

Cahier des charges :

Caractérisation et essais en vue de l'application d'un traitement par bio-lixiviation

1. Introduction

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

Rappel de la problématique	<u>Caractéristiques de la zone polluée :</u> <u>Nature de la pollution :</u> <u>Situation de la pollution vis-à-vis de la zone saturée :</u> <u>Etat physique de la pollution :</u>
Limites liées à la mise en œuvre	<i>Mise en œuvre in situ : Mise en œuvre non prévue ; Mise en œuvre sur site ou hors site : selon la quantité de sol à traiter ; Accessibilité pendant plusieurs mois ; existence d'installations de traitement centralisées</i>
Limites liées à la nature de la pollution	<i>Technique adaptée au traitement des métaux et métalloïdes seulement ; Des précautions sont nécessaires pour le traitement de polluants susceptibles de générer la formation d'espèces gazeuses et/ou toxiques par bio-lixiviation ; Technique surtout prometteuse pour les pollutions à l'arsenic</i>
Limites liées aux caractéristiques générales de la pollution	-
Limites liées aux caractéristiques du sol	<i>Teneur en argile : inférieure à 20% Perméabilité à l'eau : supérieure à 10⁻⁷ m/s Teneur en carbonates : inférieure à 40%</i>
Limites liées à la concentration en polluant	<i>Concentrations en métaux inhibitrices des métabolismes biologiques</i>
Limites liées à d'autres paramètres spécifiques	<i>pH, composés inhibiteurs, nitrates</i>

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

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

2. Essais d'orientation

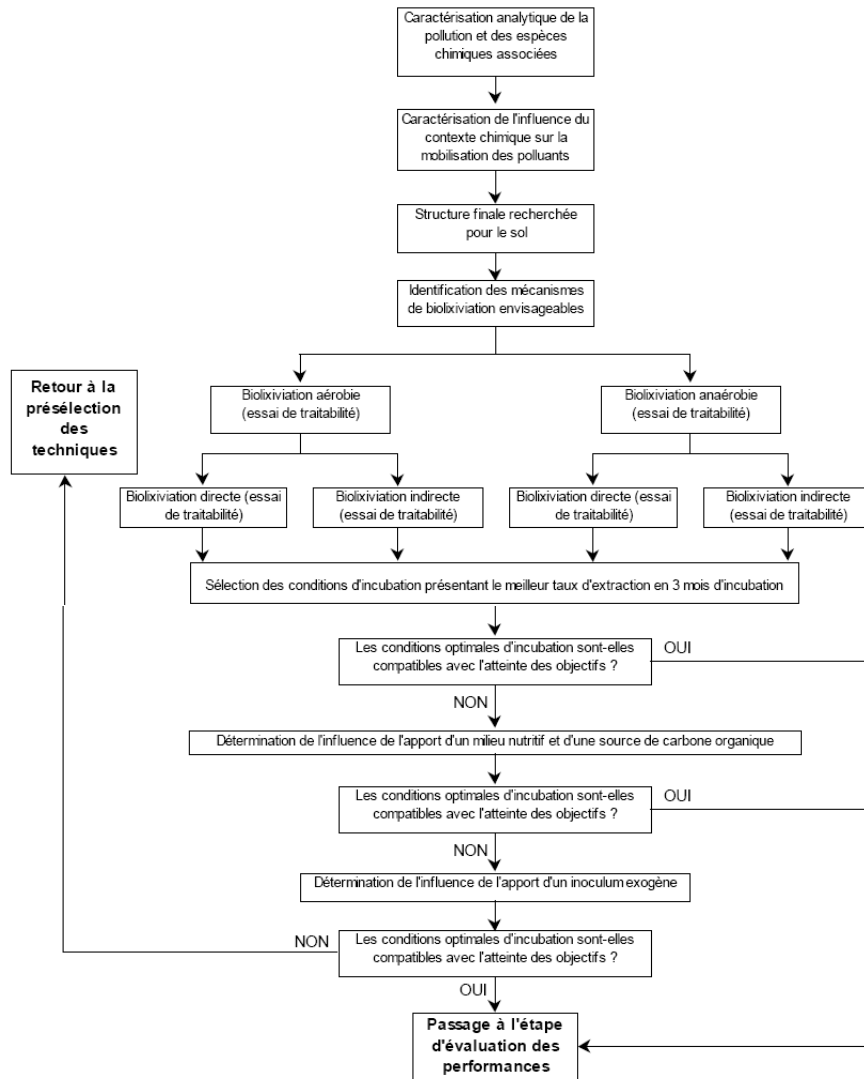


Figure 1 : Procédure d'essais d'orientation d'un traitement par biolixiviation

Les essais d'orientation effectués à l'échelle du laboratoire interviennent après les étapes de caractérisation préliminaire des sols et de présélection des techniques au cours desquelles ont été déterminées notamment la nature et la concentration des espèces polluantes ainsi que la perméabilité du sol à l'eau (paramètre limitant).

Ces essais doivent permettre tout d'abord la sélection du procédé biologique de biolixiviation le plus adapté au regard de la spéciation de la pollution inorganique. C'est l'objectif de l'étape n°1 de caractérisation approfondie de la matrice sol et de sa pollution métallique et métalloïde. La seconde étape des essais d'orientation vise à démontrer, à l'échelle du laboratoire, s'il existe un potentiel de traitement du sol par extraction par voie biologique directe ou indirecte et aérobie ou anaérobie des espèces métalliques et/ou métalloïdes majoritaires.

2.1. CARACTERISATION DE LA MATRICE ET DE LA POLLUTION

La connaissance de la spéciation des polluants inorganiques est nécessaire et indispensable pour choisir la voie métabolique de bio-lixiviation la plus adéquate. Le Tableau suivant donne les principales conditions de traitement possibles par bio-lixiviation en fonction de la nature et de la spéciation des polluants inorganiques :

Polluants	Forme	Traitements possibles	Traitements à exclure
Arsenic	As(V) : AsO_4^{3-} adsorbé ou précipité	Bio-lixiviation anaérobie directe (réduction dissimilatrice)	Bio-lixiviation aérobie directe ou indirecte
Arsenic	As(V) : AsO_4^{3-} adsorbé et/ou coprecipité par des (oxy)hydroxydes	- Bio-lixiviation anaérobie directe (réduction dissimilatrice), - Bio-lixiviation aérobie indirecte (solubilisation de la phase porteuse),	
Cu, Zn, Pb, Ni, Cd, Hg,...	Sulfures métalliques : CuS, ZnS, PbS, NiS, CdS, HgS,...	- Bio-lixiviation aérobie indirecte (solubilisation de la phase porteuse), - Bio-lixiviation aérobie directe (oxydation des sulfures)	Bio-lixiviation anaérobie directe (réduction dissimilatrice) ou indirecte
Cu, Zn, Pb, Ni, Cd, Hg,...	Métaux liés aux oxydes de Fer, Mn et Al.	Bio-lixiviation aérobie indirecte (solubilisation de la phase porteuse) par apport de soufre	
Al, Cu, Zn, Cd	Hydroxydes	Bio-lixiviation aérobie indirecte (solubilisation des hydroxydes) par apport de soufre	Bio-lixiviation anaérobie directe (réduction dissimilatrice) ou indirecte

Tableau 2 : Sélection des conditions de traitement de bio-lixiviation en fonction de la nature de la pollution inorganique

Il existe trois voies distinctes et complémentaires permettant la caractérisation fine de la spéciation des polluants métalliques et métalloïdes présents dans les sols :

- Caractérisation minéralogique de la matrice polluée : diffraction des rayons et Microscopie à balayage couplée avec une détection des rayons X par microsonde électronique (MEBEDS),
- Caractérisation de la nature des liaisons sol-polluants inorganiques par des méthodes chimiques d'extractions séquentielles,
- Caractérisation de la remobilisation des polluants inorganiques dans différents contextes chimiques (agents chélatants, pH, Potentiel redox Eh).

Il s'agit de caractérisations complémentaires de la matrice et de sa pollution qui peuvent être relativement complexes et coûteuses nécessitant dans la plupart des cas les services d'un laboratoire spécialisé. S'ils ne sont pas indispensables pour réalisation de l'étape 2 des essais d'orientation (essais de bio-extraction), les essais de caractérisation doivent fournir

les informations nécessaires pour déterminer la voie biologique permettant d'établir a priori les conditions optimales d'extraction des polluants inorganiques cibles. Par ailleurs, les modifications physico-chimiques du sol par les agents biologiques peuvent générer des effets non désirés ou incontrôlés tels que la formation d'espèces toxiques dans la phase liquide ou dans la phase gazeuse. Ce risque doit être pris en compte à partir de cette première étape d'orientation de la technique de bio-lixiviation.

2.1.1. CARACTERISATION MINERALOGIQUE DE LA MATRICE POLLUEE

L'analyse minéralogique du sol et de sa pollution doit permettre la caractérisation des différentes phases solides présentes dans le sol et de localiser les polluants métalliques et métalloïdes dans les différentes phases solides.

Parmi les nombreuses techniques d'analyse, citons la diffraction des rayons X (DRX) permettant d'évaluer qualitativement les principales phases cristallines présentes dans le sol et la microscopie électronique à balayage (MEB) couplée à la détection EDS (Energy Dispersive Spectrum, détection des rayons X émis) permettant de mettre en évidence certains éléments (polluants inorganiques majoritaires) à la surface des grains. Le principe et le protocole de la diffraction des rayons X, du MEB couplé à la microsonde électronique EDS sont détaillés dans le chapitre concernant les essais d'orientation des procédés de tri par des techniques physiques et physico-chimiques.

Ces techniques doivent fournir une information sur la nature du fond géochimique (présence d'oxydes, de sulfures, etc....) de la matrice sol et sur la forme et la localisation des polluants majoritaires sur les phases solides du sol. Signalons que ces techniques qui font appel à des outils analytiques relativement sophistiqués et coûteux ne sont pas adaptées à la caractérisation minéralogique des polluants inorganiques minoritaires. Par conséquent, leur mise en oeuvre doit être justifiée par un avis d'expert souhaitant des informations complémentaires lui permettant d'affirmer ou de confirmer certains résultats.

2.1.2. CARACTERISATION DE LA SPECIATION DES POLLUANTS METALLIQUES ET METALLOÏDES : EXTRACTIONS SEQUENTIELLES

Principe

Les procédures d'extractions séquentielles sont mises en oeuvre pour déterminer la nature des liaisons des espèces métalliques dans le sol, chaque étape d'extraction étant supposé détruire l'agent liant le polluant et la fraction solide du sol. Il existe de nombreuses procédures d'extraction chimique séquentielle dont le nombre d'extractions et la nature des agents extractants varient selon la nature de la pollution et le type de matrice étudié. Le principe général des extractions séquentielles repose sur la réalisation d'attaques chimiques successives permettant chacune la dissolution de différentes fractions solides de nature différente. Les espèces chimiques libérées sont identifiées à chaque étape d'extraction.

Procédures d'extractions chimiques séquentielles

De nombreuses procédures d'extractions séquentielles ont été développées depuis quelques dizaines d'années dans l'objectif de localiser ou d'identifier la nature de liaisons sol-polluants inorganiques. On parle également de détermination de la spéciation des éléments

métalliques dans les sols. Il s'agit encore à l'heure actuelle essentiellement de procédures de détermination de la spéciation d'espèces cationiques.

La procédure de Tessier et al. [1] est l'une des procédures d'extractions séquentielles couramment utilisées pour l'analyse des éléments traces à comportement cationique. A partir de quatre extractions successives, la procédure Tessier permet de distinguer quatre fractions plus une fraction résiduelle :

Etape 1 : la fraction "échangeable" par extraction dans une solution électrolyte fort à pH neutre. Il s'agit ici de déterminer les espèces métalliques liées à la phase solide du sol par des liaisons de faible énergie (par exemple, liaisons ioniques facilement réversibles).

Etape 2 : la fraction liée aux carbonates par l'attaque d'acide faiblement complexant (acide acétique) permettant d'extraire les espèces métalliques précipitées avec les carbonates.

Etape 3 : la fraction liée aux oxydes de fer et de manganèse par extraction dans une solution de réactifs réducteurs ou complexants (dithionite, hydroxylamine, acétate...).

Etape 4 : la fraction liée à la matière organique par attaque avec des réactifs oxydants (H₂O₂) qui vont contribuer à dégrader et/ou solubiliser la matière organique du sol, les espèces métalliques associées étant ainsi libérées dans la phase liquide.

Etape 5 : la fraction résiduelle qui n'est dissoute que par des acides forts et peut contenir des silicates, certains oxydes et la matière organique résistante. La fraction résiduelle peut être déduite par différence entre les quantités obtenues lors des quatre étapes précédentes ou bien par une dernière dissolution par un mélange d'acides forts (mélange acide fluorhydrique et eau régale).

Depuis 1998, le Bureau Commun des Références (BCR) Européen préconise l'utilisation d'une procédure inspirée de la méthode de Quevauviller et al. [2]. Les trois extractions successives permettent de distinguer trois fractions :

Etape 1 : la fraction "échangeable » et acido-soluble, fraction libérable dans un contexte légèrement acide,

Etape 2 : la fraction réductible, fraction libérable dans un contexte réducteur (utilisation de l'hydrochlorure d'hydroxylamine),

Etape 3 : la fraction oxydable, fraction libérable dans un contexte oxydant (utilisation de peroxyde d'hydrogène). Tout comme pour la procédure Tessier, et en complément de la procédure de Quevauviller, la fraction résiduelle peut être dissoute par des acides forts (eau régale et acide fluorhydrique).

Valeurs guides relatives aux extractions chimiques séquentielles

L'interprétation des résultats des essais d'extractions chimiques séquentielles repose essentiellement sur la détermination de la proportion des métaux liés à la fraction résiduelle.

Théoriquement, elle correspond à la pollution inorganique difficilement traitable par voie biologique. Cette fraction résiduelle dépend bien évidemment du choix de la procédure d'extraction séquentielle. Toutefois, il est souvent admis que les métaux présents dans la fraction résiduelle sont essentiellement sous la forme d'oxydes ou de silicates peu

attaquables en conditions douces. Par conséquent, une proportion importante (de l'ordre de 50 %) de la pollution métallique et métalloïde dans la fraction résiduelle peut être considérée comme un paramètre d'exclusion des procédés de bio-lixiviation.

2.1.3. CARACTERISATION DE LA REMOBILISATION DES POLLUANTS INORGANIQUES DANS DIFFERENTS CONTEXTES CHIMIQUES

Ces essais d'orientation reposent sur l'identification du contexte chimique facilitant la remobilisation (ou disponibilité chimique) des éléments polluants. Ils doivent être considérés comme un complément d'information à l'analyse globale de la pollution, de la minéralogie du sol et de la spéciation de la pollution. Par conséquent, ces essais complémentaires peuvent fournir des informations utiles sur le contexte biologique et chimique permettant de modifier la disponibilité des espèces polluantes majoritaires (force ionique, échange ionique, pH).

Il existe une littérature scientifique abondante sur l'utilisation de tests permettant de déterminer les mécanismes de liaisons entre les polluants inorganiques majoritaires et la phase solide du sol. L'interprétation des tests repose principalement sur la comparaison des taux d'extractions des polluants majoritaires en contexte chimique particulier à ceux obtenus lors d'un contact avec l'eau. Plusieurs tests complémentaires peuvent être envisagés. La plupart des tests ne sont pas normalisés et peuvent être adaptés en fonction de la pollution.

Force ionique, échanges ioniques et chélation

Il convient de citer comme exemple la procédure de Gupta et coll. [3] pour la détermination quantitative en trois extractions simples (non successives) des fractions solubles, mobiles et mobilisables, respectivement à l'eau déminéralisée, au CaCl₂ (0,01 M) et à l'EDTA (Ethylène Diamine Tetraacétique Acide, 0,05 M tamponnée à pH 7). L'extraction à l'eau déminéralisée permet la quantification de la fraction soluble, c'est à dire la fraction dissoute lors du contact avec agitation de la suspension de sol dans l'eau déminéralisée. L'extraction avec la solution de chlorure de calcium vise à quantifier la partie active de la pollution (fraction mobile) et représenter au mieux les conditions intrinsèques du sol en terme de force ionique. L'extraction à l'EDTA doit permettre l'évaluation de la mobilisation des espèces inorganiques au comportement cationique. D'autres agents chélatants peuvent être également utilisés tels que les citrates, les oxalates.

Cette procédure peut être complétée par un test permettant d'évaluer spécifiquement la mobilité des espèces au comportement anionique tels que les chromates ou les arsénates. C'est le cas par exemple de la procédure utilisée par le BRGM inspirée de celle développée par Daus et al. [4] qui permet de distinguer l'adsorption et la coprécipitation de l'arsenic avec les (oxy)hydroxydes de fer ou de manganèse. Citons également un test développé par Matera [5] permettant d'évaluer la réversibilité de l'adsorption de l'arsenic sur les (oxy)hydroxydes par échanges avec des anions compétiteurs (phosphates par exemple).

Test batch de sensibilité au pH et potentiel Redox

- **Influence du pH**

L'essai de détermination de l'influence du pH sur la lixiviation fait l'objet du projet de norme PR NF EN 14429 (Juillet 2002). Ce test permet d'évaluer d'une part la capacité du sol à neutraliser une quantité d'acide ou de base connue et, d'autre part, de déterminer le

potentiel de mobilisation (relargage et solubilisation) des polluants inorganiques présents dans un matériau granulaire en fonction du pH. L'essai est effectué sur échantillon de matériau broyé si nécessaire puis tamisé à 2 mm mis en suspension dans des solutions d'acide (HNO₃) ou de base (NaOH) selon un ratio liquide/solide L/S égal à 10 pendant une durée permettant l'atteinte de conditions stationnaires. Les pH de solution sont en principe compris entre 4 et 12 unités. Ce protocole peut être volontairement modifié afin de couvrir une plus large gamme de pH (pH de 1 à 13). Après vérification du pH les échantillons liquides sont filtrés sur membrane d'acétate de cellulose de diamètre de pore de 0,45 µm avant analyse par ICP-AES des principaux métaux et métalloïdes extraits.

- **Potentiel redox**

Dans l'attente de l'établissement d'une procédure d'essai standardisée permettant l'étude de l'influence du potentiel d'oxydo-réduction sur le comportement des polluants du sol, la procédure d'essai proposée par le SEPA / COGEMA dans le cadre des essais d'évaluation de la stabilisation physico-chimique pourra être employée (cf. le cahier des charges pour caractérisation et essais en vue de l'application d'un traitement par stabilisation physicochimique).

2.2. ESSAIS DE BIO-LIXIVIATION

2.2.1. PRINCIPE

L'objectif des essais de bio-lixiviation est de démontrer à l'échelle du laboratoire s'il existe, pour le sol à traiter, un potentiel de traitement par extraction par voie biologique directe ou indirecte des métaux et/ou métalloïdes présents dans le sol. Pour cela, rappelons que la détermination préalable de la nature, des concentrations et de la spéciation des polluants inorganiques est fortement conseillée pour choisir d'une part la voie métabolique de bio-lixiviation paraissant a priori adéquate et, d'autre part, éviter tout effet indésirable telle que la formation d'espèces toxiques à la suite des modifications physico-chimiques de la matrice sol.

Les essais de bio-lixiviation en Batch doivent permettre de définir les conditions expérimentales garantissant le meilleur rendement d'extraction biologique. Les essais en triplicats sont effectués sur des échantillons de sol mis en suspension dans un milieu nutritif. Les principaux paramètres à considérer sont les suivants :

- La température d'incubation : pour la majorité des micro-organismes présents dans les sols et susceptibles d'être impliqués dans la bio-lixiviation aérobie ou anaérobie, la température optimale d'incubation est de l'ordre de 28-30 °C.
- Les conditions d'aération : aérobies ou anaérobies. Le choix des conditions d'incubation aérobies ou anaérobies dépend du type de métabolisme mis en jeu pour la bio-lixiviation des espèces polluant le sol.
- La source de carbone : La nature de la source de carbone dépend des propriétés trophiques des micro-organismes mis en jeu (carbone organique pour les bactéries hétérotrophes telles les bactéries sulfato-réductrices ou bien carbone inorganique pour les bactéries autotrophes tels que les thiobacilles),
- L'apport en soufre : dans le cas où une bio-lixiviation aérobie indirecte est envisagée si les polluants inorganiques sont majoritairement sous forme adsorbés ou

coprécipités sur des (oxy)hydroxydes, il est nécessaire d'envisager un apport de soufre S° comme source d'électrons (bactéries thio-oxydantes),

- La composition minérale du milieu de culture : la présence des éléments minéraux de base tel que N, P, K, Ca et S ainsi que les oligo-éléments Mg, Mn etc... est nécessaire pour garantir les conditions optimales de croissance des souches bactériennes capables de bio-lixivier les métaux et les métalloïdes. Signalons cependant que les sols étant naturellement riches en oligo-éléments, un apport est généralement facultatif.
- Les micro-organismes : microflore endogène du sol ou apport d'un inoculum exogène (souche pure ou bien population mixte de bactéries sélectionnées),
- La solubilité des polluants inorganiques : il est nécessaire d'évaluer la solubilité des métaux à extraire dans la phase liquide contenant les nutriments et substrats bactériens, les sous-produits du métabolisme, et les minéraux en équilibre avec la phase solide. Cette solubilité va déterminer l'efficacité du traitement en fonction du taux de solide. Elle permettra de s'orienter vers un traitement sans remplacement de la phase liquide, si la solubilité est élevée ou vers un traitement avec remplacement du milieu nutritif si la solubilité est faible. Elle pourrait également orienter le traitement vers un procédé combiné extraction chimique + biologique (ajout d'EDTA par exemple).

La température n'a pas été retenue comme paramètre d'orientation à tester dans ce programme. L'effet de la température sur les processus biologiques est en effet bien connu. Les vitesses des réactions biologiques sont approximativement doublées lorsque la température est augmentée de 10 °C dans certaines limites. Le choix de la température de mise en œuvre du procédé relève donc d'un compromis entre l'accélération induite des processus biologiques et le bilan énergétique de l'installation industrielle considérée. Les essais de laboratoire ont été réalisés à la température optimale de croissance des micro-organismes mésophiles de 30 °C.

2.2.2. PROCEDURE D'ESSAI

Les milieux de travail sont préparés avec des produits de qualité industrielle, dans de l'eau de ville, de façon à travailler dans des conditions proches des conditions de traitement réelles. La concentration en source de carbone et d'énergie est fixée à 50 mM. L'azote est apporté sous forme d'urée (entre 0,1 et 1 g.L-1), le phosphore sous forme d'engrais (DAP, entre 0 et 1 g.L-1), le magnésium et le potassium respectivement sous forme de MgCl₂ (entre 0 et 1 g.L-1) et KOH (entre 0 et 1 g.L-1). Aucune vitamine n'est ajoutée. Le pH est ajusté à 7 avec HCl et/ou NaOH.

Le substrat organique (une des variables à tester) est apporté à raison de 50 mM.

Le sol à traiter est réparti dans des flacons sérum de 250 mL à septum. Le taux de solide rapport solide/liquide est une variable permettant de tester la solubilité des polluants. Il peut être compris, par exemple, entre 1 et 20 grammes de solide pour 100 mL de milieu.

Avant d'être réparti dans les flacons, les milieux pour essais anaérobie sont débarrassés de toute trace d'oxygène. Ils sont portés à ébullition, dans un ballon, sous flux d'azote ou d'argon.

Le ballon est équipé d'un condenseur pour limiter l'évaporation. Après 15 min d'ébullition, 200 mg.L⁻¹ de cristaux de Na₂S sont ajoutés. Le milieu est alors refroidi rapidement dans de la glace et sous flux d'azote ou d'argon. Il est ensuite distribué dans les flacons à sérum contenant le sol à traiter, sous flux d'azote ou d'argon, à raison de 100 mL par flacon de 250 mL.

Les flacons sont équipés d'un bouchon à septum, à travers lequel un tube inox de 0,5 mm de diamètre, plongeant jusqu'au fond du flacon, permet de faire buller l'azote ou l'argon dans le milieu. Les gaz sortent par une aiguille stérile L/d 25/0,6 (mm), insérée à travers le septum. Le milieu est injecté dans les flacons, dans lequel circule un flux d'azote ou d'argon, avec une seringue de 20 mL. Lorsque les 100 mL de milieu ont été injectés, le bullage d'azote ou d'argon est maintenu pendant 5 minutes, puis l'aiguille de sortie des gaz est retirée et l'injection d'azote ou d'argon est maintenue jusqu'à ce que la surpression dans le flacon atteigne 0,5 bar.

Les flacons sont incubés en condition statique dans une enceinte thermostatée à 25 °C.

Des prélèvements sont effectués quotidiennement au cours de la première semaine, puis une fois par semaine par la suite. Après décantation du solide, un volume de surnageant égal à 5 mL est prélevé à la seringue à travers le septum. Cet échantillon est filtré (sur filtre de nitrate de cellulose de porosité égale à 0,45 µm) et placé dans un flacon de prélèvement contenant 100 µL d'HCl, puis le principal polluant métallique, ou les deux principaux polluants métalliques, sont dosés au spectrophotomètre d'absorption atomique. En fin d'expérience, un dénombrement des bactéries au microscope optique et des mesures de pH et de potentiel redox sont effectués.

2.2.3. VALEURS "GUIDES"

L'efficacité du traitement est essentiellement évaluée sur la base du taux d'extraction des métaux en solution en fonction du temps sur au maximum 3 mois d'incubation. D'une manière générale, le taux d'extraction est calculé à partir des concentrations initiales en polluants inorganiques dans la matrice à traiter. Dans le cas des essais d'extraction biologique en batch sans renouvellement du milieu nutritif, une solubilisation des polluants majoritaires inférieure à 20 % de la teneur initiale sera considérée comme un paramètre d'exclusion de la technique.

L'analyse du sol après bio-lixiviation permet d'effectuer un bilan matière et d'estimer les éventuelles pertes en polluants au cours des essais batch.

3. Caractérisation en vue de l'évaluation des performances

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

4. Evaluation des performances

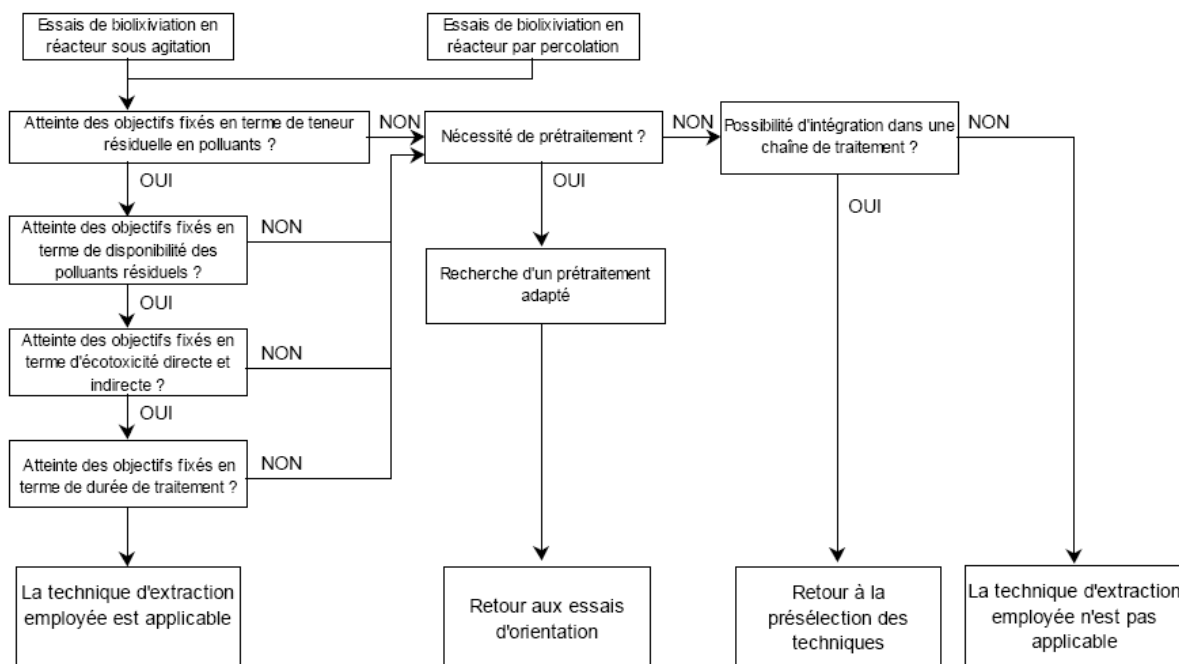


Figure 2 : Procédure d'essais d'évaluation des performances d'un traitement de lavage par biolixiviation

4.1. ESSAIS DE BIO-LIXIVIATION

4.1.1. ESSAIS SOUS AGITATION

Les essais sont réalisés dans des réacteurs de 20 litres (volume utile), équipés d'un axe d'agitation portant deux hélices. Ces réacteurs sont équipés d'une tige en acier inox permettant d'injecter un gaz sous l'axe d'agitation. Un flux d'argon compris entre 50 et 150 L/h est injecté en permanence dans les réacteurs pendant 24 h, de façon à faciliter l'établissement des conditions anaérobies. Le potentiel redox et le pH sont suivis en continu.

Mise en route du test

Les réacteurs sont nettoyés avec de l'acide sulfurique, puis du sable. Le sol est quarté jusqu'à obtenir des lots de 4 kg. De l'eau (17,5 litres) est placée dans les réacteurs et agitée à la vitesse minimum. De l'argon est injecté dans les réacteurs (50 L/h). Le sol (4 kg) et les nutriments (K₂HPO₄ 7 g, NH₄Cl 1,4 g, MgCl₂, 11,8 g, glucose 26 g) sont ajoutés dans les réacteurs. Les pulpes sont agitées pendant 30 min, puis le premier prélèvement de 100 mL est effectué. Les valeurs de pH et Eh sont notées. Un second prélèvement de 20 mL est effectué dans chaque réacteur. Ces prélèvements sont injectés dans des tubes de centrifugation remplis d'azote, et centrifugés sous azote pendant 15 minutes à 4000 tours par minute. Les surnageants sont ensuite filtrés à 45 µm dans un flacon contenant 100 µL d'HCl. Cette acidification permet d'éviter la précipitation des métaux à doser. Lorsque les prélèvements ont été effectués, l'agitation est stoppée afin de faciliter l'établissement des conditions anaérobies.

Suivi de l'essai

Les valeurs de pH et Eh sont quotidiennement relevées dans les réacteurs non agités. L'agitation est mise en route pendant 1 minute. Les nouvelles valeurs de pH et Eh sont relevées. Un prélèvement de 20 mL est effectué pour effectuer l'analyse des métaux, et traité de la même façon que lors du démarrage de l'expérience : centrifugation sous azote et filtration dans un flacon contenant de l'HCl.

Pour le suivi spécifique du temps de résidence, 100 mL de pulpe sont prélevés dans R1, filtrés sur Buchner, rincés et séchés à 50 °C. Le solide est en suite analysé pour détermination des concentrations en métaux. Par ailleurs, les valeurs de pH et Eh sont enregistrées en continu par un système d'acquisition de données.

Arrêt de l'essai

Le bullage d'argon en fond de réacteurs est stoppé. Un balayage d'argon est effectué en surface. Les réacteurs sont laissés dans ces conditions de décantation pendant 4 heures. Un prélèvement classique est effectué pour dosage des métaux en solution. Le surnageant des réacteurs est pompé avec précaution, avec une canne plongeante dont l'enfoncement suit la chute du niveau de liquide dans le réacteur. Dès que des fines de sol apparaissent, le pompage est stoppé. Pour chaque réacteur, un prélèvement de 500 mL de surnageant est placé dans des bols de centrifugation dégazés à l'azote. Ces échantillons sont centrifugés 30 minutes à 4000 tours/mn, puis filtrés à 0,45 µm pour le dosage des acides organiques, et des métaux.

Le contenu des réacteurs est récupéré par la vanne de fond dans un fût de 50 litres. Un bullage d'azote dans ce fût est installé. Les réacteurs sont rincés avec un volume minimum d'eau. Les boues sont filtrées sur Buchner. Un rinçage à l'eau est effectué pour chaque gâteau. Le volume d'eau utilisé pour le rinçage est noté. Les gâteaux sont séchés à 50 °C, puis rassemblés, mélangés, quartés. Un échantillon de solide est conservé pour analyses.

4.1.2. ESSAIS PAR PERCOLATION

Préparation de la colonne

Une colonne PVC de 15 cm de diamètre et 150 cm de hauteur est utilisée. Un feutre est placé en partie basse pour retenir le sol dans la colonne. Une masse de 25 kg de sol est placée dans la colonne. Un dispositif en position basse est installé pour pomper le liquide en flux ascendant dans la colonne. Un couvercle est disposé en position haute, équipé d'un tuyau pour soutirer le liquide. Les tuyaux d'alimentation et de soutirage sont raccordés à une pompe péristaltique à faible débit.

Préparation du milieu

La composition du milieu de base est la suivante :

Urée, 4,2 g , DAP (engrais Di-Amino-Phosphate), 4,6 g, MgCl₂ · 6 H₂O, 8 g, KOH, 5 g, eau de ville, 20 litres. Le pH est ajusté à 7 avec NaOH ou HCl. Les substrats carbonés (éthanol, méthanol, acétate) sont ajoutés au dernier moment : éthanol 3 mL/L, méthanol 2 mL/L, acétate de sodium 6,8 g/L.

Mise en route de l'essai

Un bullage d'azote dans le fût d'alimentation est maintenu pendant 24 h avant le début de l'expérience. La colonne est noyée avec du milieu de culture pompé en flux ascendant à un débit de 500 mL par heure. Lorsque le niveau est à 10 cm au-dessus du sol, on met en route le dispositif de soutirage. Le pompage de sortie est installé à 10 cm au-dessus du sol. Un « épi » à électrodes est installé dans le flux de sortie. Lorsque l'épi est plein de liquide, on ajuste le débit initial à 10-20 mL par heure.

Suivi de l'essai

Des échantillons sont prélevés quotidiennement pour analyse des métaux et du sulfate. Ils sont prélevés à la seringue dans l'eau surnageante, en faisant plonger un peu le tuyau de soutirage. Ils sont immédiatement filtrés à 0,45 µm dans un flacon contenant 0,1 mL d'HCl concentré.

Le suivi quotidien comporte également un relevé des valeurs de pH, Eh, conductivité, température et sulfures données par les sondes.

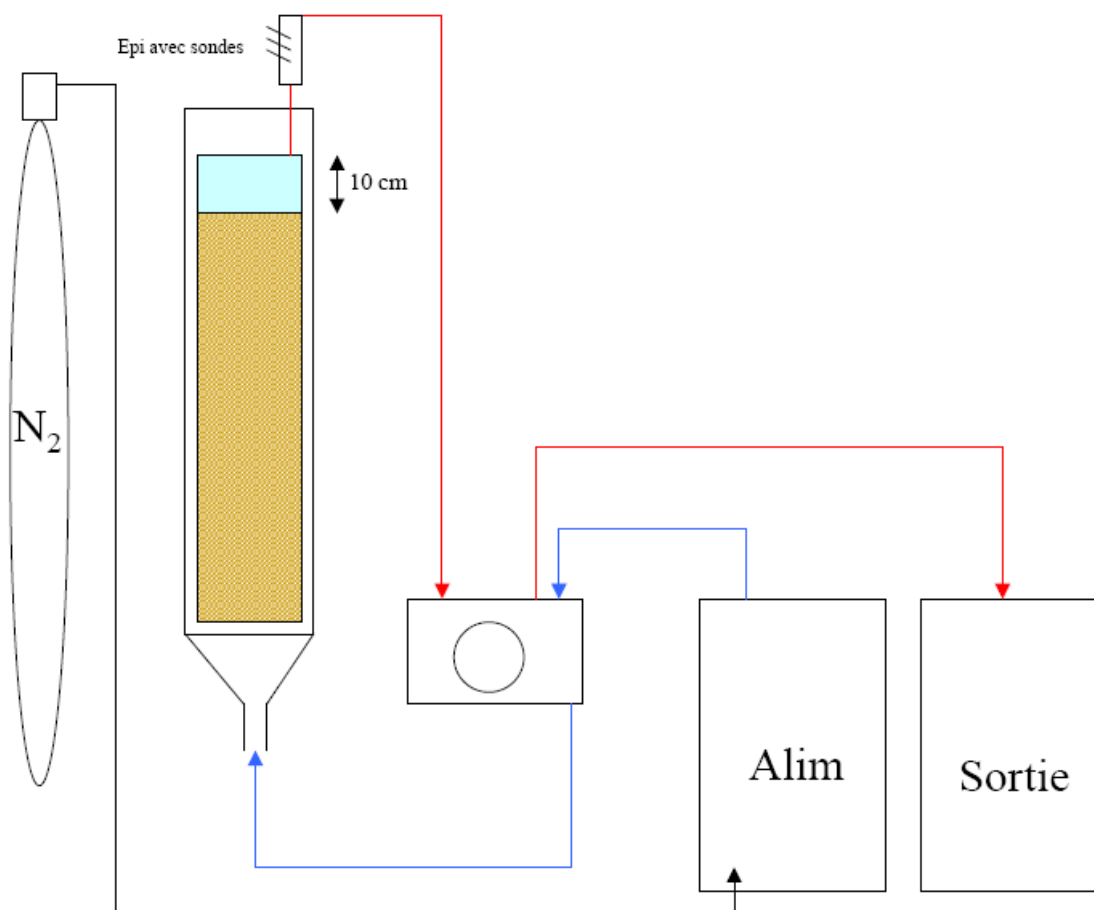


Figure 3 : Dispositif expérimental de bio-lixiviation par percolation

4.2. PARAMETRES D'EVALUATION

4.2.1. PARAMETRE « PHASE DE LATENCE »

Dans le cas de la bio-lixiviation anaérobie, les tests d'orientations « de pailasse » sont effectués dans des fioles étanches sous atmosphère d'azote. Les conditions réductrices sont donc établies dès le début de l'essai. Par contre, lors d'un traitement à grande échelle, l'établissement des conditions anaérobies est plus délicat à réaliser. Le sol est mis en contact avec un milieu de culture dans des conditions favorisant la consommation de l'oxygène dissous et la chute du potentiel redox. Le temps nécessaire à l'établissement des conditions réductrices est le premier paramètre d'évaluation de la faisabilité du traitement.

4.2.2. PARAMETRE « CINETIQUE D'EXTRACTION DU POLLUANT »

Dans les conditions du test d'évaluation des performances à l'échelle pilote, on calculera la vitesse d'extraction du polluant métal ou métalloïde dans la phase liquide. Cette vitesse et la concentration initiale en polluants dans le sol permettront d'estimer la durée de traitement.

4.2.3. PARAMETRE « TAUX D'EXTRACTION FINAL »

Dans les conditions du test d'évaluation des performances à l'échelle pilote, on effectuera une analyse chimique finale du sol afin de déterminer le taux d'extraction du polluant. Ce taux d'extraction sera comparé à l'objectif de traitement.

4.3. VALEURS "GUIDE"

À l'issue des essais pilote, l'évaluation des performances de la traitabilité par bio-lixiviation est faite sur la base du taux d'extraction du polluant, de la longueur de la phase de latence et de la vitesse d'extraction, afin de vérifier l'atteinte des objectifs en terme de teneur résiduelle en polluant et de durée de traitement.

5. Synthèse des résultats

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

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

6. Références

- [1] Tessier A., Campbell P., Bisson M. (1979). Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analytical Chemistry*, 51, 7, pp. 844-851.
- [2] Quevauviller P., Rauret G., Lopez-Sanchez J.F., Rubio R., Ure A.M., Muntau H. Certification of trace metal extractable contents in a sediment reference material (CRM 601) following a three step sequential extraction procedure, 1998.

[3] Gupta S.K., Vollmer M.K., Krebs R.. The importance of mobile, mobilisable and pseudototal heavy metal fractions in soil for three-level risk assessment and risk management. The Science of the Total Environment, (1996), 178, pp. 11-20.

[4] Daus B., Weiss H., Wennrich R. (1998) - Arsenic speciation in iron hydroxyde precipitates. Talanta 46 (1998) 867-873.

[5] Matera V. (2001) -Etude de la mobilité et de la spéciation de l'arsenic dans les sols de sites industriels pollués : estimation du risque induit- Thèse Pau 27/04/2001