

Utilisation de biosurfactants (rhamnolipides) pour le traitement d'un sol sableux contaminé par le pyrène

Essais en colonnes de sol

Bordas F.⁽¹⁾⁽²⁾ et Lafrance P.⁽¹⁾

(1) INRS-Eau, Université du Québec - 2800 rue Einstein, C.P. 7500, Sainte-Foy, Québec, Canada, G1V 4C7

(2) Adresse actuelle: Laboratoire des sciences de l'eau et de l'environnement, Université de Limoges.

Faculté des Sciences, 123 avenue Albert-Thomas, 87060 Limoges CEDEX, France

RÉSUMÉ

L'utilisation de tensioactifs biologiques est une voie prometteuse pour la dépollution des sols pollués par les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). La capacité d'un mélange de biosurfactants produits par une souche de *Pseudomonas aeruginosa* à mettre en solution et à favoriser la migration du pyrène avec l'eau a été étudiée à partir d'expérimentations menées en colonnes de sol artificiellement contaminé. Les biosurfactants étudiés ont montré une faible rétention sur le sol pouvant être attribuée à leur caractère anionique. Pour des concentrations supérieures à la Concentration Micellaire Critique (CMC) effective, une forte mobilisation du pyrène est obtenue après injection de la solution de biosurfactants. Cette mobilisation est rapide (entre 1 et 2 volumes de pore après l'injection) mais elle ne dépasse pas 70 % du pyrène total, ce qui montre la présence d'une fraction de ce HAP difficilement extractible. En conditions dynamiques, la masse de pyrène mobilisé croît de façon linéaire avec la concentration en biosurfactants injectés à partir de la CMC. D'autre part, l'injection de solutions de biosurfactants en concentrations supérieures à la CMC et contenant une concentration en pyrène proche de sa solubilité dans l'eau a montré l'aptitude de ces composés à faciliter le transport du pyrène à travers le sol. De tels résultats montrent le potentiel des biosurfactants dans une optique de dépollution des sols contaminés par les HAP. L'utilisation de solutions de biosurfactants en concentrations supérieures à leur CMC permettrait d'augmenter grandement la mise en solution et la migration du pyrène dans le sol, et cela sans affecter de façon significative la matière organique du sol.

Mots clés

Sol, biosurfactants, pyrène, mobilisation, transport.

SUMMARY

THE USE OF BIOSURFACTANTS (RHAMNOLIPIDS) FOR THE REMEDIATION OF A PYRENE

Contaminated sandy soil - A soil column study

The use of biosurfactants is a promising way for the remediation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) contaminated soils. The ability of a biosurfactants mixture produced by a strain of *Pseudomonas aeruginosa* to solubilize and enhance the migration of pyrene with water was studied from artificially contaminated soil column experiments. These biosurfactants showed a weak retention on the soil which could be attributed to their anionic character. Above the effective Critical Micellar Concentration (CMC), a great mobilization of pyrene was obtained after the injection of the biosurfactants solution. This mobilization takes place rapidly (between 1 and 2 pore volumes after the injection) but reach an asymptotic value of 70 % of the total pyrene applied, which show the presence of a less easily extractable fraction of this PAH. In dynamic conditions and above the CMC, the quantity of the recovered pyrene increases linearly with the concentration of the biosurfactants. When using uncontaminated soil, the injection of solutions containing both biosurfactants (in concentration greater than the CMC) and pyrene (in concentration near its water solubility) showed the ability of these compounds to promote the transport of pyrene through the soil. Such results demonstrate the potential of these biosurfactants for the remediation of soils contaminated by PAH. The use of biosurfactants solution in concentration greater than their CMC would permit to increase the solubilization and the migration of pyrene in the soil. This soil treatment only slightly affect the natural soil organic matter.

Key-words

Soil, biosurfactants, pyrene, mobilization, transport.

RESUMEN

USO DE UN BIOSURFACTANTE (RHAMNOLIPIDOS) PARA EL TRATAMIENTO DE UN SUELO ARENOSO

CONTAMINADO POR EL PIRENO - Ensayo en columnas de suelo

El uso de tensioactivos biológicos es una vía prometedora para la descontaminación de los suelos contaminados por los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP). La capacidad de una mezcla de biosurfactantes producido por una cepa de *Pseudomonas aeruginosa* a solubilizar y a favorecer la migración del pireno con el agua fue establecida a partir de experimentaciones conducidas en columnas de suelo artificialmente contaminado. Los biosurfactantes estudiados mostraron una pequeña retención en el suelo que puede ser atribuida a su carácter aniónico. Para concentraciones superiores a la Concentración Micelaria Critica (CMC) efectiva, una fuerte movilización del pireno se obtuvo después de la inyección de la solución de biosurfactantes. Esta movilización es rápida (entre 1 y 2 volúmenes después inyección) pero no sobrepasa 70% del pireno total, lo que muestra la presencia de una fracción de esta HAP difícilmente extraíble. En condiciones dinámicas, la masa de pireno movilizado crece de manera lineal con la concentración en biosurfactantes inyectados a partir de la CMC. De otra parte, la inyección de soluciones de biosurfactantes en concentraciones superiores a la CMC y conteniendo una concentración en pireno cerca de su solubilidad en agua mostró una aptitud de estos compuestos a facilitar el transporte del pireno a través del suelo. Estos resultados mostraron el potencial de los biosurfactantes desde un punto de vista de descontaminación de los suelos contaminados por los HAP. El uso de soluciones de biosurfactantes en concentraciones superiores a su CMC permitiría de aumentar altamente la solubilización y la migración del pireno en el suelo, y esto sin afectar de manera significativa la materia orgánica del suelo.

Palabras claves

Suelo, biosurfactantes, movilización, transporte.

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sont des contaminants organiques produits lors de la combustion incomplète de matières organiques telles que le bois, la houille, le pétrole et divers déchets. Ils existent aussi naturellement dans les charbons et les pétroles. Le pyrène est un HAP de quatre anneaux classé comme l'un des polluants prioritaires par l'USEPA et la CEE. Bien que n'étant pas un agent cancérigène aussi actif que le benzo[a]pyrène (six anneaux), le pyrène est un agent mutagène fréquemment rencontré dans les sols contaminés (Zeng et al., 2000). Présents dans les sols à la suite de pratiques inadéquates d'entreposage de résidus industriels, de fuites de réservoirs souterrains, de ruptures d'oléoducs, la dégradation naturelle des HAP est lente (Laha et Luthy, 1991). Leur forte interaction avec les sols, principalement par adsorption sur la matière organique, ainsi que leur faible solubilité dans l'eau les rend peu biodisponibles et faiblement mobiles (Rao, 1990; Dzombak et Luthy, 1984; Karickhoff et al., 1979).

Les principales techniques de réhabilitation des sols pollués par les HAP sont l'incinération, la bioremédiation et le lessivage du sol. La stratégie adoptée dépendra du site, de son contexte géographique, du degré et du type de pollution. Parmi les différentes techniques envisagées, l'injection de solutions de composés tensioactifs, d'origine chimique ou biologique, augmente dans plusieurs cas la solubilité apparente des polluants et par conséquent leur mobilité dans les sols (Lafrance et Lapointe, 1998; McCray et Brusseau, 1998; Bai et al., 1997; Zhang et al., 1997). Dans le cas de traitements in situ, l'injection de ces tensioactifs dans le sol nécessite de bien contrôler leur dispersion dans le milieu souterrain de façon à éviter la migration en profondeur de composés indésirables. L'emploi de ces tensioactifs est notamment approprié pour le traitement ex situ dans lequel le sol est excavé, lessivé avec les tensioactifs puis remis en place. La concentration de la solution tensioactive utilisée est alors un paramètre déterminant pour l'efficacité de la mobilisation. Pour des concentrations supérieures à la Concentration Micellaire Critique (CMC) la mobilisation augmente avec la concentration du surfactant (Lafrance et Lapointe, 1998; Bai et al., 1998; Scheibenbogen et al., 1994). D'autres paramètres chimiques, tel que le pH et la force ionique, peuvent influencer sur l'efficacité du surfactant en modifiant la configuration des micelles et les interactions entre le surfactant et le sol (Bai et al., 1998; Ishigami et al., 1987; Champion et al., 1995).

Néanmoins, l'utilisation de tensioactifs chimiques peut avoir des conséquences négatives sur l'environnement, certains étant toxiques à doses élevées et faiblement biodégradables. Les surfactants biologiques offrent alors une alternative intéressante en présentant souvent un faible impact environnemental ainsi que des propriétés physico-chimiques comparables. Ils sont généralement biodégradables et non toxiques (Noordman et al., 1998; Parra et al., 1989; Syltatk et al., 1985). Parmi les biosurfactants, les rhamnolipides produits par des souches de *Pseudomonas aeruginosa* sont les plus étudiés. Ces bactéries sont fortement représentées dans les sols pollués et présentent

une forte activité émulsifiante (Arino et al., 1996; Van Dyke et al., 1993).

Actuellement, l'utilisation de biosurfactants dans des procédés de dépollution est principalement limitée par leur coût de production élevé (Mercade et Manresa, 1994). L'étude de nouvelles conditions de production (différentes souches et différents substrats) ainsi que de nouveaux biosurfactants est alors requise. Le but de cette étude est d'optimiser les conditions d'injection d'un mélange de biosurfactants produit par une souche de *Pseudomonas aeruginosa* récemment isolée pour remobiliser et transporter un HAP (le pyrène) en colonnes de sol saturé en eau et artificiellement contaminé.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Rhamnolipides et solutions tensioactives

Les rhamnolipides ont été produits par une souche de *Pseudomonas aeruginosa* utilisant le glycérol comme source de carbone. Cette souche a été isolée par Déziel et al. (1996) à partir d'un sol d'une sablière contaminée par des déchets pétroliers. La séparation des biosurfactants de la culture a été effectuée par précipitation en milieu acide et centrifugation. Ils ont été purifiés lors de trois cycles de solubilisation-précipitation dans l'eau ultrapure. Une purification seulement partielle a été recherchée pour se rapprocher d'éventuelles conditions d'une production industrielle. Après lyophilisation, le taux de rhamnose mesuré est de 38 % (p/p).

Les solutions de biosurfactants ont été préparées dans l'eau ultrapure et ajustées à pH 7 par ajout de NaOH. Les particules résiduelles insolubles ont été séparées par filtration à 1,6 µm (Whatman, microfibrilles de verre), elles représentent entre 0,1 et 1 % (p/p). Durant l'étape de filtration, seule une perte négligeable de biosurfactants a été notée.

Nature et contamination du sol

Il s'agit d'un sol sableux (horizon B) dont la composition est indiquée au tableau 1. Le taux de carbone organique a été déterminé par un analyseur NCS (Carlo Erba Instr., modèle NA 1500). Le pH_{H2O} et le pH_{KCl} du sol sont respectivement de 7,4 et 6,9

Tableau 1 - Composition du sol.

Table 1 - Soil composition.

Argile (%)	12,5
Limon (%)	8,1
Sable (%)	79,4
Carbone organique (%)	0,42

(méthodes AFNOR X 31-103 et X 31-104). Avant utilisation et analyse, le sol a été séché à 105 °C, tamisé (< 2 mm) puis homogénéisé. Il a été artificiellement contaminé avec 50 µg de pyrène par gramme de sol sec, ce qui permet de se situer entre les critères B (10 mg.kg⁻¹) et C (100 mg.kg⁻¹) d'évaluation du taux de contamination en pyrène (Menviq, 1996). Le pyrène a été choisi comme modèle de contaminant, ses quatre cycles aromatiques le rendant fortement adsorbable et peu biodégradable. La procédure de contamination est celle décrite par Roy et al. (1994). Le pyrène (marqué au ¹⁴C et non marqué) est dissous dans l'alcool éthylique anhydre. La solution obtenue est mélangée avec le sol (0,5 p/v) durant 60 minutes puis le solvant est évaporé pendant 3 heures. Plusieurs auteurs ont montré l'augmentation de la séquestration de composés organiques hydrophobes ajoutés au sol avec le temps de contact (Namhyun et Alexander, 1998; Hatzinger et alexander, 1995; Pavlostathis et Mathavan, 1992). Les expériences de mobilisation ont été effectuées moins de 12 heures après la contamination du sol. Dans ces conditions, il est vraisemblable que la mobilisation du pyrène à partir d'un sol fraîchement contaminé (cette étude) soit supérieure à celle qui pourrait être obtenue dans le cas d'un sol contaminé depuis plusieurs mois. En ce sens, les résultats obtenus durant cette étude ne sont pas directement extrapolables à une contamination ancienne.

Préparation des colonnes de sol

Des colonnes ont été réalisées en inox-teflon (longueur 6,5 cm, diamètre intérieur 2,2 cm). Afin d'obtenir une bonne homogénéité, le sol a été introduit par incréments de 3 mm tassés et légèrement striés en surface pour éviter une stratification du sol dans la colonne. La densité (ρ), le volume de pore (V_p) et la porosité (n) ont été déterminés par gravimétrie (tableau 2). Des filtres en fibre de verre ont permis de maintenir le sol dans la colonne (2,7 µm à l'entrée, 1,5 µm à la sortie). Afin de limiter le colmatage de la colonne, un

« piège à particules » en fibres de verre (fibres de 8 µm, Corning Glass Works) a été ajouté à la sortie de la colonne directement en contact avec le sol. Le volume mort engendré dans la colonne est alors inférieur à 0,06 mL.

Expériences en colonnes

Deux types d'expériences ont été menées : l'un visant la mobilisation de pyrène à partir du sol contaminé, et l'autre le co-transport dans un sol non contaminé de pyrène en présence des biosurfactants (tableau 2). Un écoulement en mode ascendant a été utilisé avec un débit imposé par une pompe péristaltique (Masterflex, modèle 7553-30) correspondant à une vitesse de pore (V) voisine de 18 cm.h⁻¹. Le débit a été contrôlé par gravimétrie : des variations inférieures à 2 % ont été observées au cours des expériences.

Les colonnes de sol ont été préalablement saturées en eau en injectant 15 volumes de pore d'eau ultrapure à une vitesse identique à celle des expériences. Ce conditionnement des colonnes réalise par la même occasion un lavage du sol qui est suffisant pour stabiliser les teneurs en pyrène et en carbone organique dissous (COD) à l'effluent de la colonne à des valeurs respectives de 120 µg.L⁻¹ et de 15 mg.L⁻¹. Ces fractions cumulées représentent respectivement moins de 1,5 % du pyrène initial et moins de 4 % du carbone organique total contenu dans le sol d'origine. Après cette stabilisation de la colonne, la solution de biosurfactants a été immédiatement injectée. Le facteur retard des biosurfactants est évalué par l'injection simultanée d'eau tritiée agissant comme traceur non réactif. Sa quantification se fait par calage d'un modèle de transport de traceur non réactif (solution analytique de l'équation unidimensionnelle du transport pour le cas d'une injection ponctuelle continue) avec les données expérimentales (Banton et Bangoy, 1997).

Tableau 2 - Paramètres physiques et hydrodynamiques des expériences en colonnes de sol.

Table 2 - Physical and hydrodynamic parameters used for the soil column experiments.

Biosurfactants g.L ⁻¹	Sol (g)	ρ (g.cm ⁻³)	n	V_p (mL)	V (cm.h ⁻¹)	Pyrène (mg.kg ⁻¹)
0,01 a	38,8	1,70	0,34	7,9	18,6	50,9
0,04 a	39,4	1,70	0,34	7,8	18,5	50,4
0,06 a	39,6	1,71	0,33	7,7	19,3	50,4
1,0 a	38,9	1,70	0,32	7,2	19,7	50,9
1,75 a	39,7	1,72	0,37	8,5	17,1	49,5
2,5 a	38,7	1,70	0,34	7,8	18,6	50,6
0,4 b	39,6	1,73	0,32	7,3	19,8	0
2,5 b	39,4	1,72	0,31	7,0	20,6	0

a : Essais pour la mobilisation du pyrène à partir de sol contaminé, b Essais pour le co-transport du pyrène avec les biosurfactants à travers un sol non contaminé.

Méthodes analytiques

Le ¹⁴C-pyrène et l'eau tritiée ont été mesurés à l'aide d'un compteur à scintillation liquide (Wallac, modèle 1414 WinSpectral) équipé d'une correction de quench automatique. Le dosage des biosurfactants a été fait par l'intermédiaire de celui du rhamnose suivant la méthode décrite par Chandrasekaran et Bemiller (1980). Le carbone organique libéré par le sol lors du pré-traitement (conditionnement) de la colonne a été mesuré après filtration à 0,45 µm (membrane en acétate de cellulose, Whatman) par un auto analyseur Technicon (modèle AA-II). Par la suite, les variations du COD à l'effluent des colonnes ont été suivies par la mesure de la densité optique (spectrophotométrie) à 400 nm. Les interférences du COD avec la détermination du rhamnose ont été vérifiées, une correction étant apportée si nécessaire. De même, la neutralité des biosurfactants lors de l'évaluation de la matière organique dissoute par mesure de la densité optique a été vérifiée.

Toutes les expérimentations ont été doublées, les résultats présentés sont alors la moyenne des deux répétitions.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Interaction entre les biosurfactants et le sol

L'interaction des biosurfactants avec le sol a été étudiée en réacteurs discontinus et en conditions dynamiques. À l'équilibre, l'isotherme d'adsorption obtenue (figure 1a) montre un comportement différent des biosurfactants vis-à-vis du sol suivant leur concentration en solution. Deux domaines de concentrations

apparaissent de part et d'autre de la valeur 0,4 g.L⁻¹. Dans chacun de ces 2 domaines, la quantité de biosurfactants adsorbés augmente linéairement avec la concentration en solution. Les valeurs respectives des coefficients de partition, qui correspondent aux pentes des isothermes (16 L.kg⁻¹ et 4 L.kg⁻¹), traduisent la faible interaction des biosurfactants avec le sol. Un tel comportement pourrait s'expliquer, comme l'ont suggéré certains auteurs (Adeel et Luthy, 1995; Edwards et al., 1994), par une association différente des molécules de biosurfactants avec le sol suivant leur concentration en solution. Pour les concentrations les plus faibles, les molécules de surfactant s'arrangeraient en monocouche à la surface du solide alors que pour les plus fortes concentrations, il se formerait une bicouche.

La faible rétention des biosurfactants a de plus été vérifiée durant leur transport à travers une colonne de sol non contaminé. Un retard de 0,4 volume de pore pour la courbe de fuite des biosurfactants a été observé comparativement à la courbe du traceur non réactif (figure 1b). Après injection de 10 volumes de pore de solution tensioactive la concentration relative en sortie de colonne se stabilise à 1. La perte de biosurfactants durant leur transport est alors nulle (dégradation, précipitation ou adsorption), la totalité des biosurfactants injectés se retrouvant à l'effluent de la colonne. Après l'arrêt de l'injection des biosurfactants (figure 1b), l'injection d'eau seule permet de récupérer, par mobilisation des composés, 96 % de la quantité totale des biosurfactants injectés. La faible adsorption ainsi observée des biosurfactants (faible facteur retard et rétention réversible) peut s'expliquer par le caractère anionique des rhamnolipides. Cette caractéristique en fait de bons candidats pour faciliter le transport des HAP car seule une faible pro-

Figure 1 - Adsorption des biosurfactants (BS) : (a) isotherme d'adsorption, (b) transport d'une solution de biosurfactants (2,5 g.L⁻¹) à travers un sol non contaminé. C et C₀ sont respectivement les concentrations à l'effluent et l'affluent de la colonne pour les BS (♦) et l'eau tritiée (◆).

Figure 1 - (a) sorption isotherm for biosurfactants (BS), (b) transport of biosurfactants (2.5 g.L⁻¹) in uncontaminated soil. C and C₀ are the effluent and the injected concentrations, respectively : biosurfactant, named BS (♦) and tritiated water (◆).

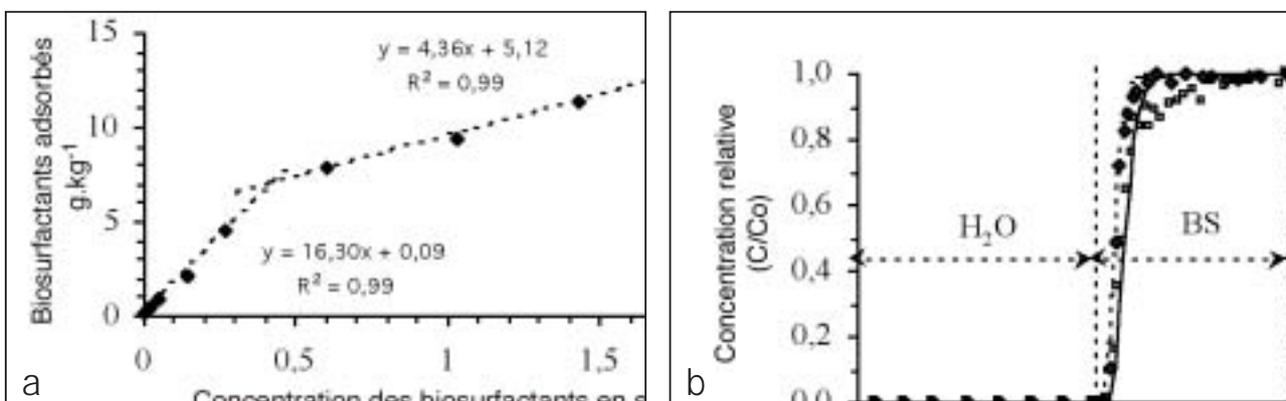
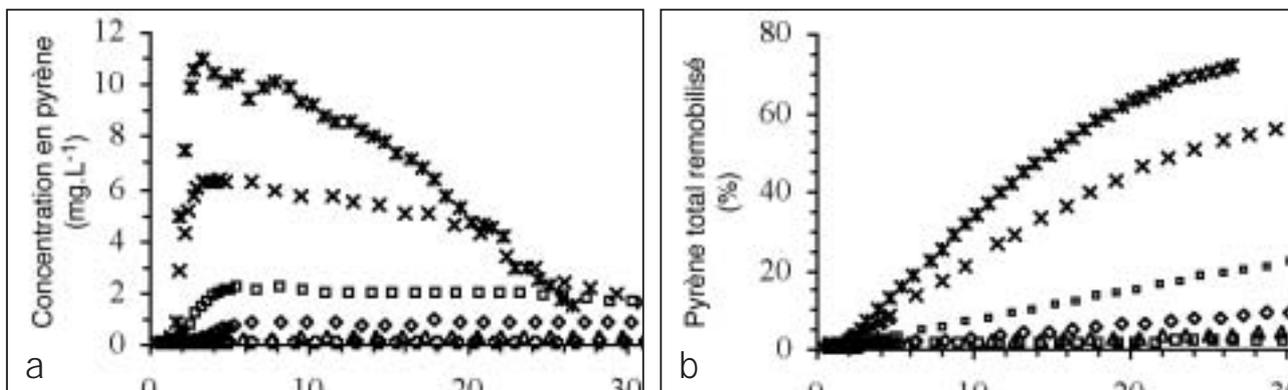


Figure 2 - Mobilisation du pyrène sous l'action de solutions de biosurfactants (BS) : (a) concentration en pyrène à l'effluent de la colonne, (b) pyrène total remobilisé (en % de la quantité initiale appliquée); 2,5 g.L⁻¹ (★); 1,75 g.L⁻¹ (x); 1,0 g.L⁻¹ (◻); 0,6 g.L⁻¹ (◊); 0,4 g.L⁻¹ (◑); 0,1 g.L⁻¹ (o).

Figure 2 - Mobilization of pyrene by biosurfactant (BS) solutions : (a) effluent concentration of pyrene, (b) cumulative pyrene recovery (% of the quantity applied); 2.5 g.L⁻¹ (★); 1.75 g.L⁻¹ (x); 1.0 g.L⁻¹ (◻); 0.6 g.L⁻¹ (◊); 0.4 g.L⁻¹ (◑); 0.1 g.L⁻¹ (o).



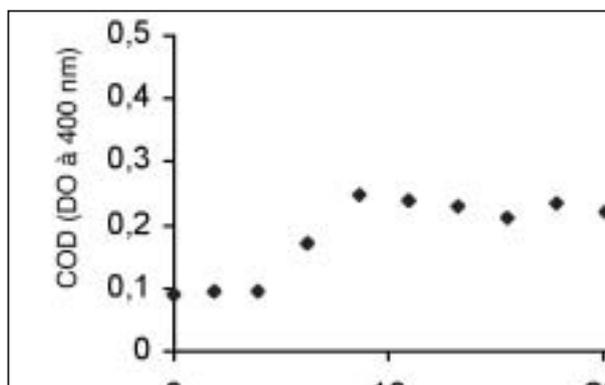
portion sera immobilisée lors d'une percolation à travers le sol.

Mobilisation du pyrène en colonne de sol contaminé

Des solutions de biosurfactants de concentrations croissantes ont été injectées à travers des colonnes de sol contaminé. Des concentrations en biosurfactants strictement inférieures à 0,4 g.L⁻¹ n'augmentent pas la mobilisation du pyrène (figure 2a). Dans ces conditions, le pyrène est mobilisé par mise en solution comme l'indique sa concentration en sortie de colonne (120 µg.L⁻¹) proche de sa solubilité dans l'eau pure (135 µg.L⁻¹). Après injection de 35 volumes de pore de solution tensioactive, seulement 2,5 % du pyrène total est remobilisé (figure 2b). À partir de 0,4 g.L⁻¹, la mobilisation du pyrène augmente avec la concentration de la solution de biosurfactants injectée. Cette mobilisation est rapide et a lieu après l'injection de 1 à 2 volumes de pore de solution tensioactive. Un maximum de concentration est atteint rapidement puis la concentration en pyrène à l'effluent diminue progressivement par épuisement du pyrène remobilisable (figure 2a). Pour une solution de biosurfactants de concentration 2,5 g.L⁻¹, la concentration en pyrène à l'effluent atteint 11 mg.L⁻¹, soit 80 fois sa solubilité dans l'eau pure. Cette mobilisation se fait par augmentation de la solubilité apparente du pyrène qui est pris en charge dans les micelles de biosurfactants. Pour cette concentration maximale étudiée (2,5 g.L⁻¹), le pyrène total remobilisé atteint 70 % après l'injection de 25 volumes de pore de solution tensioactive. Une fraction du pyrène apparaît alors réfractaire à la mobilisation dans les conditions expérimentales étudiées. Cette fraction de pyrène pourrait être plus fortement adsorbée sur le solide et/ou moins accessible aux biosurfactants. L'importance de cette fraction est alors susceptible de croître avec l'âge de la contamination et la migration lente du polluant à travers la structure tridimensionnelle du sol

Figure 3 - Effet des biosurfactants (2,5 g.L⁻¹) sur le COD à l'effluent de la colonne.

Figure 3 - Effect of biosurfactants (2.5 g.L⁻¹) on the DOC at the effluent of the column.



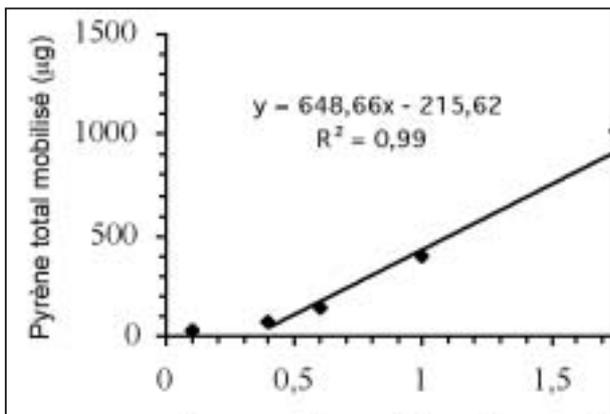
(Hatzinger et Alexander, 1995). Par ailleurs, il est possible que l'injection de solutions de concentrations supérieures à 2,5 g.L⁻¹ permette d'augmenter la fraction extractible du pyrène, cela restant néanmoins à vérifier.

Durant la mobilisation du pyrène, la concentration en COD à l'effluent de la colonne n'augmente que légèrement durant l'injection des biosurfactants (figure 3). Les biosurfactants ont donc un faible impact sur le carbone organique du sol, le pyrène seul paraissant être principalement mobilisé plutôt que d'éventuels complexes : matières organiques-pyrène.

La quantité totale de pyrène remobilisée (après injection de 25 volumes de pore de solution tensioactive) peut être reliée à la concentration en biosurfactants injectés. Au-delà d'une concentra-

Figure 4 - Corrélation entre le pyrène total remobilisé et la concentration des solutions de biosurfactants injectées.

Figure 4 - Correlation between the cumulative pyrene recovery and the concentration of the solution of



tion en biosurfactants correspondant à la CMC, une relation linéaire apparaît (figure 4). À partir de cette relation, la CMC effective des biosurfactants en conditions dynamiques peut être déterminée. Cette concentration, à partir de laquelle la présence de biosurfactants devient effective pour remobiliser le pyrène, est de 0,4 g.L⁻¹.

Co-transport du pyrène en colonnes de sol non contaminé

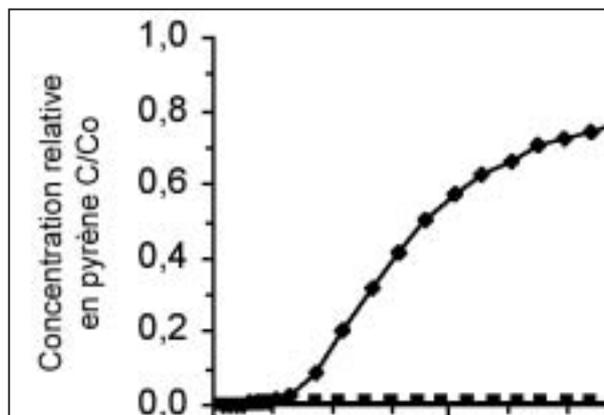
Des solutions de biosurfactants (0,4 et 2,5 g.L⁻¹) contenant du pyrène à une concentration proche de sa solubilité dans l'eau (100 µg.L⁻¹) ont été injectées à travers un sol non contaminé. Pour une concentration en biosurfactants égale à la CMC effective, le transport du pyrène n'est pas facilité (figure 5). Sa concentration est alors constante en sortie de colonne et voisine de sa solubilité dans l'eau. Pour une solution de biosurfactants concentrée (2,5 g.L⁻¹), la concentration en pyrène à la sortie de la colonne augmente progressivement avant de se stabiliser suite à une percolation de 40 volumes de pore. Une concentration relative de 0,8 est alors atteinte à l'effluent. Le transport du pyrène est ainsi grandement facilité par sa prise en charge à l'intérieur des micelles. Dans de telles conditions, ce HAP hydrophobe n'est presque plus retenu sur le sol.

Colmatage des colonnes

Durant les différentes expérimentations menées en colonnes de sol, l'injection des solutions de biosurfactants a entraîné, comparativement à l'injection d'eau seule, un colmatage prématuré des colonnes. Ce colmatage apparaît après l'injection de 50 à 60 volumes de pore de solution tensioactive, et cela d'autant plus rapidement que la concentration injectée est élevée. Le démontage des colonnes montre alors l'accumulation de fines particules en

Figure 5 - Co-transport du pyrène (100 µg.L⁻¹) dans des solutions de biosurfactants (0,4 g.L⁻¹ (●) et 2,5 g.L⁻¹ (◆) à travers un sol non contaminé.

Figure 5 - Co-transport of pyrene (100 µg.L⁻¹) with solutions of biosurfactants (0.4 g.L⁻¹ (●) and 2.5 g.L⁻¹ (◆) in uncontaminated soil.



sortie de colonne. Un tel comportement pourrait être causé par le caractère anionique des biosurfactants qui déstabiliseraient les particules du sol tel que les argiles et favoriseraient ainsi leur migration. Dans le cadre d'une application à l'échelle du terrain, un tel comportement devrait être pris en compte lors de l'évaluation de la faisabilité technique ou de la rentabilité du procédé.

CONCLUSION

L'injection de biosurfactants en solution, tel que ceux produits par *Pseudomonas aeruginosa*, est un moyen efficace pour remobiliser le pyrène dans un sol pollué. Lors de leur injection, seule une très faible proportion des biosurfactants est immobilisée par adsorption sur le sol. Cette faible interaction entre les biosurfactants et le sol, due à leur caractère anionique, leur confère de bonnes aptitudes pour solubiliser et transporter le pyrène dans un sol. En contre partie, les biosurfactants déstabilisent les particules de sol et entraînent la migration des fines particules telles que les argiles. Les biosurfactants deviennent efficaces pour solubiliser le pyrène lorsque leur concentration en solution dépasse leur CMC effective. Cette concentration, de 0,4 g.L⁻¹, a pu être déterminée en conditions dynamiques. A partir de la CMC effective, la quantité de pyrène remobilisée croît de façon linéaire avec la concentration (et donc la masse) des biosurfactants injectés. Dans les conditions expérimentales étudiées, une fraction du pyrène (30 %) apparaît réfractaire à la mobilisation. Cette fraction est plus fortement adsorbée sur le sol ou inaccessible aux biosurfactants. Une solution de biosurfactants de concentration supérieure à la CMC effective permet de plus de prendre en charge le pyrène à l'intérieur des micelles lors de son transport à travers un sol non contaminé. Ainsi

pour une solution de biosurfactants à 2,5 g.L⁻¹ et contenant 100 µg.L⁻¹ de pyrène, la concentration relative du pyrène en sortie de colonne se stabilise à 0,8 après l'injection de 40 volumes de pore de solution tensioactive. L'injection des biosurfactants, pour la mobilisation et le transport du pyrène, a peu d'impact sur la matière organique du sol. Cette conservation de la qualité de cette caractéristique naturelle du sol constitue un avantage lors de la dépollution de sites contaminés.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient particulièrement MM Éric Déziel et Richard Villemur (Centre de Microbiologie et Biotechnologie, INRS-Institut Armand Frappier, Université du Québec, Laval, Québec) pour avoir gracieusement produit et fourni les biosurfactants bruts provenant de la souche *Pseudomonas aeruginosa* 57SJ.

BIBLIOGRAPHIE

- Adeel Z., Luthy R. G., 1995 - Sorption and transport kinetics of a nonionic surfactant through an aquifer sediment. *Environ. Sci. Technol.*, 29(4), pp. 1032-1042.
- AFNOR, 1994 - Qualité des sols, AFNOR édition, 250 p.
- Arino S., Marchal R., Van de Castele J.-P., 1996 - Identification and production of a rhamnolipid biosurfactant by *Pseudomonas* species. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 45, pp. 162-168.
- Bai G., Brusseau M. L., Miller R. M., 1998 - Influence of cation type, ionic strength, and pH on solubilization and mobilization of residual hydrocarbon by biosurfactant. *J. Contaminant Hydrol.*, 30, pp. 265-279.
- Bai G., Brusseau M. L., Miller R. M., 1997 - Biosurfactant-enhanced removal of residual hydrocarbon from soil. *J. Contaminant Hydrol.*, 25, pp. 157-170.
- Banton, O., Bangoy L., 1997 - Hydrogéologie: multiscience environnementale des eaux souterraines. AUPELF- Presses Université du Québec, 460 p.
- Champion J. T., Gilkey J. C., Lamparski H., Retterer J., Miller R. M., 1995 - Electron microscopy of rhamnolipid (biosurfactant) morphology: effects of pH, cadmium, and octadecane. *J. Colloid Interface Sci.*, 170, pp. 569-574.
- Chandrasekaran E. V., Bemiller J. N., 1980 - [11] Constituent analysis of glycosaminoglycans, *Methods in carbohydrate chemistry*, eds R.L. Whistler and J.N. BeMiller, Academic Press, New-York, NY, USA, vol. VIII, pp. 89-96.
- Déziel E., Paquette G., Villemur R., Lépine F., Bisailon J.-G., 1996 - Biosurfactant production by a soil *Pseudomonas* strain growing on polycyclic aromatic hydrocarbons, *Appl. Environ. Microbiol.*, 62(6), pp. 1908-1912.
- Dyke V., Couture P., Brauer M., Lee H., Trevors J. T., 1993 - *Pseudomonas aeruginosa* UG2 rhamnolipid biosurfactants: structural characterization and their use in removing hydrophobic compounds from soil. *Can. J. Microbiol.*, 39, pp. 1071-1078.
- Dzombak D. A., Luthy R. G., 1984 - Estimating adsorption of polycyclic aromatic hydrocarbons on soils. *Soil Sci.*, 137(5), pp. 292-308.
- Edwards D. A., Adeel Z., Luthy R. G., 1994 - Distribution of nonionic surfactant and phenanthrene in a sediment/aqueous system. *Environ. Sci. Technol.*, 28(8), pp. 1550-1560.
- Hatzinger P. B., Alexander M., 1995 - Effect of aging of chemicals in soil on their biodegradability and extractability. *Environ. Sci. Technol.*, 29(2), pp. 537-545.
- Ishigami Y., Gama Y., Nagohara H., Yamaguchi M., Nakahara H., Kamata T., 1987 - The pH-sensitive conversion of molecular aggregates of rhamnolipid biosurfactant. *Chemistry Letters*, pp. 763-766.
- Karickhoff S. W., Brown D. S., Scott T. A., 1979 - Sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments. *Water Res.*, 13, pp. 241-248.
- Lafrance P., Lapointe M., 1998 - Mobilization and co-transport of pyrene in the presence of *Pseudomonas aeruginosa* UG2 biosurfactants in sandy soil columns. *Ground Water Monit. & Remed.*, 18(4), pp. 139-147.
- Laha S. et Luthy R. G., 1991 - Inhibition of phenanthrene mineralization by nonionic surfactants in soil-water systems. *Environ. Sci. Technol.*, 25(11), pp. 1920-1930.
- McCray J. E., Brusseau M. L., 1998 - Cyclodextrin-enhanced in situ flushing of multiple-component immiscible organic liquid contamination at the field scale: mass removal effectiveness. *Environ. Sci. Technol.*, 32, pp. 1285-1293.
- Menviq, 1996 - Politique de réhabilitation des terrains contaminés. Direction des politiques du secteur industriel, ministère de l'Environnement et de la Faune du Québec. Sainte-Foy, Québec, Canada: Publications du Québec, 51 p.
- Mercade M. E., Manresa M. A., 1994 - The use of agroindustrial by-products for biosurfactant production. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 71(1), pp. 61-64.
- Namhyun C., Alexander M., 1998 - Differences in sequestration and bioavailability of organic compounds aged in dissimilar soils. *Environ. Sci. Technol.*, 32(7), pp. 855-860.
- Noordman W. H., Ji W., Brusseau M. L., Janssen D. B., 1998 - Effects of rhamnolipid biosurfactants on removal of phenanthrene from soil. *Environ. Sci. Technol.*, 32(12), pp. 1806-1812.
- Parra J. L., Guina J., Manresa M. A., Robert M., Mercade M. E., Comelles F., Bosch M. P., 1989 - Chemical characterization and physicochemical behavior of biosurfactants. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 66(1), pp. 141-145.
- Pavlostathis S., Mathavan G. N., 1992 - Desorption kinetics of selected volatile organic compounds from field contaminated soils. *Environ. Sci. Technol.*, 26(3), pp. 532-538.
- Rao P. S. C., 1990 - Sorption of organic contaminants. *Water Sci. Technol.*, 22(6), pp. 1-6.
- Roy D., Liu M., Wang G.-TE, 1994 - Modeling of anthracene removal from soil columns by surfactant. *J. Environ. Sci. Health*, A29(1), pp. 197-213.
- Scheibenbogen K., Zytner R. G., Lee H., Trevors J. T., 1994 - Enhanced removal of selected hydrocarbons from soil by *Pseudomonas aeruginosa* UG2 biosurfactants and some chemical surfactants. *J. Chem. Biotechnol.*, 59, pp. 53-59.
- Syldatk C., Lang S., Wagner F., 1985 - Chemical and physical characterization of four interfacial-active rhamnolipids from *Pseudomonas spec.* DSM 2874 grown on n-alkanes. *Z. Naturforsch.*, 40c, pp. 51-60.
- Zeng Y., Hong P. K. A., Wavrek D. A., 2000 - Chemical-biological treatment of pyrene, *Water Res.*, 34(4), pp. 1157-1172.
- Zhang Y., Maier W. J., Miller R. M., 1997 - Effect of rhamnolipids on the dissolution, bioavailability, and biodegradation of phenanthrene. *Environ. Sci.*

Technol., 31(8), pp. 2211-2217.