

Chapitre 8 : Traitement des sols pollués.

1. Pollution des sols

La pollution du sol est consécutive à l'utilisation massive d'engrais ou de pesticides qui peuvent avoir plusieurs impacts sur l'environnement en s'infiltrant dans les sols et la nappe phréatique qui peut contaminer aussi la culture. Les contaminations du sol peuvent être diffuses ou ponctuelle. Dans les contaminations diffuses, il y a un ou plusieurs composés dangereux, dont les concentrations varient peu et dans des surfaces très étendues.

En général, les contaminations sont diffuses lorsque les polluants sont émis :

- A partir de sources non stationnaires (automobiles).
- A partir de sources très étendues (dépôts de produits en agriculture).
- A partir d'un grand nombre de sources (véhicules, foyers domestiques).

Dans les contaminations ponctuelles du sol, il s'agit de grandes quantités de polluants dans un domaine délimité par des clôtures, des bâtiments, et des cités contaminés.

1.1. Pollution des sols par les hydrocarbures

La pollution du sol par les hydrocarbures est un problème préoccupant dans le monde entier, car plus que 90% de la charge environnementale des hydrocarbures est simplement stockée dans le sol, ce qui indique que le sol est le principal puits de ces hydrocarbures dans l'environnement terrestre.

Les déversements accidentels des hydrocarbures peuvent contenir du pétrole brut ou des produits pétroliers raffinés tels que le diesel, le mazout ou les huiles lubrifiantes. Les composés toxiques dans le pétrole brut consistent en une large gamme d'hydrocarbures, qui peuvent avoir des effets aigus et chroniques sur la flore et la faune. Les produits pétroliers, par leur nature persistante, affectent la qualité du sol en modifiant ses propriétés physiques, physiologiques, biochimiques et la diversité microbienne hétérogène intrinsèque. En général, la santé humaine et la sécurité des écosystèmes sont directement influencées par l'accumulation de produits pétroliers dans l'environnement.

1.2. Pollution des sols par les métaux lourds

Les métaux lourds arrivent au sol suite au stockage de déchets industriels et urbains, aux pratiques agricoles, aux retombées atmosphériques et aux décharges. Les métaux lourds sont caractérisés par des propriétés physicochimiques particulières, ils sont indéfiniment stables, solubles dans l'eau ce qui leur permet de rejoindre les nappes souterraines et peuvent être prélevés par les plantes. La toxicité des métaux lourds est due à leur non dégradabilité, leur toxicité à faible concentration, leur tendance à s'accumuler dans les organismes vivants et à se concentrer le long des chaînes trophiques.

Les métaux lourds les plus couramment disponibles dans l'environnement sont l'arsenic (As), le cadmium (Cd), le chrome (Cr), le cuivre (Cu), le plomb (Pb), Le nickel (Ni) et le zinc (Zn). Certains métaux lourds en faibles concentrations sont essentiels pour les processus biochimiques et physiologiques au sein des organismes vivants. Cependant, ils peuvent devenir toxiques à des concentrations plus élevées.

Il faut souligner que plusieurs métaux lourds sont extrêmement toxiques même à de faibles niveaux d'exposition. Ces substances toxiques systémiques sont l'arsenic, le cadmium, le chrome, le plomb et le mercure et peuvent provoquer des dommages à plusieurs organes.

2. Traitement biologique des sols pollués

2.1. La biodégradation des hydrocarbures par les microorganismes

La biodégradation des hydrocarbures par les microorganismes est indéniablement le processus le plus abouti dans l'élimination des polluants d'origine pétrolière. Même s'il est relativement lent, ce phénomène permet une dégradation quasi-complète (transformation en CO₂) des hydrocarbures. Elle est considérée comme le processus principal d'élimination de ces contaminants.

Un grand nombre des bactéries, champignons et algues ont la capacité de dégrader les hydrocarbures soit par des souches pures, soit par un consortium microbien.

L'efficacité rapportée de la biodégradation variait de 6% à 82% pour les champignons du sol, 0,13% à 50% pour les bactéries du sol et de 0,003% à 100% pour les bactéries marines.

2.1.1. Les voies métaboliques de dégradation des hydrocarbures

A- La biodégradation aérobie

Plusieurs microorganismes sont connus pour dégrader les hydrocarbures en condition aérobie en développant des stratégies enzymatiques qui leur permettent d'incorporer un ou deux atomes d'oxygènes à la molécule ciblée. Cette réaction d'oxydation rend l'hydrocarbure plus hydrophile et par conséquent plus facilement dégradé par le métabolisme bactérien. Les stratégies enzymatiques les plus utilisées sont :

➤ La minéralisation

Les enzymes jouent un rôle catalytique dans ce processus, où un produit chimique est converti par étapes en produits finis par le biais de divers intermédiaires. Cette transformation s'appelle la minéralisation. Les principaux produits finaux de cette voie sont la biomasse et le dioxyde de carbone.

➤ Le co-métabolisme

Il peut être défini comme une réaction enzymatique non spécifique. Il correspond à la dégradation biologique d'un composé, par une enzyme produite de manière fortuite.

Cette enzyme catalyse normalement un autre substrat, mais elle peut présenter une certaine non-spécificité de substrat. Par principe, le phénomène de co-métabolisme ne bénéficie pas aux microorganismes produisant l'enzyme.

B- La biodégradation anaérobie

L'absence de l'oxygène moléculaire dans les environnements anoxiques implique une nouvelle stratégie d'activation enzymatique spécifique pour convertir les hydrocarbures apolaires en des composés contenant un groupement polaire. Cette activation se traduit par l'introduction d'un ou plusieurs groupements hydroxyles dans la molécule apolaire.

2.1.2. Les microorganismes impliqués dans la biodégradation des hydrocarbures

• Les bactéries

Les bactéries sont les microorganismes souvent impliqués dans la dégradation des hydrocarbures des sites contaminés, et agissent en tant que principaux agents de dégradation des hydrocarbures déversés dans l'environnement.

Cela fait tout juste un siècle que des bactéries capables d'utiliser des produits pétroliers comme seule source d'énergie et de carbone ont été isolées pour la première fois, ce sont les bactéries hydrocarbonoclastes.

Le niveau de dégradation des pétroles (mélange de composés facilement dégradables et de composés récalcitrants) est donc totalement dépendant de la diversité métabolique des bactéries hydrocarbonoclastes présentes dans l'environnement pollué.

De nombreux genres bactériens ont été recensés et décrits comme aptes à dégrader des hydrocarbures: *Aeromonas*, *Acetobacter*, *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Actinomyces*, *Alcaligenes*, *Alcanivorax*, *Bacillus*, *Beneckea*, *Brevibacterium*, *Burkholderia*, *Corynebacterium*, *Cycloclasticus*, *Cytophaga*, *Erwina*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Lactobacillus*, *Leucothrix*, *Micrococcus*, *Moraxella*, *Mycobacterium*, *Myxobacterium*,

Nocardia, *Peptococcus*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Sarcina*, *Serratia*, *Shewanella*, *Spherotilus*, *Xanthomonas*.

• Les champignons

La capacité de se développer sur les hydrocarbures ne se limite pas uniquement aux bactéries, certains sites contaminés contiennent également de nombreux champignons et levures capables de les dégrader.

Les champignons sont connus par leur capacité de coloniser un large éventail d'environnements hétérogènes, leur capacité à s'adapter aux matrices de sol complexes, et même si à des conditions environnementales extrêmes.

Cependant, ils présentent des caractéristiques particulières qui les rendent plus utiles pour la bioremediation des sols pollués.

Parmi ces champions les genres: *Amorphoteca*, *Neosartorya*, *Talaromyces*, *Graphium*, *Candida*, *Yarrowia*, *Pichia*, *Aspergillus*, *Cephalosporium*, *Penicillium*, *Cunninghamella*, *Fusarium*, *Mucor*, *Phanerochaete*, *Rhodotorula*, *Sporobolomyces* et *Trichoderma*.

2.2. La biodégradation des métaux lourds par les microorganismes

Les nombreux cas de pollution par les métaux lourds génèrent autant de sites contaminés qu'il faut réhabiliter. Les méthodes physico-chimiques de dépollution de ces sites utilisées *in situ* et *ex situ* présentent l'inconvénient d'être coûteuses et lourdes à mettre en œuvre. De plus, elles perturbent fortement l'activité biologique des sols et altèrent leur structure physique. Le besoin de nouvelles techniques économiquement compétitives et pouvant préserver les caractéristiques du sol s'est fait sentir et l'utilisation des biotechnologies s'est avérée être une alternative intéressante et de plus en plus sollicitée.

2.2.1. Acquisition des métaux par les bactéries

Les bactéries représentent le plus grand nombre d'organismes dans les sols. En raison de leur petite taille, les bactéries présentent un volume important qui leur confèrent une grande surface de contact pour interagir avec l'environnement. En plus de ces caractéristiques, c'est plus particulièrement la charge nette négative de leur enveloppe cellulaire qui fait que ces organismes sont capables de fixer et d'accumuler les cations métalliques dans l'environnement.

L'interaction bactéries-métaux lourds a été surtout étudiée dans les environnements extrêmes. La nature des interactions dépend du rôle biologique du métal dans la cellule. Certains métaux lourds (Ni, Co, Fe, Zn, Cu ...) sont des cofacteurs indispensables de certaines protéines, pour leur stabilisation ou leur conformation, mais deviennent toxiques à haute concentration, par exemple, le nickel est un cofacteur des uréases.

Les parois cellulaires bactériennes comprennent une variété de groupes fonctionnels organiques de surface, qui offrent une forte affinité pour se lier aux métaux lourds. Par conséquent, la biosorption des métaux lourds par la paroi cellulaire bactérienne, est en pratique depuis longtemps.

Les métaux sont prélevés activement par les bactéries en deux temps : les ions métalliques sont initialement adsorbés à la surface extracellulaire (mécanisme passif ou biosorption). Puis, des systèmes de transport spécialisés (protéines de transport), qui s'accompagnent en général d'une dépense d'énergie (hydrolyse d'ATP) sont activés pour faire entrer le métal à l'intérieur de la cellule (mécanisme actif).

2.2.2. Mécanismes de résistances des bactéries aux métaux lourds

Chez les bactéries, il existe divers mécanismes qui peuvent intervenir directe ou indirecte dans la résistance aux métaux lourds (**Fig.1**).

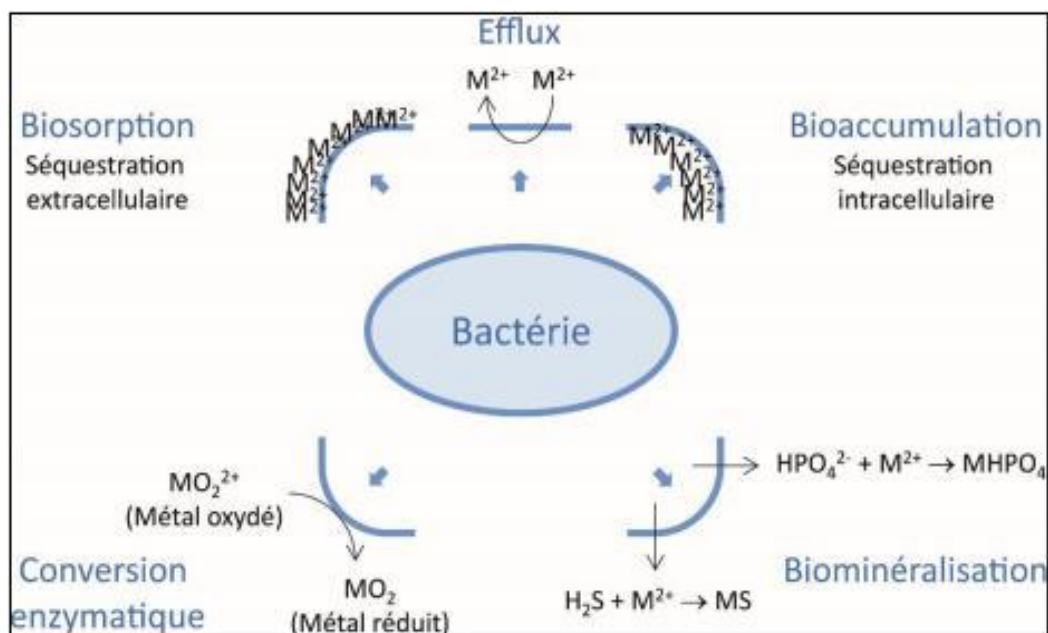


Figure 1: Mécanismes bactériens de résistance aux métaux toxiques. M^{2+} correspond dans ce schéma au métal sous forme cationique pris en charge par la bactérie.

➤ Biosorption

La biosorption se fait via l'interaction des métaux avec les groupements anioniques de la paroi cellulaire (groupements thiol, hydroxyle, carboxyl, sulfonate, amine, amide, phosphonate) ou par association à des substances polymériques extracellulaires (polysaccharides, protéines, acides nucléiques ou acides gras).

Les substances polymères extracellulaires (SPE) sont une barrière protectrice hautement hydratée qui joue un rôle dans la survie des bactéries, puisqu'elle permet de tamponner les variations physicochimiques du milieu naturel. Elles assurent des fonctions variées comme la résistance aux antibiotiques, la capture des minéraux essentiels et des nutriments et la biosorption des métaux.

La propriété anionique des SPE est due à la présence de groupes phosphate, carboxylate, acétate, amine et plus rarement sulfate ionisables chargés négativement, qui réagissent à leur tour avec des ions métalliques chargés positivement (**Fig. 2**).

Les groupes carboxyle ou hydroxyle sont en outre impliqués dans le processus de liaison des métaux en formant des liaisons de coordination qui confèrent une stabilité aux complexes polymères d'ions métalliques.

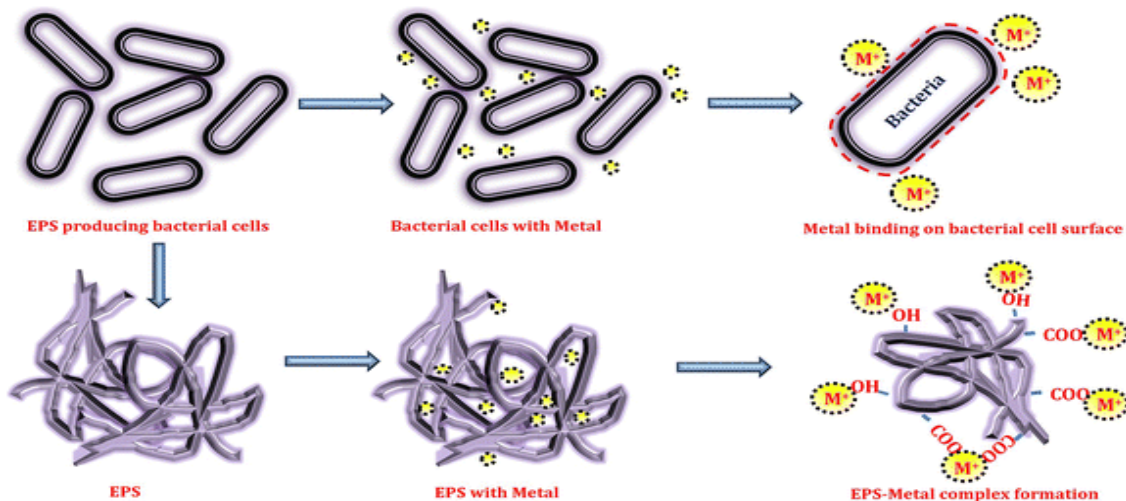


Figure 1: Représentation schématique du mécanisme de l'interaction EPS avec les métaux lourds.

Il a été montré que les bactéries pouvaient produire une large variété de polymères et certains auteurs ont évalué la fixation des métaux par ces polymères (**Tab.1**).

Tableau 1 : Capacité de biosorption des éléments traces métalliques par les EPS bactériennes.

Souche bactérienne	Métal sorbé	Quantité, mg.g ⁻¹ EPS	Référence
Bactérie marine réductrice de sulfate	Mo(VI)	2.14	(Beech and Cheung, 1995)
	Ni(II)	0.43	
	Cr(III)	0.2	
<i>Methylobacterium organophilum</i>	Pb(II)	184.2	(Kim et al., 1996)
	Cu(II)	200.3	
<i>Alteromonas macleodii</i> subsp. <i>fyfiensis</i>	Pb(II)	316	(Loaëc et al., 1997)
	Cd(II)	125	
	Zn(II)	75	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Cu ^r	Cu(II)	320	(Kazy et al., 2002)
<i>Enterobacter cloacae</i> AK-I-MB-71a	Cr(VI)	8.3	(Iyer et al., 2004)
<i>Chryseomonas luteola</i> TEM05	Cd(II)	64.1	(Ozdemir et al., 2005)
	Co(II)	55.2	
<i>Paenibacillus polymyxa</i> P13	Cu(II)	1602	(Prado Acosta et al., 2005)
	Pb(II)	228	
	Cd(II)	55	
<i>Paenibacillus jamilae</i> CECT 5266	Cu(II)	40	(Morillo Pérez et al., 2008)
	Zn(II)	37	
	Ni(II)	15	
	Co(II)	10	
<i>Pseudomonas putida</i>	Cd(II)	-	(Ueshima et al., 2008)
	Pb(II)	-	
	Cd(II)	-	
Boues activées (consortium bactérien)	Cu(II)	-	(Guibaud, 2003; Comte, Guibaud, and Baudu, 2006a, 2006b)
	Ni(II)	-	
	Ni(II)	-	

➤ **La bioaccumulation intracellulaire**

Est un mécanisme de bioremédiation où les microorganismes (bactéries, champignons) absorbent et séquestrent des métaux lourds (mercure, cadmium, plomb) dans leur cytoplasme pour diminuer leur toxicité. Ce processus actif, souvent complémentaire de la biosorption de surface, permet de stocker les métaux sous forme inerte. Les métaux traversent la membrane cellulaire via des transporteurs d'ions, puis sont souvent liés à des protéines spécifiques (métallothionéines) ou séquestrés dans des vacuoles pour éviter d'endommager les composants essentiels de la cellule.

➤ **Biominéralisation**

La biominéralisation des métaux lourds est un processus naturel où des micro-organismes (bactéries, champignons) transforment des métaux toxiques dissous en minéraux solides insolubles, réduisant ainsi leur biodisponibilité et leur toxicité. Les micro-organismes provoquent la précipitation des métaux par l'excrétion de substances (carbonates, phosphates, sulfures) ou par des changements de pH. La biominéralisation permet souvent d'« inerte » durablement les métaux lourds sous forme de cristaux minéraux inoffensifs.

➤ **La conversion enzymatique**

La conversion par des enzymes oxydo-réductrices et métal-spécifiques consiste à transformer un cation métallique en un élément de niveau d'oxydation moins toxique, ou sous une forme soluble qui peut être efficacement éliminée par la cellule. En effet, pour éviter la réoxydation des composés métalliques réduits, les métaux doivent pouvoir diffuser à l'extérieur de la cellule grâce à un système d'efflux. Par exemple la réduction du chrome hexavalent (chromate) en chrome trivalent moins toxique par le chromate réductase de *Pseudomonas putida* PRS2000.

2.2.3. Exemples des bactéries métalorésistantes

➤ ***Cupriavidus metallidurans CH34***

La bactérie *Cupriavidus metallidurans CH34* gram négatif a été isolée en 1976 par Christian Houba dans les sols Métallurgie.

C. metallidurans CH34 est considérée comme une bactérie spécialisée dans la résistance aux métaux lourds, car elle en contient quasiment la plus part des mécanismes décrits à ce jour. De nombreux gènes de résistance parmi les plus importants ont d'ailleurs été décrits pour la première fois chez *CH34* (*czc*, *cnr*, *ncc*, *chr*, *pbr*...).

➤ ***Bacillus cereus***

Bacillus cereus est une bactérie du sol a gram positif qui représente une forte tolérance aux métaux lourds, parmi c'est dernier on a l' Arsenic (As), le Plomb (Pb), le Crome (Cr), et le Zinc (Zn).

Bacillus cereus utilise des mécanismes, notamment des pompes à efflux, une accumulation intracellulaire et extracellulaire en parallèle afin de maintenir les niveaux de métaux en dessous d'un seuil toxique et de surmonter les effets des concentrations élevées.

L'adsorption extracellulaire dans la membrane agit comme une première défense contre la toxicité des métaux grâce à la présence des groupements fonctionnels produisant des changements dans la morphologie cellulaire.

➤ ***Pseudomonas putida***

Pseudomonas putida est une bactérie du sol gram négatif, saprophyte et ubiquitaire, son génome code pour une tolérance aux métaux lourds (possède des mécanismes génétiques codés pour résister à la toxicité métallique). Elle peut accumuler les métaux lourds à l'intérieur de ses cellules ou les adsorber à sa surface, les rendant moins mobiles et moins toxiques dans l'environnement.