-C50}$	Constante de cinétique de dégradation de la fraction $C_{17}-C_{50}$ [d ⁻¹]

$k_{m.o.}$	Constante de cinétique de dégradation de la matière organique [d^{-1}]
k_s	Coefficient de transfert de masse de la solution de KOH [$mm\ s^{-1}$]
m	Masse du compost [g]
m_e	Masse du compost à l'équilibre [g]
m_0	Masse du compost initiale [g]
OC	Carbone organique (organic carbon)
PAH	Hydrocarbures aromatiques polycycliques (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons)
R_A	Taux d'adsorption du CO_2 (absorption rate) [$mol\ m^{-2}\ s^{-1}$]
$r_{C10-C16}$	Taux de dégradation de la fraction C_{10} - C_{16} [g/d]
$r_{C17-C50}$	Taux de dégradation de la fraction C_{17} - C_{50} [g/d]
$r_{m.o.}$	Taux de dégradation de la matière organique [g/d]
r_{max}	Taux de minéralisation maximal (maximum minerlization rate) [%/d]
t	Temps [d]
T	Température [$^{\circ}C$]
T_{amb}	Température ambiante (ambient temperature) [$^{\circ}C$]
T_{moy}	Température moyenne dans le réacteur [$^{\circ}C$]
$\bar{T}_{moy}$	Température moyenne dans le réacteur par rapport au temps [$^{\circ}C$]
TPH	Hydrocarbures pétroliers aliphatiques à longueurs de chaînes entre C_{10} à C_{50} (Total Petroleum Hydrocarbons)
w/DW	Poids par poids sec (weight per dry weight) [mg/mg]

$X_{m.o.}$	Rapport entre la masse de la matière organique sans cendres à un instant t et la masse de la matière organique sans cendres au temps zéro [g/g]
$y_{cendres}$	Fraction des cendres déterminé par combustion à 550 °C [g/g]
$\mu_{m.o.}$	Masse adimensionnelle de la matière organique [mg/mg]
$\mu_{C10-C16}$	Masse adimensionnelle de la fraction C ₁₀ -C ₁₆ [mg/mg]
$\mu_{C17-C50}$	Masse adimensionnelle de la fraction C ₁₇ -C ₅₀ [mg/mg]
τ_{99}	Temps de séjour correspondant à l'absorption de 99% de la quantité initiale de CO ₂ dans la bulle (residence time corresponding to an absorption of 99% of initial CO ₂ in the bubble [s])
ξ	Concentration adimensionnelle de la fraction des acides humiques (non-dimensional humic acids fraction concentration) [mg/mg]

CHAPITRE I

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Ce chapitre traite du compostage comme outil de restauration des sols contaminés. L'objet de recherche aborde la problématique des sols contaminés aux hydrocarbures aliphatiques et aromatiques polycycliques et survole les procédés de restauration par voie biologique, en particulier le compostage des sols. La problématique du devenir des polluants pendant le compostage des sols est ensuite posée. Enfin, les hypothèses émises et les objectifs de la thèse ainsi que son organisation sont présentés.

1.1 L'objet de recherche

La contamination des sols aux hydrocarbures pétroliers est un problème de grande actualité et ce n'est que dans les pays les plus développés que des mesures sont prises afin d'y remédier. Bien que des procédés physico-chimiques, notamment l'incinération, soient aujourd'hui le plus souvent appliqués, les procédés biologiques sont en train de gagner du terrain. Parmi eux se trouve le compostage des sols qui comprend l'addition des sources de carbone et d'azote organiques au sol. Un bref survol de la problématique de la contamination des sols ainsi que la restauration des sols par des procédés biologiques *ex-situ*, notamment par le compostage, sont présentés dans cette section.

1.1.1 La contamination des sites aux hydrocarbures aliphatiques et aromatiques polycycliques

Le pétrole est un complexe mélange de plusieurs milliers de composés chimiques. Ceux-ci peuvent être divisés en quatre groupes principaux : les alcanes (hydrocarbures aliphatiques), les aromatiques, les résines et les asphaltènes (Wrenn et Venosa, 1996). En général, la fraction des alcanes de petit poids moléculaire est la plus biodégradable. Par contre, la fraction polaire, c'est-à-dire les résines et les asphaltènes, résiste à la dégradation biologique. Les hydrocarbures aliphatiques de haut poids moléculaire ainsi que les composés aromatiques, en particulier les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), sont moyennement à difficilement biodégradable et ainsi persistent dans l'environnement. Cependant, ce sont surtout les HAP qui possèdent des propriétés génotoxiques et cancérigènes représentant ainsi un risque élevé pour l'être humain. En général, la résistance à la biodégradation et la toxicité des HAP augmentent avec le poids moléculaire (Figure 1.1). Les HAP sont dérivés de l'incinération de carburants dérivés du pétrole, des sous-produits provenant de l'industrie manufacturière, mais aussi de la préparation d'aliments et des feux de forêts (Tableau 1.1). Les HAP non-substitués et alkyl-substitués sont produits par pyrolyse à températures élevées (2000°C), tandis qu'à des températures intermédiaires (400-800°C), comme c'est le cas des feux de forêts, des HAP comprenant 1 à 4 groupes alkyls sont formés (Blumer, 1976).

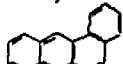
Récalcitrant ↓	HAP	Poids moléculaire	Solubilité (mg/l)	Génotoxicité
	 Naphthalène	128.2	31,7	---
	 Acénaphthène	154.2	3,9	+ Ames
	 Anthracène	178.2	0,07	---
	 Phénanthrène	178.2	1,3	---
	 Fluoranthène	202.3	0,26	Faiblement cancérigène
	 Pyrène	202.3	0,14	± Ames + UDS + SCE
	 Benzo(a)anthracène	228.3	0,002	+ Ames + CA + UDS + SCE + cancérigène
	 Benzo(a)pyrène	252.3	0,003	+ Ames + CA + UDS + DA + SCE + cancérigène

Figure 1.1 : Structures chimiques, caractéristiques physiques et toxicologiques des HAP. Les symboles signifient : (DA) couplage à l'ADN, (SCE) échange de chromatides soeurs, (CA) aberration chromosomale, (Ames) essai de réversion au moyen de *Salmonella typhimurium*, (UDS) synthèse d'ADN spontanée, (---) non génotoxique (tiré de Cerniglia (1992)).

Tableau 1.1 : Sources principales et principaux mécanismes de transports des HAP dans l'environnement (tiré de IARC (1972-1990) Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Vol. 1-49, International Agency for Research in Cancer, Lyon, France, cité dans Cerniglia (1992)).

Fuites naturelles des gisements de pétrole Déchets de raffineries et de stockage de pétrole Bateaux pétroliers lors de fuites accidentelles Eaux usées municipales Rivières polluées Particules de cendres présentes dans l'atmosphère Effluents de l'industrie pétrochimique Déchets de la production de charbon Gaz d'échappement des automobiles	Boues d'épuration rurales et urbaines Incinération de déchets Gazéification et liquéfaction du charbon Créosote et autres déchets d'agents préservatifs du bois Activités maritimes commerciale et de loisir Combustion de carburants pétroliers Aliments fumés et grillés Fumée de tabac et de cigarettes Feux de forêts et de prairies
---	--

Dans l'atmosphère, les HAP sont adsorbés sur les matières particulaires qui sont ensuite éliminées dans l'eau ou le sol. Les HAP rejetés dans le sol sont adsorbés sur les particules du sol et sont, soit lentement dégradés par l'activité microbienne, soit transportés par l'écoulement superficiel des matières sur lesquelles ils sont adsorbés. Dans l'eau, les HAP sont aussi adsorbés sur les matières en suspension où ils persistent. Bien qu'une grande partie des HAP soient libérés dans l'air, il en découle que les sols et les sédiments sont leur principal point de fuite dans l'environnement.

1.1.2 Restauration des sites par voie biologique

Concernant les hydrocarbures pétroliers, les procédés de décontamination des sols par voie biologique sont de plus en plus utilisés, puisque ils n'engendrent que de faibles coûts, sont faciles à implanter et laissent la structure du sol intacte. Ainsi, les sols traités peuvent être réutilisés à des fins agricoles ou industrielles dépendant de la concentration du contaminant atteinte.

1.1.2.1 L'épandage

L'épandage et le traitement en biopile sont des procédés largement établis aujourd'hui (Freeman et Harris, 1995). L'épandage est défini comme la culture du sol sur place, c'est-à-dire sans l'excavation, afin d'augmenter la biodégradation des contaminants. Ce traitement a recours à l'aération naturelle. L'oxygène consommé par les micro-organismes ne peut être remplacé que par diffusion de l'air à travers le sol. Par conséquent, la couche de sol à traiter ne peut dépasser une certaine épaisseur (environ 30 cm) ce qui nécessite de grandes surfaces pour le traitement. L'épandage est donc une méthode non-contrôlée et lente (Franzius *et al.*, 1989). Ce traitement peut s'avérer inefficace si les concentrations des hydrocarbures sont toxiques pour les microorganismes. De plus, si la contamination est relativement récente, l'absence d'une microflore adaptée peut devenir un facteur limitant. Enfin, plusieurs facteurs tel que le pH et la température ne sont pas contrôlés diminuant ainsi l'efficacité du traitement.

1.1.2.2 Le traitement en biopile

Quant au traitement en biopile, le sol est excavé et des piles de sol sont formées. La hauteur des biopiles ne dépasse généralement pas 1,5 m afin de réduire des effets de compaction (Samson, 1996) qui empêcheraient une aération adéquate. De plus, des agents structurants (copeaux de bois) sont souvent ajoutés au sols afin d'améliorer la circulation d'air. L'aération est effectuée par aspiration à travers la biopile (Samson, 1996).

Il existe deux manières de traiter en biopile un sol contaminé : le traitement par biostimulation et le traitement par bioaugmentation. La biostimulation vise à créer un environnement favorable à la croissance de la microflore indigène capable de dégrader le contaminant. À cette fin, des nutriments et des agents structurants sont ajoutés au sol, le contenu en eau est ajusté et une aération adéquate est assurée. En revanche, si la concentration en microorganismes dégradant le contaminant cible n'est pas suffisante, le sol a été récemment contaminé ou la présence de toxiques inhibe la croissance des microorganismes indigènes, le traitement par biostimulation n'est pas recommandé (Forsyth *et al.*, 1995).

La bioaugmentation, quant à elle, consiste en l'ajout de microorganismes dégradeurs qui ont une capacité de dégradation du polluant plus élevée que la microflore indigène. La bioaugmentation est le traitement de choix si la contamination est récente ou la

concentration de microorganismes indigènes capables de dégrader le contaminant est insuffisante.

Quant aux HAP, le traitement biologique des sols contaminés le plus souvent appliqué est la bioaugmentation par champignons de type carie blanche (*white rot fungus*). Ces champignons sont capables de dégrader une panoplie de polluants (Bumpus *et al.*, 1985). Parmi eux se trouvent *Phanerochaete chrysosporium* (McFarland *et al.*, 1992 ; Field *et al.*, 1992), *Bjerkandera* sp. (Field *et al.*, 1992 ; Grotenhuis *et al.*, 1998) et *Pleurotus ostreatus* (Bezalel *et al.*, 1996).

La dégradation des HAP se fait grâce à un système d'enzymes lignolytiques non-spécifiques qui rend les champignons capables d'attaquer une large gamme de composés aromatiques (Field *et al.*, 1992). De plus, la sécrétion de ces enzymes par les champignons n'est pas fonction de la concentration du contaminant. Ainsi, la concentration des contaminants à traiter peut être inférieure à celle nécessaire pour effectuer un traitement par d'autres microorganismes (Bumpus *et al.*, 1985). En revanche, la dégradation des HAP par les champignons n'est souvent pas complète (minéralisation) et l'accumulation de métabolites toxiques devient problématique. Parmi ces métabolites toxiques se trouvent les quinones et les epoxides qui sont très réactifs et toxiques (Cerniglia, 1997).

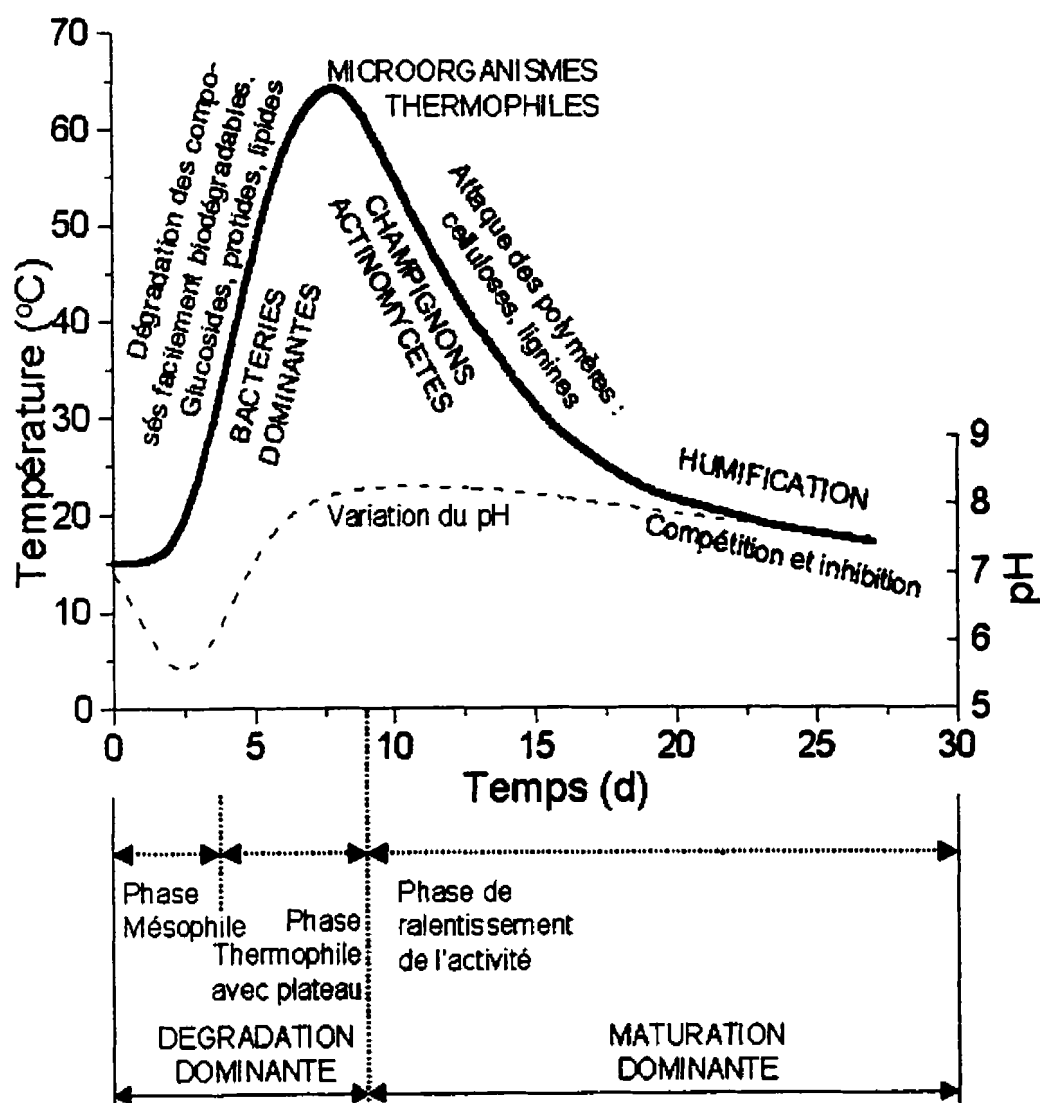


Figure 1.2 : Actions conjuguées des paramètres du compostage, à humidité et aération optimales (tiré de Mustin (1987)).

1.1.2.3 Le compostage

A part les traitements biologiques comme l'épandage et le traitement en biopile, qui font aujourd'hui partie des traitements biologiques "conventionnels", le compostage des sols

attire de plus en plus l'attention comme technologie performante et peu coûteuse. Le compostage diffère des autres traitements biologiques (épandage, biopile) dans la mesure où la concentration de la matière organique ajoutée au sol contaminé est beaucoup plus élevée (30 à 50% p/p). La matière organique sert surtout de source de carbone et d'azote mais favorise aussi l'accès de l'oxygène au sol puisqu'elle possède généralement une porosité plus élevée que le sol.

Après l'ajout de la matière organique au sol, l'humidité du compost est ajustée à une valeur d'environ 50% (p/p) et le compost est soumis à l'aération, soit passive ou active. La phase initiale d'adaptation (phase mésophile) est suivie par une période d'intense activité microbienne ce qui entraîne des températures élevées (phase thermophile) (Figure 1.2). Ceci est dû au fait que la chaleur générée par la dégradation de la matière organique est de l'ordre de 10 à 20 kJ par g de matière dégradée (Haug, 1993). Après consommation des matières facilement dégradables, la production de chaleur diminue et la température descend à un niveau proche de la température ambiante. Enfin, le compost entre dans la phase de maturation.

Tableau 1.2 : Contaminants dont le traitement par compostage a été prouvé comme étant efficace.

Contaminant(s)	Référence
Composés nitro-aromatiques	(Kaplan et Kaplan, 1982; Ziegenfuss <i>et al.</i> , 1991; Griest <i>et al.</i> , 1992; Williams <i>et al.</i> , 1992; Brown <i>et al.</i> , 1995; Lenke <i>et al.</i> , 1998)
Composés aliphatiques	(Kamnikar, 1992; Simpkin <i>et al.</i> , 1992; Beaudin, 1995; Beaudin <i>et al.</i> , 1996; O'Reilly et Simpkin, 1997; Kirchmann et Ewnetu, 1998; Milne <i>et al.</i> , 1998; Beaudin <i>et al.</i> , 1999)
Phénols chlorés	(Valo et Salkinoja-Salonen, 1986; Semple et Fermor, 1995)
Herbicides et pesticides	(Dooley <i>et al.</i> , 1995; Michel <i>et al.</i> , 1995)
Composés pharmaceutiques	(Rhodes et Peck, 1995)
HAP	(Parikh et Allen, 1992; Joyce, 1993; Joyce <i>et al.</i> , 1998; Potter <i>et al.</i> , 1999)

Il a été démontré que le compostage est efficace lors de la réduction d'une panoplie de contaminants (Tableau 1.2). Kamnikar (1992) a démontré qu'un sol sableux contaminé à 1300 mg/kg d'hydrocarbures aliphatiques peut être traité par compostage avec succès en obtenant une réduction des concentrations à 3,9 mg/kg après 11 semaines de compostage. Même les concentrations en hydrocarbures pétroliers d'un sol sableux dont la contamination datait de loin ont été considérablement réduites, c'est-à-dire 50% de la concentration initiale de 17.000 mg/kg exprimée en Huiles et Graisses Minérales après 105 jours (Beaudin *et al.*, 1996). Le traitement de sols et de boues contaminés aux hydrocarbures aliphatiques et aux HAP est également faisable. Ainsi, O'Reilly et Simpkin (1997) ont démontré que 98% des composés aliphatiques d'un sol fraîchement contaminé

étaient dégradés après 160 jours. Les composés aliphatiques dans la plage C₈-C₂₄ étaient plus rapidement dégradés comparés aux composés dans la plage C₂₅-C₄₀. De plus, le sol dont la contamination datait de loin n'était décontaminé qu'à 83%. Pendant le même traitement, le contenu en HAP a été considérablement réduit (61 à 87%), les HAP à 5 anneaux étant plus difficiles à dégrader (seulement 50% comparé à 75% pour les HAP à 4 anneaux).

Lors du compostage de déchets municipaux simulés, des HAP tels que l'anthracène, le phénanthrène et le pyrène étaient dégradés (entre 40 et 60% après 36 jours) tandis que le fluorène était éliminé par volatilisation et le benzo(a)anthracène persistait (Joyce *et al.*, 1998). Potter *et al.* (1999) ont démontré que le traitement d'un sol contaminé aux HAP était faisable quant à la dégradation des HAP de 3 et 4 anneaux (environ 60 à 90% de dégradation après 12 semaines) tandis que les HAP à 5 et 6 anneaux n'étaient pas dégradés.

Le compostage a été suggéré surtout pour le traitement des contaminants récalcitrants en raison des phénomènes suivants : (a) l'activité enzymatique élevée due aux températures thermophiles; (b) les cinétiques de désorption élevées également dues aux températures élevées; (c) la co-oxydation et autres formes de co-métabolisme dues à la présence d'une variété considérable de substrats; et (d) la diversité microbienne élevée causée par l'environnement physico-chimique évoluant (Williams et Mayler, 1990; Crawford *et al.*, 1993). En outre, le traitement des sols contaminés par compostage semble surtout être

propice en présence de climats froids puisque la génération de chaleur serait suffisante pour maintenir une certaine activité microbienne (Simpkin *et al.*, 1992).

Pour mieux comprendre l'élimination biologique des composés aliphatiques et aromatiques polycycliques qui est à la base du compostage des sols contaminés, nous nous intéresserons la section suivante aux mécanismes de dégradation employés par les bactéries et par les champignons.

1.1.3 La biodégradation des hydrocarbures aliphatiques

De manière générale, les hydrocarbures aliphatiques sont plus facilement dégradés que les HAP. Les hydrocarbures linéaires le sont encore plus que ceux ayant des ramifications et les hydrocarbures non saturés sont plus difficiles à dégrader que les hydrocarbures saturés. Enfin, il est reconnu que les hydrocarbures aliphatiques à 8 atomes de carbone et moins sont toxiques aux micro-organismes et ainsi difficiles à dégrader (Baker et Herson, 1994a). Il semble que la longueur de la chaîne des hydrocarbures optimale pour la biodégradation se situe entre 10 et 20 atomes de carbone (Britton (1984), cité dans Baker et Herson (1994a)).

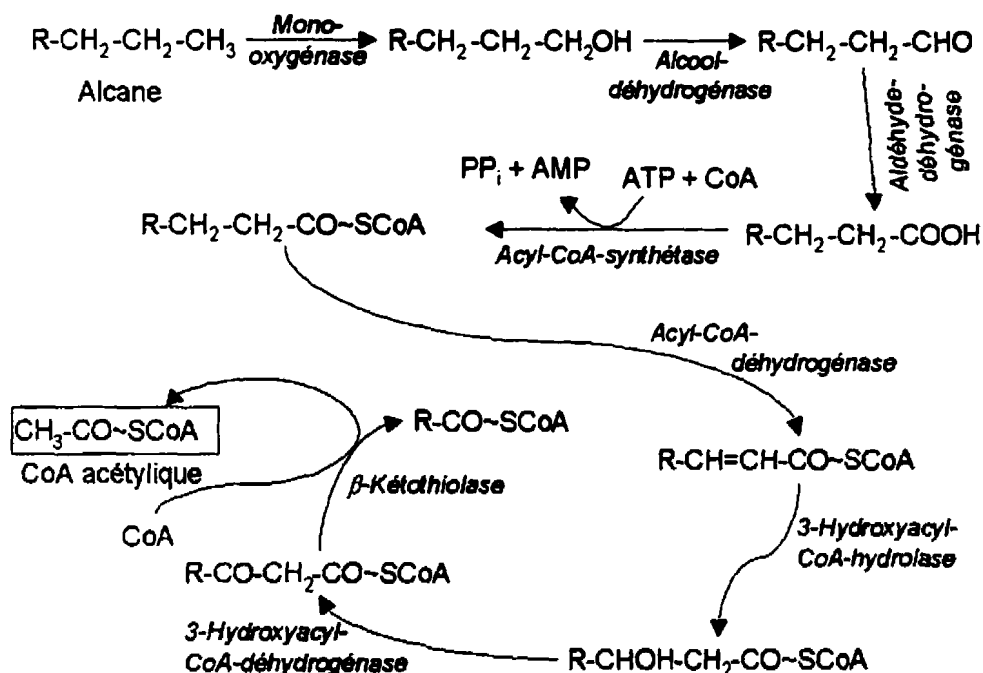


Figure 1.3 : Dégradation des alcanes par oxydation terminale au moyen d'un mono-oxygénase et par oxydation β pour donner le CoA acétylique (tiré de Schlegel (1992)).

La voie principale de dégradation des alcanes non ramifiés est l'oxydation du groupe méthylique terminal, suivi par la fission de la molécule entre le deuxième et le troisième atome de carbone dans la chaîne (fission β , voir Figure 1.3). La dégradation initiale est constituée de l'addition directe d'oxygène à l'atome de carbone terminal nécessitant la présence d'oxygène moléculaire. L'addition d'oxygène au carbone terminal catalysée par un oxygénase produit un alcool primaire qui est ensuite oxydé vers l'aldéhyde correspondant et finalement vers un acide formant un acide gras. Enfin, un fragment

d'une longueur de 2 atomes de carbones est clivé de l'acide gras produisant un intermédiaire (Acétyl-CoA) capable d'entrer dans les voies métaboliques centrales (cycle de Krebs) et un hydrocarbure ayant une longueur de chaîne de C_{n-2} . La répétition séquentielle de cette série de réaction résulte en la minéralisation complète de l'hydrocarbure (Baker et Herson, 1994a).

1.1.4 La biodégradation des HAP

En général, la transformation anaérobie des HAP n'est pas significative. Il a été démontré seulement pour le naphthalène et l'acénaphthène que la biodégradation peut avoir lieu sous des conditions dénitrifiantes (Mihelcic et Luthy, 1988). Par ailleurs, la dégradation des HAP sous des conditions sulfato-réductrices et méthanogènes est limitée (Cerniglia, 1993). Majoritairement, la dégradation biologique des HAP est donc de type aérobie. La Figure 1.4 montre les voies de dégradation employés par les bactéries et les champignons connues à ce jour.

1.1.4.1 La dégradation des HAP par les bactéries

Les HAP à faible poids moléculaire tel que le naphthalène (Guerin et Boyd, 1992), le phénanthrène (Shuttleworth et Cerniglia, 1996), le fluoranthène (Grifoll *et al.*, 1995) et l'anthracène (Tongpim et Pickard, 1996) peuvent servir de source de carbone à des souches bactériennes. L'étude de Dean-Ross et Cerniglia (1996) a démontré qu'une souche était capable de croître sur le pyrène. La dégradation de pyrène via un mécanisme

co-métabolique est cependant connue depuis un certain temps (Heitkamp et Cerniglia, 1988; Heitkamp *et al.*, 1988a; Heitkamp *et al.*, 1988b). Ce genre de métabolisme serait aussi employé pour dégrader le benzo(a)pyrène (Grosser *et al.*, 1991). La dégradation bactérienne des HAP commence par une attaque de l'anneau aromatique par une dioxygénase qui formera un dihydrodiol *cis* (Figure 1.4). Les produits intermédiaires du dihydrodiol *cis* déhydroxylé sont ensuite oxydés pour former des substrats pour des enzymes de clivage d'anneau (catechols).

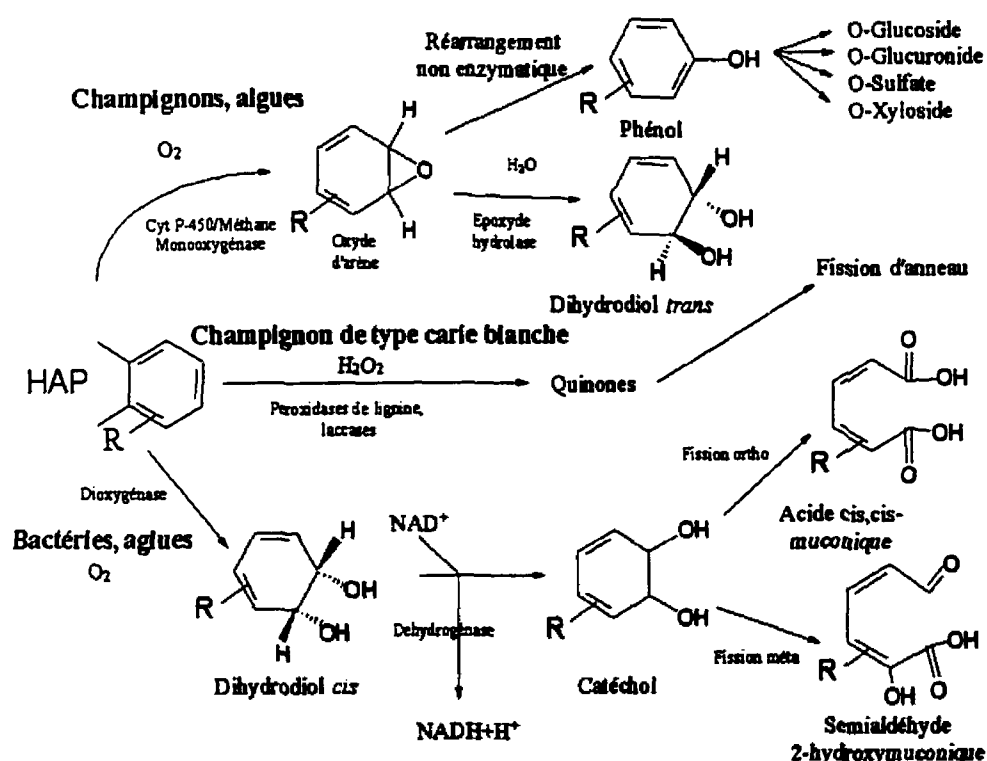


Figure 1.4 : Étapes initiales des voies métaboliques pour l'oxydation microbienne des hydrocarbures aromatiques polycycliques (tiré de Cerniglia (1993)).

1.1.4.2 La dégradation des HAP par les champignons

Comme les bactéries qui ne peuvent pas utiliser les HAP comme source de carbone, les champignons dégradent les HAP seulement par co-métabolisme (Cerniglia, 1993). La Figure 1.4 montre que les deux principaux groupes impliqués dans l'attaque initiale aux HAP par des champignons sont le monooxygénase cytochrome P-450 et les peroxidases de lignine. Le cytochrome P-450 incorpore un atome d'oxygène moléculaire dans le HAP afin de former un oxyde d'arène. Ensuite, celui-ci subit soit une isomérisation spontanée afin de former un phénol, soit une hydratation enzymatique afin de former un dihydrodiol *trans*.

Plusieurs champignons pouvant minéraliser les HAP ont été reportés (Field *et al.*, 1992; Bezalel *et al.*, 1996; Wolter *et al.*, 1997). Néanmoins, les champignons minéralisent les HAP plus lentement que les bactéries (Cerniglia, 1997). Bien que les phénols et quinones représentent des métabolites possibles, les métabolites les plus souvent rencontrés sont les époxydes fortement réactifs (Cerniglia, 1997). Ils semblent être les composés dérivés des HAP les plus tumorigènes et mutagènes.

1.1.5 La problématique du devenir des contaminants pendant le compostage

1.1.5.1 Formation de résidus «liés»

Malgré l'environnement favorable à la biodégradation de composés récalcitrants tels que les HAP, les contaminants risquent de ne pas être complètement minéralisés (Freeman et Harris, 1995). Or, l'abondance de matière organique provoque la formation de matière humique qui peut lier le contaminant et former ainsi des «résidus liés» (*bound residues*) (Sack et Fritsche, 1997; Daun *et al.*, 1998). Il est admis que la formation de ces résidus intervient dans la transformation d'herbicides et de pesticides (Bollag *et al.*, 1992; Michel *et al.*, 1995). Elle a été proposée comme traitement d'immobilisation de contaminants (Berry et Boyd, 1985). Guthrie et Pfaender (1998) ont constaté que le pyrène est davantage incorporé à la matière humique quand le milieu montre une activité microbienne indiquant qu'un mécanisme biologique est, au moins en partie, responsable de la formation de ces résidus. Il est généralement reconnu que le couplage entre la matière humique et le contaminant ou son métabolite dérivé est de type covalent (Bollag *et al.*, 1983; Richnow *et al.*, 1998). La formation de tels résidus nécessite la présence de groupes réactifs sur le contaminant et sur la matrice organique du sol (Bollag *et al.*, 1983). Quant aux HAP, ils ne possèdent pas de tels groupes. Dans leur cas, il a été supposé que l'humification, c'est-à-dire la formation de résidus liés à la matière humique, ne peut donc avoir lieu que si des métabolites réactifs dérivés des HAP sont formés (Mahro *et al.*, 1994; Kästner *et al.*, 1995). Il a cependant été démontré que seulement une petite partie des métabolites connus est liée au moyen de liaisons de type ester ou éther

(Richnow *et al.*, 1998). Ceci suggère que des liaisons du type C-C ou polyvalents doivent être à l'origine de ces résidus (Kästner et Mahro, 1996; Kästner *et al.*, 1999)

Les composés aliphatiques sont généralement plus faciles à minéraliser. En ajoutant du compost mature à un sol contaminé au *n*-hexdécane, Kästner *et al.* (1995) ont toutefois démontré qu'une partie importante de ce composé aliphatique est incorporée dans la matrice organique pour former des résidus liés.

Malgré leur toxicité, leur biodisponibilité et leur mobilité diminuées (Berry et Boyd, 1985; Bollag *et al.*, 1992), les résidus liés formés pendant le traitement biologique peuvent encore représenter des risques élevés. Ainsi, Palmer *et al.* (1997) ont rapporté que les résidus formés par compostage d'un sol contaminé au 2,4,6-trinitrotoluène et ordonnés sous forme de poussière s'accumulaient davantage dans les reins de rats en comparaison à la poussière d'un sol contaminé non traité.

1.1.5.2 Minéralisation

Il est donc d'une importance cruciale de savoir quel est le devenir des contaminants pendant le compostage et il ne suffit pas de prendre l'analyse des composés mères comme seul critère pour juger si le traitement a été mené avec succès. A part des résidus liés formés pendant le compostage qui peuvent être stables ou non, les produits intermédiaires peuvent être plus toxiques que les composés mères (Cerniglia, 1984;

Belkin *et al.*, 1994). Ceci doit être pris en considération surtout dans le cas des champignons (voir section 1.1.2.2). Il est donc désirable de déterminer si le contaminant est complètement dégradé (minéralisation) pendant le compostage du sol.

Actuellement, la littérature scientifique ne rapporte que peu d'études sur la minéralisation des contaminants pendant le compostage «conventionnel» et le compostage des sols. Une étude porte sur la minéralisation des phénols chlorés pendant le compostage d'un sol contaminé (Valo et Salkinoja-Salonen, 1986). Dans cette étude, le pentachlorophénol dans le compost était minéralisé à 40% après une phase de latence d'environ 15 jours en comparaison au sol contaminé où aucune phase de latence a été observée, mais où le taux final de minéralisation n'était que 30%. Michel *et al.* (1995) ont rapporté qu'après 50 jours de compostage de gazon contaminé à l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique, presque 50% de cet herbicide a été minéralisé. Martens (1982) a constaté que le compost municipal, quand il est mature, possède un potentiel de minéralisation des HAP nettement plus élevé que du compost frais. Étonnement, même les HAP à 5 anneaux tels que le benzo(a) pyrène et le dibenzo(a,h)anthracène ont été minéralisés jusqu'à 20% comparé à une valeur maximale de 1,4% dans le compost frais.

Plusieurs études ont été publiées concernant l'addition de compost mature aux sols contaminés (Lotter *et al.*, 1990; Kästner *et al.*, 1995; Hupe *et al.*, 1996; Kästner et Mahro, 1996; Laine et Jorgensen, 1996; Rosenbrock *et al.*, 1997; Wischmann et Steinhart, 1997; Kästner *et al.*, 1999). Toutes ces études concluent que l'addition de compost accélère la

disparition des contaminants et augmente son rendement. A l'aide du traçage par le ^{14}C il a été découvert que l'addition de compost mature n'augmente pas seulement la formation de résidus liés, mais favorise aussi la production de dioxyde de carbone (Kästner *et al.*, 1995). La minéralisation renforcée ne peut être uniquement attribuée à la microflore apportée par le compost, car il a été démontré que la présence de la microflore provenant du compost n'est pas essentielle pour celle-ci (Kästner et Mahro, 1996).

La modélisation des courbes de minéralisation a été entreprise par plusieurs auteurs. Simkins et Alexander (1984) ont présenté six modèles (ordre zéro, Monod sans croissance, premier ordre, logistique, Monod avec croissance et logarithmique) ayant la concentration du substrat et la densité de la population comme variables. Pour des concentrations initiales de substrat qui était faible, moyenne ou élevée, les courbes de minéralisation étaient bien représentées par des cinétiques de premier ordre, de Monod et des cinétiques logarithmiques. Ces auteurs ont conclu que la diversité des formes des courbes de minéralisation était le résultat des interactions entre la concentration du substrat et la densité de la population.

Se basant sur des résultats obtenus lors de la minéralisation de composés de la créosote sous des conditions aérobies, Millette *et al.* (1995) ont introduit plusieurs paramètres afin d'analyser une courbe de minéralisation et d'évaluer les interactions entre les différents composés analysés. Ils ont défini la durée de la phase de latence comme le temps auquel un cinquième de l'enlèvement maximal par minéralisation (évalué à temps suffisamment

long) est atteint. De plus, le taux maximal de minéralisation est calculé par la droite reliant le point sur la courbe correspondant au cinquième de l'enlèvement maximal et le point correspondant au deux tiers de l'enlèvement maximal. Ces paramètres sont donc arbitraires et d'autres formes d'analyses des courbes de minéralisation sont possibles. Ainsi, un graphique semi-logarithmique de la concentration de la biomasse *versus* le temps permet habituellement de distinguer la phase de latence. Elle peut être déterminée par l'intersection de la droite de la croissance exponentielle avec la droite de la concentration initiale (Shuler et Kargi, 1992). Cette forme d'analyse a été choisie pour la présente étude. De plus, le taux maximal de minéralisation a été déterminé par la tangente de pente la plus élevée à la courbe de minéralisation dans un graphique non-logarithmique.

1.1.5.3 L'influence de la matière humique sur la dégradation

Un autre facteur peut jouer un rôle important dans le mécanisme qui aboutit à la minéralisation du contaminant : la matière humique. Elle est composée d'acides humiques et fulviques, d'humines et d'acides hymatomélaniques et est constituée de produits provenant de la condensation de composés de type polyphénol avec des composés contenant de l'azote (Kononova *et al.*, 1966). Les structures des acides humiques sont riches en structures aromatiques et on peut en dériver des HAP (Schnitzer et Khan, 1972). Ainsi s'expliquent leur haute affinité envers les polluants contenant des structures aromatiques et l'intérêt des chercheurs de connaître l'influence de ces macromolécules sur

le devenir des contaminants dans l'environnement. L'adsorption des HAP sur les acides humiques a été largement étudiée (Kopinke *et al.*, 1995a; Kopinke *et al.*, 1995b; De Paolis et Kukkonen, 1997).

Le fait que la biodisponibilité diminue avec la concentration de la matière organique (matière humique) dans le sol est aujourd'hui bien établi (Karickhoff et Brown, 1979; Chiou *et al.*, 1986; Weissenfels *et al.*, 1992; Ortega-Calvo *et al.*, 1997). Cependant, Rosenbrock *et al.* (1997) ont rapporté que l'ajout de paille à un sol contaminé aux dibenzo-p-dioxine augmente la minéralisation de ce contaminant. Ils proposent le concept d'une concentration en matière organique optimale qui est suffisante pour supporter la croissance maximale de la biomasse tout en minimisant les effets d'adsorption à la matière organique. La présence de substrats additionnels est d'autant plus importante quand le mécanisme de dégradation repose sur le co-métabolisme ou la co-oxydation. Ceci est le cas des HAP dégradés par les champignons et des HAP de 5 anneaux et plus dégradés par les bactéries.

L'influence de la matière humique sur la mobilité des HAP est d'autant plus complexe qu'une partie de celle-ci est partiellement soluble dans l'eau et peut elle-même solubiliser les HAP. Ainsi, la solubilité apparente des HAP peut augmenter avec la concentration des acides humiques (Chiou *et al.*, 1986; Johnsen et Gribbestad, 1991; Alberts *et al.*, 1994; Matthiessen, 1994; Johnson et Amy, 1995). Ainsi, Lassen et Carlsen (1997) ont réussi à augmenter la solubilité apparente du phénanthrène de 50%. Ce phénomène a même été

proposé comme traitement des sols (Xu *et al.*, 1994; Lesage *et al.*, 1995; Yates III et von Mandruszka, 1999). Par contre, la volatilisation des HAP d'une solution aqueuse est inhibée en présence d'acides humiques (Yates III *et al.*, 1997).

Cependant, il a été constaté que le degré de solubilisation élevée dépend de plusieurs caractéristiques de la matière humique tel que l'origine et le poids moléculaire (Raber et Kögel-Knabner, 1997; Piatt et Brusseau, 1998; Raber *et al.*, 1998; Yates III et von Mandruszka, 1999). Ainsi, il a été découvert que l'affinité des acides humiques envers les HAP augmente avec leur aromaticité (McCarthy *et al.*, 1989; De Paolis et Kukkonen, 1997). Dans ce contexte, il est à noter que les acides humiques prennent une autre conformation quand ils sont adsorbés, diminuant ainsi leur capacité de se lier aux HAP (Jones et Tiller, 1999). Il en découle que les acides humiques doivent être caractérisés pour chaque cas d'application et les études en laboratoire ne peuvent se limiter à l'utilisation d'acides humiques disponibles sur le marché (Malcolm et MacCarthy, 1986).

Étant donné que les acides humiques peuvent augmenter la solubilisation, il est concevable qu'ils puissent rendre les HAP plus disponibles aux micro-organismes. S'appuyant sur cette hypothèse, Lesage *et al.* (1995; 1997) ont utilisé de l'acide humique commerciale (Aldrich) afin d'augmenter la biodégradation du phénanthrène. Toutefois, malgré la solubilisation élevée du phénanthrène, une diminution de la production de $^{14}\text{CO}_2$ a été observée.

Les observations plus récentes suggèrent un virement du concept des acides humiques et du rôle qu'ils jouent quant au sort des polluants dans l'environnement. Ortega-Calvo et Saiz-Jimenez (1998) ont démontré que la présence d'argile, d'acides fulviques et d'acides humiques dans un environnement aqueux augmente la minéralisation du phénanthrène. Laor *et al.* (1999) ont observé une relation entre la quantité de phénanthrène adsorbé à l'acide humique et sa minéralisation : plus la quantité de phénanthrène était grande, plus la minéralisation était rapide. Ces auteurs constatent que des contaminants adsorbés sont toujours biodisponibles et que la présence de surfaces peut stimuler la minéralisation. Poeton *et al.* (1999) arrivent à la même conclusion, constatant qu'en présence de sédiments enrichis à l'acide humique (Aldrich), la minéralisation des HAP était 2 à 5 fois plus rapide que dans le cas d'un système aqueux sans solides. De plus, ils ont pu observer que 50% de la biomasse était attachée aux surfaces qui adsorbaient les HAP. Enfin, une étude a été rapportée démontrant qu'en absence d'une grande partie de la fraction humique d'une tourbe, la désorption et la biodisponibilité du phénanthrène sont diminuées (White *et al.*, 1999).

Une étude sur la minéralisation des acides humiques eux-mêmes en présence de pesticides a démontré que la minéralisation par *P. chrysosporium* de la fraction des acides humiques d'un compost de paille marqué au ^{14}C atteignait 35% après 18 jours, ce qui correspondait à peu près au taux de minéralisation des pesticides liés à la matière humique (Haider, 1988). Il est toutefois à noter que le compost dont les acides étaient

extraits n'avait que 6 mois et que la méthode d'extraction employée est susceptible d'extraire aussi des composés plus facilement dégradables.

1.1.6 Le vieillissement de la contamination (*aging*)

Il est généralement admis que lors de la contamination d'un sol, le contaminant est rapidement adsorbé sur les surfaces des particules du sol. Ensuite, le contaminant diffuse lentement vers l'intérieur des particules (Brusseau et Rao, 1989). L'adsorption des contaminants au sol peut prendre des semaines, voire des mois avant d'atteindre l'équilibre (Pignatello et Xing, 1996, Pignatello *et al.*, 1993). Lors de la désorption, le même effet peut être observé, soit une désorption rapide des sites externes du sol et une désorption extrêmement lente si le contaminant est adsorbé aux sites internes du sol (McCall et Agin, 1985).

Bien qu'une microflore capable de dégrader le contaminant soit présente dans le sol contaminé, la biorémédiation peut donc être limitée par le transfert de masse du contaminant vers les microorganismes. Cette limitation devient de plus en plus prononcée avec l'âge de la contamination et le contaminant peut même devenir inaccessible aux microorganismes après de longs temps de contact (Scribner *et al.*, 1992). Kelsey *et al.* (1997) ont trouvé que la quantité de phénanthrène pouvant être extraite d'un sol contaminé diminuait avec le temps de contact. La quantité du polluant pouvant être extraite ne peut cependant pas être corrélée avec la biodisponibilité puisqu'elle dépend des caractéristiques du sol (Chung et Alexander, 1998).

L'effet du vieillissement (*aging*) de la contamination par le phénanthrène sur la minéralisation a été étudié par Hatzinger et Alexander (1995). Ces auteurs ont trouvé que le taux de minéralisation du phénanthrène dépend fortement du temps de contact avec le sol. Ainsi, le taux de minéralisation du phénanthrène qui avait été laissé vieillir pendant 315 jours n'atteignait pas la moitié du taux de minéralisation obtenu avec une contamination qui avait été laissé vieillir pendant 204 jours. Si le sol subit des cycles d'assèchement et d'humification pendant le vieillissement de la contamination le taux de minéralisation diminue davantage (White et al., 1997).

Dans cette perspective, l'évaluation de la minéralisation de contaminants fraîchement ajoutés ne peut donc représenter qu'une première tentative d'évaluer si la matrice en question (sol, compost) possède le potentiel d'éliminer les contaminants étudiés. A partir du moment où le potentiel de minéralisation d'un contaminant a été démontré, l'étape potentiellement limitante, c'est-à-dire le transfert de masse du contaminant vers les microorganismes, doit être étudiée afin de déterminer si le sol est réellement décontaminé.

1.2 Les hypothèses et objectifs de la thèse

L'objectif principal de la thèse est d'étudier le potentiel de minéralisation des hydrocarbures aliphatiques et aromatiques polycycliques lors du compostage d'un sol contaminé à l'aide de contaminants modèles. Un sol contaminé aux hydrocarbures

aliphatiques et aux HAP est utilisé. L'hydrocarbure aliphatique modèle est le *n*-hexadécane et le HAP modèle est le pyrène (4 anneaux).

Pour atteindre l'objectif principal visant à améliorer la compréhension des interactions contaminants – microflore – matière organique et à l'appliquer à un procédé de décontamination de sols, quatre hypothèses qui ont donné lieu à la poursuite de quatre sous-objectifs ont été postulées :

- *Hypothèse 1 : Les concentrations en hydrocarbures aliphatiques et aromatiques polycycliques dans le sol étudié peuvent être réduites par compostage actif en réacteur cuvée (batch), les conditions thermophiles étant favorables à la dégradation des hydrocarbures aliphatiques. A ce jour, aucune étude n'a porté sur le traitement des hydrocarbures pétroliers aliphatiques et des HAP en réacteur en suivant en détail les différents composés et fractions. Le premier objectif de la thèse était donc d'étudier les vitesses de dégradation lors du traitement d'un sol contaminé aux hydrocarbures aliphatiques et aromatiques polycycliques par compostage actif en réacteur cuvée (batch) et de modéliser le procédé afin d'évaluer l'influence de la température sur la dégradation des hydrocarbure aliphatiques. Dans une première étape, l'apport de la matière organique au paramètre C₁₀-C₅₀ sera évalué. Ceci a été un problème rencontré lors de l'utilisation du paramètre Huiles et Graisses Minérales (Beaudin *et al.*, 1996). L'influence du profil de température sera étudiée. En effet, Beaudin *et al.* (1999) ont démontré que la dégradation des hydrocarbures pétroliers*

(exprimés en Huiles et Graisses Minérales) augmente avec la durée de la phase thermophile.

- *Hypothèse 2 : Afin d'évaluer le potentiel de minéralisation d'un sol composté à l'aide de contaminants modèles, le développement d'une nouvelle méthode est nécessaire puisque les méthodes conventionnelles ne permettent pas de satisfaire la demande élevée en oxygène d'un compost frais. La problématique à la base de cette hypothèse est que le compost frais représente une matrice très active consommant des quantités d'oxygène importantes et produisant de grandes quantités de dioxyde de carbone. Des microcosmes contenant la matrice solide et le contaminant en question, c'est-à-dire le sol et le contaminant marqué au ^{14}C , ainsi qu'une trappe alcaline sont souvent utilisés pour évaluer le potentiel de minéralisation. Quand il s'agit d'un mécanisme aérobie, l'air contenu dans le microcosme est habituellement échangé à l'occasion de l'échantillonnage. Plusieurs études ont montré que l'aération périodique peut augmenter le taux de dégradation (Rasiah *et al.*, 1991; McFarland *et al.*, 1992). Plusieurs chercheurs sont conscients de cette problématique et ont utilisé des dispositifs aérés en continu (Pritchard et Bourquin, 1984; Kästner et Mahro, 1996; Rosenbrock *et al.*, 1997). Une telle approche peut toutefois produire des résultats biaisés quand seulement une fraction du CO_2 généré est captée. Le deuxième objectif de la thèse était donc de *développer un dispositif capable de capter tout le dioxyde de carbone produit pendant l'évaluation du potentiel de minéralisation tout en fournissant des quantités d'oxygène suffisantes*. Le substrat modèle est le glucose, tel*

que suggéré par Harrison *et al.* (1971). Les connaissances acquises seront appliquées et vérifiées à l'aide de *n*-hexadécane en tant que contaminant modèle.

- Hypothèse 3 : Les hydrocarbures aliphatiques et aromatiques polycycliques sont minéralisés pendant le compostage d'un sol contaminé, les phases mésophile et thermophile étant les plus favorables à la minéralisation de ces composés.* L'idée de base consiste à déterminer si ces contaminants sont minéralisés ou bien seulement incorporés à la matrice organique du compost. Le troisième objectif de la thèse était donc de *vérifier s'il y a minéralisation des hydrocarbures aliphatiques et aromatiques polycycliques pendant le compostage d'un sol contaminé et si la minéralisation de ces composés se fait de façon préférentielle pendant les phase mésophile et thermophile.* Il s'agit donc de comparer les différentes phases du compostage quant à leur potentiel de minéralisation. S'il y a lieu, on en déduira l'efficacité du compostage par rapport à d'autres traitements tel que l'addition de nutriments ou l'addition du compost mature au sol contaminé. Les contaminants modèles seront le *n*-hexadécane (aliphatiques) et le pyrène (HAP). De plus, pour la phase démontrant le potentiel le plus élevé de minéralisation du pyrène (4 anneaux), on vérifiera son potentiel de minéralisation du benzo(a)pyrène (5 anneaux).
- Hypothèse 4 : La présence de la matière humique d'un sol composté mature augmente le potentiel de minéralisation du pyrène dans un sol contaminé.* Il est connu que l'addition de compost mature à un sol contaminé aux hydrocarbures aliphatiques et aux HAP peut augmenter leur minéralisation (Kästner *et al.*, 1995). La microflore

apportée par le compost n'est pas essentielle pour la dégradation des contaminants (Kästner *et al.*, 1995). Ainsi, il est d'un intérêt scientifique de savoir quel est le rôle des différents constituants de la matière humique apportée par le compost dans l'augmentation du potentiel de minéralisation. Le quatrième objectif de la thèse était donc de *vérifier si la présence de la matière humique d'un sol composté mature augmente le potentiel de minéralisation du pyrène dans un sol contaminé.*

1.3 L'organisation de la thèse

Au chapitre 2, l'étude des vitesses de dégradation lors du traitement d'un sol contaminé aux C₁₀-C₅₀ et aux HAP par compostage actif en réacteur cuvée (*batch*) à l'échelle de laboratoire est présentée. L'effet du profil de la température est discuté.

Au chapitre 3, un article intitulé "The design and use of aerated microcosms in mineralization studies" présente le développement et la validation d'une méthode de mesure du potentiel d'un compost actif de minéralisation des contaminants. De plus, l'importance de l'aération continue par rapport à l'aération périodique est illustrée.

Au chapitre 4, un article intitulé "Mineralization of ¹⁴C-labeled *n*-hexadecane and pyrene in composted soil from different composting stages" présente les résultats obtenus au cours de l'évaluation du potentiel de minéralisation des différentes phases du compostage. La performance du compostage par rapport à d'autres types de traitements sera discutée.

Au chapitre 5, un article intitulé "Enhancing pyrene mineralization in contaminated soil by the addition of mature composted soil or humic acids" établit, pour la première fois, un lien entre l'augmentation du potentiel de minéralisation des HAP dans un sol contaminé et la présence de la matière humique comprise dans le compost ajouté.

CHAPITRE II

ETUDE DES VITESSES DE DÉGRADATION LORS DU TRAITEMENT D'UN SOL CONTAMINÉ AUX HYDROCARBURES ALIPHATIQUES ET AROMATIQUES POLYCYCLIQUES PAR COMPOSTAGE ACTIF EN RÉACTEUR CUVÉE

2.1 Introduction

Ce chapitre présente les travaux ayant porté sur l'étude des vitesses de dégradation lors du traitement d'un sol contaminé aux hydrocarbures aliphatiques et aromatiques polycycliques par compostage actif en réacteur cuvée (*batch*) à l'échelle de laboratoire. A l'origine de cette étude était la conception d'un procédé de décontamination par compostage sous des conditions d'un climat froid.

A ce jour, plusieurs études ont été effectuées concernant la décontamination de sols réellement contaminés par compostage (voir section 1.1.3). Toutefois, aucune d'entre elles n'a porté sur le traitement des hydrocarbures pétroliers aliphatiques et des HAP en réacteur en suivant en détail les différents composés et fractions. Deux publications rapportent la dégradation simultanée de composés aliphatiques et aromatiques pendant le compostage (Beaudin *et al.*, 1996; Beaudin *et al.*, 1999). Dans ces cas, la concentration en hydrocarbures pétroliers a cependant été mesurée en termes de Huiles et Graisses Minérales. L'utilisation de ce paramètre a posé des problèmes car le contenu en Huiles et

Graisses Minérales de la matière organique ajoutée au sol contaminé n'est pas négligeable.

Bien que Beaudin *et al.* (1999) aient démontré que les conditions thermophiles étaient bénéfiques à la dégradation des Huiles et Graisses Minérales, aucune étude n'a été publiée concernant l'effet de la température sur la dégradation des fractions aliphatiques de chaînes de longueurs moyennes (C_{10} - C_{16}) et longues (C_{17} - C_{50}).

L'hypothèse qui est à la base de ce chapitre est la suivante : les concentrations en hydrocarbures aliphatiques et aromatiques polycycliques dans le sol étudié peuvent être réduites par compostage actif en réacteur cuvée (batch), les conditions thermophiles étant favorables à la dégradation des hydrocarbures aliphatiques.

La présente étude propose donc de déterminer les vitesses de dégradation des fractions aliphatiques C_{10} - C_{16} et C_{17} - C_{50} sous des conditions différentes concernant la température, ainsi que les vitesses de dégradation des HAP pendant le compostage actif.

2.2 Matériel et méthodes

2.2.1 Le réacteur en cuvée

Le réacteur en cuvée utilisé lors des expériences avait un volume d'environ 11 litres. Un schéma du réacteur est présenté à l'annexe 1 (Figure A.1). L'air humidifié était injecté en bas du réacteur. A la sortie, les concentrations en oxygène et en dioxyde de carbone

pouvaient être mesurées par un spectromètre de masse (modèle SX200F, VG Quandrupoles, Angleterre). Le réacteur était muni de 6 détecteurs thermiques (*Resistance Thermal Detector* ou RTD de la compagnie Omega, Montréal, Canada) mesurant la température à différents endroits à l'intérieur du compost. A l'aide de trois paires de détecteurs thermiques, la différence entre les températures à l'intérieur et à l'extérieur de la paroi du réacteur était mesurée pour calculer les pertes de chaleur. Le réacteur était muni de trois vestes chauffantes ayant une puissance maximale de 360 W et mesurant 61 cm x 15,2 cm (Labcor, Ville d'Anjou, Canada). Les vestes chauffantes permettaient d'opérer le réacteur en deux modes : a) en mode de profil de température naturel simulé, c'est-à-dire les vestes étaient activées pour minimiser la différence entre les températures de l'intérieur et de l'extérieur de la paroi du réacteur ; et b) en mode de profil de température constante. Le débit d'air était contrôlé par un contrôleur de la compagnie Tylon (modèle FC-260 A, 5 Stl/min). Le débit minimal était de 1 l/min et le débit maximal était de 5 l/min.

L'acquisition des données a été effectuée au moyen d'une carte «Labmaster» de la compagnie Scientific Solutions (Solon, Ohio, É.-U.). Les vestes chauffantes étaient activées par des relais de type SSR ('Solid State Relay). L'opération du réacteur était gérée par un logiciel programmé en Pascal par Robert Delisle, technicien au Département de Génie Chimique de l'École Polytechnique de Montréal, et adapté par l'auteur de la Thèse.

2.2.2 Sol et matière organique utilisés

Deux sols ont été utilisés. Le premier était contaminé et le second ne l'était pas. Le sol contaminé aux C₁₀₋₅₀ (40.000 mg/kg) et HAP (1170 mg/kg de HAP prioritaires de l'US-EPA) a été obtenu de la sablière Thouin près de Montréal, Québec, qui avait servi de dépotoir illégal de déchets dangereux pendant la fin des années 1960. Les concentrations des différents HAP sont montrées au Tableau 2.1.

Tableau 2.1 : Concentrations initiales des HAP prioritaires de l'US-EPA dans le sol contaminé.

HAP (nombre d'anneaux)	Concentration (mg/kg)
Naphthalène (2)	770
Acénaphthylène (3)	54
Acénaphtène (3)	5,2
Fluorène (3)	3,6
Phénanthrène (3)	10
Anthracène (3)	36
Fluoranthène (4)	29
Pyrène (4)	130
Benzo[a]anthracène (4)	4,1
Chrysène (4)	38
Benzo[b+j+k]fluoranthène (5)	38
Benzo[a]pyrène (5)	29
Dibenzo[ah]anthracène (5)	4,1
Indéno[1,2,3-cd]pyrène (6)	8,6
Benzo[ghi]pérylène (6)	12

Le sol a été tamisé à un diamètre de particules de 2 mm. Le sol non-contaminé (Bomix Golden Sand, Daubois Inc., Montréal, Québec) consistait de 97.1% (p/p) de sable ($75\mu\text{m} < d_p < 2\text{ mm}$), 0.3% de pierres ($d_p > 2\text{ mm}$) et de 2.6% de particules fines ($d_p < 75\mu\text{m}$) et était utilisé tel quel. La concentration en $\text{C}_{10}\text{-C}_{50}$ était en dessous du seuil de détection. Des feuilles sèches d'érables ($c_{\text{C}_{10}\text{-C}_{50}}=700\text{ mg/kg}$) et de la luzerne sèche (Rabbit Chow, Ralston Purina Canada Inc., ($c_{\text{C}_{10}\text{-C}_{50}}=85\text{ mg/kg}$) ont été utilisées comme source de carbone et d'azote. Elles étaient semblables à la matière organique antérieurement caractérisée (Beaudin *et al.*, 1996).

2.2.3 Méthodes analytiques

Les hydrocarbures aliphatiques $\text{C}_{10}\text{-C}_{50}$ étaient analysés en duplicata, lorsque possible. L'analyse a été effectuée selon la méthode no. 410-HYD. 1.0 de 1995 du Ministère de l'Environnement et de la Faune du Québec tout en utilisant un autre programme de température pour la chromatographie en phase gazeuse qui est décrit à l'annexe 2. De plus, le temps de rétention de l'hexadécane (C_{16}) a été mesuré afin de déterminer la concentration des fractions $\text{C}_{10}\text{-C}_{16}$ et $\text{C}_{17}\text{-C}_{50}$. Le seuil de détection pour les $\text{C}_{10}\text{-C}_{16}$ était de 33 mg/kg et celui des $\text{C}_{17}\text{-C}_{50}$ était de 120 mg/kg.

Le poids sec (duplicata) a été déterminé par gravimétrie et séchage à 105°C pendant la nuit. L'échantillon sec a été ensuite utilisé pour déterminer le contenu en cendres (duplicata). Ceci a été effectué par gravimétrie et chauffage dans un four à 550°C pendant la nuit.

L'analyse des HAP a été faite par un laboratoire externe (Maxxam Analytique Inc., Lachine, Québec) se basant sur les méthodes 8270 (analyse par GC-MS) (EPA 1998a), 3550 (extraction ultrasonique) (EPA 1998b), et 3640 (purification par chromatographie en perméation de gel) (EPA 1998c) de l'Environmental Protection Agency (EPA) des États-Unis.

2.2.4 Démarche expérimentale

Le mélange de matière organique et de sol était composé de 250 g de feuilles sèches, 750 g de luzerne sèche, 640 g de sol (contaminé ou non) et 1,7 l d'eau. Le pH du mélange était ajusté avec 82 g de CaCO_3 à une valeur d'environ 7.

Trois essais ont été effectués. Pour le premier, du sol contaminé a été utilisé et le mélange de matière organique et de sol a été soumis à une aération de 1 l/min. La concentration initiale en $\text{C}_{10}\text{-C}_{50}$ était d'environ 3.700 ± 2.700 mg/kg, l'écart important étant dû à la grande hétérogénéité du compost au début du traitement. Le réacteur a été opéré en mode de profil de température naturel simulé. Si la température du réacteur dépassait les 50°C , le débit d'air était augmenté jusqu'à une valeur maximale de 5 l/min afin de maintenir le compost à cette température. La concentration en oxygène à la sortie du réacteur était maintenue à au moins 15%. Après la phase thermophile, la température diminuait, n'atteignant toutefois pas le niveau de la température ambiante. Ceci était attribué à un léger changement de la calibration des thermocouples mesurant les pertes de chaleur.

Ceux-ci n'indiquaient donc pas une différence de température due à l'activité microbienne dans le compost.

Après homogénéisation du contenu du réacteur à la main, différents échantillons (30 à 50 g humides) ont été prélevés périodiquement pour l'analyse de l'humidité, des C_{10} - C_{50} , des HAP et du pH. Les échantillons pour l'analyse de l'humidité ont été également utilisés pour l'analyse du contenu de cendres. Lors du prélèvement des échantillons, le contenu du réacteur était mélangé à la main (gantée) et l'humidité était ajustée, en ajoutant de l'eau, pour la maintenir à une valeur de 50% (p/p).

Deux autres essais utilisant le sol contaminé et le sol non-contaminé étaient effectués comme le premier, à l'exception de la température qui était maintenue à 50°C après la phase thermophile. La concentration initiale en C_{10} - C_{50} était de 21.000 ± 3.100 mg/kg pour l'essai avec le sol contaminé, la différence de la valeur initiale du premier essai étant attribuable à la grande hétérogénéité du sol contaminé. La concentration initiale en C_{10} - C_{50} était de 160 ± 40 mg/kg pour l'essai avec le sol non-contaminé. A l'exception de l'analyse des HAP, les mêmes analyses ont été effectuées pour les deux essais.

2.2.5 Modélisation de la dégradation de la matière organique et des hydrocarbures aliphatiques (C_{10} - C_{50})

Afin d'analyser l'influence de la température sur le taux de dégradation de la matière organique, le modèle de Marugg *et al.* (1993) a été employé. Ce dernier se base sur

l'hypothèse que la matière organique, qui est principalement transformée en dioxyde de carbone, en eau et en ammoniac, est dégradée jusqu'à ce que la masse du compost atteigne une valeur limite. Celle-ci est plus grande que la masse des cendres puisque elle comprend aussi la matière organique non-dégradable mais volatilisée lors du test des cendres. Ces auteurs ont proposé une cinétique de premier ordre modifiée qui est la suivante :

$$r_{m.o.} = -(m_{m.o.,0} - m_{m.o.,l}) \cdot \mu_{m.o.} \cdot k_{m.o.} \quad (2.1)$$

où $r_{m.o.}$ est le taux de dégradation de la matière organique sans cendre (g/d), $m_{m.o.,0}$ et $m_{m.o.,l}$ représentent les valeurs initiale et limite de la masse en matière organique sans cendres contenue dans le compost, $k_{m.o.}$ est la constante de cinétique et la masse adimensionnelle $\mu_{m.o.}$ de la matière organique se calcule selon l'expression suivante:

$$\mu_{m.o.}(t) = \frac{m_{m.o.}(t) - m_{m.o.,l}}{m_{m.o.,0} - m_{m.o.,l}} \quad (2.2)$$

En introduisant la concentration adimensionnelle $X_{m.o.}$ qui est le rapport entre la masse de la matière organique sans cendre à un temps t et la masse de matière organique sans cendre au temps zéro, on obtient:

$$\mu_{m.o.}(t) = \frac{X_{m.o.}(t) - X_{m.o.,l}}{1 - X_{m.o.,l}} \quad (2.3)$$

La valeur de $X_{m.o.,l}$ a été mesurée à 0,42 pour un compost mature obtenu à partir d'un mélange de feuilles d'érable et de luzerne (1:3 p/p). Cette valeur est comparable à celles trouvées dans la littérature pour des mélanges semblables (Marugg *et al.*, 1993).

La constante empirique $k_{m.o.}$, dépend, quant à elle, de plusieurs facteurs. L'influence de l'humidité a été diminuée en maintenant l'humidité dans une plage optimale, à savoir à environ 50% (p/p). Bach *et al.* (1984) ont montré que l'influence de l'humidité sur le taux de dégradation de la matière organique est moins significative que celle de la température. La limitation en oxygène a été minimisée en maintenant des concentrations d'au moins 15% à la sortie du réacteur.

Si on suppose la composition de la matière organique constante, ce qui est une grande simplification, le taux de dégradation de la matière organique est proportionnel au taux de consommation d'oxygène. De manière générale, le taux de dégradation augmente avec la température de façon exponentielle, atteignant un maximum au-delà duquel même la microflore thermophile est inhibée par les effets de la dénaturation des enzymes (Haug, 1993). Plusieurs correlations entre le taux de consommation d'oxygène et la température pendant le compostage ont été observées. En général, elles possèdent un maximum à des températures entre 40 et 70°C (Figure 2.1).

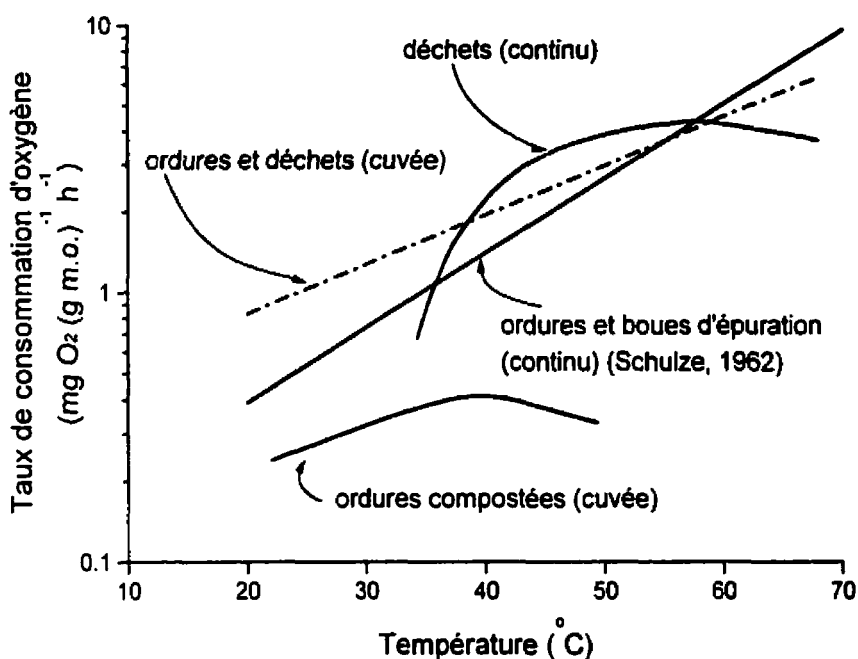


Figure 2.1 : Corrélations pour le taux de consommation d'oxygène observés pour une pluralité de mélanges et types de réacteurs (tiré de Haug (1993)).

Afin de tenir compte de l'effet de la température, Marugg et ses collaborateurs ont introduit un facteur de correction se basant sur les observations faites par Schulze (1962). Cet auteur avait trouvé qu'en régime permanent (opération du réacteur en mode continu) le taux de consommation d'oxygène était proportionnel à $1,066^T$. En supposant que la dégradation maximale a lieu à une température de 60°C et qu'à cette température le facteur de correction est égal à 1, Marugg *et al.* ont proposé l'expression suivante :

$$f(T) = \frac{1,066^T}{46,28} \quad (2.4)$$

où T est la température ayant des valeurs inférieures ou égales à 60°C.

On peut donc écrire:

$$r_{m.o.} = -(m_{m.o.,0} - m_{m.o.,t}) \cdot \mu_{m.o.} \cdot k'_{m.o.} \cdot f(T) \quad (2.5)$$

Le même modèle est utilisé pour évaluer l'influence de la température sur la dégradation des hydrocarbures pétroliers aliphatiques, soit sur la dégradation des fractions C₁₀₋₁₆ et C₁₇₋₅₀.

Étant donné la diminution non négligeable de la masse dans le temps, les concentrations des hydrocarbures pétroliers doivent être corrigées et rapportées à leurs valeurs initiales. La masse de la matière obtenue après l'incinération du compost à 550°C (cendres) peut être considérée constante tout au long du procédé puisqu'elle n'est pas dégradée (Haug, 1993). C'est en utilisant la fraction des cendres y que la concentration des hydrocarbures est corrigée comme suit :

$$c_{corr}(t) = c(t) \cdot \frac{y_{cendres}(t=0)}{y_{cendres}(t)} \quad (2.6)$$

Pour la fraction C₁₀-C₁₆, la concentration corrigée finale de l'essai à température constante était de 92 mg/kg, comparé à 100 mg/kg obtenu lors de l'essai à profil de température naturel simulé. La concentration corrigée limite a donc été posée à 92 mg/kg. Quant à la fraction C₁₇-C₅₀, la concentration corrigée finale de l'essai à température constante était de 1.600 mg/kg, comparé à 2.236 mg/kg obtenu lors de l'essai à profil de température naturel simulé. La concentration corrigée limite a donc été posée à

1.600 mg/kg. Le Tableau 2.2 résume le calcul des expressions pour la concentration adimensionnelle μ des deux fractions aliphatiques.

Tableau 2.2 : Calcul des expressions pour la concentration adimensionnelle des fractions C₁₀-C₁₆ et C₁₇-C₅₀.

	Profil de température naturel simulé		Profil de température constante (50°C)	
	C ₁₀ -C ₁₆	C ₁₇ -C ₅₀	C ₁₀ -C ₁₆	C ₁₇ -C ₅₀
c_0	520 ± 78	3130 ± 1170	1550 ± 320	19700 ± 2790
$c_{corr,t}$	92 ± 16	1600 ± 1230	92 ± 16	1600 ± 1230
$c_{corr,t}/c_0$	0,18	0,49	0,06	0,08
$\mu(t)$	$\frac{\frac{c_{corr}(t)}{c_0} - 0,18}{0,82}$	$\frac{\frac{c_{corr}(t)}{c_0} - 0,49}{0,51}$	$\frac{\frac{c_{corr}(t)}{c_0} - 0,06}{0,94}$	$\frac{\frac{c_{corr}(t)}{c_0} - 0,08}{0,92}$

Enfin, le modèle de Marugg (1993) a été simplifié en introduisant une constante de cinétique moyenne, soit $\bar{k}_i$ pour la dégradation de la matière organique et la dégradation des deux fractions aliphatiques. Cette modification permettait d'évaluer l'importance de l'influence de la température en comparant les deux modèles.

Ainsi les expressions différentielles des deux modèles pour la dégradation en cuvée (*batch*) sont les suivantes :

a) L'expression différentielle du modèle de Marugg :

$$\frac{d\mu_i(t)}{dt} = -\mu_i(t) \cdot k'_i \cdot f(T) \quad (2.7)$$

b) L'expression différentielle du modèle simplifié :

$$\frac{d\mu_i(t)}{dt} = -\mu_i(t) \cdot \bar{k}_i \cdot f(T) \quad (2.8)$$

2.3 Résultats et discussion

2.3.1 Dégradation de la matière organique

Une diminution rapide du contenu en matière organique a été observée pendant les dix premiers jours pour les trois mélanges de compost tant lors du compostage du sol contaminé (Figure 2.2 et Figure 2.3) que lors du compostage du sol non-contaminé (Figure 2.4). Les vitesses de dégradation de la matière organique était sensiblement la même pour les trois essais atteignant une valeur approchant zéro après 10 jours. La durée de la phase mésophile ($T < 40^{\circ}\text{C}$) était de 2,0 jours pour le compostage du sol contaminé à température thermophile constante et de 2,7 jours pour le compostage du sol non contaminé à température thermophile constante tandis que le compostage du sol contaminé à profil de température naturel simulé avait une phase mésophile de 1,1 jours et sa phase thermophile durait 1,7 jours. Ainsi, la température moyenne pendant les premiers jours du compostage est sensiblement la même pour les trois essais, soit 36 à 39°C pendant les 5 premiers jours.

D'une part, la dégradation de la matière organique se fait pendant les premiers jours du compostage. D'autre part, les conditions thermophiles pour les deux essais à température constante n'étaient pas établies qu'après 2 à 3 jours. Il est donc difficile de déterminer l'effet de la température puisque le profil de température des trois essais était sensiblement le même pour la période critique pour la dégradation de la matière organique.

Deux modèles ont toutefois été utilisés pour l'analyse de l'influence de la température : le modèle de Marugg (1993) avec facteur de correction ($k'_{m.o.f}(T)$) et un modèle simplifié, à savoir le modèle de Marugg sans facteur de correction ($\bar{k}_{m.o.}$). Les graphiques représentant les régressions respectives se trouvent à l'annexe 3. La valeur de $k'_{m.o.}$ était de $0,521\text{d}^{-1}$ ($R^2=0,60$) et la valeur de $\bar{k}_{m.o.}$ était de $0,182\text{d}^{-1}$ ($R^2=0,89$).

Comme le montrent la Figure 2.5 et la comparaison des valeurs des coefficients de régression, le modèle sans facteur de correction simule mieux la dégradation de la matière organique pour les trois cas. Étant donné la similitude des profils de température pour la période critique pour la dégradation de la matière organique, le modèle avec facteur de correction, dont la constante de cinétique est déterminée par la forme différentielle de la concentration, est moins précise que la modélisation sans facteur de correction, dont la constante de cinétique est déterminée par la forme intégrale de la concentration.

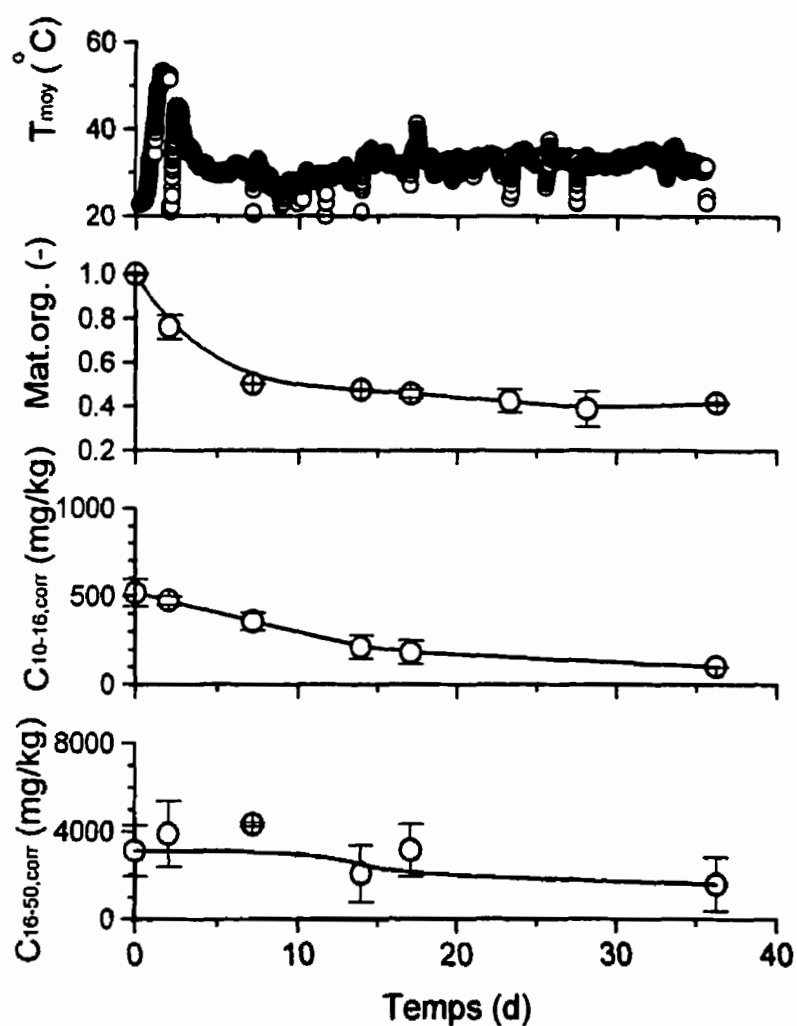


Figure 2.2 : Suivi des principaux paramètres pendant le compostage d'un sol contaminé à profil de température naturel simulé. Le contenu en matière organique diminue rapidement atteignant une valeur stable après 7 jours. La fraction $\text{C}_{10}\text{-C}_{16}$ est dégradée dès le début du compostage tandis que la concentration de la fraction $\text{C}_{17}\text{-C}_{50}$ ne commence à diminuer qu'après 7 jours.

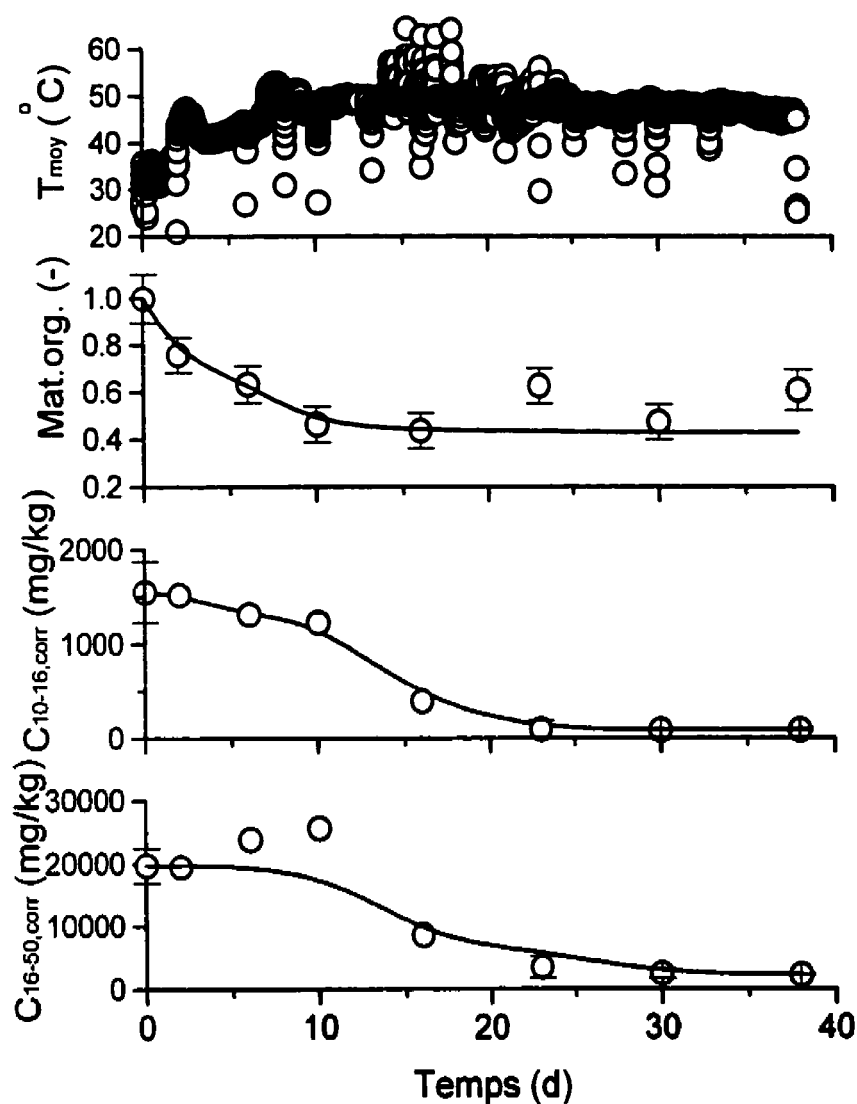


Figure 2.3 : Suivi des principaux paramètres pendant le compostage d'un sol contaminé à température constante. Le contenu en matière organique diminue rapidement atteignant une valeur stable après 10 jours. La fraction $C_{10}-C_{16}$ est dégradée dès le début du compostage tandis que la fraction $C_{17}-C_{50}$ n'est dégradée qu'après 10 jours.

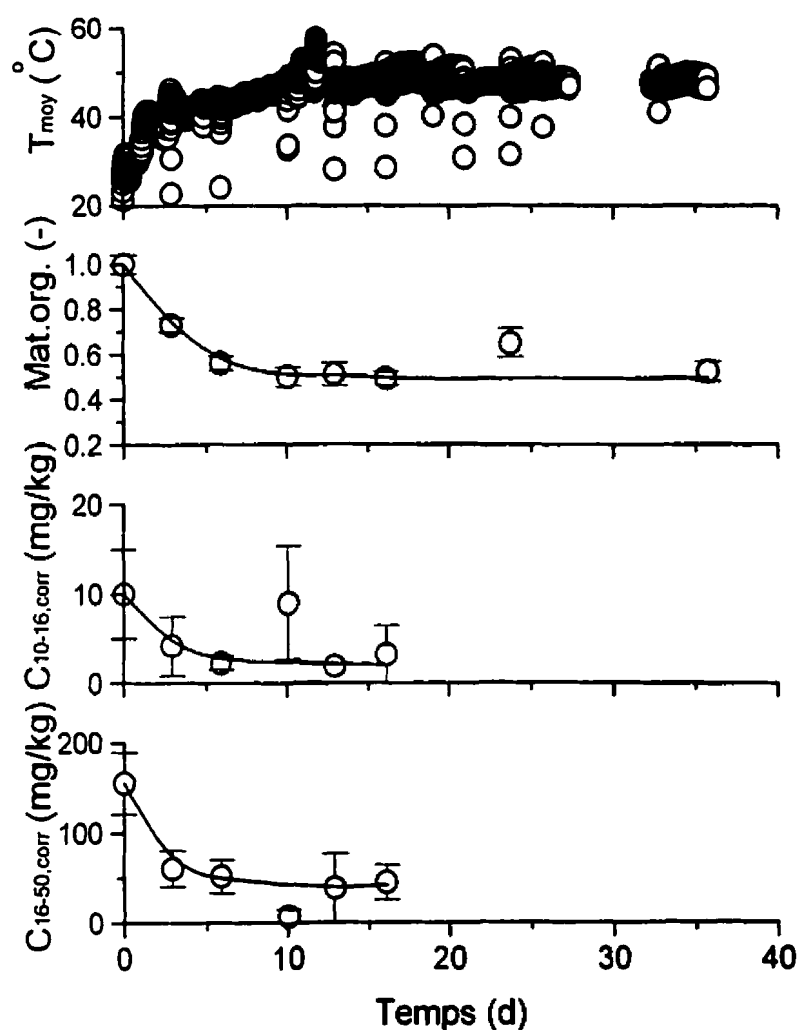


Figure 2.4 : Suivi des principaux paramètres pendant le compostage d'un sol non-contaminé à température constante. Le contenu en matière organique diminue rapidement atteignant une valeur stable après 10 jours. La concentration de la fraction C_{10-16} ne dépasse pas 10 mg/kg tandis que la fraction C_{17-50} est dégradée rapidement atteignant 50 mg/kg après 16 jours.

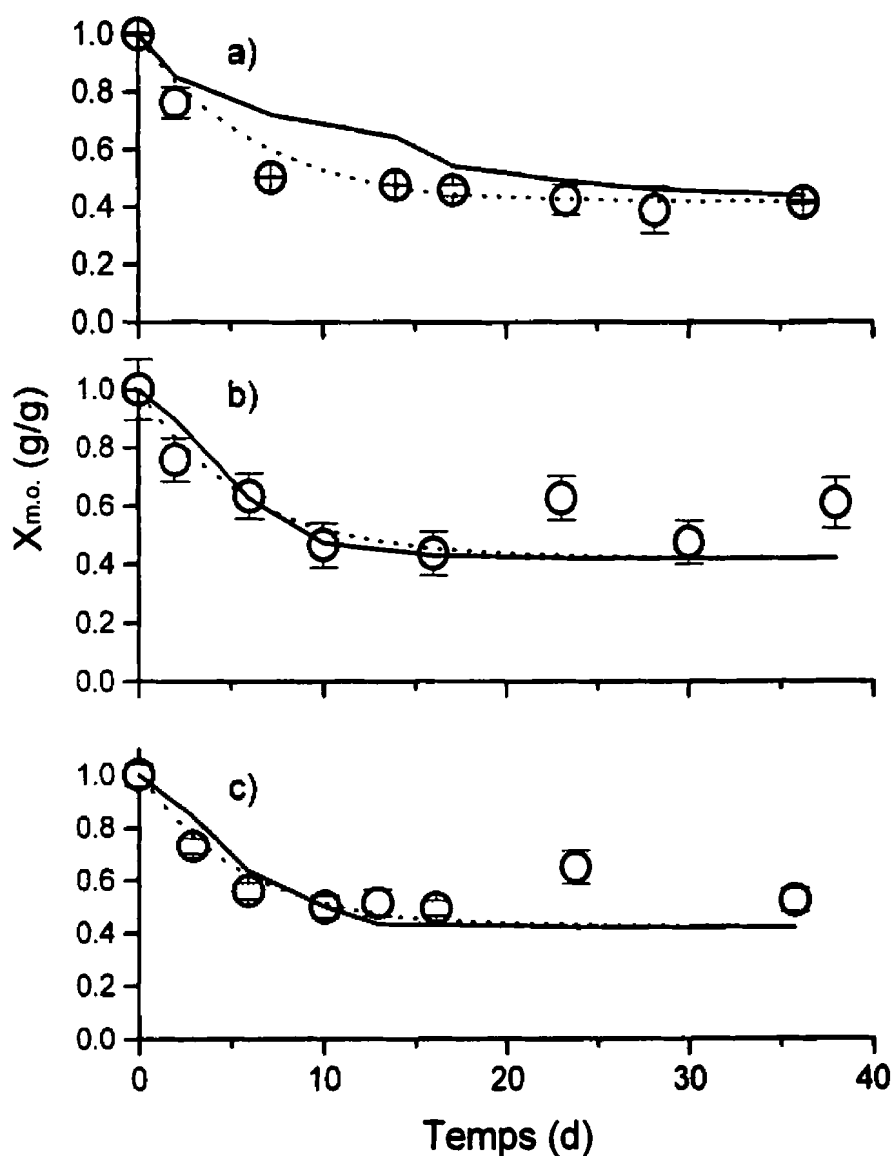


Figure 2.5 : Comparaison des modèles avec les valeurs mesurées pour la dégradation de la matière organique; a) profil de température naturel simulé; b) profil de température constante; c) profil de température constante utilisant un sol non-contaminé; la ligne pointillée représente le modèle simplifié avec une constante de cinétique moyenne et la ligne continue représente le modèle avec facteur de correction.

Pour les deux essais à température thermophile constante, les deux modèles décrivent bien la dégradation (Figure 2.5b et c). Le modèle avec facteur de correction sous-estime toutefois la dégradation au début des essais où des températures mésophiles sont prédominantes.

Ce comportement du modèle avec facteur de correction est encore plus prononcé quand la dégradation de la matière organique est simulée pour le compostage à profil de température naturel (Figure 2.5a). Une explication proviendrait du fait d'avoir utilisé la température $\bar{T}_{\text{moy}}$, la moyenne des valeurs mesurées par 6 thermocouples dans le réacteur qui a été calculée par rapport au temps. Ce calcul pondère moins les températures élevées étant donné la non-linéarité de la relation pour le facteur de correction. Ceci ne peut toutefois être la seule explication pour la divergence du modèle de Marugg des valeurs mesurées.

Bien qu'il soit généralement admis que la température optimale de compostage se situe entre 50 et 60°C, (Bach *et al.*, 1984; Nakasaki *et al.*, 1987), cet optimum est plus ou moins prononcé et des taux de dégradation semblables peuvent être observés même à des températures mésophiles. Le facteur de correction est donc fonction du mélange à composter. De plus, il a été observé que la température optimale de dégradation d'un compost relativement mature n'est que 40°C (Bach *et al.*, 1984; Haug, 1993). Le facteur de correction n'est donc pas seulement fonction de la composition du compost, mais aussi

fonction du temps, c'est-à-dire de la phase du compostage et du degré de maturité du compost.

2.3.2 La concentration des C_{10} - C_{50}

Le compostage d'un sol non-contaminé a démontré que la contribution de la matière organique aux concentrations mesurées pour les fractions C_{10} - C_{16} et C_{17} - C_{50} est minime et négligeable par rapport aux concentrations mesurées pendant les expériences avec le sol contaminé puisqu'elles ne dépassent pas 20 mg/kg et 200 mg/kg respectivement (Figure 2.4). Le problème analytique lors de l'utilisation de l'ancien paramètre Huile et Graisses Minérales (HGM), à savoir la détection des valeurs de l'ordre de grandeur de 10.000 mg/kg originaires de la matière organique (Beaudin *et al.*, 1996), ne se pose donc pas lors de l'utilisation de la méthode des C_{10} - C_{50} .

Des rendements totaux en C_{10} - C_{50} de 53% ($c_0 = 3.830$ mg/kg, $c_{\text{corr}}(36d) = 1.700$ mg/kg) pour le profil de température naturel et de 89% ($c_0 = 20.800$ mg/kg, $c_{\text{corr}}(38d) = 2.291$ mg/kg) pour des températures thermophiles constantes (50°C) ont été obtenus. La grande hétérogénéité du compost même après mélange du contenu du réacteur relativise les résultats obtenus avec un profil de température naturel simulé. De plus, ces résultats doivent être interprétés dans la perspective que la biorémédiation par voie biologique ne permet pas de décontaminer le sol au-delà d'une certaine concentration seuil en bas de laquelle il est difficile de réduire la concentration du contaminant davantage. La concentration initiale du traitement à profil naturel simulé était beaucoup moins

importante que celle du traitement à profil de température constante ce qui a été dû à l'hétérogénéité du sol de départ. Ainsi, la concentration initiale se rapprochait davantage de la concentration seuil ce qui augmente la difficulté d'obtenir des rendements élevés.

Des travaux effectués antérieurement à l'École Polytechnique rapportent un rendement de 55%, exprimé en HGM, après 30 jours si un profil de température naturel simulé est utilisé (Beaudin *et al.*, 1996). Une autre étude portant sur le compostage d'un sol contaminé aux hydrocarbures du type diesel rapporte des rendements de 40 à 75% après 35 jours (O'Reilly et Simpkin, 1997). Le rendement pour le profil de température naturel simulé est donc comparable aux valeurs trouvées dans la littérature bien que sa concentration initiale fût moins élevée que celle du traitement par profil de température constante.

Quant à la fraction des C_{10} - C_{16} , les concentrations corrigées après 38 jours étaient sensiblement les mêmes pour les deux profils de température, à savoir de 90 à 100 mg/kg (Figure 2.2 et Figure 2.3) suggérant que ces dernières valeurs représentent une sorte de seuil au-delà duquel la concentration ne peut être réduite davantage.

La fraction des C_{17} - C_{50} , quant à elle, n'est dégradée qu'après 7 à 10 jours ce qui représente l'instant à partir duquel la matière organique n'est plus dégradée davantage (Figure 2.2 et Figure 2.3). Ce phénomène a été observé lors du compostage de résidus pétroliers (Kirchmann et Ewnetu, 1998). Ce comportement peut être le résultat d'une part

d'un mécanisme de compétition la microflore ne dégradant les hydrocarbures lourds qu'après consommation de la matière facilement dégradable. D'autre part, il est concevable que la désorption de ces composés pétroliers se fait davantage lors de la phase de maturation les rendant plus biodisponibles.

Les rendements pour la fraction C₁₇-C₅₀ étaient de 49% pour le profil naturel et de 89% pour le profil à température constante. Des températures constantes thermophiles semblent donc rendre le traitement plus efficace, surtout en ce qui concerne la dégradation de la fraction C₁₇-C₅₀. Les résultats de Beaudin et al. (1999) confirment l'effet bénéfique de températures thermophiles à la dégradation de composés aliphatiques à longues chaînes puisqu'ils ont trouvé que le rendement de dégradation des HGM augmente avec la durée du plateau de la phase thermophile.

L'analyse de l'influence de la température par le modèle de Marugg a révélé que la constante de dégradation de la fraction C₁₇-C₅₀ dépend de la température. En effet, la comparaison des carrés des erreurs χ^2 évalués après le jour 10 montre que le modèle qui tient compte du facteur de correction arrive à mieux simuler les deux régimes de compostage ($\chi^2=0,113$ comparé à $\chi^2=0,137$), à savoir le profil naturel et le profil de température thermophile constante (Figure 2.6). Ceci est confirmé par la comparaison des coefficients de régression des deux modèles : la régression du modèle avec facteur de correction a un meilleur coefficient (Tableau 2.3).

La fraction C₁₀-C₁₆ montre cependant un comportement différent. Elle est dégradée dès le départ du compostage (Figure 2.2 et Figure 2.3). Il semble cependant que cette fraction est dégradée préférentiellement sous des conditions mésophiles. Cette tendance est confirmée par la modélisation qui a montré qu'une cinétique de premier ordre simplifiée, qui ne simule donc pas une accélération de la dégradation avec la température, décrit mieux les valeurs mesurées en expériences ($\chi^2=0,400$ comparé à $\chi^2=0,863$). Ceci est confirmé par la comparaison des coefficients de régression des deux modèles : la régression du modèle sans facteur de correction a un meilleur coefficient (Tableau 2.3).

Tableau 2.3 : Constantes de cinétique pour la dégradation des fractions C₁₀-C₁₆ et C₁₇-C₅₀. La constante de cinétique pour la dégradation de la fraction C₁₇-C₅₀ a été évaluée à partir des données après 10 jours de compostage.

	$\bar{k}_i$ (d ⁻¹)	k'_i (d ⁻¹)
C ₁₀ -C ₁₆	0,077 (R ² =0,88)	0,167 (R ² =0,37)
C ₁₇ -C ₅₀	0,108 (R ² =0,77)	0,413 (R ² =0,94)

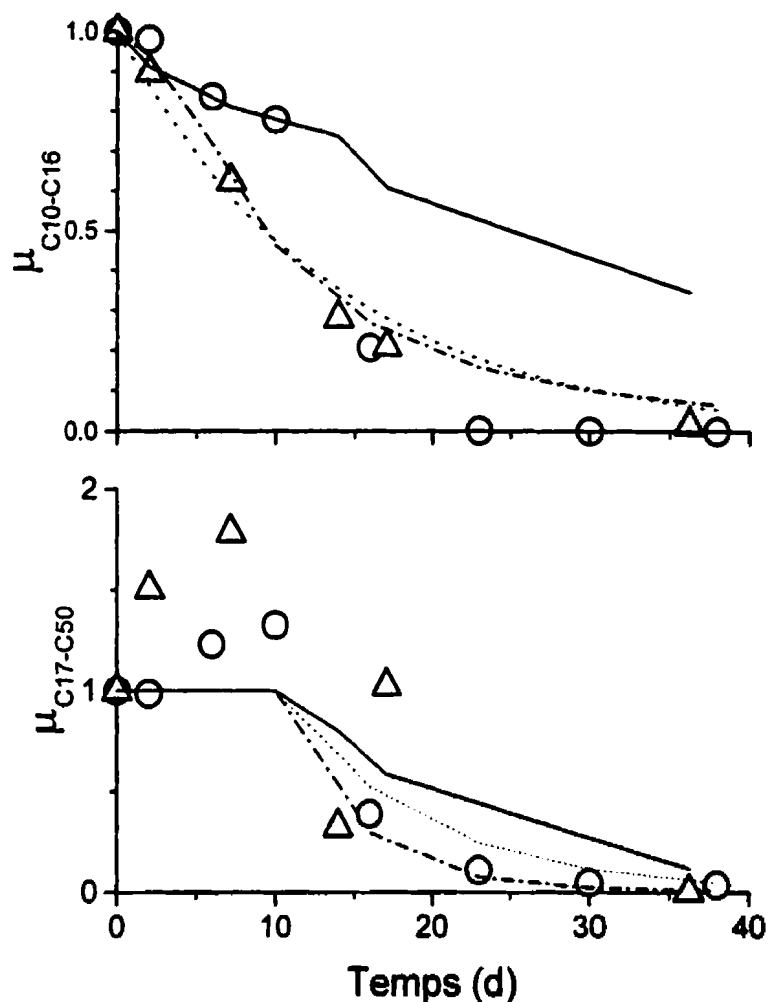


Figure 2.6 : Comparaison des modèles sans facteur de correction et avec facteur de correction. L'essai à profil de température naturel simulé est représenté par (Δ) et l'essai à profil de température constante par ($\circ$). (...) représente le modèle simplifié; le modèle avec facteur de correction est symbolisé par (—) pour l'essai à profil de température naturel simulé et par (— . —) pour l'essai à profil de température constante. Le modèle avec facteur de correction simule bien la dégradation de la fraction C_{17} - C_{50} tandis que la dégradation de la fraction C_{17} - C_{50} est mieux simulée par le modèle simplifié.

La dégradation des hydrocarbures aliphatiques non-ramifiés se fait dans la plupart des cas par un mécanisme qui est le même pour des composés ayant 9 atomes de carbones et plus (Baker et Herson, 1994b). Or, la capacité de la microflore de dégrader les composés aliphatiques dans la plage C_{10} - C_{16} diminue avec la température. La meilleure dégradation des composés aliphatiques dans la plage C_{17} - C_{50} à des températures élevées s'explique donc plutôt par l'accélération de la désorption de ces hydrocarbures faiblement solubles des particules du sol. Ainsi, la diminution de l'activité de la microflore mésophile à des températures élevées est compensée par une meilleure disponibilité des hydrocarbures lourds.

2.3.3 La concentration des HAP

Lors de l'expérience où un profil de température naturel a été simulé, les concentrations en HAP à 2 et 3 anneaux ont été considérablement réduites après une période d'un mois, à l'exception de l'acénaphthylène qui n'a pu être dégradé (Figure 2.7). Ce dernier composé possède une double liaison de plus que l'acénaphthène et est connu pour son caractère récalcitrant pouvant le rendre plus résistant à la dégradation que les HAP à 4 anneaux (EPA, 1995). Étant donné les températures élevées et la tension de vapeur élevée du naphthalène, la diminution rapide de sa concentration doit être attribuée à une volatilisation.

Les HAP à 4 anneaux n'ont été dégradés qu'à environ 20% après un mois tandis que la maturation subséquente a permis de les réduire davantage jusqu'à 80% (Figure 2.8). Les HAP à 5 anneaux et ceux ayant un poids moléculaire encore plus élevés n'ont pas été

dégradés même pendant la phase de maturation (voir Annexe 4). Ces observations concordent bien avec la littérature où il est généralement admis que les HAP à 5 anneaux et plus ne sont pas dégradés par le compostage (Joyce *et al.*, 1998; Potter *et al.*, 1999). En général, la vitesse de dégradation diminue avec le nombre d'anneaux et est plus élevée à des solubilités importantes (Tableau 2.4).

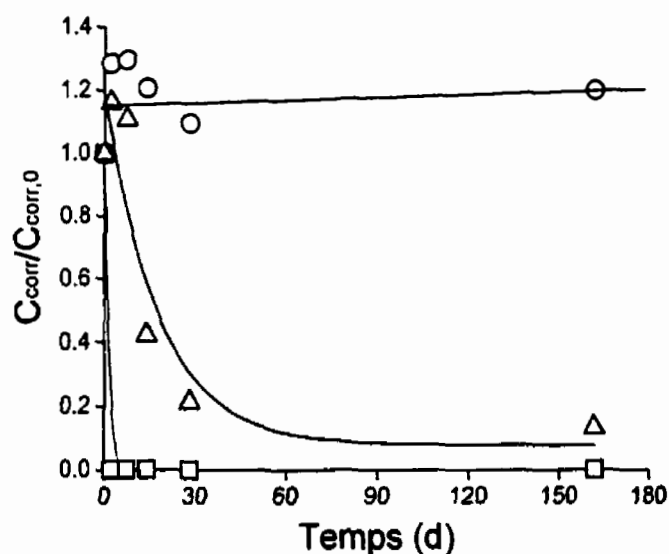


Figure 2.7 : Concentrations corrigées des HAP à 2 et 3 anneaux rapportées à leur valeur initiale pendant le compostage à profil de température naturel simulé ; naphthalène ($\square$), acénaphthène (Δ) ; et acénaphthylène ($\circ$) ; la concentration en naphthalène diminue rapidement dû aux effets de volatilisation tandis que l'acénaphthylène persiste à la dégradation.

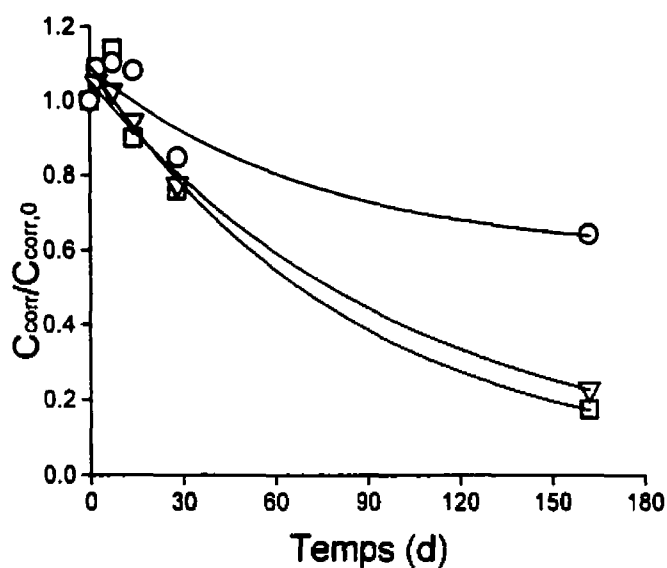


Figure 2.8 : Concentrations corrigées des HAP à 4 anneaux rapportées à leur valeur initiale pendant le compostage à profil de température naturel simulé : fluoranthène (□), pyrène (Δ); et chrysène (○).

Tableau 2.4 : Constantes de cinétique pour la dégradation des HAP obtenues par régression non-linéaire ($c_{corr}=A+B \cdot \exp(-k_i \cdot t)$; algorithme de Levenberg-Marquardt). La constante de cinétique diminue avec le nombre d'anneaux et augmente avec la solubilité.

HAP (anneaux)	Formule chimique	Solubilité (mg/l)	$\bar{k}_i$ (d ⁻¹)
Naphthalène (2)	C ₁₀ H ₈	31,7	>>0
Acénaphthène (3)	C ₁₂ H ₁₀	4,5	0,056
Acénaphthylène (3)	C ₁₂ H ₈	3,9	≅0
Fluoranthène (4)	C ₁₆ H ₁₂	0,26	0,013
Pyrène (4)	C ₁₆ H ₁₀	0,14	0,010
Chrysène (4)	C ₁₈ H ₁₂	0,003	0,007

Il est cependant remarquable que les HAP à 4 anneaux ne sont pas dégradés pendant la phase active du compostage, c'est-à-dire pendant les dix premiers jours. Leur enlèvement se fait surtout pendant la phase de maturation. Ceci peut s'expliquer par le fait que lorsque des composés plus assimilables tels que les HAP de trois anneaux sont présents, la biodégradation des poids moléculaires plus élevés se fait en général après celle des composés plus légers.

2.3.4 Conclusion

La dégradation des hydrocarbures aliphatiques et aromatiques polycycliques a été observée lors des essais en réacteur cuvée. L'hypothèse que les concentrations en hydrocarbures aliphatiques et aromatiques polycycliques dans le sol étudié peuvent être réduites par compostage actif en réacteur cuvée (batch) a donc été confirmée. En revanche, l'hypothèse proposant que les conditions thermophiles sont favorables à la dégradation des hydrocarbures aliphatiques a été rejetée en partie puisque le taux de dégradation de la fraction C_{10} - C_{16} du profil de température naturel n'a pas été augmenté quand des conditions thermophiles constantes ont été appliquées. Le taux de dégradation de la fraction C_{17} - C_{50} dépendait cependant de la température, ce qui a été également démontré par modélisation. Des conditions thermophiles seraient donc bénéfiques à la dégradation de cette fraction. Quant aux HAP, les composés à 4 anneaux et moins ont montré une diminution de leur concentration au cours du temps. Leur dégradation n'a cependant lieu que pendant la phase de maturation.

CHAPITRE III

THE DESIGN AND USE OF AERATED MICROCOSMS

IN MINERALIZATION STUDIES

Ce chapitre décrit le développement d'une méthode pour l'évaluation du potentiel de minéralisation des matrices solides ayant une demande en oxygène et une production de dioxyde de carbone élevées. L'utilisation de réacteurs de petite taille ("microcosmes" ; 100 à 1000 ml) fermés pour la mesure de la minéralisation dans des sols est largement répandue (Heitkamp et Cerniglia, 1989; Chaîneau *et al.*, 1995; Millette *et al.*, 1995). Bien que de substrats facilement dégradables sous des conditions aérobies soient souvent présents, ce qui nécessite des quantités en oxygène élevées, la conception de tels dispositifs ne tient rarement compte de cette limitation potentielle. Les résultats obtenus montrent que l'oxygène peut devenir un facteur limitant dans de tels dispositifs. De plus, la conception de microcosmes aérés présentée dans ce chapitre doit tenir compte du transfert de masse du CO₂ dans les trappes alcalines se trouvant à l'extérieur du microcosme. L'hypothèse proposant que le développement d'une nouvelle méthode est nécessaire pour l'évaluation du potentiel de minéralisation d'un sol composté à l'aide de contaminants modèles a donc été confirmé.

Cet article a été soumis à la revue BIODEGRADATION et a été accepté pour publication sous condition de corrections.

MANUSCRIT NO.1
THE DESIGN AND USE OF AERATED MICROCOSMS IN MINERALIZATION
STUDIES

A. Haderlein^{*}, M.-C. Bonin Aly-Hassan^{*}, R. Legros^{*} and B.A. Ramsay^{**}

^{*}*Department of Chemical Engineering, École Polytechnique de Montréal,*

Centre-Ville, Montréal, Québec, Canada, H3C 3A7

^{**}*Polyferm Canada Inc., RR #1, Harrowsmith, Ontario, Canada, K0H 1V0;*

corresponding author, phone: (613)533-6000 ext. 75293; fax: (613)533-6637

3.1 Abstract

The need for aeration of microcosms during mineralization of ¹⁴C-labeled compounds in high oxygen demand environments was assessed using active compost-soil mixtures as the model system. Rapid mineralization of ¹⁴C-hexadecane occurred in continuously aerated microcosms while no mineralization occurred in unaerated microcosms. Daily flushing with air also yielded no mineralization. Mineralization of ¹⁴C-glucose was much less dependent on aeration. Based on equilibrium and mass transfer considerations, the alkaline solution volume and number of CO₂ traps required for continuous aeration were calculated and tested experimentally. It was shown that even with an excess of KOH a

significant amount of CO₂ may not be captured in the traps if mass transfer of CO₂ to the alkaline phase is insufficient.

3.2 Introduction

Bioremediation is often the least expensive means of contaminated site remediation. Its progress is monitored by standard chemical analyses of soil and groundwater samples from the site undergoing bioremediation. Although chemical analysis of soil samples may show a reduction in the level of contaminants in the polluted soils, additional tests are required to determine whether these compounds are truly undergoing mineralization to CO₂ and H₂O. Standard sealed microcosms containing an internal alkaline trap to capture ¹⁴CO₂ are widely used to assess mineralization rates in soils. Unfortunately, there are occasions when such a simple approach may produce misleading data. In particular, if organic matter is added to stimulate biological activity, the rate of oxygen uptake may increase greatly leading to anaerobiosis in the microcosms. An extreme example of this is composting. Composting of soil has been shown to increase the rate of biodegradation of a variety of pollutants (McFarland *et al.*, 1992; Freeman and Harris, 1995; Michel *et al.*, 1995; Beaudin *et al.*, 1996; Beaudin *et al.*, 1999). In this process, organic amendments such as straw and manure are mixed with the soil and stacked in windrows or treated in a reactor. Immature active compost-soil mixtures have a very high oxygen demand and also produce large amounts of CO₂. Some authors have tried to satisfy the oxygen demand in microcosms by periodic flushing with air or pure oxygen (Rasiah *et al.*, 1991; McFarland *et al.*, 1992). However, since O₂ consumption rates can reach 100 mmol h⁻¹

(kg of dry compost)⁻¹ during composting (Bach *et al.*, 1984; Beaudin *et al.*, 1999), a simple calculation will show that oxygen limitation occurs quickly even after pure oxygen has been added. Many researchers are aware of this issue and have used continuously aerated devices (Pritchard and Bourquin, 1984; Kästner and Mahro, 1996; Rosenbrock *et al.*, 1997) but even this approach will produce inaccurate results when not all of the metabolic CO₂ is trapped. Even when the amount of alkaline solution is sufficient to capture the large quantities of CO₂ produced, mass transfer in the traps may be ineffective due to inadequate contact between the gas and the alkaline solution. The objective of the present work was to design a small inexpensive continuously aerated microcosm apparatus and to predict and verify its performance in terms of the provision of O₂ and the capture of the metabolically-derived radioactive CO₂. It was tested with radiolabeled glucose as suggested by Harrison *et al.* (1971) and applied to degradation of hexadecane in compost-soil matrices as a model process.

3.3 Materials and methods

3.3.1 Preparation of the compost

A batch reactor having a total volume of 11 L and equipped with a heating jacket was used to prepare the compost-soil matrix. Heat loss through the reactor walls was calculated based on the temperature difference between its inner and outer surfaces, and the heating jacket was activated depending on the calculated heat loss value. Using the latter temperature control strategy and aerating with 1L/min of moist air, an autoregulated

temperature profile was obtained which consisted of a mesophilic, a thermophilic and a curing stage.

For all compost-soil matrices the initial composition was 640 g of a silty soil contaminated with aliphatic hydrocarbons (TPH=40.000 mg/kg) and PAH (1170 mg/kg of EPA priority PAH), 250 g maple leaves, 750 g alfalfa and 80 g (w/w) CaCO_3 . The thermophilic stage compost-soil matrix was obtained after 23 hours (temperature and CO_2 production rate at sampling 51°C and $83 \text{ mmol kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ respectively). The mesophilic stage-compost matrix was obtained after 22 hours (temperature and CO_2 production rate at sampling 31°C and $65 \text{ mmol kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ respectively).

3.3.2 Microcosm apparatus and experimental

The apparatus used for microcosm experiments requiring continuous aeration or flushing is shown in Figure 3.1. For experiments with no aeration or flushing (standard sealed microcosms), the same 125 ml serum bottles and septa were used but with an internal trap (12 x 75 mm culture tube) containing 6 ml of a 2.5 M KOH solution. Each microcosm contained 10 g of compost (moisture content about 50% (w/w)). One set of experiments used thermophilic phase compost-soil spiked with glucose (0.046 μCurie of ^{14}C -glucose and 2.2 mg non-radioactive glucose per microcosm). Microcosms (duplicates) were incubated at either ambient temperature or 55°C and were either aerated continuously or flushed (for 10 min after 3.25h, 20 min after 19h, and then daily for 20 min). Four external CO_2 traps with 4 ml 2.5 M KOH each were connected to each microcosm.

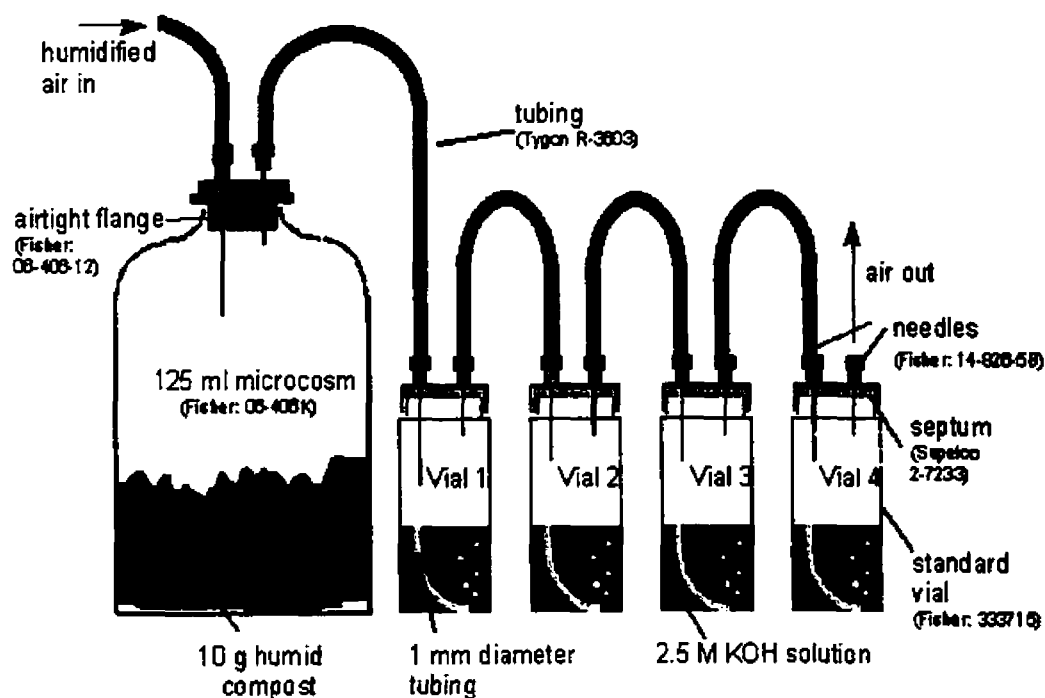


Figure 3.1: Experimental apparatus used for tests with continuous aeration and periodical flushing; each external CO₂ trap is filled with 4 ml KOH solution corresponding to an exchange height of 1 cm; source and catalogue number of materials shown in brackets.

Abiotic controls comprised 0.4 % (w/DW) of NaN₃ applied in aqueous solution. At the end of the experiment, 50 ml water was added to each microcosm and by addition of HCl the pH was lowered to 2. All of the gas generated during the acidification step was passed through the alkaline traps. The radioactive CO₂ released during and after acidification of the compost-soil matrix at the end of experimentation with ¹⁴C-glucose accounted for less than 3% of the total CO₂ production. Another set of experiments used mesophilic phase compost-soil spiked with n-hexadecane (0.046 µCurie of ¹⁴C-hexadecane and 2 mg non-radioactive hexadecane). Microcosms (triplicates) were incubated at ambient temperature

and were aerated continuously. Standard sealed microcosms were set up in parallel as were abiotic controls (0.4 % of NaN_3 , duplicates). The air flow rate for each aerated microcosm was about 40 ml/min (1 bar, 21°C).

3.3.3 Chemicals

2.5 M KOH (Anachemia Science, Ville St-Pierre, Canada) was used to trap CO_2 . The scintillation cocktail was *OptiPhase 'HiSafe' 3* (Fisher Chemicals). ^{14}C -labeled glucose and hexadecane were purchased from Sigma. For acidification 35% HCl (Anachemia) was used.

3.3.4 Analyses

The KOH solution of the traps was exchanged periodically and replaced by fresh KOH solution. Ten ml of scintillation cocktail was added to the sampled KOH solution and mixed vigorously. Radioactivity levels were determined with a liquid scintillation counter (model LSC 1409, Wallac Scintillation Products).

3.4 Results and discussion

3.4.1 The necessity for continuous aeration

Samples of a compost-soil mixture were taken from an 11 L composting reactor during the thermophilic phase of batch composting, placed in microcosm, spiked with ^{14}C -glucose, and incubated either at room temperature or at 55°C. The microcosms used were continuously aerated or periodically flushed using the apparatus shown in Figure 3.1. At

ambient temperature, after 3.25 h, there was 17 % more mineralization when continuous aeration was applied (Figure 3.2A). This difference became less pronounced as the experiment progressed possibly at least partially due to the fact that the O_2 demand of the compost diminishes with time. Thus, although continuous aeration is necessary in order to avoid oxygen limitation, there was little significant difference between the cumulative glucose mineralization data whether the microcosms were continuously aerated or flushed daily. At 55°C, the difference was more pronounced. When continuously aerated, glucose was immediately and rapidly mineralized, whereas under periodic flushing conditions, significant mineralization only began after 8 days (Figure 3.2B). Glucose may be degraded either aerobically or fermentatively. It is possible that the mesophilic glucose-degrading population was composed of numerous facultative anaerobes while under thermophilic conditions a period of adaptation was required to enrich for organisms that could function anaerobically. Thus the requirement for continuous aeration depends not only on the carbon source and inoculum, but also on other physiological conditions such as temperature and perhaps pH.

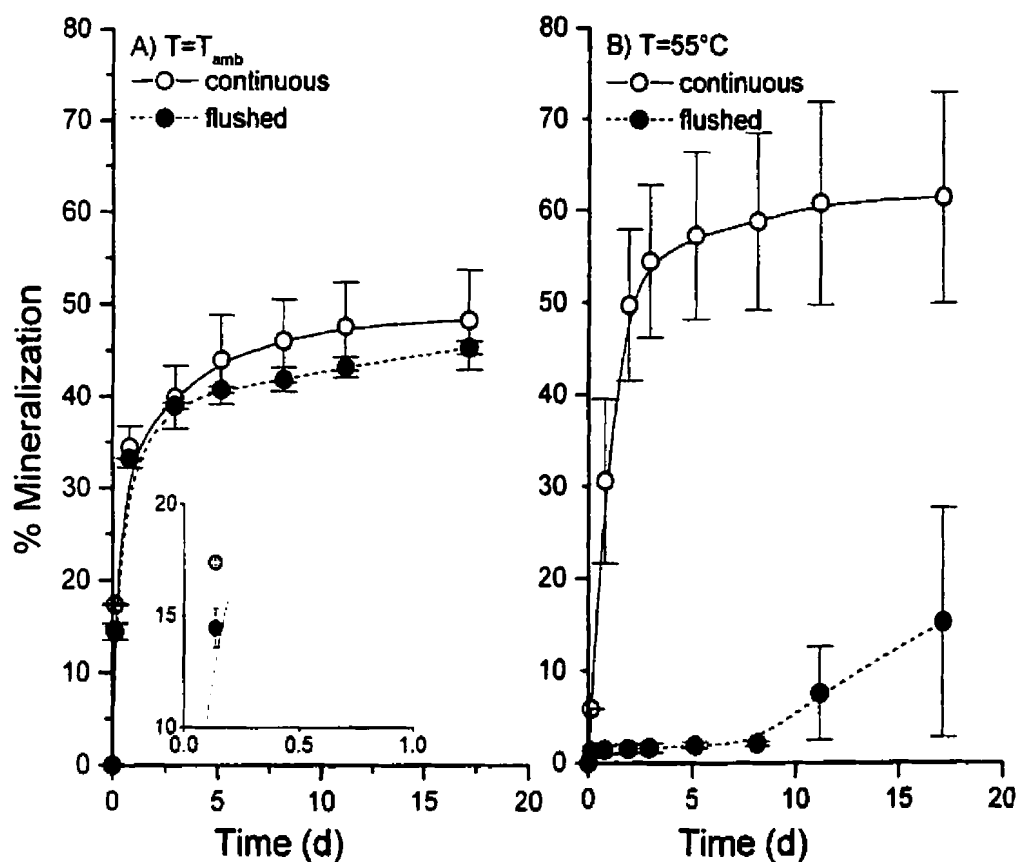


Figure 3.2 The effect of continuous aeration on the mineralization of glucose in thermophilic-phase compost-soil compared to periodical flushing; A) at ambient temperature: after 3.25h 17% more was mineralized when continuously aerated; B) at 55°C : rapid mineralization occurred when continuously aerated, whereas under periodical flushing conditions significant mineralization was observed only after day 8. No significant mineralization occurred in the abiotic controls.

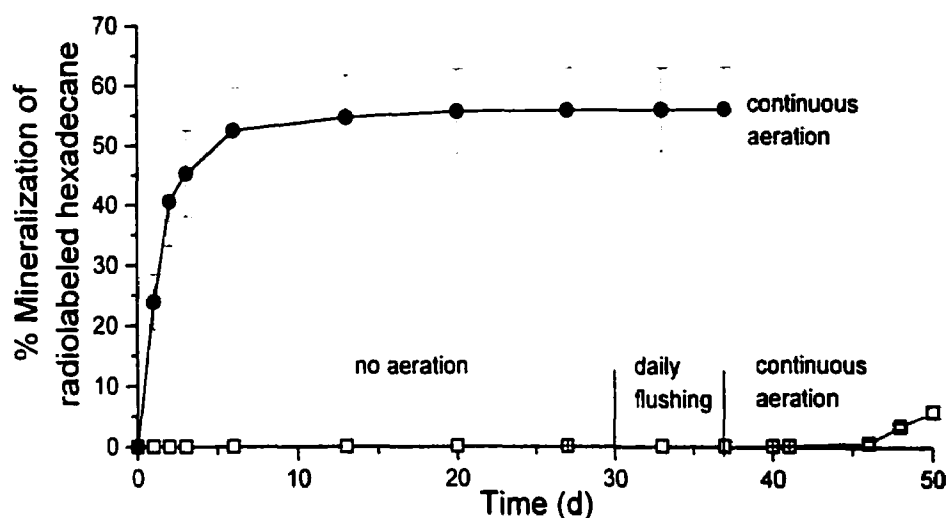


Figure 3.3: The effect of aeration on the mineralization of hexadecane in mesophilic-phase compost-soil: standard sealed microcosms showed no mineralization unless continuously aerated. No significant mineralization occurred in the abiotic controls.

3.4.2 Design of CO₂ traps

The amount of KOH required to trap all of the CO₂ produced was based on an average CO₂ generation rate of 60 mmol h⁻¹ (kg of dry compost)⁻¹. Therefore the total amount of metabolically generated CO₂ (for 5 g dry compost per microcosm) would have been about 7.2 mmol/day. Since ambient air also contains some CO₂ (40 ml/min, 0.03 % CO₂), an additional 0.7 mmol/day of CO₂ must be considered. Since two moles of KOH are required to react with each mole of CO₂, the minimum amount of KOH necessary should

have been 15.8 mmol/day, or 6.3 ml of a 2.5 M KOH aqueous solution per day. The contribution of radiolabeled CO₂ would only be 10⁻⁴ mmol and can thus be neglected.

Even when a sufficient amount of alkaline solution is present, the efficiency of the system may be limited by mass transfer resistance in the alkaline trap. Standard microcosms use an internal trap (Millette *et al.*, 1995) where mass transfer of CO₂ into the alkaline solution only occurs at the static gas-liquid interface. Use of an external trap where the gas passes in the form of bubbles through the alkaline solution allows for a greatly increased mass transfer rate. At low CO₂ concentrations and assuming a fast reaction in the liquid phase, transport from the bulk of the gas phase to the gas-liquid-interface represents the transport resistance (Deckwer, 1991) and the absorption rate (R_A) becomes:

$$R_A = k_s C_g$$

where the mass transfer coefficient (k_s) depends on the rising velocity of the bubble in the KOH trap, on the bubble diameter and on the diffusivity of CO₂ in air. The residence time which corresponds to an absorption of 99% of initial CO₂ in the bubble is:

$$\tau_{99} = \frac{\ln 100 d_b}{6k_s}$$

With an inlet diameter of 1 mm and a viscosity of 1.24 cp (corrected for 2.5 M KOH), the bubble size diameter (d_b) becomes 3.6 mm for this system (Perry, 1973). Bubbles of this

diameter rise with a velocity of about 23 cm/s (Sherwood *et al.*, 1975), and k_r is in the range of 2 to 5 cm/s (Sherwood *et al.*, 1975; McCabe *et al.*, 1993). With the above rising bubble velocity and residence time, the minimum height required is thus 3.0 cm. This corresponds to 3 standard scintillation vials (inner diameter 2.2 cm) in series, each filled with 4 ml KOH since this volume of KOH solution gives a liquid level of about 1 cm in each vial.

3.4.3 Verification of the alkaline trap efficiency

Experiments were conducted with thermophilic phase active compost-soil to verify the design parameters mentioned above. Four vials each filled with 4 ml of solution were used (one more than the minimum 99% absorption height). The results confirm the calculations since more than 99 % of total radioactivity was captured in the first three CO₂ traps (Table 3.1). The measured values for the transfer coefficient k_r at ambient temperature as well as at 55°C were in the range of 1.9 to 3.3 cm/s which is consistent with values found in the literature (Sherwood *et al.*, 1975; McCabe *et al.*, 1993). Although sufficient KOH was present in the first trap to capture all the CO₂ generated, significant amounts were found in the second and third trap (Table 3.1) demonstrating the predicted exponential absorption behavior. This shows the importance of mass transfer considerations. Even when KOH is in excess, the CO₂ can only be trapped if sufficient contact with the aqueous (KOH) phase is allowed.

Table 3.1: Radioactivity values measured after 19h in four vials connected to a microcosm incubated at ambient temperature and to one incubated at 55°C. Values decrease exponentially with the number of vials. Calculated k_s values correspond to values found in literature.

Vial no.	Measured radioactivity (dpm)	
	T_{amb}	55°C
1	15,489	15,042
2	1,656	680
3	107	77
4	16	7
	$k_s = 3.3 \text{ cm/s}$	$k_s = 3.6 \text{ cm/s}$

In summary, insufficient aeration of microcosms may or may not significantly affect mineralization data but the need for aeration should be considered. To assess aeration requirements for a microcosm, the oxygen uptake rate should be predicted or preferably, measured. This value can be used to calculate the time for the oxygen concentration in the headspace to fall to an unacceptable value, below which major physiological changes may be expected to begin to take place in the culture. This should be taken as the maximum time between flushing. Whether flushing is adequate or if continuously aerated microcosms are required, both the amount of alkaline solution and the mass transfer of CO_2 into the traps must be considered. The sample calculation shown in the trap design section can serve as a model to determine conditions for complete absorption (i.e. at least 99%) of the radioactive CO_2 .

3.5 Acknowledgement

This research was supported by the Environmental Science and Technology Alliance of Canada (ESTAC).

3.6 References

BACH, P.D., SHODA, M and KUBOTA, H. (1984). Rate of Composting of Dewatered Sewage Sludge in Continuously Mixed Isothermal Reactor. Journal of Fermentation Technology, 62, (3), 285-292.

BEAUDIN, N., CARON, R.F., LEGROS, R., RAMSAY, J. and RAMSAY, B. (1999). Identification of the key factors affecting composting of a weathered hydrocarbon-contaminated soil. Biodegradation, 10, (2), 105-112.

DECKWER, W.-D. (1991). Bubble column reactors, John Wiley & Sons, New York, p.65.

HARRISON, M.J., WRIGHT, R.T. and MORITA, R.Y. (1971). Method of measuring mineralization in lake sediments. Applied Microbiology, 21, 698-702.

KÄSTNER, M. and MAHRO, B. (1996). Microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils affected by the organic matrix of compost. Applied Microbiology and Biotechnology, 44, 668-675.

MCCABE, W.L., SMITH, J.C. and HARRIOTT, P. (1993). Unit operations of chemical engineering, McGraw-Hill, New York.

NOTE TO USERS

Page(s) not included in the original manuscript and are unavailable from the author or university. The manuscript was microfilmed as received.

75

This reproduction is the best copy available.

UMI ®

CHAPITRE IV
MINERALIZATION OF ^{14}C -LABELED n -HEXADECANE, PYRENE AND
BENZO(A)PYRENE IN COMPOSTED SOIL FROM DIFFERENT
COMPOSTING STAGES

Ce chapitre décrit l'étude du potentiel de minéralisation de l'hexadécane et du pyrène en fonction des différentes phases du compostage afin de déterminer la phase qui est susceptible de posséder le plus grand potentiel de minéralisation.

Les résultats de l'étude du potentiel de minéralisation de l'hexadécane pendant les différentes phases de compostage suggèrent que pour la dégradation de ce type de contaminants, le compostage n'est pas plus performant que l'addition de nutriments au sol. En effet, les taux de minéralisation pendant le compostage ne sont que légèrement plus élevés que lors du simple ajout de nutriments au sol contaminé.

Une rapide minéralisation du pyrène a été observée dans le sol composté mature tandis que les sols compostés des phases mésophiles et thermophiles ne minéralisaient le pyrène qu'après une phase de latence d'environ 3 semaines. A des températures thermophiles aucune minéralisation du pyrène n'a été observée. Les tests effectués avec du benzo(a)pyrène dans le sol composté mature n'ont pas donné des résultats positifs.

L'hypothèse pour cette partie de la thèse était que les hydrocarbures aliphatiques et aromatiques polycycliques sont minéralisés pendant le compostage d'un sol contaminé, les phases mésophile et thermophile étant les plus favorables à la minéralisation de ces composés. Cette hypothèse a été confirmée en partie puisque le n-hexadécane et le pyrène étaient minéralisés pendant le compostage. En revanche, le potentiel de minéralisation de l'hexadécane était essentiellement le même pendant les trois phases de compostage et n'était donc pas fonction du temps de compostage. Cependant, le potentiel de minéralisation du pyrène était fonction de la phase de compostage. Par rapport au pyrène, l'hypothèse proposant que le potentiel de ce contaminant est plus élevé pendant les phases actives du compostage, à savoir les phases mésophile et thermophile, a été rejetée puisque le pyrène est minéralisé de préférence pendant la phase de maturation.

Cet article a été soumis à la revue *Environmental Science and Technology*.

MANUSCRIT NO.2
MINERALIZATION OF ^{14}C -LABELED n-HEXADECANE, PYRENE AND
BENZO(A)PYRENE IN COMPOSTED SOIL FROM DIFFERENT
COMPOSTING STAGES

A. Haderlein^{*}, R. Legros^{*} and B.A. Ramsay^{**}

^{*}*Department of Chemical Engineering, École Polytechnique de Montréal,*

Centre-Ville, Montréal, Québec, Canada, H3C 3A7

^{**}*Polyferm Canada Inc., RR #1, Harrowsmith, Ontario, Canada, K0H 1V0;*

corresponding author, phone: (613)533-6000 ext. 75293; fax: (613)533-6637

4.1 Abstract

Samples from the mesophilic, thermophilic and curing stages of a contaminated soil composting process were assessed for mineralization potential. Radiolabeled n-hexadecane, pyrene and benzo(a)pyrene were used as model compounds in continuously aerated microcosms. At ambient temperature, all samples exhibited essentially the same hexadecane mineralization potential (40-55% after 13 days). Final mineralization extents were similar to those obtained with unamended contaminated soil. The mineralization potential for pyrene increased with composting time. Highest pyrene mineralization rates

and extents (more than 60% after 20 days) were obtained in composted soil from the curing stage. No significant pyrene mineralization occurred at 55°C indicating that thermophilic microflora are not responsible for pyrene degradation during composting. Composted soil from the curing stage was only able to mineralize benzo(a)pyrene to a low extent (1.5%). While composting does not appear to aid in the mineralization of n-alkanes similar to n-hexadecane, it greatly stimulates the mineralization of polycyclic aromatic hydrocarbons such as pyrene. However, it was found that mixing pyrene-contaminated soil with mature composted soil is as effective as actually composting the soil.

4.2 Introduction

Bioremediation of contaminated soils via composting involves the addition of organic carbon and nitrogen sources to the soil. These amendments may also serve as bulking agents and the mixture is usually subjected to some form of aeration. The initial phase of adaptation (mesophilic stage) is followed by a period of intense microbial activity resulting in high temperatures (thermophilic stage) as in typical composting processes. Heat production decreases as easily degradable materials are exhausted. This results in a temperature decline to near ambient levels. The compost then enters a maturation phase (curing stage) (Figure 4.1).

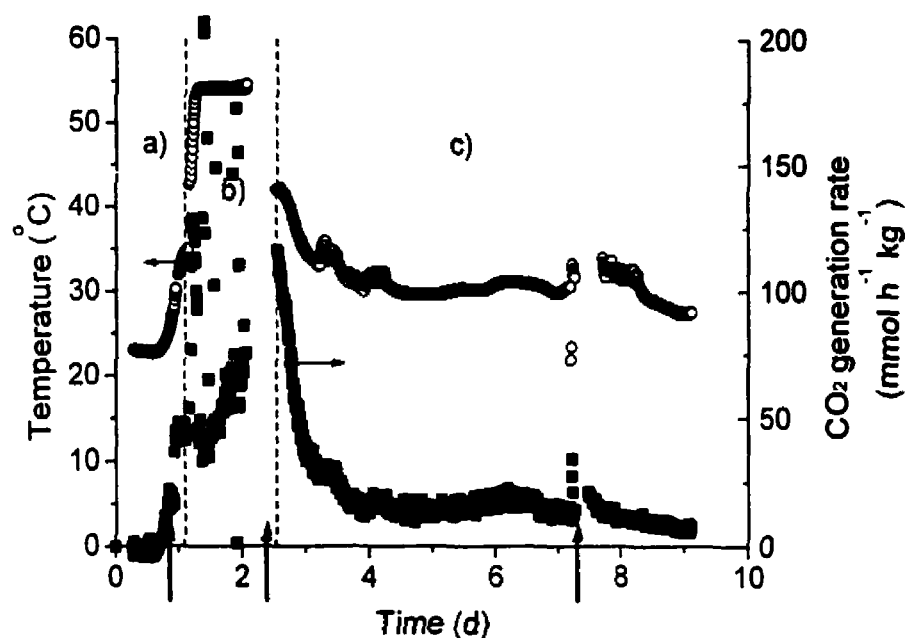


Figure 4.1: CO_2 generation rate and temperature profile during composting of contaminated soil in the 11 L reactor used for the preparation of composted soil; a) mesophilic stage, b) thermophilic stage (temperature was limited at 55°C by increasing the aeration rate), and c) curing stage; vertical arrows indicate vigorous mixing of the reactor contents.

Composting has been shown to be effective at the decontamination of soils containing nitroaromatic compounds (Williams and Mayler, 1990; Ziegenfuss *et al.*, 1991; Daun *et al.*, 1998; Lenke *et al.*, 1998), aliphatic compounds (Beaudin *et al.*, 1996), chlorophenols (Valo and Salkinoja-Salonen, 1986; Semple and Fermor, 1995), herbicides (Dooley *et al.*, 1995), pharmaceutical compounds (Rhodes and Peck, 1995) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) (McFarland *et al.*, 1992; Joyce *et al.*, 1998; Potter *et al.*, 1999). It has been cited as being particularly useful in the bioremediation of PAHs possibly due to

the following phenomena: (a) increased degradative enzyme activity due to thermophilic temperatures; (b) increased desorption kinetics also due to higher temperature; (c) cooxidation and other forms of cometabolism due to the presence of a wide variety of substrates; and (d) increased microbial diversity due to the changing physical/chemical environment (Williams and Mayler, 1990; Crawford *et al.*, 1993). During our investigations into the composting of weathered hydrocarbon-contaminated soils, there was considerable reduction of aliphatics such as those in the C₁₀-C₁₆ range and PAHs including pyrene (Figure 4.2).

Although disappearance of the target compounds indicates that biodegradation may be occurring, in most composting studies the exact fate of the hydrocarbons has not been reported. One possibility is their incorporation into the organic matrix (Berry and Boyd, 1985). Fungal (*Phanerochaete chrysosporium*) composting of soil contaminated with benzo(a)pyrene has been shown to increase formation of bound residues of this PAH, thus decreasing its detectability (Qiu and McFarland, 1991). Addition of mature compost to soil has been found to render significant quantities of anthracene and n-hexadecane unextractable by conventional solvent extraction techniques (Kästner *et al.*, 1995). In addition, incomplete degradation sometimes produces intermediates that are more toxic than the parent compound (Cerniglia, 1984; Belkin *et al.*, 1994). Thus, it is desirable to determine whether complete degradation (mineralization) occurs during composting of contaminated soil.

The present study aimed to evaluate the mineralization potential of a hydrocarbon-contaminated soil composting process throughout its different stages using n-hexadecane, pyrene, and benzo(a)pyrene as model alkane and PAHs respectively.

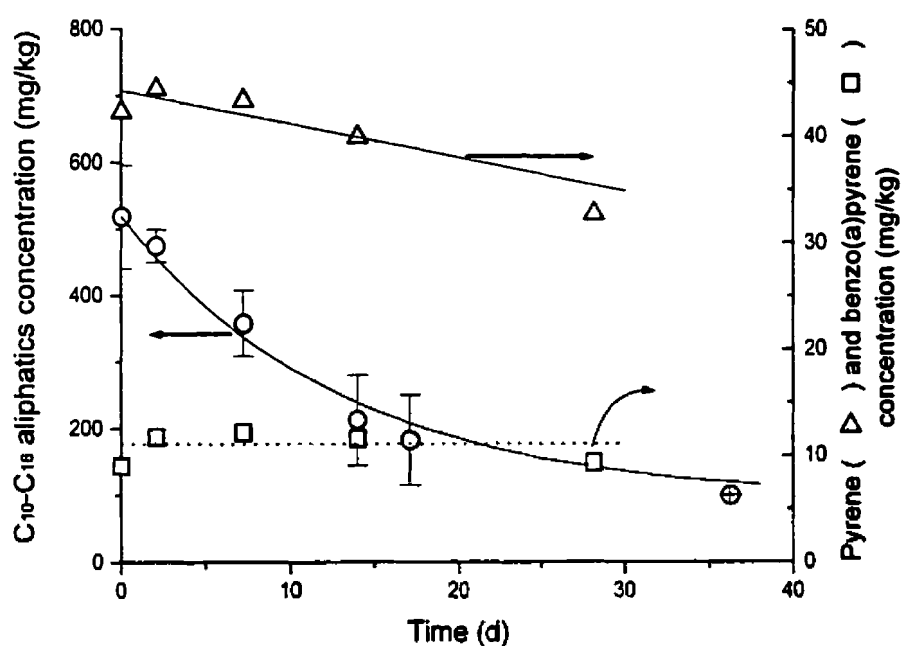


Figure 4.2: Variation in the concentrations of the C₁₀-C₁₆ aliphatics, pyrene (4 ring PAH), and benzo(a)pyrene (5 ring PAH) during active composting in the 11 L reactor used for the preparation of composted soil. Concentrations were standardized based on ash content. Error bars indicate standard errors (n=2). Following first order kinetics, 82% of C₁₀-C₁₆ aliphatics fraction was degraded after 36 days. A constant removal rate (zero order kinetics) of 0.31 mg kg⁻¹ day⁻¹ was observed for pyrene, eliminating 23% after 28 days whereas benzo(a)pyrene was not significantly degraded after 28 days.

4.3 Materials and Methods

4.3.1 Chemicals

[1-¹⁴C] n-Hexadecane (2,6 mCi per mmol), unlabeled n-hexadecane, [4,5,9,10-¹⁴C] pyrene (32,3 mCi per mmol), and [7-¹⁴C] benzo(a)pyrene (26,6 mCi per mmol) were purchased from Sigma-Aldrich Ltd., Oakville, ON, Canada. Unlabeled pyrene was purchased from Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA. 2.5 M KOH (Anachemia Inc., Ville St-Pierre, Canada) was used to trap CO₂. The scintillation cocktail was OptiPhase 'HiSafe' 3 (Fisher Scientific Ltd., Nepean, ON, Canada). 35% HCl (Anachemia) was used for acidification. As a drying agent, prior to solvent extraction, anhydrous sodium sulphate (Anachemia) was used. Methylene dichloride (pesticide grade, Fisher) was employed to extract the remaining radioactivity. The minimal salts solution was prepared according to Greer *et al.* (1990) and its ingredients as well as all other chemical were purchased from Anachemia.

4.3.2 Soil and amended organic material

Two soils were used. One was hydrocarbon-contaminated while the other was not. The soil contaminated with Total Petroleum Hydrocarbons (TPH=40.000 mg/kg) and PAHs (1170 mg/kg of EPA priority PAH, 130 mg/kg pyrene) was obtained from the sand quarry Thouin near Montreal, Quebec, which had served as an illegal dumping site for hazardous waste during the late 1960s. The soil was sieved to less than 2 mm in particle diameter. The clean soil (Bormix Golden Sand, Daubois Inc., Montreal, Quebec) consisted of 97.1% (wt/wt) sand (75µm < d_p < 2 mm), 0.3% stones (d_p > 2 mm) and 2.6% fines (d_p

< 75 μ m). The TPH content was below the detectable level. Dry maple leaves and dry alfalfa (Rabbit Chow, Ralston Purina Canada Inc.) were used as carbon and nitrogen sources.

4.3.3 Soil composting

An 11 L aerated stainless steel batch reactor equipped with heating jackets was used to prepare composted soil samples for mineralization experiments. Thermocouples were installed at different points in the reactor and at the inner wall, as well as between the heating jackets and the outer wall. During the mesophilic stage, the difference between these two temperatures was used to calculate heat loss through the wall. The heating jackets were automatically activated to compensate for lost heat. Once the compost temperature had risen to 55°C, it was limited at this value by means of increased aeration (thermophilic stage). The compost cooled after the thermophilic phase due to decreased heat generation while the heating jackets still compensated for heat loss (curing stage). Pyrene and Benzo(a)pyrene concentrations were determined using EPA methods 8270 (analysis by GC-MS), 3550 (ultrasonic extraction) and 3640A (gel-permeation cleanup). Aliphatic hydrocarbons in the C₁₀-C₁₆ range were analysed by GC-FID on a HP-1 column according to method 410-HYD. 1.0 of the Quebec Minsitry of Environment (MEF, 1995).

The initial composition of all composted soils was 640 g of soil, either contaminated or not, 250 g leaves, 720 g alfalfa and 82 g CaCO₃. The water content was adjusted to

50% (w/w). Composted soil from the mesophilic stage was obtained after 23 hours by following an autoregulated temperature profile as in Figure 4.1. The temperature and CO₂ production rate at sampling were about 30°C and 60 mmol kg⁻¹h⁻¹ respectively. The composted soil from the thermophilic stage was obtained after 49 hours (temperature and CO₂ production rate at sampling, 55°C and 75 mmol kg⁻¹h⁻¹ respectively). Composted soil from the curing stage was obtained after 1 month of composting and 3 months of maturation at ambient temperature. The composted soil from the curing stage that had been obtained using clean soil was produced as with contaminated soil, except that uncontaminated sand was used to prepare the mixture and the thermophilic phase was extended to 1 month by holding the temperature at 50°C. It was used after subsequent maturation at ambient temperature during 11 months.

4.3.4 Microcosm apparatus and experimental

All mineralization experiments employed a continuously aerated 125 ml microcosm connected to a series of two KOH traps which were designed for complete capture of all evolved CO₂ (Haderlein *et al.*, submitted to Biodegradation). The first CO₂ trap contained 14 ml KOH solution designed to capture more than 99% of generated CO₂. The second trap contained 4 ml KOH solution to capture the majority of the remaining CO₂.

Each microcosm contained 10 g of moist composted soil (moisture content 50% (w/w)) from either the mesophilic, thermophilic or curing stage; or 5 g contaminated soil amended with 5 ml minimal salts medium; or 5 g of a mixture of 1 part (by weight)

mature composted soil produced using clean soil and 3 parts contaminated soil which was humidified with 3.7 ml distilled water in order to adjust the moisture content to 57%.

The above mixtures were spiked with either n-hexadecane (0.046 μCi of ^{14}C -hexadecane and 2 mg non-radiolabeled hexadecane per microcosm) or pyrene (0.046 μCi of ^{14}C -pyrene and 1 mg non-radiolabeled pyrene dissolved in 100 μl of toluene per microcosm) or benzo(a)pyrene (0.046 μCi of ^{14}C -benzo(a)pyrene). Microcosms (triplicates) were aerated continuously at ambient temperature, except for composted soil from the thermophilic stage which was continuously aerated at either ambient temperature or 55°C. Abiotic controls (duplicates) contained 0.4 % (w/DW) of NaN_3 applied as an aqueous solution (40 mg in 0.5 ml per microcosm).

4.3.5 Quantification of mineralization and radioactivity balance

The KOH solution in the traps was exchanged periodically and replaced by fresh KOH solution. The KOH solution from both traps was combined, adjusted to volume and mixed vigorously. Ten ml of scintillation cocktail was added to 3 ml of the sampled KOH solution and mixed vigorously. Radioactivity levels were determined with a liquid scintillation counter (model LSC 1409, Wallac Scintillation Products).

Abiotic controls never showed mineralization values greater than 1% of the initially added radioactivity, except when composted soil from the thermophilic stage was

incubated at 55°C where radioactive material collected in the CO₂ trap originating from abiotic transformations still accounted for less than 2.6% initially added radioactivity.

Water (50 ml) was added to the microcosms after each experiment. The pH was measured after vigorous mixing for 5 min. The pH was then lowered to 2.0 to release any ¹⁴CO₂ bound as carbonate. In order to verify the mass balance of radioactive carbon, solvent extraction was carried out on composted soil from the mesophilic stage after the acidification step according to a modified method used by Millette et al. (1995). After the aqueous phase had been filtered off (Whatman #1 qualitative), about 10 g of anhydrous sodium sulphate was added to the microcosms which were then shaken vigorously for about 5 min. Methylene dichloride (50 ml) was added. The microcosms were then shaken at 110 rpm (Lab-Line® Environ-Shaker) overnight. The extraction was repeated once more. Ten ml scintillation cocktail was added to 4 ml of each extract, was mixed vigorously and analysed for radioactivity.

4.3.6 Calculation of lag phase and maximum mineralization rate

The lag phase was calculated by plotting the logarithm of the percentage of remaining radioactivity versus time and determining the intercept of the steepest tangent with the $y=\ln(100)$ line. The maximum mineralization rate was calculated using the steepest tangent on the % mineralization versus time graph. Both tangents were calculated by linear regression on three data points using error bar weighing where possible.

4.4 Results and Discussion

4.4.1 Radiolabeled-carbon balance

The ^{14}C balance conducted on material from mineralization studies of composted soil from the mesophilic stage (open circles in Figures 4.3 and 4.5) recovered only 58.9 ± 0.8 of initially added hexadecane radioactivity and 63.9 ± 5.6 of initially added pyrene radioactivity in the form of CO_2 , carbonate or methylene dichloride extractable residues. Less than 2% of the initially added amount was bound in the form of carbonates. Thus, large amounts of the initially added hydrocarbons had been rendered unextractable by conventional solvent extraction techniques. Such low recovery yields are common for PAHs and are observed even when the organic solvent extraction is followed by an alkaline saponification step (Kästner *et al.*, 1995; Eschenbach *et al.*, 1998). However, it has been shown that the addition of compost to contaminated soil allows a higher amount of PAHs to be recovered by extraction than in unamended soil (Kästner *et al.*, 1995), there was still a considerable amount of hydrocarbon apparently unavailable for mineralization.

4.4.2 n-Hexadecane mineralization

Composted soil from all three composting stages was able to mineralize hexadecane readily when incubated at ambient temperature (Figure 4.3). A lag phase (3.0 days) was originally observed with composted soil from the mesophilic stage (Figure 4.3, Table 4.1) but this was probably a result of low reproducibility of mineralization curves of the

mesophilic-stage. This is caused by the high heterogeneity (i.e. distinct pieces of alfalfa pellets and leaves) and the rapidly changing physico-chemical conditions of this early stage of composting. Repetition of this experiment produced similar kinetics but no lag phase (Figure 4.3, Table 4.1). It can be concluded that the potential to mineralize *n*-hexadecane does not change essentially throughout the composting process when the composting soil is incubated at ambient temperature.

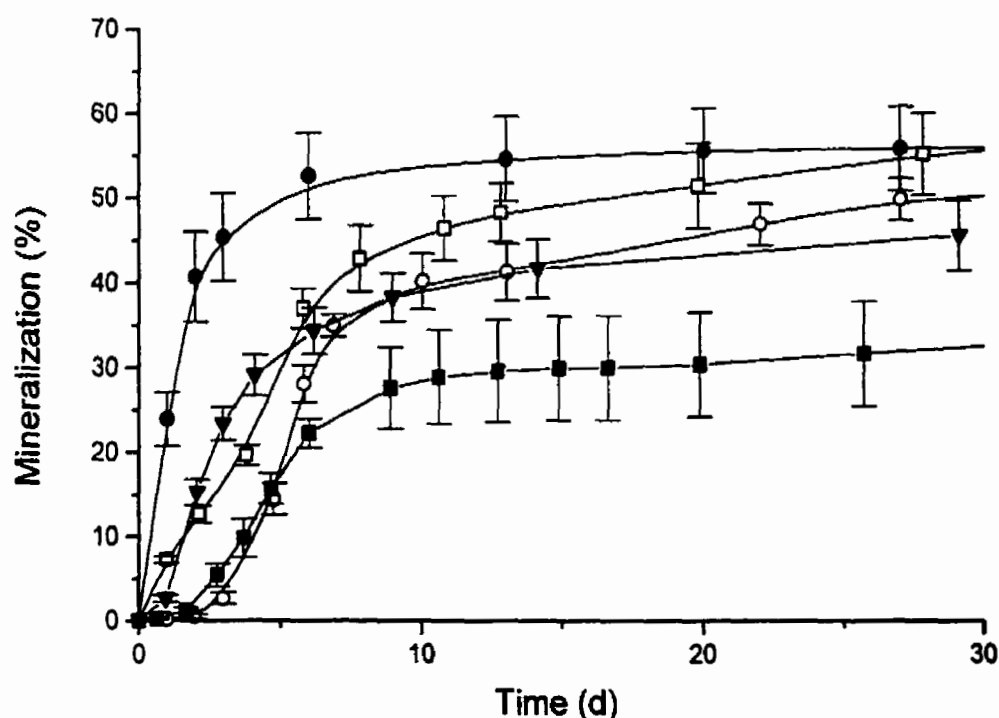


Figure 4.3: Mineralization of *n*-hexadecane in samples from different stages of composting contaminated soil. From the mesophilic stage (○); from the mesophilic stage (repetition) (●); from the thermophilic stage incubated at ambient temperature (□); from the thermophilic stage incubated at 55°C (●); and from the curing stage (▼). Error bars indicate the standard error (n=3). Hexadecane can be readily mineralized throughout all composting stages.

Table 4.1: Lag phases and maximum mineralization rates for pyrene and n-hexadecane mineralization in different compost-soil mixtures. The variations in data for n-hexadecane in mesophilic composted soils are caused by the high heterogeneity and rapidly changing physicochemical conditions of this early stage of composting. Mineralization of pyrene during composting of contaminated soil begins only when a certain degree of maturity is reached.

	n-Hexadecane		Pyrene	
	Lag phase (d)	$r_{\max}$ (%/d)	Lag phase (d)	$r_{\max}$ (%/d)
Mesophilic	3.0±0.7	9.9±1.8	18.5±0.6	1.5±0.1
Mesophilic (repetition)	0.0	22.4±2.1	-	-
Thermophilic at T_{amb}	0.4±0.1	5.9±1.5	30.5±4.3	1.4±0.1
Thermophilic at 55°C	0.7±0.1	5.5±0.3	> 93	≅ 0
Curing	0.7±0.0	10.6±0.6	0.0	7.0±2.6
Contaminated soil	0.0	2.7±0.0	0.0	0.25±0.0
Soil + compost [*]	0.0	2.4±0.2	4.5±0.0	0.6±0.0
Compost ^{**}	0.0	5.1±0.4	12.8±0.4	2.9±0.1

^{*}Contaminated soil amended with composted soil obtained by composting uncontaminated soil

^{**}Composted soil obtained by composting uncontaminated soil

A lower final mineralization extent was observed for composted soil from the thermophilic stage when incubated at 55°C (Figure 4.3). In fact, only 29% of hexadecane was mineralized after 11 days. Thermophilic alkane degraders may be less widespread than their mesophilic counterparts. Castaldi *et al.* (1995) reported that during an aerobic slurry treatment of an oily sludge under thermophilic conditions (65°C) only aliphatic hydrocarbons with up to 13 carbon atoms could be completely eliminated. The membrane

toxicity of hydrocarbons towards microbial cell membranes increases with temperature (Leahy and Colwell, 1990). When composting a petroleum contaminated soil using a temperature profile similar to that used in the present study, degradation of alkanes such as n-hexadecane by thermophiles appears to be of minor importance, although some significant mineralization does occur. This may be more important when an extended thermophilic phase is employed such as in unaerated and unmixed systems where heat loss is minimal.

No lag phase was observed nor was there a significant difference in the mineralization potential of the resulting mature composted soils whether the soil was or was not collected from a site contaminated with petroleum hydrocarbons (Figure 4.4). Thus, previous exposure to petroleum hydrocarbons and hence adaptation to aliphatics, does not significantly increase the ability of the population present in mature composted soil to mineralize n-hexadecane. This may be attributed to the fact that n-hexadecane is easily metabolized by many common mesophilic microorganisms (Oudot *et al.*, 1987; Chaîneau *et al.*, 1995) which are generally present in soil or mature compost. In addition, the final mineralization extent was not increased by composting soil previously exposed to hexadecane nor by amending it with mature compost. Therefore, for unbranched aliphatics similar to n-hexadecane, there is little or no benefit to composting other than bulking which increases oxygen transfer when composting on a large-scale.

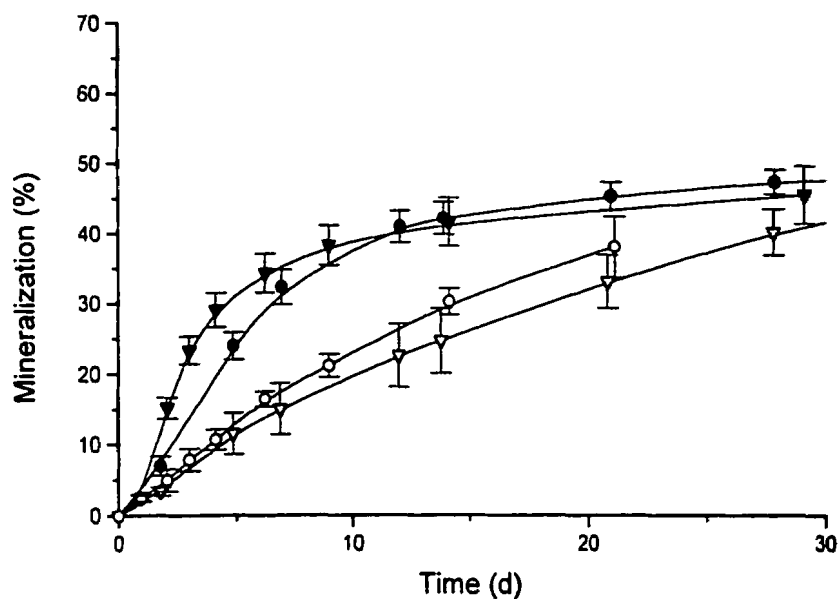


Figure 4.4: Mineralization of n-hexadecane with different mixtures of mature compost and contaminated soil. Composted soil from the curing stage obtained by composting contaminated soil (▼); composted soil from the curing stage obtained by composting clean soil (●); contaminated soil amended with composted soil from the curing stage obtained by composting clean soil (▽); and contaminated soil amended with minimal salts solution (○). Error bars indicate standard errors (n=3). Although mineralization rates of composted soils from the curing stage are higher than with contaminated soil only, the same final mineralization extents are obtained.

4.4.3 Pyrene mineralization

Significant mineralization of pyrene occurred only after a lag phase of 18 days when composted petroleum-contaminated soil from the mesophilic stage was incubated at ambient temperature (Figure 4.5, Table 4.1). A similar mineralization curve (but with a somewhat extended lag phase) was obtained when composted petroleum-contaminated soil from the thermophilic stage was incubated at ambient temperature. Very little mineralization was observed when incubating composted soil from the thermophilic stage at 55°C (Figure 4.5) demonstrating that thermophilic microflora are not responsible for pyrene mineralization during composting. This conclusion is supported by the findings of Potter *et al.* (1999) who reported a disappearance of phenanthrene-degrading microorganisms at temperatures exceeding 60°C and suggested that thermophilic temperatures might actually destroy PAH degraders. Addition of cycloheximide (0.8% w/DW) to mature composted soil had little effect on mineralization of pyrene (data not shown). This demonstrates that procaryotes are responsible for the PAH mineralization under these conditions.

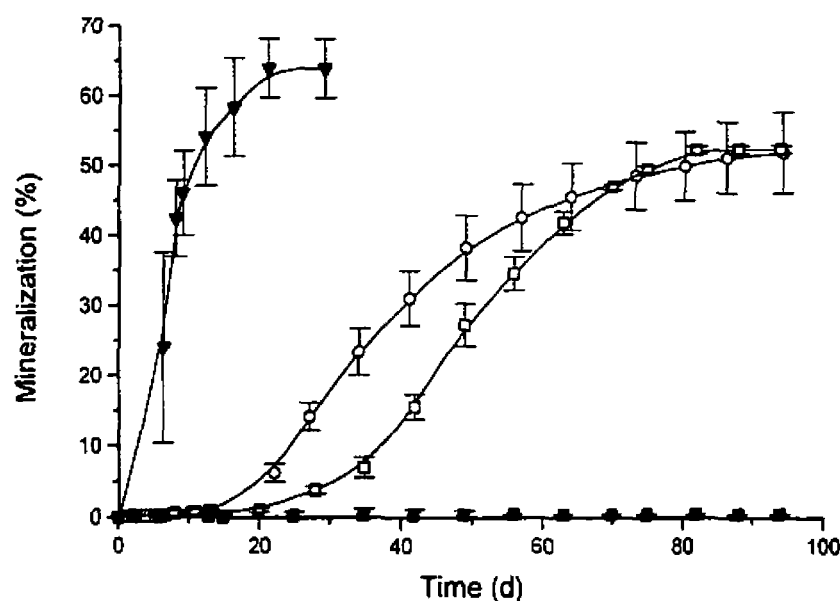


Figure 4.5: Mineralization of pyrene in samples from different stages of composting of contaminated soil. From the mesophilic stage (°); from the thermophilic stage incubated at ambient temperature (□); from the thermophilic stage incubated at 55°C (■); and from the curing stage (▼). Error bars indicate standard errors ($n=3$). Mineralization occurs in very immature composted soil only after a significant lag phase whereas mature composted soil mineralizes pyrene readily.

Mineralization rates and extents were highest when composted petroleum-contaminated soil from the curing stage was used. Rapid mineralization of pyrene during composting of contaminated soil began only when a certain degree of compost maturity was reached. A similar effect has been reported in a study of the composting of simulated municipal waste where PAH mineralization extents were higher with mature compost than with fresh compost (Martens, 1982).

Although not as rapid as when composted petroleum-contaminated soil was used, a very high mineralization rate and extent were obtained when using composted clean soil from the curing stage (Figure 4.6). The increased lag phase suggests that pyrene degraders are present in smaller numbers than when composted petroleum-contaminated soil is used. Composted soil from the curing stage is able to mineralize pyrene relatively quickly even if it has not previously been exposed to PAHs during the composting process. Kästner and Mahro (1996) have reported a similar effect.

The presence of mineral-associated humic acids can increase the CO₂ generation rate during pyrene degradation (Seibel *et al.*, 1996). Furthermore, it has been suggested that sorption of both the microorganisms and the PAHs to the colloidal surfaces of humic matter stimulate their biodegradation (Laor *et al.*, 1999). In this light, a possible explanation for increased pyrene mineralization in mature composted soil is the presence of humic matter, since it could play a major role in increasing the bioavailability of pyrene. In contrast, since mature compost has no effect on hexadecane mineralization, it is likely that humic substances do not increase its bioavailability.

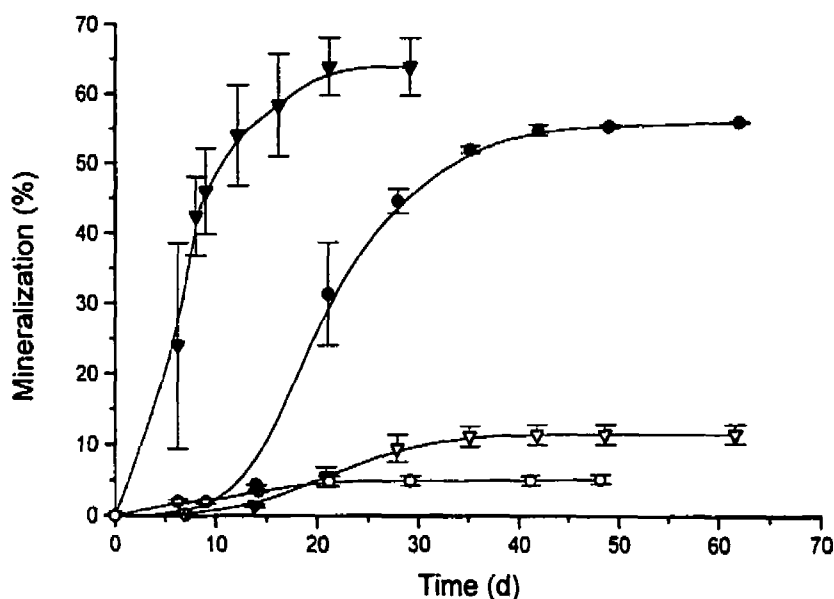


Figure 4.6: Mineralization of pyrene with different mixtures of mature composted soil and contaminated soil. Composted soil from the curing stage obtained by composting contaminated soil ($\blacktriangledown$); composted soil from the curing stage obtained by composting clean soil ($\bullet$); contaminated soil amended with composted soil from the curing stage obtained by composting clean soil (∇); and contaminated soil amended with minimal salts solution ($\circ$). Error bars indicate standard errors ($n=3$, except for $\bullet$ where $n=2$). Even composted soil from the curing stage obtained by composting clean soil has a high mineralization potential and increases the final mineralization extent when added contaminated soil.

PAH degradation rates during composting can best be modelled by first or zero order kinetics, reaching a plateau where no more degradation occurs (Martens, 1982; McFarland *et al.*, 1992; Joyce *et al.*, 1998). During our experiments using the 11 liter batch composting reactor, a constant pyrene removal rate of $0.31 \text{ mg kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ was observed during the first month (Figure 4.2). A concentration of 10 mg/kg pyrene was reached after 3 months of subsequent curing. The apparent initial degradation is probably

not due to mineralization. While Figure 4.2 shows an immediate decline in extracted pyrene, Figure 4.5 shows that mineralization could not begin until almost 3 weeks into the composting process. Some pyrene seems to be incorporated into the organic matrix (i.e. leaves and alfalfa) or undergo initial microbial or chemical transformations becoming thus unextractable and/or undetectable. After consumption of the easily degradable organic matter, pyrene becomes bioavailable and is subsequently mineralized.

4.4.4 Benzo(a)pyrene mineralization

Composted contaminated soil from the curing stage that had been shown to mineralize pyrene readily was used to assess the benzo(a)pyrene mineralization potential. A very small but significant mineralization (1.0% compared to 0.7% in abiotic controls) was observed after 80 days (data not shown). Only a very low mineralization extent (1.5% compared to 0.9% in abiotic controls) had been achieved after 109 days. This is in accordance with the data for extractable benzo(a)pyrene during active composting. No significant degradation occurred during active composting (Figure 4.2). The concentration measured after 3 months of subsequent composting (11 mg/kg) did not differ significantly from the initial value. This is consistent with reported data showing that 5 and 6 ring PAHs are degraded to a very small extent during composting (Potter *et al.*, 1999). The high mineralization rates obtained with pyrene (4 rings) suggests that bioavailability was not a limiting factor in the case of benzo(a)pyrene. It appears that the microflora of mature compost have little capacity to mineralize PAHs having more than 4 fused rings.

4.4.5 Implications for process design

Since the best results for pyrene mineralization are achieved when using mature composted soil obtained by composting contaminated soil, it is suggested that a small portion of the contaminated soil is composted and then added to the remaining soil to serve as an inoculum. Additional mature compost from almost any source should be added as a soil modifier to increase bioavailability. Further investigation is required to extend the mineralization potential of mature compost to PAHs with more than 4 rings.

4.5 Acknowledgements

This project was supported by funds contributed by Environmental Science and Technology Alliance of Canada (ESTAC). The authors would like to thank Dr. Barth Smets for his helpful advice. Special thanks go to Dr. Marie-Claire Bonin Aly-Hassan for her invaluable assistance in microcosm preparation and sampling.

4.6 References

- BEAUDIN, N., CARON, R.F., LEGROS, R., RAMSAY, J., LAWLOR, L. and RAMSAY, B. (1996). Cocomposting of weathered hydrocarbon-contaminated soil. Compost Science and Utilization, 4, (2), 37-45.
- BELKIN, S., STIEBER, M., TIEHM, A., FRIMMEL, F.H., ABELIOVICH, A., WERNER, P. and ULITZUR, S. (1994). Toxicity and genotoxicity enhancement during polycyclic aromatic hydrocarbons' biodegradation. Environmental Toxicology and Water Quality, 9, 303-309.

BERRY, D.F. and BOYD, S.A. (1985). Decontamination of soil through enhanced formation of bound residues. Environmental Science and Technology, 19, 1132-1133.

CASTALDI, F.J., BOMBAUGH, K.J. and MCFARLAND, B. (1995). Thermophilic slurry-phase treatment of petroleum hydrocarbon waste sludges. Microbial Processes for Bioremediation, Battelle Press, Columbus, Richland, 231-250.

CERNIGLIA, C.E. (1984). Microbial metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons. Advances in Applied Microbiology, 30, 31-71.

CHAÎNEAU, C.-H., MOREL, J.-L. and OUTDOT, J. (1995). Microbial degradation in soil microcosms of fuel oil hydrocarbons from drilling cuttings. Environmental Science and Technology, 29, 1615-1621.

CRAWFORD, S.L., JOHNSON, G.E. and GOETZ, F.E. (1993). The potential for bioremediation of soils containing PAHs by composting. Compost Science and Utilization, Summer 1993, 41-47.

DAUN, G., LENKE, H., REUSS, M. and KNACKMUSS, H.-J. (1998). Biological treatment of TNT-contaminated soil. 1. Anaerobic cometabolic reduction and interaction of TNT and metabolites with soil components. Environmental Science and Technology, 32, (13), 1956-1963.

DOOLEY, M.A., TAYLOR, K. and ALLEN, B. (1995). Composting of herbicide-contaminated soil. Microbial Processes for Bioremediation, Battelle Press, Columbus, Richland, 199-207.

ESCHENBACH, A., WIENBERG, R. and MAHRO, B. (1998). Fate and stability of nonextractable residues of [^{14}C]PAH in contaminated soils under environmental stress conditions. Environmental Science and Technology, **32**, 2585-2590.

GREER, C.W., HAWARI, J. and SAMSON, R. (1990). Influence of environmental factors on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid degradation by *Pseudomonas cepacia* isolated from peat. Archives of Microbiology, **154**, (4), 317.

HADERLEIN, A., LEGROS, R. and RAMSAY, B.A. (submitted to Biodegradation). Design and use of aerated microcosms in mineralization studies.

JOYCE, J.F., SATO, C., CARDEANS, R. and SURAMPALLI, R.Y. (1998). Composting of polycyclic aromatic hydrocarbons in simulated municipal solid waste. Water Environmental Research, **70**, (3), 356-361.

KÄSTNER, M., LOTTER, S., HEERENKLAGE, J., BREUER-JAMMALI, M., STEGMANN, R. and MAHRO, B. (1995). Fate of ^{14}C -labeled anthracene and hexadecane in compost-manured soil. Applied Microbiology and Biotechnology, **43**, 1128-1135.

KÄSTNER, M. and MAHRO, B. (1996). Microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils affected by the organic matrix of compost. Applied Microbiology and Biotechnology, **44**, 668-675.

LAOR, Y., STROM, P.F. and FARMER, W.J. (1999). Bioavailability of phenanthrene sorbed to mineral-associated humic acid. Water Research, **33**, (7), 1719-1729.

LEAHY, J.G. and COLWELL, R.R. (1990). Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. Microbiological Reviews, September, 305-315.

LENKE, H., WARRELMANN, J., DAUN, G., HUND, K., SIEGLEN, U., WALTER, U. and KNACKMUSS, H.-J. (1998). Biological treatment of TNT-contaminated soil. 2. Biologically induced immobilization of the contaminants and full-scale application. Environmental Science and Technology, 32, 1964-1971.

MARTENS, R. (1982). Concentrations and microbial mineralization of four to six ring polycyclic aromatic hydrocarbons in composted municipal waste. Chemosphere, 11, 761-770.

MCFARLAND, M.J., QUI, X.J. and SIMS, L. (1992). Remediation of petroleum impacted soils in fungal compost bioreactors. Water Science Technology, 25, (3), 197-206.

MILLETTE, D., BARKER, J.F., COMEAU, Y., BUTLER, B.J., FRING, E.O., CLEMENT, B. et SAMSON, R. (1995). Substrate interaction during aerobic biodegradation of creosote-related compounds: a factorial batch experiment. Environmental Science and Technology, 29, (8), 1944-1952.

MINISTERE DE L'ENVIRONNEMENT ET DE LA FAUNE DU QUEBEC (MEF) (1995). Protocole pour l'analyse des hydrocarbures pétroliers (C₁₀-C₅₀) dans les sols, no. 410-HYD. 1.0.

OUDOT, J., FUSEY, P., ABDELOUAHID, D.E., HALOUI, S. and ROQUEBERT, M.F. (1987). Capacités dégradatives de bactéries and de champignons isolés d'un sol contaminé par un fuel. Canadian Journal of Microbiology, 33, 232-243.

POTTER, C.L., GLASER, J.A., CHANG, L.W., MEIER, J.R., DOSANI, J.A. and HERRMANN, R.F. (1999). Degradation of polynuclear aromatic hydrocarbons under bench-scale compost conditions. Environmental Science and Technology, 33, 1717-1725.

QIU, X. and MCFARLAND, M.J. (1991). Bound residue formation in PAH contaminated soil composting using phanerochaete chrysosporium. Hazardous Wastes and Hazardous Materials, 8, (2), 115-125.

RHODES, S.H. and PECK, P.C. (1995). Composting for remediation of soil contaminated with pharmaceutical residues. Microbial Processes for Bioremediation, Battelle Press, Columbus, Richland, 341-348.

SEIBEL, F., HEIDENREICH, S. and FRIMMEL, F.H. (1996). Interaction of Humic Substances and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) during the Biodegradation of PAHs. Acta hydrochimica hydrobiologica, 24, 260-266.

SEMPLE, K.T. and FERMOR, T.R. (1995). Composting systems for the bioremediation of chlorophenol-contaminated land. Microbial Processes for Bioremediation, Battelle Press, Columbus, Richland, 93-100.

VALO, R. and SALKINOJA-SALONEN, M. (1986). Bioreclamation of chlorophenol-contaminated soil by composting. Applied Microbiology and Biotechnology, 25, 68-75.

WILLIAMS, R.T. and MAYLER, C.A. (1990). Bioremediation using composting. BioCycle, (November 1990), 78-81

CHAPITRE V

**ENHANCING PYRENE MINERALIZATION IN CONTAMINATED SOIL BY
THE ADDITION OF MATURE COMPOSTED CONTAMINATED SOIL OR
HUMIC ACIDS**

Ce chapitre décrit l'étude de l'ajout de sol composté mature et de différentes fractions de sa matière humique à un sol contaminé afin d'évaluer la contribution de la matière humique à l'augmentation du potentiel de minéralisation du pyrène par l'ajout de sol composté. L'ajout de la fraction des acides humiques au sol a un effet bénéfique sur le potentiel de minéralisation. Néanmoins, cet effet est moins prononcé que lors de l'ajout de sol composté mature. Les acides humiques contenus dans le sol composté ne sont donc qu'en partie responsable de l'augmentation du potentiel de minéralisation conférée par le sol composté. En augmentant la quantité d'acides humiques ajoutée, un taux initial de minéralisation allant jusqu'à quatre fois de celui du sol contaminé a pu être obtenu. Au-delà de cette concentration la présence des acides humiques devient inhibitrice, ce qui est probablement dû à la présence de sels associés aux acides humiques et aux changements du pH. L'hypothèse proposant que la présence de la matière humique d'un sol composté mature augmente le potentiel de minéralisation du pyrène dans un sol contaminé a donc été confirmée partiellement : elle est vérifiée pour la présence des acides humiques.

Cet article a été soumis à la revue *Applied Microbiology and Biotechnology*.

MANUSCRIT NO.3

**ENHANCING PYRENE MINERALIZATION IN CONTAMINATED SOIL BY
THE ADDITION OF MATURE COMPOSTED CONTAMINATED SOIL OR
HUMIC ACIDS**

A. Haderlein^{*}, R. Legros^{*} and B.A. Ramsay^{**}

^{*}*Department of Chemical Engineering, École Polytechnique de Montréal,*

Succursale Centre-Ville, Montréal, Québec, Canada, H3C 3A7

^{**}*Polyferm Canada Inc., RR #1, Harrowsmith, Ontario, Canada, K0H 1V0;*

corresponding author, phone: (613)533-6000 ext. 75293; fax: (613)533-6637

5.1 Abstract

In order to verify the effect of humic matter from mature composted soil on the mineralization of pyrene in contaminated soil, mature composted polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated soil (1.25g), 10% of its humic acids fraction, 10% of its fulvic acids fraction as well as a mixture of 10% humic and 10% fulvic acids fraction were each added to 5 g of PAH-contaminated soil spiked with ¹⁴C-labeled pyrene and incubated in continuously aerated microcosms. When mature composted PAH-contaminated soil was added, rapid mineralization of pyrene occurred (more than 57%

after 21 days compared to 3.4% in unamended soil). The addition of the humic acids fractions increased the mineralization potential of the soil significantly, but to a lower extent (37.5% after 106 days compared to 20.6% in unamended soil). When the humic acids fractions amount added to soil was increased, an increased mineralization enhancement was observed up to 119 mg. Addition of too large amounts of humic acids decreased the rate of pyrene mineralization possibly due to associated salts or pH changes.

5.2 Introduction

Although a wide range of microorganisms capable of degrading polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) are known (Cerniglia, 1981), bioremediation of PAH-contaminated soil is rarely conducted. The microbial metabolism of PAH in soil is often limited by their poor bioavailability (Manilal and Alexander, 1991; Weissenfels *et al.*, 1992) rendering biological treatments more costly than other approaches to soil remediation (Harayama, 1997). Bioavailability depends on the interactions between PAH and the soil matrix that are controlled by the character and concentration of sorptives, such as humic matter, present in the system (Johnson and Amy, 1995; Chin, 1997; Raber and Kögel-Knabner, 1997). It has been shown that the introduction of dissolved humic substances can increase the apparent solubility of PAH in water (Herbert *et al.*, 1993; Johnson and Amy, 1995; Lesage *et al.*, 1995). However, this effect does not always translate into increased degradation rates (Lesage *et al.*, 1997). On the other hand, it has been reported that the presence of humic acid in pure liquid culture increases the degradation rate for

pyrene (Seibel *et al.*, 1996). However, the degradation was measured in terms of biological oxygen demand, so it is not clear whether this was exclusively due to pyrene degradation.

We have found that pyrene mineralization potential during composting of contaminated soil increases with time, resulting in very high mineralization rates in mature composted PAH-contaminated soil (Haderlein *et al.*, submitted to Environmental Science and Technology). It is possible that the presence of humic matter plays an important role in the increased mineralization potential of mature compost. This is supported by the findings of Ortega-Calvo and Saiz-Jimenez (1998) who have shown that in liquid cultures, phenanthrene is more rapidly mineralized in the combined presence of humic acids and clay. Based on similar findings, it has been suggested that contaminants sorbed to mineral-humic acid complexes are still bioavailable and that the sorption of both the microorganisms and the PAH to the colloidal surfaces of humic matter stimulate their biodegradation (Laor *et al.*, 1999).

The present paper argues that pyrene mineralization enhancement after addition of mature composted PAH-contaminated soil to PAH-contaminated soil is, at least in part, due to the humic matter in the mature composted PAH-contaminated soil. This study investigated the influence of different humic matter fractions of mature composted PAH-contaminated soil on the pyrene mineralization potential of PAH-contaminated soil.

5.3 Materials and Methods

5.3.1 Chemicals

[4,5,9,10-¹⁴C] pyrene (32,3 mCi/mmol) was purchased from Sigma-Aldrich Ltd., Oakville, ON, Canada. Unlabeled pyrene was purchased from Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA. 2.5 M KOH (Anachemia Inc., Ville St-Pierre, Canada) was used to trap CO₂. 35% HCl (Anachemia) was used for acidification. Cross-linked Polyvinylpyrrolidone and sodium pyrophosphate were purchased from Aldrich, Milwaukee, USA. NaOH (ACS grade) was obtained from Anachemia. For the determination of carbon content in the humic matter fractions sulphuric acid (ASC grade) from MAT, Beauport, Quebec, was used.

5.3.2 Contaminated soil and composted PAH-contaminated soil

The soil used was contaminated with aliphatic hydrocarbons (Total Petroleum Hydrocarbons = 40.000 mg/kg) and PAH (1170 mg/kg of EPA priority PAH; pyrene 130 mg/kg) and was obtained from the sand quarry Thouin near Montreal, Quebec, which, during the late 1960s, had served as an illegal dumping site for hazardous waste. The soil was screened to 2 mm particle size. The same soil was used to produce the mature composted PAH-contaminated soil. It was obtained after 1 month of composting and 3 months of maturation at ambient temperature as described previously (Haderlein *et al.*, submitted to Environmental Science and Technology) and had a pyrene concentration of about 16 mg/kg.

The water holding capacity of the contaminated soil was determined as follows: 50 g of soil were weighed into a 250 ml beaker and water (70°C) was added to submerge the soil. The thus obtained suspension was agitated during 1 to 2 minutes using a glass stick. The suspension was left to settle down during 30 minutes followed by agitation for 1 to 2 minutes. The suspension was transferred to a Büchner funnel and drained until the last drop had passed. The water content was then determined by gravimetry and drying at 105°C for 16 hours. The water holding capacity of the contaminated soil thus determined was 0.64 ± 0.04 g water per g of dry soil.

5.3.3 Extraction and fractionation of humic matter

The extraction and fractionation method described by Ciavatta *et al.* (1990) was modified in order to produce large amounts of humic matter fractions. 60 g of mature composted PAH-contaminated soil was crushed with a ceramic mortar and pestle and was placed in a 4 l Erlenmeyer flask together with 3 l of 0.1 M sodium hydroxide and 0.1 M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$. Nitrogen (industrial grade) was bubbled through the solution for 2 h while stirring with a magnetic stirrer. The content of the 4 l flask was then transferred into 150 ml centrifuge bottles and centrifuged at 10,000 g during 30 min. The supernatant was then prefiltered (Whatman fibreglass #934-AH) and subsequently filtered through a 0.45 μm filter (Millipore, HA) using vacuum. Then 150 ml portions (total: 20) were transferred into 150 ml centrifuge bottles. It was then acidified to $\text{pH} \leq 2$ by adding small volumes of 50% sulphuric acid. This was followed by centrifugation at 5000 g for 20 min. The precipitate (humic acids fraction, HA) was collected and air dried in a fume hood during

several days yielding 4.406 g of a dark-brown brittle material. The supernatant solution was poured onto a 60 ml plastic syringe with a thin layer of glass wool at its bottom and packed with 25 cm³ of insoluble polyvinyl pyrrolidone (cross-linked, Aldrich, Milwaukee, USA) previously equilibrated in 0.005 M sulfuric acid as described by Ciavatta *et al.* (1990). The eluate was discarded. The polyvinyl pyrrolidone was then eluted with 120 ml of 0.005 M sulphuric acid. The retained fraction (fulvic acids fraction, FA) was eluted with 20 ml of 0.5 M sodium hydroxide solution and collected in a 4 l flask. The fractionation was done on each of the 20 portions of the extract and all FA fractions were collected in the same 4 l flask. The FA solution was lyophilized (Freeze Dry System LYPH-LOCK[®] 4.5, Labconco[®]) yielding 11.97 g of a white-beige powder. All fractions were stored at 4°C before further use.

5.3.4 Organic carbon content, humic matter concentration and molar aromaticity

Organic carbon was determined gravimetrically by combustion at 550°C overnight. Extraction and fractionation of humic matter was done according to the method of Ciavatta *et al.* (1990). The organic carbon (OC) content of the fractions was determined according to the standard method for measurement of Chemical Oxygen Demand 5220D (Clesceri *et al.*, 1998) by colorimetric means (at 600 nm), except that digestion was conducted at 160°C during 30 min. Aliquots of each fraction were diluted (5% v/v) in phosphate buffer (0.067 M NaH₂PO₄ and 0.133 M Na₂HPO₄, pH=6.99). The final pH was 7.01±0.01. Absorbance was measured at 272 nm according to Traina *et al.* (1989) (Beckman DU[®] 640 spectrometer, optical path = 1cm). The molar aromaticity was

obtained by dividing the absorbance by the molar organic carbon concentration and the length of the optical path.

5.3.5 Microcosm apparatus and experimental

Continuously aerated microcosms (125 ml) were used in all mineralization experiments. Each microcosm was connected to a series of two KOH traps which were designed for complete capture of all evolved CO₂. A detailed description can be found elsewhere (Haderlein *et al.*, submitted to Biodegradation). The first CO₂ trap contained 14 ml KOH solution designed to capture more than 99% of generated CO₂. The second trap contained 4 ml KOH solution to capture the majority of the remaining CO₂.

In order to investigate the effect of addition of different humic matter fractions on the mineralization of pyrene, 5 g of moist soil (moisture content 30%) were placed in a microcosm and was amended with either: 1.25 g air-dried mature composted PAH-contaminated soil crushed in a mortar; 10 mg air-dried humic acids fraction; 25 mg freeze-dried fulvic acids fraction; 25 mg freeze-dried fulvic acids fraction and 10 mg air-dried humic acids fraction or no amendment. All microcosms received 1.1 ml water in order to adjust the moisture content to about 60% of its water holding capacity.

The initial pH values were verified by preparing additional microcosms, each one having the same ingredients as those described above. Water (50 ml) was added to each microcosm and the pH was measured after vigorous mixing during 5 min.

Each microcosm received 0.046 μCi of ^{14}C -pyrene and 1 mg non-radiolabeled pyrene dissolved in 100 μl of toluene. Microcosms (triplicates) were aerated continuously with humid air at ambient temperature. Abiotic controls (duplicates) contained 0.4 % (w/DW) of NaN_3 applied as an aqueous solution (40 mg in 0.5 ml per microcosm). The water content of all microcosms was checked periodically and adjusted by adding 1 ml of distilled water when the soil was visibly dry. At day 51 the microcosms which had been amended with humic acids fraction received an additional 90 mg of humic acids fraction. The microcosms which had been amended with the fulvic acids fraction received an additional 225 mg of fulvic acids fraction. The microcosms which had been amended with the fulvic acids and humic acids fractions received an additional 90 mg of humic acids fraction and 225 mg fulvic acids fraction.

In order to investigate the effect of the concentration of the added humic acids fraction on the mineralization of pyrene, 9 microcosms were set up as described above, except that each microcosm received a different amount of humic acids fraction, i.e. 19, 34, 69, 119, 228, 424, 835, 1492, 2587 mg respectively.

5.3.6 Quantification of mineralization

The KOH solution in the traps was exchanged periodically. During sampling, the KOH solution from both traps was combined, adjusted to a fixed volume and mixed vigorously. Ten ml of scintillation cocktail (OptiPhase 'HiSafe' 3, Fisher Scientific Ltd., Nepean, ON, Canada) was added to 3 ml of the sampled KOH solution and mixed vigorously.

Radioactivity levels were determined with a liquid scintillation counter (model LSC 1409, Wallac Scintillation Products).

Water (50 ml) was added to the microcosms after each experiment. The pH was measured after vigorous mixing during 5 min. The pH was subsequently lowered to 2.0 to release any $^{14}\text{CO}_2$ bound as carbonate. Abiotic controls never showed total mineralization greater than 0.7% of the initially added radioactivity. ^{14}C present in form of carbonates was never greater than 0.5% of the initially added radioactivity.

5.4 Results and discussion

5.4.1 Characterization of humic matter in the soil and mature composted PAH-contaminated soil

The mature composted PAH-contaminated soil used in this study had much higher concentrations in humic and fulvic acids than did uncomposted contaminated soil (Table 5.1). Measurement of aromaticity expressed as molar absorptivity at 278 nm (Traina *et al.*, 1989) showed that the humic acids fraction of the contaminated soil was much richer in aromatic moieties than the humic acids fraction of mature composted PAH-contaminated soil. Furthermore, the molar absorptivity of the humic acid fraction of contaminated soil was about twice as high as reported data for Suwannee River humic acid and Aldrich humic acid (Chin, 1997). The fulvic acids fraction showed also a higher absorptivity than reported data for fulvic acids. The high content of aromatic moieties can

be attributed to the relatively high PAH contamination in the contaminated soil of about 630 mg/kg.

Table 5.1: Organic carbon (OC) content, concentrations of humic and fulvic acids fractions in contaminated soil and in mature composted soil and their molar aromaticity.

	Organic carbon (OC) content (%) (p/p) [*]		Concentration (mg C per g of soil) [†]	Molar absorptivity of extract (l (mol OC) ⁻¹ cm ⁻¹) [†]
PAH-contaminated soil	20.9±0.9	HA	1.86±0.03	1740±25
		FA	0.36±0.01	497±24
PAH-contaminated soil amended with organic matter (prior to composting)	68.1±0.1	HA	4.37±0.13	280±2
		FA	2.64±0.15	575±61
Mature composted PAH-contaminated soil	47.3±1.8	HA	8.62±0.28	349±16
		FA	2.59±0.08	595±16

^{*}Mean value (duplicates) and standard error; [†]mean value (triplicates) and standard error; HA=humic acids fraction, FA=fulvic acids fraction.

Prior to composting, the PAH-contaminated soil amended with organic matter showed a high concentration of humic acids having a relatively low aromaticity (Table 5.1). During composting, the humic acids concentration increased by 100% accompanied by an increase in aromaticity (Table 5.1). However, aromaticity values for the humic acids fraction were below those of the fulvic acids fraction which remained essentially constant throughout the composting process. It is commonly accepted that fulvic acids from soil origin are generally poorer in aromatic moieties than their humic counterparts (Chin, 1997). However, Chefetz *et al.* (1998) have reported that in composted municipal solid waste the humic acid-like fraction was less aromatic than the fulvic acids fraction.

Furthermore, it is generally believed that the production of humic acids sets on only at a late stage of composting (Adani *et al.*, 1997). This indicates that the mature composted PAH-contaminated soil used in this study had not undergone complete maturation.

5.4.2 Addition of mature composted PAH-contaminated soil and different humic fractions

The effect of the addition of 1.25 g of mature composted PAH-contaminated soil to 5 g of moist contaminated soil was assessed in continuously aerated microcosms. Pyrene was rapidly mineralized (more than 50% mineralization after 15 days) whereas mineralization in unamended soil was limited apparently by pyrene bioavailability resulting in less than 3% mineralization during the same period (Figure 5.1a). It has been reported that the addition of compost to contaminated soil increases pyrene mineralization even when the compost has not previously been exposed to PAH (Kästner and Mahro, 1996; Haderlein *et al.*, submitted to Environmental Science and Technology). However, even higher mineralization rates are achieved in mature composted PAH-contaminated soil (Haderlein *et al.*, submitted to Environmental Science and Technology). The results presented here show that high mineralization rates are also achieved when adding even only a fraction (20% w/w) of the mature composted PAH-contaminated soil to the uncomposted PAH-contaminated soil (Figure 5.1a).

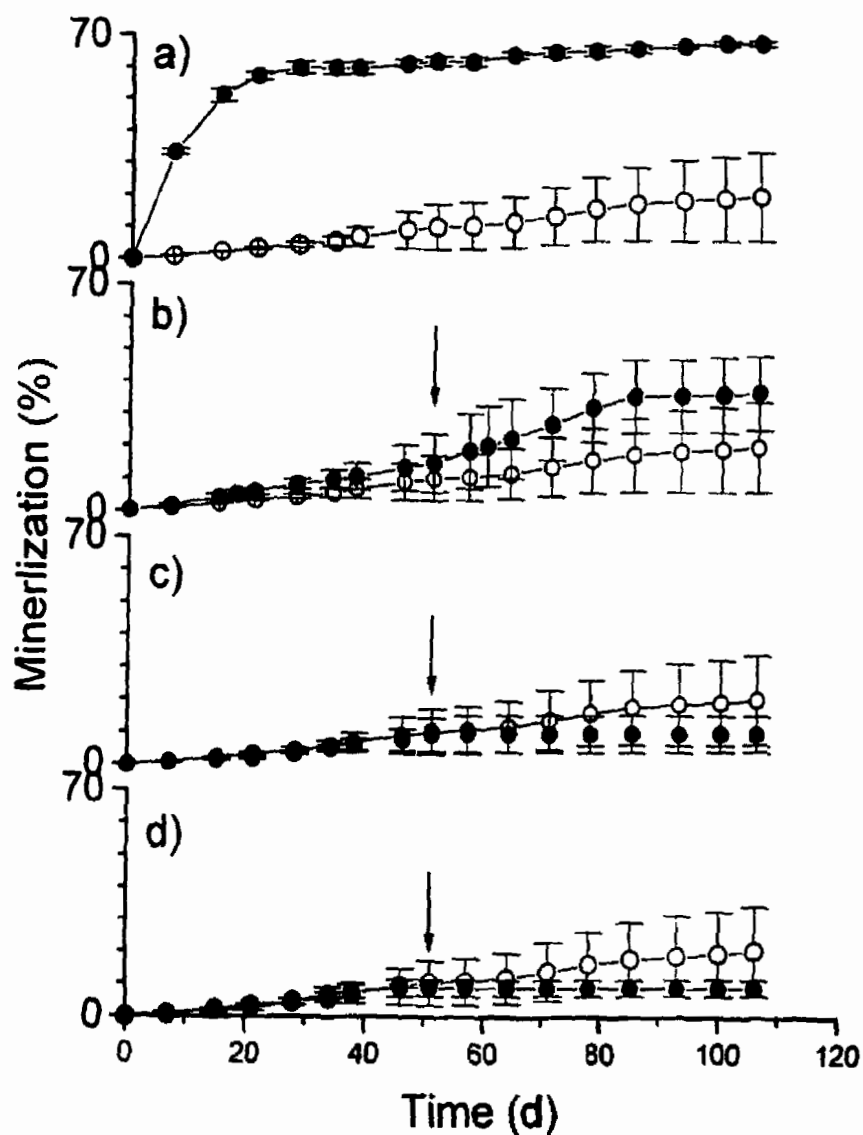


Figure 5.1: Mineralization of pyrene in contaminated soil amended with mature composted PAH-contaminated soil or fractions thereof: a) mature composted PAH-contaminated soil, b) humic acids fraction, c) fulvic acids fraction, and d) humic and fulvic acids fractions. Hollow symbols represent unamended contaminated soil. Error bars indicate standard errors (n=3). Arrows indicate addition of nine times the initial concentration.

In order to investigate the effect of addition of humic matter on the mineralization potential of contaminated soil, 10 mg of the humic acids fraction of mature composted PAH-contaminated soil was added to the soil. The mineralization rate was increased (Figure 5.1b). An additional 90 mg was added at day 51. This increased the mineralization rate further. A statistical assessment (*t*-test) showed that the mineralization enhancement due to the addition of humic acids fraction was significant reaching $18 \pm 14\%$ increased mineralization values at the end of the experiment (Figure 5.2).

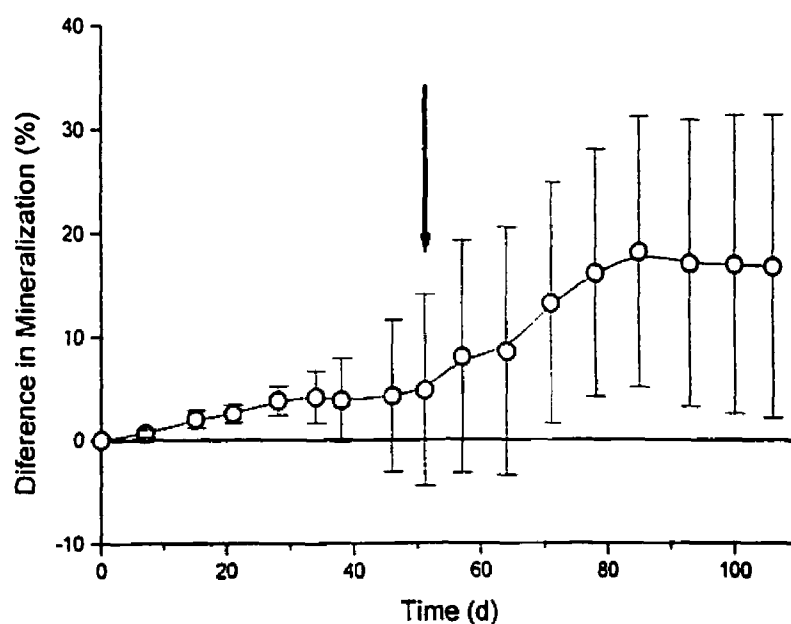


Figure 5.2: Difference in mineralization of pyrene in contaminated soil amended with the humic fraction of mature composted PAH-contaminated soil and in unamended PAH-contaminated soil. Error bars indicate the standard deviation of the differences of the mean values according to *t*-test. The mineralization difference was statistically significant until day 38. After the addition of 9 times the initial concentration at day 51 (arrow), the

mineralization difference increased reaching statistically significant values of more than 18% by day 85.

Our findings indicate that the increased mineralization of pyrene after compost addition is at least partially due to the humic acid fraction contained in the compost. However, the total amount of added humic acids was 100 mg corresponding to the amount of humic acids contained in 1.25 g mature composted PAH-contaminated soil, i.e. the amount added when investigating the effect of the addition of mature composted PAH-contaminated soil (Figure 5.1a). This shows clearly that the addition of humic acids in mature composted PAH-contaminated soil is not the only reason for rapid consumption of pyrene. Therefore, the fulvic acids fraction, another constituent of humic matter from composted PAH-contaminated soil origin, was assessed for its effect on pyrene mineralization.

The addition of 25 mg fulvic acids fraction to soil did not have an effect on pyrene mineralization (Figure 5.1c) and when an additional 225 mg were added to the soil, an inhibitory effect was observed. This was possibly due to the excess of mineral salts added in the humic acids fraction resulting from freeze-drying of the fulvic acids fraction in a $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{NaOH}$ solution. The solution had not been dialysed since fulvic acids can have molecular weights of as low as 500 Daltons (Chin *et al.*, 1994). The inhibitory effect of fulvic acids fraction explains also the fact that the humic acids fraction alone had a positive effect on pyrene mineralization (Figure 5.1b) whereas when added together with fulvic acids fraction inhibition was observed (Figure 5.1d). Also, a significantly increased

pH value was observed at the end of the experiment (Table 5.2) indicating inhibition of the microflora.

Table 5.2: Initial and final pH values in soil and soil amended with different organic matrices.

	Initial pH	Final pH
PAH-contaminated soil	8.18	7.84±0.35
PAH-contaminated soil+composted PAH-contaminated soil	8.13	8.51±0.05
PAH-contaminated soil + HA	6.92	7.53±0.10
PAH-contaminated soil + FA	8.08	8.74±0.07
PAH-contaminated soil + FA + HA	7.08	10.35±0.10

5.5 Variation of the concentration of humic acids fraction

Five grams of moist soil was placed into continuously aerated microcosms and supplemented with different quantities of humic acids fraction from mature composted PAH-contaminated soil. The initial mineralization rate was evaluated after 14 days. In Figure 5.3, the mineralization enhancement (ratio of initial mineralization rate of amended PAH-contaminated soil and initial mineralization rate of unamended PAH-contaminated soil) is plotted versus the nondimensional carbon concentration of the humic acids fraction defined as

$$\xi = \frac{C_{HA,soil} + C_{HA,added}}{C_{HA,soil}}$$

where $c_{HA,soil}$ (mg C per g of soil) is the carbon concentration of humic acids initially present in the soil and $c_{HA,added}$ (mg C per g of soil) is the carbon concentration of added humic acids from mature composted PAH-contaminated soil origin.

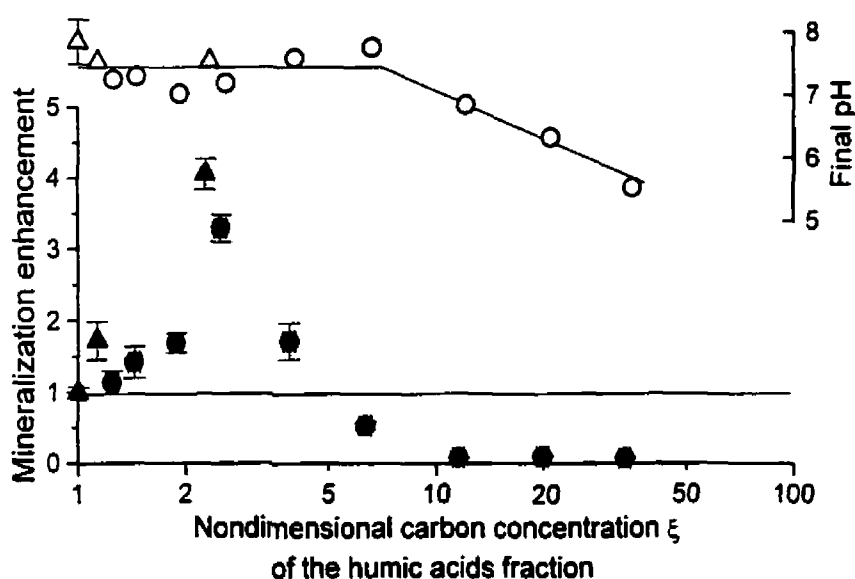


Figure 5.3: Mineralization enhancement (ratio of initial mineralization rate in amended PAH-contaminated soil and initial mineralization rate in unamended PAH-contaminated soil) and final pH values versus the nondimensional concentration ξ of added humic acids fraction. Error bars indicate errors due to linear regression. Triangles indicate data from the experiment where composted PAH-contaminated soil and different humic fractions were assessed for mineralization (Figure 5.1b). Circles indicate data from the experiment where the concentration of humic acids fraction was varied. Above the vertical line at enhancement 1, higher mineralization rates are achieved by adding humic acids. Increasing humic fraction concentration resulted in enhanced mineralization.

The mineralization rate of pyrene depended on the amount of humic acids fraction added. Below $\xi=2.5$ (119 mg added HA) the initial mineralization rate increased, enhancing the initial mineralization rate in soil by a factor of up to 4. At ξ values beyond 6.3 (424 mg) inhibition of mineralization enhancement occurred and a decreasing final pH was observed. This decrease in pH probably had little effect on PAH mineralization since change in pH only weakly affects the binding of neutral compounds such as PAH (De Paolis and Kukkonen, 1997). Salts associated with the humic acids due to alkaline extraction and subsequent acidification could have been the reason for the decrease in initial mineralization rate.

Our findings suggest the development of a novel remediation process based on the addition of mature composted PAH-contaminated soil or humic matter to PAH-contaminated soil. However, further research is necessary into the minimum amount of composted PAH-contaminated soil added to PAH-contaminated soil and the relationship between enhanced mineralization with increasing humic acids fractions concentration.

5.6 Acknowledgements

This project was supported by funds contributed by Environmental Science and Technology Alliance of Canada (ESTAC). The authors would like to thank Dr. Marie-Claire Bonin Aly-Hassan for her invaluable assistance in microcosm preparation and sampling.

5.7 References

- ADANI, F., GENEVINI, P.L., GASPERI, F. and ZORZI, G. (1997). Organic matter evolution index (OMEI) as a measure of composting efficiency. Compost Science and Utilization, 5, (2), 53-62.
- CERNIGLIA, C.E. (1981). Aromatic hydrocarbons: metabolism by bacteria, fungi and algae. Review in Biochemical Toxicology, 3, 321-361.
- CHEFETZ, B., HATCHER, P.G., HADAR, Y. and CHEN, Y. (1998). Characterization of Dissolved Organic Matter extracted from composted municipal solid waste. Soil Science Society of America Journal, 62, 326-332.
- CHIN, Y.-P. (1997). Binding of pyrene to aquatic and commercial humic substances: the role of molecular weight and aromaticity. Environmental Science and Technology, 31, 1630-1635.
- CHIN, Y.-P., AIKEN, G. and LOUGHLIN, E.O. (1994). Molecular weight, polydispersity, and spectroscopic properties of aquatic humic substances. Environmental Science and Technology, 28, (11), 1853-1858.
- CIAVATTA, C., GOVI, M., VITTORI ANTISARI, L. and SEQUI, P. (1990). Characterization of humified compounds by extraction and fractionation on solid polyvinylpyrrolidone. Journal of Chromatography, 509, 141-146.
- CLESCERI, L.S., GREENBERG, A.E. and EATON, A.D. (1998). Standard methods for the examination of Water and Wastewater, United Book Press Inc., Baltimore, Maryland, USA.

DE PAOLIS, F. and KUKKONEN, J. (1997). Binding of organic pollutants to humic and fulvic acids: influence of pH and the structure of humic material. Chemosphere, **34**, (8), 1693-1704.

HADERLEIN, A., BONIN ALY-HASSAN, M.-C., LEGROS, R. and RAMSAY, B.A. (submitted to Biodegradation). Design and use of aerated microcosms in mineralization studies.

HADERLEIN, A., LEGROS, R. and RAMSAY, B.A. (submitted to Environmental Science and Technology). Mineralization of ^{14}C -labeled n-hexadecane, pyrene and benzo(a)pyrene in composted soil mixtures from different composting stages

HARAYAMA, S. (1997). Polycyclic aromatic hydrocarbon bioremediation design. Current Opinion in Biotechnology, **8**, 268-273.

HERBERT, B.E., BERTSCH, P.M. and NOVAK, J.M. (1993). Pyrene sorption by water-soluble organic carbon. Environmental Science and Technology, **27**, (2), 398-403.

JOHNSON, W. and AMY, G.L. (1995). Facilitated transport and enhanced desorption of polycyclic aromatic hydrocarbons by natural organic matter in aquifer sediments. Environmental Science and Technology, **29**, 807-817.

KÄSTNER, M. and MAHRO, B. (1996). Microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils affected by the organic matrix of compost. Applied Microbiology and Biotechnology, **44**, 668-675.

LAOR, Y., STROM, P.F. and FARMER, W.J. (1999). Bioavailability of phenanthrene sorbed to mineral-associated humic acid. Water Research, **33**, (7), 1719-1729.

LESAGE, S., HOFMANN, H., LI, W.-C., MILLAR, K.R., LIU, D. and SEIDEL, H. (1997). Effect of humic acids on the biodegradation of PAHs by bacteria and fungi. Proceedings of the Fourth International Symposium on In Situ and On Site Bioremediation, B. Alleman and A. Leeson (Chairs), New Orleans, Louisiana, 185-191.

LESAGE, S., XU, H., NOVAKOWSKI, K.S., BROWN, S. and DURHAM, L. (1995). Use of humic acids to enhance the removal of aromatic hydrocarbons from contaminated aquifers. Part II: pilot scale. Proceedings of the 5th annual Symposium on Groundwater and Soil Remediation Toronto, Ontario,

MANILAL, V.B. and ALEXANDER, M. (1991). Factors affecting the microbial degradation of phenanthrene in soil. Applied microbiology and biotechnology, 35, 401-405.

ORTEGA-CALVO, J.J. and SAIZ-JIMENEZ, C. (1998). Effect of humic fractions and clay on biodegradation of phenanthrene by a *pseudomonas fluorescens*. Applied and Environmental Microbiology, 64, (8), 3123-3126.

RABER, B. and KÖGEL-KNABNER, I. (1997). Influence of origin and properties of dissolved organic matter on the partition of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). European Journal of Soil Science, 48, 443-455.

SEIBEL, F., HEIDENREICH, S. and FRIMMEL, F.H. (1996). Interaction of Humic Substances and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) during the Biodegradation of PAHs. Acta hydrochimica hydrobiologica, 24, 260-266.

TRAINA, S.J., NOVAK, J. and SMECK, N.E. (1989). An ultraviolet absorbance method of estimating the percent aromatic carbon content of humic acids. Journal of Environmental Quality, 19, (1), 151-153.

WEISSENFELS, W.D., KLEWER, H.-J. and LANGHOFF, J. (1992). Adsorption of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by soil particles: influence on biodegradability and biotoxicity. Applied Microbiology and Biotechnology, 36, 689-696.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Ces travaux de doctorat proposaient d'étudier le potentiel de minéralisation des contaminants pendant le compostage d'un sol contaminé, notamment le devenir des hydrocarbures pétroliers aliphatiques et aromatiques polycycliques (HAP).

L'étude des vitesses de dégradation lors du compostage d'un sol contaminé aux hydrocarbures aliphatiques et HAP a révélé que les conditions thermophiles seraient surtout favorables à la dégradation des hydrocarbures aliphatiques ayant plus de 16 atomes de carbones. Quant aux hydrocarbures aliphatiques à 16 atomes de carbone et moins, le maintien de conditions thermophiles n'a pas eu d'effet sur la dégradation. L'analyse des données par un modèle mathématique a confirmé cette tendance.

Les HAP à 4 anneaux étaient dégradés à environ 20% après un mois de compostage actif. Lors de la maturation subséquente pendant environ 4 mois, des rendements d'enlèvement allant jusqu'à 80% ont été obtenus. Il en découle que la phase de maturation est essentielle pour une dégradation considérable des HAP à 4 anneaux. Les HAP à 5 anneaux n'étaient cependant pas dégradés.

Il a été démontré qu'un microcosme à aération continue est nécessaire pour satisfaire la demande élevée en oxygène des sols compostés. Ce dispositif a été utilisé pour évaluer le potentiel de minéralisation de l'hexadécane lors des phases mésophile, thermophile et de

maturation du compostage. Compte tenu de l'hétérogénéité élevée du sol composté lors des phases mésophile et thermophile, le potentiel de minéralisation de l'hexadécane restait sensiblement le même au cours du compostage et était comparable à celui du sol contaminé ayant reçu une solution de nutriments. Pour des contaminants comparables à l'hexadécane, il ne semble donc y avoir aucun effet bénéfique de composter le sol.

Cependant, le potentiel de minéralisation du pyrène était fonction de la maturité du sol composté. Ainsi, les sols compostés des phases mésophile et thermophile incubés à température ambiante montraient une phase de latence d'environ 3 semaines, tandis que le sol composté mature était capable de commencer la minéralisation du pyrène de manière quasiment instantanée. Le sol composté mature n'était toutefois pas capable de minéraliser le benzo(a)pyrène.

Ces résultats ont suggéré l'addition de sol composté mature au sol contaminé comme technique alternative de restauration des sols. Ceci a été évalué lors de l'étude de l'ajout de sol composté et de ses fractions humiques. Il a été démontré que l'ajout de 25% (p/p) de sol composté mature au sol contaminé augmentait le potentiel de minéralisation du pyrène de façon considérable.

Afin de trouver une explication plausible à l'augmentation du potentiel de minéralisation du pyrène suite à l'ajout de sol composté, l'addition des acides humiques du sol composté au sol contaminé a été évaluée. Il a été constaté que l'ajout d'acides humiques du sol

composté augmente de manière significative le potentiel de minéralisation. Cet effet bénéfique du compost mature ne peut cependant pas seulement être expliqué par la présence des acides humiques du compost puisque le taux de minéralisation en présence d'acides humiques était toujours limité par la disponibilité du pyrène.

Enfin, l'étude de la variation de la concentration en acides humiques provenant du sol composté mature a démontré qu'il était possible d'augmenter le taux initial de minéralisation par un facteur de 4. Au-delà de ce maximum, une diminution du taux initial de minéralisation a été observée. Bien que le pH diminue lors de l'ajout de grandes quantités d'acides humiques, ceci ne peut expliquer complètement cet effet.

Les résultats de cette étude suggèrent le développement d'un nouveau type de traitement de sols contaminés aux HAP, à savoir la production de sol composté à partir d'une portion du sol contaminé et l'ajout du sol composté ou de ses acides humiques à la grande quantité du sol contaminé. En plus d'être peu coûteux, ce traitement permettrait d'éviter la production de grandes volumes de sols compostés.

Quatre contributions majeures à la recherche que cette thèse apporte doivent être retenues. Premièrement, un modèle de compostage a été adapté au compostage des sols contaminés aux hydrocarbures aliphatiques. Deuxièmement, un outil permettant d'évaluer le potentiel de minéralisation de matrices à des taux de respiration élevés tel que le compost frais a été développé. Troisièmement, le potentiel de minéralisation de

l'hexadécane et du pyrène pendant le compostage d'un sol contaminé a été évalué pour la première fois, ce qui apporte des connaissances importantes concernant le potentiel de décontamination des sols par compostage. Finalement, il a été démontré que la présence des acides humiques est en partie responsable de l'augmentation du taux de minéralisation dû à l'ajout de sol composté mature.

RECOMMANDATIONS

L'étude des vitesses de dégradation lors du traitement d'un sol contaminé aux hydrocarbures aliphatiques et aromatiques polycycliques par compostage actif en réacteur cuvée (*batch*) a démontré que le compostage sous des conditions thermophiles est surtout bénéfique pour la dégradation des hydrocarbures aliphatiques ayant une longueur de chaîne de 16 atomes de carbones et plus, mais était néfaste à la dégradation de la fraction C₁₀-C₁₆. Afin de vérifier si les hydrocarbures aliphatiques à longues chaînes sont minéralisés, des études utilisant un contaminant modèle à plus longue chaîne tel que le dotriacontane (C₃₂) seront nécessaires.

Il a été observé que le potentiel de minéralisation du pyrène dans le sol composté mature est beaucoup plus élevé qu'au début et pendant la phase active du compostage. Un autre sujet de recherche doit donc être de déterminer à partir de quel degré de maturité du compost cet effet peut être obtenu. Dans ce cas, le degré de maturité pourrait être exprimé en termes de conversion de la matière organique, concentration en acides humiques, caractéristiques de la matière humique (aromaticité), etc. Ainsi, le temps de production du compost ou d'acides humiques pour des fins de biorestauration pourra être optimisé.

L'étude de l'ajout d'acides humiques au sol contaminé a révélé qu'à partir d'une concentration "seuil", le taux initial de minéralisation du pyrène diminue pour atteindre

finalement une valeur négligeable à des concentrations en acides humiques élevées. Pour mieux comprendre les effets positifs et négatifs, que la présence d'acides humiques peut avoir sur la dégradation des HAP, il faut étudier ce phénomène, tout d'abord en gardant le pH constant et en augmentant la concentration des acides humiques, puis en évaluant l'influence du caractère des acides humiques.

Il a été suggéré d'utiliser le traitement des sols contaminés par compostage dans des climats froids, puisque le compostage peut fournir des quantités de chaleur considérables. Étant donné que le produit final du compostage des sols est du compost qui est souvent faiblement contaminé, mais doit toutefois être disposé, une telle génération de grands volumes de déchets n'est pas souhaitable. Aussi est-il proposé d'utiliser le compostage "traditionnel" pour générer la chaleur nécessaire pour l'activité microbienne dans le procédé d'assainissement des sols installé sur le même site, mais opéré de manière séparée. Ainsi, un produit de valeur (le compost mature) est généré tout en maintenant la température nécessaire pour la dégradation des contaminants dans le procédé séparé. A l'occasion, le compost mature ou sa fraction d'acides humiques ainsi produits peuvent être utilisés lors du traitement des sols contaminés.

Bien qu'une expérience utilisant le cycloheximide pour supprimer la microflore eucaryote ait suggéré que ce sont les bactéries qui sont responsables pour la minéralisation du pyréne dans le sol composté mature, il serait intéressant d'effectuer une caractérisation microbiologique. Ainsi, l'origine (substrat organique ou sol) des microorganismes

responsables pour la minéralisation des contaminants pourrait être déterminée. De plus, des essais d'adsorption et de désorption devraient être réalisés afin de déterminer les effets physico-chimiques responsables de l'augmentation du taux de minéralisation en présence des acides humiques.

Étant donné que la contamination des sols à traiter est souvent vieille et que les contaminants sont fortement adsorbés au sol, l'augmentation du temps de contact des contaminants fraîchement ajoutés avec le mélange (sol composté) est suggérée afin de vérifier l'effet du vieillissement. Ainsi, il serait possible de se rapprocher des conditions rencontrées lors d'une contamination réelle du sol dans le réacteur de compostage. De plus, l'utilisation d'une plus grande gamme de HAP permettrait de mieux simuler la réalité puisqu'on fait souvent face à la contamination par un mélange de HAP.

RÉFÉRENCES

- ADANI, F., GENEVINI, P.L., GASPERI, F. et ZORZI, G. (1997). Organic matter evolution index (OMEI) as a measure of composting efficiency. Compost Science and Utilization, 5, (2), 53-62.
- ALBERTS, J.J., GRIFFIN, C., GWYNNE, K. et LEVERSEE, G.J. (1994). Binding of natural humic matter to polycyclic aromatic hydrocarbons in rivers of the southeastern United States. Water Science and Technology, 30, (10), 199-205.
- BACH, P.D., SHODA, M. et KUBOTA, H. (1984). Rate of Composting of Dewatered Sewage Sludge in Continuously Mixed Isothermal Reactor. Journal of Fermentation Technology, 62, (3), 285-292.
- BAKER, K.H. et HERSON, D.S. (1994A). Bioremediation, McGraw-Hill, New York, USA.
- BAKER, K.H. et HERSON, D.S. (1994B). Introduction and Overview of Bioremediation. Bioremediation, McGraw-Hill, New York.
- BEAUDIN, N. (1995). Co-Composting as a Means of Remediation of Petroleum Hydrocarbon Contaminated Soil. Mémoire de Maîtrise, Département de Genie Chimique, École Polytechnique de Montréal.

BEAUDIN, N., CARON, R.F., LEGROS, R., RAMSAY, J., LAWLOR, L. et RAMSAY, B. (1996). Cocomposting of weathered hydrocarbon-contaminated soil. Compost Science and Utilization, 4, (2), 37-45.

BEAUDIN, N., CARON, R.F., LEGROS, R., RAMSAY, J. et RAMSAY, B. (1999). Identification of the key factors affecting composting of a weathered hydrocarbon-contaminated soil. Biodegradation, 10, (2), 105-112.

BELKIN, S., STIEBER, M., TIEHM, A., FRIMMEL, F.H., ABELIOVICH, A., WERNER, P. et ULITZUR, S. (1994). Toxicity and genotoxicity enhancement during polycyclic aromatic hydrocarbons' biodegradation. Environmental Toxicology and Water Quality, 9, 303-309.

BERRY, D.F. et BOYD, S.A. (1985). Decontamination of soil through enhanced formation of bound residues. Environmental Science and Technology, 19, 1132-1133.

BEZALEL, L., HADAR, Y. et CERNIGLIA, C.E. (1996). Mineralization of polycyclic aromatic hydrocarbons by the white rot fungus *Pleurotus ostreatus*. Applied and Environmental Microbiology, 62, (1), 292-295.

BOLLAG, J.-M., MINARD, R.D. et LIU, S.Y. (1983). Cross-linkage between anilines and phenolic humus constituents. Environmental Science and Technology, 17, 72-80.

BOLLAG, J.-M., MYERS, C.J. et MINARD, R.D. (1992). Biological and chemical interactions of pesticides with soil organic matter. Science of the Total Environment, 123/124, 205-217.

BRITTON, L.N. (1984). Microbial degradation of aliphatic hydrocarbons. Microbial degradation of organic compounds, Marcel Dekker, Inc., New York, 89-129.

BROWN, K.W., THOMAS, J.C. et SEAGO, O.J. (1995). Degradation of explosive propellants by in-vessel composting. Biocycle, Sep 1995, 56-58.

BRUSSEAU, M.L. et RAO, P.S.C. (1989). Sorption nonideality during organic contaminant transport in porous media. Critical Reviews in Environmental Control, 19, 33-99.

BUMPUS, J.A., TIEN, M., WRIGHT, D. et AUST, S.D. (1985). Oxidation of persistent environmental pollutants by a white rot fungus. Science, 228, 1434-1436.

CASTALDI, F.J., BOMBAUGH, K.J. et MCFARLAND, B. (1995). Thermophilic slurry-phase treatment of petroleum hydrocarbon waste sludges. Microbial Processes for Bioremediation, Battelle Press, Columbus, Richland, 231-250.

CERNIGLIA, C.E. (1981). Aromatic hydrocarbons: metabolism by bacteria, fungi and algae. Review in Biochemical Toxicology, 3, 321-361.

CERNIGLIA, C.E. (1984). Microbial metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons. Advances in Applied Microbiology, 30, 31-71.

CERNIGLIA, C.E. (1992). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. Biodegradation, 3, 351-368.

CERNIGLIA, C.E. (1993). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. Current Opinion in Biotechnology, 4, 331-338.

CERNIGLIA, C.E. (1997). Fungal metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons: past, present and future applications in bioremediation. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 19, 324-333.

CHAÎNEAU, C.-H., MOREL, J.-L. et OUTDOT, J. (1995). Microbial degradation in soil microcosms of fuel oil hydrocarbons from drilling cuttings. Environmental Science and Technology, 29, 1615-1621.

CHEFETZ, B., HATCHER, P.G., HADAR, Y. et CHEN, Y. (1998). Characterization of Dissolved Organic Matter extracted from composted municipal solid waste. Soil Science Society of America Journal, 62, 326-332.

CHIN, Y.-P. (1997). Binding of pyrene to aquatic and commercial humic substances: the role of molecular weight and aromaticity. Environmental Science and Technology, 31, 1630-1635.

CHIN, Y.-P., Aiken, G. et Loughlin, E.O. (1994). Molecular weight, polydispersity, and spectroscopic properties of aquatic humic substances. Environmental Science and Technology, 28, (11), 1853-1858.

CHIOU, C.T., MALCOLM, R.C., BRINTON, T.I. et KILE, D.E. (1986). Water solubility enhancement of some organic pollutants and pesticides by dissolved humic and fulvic acids. Environmental Science and Technology, 20, 502-508.

CHUNG, N. et ALEXANDER, M. (1998). Differences in sequestration and bioavailability of organic compounds aged in dissimilar soils. Environmental Science and Technology, 32, 855-860.

Clavatta, C., Govi, M., Vittori Antisari, L. et Sequi, P. (1990). Characterization of humified compounds by extraction and fractionation on solid polyvinylpyrrolidone. Journal of Chromatography, 509, 141-146.

Clesceri, L.S., Greenberg, A.E. et Eaton, A.D. (1998). Standard methods for the examination of Water and Wastewater, United Book Press Inc., Baltimore, Maryland, USA.

Crawford, S.L., Johnson, G.E. et Goetz, F.E. (1993). The potential for bioremediation of soils containing PAHs by composting. Compost science and utilization, Summer 1993, 41-47.

Daun, G., Lenke, H., Reuss, M. et Knackmuss, H.-J. (1998). Biological treatment of TNT-contaminated soil. 1. Anaerobic cometabolic reduction and interaction of TNT and metabolites with soil components. Environmental Science and Technology, 32, (13), 1956-1963.

De Paolis, F. et Kukkonen, J. (1997). Binding of organic pollutants to humic and fulvic acids: influence of pH and the structure of humic material. Chemosphere, 34, (8), 1693-1704.

Dean-Ross, D. et Cerniglia, C.E. (1996). Degradation of pyrene by *Mycobacterium flavescens*. Applied Microbiology and Biotechnology, 46, 307-312.

Deckwer, W.-D. (1991). Bubble column reactors, John Wiley & Sons, New York, p.65.

DOOLEY, M.A., TAYLOR, K. et ALLEN, B. (1995). Composting of herbicide-contaminated soil. Microbial Processes for Bioremediation, Battelle Press, Columbus, Richland, 199-207.

EPA (1995). Cost and Performance Report: Slurry Phase Bioremediation Application at the Southeastern Wood Preserving Superfund Site, Canton, Mississippi, EPAU.S. Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste and Emergency Response, Technology Innovation Office

EPA (1998a). EPA Series SW-846 Methods : 8270D Semivolatil Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrophotometry (GC/MS).

EPA (1998b). EPA Series SW-846 Methods : 3550B Ultrasonic Extraction.

EPA (1998c). EPA Series SW-846 Methods : 3640A Gel-Permeation Cleanup.

ESCHENBACH, A., WIENBERG, R. et MAHRO, B. (1998). Fate and stability of nonextractable residues of [^{14}C]PAH in contaminated soils under environmental stress conditions. Environmental Science and Technology, **32**, 2585-2590.

FORSYTH, J.V., TSAO, Y.M. ET BLEAM, R.D. (1995). Bioremediation: when is augmentation needed?. Bioaugmentation for Site Remediation, Third International In Situ and On-Site Bioreclamation Symposium – San Diego, R.E. Hinchee, J. Fredrickson, B.C. Alleman, Batelle Press, 3(3), 1-14.

FIELD, J.A., DE JONG, E., COSTA, G.F. et DE BONT, J.A.M. (1992). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by new isolates of white rot fungi. Applied and Environmental Microbiology, **July 1992**, 2219-2226.

FRANZIUS, V., STEGMANN, R. et WOLF, K. (1989). Handbuch der Altlastensanierung, RV Decker's Verlag G. Schenk, Heidelberg, Allemagne.

FREEMAN, H.M. et HARRIS, E.F. (1995). Composting of contaminated soil. Hazardous Waste Remediation - Innovative treatment technologies, Technomic Publ. Co., Lancaster, PA, 73-86.

GREER, C.W., HAWARI, J. et SAMSON, R. (1990). Influence of environmental factors on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid degradation by *Pseudomonas cepacia* isolated from peat. Archives of Microbiology, **154**, (4), 317.

GRIEST, W.H., STEWART, A.J., HO, C.-H., TYNDALL, R.L. et VASS, A.A. (1992). Characterization of explosives processing waste decomposition due to composting.

GRIFOLL, M., SELIFONOV, S.A., GATLIN, C.V. et CHAPMAN, P. (1995). Actions of a versatile fluorene-degrading bacterial isolate on polycyclic aromatic compounds. Applied and Environmental Microbiology, **61**, (10), 3711-3723.

GROSSER, R.J., WARSHAWSKY, D. et VESTAL, J.R. (1991). Indigenous and enhanced mineralization of pyrene, benzo(a)pyrene and carbazole in soil. Applied and Environmental Microbiology, **57**, 3462-3469.

GROTENHUIS, T., FIELD, J., WASSEVELD, R. et RULKENS, W. (1998). Biodegradation of polyaromatic hydrocarbons (PAH) in polluted soil by the white-rot fungus *Bjerkandera*. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, **71**, (4), 359-360.

GUERIN, W.F. et BOYD, S.A. (1992). Differential bioavailability of soil-sorbed naphthalene to two bacterial species. Applied and Environmental Microbiology, **58**, (4), 1142-1152.

GUTHRIE, E.A. et PFAENDER, F.K. (1998). Reduced pyrene bioavailability in microbially active soils. Environmental Science and Technology, **32**, 501-508.

HADERLEIN, A., BONIN ALY-HASSAN, M.-C., LEGROS, R. et RAMSAY, B.A. (submitted to Biodegradation). Design and use of aerated microcosms in mineralization studies.

HADERLEIN, A., LEGROS, R. et RAMSAY, B.A. (submitted to Environmental Science and Technology). Mineralization of ^{14}C -labeled n-hexadecane, pyrene and benzo(a)pyrene in composted soil mixtures from different composting stages.

HAIDER, K.M. (1988). Mineralization of ^{14}C -labelled humic acids and of humic-acid bound ^{14}C -xenobiotics by *phanerochaete chrysosporium*. Soil biology and Biochemistry, **20**, (4), 425-429.

HARAYAMA, S. (1997). Polycyclic aromatic hydrocarbon bioremediation design. Current Opinion in Biotechnology, **8**, 268-273.

HARRISON, M.J., WRIGHT, R.T. et MORITA, R.Y. (1971). Method of measuring mineralization in lake sediments. Applied Microbiology, **21**, 698-702.

HATZINGER, P.B. et ALEXANDER, M. (1995). Effect of aging of chemicals in soil on their biodegradability and extractability. Environmental Science and Technology, **29**, (2), 537-545.

HAUG, R.T. (1993). The Practical Handbook of Compost Engineering, CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.

HEITKAMP, M.A. et CERNIGLIA, C.E. (1988). Mineralization of PAH by a bacterium isolated from sediment below an oil field. Applied and Environmental Microbiology, 54, (6), 1612-1614.

HEITKAMP, M.A. et CERNIGLIA, C.E. (1989). Polycyclic aromatic hydrocarbon degradation by a Mycobacterium sp. in microcosms containing sediment and water from a pristine ecosystem. Applied and Environmental Microbiology, 55, (8), 1968-1973.

HEITKAMP, M.A., FRANKLIN, W. et CERNIGLIA, C.E. (1988A). Microbial metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons: isolation and characterization of a pyrene-degrading Bacterium. Applied and Environmental Microbiology, 54, (10), 2549-2555.

HEITKAMP, M.A., FREEMAN, J.P., MILLER, D.W. et CERNIGLIA, C.E. (1988B). Pyrene degradation by a mycobacterium sp.: identification of ring oxidation and ring fission products. Applied and Environmental Microbiology, 54, (10), 2556-2565.

HERBERT, B.E., BERTSCH, P.M. et NOVAK, J.M. (1993). Pyrene sorption by water-soluble organic carbon. Environmental Science and Technology, 27, (2), 398-403.

HUPE, K., LUTH, J.C., HEERENKLAGE, J. et STEGMANN, R. (1996). Enhancement of the biological degradation of soils contaminated with oil by the addition of compost. Acta biotechnologica, 16, (1), 19-30.

JOHNSEN, S. et GRIBBESTAD, S. (1991). Interactions between polycyclic aromatic hydrocarbons and natural aquatic humic substances. Effect of chlorination. The Science of the Total Environment, **197**, 99-108.

JOHNSON, W. et AMY, G.L. (1995). Facilitated transport and enhanced desorption of polycyclic aromatic hydrocarbons by natural organic matter in aquifer sediments. Environmental Science and Technology, **29**, 807-817.

JONES, K.D. et TILLER, C.L. (1999). Effect of solution chemistry on the extent of binding of phenanthrene by a soil humic acid: a comparison of dissolved and clay bound humic. Environmental Science and Technology, **33**, 580-587.

JOYCE, J.F. (1993). In-vessel biodegradation of selected polynuclear aromatic hydrocarbons with simulated municipal solid waste. Environmental Health Science, Joyce, J.F. Polytechnic University of New York, 162.

JOYCE, J.F., SATO, C., CARDEANS, R. et SURAMPALLI, R.Y. (1998). Composting of polycyclic aromatic hydrocarbons in simulated municipal solid waste. Water Environmental Research, **70**, (3), 356-361.

KAMNIKAR, B. (1992). Bioremediation of contaminated soil. Pollution Engineering, **24**, (19), 50-52.

KAPLAN, D.L. et KAPLAN, A.M. (1982). Thermophilic biotransformation of 2,4,6-Trinitrotoluene under simulated composting conditions. Applied and Environmental Microbiology, **44**, (3), 757-760.

KARICKHOFF, S.W. et BROWN, D.S. (1979). Sorption of Hydrophobic Polutants on Natural Sediments. Water Research, **13**, 241-248.

KÄSTNER, M., LOTTER, S., HEERENKLAGE, J., BREUER-JAMMALI, M., STEGMANN, R. et MAHRO, B. (1995). Fate of ^{14}C -labeled anthracene and hexadecane in compost-manured soil. Applied Microbiology and Biotechnology, **43**, 1128-1135.

KÄSTNER, M. et MAHRO, B. (1996). Microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils affected by the organic matrix of compost. Applied Microbiology and Biotechnology, **44**, 668-675.

KÄSTNER, M., STREIBICH, S., BEYER, M., RICHNOW, H.H. et FRITSCH, W. (1999). Formation of bound residues during microbial degradation of [^{14}C]anthracene in soil. Applied and Environmental Microbiology, **65**, (5), 1834-1842.

KELSEY, J.W., KOTTLER, B.D. et ALEXANDER, M. (1997). Selective chemical extractants to predict bioavailability of soil-aged organic chemicals. Environmental Science and Technology, **31**, 214-217.

KIRCHMANN, H. et EWNUTU, W. (1998). Biodegradation of petroleum-based oil wastes through composting. Biodegradation, **9**, 151-156.

KONONOVA, M.M., NOWAKOSKI, T.Z. et NEWMAN, A.C.D. (1966). Soil organic matter, Pergamon Press, Oxford.

KOPINKE, F.-D., PÖRSCHMANN, J. et REMMLER, M. (1995A). Sorption behavior of anthropogenic humic matter. Naturwissenschaften, **82**, 28-30.

KOPINKE, F.-D., PÖRSCHMANN, J. et STOTTMEISTER, U. (1995B). Sorption of organic pollutants on anthropogenic humic matter. Environmental Science and Technology, **29**, 941-950.

LAINE, M.M. et JORGENSEN, K.S. (1996). Straw compost and bioremediated soil as inocula for the bioremediation of chlorophenol-contaminated soil. Applied and Environmental Microbiology, **62**, (5), 1507-1513.

LAOR, Y., STROM, P.F. et FARMER, W.J. (1999). Bioavailability of phenanthrene sorbed to mineral-associated humic acid. Water Research, **33**, (7), 1719-1729.

LASSEN, P. et CARLSEN, L. (1997). Solubilization of phenanthrene by humic acids. Chemosphere, **34**, (4), 817-825.

LEAHY, J.G. et COLWELL, R.R. (1990). Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. Microbiological Reviews, **September**, 305-315.

LENKE, H., WARRELMANN, J., DAUN, G., HUND, K., SIEGLEN, U., WALTER, U. et KNACKMUSS, H.-J. (1998). Biological treatment of TNT-contaminated soil. 2. Biologically induced immobilization of the contaminants and full-scale application. Environmental Science and Technology, **32**, 1964-1971.

LESAGE, S., HOFMANN, H., LI, W.-C., MILLAR, K.R., LIU, D. et SEIDEL, H. (1997). Effect of humic acids on the biodegradation of PAHs by bacteria and fungi. Proceedings of the Fourth International Symposium on In Situ and On Site Bioremediation, Leeson, New Orleans, Louisiana, 185-191.

LESAGE, S., XU, H., NOVAKOWSKI, K.S., BROWN, S. et DURHAM, L. (1995). Use of humic acids to enhance the removal of aromatic hydrocarbons from contaminated aquifers. Part II: pilot scale. Proceedings of the 5th annual Symposium on Groundwater and Soil Remediation, Toronto, Ontario.

LOTTER, S., STEGMANN, R. et HEERENKLAGE, J. (1990). Basic investigations on the optimization of biological treatment of oil-contaminated soils. Contaminated Soil '90, Kluwer Academic Publishers, 967-974.

MAHRO, B., SCHAEFER, G. et KÄSTNER, M. (1994). Pathways of microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. Bioremediation of chlorinated and polycyclic aromatic hydrocarbon compounds, Lewis Publishers, Boca Raton, 203-217.

MALCOLM, R.L. et MACCARTHY, P. (1986). Limitations in the use of commercial humic acids in water and soil. Environmental Science and Technology, 20, 904-911.

MANILAL, V.B. et ALEXANDER, M. (1991). Factors affecting the microbial degradation of phenanthrene in soil. Applied microbiology and biotechnology, 35, 401-405.

MARTENS, R. (1982). Concentrations and microbial mineralization of four to six ring polycyclic aromatic hydrocarbons in composted municipal waste. Chemosphere, 11, 761-770.

MARUGG, C., GREBUS, M., HANSEN, R.C., KEENER, H.M. et HOITINK, H.A.J. (1993). A kinetic model of the yard waste composting process. Compost Science and Utilization, (1), 38-51.

MATTHIESSEN, A. (1994). Investigation of the effects of humic substances on transport of polycyclic aromatic hydrocarbons. Vom Wasser, **82**, 137-144.

MCCABE, W.L., SMITH, J.C. et HARRIOTT, P. (1993). Unit operations of chemical engineering, McGraw-Hill, New York, 1130.

MCCALL, P.J. et AGIN, G.L. (1985). Desorption kinetics of picloram as affected by residence time in the soil. Environmental Toxicology and Chemistry, **4**, 37-44.

MCCARTHY, J.F., ROBERSON, L.E. et BURRUS, L.W. (1989). Association of benzo(a)pyrene with dissolved organic matter. Prediction of K_{dom} from structural and chemical properties of the organic matter. Chemosphere, **19**, (12), 1911-1920.

MCFARLAND, M.J., QUI, X.J. et SIMS, L. (1992). Remediation of petroleum impacted soils in fungal compost bioreactors. Water Science Technology, **25**, (3), 197-206.

MICHEL, F.C., REDDY, C.A. et FORNEY, L.J. (1995). Microbial degradation and humification of the lawn care pesticide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid during the composting of yard trimmings. Applied and Environmental Microbiology, **61**, (7), 2566-2571.

MIHELICIC, J.R. et LUTHY, R.G. (1988). Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Compounds under Various Redox Conditions in Soil-Water Systems. Applied and Environmental Microbiology, **54**, 1185-1187.

MILLETTE, D., BARKER, J.F., COMEAU, Y., BUTLER, B.J., FRING, E.O., CLEMENT, B. et SAMSON, R. (1995). Substrate interaction during aerobic

biodegradation of creosote-related compounds: a factorial batch experiment. Environmental Science and Technology, **29**, (8), 1944-1952.

MILNE, B.J., BAHERI, H.R. et HILL, G.A. (1998). Composting of heavy oil refinery sludge. Environmental Progress, **17**, (1), 24-27.

MINISTERE DE L'ENVIRONNEMENT ET DE LA FAUNE DU QUEBEC (MEF) (1995). Protocole pour l'analyse des hydrocarbures pétroliers (C₁₀-C₅₀) dans les sols, no. 410-HYD. 1.0.

MUSTIN, M. (1987). Le compost - gestion de la matiere organique, Editions Francois Dubusc, Paris.

NAKASAKI, K., KATO, J., AKIYAMA, T. et KUBOTA, H. (1987). A new composting model and assessment of optimum operation for effective drying of composting material. Journal of Fermentation Technology, **65**, (4), 441-447.

O'REILLY, K. et SIMPKIN, T. (1997). Efficacy and economics of composting aged materials at a refinery. Fourth International In Situ and On-Site Bioremediation SymposiumNew Orleans, Batelle Press, 73-78.

ORTEGA-CALVO, J.J., LAHLOU, M. et SAIZ-JIMENEZ (1997). Effect of organic matter and clays on the biodegradation of phenanthrene soils. International Biodeterioration & Biodegradation, **40**, (2), 101-106.

ORTEGA-CALVO, J.J. et SAIZ-JIMENEZ, C. (1998). Effect of humic fractions and clay on biodegradation of phenanthrene by a *pseudomonas fluorescens*. Applied and Environmental Microbiology, **64**, (8), 3123-3126.

OUDOT, J., FUSEY, P., ABDELOUAHID, D.E., HALOUI, S. et ROQUEBERT, M.F. (1987). Capacités dégradatives de bactéries et de champignons isolés d'un sol contaminé par un fuel. Canadian Journal of Microbiology, **33**, 232-243.

PALMER, W.G., BEAMAN, J.R., WALTERS, D.M. et CREASIA, D.A. (1997). Bioavailability of TNT residues in compost of TNT-contaminated soil. Journal of Toxicology and Environmental Health, **51**, (2), 97-108.

PARIKH, K.N. et ALLEN, H.L. (1992). Demonstrating composting at a wood-treating site. FPRS Annual Meeting, Charleston, SC, USA,

PERRY, R.H. (1973). Chemical Engineering Handbook, McGraw-Hill, New York, Pages.

PIATT, J.J. et BRUSSEAU, M.L. (1998). Rate-limited sorption of hydrophobic organic compounds by soils with well-characterized organic matter. Environmental Science and Technology, **32**, (11), 1604-1608.

PIGNATELLO, J.J., FERRANDINO, F.J. et HUANG, L.Q. (1993). Elution of aged and freshly added herbicides from a soil. Environmental Science and Technology, **27**, 1563-1571.

PIGNATELLO, J.J. et XING, B. (1996). Mechanisms of slow sorption of organic chemicals to natural particles. Environmental Science and Technology, **30**, 1, 1-11.

POETON, T.S., STENSEL, H. et STRAND, S.E. (1999). Biodegradation of polyaromatic hydrocarbons by marine bacteria: Effect of solid phase on degradation kinetics. Water Research, **33**, (3), 868-880.

POTTER, C.L., GLASER, J.A., CHANG, L.W., MEIER, J.R., DOSANI, J.A. et HERRMANN, R.F. (1999). Degradation of polynuclear aromatic hydrocarbons under bench-scale compost conditions. Environmental Science and Technology, **33**, 1717-1725.

PRITCHARD, P.H. et BOURQUIN, A.W. (1984). The use of microcosms for evaluation of interactions between pollutants and microorganisms. Advances in Microbial Ecology, **7**, Plenum Press, New York, 49-215.

QIU, X. et MCFARLAND, M.J. (1991). Bound residue formation in PAH contaminated soil composting using *phanerochaete chrysosporium*. Hazardous Wastes and Hazardous Materials, **8**, (2), 115-125.

RABER, B., KOEGEL-KNABNER, I., STEIN, C. et KLEM, D. (1998). Partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons to dissolved organic matter from different soils. Chemosphere, **36**, (1), 79-97.

RABER, B. et KÖGEL-KNABNER, I. (1997). Influence of origin and properties of dissolved organic matter on the partition of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). European Journal of Soil Science, **48**, 443-455.

RASIAH, V., VORONEY, R.P. et KACHANOSKI, R.G. (1991). Effect of N amendment on C mineralization of an oily waste. Water, Air and Soil Pollution, **59**, 249-259.

RHODES, S.H. et PECK, P.C. (1995). Composting for remediation of soil contaminated with pharmaceutical residues. Microbial Processes for Bioremediation, Battelle Press, Columbus, Richland, 341-348.

RICHNOW, H.H., ESCHENBACH, A., MAHRO, B., SEIFERT, R., WEHRUNG, P., ALBRECHT, P. et MICHAELIS, W. (1998). The use of ^{13}C -labelled polycyclic aromatic hydrocarbons for the analysis of their transformation in soil. Chemosphere, **36**, (10)

ROSENBROCK, P., MARTENS, R., BUSCOT, F., ZADRAZIL, F. et MUNCH, J.C. (1997). Enhancing the mineralization of $[\text{U-}^{14}\text{C}]$ dibenzo-p-dioxin in three different soils by additon of organic substrate or inoculation with white-rot fungi. Applied and Environmental Microbiology, **48**, (5), 665-670.

SACK, U. et FRITSCHKE, W. (1997). Enhancement of pyrene mineralization in soil by wood-decaying fungi. FEMS Microbiology Ecology, **22**, (1), 77-83.

SAMSON, R. (1996). Les sols contaminés. Technologies d'assainissement et prévention de la pollution, Télé-Université, Sainte-Foy (Québec), 240-280.

SCHLEGEL, H.G. (1992). Allgemeine Mikrobiologie, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, Germany, 634.

SCHNITZER, M. et KHAN, S.U. (1972). Humic substances in the environment, Marcel Dekker, New York.

SCHULZE, K.L. (1962). Continuous thermophilic composting. Compost Science, **3**, (1), 32-34.

SCRIBNER, S.L., BENZING, T.R., SUN, S. et BOYD, S.A. (1992). Organic chemicals in the environment - desorption and bioavailability of aged simazine residues in soil from a continuous corn field. Journal of Environmental Quality, **21**, 115-120.

SEIBEL, F., HEIDENREICH, S. et FRIMMEL, F.H. (1996). Interaction of Humic Substances and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) during the Biodegradation of PAHs. Acta hydrochimica hydrobiologica, 24, 260-266.

SEMPLE, K.T. et FERMOR, T.R. (1995). Composting systems for the bioremediation of chlorophenol-contaminated land. Microbial Processes for Bioremediation, Battelle Press, Columbus, Richland, 93-100.

SHERWOOD, T.K., PIGFORD, R.L. et WILKE, C.R. (1975). Mass Transfer, McGraw-Hill, New York.

SHULER, M.L. ET KARGI, F. (1992). Bioprocess Engineering -- Basic Concepts, Prentice Hall PTR, Englewood Cliffs, New Jersey.

SHUTTLEWORTH, K.L. et CERNIGLIA, C.E. (1996). Bacterial degradation of low concentrations of phenanthrene and inhibition by naphthalene. Microbial Ecology, 31, 305-317.

SIMPKIN, T.J., WALTER, D. et DOESBURG, J. (1992). Treatment of fuel product contaminated soil in a cold climate using composting technology. Proceedings of the 85 Annual Air and Waste Management Conference, Kansas City, Missouri, USA.

SIMKINS, S., et ALEXANDER, M. (1984). Models for mineralization kinetics with the variables of substrate concentration and population density. Applied and Environmental Microbiology, June, 1299-1306.

TONGPIM, S. et PICKARD, A. (1996). Growth of *Rhodococcus* S1 on anthracene. Canadian Journal of Microbiology, 42, 289-294.

TRAINA, S.J., NOVAK, J. et SMECK, N.E. (1989). An ultraviolet absorbance method of estimating the percent aromatic carbon content of humic acids. Journal of Environmental Quality, 19, (1), 151-153.

TREMAINE, S.C., MCINTIRE, P.E., BELL, P.E., SILER, A.K., MATOLAK, N.B., PAYNE, T.W. et NIMO, N.A. (1994). Bioremediation of water and soils contaminated with creosote: suspension and fixed-film bioreactors vs. constructed wetlands and plowing vs. solid peroxygen treatment. Bioremediation of chlorinated and polycyclic aromatic hydrocarbon compounds, Lewis Publishers, Boca Raton, 172-187.

VALO, R. et SALKINOJA-SALONEN, M. (1986). Bioreclamation of chlorophenol-contaminated soil by composting. Applied Microbiology and Biotechnology, 25, 68-75.

WEISSENFELS, W.D., KLEWER, H.-J. et LANGHOFF, J. (1992). Adsorption of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by soil particles: influence on biodegradability and biotoxicity. Applied Microbiology and Biotechnology, 36, 689-696.

WHITE, J.C., KELSEY, J.W., HATZINGER, P.B. et ALEXANDER, M. (1997). Factors affecting sequestration and bioavailability of phenanthrene in soils. Environmental Toxicology and Chemistry, 16, (10), 2040-2045.

WHITE, J.C., HUNTER, M., NAM, K., PIGNATELLO, J.J. et ALEXANDER, M. (1999). Correlation between biological and physical availabilities of phenanthrene in soils and soil humin in aging experiments. Environmental Toxicology and Chemistry, 18, (8), 1720-1727.

WILLIAMS, R.T. et MAYLER, C.A. (1990). Bioremediation using composting. BioCycle, (November 1990), 78-81.

WILLIAMS, R.T., ZIEGENFUSS, P.S. et SISK, W.E. (1992). Composting of explosives and propellant contaminated soils under thermophilic and mesophilic conditions. Journal of Industrial Microbiology, **9**, 137-144.

WISCHMANN, H. et STEINHART, H. (1997). The formation of PAH oxidation products in soil and soil/compost mixtures. Chemosphere, **35**, (8), 1681-1698.

WOLTER, M., ZADRAZIL, F., MARTENS, R. et BAHADIR, M. (1997). Degradation of eight highly condensed polycyclic aromatic hydrocarbons by *Pleurotus* sp. Florida in solid wheat straw substrate. Applied Microbiology and Biotechnology, **48**, 398-404.

WRENN, B.A. et VENOSA, A.D. (1996). Selective enumeration of aromatic and aliphatic hydrocarbon degrading bacteria by a most-probable-number procedure. Canadian Journal of Microbiology, **42**, 252-258.

XU, H., LESAGE, S., DURHAM, L. et NOVAKOWSKI, K. (1994). The use of humic acids to enhance the removal of aromatic hydrocarbons from aquifers contaminated with petroleum products. Part I: Laboratory studies. Fourth Annual Symposium on Groundwater and Soil Remediation, Calgary, Alberta, 635-646.

YATES III, L.M., ENGEBRETSON, R.R., HAAKENSEN, T.J. et VON WANDRUSZKA, R. (1997). Immobilization of aqueous pyrene by dissolved humic acid. Analytica Chimica Acta, **356**, 295-300.

YATES III, L.M. et VON MANDRUSZKA, R. (1999). Decontamination of polluted water by treatment with a crude humic acid blend. Environmental Science and Technology, **33**, 2076-2080.

ZIEGENFUSS, P.S., WILLIAMS, T. et MAYLER, C.A. (1991). Hazardous materials composting. Journal of Hazardous Materials, 28, 91-99.

ANNEXE 1
RÉACTEUR CUVÉE

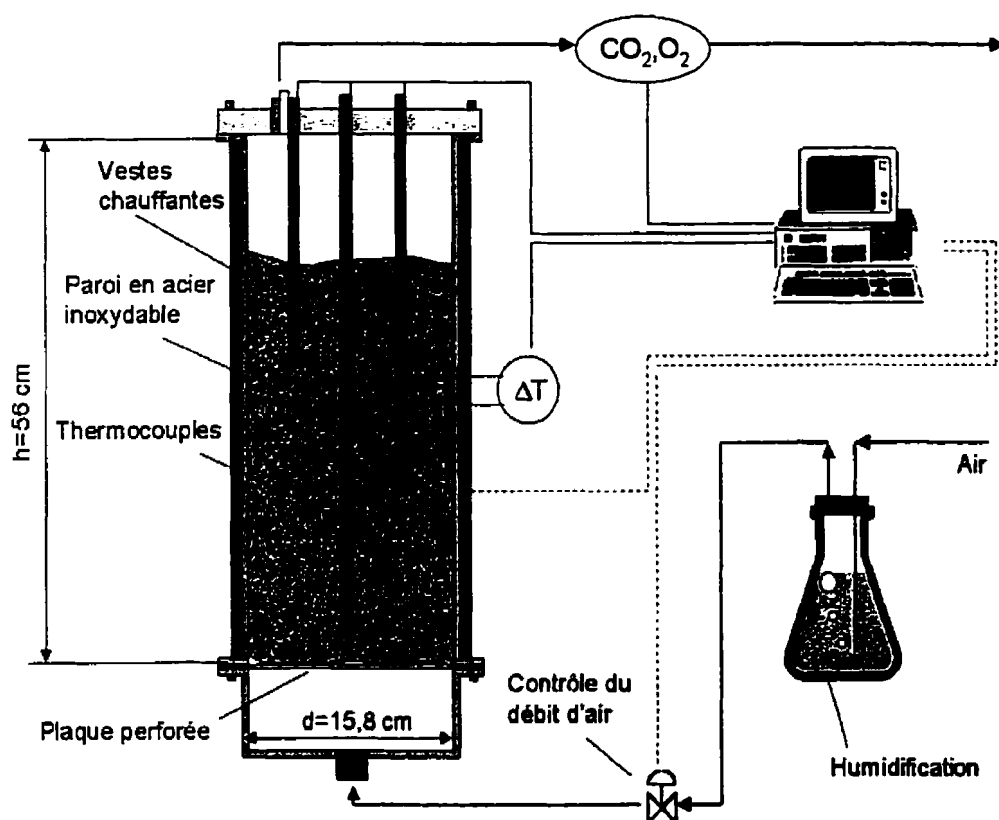


Figure A.1 : Réacteur cuvée (*batch*) ayant un volume de 11 litres.

ANNEXE 2**ANALYSE DES HYDROCARBURES ALIPHATIQUES C₁₀-C₅₀ AU GC-FID**

Analyse des hydrocarbures aliphatiques C₁₀-C₅₀ au GC-FID

Tableau A.1 : Spécifications du GC et du programme utilisé

Modèle du GC	HP5890 A
Colonne	HP1 (longueur 15 m)
Précolonne	HP1 inactivée (longueur 0,5 m)
Détecteur	Ionisation de flamme (FID)
Température initiale du four	35°C
Température du détecteur	320°C
Température de l'injecteur:	320°C
Pression d'opération	1,5 psig (gaz vecteur: Hélium)
Mode d'injection	<i>on-column</i>
Temps initial	2 min
Taux de la rampe	20°C/min
Température finale	310°C
Temps final	10 min
Temps de rétention moyen du décane (C ₁₀)	3,2 min
Temps de rétention moyen de l'hexadécane (C ₁₆)	7,8 min
Temps de rétention moyen du pentacontane (C ₅₀)	23,2 min
Pression de l'hélium (He zéro)	40 psi
Pression de l'hydrogène (H ₂ prep)	18 psi
Pression de l'air (Air zéro)	48 psi

Séquence pour l'injection (injecteur automatique Hewlett Packard 7673 GC/SFC)

1. Rinçage de la seringue 10 fois à l'hexane
2. Rinçage de la seringue 4 fois avec l'échantillon à analyser
3. Injection de 1 μ l d'échantillon

ANNEXE 3
MODÉLISATION - RÉGRESSIONS

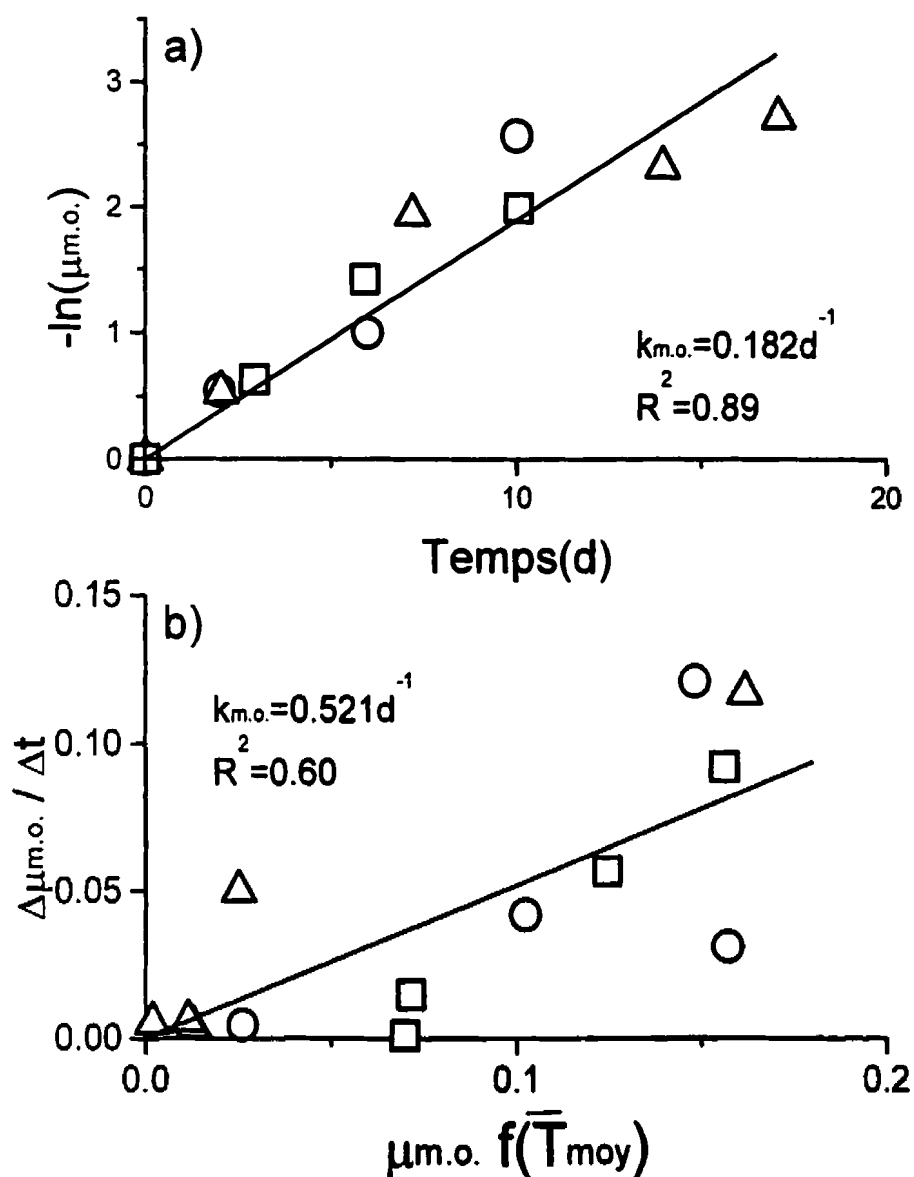


Figure A.2: Régressions pour la valeur de $k_{m.o.}$: a) pour le modèle simple sans facteur de correction et b) pour le modèle avec facteur de correction. Les triangles représentent l'essai à profil de température naturel simulé, les cercles l'essai à profil de température constante et les carrés l'essai à profil de température constante avec du sol non-contaminé. Seules les valeurs jusqu'au 20^{ème} jour ont été pris en considération. Le modèle simple sans facteur de correction représente mieux les valeurs mesurées.

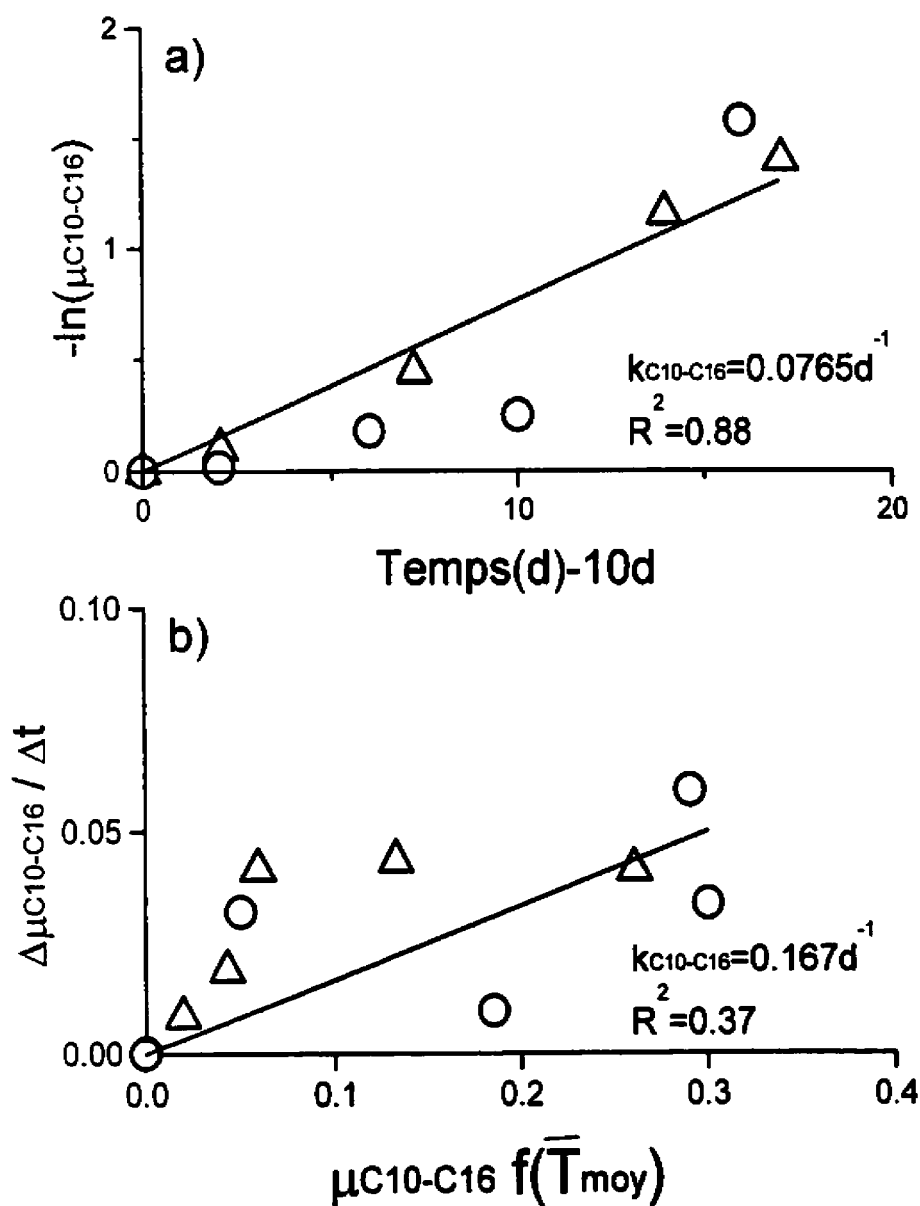


Figure A.3 : Régressions pour la valeur de $k_{C10-C16}$: a) pour le modèle simple sans facteur de correction et b) pour le modèle avec facteur de correction. Les triangles représentent l'essai à profil de température naturel simulé et les cercles l'essai à profil de température constante. Le modèle simple sans facteur de correction représente mieux les valeurs mesurées.

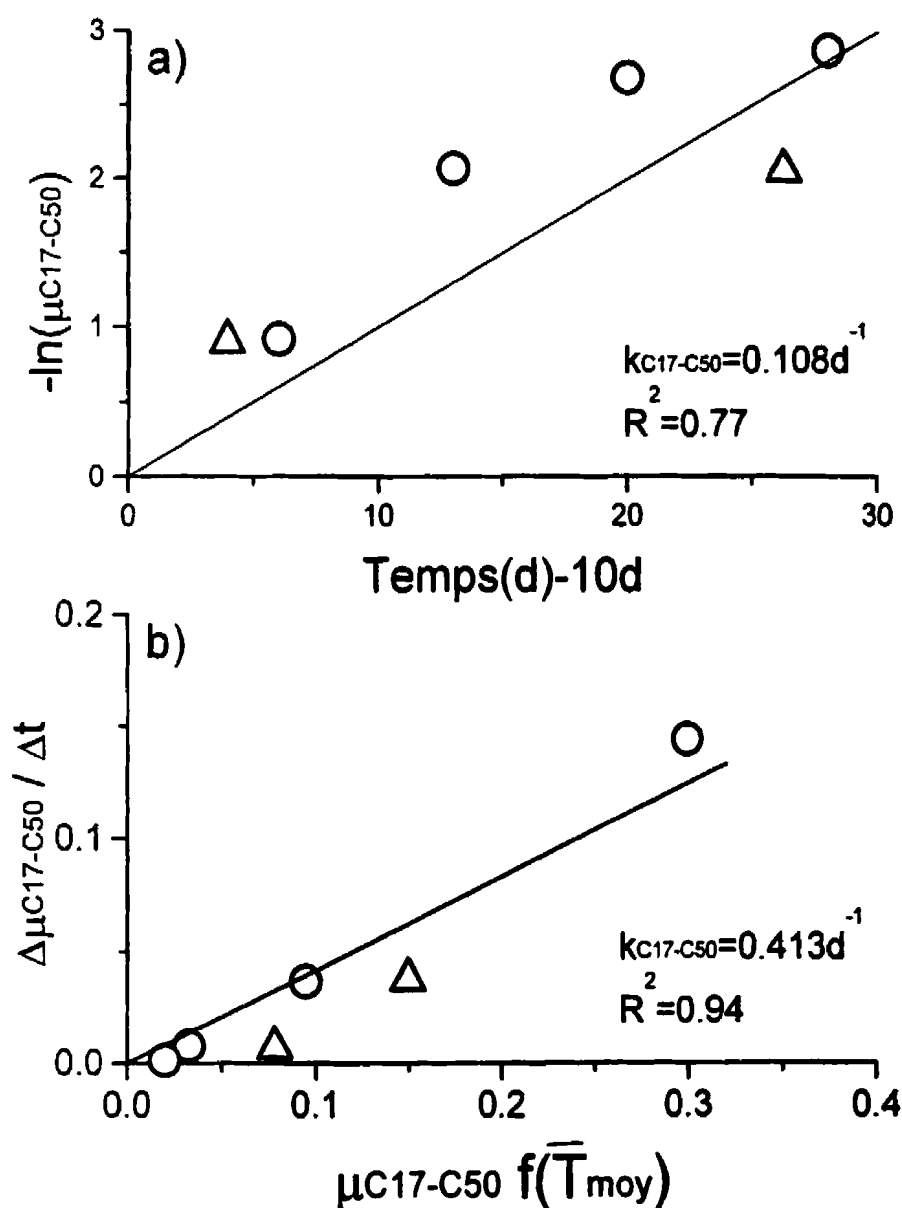


Figure A.4 : Régressions pour la valeur de $k_{C17-C50}$: a) pour le modèle simple sans facteur de correction et b) pour le modèle avec facteur de correction. Seulement les valeurs après 10 jours ont été prise en considération. Les triangles représentent l'essai à profil de température naturel simulé et les cercles l'essai à profil de température constante. Le modèle avec facteur de correction représente mieux les valeurs mesurées.

ANNEXE 4**CONCENTRATIONS DES HAP PENDANT LE COMPOSTAGE A PROFIL DE
TEMPÉRATURE NATUREL**

Tableau A.2 : Concentrations initiales des HAP et contenu en cendres (matière minérale) de l'essai à profil de température naturel simulé : calculée à partir de la dilution des concentrations du sol contaminé, réellement mesurée et la moyenne des deux.

	Valeur calculée	Valeur mesurée	Moyenne
Contenu en cendres (p/p)	N.D.	0,319	N.D.
Naphthalène (mg/kg)	287,1	67,0	177,0
Acénaphthylène (mg/kg)	20,1	15,0	17,6
Acénaphtène (mg/kg)	1,9	0,8	1,4
Fluorène (mg/kg)	1,3	0,6	1,0
Phénanthrène (mg/kg)	3,7	0,5	2,1
Anthracène (mg/kg)	13,4	6,6	10,0
Fluoranthène (mg/kg)	10,8	9,2	10,0
Pyrène (mg/kg)	48,5	36,0	42,2
Benzo[a]anthracène (mg/kg)	6,7	6,4	6,6
Chrysène (mg/kg)	14,2	12,0	13,1
Benzo[b+j+k]fluoranthène (mg/kg)	14,2	11,0	12,6
Benzo[a]pyrène (mg/kg)	10,8	7,1	9,0
Dibenzo[ah]anthracène (mg/kg)	1,5	1,1	1,3
Indéno[1,2,3-cd]pyrène (mg/kg)	3,2	2,4	2,8
Benzo[ghi]pérylène (mg/kg)	4,5	3,3	3,9

Tableau A.3 : Concentrations corrigées des HAP et contenu en cendres (matière minérale) de l'essai à profil de température naturel simulé en fonction du temps.

Temps (d)	2	7	14	28	162
Contenu en cendres (p/p)	0,381	0,42	0,496	0,546	0,529
Naphthalène (mg/kg)	0,5	0,5	0,5	0,4	0,2
Acénaphthylène (mg/kg)	22,6	22,8	21,2	19,3	21,1
Acénaphène (mg/kg)	1,6	1,5	0,6	0,3	0,2
Fluorène (mg/kg)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Phénanthrène (mg/kg)	0,7	0,8	0,8	0,4	0,6
Anthracène (mg/kg)	3,6	3,7	3,5	3,4	3,5
Fluoranthène (mg/kg)	10,9	11,4	9	7,6	1,8
Pyrène (mg/kg)	44,4	43,3	39,9	32,7	9,7
Benzo[a]anthracène (mg/kg)	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Chrysène (mg/kg)	14,2	14,4	14,2	11,1	8,4
Benzo[b+j+k]fluoranthène (mg/kg)	15,1	15,2	14,2	12,3	13,3
Benzo[a]pyrène (mg/kg)	11,7	12,2	11,6	9,4	10,9
Dibenzo[ah]anthracène (mg/kg)	1,9	2,1	2,0	1,8	2,1
Indéno[1,2,3-cd]pyrène (mg/kg)	3,9	4,0	3,8	3,3	4,1
Benzo[ghi]pérylène (mg/kg)	4,9	5,2	4,8	4,0	5,6