



Université du Québec
à Rimouski

**UTILISATION DU BIOCHAR ENRICHI COMME AGENT
DE BIOREMÉDIATION DES DÉVERSEMENTS
PÉTROLIERS EN MILIEU CÔTIER : UNE NOUVELLE
VOIE DE VALORISATION DES COPRODUITS MARINS ET
FORESTIERS**

Mémoire présenté

dans le cadre du programme de maîtrise en océanographie

en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences

PAR

© **MARIE-ÈVE LAMARRE**

Avril 2021

Composition du jury :

Gwénaëlle Chaillou, présidente du jury, UQAR/ISMER

Richard St-Louis, directeur de recherche, UQAR

Karine Lemarchand, codirectrice de recherche, UQAR/ISMER

Papa Niokhor Diouf, examinateur externe, SEREX

Dépôt initial le 10 novembre 2020

Dépôt final le 28 avril 2021

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI
Service de la bibliothèque

Avertissement

La diffusion de ce mémoire ou de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire « *Autorisation de reproduire et de diffuser un rapport, un mémoire ou une thèse* ». En signant ce formulaire, l'auteur concède à l'Université du Québec à Rimouski une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de son travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, l'auteur autorise l'Université du Québec à Rimouski à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de son travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits moraux ni à ses droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, l'auteur conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont il possède un exemplaire.

« C'est une erreur de croire
nécessairement faux ce qu'on ne
comprend pas »

- Gandhi (1869 - 1948)

REMERCIEMENTS

La réalisation de ce mémoire fut un processus laborieux qui a pu voir le jour grâce au soutien constant de mon entourage. J'exprime mes sincères remerciements à mon directeur Richard St-Louis ainsi qu'à ma codirectrice Karine Lemarchand pour leurs enseignements et leur enthousiasme envers ce projet. Je remercie aussi le personnel technique et scientifique de l'UQAR/ISMER pour leur appui durant ce projet : Kim Doiron, Mathieu Millour, Marie-Ève Anglehart, Steeven Ouellet et Jonathan Coudé. Et sans oublier, ma collègue Anne Corminboeuf, pour son aide précieuse au laboratoire.

Ce projet est le fruit d'une étroite collaboration entre le département de chimie de l'UQAR, l'ISMER et le SEREX. Merci à Papa N. Diouf, directeur scientifique du SEREX, pour son expertise, sa disponibilité et son appui. J'adresse aussi mes remerciements à l'équipe de MERINOV Gaspé et à la professeure Lucie Beaulieu, de la Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation de l'Université Laval, pour leur contribution à la production et à la caractérisation de l'hydrolysate de maquereau. J'aimerais aussi remercier Amine Badri et Marie-Pier Forest du CRBM pour leur expertise en métagénomique. Et finalement, je remercie Jean Carlos Montero Serrano en tant que chef de la mission Odyssée St-Laurent 2019, l'équipe d'Amundsen Science ainsi que celle du NCSS-Amundsen.

Cet accomplissement ne serait sans doute pas le même sans les nombreuses réflexions partagées avec mon copain Simon Nadeau et les encouragements de mes parents. Merci !

AVANT-PROPOS

À l'automne 2018, j'ai effectué un retour aux études après quelques années au poste de soutien aux opérations au sein de la compagnie ECRC-SIMEC, organisme d'intervention accrédité à intervenir lors de déversements pétroliers dans la voie maritime du Saint-Laurent. J'ai participé à des interventions impliquant plusieurs types d'hydrocarbures pétroliers (diesel marin, pétrole brut, diverses huiles) et ce, au sein de différents environnements côtiers et fluviaux. Ces expériences m'ont aidé à développer une solution innovante et complémentaire aux méthodes d'intervention en place, afin d'améliorer la récupération des hydrocarbures résiduels dans les milieux côtiers lors de cette maîtrise.

Durant cette maîtrise, j'ai mené les expériences en laboratoire à l'UQAR-ISMER. J'ai assisté aux analyses réalisées par le CRBM (Centre de Recherche sur les Biotechnologies Marines) et j'ai effectué moi-même les analyses réalisées au SEREX (Service de recherche et d'expertise en transformation des produits forestiers).

De plus, j'ai participé à une mission scientifique hivernale à bord du brise-glace de recherche NGCC Amundsen où un journaliste du Devoir m'a rencontré pour la rédaction d'un article (<https://www.ledevoir.com/societe/science/548123/la-bacterie-mangeuse-de-petrole>) et qui a mené à une entrevue à Radio-Canada Ici Première (<https://ici.radio-canada.ca/premiere/emissions/dessine-moi-un-dimanche/segments/entrevue/107404/odysee-saint-laurent-uqar-crater-methane-amundsen>). J'ai aussi participé au forum québécois en la science de la mer et à la rencontre annuelle du collectif de recherche appliquée aux bioprocédés et à la chimie de l'environnement avant le début de la pandémie Covid-19.

RÉSUMÉ

Lors de déversements pétroliers côtiers, l'efficacité des techniques d'intervention est principalement limitée par l'épaisseur de la nappe de pétrole. Lorsqu'elle n'est qu'une fine couche iridescente, la récupération des hydrocarbures résiduels devient coûteuse étant donné les quantités importantes d'eau huileuse collectées. La biodégradation du pétrole par les microorganismes hydrocarbonoclastes est alors l'ultime voie d'élimination des hydrocarbures et est nettement diminuée en conditions hivernales. Ce travail vise à développer un adsorbant pétrolier novateur permettant la prolifération de bactéries hydrocarbonoclastes afin de stimuler la dégradation des hydrocarbures.

Le premier objectif est de confirmer la présence de bactéries hydrocarbonoclastes dans l'estuaire maritime du Saint-Laurent en conditions hivernales par des analyses de metabarcoding. Cette étude a identifié onze genres bactériens hydrocarbonoclastes. Le deuxième objectif est de démontrer le potentiel d'un biochar, issu de la pyrolyse de biomasse forestière, enrichi par un hydrolysate de maquereau (peuplier450-EN) comme agent de bioremédiation du pétrole brut Heidrun. Cette maîtrise propose un protocole permettant de déterminer la capacité intrinsèque d'adsorption du pétrole par le biochar. Le potentiel adsorbant de six biochars bruts (épinette blanche, peuplier faux-tremble et biomasse forestière confondue) pyrolysés à 400°C et 450°C a été déterminé et ils sont tous similaires. Le biochar de peuplier pyrolysé à 450 °C (peuplier450) possède une capacité d'adsorption intrinsèque du pétrole de $0,83 \pm 0,04$ g de pétrole /g de biochar et le biochar peuplier450-EN de $0,53 \pm 0,16$ g/g. Une expérience de bioremédiation *in vitro* du pétrole Heidrun par la souche bactérienne hydrocarbonoclaste *Alcanivorax borkumensis* a permis de comparer l'effet des biochars peuplier450 et peuplier450-EN sur les taux de biodégradation. Les ratios diagnostiques *n*-C₁₇/pristane et *n*-C₁₈/phytane ont démontré une biodégradation similaire pour ces deux biochars. La biocolonisation des grains de biochar a été visualisée par microscopie à balayage électronique. Ces biochars permettent la croissance bactérienne à leur surface et dans leurs interstices.

Ainsi, l'utilisation du biochar peuplier450 permettrait un retrait des hydrocarbures résiduels et contribuerait à l'atténuation naturelle d'un déversement pétrolier. Un tel adsorbant serait un atout pour la gestion des déversements pétroliers en milieux côtiers comme la voie maritime du Saint-Laurent.

Mots clés : Biochar, coproduits de transformation du bois, *Alcanivorax Borkumensis*, biostimulation, biodégradation, pétrole brut, hydrolysate de maquereau, adsorbant pétrolier, capacité d'adsorption intrinsèque, bactéries hydrocarbonoclastes

ABSTRACT

In coastal oil spills, the effectiveness of response techniques is mainly limited by the thickness of the oil slick. When it is only a thin iridescent layer, the recovery of residual hydrocarbons becomes costly given the large amounts of oily water collected. The biodegradation of petroleum hydrocarbons by hydrocarbonoclastic microorganisms is then their ultimate route of elimination and is markedly reduced in winter conditions. This work aims to develop an innovative petroleum adsorbent allowing the proliferation of hydrocarbonoclastic bacteria to stimulate the biodegradation of hydrocarbons.

The first objective is to confirm the presence of hydrocarbonoclastic bacteria in the Lower St. Lawrence Estuary under winter conditions by metabarcoding analysis. This study identified eleven hydrocarbonoclastic bacterial genera. The second objective is to demonstrate the potential of a biochar, derived from wood pyrolysis, enriched with mackerel hydrolyzate (poplar 450-EN) as a bioremediation agent for Heidrun crude oil. This paper proposes a protocol to determine the intrinsic oil adsorption capacity by the biochar. Thus, the adsorbing potential of six biochars (white spruce, poplar and combined forest biomass, pyrolyzed at 400 °C and 450 °C) was determined and they are all similar. Poplar biochar pyrolyzed at 450 °C (poplar450) has an intrinsic oil adsorption capacity of 0.83 ± 0.04 g crude oil / g biochar and the poplar450-EN of 0.53 ± 0.16 g/g. An *in vitro* bioremediation experiment of Heidrun crude oil by the hydrocarbonoclastic bacterial strain *Alcanivorax borkumensis* allowed to compare the effect of poplar450 and poplar450-EN biochars on biodegradation rates. The diagnostic ratios $n\text{-C}_{17}$ /pristane et $n\text{-C}_{18}$ /phytane showed similar biodegradation for these two biochars. The visualization of the biocolonization of biochar grains by scanning electron microscopy indicates that these two biochars allow bacterial growth on their surface and in their interstices.

Thus, the biochar poplar450 allows the removal of residual hydrocarbons and contributes to the natural attenuation of an oil spill. This adsorbent would be an asset for the management of oil spills in coastal environments such as the St. Lawrence Seaway.

Keywords: Biochar, wood processing by-products, *Alcanivorax Borkumensis*, biostimulation, biodegradation, crude oil, mackerel hydrolyzate, petroleum adsorbent, intrinsic oil adsorption capacity, hydrocarbonoclastic bacteria

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	vi
AVANT-PROPOS	vii
RÉSUMÉ.....	viii
ABSTRACT	ix
TABLE DES MATIÈRES	x
LISTE DES TABLEAUX.....	xiii
LISTE DES FIGURES.....	xiv
LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES	xvii
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
CHAPITRE 1 CAPACITÉ POTENTIELLE DE BIOREMÉDIATION DES HYDROCARBURES PÉTROLIERS PAR LA COMMUNAUTÉ BACTÉRIENNE INDIGÈNE DE L'ESTUAIRE MARITIME DU SAINT-LAURENT EN CONDITION HIVERNALE.....	22
1.1 INTRODUCTION.....	22
1.2 METHODOLOGIE.....	23
1.2.1 Sites d'échantillonnage.....	23
1.2.2 Abondance bactérienne	24
1.2.3 Diversité bactérienne	25
1.3 RESULTATS & DISCUSSION.....	26
1.3.1 Abondance bactérienne	26
1.3.2 Diversité bactérienne	26
1.4 CONCLUSION	30

CHAPITRE 2 UTILISATION DU BIOCHAR ENRICHI COMME AGENT DE BIOREMÉDIATION DES HYDROCARBURES PÉTROLIERS EN MILIEU CÔTIER	31
2.1 INTRODUCTION	31
2.2 METHODOLOGIE.....	32
2.2.1 Production des biochars	32
2.2.2 Morphologie des biochars.....	33
2.2.3 Pétrole Heidrun	33
2.2.4 Capacité d'adsorption intrinsèque du pétrole Heidrun par les différents biochars	34
2.2.5 Production de l'hydrolysate de maquereau.....	36
2.2.6 Enrichissement du biochar peuplier450 par l'hydrolysate de maquereau	37
2.2.7 Analyses thermogravimétriques (TGA).....	38
2.2.8 Caractéristiques chimiques des biochars peuplier450	39
2.2.9 Biostimulation de la dégradation du pétrole Heidrun par la souche bactérienne <i>Alcanivorax Borkumensis</i> sous conditions contrôlées.....	40
2.2.10 Analyses statistiques	45
2.3 RESULTATS ET DISCUSSION	45
2.3.1 Morphologie des biochars.....	45
2.3.2 Capacité d'adsorption intrinsèque du pétrole Heidrun par les biochars	47
2.3.3 Caractérisation de l'adsorption de pétrole et du processus d'enrichissement par TGA	52
2.3.4 Caractéristiques chimiques des biochars peuplier450	53
2.3.5 Biostimulation de la dégradation du pétrole Heidrun par <i>Alcanivorax</i> <i>Borkumensis</i> sous conditions contrôlées.....	57
2.4 CONCLUSION.....	66
CONCLUSION GÉNÉRALE.....	70
ANNEXES.....	72

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES 73

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Composition chimique du Corexit® EC9500A.....	6
Tableau II: Taxonomie des genres hydrocarbonoclastes connus des Gammaproteobacteria en milieux froids.....	13
Tableau III: Capacités d'adsorption du pétrole brut par différents biochars	18
Tableau IV: Abondance bactérienne totale et diversité bactérienne des genres hydrocarbonoclastes et méthanotrophes au large de Rimouski et de Matane au mois de février 2019	28
Tableau V: Composition des différents traitements utilisés afin d'établir la biocolonisation du biochar peuplier450 et du peuplier450-EN-1 ainsi que leur effet sur la biodégradation du pétrole Heidrun par <i>Alcanivorax borkumensis</i> en milieu contrôlé	42
Tableau VI: Composition élémentaire, ratios d'aromaticité et ratio de polarité des biochars peuplier450, peuplier450-EN-1 et peuplier450-EN-2.....	54
Tableau VII: Ratios diagnostiques de la dégradation des alcanes $n\text{-C}_{17}$ /pristane et $n\text{-C}_{18}$ /phytane des différents traitements à la suite de l'expérience de biostimulation du pétrole Heidrun en microcosme	64

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Sections hydrographiques du fleuve Saint-Laurent (plan d'action Saint-Laurent 2012)	2
Figure 2: Opérations de nettoyage d'un déversement de mazout dans la baie de Sept-Îles à l'aide d'estacades et de boudins adsorbants (La Presse 2013)	3
Figure 3: Techniques d'intervention employées lors d'un déversement pétrolier extracôtier et côtier (Mapelli et al., 2017)	4
Figure 4: Schéma du comportement du pétrole brut conventionnel en présence de glace de mer (Cusson et al., 2017)	8
Figure 5: Évolution temporelle de la composition d'un déversement pétrolier ; changements associés dans l'abondance des bactéries hydrocarbonoclastes clés et transformation chimique de la biodégradation des <i>n</i> -alcane illustrée par le pentane (Munn 2011 ; Head et al., 2006)	11
Figure 6: Avantages du biochar comme agent adsorbant en milieu aqueux pour le traitement des eaux usées (Tan et al., 2015)	15
Figure 7: Mécanismes d'adsorption des contaminants organiques sur le biochar (Tan et al., 2015)	17
Figure 8: Localisation des stations échantillonnées dans l'estuaire et le golfe du St-Laurent à l'hiver 2019. Les stations encadrées sont celles de Rimouski et Matane, échantillonnées dans le cadre de ce projet (Tiré de St-Onge 2019)	24
Figure 9: Diversité des genres hydrocarbonoclastes et méthanotrophes appartenant à la classe Gammaproteobacteria identifiés au large de Rimouski et de Matane au mois de février 2019. Les anneaux représentent l'abondance relative des genres bactériens hydrocarbonoclastes, méthanotrophes et des autres genres bactériens tandis que les barres empilées identifient les genres associés selon leur abondance relative proportionnelle.	27

Figure 10: Unité de pyrolyse intermédiaire de type réacteur à vis sans fin du SEREX	32
Figure 11: Biochar d'épinette400.....	33
Figure 12: Protocole schématisé de la préparation des échantillons afin de déterminer la capacité d'adsorption intrinsèque du pétrole Heidrun par les biochars	35
Figure 13: Pétrole adsorbé par le biochar après l'évaporation du DCM (A) absence de goudron pyrolytique (B) présence de goudron pyrolytique.....	36
Figure 14: Schématisation de la production d'hydrolysats de maquereau (Beaulieu et al., 2009).....	37
Figure 15: Exemple de colonisation bactérienne du biochar par une classification en quatre catégories : tapis microbiens, microcolonies, cellules éparses et absence de cellules	44
Figure 16: Morphologie des biochars de biomasses forestières confondues, d'épinette et de peuplier pyrolysés à 400 °C et 450 °C analysée par microscopie à balayage électronique à un grossissement de x750.....	46
Figure 17: Capacité d'adsorption intrinsèque du pétrole Heidrun des différents biochars en fonction de l'épaisseur de la nappe de pétrole	47
Figure 18: Goudron pyrolytique extrait des biochars provenant de biomasses forestières confondues, d'épinette et de peuplier pyrolysés à 400 °C et 450 °C par macération au dichlorométhane.....	48
Figure 19: Capacité d'adsorption intrinsèque du pétrole Heidrun par le biochar peuplier450 et peuplier450-EN-1 en fonction de l'épaisseur de la nappe de pétrole	50
Figure 20: Flottabilité du biochar peuplier450 et du biochar peuplier450-EN-1 en absence de pétrole et après agitation.....	50
Figure 21: Biochar chargé de pétrole après 45 min d'adsorption. (A) sans pétrole. (B) 12 µm (C) 28 µm	52
Figure 22: Perte massique des biochars peuplier450 et de leurs versions chargées en pétrole Heidrun en fonction de la température par TGA	53

- Figure 23: Spectre FTIR des biochars peuplier450, peuplier450-EN-1 et peuplier450-EN-2. Les pointillés noirs représentent les bandes associées au biochar. Les pointillés orange représentent les principales bandes associées aux hydrolysats de poisson. 56
- Figure 24: Biocolonisation microbienne des particules de biochar peuplier450 et de biochar peuplier450-EN-1 en présence de pétrole Heidrun observée par microscopie à balayage électronique à un grossissement de x3000. Les images A-B-C présentent la biocolonisation du biochar peuplier450-EN-1 par *A. borkumensis* et/ou les bactéries résidentes et les images D-E-F présentent celle du biochar peuplier450. Les images J-K-L illustrent la biocolonisation du biochar peuplier450-EN-1 par les bactéries résidentes et les images G-H-I illustrent celle du biochar peuplier450..... 60
- Figure 25: Développement de différents stades de biocolonisation au sein d'une même particule de biochar peuplier450 d'un traitement composé aussi d'*A. borkumensis* et de pétrole Heidrun observé par microscopie à balayage électronique à un grossissement de x3000 61
- Figure 26: Répartition des stades de développement bactérien observés sur les images obtenues en MEB pour les différents traitements nommés par une combinaison de ces lettres A = *A. borkumensis*, H = heidrun, B = biochar et BE = biochar enrichi..... 62
- Figure 27: Chromatogrammes de l'ion 57 des échantillons Heidrun_T0, AHB et AHBE exprimé par l'intensité relative des composés chimiques. Dans le cercle jaune, les bandes associées au C₁₇ (12,814 min) et au pristane (12,865 min). Dans le cercle orange, les bandes associées au C₁₈ (13,546 min) et au phytane (13,619 min). 64
- Figure 28: Déversement de diesel aux Iles-de-la-Madeleine (Le Soleil 2014)..... 67

LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES

ATR	réflectance totale atténuée
BH	bactéries hydrocarbonoclastes
Corexit	Corexit® 9500A
CRBM	Centre de Recherche sur les Biotechnologies Marines
DCM	dichlorométhane
EMSL	estuaire maritime du Saint-Laurent
FTIR	spectroscopie infrarouge par transformée de Fourier
GC-MS	chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse
HAP	hydrocarbures aromatiques polycycliques
MEB	microscopie à balayage électronique
OMA	agrégat de pétrole sur des particules minérales : « oil-mineral aggregats »
SEREX	Service de recherche et d'expertise en transformation des produits forestiers
SPE	extraction en phase solide
TFA	acide trifluoroacétique
TGA	analyses thermogravimétriques

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Le système du Saint-Laurent, reliant les Grands Lacs à l'océan Atlantique, est la plus longue voie maritime du globe et génère plus de 30 G\$ US de revenus commerciaux pour le Canada et les États-Unis (Martin Associates 2011). Le transport maritime sur le fleuve Saint-Laurent est un enjeu économique, social et environnemental particulièrement important. Annuellement, plus de 800 pétroliers naviguent sur ces eaux et 110 millions de tonnes de marchandises sont transportées au Québec par les navires commerciaux (SODES 2015 ; Innovation Maritime 2014). Ce fleuve est un patrimoine culturel intangible de grande valeur pour la société québécoise, tout en étant l'hôte de nombreux écosystèmes hautement diversifiés (Archambault et al., 2017). Le système du Saint-Laurent est composé de plusieurs sections hydrographiques, dont l'estuaire maritime du Saint-Laurent (EMSL) illustré à la figure 1. L'EMSL est un écosystème subarctique possédant une forte productivité et biodiversité grâce à la variabilité annuelle des conditions océaniques et climatiques de la région. Cette saisonnalité induit des variations importantes de la température de l'air, soient d'une température minimale moyenne de -11,5 °C en janvier et d'une température maximale moyenne de 24,6 °C en juillet (Environnement Canada 2017). Les températures froides permettent la formation d'un couvert de glace débutant normalement à la mi-décembre et se terminant à la mi-avril (GENIVAR 2013).

L'EMSL et le golfe du Saint-Laurent font partie des zones les plus à risque d'un déversement pétrolier majeur au Canada et ces probabilités augmentent en présence de glace (Gouvernement du Québec 2015 ; GENIVAR 2013). En conditions hivernales, un manque relatif à la capacité d'intervention en cas de déversements pétroliers a été soulevé lors de l'évaluation environnementale stratégique sur la mise en valeur des hydrocarbures dans les bassins d'Anticosti, de Madeleine et de la Baie-des-Chaleurs (GENIVAR 2013). De plus, ce rapport indique aussi une lacune sur l'état des connaissances de cet écosystème en hiver.

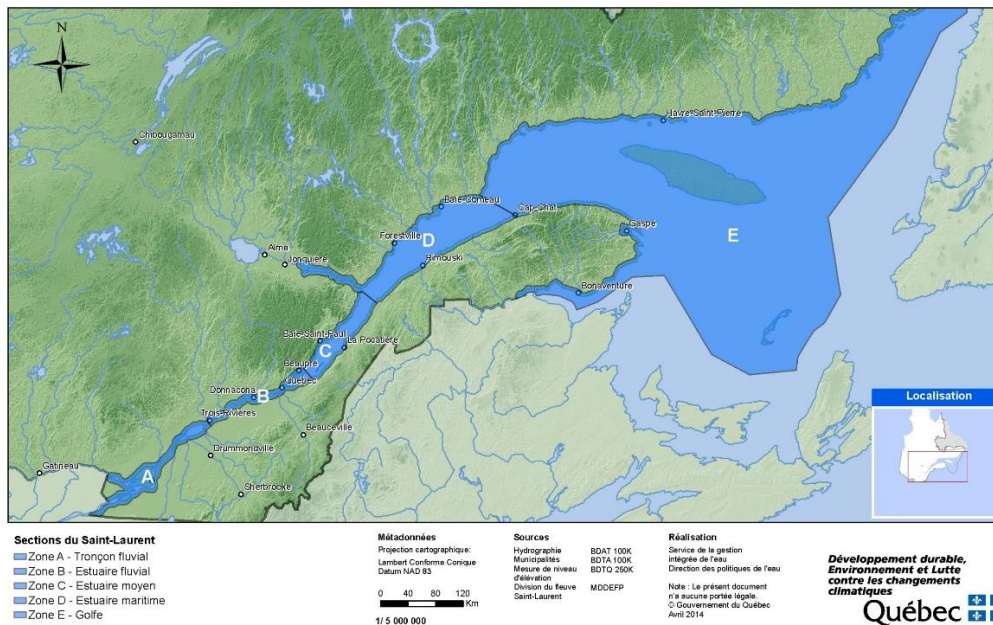


Figure 1: Sections hydrographiques du fleuve Saint-Laurent (plan d'action Saint-Laurent 2012)

TECHNIQUES D'INTERVENTION EN CAS DE DEVERSEMENTS PETROLIERS COTIERS

Au Québec, les plus récents déversements pétroliers maritimes d'envergure étaient d'origine terrestre. En 2013, la compagnie Cliff Ressources Naturelles a déversé 145 000 L de mazout lourd, dont au moins 5 000 L se sont écoulés dans la baie de Sept-Îles (figure 2). En 2014, un oléoduc de la compagnie Hydro-Québec a libéré 100 000 L de diesel dans le port de Cap-aux-Meules, aux Îles-de-la-Madeleine (Radio-Canada 2016). Le succès des efforts de nettoyage dépend d'une panoplie de facteurs tels que le type d'hydrocarbures déversés, l'emplacement et l'ampleur du déversement, les conditions météorologiques et les réglementations en vigueur (Prendergast et Gschwend 2014). Le comportement et le devenir d'une nappe de pétrole dans l'environnement marin sont intimement liés à ses propriétés (densité relative, caractéristiques de distillations, pression vapeur, viscosité et point d'écoulement), elles-mêmes dépendantes de la composition chimique du pétrole (ITOPF 2011a). Plusieurs processus biologiques et physico-chimiques affectent la nappe de pétrole :

l'étalement de la nappe, l'évaporation, la dissolution, la photo-oxydation, la dispersion, l'émulsification, la biodégradation, l'adsorption sur les particules en suspension menant à la sédimentation et à la formation de balles de goudron « tar ball » (Nikolopoulou et Kalogerakis 2009).



Figure 2: Opérations de nettoyage d'un déversement de mazout dans la baie de Sept-Îles à l'aide d'estacades et de boudins adsorbants (La Presse 2013)

Le degré d'altération d'une nappe de pétrole par les processus biologiques et physico-chimiques implique l'élaboration de différentes stratégies d'intervention. Les techniques d'intervention peuvent être classifiées entre trois catégories : mécanique, chimique/physique et biologique (figure 3) (EPA 2017 ; Prendergast et Gschwend 2014). Au Canada, les techniques d'intervention mécaniques sont priorisées afin de confiner, récupérer et nettoyer un déversement (Environnement Canada 2014).

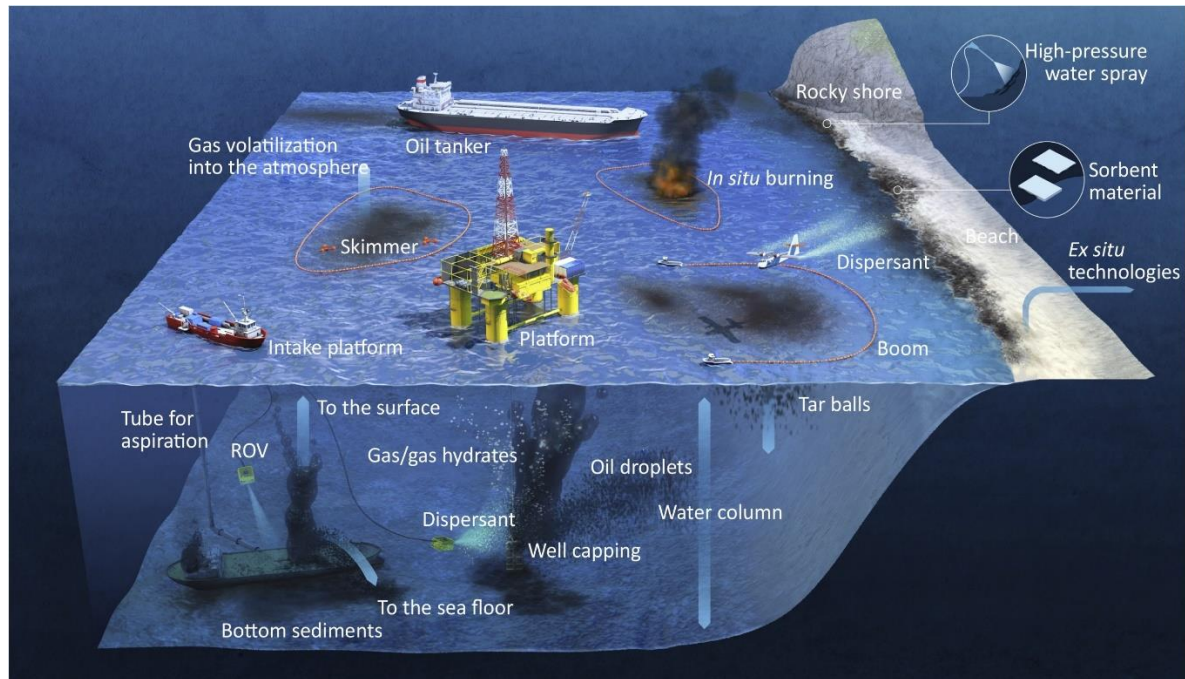


Figure 3: Techniques d'intervention employées lors d'un déversement pétrolier extracôtier et côtier (Mapelli et al., 2017)

Techniques d'intervention mécaniques

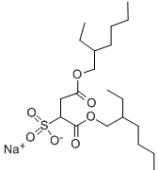
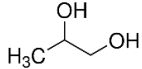
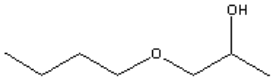
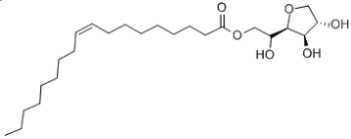
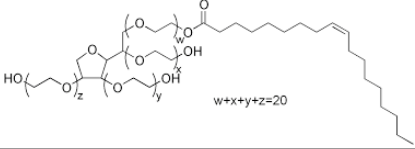
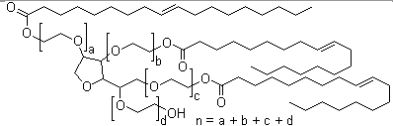
Les techniques mécaniques incluent principalement l'utilisation d'estacades, d'écrèmeurs et d'absorbants de polypropylène, disponibles en plusieurs modèles, afin de répondre aux différentes conditions lors de déversements pétroliers (Mapelli et al. 2017 ; Gouvernement du Canada 2015). Les estacades produisent l'effet d'une barrière flottante permettant de confiner la nappe de pétrole, de la diriger en un point stratégique pour la récupérer ou de protéger des environnements écologiquement ou économiquement sensibles (ITOPF 2011b). Les écrèmeurs permettent de retirer le pétrole de la surface de l'eau et leur performance est directement liée au taux de rencontre avec les hydrocarbures. Le taux de rencontre se caractérise par la quantité de pétrole disponible à la récupération dans un temps spécifique et est principalement limité par l'épaisseur de la nappe d'hydrocarbures (Al-Majed et al., 2012 ; ITOPF 2012a). Les coûts d'opérations relatifs à l'entreposage et à l'élimination de l'eau huileuse augmentent lorsqu'un écrèmeur est peu efficace dû au volume important d'eau contaminée récupérée. La démobilitation de ce type d'équipement a lieu bien avant que le

déversement soit entièrement nettoyé, puisque le taux de rencontre diminue de manière similaire à la quantité de pétrole à la surface (ITOPF 2012a). Le retrait passif des hydrocarbures se réalise à l'aide d'adsorbants de polypropylène qui sont à la fois oléophiles et hydrophobes (Environnement Canada 2014). Les adsorbants flottent à la surface de la nappe de pétrole et retirent les hydrocarbures de l'eau par adsorption. Leur utilisation excessive augmente les coûts d'opérations en raison d'une logistique plus complexe afin d'éviter la contamination secondaire lors de la récupération des adsorbants et de leurs éliminations. Ils sont généralement priorisés à la fin d'une intervention en complémentarité aux écrémeurs (ITOPF 2012b). Toutefois, il est improbable de retirer les hydrocarbures résiduels à l'aide de ces adsorbants, puisqu'une fine nappe de pétrole ($< 5 \mu\text{m}$) caractérisée par une apparence iridescente argentée ou arc-en-ciel n'est pas collectée par les adsorbants de polypropylène (communication personnelle, Gauvreau 2020 ; Accord de Bonn 2016). La présence de telles nappes est fréquente notamment à la fin d'une intervention ou encore lorsque l'étalement de la nappe de pétrole est non contrôlé.

Techniques d'intervention chimiques et physiques

Les dispersants chimiques, tels que le Corexit® EC9500A (Corexit), sont une solution de surfactants et de solvants permettant de réduire la tension interfaciale entre le pétrole et l'eau. Les composés non ioniques et anioniques confèrent aux dispersants des propriétés hydrophobes et hydrophiles permettant la dispersion des hydrocarbures en fines gouttelettes dans la colonne d'eau (tableau I) (National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine 2020). Leur application permet d'éviter la contamination des berges et de limiter la contamination sur la faune marine à la surface de l'océan. Au Canada, l'utilisation du Corexit comme agent de traitement est prévue uniquement en milieu extracôtier et est autorisée de manière discrétionnaire (Gouvernement du Canada 2016).

Tableau I: Composition chimique du Corexit® EC9500A

Composé(s)	Nom	Pourcentage (%)	Structure chimique
Di(2-ethylhexyl) sodium sulfosuccinate	DOSS	10-30	
Propylène glycol	-	1-5	
Distillats, pétroles, hydrotraités	-	10-30	C6-C13
Dipropylène glycol monobutyl éther	-	N/A	
Sorbitan, mono(9Z)-9-octadécénoate	Span 80	4,4	
Poly(oxyéthyléniques) du monooléate de sorbitane	Tween 80	18	
Dérivés poly(oxyéthyléniques) du trioléate de sorbitane	Tween 85	4,6	

La plus grande application de dispersants a été réalisée lors du déversement pétrolier provenant de la plateforme Deepwater Horizon en 2010, dans le golfe du Mexique, où 7,57 millions de litres ont été utilisés (Lehr 2010). Depuis cette application massive, plusieurs recherches se sont intéressées aux effets potentiels d'une exposition aux dispersants sur la santé humaine et la santé des écosystèmes. Ces études ont démontré une forte association entre l'exposition aux dispersants et des symptômes respiratoires aigus et d'irritation de la peau et des yeux chez les travailleurs (Krishnamurthy et al., 2019 ; Alexander et al., 2018 ; McGowan et al., 2017). Elles sont cependant actuellement critiquées en raison de l'absence de biomarqueurs dans le processus d'auto-déclaration des travailleurs interrogés (National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine 2020). Les avantages environnementaux

nets reliés à l'application de dispersant est aussi sujet à controverse. Un des arguments favorisant l'application de dispersant est l'augmentation de la biodégradabilité du pétrole dispersé par les microorganismes (National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine 2020). Pourtant, certaines études démontrent le contraire tel que souligné par la revue de Cusson et al., (2017). Une récente étude par Schreiber et al., (2019) indique que l'ajout de Corexit entraîne le développement d'une communauté microbienne complexe dégradant davantage les hydrocarbures légers associés au Corexit, que les hydrocarbures dispersés. L'étude de Kleindienst et al., (2015) rapporte également une diminution de la biodégradation des hydrocarbures par la communauté microbienne indigène en présence de dispersant étant donné une plus forte compétition pour les nutriments essentiels. De plus, l'application de dispersant augmente la quantité de pétrole au sein de la colonne d'eau, tant sous forme dissoute que particulaire, exposant davantage la vie marine pélagique et augmentant ainsi la toxicité du déversement, en particulier pour les jeunes stades larvaires (Cusson et al., 2017). La quantification de l'impact du pétrole dispersé sur la vie marine est également critiquée en raison de l'absence de protocoles standardisés entre les différents laboratoires (National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine 2020).

Plusieurs travaux de recherche sont actuellement en cours afin d'élaborer des alternatives aux dispersants chimiques. Parmi ces alternatives, les dispersants physiques y sont retrouvés. Ce type de dispersant s'inspire du processus naturel d'agrégation du pétrole sur les particules en suspension. Une des techniques proposées consiste à utiliser de fines particules inorganiques afin de provoquer la formation d'agrégats de particules colloïdales/granulaires d'hydrocarbures, plus connue sous le terme anglais « oil-mineral aggregates » (OMA). En emprisonnant les gouttelettes de pétrole dans les agrégats, la reformation de nappe de pétrole à la surface est limitée. Les taux de dissolution et de biodégradation dus à la prolongation du temps de résidence des hydrocarbures dans la zone aérobie sont augmentés et les agrégats induisent une sédimentation éventuelle du pétrole vers le fond marin (National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine 2020). À la fin des années 90, l'utilisation d'OMA a été employée à la suite d'un déversement dans le fjord du Saguenay afin d'éviter que le pétrole ne se trappe en dessous de la glace et qu'il y ait relargage des hydrocarbures au

printemps suivant. En présence d'un couvert de glace, ce phénomène est fréquent étant donné le comportement du pétrole déversé pouvant s'accumuler et/ou migrer dans la glace de mer (figure 4).

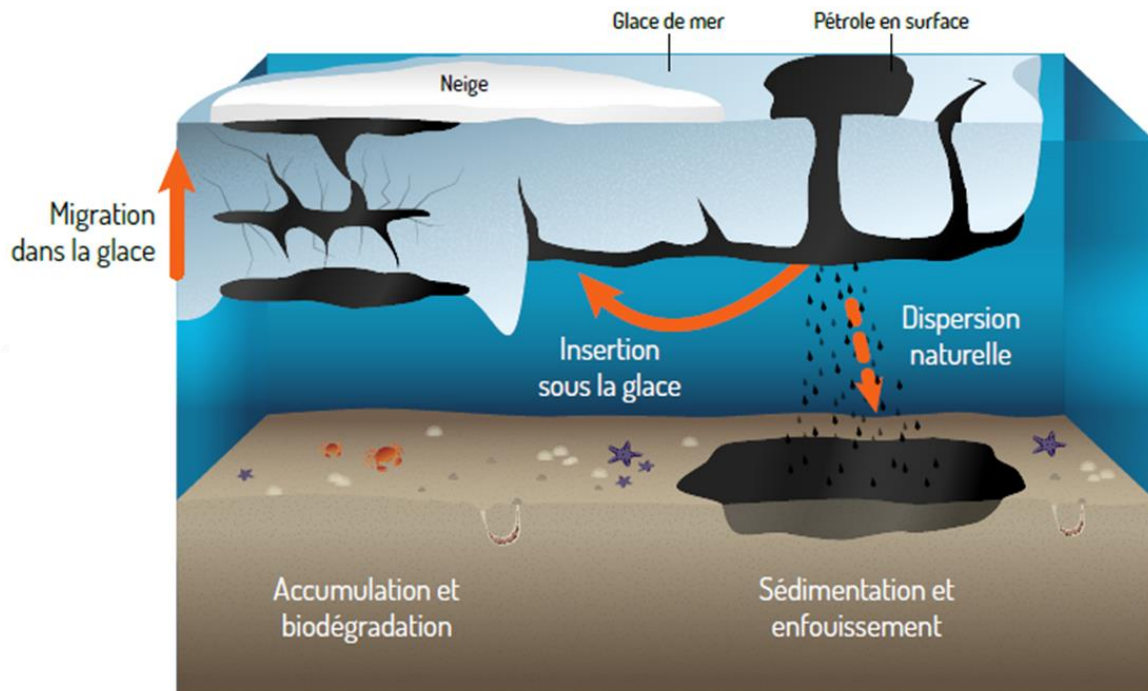


Figure 4: Schéma du comportement du pétrole brut conventionnel en présence de glace de mer (Cusson et al., 2017)

L'application d'OMA a provoqué une dispersion rapide du pétrole dans la colonne d'eau et aucun résidu de pétrole n'a été observé sur les rives (Blouin, 2001). Pour mieux comprendre ce phénomène, un déversement expérimental de pétrole brut a été réalisé au large de Matane en 2008 afin d'étudier l'efficacité de l'ajout de particules de calcite mixées dans la colonne d'eau par l'action des moteurs d'un navire et ce, en présence de glace (Lee et al., 2011). Sur place, une dispersion efficace du pétrole a pu être observée. En laboratoire, une biodégradation significative des hydrocarbures totaux a également été mesurée. Bien que cette méthode semble efficace, il demeure nécessaire d'évaluer son effet sur les communautés biologiques indigènes et de quantifier l'ampleur du transport du pétrole vers le fond marin.

techniques d'intervention biologiques

Les techniques biologiques, ou de bioremédiation, permettent l'élimination des hydrocarbures par l'action des microorganismes hydrocarbonoclastes qui utilisent les hydrocarbures comme unique source de carbone et d'énergie (Yang et al., 2009 ; Head et al., 2006). En milieu marin, les bactéries hydrocarbonoclastes (BH), communément appelées en anglais « oil-degrading bacteria » se positionnent comme les principales actrices de la biodégradation du pétrole étant donné leur efficacité supérieure comparativement aux autres microorganismes hydrocarbonoclastes tels que les algues, les champignons et les archées (Das et Chandran 2011 ; Munn 2011). Ces bactéries sont omniprésentes étant donné l'introduction chronique de faibles quantités d'hydrocarbures d'origine naturelle (e.g. résurgences océaniques, événements gazeux) ou anthropique (e.g. trafic maritime, industries côtières) dans les océans et les milieux côtiers. Ces apports réguliers d'hydrocarbures dans le milieu permettent le maintien d'une communauté bactérienne hydrocarbonoclaste (Head et al., 2006). Ces bactéries bénéficient donc d'un avantage sélectif important à la suite d'un déversement pétrolier et dominent la communauté microbienne globale après quelques jours (Schreiber et al., 2019 ; Coulon et al., 2007 ; Head et al., 2006). Une fois l'épuisement des nutriments limitants tels que l'azote et le phosphore, leur abondance revient à la normale et le taux de biodégradation des hydrocarbures déversés diminue (Munn 2011).

Une dégradation optimale des hydrocarbures déversés relève d'un consortium varié de BH, car les hydrocarbures complexes sont dégradés en molécules de plus petits poids moléculaires par différentes bactéries et par différents mécanismes de dégradation (Munn 2011). Ce consortium dynamique consiste à une succession bactérienne se développant aux rythmes de la biodégradation des hydrocarbures, alimentant ainsi une communauté microbienne globale complexe (Schreiber et al., 2019 ; Dubinsky et al., 2013 ; Head et al., 2006). Par exemple, la biodégradation des *n*-alcanes se réalise via des réactions d'oxydation, sous l'action d'enzymes oxygénases, tandis que la biodégradation des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) se réalise selon différentes voies initiées par une carboxylation permettant une réduction des anneaux aromatiques et leur séparation (figure

5) (Munn 2011). Les genres *Alcanivorax* et *Cycloclasticus*, respectivement spécialisés dans la dégradation des alcanes et des aromatiques, sont reconnus pour jouer un rôle majeur dans la biodégradation des hydrocarbures (figure 5) (Yakimov et al., 2007 ; Harayama et al., 2004).

Le taux de biodégradation du pétrole par la communauté bactérienne hydrocarbonoclaste est lié à plusieurs facteurs, tels que la composition initiale de la communauté bactérienne, sa capacité d'adaptation et la disponibilité des nutriments (Lemarchand et Desbiens 2015). Il existe deux approches à la bioremédiation soient la bioaugmentation et la biostimulation. La bioaugmentation implique l'ajout de BH à l'environnement contaminé tandis que la biostimulation apporte une modification à l'environnement permettant une meilleure croissance bactérienne, tel que l'ajout de nutriments organiques ou inorganiques (Munn 2011 ; Nikolopoulou et Kalogerakis 2009). La littérature a démontré le fort potentiel de la biostimulation afin de répondre aux déversements d'hydrocarbures en milieu marin (Doshi et al., 2018 ; Head et al. 2006 ; Yang et al. 2009). Afin d'éliminer les hydrocarbures de l'environnement, la biostimulation s'avère moins intrusive, plus économique et plus socialement acceptable (Benard et Piakong 2018 ; Das et Chandran 2011 ; Yang et al., 2009 ; Coulon et al., 2007).

Au Canada, les techniques biologiques ne sont actuellement pas exploitées dans le domaine de l'urgence maritime.

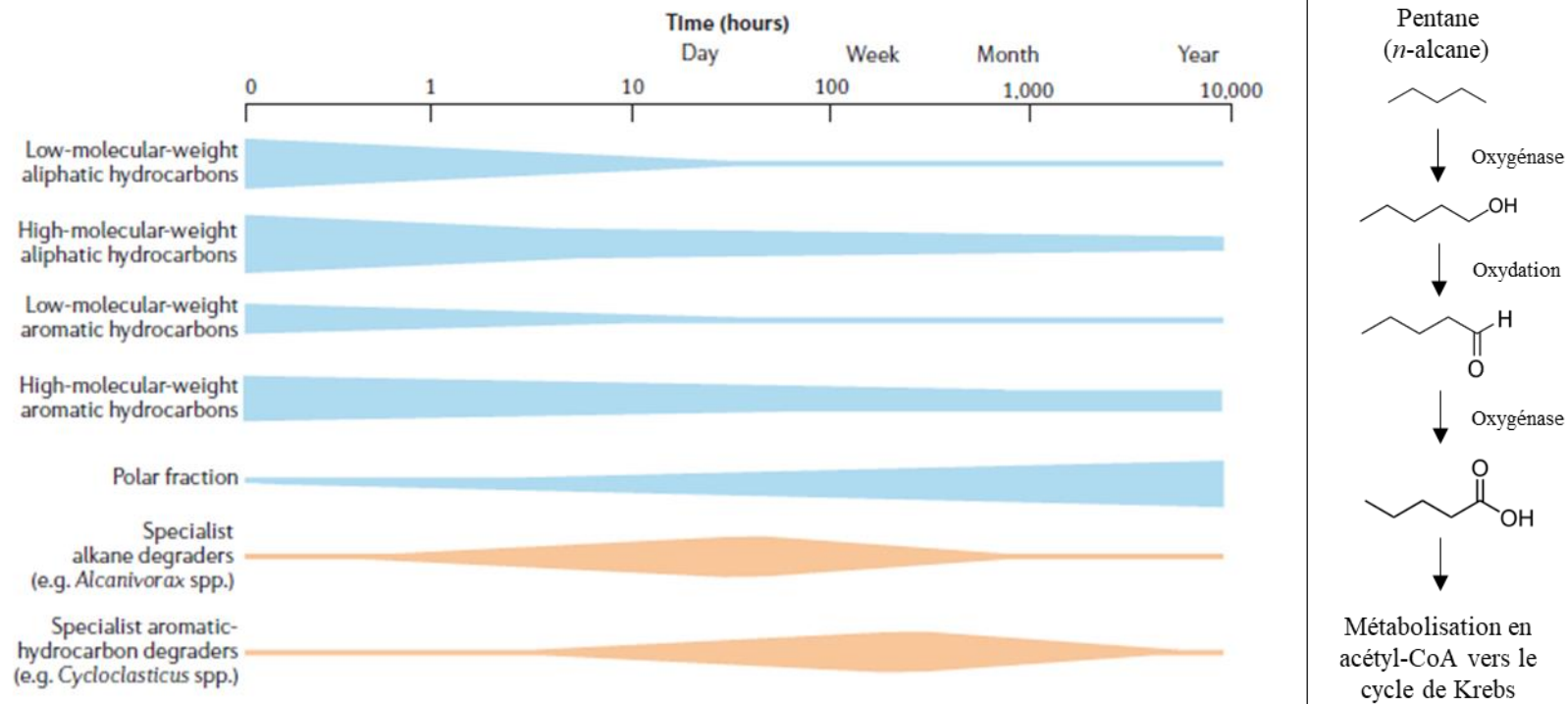


Figure 5: Évolution temporelle de la composition d'un déversement pétrolier ; changements associés dans l'abondance des bactéries hydrocarbonoclastes clés et transformation chimique de la biodégradation des *n*-alcanes illustrée par le pentane (Munn 2011 ; Head et al., 2006)

BIODÉGRADATION DES HYDROCARBURES EN MILIEU FROID : ESTUAIRE MARITIME DU SAINT-LAURENT

L'EMSL est considéré comme un environnement sain, présentant peu de sources naturelles d'hydrocarbures, dans lequel les BH constitueraient environ 0,1 % de la communauté bactérienne indigène (Yang et al., 2009). En milieu froid, l'efficacité des processus de biodégradation des hydrocarbures pétroliers est limitée par la baisse du métabolisme global des BH comparativement à un milieu tempéré ou chaud (Yang et al., 2009). En effet, les taux de biodégradation des hydrocarbures sont supérieurs en été soulignant l'influence de la saisonnalité (Schreiber et al., 2019 ; Tremblay et al., 2017). La température n'est pas la seule responsable de cette baisse de productivité microbienne. Un changement marqué de la diversité bactérienne hydrocarbonoclaste ainsi qu'un temps de latence plus important lors de la succession bactérienne ont été observés en période hivernale (Schreiber et al., 2019 ; Lofthus et al., 2018 ; Ribicic et al., 2018 ; Vergeynst et al., 2018). Dans les milieux froids, les BH psychrophiles et psychrotolérantes jouent un rôle important dans la biodégradation du pétrole en raison de leur compétitivité de croissance dans ces conditions (Coulon et al., 2007). Les genres hydrocarbonoclastes majoritaires en milieu froid sont répertoriés et référencés au tableau II.

Tableau II: Taxonomie des genres hydrocarbonoclastes connus des Gammaproteobacteria en milieux froids

Ordre	Famille	Genre	Références
Oceanospirillales	<i>Alcanivoracaceae</i>	<i>Alcanivorax</i>	(Tremblay et al., 2017) (Vergeynst et al., 2018) (Lofthus et al., 2018)
	<i>Oceanospirillaceae</i>	<i>Oleispira</i>	(Schreiber et al., 2019) (McFarlin et al., 2018) (Vergeynst et al., 2018) (Lofthus et al., 2018)
		<i>Oceaniserpentilla</i>	(Vergeynst et al., 2018)
		<i>Thalassolituus</i>	(Head et al., 2006)
		<i>Oceanospirillum</i>	(Head et al., 2006)
		<i>Oleibacter</i>	(Vergeynst et al., 2018)
		<i>Oleiphilaceae</i>	<i>Oleiphilus</i>
Alteromonadales	<i>Colwelliaceae</i>	<i>Colwellia</i>	(Schreiber et al., 2019) (McFarlin et al., 2018) (Lofthus et al., 2018)
	<i>Alteromonadaceae</i>	<i>Glaciacola</i>	(Tremblay et al., 2017)
		<i>Alteromonas</i>	(Tremblay et al., 2017)
		<i>Marinobacter</i>	Tremblay et al., 2017)
	<i>Pseudoalteromonadaceae</i>	<i>Pseudoalteromonas</i>	(Schreiber et al., 2019) (Tremblay et al., 2017)
<i>Shewanellaceae</i>	<i>Shewanella</i>	(Lofthus et al., 2018)	
Thiotrichales	<i>Piscirickettsiaceae</i>	<i>Cycloclasticus</i>	(Tremblay et al., 2017) (Lofthus et al., 2018)
Pseudomonadales	<i>Pseudomonadaceae</i>	<i>Pseudomonas</i>	(Vergeynst et al., 2018)

Note : Les références correspondent aux études ayant identifiées la bactérie dans un milieu froid, et non, à la découverte du genre bactérien. Les références ne sont pas exhaustives.

À ce jour, il n'existe que peu de données exhaustives sur la biodiversité de la communauté bactérienne indigène et sur la capacité de biodégradation potentielle des hydrocarbures dans l'EMSL (Lemarchand et Desbiens 2015). Les dernières études abordant ce sujet datent des années 1990 et sont basées sur la culture d'organismes hydrocarbonoclastes (Padrós et al., 1999 ; Siron et al., 1996 ; Siron et al., 1995 ; Delille et Siron 1993). Ainsi, aucune étude exhaustive n'a été menée afin d'identifier et de quantifier la présence de BH dans l'EMSL par des techniques de métagénomique. Afin de pallier ce manque de données, ce projet de maîtrise a bénéficié d'un échantillonnage d'eau de mer dans l'EMSL en février 2019 lors de la mission Odyssée Saint-Laurent financée par le Réseau Québec Maritime. L'obtention de ces échantillons a permis d'acquérir de meilleures connaissances sur la diversité

taxonomique des bactéries indigènes, incluant les genres hydrocarbonoclastes et méthanotrophes, durant la période hivernale. Le premier chapitre de ce mémoire est dédié à ce sujet.

POTENTIEL DU BIOCHAR ENRICHI COMME TECHNIQUE D'INTERVENTION EN CAS DE DÉVERSEMENTS PÉTROLIERS CÔTIERS

Le biochar est défini comme un matériel solide obtenu par la conversion thermochimique d'une biomasse dans un environnement limité en oxygène (International Biochar Initiative 2015). La pyrolyse est le processus responsable de cette conversion et elle génère trois coproduits : le gaz de synthèse, la biohuile et le biochar (Chhiti et Kemiha 2013). Dépendamment du produit désiré, plusieurs processus thermochimiques peuvent être employés tels que la pyrolyse lente, la pyrolyse rapide, la carbonisation hydrothermale, la carbonisation instantanée, la torréfaction et la gazéification. La pyrolyse lente est la plus commune pour la production de biochar (Tan et al., 2015).

Actuellement, l'ajout de biochar aux terres agricoles est largement employé, car elle permet la séquestration du carbone provenant de la biomasse dans le sol et améliore certaines propriétés de la terre (International Biochar Initiative 2015). Le biochar est aussi reconnu comme un agent de remédiation environnementale prometteur en raison de sa capacité à adsorber les polluants organiques et inorganiques (figure 6) (Bartoli et al., 2020 ; Dai et al., 2019).

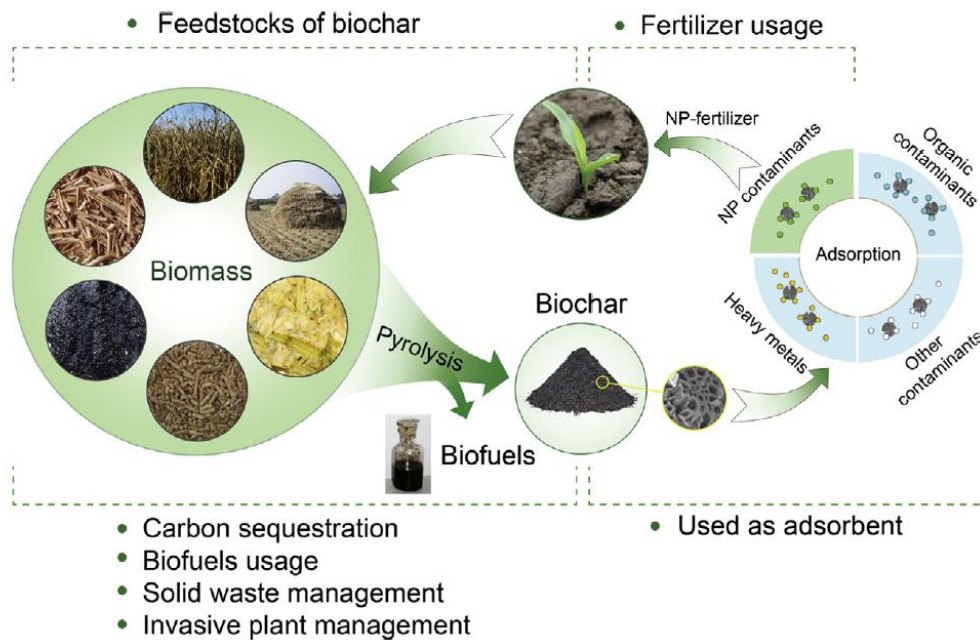


Figure 6: Avantages du biochar comme agent adsorbant en milieu aqueux pour le traitement des eaux usées (Tan et al., 2015)

Les efforts de recherche afin d'élaborer de nouvelles techniques d'intervention efficaces et écoresponsables lors de déversements pétroliers maritimes sont en constante augmentation (Doshi et al., 2018). Les adsorbants d'origine naturelle comme le biochar sont une option intéressante étant donné leur ratio coût-efficacité et leur production locale (ITOPF 2012b). Dans le cadre de cette recherche, des biochars issus de résidus forestiers a été choisis en raison de l'abondance de l'industrie forestière au Canada. Le SEREX (Service de recherche et d'expertise en transformation des produits forestiers, Amqui, Qc), fournisseur des biochars à l'étude, s'intéresse à la production de biohuile dont le biochar est le coproduit. Les biochars étudiés dans ce projet proviennent de trois biomasses forestières (biomasse forestière confondue, épinette et peuplier) pyrolysées à deux différentes températures (400 °C et 450 °C).

Mécanismes d'adsorption des hydrocarbures sur le biochar

L'affinité entre les particules de biochar et les hydrocarbures provient de nombreuses interactions simultanées : l'attraction électrostatique, le remplissage des pores, les interactions π - π , les liaisons hydrogène, les interactions hydrophobiques et la répartition du polluant sur la fraction non carbonisée (figure 7) (Tan et al., 2015). L'influence de chacun de ces mécanismes dépend de la nature du contaminant et des propriétés physico-chimiques du biochar. Ces propriétés sont directement liées à la biomasse utilisée ainsi qu'aux conditions de pyrolyse (Chhiti et Kemiha 2013 ; Chen et al., 2008). Il faut aussi noter la présence de goudron pyrolytique retrouvé en faible quantité dans les pores du biochar provenant de la condensation de certains hydrocarbures lors de la pyrolyse (Chhiti et Kemiha 2013).

Le biochar est reconnu pour sa structure poreuse et aromatique dont la surface est chargée négativement (Tan et al., 2015 ; Ahmad et al., 2014). La pyrolyse de la biomasse lignocellulosique induit un agencement aromatique des atomes de carbone qui lui confère un avantage pour l'adsorption des polluants organiques. L'adsorption de HAP en solution aqueuse par un biochar de bois est principalement induite par le remplissage des pores et assisté par l'interaction π - π (Nguyen et al., 2007 ; Zhu et al., 2005). Un biochar composé d'une structure aromatique forte possèdera une meilleure capacité d'adsorption des polluants aromatiques avec une influence plus prononcée des interactions π - π . À l'inverse, la capacité d'adsorption d'un biochar composé d'une structure plus aliphatique sera davantage influencée par la partition sur les fractions non carbonisées et les interactions polaires telles que les liens d'hydrogène (Chen et Chen 2009).

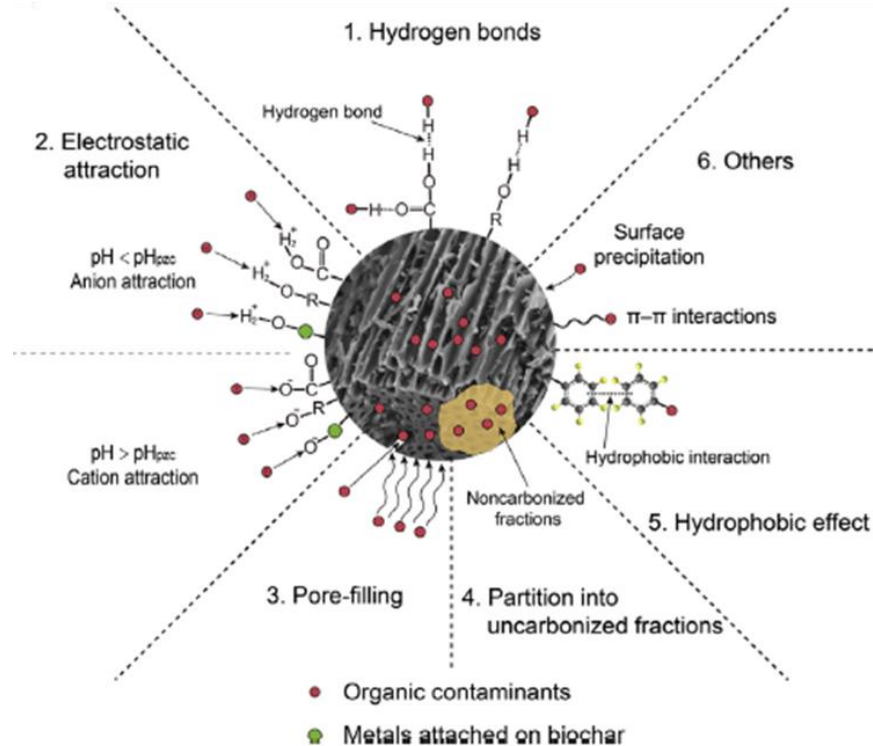


Figure 7: Mécanismes d'adsorption des contaminants organiques sur le biochar (Tan et al., 2015)

Il existe une corrélation entre la capacité d'adsorption du pétrole et les propriétés physico-chimiques du biochar (surface spécifique, porosité, aromaticité et polarité) (Kandanelli et al., 2018 ; Silvani et al., 2017 ; Hale et al., 2012 ; Chen et al., 2008). Généralement, la surface spécifique et la porosité augmentent avec la température de pyrolyse étant donné le délogement des composés volatils de la biomasse (Tan et al., 2015). Une température de pyrolyse supérieure à 400 °C permet le développement d'une plus grande surface spécifique et d'une plus grande porosité. Cela produit aussi une structure aromatique forte et condensée grâce au retrait des liens CO- aromatiques, -OH phénoliques et -CH₂ aliphatiques (Ahmad et al., 2014). La polarité d'un biochar est influencée par la présence de groupes fonctionnels polaires liée à la teneur en résidus organiques au sein du biochar. Ceux-ci sont principalement réduits lors de la disparition des liens aliphatiques à partir de 400 °C (Chen et al., 2008). Les ratios atomiques H/C et O/C sont des indices d'aromaticité d'un biochar, car un processus de carbonisation plus avancé diminue la teneur en hydrogène et en oxygène (Tan et al., 2015).

Le ratio (O+N)/C est utilisé comme indicateur de la polarité étant donné la présence de groupes fonctionnels polaires associés à l'oxygène et à l'azote présents à la surface du biochar (Tan et al., 2015).

Biochar en tant qu'agent adsorbant des hydrocarbures

Les données présentées dans la littérature sur la capacité d'adsorption des hydrocarbures par le biochar sont hautement variables. Ces différences, présentées dans le tableau III, s'expliquent notamment par la divergence de définition de la capacité d'adsorption et par l'absence d'un protocole standardisé.

Tableau III: Capacités d'adsorption du pétrole brut par différents biochars

Type de biochar	Épaisseur du film pétrolier (μm)	Capacité d'adsorption (g/g)	Références
Mousse de tourbe	993,90	32,5	(AlAmeri et al., 2019)
Balle de riz	296,03	2,56	(Kandanelli et al., 2018)
Érable	198,94	3,8 – 6,2	(Nguyen et Pignatello 2013)
Sapin de Douglas	NS	6,87	(Navarathana et al., 2020)
Polypropylène	NS	40	(ITOPF 2012b)

NS : non spécifié.

Les propriétés physico-chimiques du biochar sont responsables de l'adsorption initiale d'un pétrole brut à sa surface, mais il y a un transfert rapide de ces mécanismes vers le principe d'adhérence pétrole-pétrole en raison des nombreuses couches d'adsorption, de leur épaisseur et du caractère oléophile des hydrocarbures (Navarathna et al., 2020). La majorité des études impliquant l'adsorption du pétrole brut par le biochar ont mesuré la capacité d'adsorption par différence de masse sans tenir compte de l'adhérence du pétrole-pétrole (Kandanelli et al., 2018 ; Nguyen et Pignatello 2013). Dans ce mémoire, deux appellations distinctes seront utilisées afin de différencier la capacité d'adsorption par la surface du biochar uniquement et sa capacité d'adsorption globale incluant l'adhérence pétrole-pétrole soit la capacité d'adsorption intrinsèque et la capacité d'adsorption opérationnelle, respectivement.

Une analyse attentive des différents protocoles employés dans la littérature a permis d'établir un biais important : l'absence de considération pour l'adsorption de l'eau de mer par le biochar lors de l'adsorption de pétrole (AlAmeri et al., 2019 ; Kandanelli et al., 2018 ; Nguyen et Pignatello 2013). En effet, la quantité d'eau de mer adsorbée par le biochar est non négligeable et peut influencer les résultats d'adsorption rapportés dans la littérature (Navarathna et al., 2020). De plus, il a été remarqué que certaines études utilisent des solvants ne pouvant extraire la totalité des fractions du pétrole tels que l'hexane ou le toluène lors de la quantification de l'adsorption du pétrole par le biochar (Kandanelli et al., 2018 ; Nguyen et Pignatello 2013). Un protocole standardisé permettrait de comparer adéquatement les résultats publiés pour les études à venir.

Ce mémoire présente un protocole reproductible déterminant la capacité d'adsorption intrinsèque du pétrole brut des six biochars à l'étude. À ma connaissance, ce travail est le premier à apporter une distinction entre la capacité d'adsorption intrinsèque et opérationnelle d'un biochar.

Biochar enrichi en tant qu'agent de bioremédiation des hydrocarbures

Plusieurs études s'intéressant à la bioremédiation des sols ont démontré une stimulation de la biodégradation des hydrocarbures lors de l'ajout conjoint de biochar et de nutriments à des sols contaminés (Yang et al., 2018 ; Wang et al., 2017 ; Qin et al., 2013). Yang et al., (2018) a observé une abondance et une diversité importante de bactéries dans les interstices du biochar à la suite d'expérience de biostimulation de la dégradation du phénanthrène dans des sédiments d'eau douce, suggérant ainsi que le biochar pourrait être un bon support pour la croissance bactérienne. En effet, la grande porosité et la structure carbonée réfractaire du biochar offrent des environnements propices pour la colonisation et la croissance microbienne (Shackley et Sohi 2010 ; Lehmann et al., 2006).

Lors des études en milieu marin, la biostimulation de la dégradation des hydrocarbures pétroliers par l'ajout de nutriments inorganiques tel que la formule Bushnell-Haas est fréquemment employée (Schreiber et al., 2019 ; Tremblay et al., 2017 ; Munn 2011 ; Coulon

et al., 2007). La formule Bushnell-Haas apporte de l'azote et du phosphate inorganique sous les formes de phosphate monopotassique, de phosphate dipotassique et de nitrate d'ammonium pour un ratio 1:1:1 afin d'éviter une carence en nutriment essentiel (Sigma-Aldrich 2021). Les environnements côtiers et marins sont des milieux dynamiques où l'ajout de nutriments hydrosolubles sera rapidement dilué dans la masse d'eau. Les nutriments ne seront donc pas disponibles à l'interface pétrole-eau pour stimuler la croissance des BH (Nikilopoulou et Kalogerakis 2009). L'usage d'un support stable où les bactéries hydrocarbonoclastes, les nutriments et les hydrocarbures se rencontrent est donc une approche à fort potentiel. À ma connaissance, la récente étude de Wei et al., (2020) est la seule ayant utilisé une application conjointe de biochar, d'azote et d'un biosurfactant dans un milieu dynamique (marais salants). Leur étude repose sur l'hypothèse que le biochar retient l'azote, à marée haute, tout en adsorbant les hydrocarbures pétroliers. Leurs résultats démontrent une stimulation de la biodégradation des hydrocarbures.

Le deuxième chapitre de cette maîtrise se concentre sur l'effet du biochar enrichi sur la dégradation du pétrole brut par la bactérie *A. borkumensis*. Cette étude s'appuie sur l'hypothèse que l'enrichissement du biochar par un hydrolysate de coproduits des pêches, riche en azote et phosphore, permettra l'adhérence des nutriments à la surface du biochar pour ainsi créer des microenvironnements propices à la croissance bactérienne. À ce jour, aucune étude n'a proposé ce type d'enrichissement afin de stimuler la biodégradation des hydrocarbures. L'approche unique proposée ici vise donc à utiliser un biochar d'origine forestière enrichi par un hydrolysate de maquereau comme support nutritif à la croissance de la bactérie *A. Borkumensis*. Cette bactérie Gram-négative, aérobique en forme de bâtonnet, est considérée comme un organisme modèle depuis que son génome complet est disponible (Yakimov et al. 2007 ; Head et al. 2006). L'efficacité de la biodégradation des hydrocarbures pétroliers se mesure par l'évolution de la concentration des alcanes linéaires relativement à celle des alcanes ramifiés pristane (2,6,10,14-tétraméthylpentadécane, $C_{19}H_{40}$) et phytane (2,6,10,14-tétraméthylhexadécane, $C_{20}H_{42}$), qui sont deux biomarqueurs reconnus en raison de leur résistance plus importante à la biodégradation, comparativement aux *n*-alcanes associés soient *n*- C_{17} (heptadécane, $C_{17}H_{36}$) et *n*- C_{18} (octadécane, $C_{18}H_{38}$) (Bayona et al.,

2015 ; Wang et al., 2006). Les ratios $n\text{-C}_{17}$ /pristane et $n\text{-C}_{18}$ /phytane sont régulièrement utilisés dans les suivis environnementaux à la suite de déversements pétroliers. Ces ratios diagnostiques sont utilisés comme indice de biodégradation du pétrole Heidrun dans cette étude.

Ainsi, cet effort de recherche repose donc sur la valorisation de coproduits de l'industrie forestière et des pêches : deux industries d'importance au Canada.

OBJECTIFS

Considérant les limites opérationnelles des techniques d'intervention mécaniques liées à l'épaisseur de la nappe, l'absence de consensus sur l'usage des dispersants chimiques et l'importance de développer des outils d'intervention en présence de glace, l'objectif principal de cette maîtrise est de démontrer le potentiel du biochar enrichi comme agent de bioremédiation des déversements pétroliers en milieu côtier. Le projet se divise en deux chapitres, soit l'étude de la communauté bactérienne hydrocarbonoclaste de l'EMSL en condition hivernale et l'étude du biochar enrichi comme agent de bioremédiation. Les objectifs spécifiques de cette recherche sont les suivants :

- Confirmer la présence de bactéries hydrocarbonoclastes et méthanotrophes dans l'EMSL en condition hivernale par des analyses de metabarcoding;
- Déterminer la capacité d'adsorption intrinsèque du pétrole Heidrun par différents biochars grâce à un protocole développé à cet effet;
- Déterminer le potentiel d'un biochar enrichi à stimuler la biodégradation du pétrole conventionnel Heidrun par la souche bactérienne *Alcanivorax borkumensis* (ATCC 700651) en milieu contrôlé, par l'analyse des profils des alcanes par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse (GC-MS) et l'analyse qualitative au microscope à balayage électronique (MEB) de la colonisation des biochars.

CHAPITRE 1

CAPACITÉ POTENTIELLE DE BIOREMÉDIATION DES HYDROCARBURES PÉTROLIERS PAR LA COMMUNAUTÉ BACTÉRIENNE INDIGÈNE DE L'ESTUAIRE MARITIME DU SAINT-LAURENT EN CONDITION HIVERNALE

1.1 INTRODUCTION

L'EMSL représente une voie maritime majeure pour l'Amérique du Nord, ce qui l'expose à une contamination chronique aux hydrocarbures et au risque de déversements pétroliers (Gouvernement du Québec 2015). À ce jour, peu de données existent sur la présence et la diversité de la communauté microbienne hydrocarbonoclaste de cet écosystème. Les seules études disponibles à ce sujet remontent à plus de vingt ans et ont été réalisées en mésocosmes dans les installations de l'UQAR/ISMER. Les résultats de ces études ont permis de démontrer une augmentation des bactéries hétérotrophes à la suite d'une contamination aux hydrocarbures pétroliers et d'un enrichissement en nutriments ainsi que la présence de quelques espèces de bactéries hydrocarbonoclastes par culture (Delille et Siron 1993; Padrós et al., 1999; Siron et al., 1995; Siron et al., 1996). La capacité et l'efficacité de la communauté microbienne indigène de l'EMSL à dégrader les hydrocarbures pétroliers dépendent de deux facteurs intrinsèques : la composition de celle-ci et sa capacité d'adaptation à la présence d'hydrocarbures (Lemarchand et Desbiens 2015). Il est actuellement impossible de déterminer la capacité potentielle de biodégradation des hydrocarbures pétroliers dans l'EMSL compte tenu de l'absence de données exhaustives sur la diversité de la communauté bactérienne indigène.

Face à cette lacune, ce projet de maîtrise propose un premier aperçu de la diversité bactérienne hydrocarbonoclaste présente au sein de la colonne d'eau de l'EMSL en condition

hivernale. Le fond marin de l'EMSL est composé de plusieurs événements gazeux de méthane qui relargue ce gaz dans la colonne d'eau et dont la concentration se dilue en remontant vers la surface (communication personnelle, Huixiang Xie 2020 ; Lavoie et al., 2010). Les environnements marins riches en méthane sont reconnus pour présenter une communauté microbienne riche en méthanotrophes (Niu et al., 2018). Ainsi, la distribution des genres bactériens hydrocarbonoclastes et méthanotrophes de la colonne d'eau de l'EMSL a été étudiée relativement à la présence d'un événement gazeux de méthane.

1.2 METHODOLOGIE

1.2.1 Sites d'échantillonnage

Les échantillons ont été récoltés durant la mission Odyssée Saint-Laurent 2019 à bord du NGCC Amundsen du 1er au 16 février 2019. Des échantillons d'eau de mer ont été récoltés au large de Rimouski (48° 40,626 N, 68° 35, 504 O) et de Matane (48° 59, 558 N, 67° 37, 092 O) (figure 8). La collecte d'eau de mer s'est réalisée à l'aide d'une rosette de bouteilles Niskin de 12 L, à trois différentes profondeurs établies en fonction de la bathymétrie du site (10 m, 200 m et 326 m pour la station Rimouski ; 25 m, 260 m et 290 m pour la station Matane). Les échantillons ont donc été nommés ainsi : Rimouski_10m, Rimouski_200m, Rimouski_326m, Matane_25m, Matane_260m et Matane_290m.

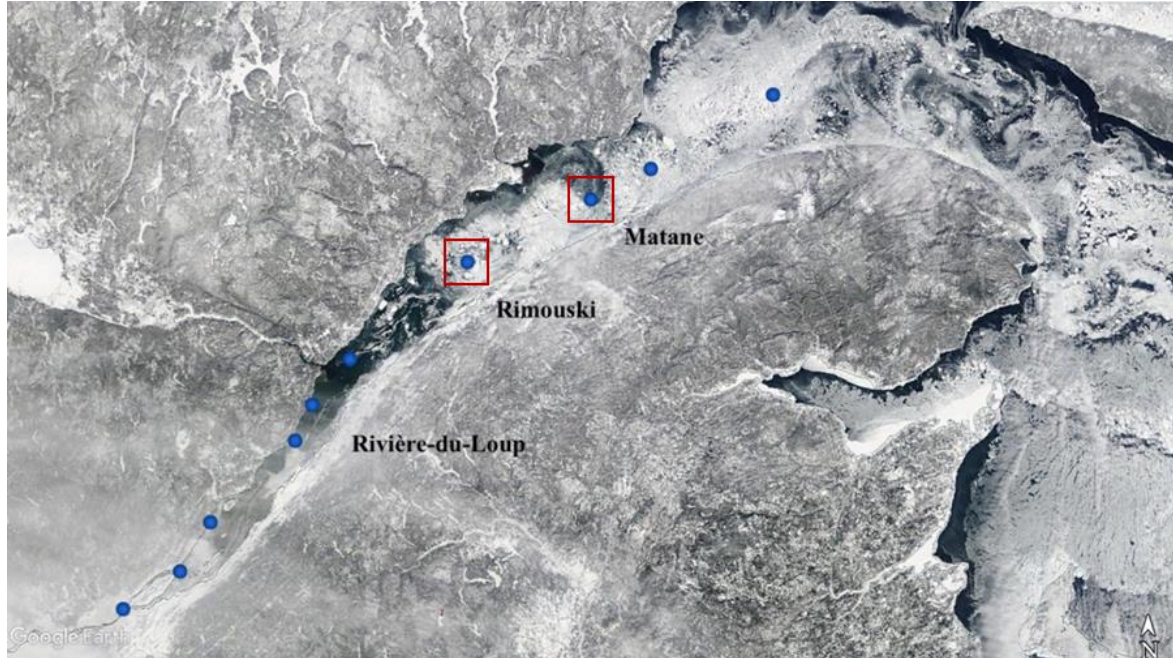


Figure 8: Localisation des stations échantillonnées dans l'estuaire et le golfe du St-Laurent à l'hiver 2019. Les stations encadrées sont celles de Rimouski et Matane, échantillonnées dans le cadre de ce projet (Tiré de St-Onge 2019).

1.2.2 Abondance bactérienne

À la suite de l'échantillonnage, des sous-échantillons de 4,5 mL d'eau de mer ont été fixés au glutaraldéhyde (concentration finale : 0,14 %) dans des tubes de cryoconservation de 5 mL en duplicat. Ils ont été mis au noir pendant 15 minutes et conservés à -80 °C avant leur analyse. Les échantillons ont été marqués au SYBR Green I et ont été analysés par cytométrie en flux (CytoFLEX, Beckman Coulter) selon le protocole décrit par Belzile et al., (2008).

1.2.3 Diversité bactérienne

Un volume d'un litre d'eau de mer a été filtré sur une membrane Durapore (GVWP, Millipore) de 47 mm de diamètre et de 0,2 µm de porosité. Les échantillons ont été conservés au congélateur -80 °C jusqu'à l'extraction de l'ADN. L'extraction a été réalisée avec l'ensemble d'extraction E.N.Z.A molluscs extraction DNA selon le protocole du fabricant (Omega Bio-Tek). Les extraits ont été purifiés et conservés à -20 °C jusqu'à leur analyse par metabarcoding 16S. Ces analyses ont été effectuées par le centre de recherche sur les biotechnologies marines (CRBM, Rimouski). La quantification d'ADN a été réalisée avec le lecteur de plaque SPARK (TECAN) et l'ensemble de quantification AccuClear® Ultra High Sensitivity dsDNA (Biotium). Les extraits d'ADN ont été séquencés par le système Illumina MiSeq selon le protocole 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation (Illumina 2013). Une première amplification PCR a été réalisée avec le couple d'amorces 341F 5'-TCG TCG GCA GCG TCA GAT GTG TAT AAG AGA CAG CCT ACG GGN GGC WGC AG-3' et 785R 5'-GTC TCG TGG GCT CGG AGA TGT GTA TAA GAG ACA G GAC TAC HVG GGT ATC TAA TCC-3' visant la région V3-V4 du gène bactérien 16S rRNA (Klindworth et al. 2013). Une fois la première PCR terminée, les échantillons ont été purifiés et les amorces référencées ont été ajoutées pour la réalisation d'une deuxième amplification afin de créer les bibliothèques requises pour le séquençage. Un deuxième nettoyage a suivi afin de quantifier, normaliser et regrouper les bibliothèques. La bibliothèque finale a été séquencée par le système MiSeq et l'ensemble réactif MiSeq v3 (2 x 300pb) de 600 cycles (Illumina).

Les séquences obtenues ont été alignées et traitées par l'équipe du CRBM avec l'application Kraken Metagenomics, version : 2.0.1 (Wood et Salzberg 2014).

1.3 RESULTATS & DISCUSSION

1.3.1 Abondance bactérienne

En condition hivernale, l'abondance bactérienne dans l'EMSL est de l'ordre de 10^5 bactéries/mL, soit similaire aux abondances mesurées dans d'autres environnements océaniques froids (Uhlig et al., 2018 ; Powell et al., 1987). Comme indiqué dans le tableau IV, l'abondance bactérienne est plus faible dans les échantillons collectés en surface (10 m et 25 m) comparativement aux échantillons collectés plus en profondeur. Cette différence peut être expliquée par la faible productivité primaire hivernale qui limite la croissance bactérienne en surface ainsi que par la présence de glace de mer. La présence de glace peut en effet induire un biais, car les bactéries présentes dans la couche de surface colonisent rapidement la glace de mer par les canaux de saumure ce qui diminue leur abondance dans l'eau sous-jacente (Munn 2011). Les résultats d'abondance bactérienne des échantillons Rimouski_200m, Rimouski_326m, Matane_260m et Matane_290m sont similaires. Cela révèle que la présence de l'évent gazeux à la station de Matane n'affecte pas l'abondance bactérienne.

1.3.2 Diversité bactérienne

Les résultats démontrent une abondance relative des genres méthanotrophes, organismes chimiotrophes, plus importante en profondeur et une abondance relative des genres hydrocarbonoclastes, organismes principalement aérobiques, plus importante en surface (tableau IV et figure 9). La diversité des genres hydrocarbonoclastes et méthanotrophes des échantillons Rimouski_200m, Rimouski_326m, Matane_260m et Matane_290m est similaire et différente de Rimouski_10m et Matane_25m. Ce résultat s'accorde avec la répartition hivernale de l'EMSL en deux masses d'eau distinctes (El-Sabh et Silverberg 1990).

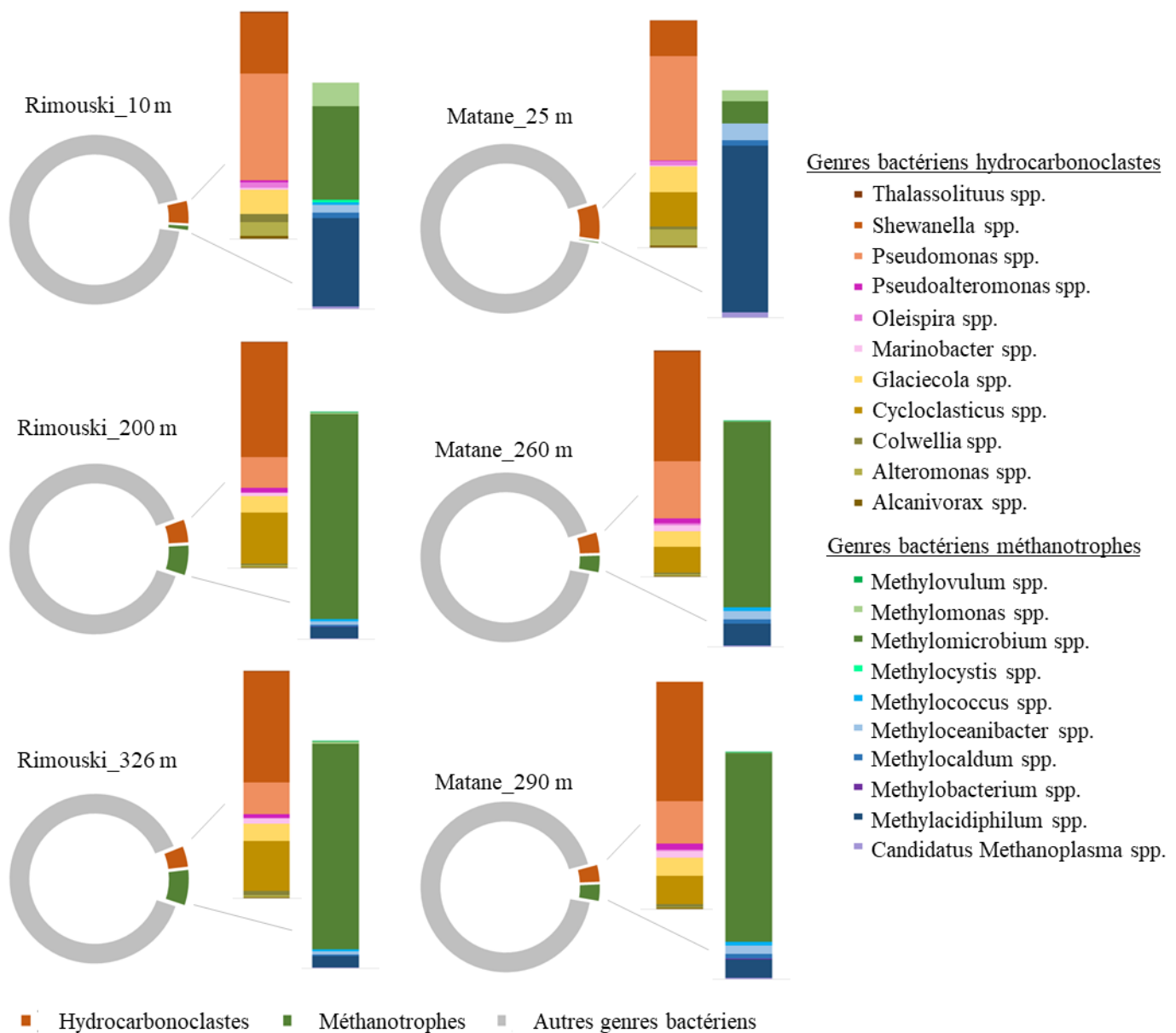


Figure 9: Diversité des genres hydrocarbonoclastes et méthanotrophes appartenant à la classe Gammaproteobacteria identifiés au large de Rimouski et de Matane au mois de février 2019. Les anneaux représentent l'abondance relative des genres bactériens hydrocarbonoclastes, méthanotrophes et des autres genres bactériens tandis que les barres empilées identifient les genres associés selon leur abondance relative proportionnelle.

La distribution des genres hydrocarbonoclastes est similaire aux deux stations et sur l'ensemble de la colonne d'eau. Les genres hydrocarbonoclastes identifiés sont présents dans tous les échantillons, à l'exception de *Thalassolituus* qui est absente de l'échantillon Matane_290m. Le genre *Thalassolituus* est cependant en très faible abondance relative dans tous les échantillons pour une abondance relative maximale de 0,03 %. La diversité des genres hydrocarbonoclastes identifiés dans l'EMSL est similaire à la diversité connue en milieu froid, telle que répertoriée dans le tableau II. Les résultats de l'étude menée par Tremblay et al., (2017) démontrent aussi une diversité similaire dans les eaux de Terre-Neuve-et-Labrador. Cela concorde avec la faible variabilité des communautés bactériennes à travers les différents écosystèmes océaniques du globe (Wietz et al., 2010).

Tableau IV: Abondance bactérienne totale et diversité bactérienne des genres hydrocarbonoclastes et méthanotrophes au large de Rimouski et de Matane au mois de février 2019

Station	Profondeur (m)	Abondance bactérienne moyenne (10^5 cell/mL)	Abondance relative des genres hydrocarbonoclastes (%)	Abondance relative des genres méthanotrophes (%)
Matane	25	$3,8 \pm 0,08$	7,02	0,51
	260	$4,6 \pm 0,01$	4,21	3,47
	290	$4,6 \pm 0,09$	3,51	3,42
Rimouski	10	$4,0 \pm 0,03$	5,42	1,09
	200	$4,5 \pm 0,01$	4,64	5,92
	326	$4,6 \pm 0,03$	4,22	7,02

La distribution des genres méthanotrophes n'est pas la même dans chaque échantillon, mais la diversité est somme toute similaire. Tel qu'illustré par la figure 9 et le tableau IV, une plus grande abondance des genres méthanotrophes est observée à la station Rimouski et au sein des échantillons près de la surface. Les données de l'équipe du chercheur Huixiang Xie (UQAR/ISMER), s'intéressant au profil de méthane dans la colonne d'eau du l'EMSL, démontrent une concentration de méthane à Matane_290m de 74 nM qui diminue à 21 nM à une profondeur de 285m et à 15 nM à une profondeur de 280 m. Cette plume de méthane est donc fortement concentrée près du fond marin et se dilue en remontant la colonne d'eau

(communication personnelle, Huixiang Xie 2020; St-Onge 2019). L'eau de mer utilisée pour les analyses de concentration de méthane provient de la même bouteille Niskin que celle de l'analyse de diversité bactérienne. Les résultats obtenus par metabarcoding démontrent que la présence de méthane au niveau de l'évent gazeux ne contribue pas à modifier la diversité et l'abondance relative des genres méthanotrophes. Ce résultat diffère de ce qui est communément reporté dans la littérature, puisque les bactéries méthanotrophes sont habituellement largement distribuées dans les environnements riches en méthane (Niu et al., 2018 ; Boetius et Wenzhöfer 2013 ; Hanson et Hanson 1996). Deux facteurs peuvent expliquer la discordance entre nos données et celles de la littérature.

Le premier facteur est l'échantillonnage. L'étude de Pimenov et al., (2008) a démontré que l'abondance bactérienne méthanotrophe associée à la présence de méthane atteint les valeurs typiques à 10 m du fond marin dans l'écosystème de la mer Baltique. Il est donc probable que les résultats obtenus soient en réalité l'abondance normalement retrouvée dans l'EMSL étant donné la présence répandue d'événements gazeux dans l'EMSL (Pinet et al., 2015). À la station Matane, le fond marin est à 304 m de profondeur (livre de bord NGCC Amundsen) et l'échantillonnage a eu lieu à 290 m de profondeur. Un échantillonnage plus vaste permettrait de déterminer les valeurs typiques d'abondance bactérienne méthanotrophe de la colonne d'eau et ensuite, il serait possible de déterminer l'effet potentiel de l'évent gazeux sur cette communauté.

La deuxième voie d'explication peut provenir de la base de données utilisée afin d'aligner les séquences obtenues à la suite des analyses de metabarcoding. Plusieurs bases de données existent afin d'interpréter ce type de données selon le champ de recherche. Le logiciel Kraken Metagenomics (version : 2.0.1) aligne les séquences à l'aide la base de données du centre national pour l'information biotechnologique (National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine) intégrée, ce qui réduit les ressources en bio-informatique autrement nécessaires. Ce logiciel n'utilise pas la base de données SILVA comme plusieurs études portant sur la biodégradation du pétrole (Schreiber et al., 2019 ; McFarlin et al., 2018 ; Vergeynst et al., 2018). La base de données SILVA est actuellement

la base de données contenant la plus grande diversité de séquences provenant de microorganismes de milieux naturels. Dans le cadre de ce mémoire, il n'a pas été possible de traiter nos données avec la base SILVA en raison de contraintes de temps. Il sera intéressant de travailler davantage avec les données brutes obtenues dans le cadre de ce projet de maîtrise afin d'approfondir le traitement bio-informatique de ces données. Cela permettra aussi d'acquérir plus de connaissances sur la diversité microbienne totale de l'EMSL en condition hivernale.

1.4 CONCLUSION

Cet effort de recherche constitue un premier pas concret afin d'établir la capacité potentielle de réponse de l'EMSL en cas de déversement pétrolier. Grâce aux analyses de metabarcoding, la présence de BH a été confirmée et l'identification de ces genres bactériens a été réalisée. Ces données indiquent que l'EMSL possède l'une des deux caractéristiques afin de pouvoir statuer sur son potentiel de biodégradation des hydrocarbures, soit la présence de BH (Lemarchand et Desbiens 2015). Toutefois, une étude beaucoup plus vaste englobant différentes saisons serait nécessaire. La seconde caractéristique à déterminer est la capacité de la communauté bactérienne à s'adapter à la présence d'hydrocarbures. À ce jour, il est impossible de savoir à quelle vitesse cette communauté peut s'adapter afin de dégrader efficacement les hydrocarbures pétroliers. Une meilleure compréhension de la capacité potentielle de biodégradation *in situ* des hydrocarbures implique l'étude de la succession bactérienne afin de déterminer leur rapidité d'adaptation. Cela bonifierait grandement l'état des connaissances sur la communauté bactérienne hydrocarbonoclaste indigène de l'EMSL.

L'élaboration de techniques de bioremédiation est primordiale afin de bonifier les techniques d'intervention actuelle, puisque la biodégradation des hydrocarbures pétroliers en milieu naturel est l'ultime voie de retrait de ces composés (Head et al., 2006). Ayant confirmé la présence d'une communauté bactérienne hydrocarbonoclaste dans l'EMSL, il est valide d'étudier le développement d'un nouvel adsorbant pétrolier permettant la prolifération de ces bactéries, tel que le biochar enrichi.

CHAPITRE 2

UTILISATION DU BIOCHAR ENRICHİ COMME AGENT DE BİOREMÉDIATION DES HYDROCARBURES PÉTROLIERS EN MILIEU CÔTIER

2.1 INTRODUCTION

L'élaboration de nouvelles techniques d'intervention abordables et écoresponsables en cas de déversements pétroliers maritimes est largement étudiée à l'échelle internationale. Les adsorbants d'origine naturelle comme alternatives aux adsorbants conventionnels de polypropylène sont des options intéressantes étant donné leur bon ratio coût-efficacité et leur production à l'échelle locale (ITOPF 2012b). L'utilisation du biochar comme agent adsorbant des hydrocarbures pétroliers est une application émergente et prometteuse (Bartoli et al., 2020). Des biochars issus de diverses biomasses et de divers traitements ont été étudiés comme le biochar magnétique (Navarathna et al., 2020 ; Nazifa et al., 2018), le biochar à porosité augmentée par imprégnation au KOH (Cai et al., 2019 ; Fu et al., 2019) et le biochar brut (AlAmeri et al., 2019 ; Kandanelli et al., 2018 ; Nguyen et Pignatello 2013). La biostimulation de la dégradation du pétrole par l'ajout combiné de nutriments et de biochar a déjà été démontrée (Wei et al., 2020 ; Yang et al., 2018), mais aucune étude ne s'est penchée, à notre connaissance, à l'élaboration d'un biochar enrichi prêt à l'emploi. Un tel biochar constituerait un support nutritif favorable à l'adsorption des hydrocarbures et à la colonisation par les bactéries hydrocarbonoclastes, entraînant une augmentation de la capacité de biodégradation du pétrole.

Ce chapitre présente dans un premier temps, le potentiel de six biochars bruts comme adsorbant pétrolier et par la suite, le potentiel d'un biochar de peuplier enrichi par un hydrolysate de maquereau comme agent de bioremédiation des hydrocarbures.

2.2 METHODOLOGIE

2.2.1 Production des biochars

Les six biochars à l'étude ont été produits par le SEREX (Service de recherche et d'expertise en transformation des produits forestiers, Amqui, Qc) à partir de trois biomasses forestières (biomasse forestière confondue, épinette blanche et peuplier faux-tremble) à l'aide d'une unité de pyrolyse intermédiaire de type réacteur à vis sans fin (Auger) conçue et développée au SEREX (figure 10). Cette unité est principalement utilisée pour la production d'huiles pyrolytiques et le biochar représente le coproduit de cette production. Les biochars ont été obtenus à deux différentes températures (400 et 450 °C) avec un temps de résidence de la matière première de 3,5 min. Un flux d'azote a été appliqué en continu afin de préserver l'atmosphère inerte du milieu. Les biochars ont été nommés en fonction de leur biomasse et de leur température de pyrolyse, à savoir, biomasse400, biomasse450, épinette400, épinette450, peuplier400 et peuplier450. Ces biochars sont des particules solides de différentes tailles, très friables et d'apparence similaire (figure 11).



Figure 10: Unité de pyrolyse intermédiaire de type réacteur à vis sans fin du SEREX



Figure 11: Biochar d'épinette400

2.2.2 Morphologie des biochars

La morphologie des particules des biochars a été observée par microscopie électronique à balayage (MEB) (JSM-6460LV, JEOL). Les échantillons ont été préalablement séchés à 60 °C dans une étuve jusqu'à ce que leur masse soit constante et conservés dans un dessiccateur. Lors des analyses, les particules de biochar ont été déposées sur un collant carbone de 12 mm de diamètre (Electron Microscopy Sciences) recouvrant un talon d'aluminium 12,5 mm de diamètre (Electron Microscopy Sciences). Le MEB a été opéré à un voltage de 20 kV au mode « high vacuum » pour la prise d'image à un grossissement de x750.

2.2.3 Pétrole Heidrun

Le pétrole brut Heidrun (Mer du Nord, Norvège) a été fourni par l'équipe du chercheur Thomas King de Pêches et Océans Canada du centre Offshore Oil, Gas and Energy Research (Nouvelle-Écosse, Canada). Le pétrole Heidrun, un brut conventionnel, possède une densité

de 0,8835 g/mL à 25 °C (Statoil 1997). L'équipe de T. King a étudié le comportement de ce pétrole dans des environnements marins simulés et réels, entre autres lors de l'expérience d'un déversement contrôlé en mer au large de Matane (Lee et al., 2011).

2.2.4 Capacité d'adsorption intrinsèque du pétrole Heidrun par les différents biochars

La capacité d'adsorption intrinsèque du pétrole brut Heidrun par les différents biochars à l'étude a été déterminée en laboratoire à une température de 20 °C, selon le protocole présenté à la figure 12. De l'eau de mer naturelle a été collectée le 31 juillet 2019 à la station aquicole de l'ISMER (Pointe-au-Père, Rimouski, Québec) et filtrée sur un filtre GF/F de 47 mm de diamètre et de 0,7 µm de porosité. 150 mL de cette eau ont ensuite été disposés dans des contenants en verre de 7 cm de diamètre. Pour les biochars de biomasse, six quantités différentes de pétrole, variant entre 0 g et 0,07 g, ont été ajoutées à la surface de l'eau afin de former une nappe pétrolière (épaisseur de nappe : 0 µm à 20,27 µm). Cette gamme de quantités permet d'obtenir un plateau d'adsorption. Pour les biochars d'épinette et de peuplier, sept quantités différentes de pétrole, variant entre 0 g et 0,1 g, ont été ajoutées à la surface de l'eau afin de former une nappe pétrolière (épaisseur de nappe : 0 µm à 29,42 µm) et d'obtenir un plateau d'adsorption. La quantité de pétrole a été convertie en épaisseur de la nappe à l'aide de la formule du volume d'un cylindre. Puis 0,03 g de biochar a été déposé à la surface de la nappe de pétrole. Ces échantillons ont été mis en agitation sur une plaque agitatrice afin d'obtenir un vortex de 2 cm pendant 45 minutes. Le contenu des échantillons a ensuite été filtré sur un filtre GF/F de 47 mm de diamètre et le biochar chargé en pétrole a été rincé par de l'eau osmosée afin de dissoudre le sel provenant de l'eau de mer. Il a ensuite été récolté à partir du filtre à l'aide d'une spatule pour ensuite être déposé dans une éprouvette de verre. Les éprouvettes ont été congelées à -80 °C puis lyophilisées pendant 24 h. La quantité d'eau de mer adsorbée par le biochar a été déterminée par différence de poids avant et après la lyophilisation. Une fois lyophilisé, le pétrole a été extrait du biochar par une macération dans 5 mL de dichlorométhane (DCM) de grade HPLC (Accusolv™) pendant

10 min suivie d'une filtration sur une colonne de laine de verre d'une hauteur de 14 cm et d'un diamètre de 6 mm (monster-pett, Fisher). Les éprouvettes ont subi deux rinçages successifs par 3 mL de DCM et la colonne de verre a subi un rinçage par 2 mL de DCM.

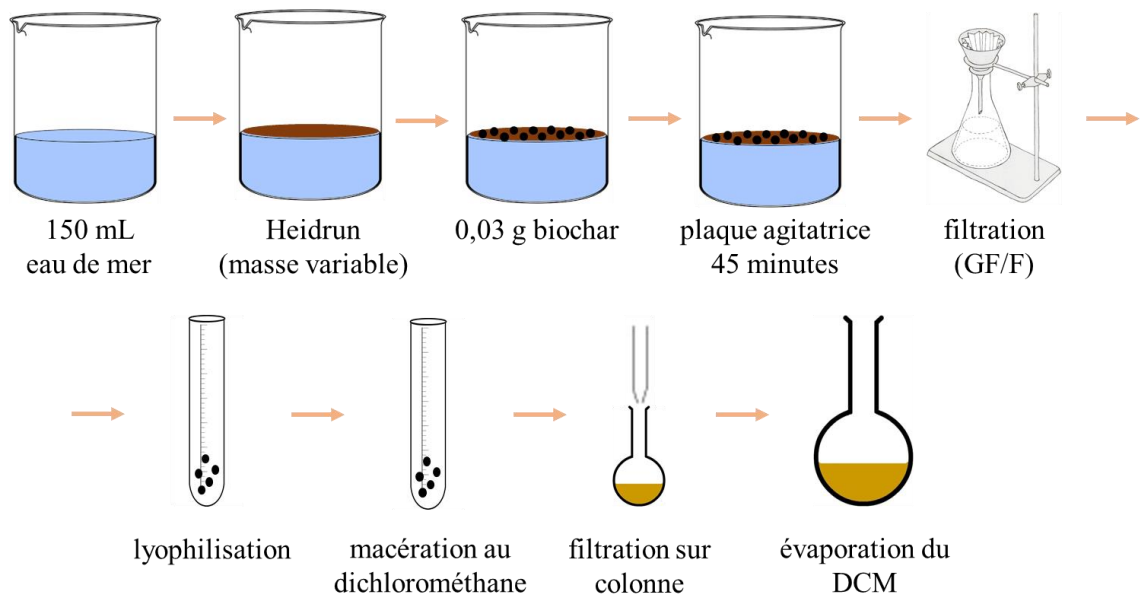


Figure 12: Protocole schématisé de la préparation des échantillons afin de déterminer la capacité d'adsorption intrinsèque du pétrole Heidrun par les biochars

Le mélange final DCM-pétrole a été récupéré dans un ballon de 50 mL. La quantité de pétrole adsorbée a été quantifiée par la différence de masse avant et après l'évaporation du DCM à l'aide d'un évaporateur rotatif (Rotovapor R-200, Büchi). L'expérience a été réalisée en triplicat et les résultats obtenus ont été normalisés par la quantité moyenne de goudron pyrolytique extrait du biochar par la formule suivante :

$$Adsorption_{(g/g)} = masse\ Heidrun_{(g)} - (goudron_{(g/g)} * masse\ biochar_{(g)})$$

La quantité de goudron pyrolytique extrait a été déterminée par la différence de masse à l'aide des étapes de macération au DCM, de filtration sur colonne et d'évaporation du DCM

présenté à la figure 12. Le goudron pyrolytique extrait de chacun des biochar a été quantifié à l'aide de six répliqués. Ce goudron a été initialement observé en raison d'un dépôt visqueux et foncé sur la paroi du ballon à la suite de l'évaporation du DCM (figure 13).

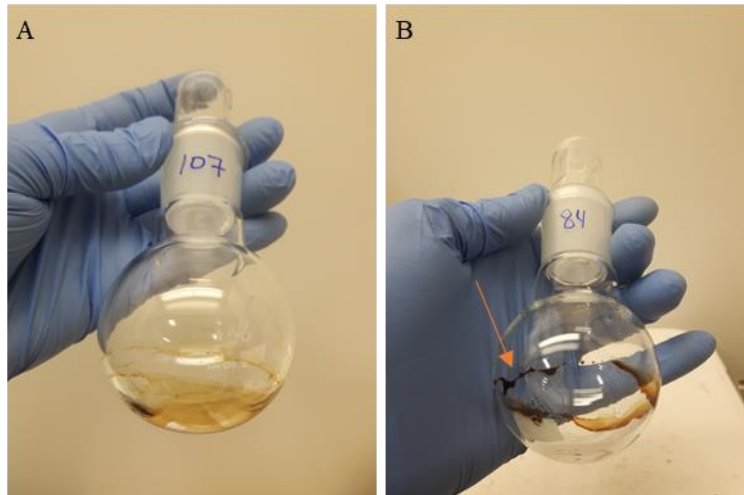


Figure 13: Pétrole adsorbé par le biochar après l'évaporation du DCM (A) absence de goudron pyrolytique (B) présence de goudron pyrolytique

2.2.5 Production de l'hydrolysate de maquereau

Le maquereau (*Scomber scombrus*) a été fourni par Lelièvre, Lelièvre et Lemoignan Ltée (Grande-Rivière, Sainte-Thérèse-de-Gaspé, QC, Canada). La production de l'hydrolysate, par hydrolyse enzymatique des résidus de la transformation du poisson, a eu lieu au centre technologique des produits aquatiques (CTPA, MAPAQ, Gaspé, QC, Canada), selon le procédé décrit dans l'article de Beaulieu et al., (2009) et illustré à la figure 14. L'hydrolysate de maquereau utilisé résulte d'une ultra filtration et provient du lot 2Ma061-RN-18S.

L'hydrolysate de maquereau se présente sous la forme d'une poudre de protéines hydrosoluble et riche en nutriments essentiels dont la composition élémentaire est la suivante :

- 44,74 % de carbone,
- 6,74 % d'hydrogène,

- 32,79 % d'oxygène,
- 14,68 % d'azote.

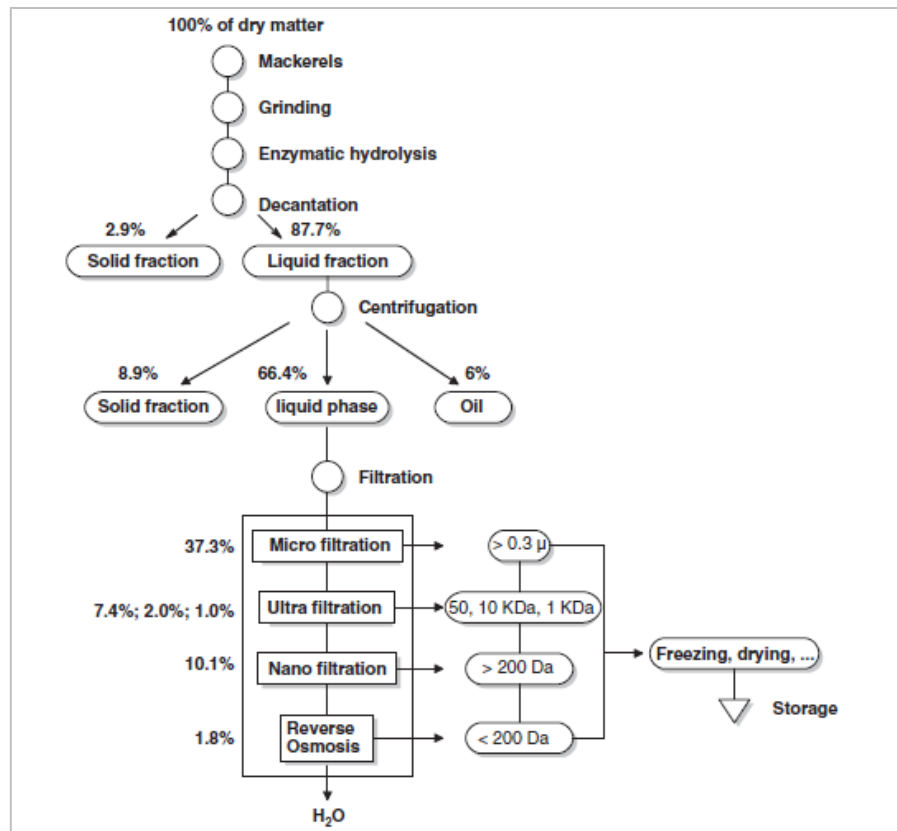


Figure 14: Schématisation de la production d'hydrolysate de maquereau (Beaulieu et al., 2009)

2.2.6 Enrichissement du biochar peuplier450 par l'hydrolysate de maquereau

L'enrichissement du biochar peuplier450 par l'hydrolysate de maquereau a été réalisé à l'aide d'une colonne de verre d'une hauteur de 30 cm et d'un diamètre de 2,5 cm. De la laine de verre a été déposée à la base de la colonne ainsi que 1,50 g de biochar peuplier450. 1,50 g d'hydrolysate a été dissout dans 100 mL d'eau osmosée et la solution a été stérilisée par filtration sur une membrane Durapore (GVWP, Millipore) de 47 mm de diamètre et de 0,2 μm de porosité. De l'acide trifluoroacétique (TFA) (EMD millipore corporation) de grade

HPLC a été ajouté à l'hydrolysate en solution (concentration finale : 0,1 %). Cette acidification a permis de protoniser les groupements négatifs de l'hydrolysate favorisant ainsi son adsorption par le biochar. La solution d'hydrolysate acidifiée a ensuite été versée dans la colonne de biochar afin de réaliser le processus d'enrichissement par adsorption. Le faible point d'ébullition du TFA permet une évaporation rapide de l'acide à la suite de l'enrichissement. Le biochar enrichi a ensuite été congelé à -80 °C, lyophilisé pendant 24h et conservé au congélateur, à -20 °C dans un dessiccateur. Il y a eu la production de deux biochars enrichis peuplier450-EN-1 et peuplier450-EN-2. Le premier a été produit en octobre 2019 et le deuxième en juin 2020 selon le même protocole avec les mêmes sources de biochar peuplier450 et d'hydrolysate de maquereau. La deuxième production de biochar enrichi a été réalisée puisque la première n'était pas suffisante pour l'ensemble des analyses. Le peuplier450-EN-1 et peuplier450-EN-2 ne peuvent pas être considérés comme duplicata, car leurs caractéristiques diffèrent selon les analyses présentées à la section résultat et discussion.

2.2.7 Analyses thermogravimétriques (TGA)

Les analyses TGA permettent de mesurer la perte de masse en fonction de la température afin de caractériser la capacité d'adsorption du pétrole Heidrun et le processus d'enrichissement. Elles ont été réalisées sur les biochars peuplier450, peuplier450-EN-1, peuplier450-EN-2 ainsi que sur des versions chargées en pétrole, peuplier450-heidrun et peuplier450-EN-2-heidrun. Ces derniers proviennent d'un processus d'adsorption réalisé dans des contenants en verre de 19 cm de diamètre rempli avec 1 L d'eau de mer. L'eau de mer utilisée a été collectée le 31 juillet 2019 à la station aquicole de l'ISMER (Pointe-au-Père, Rimouski, Québec) et filtrée sur un filtre GF/F de 47 mm de diamètre et de 0,7 µm de porosité. La production du peuplier450-heidrun a été réalisée en ajoutant 1,00 g de pétrole à la surface de l'eau, suivi de 1,20 g de biochar peuplier450 à la surface du film pétrolier (épaisseur de film pétrolier : 50 µm). La production du peuplier450-EN-2-heidrun a été réalisée en ajoutant 0,61 g de pétrole à la surface de l'eau, suivi de 1,20 g de biochar

peuplier450-EN-2 à la surface du film pétrolier (épaisseur de film pétrolier : 32 μm). Les deux contenants ont ensuite été déposés sur une plaque agitatrice afin d'obtenir un vortex de 2 cm pendant 45 minutes. La quantité de pétrole utilisée pour chacun des biochars a été déterminée selon leur capacité d'adsorption intrinsèque respective afin qu'ils soient saturés en pétrole.

La TGA a été effectuée à l'aide de l'analyseur thermique STA6000 (PerkinElmer) sous une atmosphère d'azote ayant un débit de 100 mL/min. Une quantité de 10 mg a été déposée dans un creuset de porcelaine. Un creuset vierge a été utilisé comme blanc analytique. L'étendue thermique de l'analyse est de 30 °C à 900 °C avec une rampe de chauffage de 10 °C/min. Le contrôle de l'instrument et l'acquisition des données ont été réalisés à l'aide du logiciel Pyris, version 13.3.2.0030 (PerkinElmer).

2.2.8 Caractéristiques chimiques des biochars peuplier450

La composition élémentaire et la spectroscopie infrarouge par transformée de Fourier (FTIR) permettent de mieux comprendre l'influence des différents mécanismes d'adsorption grâce aux liaisons chimiques présentes à la surface du biochar. Leur utilisation conjointe est complémentaire et fréquemment utilisée afin d'acquérir des informations qualitatives sur les groupes fonctionnels de surface. Les analyses ont été réalisées sur le biochar peuplier450, peuplier450-EN-1 et peuplier450-EN-2.

2.2.8.1 Analyses élémentaires

La composition élémentaire des différents biochars a été déterminée par procédure standard sous la responsabilité du SEREX. La teneur en oxygène a été obtenue par différence de pourcentage. Les ratios atomiques H/C et O/C sont utilisés comme indice d'aromaticité et le ratio (O+N)/C est utilisé comme indice de polarité. Six répliqués par échantillon ont été analysés.

2.2.8.2 Spectroscopie infrarouge par transformée de Fourier (FTIR)

Les analyses FTIR du biochar peuplier450, peuplier450-EN-1 et peuplier450-EN-2 ont été effectuées par la technique de réflectance totale atténuée (ATR) à l'aide du spectromètre Nicolet 6700 (Thermo Scientific). Les biochars ont été broyés manuellement à l'aide d'un pilon et d'un mortier afin de créer une fine poudre. Les spectres ont été réalisés avec 256 balayages à une résolution de 4 cm^{-1} . Des corrections ont été apportées aux spectres d'absorbance avec le logiciel OMNIC (Thermo Scientific) dans l'ordre suivant : normalisation à la bande d'absorbance à 1588 cm^{-1} ($A=1$) puisqu'elle est de plus forte intensité, correction manuelle de la ligne de base et lissage automatique du spectre. Un spectre par échantillon a été réalisé et leur interprétation est qualitative.

2.2.9 Biostimulation de la dégradation du pétrole Heidrun par la souche bactérienne *Alcanivorax Borkumensis* sous conditions contrôlées

La souche bactérienne *Alcanivorax borkumensis* (ATCC-700651, Cedarlane) a été utilisée comme organisme modèle hydrocarbonoclaste afin de déterminer si le biochar enrichi stimulait la dégradation microbienne du pétrole brut Heidrun en milieu contrôlé. La souche bactérienne a été mise en culture dans un milieu de culture composé de Marine Broth (DIFCO) et de pyruvate, à 30 °C , sous agitation constante à 150 rpm (Innova 4000, New Brunswick Scientific). En raison du peu de littérature disponible concernant la croissance d'*A. borkumensis* en eau de mer naturelle, une cinétique de croissance à 20 °C en milieu de Marine Broth sans pyruvate a été réalisé sur une période de 96 h afin d'estimer la croissance cellulaire de la souche en absence d'hydrocarbures (conditions de croissance minimale). Les résultats obtenus ont permis d'établir la durée de l'expérience. Il est à noter que l'utilisation d'*A. borkumensis* repose sur sa mise en culture documentée et facilement réalisable, et non sur les résultats de diversité bactérienne présentés au chapitre 1.

L'eau de mer utilisée a été collectée le 23 janvier 2020 à la station aquicole de l'ISMER (Pointe-au-Père, Rimouski, Québec) et stérilisée par filtration sur une membrane Durapore

(GVWP, Millipore) de 47 mm de diamètre et de 0,2 μm de porosité. La concentration de l'eau de mer en nitrate est de 38,90 $\mu\text{mol/L}$ et celle en phosphate est de 9,58 $\mu\text{mol/L}$ durant le mois de janvier 2020. Des tubes ventilés de 50 mL (Corning® mini bioreactor) ont été utilisés comme microcosmes. Ces microcosmes contenaient : 40 mL d'eau de mer stérile, *A. borkumensis* à la concentration finale de 10^6 bactéries/mL, 29 μL de pétrole Heidrun (volume basé sur la formation d'une épaisseur de nappe de 50 μm) et 0,02 g de biochar peuplier450 ou de biochar peuplier450-EN-1 (tableau V). L'expérience a été réalisée en triplicat pour une durée de quatre semaines, à une température de 24 °C sous une agitation de 75 rpm dans incubateur Innova 4000 (New Brunswick Scientific). Cet incubateur ne permet pas de conserver une température plus froide que celle ambiante, ce qui justifie les conditions d'incubation utilisées. Deux séries de microcosmes ont été réalisées simultanément : l'une pour les analyses chimiques quantifiant la biodégradation du pétrole Heidrun et l'autre pour les analyses microbiennes déterminant la biocolonisation du biochar par *A. borkumensis*.

Après les 4 semaines d'incubation, les échantillons ont été fixés au glutaraldéhyde (Sigma-Aldrich, Grade 1) pour une concentration finale de 0,25 %. Les différents traitements ont été nommés par leur composition selon la désignation suivante : A = *A. borkumensis*, H = heidrun, B = biochar peuplier450, BE = biochar peuplier450-EN-1. Les contrôles sont constitués de la souche bactérienne tandis qu'*A. borkumensis* est absente des blancs.

Tableau V: Composition des différents traitements utilisés afin d'établir la biocolonisation du biochar peuplier450 et du peuplier450-EN-1 ainsi que leur effet sur la biodégradation du pétrole Heidrun par *Alcanivorax borkumensis* en milieu contrôlé

Traitements	Eau de mer (40 mL)	<i>A. borkumensis</i> (1x10 ⁶ cell/mL)	Heidrun (29 µL)	Biochar (0,02 g)	Biochar enrichi (0,02 g)
Contrôle A	•	•			
Contrôle AB	•	•		•	
Contrôle ABE	•	•			•
AH	•	•	•		
AHB	•	•	•	•	
AHBE	•	•	•		•
Blanc H	•		•		
Blanc HB	•		•	•	
Blanc HBE	•		•		•
T0 chimie	•		•		

2.2.9.1 Biodégradation du pétrole Heidrun en présence des biochars peuplier450 et peuplier450-EN-1

Les analyses par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) permettent d'évaluer la biodégradation du pétrole Heidrun des différents traitements en fonction des changements de la signature chimique des hydrocarbures. À la fin de l'incubation, une extraction des échantillons a été effectuée par la méthode d'extraction en phase solide (SPE) sur des cartouches SPE C-18 (Supelco, 6cc) conditionnées au DCM. Chacun des microcosmes a été légèrement agité afin de remettre le contenu en suspension et verser dans une cartouche SPE C-18. Les microcosmes ont subi deux rinçages successifs par 10 mL d'eau de mer stérile et ils ont été versés dans la cartouche SPE C-18. Une élution par 5 mL de DCM de la cartouche a ensuite suivi. Les traces d'eau ont été retirées des éluats avec l'ajout de sulfate de sodium, une centrifugation et la récupération du surnageant constitué d'hydrocarbures dissous dans le DCM. Les extraits ont ensuite été préservés à 4 °C, dans des fioles en verre, jusqu'aux analyses.

Les analyses GC-MS ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe (6850 Series II, Agilent Technologies) couplé au spectromètre de masse (5975B VL MSD, Agilent Technologies). À

la suite de l'ionisation par impact électronique, les ions ont été détectés en mode positif par balayage de l'intervalle de masse de 50 à 550 amu. Le contrôle de l'instrument, l'acquisition des données et leur traitement ont été réalisés avec le logiciel Chemstation (Agilent Technologies). Un volume de 100 µL d'échantillon a été pipeté dans un tube à insertion de 250 µL, suivi de 75 µL de DCM et de 25 µL d'un standard deutéré (concentration finale de 1 ppm) a suivi. L'étalon interne est une solution de naphthalène-d8, anthracène-d10 et perylène-d12. Une courbe de calibration a été préalablement réalisée à l'aide de l'étalon interne. La méthode analytique utilisée permet la quantification des HAP et la détection de l'ensemble des hydrocarbures. Elle est détaillée à l'annexe I.

Bien que la quantification des HAP faisait partie du protocole analytique, l'évolution de la biodégradation du pétrole Heidrun a été déterminée à partir des profils chromatographiques des alcanes, tracés selon l'intensité de l'ion $m/z = 57$, caractéristique des alcanes linéaires et ramifiés. Les ratios diagnostiques $n\text{-C}_{17}$ /pristane, $n\text{-C}_{18}$ /phytane ont été calculés et interprétés sur la base de l'intensité relative des pics chromatographiques. La valeur de chacun des alcanes permettant d'établir les ratios diagnostiques correspond à l'aire sous la courbe du pic chromatographique associé. Les ratios diagnostiques des différents traitements ont été corrigés par le signal des traitements contrôles associés et ensuite comparés aux échantillons à temps 0. L'incubation des échantillons correspondant au temps 0 s'est terminée après 3 h.

2.2.9.2 Biocolonisation des biochars peuplier450 et peuplier450-EN-1

Les échantillons dédiés aux analyses microbiennes ont été filtrés sur des membranes Durapore (GVWP, Millipore) de 47 mm de diamètre et de 0,2 µm de porosité. Les filtres ont ensuite subi une succession de trois bains de tampon phosphate salin (PBS), afin d'éviter l'éclatement des cellules, suivie d'une dessiccation par quatre bains d'éthanol (50%, 70%, 90% et 100%) d'une durée de 15 minutes chacun, afin d'éliminer la présence d'eau. Les filtres ont été conservés à -20 °C dans un dessiccateur jusqu'aux analyses de colonisation bactérienne par microscopie électronique à balayage (MEB) (JSM-6460LV, JEOL). Lors des

analyses, les grains de biochar ont été déposés sur un collant carbone de 12 mm de diamètre (Electron Microscopy Sciences) recouvrant un talon d'aluminium (12,5 mm de diamètre (Electron Microscopy Sciences)). Le MEB a été opéré à un voltage de 10 kV au mode « high vacuum » pour la prise d'image. Six champs par échantillon ont été photographiés et analysés.

La colonisation bactérienne du biochar a été évaluée qualitativement à l'aide d'une classification en quatre catégories : tapis microbiens, microcolonies, cellules éparses et absence de cellules (figure 15). Les images ont été classifiées selon la catégorie représentant le mieux le stade de colonisation microbienne globale de l'image. Dix-huit images par traitement ont été analysées (réplicats et champs confondus).

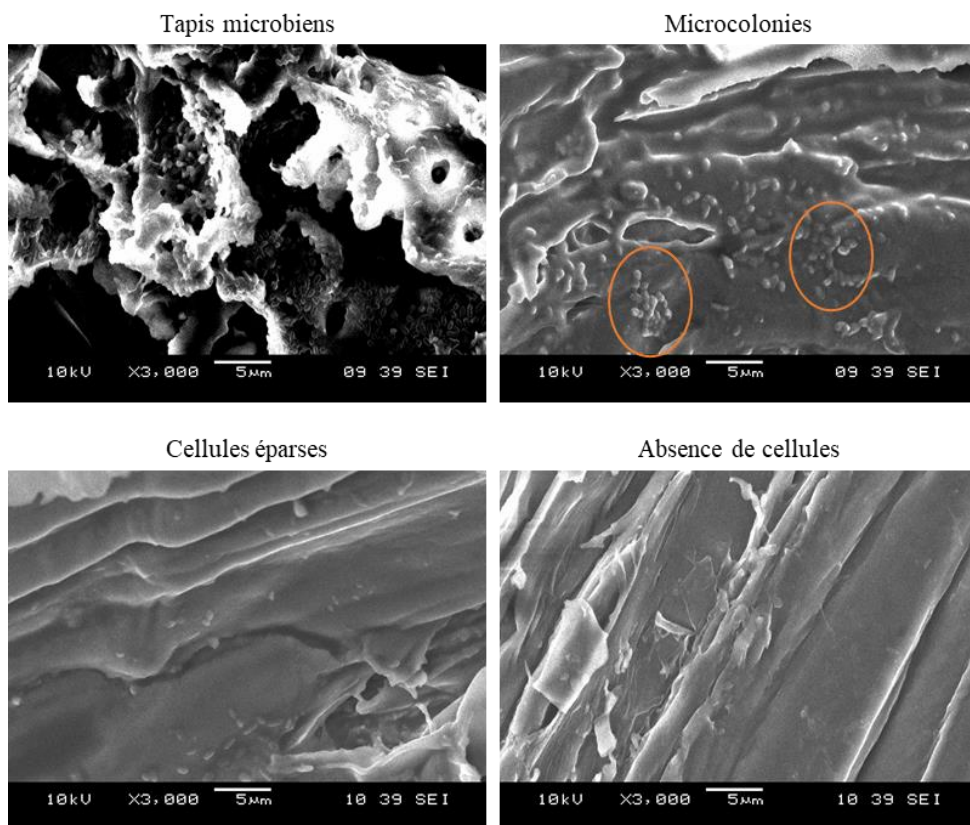


Figure 15: Exemple de colonisation bactérienne du biochar par une classification en quatre catégories : tapis microbiens, microcolonies, cellules éparses et absence de cellules

2.2.10 Analyses statistiques

Le logiciel R et son interface R studio ont été employés afin de réaliser les tests statistiques. Des ANOVA ont été utilisées afin de déterminer l'influence du type de biomasse et de la température de pyrolyse sur la capacité d'adsorption intrinsèque du pétrole Heidrun des biochars. Le test non paramétrique de Kruskal-Wallis a été employé afin de déterminer si le type de biomasse et la température de pyrolyse influencent la quantité de goudron pyrolytique extrait des biochars. La limite de significativité statistique utilisée est de 0,05 pour l'ensemble des tests statistiques. Les barres d'erreur des différents graphiques présentent les écarts-types associés aux réplicats.

2.3 RESULTATS ET DISCUSSION

2.3.1 Morphologie des biochars

Les images MEB des biochars démontrent des structures en feuillet, hétérotrophes et poreuses, sans distinction évidente entre les biochars provenant de différentes biomasses ou de différentes températures de pyrolyse (figure 16). Les structures observées varient au sein d'un même échantillon avec une répartition de pores non uniformes et de grosseurs variables. L'étude de Silvani et al., (2017) souligne aussi cette hétérogénéité lors de l'analyse de la morphologie des pores d'un biochar de pin. Les structures observées à la figure 15 sont aussi retrouvées dans les études portant sur les biochars de bois (Navarathna et al., 2020 ; Baltrėnas et al., 2015).

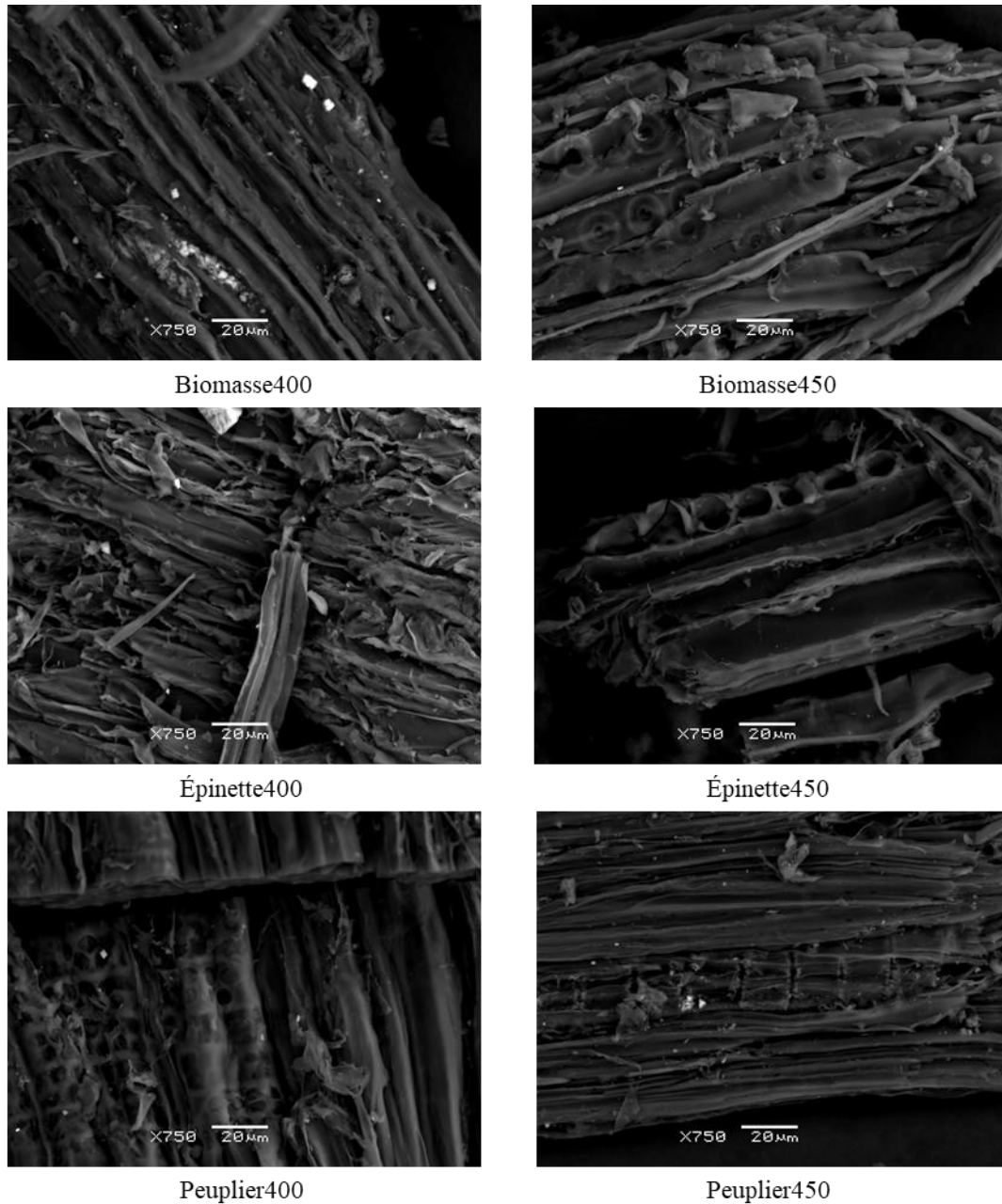


Figure 16: Morphologie des biochars de biomasses forestières confondues, d'épinette et de peuplier pyrolysés à 400 °C et 450 °C analysée par microscopie à balayage électronique à un grossissement de x750

2.3.2 Capacité d'adsorption intrinsèque du pétrole Heidrun par les biochars

Les capacités d'adsorption intrinsèque du pétrole Heidrun par les biochars provenant de biomasses forestières confondues, d'épinette et de peuplier pyrolysés à 400 °C et 450 °C sont toutes similaires. Les tests statistiques ont démontré que ni le type de biomasse (p-value = 0,891) ni la température de pyrolyse (p-value = 0,147) n'influencent la capacité d'adsorption intrinsèque des biochars. Les courbes d'adsorption des différents biochars sont visuellement semblables et la capacité d'adsorption intrinsèque est maximale lorsque l'épaisseur de nappe pétrolière est d'environ 15 µm (figure 17). Cela se traduit par le plateau d'adsorption visible à partir de cette épaisseur. Malgré l'absence de différence significative, les biochar de peuplier, toutes températures confondues, possèdent une capacité d'adsorption intrinsèque du pétrole Heidrun plus intéressante.

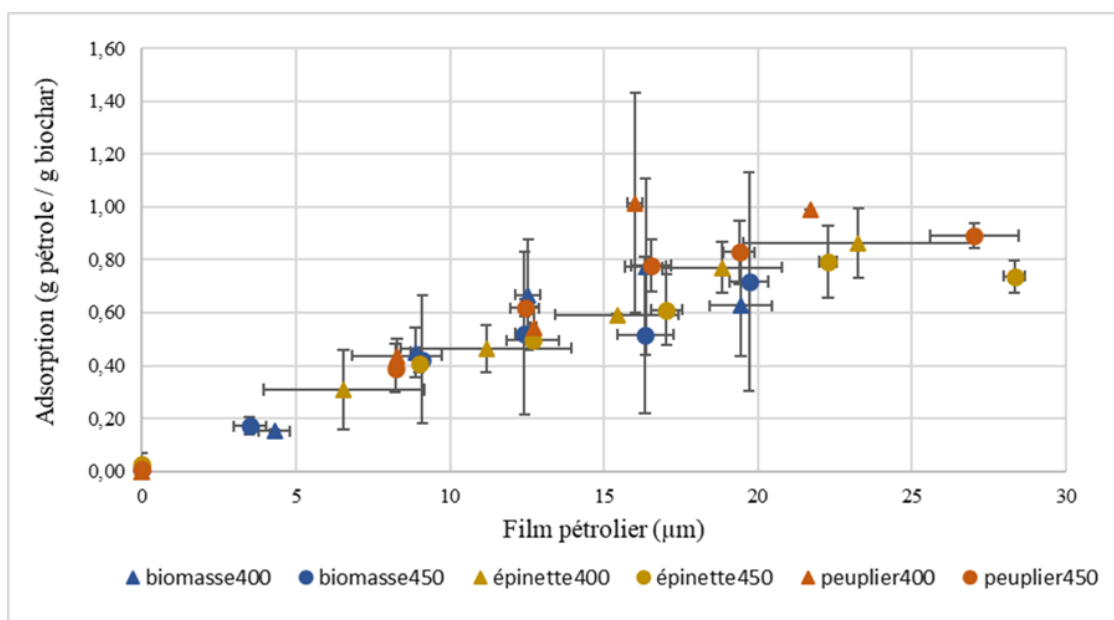


Figure 17: Capacité d'adsorption intrinsèque du pétrole Heidrun des différents biochars en fonction de l'épaisseur de la nappe de pétrole

La quantification du goudron pyrolytique extrait a permis d'établir que la présence de ce goudron n'est pas influencée par la biomasse utilisée (p -value = 0,395) et la température de pyrolyse (p -value = 0,117) (figure 18). Malgré l'absence de différence significative, les biochars produits à 450 °C contiennent légèrement moins de goudron pyrolytique que leurs homologues pyrolysés à 400 °C, ce qui est expliqué par une température de pyrolyse supérieure permettant un processus de carbonisation plus complet.

Le biochar peuplier450 a été sélectionné afin de créer une version enrichie par un hydrolysats de maquereau.

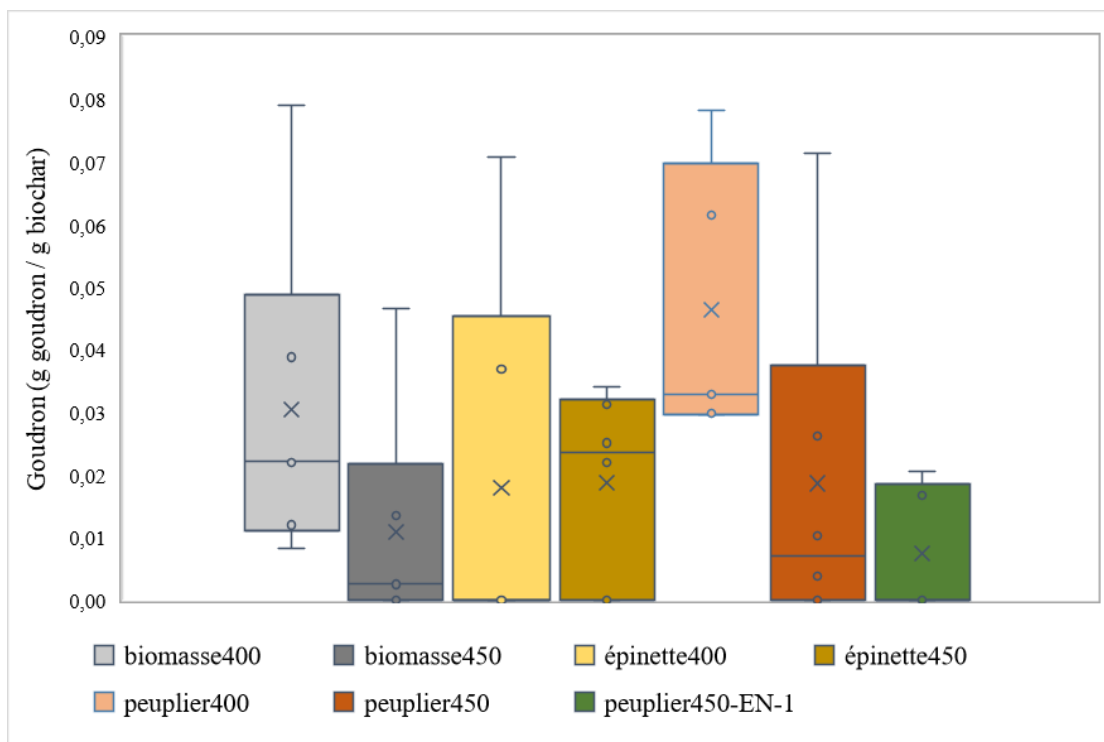


Figure 18: Goudron pyrolytique extrait des biochars provenant de biomasses forestières confondues, d'épinette et de peuplier pyrolysés à 400 °C et 450 °C par macération au dichlorométhane

Le biochar peuplier450 possède une capacité d'adsorption intrinsèque du pétrole Heidrun de $0,83 \pm 0,04$ g/g (n=9) et le biochar peuplier450-EN-1 de $0,53 \pm 0,16$ g/g (n=12). Ces valeurs ont été déterminées en moyennant celles des plateaux d'adsorption à la figure 19. Dans le cas du biochar peuplier450, les trois derniers points de la courbe d'adsorption constituent le plateau d'adsorption, tandis que ce sont les quatre derniers points de la courbe du biochar peuplier450-EN qui ont été considérés. Les deux courbes d'adsorption du pétrole Heidrun sont visuellement différentes et il est possible d'observer deux tendances : la capacité d'adsorption intrinsèque supérieure du biochar peuplier450 et sa variabilité inférieure. Le processus d'enrichissement par l'hydrolysat de maquereau induit un changement des propriétés absorbantes du biochar. Une hypothèse probable serait l'augmentation du caractère polaire du biochar enrichi. Cela explique la diminution de la capacité d'adsorption intrinsèque du pétrole Heidrun et la diminution de sa flottabilité, tel qu'observé à la figure 19 et 20. Cette hypothèse est soutenue par les résultats d'adsorption moyenne de l'eau de mer par les biochars. En effet, l'adsorption d'eau de mer par le biochar peuplier450 est de $0,78 \pm 0,17$ g/g (n=18) et de $1,00 \pm 0,39$ g/g pour le biochar peuplier450-EN-1 (n=18). Lorsque le biochar possède une certaine polarité, les sites d'adsorption sont davantage occupés par les molécules d'eau, ce qui réduit la capacité d'adsorption d'un composé non polaire, tels que les hydrocarbures (Chen et Chen 2009).

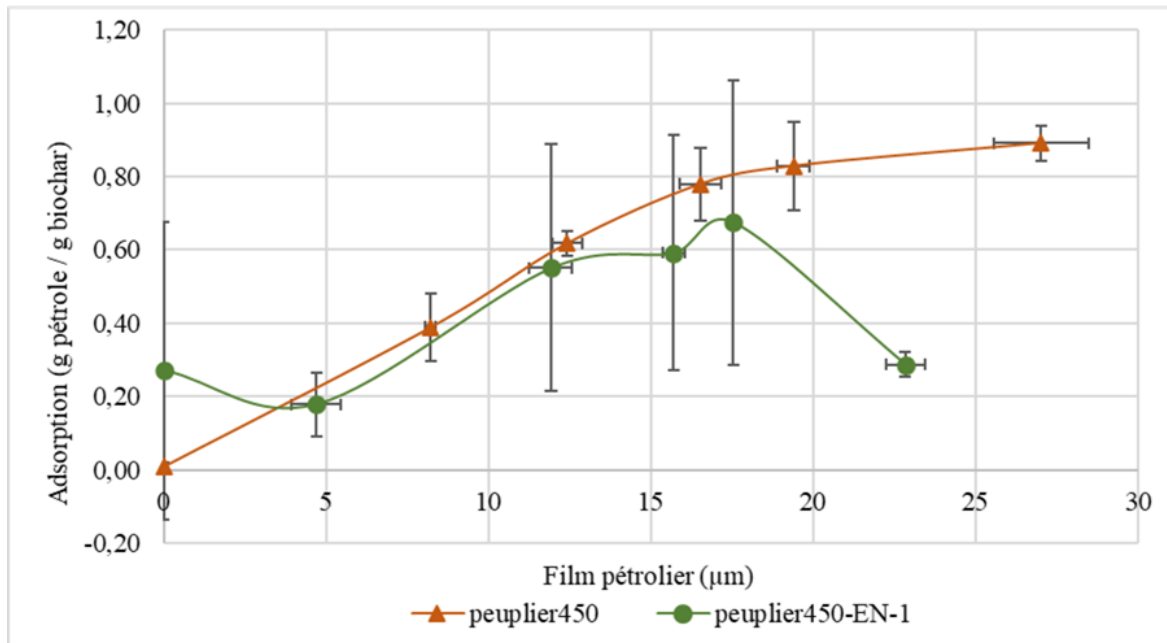


Figure 19: Capacité d'adsorption intrinsèque du pétrole Heidrun par le biochar peuplier450 et peuplier450-EN-1 en fonction de l'épaisseur de la nappe de pétrole

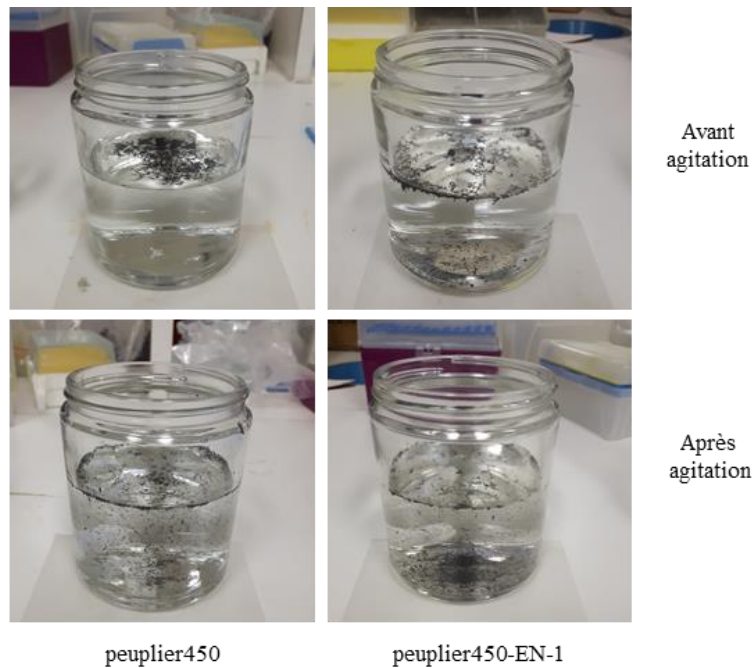


Figure 20: Flottabilité du biochar peuplier450 et du biochar peuplier450-EN-1 en absence de pétrole et après agitation

Plusieurs études impliquant l'adsorption du pétrole brut par le biochar en conditions marines simulées ne prennent pas en considération l'adsorption de l'eau de mer (AlAmeri et al., 2019 ; Kandanelli et al., 2018 ; Nguyen et Pignatello 2013). Pourtant, nos résultats démontrent que cette adsorption est non-négligeable, tel qu'avancé par Navarathna et al., (2020). L'adsorption moindre du pétrole Heidrun par le biochar enrichi est aussi expliquée par un second facteur : le remplissage partiel des pores du biochar par l'enrichissement. La courbe d'adsorption du pétrole Heidrun par le biochar enrichi présentée à la figure 19 indique une valeur d'adsorption de $0,27 \pm 0,41$ g/g en absence de pétrole ($x=0$). Il est probable que cette valeur correspond à la présence de résidus d'enrichissement qui a été extrait lors des manipulations déterminant la capacité d'adsorption intrinsèque, et ce malgré la normalisation par la valeur de goudron extractible qui prend en compte toute matière extractible. Il a aussi été remarqué que le biochar enrichi présente une valeur moyenne plus faible de goudron (figure 18). Cela provient de l'action de l'acide TFA lors du processus d'enrichissement qui retire le goudron résiduel (Tsai et al., 2020). Il est important de souligner l'augmentation des valeurs des écarts-types à la suite de l'enrichissement, ce qui semble se traduire par une plus grande hétérogénéité des sites d'adsorption au sein du biochar peupier450-EN-1 comme illustré par la figure 19.

Plusieurs observations intéressantes ont été réalisées lors des manipulations en laboratoire. La saturation du biochar par le pétrole a été observée dans les échantillons contenant une quantité de pétrole supérieure à sa capacité d'adsorption intrinsèque. En effet, lorsque le plateau d'adsorption du pétrole est atteint, il reste un film pétrolier visible à la surface de l'eau (figure 21). De plus, une adsorption en quelques minutes du pétrole Heidrun a été observée. Les études de Navarathna et al., (2020) et de Nazifa et al., (2018) abondent dans le même sens en démontrant que les biochars atteignent l'équilibre d'adsorption du pétrole brut en moins de 15 minutes. La rapidité d'adsorption représente une caractéristique opérationnelle intéressante pour un adsorbant pétrolier. Finalement, il a été observé que les particules de biochar et de biochar enrichi chargées en pétrole semblent posséder une meilleure flottabilité que les particules brutes. Cela est aussi mentionné par Nguyen et Pignatello (2013).

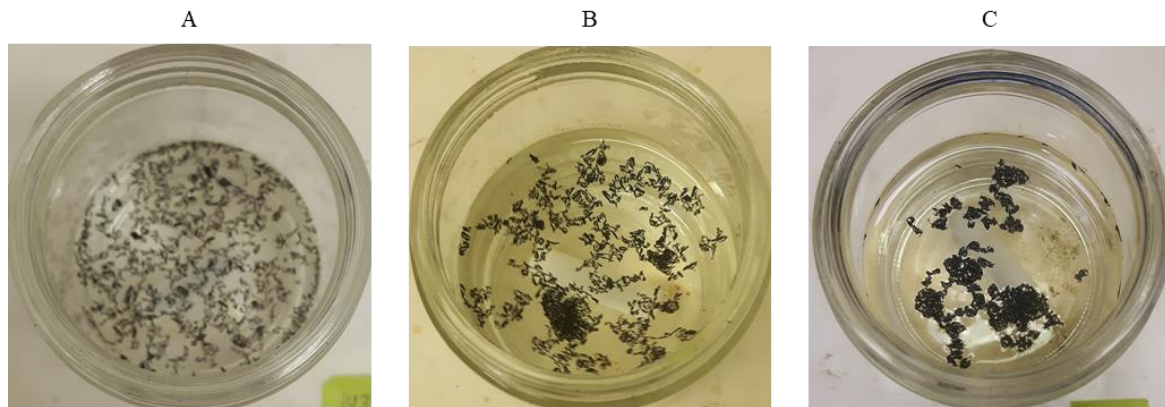


Figure 21: Biochar chargé de pétrole après 45 min d'adsorption. (A) sans pétrole. (B) 12 μm (C) 28 μm

2.3.3 Caractérisation de l'adsorption de pétrole et du processus d'enrichissement par TGA

La figure 22 montre trois régions de dégradation thermique. La région d'évaporation des molécules d'eau ($< 130\text{ }^{\circ}\text{C}$), la région de dégradation des composés organiques ($200 - 550\text{ }^{\circ}\text{C}$) et la région de dégradation du carbone réfractaire ($> 550\text{ }^{\circ}\text{C}$) (Gasco et al., 2011 ; Carmody et al., 2008). La différence entre la perte massique des différents biochars chargés en pétrole et le biochar brut peuplier450 permet d'établir le pourcentage massique attribuable au pétrole Heidrun. $25,11 \pm 4,47\%$ de la masse du biochar peuplier450-heidrun est attribuable au pétrole tandis que $15,88 \pm 2,36\%$ de la masse du biochar enrichi peuplier450-EN-2-heidrun est attribuable au pétrole. Ce résultat s'accorde avec les résultats obtenus en laboratoire indiquant une adsorption inférieure du pétrole Heidrun par un biochar enrichi (figure 19). La TGA permet aussi de comparer les deux productions de biochar enrichi. $0,38 \pm 1,07\%$ du poids de biochar peuplier450-EN-1 est attribuable à l'hydrolysate de maquereau tandis que $0,81 \pm 0,99\%$ du poids du biochar peuplier450-EN-2 est attribuable à l'enrichissement. Ces résultats indiquent un processus d'enrichissement variable où le biochar peuplier450-EN-2 est davantage enrichi. Les résultats des analyses élémentaires s'accordent avec ceux de la TGA en révélant un enrichissement en azote du peuplier450-EN-

2 significativement supérieur à celui du peuplier450-EN-1 (tableau VI). Cet azote est associé aux protéines dont est constitué l'hydrolysats.

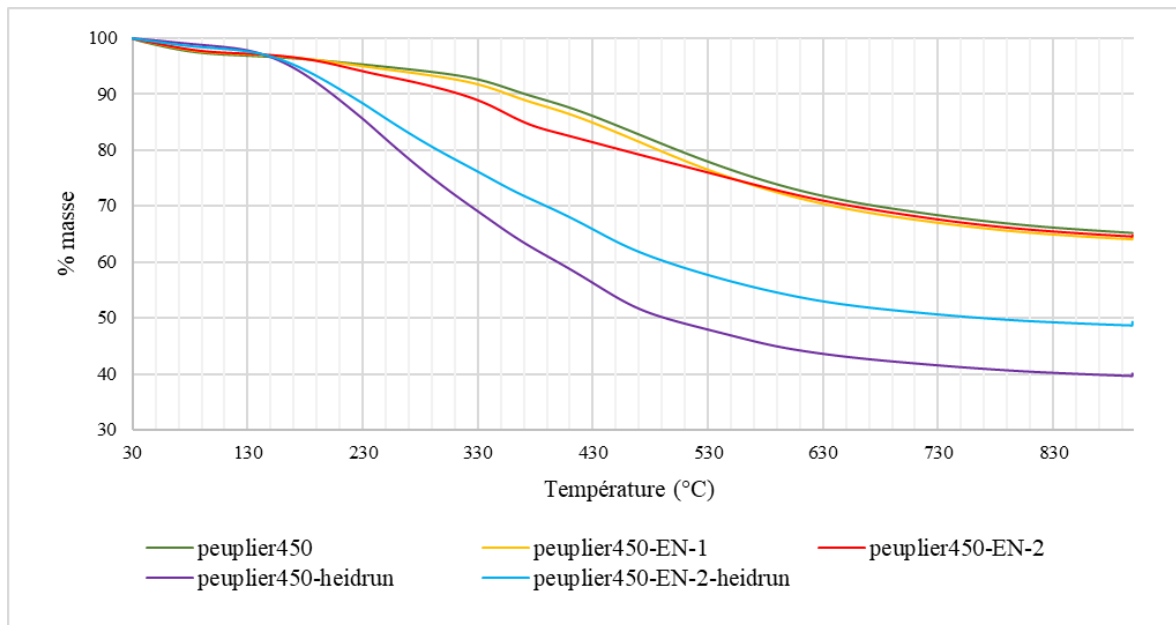


Figure 22: Perte massique des biochars peuplier450 et de leurs versions chargées en pétrole Heidrun en fonction de la température par TGA

2.3.4 Caractéristiques chimiques des biochars peuplier450

La composition élémentaire du biochar peuplier450, peuplier450-EN-1 et peuplier450-EN-2 démontre des structures riches en carbone variant entre 71,57 et 73,33 % (tableau VI). Les teneurs en hydrogène et en oxygène de ces biochars sont similaires puisque le taux carbonisation est le même. Ainsi, les ratios d'aromaticité H/C et O/C ne sont pas affectés par l'enrichissement du biochar. Ces valeurs sont typiques des biochars de bois pyrolysés à 450 °C (Yao et al., 2012 ; Chen et al., 2011).

Les valeurs d'azote supérieures des biochars enrichis (peuplier450-EN-1 et peuplier450-EN-2) comparativement au biochar peuplier450 indiquent que l'enrichissement de ce dernier par

un hydrolysate de maquereau fonctionne (tableau VI). Le taux d'enrichissement est cependant variable, car le biochar peuplier450-EN-1 est composé de $0,54 \pm 0,02$ % d'azote et le peuplier450-EN2 de $1,25 \pm 0,04$ %. L'indice de polarité (O+N)/C augmente légèrement à la suite de l'enrichissement, ce qui est attribué à une augmentation des groupes fonctionnels polaires composés d'azote. Ce résultat était attendu étant donné une adsorption d'eau de mer plus importante par le biochar peuplier450-EN-1. En effet, l'augmentation de cet indice indique une augmentation des groupes fonctionnels polaires du biochar et implique un biochar plus hydrophile (Chen et Chen 2009).

Tableau VI: Composition élémentaire, ratios d'aromaticité et ratio de polarité des biochars peuplier450, peuplier450-EN-1 et peuplier450-EN-2

	% atomique				H/C	O/C	(O+N) / C
	C	H	N	O			
Peuplier450	73,33 ± 0,35	4,08 ± 0,04	0,37 ± 0,10	22,21 ± 0,28	0,06	0,30	0,31
Peuplier450-EN-1	71,57 ± 0,60	4,09 ± 0,09	0,54 ± 0,02	23,72 ± 0,67	0,06	0,33	0,34
Peuplier450-EN-2	72,49 ± 0,39	4,03 ± 0,04	1,25 ± 0,04	22,17 ± 0,36	0,06	0,31	0,32

Les spectres FTIR du biochar peuplier450, peuplier450-EN-1 et peuplier450-EN-2 sont présentés à la figure 23. L'interprétation des bandes provient de la revue de littérature de Tan et al., (2015), sauf si autrement spécifié. Le spectre du biochar peuplier450 présente une large bande de faible intensité à 2922 cm^{-1} et une étroite bande de faible intensité à 1444 cm^{-1} indiquant l'étirement des liens aliphatiques $-\text{CH}_2$. La large bande de forte intensité présente à 1588 cm^{-1} provient de l'étirement des liens aromatiques $\text{C}=\text{O}$ et $\text{C}=\text{C}$. La bande large présente à 1207 cm^{-1} provient de l'étirement des liens aromatiques $-\text{CO}$ et phénolique $-\text{OH}$ (Chen et al. 2008). La bande présente à 3300 cm^{-1} provient de l'étirement des groupes fonctionnels $-\text{OH}$. Le biochar peuplier450 présente donc des traces de composés organiques polaires qui favoriseront l'adsorption d'eau, représentées par la bande large de 2922 cm^{-1} , tout en possédant une certaine aromaticité étant donné la bande large et intense à 1588 cm^{-1} .

L'enrichissement modifie légèrement le spectre du peuplier450, plus particulièrement visible sur le spectre du peuplier450-EN-2 étant donné la teneur en azote plus importante. Les modifications sont visibles dans la région spectrale entre 1800 et 1300 cm^{-1} . Les principales bandes associées aux hydrolysats de poisson sont celles de la déformation de NH_3^+ à 1516 cm^{-1} , celle de l'étirement des COO^- à 1400 cm^{-1} , celle de l'amide I à 1650 cm^{-1} et de l'amide II à 1550 cm^{-1} (Ishak et Sarbon 2018 ; Kristoffersen et al., 2019). La présence plus importante des groupes fonctionnels polaires $-\text{NH}_2$ à la surface du biochar enrichi explique l'adsorption d'eau de mer plus importante comparativement au biochar brut ainsi que la diminution de l'affinité avec le pétrole.

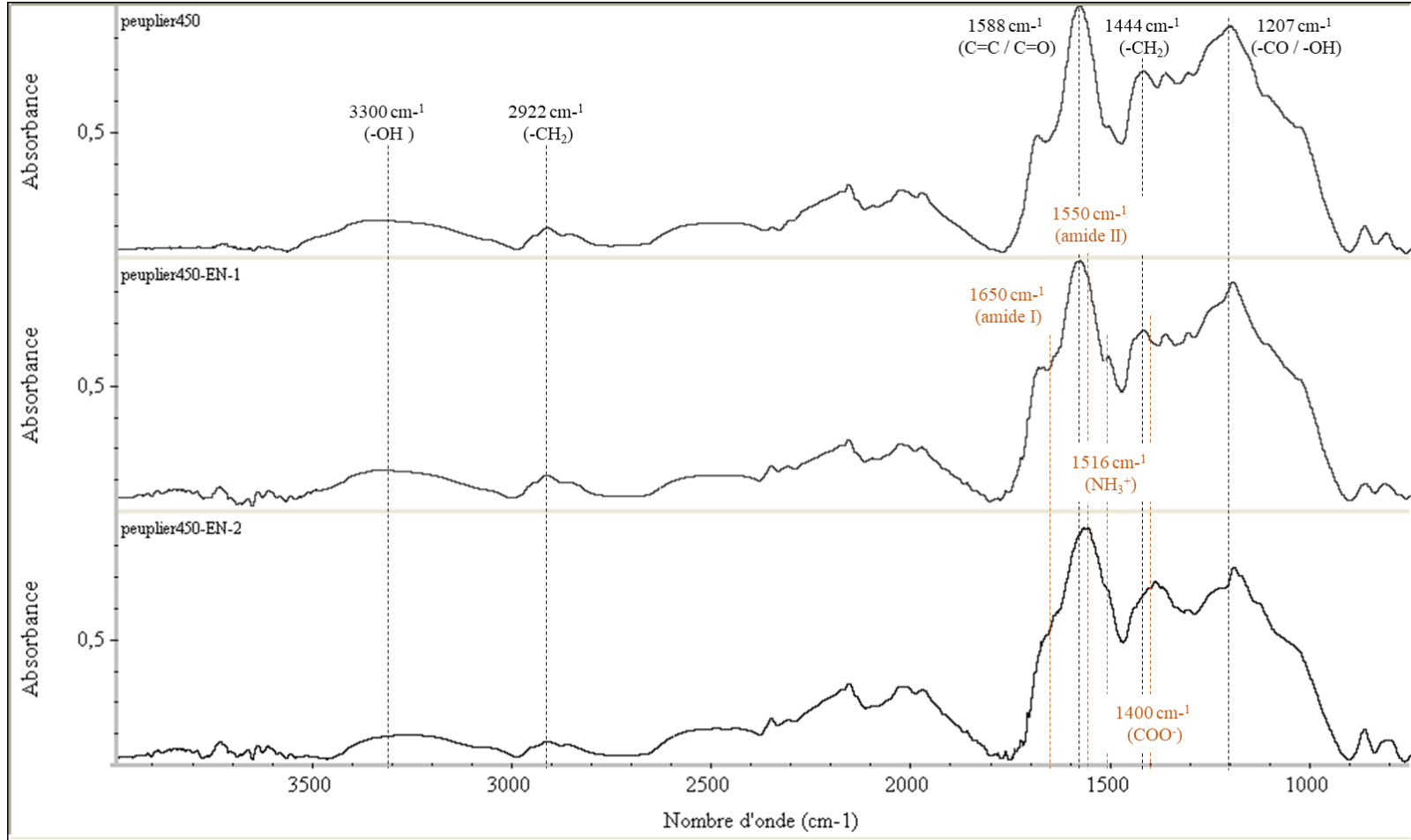


Figure 23: Spectre FTIR des biochars peuplier450, peuplier450-EN-1 et peuplier450-EN-2. Les pointillés noirs représentent les bandes associées au biochar. Les pointillés orange représentent les principales bandes associées aux hydrolysats de poisson.

Les résultats de la capacité d'adsorption intrinsèque du pétrole Heidrun par le biochar peuplier450 et le biochar peuplier450-EN-1 ont permis d'établir que le processus d'enrichissement par l'hydrolysate de maquereau induit un changement des propriétés absorbantes du biochar. Une augmentation de l'adsorption d'eau de mer et une diminution de la flottabilité du biochar enrichi ont été observées indiquant une augmentation de son caractère polaire. Les résultats de la caractérisation des propriétés physico-chimiques valident aussi cette hypothèse. Le biochar peuplier450-EN-1 possède une capacité d'adsorption intrinsèque du pétrole Heidrun moindre que le biochar peuplier450 étant donné l'occupation des sites d'adsorption par les molécules d'eau (Chen et Chen 2009). Cette capacité d'adsorption supérieure est aussi confirmée par les analyses TGA. De plus, ces analyses soulèvent un enjeu de reproductibilité du protocole d'enrichissement. Afin de poursuivre cet effort de recherche pour le développement d'une nouvelle méthode d'intervention pour les déversements de pétrole en mer, il faudra s'assurer de la constance du processus d'enrichissement du biochar par l'hydrolysate de coproduits marins. Une piste de solution serait d'assurer un débit fixe lorsque la solution d'hydrolysate s'écoule dans la colonne de biochar afin d'optimiser le temps de contact.

2.3.5 Biostimulation de la dégradation du pétrole Heidrun par *Alcanivorax Borkumensis* sous conditions contrôlées

Lors de l'expérience de biostimulation de la dégradation du pétrole Heidrun par *A. borkumensis*, une contamination bactérienne a été observée dans les échantillons contrôles contenant du pétrole non inoculés. Cette contamination est fortement visible sur les images J à I de la figure 24. Elle semble provenir du pétrole Heidrun, car toutes les composantes des microcosmes ont été stérilisées et l'absence de bactéries dans le biochar a été confirmée par microscopie en épifluorescence. Dans ce mémoire, le terme « bactéries résidentes » représente les bactéries introduites dans les microcosmes à partir du pétrole Heidrun. Ces bactéries peuvent être associées aux bactéries indigènes des réservoirs pétroliers Heidrun ou

provenir d'une contamination du baril de pétrole utilisé, celui-ci ayant été ouvert avant l'expérience.

Cela dit, aucune distinction morphologique entre les bactéries résidentes et les cellules *A. borkumensis* n'a été possible par MEB (figure 24). Les réservoirs pétrolifères sont les hôtes d'une riche communauté bactérienne proliférant majoritairement aux interstices eau-pétrole (Pannekens et al., 2019). L'étude de Dellagnezze et al., (2016) évalue l'efficacité de différents supports (arénite, schiste et mousse de polyuréthane) pour l'enrichissement microbien en condition sulfato-réductrice étant donné la faible densité cellulaire du pétrole. Leurs analyses génétiques indiquent que les genres *Petrotoga*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Geobacillus* et *Rahnella* représentent majoritairement la communauté bactérienne des réservoirs pétrolifères étudiés. Ces bactéries forment aussi des biofilms de différentes densités, selon le type de support employé et sans distinction morphologique possible entre les cellules bactériennes (Dellagnezze et al., 2016). Il est donc impossible de confirmer si la dégradation des hydrocarbures et la colonisation du biochar proviennent de l'action individuelle d'*A. borkumensis* pour les traitements inoculés. À l'inverse, il est possible d'affirmer que les effets observés dans les traitements sans inocula proviennent de l'action des bactéries résidentes.

La figure 25 présente différents stades de colonisation bactérienne : distribution éparse des cellules, agglomération des cellules en structure de microcolonies et l'interconnexion par filament EPS (substance polymérique extracellulaire) ainsi que développement de tapis microbiens denses en biofilm. En présence d'hydrocarbures, certains gènes d'*A. borkumensis* sont régulés, à la hausse ou à la baisse, induisant la production de biosurfactants qui confèrent un caractère plus hydrophobe à la cellule et une capacité de fixation à l'interface pétrole-eau (Abbasi et al., 2018 ; Godfrin et al., 2018 ; Sabirova et al., 2011). L'agglomération des cellules induit le processus de « quorum-sensing » et contribue au développement de biofilm dans une matrice EPS (Sabirova et al., 2011). En absence de biofilm, les bactéries observées présentent une faible diversité morphologique avec une prédominance en forme de bâtonnet.

Les cellules bactériennes se fixent à la surface du biochar sur leur axe longitudinal, ce qui est attribué au pontage de biosurfactant permettant leur fixation (Omarova et al, 2019).

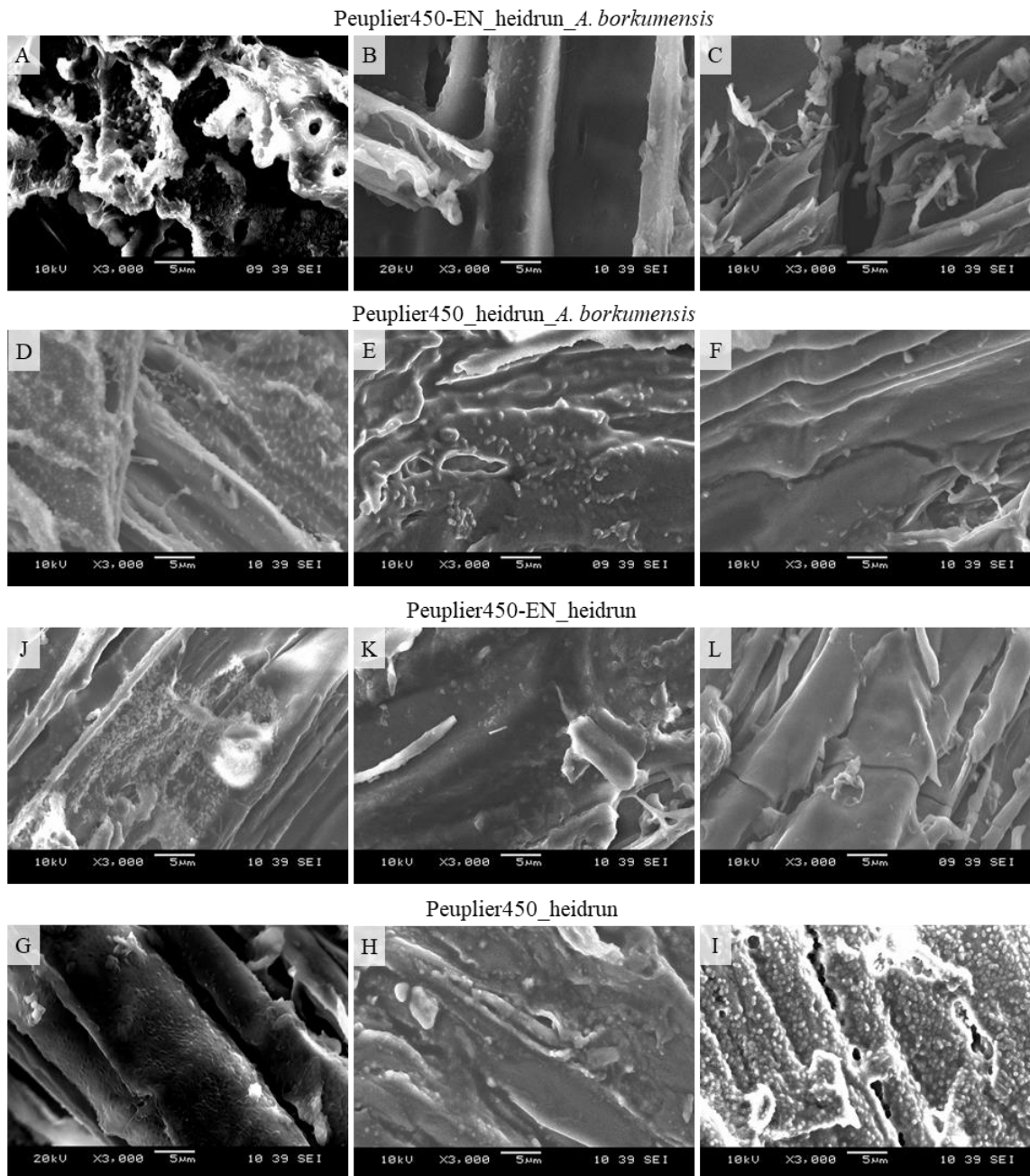


Figure 24: Biocolonisation microbienne des particules de biochar peuplier450 et de biochar peuplier450-EN-1 en présence de pétrole Heidrun observée par microscopie à balayage électronique à un grossissement de x3000. Les images A-B-C présentent la biocolonisation du biochar peuplier450-EN-1 par *A. borkumensis* et/ou les bactéries résidentes et les images D-E-F présentent celle du biochar peuplier450. Les images J-K-L illustrent la biocolonisation du biochar peuplier450-EN-1 par les bactéries résidentes et les images G-H-I illustrent celle du biochar peuplier450

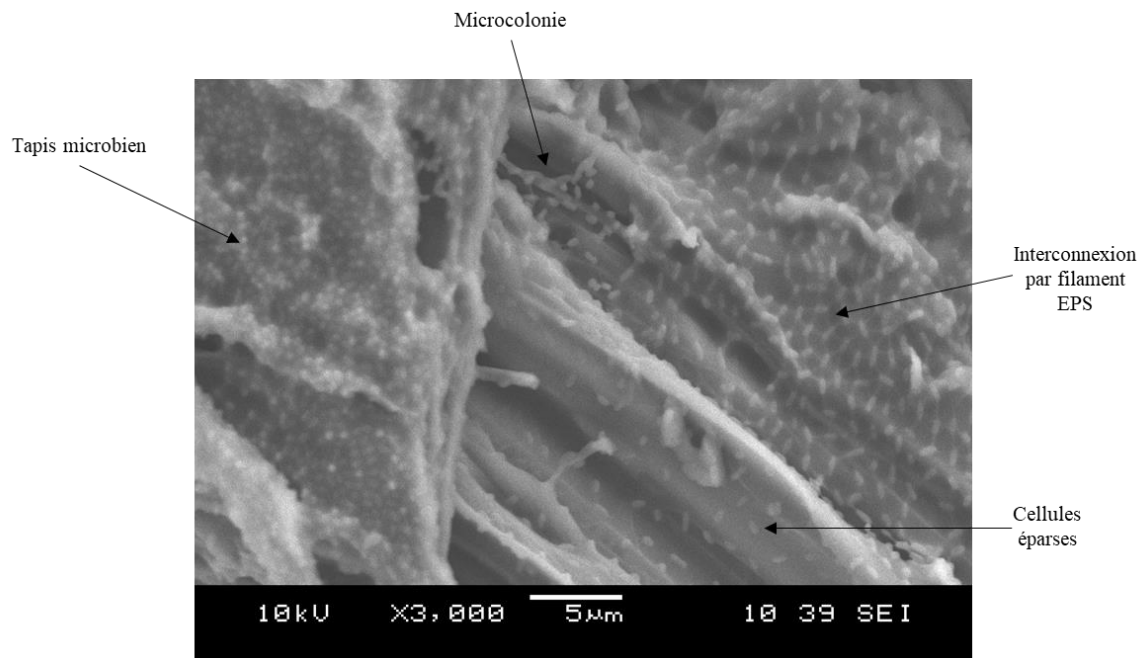


Figure 25: Développement de différents stades de biocolonisation au sein d'une même particule de biochar peuplier450 d'un traitement composé aussi d'*A. borkumensis* et de pétrole Heidrun observé par microscopie à balayage électronique à un grossissement de x3000

Les analyses MEB montrent que le biochar peuplier 450 et le biochar peuplier450-EN-1 supportent une colonisation bactérienne, tel que démontré par les images de la figure 24. Ce résultat souligne le fort potentiel du biochar issus des résidus forestiers comme support microbien et est en accord avec la littérature (Yang et al., 2018 ; Shackley et Sohi 2010 ; Lehmann et al., 2006). Malgré le biais induit par la présence des bactéries résidentes, plusieurs tendances ont été mises en évidence. La figure 26 présente la répartition en pourcentage des stades de développement microbien dominants selon les traitements. En présence d'*A. borkumensis*, de pétrole et de biochar (AHB), la biocolonisation des particules de biochar peuplier 450 est plus importante étant donné le développement de tapis microbien de 33 % comparativement à 11 % pour le biochar peuplier450-EN-1. La biocolonisation du peuplier450 par les bactéries résidentes est aussi caractérisée par un stade de développement bactérien supérieur comparativement à celle du biochar peuplier450-EN-1. De plus, aucun

tapis microbien n'a été observé au sein des échantillons sans pétrole contenant *A. borkumensis* et les biochars (AB et ABE), dont les échantillons sont principalement caractérisés par une absence de cellules. La survie de quelques cellules bactériennes au sein de ces traitements peut provenir des traces de goudron pyrolytique dans les pores du biochar.

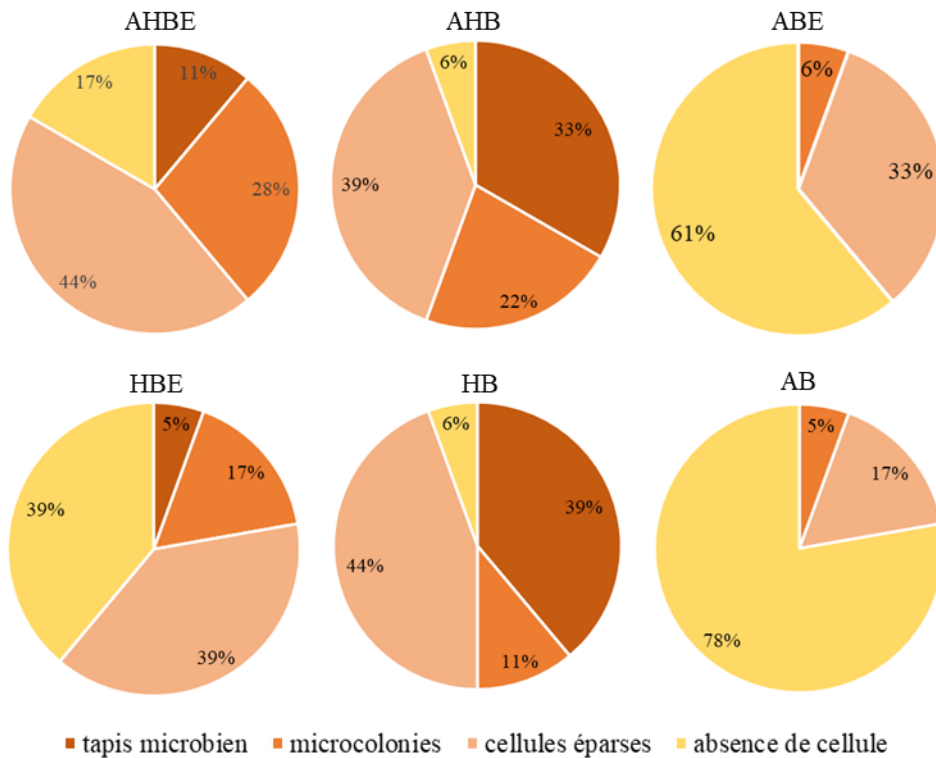


Figure 26: Répartition des stades de développement bactérien observés sur les images obtenues en MEB pour les différents traitements nommés par une combinaison de ces lettres A = *A. borkumensis*, H = heidrun, B = biochar et BE = biochar enrichi

Ainsi, le biochar peuplier450 et le biochar peuplier450-EN-1 offrent un support adéquat à la croissance bactérienne en eau de mer. Cependant, le biochar peuplier450 enrichi par l'hydrolysate de maquereau ne stimule pas davantage la biocolonisation des particules de biochar. La technique d'analyse par MEB représente une approche qualitative et l'analyse des ratios diagnostiques de biodégradation du pétrole par GC-MS a été effectuée afin de compléter ces résultats.

Les ratios diagnostiques de biodégradation des hydrocarbures (n -C₁₇/pristane et n -C₁₈/phytane) sont présentés au tableau VII. Les résultats montrent une diminution des ratios diagnostiques comparativement au temps 0, ce qui indique la présence de biodégradation des hydrocarbures dans l'ensemble des traitements, à l'exception du traitement AHBE. Les ratios diagnostiques du traitement AHBE démontrent une absence de dégradation, ce qui est surprenant. Une hypothèse probante serait une dégradation des biomarqueurs pristane et phytane puisqu'*A. borkumensis* peut dégrader les alcanes ramifiés après épuisement de la fraction d'alcanes plus dégradables (Hara et al., 2003). Cette hypothèse est validée par l'analyse des chromatogrammes présentés à la figure 27. Au temps 0, les pics chromatographiques associées au C₁₇ au temps de rétention de 12,814 min, au pristane au temps de rétention de 12,865 min, au C₁₈ au temps de rétention de 13,546 min et au phytane au temps de rétention de 13,619 min sont bien visibles et possèdent une forte intensité. Le chromatogramme du traitement AHB indique une biodégradation complète des alcanes C₁₇ et C₁₈ étant donné la disparition des pics associés aux biomarqueurs. Le chromatogramme du traitement AHBE dévoile une dégradation de ces alcanes, mais aussi des biomarqueurs. Wang et al., (2006) indiquent que plusieurs auteurs ont déclaré une réduction de ces biomarqueurs lors d'études sur plusieurs mois.

Finalement, il est intéressant de constater qu'en absence de biochar et de biochar enrichi (traitements AH et H), les ratios de biodégradation du pétrole sont similaires à ceux des traitements avec biochar. Pourtant, l'étude de Warr et al., (2018) indique que la présence de support solide stimule la biodégradation du pétrole par *A. borkumensis*, car les cellules se fixent au support grâce à la grande surface de contact disponible et la proximité avec les nutriments. Une hypothèse viable serait que les bactéries résidentes n'ont ni besoin de support, ni de nutriments additionnels afin de dégrader le pétrole puisqu'elles proliféraient déjà dans un pétrole brut.

Tableau VII: Ratios diagnostiques de la dégradation des alcanes $n\text{-C}_{17}$ /pristane et $n\text{-C}_{18}$ /phytane des différents traitements à la suite de l'expérience de biostimulation du pétrole Heidrun en microcosme

	Ratios diagnostiques	
	$n\text{-C}_{17}$ /pristane	$n\text{-C}_{18}$ /phytane
Heidrun_T0	$0,95 \pm 0,10$	$1,59 \pm 0,16$
AH	$0,04 \pm 0,02$	$0,29 \pm 0,07$
AHB	$0,20 \pm 0,15$	$0,55 \pm 0,67$
AHBE	$2,34 \pm 0,42$	$2,43 \pm 3,83$
H	$0,29 \pm 0,29$	$0,23 \pm 0,27$
HB	$0,04 \pm 0,03$	$0,10 \pm 0,10$
HBE	$0,09 \pm 0,06$	$0,37 \pm 0,31$

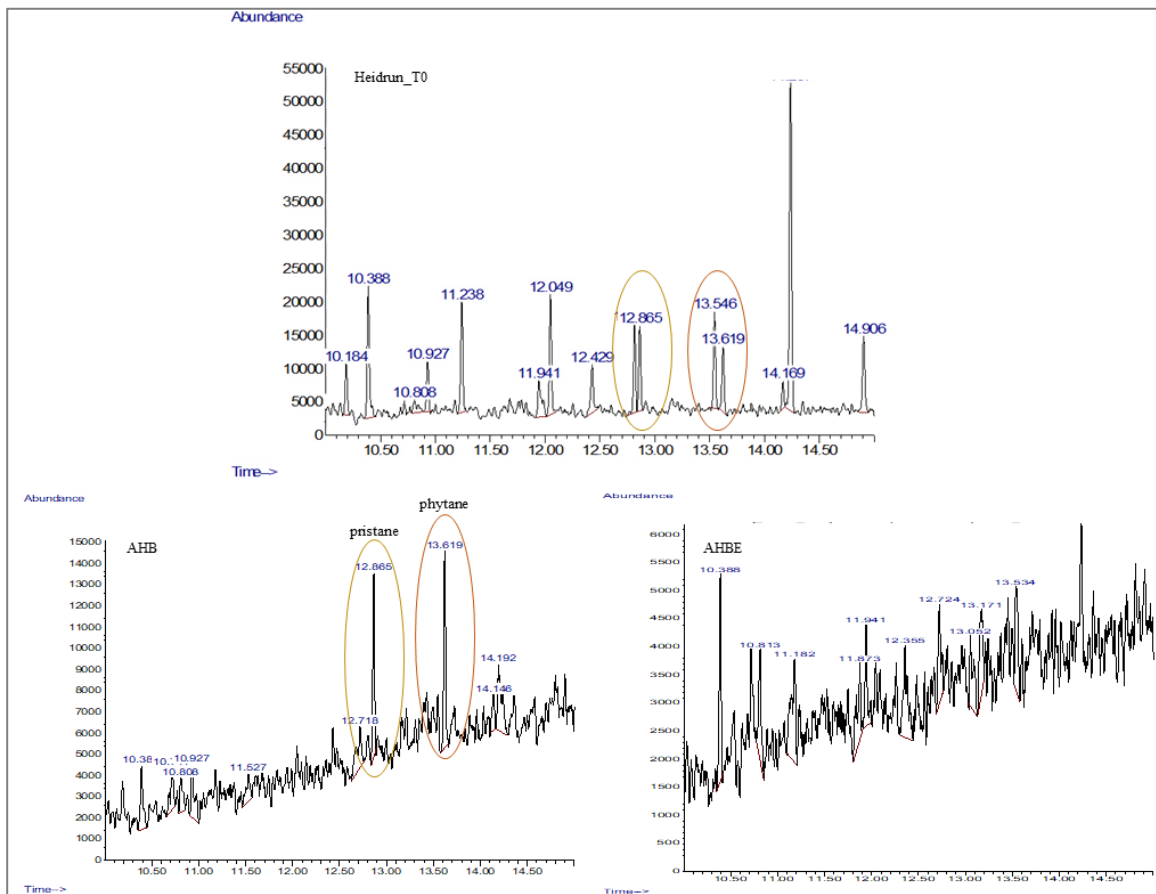


Figure 27: Chromatogrammes de l'ion 57 des échantillons Heidrun_T0, AHB et AHBE exprimé par l'intensité relative des composés chimiques. Dans le cercle jaune, les bandes associées au C_{17} (12,814 min) et au pristane (12,865 min). Dans le cercle orange, les bandes associées au C_{18} (13,546 min) et au phytane (13,619 min).

Les analyses MEB et GC-MS indiquent donc la même tendance. Le biochar peuplier450-EN-1 ne stimule pas davantage la biodégradation du pétrole Heidrun comparativement au biochar peuplier450. Cela dit, la biodégradation des hydrocarbures a été effectuée dans l'ensemble des traitements soit par l'action de *A. borkumensis* ou des bactéries résidentes. Considérant que la croissance d'*A. borkumensis* nécessite une quantité importante de nutriments, principalement d'azote organique et inorganique (Schneiker et al., 2006) et que la stimulation de la dégradation du pétrole par un ajout combiné de biochar et de nutriments a été démontrée dans différents milieux (Wei et al., 2020 ; Yang et al., 2018 ; Wang et al., 2017 ; Qin et al., 2013), il est possible que le taux d'enrichissement du biochar peuplier450 ne soit pas suffisant pour stimuler davantage la croissance bactérienne ou que les nutriments ne soient pas biodisponibles pour les bactéries. La composition élémentaire ne montre pas une grande différence d'azote entre le peuplier450 ($0,37 \pm 0,10$ %) et peuplier450-EN-1 ($0,54 \pm 0,02$), ce qui supporte cette hypothèse. En milieu marin, les microorganismes hétérotrophes ont besoin d'un ratio C:N:P de 69:16:1 (Suttle 2007). Il serait intéressant de valider le ratio N:P de l'hydrolysate de maquereau afin de s'assurer que le ratio moléculaire est approprié, puisque le carbone est non-limitant en présence de pétrole. De plus, l'évolution des concentrations en azote et en phosphate des microcosmes n'a pas été suivie durant notre étude. Il est donc possible que ces éléments soient rapidement devenus limitants dans les microcosmes et n'aient pas permis de soutenir une croissance optimale des bactéries en place. L'objectif d'enrichir le biochar est de pallier une limitation éventuelle en azote dans un milieu oligotrophe. Dans notre étude, l'eau de mer utilisée contenait une concentration élevée en azote au début de l'expérience, tel qu'indiqué à la section 2.2.9. Il est donc possible que l'effet de l'enrichissement du biochar ait été masqué.

Les résultats obtenus lors de cette étude ne permettent pas de confirmer le potentiel du biochar peuplier450 enrichi par un hydrolysate de maquereau comme agent stimulant la biodégradation microbienne en cas de déversement d'hydrocarbures. Toutefois, ils soulignent le fort potentiel du biochar peuplier450 comme agent adsorbant pétrolier grâce à sa capacité d'adsorption intrinsèque du pétrole Heidrun et son caractère hydrophobe.

2.4 CONCLUSION

Ce chapitre visait à déterminer le potentiel de six biochars bruts comme adsorbant pétrolier et celui d'un biochar de peuplier enrichi par un hydrolysate de maquereau comme agent de bioremédiation des hydrocarbures. Ce travail présente pour une première fois un protocole permettant de déterminer la capacité d'adsorption intrinsèque du pétrole Heidrun par un biochar. La capacité d'adsorption intrinsèque considère l'adsorption du pétrole par la surface du biochar uniquement. Cette notion permet de comparer plus adéquatement l'adsorption de différents biochars afin de limiter les biais induits par la capacité d'adsorption opérationnelle, incluant l'adhérence pétrole-pétrole, puisque cette dernière est influencée par plusieurs facteurs, dont l'épaisseur de nappe de pétrole. Le développement de ce protocole résulte d'une analyse des méthodologies présentées dans la littérature et d'un travail rigoureux en laboratoire. L'absence de différence significative entre les capacités intrinsèques d'adsorption des biochars (biomasse400, biomasse450, épinette400, épinette450, peuplier400 et peuplier450) implique un avantage stratégique advenant la production à grande échelle de biochar comme agent adsorbant en cas de déversements pétroliers côtiers. Ce projet est aussi le premier à proposer l'enrichissement même du biochar en nutriments essentiels par un hydrolysate de maquereau afin d'accroître la biodégradation du pétrole. Le biochar peuplier450 présente une capacité d'adsorption intrinsèque plus intéressante que le biochar enrichi peuplier450-EN-1. L'expérience de biostimulation du pétrole Heidrun par *A. borkumensis* en microcosme n'a pu démontrer le potentiel du biochar enrichi afin de stimuler la colonisation bactérienne et la biodégradation du pétrole Heidrun. Ce protocole nécessite donc des améliorations qui n'ont pu être réalisées dans le cadre de cette maîtrise étant donné le caractère innovateur de ce projet et les restrictions de temps. Cette expérience a tout de même démontré que le biochar brut peuplier450 et enrichi peuplier450-EN-1 permettent tous deux la prolifération bactérienne ainsi qu'une biodégradation du pétrole.

Ainsi, ce travail présente une preuve de concept forte concernant l'usage du biochar peuplier450 comme adsorbant pétrolier permettant la croissance de bactéries hydrocarbonoclastes. De plus, l'applicabilité d'un biochar lors d'un déversement côtier

s'avère intéressante. Son application et sa récupération seraient opérationnellement viables et faciles d'exécution étant donné sa capacité d'adsorption des hydrocarbures résiduels et sa bonne flottabilité. Son application serait possible à partir de petites embarcations lors de conditions environnementales calmes. Le biochar chargé en pétrole pourrait être récupéré à l'aide de filet à maillage fin lors d'une récupération manuelle. La figure 28 permet une extrapolation simple sur un cas de pollution au diesel survenu en 2014 aux Iles-de-la-Madeleine. Les estacades jaunes confinent une section du quai d'une superficie de 400 m². Il serait actuellement impossible de retirer les hydrocarbures résiduels étant donné la fine épaisseur du film de pétrole estimée à 5 µm. Une quantité de 2,3 kg de biochar aurait été nécessaire afin retirer ces hydrocarbures résiduels et représenterait un faible coût opérationnel. La capacité à retirer les hydrocarbures résiduels représente un usage complémentaire aux techniques d'intervention actuelles.



Figure 28: Déversement de diesel aux Iles-de-la-Madeleine (Le Soleil 2014)

Cela dit, plusieurs défis et pistes d'amélioration se dessinent afin d'atteindre un portrait global du biochar en tant qu'agent adsorbant pétrolier. Le principal enjeu identifié lors des manipulations en laboratoire est l'hétérogénéité du biochar. Afin d'augmenter la précision des résultats, il serait intéressant de tamiser le biochar pour l'obtention d'échantillons présentant des grains plus uniformes. Des études à plus grande échelle seraient aussi hautement pertinentes afin de limiter l'influence de divers facteurs tels que l'hétérogénéité du biochar et l'adhérence du pétrole aux parois des contenants sur la capacité intrinsèque d'adsorption du pétrole par le biochar.

De plus, une caractérisation des propriétés physico-chimiques plus approfondie permettra de trouver de meilleurs comparatifs au sein la littérature. La prochaine étape serait d'établir la porosité du biochar peuplier⁴⁵⁰ avec la méthode adsorption/désorption d'azote BET (Brunauer-Emmett-Teller). Plusieurs études utilisent cette analyse puisque l'adsorption de pétrole sur un biochar est en partie corrélée à sa porosité et à sa surface spécifique (Cai et al., 2019 ; Kandanelli et al., 2018 ; Nguyen et Pignatello 2013 ; Chen et al., 2008). L'analyse de la porosité était initialement prévue dans l'échéancier de la maîtrise, mais en raison de la pandémie à COVID-19 au printemps 2020, elle n'a pas pu être réalisée.

Finalement, il serait pertinent de confirmer la source de la contamination présente dans l'expérience de biostimulation de la dégradation du pétrole Heidrun avant d'amorcer d'autres recherches à ce sujet. L'article de Melo et al., (2006) décrit la méthodologie à appliquer afin de validation de l'introduction de bactéries par le pétrole Heidrun. De plus, l'évaluation de la biocolonisation du biochar par le MEB représentait une approche préliminaire et il est intéressant de constater qu'elle apporte des résultats viables. Cette technique mérite d'être approfondie par une étude complémentaire axée sur la méthodologie afin de s'assurer de la représentativité de l'échantillonnage. La nature électrostatique du biochar a engendré des défis techniques lors des analyses au MEB. Afin d'augmenter la qualité des images ainsi que la rapidité des analyses, il serait pertinent de recouvrir les échantillons d'une pellicule d'or ou de palladium tel que décrit par Omarova et al., (2019) et Abbasi et al., (2018).

En conclusion, ce projet de maîtrise démontre que le biochar peuplier⁴⁵⁰ agit comme adsorbant pétrolier tout en offrant un support permettant la prolifération bactérienne en milieu marin. Cet adsorbant d'origine naturelle, carboneutre et prometteur mérite une plus grande attention, car son application permettrait un retrait des hydrocarbures résiduels. Les techniques d'intervention associés au nettoyage d'un déversement pétrolier évoluent lentement et il est essentiel de préconiser des méthodes d'intervention en harmonie avec les valeurs d'aujourd'hui. L'élargissement des options de commercialisation du biochar contribue à l'effort de valorisation de coproduits d'industries québécoises et canadiennes. Plusieurs usines de transformation du bois en produits de carbone végétal, dont la production du biochar, sont présentes sur ce territoire (AIREX Énergie, Xylo-Carbone et BioChar Boréal). L'utilisation du biochar comme adsorbant pétrolier pourrait apporter une nouvelle avenue commerciale pour ces usines. La production d'adsorbant local émergeant de la valorisation d'une ressource abondante permettra le développement d'un transport maritime plus responsable.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Chaque déversement pétrolier maritime est un cas unique où une multitude de stratégies seront mises en œuvre afin de limiter les conséquences sociales, économiques et environnementales. Toutes les techniques d'intervention possèdent leur lot d'avantages et d'inconvénients. Il est donc primordial d'atteindre une stratégie globale dont les bénéfices nets sont les plus avantageux (National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine 2020). La biostimulation de la dégradation des hydrocarbures est considérée comme l'approche de bioremédiation la plus efficace et l'élaboration de nouvelles techniques d'intervention impliquant ces processus est intimement liée à la compréhension du fonctionnement de la communauté microbienne hydrocarbonoclaste (Mapelli et al., 2017).

Le rapport de GENIVAR (2013) constate un manquement relatif à la capacité d'intervention en cas de déversements pétroliers en présence de glace dans l'EMSL et le rapport de Lemarchand et Desbiens (2015) souligne l'absence de donnée sur l'état actuel des communautés microbiennes de cet écosystème. Cette maîtrise constitue un premier pas concret en identifiant pour une première fois les genres hydrocarbonoclastes présents en hiver dans l'EMSL. Elle contribue aussi à mettre de l'avant le potentiel du biochar comme adsorbant pétrolier qui permettrait un retrait des hydrocarbures résiduels et contribuerait à l'atténuation naturelle du déversement en offrant un support de croissance aux bactéries hydrocarbonoclastes. Un tel adsorbant permettrait d'améliorer la capacité d'intervention en présence de glace lorsque la récupération mécanique est plus difficile. Ainsi, il pourrait avoir un fort potentiel d'application dans les eaux côtières du Canada et cela bonifierait significativement les méthodes d'intervention actuelle en incluant les principes de bioremédiation. Un approfondissement des connaissances sur l'état actuel de la communauté bactérienne hydrocarbonoclaste de l'EMSL est cependant nécessaire afin de statuer sur le

potentiel réel de la stimulation de la biodégradation des hydrocarbures du biochar en milieu côtier naturel.

Ce projet de recherche établit donc une preuve de concept prometteuse concernant l'utilisation du biochar comme technique d'intervention à la suite de déversements pétroliers maritimes.

ANNEXES

Annexe I : Méthode analytique GC-MS

Les analyses GC-MS ont été réalisées à l'aide d'un chromatographe (6850 Series II, Agilent Technologies) couplé au spectromètre de masse (5975B VL MSD, Agilent Technologies). Les injections ont été réalisées par l'échantillonneur automatique (autosampler 6850 series, Agilent Technologies). La colonne installée est la Rxi-5ms (30m x 0,25mm ID x 0,25 µm FT, 5% diphényle et 95% polysiloxane) (Restek). Le four a été programmé comme suit : à 50 °C pour 2 minutes, augmentation à 275 °C à un taux de 15 °C/min pendant 3 minutes, augmentation à 325 °C à un taux de 15 °C/min pour 15 min. Une injection continue de 1 µL d'échantillon a été appliquée à une température de 250 °C avec l'hélium comme gaz vecteur à un débit de 1 mL/min. La calibration des instruments a été réalisée par une méthode impliquant la quantification d'HAP. La limite de détection de la méthode a été calculée pour la quantification d'HAP comme le suggère l'article de Childress et al., (1999).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ABBASI, Akram, Geoffrey D. BOTHUN et Arijit BOSE. 2018. « Attachment of *Alcanivorax borkumensis* to hexadecane-in-artificial sea water emulsion droplets ». *Langmuir*, volume 34, numéro 18, pp. 5352-5357.
- ACCORD DE BONN. 2016. « Bonn Agreement Aerial Operations Handbook ». 123 p.
- AHMAD, Mahtab, Anushka U. RAJAPAKSHA, Jung E. LIM, Ming ZHANG, Nanthi BOLAN, Dinesh MOHAN, Meththika VITHANAGE, Sang S. LEE et Yong S. OK. 2014. « Biochar as a sorbent for contaminant management in soil and water: a review ». *Chemosphere*, volume 99, pp. 19-33.
- ALAMERI, Khawla, Adewale GIWA, Lina YOUSEF, Abdulrahman ALRAEESI et Hanifa TAHER. 2019. « Sorption and removal of crude oil spills from seawater using peat-derived biochar: An optimization study ». *Journal of environmental management*, volume 250, numéro 109465, pp. 1-8.
- ALEXANDER, Melannie, Lawrence S. ENGEL, Nathan OLAIYA, Li WANG, John BARRETT, Laura WEEMS, Erica G. SCHWARTZ et Jennifer A. RUSIECKI. 2018. « The deepwater horizon oil spill coast guard cohort study: A cross-sectional study of acute respiratory health symptoms ». *Environmental Research*, volume 162, pp. 196-202.
- AL-MAJED, Abdul A., Abdulrauf R. ADEBAYO et M. Enamul HOSSAIN. 2012. « A sustainable approach to controlling oil spills ». *Journal of Environmental Management*, volume 113, pp. 213-227.
- ALMEDA, Rodrigo, Cammie HYATT et Edward J. BUSKEY. 2014. « Toxicity of dispersant Corexit 9500A and crude oil to marine microzooplankton ». *Ecotoxicology and Environmental Safety*, volume 106, pp. 76-85.
- ARCHAMBAULT, Philippe, Irene R. SCHLOSS, Cindy GRANT et Steve PLANTE. 2017. *Les hydrocarbures dans le golfe du Saint-Laurent: Enjeux sociaux, économiques et environnementaux*. Notre Golfe. Rimouski. 324 p.
- BALTRÉNAS, Pranas, Edita BALTRÉNAITĖ et Edmundas SPUDULIS. 2015. « Biochar from pine and birch morphology and pore structure change by treatment in biofilter ». *Water, Air, & Soil Pollution*, volume 226, numéro 3, pp. 69.

- BAYONA, Josep M., Carmen DOMÍNGUEZ et Joan ALBAIGÉS. 2015. « Analytical developments for oil spill fingerprinting ». *Trends in Environmental Analytical Chemistry*, volume 5, pp. 26-34.
- BARTOLI, Mattia, Mauro GIORCELLI, Pravin JAGDALE, Massimo ROVERE et Alberto TAGLIAFERRO. 2020. « A review of non-soil biochar applications ». *Materials*, volume 13, numéro 2, pp. 261.
- BEAULIEU, Lucie, Jacinthe THIBODEAU, Piotr BRYL et Marie-Élise CARBONNEAU. 2009. « Proteolytic processing of Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) and biochemical characterisation of hydrolysates ». *International journal of food science & technology*, volume 44, numéro 8, pp. 1609-1618.
- BENARD, Laurencia D. et Mohd Tuah PIAKONG. 2018. « Bioremediation of petroleum hydrocarbons in seawater: oil spill plume modelling approaches ». Dans *Microbial action on hydrocarbons*, sous la dir. de Vivek Kumar, Manoj Kumar et Ram - Prasad. pp. 35-62. Springer. Singapore.
- BELZILE, Claude, Sonia BRUGEL, Christian NOZAIS, Yves GRATTON et Serge DEMERS. 2008. « Variations of the abundance and nucleic acid content of heterotrophic bacteria in Beaufort Shelf waters during winter and spring ». *Journal of Marine Systems*, volume 74, numéro 3-4, pp. 946-956.
- BLOUIN, Martin. 2001. Dispersion of oil spills stranded in ice and its environmental effects. Canadian Coast Guard Research and Development Plan 2001-2002 . pp. 49-50. <http://dsp-psd.pwgsc.gc.ca/Collection/T31-83-2002E.pdf>.
- BOETIUS, Antje et Frank WENZHÖFER. 2013. « Seafloor oxygen consumption fuelled by methane from cold seeps ». *Nature Geoscience*, volume 6, numéro 9, pp. 725-734.
- BOURGAULT, Daniel, Hugo TREMBLAY, Irene R. SCHLOSS, Steve PLANTE et Philippe ARCHAMBAULT. 2017. « Données environnementales « commercialement sensibles » : une étude de cas à propos d'assertions de suintements de pétrole à Old Harry ». Dans *Les hydrocarbures dans le golfe du Saint-Laurent : Enjeux sociaux, économiques et environnementaux*, sous la dir. de Philippe Archambault, Irene R. Schloss, Cindy Grant et Steve Plante. pp. 275-291. Notre Golfe. Rimouski.
- BUREAU DE COORDINATION DES URGENCES. 2015. *État de situation des mesures d'urgence au Québec: le cas du milieu marin*. GENV29. Québec : Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques du Québec, 14 p.

- CAI, Lu, Yan ZHANG, Yaru ZHOU, Xiaodie ZHANG, Lili JI, Wendong SONG, Hailong ZHANG et Jianshe LIU. 2019. « Effective adsorption of diesel oil by crab-shell-derived biochar nanomaterials ». *Materials*, volume 12, numéro 2, pp. 236.
- CARMODY, Onuma, Ray FROST, Yunfei XI et Serge KOKOT. 2008. « Selected adsorbent materials for oil-spill cleanup ». *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, volume 91, numéro 3, pp. 809-816.
- CHEN, Baoliang, et Zaiming. CHEN. 2009. « Sorption of naphthalene and 1-naphthol by biochars of orange peels with different pyrolytic temperatures ». *Chemosphere*, volume 76, numéro 1, pp. 127-133.
- CHEN, Baoliang, Dandan ZHOU et Lizhong ZHU. 2008. « Transitional Adsorption and Partition of Nonpolar and Polar Aromatic Contaminants by Biochars of Pine Needles with Different Pyrolytic Temperatures ». *Environmental Science & Technology*, volume 42, numéro 14, pp. 5137-5143.
- CHEN, Xincui, Guangcun CHEN, Linggui CHEN, Yingxu CHEN, Johannes LEHMANN, Murray B. MCBRIDE et Anthony G. HAY. 2011. « Adsorption of copper and zinc by biochars produced from pyrolysis of hardwood and corn straw in aqueous solution ». *Bioresource technology*, volume 102, numéro 19, pp. 8877-8884.
- CHHITI, Younes et Mohammed KEMIHA. 2013. « Thermal conversion of biomass, pyrolysis and gasification ». *International Journal of Engineering Science*, volume 2, numéro 3, pp. 75-85.
- CHILDRESS, Carolyn J. O., William T. FOREMAN, Brooke. F. CONNOR et Thomas J. MALONEY. 1999. « New reporting procedures based on long-term method detection levels and some considerations for interpretations of water-quality data provided by the US Geological Survey National Water Quality Laboratory ». *US Geological Survey Open-File Report*, volume 193.
- COULON, Frédéric, Boyd A. MCKEW, A. Mark OSBORN, Terry J. MCGENITY et Kenneth N. TIMMIS. 2007. « Effects of temperature and biostimulation on oil-degrading microbial communities in temperate estuarine waters ». *Environmental Microbiology*. volume 9, numéro 1, pp. 177-186.

- CUSSON, Mathieu, Philippe ARCHAMBAULT, Karine LEMARCHAND, Jonathan VERREAULT et Émilien PELLETIER. 2017. « Toxicité des hydrocarbures et impacts des déversements sur les organismes marins et leur environnement ». Dans *Les hydrocarbures dans le golfe du Saint-Laurent : Enjeux sociaux, économiques et environnementaux*, sous la dir. de Philippe Archambault, Irene R. Schloss, Cindy Grant et Steve Plante. pp. 95-131. Notre Golfe. Rimouski.
- DAS, Nilanjana et Preethy CHANDRAN. 2011. « Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: an overview ». *Biotechnology research international*. Volume 2011, numéro 941810, pp. 1-13.
- DAI, Yingjie, Naixin ZHANG, Chuanming XING, Qingxia CUI et Qiya SUN. 2019. « The adsorption, regeneration and engineering applications of biochar for removal organic pollutants: A review ». *Chemosphere*, volume 223, pp. 12-27.
- DELILLE, Daniel, et Robert SIRON. 1993. « Effect of dispersed oil on heterotrophic bacterial communities in cold marine waters ». *Microbial Ecology*. volume 25, numéro 3, pp. 263-273.
- DELLAGNEZZE, Bruna M., Suzan P. VASCONCELLOS, Itamar S. MELO, Eugênio V.D. SANTOS NETO et Valéria M. OLIVEIRA. 2016. « Evaluation of bacterial diversity recovered from petroleum samples using different physical matrices ». *Brazilian Journal of Microbiology*, volume 47, numéro 3, pp. 712-723.
- DOSHI, Bhairavi, Mika SILLANPÄÄ et Simo KALLIOLA. 2018. « A review of bio-based materials for oil spill treatment ». *Water research*, volume 135, pp. 262-277.
- DUBINSKY, Eric A., et collaborateurs. 2013. « Succession of hydrocarbon-degrading bacteria in the aftermath of the Deepwater Horizon oil spill in the Gulf of Mexico ». *Environmental Science & Technology*, volume 47, numéro 19, pp. 10860-10867.
- EL-SABH, Mohammed I et Norman SILVERBERG. 1990. « Oceanography of a large-scale estuarine system: the St. Lawrence ». *Springer Science & Business Media*.
- ENVIRONNEMENT CANADA. 2014. « Guide pratique d'intervention en cas de déversement d'hydrocarbures sur les rives en milieu marin ». 223 p.
- ENVIRONNEMENT CANADA. 2017. Dans *Données historiques*. En ligne. https://climat.meteo.gc.ca/historical_data/search_historic_data_f.html. Consulté le 17 octobre 2020.

- EPA. 2017. « Oil Spill Response Techniques ». Dans *EPA's Response Techniques*. En ligne. <https://www.epa.gov/emergency-response/epas-responsetechniques>. Consulté le 20 mars 2020.
- FU, Yuhong, Yafei SHEN, Zhendong ZHANG, Xinlei GE et Mindong CHEN. 2019. « Activated bio-chars derived from rice husk via one-and two-step KOH-catalyzed pyrolysis for phenol adsorption ». *Science of the Total Environment*, volume 646, pp. 1567-1577.
- GASCÓ, G., J. PAZ-FERREIRO et A. MÉNDEZ. 2012. « Thermal analysis of soil amended with sewage sludge and biochar from sewage sludge pyrolysis ». *Journal of thermal analysis and calorimetry*, volume 108, numéro 2, pp. 769-775.
- GAUVREAU, Merlo (Agent principal, préparation et intervention – programmes et opérations nationaux, centre national des urgences environnementales, Environnement et Changement Climatique Canada.). 2020. Communication personnelle.
- GENIVAR. 2013. *Évaluation environnementale stratégique sur la mise en valeur des hydrocarbures dans les bassins d'Anticosti, de Madeleine et de la baie des Chaleurs*. Q122451. Québec : Genivar Inc, 660 p.
- GODFRIN, Michael P., Maswazi SIHLABELA, Arijit BOSE et Anubhav TRIPATHI. 2018. « Behavior of marine bacteria in clean environment and oil spill conditions ». *Langmuir*, volume 34, numéro 30, pp. 9047-9053.
- GOUVERNEMENT DU QUÉBEC. 2015. *Évaluations environnementales stratégiques sur les hydrocarbures : Synthèse des connaissances et plan d'acquisition de connaissances additionnelles*. Québec : Ministère du développement durable and climatiques, 113 p.
- GOUVERNEMENT DU CANADA. 2016. « Loi sur les opérations pétrolières au Canada ». Dans *Gazette du Canada*. pp. 1296-1433. Ottawa.
- HALE, Sarah E. et collaborateurs. 2012. « Quantifying the total and bioavailable polycyclic aromatic hydrocarbons and dioxins in biochars ». *Environmental Science and Technology*, volume 46, numéro 5, pp. 2830-2838.
- HANSON, R. S., et T. E. HANSON. 1996. « Methanotrophic bacteria ». *Microbiological Reviews*, volume 60, numéro 2, pp. 439-471.

- HARA, Akihiro, Kazuki SYUTSUBO et Shigeaki HARAYAMA. 2003. « *Alcanivorax* which prevails in oil-contaminated seawater exhibits broad substrate specificity for alkane degradation ». *Environmental Microbiology*, volume 5, numéro 9, pp. 746-753.
- HARAYAMA, Shigeaki, Yuki KASAI et Akihiro HARA. 2004. « Microbial communities in oil-contaminated seawater ». *Biotechnology*, volume 15, numéro 3, pp. 205-214.
- HAZEN, Terry C., Roger C. PRINCE, et Nagissa MAHMOUDI. 2016. « Marine oil biodegradation ». *Environmental Science & Technology*, volume 50, pp. 2121-2129.
- HEAD, Ian. M., D. Martin JONES et Wilfred F.M. RÖLING. 2006. « Marine microorganisms make a meal of oil ». *Nature Reviews Microbiology*, volume 4, numéro 3, pp. 173-182.
- HUIXIANG, Xie (professeur en chimie marine, ISMER). Communication personnelle.
- ILLUMINA. 2013. 16S Metagenomic sequencing library preparation - Preparing 16S ribosomal RNA gene amplicons for the Illumina MiSeq System.
- INNOVATION MARITIME. 2014. « Bilan des connaissances - transport maritime des hydrocarbures ». Rapport au Ministère de l'Énergie et des Ressources Naturelles. 110 p.
- INTERNATIONAL BIOCHAR INITIATIVE. 2015. Standardized product definition and product testing guidelines for biochar that is used in soil. Dans *Biochar Standards*. En ligne. <http://www.biochar-international.org/characterizationstandard>. Consulté le 29 septembre 2019.
- ISHAK, N. et N. SARBON. 2018. « Physicochemical characterization of enzymatically prepared fish protein hydrolysate from waste of shortfin scad (*Decapterus macrosoma*) ». *International Food Research Journal*, volume 25, numéro 6, pp. 2593-2600.
- ITOPF. 2011a. « Fate of marine oil spills ». Dans Technical Information Papers. En ligne. 12 p. <https://www.itopf.org/knowledge-resources/documents-guides/document/tip-02-fate-of-marine-oil-spills/>. Consulté le 11 mai 2020.
- ITOPF. 2011b. « Use of booms in oil pollution response ». Dans Technical Information Papers. En ligne. 12 p. <https://www.itopf.org/knowledge-resources/documents-guides/document/tip-03-use-of-booms-in-oil-pollution-response/>. Consulté le 5 mai 2020.

- ITOPF. 2012a. « Use of skimmers in oil pollution response ». Dans Technical Information Papers. En ligne. 16 p. <https://www.itopf.org/knowledge-resources/documents-guides/document/tip-05-use-of-skimmers-in-oil-pollution-response/>. Consulté le 5 mai 2020.
- ITOPF. 2012b. « Use of sorbent materials in oil pollution response ». Dans Technical Information Papers. En ligne. 12 p. <https://www.itopf.org/knowledge-resources/documents-guides/document/tip-08-use-of-sorbent-materials-in-oil-spill-response/>. Consulté le 5 mai 2020.
- KANDANELLI, Ramesh, Lavanya MEESALA, Jatin KUMAR, Chinthalapati S.K. RAJU, VC Rao PEDDY, Sriganesh GANDHAM et Pramod KUMAR. 2018. « Cost effective and practically viable oil spillage mitigation: Comprehensive study with biochar ». *Marine pollution bulletin*. volume 128, pp. 32-40.
- KEILUWEIT, Marco, Markus KLEBER, Margaret A. SPARROW, Bernd. R. T. SIMONEIT et Frederick G. PRAHL. 2012. « Solvent-extractable polycyclic aromatic hydrocarbons in biochar: influence of pyrolysis temperature and feedstock ». *Environmental science & technology*, volume 46, numéro 17, pp. 9333-9341.
- KLEINDIENST, Sara, John H. PAUL et Samantha B. JOYE. 2015. « Using dispersants after oil spills: impacts on the composition and activity of microbial communities ». *Nature Reviews Microbiology*, volume 13, numéro 6, pp. 388.
- KLINDWORTH, Anna, Elmar PRUESSE, Timmy SCHWEER, Jörg PEPLIES, Christian QUAST, Matthias HORN et Frank O. GLÖCKNER. 2013. « Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies ». *Nucleic acids research*, volume 41, numéro 1, pp. e1-e1.
- KRISHNAMURTHY, Jayasree, Lawrence S. ENGEL, Li WANG, Erica G. SCHWARTZ, Kate CHRISTENBURY, Benjamin KONDRUP, John BARRETT et Jennifer A. RUSIECKI. 2019. « Neurological Symptoms Associated with Oil Spill Response Exposures: Results from the Deepwater Horizon Oil Spill Coast Guard Cohort Study ». *Environment international*, volume 131, pp. 104963.
- KRISTOFFERSEN, Kenneth A., Kristian H. LILAND, Ulrike BÖCKER, Sileshi G. WUBSHET, Diana LINDBERG, Svein J. HORN et Nils K. AFSETH. 2019. « FTIR-based hierarchical modeling for prediction of average molecular weights of protein hydrolysates ». *Talanta*, volume 205, pp. 120084.

- LA PRESSE. 2013. En ligne.
<https://www.ecosia.org/images?q=d%C3%A9versement+septi-iles#id=2656AA2B01B1FF10FBF3C51C6B5E2C28EF75B415>. Consulté le 20 mars 2020.
- LAVOIE, Denis, Nicholas PINET, Mathieu DUCHESNE, Andrée BOLDUC et Richard LAROCQUE. 2010. « Methane-derived authigenic carbonates from active hydrocarbon seeps of the St. Lawrence Estuary, Canada ». *Marine and Petroleum Geology*, volume 27, numéro 6, pp. 1262-1272.
- LEE, Kenneth, Zhengkai LI, Brian ROBINSON, Paul E. KEPKAY, Martin BLOUIN et Bernard DOYON. 2011. *Field trials of in-situ oil spill countermeasures in ice-infested waters*. International oil spill conference proceedings. American Petroleum Institute. 16p.
- LEHMANN, Johannes, John GAUNT et Marco RONDON. 2006. « Bio-char sequestration in terrestrial ecosystems—a review ». *Mitigation adaptation strategies for global change*, volume 11, numéro 2, pp. 403-427
- LEHR, B., B. SKY, A. POSSOLO, A. ALLEN, M. BOUFADEL, T. COOLBAUGH, P. DALING, M. FINGAS, D. FRENCH-MCCAY et R. GOODMAN. 2010. *Oil budget calculator deepwater horizon: a report to the National Incident Command*. NOAA.
- LEMARCHAND, Karine et Isabelle. DESBIENS. 2015. « Revue des connaissances sur les capacités potentielles de dégradation des hydrocarbures dans l'estuaire maritime et le golfe du Saint-Laurent par les communautés bactériennes indigènes ». Rapport au Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques du Québec. 31 p.
- LE SOLEIL. 2014. En ligne.
<https://www.lesoleil.com/actualite/environnement/deversement-aux-iles-de-la-madeleine-comme-un-signal-dalarme-2973cba6b5a5302e2667e5f2021e41ea>. Consulté le 20 mars 2020.
- LOFTHUS, Synnøve, Roman NETZER, Anna S. LEWIN, Tonje M. B. HEGGESET, Tone HAUGEN et Odd G. BRAKSTAD. 2018. « Biodegradation of n-alkanes on oil–seawater interfaces at different temperatures and microbial communities associated with the degradation ». *Biodegradation*, volume 29, numéro 2, pp. 141-157.

- MAPELLI, Francesca, Alberto SCOMA, Grégoire MICHOU, Federico AULENTA, Nico BOON, Sara BORIN, Nicolas KALOGERAKIS et Daniele DAFFONCHIO. 2017. « Biotechnologies for marine oil spill cleanup: Indissoluble ties with microorganisms ». *Trends in biotechnology*, volume 35, numéro 9, pp. 860-870.
- MARTIN ASSOCIATES. 2011. « The economic impacts of the Great Lakes – St. Lawrence System ». Lancaster, PA, USA, 98 pp.
- MCFARLIN, Kelly M., Matt J. PERKINS, Jennifer A. FIELD et Marry B. LEIGH. 2018. « Biodegradation of crude oil and Corexit 9500 in arctic seawater ». *Frontiers in Microbiology*, volume 9, numéro 1788, pp. 1-14.
- MCGOWAN, Craig J., Richard K. KWOK, Lawrence S. ENGEL, Mark R. STENZEL, Patricia A. STEWART et Dale P. SANDLER. 2017. « Respiratory, dermal, and eye irritation symptoms associated with Corexit™ EC9527A/EC9500A following the Deepwater Horizon oil spill: findings from the GuLF STUDY ». *Environmental health perspectives*, volume 125, numéro 9, pp. 097015.
- MCKEW, Boyd A., Frédéric COULON, Michail M. YAKIMOV, Renata DENARO, Maria GENOVESE, Cindy J. SMITH, A. Mark OSBORN, Kenneth N. TIMMIS et Terry J. MCGENITY. 2007. « Efficacy of intervention strategies for bioremediation of crude oil in marine systems and effects on indigenous hydrocarbonoclastic bacteria ». *Environmental Microbiology*, volume 9, numéro 6, pp. 1562-1571.
- MELO, Itamar S., Jane L. FAULL et Rosely S. NASCIMENTO. 2006. « Antagonism of *Aspergillus terreus* to *Sclerotinia sclerotiorum* ». *Brazilian Journal of microbiology*, volume 37, numéro 4, pp. 417-419.
- MUNN, Colin. 2011. *Marine Microbiology: Ecology and Application*. 2^e édition. New York et Londres. 364 p.
- NALCO. 2014. « Safety data sheet; COREXIT® EC9500A ». p. 11.
- NATIONAL ACADEMIES OF SCIENCES, ENGINEERING, AND MEDICINE. 2020. « The use of dispersants in marine oil spill response ». Washington, DC: The National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/25161>.
- NAVARATHNA, Chanaka M., Narada B. DEWAGE, Cameron KEETON, Jaylen PENNISSON, Rand HENDERSON, Brooke LASHLEY, Xuefeng ZHANG, El Barbary HASSAN, Felio, PEREZ et Dinesh MOHAN. 2020. « Biochar adsorbents with enhanced hydrophobicity for oil spill removal ». *ACS Applied Materials & Interfaces*. Volume 12, numéro 8, pp. 9248-9260.

- NAZIFA, Tasnia H., A. Shanawaz UDDIN, Rashidul ISLAM, Tony HADIBARATA et Azmi ARIS. 2018. « Oil spill remediation by adsorption using two forms of activated carbon in marine environment ». Dans *International Conference on Computing, Electronics & Communications Engineering*. p. 162-167.
- NGUYEN, Thanh H., Hyun-Hee CHO, Dianne L. POSTER et William P. BALL. 2007. « Evidence for a pore-filling mechanism in the adsorption of aromatic hydrocarbons to a natural wood char ». *Environmental science & technology*, volume 41, numéro 4, pp. 1212-1217.
- NGUYEN, Hang N. et Joseph J. PIGNATELLO. 2013. « Laboratory tests of biochars as absorbents for use in recovery or containment of marine crude oil spills ». *Environmental Engineering Science*. volume 30, numéro 7, pp. 374-380.
- NIKOLOPOULOU, Maria et Nicolas KALOGERAKIS. 2009. « Biostimulation strategies for fresh and chronically polluted marine environments with petroleum hydrocarbons ». *Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology*, volume 84, numéro 6, pp. 802-807.
- NIU, Mingyang, Wenyue LIANG et Fengping WANG. 2018. « Methane biotransformation in the ocean and its effects on climate change: A review ». *Science China Earth Sciences*, volume 61, numéro 12, pp. 1697-1713.
- OMAROVA, Marzhana, Lauren T. SWIENTONIEWSKI, Igor K. MKAM TSENGAM, Diane A. BLAKE, Vijay JOHN, Alon MCCORMICK, Geoffrey D. BOTHUN, Srinivasa R. RAGHAVAN et Arijit BOSE. 2019. « Biofilm formation by hydrocarbon-degrading marine bacteria and its effects on oil dispersion ». *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, volume 7, numéro 17, pp. 14490-14499.
- PADRÓS, Jaime, Émilien PELLETIER, Robert SIRON et Daniel DELILLE. 1999. « Fate of a new silicone-based oil-treating agent and its effects on marine microbial communities ». *Environmental Toxicology Chemistry*, volume 18, numéro 5, pp. 819-827.
- PANNEKENS, Mark, Lisa KROLL, Hubert MÜLLER, Fatou T. MBOW et Rainer U. MECKENSTOCK. 2019. « Oil reservoirs, an exceptional habitat for microorganisms ». *New biotechnology*, volume 49, pp. 1-9.
- PEREIRA, R. Calvelo, M. Camps ARBESTAIN, M. Vazquez SUEIRO et JA MACIÁ-AGULLÓ. 2015. « Assessment of the surface chemistry of wood-derived biochars using wet chemistry, Fourier transform infrared spectroscopy and X-ray photoelectron spectroscopy ». *Soil Research*, volume 53, numéro 7, pp. 753-762.

- PLAN D'ACTION SAINT-LAURENT. 2014. « Sections du Saint-Laurent ». Dans *Le Saint-Laurent*. En ligne. http://planstlaurent.qc.ca/fileadmin/site_documents/images/Le_Saint-Laurent/GISL_sections_2014_FR.jpg. Consulté le 15 juillet 2020.
- PIMENOV, N. V., M. O. UL'YANOVA, T. A. KANAPATSKII, V. V. SIVKOV et M. V. IVANOV. 2008. « Microbiological and biogeochemical processes in a pockmark of the Gdansk depression, Baltic Sea ». *Microbiology*, volume 77, numéro 5, pp. 579-586.
- PINET, Nicolas, Virginia BRAKE, Calvin CAMPBELL et Mathieu J. DUCHESNE. 2015. « Geomorphological characteristics and variability of Holocene mass-transport complexes, St. Lawrence River Estuary, Canada ». *Geomorphology*, volume 228, pp. 286-302.
- POWELL, James C., Patrick E. DABINETT et John A. GOW. 1987. « An annual cycle of abundance and activity of heterotrophic bacteria and abundance of hydrocarbonoclastic bacteria in Newfoundland coastal water ». *Canadian journal of microbiology*, volume 33, numéro 5, pp. 377-382.
- PRENDERGAST, Daniel P. et Philip M. GSCHWEND. 2014. « Assessing the performance and cost of oil spill remediation technologies ». *Journal of Cleaner Production*, volume 78, pp. 233-242.
- QIN, Gang, Dan GONG et Mei-Ying FAN. 2013. « Bioremediation of petroleum-contaminated soil by biostimulation amended with biochar ». *International Biodeterioration Biodegradation*, volume 85, pp. 150-155.
- RADIO-CANADA. (2013, 6 septembre). « Déversement à Sept-îles : du mazout au Vieux-Quai et à la marina ». Radio-Canada. En ligne. <https://ici.radio-canada.ca/nouvelle/630848/deversement-sept-iles-explication-cliffs>. Consulté le 16 mars 2020.
- RADIO-CANADA. (2016, 3 juin). « Le port de Cap-aux-Meules pourra enfin être décontaminé en entier ». Radio-Canada. En ligne. <https://ici.radio-canada.ca/nouvelle/785346/deversement-cap-aux-meules-port-diesel-decontamination>. Consulté le 16 mars 2020.
- RIBICIC, Deni, Roman NETZER, Anika WINKLER et Odd G. BRAKSTAD. 2018. « Microbial communities in seawater from an Arctic and a temperate Norwegian fjord and their potentials for biodegradation of chemically dispersed oil at low seawater temperatures ». *Marine Pollution Bulletin*, volume 129, numéro 1, pp. 308-317.

- RICO-MARTÍNEZ, Roberto, Terry W. SNELL et Tonya L. SHEARER. 2013. « Synergistic toxicity of Macondo crude oil and dispersant Corexit 9500A[®] to the *Brachionus plicatilis* species complex (Rotifera) ». *Environmental Pollution*, volume 173, pp. 5-10.
- RÖLING, Wilfred F. M., Michael G. MILNER, D. Martin JONES, Kenneth LEE, Fabien DANIEL, Richard J. P. SWANNELL et Ian M. HEAD. 2002. « Robust hydrocarbon degradation and dynamics of bacterial communities during nutrient-enhanced oil spill bioremediation ». *Applied Environmental Microbiology*, volume 68, numéro 11, pp. 5537-5548.
- SABIROVA, Julia S., Anke BECKER, Heinrich LUNSDORF, Jean-Mark NICAUD, Kenneth N. TIMMIS et Peter N. GOLYSHIN. 2011. « Transcriptional profiling of the marine oil-degrading bacterium *Alcanivorax borkumensis* during growth on n-alkanes ». *Federation of European Microbiological Societies*, volume 319, pp. 160-168.
- SCHREIBER, Lars, Nathalie FORTIN, Julien TREMBLAY, Miria ELIAS, Jennifer MASON, Sylvie SANSCHAGRIN, Susan COBANLI, Thomas KING, Kenneth LEE et Charles W. GREER. 2019. « Evaluation of the natural attenuation potential of diluted bitumen by microbial communities in the Douglas Channel and Hecate Strait, British Columbia ». *Applied and Environmental Microbiology*. (attente de publication).
- SCHNEIKER, Susanne, Vitor A. P. M. DOS SANTOS, Daniela BARTELS, Thomas BEKEL, Martina BRECHT, Jens BUHRMESTER, Tatyana N. CHERNIKOVA, Renata DENARO, Manuel FERRER et Christoph GERTLER. 2006. « Genome sequence of the ubiquitous hydrocarbon-degrading marine bacterium *Alcanivorax borkumensis* ». *Nature biotechnology*, volume 24, numéro 8, pp. 997.
- SHACKLEY, Simon et Saran SOHI. 2010. « An assessment of the benefits and issues associated with the application of biochar to soil ». UK Biochar Research Center. p. 132.
- SIGMA-ALDRICH. 2021. « Bushnell Hass Agar – Product Information ». 1 p.
- SILVANI, Ludovica, Blanka VRCHOTOVA, Petr KASTANEK, Katerina DEMNEROVA, Ida PETTITI et Marco P. PAPINI. 2017. « Characterizing biochar as alternative sorbent for oil spill remediation ». *Scientific reports*, volume 7, pp. 43912.

- SIRON, Robert, Émilien PELLETIER et C. BROCHU. 1995. « Environmental factors influencing the biodegradation of petroleum hydrocarbons in cold seawater ». *Archives of Environmental Contamination Toxicology*, volume 28, pp. 406-416
- SIRON, Robert, Émilien PELLETIER et S. ROY. 1996. « Effects of dispersed and adsorbed crude oil on microalgal and bacterial communities of cold seawater ». *Ecotoxicology*, volume 5, numéro 4, pp. 229-251.
- SODES. 2015. « Société de développement économique du Saint-Laurent ». Dans *Le saviez-vous ?*. En ligne. <http://livreparnavire.com/>. Consulté le 11 mai 2020.
- STATOIL. 1997. Heidrun. Fiche descriptive fournie par Environnement Canada.
- ST-ONGE, Marie-Pier. 2019. *Mission hivernale d'Odysée Saint-Laurent*. Rimouski, Réseau Québec Maritime, 76 p.
- SUTTLE, Curtis A. 2007. « Marine viruses—major players in the global ecosystem ». *Nature reviews microbiology*, volume 5, numéro 10, pp. 801-812.
- TAN, Xiaofei, Yunguo LIU, Guangming ZENG, Xin WANG, Xinjiang HU, Yanling GU et Zhongzhu YANG. 2015. « Application of biochar for the removal of pollutants from aqueous solutions ». *Chemosphere*, volume 125, pp. 70-85.
- TREMBLAY, Julien, Etienne YERGEAU, Nathalie FORTIN, Susan COBANLI, Mirias ELIAS, Thomas L. KING, Kenneth LEE et Charles W. GREER. 2017. « Chemical dispersants enhance the activity of oil-and gas condensate-degrading marine bacteria ». *The ISME journal*, volume 11, numéro 12, pp. 2793-2808
- TREMBLAY, Michel-Felix. (2016, 10 avril). « Déversement aux Îles-de-la-Madeleine : l'oléoduc d'Hydro-Québec était gravement corrodé, dit un rapport ». Radio-Canada. En ligne. <https://ici.radio-canada.ca/nouvelle/774611/versement-hydro-quebec-iles-de-la-madeleine-oleoduc-hydrocarbures>. Consulté le 16 mars 2020.
- TSAI, Wen-Tien, Chien-Hung HSU, Yu-Quan LIN, Chi-Hung TSAI, Wen-Shing CHEN et Yao-Tsung CHANG. 2020. « Enhancing the pore properties and adsorption performance of cocoa pod husk (CPH)-derived biochars via post-acid treatment ». *Processes*, volume 8, numéro 2, pp. 144.
- UHLIG, Christiane, John B. KIRKPATRICK, Steve D'HONDT et Brice LOOSE. 2018. « Methane-oxidizing seawater microbial communities from an Arctic shelf ». *Biogeosciences*, volume 15, pp. 3311-3329.

- VERGEYNST, Leendert, Kasper U. KJELDSEN, Pia LASSEN et Søren RYSGAARD. 2018. « Bacterial community succession and degradation patterns of hydrocarbons in seawater at low temperature ». *Journal of Hazardous Materials*, volume 353, pp. 127-134.
- WANG, Yanjie, Fayun LI, Xiangmin RONG, Haixing SONG et Jiabo CHEN. 2017. « Remediation of petroleum-contaminated soil using bulrush straw powder, biochar and nutrients ». *Bulletin of Environmental Contamination Toxicology*, volume 98, numéro 5, pp. 690-697.
- WANG, Zhendi, Scott A. STOUT et Merv FINGAS. 2006. « Forensic fingerprinting of biomarkers for oil spill characterization and source identification ». *Environmental Forensics*, volume 7, numéro 2, pp. 105-146.
- WARR, Laurence N., Maria SCHLÜTER, Frieder SCHAUER, Gregory M. OLSON, Laura M. BASIRICO et Ralph J. PORTIER. 2018. « Nontronite-enhanced biodegradation of Deepwater Horizon crude oil by *Alcanivorax borkumensis* ». *Applied Clay Science*, volume 158, pp. 11-20.
- WEI, Zhuo, Jim J. WANG, Lewis A. GASTON, Jifeng LI, Lisa M. FULTZ, Ronald D. DELAUNE et Syam K. DODLA. 2020. « Remediation of crude oil-contaminated coastal marsh soil: Integrated effect of biochar, rhamnolipid biosurfactant and nitrogen application ». *Journal of Hazardous Materials*, pp. 122595.
- WIETZ, Matthias, Lone GRAM, Bo JØRGENSEN et Andreas SCHRAMM. 2010. « Latitudinal patterns in the abundance of major marine bacterioplankton groups ». *Aquatic Microbial Ecology*, volume 61, numéro 2, pp. 179-189.
- WOOD, Derrick E. and Steven L. SALZBERG. 2014. « Kraken: ultrafast metagenomic sequence classification using exact alignments ». *Genome Biology*, volume 15, numéro R46, 12 p.
- YAKIMOV, Michail M., Peter N. GOLYSHIN, Siegmund LANG, Edward R. MOORE, Wolf-Rainer ABRAHAM, Heinrich LÜNSDORF et Kenneth N. TIMMIS. 1998. « *Alcanivorax borkumensis* gen. nov., sp. nov., a new, hydrocarbon-degrading and surfactant-producing marine bacterium ». *International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology*, volume 48, numéro 2, pp. 339-348
- YAKIMOV, Michail M., Kenneth N. TIMMIS et Peter N. GOLYSHIN. 2007. « Obligate oil-degrading marine bacteria ». *Current opinion in biotechnology*, volume 18, numéro 3, pp. 257-266.

- YAO, Ying et collaborateurs. 2012. « Adsorption of sulfamethoxazole on biochar and its impact on reclaimed water irrigation ». *Journal of Hazardous Materials*, volume 209-210, pp. 408-413.
- YANG, Xunan, Zefang CHEN, Qunhe WU et Meiyong XU. 2018. « Enhanced phenanthrene degradation in river sediments using a combination of biochar and nitrate ». *Science of The Total Environment*, volume 619, pp. 600-605.
- YANG, Si-Zhong, Hui-Jun JIN, Zhi WEI, Rui-Xia HE, Yan-Jun JI, Xiu-Mei LI et Shao-Peng YU. 2009. « Bioremediation of oil spills in cold environments: a review ». *Pedosphere*, volume 19, numéro 3, pp. 371-381.
- ZHU, Dongqiang, Seokjoon KWON et Joseph J. PIGNATELLO. 2005. « Adsorption of Single-Ring Organic Compounds to Wood Charcoals Prepared under Different Thermochemical Conditions ». *Environmental Science & Technology*, volume 39, numéro 11, pp. 3990-3998.

