AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

LABORATOIRE GEORESSOURCES

ECOLE DOCTORALE RP2E
RESSOURCES PROCÉDÉS PRODUITS ENVIRONNEMENT

T H È S E

pour obtenir le grade de

Docteur en Mécanique - Génie civil

de l'Université de Lorraine

Présentée et soutenue par

Bahar TIDJANI BAHAR

Impact d'une phase bactérienne sur la dissolution d'un polluant résiduel en milieu poreux

Thèse soutenue le 19 mai 2016 devant le jury composé de :

M. GOYEAU Benoît	-	École Centrale Paris	*Rapporteur*
M. BERTIN Henri	-	Université de Bordeaux	*Rapporteur*
M. JORAND Frederic	-	Université de Lorraine	*Examinateur*
M. DELAY Frederick	-	Université de Strasbourg	*Examinateur*
M. GOLFIER Fabrice	-	Université de Lorraine	*Directeur de thèse*
M. OLTEAN Constantin	-	Université de Lorraine	*Co-directeur de thèse*

Remerciements

Je tiens à adresser mes sincères remerciements à mon Directeur de Thèse, M. Fabrice GOLFIER ainsi que mon co-directeur de Thèse, M. Constantin OLTEAN. Ils m'ont donné la chance d'effectuer ma thèse dans un domaine aussi vaste et passionnant qui est la compréhension des processus de pollution des aquifères. En effet, ce travail de recherche m'a permis de comprendre les grands enjeux associés à la protection des ressources en eau et l'eau reste au centre du concept de développement durable et appelle notre responsabilité collective pour sa protection. Au cours de ma thèse, j'ai eu la chance d'effectuer mes premiers pas dans l'enseignement universitaire sous la responsabilité et orientation de mes directeurs de thèse. Les qualités pédagogiques et les formations diverses acquises dans le cadre de mon monitorat au sein de l'Ecole Nationale Supérieure de Géologie me permettent de mieux préparer mon après thèse. Je leur en suis infiniment reconnaissant. Je remercie vivement Eric LEFEVRE pour son aide et ses orientations dans la mise en place du dispositif expérimental. Ses conseils et contributions au cours des « manipes » ont été d'un grand apport dans la réussite de mes expériences.

Je souhaite également adresser mes plus sincères remerciements à Frederic JORAND, Professeur au LCPME, pour son apport et orientation sur l'aspect « Biofilm » de mon travail de thèse. C'est grâce à lui que j'ai pu bénéficier d'une formation aux techniques de microbiologie et aussi aborder le monde des bactéries. Merci encore pour les conseils et apport tout au long de ce travail.

Je remercie également Benoit GOYEAU et Henri BERTIN pour avoir rapporté sur ce travail. Frederick DELAY et Frederic JORAND sont également remerciés pour avoir accepté de participer au jury de mes travaux de thèse.

Mes chers parents, sans vous, je ne serai pas là pour rédiger ce manuscrit. Aucun mot, aucune phrase ne pourrait exprimer votre soutien de tout le jour. Je remercie en particulier mon père pour la qualité de l'éducation que j'ai reçu auprès de lui. J'espère que son voeux le plus cher s'est réalisé en me voyant accéder à ce haut grade de l'enseignement supérieur. Je n'oublie pas mes frères et soeurs pour leur souhait de me voir arriver au bout de ce long tunnel.

Titre Impact d'une phase bactérienne sur la dissolution d'un polluant résiduel en milieu poreux

Résumé :
La contamination des ressources en eaux souterraines par une phase organique non miscible à l'eau couramment appelée NAPL (Non Aqueous Phase Liquid) constitue aujourd'hui un défi scientifique majeur compte tenu de la durée de vie d'un tel polluant. Bien que l'activité bactérienne (généralement présente sous forme de biofilm) joue un rôle crucial dans le devenir à long terme de ces effluents, peu d'études existent à l'heure actuelle sur son impact dans des conditions multiphasiques (i.e., à proximité de la source). En effet, dans la zone saturée, sous l'action des forces capillaires, le NAPL se retrouve souvent piégé, en effet, sous forme de « gouttelettes » au niveau des pores. Ce comportement spécifique au polluant modifie la dynamique du système biofilm/milieu poreux saturé et d'importantes questions restent encore ouvertes : accessibilité du polluant, modification de la tension interfaciale, production de biosurfactant, effet de toxicité (inhibition de la croissance bactérienne). Pour tenter de répondre à ces questions, nous avons adopté une approche aussi bien théorique qu'expérimentale. L'approche théorique porte sur le développement d'un modèle macroscopique décrivant le transport multiphasique en milieu poreux pour un système eau/NAPL/biofilm. Elle repose sur la méthode de prise de moyenne volumique, appliqué aux équations décrivant le couplage écoulement/transport à l'échelle du pore, permettant d'effectuer le changement d'échelle et dériver un modèle à deux équations. Le modèle est établit sous les hypothèses d'équilibre de masse local à l'interface fluide/biofilm et les contraintes associées à ces hypothèses ont étés définies. L'influence des caractéristiques microscopiques (arrangement des grains, fraction volumique du biofilm, distribution des blobs de NAPL, mouillabilité) sur les propriétés effectives du milieu (coefficient de dispersion, coefficient d'échange de masse) est discutée au travers des résultats issus des simulations. Ensuite, le modèle macroscopique a été comparé avec succès à la simulation numérique direct à l'échelle du pore pour la géométrie 2D complexe considérée. Quant à l'approche expérimentale, elle consiste à étudier le transport et la biodégradation du toluène en présence des bactéries (*Pseudomonas Putida F1*) à l'aide d'un milieu poreux transparent 2D (micromodèle). Premièrement, nous avons étudié la dissolution du toluène résiduel sans bactéries et des courbes de dissolution du toluène ont été obtenues. Les résultats de dissolution du toluène en condition abiotique ont été comparés avec succès aux résultats du modèle théorique. Ensuite, l'étude expérimentale en micromodèle a porté sur la dissolution du toluène en condition biotique. Les résultats de ces études (courbes de dissolution et évolution de la saturation résiduelle) ont montré un impact significatif de la présence des bactéries sur les processus de dissolution par comparaison au cas abiotique.

Mots clés : : Milieu poreux, Biofilm, NAPL, Changement d'échelle, Prise de moyenne volumique, Dissolution de NAPL, Biodégradation de NAPL.

Title Impact of a bacterial phase on the dissolving a residual polluant in porous media

Abstract :
Contamination of groundwater resources by an immiscible organic phase commonly called NAPL (Non Aqueous Phase Liquid) represents a major scientific challenge considering the residence time of such a pollutant. Although bacterial activity (usually in the form of biofilm) plays a crucial role in the long term fate of these effluents, very few works are focused on the study of such processes in multiphase conditions (oil/water/biofilm systems). The NAPL often gets trapped, in fact, under the action of capillary forces in the saturated zone in the form of « droplets »within the pores. This specific pollutant behavior changes the dynamics of biofilm /saturated porous medium system where important questions remain open : accessibility of the pollutant, changes in interfacial tension, biosurfactant production, toxicity effect (inhibition of bacterial growth). Modeling the transport of chemical species in the presence of bacteria is an extremely complex issue in terms of scale. We will use an experimental and theoretical approach to address these questions. In this thesis, we developed a macroscopic model describing multiphase transport in porous media for a water/NAPL/biofilm system. A volume averaging method has been applied here to the equations at the pore scale to make the upscaling and derive the model. This two-equation model is established under the assumptions of local mass equilibrium at the fluid/biofilm interface and the constraints associated with these assumptions were defined. The effect of microscopic features (arrangement of grains, volume fraction of the biofilm, distribution of NAPL blobs, wettability) on the effective properties of the media (dispersion coefficient, mass exchange coefficient) is discussed through some results from simulations. Subsequently, the macroscopic model has been successfully compared with the direct numerical simulation at pore scale for a 2D complex geometry. The experimental approach consists of studying transport and biodegradation of toluene in the presence of bacteria (*Pseudomonas Putida F1*) using a flowcell. First, we studied the dissolution of toluene in abiotic conditions and toluene dissolution curves were obtained. The results of toluene dissolution in abiotic conditions were compared with success the results of the theoretical model. Finally, an experimental study in flowcell on the dissolution of toluene under biotic conditions was performed. The results of these studies (dissolution curve and evolution of toluene saturation) showed a significant impact of the presence of bacteria on the dissolution process compared to the abiotic case.

Key words : : Porous media, Biofilm, NAPL, Upscaling, Volume averaging, NAPL dissolution, Bioenhanced dissolution of NAPL.

Table des matières

1 Introduction **1**
- 1.1 Biofilms . . . 1
  - 1.1.1 Definition . . . 1
  - 1.1.2 Formation et croissance . . . 2
  - 1.1.3 Dynamique des biofilms en milieu poreux . . . 4
  - 1.1.4 Applications associées . . . 7
- 1.2 Problématique des NAPL en milieu poreux . . . 8
  - 1.2.1 Les NAPLs . . . 8
  - 1.2.2 Mécanismes caractérisant la migration des NAPLs . . . 10
  - 1.2.3 Impact du biofilm sur le NAPL piégé . . . 17
  - 1.2.4 Processus liés à la dissolution des NAPLs . . . 18
- 1.3 Objectifs et organisation du manuscrit . . . 23

2 Synthèse bibliographique **27**
- 2.1 Introduction . . . 27
- 2.2 État de l'art expérimental : étude expérimentale en micromodéle . . . 28
  - 2.2.1 Intérêt des études en micromodèles . . . 28
  - 2.2.2 Analyse des travaux expérimentaux en micromodèle . . . 28
  - 2.2.3 Expérience de Nambi et al. [55] . . . 28
  - 2.2.4 Expérience de Paulsen et al. [66] . . . 29
  - 2.2.5 Expérience de Armstrong et Wildenschild [126] . . . 31
- 2.3 Synthèse bibliographique - Aspect théorique . . . 32
  - 2.3.1 État de l'art de la modélisation du transport en milieu poreux incluant une phase biofilm . . . 32
  - 2.3.2 Changement d'échelle et prise de moyenne volumique . . . 35
- 2.4 Conclusion . . . 40

3 Modèle de transport et de biodégradation du NAPL en milieu poreux **41**
- 3.1 Introduction . . . 43
- 3.2 Pore scale problem . . . 45
- 3.3 Volume Averaging . . . 49
- 3.4 Local mass equilibrium . . . 55
  - 3.4.1 The two-equation model . . . 55
- 3.5 Closure . . . 57
  - 3.5.1 Deviations problem . . . 57
  - 3.5.2 Closure problems . . . 58
- 3.6 Closed Form of the Macroscopic Equation . . . 60
- 3.7 Results and discussion . . . 62
  - 3.7.1 Results for complex unit cells . . . 62
  - 3.7.2 Impact of the NAPL wettability-configuration(a) and (c) . . . 65

3.7.3 Impact of the biofilm development : Comparison of wetting cases (before and after colonization by biofilm)- configuration (c),(d) and (e) . 65
3.7.4 Impact of the biofilm development : Comparison of non-wetting cases (before and after colonization by biofilm)- configuration (a) and (b) . 67
3.7.5 Numerical validation of the macroscopic model 68
3.8 Conclusion 74

4 Étude expérimentale : Dissolution du NAPL en condition abiotique 77
4.1 Introduction 77
4.2 Matériels et méthodes 78
4.2.1 Polluant utilisé 78
4.2.2 Dispositifs expérimentaux 78
4.2.3 Évaluation des saturations en NAPL 84
4.2.4 Procédure expérimentale pour les expériences en micromodèle 84
4.3 Résultats expérimentaux 87
4.3.1 Analyses préliminaires des résultats expérimentaux 88
4.3.2 Bilan de masse 89
4.3.3 Influence du régime hydrodynamique sur la dissolution du toluène . 95
4.4 Confrontation des résultats expérimentaux et théoriques : cas abiotique . . . 98
4.4.1 Modèle Mathématique 99
4.4.2 Résultats et discussion 102
4.5 Conclusion 110

5 Étude expérimentale : transport et biodégradation du toluène en micromodèle 113
5.1 Introduction 113
5.2 Choix de la souche bactérienne 113
5.2.1 Présentation et condition de culture de la *souche Pseudomonas Putida F1* 113
5.2.2 Protocole expérimental pour les cultures en batch 115
5.2.3 Résultats expérimentaux des tests en batch 116
5.3 Transport et biodégradation du toluène en micromodèle 121
5.3.1 Études préliminaires de la croissance bactérienne en micromodèle . . 121
5.3.2 Étude de la dissolution du toluène résiduel en présence d'une phase biofilm 125
5.3.3 Impact de la phase bactérienne sur la dissolution du toluène résiduel : Comparaison des cas biotiques et abiotiques 128
5.4 Confrontation des résultats expérimentaux et théoriques : cas biotique . . . 132
5.4.1 Modèle Mathématique 133
5.4.2 Résultats et discussions 135
5.5 Conclusion 136

6 Conclusions générales et Perspectives **139**
6.1 Conclusions 139
6.2 Perspectives 141

A ANNEXE A **143**
A.1 Dérivation des champs de déviation 143

B ANNEXE B **147**
B.1 Développement des problèmes de fermeture 147

C ANNEXE C **151**
C.1 Validation analytique des problèmes de fermeture associés au modèle à deux equations 151
C.1.1 Résolution des problèmes de fermeture : validation de l'outil numérique 157

Bibliographie **163**

Table des figures

1.1 (a) Biofilm bacillaire situé dans la zone matricielle d'un cheveu d'un patient atteint de folliculite décalvante (source :http ://www.edimark.fr/) ; (b) Biofilm se développant sur une conduite en PVC (source : //http ://www.legionnellose.com/) 2
1.2 Principales étapes de la formation d'un biofilm [2] 3
1.3 Bio-obstruction dû au développent de biofilm dans le monolithe poreux ; a) initial, b) après 7 jours, c) après 14 jours, d) après 23 jours. (Ebrahimi et al. [128]) 5
1.4 Aspect multi-échelle des processus impliqués dans la modélisation du biofilm 6
1.5 Modèle conceptuel de migration des DNAPLs (ref : EPA/600/F-98/022) . . 9
1.6 Mesure de la tension interfaciale par un tube capillaire 11
1.7 Caractérisation de la mouillabilité d'un liquide 12
1.8 Interface dans un capillaire 13
1.9 Courbes de pression capillaire ([116]) 14
1.10 Mécanismes de « snapp-off »(Jerauld et Salter [47]) 15
1.11 Mécanismes de retraction (Jerauld et Salter [47]) 15
1.12 Migration du NAPL dans le milieu poreux (a) NAPL libre (b) NAPL résiduel (piégé) 16
1.13 Mécanisme de piégeage du NAPL dans un milieu poreux mouillant à l'eau (Lefebvre [116]) 16
1.14 Exemples de différents types de saturation 17
1.15 Représentation schématique des différents voies de biodégradation des xénobiotiques [18] 18
1.16 Dissolution des blobs piégés de NAPL [151] 19
1.17 Résultats d'une expérience exposant un biofilm de Pseudomonas à l'influence d'une gouttelette de TCE (Singh et Olson. [120]) 24

2.1 Dispositif expérimental (Nambi et al. [55]) 29
2.2 Croissance de biofilm en entrée (c,d) et sortie (a,b) du micromodèle (Nambi et al. [55]) 30
2.3 Croissance bactérienne dans le temps (Nambi et al. [55]) 31
2.4 Zone de mélange en absence (a) et en présence des bactéries (b) (Nambi et al. [55]) 32
2.5 Photographie au microscope illustrant le développement préférentiel du biofilm à la périphérie d'une gouttelette d'huile (Paulsen et al. [66]) 33
2.6 Série de photographies au microscope montrant l'évolution de la fragmentation d'une gouttelette d'huile sur 16 jours 34
2.7 Micromèle 2D utilisé par Armstrong et Wildenschild. [126] 35
2.8 Influence de la mouillabilité sur la saturation (a) et sur le taux de récupération d'huile (b) (Armstrong et Wildenschild. [126]) 35

2.9 Comparaison des cas biotiques et abiotiques (Armstrong et Wildenschild. [126]) 36
2.10 Exemple d'un problème multi-échelle 37
2.11 Schématisation de la méthode de prise de moyenne volumique 39

3.1 Sketch of an aquifer contamination by a trapped hydrocarbon phase 46
3.2 Comparison of Haldane and Monod kinetics ($c^*_{B\omega} = 1$; $\mu_{A\omega} = 3.06 \times 10^{-5}\, s^{-1}$; $\rho_\omega = 0.1\, mg.cm^{-3}$; $K_{A\omega} = 3.2 \times 10^{-2}\, mg.cm^{-3}$; $K_i = 0.0045\, mg.cm^{-3}$) 48
3.3 Unit cells used for computations : non-wetting cases (unit cell (a) : without biofilm- unit cell (b) : after bacteria colonization) and wetting cases (unit cell (c) : without biofilm - unit cells (d) and (e) : after bacteria colonization) . . 64
3.4 Dimensionless dispersion coefficient : Variation versus Pe_A in abiotic conditions 66
3.5 Dimensionless mass exchange coefficient : Variation versus Pe_A in abiotic conditions 67
3.6 Velocity field : Comparison of the unit cells without biofilm (unit cell (c) and (a)) 68
3.7 Dimensionless dispersion coefficient : Comparison of NAPL wetting cases (before and after colonization by biofilm) 69
3.8 Mass exchange coefficient : Comparison of NAPL wetting cases (before and after colonization by biofilm) 70
3.9 Longitudinal dispersion coefficient : Comparison of NAPL non-wetting cases (before and after colonization by biofilm) 71
3.10 Dimensionless mass exchange coefficient : Comparison of NAPL non-wetting cases (before and after colonization by biofilm) 72
3.11 Complex 2D geometry considered for numerical validation 72
3.12 Comparison of spatial profiles of concentration between DNS and the macroscopic model for a complex 2D geometry 73
3.13 Impact of the pore-scale geometry on the upscaled concentration field 74

4.1 Structure porale du micromodèle 79
4.2 Micromodèle (montage utilisé) 81
4.3 Schéma descriptif d'une Chromatographie en phase gazeuse (CPG) 82
4.4 Courbe de calibration utilisée pour l'analyse du toluène 83
4.5 Dispositif expérimental 85
4.6 Images obtenues par le protocole de saturation résiduel 87
4.7 Répétabilité de la manipulation pour $P_e = 11$ 89
4.8 Répétabilité de la manipulation pour $P_e = 3.5$ 90
4.9 Dissolution progressive du toluène résiduel ($P_e = 3.5$ et $P_e = 11$) 91
4.10 Présentation du défaut expérimental rencontré à $P_e = 3,5$ 92
4.11 Bilan de masse pour un $P_e = 11$ 92
4.12 Bilan de masse pour un $P_e = 3,5$ 93
4.13 Les trois seuils caractéristiques considérés 94
4.14 Évolution de la saturation résiduelle en fonction du nombre de volumes de pore injectés ($P_e = 3,5$ et $P_e = 11$) 95

4.15 Évolution de la concentration en toluène en fonction du nombre de volumes de pore injectés pour un $P_e = 3,5$ 97
4.16 Évolution de la concentration en toluène en fonction du nombre de volumes de pore injectés pour un $P_e = 11$ 97
4.17 Évolution de la fraction volumique du NAPL en fonction de la position moyenne pour un $P_e = 3.5$ 101
4.18 Cellules unitaires utilisées dans la résolution des problèmes de fermeture . . 104
4.19 Images réelles utilisées pour la construction des cellules 104
4.20 Dispersion effective longitudinale : Influence du nombre de Péclet et de la saturation en toluène 105
4.21 Évolution du coefficient de dispersion en fonction de la saturation en polluant pour $P_{eA} = 3,5$ 106
4.22 Évolution du coefficient de dispersion en fonction de la saturation en polluant pour $P_{eA} = 11$ 107
4.23 Coefficient d'échange de masse : Influence du nombre de Péclet et de la saturation en toluène 108
4.24 Courbe de corrélation du coefficient de transfert de masse en fonction de la saturation en polluant pour $P_{eA} = 3,5$ 108
4.25 Courbe de corrélation du coefficient de transfert de masse en fonction de la saturation en polluant pour $P_{eA} = 11$ 109
4.26 Évolution de la concentration en polluant lors de la dissolution pour $P_{eA} = 3.5$ 110
4.27 Évolution de la concentration en polluant lors de la dissolution pour $P_{eA} = 11$ 111

5.1 Courbe de croissance de *Pseudomonas Putida F1* en milieu riche TSB . . . 115
5.2 Croissance bactérienne et dégradation du toluène (C=100 mg/l) 117
5.3 Croissance bactérienne et dégradation du toluène (C=200 mg/l) 117
5.4 Influence de la concentration en toluène 118
5.5 Influence de la concentration en toluène (Zoom effectué sur la Figure 5.4) . 118
5.6 Cinétique de la croissance bactérienne 119
5.7 Ajustement des données expérimentaux aux modèles de Monod et Haldane . 120
5.8 Courbe d'évolution de la masse bactérienne (valeur cumulée) en fonction du temps (cas avec toluène) 124
5.9 Courbe d'évolution de la masse bactérienne (valeur cumulée) en fonction du temps (cas avec le milieu riche TSB) 125
5.10 Croissance bactérienne dans le micromodèle en milieu riche TSB (à t= 0 ; t= 48 heures ; t=72 heures) 126
5.11 Suivi de la croissance bactérienne en milieu riche TSB (les zones entourées indiquent les régions fortement colonisées) 127
5.12 Dissolution progressive du toluène résiduel pour Pe=3,5 128
5.13 Image finale de la cellule après 14 jours de suivi 129
5.14 Caractérisation post-mortem des bactéries présentes dans la cellule par microscopie à epifluorescence après 14 jours de culture (images (a') et (b')) et après 2 jours de culture en milieu riche TSB (images (c') et d')) 130
5.15 Saturation résiduel en toluène : comparaison des cas avec et sans bactéries . 131

5.16 Courbe de dissolution du toluène résiduel : comparaison des cas avec et sans bactérie . . . 132
5.17 Évolution du flux de masse dissous en présence des bactéries : comparaison de deux méthodes de suivi . . . 133
5.18 Évolution de la fraction volumique du NAPL en fonction de la position moyenne pour un $P_e = 3.5$ . . . 135
5.19 Évolution de la concentration en polluant lors de la dissolution du toluène en condition biotique pour un $P_e = 3.5$ (comparaison numérique/expérimental) 137

C.1 Géométrie stratifié considérée pour les validations analytiques et numériques 158
C.2 Comparaison des solutions analytiques et numériques du premier problème de fermeture . . . 159
C.3 Comparaison des solutions analytiques et numériques du deuxième problème de fermeture . . . 161

Liste des tableaux

1.1 Corrélations du coefficient de transfert de masse extraites de la litterature. S_N est la saturation résiduelle, $\theta_N = \varepsilon S_N$ est la fraction volumique de la phase non aqueuse avec ε la porosité, d_{50} est la taille médiane des grains, τ est la tortuosité, Re le nombre de Reynol, $Sc = \frac{\mu_F}{\rho D}$ le nombre de Schmidt (μ_F est la viscosité dynamique du fluide, ρ la masse volumique de l'eau) . . 22

3.1 Physical parameters associated with the various unit cells 63

4.1 Propriétés physico-chimiques du toluène [83] 78
4.2 Propriétés physiques du Micromodèle 80
4.3 Données pour les expériences de dissolution 88
4.4 Les paramètres physiques associés aux différents cellules unitaires 103
4.5 paramètres effectifs du modèle macroscopique 109

5.1 Composition du milieu MBM 114
5.2 Paramètres des modèles de Monod et Haldane 121
5.3 Estimation de la population bactérienne en milieu riche TSB 124
5.4 Estimation de la population bactérienne en présence du toluène 124
5.5 paramètres numériques utilisés pour caler le modèle macroscopique 136

Chapitre 1

Introduction

1.1 Biofilms

1.1.1 Definition

La découverte des biofilms commence par les recherches d'Antonie Van Leeuwenhoech au XVII-ème siècle. En utilisant un microscope de sa propre conception, il observe la présence de microorganismes (animalicules) issus d'un échantillon de grattage de sa surface dentaire. Deux cent cinquante ans plus tard, Heukelekian & Heller (1940) observent « l'effet bouteille » : les microorganismes marins attachés à une surface solide augmentent leur croissance et activité métabolique [52]. Zobell [157] poursuit ce travail en montrant que la quantité des bactéries fixées à un substrat est largement supérieure à celle des bactéries libres dans la phase liquide. L'utilisation de la microscopie électronique à transmission et à balayage couplée avec l'ajout du rouge de Ruthénium (marquage de sucre) au tétroxyde d'osmium des filtres de station de traitement des eaux permet à Jones [50] de mettre en évidence et ainsi de confirmer l'existence d'une matrice polysodique (EPS) au sein de la structure du biofilm. Characklis [148] démontre que les dépôts microbiens au sein de systèmes industriels sont plutôt tenaces et résistants aux désinfectants confirmant ainsi la capacité des biofilms à résister à des sollicitations mécaniques relativement élevées. Tous ces travaux ont mis en évidence le comportement (attachement préférentiel sur des surfaces solides) et la structure du biofilm (présence de différentes communautés microbiennes complexes) dans les différents environnements favorables à leur développement. Ces observations initialement centrées sur l'implication des biofilms dans le domaine médical (rôle des communautés microbiennes complexes sur la carie dentaire) ont par la suite été étendues à des applications beaucoup plus larges de par les avantages écologiques de ces conglomérats bactériens et leur rôle au sein de l'écosystème [73]. L'étude des biofilms est donc un champ de recherche en pleine expansion compte tenu des nombreuses applications dans le domaine de la santé, e.g., dans la résistance des biofilms bactériens aux antibiotiques [48], de l'industrie et de l'environnement (e.g., traitement des eaux usées et des sols, protection des systèmes industriels, bioremediation, etc). Le développement des techniques de caractérisation des biofilms (utilisation de la microscopie confocale par balayage laser) a eu un fort impact au cours de la dernière décennie sur la compréhension et le fonctionnement de ces colonies bactériennes.

De ce qui précède, on peut définir la notion de biofilm de la manière suivante : le biofilm est un milieu vivant attaché à une interface (solide-liquide ou encore solide-gaz ou liquide-gaz) composé d'une ou plusieurs populations de micro-organismes (bactéries, champignons ou protozoaires [62]) reliées entre elles par un milieu fibreux composé des substances polymériques extracellulaires (souvent notées EPS, pour Extracellular Polymeric

Substances). En sus de la fraction de biomasse active (les cellules bactériennes vivantes) dans le biofilm, on trouve une fraction d'EPS secrétée formant environ 75 à 95 % de la masse totale de biofilm, une fraction issue des reste de cellules mortes (biomasse inerte de biofilm) et une fraction de composés insolubles liée à l'activité bactérienne. Des détails supplémentaires sur la composition du biofilm sont disponibles dans Laspidou et Ritmann [25]. La Figure.1.1 présente à titre d'exemple deux structures de biofilm se développant dans deux environnements distincts obtenue par microscopie électronique à balayage et où l'on peut observer des différences morphologiques significatives.

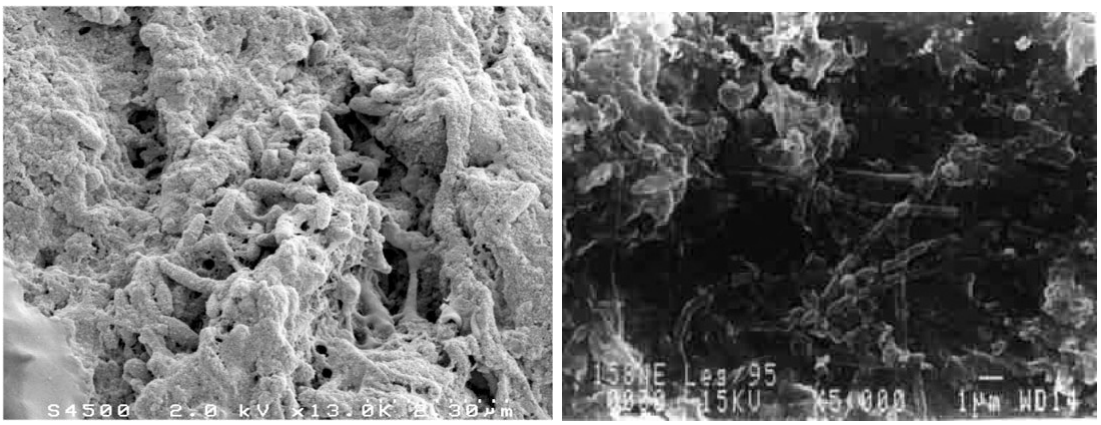

FIGURE 1.1 – (a) Biofilm bacillaire situé dans la zone matricielle d'un cheveu d'un patient atteint de folliculite décalvante (source :http ://www.edimark.fr/) ; (b) Biofilm se développant sur une conduite en PVC (source : //http ://www.legionnellose.com/)

L'intérêt croissant pour la recherche dans le domaine des biofilms réside dans leur capacité à s'adapter aux conditions sévères et fluctuantes dans l'environnement auxquels ils sont fixés [74]. Cette adaptabilité représente à la fois une force à exploiter, par exemple dans la mise en place de systèmes de traitement des eaux usées performants et en même temps, elle constitue dans certains cas (comme dans le domaine médical) un problème supplémentaire à éradiquer (élimination des bactéries pathogènes plus résistantes sous forme sessile).

1.1.2 Formation et croissance

Le développement des biofilms se fait essentiellement sur des interfaces solide/liquide mais ils peuvent aussi croitre sur des interfaces solide/gaz, liquide/liquide ou liquide/gaz. Le cycle de vie d'un biofilm peut se diviser en cinq phases [2] : le conditionnement de la surface à coloniser et le transport des bactéries vers la surface pré-conditionnée (adhésion réversible), l'adhésion des bactéries à la surface pré-conditionnée (adhésion irréversible), la colonisation de la surface (croissance), la maturation du biofilm et le détachement des bactéries. Nous détaillerons chaque étape dans les lignes qui suivent. La Figure 1.2 illustre le cycle de vie d'un biofilm. (i) Adhésion réversible : Cette première étape du cycle est marquée par l'attachement des bactéries à la surface, éventuellement pré-conditionnées. Les cellules bactériennes se déplacent à travers l'espace poreux sous l'action des forces de gra-

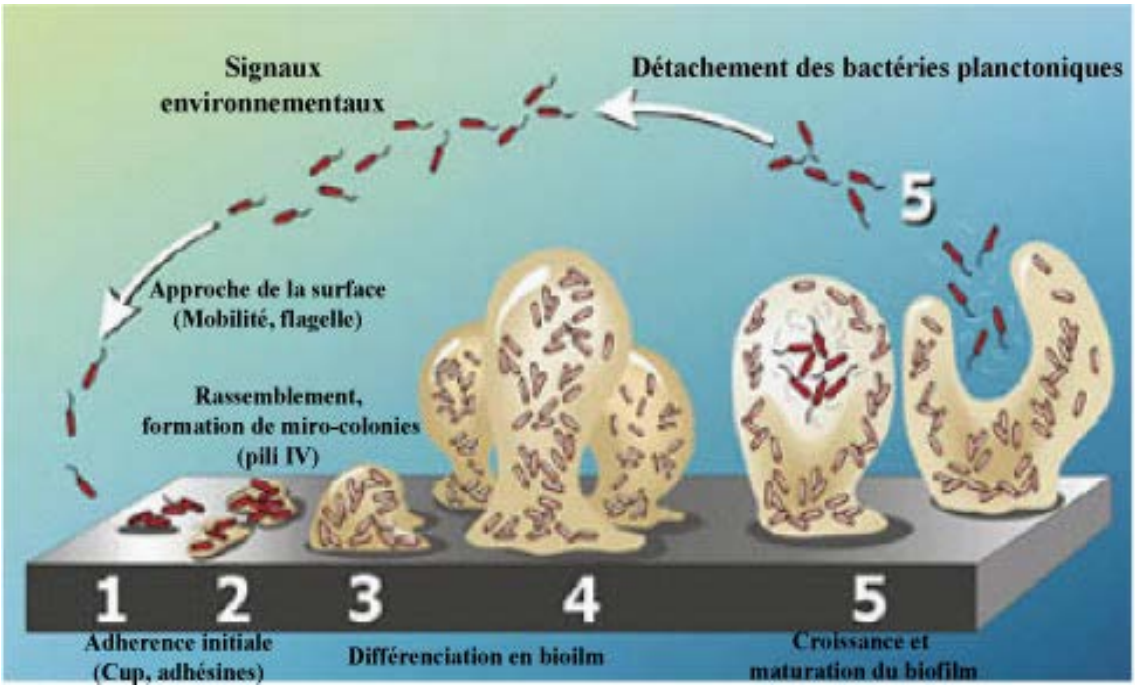

FIGURE 1.2 – Principales étapes de la formation d'un biofilm [2]

vité, hydrodynamiques, browniennes, de London-Van Waals ou encore électrostatiques [24]. Durant cette phase, les bactéries peuvent se détacher par simple rinçage ou en conditions de cisaillement.
(ii) Adhésion irréversible : l'attachement irréversible des bactéries sur la surface est un phénomène complexe compte tenu des processus et mécanismes mises en jeu. Cette étape est influencée par des nombreux facteurs comme les propriétés physico-chimiques de la surface solide (hydrophobicité, rugosité) [146] ou la concentration en nutriment qui joue un rôle essentiel dans l'augmentation du nombre des cellules attachées [101]. Des détails supplémentaires sur les mécanismes de l'adhésion irréversible sont disponibles dans l'ouvrage de Savage et Fletcher [29].
(iii) Croissance : la phase croissance débute avec la multiplication des cellules bactériennes et par l'augmentation de la sécrétion d'EPS. En effet, après l'étape d'adhésion irréversible, les bactéries attachées s'étalent horizontalement puis s'ensuit la formation des structures tridimensionnelle qui précède la phase de maturation [72] traduisant ainsi la formation et le développement du biofilm.
(iv) Maturation : cette étape est marquée par l'atteinte d'un état stationnaire avec l'absence des variations significatives du biofilm mais avec quelques modifications structurelles importantes. Durant cette étape, des mécanismes de communication intercellulaire (*« Quorum sensing »*) peuvent apparaitre entrainant la libération de faibles quantités de molécules de signalisation, appelées « autoinducteurs »qui induisent des comportements spécifiques comme la perturbation physique, la compétition et la prédation [72, 98].

(iv) Détachement : Le détachement est un processus qui conduit à la réduction de la masse bactérienne formée suite à l'épuisement des nutriments disponibles, à l'apparition d'anaérobiose, ou encore sous l'effet des forces de cisaillement exercées par l'écoulement du fluide [3, 72]. La maitrise du phénomène de détachement permet de mieux optimiser le contrôle de la croissance du biofilm et donc de la prévention de la contamination ou limiter la bio-obstruction des systèmes industriels. Les espèces détachées, qui sont généralement sous forme de flocs bactériens, peuvent à leur tour recommencer le cycle pour former ainsi un nouveau biofilm.

1.1.3 Dynamique des biofilms en milieu poreux

La dynamique du biofilm en milieu poreux est marquée par la forte interaction entre le biofilm et la structure du milieu poreux qui constitue un élément propice à son développement. En effet, la croissance du biofilm induit des modifications des propriétés du milieu poreux (perméabilité, porosité, dispersivité) qui ne sont pas sans conséquence sur les caractéristiques du biofilm. Ce changement des propriétés du milieu est donc intrinsèquement lié à l'échelle d'observation. Nous présentons ci-dessous les principaux facteurs influençant l'impact du développement de la biomasse sur les propriétés hydrodynamiques du milieu poreux ainsi que sur le processus de transport de solutés.

1.1.3.1 Porosité et perméabilité

La porosité est l'une des propriétés hydrodynamiques directement affectée par la croissance bactérienne car le biofilm occupe progressivement l'espace poral qui est la zone d'expansion de ce dernier. Selon [30, 128], l'épaisseur du biofilm augmente avec la taille des pores ce qui est en accord avec le fait que les pores de grande dimension reçoivent plus de nutriments. Sous l'effet de la croissance, l'espace inter-poral se réduit entrainant l'augmentation de la tortuosité du milieu poreux. Bien que souvent négligé dans les modèles, notons la présence d'une porosité secondaire dans le biofilm qui participe à la distribution du nutriment au sein du consortium bactérien [106].

La perméabilité est directement impactée par la réduction du volume poral connecté. En effet, le développement du biofilm modifie la géométrie de la matrice poreuse pouvant obstruer la quasi-totalité des canaux ; c'est le phénomène de bio-obstruction, largement décrit dans la littérature [46, 100, 143]. Ce phénomène engendre une forte réduction de la perméabilité pouvant aller jusqu'à plusieurs ordre de grandeur (3 voir 4) [140]. La diminution de la section d'écoulement dans les zones colonisées peut créer des chéneaux d'écoulements préférentiels dans les zones moins colonisés. Dans certaines situations, on peut mettre à profit ce mécanisme, par exemple pour la mise en place des bio-barrières en vue de la dépollution des formations aquifères. La Figure 1.3 présente un exemple de bio-obstruction de milieu poreux.

1.1.3.2 Dispersivité

La dispersivité est l'une des caractéristiques hydrodynamiques du milieu poreux affecté par le développement bactérien du fait du fort couplage existant entre croissance du biofilm,

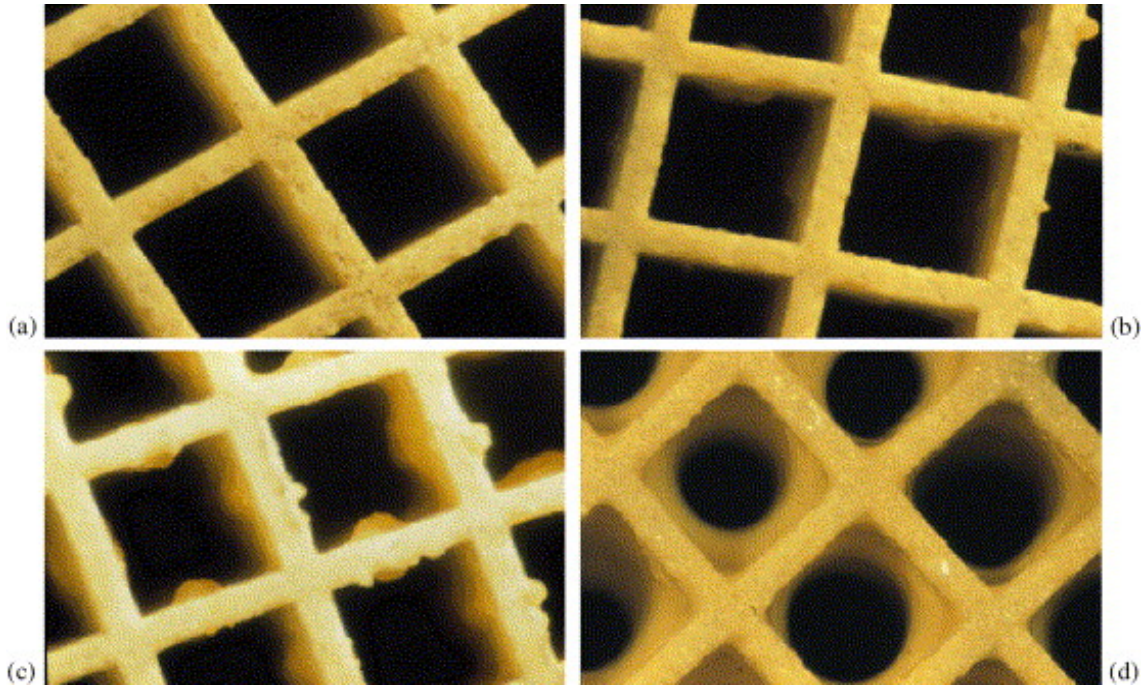

FIGURE 1.3 – Bio-obstruction dû au développent de biofilm dans le monolithe poreux ; a) initial, b) après 7 jours, c) après 14 jours, d) après 23 jours. (Ebrahimi et al. [128])

l'écoulement de la phase fluide et le transport des solutés. L'augmentation de la dispersion due au développement bactérien est le résultat de l'augmentation de la tortuosité et du développement des zones mortes accentué par des chemins préférentiels d'écoulement [85, 125]. Un fort couplage existe entre le développement du biofilm et le transport des espèces dissoutes méritant une attention particulière. Des travaux théoriques [13, 36, 77] ont démontré l'impact du biofilm sur les propriétés dispersives du milieu poreux aussi bien à cause de la modification de géométrie qu'à cause de la présence d'une phase réactive qui accroit les gradients de concentration. Le travail expérimental de Kone et al. [143] a mis en évidence l'influence du biofilm sur la dispersion longitudinale et montre que le développement de la biomasse augmente significativement la dispersion longitudinale. Ces résultats expérimentaux sont consistants avec les prédictions du modèle théorique de Golfier et al. [36].

1.1.3.3 Aspect multi-échelle de la croissance du biofilm en milieu poreux

Le problème de transport des espèces chimiques ou solutés incluant une phase biofilm est intrinsèquement un problème multi-échelle. Les phénomènes et les processus mis en jeu dépendent de l'échelle d'observation. A titre d'exemple on peut citer les disparités d'échelle existantes entre les grains et les longueurs caractéristiques des formations aquifères dans lesquelles les processus sont étudiés. En effet, les longueurs d'échelle caractéristiques impliquées dans l'étude des biofilms en milieu poreux sont bien hiérarchisées. Elles varient de quelques micromètres (bactéries, polysaccharides EPS) en passant par des millimètres

(épaisseur du biofilm), voire des centimètres jusqu'à plusieurs centaines de mètres (longueur des hétérogénéités à grande échelle). La Figure 1.4 illustre les disparités spatiales des processus considérés.

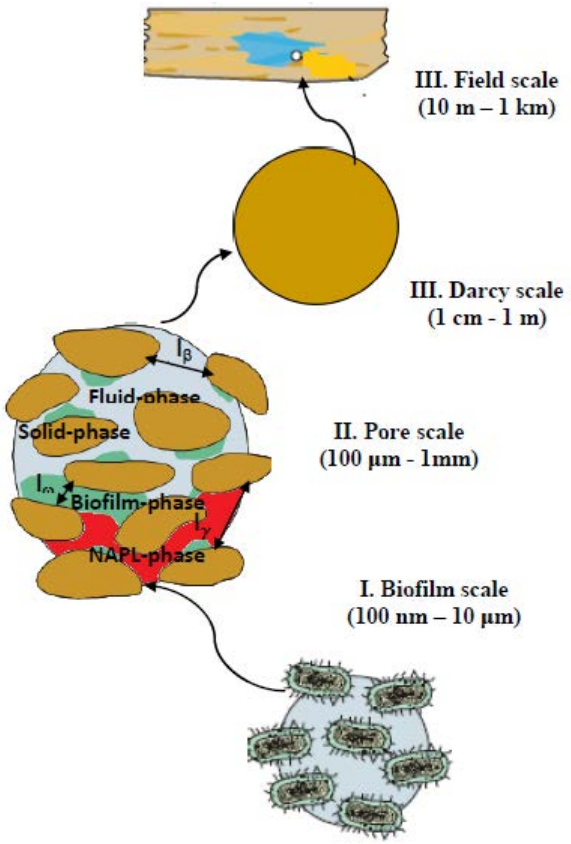

FIGURE 1.4 – Aspect multi-échelle des processus impliqués dans la modélisation du biofilm

La modélisation mathématique des processus mises en jeu (les réactions métaboliques, le transport des solutés et de la biomasse, les réactions acide/base, les mécanismes de précipitation/dissolution, ...) intégrant les composants du biofilm (les différents types microbiens, les substances polymériques extracellulaires ou EPS, la biomasse inerte ou morte, l'alcalinité, le pH,...) reste le défi majeur pour une compréhension plus complète de l'évolution spatio-temporelle des biofilms. Des nombreux modèles de biofilms existent à l'exemple de celui de Kreft et al. [60] qui ont travaillé à l'échelle microscopique (échelle de la colonie) en choisissant aléatoirement des paramètres cellulaires pour simuler l'hétérogénéité de la taille cellulaire et aussi la croissance dans la culture. Beaucoup moins en revanche se sont intéressés au développement bactérien au sein d'un réseau poral. On peut citer récemment, le modèle de croissance bactérienne à l'échelle de pore développé par Benioug [81] permettant de prendre en compte l'évolution de la structure du biofilm au sein d'un milieu poreux sous l'effet des conditions environnementales (vitesse d'écoulement, gradient de concentration, proximité de la source de contaminant organique...).

Il est important de préciser que les processus impliqués dans la croissance du biofilm dépendent aussi de l'échelle d'observation temporelle d'où la nécessité de l'intégrer dans la modélisation numérique. En effet, l'écoulement du fluide influe sur le transport du substrat (nutriment) qui lui même impacte la distribution du biofilm dans le milieu poreux. Ensuite, la croissance du biofilm vient à son tour modifier l'écoulement du fluide. Il y a donc nécessité de coupler les phénomènes impliqués (écoulement, transport, croissance) [20].

Picioreanu et al. [19] ont ainsi montré que l'échelle de temps caractéristique de la croissance du biofilm (10^4 à 10^6 secondes environ) est plus grande que celle du transport de substrat (de 10^{-3} à 10^3 secondes) qui est, elle-même plus grande que celle caractérisant l'écoulement (atteinte du régime stationnaire d'écoulement). Nous pouvons tirer avantage de cette forte disparité temporelle en découplant les processus d'écoulement, de transport de masse et de croissance dans la suite du travail.

1.1.4 Applications associées

Les domaines d'applications associés aux biofilms sont nombreux et variés au vu des nombreux avantages ou contraintes qu'ils offrent. Les biofilms sont utilisés principalement dans l'industrie (gestion des déchets industriels, biofouling, récupération assistée du pétrole,...), dans l'ingénierie environnementale (épuration des eaux usées urbaines, dépollution et protection des aquifères, biorémediation, ...) et aussi dans le domaine de la santé (développement et tests des antibiotiques).

Dans le domaine industriel, la présence de biofilm peut entrainer des effets nocifs, voire dangereux pour différent procédés. Ainsi la formation d'une masse bactérienne dans les réacteurs en génie des procédés (réacteur à catalyse de surface par exemple) peut conduire à la biocorrosion du réacteur et des éléments annexes (conduites, vannes,...). Concernant le système de distribution d'eau, la formation du biofilm peut affecter la qualité de l'eau avec des répercussions sur la santé humaine [150].

En ingénierie environnementale, le biofilm joue un rôle essentiel dans les processus de traitement des sols, nappes et effluents domestiques. Certains procédés de traitement des effluents domestiques (e.g., disques biologiques, lit bactérien) jouent sur le pouvoir épuratoire du biofilm afin d'éliminer la quasi-totalité de la pollution carbonée. Ces procédés sont basés sur le métabolisme du biofilm qui utilise la matière organique (polluant) comme source de carbone et d'énergie. Les méthodes de biorémediation des sols pollués, de manière similaire utilisent le pouvoir auto-épuratoire du sol où des bactéries sont naturellement présentes conduisant à une atténuation de la pollution. Ce mécanisme naturel du sol peut être amélioré par des techniques comme le biosparging (injection d'oxygène ou nutriment dans le sol afin de simuler le développement bactérien). Les biofilms sont également utilisés pour décontaminer les eaux souterraines par l'aménagement des bio-barrières, technique impliquant la création dans le sol d'une tranchée où la biomasse présente agit comme un filtre au passage permettant ainsi la biodégradation des contaminants. L'efficacité de ces techniques d'ingénieries environnementales dépend fortement de l'évolution spatio-temporelle du biofilm. Une très forte croissance peut conduire localement au phénomène de bio-obstruction, facteur limitant l'efficacité de ces techniques. En effet, la bio-obstruction entraine la diminution de la porosité et de la perméablitité tout en augmentant la dispersion hydrodynamique [143]

avec des conséquences non négligeables sur le transport des composés organiques dissous et donc sur le taux de dépollution. Une connaissance précise des conditions du développement bactérien et des processus associés est d'une importance capitale car l'efficacité de ces techniques en dépend.

Enfin, citons une application relativement récente des biofilms dans l'ingénierie pétrolière pour la récupération bio-assistée du pétrole (MEOR). Cette technique consiste à utiliser les bactéries pour augmenter la production d'huile (récupération tertiaire) par l'intermédiaire d'une molécule amphiphile produite par le biofilm, appelée Biosurfactant [126, 139]. En effet, les biosurfactants sont des agents de surface actifs qui réduisent la tension interfaciale afin de récupérer l'huile piégé entre les grains. Les limites de cette technique sont liées à la distribution optimale des biosurfactants dans les zones où l'huile est fortement piégée, au phénomène de bio-obstruction évoqué précédemment et à la toxicité de l'huile qui à forte concentration, provoque la mort des bactéries et influe donc sur l'efficacité de la récupération.

1.2 Problématique des NAPL en milieu poreux

La problématique principale des NAPLs (*Non-Aqueous Phase Liquids*) en milieu poreux est souvent regardée au travers de la pollution des eaux souterraines par des composés hydrocarbonés. Parmi les sources de pollution des eaux souterraines, nous pouvons citer les sources ponctuelles provenant des déversements accidentels d'hydrocarbure ou encore des réservoirs de stockage d'hydrocarbure. Ces polluants, représentent un véritable danger car ils altèrent la qualité des eaux souterraines. Leur migration dans les formations aquifères est contrôlée par des nombreux processus et paramètres qui seront détaillés par la suite.

1.2.1 Les NAPLs

Évaluer la contamination des eaux souterraines par les solvants chlorés et les hydrocarbures pétroliers, souvent désignées sous le nom de phase liquide non aqueuse ou NAPL et développer des méthodes adéquates pour leur dépollution constitue aujourd'hui un défi scientifique majeur. La dégradation de ces eaux par ces polluants non miscibles (NAPLs) et le devenir à long terme du panache générée par une telle contamination constitue un risque majeur en raison de leur faible solubilité.

Une classification simple des NAPLs est basée sur la composition moléculaire du composé (densité de la phase liquide). Les composés organiques qui sont plus légers que l'eau sont désignés sous le nom des LNAPLs tandis que les composés plus lourds que l'eau sont appelés des DNAPLs. Le comportement global de ces contaminants organiques est étroitement lié à leurs propriétés physico-chimiques. La différence des propriétés physico-chimiques de l'eau et du NAPL contrôle la migration spatiale et la distribution temporelle de ces polluants dans les aquifères.

Le NAPL s'infiltre à travers la zone non saturée et poursuit progressivement sa migration vers la surface libre de la nappe. Le déplacement vertical du NAPL se fait sous l'effet des forces de pression et de gravité. En plus de cette migration verticale, le polluant subit également une propagation latérale sous l'effet des forces capillaires [40]. En dessous de la

surface libre de la nappe, la migration du NAPL est particulièrement contrôlée par la variabilité spatiale du milieu (différence de perméabilité entre les couches). Cette migration se poursuit jusqu'à l'étalement complet du volume de NAPL infiltré sous forme de liquide résiduel ou propagation préférentielle, étalement induit par la présence d'une couche continue à faible perméabilité. La vitesse de déplacement de NAPL est fortement conditionnée par les propriétés physiques et les paramètres hydrodynamiques et dispersifs du milieu poreux (porosité, perméabilité, taille des pores). Zhu et Sykes [59] ont mis en évidence le rôle prépondérant de la perméabilité sur le transport du NAPL. Leur étude montre que lors de sa migration, le NAPL s'accumule sous forme de « flaques » au dessus des zones moins perméables et migrent latéralement jusqu'à atteindre les bords de la couche ou jusqu'à ce que leur charge hydraulique devienne suffisante pour leur permettre de vaincre les forces capillaires qui s'opposent à leur déplacement vertical. Dans certaines situations, la topographie (la pente) de la couche moins perméable va déterminer la direction de migration de la phase libre de NAPL qui s'y accumule et cette direction (pente) peut être différente de celle de l'écoulement. Au cours de cette migration verticale, une partie du NAPL est piégé dans les pores sous forme des « gouttelettes » par les forces capillaires. Ces amas seront par la suite dissous lentement sous l'effet d'échange de masse avec la phase aqueuse en mouvement. Dans la zone non-saturée, le phénomène de solubilisation est assuré par l'infiltration de l'eau. Certains composés du NAPL se retrouvent dans la phase gazeuse, soit suite à leur volatilisation directement à partir du NAPL (concentration contrôlée par la loi de Raoult) ou par la volatilisation des composés dissous dans l'eau (concentration contrôlée par la loi de Henry). Une fois dans la zone saturée de la formation aquifère, le transport de la phase liquide organique se fait par convection et diffusion. La Figure 1.5 illustre les processus clés impliqués dans la migration d'un DNAPL au sein d'un aquifère.

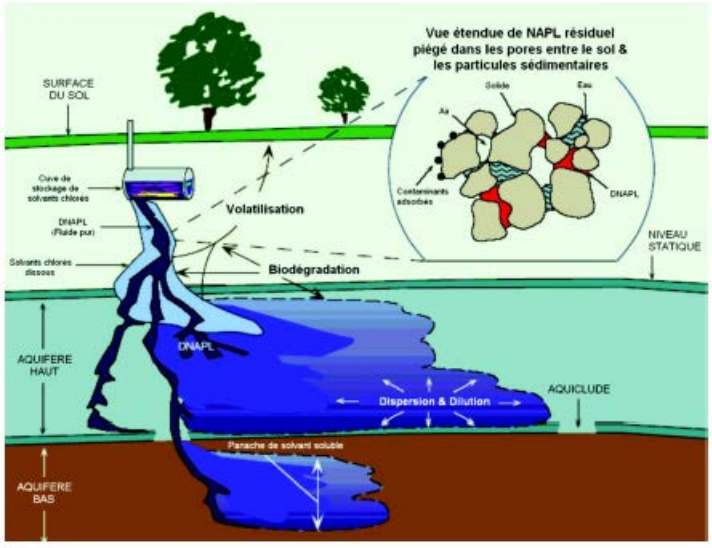

FIGURE 1.5 – Modèle conceptuel de migration des DNAPLs (ref : EPA/600/F-98/022)

Lors de la migration du NAPL, des instabilités de front appelés « digitations » peuvent

apparaitre en raison de l'hétérogénéité du milieu. Ces digitations peuvent favoriser une distribution hétérogène du polluant dans le milieu (Kueper et Gerhard [16]). Pour un milieu poreux homogène, ces instabilités (digitations) sont principalement attribués aux différences des propriétés physiques des fluides [156].

Le NAPL représente donc, pour la matrice solide sur laquelle il est absorbé, une source de pollution à long terme par un rejet lent mais continu de polluant gouverné par des cinétiques de désorption et diffusion. L'identification et la depollution des sites contaminés par le NAPL est généralement plus difficile. Cependant, des technologies de pompage et traitement (« Pump and Treat ») permettent d'accélérer la dissolution par injection de débits élevés d'eau [115]. Les techniques employées pour traiter un site contaminé par un DNAPL peuvent être onéreuses contrairement à ceux utilisés pour le LNAPL. Certains mécanismes biologiques (biodégradation) contribuent à la réduction de la contamination et permettent une atténuation naturelle du problème. L'accélération de ces processus biologiques par biostimulation ou par bioaugmentation reste une solution à privilégier pour ces sites contaminés.

1.2.2 Mécanismes caractérisant la migration des NAPLs

La description des mécanismes régissant l'écoulement multiphasique immiscible est nécessaire à la compréhension des problèmes de contamination des eaux souterraines par des NAPLs. La complexité de ce phénomène est principalement liée aux propriétés physiques des fluides (densité, tension de surface, mouillabilité, viscosité) impliquées dans l'écoulement. Dans cette partie, nous nous attacherons à la présentation de quelques propriétés essentielles qui décrivent les principes de l'écoulement multiphasique.

1.2.2.1 Tension interfaciale

La tension interfaciale σ (N/m) est l'énergie minimale requise pour créer une nouvelle unité de surface à l'interface entre deux fluides non miscibles. L'interface est la zone qui définit la frontière entre plusieurs milieux. Elle assure la continuité entre les différentes phases par un gradient de concentration. On distingue la tension interfaciale qui est présente entre deux fluides non miscibles, de la tension de surface (ou tension superficielle), qui se produit entre un liquide et sa vapeur.

L'interface résulte du déséquilibre des forces d'attraction entre les molécules de nature différente au contact de deux fluides non miscibles. Au sein de chacun des phases, les molécules s'attirent entre elles au travers des forces attractives qui assurent la « cohésion »des fluides. Chaque liquide va alors ajuster sa forme pour minimiser sa surface exposée à l'interface. En contact avec une interface, une molécule est donc dans un état d'énergie défavorable. La tension de surface mesure directement cet accroissement d'énergie par unité de surface. Ainsi, la tension interfaciale peut être mesurée par la pression qui doit être exercée dans un tube capillaire placé à l'interface de deux fluides immiscibles pour briser cette interface (en injectant des bulles du fluide léger dans le fluide plus dense par exemple)(Figure 1.6). La tension interfaciale, mesurée en unité d'énergie par unité de surface diminue avec l'augmentation de la température. Cette propriété intervient dans les

equations d'écoulement et influe fortement sur la migration et la répartition des liquides dans la matrice poreuse. Dans la pratique, il existe plusieurs méthodes pour mesurer la

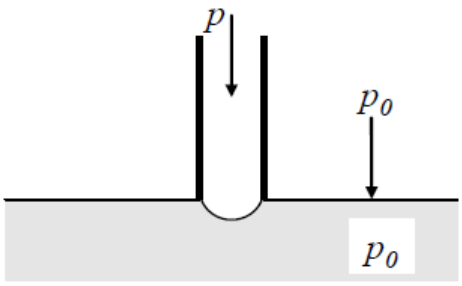

FIGURE 1.6 – Mesure de la tension interfaciale par un tube capillaire

tension interfaciale dont les plus courantes sont présentées ci-dessous :

- La méthode de la goutte en rotation (spinning drop) : l'expérience consiste à faire tourner autour de son axe un cylindre rempli de la phase la plus dense et à introduire en son centre, via une seringue, une goutte de la phase la moins dense. Cette méthode permet de mesurer des tensions interfaciales faibles comprises entre 10 et 10^{-5} mN/m.
- La méthode de la goutte pendante (pending drop) : une goutte de la phase la plus dense est formée dans la phase la moins dense et maintenue en équilibre à l'extrémité d'un capillaire. La tension interfaciale est donnée par la forme de la goutte après traitement numérique du profil obtenu.
- La méthode de la goutte sessile (sessile drop) : la tension interfaciale σ est donnée par la forme d'une goutte isolée en contact avec un solide.

1.2.2.2 Mouillabilité

La mouillabilité est la tendance relative d'un fluide à s'étendre ou à adhérer à une surface solide en présence d'un autre fluide non miscible. Au niveau microscopique, la mouillabilité résulte des interactions moléculaires entre les fluides et la phase solide. Le fluide mouillant est célui que le solide préfère car les interactions dans ce cas, minimisent l'énergie totale.

Le mouillage d'un liquide sur une surface est caractérisé par l'angle de contact formé entre une goutte de ce liquide et une surface horizontale. On note cet angle par θ. Cet angle dépend des tensions de surface impliquées dans l'équilibre de la goutte. L'angle de contact (Figure 1.7) est mesuré expérimentalement. Le protocole expérimental consiste à immerger une surface (par exemple un morceau de verre) dans un fluide de référence (par exemple de l'eau) et une goutte du fluide à tester est placé sur la surface. L'angle de contact correspond à la tangente à la goutte en un point où les trois composantes sont en contact (ligne de contact entre la surface du solide, le liquide de référence, et le liquide à tester).

Lorsque θ est inférieur à 90°, alors l'eau tend à s'étaler préférentiellement sur toute l'interface solide aux dépens de l'huile : le fluide est mouillant. Dans le cas inverse ($\theta \geq 90^{\circ}$), l'huile s'étale préférentiellement sur la surface et l'eau est désignée comme étant le fluide

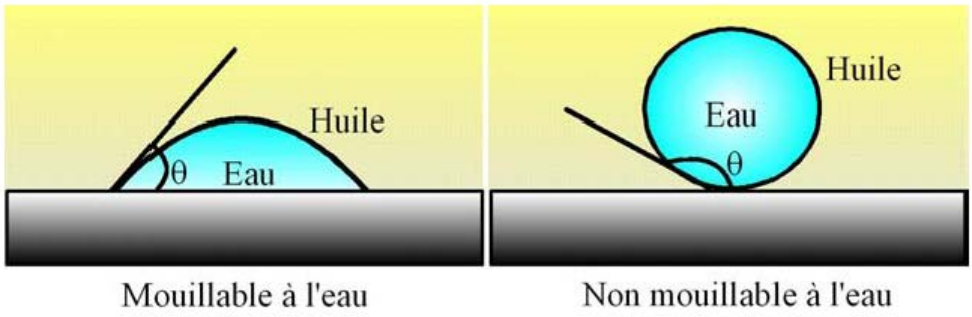

FIGURE 1.7 – Caractérisation de la mouillabilité d'un liquide

non mouillant.

La mouillabilité ayant une influence importante sur les écoulements multiphasiques, sa connaissance exacte dans les milieux poreux utilisés est essentielle pour avoir une idée de la répartition des fluides non miscibles à l'échelle microscopique. Aussi, le cheminement de l'eau dans les pores ainsi que les mécanismes de piégeage de l'huile sont différents selon que le fluide mouillant est l'eau ou l'huile.

La mouillabilité d'un milieu poreux, qui est propriété macroscopique est évaluée par diverses méthodes expérimentales dont les plus pertinentes sont présentées ci-dessous :

- L'angle de contact : Cette méthode détermine la mouillabilité relative d'une surface en présence de deux fluides immiscibles. Dans les systèmes huile-eau, on mesure l'angle de contact (à travers la phase aqueuse) de l'interface huile-eau avec la surface solide.
- La méthode d'Amott : Cette méthode indique la mouillabilité par la capacité d'un milieu poreux saturé à imbiber spontanément un autre fluide ou à résister au déplacement du fluide mouillant.
- La méthode du « Bureau of mines » (B.O.M) : Cette méthode est basée sur l'effet de la mouillabilité sur les propriétés capillaires. L'utilisation de la capillarité est supposée éliminer les complications créées par l'hystérèse du processus d'imbibition comme dans le test d'Amott.

1.2.2.3 Pression capillaire

La pression capillaire est définie comme la différence de pression générée à travers une interface courbe entre deux fluides non miscibles. De part et d'autre de l'interface entre les deux fluides, la pression n'est pas la même dans les deux fluides. Cette différence de pression est appelée **pression capillaire** et elle est définie par :

$$P_c = P_{nw} - P_w \tag{1.1}$$

où P_{nw} est la pression de la phase non mouillante située du côté de la concavité (la pression plus élevée) et P_w est la pression de la phase mouillante.

La pression capillaire met en jeu les principaux phénomènes observés à l'échelle du pore tels que les forces de surface ou la mouillabilité. A l'échelle du pore les forces capillaires prédominent devant les forces de gravité. La distribution des fluides à cette échelle est donc gouvernée par les forces capillaires. La pression capillaire est proportionnelle à la tension interfaciale et inversement proportionnelle à la taille des rayons de pores. L'équation de Laplace relie la pression capillaire P_c à la tension interfaciale σ qui existe entre les deux fluides non miscibles. Dans le cas d'un tube capillaire de rayon r contenant un liquide mouillant (eau) surmonté d'un liquide non mouillant (huile) (Figure 1.8), la pression capillaire est donné par l'équation de Young-Laplace :

$$P_c = \frac{2\sigma \cos(\theta)}{r} \tag{1.2}$$

Il est difficile de déterminer analytiquement ce paramètre (pression capillaire) compte tenu de la complexité du milieu poreux. En général, on suppose que l'espace des pores est un ensemble de tubes capillaires ou de sphères uniformes pour déterminer la pression capillaire comme fonction de la saturation de fluide en place qui est déterminé expérimentalement.

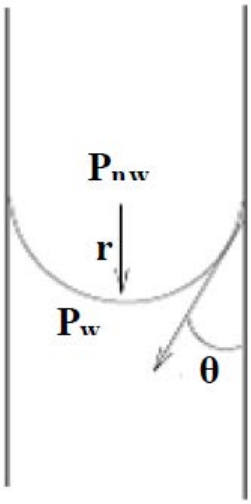

FIGURE 1.8 – Interface dans un capillaire

1.2.2.4 Drainage et Imbibition

L'imbibition et le drainage sont des processus dynamiques dans lesquels un fluide en déplace un autre. L'imbibition est le déplacement d'un fluide non mouillant par un fluide mouillant tandis que le drainage est le processus opposé. Il est nécessaire de distinguer ces deux mécanismes car, dans le cas du drainage, le fluide « pousseur », i.e., le fluide non mouillant, envahira prioritairement les pores les plus gros puisque la pression capillaire diminue quand le rayon de pore augmente. Pour qu'un pore puisse être envahi par un fluide non-mouillant, la pression du fluide « pousseur »doit être supérieure à la pression capillaire

du pore qui, à son tour, doit être égale, voire supérieure, à la pression seuil, i.e., la pression capillaire dans la section la plus étroite du pore. Inversement, dans le cas d'imbibition, le fluide mouillant envahira les pores les plus petits sans aucune considération et/ou hypothèse supplémentaire (Lenormand et al. [117]).

La capillarité contrôle la répartition des fluides dans le milieu poreux. Sur la Figure 1.9, nous trouvons une courbe type pression capillaire-saturation d'un échantillon poreux déterminée expérimentalement en laboratoire. La courbe est obtenue en appliquant une pression suffisante au fluide non mouillant afin de déplacer le fluide mouillant saturant l'échantillon (phase de drainage). La quantité de fluide mouillant déplacée est mesurée en fonction de la pression capillaire appliquée. La pression capillaire est augmentée jusqu'à ce que la saturation du fluide mouillant demeure constante (saturation irréductible, S_{wr}). La pression capillaire est ensuite diminuée progressivement permettant au fluide mouillant de ré-pénétrer l'échantillon et déplacé ainsi le fluide non mouillant (phase d'imbibition) qui reste lorsque la pression capillaire redevient nulle à une saturation résiduelle S_{or}. La courbe d'imbibition suit pas le même chemin que celle de drainage. Le fait que les deux courbes ne sont pas superposables correspond à un effet appelé hystérésis indiquant que le processus physique n'est pas réversible. La saturation résiduelle peut être considérée comme étant le niveau de saturation auquel il y a perte de continuité hydraulique. S_{wr} et $(1 - S_{or})$ définissent les limites supérieures et inférieures de la saturation en fluide mouillant comme indiqué sur la figure ci-dessous.

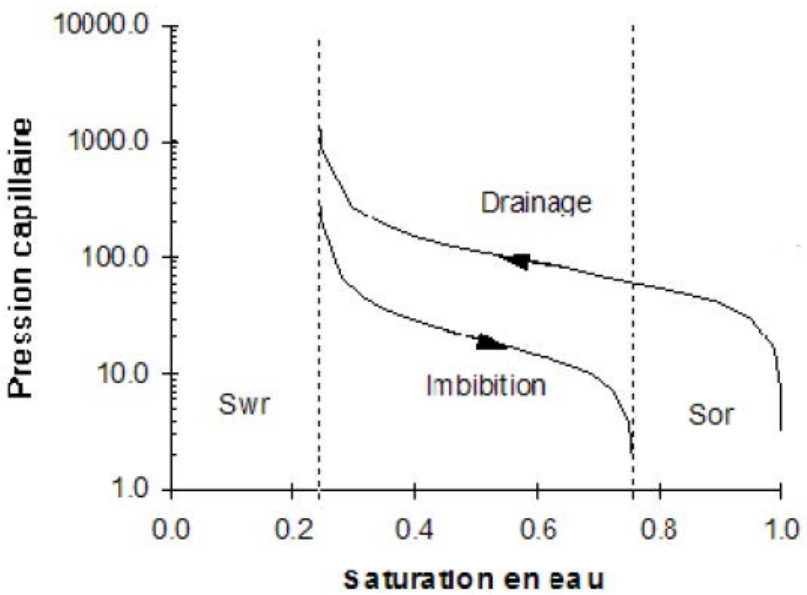

FIGURE 1.9 – Courbes de pression capillaire ([116])

Notons que le phénomène d'imbibition est un processus qui s'établit pratiquement spontanément suite à deux types de mécanismes de déplacement : pincement de la phase continue appelé « choke-off ou snapp-off » ou la rétraction. La Figure 1.10 a présenté le mécanisme

de « snapp-off » et 1.11 la rétraction.

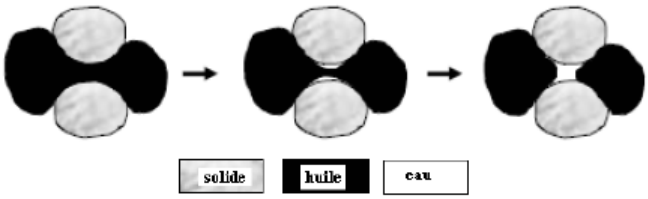

FIGURE 1.10 – Mécanismes de « snapp-off »(Jerauld et Salter [47])

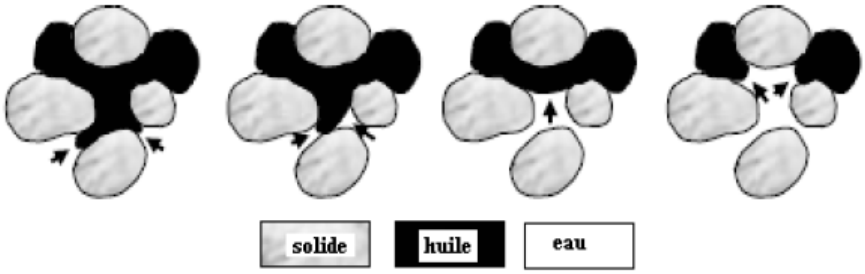

FIGURE 1.11 – Mécanismes de retraction (Jerauld et Salter [47])

1.2.2.5 Mécanismes de piégeage des NAPLS

Sous l'action des forces capillaires, une partie du NAPL est, lors de sa migration, piégée dans les pores sous forme des « gouttelettes » ou « ganglions » (Figure 1.12). Les mécanismes de piégeage semblent dépendre des conditions de mouillabilité des fluides. Ces mécanismes n'inclut pas le balayage qui est plutôt un mécanisme dépendant de l'hétérogénéité macroscopique des milieux géologiques (ou poreux). D'après Lefebvre [116], il existe quatre processus de piégeage : l'instabilité de déplacement (Viscous fingering), l'instabilité capillaire (Capillary instability), le contournement (Bypassing) et le piégeage de surface (Surface trapping).

- **L'instabilité de déplacement** est un mécanisme dépendant des propriétés relatives des fluides, densité et viscosité, et du sens du déplacement. Ce mécanisme est présent dans les milieux mouillant à l'eau ou au NAPL et se retrouve en grande partie dans les zones non mouillant à l'eau.
- **Les instabilités capillaires** sont des processus rencontrés uniquement dans les milieux mouillants à l'eau. Dans ces conditions mouillantes à l'eau, lorsque l'eau déplace le NAPL, l'eau a tendance à rester en contact avec les solides préférentiellement au NAPL. Ce phénomène provoque un « snap off » lorsque les fluides passent d'un pore à une sortie de pore de faible diamètre et par conséquent une goutte de NAPL reste piégée au centre du pore.

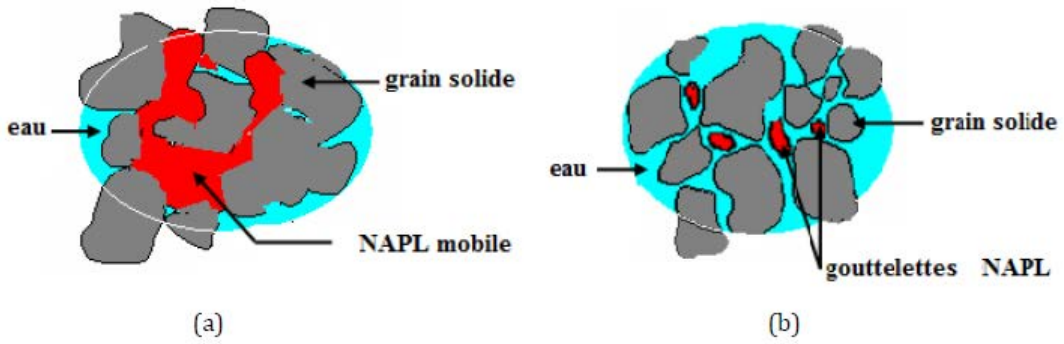

FIGURE 1.12 – Migration du NAPL dans le milieu poreux (a) NAPL libre (b) NAPL résiduel (piégé)

- **Le contournement** est un phénomène qui se produit lorsque le cheminement des fluides dans les milieux poreux peut se faire par deux voies de diamètre différent qui se rejoignent ultérieurement.
- **Le piégeage de surface** est un processus particulièrement présent dans les milieux mouillables au NAPL puisque le NAPL n'a tendance à adhérer que les surfaces propices à son étalement.

La Figure 1.13 illustre les mécanismes responsables du piégeage des fluides non miscibles dans un milieu poreux mouillable à l'eau.

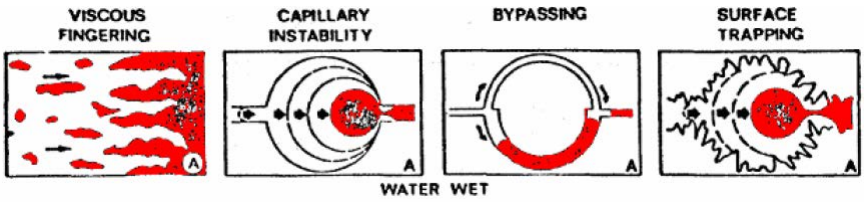

FIGURE 1.13 – Mécanisme de piégeage du NAPL dans un milieu poreux mouillant à l'eau (Lefebvre [116])

Il est important de noter que la forme et la taille des « globules »de NAPL piégés dans le milieu poreux a un large impact aussi bien sur sa distribution dans l'espace poral et que sur sa dissolution [91]. La géométrie réelle des globules de NAPL est très complexe, avec souvent, des « ganglions » couvrant plusieurs seuils de pores. Leur forme n'est pas sphérique hormis certains singletons [40] et dépend du nombre capillaire [124].

1.2.2.6 Saturation résiduelle

Comme préalablement définie dans le paragraphe 1.2.2.4, la saturation résiduelle se définie comme la fraction du volume total de pore occupé par le NAPL lorsque la pression capillaire redevient nulle après une phase d'imbibition. C'est un paramètre clé pour les

mécanismes de récupération du NAPL car elle constitue un terme source de contamination rémanent pour les eaux souterraines environnantes. La saturation résiduelle d'un fluide est provoquée par le piégeage capillaire dans les pores les plus petits. Les valeurs de saturations résiduelles de NAPL mesurées durant les expériences de laboratoires ou de terrains sont typiquement de l'ordre de 10 à 35% dans les milieux non consolidés et d'environ 50% pour des milieux à faibles perméabilités [40, 138]. La Figure 1.14 montre deux exemples types de saturation résiduelle. Sur la Figure 1.14 (a) le liquide mouillant se trouve à saturation résiduelle sous forme de « pendules » entre les grains et sur la Figure 1.14 (b) un liquide non mouillant se trouve piégé sous forme de gouttelettes dans les pores.

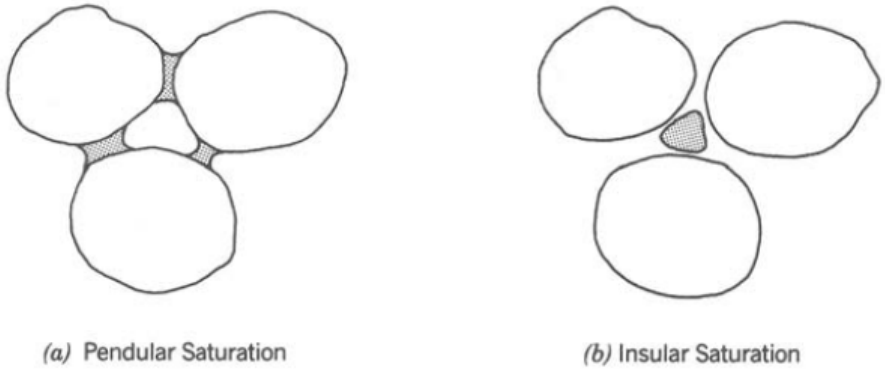

FIGURE 1.14 – Exemples de différents types de saturation

1.2.3 Impact du biofilm sur le NAPL piégé

La biodégradation du NAPL dissous passe par un certain nombre des processus biochimiques. Ces processus biochimiques impliquent l'existence des enzymes extracellulaires (catalyseurs biologiques comme les peroxydases ou laccases) dont le rôle est de transformer les NAPLs en fragments moléculaires facilement assimilables par les cellules. Le métabolisme bactérien impliqué dans la transformation du NAPL fait intervenir des sous-produits métaboliques dont certains prennent part activement dans les processus de métabolisation du NAPL résiduel : il s'agit des biosurfactants. Les biosurfactants sont des agents de surface actifs (molécule amphiphile avec une partie lipophile et une partie hydrophile modifiant la tension superficielle entre deux surfaces), qui réduisent la tension interfaciale à la surface de la gouttelette de NAPL pur pour ainsi la déstabiliser et la fragmenter en petite gouttelette évacuées par l'écoulement [126]. Le NAPL devient cependant, de moins en moins disponible à l'action microbienne en raison de sa séquestration en fonction du temps dans les pores du sol. Les mécanismes permettant d'expliquer cette faible disponibilité ne sont pas totalement identifiés, mais il semble qu'elle soit dépendante, outre de la concentration en NAPL, de la présence d'autres molécules polluantes dans le sol [18].

Le NAPL constitue néanmoins un agent xénobiotique (molécule chimique présente dans un organisme mais qui peut être toxique pour celui-ci) pour les bactéries, ce qui fait du NAPL un substrat particulier auquel les bactéries doivent s'adapter. La mise en contact du

NAPL avec les bactéries produit des molécules intermédiaires à partir du composant mère (NAPL pur). Ces produits intermédiaires peuvent devenir de nouvelles espèces moléculaires, qui sont souvent des complexes associés à des constituants organiques du sol ou d'organismes liés à des sites réactifs de la surface des colloïdes dans le sol [18]. A titre d'exemple, le PCE (perchloroéthylène) peut être dégradé par des bactéries déhalogénatrices en TCE (trichloroéthylène) qui est beaucoup plus soluble que la molécule de base. Certains NAPL peuvent être des inhibiteurs pour le métabolisme des bactéries non dehalogénateurs, d'où l'efficacité de ce type des micro-organismes pour coloniser les zones sources de PCE [86].

La biotransformation des xénobiotiques par l'action bactérienne se fait en trois phases selon la représentation schématique ci-dessous [18] (Figure 1.15) :

- La biodégradation : les xénobiotiques sont utilisés par les bactéries pour leur métabolisme. Les micro-organismes transforment ce produit en dioxyde de carbone ou autre molécule inorganique finale et produisent de ce fait l'énergie nécessaire à leur croissance.
- Le cométabolisme : les xénobiotiques sont transformés par les bactéries à travers un cosubstrat. Les modifications sur les xénobiotiques sont négligeables mais elles peuvent devenir importantes dans le cas de transformations cométaboliques séquentielles faisant intervenir différents organismes dégradant différents résidus de NAPL.
- Synthèse de conjugaison ou d'oligomérisation : Cette étape du processus lie une composée xénobiotique à un substrat formant des fonction méthyl, acetyl, alkyl, glycosides pouvant être stockés par les cellules bactériennes . Tout au long du processus de conjugaison, une molécule xénobiotique se lie à une autre molécule xénobiotique devenant alors plus stable et entrant dans la composition de composants cellulaires bactériens.

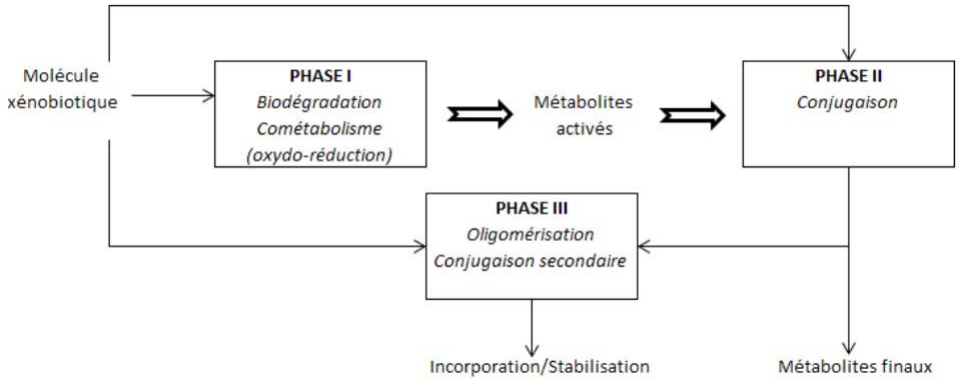

FIGURE 1.15 – Représentation schématique des différents voies de biodégradation des xénobiotiques [18]

1.2.4 Processus liés à la dissolution des NAPLs

L'échange de masse entre le NAPL et la phase aqueuse au sein de l'aquifère se caractérise par la dissolution. C'est l'un des principaux mécanismes de pollution liés à la présence de

NAPL en milieu poreux. En effet, le processus de dissolution conduit à la formation d'un panache de pollution par les traces dissoutes (Figure 1.16). Afin de mieux comprendre ce processus, dans un premier temps nous nous attacherons à la dissolution du NAPL dans l'eau (dissolution abiotique) et ensuite nous traiterons la dissolution du NAPL en présence des bactéries en s'appuyant sur des données de la littérature.

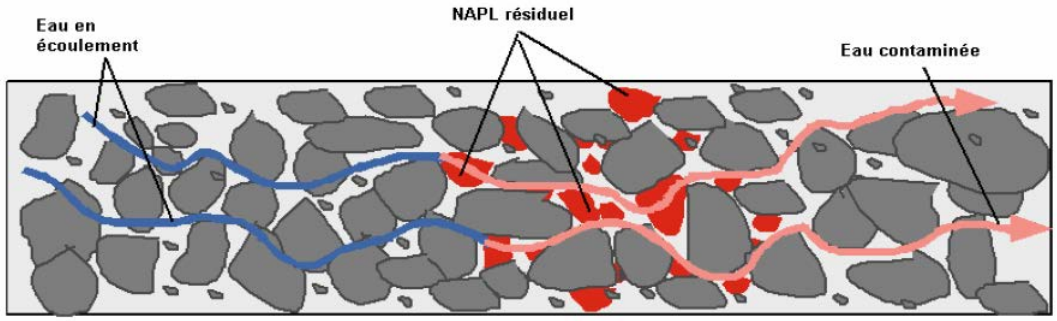

FIGURE 1.16 – Dissolution des blobs piégés de NAPL [151]

1.2.4.1 Dissolution des NAPLs dans l'eau

La dissolution des amas piégés dans les pores a fait l'objet des nombreuses expériences en colonne [26,114,136] ou sur des milieux poreux 2D [55,66]. Ces travaux mettent en évidence la dépendance du coefficient de transfert de masse au régime d'écoulement, aux propriétés physico-chimiques du fluide et aux caractéristiques du milieu. En général, la dissolution du NAPL résiduel est étudié par certains auteurs [69, 103] en supposant un équilibre local entre la phase aqueuse et le NAPL. Dans ces conditions, la concentration macroscopique en polluant n'est plus une inconnue et la concentration dans la phase aqueuse est égale à la solubilité du NAPL. Des situations de non équilibre peuvent apparaitre où on remarque une longue trainée dans la courbe de dissolution [26, 45, 136].

La vitesse d'écoulement est parmi l'un des paramètres qui influe sur le transfert de masse entre l'eau et le NAPL piégé. A fort vitesse d'écoulement, le transfert de masse est élevé comparé aux conditions naturelles d'écoulement (sans pompage) qui est proche de l'équilibre local. Miller et al. [26] indiquent que, dans des milieux homogènes, le coefficient de transfert de masse augmente avec la vitesse d'écoulement. Kennedy et Lennox [22] en mesurant la dissolution d'anneaux pendulaires ont déduit les coefficients de transfert de masse pour chaque gouttelette et ont conclu que la variation du taux de dissolution est lié à la variation du champ de vitesses dans les pores autour de chaque gouttelette.

Le transfert de masse est également impacté par le taux de saturation en NAPL. Dans la plupart des cas, le faible taux de transfert de masse se produit à très faible saturation en NAPL [26, 136]. Power et al. [136] ont montré que le taux de dissolution est fortement dépendant de la distribution spatiale du NAPL résiduel et la limitation du transfert de masse intervient quand le NAPL résiduel se trouve dans les pores inaccessibles. La forme et la taille des gouttelettes de NAPL piégées jouent aussi un rôle de premier plan dans les processus de

dissolution. Pour Hamed et al. [102], une petite gouttelette affecte moins l'écoulement qu'une grande. Ainsi les blobs de plus grande taille provoquent un écoulement préférentiel, ce qui limite l'échange de masse de certains pores avec la phase aqueuse (diminution de la surface d'échange effective). Bradford et al. [133] montrent que la dissolution du NAPL dépend de la mouillabilité du milieu et de la distribution spatial du NAPL piégé. La composition du NAPL influe également sur le transfert de masse [79] et c'est le cas aussi de la viscosité et la densité [26].

L'analyse de ces travaux de laboratoire a permis de mieux cerner les paramètres contrôlant la dissolution propre à chaque dispositif expérimental et de proposer des corrélations semi-empiriques pour exprimer le transfert de masse. Les résultats de ces études mettent en évidence l'influence du champ de vitesse à proximité de l'interface eau/NAPL et il est important d'en tenir compte dans l'évaluation du transfert de masse.

1.2.4.2 Impact de la dissolution du NAPL sur le coefficient de dispersion

En général, le coefficient de dispersion dépend des propriétés de la matrice poreuse et de la vitesse d'écoulement du fluide. Dans la littérature (e.g., Marsily. [42]), le coefficient de dispersion est exprimé sous différentes formes. Ces expressions ont été obtenues pour la dispersion passive. En présence d'une source de pollution (NAPL piégé) comme dans notre cas, on peut avoir un comportement diffèrent. Pour des faibles valeurs de Péclet où la vitesse de Darcy est faible, le coefficient de dispersion est identifié à la diffusion moléculaire [42]. Yra [151] a opté pour un coefficient de dispersion longitudinal égal au coefficient de diffusion moléculaire afin de comparer ses résultats expérimentaux de dissolution du TCE résiduel avec ceux issus du modèle théorique. Quintard et Whitaker [93] ont obtenu par changement d'échelle (prise de moyenne volumique), l'expression suivante de la dispersion longitudinale adimensionnée :

$$\frac{D_L}{D_m} = a + bP_e^n \tag{1.3}$$

a, b et n dépendent de la saturation en polluant. Ils montrent que pour des faibles nombres de Péclet ($P_e < 1$), la diffusion moléculaire est dominante sur la convection et la dispersion longitudinale augmente avec le nombre de Péclet. Radilla et al. [45] ont poursuivi les travaux en montrant que la dispersion longitudinale diminue quand la saturation en polluant augmente et l'influence devient de plus en plus sensible avec l'augmentation du nombre de Péclet. La dispersion effective dépend donc de la vitesse d'écoulement, de la fraction volumique de la phase aqueuse, de l'aire interfaciale entre les phases et de la diffusion moléculaire du polluant.

1.2.4.3 Coefficient de transfert de masse interfacial

La dissolution est l'un des mécanismes de contamination d'aquifère. Cette contamination est facilitée par l'échange de masse continue entre le NAPL résiduel et l'eau. Une description simple de la dissolution d'un NAPL mono-constituant est couramment décrite sous la forme d'une réaction du 1^{er} ordre [114] :

$$J = \alpha(C_{eq} - C) \tag{1.4}$$

avec J le taux de dissolution (ou flux de matière dissoute), α le coefficient de transfert de masse, C la concentration du polluant dans la phase aqueuse et C_{eq} la concentration à l'équilibre dans la phase fluide. Powers et al. [135] expriment le coefficient de transfert de masse par le produit de l'aire interfacial eau/NAPL et d'un coefficient de transfert de masse intrinsèque (k) :

$$\alpha = k a_{\beta\gamma} \tag{1.5}$$

L'aire interfaciale eau/NAPL ($a_{\beta\gamma}$) est un paramètre difficile à mesurer compte tenu de la complexité du milieu poreux et de la géométrie des globules de NAPL. Pour s'affranchir de cette difficulté, des solutions de remplacement sont utilisées telles que la fraction volumique de NAPL [114], la distribution spatiale des grains et des relations de pression capillaire-saturation [136].

Le coefficient de transfert de masse est généralement exprimé au travers de corrélations semi-empiriques reliant le nombre de Sherwood ($Sh = \frac{kl}{D}$) ou le nombre de Sherwood modifié ($Sh' = \frac{\alpha d_m^2}{D}$) aux différents paramètres adimentionnels caractérisant l'écoulement ou la structure du milieu [6, 56, 144]. l est la longueur caractéristique, D est le coefficient de diffusion et d_m est le diamètre moyen des grains.

Le Tableau.1.1 fournit quelques corrélations semi-empiriques du coefficient de transfert de masse extraites de la littérature. La plupart des corrélations proposés [26, 114, 144] suppose un équilibre local entre la phase aqueuse et le NAPL et en plus ne tendent pas vers une valeur non nulle contrairement au modèle proposé par Chu et al. [87]. Ces aspects limitent considérablement leur domaine d'application qui reste proche des conditions expérimentales [32]. Pour corriger les limites de ces corrélations, d'autres modèles numériques sont proposés [8, 10, 57, 58] et prennent en compte un maximum des conditions proches des situations réelles (condition de non équilibre, évolution temporelles des interfaces, ...).

1.2.4.4 Caractérisation du coefficient de transfert de masse

Le coefficient d'échange de masse régit le transfert de masse entre la phase aqueuse (eau) et la phase non aqueuse (NAPL). L'évaluation de ce paramètre dépend de plusieurs facteurs (mouillabilité, configuration spatiale du NAPL piégé, conditions d'écoulement,...) qui sont souvent difficile à quantifier. De nombreux auteurs [27, 136], ont proposés des modèles phénoménologiques du taux de transfert de masse entre le polluant et la phase aqueuse à partir des expériences en milieu homogène ou faiblement hétérogène. Les coefficients d'échange de masse obtenus sont représentés sous la forme des corrélations entre des nombres adimensionnels caractéristiques du transport de polluant partiellement miscible dans l'eau (cf Table 1.1). Ces corrélations semi-empiriques obtenues à l'échelle de Darcy ne sont pas généralisables à une large gamme des milieu poreux et ont donc un domaine d'application limité. Yra [151] a estimé le coefficient de transfert de masse à partir de la corrélation proposée par Miller et al. [27] pour comparer les résultats expérimentaux (courbes de dissolution du TCE résiduel) aux simulations numériques (Courbes de percées théoriques). Une technique de changement d'échelle (prise de moyenne volumique) est adoptée par Quintard et Whitaker [93] pour établir une corrélation généralisable à une large gamme des milieux poreux et

Auteurs	modèle $Sh^{'}$	Conditions d'application	Système
Miller et al. [26]	$Sh^{'} = 12.Sc^{0.5}.Re^{0.75}.\theta_N^{0.6}$	$Re = 0.005 - 0.1$, $S_N = 0 - 0.21$	$1D$
Imhoff et al. [114]	$Sh^{'} = 340.Re.\theta_N^{0.87}.\frac{x^{-0.31}}{d_{50}}$	$Re = 0.0012 - 0.021$, $S_N = 0 - 0.16$, $\frac{x}{d_{50}} = 7$	$1D$
Saba et Illangasekare [144]	$Sh^{'} = 11.34.Sc^{0.33}.Re^{0.2767}.\frac{d_m\theta_N^{1.037}}{\tau L}$	$Re = 0.0015 - 0.01$, $S_N^{av} = 0.22, \tau = 2, L = dx$	$2D$
Nambi et Powers [56]	$Sh^{'} = 37.15.Re^{0.61}.S_N^{1.24}$	$Re = 0.018 - 0.0134$, $S_N = 0.01 - 0.35$	$2D$

TABLE 1.1 – Corrélations du coefficient de transfert de masse extraites de la litterature. S_N est la saturation résiduelle, $\theta_N = \varepsilon S_N$ est la fraction volumique de la phase non aqueuse avec ε la porosité, d_{50} est la taille médiane des grains, τ est la tortuosité, Re le nombre de Reynol, $Sc = \frac{\mu_F}{\rho D}$ le nombre de Schmidt (μ_F est la viscosité dynamique du fluide, ρ la masse volumique de l'eau)

qui s'exprime sous la forme (équation similaire à l'équation 3.8) :

$$\frac{\alpha l_\beta^2}{D_m} = a + bP_e^n \tag{1.6}$$

Cette approche par changement d'échelle permet d'étudier le coefficient de transfert de masse en tenant compte des mécanismes spécifiques à l'échelle du pore (mouillabilité, géométrie des ganglions piégés, surface spécifique d'échange,...) contrairement aux corrélations semi-empiriques qui sont exprimés en fonction des paramètres macroscopiques. D'autres travaux [1, 45] ont utilisé la même approche pour calculer le coefficient de transfert de masse en considérant des cellules unitaires bi-dimensionnelles ou tridimensionnelles périodiques. Néanmoins, ces études se limitent à des cellules de géométrie simple par rapport à un milieu poreux réel et la forme des globules du polluant (NAPL) est idéalisée avec une distribution beaucoup plus simple.

1.2.4.5 Influence du biofilm sur les processus de dissolution

Deux mécanismes fondamentaux, évoquée précédemment, se produisent au sein du biofilm qui ont un fort impact sur la dissolution des blobs piégés. Il s'agit de la production des biosurfactants et la toxité du NAPL. La dissolution du NAPL est soit accélérée par l'effet des biosurfactants soit ralentie par l'influence des concentrations élevées du NAPL sur le métabolisme bactérien. Pour illustrer l'influence du biofilm sur la dissolution du NAPL, une étude récente [87] a montré que le coefficient de transfert de masse augmente en présence

d'une phase réactive (biofilm) et plus le taux de réaction augmente plus le transfert de masse devient important.

La production de biosurfactants constitue l'une de nombreuses adaptations des microorganismes (phénomène de chimiotaxis, constitution des réserves,etc) qui métabolisent les hydrocarbures et représente globalement une réponse physiologique à des exigences spécifiques rencontrées par les cellules en fonction de leur environnement. Les caractères hydrophobes (chaine d'acide gras) et hydrophiles (un sucre ou peptide) des biosurfactants leur donnent la possibilité d'adhérer facilement aux interfaces des systèmes de phase mixte (par exemple huile/eau, huile/solide/eau) et de modifier ainsi la tension interfaciale et la solublité. Le mécanisme par lequel les biosurfactants agissent sur les propriétés de surface (mouillabilité, tension interfaciale, solubilisation) est mis en évidence par Banat et al. [54] ainsi que par Desai et Banat. [64]. Dans le cas de la biodégradation d'un NAPL, les propriétés amphiphiles des biosurfactants leur donnent la capacité de modifier les tensions surperficielles et de déstabiliser la gouttelette de NAPL et ainsi la rendre plus vulnérable à la dissolution et à la biossimilation bactérienne. Des illustrations sur l'influence des biosurfactants à travers l'analyse de quelques études en micromodèle seront donnés au chapitre 2.

La métabolisation des composés organiques (dont le NAPL) requiert une concentration en substrat optimale compte tenu du caractère xénobitioque de ces composés. La plupart des NAPL peuvent en effet être assimilés sous leur forme dissoute à faible concentration par les bactéries mais deviennent toxiques à concentration plus elevée, pouvant provoquer un dysfonctionnement du métabolisme bactérien [129]. L'effet de toxicité de NAPL sur le biofilm peut être visualisé par des procédés de marquage par fluorescence (Figure 1.17). Singh et Olson [120] ont conduit une expérience par ces procédés en mettant en contact une gouttelette de TCE avec *Pseudomonas Sp.* L'étude suit l'évolution temporelle de la concentration en bactéries vivantes et mortes autour de la gouttelette. Initialement, le biofilm se développe de manière uniforme en périphérie de la gouttelette, mais, après 5 minutes, les bactéries vivantes migrent progressivement loin du TCE. Cette expérience confirme bien la toxicité du NAPL sur la croissance bactérienne, plus la concentration en NAPL est élevé plus on observe un ralentissement de la croissance des bactéries (voire la mort des bactéries). Chu et al. [86] ont étudiés numériquement l'influence de la toxicité sur la dissolution du PCE à l'échelle macroscopique. Ils ont montrés à l'aide du modèle numérique que les paramètres macroscopiques (propriétés du NAPL, quantité de substrat) affectent le taux de dissolution et soulignent la nécessité de mieux caractériser la cinétique de biodégradation pour des concentrations élevées de PCE.

1.3 Objectifs et organisation du manuscrit

La thématique de cette thèse s'inscrit dans la tâche 3 du projet ANR MOBIOPOR et porte sur la modélisation de la biodégradation des polluants en milieu poreux. L'objectif du projet est de mieux comprendre les mécanismes régissant la dynamique d'une phase bactérienne dans les sols afin de proposer des solutions de décontamination des sites industriels dégradés.

Ce travail s'intéresse plus particulièrement à la problématique de la biodégradation

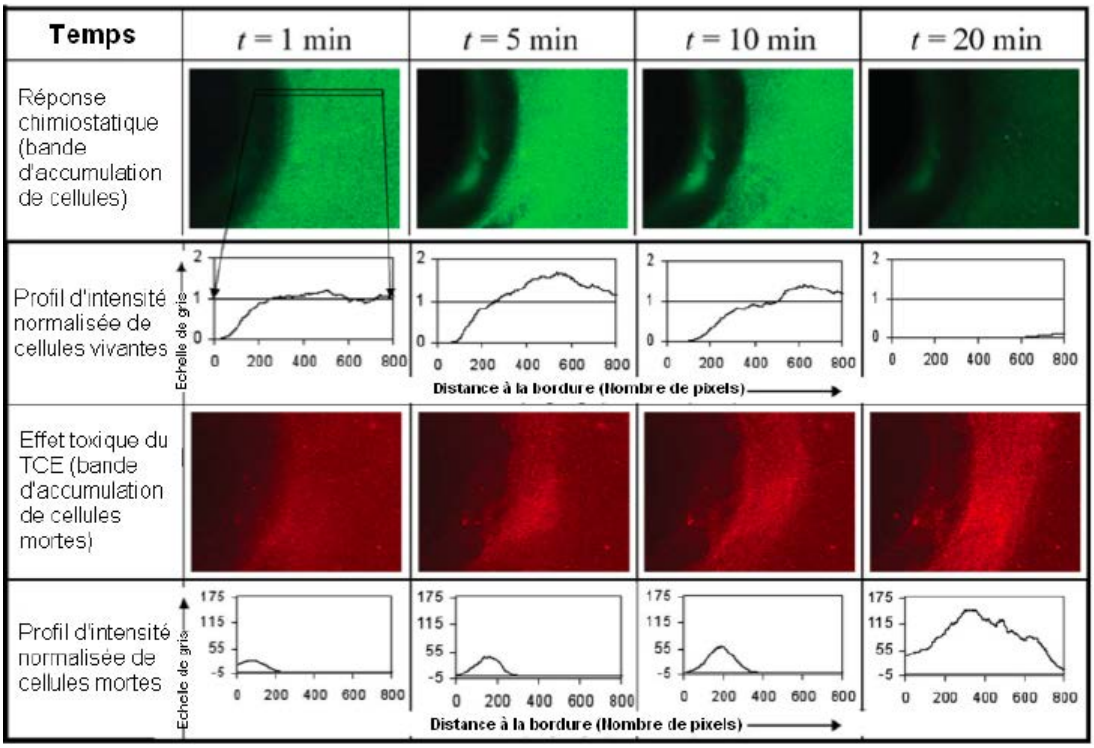

FIGURE 1.17 – Résultats d'une expérience exposant un biofilm de Pseudomonas à l'influence d'une gouttelette de TCE (Singh et Olson. [120])

d'une phase polluante non miscible du type NAPL. En effet, de nombreux travaux de recherche se sont focalisés sur le transport des solutés en milieu poreux incluant une phase biofilm tant d'un point de vue expérimental que numérique (e.g.,Thèse de Orgogozo [75] ; Davit [152] ; Kone [142]) mais peu d'études existent sur l'étude de ces processus à proximité de la source de polluant organique, dans des conditions multiphasiques, alors que les biofilms jouent un rôle clé dans la biodégradation in-situ. Dans ce contexte, notre travail sera axé principalement sur l'impact de cette phase supplémentaire (NAPL) sur la dynamique du système biofilm/milieu poreux saturé où d'importantes questions restent encore ouvertes : la structuration du biofilm par rapport à la phase mouillante ou non mouillante, les processus complexes tels que la modification de la tension interfaciale, la production de surfactant, l'effet de toxicité, etc.

Dans un premier temps, nous nous intéresserons à la recherche d'une description à l'échelle du pore des phénomènes de transferts multiphasiques (eau/biofilm/NAPL) en mettant en évidence les mécanismes physico-chimiques (flux interfacial, tension capillaire, saturation résiduelle, mouillabilité). La seconde étape consiste à établir les équations macroscopiques à partir de la description à l'échelle microscopique. Parallèlement, une étude expérimentale en micromodèle est prévue pour étudier les mécanismes à l'échelle du pore.

Le manuscrit de thèse est organisé de la manière suivante :

Dans le chapitre 2, une revue de littérature sera présenté en deux volets. Le premier

volet sera consacré à l'état de l'art expérimental où on s'intéressera plus particulièrement aux travaux expérimentaux en micromodèle. Le second volet sera consacré à la méthode de changement d'échelle (prise de moyenne volumique) par la définition des bases théoriques de la méthode.

Dans le chapitre 3, nous présentons le développement théorique du modèle macroscopique qui décrit le transport multiphasique en milieu poreux pour un système eau/NAPL/biofilm. Une méthode de prise de moyenne volumique a été appliquée ici aux équations à l'échelle du pore pour effectuer le changement d'échelle et dériver ce modèle. Pour clore le chapitre, nous présentons des résultats sur le calcul des propriétés effectives et aussi des résultats sur la validation du modèle macroscopique par comparaison avec des simulations à l'échelle de pore.

Le chapitre 4 sera dédié à la démarche expérimentale ayant conduit à la mise en place du dispositif expérimental. Nous présentons des résultats expérimentaux en micromodèle sur la dissolution du toluène résiduel en condition abiotique. A la fin du chapitre, Nous comparons les résultats des expériences de dissolution sans bactérie avec les prédictions du modèle théorique dont le développement est présenté au chapitre 3.

Dans le chapitre 5, nous étudions le transport et la biodégradation du toluène en présence des bactéries à l'échelle de pore. Dans un premier temps, nous exposerons les résultats sur la biodégradation du toluène par la souche bactérienne *Pseudomonas putida F1* au travers des cultures en batch. Ensuite, des résultats expérimentaux sur la biodégradation du toluène résiduel en micromodèle seront présentés où nous mettons en évidence l'impact de la phase bactérienne sur la dissolution du toluène résiduel par la comparaison des courbes de percée avec et sans bactéries. A la fin, nous effectuerons une confrontation entre les résultats expérimentaux et les prédictions du modèle théorique.

La dernière partie du manuscrit (chapitre 6) sera consacrée aux conclusions et perspectives de cette thèse.

Chapitre 2

Synthèse bibliographique

2.1 Introduction

La compréhension du couplage transport de NAPL/croissance du biofilm en milieu poreux a fait l'objet des nombreux travaux expérimentaux que sa soit en colonne ou dans des milieux poreux transparents. La difficulté principale de telles études réside dans le fait que l'évolution spatio-temporelle du biofilm en milieu poreux dépend des nombreux facteurs (vitesse d'écoulement, caractéristiques du milieu poreux, propriétés du NAPL, etc). Des expériences en colonne [17, 35, 49] ont permis d'étudier la biodégradation du NAPL en milieu poreux et montrent clairement l'efficacité du biofilm en génie des procédés (épuration des eaux usées urbaines, extraction des molécules, etc). Ces méthodes expérimentaux permettent d'avoir une information moyennée sur l'ensemble du domaine car les paramètres de transport sont déterminés en sortie de colonne. Compte tenu de la répartition hétérogène du biofilm en milieu poreux, les paramètres macroscopiques moyennes obtenues peuvent sous-estimer les hétérogénéités locales. Des travaux expérimentaux [55, 66, 97, 126] utilisant des milieux poreux transparents ont montré leur capacité à visualiser l'évolution de la saturation en NAPL en présence des bactéries. Notre revue de littérature s'est focalisé sur ces derniers car nous envisageons étudier le transport multiphasique en présence des bactéries à l'aide d'un micromodèle.

L'étude du transport multiphasique en milieu poreux incluant une phase biofilm est un problème multi-échelle. L'échelle d'intérêt est généralement celle de l'aquifère ou du bioréacteur alors que les mécanismes sont régis par des processus à des échelles bien inférieure comme celle du pore voire de la bactérie. Afin d'obtenir un modèle macroscopique prenant en compte le maximum des paramètres intrinsèques (effectifs) intervenant dans les processus physico-chimiques, il est donc nécessaire de passer par la plus petite échelle (échelle du pore). Peu des travaux existent toutefois autour du transport multiphasique en milieu poreux incluant une phase biofilm. Les modèles de transport multiphasique existant se limitent généralement au système eau/huile en milieu poreux voire triphasique en présence d'une phase gazeuse, que ce soit pour des applications en génie pétrolier (récupération assistée du pétrole, développement de la productivité des puits) ou en génie environnemental (dépollution des nappes). Ils excluent cependant l'impact d'une phase bactérienne distincte ou se limitent à considérer la biodégradation sous forme d'un terme réactif supplémentaire associé à la phase fluide.

Dans ce chapitre, nous présenterons l'état de l'art sur l'étude expérimentale en micromodèle. Ensuite, une synthèse bibliographique sur la partie théorique du travail sera également présenté et qui se focalisera sur la méthode de prise de moyenne volumique et sur quelques modèles macroscopiques en milieu poreux avec biofilm.

2.2 État de l'art expérimental : étude expérimentale en micromodéle

2.2.1 Intérêt des études en micromodèles

Les micromodéles sont des assemblages de canaux transparents dont la taille varie d'une dizaine jusqu'à quelques centaines de microns. Ils sont souvent utilisés afin d'étudier et caractériser les écoulements multiphasiques en milieu poreux à l'échelle de pore. Dû à leur design (conception) et à leurs propriétés dont la transparence, il est ainsi possible de visualiser et d'extraire des données telles que le vecteur des vitesses locales, envahissement et ou dessèchement d'un pore ou la saturation globale. Les micromodeles permettent d'obtenir un suivi expérimental sur un milieu poreux pseudo-2D (les défauts de réalisation des canaux et la variation locale du rapport épaisseur sur profondeur des pores ne permet pas de s'affranchir complètement des effets 3D en particulier en condition multiphasique). Ils sont faciles à fabriquer en laboratoire et sont relativement bon marché bien que cela dépende du matériau utilisé (verre, PDMS, etc). Le contrôle des hétérogénéités induit par la microfabrication est nécessaire pour la bonne réussite des expériences en micromodèle et cela quelque soit la technologie utilisée (verre ou PDMS).

2.2.2 Analyse des travaux expérimentaux en micromodèle

L'étude expérimentale par le biais d'un micromodèle a fait l'objet des nombreux travaux de recherche notamment dans le domaine des écoulements en milieux poreux. Des travaux fondateurs dans ce domaine sont dus à R. Lenormand et ses collaborateurs, qui ont fait, notamment, deux contributions essentielles : la première concerne l'étude des phénomènes locaux dans les écoulements dans un canal [117] et la seconde porte sur l'étude des écoulements à l'échelle de plusieurs milliers de canaux, grâce à laquelle l'existence de différents régimes a pu être mise en évidence en fonction de nombres adimensionnels [118]. En ce qui nous concerne, à savoir l'étude en micromodèle du système eau/biofilm/NAPL, peu de travaux existent dans la littérature. Trois études, néanmoins, ont retenues notre attention et sont détaillées ci-dessous. Il s'agit de l'expérience de Nambi et al. [55], de Paulsen et al. [66] et celle de Armstrong et Wildenschild [126].

2.2.3 Expérience de Nambi et al. [55]

L'étude a porté sur une espèce bactérienne anéorobie de type Sulfurospirillum multivorans. Le substrat utilisé est le tetrachloroethylène (PCE) qui représente l'accepteur d'électron avec en plus le lactate (donneur d'électron). Il faut noter que le contaminant utilisé (PCE) est dissous (absence de phase pure de PCE). Cet ensemble est étudié dans un micromodèle ayant les dimensions 1x1 (cm^2), le diamètre des pores est de 35 μm et une épaisseur de 300 μm. Le micromodèle est gravé dans une plaquette de silicium comme le montre la Figure 2.1 : Premièrement, les auteurs ont étudiés la morphologie du biofilm en entrée (section amont) et en sortie (section aval) du micromodèle. Ils ont observés que la croissance du biofilm est plutôt importante en entrée (Figure 2.2-c,d) qu'en sortie (Figure 2.2-a,b) du micromodèle dû à l'effet des forces de cisaillement. Deuxièmement, ils ont mis

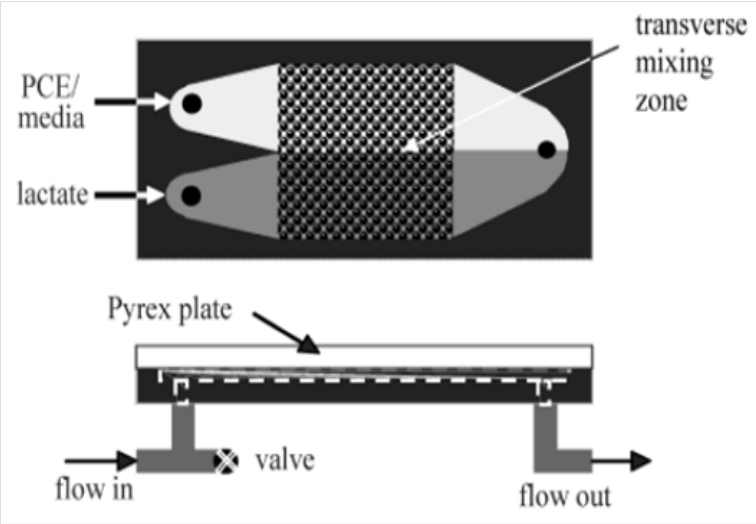

FIGURE 2.1 – Dispositif expérimental (Nambi et al. [55])

en évidence l'influence de la dispersion transversale sur le mélange des éléments nutritifs (PCE et lactate). Les images (Figure 2.3) montre que le développement de la biomasse dans le temps crée un effet retard d'un produit sur un autre. Enfin, les auteurs ont mis en place une expérience de suivi à l'aide d'un traceur fluorescent pour déterminer si la croissance de la biomasse affecte la zone de mélange des produits chimiques. Le résultat obtenu (Figure 2.4) a montré clairement l'influence des bactéries sur la zone de mélange.

2.2.4 Expérience de Paulsen et al. [66]

Le dispositif expérimental est constitué de deux plaques de verre séparées ayant une dimension 14x16,5x0,6 (cm^3). La taille moyenne des pores est de 770 μm avec une profondeur de 120-600 μm. Tous les milieux aqueux ont été préparés avec de l'eau déminéralisée et stérilisée par filtration. Le pétrole brut a été tamisé à travers une membrane de 0,45 mm pour éliminer les contaminants. Un biofilm multi-espèces est utilisé pour les observations de biodégradation. Le système final est constitué de trois phases : huile/eau/biofilm.

Les auteurs ont mis en exergue l'influence des biosurfactants sur une gouttelette de NAPL à l'échelle du pore à travers l'observation des mécanismes de déstabilisation de l'interface. Sur la Figure 2.5, on peut tout d'abord observer la croissance du biofilm et des biofilaments associés se développant préférentiellement autour de la gouttelette, voire même sur la gouttelette, et dans le sillon de l'écoulement de sorte que les bactéries puissent assimiler le NAPL dissous (Figure 2.5). Il est important de souligner que la contrainte de cisaillement ait beaucoup moins d'effet d'arrachement sur les bactéries fixées directement sur la gouttelette de NAPL. Il est probablement dû aux liaisons hydrophobiques.

La seconde phase de l'expérience a permis de faire un suivi dans le temps de l'évolution de la déstabilisation de la gouttelette par le biofilm et de mettre en évidence un autre processus : en réduisant la tension superficielle de la gouttelette, les biosurfactants peuvent

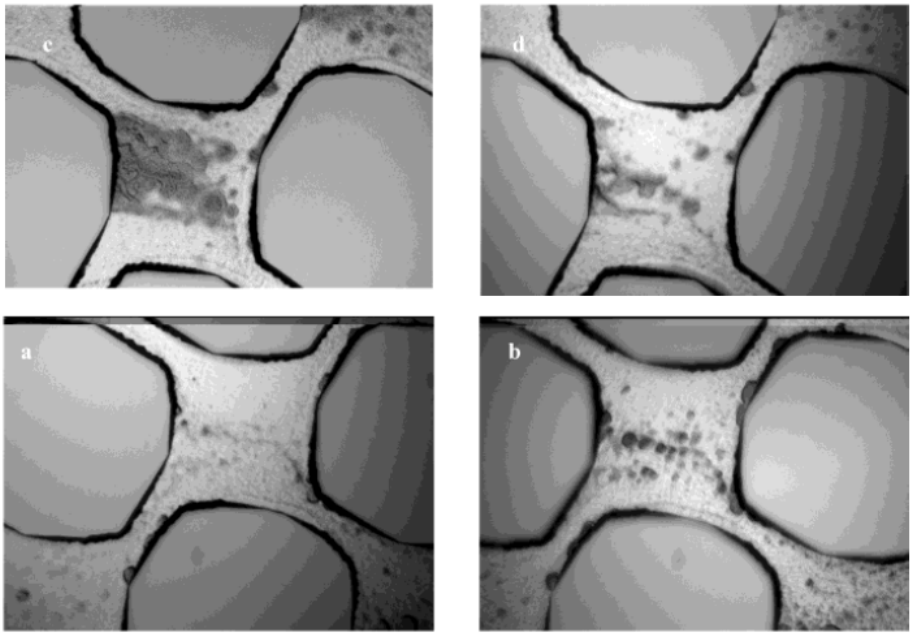

FIGURE 2.2 – Croissance de biofilm en entrée (c,d) et sortie (a,b) du micromodèle (Nambi et al. [55])

fragmenter celle-ci en la sub-divisant (Figure 2.6). La Figure 2.6 montre l'évolution de la gouttelette durant les 11 premiers jours (photographies 1 à 3), la phase de séparation pendant les 4 jours suivants (photographies 4 à 12) et enfin la stabilisation de la gouttelette après fragmentation le dernier jour (photographies 13 à 15). Les résultats de l'expérience montrent une modification locale de la tension capillaire liée à la production de surfactant. La structure de la gouttelette de NAPL est maintenue par des forces capillaires dues à l'existence d'un différentiel de pression entre le fluide et le NAPL :

$$\Delta P_c = \frac{2\sigma}{R} \tag{2.1}$$

avec σ la tension interfaciale et R le rayon de courbure local. Une estimation par analyse d'image indique une valeur initiale de $30mN/m$ pour la tension superficielle de la gouttelette. Afin de vaincre ces forces capillaires, il faudrait abaisser la tension superficielle en dessous de $0.3mN/m$ si les biosurfactants avaient induit un impact uniforme. Or, la tension superficielle de la gouttelette après séparation (Figure 2.6), photographie (13 à 15) est estimée à environ $2mN/m$ d'après l'équation 2.1. Ces estimations suggèrent ainsi une réduction localisée de la tension interfaciale par un facteur 15 environ.

Seule une fraction de la gouttelette initiale est ainsi mobilisée. Paulsen et al. [66] supposent que le biofilm entourant la gouttelette stabilise et immobilise la gouttelette après que sa taille ait été diminuée. La fraction de NAPL remobilisé est ensuite entraînée par l'écoulement et peut se retrouver piégée dans un pore de plus petite taille. Il faut toutefois préciser que ce phénomène est, semble-t-il, assez rare car sur cette expérience menée pendant 25

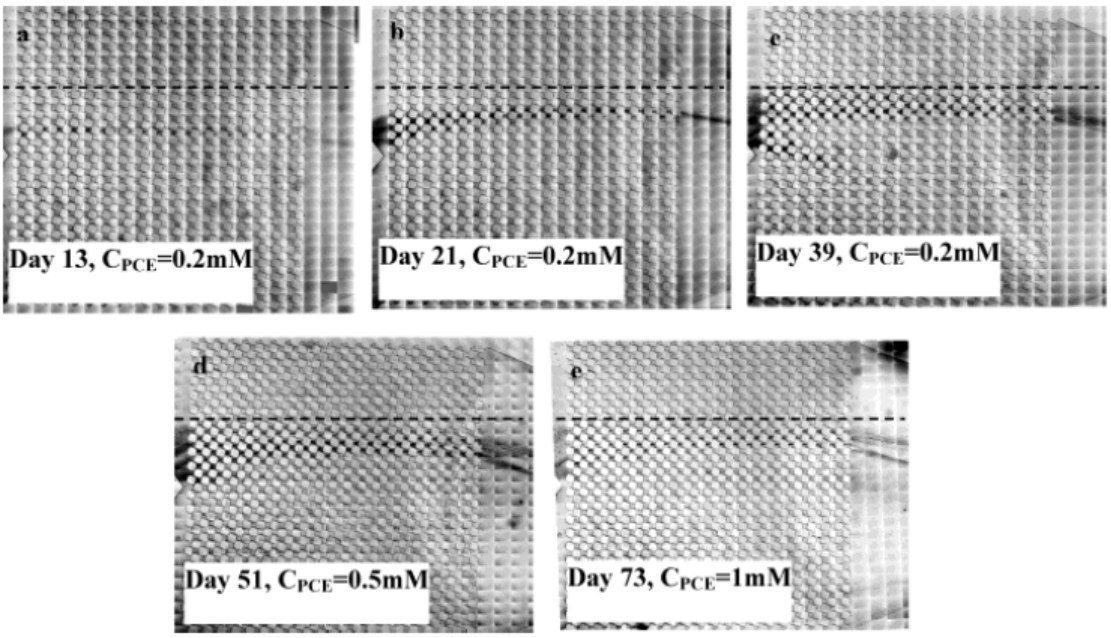

FIGURE 2.3 – Croissance bactérienne dans le temps (Nambi et al. [55])

jours sur de nombreuses gouttelettes, une seule a montré un tel processus de fragmentation. La faible occurrence de ce mécanisme suggère que la rémobilisation de l'huile à saturation résiduelle pourrait être négligeable en première approximation.

2.2.5 Expérience de Armstrong et Wildenschild [126]

Armstrong et Wildenschild [126] ont effectué leurs expériences sur des micromodèles 2D gravés sur verre (Figure 2.7). Deux souches bactériennes (Bacillus mojavensis et Shewanella oneidensis MR1) ont été cultivées en condition aérobie pour la formation du biofilm. Le milieu minéral de base utilisé est appelé Media E. Au total six milieux aqueux ont été préparés sous différentes conditions. La première investigation a porté sur l'influence de la mouillabilité sur la récupération du NAPL. Les auteurs ont testé deux types de micromodèle en conditions biotiques et abiotiques. Les résultats obtenus (Figure 2.8) mettent en évidence l'influence des biosurfactants produit par les bactéries, qui viennent modifier la mouillabilité et augmentent ainsi le taux de récupération de l'huile résiduelle. Armstrong et Wildenschild [126] ont comparé l'efficacité de la dégradation abiotique et biotique des NAPLs et le rôle de chaque paramètre sur le processus global. Cette étude a permis de conclure que la biodégradation est optimale en présence de biomasse produisant des biosurfactants, bénéficiant simultanément des effets de mobilisation et de consommation du NAPL. Elle confirme aussi l'existence d'une biodégradation en présence de biomasse sans production de biosurfactants.

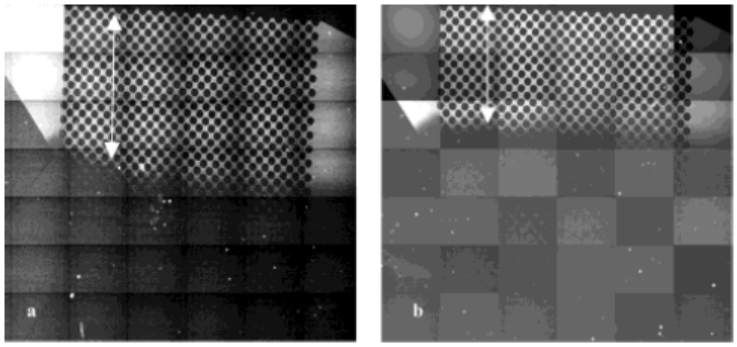

FIGURE 2.4 – Zone de mélange en absence (a) et en présence des bactéries (b) (Nambi et al. [55])

2.3 Synthèse bibliographique - Aspect théorique

2.3.1 État de l'art de la modélisation du transport en milieu poreux incluant une phase biofilm

La modélisation du transport des espèces chimiques incluant une phase biofilm est complexe car les processus bio-physico-chimiques les contrôlant (limitation diffusive du taux de réaction, réaction de biodégradation) varient d'une échelle à l'autre. Une revue de la littérature des modèles décrivant l'impact des processus biogéochimiques sur le transport du panache de polluant est disponible dans Brun et Engesgard [4]. Au vu de l'intérêt croissant que suscite la problématique, deux approches de modélisation ont vu le jour.

La première approche adopte l'hypothèse d'équilibre de masse local qui suppose que les concentrations moyennes par phase sont globalement à l'équilibre. Cette modélisation considère que la dégradation bactérienne est limitée par la concentration moyenne de soluté au sein de la phase fluide. Cette dégradation est introduite via un terme réactif sous forme d'un terme « source » macroscopique au sein de l'équation de transport. Cette situation, la plus simple en termes de modélisation des transferts, a donné lieu aux premiers modèles macroscopiques de transport bioréactif (e.g., Sykes et al. [67] ; Borden et Bedient [123]).

L'hypothèse d'équilibre de masse local adoptée dans la première approche ne peut prédire l'ensemble des cas réels rencontrées dans la pratique. Des limitations affectant le transport ou le taux de dégradation à l'échelle du pore, ne sont pas généralement négligeables et peuvent se traduire par l'apparition de gradients de concentration à l'interface fluide-biofilm. Cette situation de non équilibre peut être soit d'origine hydrodynamique (différence dans les temps caractéristiques des processus de transfert associés à chacune des phases) soit due à une limitation de transfert de masse dans le fluide, si le transport diffusif dans le biofilm n'est pas négligeable devant le transfert convectif (Miller et al. [27]). De nombreux modèles conceptuels ont été mis en place pour expliquer les processus par lesquels l'existence de situation de non équilibre de masse affecte les phénomènes de transport en milieu poreux incluant un biofilm (e.g., Jennings et al. [113] ; Baveye et Valocchi [108]). Ces modèles fournissent des descriptions qualitatives pertinentes de l'impact de l'état de non-équilibre

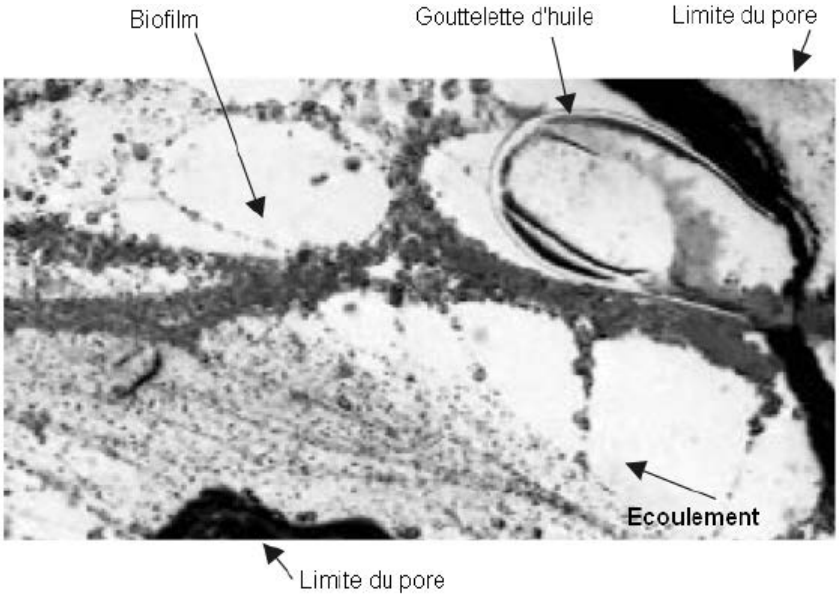

FIGURE 2.5 – Photographie au microscope illustrant le développement préférentiel du biofilm à la périphérie d'une gouttelette d'huile (Paulsen et al. [66])

sur les phénomènes de transport mais demandent des grandeurs moyennes difficiles à évaluer (coefficient de transfert de masse entre phase par exemple). La plupart des modèles évaluent ces grandeurs sur la base de mesures expérimentales ou à partir de simulations directes réalisées à l'échelle du pore. Pour pallier aux difficultées liées à la détermination des grandeurs moyennes (coefficient d'échange, dispersion) telles que les contraintes expérimentales (accessibilité des paramètres, conditions opératoires) ou la puissance de calcul (pour les simulations à l'échelle de pore), une des voies possibles est le recours aux méthodes de changement d'échelle. Ces méthodes mathématiques permettent d'établir sur une base physique rigoureuse les liens entre processus à petites échelles et phénomènes à grandes échelles. Nous citons ci-dessous les modèles issues de ces méthodes de changement d'échelle tout en se focalisant sur les modèles dérivées à partir de la méthode de prise de moyenne volumique qui sera détaillée par la suite. Ces modèles différenciés selon les deux approches précédentes, i.e., équilibre local ou non équilibre de masse local, sont schématiquement classés comme suit :

- Les modèles basés sur l'hypothèse d'une concentration globalement homogène aussi bien dans la phase fluide que dans la phase biofilm (Wood et Whitaker [14] ; Golfier et al. [36]). Ces modèles sont développés via la méthode de prise de moyenne volumique sous l'hypothèse d'équilibre de masse local. Ils prennent en compte la plus large gamme possible des milieux poreux et de situations de transport (hydrodynamiques, biochimiques). Ces modèles impliquant une seule équation de transport pour les deux phases, i.e., modèles à une équation, ont néanmoins un domaine d'application limité et cet inconvénient peut être pallié par le développement des modèles dits de non-équilibre local.

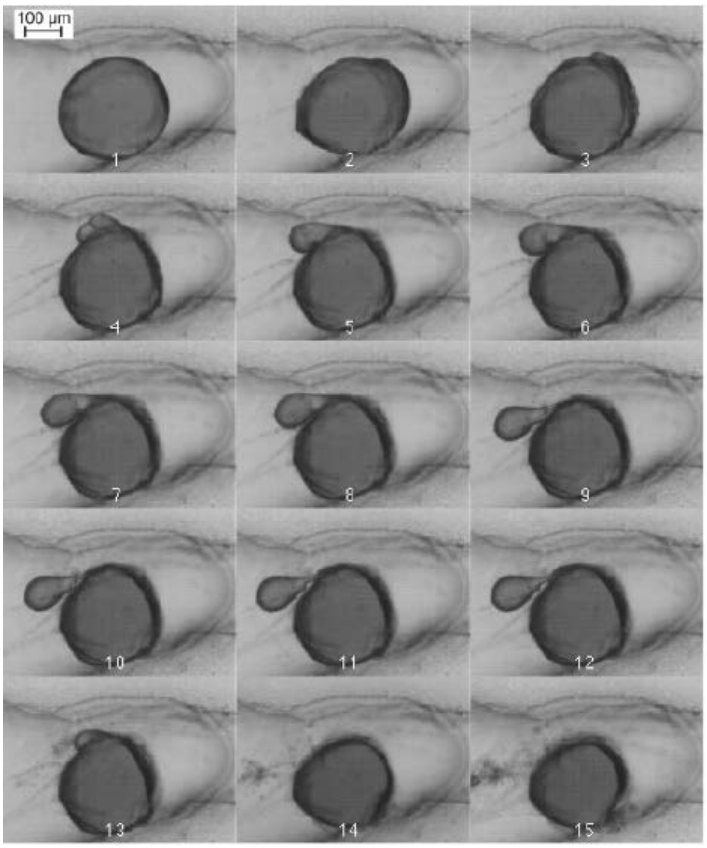

FIGURE 2.6 – Série de photographies au microscope montrant l'évolution de la fragmentation d'une gouttelette d'huile sur 16 jours

– Les modèles prenant en compte les phénomènes de limitation de transfert entre les deux phases fluide et biofilm (Orgogozo et al. [77] ; Davit et al. [153]). Ces modèles considèrent le cas le plus général où le transport est décrit par une équation pour chacune des phases, il s'agit des modèles à deux équations ou Two Equation Models (Orgogozo et al. [77]). Notons que ce modèle de non-équilibre peut dégénérer pour des cas limites (limitation par le transfert de masse ou la cinétique) de nouveau vers des modèles à une équation mais dont le régime de validité est limité [76]. Davit et al. [153] présentent un formalisme similaire à celui du modèle d'équilibre local (seule l'expression du tenseur de dispersion effective est différente), mais décrivant le comportement asymptotique du système en conditions de non équilibre local.

Le présent travail s'inscrit dans la continuité de ces travaux et vise le développement des equations de transport macroscopiques pour un système triphasique (eau/biofilm/NAPL). Nous adoptons la même démarche que les travaux précédents [36, 77, 153], i.e., la méthode de prise de moyenne volumique.

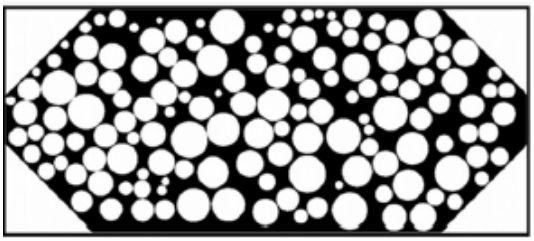

FIGURE 2.7 – Micromèle 2D utilisé par Armstrong et Wildenschild. [126]

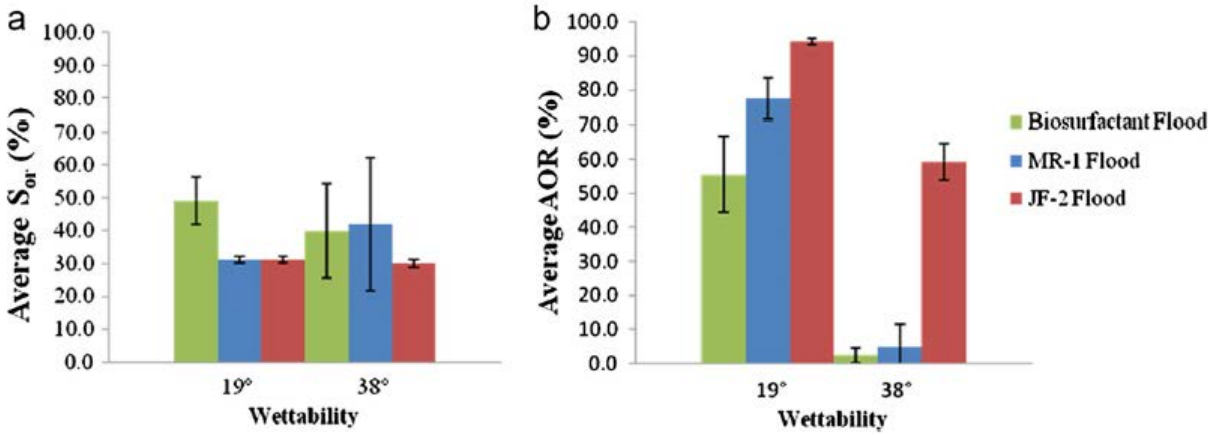

FIGURE 2.8 – Influence de la mouillabilité sur la saturation (a) et sur le taux de récupération d'huile (b) (Armstrong et Wildenschild. [126])

2.3.2 Changement d'échelle et prise de moyenne volumique

Le problème de changement d'échelle est caractéristique des phénomènes faisant intervenir plusieurs échelles de description. Cette disparité d'échelle nécessite une description appropriée à l'échelle d'observation à laquelle on se place. En effet, le changement d'échelle vise à établir les équations et les paramètres caractérisant un phénomène à l'échelle donnée à partir des paramètres connus à l'échelle inférieure. L'idéal serait bien évidemment de pouvoir modéliser directement le domaine à l'échelle d'intérêt à partir des propriétés microscopiques du domaine, ce qui n'est pas possible compte tenu de la puissance actuelle des ordinateurs et confère donc une importance particulière à ces méthodes. L'objectif de l'upscalling n'est pas de représenter le domaine d'étude dans toute sa complexité mais de conserver uniquement les paramètres prédominants à l'échelle d'observation en filtrant les processus mis en jeu.

2.3.2.1 Méthodes de changement d'échelle

Les méthodes de changement d'échelle permettent d'obtenir les equations mathématiques qui régissent le formalisme macroscopique. Ces méthodes peuvent être classées en

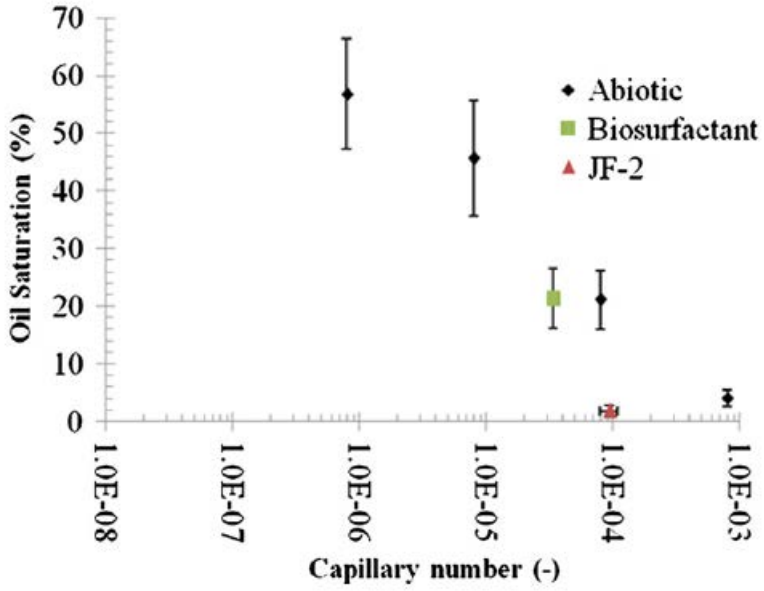

FIGURE 2.9 – Comparaison des cas biotiques et abiotiques (Armstrong et Wildenschild. [126])

deux grandes familles :

- les **méthodes stochastiques** (Matheron et De Marsily [43] ; Gelhar et al. [80]) : L'approche stochastique considère les données relatives aux propriétés du milieu comme des variables aléatoires. Ces données sont traitées statistiquement afin de caractériser le phénomène de transport. Ces méthodes sont utilisées notamment dans l'industrie pétrolière pour caractériser le réservoir à partir des données expérimentales (carottes, données géophysiques).
- les **méthodes déterministes** telles que la théorie d'homogénéisation (Palencia [31]) ou la méthode de prise de moyenne volumique (Whitaker [130]). Les avantages de la méthode de prise de moyenne volumique repose d'une part sur l'absence d'hypothèses restrictives concernant la micro-géométrie du milieu poreux et d'autre part sur les propriétés des coefficients de transports macroscopiques capables d'emmagasiner les informations provenant d'une échelle inférieure.

2.3.2.2 Méthode de prise de moyenne volumique

La méthode de prise de moyenne volumique est basée sur l'application au volume élémentaire représentatif d'un milieu poreux de l'opérateur de prise de moyenne. L'application de cet opérateur à l'échelle du pore permet d'arriver à l'expression générale des équations dites macroscopiques à l'échelle d'intérêt (Darcy ou autre). Les paramètres associés à ces équations macroscopiques sont calculés via la résolution du problème de fermeture appliquée sur une cellule unitaire représentative des propriétés du milieu poreux. Nous ne détaillerons pas ici toutes les étapes du calcul. Nous nous limitons uniquement aux résultats finaux du

développement.

2.3.2.3 Opérateur de prise de moyenne volumique

Les définitions mathématiques détaillées de l'opérateur de prise de moyenne volumique peuvent être retrouvées dans Quintard et Whitaker [92] et Whitaker [131]. Sur la Figure 2.10 nous pouvons retrouver un exemple d'un problème multi-échelle qui s'adapte à cette méthode. Brièvement, on définit un opérateur de moyenne, noté par $\langle . \rangle$, associé aux gran-

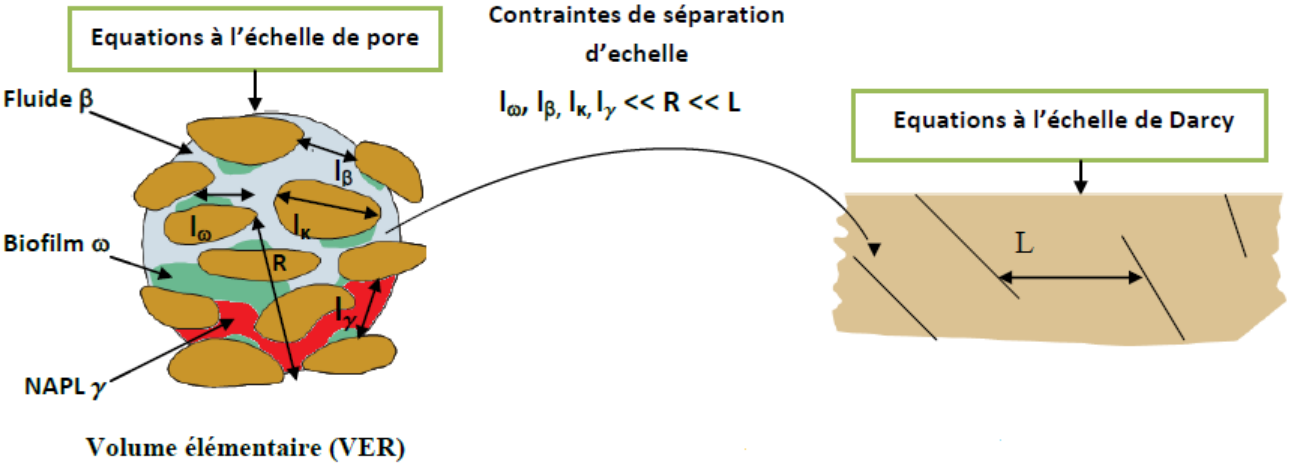

FIGURE 2.10 – Exemple d'un problème multi-échelle

deurs microscopiques d'intérêt (concentration, vitesse,...) sur un volume V convenablement choisi permettant de définir les concentrations globales à l'échelle macroscopique, telles que par exemple :

$$\langle c_{A\beta} \rangle = \frac{1}{V} \int_{V_\beta} c_{A\beta} dV \qquad \langle c_{A\omega} \rangle = \frac{1}{V} \int_{V_\omega} c_{A\omega} dV \tag{2.2}$$

Sur la base de ces définitions et en appliquant l'opérateur de moyenne au système d'équation qui régit le problème, on détermine les équations macroscopiques et les paramètres effectifs associés. Ce développement mathématique est basé sur l'utilisation de théorèmes de prise de moyenne, dont la validité est conditionnée par le respect de la contrainte de séparation des échelles.

2.3.2.4 Théorème de prise de moyenne volumique

Nous listons dans cette partie les théorèmes dans le cas d'un écoulement polyphasique à travers un milieu poreux non déformable et immobile.

Théorème de prise de moyenne spatiale scalaire(Gray et al. [149]) :

Dans le cas de l'étude d'écoulement polyphasique, les intégrales présentés ci-dessous traduisent les effets à l'interface entre la phase β et la phase ω ainsi qu'entre la phase β et le

solide (phase σ).

$$\langle \nabla c_{A\beta} \rangle = \nabla \langle c_{A\beta} \rangle + \frac{1}{V} \int_{A_{\beta\omega}} n_{\beta\omega} c_{A\beta} dA + \frac{1}{V} \int_{A_{\beta\sigma}} n_{\beta\sigma} c_{A\beta} dA \tag{2.3}$$

où $A_{\beta i}$ $(i = \omega, k)$ désignent les interfaces entre les phases et $n_{\beta i}$ les vecteurs normaux aux interfaces.

Théorème de prise de moyenne spatiale vectorielle

$$\langle \nabla v_\beta c_{A\beta} \rangle = \nabla . \langle v_\beta c_{A\beta} \rangle + \frac{1}{V} \int_{A_{\beta\omega}} n_{\beta\omega} . v_\beta c_{A\beta} dA + \frac{1}{V} \int_{A_{\beta\sigma}} n_{\beta\sigma} . v_\beta c_{A\beta} dA \tag{2.4}$$

Théorème temporel de prise de moyenne volumique :
Le théorème de transport de Reynolds appliqué à l'intégration volumique d'une dérivée temporelle s'écrit sous la forme :

$$\langle \frac{\partial c_{A\beta}}{\partial t} \rangle = \frac{\partial \langle c_{A\beta} \rangle}{\partial t} - \frac{1}{V} \int_{A_{\beta\omega}} n_{\beta\omega} . c_{A\beta} \mathbf{w}_{\beta\omega} dA \tag{2.5}$$

où $\mathbf{w}_{\beta i}$ $(i = \omega, k)$ désignent les vitesses aux interfaces

2.3.2.5 Procédure générale d'établissement des équations macroscopiques

La méthode de prise de moyenne volumique qui permet d'obtenir les équations macroscopiques comporte plusieurs étapes successives. La Figure 2.11 schématise la procédure générale que nous adopterons pour élaborer nos equations macroscopiques. Notons que cette méthodologie est identique à celle utilisée par Golfier et al. [36], Orgogozo et al. [77], ou encore Quintard et Whitaker [93].

1. La première étape de la procédure consiste à définir le volume élémentaire représentatif (VER) et le problème à l'échelle de pore (equations microscopiques et conditions aux limites).
2. La seconde étape consiste à appliquer les théorèmes de prise de moyenne volumique aux equations à l'échelle de pore afin d'obtenir la formulation générale des équations moyennes à l'échelle de Darcy. Le problème qui subsiste à ce stade est que ces équations ne sont pas fermées car elles impliquent l'existence des paramètres à l'échelle du pore. C'est pour cette raison qu'il faut procéder à une décomposition dite de Gray où on considère les champs microscopiques comme étant donnés par la somme des valeurs moyennes et d'un terme de déviation autour de ces moyennes :

$$\tilde{c}_{Ai} = c_{Ai} - \langle c_{Ai} \rangle^i \tag{2.6}$$

3. Le problème qui régit les déviations (champs de déviation) est obtenu en soustrayant de l'équation moyenne non-fermée (étape 2) à l'équation différentielle microscopique (étape 1). Le problème ainsi obtenu fait intervenir des termes sources issus de l'échelle supérieure. Ces termes sources traduisent un transfert d'information de la grande échelle à la petite échelle.

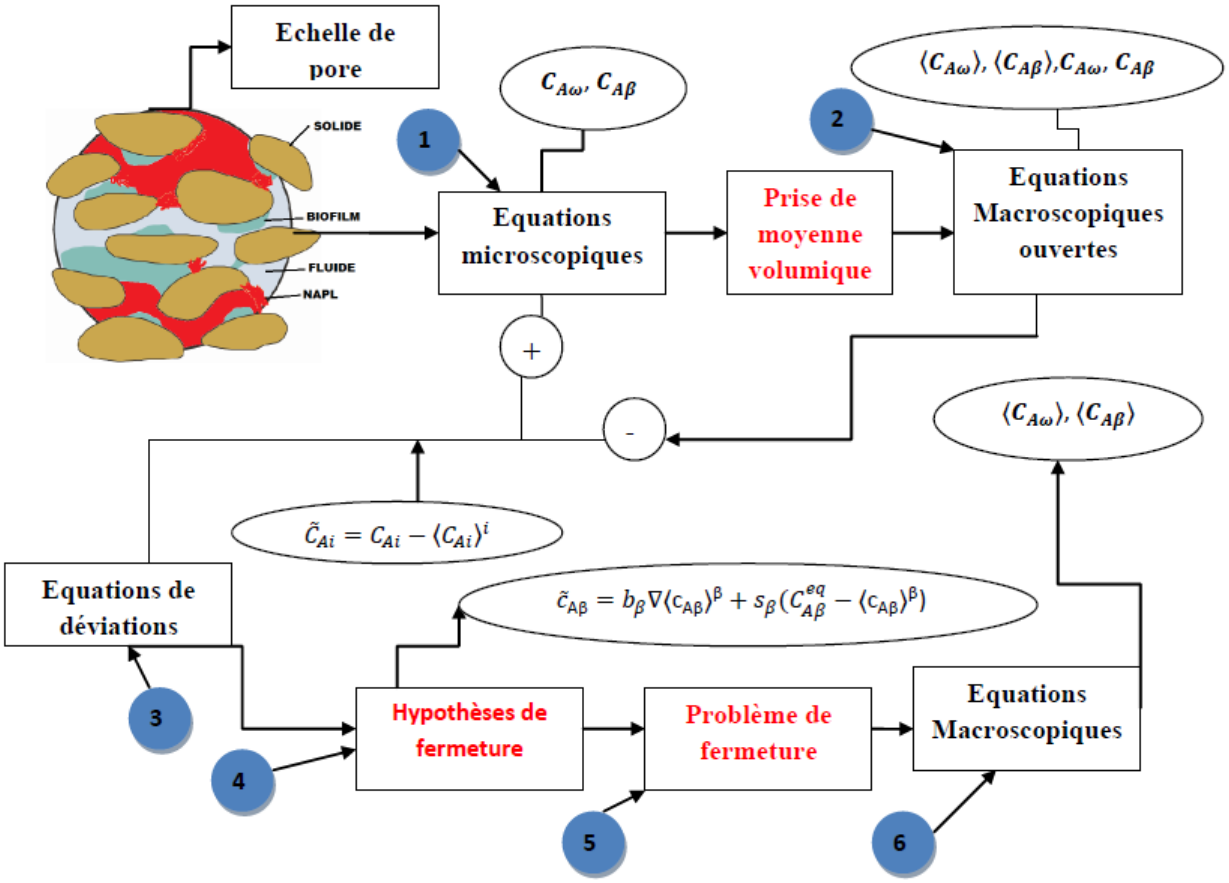

FIGURE 2.11 – Schématisation de la méthode de prise de moyenne volumique

4. A partir des termes sources (étape 3), on formule une relation linéaire reliant les champs de déviation aux variables moyennées et leurs dérivées. C'est la **relation de fermeture** ou hypothèse de fermeture.
5. Pour définir les **problèmes de fermeture** dont les solutions sont les variables de fermeture, la méthode consiste à insérer la relation de fermeture dans le problème mathématique de l'étape 3, c'est-à-dire celle qui régit les champs de déviation. Les problèmes de fermeture ne font intervenir que des données microscopiques et la résolution des problèmes de fermeture à l'échelle de pore permet de calculer les paramètres dits effectifs des équations macroscopiques de transport.
6. En injectant la relation de fermeture de l'étape 4 dans les équations macroscopiques (non fermées) de l'étape 2, on obtient des équations macroscopiques ne contenant que des valeurs macroscopiques (equations macroscopiques fermées).
7. La dernière étape de la procédure est la validation du modèle macroscopique obtenu par changement d'échelle (prise de moyenne volumique). Cette étape de validation consiste par exemple à comparer les résultats de la simulation numérique directe (résolution du problème microscopique à l'échelle du domaine) qualifié de « DNS » avec

les résultats macroscopiques (e.g., Golfier et al. [36], Orgogozo et al. [77]). Nous utiliserons cette méthode pour évaluer la pertinence du modèle macroscopique.

2.4 Conclusion

Ce travail bibliographique a permis de faire un tour d'horizon des études expérimentales utilisant les micromodèles et d'approfondir les connaissances sur les méthodes de changement d'échelle.

L'état de l'art expérimental a permis de dégager quelques solutions sur la conception et la mise en place de notre dispositif expérimental de laboratoire. Sur la base de cet état de l'art et de notre cahier des charges (utilisation de toluène, surface présentant une bonne bioadhérence), le verre s'est révélé être le matériau le plus pertinent pour notre étude. Trois différentes techniques de conception de micromodèle ont été testées et comparées : gravure par attaque acide, au laser et par sablage. C'est finalement cette dernière option qui a été retenue compte tenu des contraintes expérimentales (taille centimétique de la cellule, forte variabilité de la taille des canaux).

Dans ce chapitre, une recherche bibliographique sur les modèles de transport incluant un biofilm est effectuée, et nous avons mis l'accent sur les modèles développés à partir de la méthode de prise de moyenne volumique. Nous envisageons le développement d'un modèle similaire mais en rajoutant une phase supplémentaire (phase huile).

Chapitre 3

Modèle de transport et de biodégradation du NAPL en milieu poreux

---

La modélisation du transport de NAPL impliquant une phase bactérienne en milieu poreux est complexe. Peu des travaux (modèles) existent sur le transport et la biodégradation du NAPL dans des conditions multiphasiques (eau/huile/biofilm) alors que ces processus jouent un rôle clé dans la biodégradation in-situ. Cependant, plusieurs études (Golfier et al. [36] ; Davit et al. [153] ; Laurent et al. [77]) se sont intéressés au transport et à la biodégradation des polluants organiques dissous en milieu poreux. Les modèles issus de ces travaux sont développés à l'aide de la méthode de prise de moyenne volumique et ne prennent pas en compte la présence d'une phase organique pure à l'échelle de pore. L'objectif de ce travail est d'étendre les résultats théoriques obtenus par Golfier et al. [36], Davit et al. [153], Orgogozo et al. [77] aux systémes multiphasiques. L'effort de recherche se focalisera sur l'impact de cette phase supplémentaire (NAPL) sur la dynamique du système eau/biofilm (modification de la tension superficielle, effet de toxicité, production de biosurfactant,...).

Le papier qui suit et qui constitue ce chapitre (article publié dans la revue Transport In Porous Media, Bahar et al. (2016)) présente le développement théorique du modèle de transport et biodégradation du NAPL en milieu poreux. Les résultats des calculs des propriétés effectives seront donnés pour illustrer les effets des processus à l'échelle de pore (présence de biofilm, distribution des blobs de NAPL,...). Finalement, nous déterminons le domaine de validité du modèle pour différents Péclets et Damköhler.

An upscaled model for bio-enhanced NAPL Dissolution in porous media

Received 23 September 2015 ; accepted after revision 17 May 2016

abstract

We develop a Darcy scale model for multiphase transport in porous media colonized by biofilms. We start with the pore-scale description of mass transfer within and between the phases (water, biofilm and NAPL phases) and biologically-mediated reactions. The macroscale mass balance equations under local mass equilibrium condition at the fluid-biofilm interface are derived from the pore scale problem, obtained by the method of volume

averaging. The case of local mass equilibrium considered here finally provides one mass-balance equation for the fluid and biological phases coupled with the NAPL phase equation. We predict the effective dispersion tensor and the mass exchange coefficient that appear in the upscaled equation by solving closure problems on representative unit cells. The results of this model have been compared with pore scale simulations. Based on these comparisons, the validity domain of this model has been identified in terms of hydrodynamic and biochemical conditions of transport (i.e., Péclet and Damkôhler numbers). This study should provide a better insight on the impact of biofilm dynamics near NAPL sources through the upscaling process.

List of symbols

A_{ij}	Interface between the i- phase and j- phase (i,j : ω, β, γ, k)
$\mathbf{b}_\beta$	Closure variable that maps $\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^\beta$ onto $\tilde{c}_{A\beta}$, m
$\mathbf{b}_\omega$	Closure variable that maps $\nabla\langle c_{A\omega}\rangle^\omega$ onto $\tilde{c}_{A\omega}$, m
$\mathbf{b}_\beta^{'}$	Dimensionless form of the closure variable $\mathbf{b}_\beta$, $(-)$
$\mathbf{b}_\omega^{'}$	Dimensionless form of the closure variable $\mathbf{b}_\omega$, $(-)$
$c_{A\beta}$	Pore scale concentration of species A in the β phase, (kg m^{-3})
$c_{A\omega}$	Pore scale concentration of species A in the ω phase, (kg m^{-3})
$\langle c_{A\beta}\rangle$	Averaged concentration of species A in the β- phase, (kg m^{-3})
$\langle c_{A\omega}\rangle$	Averaged concentration of species A in the ω- phase, (kg m^{-3})
$c_{B\omega}$	Pore scale concentration of species B in the ω- phase, (kg m^{-3})
$c_{A\beta}^{eq}$	Concentration of species A in the β- phase in equilibrium with ρ_γ, (kg m^{-3})
$c_{A\omega}^{eq}$	Concentration of species A in the ω- phase in equilibrium with ρ_γ, (kg m^{-3})
$\tilde{c}_{A\beta}$	Spatial deviation of $c_{A\beta}$, (kg m^{-3})
$\tilde{c}_{A\omega}$	Spatial deviation of $c_{A\omega}$, (kg m^{-3})
c_0	Injected concentration in the complex 2D geometry , (kg m^{-3})
$\{c_A\}$	Equilibrium weighted average concentration of species A, (kg m^{-3})
$D_{A\beta}$	Diffusion coefficient of species A in the β- phase, (m^2 s^{-1})
$\mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}$	Effective diffusion tensor of species A in the ω-phase, (m^2 s^{-1})
$\mathbf{D}_{\beta\omega}^*$	Darcy scale effective dispersion tensor for the species A , (m^2 s^{-1})
$\mathbf{D}_\Gamma$	Dimensionless effective diffusion tensor for the species A, $(-)$
Da_A	$= \frac{\mu_{A\omega}\rho_\omega L^2}{\mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}K_{A\omega}}$, Damköhler number associated to species A, $(-)$
$\mathbf{d}_{\beta\omega}^*$	A velocity-like effective transport coefficient, (m s^{-1})
$\mathbf{I}$	Unit tensor
$K_{A\omega}$	Half-saturation constant for the species A in the ω- phase, (kg m^{-3})
k	Permeability, (m^2)
$K_{B\omega}$	Half-saturation constant for the species B in the ω- phase, (kg m^{-3})
K_{ij}	Equilibrium partitioning coefficient between the i-phase and j-phase for the species A, $((-))$
L	Characteristic length associated with the averaging volume,(m)
L_c	Characteristic length defining the macroscale,(m)

l_i	Lattice vector for the ith direction (i=1,2,3), (m)
l_β	Characteristic length associated to the β-phase,(m)
$\mathbf{n}_{ij}$	Normal vector pointing outward from the i- phase toward the j-phase
p_β	Fluid pressure in the β-phase, (Pa)
Pe_A	$= \frac{\|\mathbf{v}_\beta\| l_\beta}{D_{A\beta}}$, Péclet number associated to species A, $(-)$
$R_{A\omega}$	Nonlinear Monod kinetic reaction term, $(kg\ m^{-3}\ s^{-1})$
s_β	Closure variable that maps $c_{A\beta}^{eq} - \langle c_{A\beta}\rangle^\beta$ onto $\tilde{c}_{A\beta}$
s_ω	Closure variable that maps $K_{\beta\omega}^{-1}(c_{A\beta}^{eq} - \langle c_{A\beta}\rangle^\beta)$ onto $\tilde{c}_{A\omega}$
$\mathbf{s}_\beta^{'}$	Dimensionless form of the closure variable s_β, $(-)$
$\mathbf{s}_\omega^{'}$	Dimensionless form of the closure variable s_ω, $(-)$
t	Time, (s)
$t^{'}$	Dimensionless time, (-)
$\mathbf{U}_{\beta\omega}$	A velocity-like effective transport coefficient, $(m\ s^{-1})$
V	Averaging volume, (m^3)
V_i	Volume of the i-phase, (m^3)
$\mathbf{v}_i$	Velocity of the i-phase, $(m\ s^{-1})$
$\tilde{\mathbf{v}}_i$	Spatial deviation of $\mathbf{v}_i$, $(m\ s^{-1})$
$\mathbf{w}_{ij}$	Interface displacement velocity from the i- phase toward the j-phase, (m s^{-1})

Greek Symbols

α_A^*	Mass-transfer coefficient for the species A, $(m\ s^{-1})$
β	Fluid phase
γ	NAPL phase
ε_i	Volume fraction of the i-phase
μ_β	Fluid dynamic viscosity, $(Pa.s)$
$\mu_{A\omega}$	Specific degradation rate for the species A in the ω- phase, (s^{-1})
ρ_ω	Microbial density in the ω- phase, (kg m^{-3})
ρ_γ	NAPL phase density, $(kg\ m^{-3})$
ρ_β	Water phase density, $(kg\ m^{-3})$
σ	Solid phase
ω	Biofilm phase
$\langle . \rangle^i$	Intrinsic average for the i-phase
$\langle . \rangle$	Superficial average

3.1 Introduction

Contamination of groundwater by chemical solvent and other industrial waste has become matter of increasing public concern [93,96]. In particular, contamination of aquifers by non-aqueous phase liquids (NAPLs) represents a serious issue for conventional cleanup methods and hence, a real challenge for bioremediation techniques. This contamination leads to the formation of NAPL blobs or ganglia trapped in the soil which act as a long-term source of groundwater pollution [93]. Transport modelling of non aqueous phase liquids

(NAPLs) in soils and aquifers has received a lot of attention in the past. Most of the proposed models [9, 70, 104] consider a two- or three-phase system that lead to explore the NAPL blobs dissolution and mobilization in porous media. The interest in NAPL dissolution enhancement due to biological activity, however, is more recent. In Fig.3.1, we illustrate this situation, where β refers to the flowing water, NAPL blobs are denoted by γ, ω is the biofilm phase and σ refers to the solid phase.

Modelling NAPL transport involving microbiological processes is complex because of the biological, physical and chemical processes involved at different scales. A literature survey of the impact of biogeochemical processes on the fate of pollutant plume can be found in [5]. Bacterial populations, mainly present at the surface of the grains as biofilms [77], are found to be the primary attenuation mechanism for organic solute in groundwater. Biofilm have important applications in variety of technologies including bioremediation [78, 107], and more recently have been of interest in applications of microbial oil enhanced recovery where bacteria are utilized for oil mobilization in a reservoir [7, 112, 126]. In addition, the phenomenon of bacterial chemotaxis increases significantly contaminant degradation in soils and aquifers [41].

The most of studies [36, 63, 68, 71, 77, 145, 153] interested in solute transport in porous media colonized by biofilms, are focused away from the pollution source. These models, however, usually fail to predict the fate of pollutant plume precisely since the biochemical interactions close to NAPL source are ignored and most of key parameters need to be fitted or determined *a priori* [87, 109]. One method to address this latter issue is to keep an explicit coupling between the micro-scale information and these macroscopic coefficients through an upscaling process. In Golfier et al. [36], for instance, a one-equation model has been derived to describe the Darcy-scale transport of a solute undergoing biodegradation in porous media. This model is obtained from the method of volume averaging under local mass equilibrium assumption.

Significant research effort has been put into investigating the transport and biodegradation of dissolved contaminants [36, 68, 84, 145, 153] but comparatively very few works [23, 61] are focused on the study of three-phase system (oil/water/biofilm system). Nevertheless, these flow conditions play a key role in the overall process of *in situ* biodegradation. In a three-phase system with a single component exchanging through the phase interfaces, indeed, mass exchange between phases is classically described by a partitioning coefficient or even a simple Dirichlet condition in a pure binary case. For multi-species systems, the problem is more complex ; under certain conditions, ideal solubilization can be considered and mass transfer of dissolved compounds is thus assumed to obey to equilibrium relationships such as Raoult's law. Anyway, in both cases, significant questions remain in the presence of bacterial activity. How does the biofilm affect interfacial mass transfer processes and NAPL solubility ? And, conversely, how does the toxicity of high concentration of contaminants near NAPL sources impact the viability and the dynamics of contaminant-degrading bacteria ?

Several studies, have shown an increase of NAPL dissolution in the presence of microorganisms [126, 155]. Microorganisms produce amphiphilic compounds, termed biosurfactant, which reduce interfacial tension between immiscible phases [126]. Paulsen et al. [66] have obtained images showing the impact of biosurfactants on the oil droplet, where the bacte-

ria were strongly adhered to the oil phase. These images highlight the existence of a local change in interfacial tension that leads to the rupture of the oil surface [66]. In the presence of non-miscible contaminant, additional feedback mechanisms may also appear with the impact of NAPL toxicity effect on biofilm growth [121, 129]. Ray and Peters [129] reported inhibition in both anabolism and catabolism of *Pseudomonas aeruginosa* as a result of exposure to high concentrations of NAPL. Singh and Olson [121] evaluated the toxic effect of high concentrations of NAPL on bacteria under prolonged exposure and results from this work indicate that the bacterial cells near the NAPL become nonviable in time, whereas cells accumulating farther away use chemotaxis to migrate toward regions with optimal chemical concentrations in the form of concentrated bacterial bands. This optimal concentration region corresponds to a balance between a minimum level of contaminant toxicity and the highest available nutrient concentration.

In the present paper, we extend the theoretical results obtained by Golfier et al. [36], Davit et al. [153] and Orgogozo et al. [77] to three-phase systems. The research effort will be mainly focused on the impact of the additional phase (NAPL phase) on transport and biodegradation processes rather than the biofilm growth dynamics itself (changes of biofilm distribution in the porous medium for multiphase systems).

The goals of this work are : (1) to develop a macroscopic model of multiphase transport at the Darcy-scale through volume averaging, based on the data available at pore-scale ; (2) to calculate the effective properties and determine the effect of pore scale processes (biofilm growth, NAPL blob distribution...) on these effective properties and (3) to determine the validity domain of this model in terms of hydrodynamic and transport conditions (*i.e.*, Péclet and Damköhler numbers).

3.2 Pore scale problem

The pore scale problem under consideration corresponds to the mass balance of a component A within a three-phase system, respectively the fluid (β-phase), the biofilm (ω-phase), and the NAPL (γ-phase) phases. Water flows through a biofilm-occupied porous medium (the σ-phase is the solid phase) where NAPL blobs are present. The biofilm is assimilated to a locally homogeneous phase (e.g. [14]). The γ-phase is assumed trapped residually into the porous matrix and it is immobile (e.g. [93, 95]). In the ω-phase, only diffusion and reaction phenomena take place, while in the β-phase, solute transport is governed by advection and diffusion. We do not consider here the effect of other physical parameters (temperature and pressure). We restrict our analysis to the simplest possible process in which the γ phase consists of a single component (species A) that is slightly soluble in the β phase so that it can be considered as a tracer dissolved in the aqueous phase (e.g. [95]). It is biodegradable but can be toxic for bacteria at high concentrations. We consider an incompressible fluid flow governed by Stokes equations and the velocity field is assumed to be known.

The pore-scale boundary value problem under consideration is described by the following microscopic equations

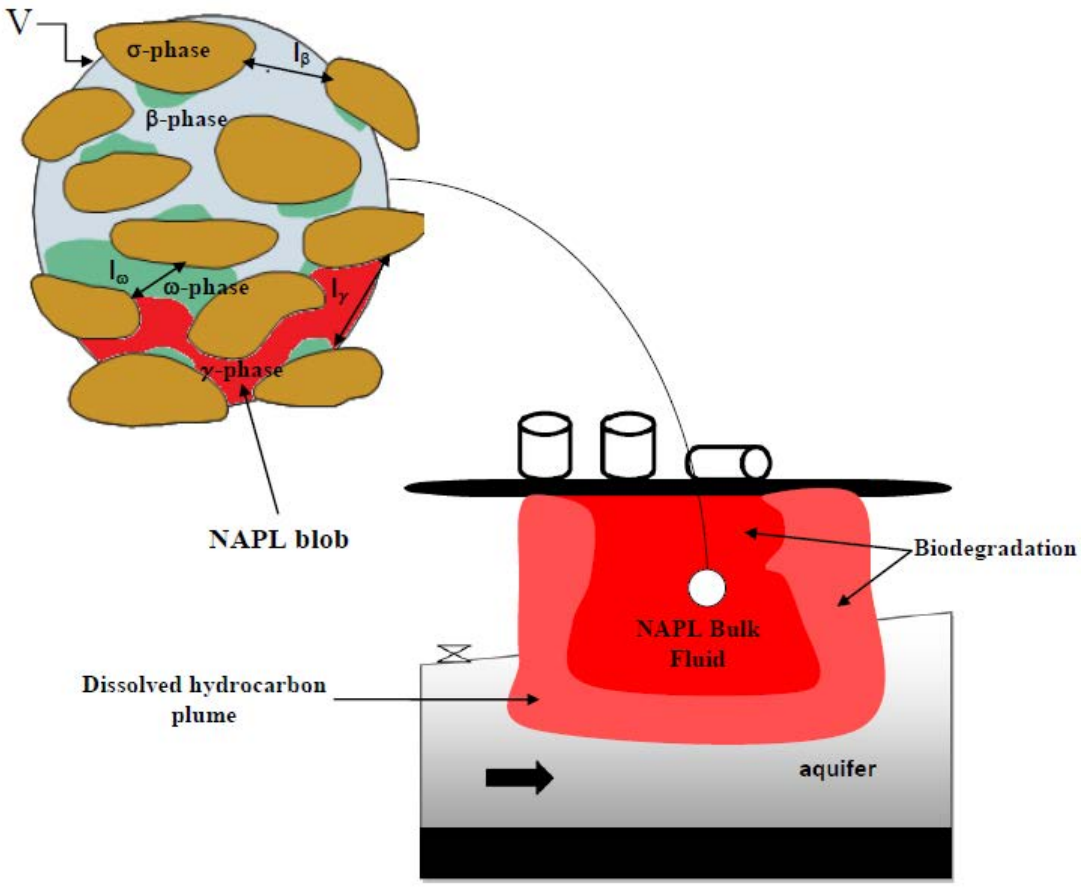

FIGURE 3.1 – Sketch of an aquifer contamination by a trapped hydrocarbon phase

Mass balance equations

$$\frac{\partial(c_{A\beta})}{\partial t} + \nabla.(\mathbf{v}_{A\beta} c_{A\beta}) = 0 \qquad \text{in the } \beta\text{-phase} \tag{3.1}$$

$$\frac{\partial(c_{A\omega})}{\partial t} + \nabla.(\mathbf{v}_{A\omega} c_{A\omega}) = R_{A\omega} \quad \text{in the } \omega\text{-phase} \tag{3.2}$$

$$\frac{\partial \rho_{\gamma}}{\partial t} = 0 \quad \text{in the } \gamma\text{-phase} \tag{3.3}$$

Momentum equation

$$\nabla p_{\beta} = \mu_{\beta} \nabla^2 \mathbf{v}_{\beta} \quad \text{in the } \beta\text{-phase} \tag{3.4}$$

$$\text{B.C.1} \quad c_{A\beta}(\mathbf{v}_{A\beta} - \mathbf{w}_{\beta\sigma}).\mathbf{n}_{\beta\sigma} = 0 \qquad \text{at } A_{\beta\sigma} \tag{3.5}$$

$$\text{B.C.2} \quad c_{A\omega}(\mathbf{v}_{A\omega} - \mathbf{w}_{\omega\sigma}).\mathbf{n}_{\omega\sigma} = 0 \qquad \text{at } A_{\omega\sigma} \tag{3.6}$$

$$\text{B.C.3} \quad c_{A\beta} = K_{\beta\omega} c_{A\omega} \qquad \text{at } A_{\beta\omega} \tag{3.7}$$

$$\text{B.C.4} \quad c_{A\beta}(\mathbf{v}_{A\beta} - \mathbf{w}_{\beta\omega}).\mathbf{n}_{\beta\omega} = c_{A\omega}(\mathbf{v}_{A\omega} - \mathbf{w}_{\beta\omega}).\mathbf{n}_{\beta\omega} \qquad \text{at } A_{\beta\omega} \tag{3.8}$$

$$\text{B.C.5} \quad c_{A\beta} = K_{\beta\gamma}\rho_\gamma = c_{A\beta}^{eq} \qquad \text{at } A_{\beta\gamma} \tag{3.9}$$

$$\text{B.C.6} \quad c_{A\omega} = K_{\omega\gamma}\rho_\gamma = c_{A\omega}^{eq} \qquad \text{at } A_{\omega\gamma} \tag{3.10}$$

$$\text{B.C.7} \quad c_{A\beta}(\mathbf{v}_{A\beta} - \mathbf{w}_{\beta\gamma}).\mathbf{n}_{\beta\gamma} = -\rho_\gamma \mathbf{w}_{\beta\gamma}.\mathbf{n}_{\beta\gamma} \qquad \text{at } A_{\beta\gamma} \tag{3.11}$$

$$\text{B.C.8} \quad c_{A\omega}(\mathbf{v}_{A\omega} - \mathbf{w}_{\omega\gamma}).\mathbf{n}_{\omega\gamma} = -\rho_\gamma \mathbf{w}_{\omega\gamma}.\mathbf{n}_{\omega\gamma} \qquad \text{at } A_{\omega\gamma} \tag{3.12}$$

$$\text{B.C.9} \quad \mathbf{v}_\beta = 0 \qquad \text{at } A_{\beta\sigma} \tag{3.13}$$

$$\text{B.C.10} \quad \mathbf{v}_\beta = 0 \qquad \text{at } A_{\beta\omega} \tag{3.14}$$

$$\text{B.C.11} \quad \mathbf{v}_\beta = 0 \qquad \text{at } A_{\beta\gamma} \tag{3.15}$$

Here, $c_{A\beta}$ and $c_{A\omega}$ represent the mass concentration of component A (substrate) in the fluid and biofilm phases, respectively ; ρ_γ is the mass concentration of pure species A in the γ phase ; $\mathbf{v}_{A\beta}$ represent the velocity of component A in the β phase and $\mathbf{v}_\beta$ the mass average fluid velocity ; $c_{A\beta}^{eq}$ is the concentration of species A in the β- phase in equilibrium with γ ; $c_{A\omega}^{eq}$ is the concentration of species A in the ω- phase in equilibrium with γ ; $\mathbf{w}_{\beta\omega}$ represents the velocity of the fluid-biofilm interface $A_{\beta\omega}$, $\mathbf{w}_{\beta\gamma}$, $\mathbf{w}_{\beta\sigma}$, $\mathbf{w}_{\omega\beta}$,$\mathbf{w}_{\omega\gamma}$ and $\mathbf{w}_{\omega\sigma}$ are similarly defined. $R_{A\omega}$ is a non linear kinetic reaction term.

In the presence of NAPL phase, the growth of bacteria liberates biosurfactants and solubilizing agents [110] present only in the biofilm. This mechanism leads to a change in stress tension and hence impact the phase velocities. In addition, the equilibrium partitioning coefficient between the biofilm and NAPL phases ($K_{\omega\gamma}$) also depends on the surfactant concentration [89]. Additional momentum equation for the γ phase and mass balance equation for the surfactant concentration are theoretically required for describing this complex process. As a first approximation, we assumed : (i) a negligible impact on the NAPL mobility considered as immobile (e.g. [1, 95]) and (ii) a constant concentration of biosurfactants in the biofilm phase. Thus, $K_{\omega\gamma}$ is constant over the ω-γ interface. Note that the values of $K_{\beta\gamma}$ and $K_{\omega\gamma}$ may be different to account for the presence of biosurfactants at the ω -γ interface and we have usually this relation

$$K_{\beta\gamma} \leq K_{\omega\gamma} \tag{3.16}$$

Otherwise, to meet the thermodynamic equilibrium of the system (β, ω and γ) at rest, the equilibrium partitioning coefficient between the fluid and biofilm phases ($K_{\beta\omega}$) is fixed and respects the relationship

$$K_{\beta\omega} = \frac{K_{\beta\gamma}}{K_{\omega\gamma}} \tag{3.17}$$

In this paper, we use the Haldane model to characterize NAPL biodegradation. This model takes into account for inhibitory effect of substrate concentration on bacterial growth,

such as described in the literature [111]. Under these conditions the reaction term is defined as

$$R_{A\omega} = \mu_{A\omega}\rho_\omega c^*_{B\omega}\frac{c_{A\omega}}{c_{A\omega} + K_{A\omega} + \frac{c^2_{A\omega}}{K_i}} \tag{3.18}$$

$$\text{with :} \qquad c^*_{B\omega} = \frac{c_{B\omega}}{c_{B\omega} + K_{B\omega}} \tag{3.19}$$

A comparison of both kinetics for a given set of parameters is illustrated in Fig.3.2. Contrary

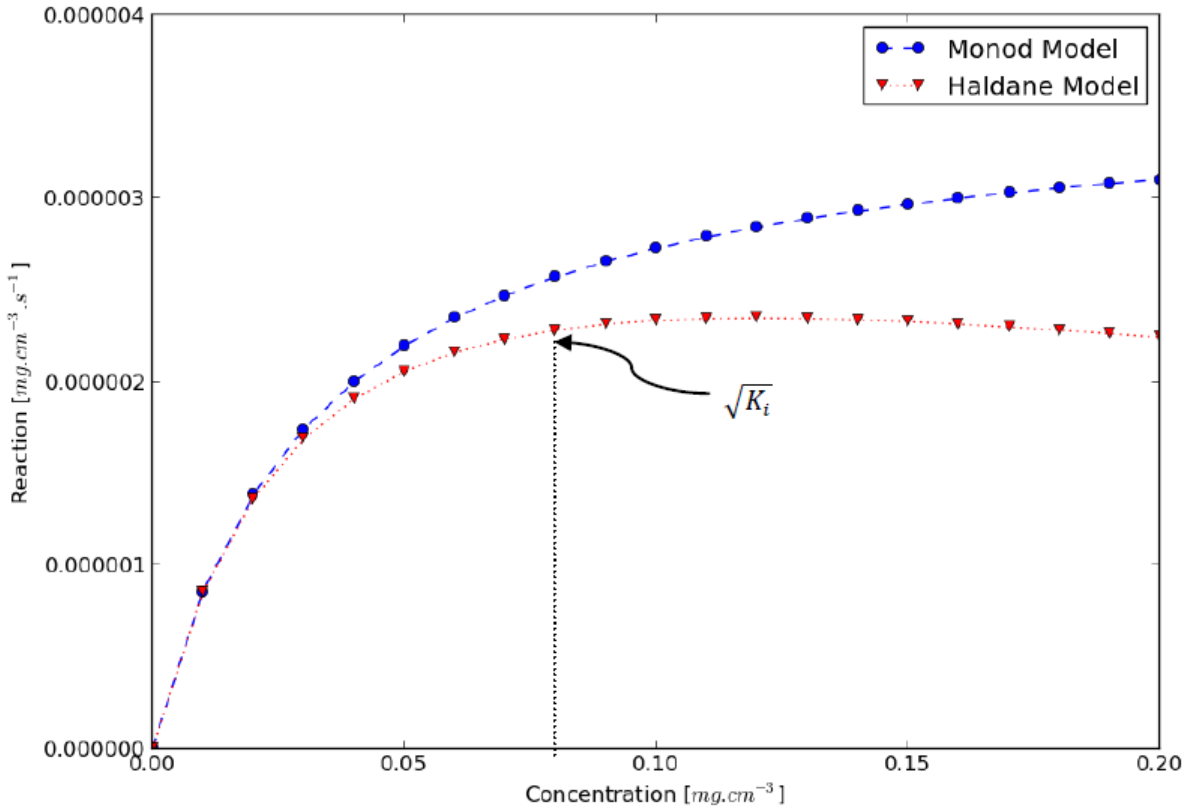

FIGURE 3.2 – Comparison of Haldane and Monod kinetics ($c^*_{B\omega} = 1$; $\mu_{A\omega} = 3.06\times10^{-5}\ s^{-1}$; $\rho_\omega = 0.1\, mg.\, cm^{-3}$; $K_{A\omega} = 3.2 \times 10^{-2}\, mg.\, cm^{-3}$; $K_i = 0.0045\, mg.\, cm^{-3}$)

to Monod kinetics, we observe that the reaction rate for Haldane kinetics decreases with substrate concentration beyond a limit value $\sqrt{K_i}$. This value corresponds to the hydrocarbon concentration from which bacterial growth is inhibited.

This model, Eq.(3.18), considers the system with a single substrate (carbon and energy source) which has been denoted as species A, and a single electron acceptor (such as oxygen) which has been denoted as species B. For the sake of simplicity, we suppose a large excess of the species B (oxygen) (e.g. [36, 77]). As a consequence, the inhibitory effects are not involved in the consumption of the species B and $c_{B\omega}$ is constant. In these equations, $\mu_{A\omega}$ represents the specific degradation rate for the substrate, ρ_ω is the microbial concentration, $K_{A\omega}$ and $K_{B\omega}$ are the half-saturation constants for the substrate and electron acceptor

(species B), K_i is the inhibition constant. Note that $c_{A\omega}$ and $c_{B\omega}$ are spatial average concentrations because the biofilm is itself a multiphase system consisting of cells and extracellular material [14, 15]. In addition, we determine the volumetric rate of dissolution of the NAPL phase. We use the two conditions given by Eqs.(4.13) and (3.12) and arrange the form of these equations as

$$\mathbf{w}_{\beta\gamma}.\mathbf{n}_{\beta\gamma} = -\frac{1}{\rho_\gamma} c_{A\beta}(\mathbf{v}_{A\beta} - \mathbf{w}_{\beta\gamma}).\mathbf{n}_{\beta\gamma} \qquad \text{at } A_{\beta\gamma} \tag{3.20}$$

$$\mathbf{w}_{\omega\gamma}.\mathbf{n}_{\omega\gamma} = -\frac{1}{\rho_\gamma} c_{A\omega}(\mathbf{v}_{A\omega} - \mathbf{w}_{\omega\gamma}).\mathbf{n}_{\omega\gamma} \qquad \text{at } A_{\omega\gamma} \tag{3.21}$$

3.3 Volume Averaging

Our analysis of the mass transport problem suggested by Fig.3.1 is based on the development of the macro-scale equations for species A. We follow the developments presented in Quintard and Whitaker [95] and Golfier et al. [36] who used the method of volume averaging [131] to derive the macro-scale equations.

Referring to the method of volume averaging, we define the superficial average concentration of species A in the ω-phase (biofilm) as

$$\langle c_{A\omega} \rangle = \frac{1}{V} \int_{\vartheta_\omega(x,t)} c_{A\omega} dV \tag{3.22}$$

with V, describing the averaging volume shown in Fig.3.1 (the averaging domain is a geometric entity of macroscopic field $\mathbb{V}_\mathbb{M}$) and $\vartheta_\omega(x,t)$ is the Euclidean space representing the ω-phase contained in the volume V. A similar relation holds for the average concentration of species A in the β-phase,

$$\langle c_{A\beta} \rangle = \frac{1}{V} \int_{\vartheta_\beta(x,t)} c_{A\beta} dV \tag{3.23}$$

The intrinsic average concentrations for the two phases (ω and β) are given by

$$\langle c_{A\omega} \rangle^\omega = \frac{1}{V_\omega(x,t)} \int_{\vartheta_\omega(x,t)} c_{A\omega} dV \qquad \langle c_{A\beta} \rangle^\beta = \frac{1}{V_\beta(x,t)} \int_{\vartheta_\beta(x,t)} c_{A\beta} dV \tag{3.24}$$

with $V_\beta(x,t)$ and $V_\omega(x,t)$ the Lebesgue measures of $\vartheta_\beta(x,t)$ and $\vartheta_\omega(x,t)$, that are, the volumes of the respective phases. Superficial and intrinsic averages given by Eqs.(3.22) and (3.23) are related by

$$\langle c_{A\beta} \rangle = \varepsilon_\beta(x,t) \langle c_{A\beta} \rangle^\beta \qquad \langle c_{A\omega} \rangle = \varepsilon_\omega(x,t) \langle c_{A\omega} \rangle^\omega \tag{3.25}$$

where $\varepsilon_\omega(x,t)$ and $\varepsilon_\beta(x,t)$ represent the volume fractions of the ω- and β-phases, respectively defined as

$$\varepsilon_\beta(x,t) = \frac{V_\beta(x,t)}{V} \qquad \varepsilon_\omega(x,t) = \frac{V_\omega(x,t)}{V} \tag{3.26}$$

In practice, the volume of biofilm v_ω changes in time due to the bacteria growth. However, we assumed in the present study that changes in the V_ω and V_β volumes are uncoupled from the transport problem due to the disparity of the characteristic time scales. Indeed, the characteristic time for biomass growth (about 10^4 to 10^6 seconds) is usually much larger than the time scale for substrate transport by diffusion and convection (from 10^{-3} to 10^3 seconds) [20]. This assumption is commonly adopted for this kind of problem (e.g., [36,153]). As a consequence, bacterial growth will be neglected hereafter.
In the developments that follow, the phase variables $c_{A\beta}$ and $c_{A\omega}$ can be expressed following Gray's decomposition [149]

$$c_{A\beta} = \langle c_{A\beta}\rangle^\beta + \tilde{c}_{A\beta} \tag{3.27}$$

$$c_{A\omega} = \langle c_{A\omega}\rangle^\omega + \tilde{c}_{A\omega} \tag{3.28}$$

with $\tilde{c}_{A\beta}$ and $\tilde{c}_{A\omega}$ the spatial deviation concentrations in both phases.

We begin our analysis by applying the spatial and temporal averaging theorems, that can be expressed as [131]

$$\langle \nabla c_{A\beta}\rangle = \nabla\langle c_{A\beta}\rangle + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}} \mathbf{n}_{\beta\omega} c_{A\beta} dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} \mathbf{n}_{\beta\gamma} c_{A\beta} dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} \mathbf{n}_{\beta\sigma} c_{A\beta} dA \tag{3.29}$$

$$\begin{aligned}\langle \nabla.(\mathbf{v}_{A\beta} c_{A\beta})\rangle &= \nabla.\langle \mathbf{v}_{A\beta} c_{A\beta}\rangle + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}} \mathbf{n}_{\beta\omega}.(\mathbf{v}_{A\beta} c_{A\beta}) dA \\ &+\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} \mathbf{n}_{\beta\gamma}.(\mathbf{v}_{A\beta} c_{A\beta}) dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} \mathbf{n}_{\beta\sigma}.(\mathbf{v}_{A\beta} c_{A\beta}) dA\end{aligned} \tag{3.30}$$

$$\begin{aligned}\langle \frac{\partial c_{A\beta}}{\partial t}\rangle &= \frac{\partial \langle c_{A\beta}\rangle}{\partial t} - \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}} \mathbf{n}_{\beta\omega}.c_{A\beta}\mathbf{w}_{\beta\omega} dA \\ &-\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} \mathbf{n}_{\beta\gamma}.c_{A\beta}\mathbf{w}_{\beta\gamma} dA - \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} \mathbf{n}_{\beta\sigma}.c_{A\beta}\mathbf{w}_{\beta\sigma} dA\end{aligned} \tag{3.31}$$

We consider that the solid phase (σ phase) is rigid, therefore $\mathbf{w}_{i\sigma}.\mathbf{n}_{i\sigma} = 0$ ($i = \beta, \omega, \gamma$). Subsequently, we keep the mass flux at the β-σ and ω-σ interfaces in equations to simplify the representation of the interfacial flux.
We have used the terminology A_β to indicate all the surfaces in contact with the β-phase (*i.e.* $A_{\beta\omega}$, $A_{\beta\gamma}$ and $A_{\beta\sigma}$). The term $\mathbf{n}_{\beta\omega}$ indicates the unit normal pointing outward from the β-phase toward the ω-phase ; $\mathbf{n}_{\beta\gamma}$ and $\mathbf{n}_{\beta\sigma}$ are similarly defined.
First, we can use the volume averaging theorems for obtaining the average transport equation in each phase
β-phase

$$\begin{aligned}&\underbrace{\frac{\partial(\varepsilon_\beta\langle c_{A\beta}\rangle^\beta)}{\partial t}}_{Accumulation} + \underbrace{\nabla.\langle \mathbf{v}_{A\beta} c_{A\beta}\rangle}_{Advection} + \underbrace{\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} \mathbf{n}_{\beta\gamma}.c_{A\beta}(\mathbf{v}_{A\beta} - \mathbf{w}_{\beta\gamma}) dA}_{Interfacial\ flux} \\ &+ \underbrace{\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}} \mathbf{n}_{\beta\omega}.c_{A\beta}(\mathbf{v}_{A\beta} - \mathbf{w}_{\beta\omega}) dA}_{Interfacial\ flux} + \underbrace{\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} \mathbf{n}_{\beta\sigma}.c_{A\beta}(\mathbf{v}_{A\beta} - \mathbf{w}_{\beta\sigma}) dA}_{Interfacial\ flux} = 0\end{aligned} \tag{3.32}$$

ω-phase

$$\underbrace{\frac{\partial(\varepsilon_\omega\langle c_{A\omega}\rangle^\omega)}{\partial t}}_{Accumulation}+\underbrace{\nabla.\langle\mathbf{v}_{A\omega}c_{A\omega}\rangle}_{Advection}+\underbrace{\frac{1}{V}\int_{A_{\omega\gamma}}\mathbf{n}_{\omega\gamma}.c_{A\omega}(\mathbf{v}_{A\omega}-\mathbf{w}_{\omega\gamma})dA}_{Interfacial\ flux}$$
$$+\underbrace{\frac{1}{V}\int_{A_{\omega\beta}}\mathbf{n}_{\omega\beta}.c_{A\omega}(\mathbf{v}_{A\omega}-\mathbf{w}_{\omega\beta})dA}_{Interfacial\ flux}+\underbrace{\frac{1}{V}\int_{A_{\omega\sigma}}\mathbf{n}_{\omega\sigma}.c_{A\omega}(\mathbf{v}_{A\omega}-\mathbf{w}_{\omega\sigma})dA}_{interfacial\ flux}=\underbrace{\varepsilon_\omega\langle R_{A\omega}\rangle^\omega}_{Reaction} \tag{3.33}$$

γ-phase

$$\underbrace{\frac{\partial\langle\rho_\gamma\rangle}{\partial t}}_{Accumulation}+\underbrace{\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}}\rho_\gamma\mathbf{n}_{\beta\gamma}.\mathbf{w}_{\beta\gamma}dA+\frac{1}{V}\int_{A_{\omega\gamma}}\rho_\gamma\mathbf{n}_{\omega\gamma}.\mathbf{w}_{\omega\gamma}dA}_{Interfacial\ flux}=0 \tag{3.34}$$

The macroscopic reaction term that appear in Eq. (3.33) can be expressed as (e.g. [14, 15])

$$\langle R_{A\omega}\rangle^\omega=-\mu_{A\omega}\rho_\omega c^*_{B\omega}\frac{\langle c_{A\omega}\rangle^\omega}{\langle c_{A\omega}\rangle^\omega+K_{A\omega}+\frac{(\langle c_{A\omega}\rangle^\omega)^2}{K_i}} \tag{3.35}$$

To obtain the last equation, Eq.(3.35), we have adopted the following assumptions (used only to linearize the non-linear reaction term)

$$\tilde{c}_{A\omega}<<\langle c_{A\omega}\rangle^\omega,\tilde{c}^2_{A\omega}<<(\langle c_{A\omega}\rangle^\omega)^2. \tag{3.36}$$

The constraints associated with Eq.(3.36) have been previously developed in Wood and Whitaker [15]. Note that, recently, Lugo-Mendèz et al. [51] have revisited the upscaling process of non linear reactive mass transport.
Taking into account the relationships expressing the condition of a dilute solution of species A (additional details are available in [95]) and neglecting the advection term in the ω-phase (e.g. [36, 77]), the superficial average equations (Eq.(3.32) and (Eq.(3.33)) become

$$c_{A\beta}\mathbf{v}_{A\beta}=c_{A\beta}\mathbf{v}_\beta-D_{A\beta}\nabla c_{A\beta} \tag{3.37}$$
$$c_{A\omega}\mathbf{v}_{A\omega}=c_{A\beta}\mathbf{v}_\omega-D_{A\omega}\nabla c_{A\omega} \tag{3.38}$$

β-phase

$$\underbrace{\frac{\partial(\varepsilon_\beta\langle c_{A\beta}\rangle^\beta)}{\partial t}}_{Accumulation}+\underbrace{\nabla.\langle\mathbf{v}_\beta c_{A\beta}\rangle}_{Advection}=\underbrace{\nabla.\langle D_{A\beta}\nabla c_{A\beta}\rangle}_{Dispersion}$$
$$-\underbrace{\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}}\mathbf{n}_{\beta\gamma}.(c_{A\beta}(\mathbf{v}_\beta-\mathbf{w}_{\beta\gamma})-D_{A\beta}\nabla c_{A\beta})dA}_{Interfacial\ flux}-\underbrace{\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}}\mathbf{n}_{\beta\omega}.(c_{A\beta}(\mathbf{v}_\beta-\mathbf{w}_{\beta\omega})-D_{A\beta}\nabla c_{A\beta})dA}_{Interfacial\ flux}$$
$$-\underbrace{\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}}\mathbf{n}_{\beta\sigma}.(c_{A\beta}(\mathbf{v}_\beta-\mathbf{w}_{\beta\sigma})-D_{A\beta}\nabla c_{A\beta})dA}_{Interfacial\ flux} \tag{3.39}$$

ω-phase

$$\underbrace{\frac{\partial(\varepsilon_\omega\langle c_{A\omega}\rangle^\omega)}{\partial t}}_{Accumulation} = \underbrace{\nabla.\langle \mathbf{D_A}_\omega.\nabla c_{A\omega}\rangle}_{Dispersion}$$
$$\underbrace{-\frac{1}{V}\int_{A_{\omega\gamma}} \mathbf{n}_{\omega\gamma}.(c_{A\omega}(\mathbf{v}_\omega-\mathbf{w}_{\omega\gamma})-\mathbf{D_A}_\omega.\nabla c_{A\omega})dA}_{Interfacial\ flux} \underbrace{-\frac{1}{V}\int_{A_{\omega\beta}} \mathbf{n}_{\omega\beta}.(c_{A\beta}(\mathbf{v}_\omega-\mathbf{w}_{\omega\beta})-\mathbf{D_A}_\omega.\nabla c_{A\omega})dA}_{Interfacial\ flux}$$
$$\underbrace{-\frac{1}{V}\int_{A_{\omega\sigma}} \mathbf{n}_{\omega\sigma}.(c_{A\omega}(\mathbf{v}_\omega-\mathbf{w}_{\omega\sigma})-\mathbf{D_A}_\omega.\nabla c_{A\omega})dA}_{Interfacial\ flux} + \underbrace{\varepsilon_\omega\langle R_{A\omega}\rangle^\omega}_{Reaction} \tag{3.40}$$

where $D_{A\beta}$ is the diffusion coefficient for the A component in the fluid and $\mathbf{D}_{A\omega}$ describing the effective diffusion tensor of component A in the biofilm phase. Using Gray's spatial decomposition into the divergence term, we obtain

$$\frac{\partial(\varepsilon_\beta\langle c_{A\beta}\rangle^\beta)}{\partial t} + \nabla.(\varepsilon_\beta\langle \mathbf{v}_\beta\rangle^\beta\langle c_{A\beta}\rangle^\beta) + \nabla.\langle\tilde{\mathbf{v}}_\beta\tilde{c}_{A\beta}\rangle = \nabla.\langle D_{A\beta}\nabla c_{A\beta}\rangle$$
$$-\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} \mathbf{n}_{\beta\gamma}.(c_{A\beta}(\mathbf{v}_\beta-\mathbf{w}_{\beta\gamma})-D_{A\beta}\nabla c_{A\beta})dA - \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}} \mathbf{n}_{\beta\omega}.(c_{A\beta}(\mathbf{v}_\beta-\mathbf{w}_{\beta\omega})-D_{A\beta}\nabla c_{A\beta})dA$$
$$-\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} \mathbf{n}_{\beta\sigma}.(c_{A\beta}(\mathbf{v}_\beta-\mathbf{w}_{\beta\sigma})-D_{A\beta}\nabla c_{A\beta})dA \tag{3.41}$$

Now considering that the molecular diffusivity in the β-phase is constant (e.g. [15, 93, 95]) and using the averaging theorem, the diffusive term can be developed as

$$\langle D_{A\beta}\nabla c_{A\beta}\rangle = D_{A\beta}[\varepsilon_\beta\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^\beta + \nabla\varepsilon_\beta\langle c_{A\beta}\rangle^\beta + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}} \mathbf{n}_{\beta\omega}\langle c_{A\beta}\rangle^\beta dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} \mathbf{n}_{\beta\gamma}\langle c_{A\beta}\rangle^\beta dA +$$
$$\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} \mathbf{n}_{\beta\sigma}\langle c_{A\beta}\rangle^\beta dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}} \mathbf{n}_{\beta\omega}\tilde{c}_{A\beta}dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} \mathbf{n}_{\beta\gamma}\tilde{c}_{A\beta}dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} \mathbf{n}_{\beta\sigma}\tilde{c}_{A\beta}dA] \tag{3.42}$$

Applying the geometric lemma [94],

$$\nabla\varepsilon_\beta = -\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}} \mathbf{n}_{\beta\omega}dA - \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} \mathbf{n}_{\beta\gamma}dA - \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} \mathbf{n}_{\beta\sigma}dA \tag{3.43}$$

The diffusive flux can be rewritten as

$$\langle D_{A\beta}\nabla c_{A\beta}\rangle = D_{A\beta}(\varepsilon_\beta\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^\beta + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}} \mathbf{n}_{\beta\omega}\tilde{c}_{A\beta}dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} \mathbf{n}_{\beta\gamma}\tilde{c}_{A\beta}dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} \mathbf{n}_{\beta\sigma}\tilde{c}_{A\beta}dA) \tag{3.44}$$

The previous result(Eq.(3.44)) is associated with the two following length-scales constraints [93]

$$l_\beta << r_o \qquad r_o^2 << L_c^2 \tag{3.45}$$

where r_o is the radius of the averaging volume, l_β is the characteristic length associated to the β-phase, and L_c is the characteristic length defining the macroscale. At this point, introducing Eq.(3.44) into Eq.(3.41) leads to

$$\frac{\partial(\varepsilon_\beta\langle c_{A\beta}\rangle^\beta)}{\partial t}+\nabla.(\varepsilon_\beta\langle\mathbf{v}_\beta\rangle^\beta\langle c_{A\beta}\rangle^\beta)+\nabla.\langle\tilde{\mathbf{v}}_\beta\tilde{c}_{A\beta}\rangle=\nabla.[D_{A\beta}(\varepsilon_\beta\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^\beta+\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}}\mathbf{n}_{\beta\omega}\tilde{c}_{A\beta}dA$$
$$+\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}}\mathbf{n}_{\beta\gamma}\tilde{c}_{A\beta}dA+\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}}\mathbf{n}_{\beta\sigma}\tilde{c}_{A\beta}dA)]-\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}}\mathbf{n}_{\beta\gamma}.(c_{A\beta}(\mathbf{v}_\beta-\mathbf{w}_{\beta\gamma})-D_{A\beta}\nabla c_{A\beta})dA$$
$$-\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}}\mathbf{n}_{\beta\omega}.(c_{A\beta}(\mathbf{v}_\beta-\mathbf{w}_{\beta\omega})-D_{A\beta}\nabla c_{A\beta})dA$$
$$-\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}}\mathbf{n}_{\beta\sigma}.(c_{A\beta}(\mathbf{v}_\beta-\mathbf{w}_{\beta\sigma})-D_{A\beta}\nabla c_{A\beta})dA \tag{3.46}$$

This result requires the use of the approximation [**?**]

$$\langle\tilde{c}_{A\beta}\rangle^\beta=0\qquad\langle\tilde{\mathbf{v}}_\beta\rangle^\beta=0 \tag{3.47}$$

Finally, using again the Gray's decomposition in the integral terms on the right-hand side of Eq.(3.46), Eq. (3.46) can be expressed as

$$\frac{\partial(\varepsilon_\beta\langle c_{A\beta}\rangle^\beta)}{\partial t}+\nabla.(\varepsilon_\beta\langle\mathbf{v}_\beta\rangle^\beta\langle c_{A\beta}\rangle^\beta)+\nabla.\langle\tilde{\mathbf{v}}_\beta\tilde{c}_{A\beta}\rangle=\varepsilon_\beta\nabla.(D_{A\beta}\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^\beta)$$
$$+(\nabla\varepsilon_\beta).D_{A\beta}\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^\beta+\nabla.[(D_{A\beta}(\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}}\mathbf{n}_{\beta\omega}\tilde{c}_{A\beta}dA+\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}}\mathbf{n}_{\beta\gamma}\tilde{c}_{A\beta}dA+\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}}\mathbf{n}_{\beta\sigma}\tilde{c}_{A\beta}dA)]$$
$$-\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}}\mathbf{n}_{\beta\gamma}.(\mathbf{v}_\beta-\mathbf{w}_{\beta\gamma})dA\langle c_{A\beta}\rangle^\beta-\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}}\mathbf{n}_{\beta\omega}.(\mathbf{v}_\beta-\mathbf{w}_{\beta\omega})dA\langle c_{A\beta}\rangle^\beta$$
$$-\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}}\mathbf{n}_{\beta\sigma}.(\mathbf{v}_\beta-\mathbf{w}_{\beta\sigma})dA\langle c_{A\beta}\rangle^\beta-(\nabla\varepsilon_\beta).D_{A\beta}\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^\beta-\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}}\mathbf{n}_{\beta\gamma}.\tilde{c}_{A\beta}(\mathbf{v}_\beta-\mathbf{w}_{\beta\gamma})dA$$
$$-\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}}\mathbf{n}_{\beta\omega}.\tilde{c}_{A\beta}(\mathbf{v}_\beta-\mathbf{w}_{\beta\omega})dA-\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}}\mathbf{n}_{\beta\sigma}.\tilde{c}_{A\beta}(\mathbf{v}_\beta-\mathbf{w}_{\beta\sigma})dA+\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}}\mathbf{n}_{\beta\gamma}.D_{A\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta}dA$$
$$+\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}}\mathbf{n}_{\beta\omega}.D_{A\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta}dA+\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}}\mathbf{n}_{\beta\sigma}.D_{A\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta}dA \tag{3.48}$$

To develop a simplified form of Eq.(3.48), we need to make use of the total continuity equation (mass balance) in the β-phase. The total continuity equation, routinely used in the solution of liquid-phase flow problems (e.g., [21, 95]), is expressed as

$$\frac{\partial\rho_\beta}{\partial t}+\nabla.(\rho_\beta\mathbf{v}_\beta)=0 \tag{3.49}$$

Supposing that the variations of ρ_β are negligible compared to $\mathbf{v}_\beta$, we apply the volume averaging theorems to the continuity equation, Eq.(3.49), which leads to

$$\frac{\partial\varepsilon_\beta}{\partial t}+\nabla.\langle\mathbf{v}_\beta\rangle+\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}}\mathbf{n}_{\beta\gamma}.(\mathbf{v}_\beta-\mathbf{w}_{\beta\gamma})dA+\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}}\mathbf{n}_{\beta\omega}.(\mathbf{v}_\beta-\mathbf{w}_{\beta\omega})dA$$
$$+\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}}\mathbf{n}_{\beta\sigma}.(\mathbf{v}_\beta-\mathbf{w}_{\beta\sigma})dA=0 \tag{3.50}$$

Substituting the average of total continuity equation, Eq.(3.50), into Eq.(3.48) gives the unclosed form of the averaged equation in the β-phase

$$\begin{aligned}
&\underbrace{\frac{\partial \langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}}{\partial t}}_{Accumulation} + \underbrace{\langle \mathbf{v}_\beta\rangle^{\beta}.\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}}_{Advection} + \underbrace{\varepsilon_\beta^{-1}\nabla.\langle \tilde{\mathbf{v}}_\beta \tilde{c}_{A\beta}\rangle}_{Dispersive\,transport} = \underbrace{\nabla.(D_{A\beta}\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta})}_{Dispersion} \\
&\underbrace{+\varepsilon_\beta^{-1}\nabla.[D_{A\beta}(\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}}\mathbf{n}_{\beta\omega}\tilde{c}_{A\beta}dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}}\mathbf{n}_{\beta\gamma}\tilde{c}_{A\beta}dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}}\mathbf{n}_{\beta\sigma}\tilde{c}_{A\beta}dA)]}_{Dispersion} \\
&\underbrace{-\frac{\varepsilon_\beta^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\gamma}}\mathbf{n}_{\beta\gamma}.\tilde{c}_{A\beta}(\mathbf{v}_\beta-\mathbf{w}_{\beta\gamma})dA - \frac{\varepsilon_\beta^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\omega}}\mathbf{n}_{\beta\omega}.\tilde{c}_{A\beta}(\mathbf{v}_\beta-\mathbf{w}_{\beta\omega})dA}_{Interfacial\,flux} \\
&\underbrace{-\frac{\varepsilon_\beta^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\sigma}}\mathbf{n}_{\beta\sigma}.\tilde{c}_{A\beta}(\mathbf{v}_\beta-\mathbf{w}_{\beta\sigma})dA + \frac{\varepsilon_\beta^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\gamma}}\mathbf{n}_{\beta\gamma}.D_{A\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta}dA}_{Interfacial\,flux} \\
&\underbrace{+\frac{\varepsilon_\beta^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\omega}}\mathbf{n}_{\beta\omega}.D_{A\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta}dA + \frac{\varepsilon_\beta^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\sigma}}\mathbf{n}_{\beta\sigma}.D_{A\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta}dA}_{Interfacial\,flux}
\end{aligned} \tag{3.51}$$

A similar development gives the unclosed form of the averaged equation in the ω-phase

$$\begin{aligned}
&\underbrace{\frac{\partial \langle c_{A\omega}\rangle^{\omega}}{\partial t}}_{Accumulation} = \underbrace{\nabla.(\mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}.\nabla\langle c_{A\omega}\rangle^{\omega})}_{Dispersion} \\
&\underbrace{+\varepsilon_\omega^{-1}\nabla.[\mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}.(\frac{1}{V}\int_{A_{\omega\beta}}\mathbf{n}_{\omega\beta}\tilde{c}_{A\omega}dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\gamma}}\mathbf{n}_{\omega\gamma}\tilde{c}_{A\omega}dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\sigma}}\mathbf{n}_{\beta\sigma}\tilde{c}_{A\omega}dA)]}_{Dispersion} \\
&\underbrace{-\frac{\varepsilon_\omega^{-1}}{V}\int_{A_{\omega\gamma}}\mathbf{n}_{\omega\gamma}.\tilde{c}_{A\omega}(\mathbf{v}_\omega-\mathbf{w}_{\omega\gamma})dA - \frac{\varepsilon_\omega^{-1}}{V}\int_{A_{\omega\beta}}\mathbf{n}_{\omega\beta}.\tilde{c}_{A\omega}(\mathbf{v}_\omega-\mathbf{w}_{\omega\beta})dA}_{Interfacial\,flux} \\
&\underbrace{-\frac{\varepsilon_\omega^{-1}}{V}\int_{A_{\omega\sigma}}\mathbf{n}_{\omega\sigma}.\tilde{c}_{A\omega}(\mathbf{v}_\omega-\mathbf{w}_{\omega\sigma})dA + \frac{\varepsilon_\omega^{-1}}{V}\int_{A_{\omega\gamma}}\mathbf{n}_{\omega\gamma}.\mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}.\nabla\tilde{c}_{A\omega}dA}_{Interfacial\,flux} \\
&\underbrace{+\frac{\varepsilon_\omega^{-1}}{V}\int_{A_{\omega\beta}}\mathbf{n}_{\omega\beta}.\mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}.\nabla\tilde{c}_{A\omega}dA + \frac{\varepsilon_\omega^{-1}}{V}\int_{A_{\omega\sigma}}\mathbf{n}_{\omega\sigma}.\mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}.\nabla\tilde{c}_{A\omega}dA]}_{Interfacial\,flux} + \underbrace{\langle R_{A\omega}\rangle^{\omega}}_{Reaction}
\end{aligned} \tag{3.52}$$

For a binary system and under the dilute solution approximation [95], the velocities of

interfaces β-γ and ω-γ (Eqs.(3.20) and (3.21)) can be expressed as

$$\mathbf{w}_{\beta\gamma}.\mathbf{n}_{\beta\gamma} = \frac{1}{\rho_\gamma}\mathbf{n}_{\beta\gamma}.D_{A\beta}\nabla c_{A\beta} \qquad \text{at } A_{\beta\gamma} \tag{3.53}$$

$$\mathbf{w}_{\omega\gamma}.\mathbf{n}_{\omega\gamma} = \frac{1}{\rho_\gamma}\mathbf{n}_{\omega\gamma}.\mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}.\nabla c_{A\omega} \qquad \text{at } A_{\omega\gamma} \tag{3.54}$$

These results assume that the temperature and pressure gradients are small enough so that the following conditions are satisfied [95]

$$c_{A\beta}(\mathbf{v}_\beta - \mathbf{w}_{\beta\gamma}).\mathbf{n}_{\beta\gamma} = 0 \tag{3.55}$$

$$c_{A\omega}(\mathbf{v}_\omega - \mathbf{w}_{\omega\gamma}).\mathbf{n}_{\omega\gamma} = 0 \tag{3.56}$$

Finally, substituting Eq.(3.53) and (3.54) into Eq.(3.34) yields

$$\underbrace{\frac{\partial \varepsilon_\gamma \langle \rho_\gamma \rangle^\gamma}{\partial t}}_{Accumulation} + \underbrace{\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} \mathbf{n}_{\beta\gamma}.D_{A\beta}\nabla c_{A\beta}dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\gamma}} \mathbf{n}_{\omega\gamma}.\mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}.\nabla c_{A\omega}dA}_{Interfacial\ flux} = 0 \tag{3.57}$$

In this paper, we suppose the NAPL density ρ_γ constant within the averaging volume V ($\rho_\gamma = \langle \rho_\gamma \rangle^\gamma$ but it doesn't imply that $\langle \rho_\gamma \rangle$ is constant) so that the last equation can be rewritten as

$$\rho_\gamma \frac{\partial \varepsilon_\gamma}{\partial t} + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} \mathbf{n}_{\beta\gamma}.D_{A\beta}\nabla \langle c_{A\beta} \rangle^\beta dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} \mathbf{n}_{\beta\gamma}.D_{A\beta}\nabla \tilde{c}_{A\beta}dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\gamma}} \mathbf{n}_{\omega\gamma}.\mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}.\nabla \langle c_{A\omega} \rangle^\omega dA$$
$$+\frac{1}{V}\int_{A_{\omega\gamma}} \mathbf{n}_{\omega\gamma}.\mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}.\nabla \tilde{c}_{A\omega}dA = 0 \tag{3.58}$$

3.4 Local mass equilibrium

3.4.1 The two-equation model

At this point, we get a set of three unclosed macroscopic equations. We can take advantage of simplifying assumptions for reducing the number of balance equations governing the solute transport at the macro-scale. In particular, the local mass equilibrium assumption, referring to conditions close to thermodynamic equilibrium, yields to define a single weighted-average concentration for the phases at equilibrium. It must be emphasized that the local mass equilibrium assumption does not imply a zero gradient everywhere, but assumes the presence of sufficiently low concentration gradients at the microscopic scale whatever the phase considered. Assuming small concentration gradients at the fluid-NAPL (or biofilm-NAPL) interface is probably too restrictive for many applications where non-equilibrium conditions are classically encountered. On the contrary, considering the hypothesis of local mass equilibrium at the fluid-biofilm interface could be more convenient since this assumption has been already used with success for the dissolved hydrocarbon plume [36]. As a consequence, we will adopt this approach in the following and we refer the reader to [36] and [77] for additional details about this assumption.

At the β-ω interface, this hypothesis is expressed as

$$\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta} = K_{\beta\omega}\langle c_{A\omega}\rangle^{\omega} \tag{3.59}$$

For analysis purposes, we define an equilibrium weighted average concentration (e.g. [36])

$$\{c_A\} = \left(\frac{\varepsilon_\beta}{\varepsilon_\omega+\varepsilon_\beta}\right)\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta} + \left(\frac{\varepsilon_\omega}{\varepsilon_\omega+\varepsilon_\beta}\right)K_{\beta\omega}\langle c_{A\omega}\rangle^{\omega} \tag{3.60}$$

that possesses the following property :

$$\{c_A\} = \langle c_{A\beta}\rangle^{\beta} = K_{\beta\omega}\langle c_{A\omega}\rangle^{\omega} \tag{3.61}$$

The constraints associated with Eq.(3.61) have been previously developped in Wood et al. [13] and recalled by Golfier et al. [36].
Under this assumption, the concentrations predicted by Eq.(3.51) and (3.52) can be added to obtain a new equation describing solute transport in the two phases (β and ω phases). Summing up these equations eliminates the interfacial flux terms defined on $A_{\beta\omega}$. This new equation, coupled with the mass balance equation for the γ-phase, (Eq.(3.58)), has the following form

$$\begin{aligned}
&\underbrace{\frac{\partial}{\partial t}((\varepsilon_\beta + K_{\beta\omega}^{-1}\varepsilon_\omega))\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}}_{Accumulation} + \underbrace{\varepsilon_\beta\langle \mathbf{v}_\beta\rangle^{\beta}.\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}}_{Advection} = \underbrace{(D_{A\beta}\mathbf{I} + K_{\beta\omega}^{-1}\mathbf{D}_{A\omega}).\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}}_{Conventional\ diffusion\ term} \\
&+ \underbrace{\nabla.[\mathbf{X}_{A\beta}+\mathbf{X}_{A\omega}]}_{Hydrodynamic\ dispersion} \underbrace{- \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} \mathbf{n}_{\beta\gamma}.\tilde{c}_{A\beta}(\mathbf{v}_\beta - \mathbf{w}_{\beta\gamma})dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} \mathbf{n}_{\beta\gamma}.D_{A\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta}dA}_{Interfacial\ flux} \\
&\underbrace{- \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\gamma}} \mathbf{n}_{\omega\gamma}.\tilde{c}_{A\omega}(\mathbf{v}_\omega - \mathbf{w}_{\omega\gamma})dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\gamma}} \mathbf{n}_{\omega\gamma}.\mathbf{D_A}_{\omega}.\nabla\tilde{c}_{A\omega}dA}_{Interfacial\ flux} \\
&\underbrace{- \varepsilon_\omega\mu_{A\omega}\rho_\omega c_{B\omega}^{*}\frac{\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}}{\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta} + K_{\beta\omega}K_{A\omega} + \frac{K_{\beta\omega}^{-1}(\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta})^2}{K_i}}}_{Reaction}
\end{aligned} \tag{3.62}$$

where

$$\begin{aligned}
\mathbf{X}_{A\beta} &= D_{A\beta}\mathbf{I}.([\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}} \mathbf{n}_{\beta\omega}\tilde{c}_{A\beta}dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} \mathbf{n}_{\beta\gamma}\tilde{c}_{A\beta}dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} \mathbf{n}_{\beta\sigma}\tilde{c}_{A\beta}dA)]) - \langle\tilde{\mathbf{v}}_\beta\tilde{c}_{A\beta}\rangle \\
\mathbf{X}_{A\omega} &= \mathbf{D}_{A\omega}.(\frac{1}{V}\int_{A_{\omega\beta}} \mathbf{n}_{\omega\beta}\tilde{c}_{A\omega}dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\gamma}} \mathbf{n}_{\omega\gamma}\tilde{c}_{A\omega}dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\sigma}} \mathbf{n}_{\omega\sigma}\tilde{c}_{A\omega}dA)
\end{aligned} \tag{3.63}$$

These forms of the macroscopic equations (Eq.(3.62) and Eq.(3.58)) are still unclosed because they contain the quantities $\tilde{c}_{A\beta}$ and $\tilde{c}_{A\omega}$ as independent variables in the area integrals. An estimate for the concentration deviations has to be found.

3.5 Closure

3.5.1 Deviations problem

In this section, we develop the relationships between spatial deviations and average quantities in order to close the macroscopic model.

We first recall our original differential equations defined in the β- and ω-phases at the pore scale

$$\frac{\partial(c_{A\beta})}{\partial t} + \nabla.(\mathbf{v}_\beta c_{A\beta}) = \nabla.(D_{A\beta}\nabla c_{A\beta}) \tag{3.64}$$

$$\frac{\partial(c_{A\omega})}{\partial t} + \nabla.(\mathbf{v}_\omega c_{A\omega}) = \nabla.(\mathbf{D}_{A\omega}.\nabla c_{A\omega}) \tag{3.65}$$

By subtracting Eq.(3.51) from Eq.(3.64) and Eq.(3.52) from Eq.(3.65), and under conditions of local mass equilibrium (Eq.(3.59)), we obtain the set of equations governing the concentration deviations (additional details are shown in **Appendix A**)

$$\begin{aligned}
&\mathbf{v}_\beta.\nabla\tilde{c}_{A\beta} + \tilde{\mathbf{v}}_\beta.\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^\beta = \nabla.(D_{A\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta}) + \frac{\varepsilon_\beta^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} \mathbf{n}_{\beta\gamma}.\tilde{c}_{A\beta}(\mathbf{v}_\beta - \mathbf{w}_{\beta\gamma})dA \\
&+\frac{\varepsilon_\beta^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\omega}} \mathbf{n}_{\beta\omega}.\tilde{c}_{A\beta}(\mathbf{v}_\beta - \mathbf{w}_{\beta\omega})dA + \frac{\varepsilon_\beta^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} \mathbf{n}_{\beta\sigma}.\tilde{c}_{A\beta}(\mathbf{v}_\beta - \mathbf{w}_{\beta\sigma})dA \\
&-\frac{\varepsilon_\beta^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} \mathbf{n}_{\beta\gamma}.D_{A\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta}dA - \frac{\varepsilon_\beta^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\omega}} \mathbf{n}_{\beta\omega}.D_{A\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta}dA \\
&-\frac{\varepsilon_\beta^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} \mathbf{n}_{\beta\sigma}.D_{A\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta}dA
\end{aligned} \tag{3.66}$$

B.C.1 $$-\underbrace{\mathbf{n}_{\beta\sigma}.D_{A\beta}\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}}_{Source}=\mathbf{n}_{\beta\sigma}.D_{A\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta}\qquad \text{at } A_{\beta\sigma} \tag{3.67}$$

B.C.2 $$-\underbrace{\mathbf{n}_{\omega\sigma}.\mathbf{D_A}_{\omega}K^{-1}_{\beta\omega}.\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}}_{Source}=\mathbf{n}_{\omega\sigma}.\mathbf{D_A}_{\omega}.\nabla\tilde{c}_{A\omega}\qquad \text{at } A_{\omega\sigma} \tag{3.68}$$

B.C.3 $$\tilde{c}_{A\beta}=K_{\beta\omega}\tilde{c}_{A\omega}\qquad \text{at } A_{\beta\omega} \tag{3.69}$$

B.C.4 $$\underbrace{\mathbf{n}_{\beta\omega}.((\mathbf{v}_{\beta}-\mathbf{w}_{\beta\omega})-K^{-1}_{\beta\omega}(\mathbf{v}_{\omega}-\mathbf{w}_{\omega\beta}))\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}}_{Source}+\mathbf{n}_{\beta\omega}.(\tilde{c}_{A\beta}(\mathbf{v}_{\beta}-\mathbf{w}_{\beta\omega})-D_{A\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta})=$$
$$\underbrace{\mathbf{n}_{\beta\omega}.(D_{A\beta}\mathbf{I}-K^{-1}_{\beta\omega}D_{A\omega}).\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}}_{Source}+\mathbf{n}_{\beta\omega}.(\tilde{c}_{A\omega}(\mathbf{v}_{\omega}-\mathbf{w}_{\omega\beta})-\mathbf{D_A}_{\omega}.\nabla\tilde{c}_{A\omega})\qquad \text{at } A_{\beta\omega} \tag{3.70}$$

B.C.5 $$\tilde{c}_{A\omega}=\underbrace{K^{-1}_{\beta\omega}(c^{eq}_{A\beta}-\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta})}_{Source}\qquad \text{at } A_{\omega\gamma} \tag{3.71}$$

B.C.6 $$\tilde{c}_{A\beta}=\underbrace{c^{eq}_{A\beta}-\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}}_{Source}\qquad \text{at } A_{\beta\gamma} \tag{3.72}$$

B.C.7(Periodicity) $$\tilde{c}_{A\beta}(\mathbf{r}+l_i)=\tilde{c}_{A\beta}(\mathbf{r}),\qquad i=1,2,3 \tag{3.73}$$

B.C.8(Periodicity) $$\tilde{c}_{A\omega}(\mathbf{r}+l_i)=\tilde{c}_{A\omega}(\mathbf{r}),\qquad i=1,2,3 \tag{3.74}$$

B.C.9 $$\langle\tilde{c}_{A\beta}\rangle^{\beta}=0 \tag{3.75}$$

B.C.10 $$\langle\tilde{c}_{A\omega}\rangle^{\omega}=0 \tag{3.76}$$

$$\nabla.(\mathbf{D_A}_{\omega}.\nabla\tilde{c}_{A\omega})=\frac{\varepsilon^{-1}_{\omega}}{V}\int_{A_{\omega\gamma}}\mathbf{n}_{\omega\gamma}.\tilde{c}_{A\omega}(\mathbf{v}_{\omega}-\mathbf{w}_{\omega\gamma})dA+\frac{\varepsilon^{-1}_{\omega}}{V}\int_{A_{\omega\beta}}\mathbf{n}_{\omega\beta}.\tilde{c}_{A\omega}(\mathbf{v}_{\omega}-\mathbf{w}_{\omega\beta})dA$$
$$+\frac{\varepsilon^{-1}_{\omega}}{V}\int_{A_{\omega\sigma}}\mathbf{n}_{\omega\sigma}.\tilde{c}_{A\omega}(\mathbf{v}_{\omega}-\mathbf{w}_{\omega\sigma})dA-\frac{\varepsilon^{-1}_{\omega}}{V}\int_{A_{\omega\gamma}}\mathbf{n}_{\omega\gamma}.\mathbf{D_A}_{\omega}.\nabla\tilde{c}_{A\omega}dA$$
$$-\frac{\varepsilon^{-1}_{\omega}}{V}\int_{A_{\omega\beta}}\mathbf{n}_{\omega\beta}.\mathbf{D_A}_{\omega}.\nabla\tilde{c}_{A\omega}dA-\frac{\varepsilon^{-1}_{\omega}}{V}\int_{A_{\omega\sigma}}\mathbf{n}_{\omega\sigma}.\mathbf{D_A}_{\omega}.\nabla\tilde{c}_{A\omega}dA \tag{3.77}$$

3.5.2 Closure problems

Following the developments in the literature (e.g., [95]), we have identified two non-homogeneous terms, $\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}$ and $(c^{eq}_{A\beta}-\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta})$, that act as source terms for the deviation fields. We use these terms to formulate the closure problem solution. The mathematical structure of the coupled equations suggests, indeed, a solution of the form

$$\tilde{c}_{A\beta}=\mathbf{b}_{\beta}.\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}+s_{\beta}(c^{eq}_{A\beta}-\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}) \tag{3.78}$$

$$\tilde{c}_{A\omega}=\mathbf{b}_{\omega}.K^{-1}_{\beta\omega}\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}+s_{\omega}K^{-1}_{\beta\omega}(c^{eq}_{A\beta}-\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}) \tag{3.79}$$

where the closure variables $\mathbf{b}_{\beta},\mathbf{b}_{\omega},s_{\beta}$ and s_{ω} satisfy the closure problems obtained by substituting Eqs.(3.78) and (3.79) into the deviations problems.

The two closure problems are specified below in their dimensionless form and the full development of these problems is shown in **Appendix B**.

Closure problems (dimensionless form)

Problem I

$$\beta\textbf{-phase}: \quad Pe_A(\tilde{\mathbf{v}}_\beta^{'} + \mathbf{v}_\beta^{'}.\nabla \mathbf{b}_\beta^{'}) = \nabla^2 \mathbf{b}_\beta^{'} - \varepsilon_\beta^{-1}\mathbf{U}_\beta^{'} \tag{3.80}$$

$$\text{B.C.1} \quad -\mathbf{n}_{\beta\sigma}.\nabla \mathbf{b}_\beta^{'} = \mathbf{n}_{\beta\sigma} \qquad \text{at } A_{\beta\sigma} \tag{3.81}$$

$$\text{B.C.2} \quad -\mathbf{n}_{\omega\sigma}.\mathbf{D}_{\mathbf{\Gamma}}.\nabla \mathbf{b}_\omega^{'} = \mathbf{n}_{\omega\sigma}.\mathbf{D}_{\mathbf{\Gamma}} \qquad \text{at } A_{\omega\sigma} \tag{3.82}$$

$$\text{B.C.3} \quad \mathbf{b}_\beta^{'} = \mathbf{b}_\omega^{'} \qquad \text{at } A_{\beta\omega} \tag{3.83}$$

$$\text{B.C.4} \quad -\mathbf{n}_{\beta\omega}.\mathbf{D}_{\mathbf{\Gamma}}.\nabla \mathbf{b}_\omega^{'} = -\mathbf{n}_{\beta\omega}.(\mathbf{I} - \mathbf{D}_{\mathbf{\Gamma}}) - \mathbf{n}_{\beta\omega}.\nabla \mathbf{b}_\beta^{'} \qquad \text{at } A_{\beta\omega} \tag{3.84}$$

$$\text{B.C.5} \quad \mathbf{b}_\beta^{'} = 0 \qquad \text{at } A_{\beta\gamma} \tag{3.85}$$

$$\text{B.C.6} \quad \mathbf{b}_\omega^{'} = 0 \qquad \text{at } A_{\omega\gamma} \tag{3.86}$$

$$\text{B.C.7(Periodicity)} \quad \mathbf{b}_\beta^{'}(\mathbf{r} + l_i) = \mathbf{b}_\beta^{'}(\mathbf{r}), i = 1,2,3 \qquad i = 1,2,3 \tag{3.87}$$

$$\text{B.C.8(Periodicity)} \quad \mathbf{b}_\omega^{'}(\mathbf{r} + l_i) = \mathbf{b}_\omega^{'}(\mathbf{r}), i = 1,2,3 \qquad i = 1,2,3 \tag{3.88}$$

$$\text{B.C.9} \quad \langle \mathbf{b}_\beta^{'} \rangle^\beta = 0 \tag{3.89}$$

$$\text{B.C.10} \quad \langle \mathbf{b}_\omega^{'} \rangle^\omega = 0 \tag{3.90}$$

$$\omega\textbf{-phase}: \quad \mathbf{D}_{\mathbf{\Gamma}}.\nabla^2 \mathbf{b}_\omega^{'} = \mathbf{D}_{\mathbf{\Gamma}}\varepsilon_\omega^{-1}\mathbf{U}_\omega^{'} \tag{3.91}$$

$$\mathbf{U}_\beta^{'} = \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} \mathbf{n}_{\beta\gamma}.\nabla \mathbf{b}_\beta^{'} dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}} \mathbf{n}_{\beta\omega}.\nabla \mathbf{b}_\beta^{'} dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} \mathbf{n}_{\beta\sigma}.\nabla \mathbf{b}_\beta^{'} dA \tag{3.92}$$

$$\mathbf{U}_\omega^{'} = \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\gamma}} \mathbf{n}_{\omega\gamma}.\nabla \mathbf{b}_\omega^{'} dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\beta}} \mathbf{n}_{\omega\beta}.\nabla \mathbf{b}_\omega^{'} dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\sigma}} \mathbf{n}_{\omega\sigma}.\nabla \mathbf{b}_\omega^{'} dA \tag{3.93}$$

Problem II

$$\beta\textbf{-phase}: \quad Pe_A \mathbf{v}_\beta^{'}.\nabla s_\beta = \nabla^2 s_\beta - \varepsilon_\beta^{-1}\mathbf{S}_\beta^{'} \tag{3.94}$$

$$\text{B.C.1} \quad -\mathbf{n}_{\beta\sigma}.\nabla s_\beta^{'} = 0 \qquad \text{at } A_{\beta\sigma} \tag{3.95}$$

$$\text{B.C.2} \quad -\mathbf{n}_{\omega\sigma}.\mathbf{D}_{\mathbf{\Gamma}}.\nabla\ s_\omega^{'} = 0 \qquad \text{at } A_{\omega\sigma} \tag{3.96}$$

$$\text{B.C.3} \quad s_\beta^{'} =\ s_\omega^{'} \qquad \text{at } A_{\beta\omega} \tag{3.97}$$

$$\text{B.C.4} \quad -\mathbf{n}_{\beta\omega}.\nabla s_\beta^{'} = -\mathbf{n}_{\beta\omega}.\mathbf{D}_{\mathbf{\Gamma}}.\nabla s_\omega^{'} \qquad \text{at } A_{\beta\omega} \tag{3.98}$$

$$\text{B.C.5} \quad s_\beta^{'} = 1 \qquad \text{at } A_{\beta\gamma} \tag{3.99}$$

$$\text{B.C.6} \quad s_\omega^{'} = 1 \qquad \text{at } A_{\omega\gamma} \tag{3.100}$$

$$\text{B.C.7(Periodicity)} \quad s_\beta^{'}(\mathbf{r} + l_i) = s_\beta^{'}(r), i = 1,2,3 \qquad i = 1,2,3 \tag{3.101}$$

$$\text{B.C.8(Periodicity)} \quad s_\omega^{'}(\mathbf{r} + l_i) =\ s_\omega^{'}(r), i = 1,2,3 \qquad i = 1,2,3 \tag{3.102}$$

$$\text{B.C.9} \quad \langle s_\beta^{'} \rangle^\beta = 0 \tag{3.103}$$

$$\text{B.C.10} \quad \langle\ s_\omega^{'} \rangle^\omega = 0 \tag{3.104}$$

$$\omega\textbf{-phase}: \quad \mathbf{D}_{\mathbf{\Gamma}}.\nabla^2\ s_\omega^{'} = \mathbf{D}_{\mathbf{\Gamma}}\varepsilon_\omega^{-1}\mathbf{S}_\omega^{'} \tag{3.105}$$

$$\mathbf{S}_{\beta}^{'} = \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} \mathbf{n}_{\beta\gamma}.\nabla s_{\beta}^{'} dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}} \mathbf{n}_{\beta\omega}.\nabla s_{\beta}^{'} dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} \mathbf{n}_{\beta\sigma}.\nabla s_{\beta}^{'} dA \tag{3.106}$$

$$\mathbf{S}_{\omega}^{'} = \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\gamma}} \mathbf{n}_{\omega\gamma}.\nabla s_{\omega}^{'} dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\beta}} \mathbf{n}_{\omega\beta}.\nabla s_{\omega}^{'} dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\sigma}} \mathbf{n}_{\omega\sigma}.\nabla s_{\omega}^{'} dA \tag{3.107}$$

where the dimensionless variables and the parameters have been defined by

$$\tilde{\mathbf{v}}_{\beta}^{'} = \frac{\tilde{\mathbf{v}}_{\beta}}{\parallel \mathbf{v}_{\beta} \parallel} \qquad \mathbf{v}_{\beta}^{'} = \frac{\mathbf{v}_{\beta}}{\parallel \mathbf{v}_{\beta} \parallel} \tag{3.108}$$

$$\mathbf{D}_{\mathbf{\Gamma}} = \frac{K_{\beta\omega}^{-1}\mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}}{D_{A\beta}} \qquad Pe_A = \frac{\parallel \mathbf{v}_{\beta} \parallel l_{\beta}}{D_{A\beta}} \tag{3.109}$$

3.6 Closed Form of the Macroscopic Equation

Now, injecting the closure solutions (Eqs.(3.78) and (3.79)) into the unclosed averaged equation, the following closed form of the β-phase transport equation is obtained

$$\underbrace{\frac{\partial}{\partial t}(\varepsilon_{\beta} + \varepsilon_{\omega}K_{\beta\omega}^{-1})\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}}_{Accumulation} + \underbrace{\varepsilon_{\beta}\langle \mathbf{v}_{\beta}\rangle^{\beta}.\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}}_{Advection} + \underbrace{\nabla.[\mathbf{d}_{\beta\omega}(c_{A\beta}^{eq} - \langle c_{A\beta}\rangle^{\beta})]}_{Advection\,correction} - \underbrace{\mathbf{U}_{\beta\omega}.\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}}_{Advection\,correction} =$$

$$\underbrace{\nabla.(\mathbf{D}_{\beta\omega}^{*}.\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta})}_{Dispersion} + \underbrace{\alpha_{A}^{*}(c_{A\beta}^{eq} - \langle c_{A\beta}\rangle^{\beta})}_{Mass\,exchange} - \underbrace{\varepsilon_{\omega}\mu_{A\omega}\rho_{\omega}c_{B\omega}^{*}\frac{\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}}{\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta} + K_{\beta\omega}K_{A\omega} + \frac{K_{\beta\omega}^{-1}(\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta})^{2}}{K_i}}}_{Reaction} \tag{3.110}$$

and one can use the representation for the spatial deviation concentrations given by Eq.(3.78) and (3.79) to express the macroscopic form of the γ-phase equation

$$\rho_{\gamma}\frac{\partial\varepsilon_{\gamma}}{\partial t} + \left(\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} \mathbf{n}_{\beta\gamma}.D_{A\beta}(\mathbf{I} + \nabla\mathbf{b}_{\beta})dA + \frac{K_{\beta\omega}^{-1}}{V}\int_{A_{\omega\gamma}} \mathbf{n}_{\omega\gamma}.\mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}.(\mathbf{I} + \nabla\mathbf{b}_{\omega})dA\right).\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}$$
$$= -\alpha_{A}^{*}(c_{A\beta}^{eq} - \langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}) \tag{3.111}$$

We arrange the diffusive term of this equation (Eq.(3.111)) by using the following relationship (additional details are available in [95])

$$\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} \mathbf{n}_{\beta\gamma}.D_{A\beta}(\mathbf{I} + \nabla\mathbf{b}_{\beta})dA = -D_{A\beta}\nabla\varepsilon_{\beta} \tag{3.112}$$

$$\frac{1}{V}\int_{A_{\omega\gamma}} \mathbf{n}_{\omega\gamma}.\mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}.(\mathbf{I} + \nabla\mathbf{b}_{\omega})dA = -\mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}.\nabla\varepsilon_{\omega} \tag{3.113}$$

Thus, Eq.(3.111) becomes

$$\rho_{\gamma}\frac{\partial\varepsilon_{\gamma}}{\partial t} = (\nabla\varepsilon_{\beta} + \mathbf{D}_{\mathbf{\Gamma}}.\nabla\varepsilon_{\omega}).D_{A\beta}\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta} - \alpha_{A}^{*}(c_{A\beta}^{eq} - \langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}) \tag{3.114}$$

A reasonable estimate of the gradient of the average concentration in the case of purely convective transport is given by [95]

$$\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta} = \mathcal{O}\left[\frac{1}{\langle \mathbf{v}_{\beta}\rangle}\alpha_{A}^{*}(c_{A\beta}^{eq} - \langle c_{A\beta}\rangle^{\beta})\right] \tag{3.115}$$

and Eq.(3.115) leads to

$$(\nabla\varepsilon_{\beta} + \mathbf{D}_{\mathbf{\Gamma}}.\nabla\varepsilon_{\omega}).D_{A\beta}\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta} = \mathcal{O}\left[\frac{l_{\beta}(\nabla\varepsilon_{\beta} + \mathbf{D}_{\mathbf{\Gamma}}.\nabla\varepsilon_{\omega})}{Pe_{A}}\alpha_{A}^{*}(c_{A\beta}^{eq} - \langle c_{A\beta}\rangle^{\beta})\right] \tag{3.116}$$

Under this constraint (Eq.(3.116)), it is clear that the additional coupling term $(\nabla\varepsilon_{\beta} + \mathbf{D}_{\mathbf{\Gamma}}.\nabla\varepsilon_{\omega}).D_{A\beta}\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}$ can be neglected

$$(\nabla\varepsilon_{\beta} + \mathbf{D}_{\mathbf{\Gamma}}.\nabla\varepsilon_{\omega}).D_{A\beta}\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta} << \alpha_{A}^{*}(c_{A\beta}^{eq} - \langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}) \tag{3.117}$$

and the classical form in the literature for the mass balance equation of the NAPL phase (γ phase) is recovered

$$\rho_{\gamma}\frac{\partial\varepsilon_{\gamma}}{\partial t} = -\alpha_{A}^{*}(c_{A\beta}^{eq} - \langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}) \tag{3.118}$$

where $\mathbf{D}_{\beta\omega}^{*}$ (Darcy scale effective diffusion tensor for the species A), $\mathbf{d}_{\beta\omega}$ (a velocity-like effective transport coefficient), α_{A}^{*} (mass-transfer coefficient for the species A), $\mathbf{U}_{\beta\omega}$ (a velocity-like effective transport coefficient) are given by

$$\mathbf{D}_{\beta\omega}^{*} = (\varepsilon_{\beta}D_{A\beta}\mathbf{I} + K_{\beta\omega}^{-1}\varepsilon_{\omega}\mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}) + D_{A\beta}\mathbf{m}_{\beta} + K_{\beta\omega}^{-1}\mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}.\mathbf{m}_{\omega} - \langle\tilde{\mathbf{v}}_{\beta}b_{\beta}\rangle \tag{3.119}$$

$$\mathbf{d}_{\beta\omega} = \langle\tilde{\mathbf{v}}_{\beta}s_{\beta}\rangle - D_{A\beta}\mathbf{l}_{\beta} - K_{\beta\omega}^{-1}\mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}.\mathbf{l}_{\omega} \tag{3.120}$$

$$\alpha_{A}^{*} = \frac{D_{A\beta}}{V}\int_{A_{\beta\gamma}}\mathbf{n}_{\beta\gamma}\nabla s_{\beta}dA + K_{\beta\omega}^{-1}\mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}.\left(\frac{1}{V}\int_{A_{\omega\gamma}}\mathbf{n}_{\omega\gamma}\nabla s_{\omega}dA\right) \tag{3.121}$$

$$\mathbf{U}_{\beta\omega} = \frac{D_{A\beta}}{V}\int_{A_{\beta\gamma}}\mathbf{n}_{\beta\gamma}\nabla\mathbf{b}_{\beta}dA + K_{\beta\omega}^{-1}\mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}.\left(\frac{1}{V}\int_{A_{\omega\gamma}}\mathbf{n}_{\omega\gamma}\nabla\mathbf{b}_{\omega}dA\right) \tag{3.122}$$

where

$$\mathbf{m}_{\beta} = \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}}\mathbf{n}_{\beta\gamma}\mathbf{b}_{\beta}dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}}\mathbf{n}_{\beta\omega}\mathbf{b}_{\beta}dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}}\mathbf{n}_{\beta\sigma}\mathbf{b}_{\beta}dA \tag{3.123}$$

$$\mathbf{m}_{\omega} = \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\gamma}}\mathbf{n}_{\omega\gamma}\mathbf{b}_{\omega}dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\beta}}\mathbf{n}_{\omega\beta}\mathbf{b}_{\omega}dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\sigma}}\mathbf{n}_{\omega\sigma}\mathbf{b}_{\omega}dA \tag{3.124}$$

$$\mathbf{l}_{\beta} = \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}}\mathbf{n}_{\beta\gamma}\mathbf{s}_{\beta}dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}}\mathbf{n}_{\beta\omega}\mathbf{s}_{\beta}dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}}\mathbf{n}_{\beta\sigma}\mathbf{s}_{\beta}dA \tag{3.125}$$

$$\mathbf{l}_{\omega} = \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\gamma}}\mathbf{n}_{\omega\gamma}\mathbf{s}_{\omega}dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\beta}}\mathbf{n}_{\omega\beta}\mathbf{s}_{\omega}dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\sigma}}\mathbf{n}_{\omega\sigma}\mathbf{s}_{\omega}dA \tag{3.126}$$

Note that the dimensionless form of the mass exchange coefficient and the dispersion tensor, used hereafter, are defined by

$$\alpha_A^{*'} = \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} \mathbf{n}_{\beta\gamma}\nabla s_\beta^{'} dA + \mathbf{D_\Gamma}.\left(\frac{1}{V}\int_{A_{\omega\gamma}} \mathbf{n}_{\omega\gamma}\nabla s_\omega^{'} dA\right) \tag{3.127}$$

$$\mathbf{D}_{\beta\omega}^{*'} = (\varepsilon_\beta \mathbf{I} + \varepsilon_\omega \mathbf{D_\Gamma}) + \mathbf{m}_\beta^{'} + \mathbf{D_\Gamma}.\mathbf{m}_\omega^{'} - Pe_A\langle \tilde{\mathbf{v}}_\beta^{'}\mathbf{b}_\beta^{'}\rangle \tag{3.128}$$

where

$$\mathbf{m}_\beta^{'} = \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} \mathbf{n}_{\beta\gamma}\mathbf{b}_\beta^{'} dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}} \mathbf{n}_{\beta\omega}\mathbf{b}_\beta^{'} dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} \mathbf{n}_{\beta\sigma}\mathbf{b}_\beta^{'} dA \tag{3.129}$$

$$\mathbf{m}_\omega^{'} = \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\gamma}} \mathbf{n}_{\omega\gamma}\mathbf{b}_\omega^{'} dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\beta}} \mathbf{n}_{\omega\beta}\mathbf{b}_\omega^{'} dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\sigma}} \mathbf{n}_{\omega\sigma}\mathbf{b}_\omega^{'} dA \tag{3.130}$$

3.7 Results and discussion

The averaging procedure leads to the closed form of the macro-scale equations given by Eqs. (3.110) and (3.111) and two closure problems. The closure problems need to be solved on a representative unit cell of the pore-scale geometry to deduce with accuracy the effective properties of the porous medium. Ideally, the choice of unit cells should be based on the results of direct experimental measurements conducted at both the microscale and macroscale. Theoretically, it is possible to obtain a three dimensional image of the four phases, biofilm-fluid-NAPL-solid and this is an area of active research [65, 154]. However, the results from such multi-scale experimental measurements are currently not available. Obviously the 2D unit cells, illustrated in Fig.3.3, may not capture all the features of a real system, however, they are sufficient to gain a significant insight about the physical mechanisms involved. Additionally, they could be used easily in conjunction with micromodel studies [141]. In this section, we describe the calculation steps of two effective parameters that are the dispersion tensor, Eq.(4.12), and the mass exchange coefficient, Eq.(3.121). Such calculations give us an overview of how the pore-scale architecture (especially biofilm and NAPL distribution) impact these macro-scale coefficients and illustrate the capability of the model. A large literature is available on these two parameters which justifies our choice [1, 36, 93]. Therefore, different types of complex unit cells have been used, they are summarized in Fig.3.3. Most important features that characterize unit cells are gathered in Table 3.1.

3.7.1 Results for complex unit cells

As specified above, the calculation of the dispersion tensor and the mass exchange coefficient are based on the different two-dimensional unit cells represented in Figure 3.3 and are denoted from (a) to (e). Their main morphological features (e.g., circularity, interfacial area, Feret diameter) and flow properties (permeability, wetting phase) are gathered in Table 3.1. These unit cells were constructed from a tomographic image of sandstone for the

TABLE 3.1 – Physical parameters associated with the various unit cells

Parameter	**unit cell**				
	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)
Fluid volume fraction ε_β	0.469	0.46	0.471	0.47	0.44
Biofilm volume fraction ε_ω	-	0.011	-	0.011	0.028
NAPL volume fraction ε_γ	0.032	0.032	0.030	0.030	0.030
Permeability k (m^2)	2.47×10^{-14}	2.21×10^{-14}	2.48×10^{-14}	2.36×10^{-14}	2.17×10^{-14}
$\beta-\gamma$ Interfacial area A_v (mm^{-1})	0.005	0.0038	0.0066	0.0059	0.0049
Feret diameter D_f (ω- and γ-phase) (mm)	0.16	0.12	0.16	0.15	0.13
Circularity C_f (ω- and γ-phase)	0.86	0.86	0.85	0.87	0.85
Lacunarity λ_f (ω- and γ-phase)	0.47	0.50	0.37	0.43	0.50
Wetting phase	Water	Water	NAPL	NAPL	NAPL

solid phase. We insist on the fact that these geometries do not pretend to give a fair picture of a real rock sample. Their only purpose is to be complex enough to capture the main features (tortuosity effect, different pore sizes and different NAPL blobs or biofilm shapes) of a contaminated soil. The volume fraction of the σ-phase is kept constant in all configurations and fixed at 0.5. The pore throat characteristic length, l_β, is estimated to be 0.3 mm so that the constraint of separation of scales is verified. All the unit cells (as shown in Figure 3.3), have the same size, *i.e.* $L \times L = 12 \times 12mm^2$. Biofilm phase in the unit cells (b), (d) and (e) was generated arbitrarily during their construction and the values concerning the volume fractions are summarized in Table 3.1. The NAPL blob distribution in the different unit cells was also done randomly by respecting the wettability of the NAPL phase. The resulting porous network of these complex unit cells contains ganglia of different sizes and forms similar to real-word conditions (insular saturation for non-wetting NAPL ; films or pendular rings when oil is wetting). Note that the geometrical properties of NAPL blobs and biofilms clusters in the different unit cells are globally similar in terms of circularity and characteristic length (Feret diameter) but the heterogeneity of phase distribution (i.e., lacunarity) vary. Moreover, the change in wettability obviously affects the interfacial area values which drive mass transfer processes, as detailed in Table 3.1.

The first step in our approach consists in calculating the pore scale velocity field from

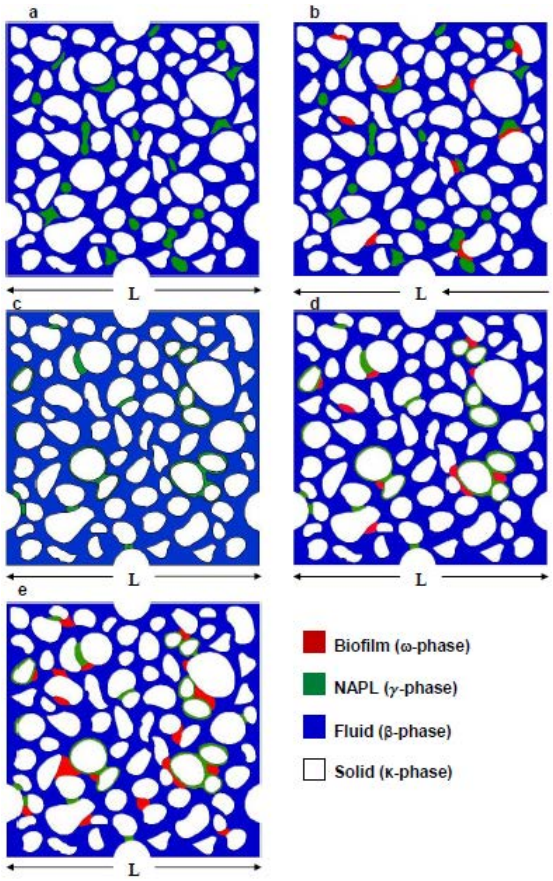

FIGURE 3.3 – Unit cells used for computations : non-wetting cases (unit cell (a) : without biofilm- unit cell (b) : after bacteria colonization) and wetting cases (unit cell (c) : without biofilm - unit cells (d) and (e) : after bacteria colonization)

a given inlet velocity or pressure gradient. The velocity field is obtained by solving Stokes equations, with symmetry conditions on lateral boundaries, over the entire system. All numerical calculations were performed using **COMSOL Multiphysics Sofware®** based on the finite element formulation. We used quadratic Lagrange elements for the velocities and linear for the pressure to obtain the numerical solution. The resulting linear system was solved with the direct solver PARDISO [105] based on the LU decomposition method.

In the second step, we solve the closure problems that are problems I and II for computing respectively the effective dispersion tensor and the mass exchange coefficient. These effective properties are estimated for different arbitrary values of the Péclet number varying between 10^{-3} and 10^{3}. For each computation, the solution convergence analysis was carried out. This analysis confirmed the independence of the numerical results with respect to the grid resolution.

3.7.2 Impact of the NAPL wettability-configuration(a) and (c)

First we examined the problem of dissolution of a NAPL phase without biofilm (abiotic conditions) represented by the unit cells (a) and (c). Our objective is to test the impact of the NAPL wettability on the dispersion coefficient (xx-component and yy-component of the dispersion tensor) and the mass exchange coefficient. Several studies have shown the influence of spatial variations in wettability on NAPL dissolution [99,134]. In particular, we compare these effective properties in the NAPL wetting case (unit cell (c) - Fig.3.3) and the non-wetting case (unit cell (a) - Fig. 3.3). The results for the longitudinal and transverse dispersion coefficients are shown in Fig. 3.4 and those for the mass exchange coefficient are represented in Fig. 3.5. Results for both cases illustrate the typical behavior of these effective properties with respect to the Péclet number.

In the diffusive regime, *i.e.*, at low Péclet number, as the dispersion coefficient is essentially determined by the volume fraction of each phase, we recover the same value of the effective diffusion, whatever the case. On the contrary, the two geometries exhibit a different behavior for the dimensionless mass exchange coefficient (Fig. 3.6). Mass transfer, indeed, is mainly driven by the surface exchange area $A_{\beta\gamma}$ which vary significantly between the unit cells (a) and (c) due to the presence of NAPL rings around the solid phase in the oil-wetting case.

As soon as the advection term becomes predominant, the difference between the two longitudinal dispersion curves increases (Fig. 3.4) leading, for a large Péclet ($Pe_A = 10^3$), to a longitudinal dispersion coefficient value for the unit cell (c) about 2 times larger than that obtained for the unit cell (a). This discrepancy can be explained by the configuration of the unit cell (a) marked by isolated NAPL blobs. These blobs increase the mechanical effects of the dispersion which is not anymore necessarily oriented in the flow direction. We note that our results are similar with those obtained by Quintard and Whitaker [93] for active dispersion in the presence of NAPL. Concerning the dimensionless exchange coefficient, the trend observed at low Pe_A is inverted and we observe a coefficient value smaller in the wetting case (unit cell (c)) than for the non-wetting case (unit cell (a)). To support these results, we have represented in Fig.3.6 the spatial distribution of the velocity fields obtained for both geometries. The analysis of this figure indicates that the velocity magnitude in the vicinity of the fluid-NAPL interface is globally higher for the non-wetting case (zones represented by yellow triangles in Fig. 3.6) and we note the presence of dead-flow zones close to the NAPL blobs for the unit cell (c) (zones represented by red diamonds in Fig. 3.6). These higher local values of velocity mechanically contribute to increase the mass transfer at the macro-scale as has been shown by Miller et al. [27].

3.7.3 Impact of the biofilm development : Comparison of wetting cases (before and after colonization by biofilm)- configuration (c),(d) and (e)

The results reported in Figs. 3.7 and 3.8 illustrate the impact of the biofilm growth on the dispersion coefficient and mass transfer coefficient in the oil-wetting case (unit cell (c) : without biofilm - unit cells (d) and (e) : after bacteria colonization). The influence of the

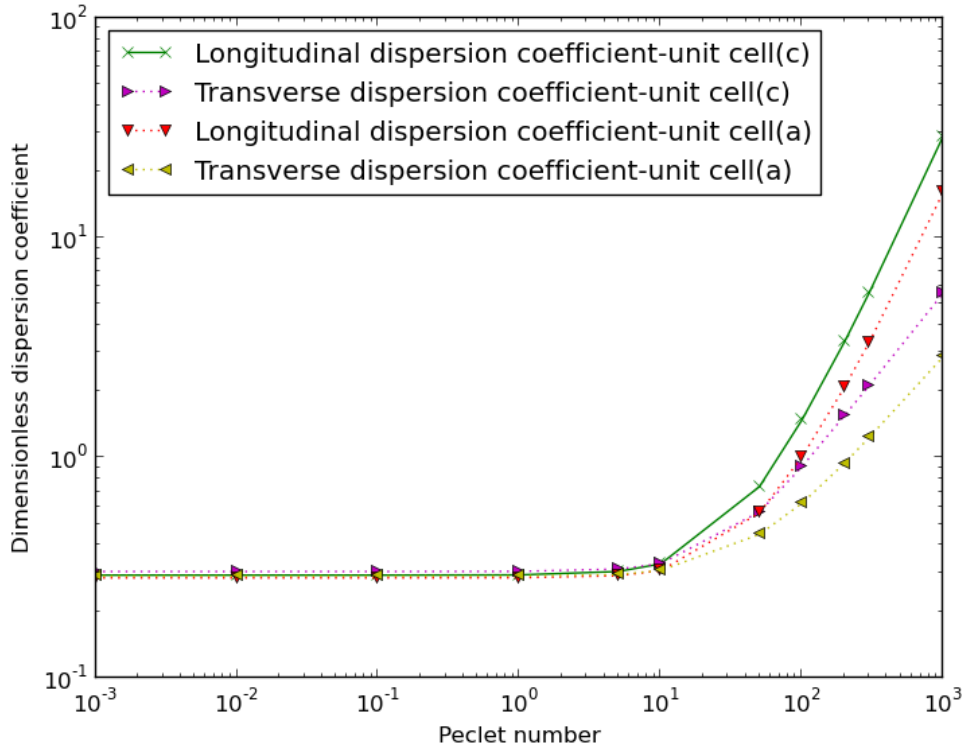

FIGURE 3.4 – Dimensionless dispersion coefficient : Variation versus Pe_A in abiotic conditions

solubilizing agents (*i.e.*,, the value of the partitioning coefficient $K_{\omega\gamma}$ at the NAPL-biofilm interface) will be investigated through two values of the diffusion ratio $\mathbf{D_\Gamma}$ fixed at 2.5 ($K_{\omega\gamma} = 5$) and 5 ($K_{\omega\gamma} = 10$). Indeed, increasing $\mathbf{D_\Gamma}$ means increasing $K_{\omega\gamma}$, with all other parameters constant.

As we can see in Fig. 3.7, the influence of the biofilm development on dispersion phenomenon becomes observable at high Péclet numbers. If we observe the transverse dispersions, we note a low impact of the biofilm development contrary to the case of the longitudinal component. The more biofilm volume fraction increases (unit cell (d) - $\varepsilon_\omega = 0.011$ and unit cell (e) - $\varepsilon_\omega = 0.028$), the more longitudinal dispersion coefficient increases compared to the case without biofilm (unit cell(c) - $\varepsilon_\omega = 0$). This biomass development leads to an increase in lacunarity, as we can see in Table 3.1. For example, if lacunarity is increased of 25%, the dispersion coefficient increases of 10%. These results are related to the role of the biofilm activity that increases the NAPL solubility and hence the concentration gradients in the vicinity of NAPL blobs [110]. Note that the direct increase of $K_{\omega\gamma}$ reflects the same result.

For the second parameter under consideration, *i.e.,* the mass exchange coefficient, it is clear that the presence of biofilm has a major impact especially at low Péclet numbers (Fig. 3.8). Increasing the biofilm volume fraction (or the value of $K_{\omega\gamma}$) favors an increase

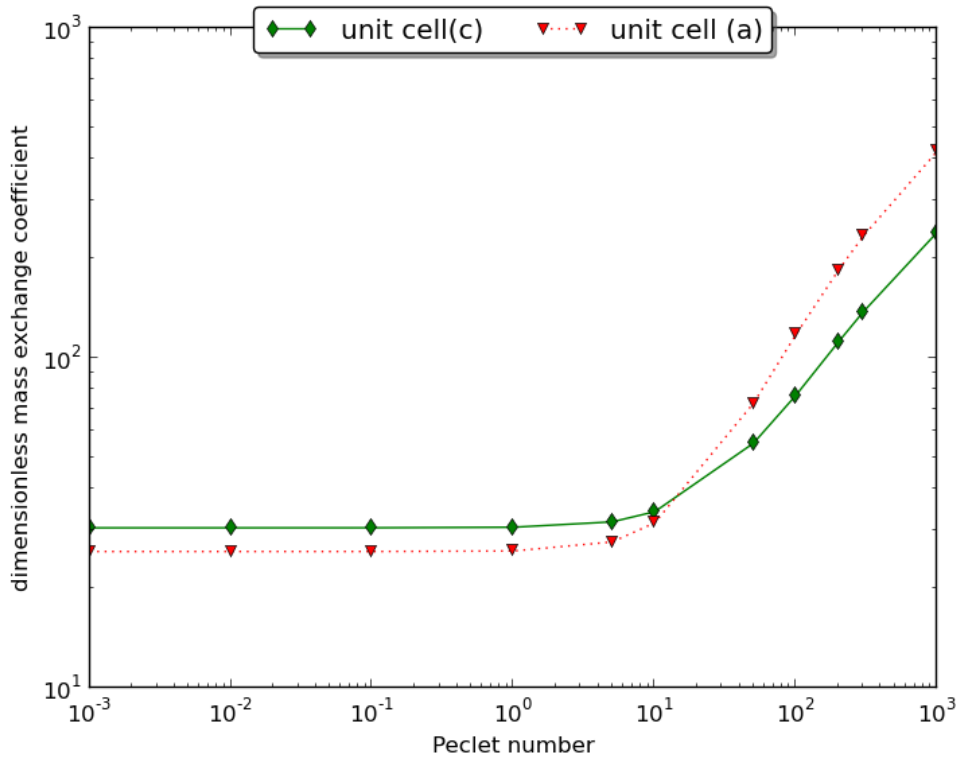

FIGURE 3.5 – Dimensionless mass exchange coefficient : Variation versus Pe_A in abiotic conditions

of the mass exchange coefficient. As mentioned above, the biofilm growth increases the concentration gradients and consequently the outward interfacial fluxes from the NAPL phase. Yet this impact gets smaller with higher Péclet numbers. As the flow rate increases, external mass transfer limitations in the fluid phase tend to disappear which reduces the benefit of the highest solubility values in the biofilm phase where the mass transfer remains limited by diffusion (no advection within the biofilm).

3.7.4 Impact of the biofilm development : Comparison of non-wetting cases (before and after colonization by biofilm)- configuration (a) and (b)

Finally the impact of bacterial growth on the effective properties of porous media is studied for the NAPL-non-wetting phase. The diffusion ratio $\mathbf{D_\Gamma}$ is kept constant at 2.5. Simulation results are reported in Figs. 3.9 and 3.10. As expected, we recover a behavior for both coefficients similar to the one observed for the NAPL-wetting case. Regarding the mass transfer coefficient, Fig. 3.10, it should be noted that the interfacial flux is practically the same at high Péclet numbers with or without bacterial activity. This result, already

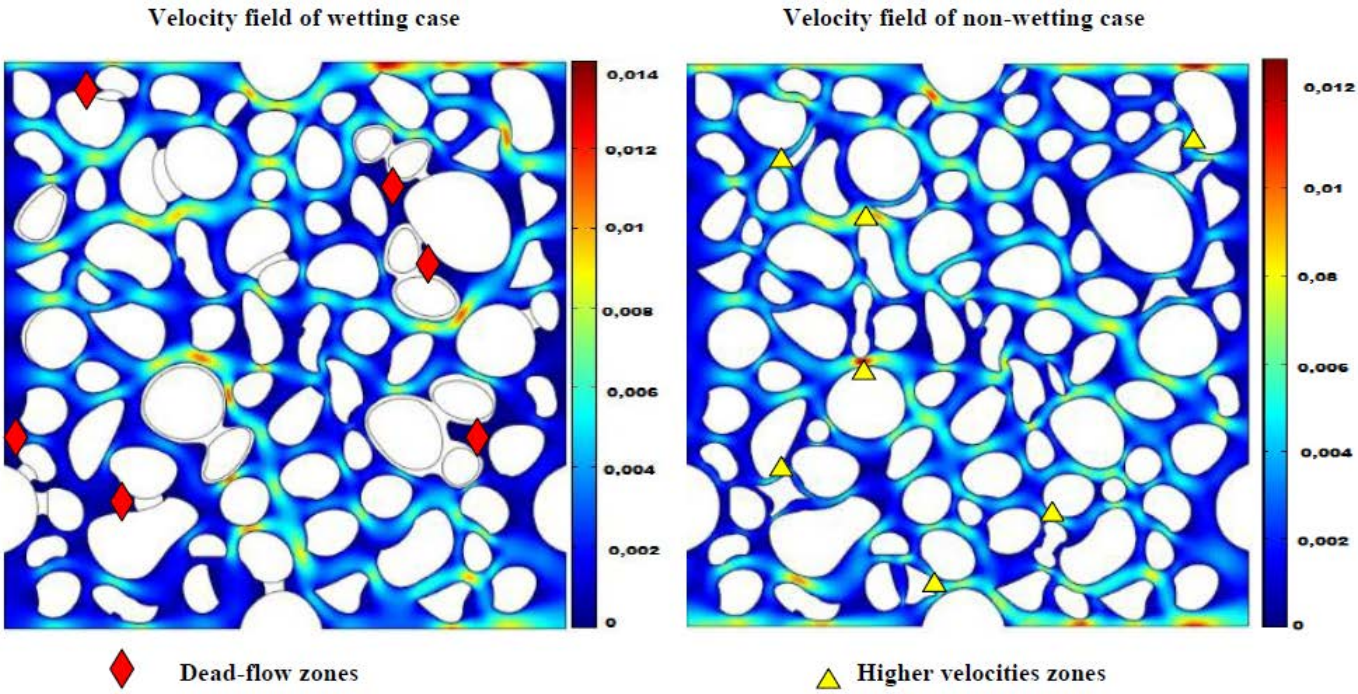

FIGURE 3.6 – Velocity field : Comparison of the unit cells without biofilm (unit cell (c) and (a))

observed in the previous section, is more striking here. These results are in agreement with the trend observed in Fig. 3.5 where the mass exchange coefficient value was smaller in the wetting case (unit cell(c)) than for the non-wetting case (unit cell(a)). Advection prevails sooner for the non-wetting case and smoothes totally the impact of the biofilm colonization.

3.7.5 Numerical validation of the macroscopic model

In this section, we validate the upscaling theory derived in this paper by a comparison between the macro-scale model and direct numerical simulations (DNS) based on the pore scale model. We adopt the same approach that has been used in [21, 36, 77]. **COMSOL Multiphysics Sofware®** is used for all simulations. The geometry considered here is shown in Fig. 3.11. The unit cell (d) of dimension $L \times L = 12 \times 12\ mm$ was used to construct this 2D geometry and was duplicated five times to obtain the final domain. The phases (β, ω and γ) were generated in the same manner as the previous unit cells and volume fractions values are similar to the ones given in Table 3.1 for the unit cell (d). At the local scale, the physical problem will be two-dimensional and transient whereas at the macroscale we will have a transient and one-dimensional problem. Comparison will be focused on the steady-state spatial profiles of hydrocarbon concentration in the whole computational domain. Dynamics of NAPL blobs dissolution with time will not be simulated here. Since this dynamics is

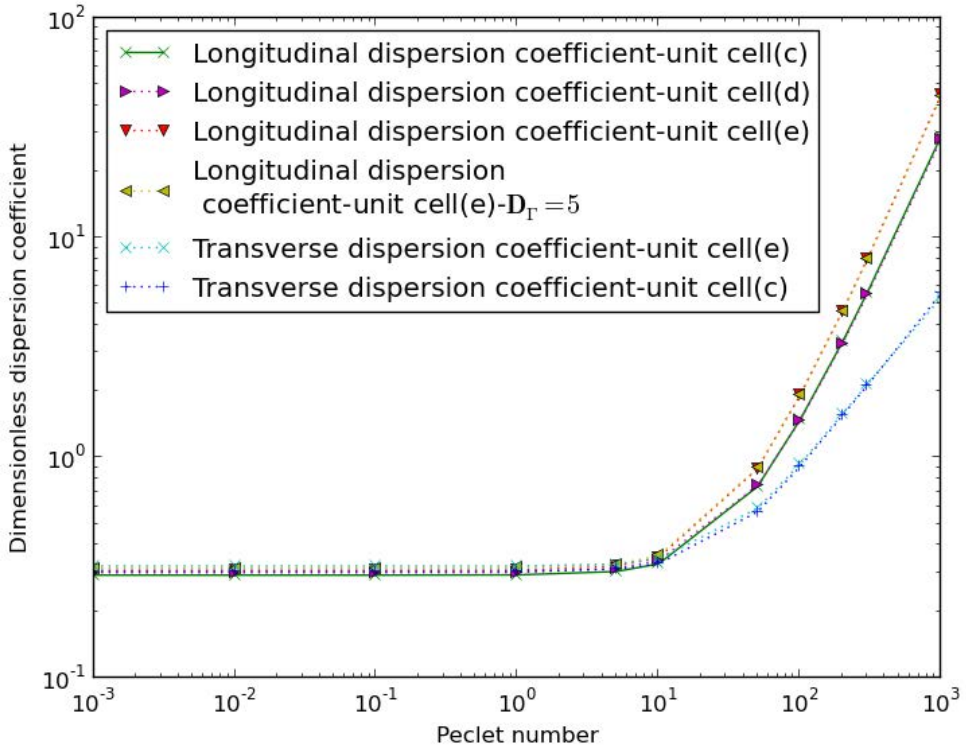

FIGURE 3.7 – Dimensionless dispersion coefficient : Comparison of NAPL wetting cases (before and after colonization by biofilm)

driven by the interfacial fluxes values, an investigation of concentration profiles is sufficient for comparison purposes. The species B is assumed to be in excess so that $c^*_{B\omega} = 1$. In the following, we will keep the same reduced parameters as defined in Eq. 3.109. For the sake of simplicity, we will adopt a change of variable accordingly with

$$c^{'}_{AK_\omega} = K_{\beta\omega} c^{'}_{A\omega} \tag{3.131}$$

Thus, the dimensionless form of equations and associated boundary conditions under consideration at the pore scale reduces to :

$$\frac{\partial c^{'}_{A\beta}}{\partial t'} + Pe_A \mathbf{v}^{'}_{\beta}.\nabla c^{'}_{A\beta} = \nabla.(\nabla c^{'}_{A\beta}) \qquad \text{in the } \beta\text{-phase} \tag{3.132}$$

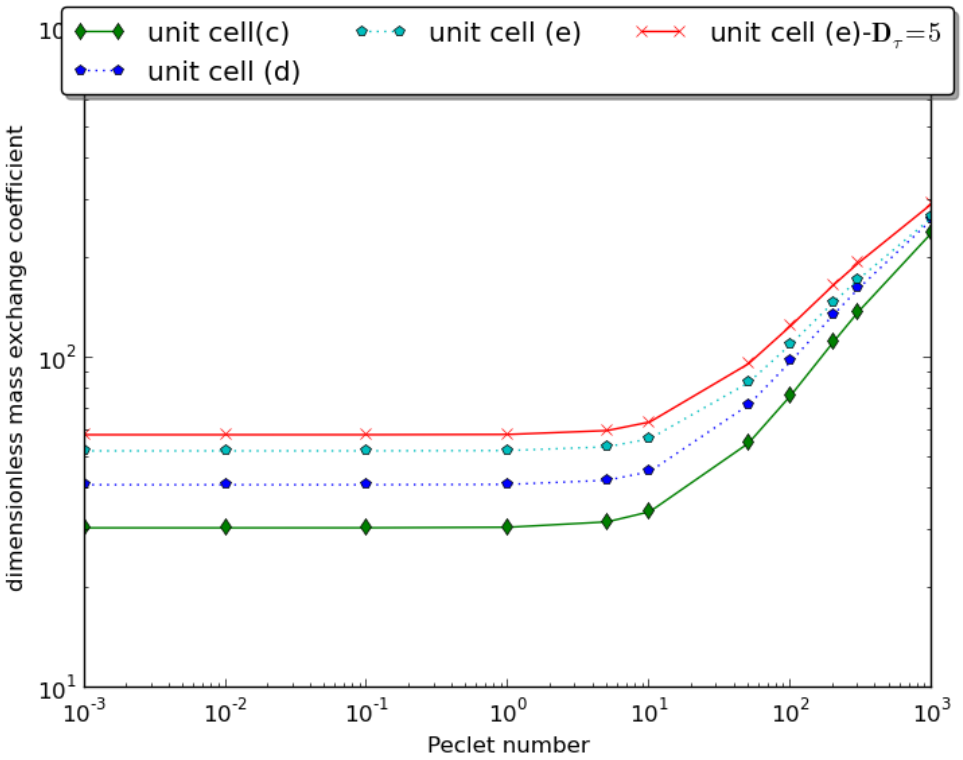

FIGURE 3.8 – Mass exchange coefficient : Comparison of NAPL wetting cases (before and after colonization by biofilm)

$$\text{B.C.1} \quad \mathbf{n}_{\beta\sigma}.\nabla c'_{A\beta} = 0 \qquad \text{at } A_{\beta\sigma} \tag{3.133}$$

$$\text{B.C.2} \quad \mathbf{n}_{\omega\sigma}.\mathbf{D_\Gamma}.\nabla c'_{AK_\omega} = 0 \qquad \text{at } A_{\omega\sigma} \tag{3.134}$$

$$\text{B.C.3} \quad c'_{A\beta} = c'_{AK_\omega} \qquad \text{at } A_{\beta\omega} \tag{3.135}$$

$$\text{B.C.4} \quad \mathbf{n}_{\beta\omega}.\nabla c'_{A\beta} = \mathbf{n}_{\beta\omega}.\mathbf{D_\Gamma}.\nabla c'_{AK_\omega} \qquad \text{at } A_{\beta\omega} \tag{3.136}$$

$$\text{B.C.5} \quad c'_{A\beta} = 1 \qquad \text{at } A_{\beta\gamma} \tag{3.137}$$

$$\text{B.C.6} \quad c'_{AK_\omega} = 1 \qquad \text{at } A_{\omega\gamma} \tag{3.138}$$

$$K_{\beta\omega}^{-1}\frac{\partial c'_{AK_\omega}}{\partial t'} = \nabla.(\mathbf{D_\Gamma}.\nabla c'_{AK_\omega}) - Da_A \frac{c'_{AK_\omega}}{K_{\beta\omega} + \frac{c'_{AK_\omega}}{K'_{A\omega}} + \frac{K_{\beta\omega}^{-1}c'^2_{AK_\omega}}{K'_{A\omega}K'_i}} \qquad \text{in the } \omega\text{-phase} \tag{3.139}$$

where

$$c'_{A\omega} = \frac{c_{A\omega}}{c_o}\,; \qquad c'_{A\beta} = \frac{c_{A\beta}}{c_o}\,; \qquad K'_{A\omega} = \frac{K_{A\omega}}{c_o}\,; \tag{3.140}$$

$$t' = \frac{tD_{A\beta}}{L^2}\,; \qquad Da_A = \frac{\mu_{A\omega}\rho_\omega L^2}{D_{A\beta}K_{A\omega}}\,; \qquad K'_i = \frac{K_i}{c_o}\,; \tag{3.141}$$

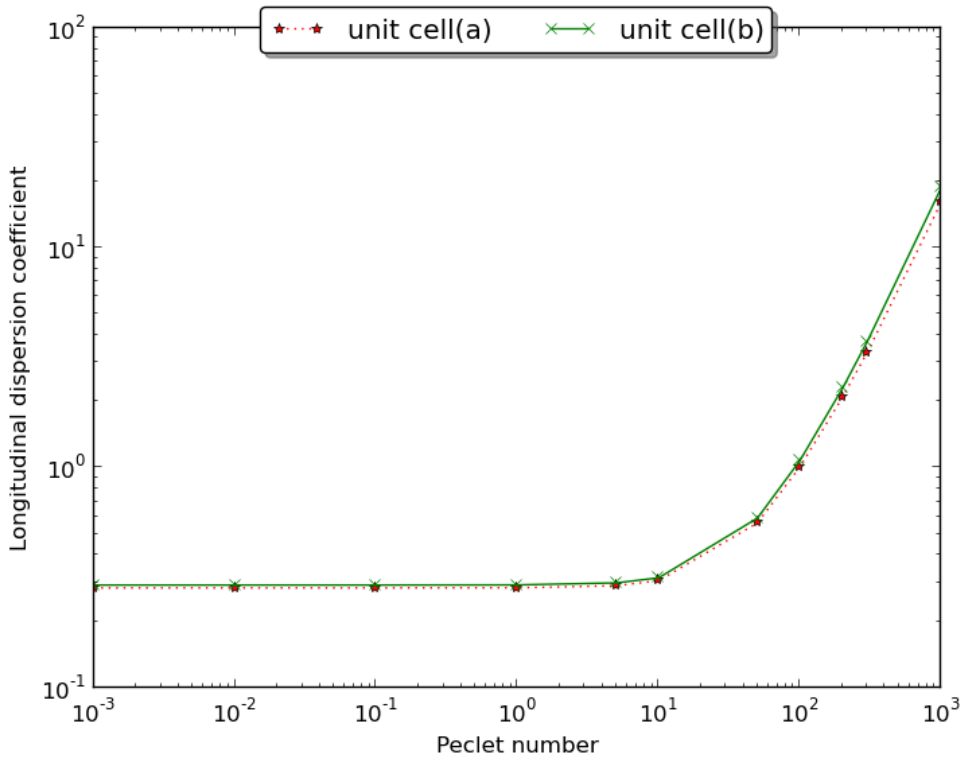

FIGURE 3.9 – Longitudinal dispersion coefficient : Comparison of NAPL non-wetting cases (before and after colonization by biofilm)

The additional boundary conditions are :

- at the inlet : $c_{A\beta} = 0$,
- at the outlet : $\mathbf{n_x}.(\mathbf{D}_{A\beta}\nabla c_{A\beta} + \mathbf{v}_{\beta}c_{A\beta}) = 0$,
- Initial conditions : $c'_{A\beta} = c'_{AK_\omega} = 0$.

In this analysis, we proceed by the following steps :

1. First, we solve the entire 2D microscopic problem on a total length of $5 \times L$. The velocity field is obtained by directly solving the Stokes equations (Eqs. 3.4 and 3.13-3.15). We have specified a condition of pressure and concentration at the inlet. At the outlet, we applied a pressure condition and a convective flux (or Robin) type boundary condition. Periodic conditions were applied for concentration and pressure on the other faces. The mesh refinement has been used to perform the mesh independence study. The final mesh is composed of 353,413 elements connecting 188,555 nodal points.

2. The second step consists in solving the closure problems on the unit cell (d) used to generate the domain for different Péclet numbers and calculate the effective properties. Then, once all the effective properties are known, we solve the 1D upscaled model, Eq. 3.110, on a total length of $5 \times L$. The number of mesh nodes in the upscaled model is

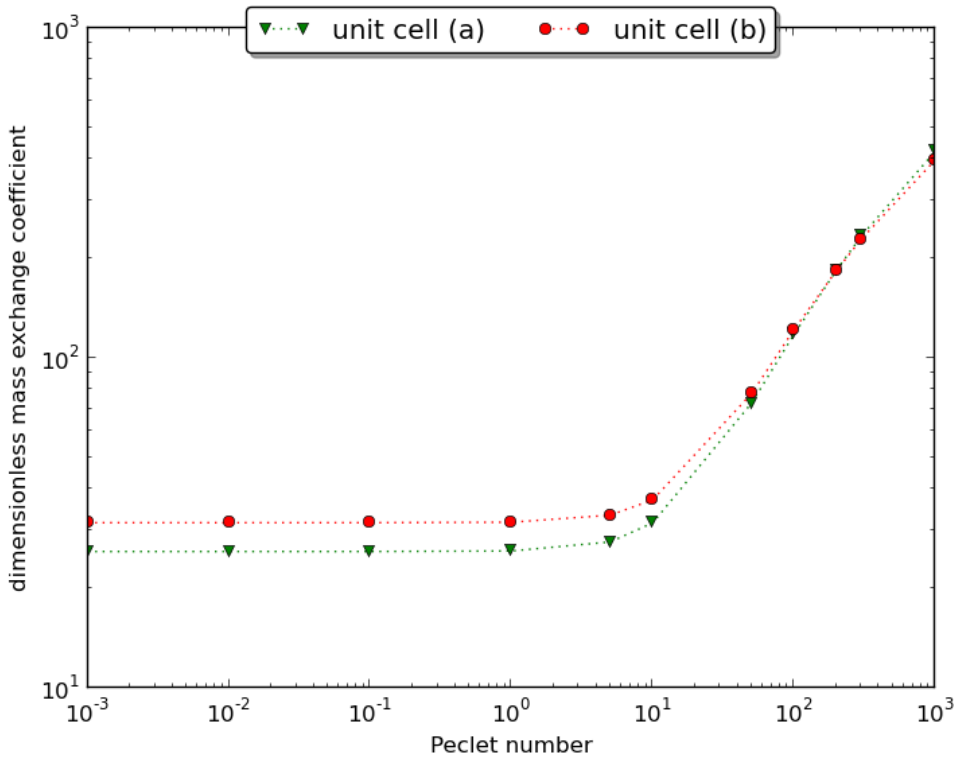

FIGURE 3.10 – Dimensionless mass exchange coefficient : Comparison of NAPL non-wetting cases (before and after colonization by biofilm)

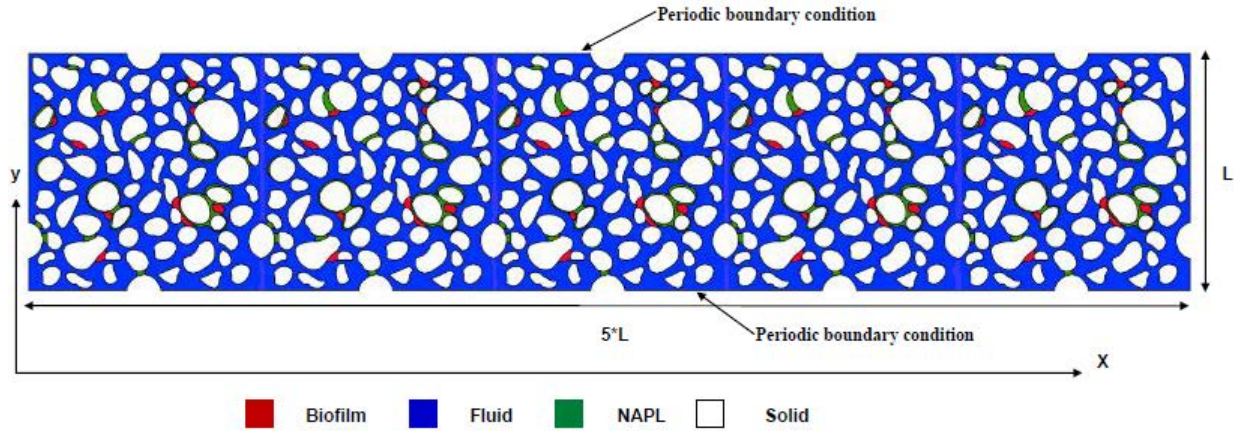

FIGURE 3.11 – Complex 2D geometry considered for numerical validation

of 30721.

3. Finally, the fields obtained from the pore scale simulations are averaged over cross-

sections to provide the 1D evolution of macro-scale mass fractions $\langle c_{A\beta}\rangle^{'\beta}$ and compared to Darcy-scale simulations.

In the following, we present the typical results for three numerical conditions, respectively, $Pe_A = 0.01$ and $Da_A = 0.01$, $Pe_A = 0.5$ and $Da_A = 0.5$, $Pe_A = 10$ and $Da_A = 5$. $\mathbf{D}_\Gamma$ has been arbitrarily fixed at 0.8, $K'_{A\omega}$ at 0.5 and K'_i at 0.9. The mass fraction value $\langle c_{A\beta}\rangle^{'\beta}$ along the x-axis, which is used as comparison criterion for the simulations is plotted in Fig. 3.12. For local equilibrium conditions ($Pe_A = 0.01$ and $Da_A = 0.01$, $Pe_A = 0.5$ and $Da_A = 0.5$), we note a very good agreement (less than 3% of relative error) between the direct numerical simulation and the macro-scale model. For such conditions, concentration gradients are sufficiently small at the fluid-biofilm interface so that the local mass equilibrium assumption can be ensured. On the contrary, when the Péclet or Damköhler number is too high, concentration gradients appear generated by advection or kinetics. Thus, non-equilibrium conditions prevail and our upscaled local equilibrium model is expected to fail. This is the case for $Pe_A = 10$ and $Da_A = 5$ where the relative error increased up to 10%. These observations are consistent with those obtained by [36] for a fluid/biofilm system.

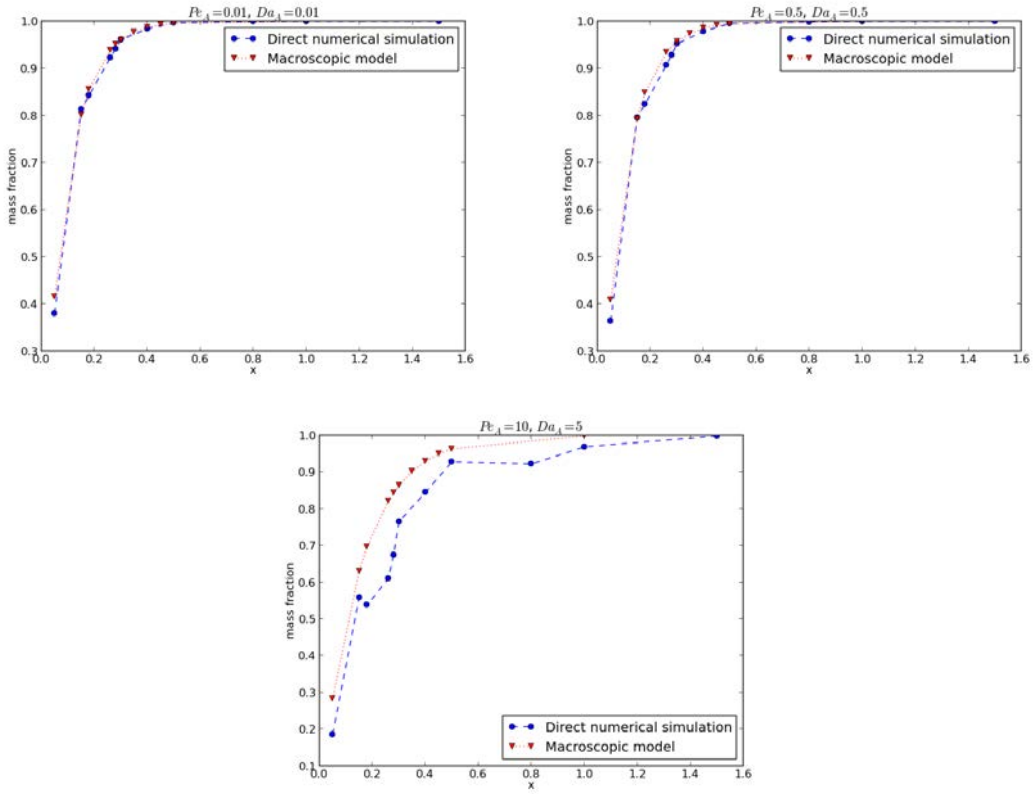

FIGURE 3.12 – Comparison of spatial profiles of concentration between DNS and the macroscopic model for a complex 2D geometry

A last point deserves to be investigated. In real-world applications, the correct knowledge of the aquifer features at the pore scale is usually missing. This is particularly true for non-

solid phases (biofilm or NAPL) where volume fractions (or saturations) are sometimes the only information available. In order to investigate the impact of the pore-scale structure on the upscaled solution, we assumed that the distribution of the biofilm and NAPL phases are unknown. Consequently, we compared the same pore scale simulations with the Darcy-scale simulations performed for two different unit cells (unit cell (b) and (d)). The unit cell (d) keeps the correct volume fractions of each phase but their distributions vary. For the two numerical conditions shown in Figure 3.13 ($Pe_A = 0.01$ and $Da_A = 0.01$, $Pe_A = 10$ and $Da_A = 5$), we observe a small impact of the unit cell geometry on the result, especially at low Péclet and Damköhler numbers since diffusive transfer is essentially driven by the volume fractions of each phase. When Pe_A and Da_A increase, dependency of the upscaled solution to the pore-scale features grows but remains relatively low. However, this small impact cannot be generalized to any geometry since there is essentially no a priori method to determine how much geometric structure is sufficient to adequately represent the transport processes within a unit cell.

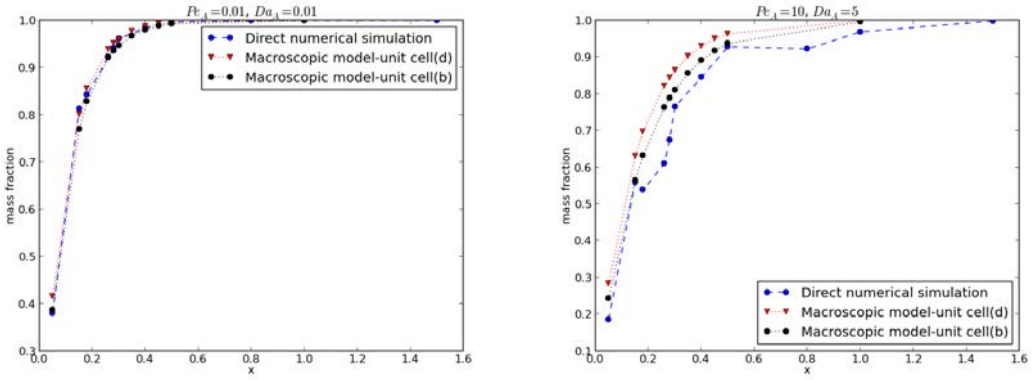

FIGURE 3.13 – Impact of the pore-scale geometry on the upscaled concentration field

3.8 Conclusion

In this work, we developed an upscaled model of bio-enhanced NAPL dissolution in porous media using the volume averaging method. We derived a set of two macro-scale equations based on the local mass equilibrium assumption at the fluid/biofilm interface and the constraints associated with the hypothesis were previously defined.

The main assumptions on which this model is based are summarized below :

- We consider a satured porous medium colonized by biofilm in presence of a trapped hydrocarbon phase. Biodegradation reaction is described by Haldane kinetics (a large excess of electron acceptor is assumed).
- The hydrocarbon phase (γ-phase) is assumed trapped residually into the porous matrix and it is immobile.
- Biofilm growth and solute transport phenomena are uncoupled due to the separation

of time scales for both processes.
– The macroscale mass balance equation is derived under local mass equilibrium condition at the fluid-biofilm interface.

Different types of 2D complex unit cells have been used to compute the mass exchange coefficient and the dispersion tensor components. The dissolution enhancement effect on the NAPL phase due to bacterial activity has been investigated. The results presented in this paper confirm the impact of microbial processes on the mass exchange coefficient and the dispersion tensor compared to the abiotic conditions. It has been shown that the pore-scale architecture, function of the rock wettability, may significantly affect the biodisponibility of the NAPL phase and consequently its biodegradation (through the mass transfer coefficient value).

The representativity of the macro-scale model was assessed by comparison with direct numerical simulation over a realistic 2D pore geometry. For low values of Pe_A and Da_A numbers, *i.e.* for local equilibrium conditions, very good agreement between these solutions was obtained. For high values of Pe_A and Da_A numbers, however, concentration gradients develop at the $\omega-\gamma$ interface and the relative error goes up to 10%. This result suggests that the model is applicable with sufficient accuracy only for $Pe_A < 1$ and $Da_A < 1$. Extension of this model to situations of non-equilibrium would require the development of a set of three coupled averaged equations, with one equation per phase.

In the present paper, we considered that the pore-scale geometry was given *a priori* and closure problems and averaged equations were uncoupled due to a quasi-steady state approximation. However, this pore-scale geometry is a result of the dissolution process driven by the macro-scale equations and changes with time due to biofilm growth and NAPL blobs dissolution. Integrating this coupling into an upscaling theory remains a challenging issue. A classical approach used in geochemistry to handle this complexity, consists in assuming a direct relationship between the effective coefficients and porosity. However, pore-scale surface patterns may evolve differently as a function of hydrodynamics. Pore-scale simulations coupling flow and solute transport in evolving geometries [82], biofilm growth model and NAPL dissolution are currently in progress and should provide interesting findings on this question.

To conclude, we would like to discuss about the coupling of our transport model to the microbial dynamics. This point has not been considered in this study, however, a number of approaches can be identified. Globally, two scenarios can be distinguished :

– Biofilm supported by aquifer grains is not thick enough to disturb groundwater flow and hence, the biomass volume fraction does not vary across time. This is typical of usual subsurface conditions. Coupling with bacterial population dynamics (e.g., Monod equation) can be easily performed through a sequential procedure and an example of this form of coupling with an upscaled transport equation can be found in Orgogozo et al. [77]. Application to the present bio-enhanced NAPL dissolution model is here straightforward.
– Biofilm growth cannot be neglected (e.g., bioplugging in the vicinity of the injection well during remediation strategy). This issue is by far more complex since an additional upscaled equation is required for predicting the changes in the volume fractions of each phase with time. Moreover, as mentioned above, changes in pore-scale geometry

would be lost through this approach and the unit cell required for the calculation of the effective properties could not be updated in a direct way. This difficulty is well known for systems with process-dependent, evolving geometries and further research is required on this point.

Chapitre 4

Étude expérimentale : Dissolution du NAPL en condition abiotique

4.1 Introduction

La mise en place d'un modèle expérimental a pour but de valider les modèles théoriques via la comparaison entre les résultats expérimentaux et numériques. Le processus de validation des modèles théoriques consiste donc à comparer des résultats observés expérimentalement aux résultats prédits numériquement sur une situation simple et bien contrainte.

Dans ce chapitre, notre étude expérimentale consiste à étudier la dissolution du NAPL en condition abiotique. Cette étude permettra une meilleure connaissance des processus hydrodynamiques et de transport impliqués dans la dissolution du toluène à l'échelle du pore. Afin de caractériser au mieux les processus de couplage intervenant au cours des expériences et quantifier, en particulier, l'influence potentielle des hétérogénéités du milieu poreux sur les paramètres physiques et de transport (e.g., taille des gouttelettes de NAPL piégés, écoulements préférentiels, remobilisation des gouttelettes piégées, etc), un suivi au cours du temps de la dissolution sera effectué. Ce suivi sera réalisé par chromatographie en phase gazeuse (mesure de la concentration en toluène) et à l'aide d'une caméra haute définition (acquisition d'images au cours du temps). Les résultats obtenus permettront de mener une comparaison avec le cas biotique où nous étudions le même processus mais en présence des bactéries (Chapitre 5). In fine, les résultats expérimentaux de dissolution du NAPL résiduel sans bactéries seront comparés aux résultats numériques issus du modèle théorique présenté dans le chapitre 3. Cette comparaison sera menée au travers les courbes de dissolution de NAPL.

Ainsi, dans un premier temps, nous exposerons dans un premier temps la démarche méthodologique qui a permis la mise en place du dispositif expérimental. Ensuite, nous nous attacherons à la présentation des résultats sur la dissolution du NAPL en condition abiotique initialement piégé à saturation résiduelle (courbes de dissolution et évolution de la saturation résiduelle en fonction du temps). Finalement, nous comparons les expériences de dissolution avec les prédictions du modèle macroscopique en se basant sur des cellules unitaires construites à partir des images de la cellule expérimentale (micromodèle).

4.2 Matériels et méthodes

4.2.1 Polluant utilisé

Le NAPL utilisé lors de nos expériences est le toluène, hydrocarbure aromatique dont la formule chimique est C_7H_8. le toluène est généralement obtenu par réformation catalytique des naphtas dont la fraction prépondérante contient des hydrocarbures possédant 6 à 9 carbones. Le toluène est utilisé en mélange avec le benzène et le xylène afin d'améliorer l'indice d'octane de l'essence. Dans les conditions normales, c'est un liquide transparent à l'odeur caractéristique, rappelant celle du solvant pour peinture ou celle du benzène apparenté. Notre choix sur le toluène comme source de carbone pour la croissance bactérienne repose sur ses nombreux aspects positifs (forte solubilité, schéma simple de dégradation).

Le toluène utilisé dans nos essais expérimentaux est commercialisé par la société Fischer Scientific. Il a une pureté supérieure à 99% et ses principales caractéristiques sont récapitulées dans le Tableau 4.1.

Propriétés du toluène	Valeur
Masse molaire (g/mol)	$92,14$
Densité	0,8669
Viscosité dynamique (Pa.s)	$0,59.10^{-3}$ à $20^{\circ}C$
Solubilité dans l'eau (mg/l)	515 à $20^{\circ}C$
Pression de vapeur (Pa)	2922 à $20^{\circ}C$
Tension superficielle (N/m)	$28,5.10^{-3}$ à $20^{\circ}C$
Coefficient de diffusion dans l'eau (cm^2/s)	$8,6.10^{-6}$ à $25^{\circ}C$

TABLE 4.1 – Propriétés physico-chimiques du toluène [83]

Afin de tracer l'évolution du toluène à l'intérieur du micro-modèle nous l'avons coloré en rouge en utilisant le colorant hydrophobe Oil Red O à une concentration de 0,5 g/l. Des études antérieures [**?**, 132] ont montré que ce colorant n'affecte pas les propriétés physico-chimiques du solvant.

4.2.2 Dispositifs expérimentaux

4.2.2.1 Micromodèle

Le micromodèle utilisé dans nos expériences est un milieu poreux transparent 2D gravé sur verre par sablage. Avant la gravure sur verre, le réseau poral du micromodèle a été reconstitué à partir d'une image tomographique de grés afin de reproduire le plus fidèlement possible des milieux poreux naturels. Afin de quantifier les erreurs et les hétérogénéités induites par la micro-fabrication, nous avons mesuré la variation de l'épaisseur du micromodèle à l'aide d'un micromètre couplé avec un palpeur en aiguille. Ces mesures montrent que la variation de l'épaisseur du micromdèle est pratiquement négligeable (écart moyen de 30%). Le micromodèle est constitué de trois parties : un réservoir amont, un réservoir aval

et la partie centrale, i.e., la zone de mesure. La Figure 4.1 montre la structure porale du micromodèle dont les dimensions de la partie centrale sont de dimension $5 * 5cm^2$.

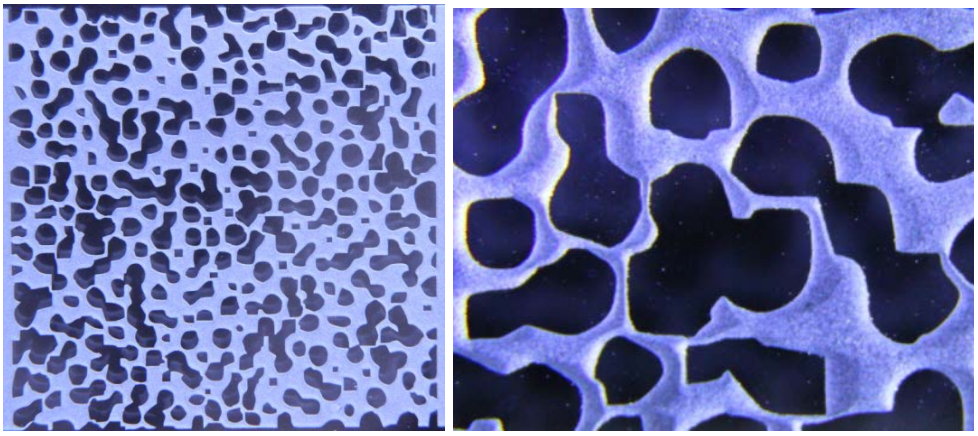

FIGURE 4.1 – Structure porale du micromodèle

Notre étude a débuté par une phase préliminaire dédiée à l'estimation de ses paramètres hydrodynamiques, i.e., la conductivité hydraulique (perméabilité) et la porosité.

Le volume de la matrice poreuse a été déterminé par pesée en supposant que la masse volumique d'eau est de 1g/L. Il est défini alors comme étant la différence entre la masse du micromodèle saturé en eau et sa masse à l'état sec. La précision de la balance est de l'ordre de 10^{-1}g. L'état sec de la cellule est obtenu en injectant un débit constant d'air comprimé pendant environ 12 h. La saturation du micromodèle a été effectué sous vide. Le micromodèle est plongé dans un dessiccateur remplie d'eau distillée. On ferme la vanne de sortie du dessiccateur et on applique une dépression à l'aide d'une pompe à vide (modèle BOC Edwards XDS5). Sous l'effet de la dépression, l'eau s'écoule à travers la cellule en la saturant. Cette opération s'effectue en plusieurs cycles. La procédure de saturation de la cellule dure environ une demi-journée.

Quant à l'estimation de la perméabilité, elle repose sur le principe de conservation de la masse et de la loi de Darcy. D'une manière générale, il s'agit de mesurer le temps nécessaire à la percolation dans notre micromodèle d'un volume d'eau sous une charge d'injection donnée qui peut être constante ou variable. Dans un premier test, nous avons adopté le principe du perméamètre à charge variable. La variation du volume d'eau injecté en fonction du temps a été déterminée via une burette graduée. La seconde méthode a consisté à mesurer la différence de pression entre le réservoir amont et aval générée par l'injection à différents débits, d'un traceur dans le micromodèle à l'aide d'une pompe seringue. La pente de la droite donnant V (vitesse) en fonction de h (gradient hydraulique) permet de calculer la perméabilité.

Le Tableau 4.2 résume les propriétés physiques du micromodèle obtenues.

Une des contraintes fortes du modèle expérimental est d'assurer « l'homogénéité » du champ des vitesses ou plus exactement l'homogénéité du front d'avancement du traceur. L'injection de la phase aqueuse dans le micromodèle est pratiquée par un port d'injection

Paramètres	Valeur
Longueur(cm)	5
Largeur (cm)	5
Épaisseur (μm)	300
Taille de pores (μm)	300
Volume du réservoir amont (mm^3)	225
Volume du réservoir aval (mm^3)	225
Volume des pores (mm^3)	400
Porosité ($-$)	$0,5$
Perméamètre à charge variable (K en m/s)	$3,74.10^{-3}$
Relation Débit/pression (K en m/s)	$3,31.10^{-2}$

TABLE 4.2 – Propriétés physiques du Micromodèle

débouchant sur un réservoir de mélange permettant de lisser le profil des vitesses avant l'admission dans les pores. Les premiers tests d'injection d'un colorant (Brian bleu) dans le micromodèle entièrement saturé en eau ont fait apparaître un front de déplacement complètement hétérogène. Ce défaut est forcement dû au système d'injection qui n'assure pas un bon mélange au sein du réservoir pour l'homogénéisation du front. Afin de pallier ce problème, une fine couche bien tassée de limaille d'acier inoxydable a été insérée tout au long du réservoir amont (voir Figure 4.2). Cette solution a permis la récupération d'un front quasi-homogène selon la largeur du micromodèle.

4.2.2.2 Système d'acquisition des données

Pour l'acquisition des données expérimentales, le choix des matériels d'acquisition (appareil photographique, microscope, ...) est fait sur la base de l'objectif expérimental visé à savoir, l'obtention des images représentatives du système eau/biofilm/NAPL. L'appareil photo Canon EOS 400D (objectif : Canon Macro Lens EF-S 60 mm) utilisé sert à visualiser l'évolution spatio-temporelle du polluant (NAPL) au sein du micromodele. Il est piloté par l'ordinateur à l'aide d'un logiciel (EOS utility). Un microscope Nikkon AZ100, muni d'un objectif Sigma 24 mm (F1.8 DG Macro Aspherical) est utilisé pour l'observation locale du biofilm se développant dans le micromodèle. Le microscope AZ100 présente l'intérêt d'avoir un grossissement de $\times 400$ avec une distance focale de plus de 1 cm. Le micromodèle est rétro-éclairé par un panneau lumineux Mascot Technology qui assure une distribution homogène du flux lumineux. Le déplacement de l'appareil photo et du microscope dans les trois directions (X, Y et Z) est assuré par un système du type Charly Robot Isel Automation piloté par l'ordinateur. L'appareil photo et le microscope sont montés sur le robot pour que l'alternance des prises de vue soit assurée. Le système d'acquisition des données est visible sur le montage expérimental présenté sur la Figure 4.5.

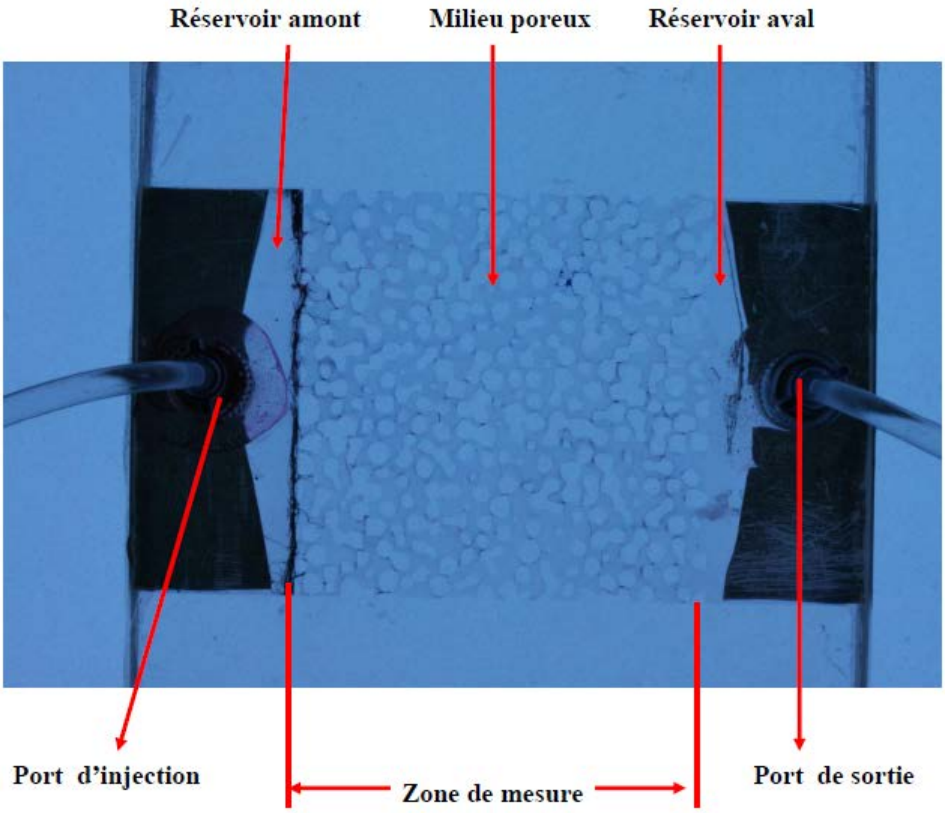

FIGURE 4.2 – Micromodèle (montage utilisé)

4.2.2.3 Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La classification des chromatographes se fait selon la nature de la phase stationnaire. Si la phase stationnaire est un liquide ou gaz, on parle de chromatographie gaz-liquide ou chromatographie de partage. Par contre si la phase stationnaire est un solide absorbant (silice, alumine ou autre polymère adsorbant), il s'agit d'une chromatographie gaz-solide ou chromatographie d'adsorption. En général, le chromatographe est équipé d'un injecteur diviseur, d'une colonne capillaire et d'un détecteur à ionisation de flamme (Figure 4.3).

La Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) est une méthode d'analyse physico-chimique. Les constituants d'un mélange (les solutés) sont séparées par entraînement au moyen d'une phase mobile (gaz vecteur) le long d'une phase stationnaire (liquide ou solide), grâce à la répartition sélective des solutés entre ces deux phases. Cette technique s'applique à des échantillons gazeux ou des échantillons susceptibles d'être volatilisés par élévation de la température. Ainsi, la méthode est adaptée à l'analyse des composés volatils dont les hydrocarbures. Les composés à analyser sont injectés dans une chambre d'injection chauffée au-dessus de la température d'ébullition des composés du mélange. Après cette volatilisation rapide, ils sont poussés par le gaz vecteur (hélium ou hydrogène) vers la colonne analytique. Cette dernière, placée dans un four thermostaté, est constitué d'un tube de faible section

enroulé sur lui-même et garni d'un support solide inerte imprégné par un produit appelé phase stationnaire. Selon leur affinité vis à vis de la phase stationnaire, les composés avanceront plus ou moins vite. À la sortie de la colonne, chaque composé est détecté à l'aide d'un FID (détecteur à ionisation de flamme) qui renvoie une tension proportionnelle à la quantité de produits qui passe.

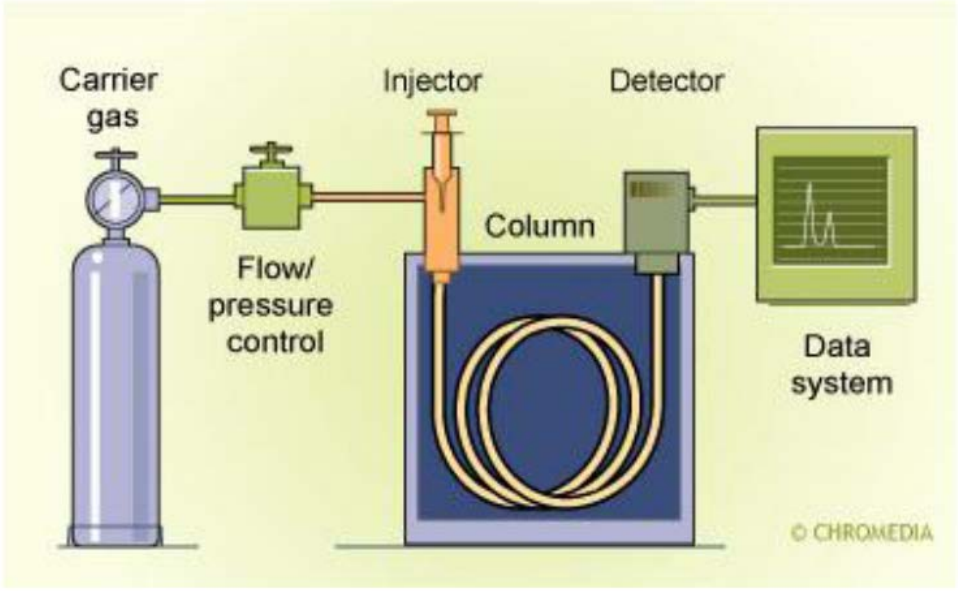

FIGURE 4.3 – Schéma descriptif d'une Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

Dans nos expériences, nous avons utilisés un Chromatographe Varian GC-450 pour l'analyse du toluène. Le principe de fonctionnement du chromatographe est basé sur la technique de l'espace de tête « Headspace ». Le soluté (toluène) va pénétrer dans la colonne à l'état vapeur sous l'action du gaz vecteur (hydrogène). Ce processus de migration va se poursuivre jusqu'à l'extrémité de la colonne où se trouve le détecteur à ionisation de flamme (détecteur FID). A la sortie de la colonne, on détecte le toluène à l'aide d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) qui renvoie un signal et le traitement du signal par un intégrateur donne le chromatogramme. Les produits bien séparés sortent sous la forme d'une gaussienne. L'ensemble de ces opérations s'effectuent à l'aide du logiciel d'exploitation Galaxie qui pilote la CPG.

Pour le réglage de la CPG, nous avons maintenu la température du four suivant un gradient de 10°C/min jusqu'à 140°C. La température du détecteur à ionisation de flamme (FID) est fixée à 250°C. Le gaz vecteur utilisé est l'hydrogène (H_2) à un débit de 1,8 ml/min. Les échantillons à analyser sont stockés dans des flacons (vials) de 10 ml avec col à visser et 5 ml de la solution sont injectés dans le vial pour une analyse immédiate. Les concentrations en toluène des échantillons sont obtenues via la courbe de calibration établie suivant un protocole standard d'étalonnage externe. Une série de solutions étalons ont été préparées puis analysées. Les flacons de préparation des étalons sont scellés avec du ruban isolant (téflon) pour limiter au maximum la volatilisation du toluène. A partir

des chromatogrammes de ces solutions, on établit la courbe de calibration (Figure 4.4). La courbe tracée ci-dessous représente une moyenne de trois manipulations réalisées dans les mêmes conditions avec une bonne répétabilité des résultats. Il est important de préciser que la courbe de calibration a été obtenue après plusieurs tests préliminaires. Les tests effectués concernent surtout la limitation de la volatilisation du toluène, condition de base pour assurer une bonne reproductibilité des résultats. La durée consacrée à la mise au point de la CPG a occupé une partie non négligeable de ce travail de thèse, partie que ne ressortira d'ailleurs pas à la lecture de cette section (optimisation et réglage de la CPG, recherche des protocoles d'analyse des étalons, choix des flacons et autres matériels spécifiques au toluène, etc).

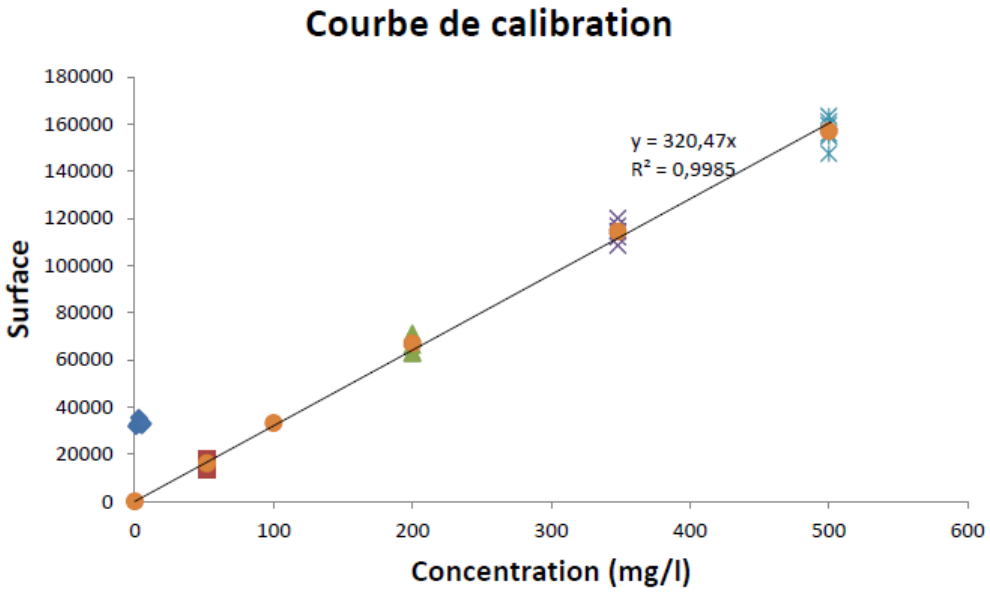

FIGURE 4.4 – Courbe de calibration utilisée pour l'analyse du toluène

La précision des mesures de concentration en toluène dépend essentiellement de la stabilité des réglages de la CPG (température de la colonne et de l'injecteur, débit du gaz vecteur) et surtout de la représentativité des injections. L'injection des échantillons dans le chromatographe est une étape essentielle de l'analyse. Pour limiter ces facteurs et assurer une bonne reproductibilité des résultats de nos expériences, nous avons gardé les mêmes conditions de température (température de la colonne et du détecteur) et d'injection que pour l'analyse de solutions étalons. La procédure automatisée et le remplacement du septum permettent aussi une bonne reproductibilité des injections. Pour chaque échantillon, plusieurs injections ont été réalisées et la concentration en toluène a été déterminée à partir de la moyenne des résultats.

4.2.3 Évaluation des saturations en NAPL

La quantification de la saturation résiduelle est une étape essentielle pour caractériser la dissolution du polluant dans le milieu poreux. Pour les milieux poreux 2D (micromodèle), la connaissance de la surface totale occupée par le toluène permet de remonter facilement à la valeur de la saturation résiduelle. Compte tenu de la transparence de notre micromodèle, nous adoptons ici une méthodologie basée sur l'analyse d'images. Cette procédure est appliquée avec succès dans des nombreux cas similaires (e.g., Jeong et al. [132] ; Corapcioglu et al. [**?**]). Le traitement des images est facilité par la bonne résolution des images obtenues et le bon contraste qu'offre le colorant utilisé (Oil Red O).

L'analyse des images s'effectue à l'aide du logiciel **ImageJ** en se basant sur une procédure spécifique. Le logiciel **ImageJ**, développé par National Institutes of Health (NIH) est disponible en Open Source. Il permet facilement de distinguer les couleurs des fluides dans un mélange multiphasique et ainsi déterminer les saturations dans le milieu. Nous utilisons la méthode dite du seuillage disponible dans **ImageJ** pour distinguer le toluène, en rouge, de l'eau, incolore. La méthode consiste à transformer tout abord l'image couleur (RGB) en échelle de gris (image en 8 bits). Ensuite on applique un filtre pour récupérer le fluide coloré (toluène) qui nous intéresse à l'aide du module Threshold. In fine, via l'image binaire en noir et blanc récupérée, nous déterminons l'aire représentant la saturation en toluène. La surface totale représentant le toluène est fournie automatiquement par le module Analyse Particles du même logiciel.

4.2.4 Procédure expérimentale pour les expériences en micromodèle

4.2.4.1 Montage expérimental

Afin de suivre l'évolution de la dissolution du toluène piégé dans le micromodèle, un dispositif expérimental a été mis en place avec l'aide des techniciens du laboratoire que je remercie vivement. Ce dispositif est dédié à l'étude de la dissolution du toluène sans bactérie. Il est cependant évolutif selon les besoins futurs.

L'élément essentiel du dispositif expérimental est le micromodèle placé horizontalement afin de s'affranchir : (i) des effets de gravité et (ii) d'assurer la saturation du micromodèle selon le protocole envisagé, protocole qui sera détaillé par la suite. Nous utilisons deux pompes seringues dans notre schéma expérimental. Une pompe seringue (KD Scientific modèle Legato 110) assurant l'injection du toluène coloré pendant la phase de drainage munie d'un tube (tube en silicone, diamètre interne : 4 mm) et une seringue (Hamilton Gaztight Syringes) adaptée à l'utilisation du toluène. Une seconde pompe seringue (KD Scientific modèle Legato 110) permet la récupération des effluents en sortie du micromodèle. Le choix du placement de la pompe seringue en mode aspiration à la sortie du micromodèle est effectué sur la base d'un certain nombre des tests préliminaires. L'objectif est de récupérer un volume suffisant (5 ml) à analyser avec un minimum de volatilisation et en tenant compte des faibles débits utilisés. La pompe seringue placée à la sortie est équipé d'une seringue (Hamilton Gaztight Syringes) adaptée aux gaz et est reliée au micromodèle par une vanne à trois voix. L'appareil photo et le microscope montés sur le Charly-robot permettent l'acquisition des images qui seront traitées ultérieurement en vue d'obtenir les profils de saturation.

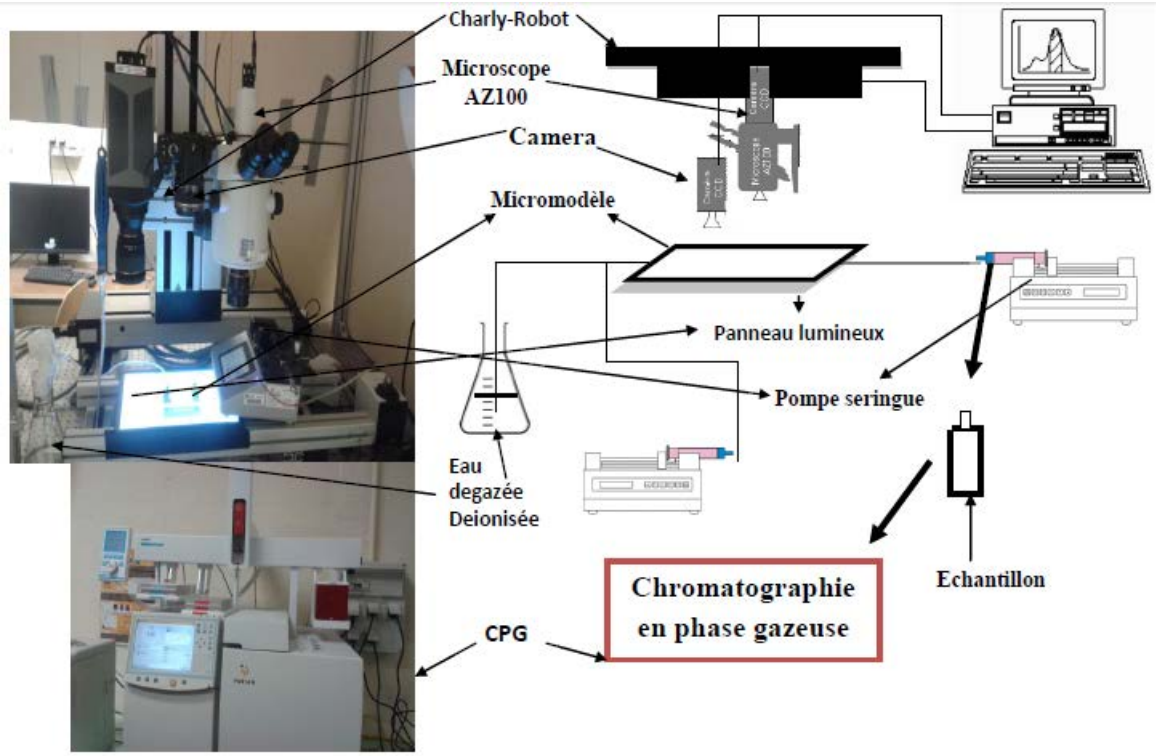

FIGURE 4.5 – Dispositif expérimental

4.2.4.2 Protocole de saturation du micromodèle

Nous décrivons dans ce paragraphe la mise au point du protocole de saturation du micromodèle. Compte tenu des hypothèses envisagées, la saturation complète du micromodèle est une condition à satisfaire pour la suite des manipulations car nous supposons pour nos expériences de dissolution un milieu poreux saturé. Les principales étapes de la saturation en eau du micromodèle sont résumés ci-dessous :

1. La première étape est d'assécher complement le micromodèle. Cet état est obtenu en injectant un débit constant d'air comprimé pendant environ 12 heures.
2. La seconde étape est la préparation de la solution d'eau désaérée à l'aide d'une pompe à vide (modèle Boc Edwards XDS5). L'eau à dégazer, placée dans un dessiccateur est isolée de l'extérieur par la fermeture de la vanne de sortie. Le dessiccateur est soumis à une dépression à l'aide de la pompe à vide jusqu'à l'élimination complète des bulles d'air (environ une demi-heure).
3. Une pompe à vide (Millipore, modèle Vacuum pump XF54 23050) est utilisée pour maintenir le micromodèle sous vide pendant vingt minutes. Notons que, durant cet intervalle, deux injections du CO_2 ont été réalisées.

4. Après cette période, le micromodèle est alimenté en CO_2 jusqu'à la vidange complète du ballon d'alimentation. L'injection du CO_2 permet ainsi de limiter le piégeage des bulles d'air au sein du micromodèle. Le CO_2 et l'air résiduel se dissolvent dans l'eau.
5. La dernière étape porte sur l'alimentation du micromdèle en eau désaéré. L'alimentation se fait par l'utilisation d'une pompe péristatique (Modèle Watson Marlow 400) en ré-circulant l'eau désaérée à différents débits (de faible, en début, vers plus fort en fin d'expérience). La récirculation de l'eau est arrêtée dès la saturation complète du micromodèle. Le contrôle de la saturation s'effectue en observant l'arrêt du « bullage » de l'eau du déssiccateur. Cette étape de saturation dure environ une demi-journée.

4.2.4.3 Procédure de saturation résiduelle

La saturation résiduelle est obtenue au travers des expériences de drainage et d'imbibition. Le piégeage du toluène dans les pores du micromodèle correspond à l'état initial des expériences de dissolution. Nous décrivons ci-dessous le protocole de saturation résiduelle mis en place et qui comporte deux phases : le drainage et l'imbibition.

1. Le drainage consiste à injecter le toluène coloré dans le micromodèle initialement saturé en eau. Le sens d'injection et la position du micromodèle sont identiques à ceux adoptés pour la phase de saturation en eau (voir Figure 4.5). Le débit choisi est de 20 ml/h (débit de drainage) et il est maintenu constant durant toute la durée de l'essai. La valeur de débit est choisie suite à plusieurs tests préliminaires nous permettant d'éviter l'apparition et le développement des instabilités (digitations). L'expérience de drainage est arrêtée lorsque la phase récupérée en sortie est constituée uniquement par la phase injectée, i.e., du toluène. Nous avons constaté que la quantité de toluène présent dans les pores du micromodèle n'évolue pas lorsque le temps de percée est atteint (quand le toluène commence à sortir du micromodèle) malgré l'injection d'un volume de toluène supérieur au volume des pores. Un suivi qualitatif du drainage est effectué par des prises successives d'images tout au long de l'expérience. Le toluène coloré en rouge permet de visualiser l'évolution du front toluène/eau durant l'essai. Ce suivi a permis de vérifier l'absence des phénomènes de digitation.
2. La seconde étape porte sur la phase d'imbibition, i.e., déplacement du toluène par l'eau. Le sens d'injection de l'eau et la position du micromodèle sont toujours les mêmes que pendant la phase de drainage. Le débit d'eau injecté est de 5 ml/h. Le choix de ce débit est effectué de tel sorte à simuler des conditions d'écoulement relativement proches de celles des eaux souterraines (vitesse de déplacement entre 1 et 10 m/j) en présence d'un polluant organique. Ce débit est maintenu constant durant toute la période d'essai. L'imbibition est arrêtée lorsqu'en sortie nous récupérons uniquement de l'eau. Cette phase est obtenue en injectant environ vingt cinq volumes de pores d'eau. A la fin de cette étape, la saturation résiduelle est quantifiée et vérifiée via le traitement des images obtenues.

La saturation résiduelle obtenue par le protocole décrit ci-dessus est de l'ordre de 31% et elle correspond à la quantité de toluène piégé dans le micromodèle. La reproductibilité de nos résultats a été vérifiée au travers deux expériences menées dans des conditions identiques,

i.e., en respectant le même protocole. L'erreur obtenue ne dépasse pas 3% et la distribution spatiale du toluène et la forme des globules piégés sont relativement proches pour les deux manipulations (Figure 4.6).

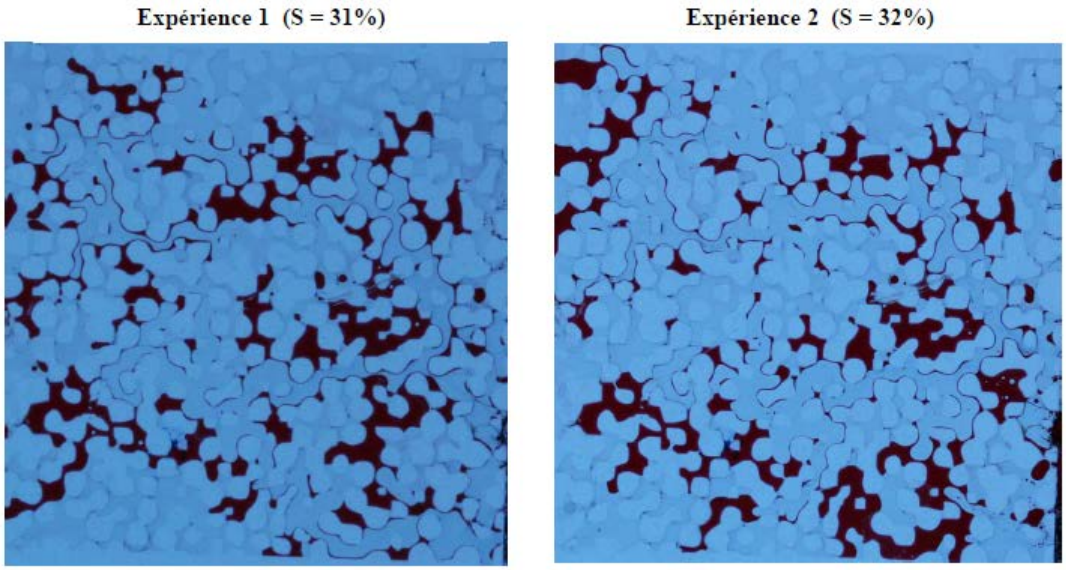

FIGURE 4.6 – Images obtenues par le protocole de saturation résiduel

4.2.4.4 Protocole pour les expériences de dissolution

L'expérience de dissolution commence avec une mise à l'équilibre entre l'eau et le toluène piégé durant vingt-quatre heures juste après l'étape de saturation résiduelle décrite précédemment. Cette étape est suivie par l'injection de l'eau déminéralisée à débit constant correspondant au débit ou au nombre de Péclet choisi pour l'expérience. Le suivi de la dissolution se fait au travers de deux méthodes. La première méthode consiste à observer l'évolution de la saturation en toluène dans le milieu poreux par de prise des photos régulièrement. Quant à la seconde, il s'agit d'un suivi de la dissolution du toluène résiduel par l'analyse de la courbe de percée, i.e., le volume récupéré en sortie, en utilisant la CPG. Le suivi est effectué à des intervalles de temps réguliers en respectant la procédure d'analyse chromatographique explicitée précédemment (cf 4.2.2.3). L'expérience est arrêtée lorsque les concentrations en toluène des échantillons prélevés deviennent indétectables par chromatographie ou lorsque les concentrations se stabilisent à une faible valeur.

4.3 Résultats expérimentaux

Pour étudier la dissolution du toluène piégé, deux expériences en micromodèle sont envisagées : à faible et à fort nombre de Péclet. Le nombre de Péclet évoqué (et utilisé par

la suite dans les Chapitres 4 et 5) est un Péclet de pore défini de la manière suivante :

$$Pe_{pore} = \frac{Vl}{D_{A\beta}} \tag{4.1}$$

avec V la vitesse moyenne dans les pores, l la longueur caractéristique des pores ($300\mu m$) et $D_{A\beta}$ le coefficient du diffusion du toluène dans l'eau (cf. Table 4.1). Les résultats de ces expériences abiotiques seront par la suite utilisés afin de mettre en évidence l'influence de la phase bactérienne sur les processus de dissolution du toluène à l'échelle du pore. Les procédures de saturation en eau ainsi que les protocoles de drainage et d'imbibition sont identiques pour les deux expériences et sont décrites dans les paragraphes précédents. La première expérience concerne une dissolution à faible débit et donc faible Péclet ($P_e = 3.5$). La seconde est menée à un Péclet plus élevé, i.e., $P_e = 11$. Le Tableau 4.3 résume les données expérimentales utilisées pour ces expériences de dissolution. Dans la première expérience (Expérience I), l'utilisation d'une faible valeur de Péclet et donc une faible vitesse d'écoulement, nous permet de nous rapprocher des conditions d'équilibre local lors de la dissolution car les fortes vitesses engendrent le non équilibre local. La deuxième expérience (Expérience II) menée à un Péclet plus élevé, i.e., $P_e = 11$, nous permet d'étudier le phénomène de dissolution dans notre micromodèle lorsque la convection devient prédominante devant la diffusion. L'objectif est de bien comprendre les effets équilibre local/non équilibre via la comparaison des résultats issus des deux expériences.

Données expérimentales			
Expériences	Débit de Darcy (ml/min)	Péclet (P_e)	Saturation résiduelle S_{wi}
Expérience I	$9,2.10^{-3}$	3,5	0,32
Expérience II	$2,81.10^{-2}$	11	0,25

TABLE 4.3 – Données pour les expériences de dissolution

4.3.1 Analyses préliminaires des résultats expérimentaux

Dans le but de vérifier les résultats d'analyse chromatographique, nous avons répété les expériences de dissolution pour les deux valeurs de Péclet. Le protocole d'analyse, identique pour les deux expériences a été détaillé précédemment. Les résultats (courbes de percée) sont représentés sur les Figures 4.7 et 4.8. Nous obtenons une bonne répétabilité des manipulations pour les deux valeurs de Péclet. L'erreur relative maximale est de l'ordre de 15% à fort Péclet et 30% à faible Péclet. Une seconde analyse de nos résultats repose sur le dépouillement des images photographiques. Ainsi, quel que soit l'expérience analysée, on constate une dissolution progressive des gouttelettes de toluène dans le temps (Figure 4.9). Ces résultats illustrent qualitativement la réduction de la taille des amas pièges dans le micromodèle (zones marquées en jaune sur les images de la Figure 4.9). En outre, pour l'expérience à fort Péclet, nous observons la remobilisation des gouttelettes de toluène (zones marquées en rouge sur les images de la Figure 4.9). Ce phénomène est forcément dû aux effets convectifs prédominant sur les forces de piégeage (forces capillaires). Notons que la

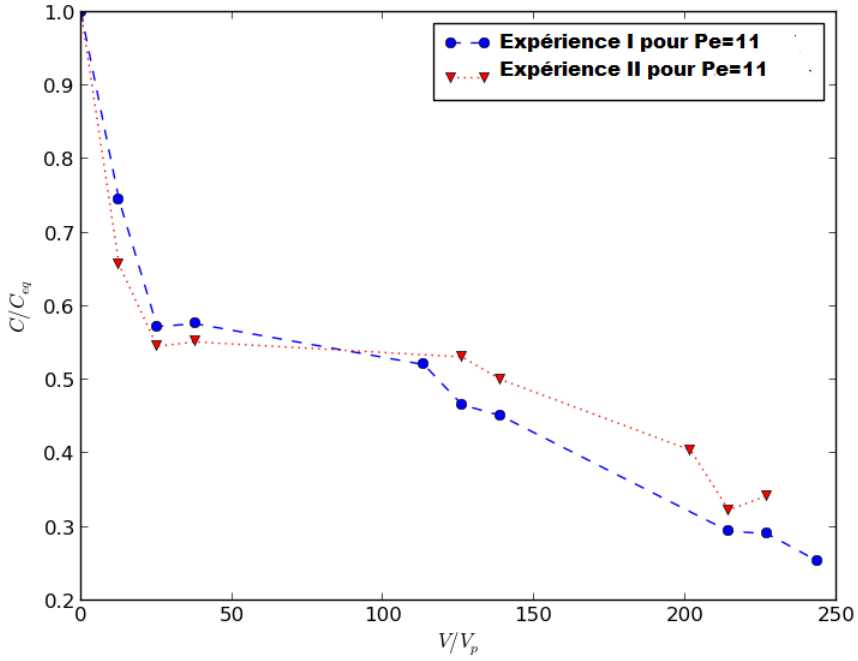

FIGURE 4.7 – Répétabilité de la manipulation pour $P_e = 11$

saturation résiduelle initiale (image à t = 0) montre une distribution hétérogène du toluène résiduel dans le micromodèle pour les deux valeurs de Péclet. La distribution de la saturation résiduelle suit la structure hétérogène du micromodèle. En effet, l'hétérogénéité et la granulométrie du milieu ont un fort impact sur la répartition du NAPL piégé [136, 138]. Le suivi expérimental par analyse d'image de la manipulation à faible Péclet ($P_e = 3,5$) a permis également de déceler un problème expérimental lié à l'entrée de l'air dans notre micromodèle à partir de 150 h environ, soit après 83 volumes de pore injectés. Les zones marquées en blanc sur les images de la Figure 4.10 représentent le phénomène rencontré. Ce problème est dû aux éventuels défauts liés aux systèmes d'injection ou aux gestes d'ouverture et fermeture des vannes lors de la récupération des échantillons en sortie du micromodèle. Néanmoins, il faut noter que ce défaut expérimental n'a pas eu d'impact sur la répétabilité des expériences sur les 100 premiers volumes de pore comme le montrent les résultats précédents (Figure 4.7 et 4.8).

4.3.2 Bilan de masse

Une autre étape intégrante dans notre étude porte sur l'estimation du bilan de masse de toluène solubilisé durant les expériences de dissolution pour les deux régimes hydrodynamiques testés ($P_e = 3,5$ et $P_e = 11$). Le calcul de bilan de masse s'effectue par la comparaison de la masse solubilisée obtenue par mesure de saturation avec celle déterminée à partir des mesures de concentration. Ce bilan permet de vérifier le protocole des me-

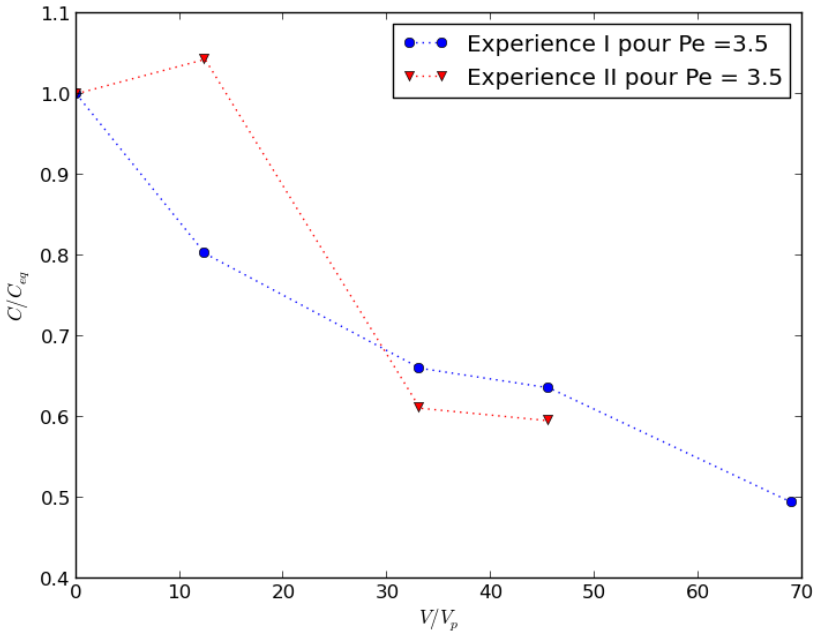

FIGURE 4.8 – Répétabilité de la manipulation pour $P_e = 3.5$

sures de concentrations via la CPG (incertitudes des mesures et condition de récupération de l'échantillon) et aussi d'étudier l'influence du seuillage employé dans le traitement des images pour l'évaluation de la saturation résiduelle en toluène.

L'évaluation de la masse totale de toluène solubilisée notée **Ms** (celle obtenue par mesure de concentration à la CPG) est effectuée en intégrant les concentrations mesurées en sortie du micromodèle sur le volume total d'eau passé dans le micromodèle :

$$Ms(t) = \int_0^t QCdt \tag{4.2}$$

L'intégration numérique de cette intégrale par la méthode de trapèze donne une valeur approchée telle que :

$$Ms = \sum_{i=1}^{n} \frac{1}{2}(C_i + C_{i-1})(V_i - V_{i-1}) \tag{4.3}$$

où C_i est la concentration en toluène mesurée au temps i, Q le débit d'eau injecté et V_i est le volume d'eau passée dans le micromodèle depuis l'instant initial jusqu'au temps i.
Nous utilisons cette dernière équation (Eq.4.3) pour évaluer la masse de toluène solubilisée à différents instants choisis.

La quantification de la masse solubilisée est également envisageable via la connaissance de la saturation résiduelle en toluène. En partant des dimensions du micromodèle (surface et épaisseur) et de la saturation mesurée à l'instant t, on obtient ainsi la masse Ms(t) de

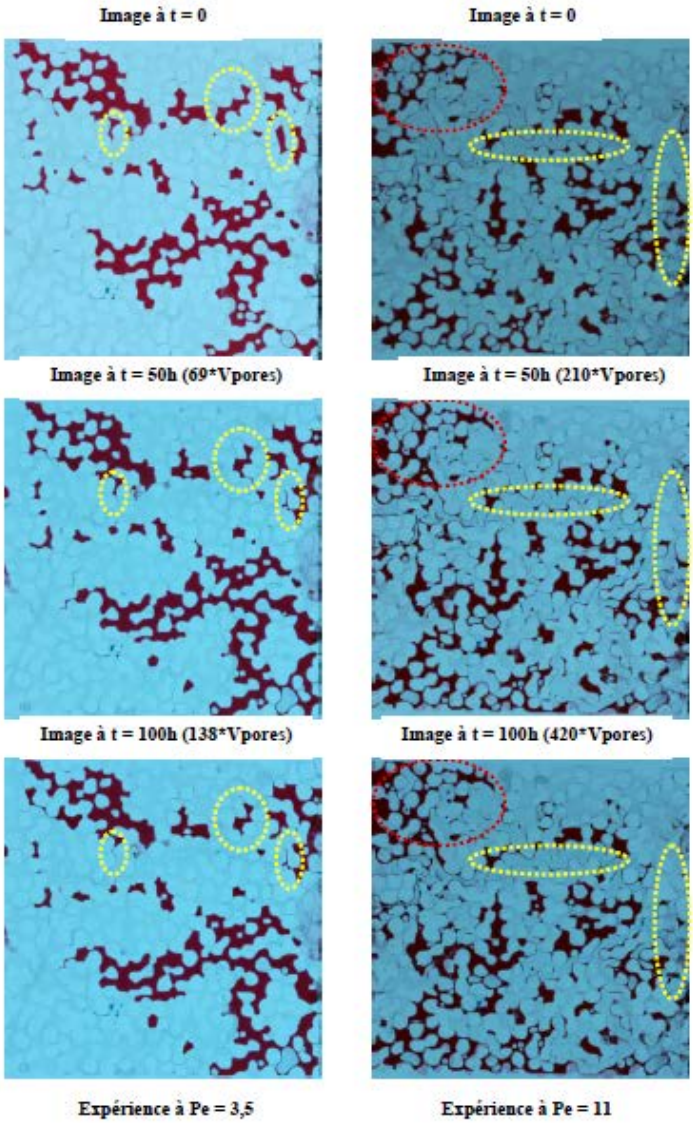

FIGURE 4.9 – Dissolution progressive du toluène résiduel ($P_e = 3.5$ et $P_e = 11$)

toluène résiduel dissous à l'instant t telle que :

$$Ms(t) = \rho_\gamma(S_{or}(t = O) - S_{or}(t))V_p \tag{4.4}$$

avec ρ_γ la masse volumique du toluène pur, V_p le volume poral et $S_{or}(t)$ la saturation en toluène mesuré à l'instant t. Au final, nous comparons les masses solubilisées de toluène obtenues par les deux méthodes décrites ci-dessus (masse déterminée par mesure de saturation et masse obtenue à partir des valeurs de concentration) à différents instants. Théoriquement, les deux méthodes doivent conduire au même résultat si le bilan de masse est correctement effectué. Les Figure 4.11 et 4.12 montrent les bilans de masse obtenus pour les deux valeurs

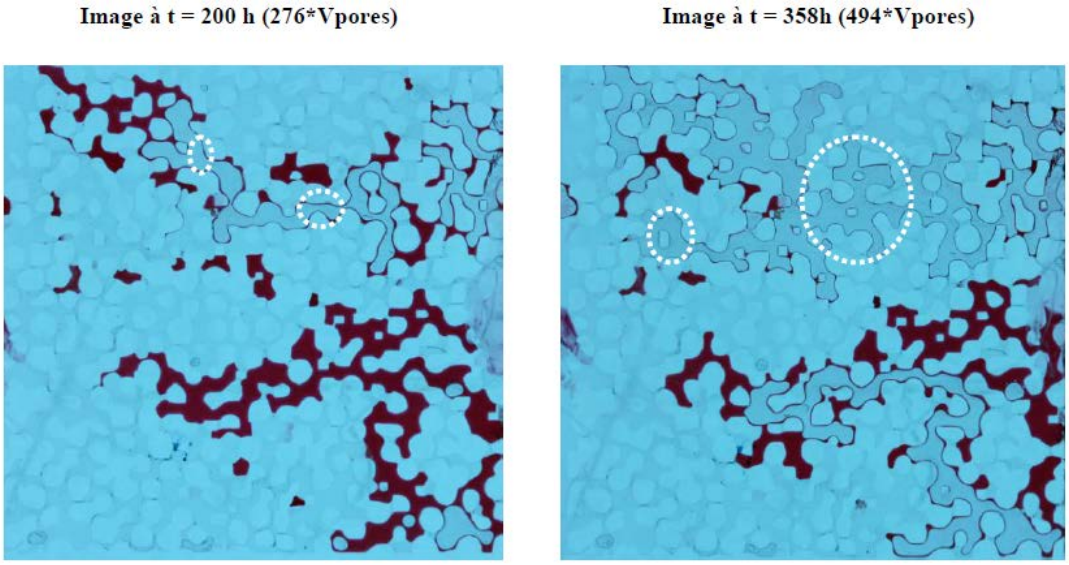

FIGURE 4.10 – Présentation du défaut expérimental rencontré à $P_e = 3,5$

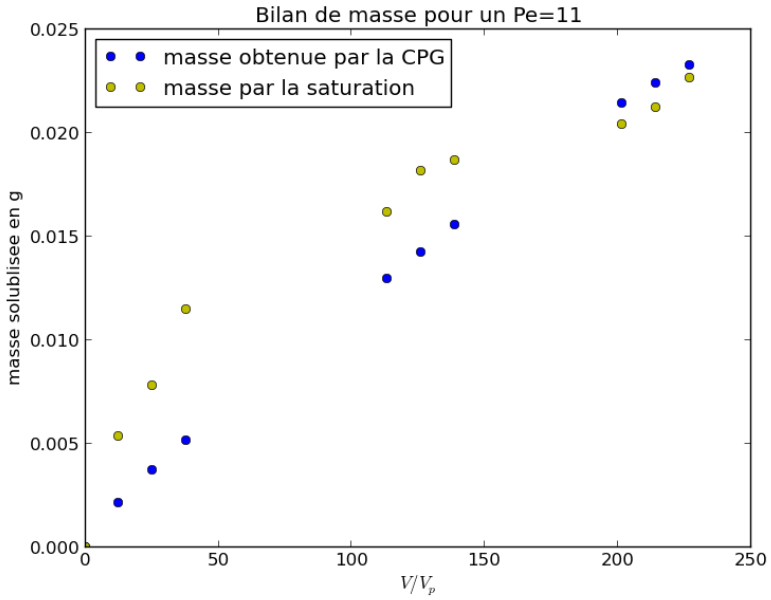

FIGURE 4.11 – Bilan de masse pour un $P_e = 11$

de Péclet. Concernant l'influence du seuillage sur la mesure de la saturation résiduelle, nous avons sélectionné trois seuils caractéristiques (Threshold1, Threshold2 et Threshold3). Notons que l'impact du seuillage sur le résultat a été étudié uniquement pour le faible Péclet ($P_e = 3,5$).

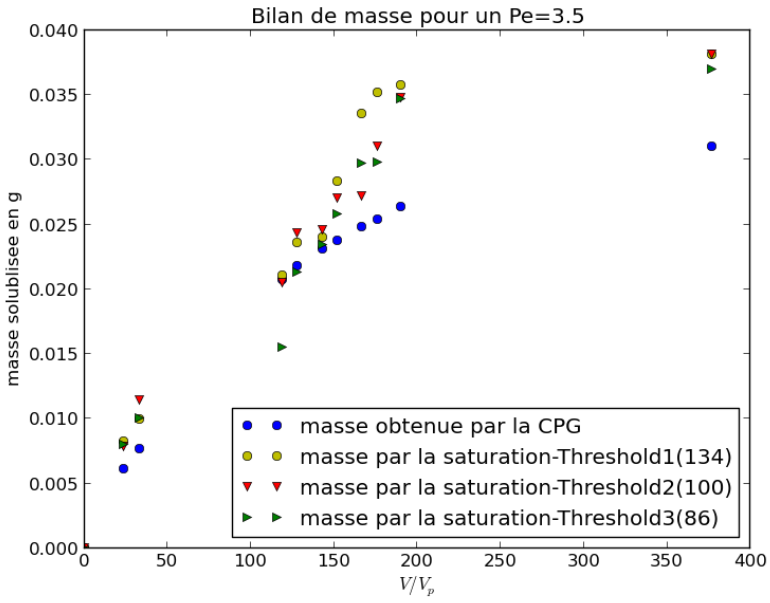

FIGURE 4.12 – Bilan de masse pour un $P_e = 3,5$

Les résultats du bilan de masse (Figure 4.11 et 4.12) indiquent une tendance globalement similaire pour les deux mesures avec néanmoins des écarts non négligeables (jusqu'à 50% d'erreur sur le flux de toluène dissout). A faible Péclet, les deux mesures montrent tout d'abord une bonne similitude avant de diverger significativement après 90 h (soit après 120 volumes de pore injectés) de suivi de la dissolution. Le désaccord des résultats dans ce cas est probablement dû à l'artefact expérimental signalé précédemment (entrée de gaz dans le système). En effet, le phénomène présenté sur la Figure 4.10 peut conduire à une surestimation de la saturation résiduelle et donc de la masse solubilisée. A fort Péclet, en revanche, un écart significatif se maintient entre les deux mesures même s'il semble s'atténuer aux temps longs. Les résultats à faible Péclet indiquent d'autre part une faible sensibilité des mesures de saturation à la valeur de seuillage. La diminution du seuil permet en principe d'éliminer le maximum des bruits lors de l'analyse des images. Il existe donc une incertitude sur l'analyse des images qu'il convient de considérer dans l'évaluation de la saturation résiduelle. Pour la suite des analyses, nous avons choisi la valeur de seuillage Threshold1 (134) pour une estimation optimale de la saturation résiduelle.

Concernant les écarts observés entre les deux méthodes de suivi, 3 raisons peuvent être avancées pour expliquer ce comportement :

– **une erreur de mesure liée à la CPG** : le toluène étant fortement volatil, les concentrations mesurées avec la CPG peuvent être inférieures aux concentrations réelles (pertes par manipulation) ce qui entraîne, bien évidemment, une diminution de la masse récupérée. Toutefois, durant la phase de mise en place du protocole de mesure présenté dans la section 4.2.2.3, les pertes par volatilisation ont été quantifiées

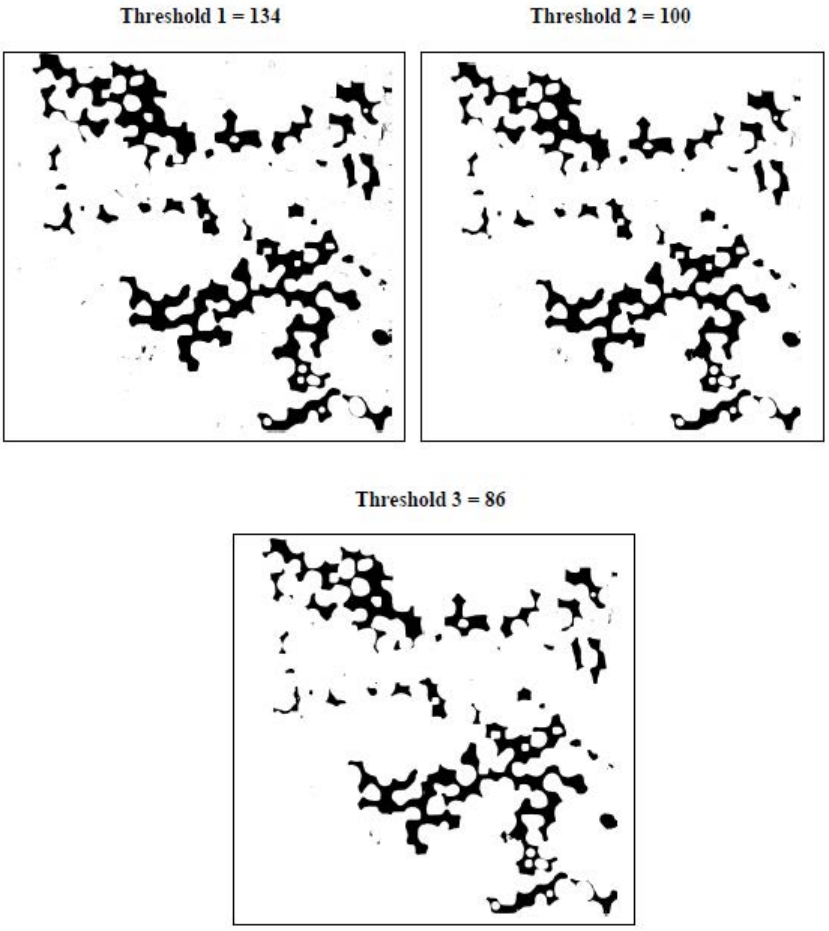

FIGURE 4.13 – Les trois seuils caractéristiques considérés

et minimisées à quelques 10%.

- **une erreur de mesure liée au réservoir de sortie** : la présence des zones mortes au sein du réservoir en sortie du micromodèle augmente l'incertitude sur les mesures de concentration en CPG. En effet, le piégeage de blobs de NAPL au sein du réservoir induit un relargage progressif du toluène sous l'effet du mélange qui peut potentiellement perturber les mesures de sortie.
- **une erreur de mesure liée au suivi de la saturation** : l'incertitude de mesure la plus significative reste toutefois liée à l'estimation par imagerie de la saturation. En effet, le calcul effectué repose sur l'hypothèse que le micromodèle est parfaitement bidimensionnel ce qui n'est pas le cas. D'une part, l'épaisseur de la cellule peut varier localement modifiant ainsi le volume mesuré. D'autre part, les gouttelettes de toluène présentent une courbure selon la verticale. Ces différentes erreurs cumulées conduisent à une incertitude non négligeable sur la saturation réelle au sein du milieu.

En conclusion, la mesure de concentration en sortie semble la plus fiable en dépit de l'impact du réservoir aval et c'est sur elle que nous nous baserons par la suite pour les

comparaisons avec le modèle numérique. Le suivi de la saturation sera utilisé essentiellement de manière plus qualitative, dans un but de compréhension des mécanismes de dissolution mis en jeu.

4.3.3 Influence du régime hydrodynamique sur la dissolution du toluène

L'évolution de la saturation résiduelle en fonction du temps lors du mécanisme de dissolution pour les deux expériences ($P_e = 3,5$ et $P_e = 11$) est présentée sur la Figure 4.14. L'analyse de cette figure montre une différence significative entre les deux expériences. Pour l'expérience I (faible nombre de Péclet), la saturation résiduelle diminue lentement pour se stabiliser vers 33% tandis que pour l'expérience II (fort nombre de Péclet) la baisse est beaucoup plus rapide et plus significative. Ce résultat, en accord avec ceux obtenus par Corapcioglu et al. [**?**] et Miller et al. [27] montre que la dissolution augmente avec l'augmentation du nombre de Péclet. Ce comportement est consistant aussi avec les résultats théoriques du Chapitre 3 (et de Ahmadi et al. [1]) qui indiquent une augmentation du coefficient de transfert de masse avec le nombre de Péclet. La courbe d'évolution de la saturation

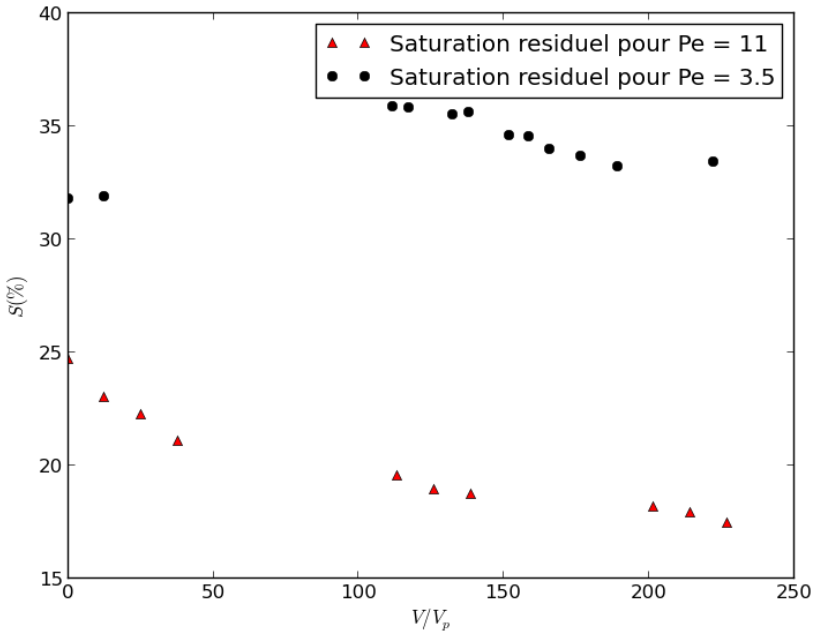

FIGURE 4.14 – Évolution de la saturation résiduelle en fonction du nombre de volumes de pore injectés ($P_e = 3,5$ et $P_e = 11$)

résiduelle présentée ($P_e = 3,5$) montre parfois, une augmentation au cours du temps de la saturation en toluène. A $P_e = 3,5$, par exemple, une augmentation de 4% de la saturation est observée entre 20 et 100 volumes de pore injectés. D'un point de vue théorique, on aurait dû avoir bien évidemment une baisse continue du toluène résiduel dans le temps

accompagnée par une diminution progressive de la taille des amas piégés dû à l'échange de masse continue entre les phases (toluène et eau). Cette différence de comportement peut s'expliquer par la rémobilisation du toluène dans le réservoir amont du micromodèle qui se retrouve piégé plus loin dans les pores de petit diamètre.

Les courbes d'évolution de la concentration en toluène en sortie du micromodèle sont représentées sur les Figures 4.15 et 4.16. Ces résultats concernent les deux expériences ($P_e = 3,5$ et $P_e = 11$). Les courbes obtenues présentent trois étapes bien distinctes [122] : une étape d'équilibre (étape 1), une étape de baisse exponentielle de la concentration (étape 2) et une étape asymptotique (étape 3).

- **Etape d'équilibre** (Étape I de 0 à $50V_p$ injectés pour $P_e = 3,5$ et 0 à $20V_p$ injectés pour $P_e = 11$) : Pendant cette période, les concentrations en toluène restent constantes et proche de la concentration à l'équilibre. Quant à la saturation résiduelle, elle n'a pas variée au cours de la phase d'équilibre. A faible Péclet (Expérience I), à l'exception de la deuxième valeur, supérieure à 1 et qui peut être attribuées aux erreurs de mesure, la concentration en toluène reste proche de la valeur à l'équilibre pendant environ $50\frac{V}{V_p}$. A fort Péclet, cette étape est difficilement décelable. Sa durée est limitée à un $\frac{V}{V_p}$ inférieur à 20 environ.
- **Etape de baisse exponentielle** (Étape II de 50 à $200V_p$ injectés pour $P_e = 3,5$ et 20 à $210V_p$ injectés pour $P_e = 11$) : Cette étape est caractérisée par une baisse plus ou moins rapide de la concentration en toluène. Les flux de masse dissous issus des gouttelettes de NAPL ne sont plus suffisant pour maintenir une concentration de toluène proche de l'équilibre au sein de la phase aqueuse. Quel que soit la valeur de Péclet considérée, sa durée est largement plus importante que celle constatée pour la phase d'équilibre. La masse solubilisée durant cette période représente environ 3% de la saturation résiduelle initiale pour faible valeur de Péclet et 30% pour fort Péclet. Durant cette phase, on assiste à une chute de la concentration en toluène dans la phase aqueuse ce qui se traduit par une augmentation des gradients de concentration interfaciaux favorisant ainsi la dissolution des gouttelettes de toluène piégé. Cette étape est marquée aussi par une chute de $\frac{C}{C_{eq}}$ (de 1 à 0,2 pour le faible Péclet et de 1 à 0,3 pour le fort Péclet), ce qui veut dire au final que les conditions d'équilibre ne sont plus satisfaites.
- **Étape asymptotique** (Étape III de 200 à $300V_p$ injectés pour $P_e = 3,5$ et 210 à $250V_p$ injectés pour $P_e = 11$) : Elle est marquée par une longue trainée sur la courbe de dissolution du toluène résiduel et cette étape est particulièrement visible pour l'expérience effectuée à faible Péclet (Expérience I). Les valeurs de concentration en toluène sont nettement inférieures à la concentration d'équilibre et la saturation résiduelle ou la quantité du toluène extraite du milieu est très faible comparée à l'étape précédente. Les gouttelettes de toluène qui se trouve sur les zones préférentielles d'écoulement ont maintenant pratiquement disparues. Il ne reste plus que les amas de NAPL piégés dans des zones de faible circulation où la dissolution évolue plus lentement.

L'analyse de l'allure des courbes de dissolution (Figure 4.15 et 4.16), suggère globalement un comportement de non équilibre local. En général, lorsque l'hypothèse d'équilibre local est

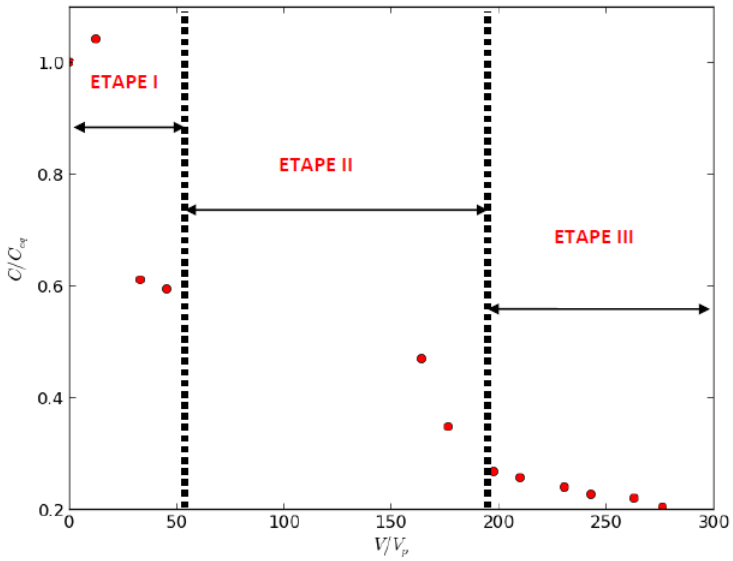

FIGURE 4.15 – Évolution de la concentration en toluène en fonction du nombre de volumes de pore injectés pour un $P_e = 3,5$

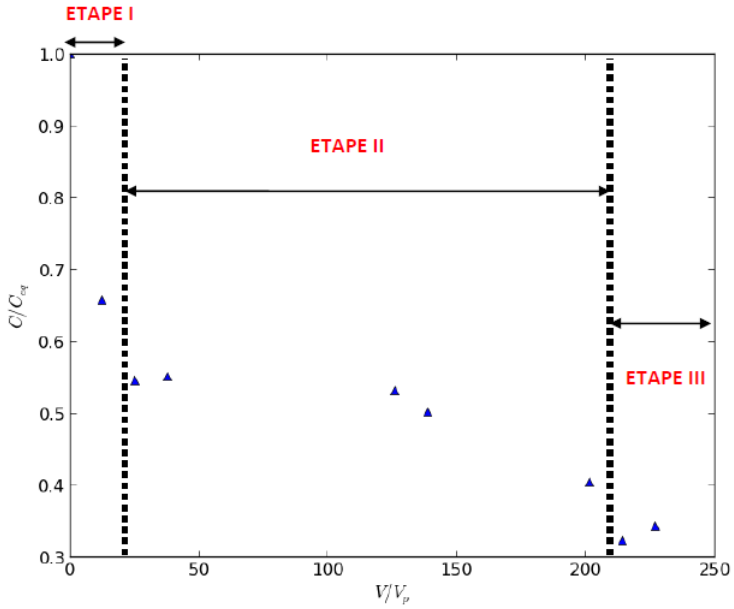

FIGURE 4.16 – Évolution de la concentration en toluène en fonction du nombre de volumes de pore injectés pour un $P_e = 11$

vérifiée, le front de concentration reste constant et proche de l'équilibre lors de la traversée du milieu. Ce résultat est difficile à obtenir dans la pratique compte tenu de la complexité des milieux poreux naturels et l'incertitude induit par les conditions opératoires. Certains

résultats de la littérature [45, 136] ont montré que la concentration en polluant dans les effluents d'un milieu homogène de forte perméabilité est à l'équilibre tant que le front de dissolution n'a pas atteint l'exécutoire du milieu.

Nos expériences de dissolution du toluène résiduel ont montrés une situation de non équilibre car $\frac{C}{C_{eq}}$ est inférieur à 1 sur une durée non négligeable nécessaire à la dissolution. Le phénomène de non équilibre augmente avec la vitesse d'écoulement [27,135]. Raison pour laquelle, l'étape d'équilibre est plus importante à faible Péclet ($P_e = 3,5$) comparé au cas à fort Péclet ($P_e = 11$). Théoriquement nous avons obtenu le même résultat (cf chapitre 3) où le transfert de masse facilitant le maintien de la concentration à l'équilibre est essentiellement contrôlé par la surface d'échange entre le polluant et la phase aqueuse. Compte tenu des valeurs de Péclet testées (valeurs au delà du domaine d'équilibre local), nous obtenons sur une bonne partie de nos courbes des concentrations en dessous de C_{eq} (concentration à l'équilibre). Les débits d'injection imposés ne permettent pas un temps de contact suffisant entre le toluène et l'eau pour atteindre l'équilibre. Le phénomène de non équilibre observé peut aussi s'expliquer par la répartition hétérogène des amas de toluène (Figure.4.6) au sein du micromodèle entrainant l'apparition de zones moins saturées en toluène que d'autres et donc plus perméables à l'eau, conduisant à des chemins préférentiels. La formation des chemins préférentiels est accentuée par la taille complexe des globules de toluène avec de faibles surfaces d'échange. La réduction de la surface effective d'échange peut etre donc attribuée à l'hétérogénéité du micromodèle qui ne facilite pas l'échange de masse entre le toluène et la phase aqueuse contrairement aux résultats de certaines études [45, 135, 137] où les taux de transfert de masse entre polluant et phase aqueuse sont assez élevés du fait des conditions expérimentales favorables (milieu homogène, billes de verres, répartition homogène des polluants piégés). Les résultats numériques du Chapitre 3 ont montré une tendance similaire car la présence des chemins préférentiels peut conduire à des zones mortes marquées par une faible vitesse au voisinage de l'interface fluide-NAPL et donc un faible transfert de masse. Finalement on en déduit que, plus le milieu a une forte porosité et une forte perméabilité, plus l'échange de masse est important et les conditions de transfert de masse deviennent plus proches des conditions d'équilibre.

4.4 Confrontation des résultats expérimentaux et théoriques : cas abiotique

Dans cette partie, nous comparons les résultats expérimentaux de la dissolution du toluène en condition abiotique avec les résultats numériques du modèle théorique. Cette confrontation permettra de tester la capacité du modèle théorique développé au chapitre 3 et déceler éventuellement les limites du modèle.

Pour effectuer cette comparaison, la connaissance des paramètres effectifs du modèle théorique est primordiale. Nous évaluons le coefficient d'échange de masse et la dispersion effective en se référant à l'architecture réelle du milieu poreux issue des données expérimentales. En effet, des nombreuses corrélations ont été trouvées dans la littérature [27, 135] mais les coefficients proposés varient sur plusieurs ordres de grandeur suivant la structure du milieu poreux étudié. Pour pallier ce problème, une technique de changement d'échelle

basée sur des prises de moyenne spatiale a été proposée par Quintard et Whitaker. [93]. Dans cette approche, les paramètres effectifs (coefficient d'échange de masse et dispersion effective) sont déterminés par la résolution de deux problèmes de fermeture sur des cellules unitaires représentatives du milieu poreux. Radilla et al. [45] ont comparés leurs résultats expérimentaux (expériences en colonne) avec les prédictions du modèle macroscopique de Quintard et Whitaker. [93] en considérant, pour le calcul des coefficients effectifs, des géométries simples.

Notre approche consiste à comparer les expériences de dissolution avec les prédictions du modèle macroscopique en se basant également sur des cellules unitaires mais réalistes conçus à partir des images de la cellule expérimentale (micromodèle). Ainsi, les coefficients effectifs sont déterminés par la résolution de deux problèmes de fermeture sur des géométries représentant la configuration réelle du milieu poreux (distribution du toluène résiduel, taille des pores,...).

4.4.1 Modèle Mathématique

4.4.1.1 Équations du modèle

Le modèle mathématique que nous avons utilisé pour effectuer la comparaison est présenté au Chapitre 3. Il s'agit d'un modèle macroscopique à l'échelle de Darcy obtenue à l'aide de la méthode de prise de moyenne volumique. Les équations macroscopiques du modèle décrivent le transport et la biodégradation du NAPL en milieu poreux. Le problème à l'échelle de pore ainsi que les hypothèses associées au modèle sont détaillés au Chapitre 3.

Les équations macroscopiques obtenues à l'échelle de Darcy sont rapportées ci-dessous :

Phase fluide

$$\frac{\partial}{\partial t}(\varepsilon_\beta + \varepsilon_\omega k_{\beta\omega}^{-1})\langle c_{A\beta}\rangle^\beta + \varepsilon_\beta \langle v_\beta\rangle^\beta . \nabla \langle c_{A\beta}\rangle^\beta + \nabla .[\mathbf{d}_{\beta\omega}(c_{A\beta}^{eq} - \langle c_{A\beta}\rangle^\beta)] - \mathbf{U}_{\beta\omega}.\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^\beta =$$
$$\nabla .(\mathbf{D}_{\beta\omega}^* . \nabla \langle c_{A\beta}\rangle^\beta) + \alpha_A^*(c_{A\beta}^{eq} - \langle c_{A\beta}\rangle^\beta) - \varepsilon_\omega \mu_{A\omega}\rho_\omega c_{B\omega}^* \frac{\langle c_{A\beta}\rangle^\beta}{\langle c_{A\beta}\rangle^\beta + k_{\beta\omega}K_{A\omega} + \frac{k_{\beta\omega}^{-1}\langle c_{A\beta}^2\rangle^\beta}{K_i}} \quad (4.5)$$

Phase NAPL

$$\rho_\gamma \frac{\partial \varepsilon_\gamma}{\partial t} = -\alpha_A^*(c_{A\beta}^{eq} - \langle c_{A\beta}\rangle^\beta) \quad (4.6)$$

où $\mathbf{D}_{\beta\omega}^*$ (tenseur de diffusion effectif à l'échelle de Darcy), $\mathbf{d}_{\beta\omega}$ (terme additionnel de vitesse), α_A^* (coefficient de transfert de masse pour l'espèce A) et $\mathbf{U}_{\beta\omega}$ (terme correctif de dispersion).

Afin de tenir compte de l'aspect abiotique, l'équation 4.5 sera simplifiée en éliminant le terme réactif. Nous nous retrouvons donc dans le cas d'un écoulement monophasique de la phase aqueuse β qui échange de la matière avec la phase NAPL γ. L'équation 4.5 prend la forme suivante :

$$\frac{\partial \varepsilon_\beta \langle c_{A\beta}\rangle^\beta}{\partial t} + \varepsilon_\beta \langle v_\beta\rangle^\beta . \nabla \langle c_{A\beta}\rangle^\beta - \mathbf{d}_{\beta\omega}.\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^\beta - \mathbf{U}_{\beta\omega}.\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^\beta =$$
$$\nabla .(\mathbf{D}_{\beta\omega}^* . \nabla \langle c_{A\beta}\rangle^\beta) + \alpha_A^*(c_{A\beta}^{eq} - \langle c_{A\beta}\rangle^\beta) \quad (4.7)$$

Les équations macroscopiques à l'échelle de Darcy (Eq.4.7 et Eq.4.6) peuvent se mettre sous les formes adimensionnées (formes 1D) suivantes :

Phase fluide

$$\frac{\partial \varepsilon_\beta \langle c_{A\beta}\rangle^{'}}{\partial t} + (\varepsilon_\beta Pe_A - \mathbf{d}^{'}_{\beta\omega} - \mathbf{U}^{'}_{\beta\omega})\frac{\partial \langle c_{A\beta}\rangle^{'}}{\partial x} = \mathbf{D}^{*'}_{\beta\omega}\frac{\partial^2 \langle c_{A\beta}\rangle^{'}}{\partial x^2} + \alpha^{*'}_A(1 - \langle c_{A\beta}\rangle^{'}) \quad (4.8)$$

Phase NAPL

$$\rho^{'}_\gamma \frac{\partial \varepsilon_\gamma}{\partial t^{'}} = -\alpha^{*'}_A(1 - \langle c_{A\beta}\rangle^{'}) \quad (4.9)$$

où :

$$\langle c_{A\beta}\rangle^{'} = \frac{\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}}{c^{eq}_{A\beta}} \qquad \mathbf{D}^{*'}_{\beta\omega} = \frac{\mathbf{D}^{*}_{\beta\omega}}{D_{A\beta}} \qquad \mathbf{d}^{'}_{\beta\omega} = \frac{\mathbf{d}_{\beta\omega}L}{D_{A\beta}} \qquad \mathbf{U}^{'}_{\beta\omega} = \frac{\mathbf{U}_{\beta\omega}L}{D_{A\beta}} \quad (4.10)$$

$$\alpha^{*'}_A = \frac{\alpha^{*}_A L^2}{D_{A\beta}} \qquad t^{'} = \frac{tD_{A\beta}}{L^2} \qquad \rho^{'}_\gamma = \frac{\rho_\gamma}{c^{eq}_{A\beta}} \quad (4.11)$$

4.4.1.2 Conditions aux limites et conditions initiales

Les conditions aux limites sont définies à partir des conditions expérimentales et sont présentées ci-dessous :

- à l'entrée (pour x=0) : $\langle c_{A\beta}\rangle^{'} = 0$
- à la sortie (pour x=L) : $\mathbf{D}^{*}_{\beta\omega}\frac{\partial \langle c_{A\beta}\rangle^{'}}{\partial x} = 0$,

Comme mentionné dans l'étude expérimentale, le micromodèle est mis au repos pendant vingt-quatre heures après l'étape d'imbibition. En tenant compte de ce délai d'attente, nous supposons que, au temps initial de la dissolution, la phase aqueuse se met en équilibre avec la phase NAPL dans tout le milieu poreux. Cette hypothèse conduit aux conditions initiales suivantes :

à t=0 : $\langle c_{A\beta}\rangle^{'} = c^{eq}_{A\beta}$ et $\varepsilon_\gamma = \varepsilon S_{or}$ (S_{or} est la saturation résiduelle initiale et ε la porosité du milieu poreux).

La saturation résiduelle initiale varie en fonction de x du fait de l'hétérogénéité de la distribution du toluène résiduelle dans le milieu poreux. Nous avons obtenu par traitement d'image l'évolution de la fraction volumique du toluène en fonction de la position moyenne x pour chaque expérience, e.g., pour la manipulation à $Pe_A = 3,5$ elle est représentée sur la Figure 4.17. Cette variation spatiale de la saturation sera par la suite prise en compte dans la simulation macroscopique (simulation 1D).

4.4.1.3 Méthodes de résolution des equations

Dans ce travail, nous utilisons l'outil numérique **COMSOL Multiphysics Software®** pour résoudre numériquement les équations présentées ci-dessus. Rappelons que le code de calcul est basé sur la méthode des éléments finis permettant la résolution des diverses problèmes physiques définies par des équations aux dérivées partielles (EDP).

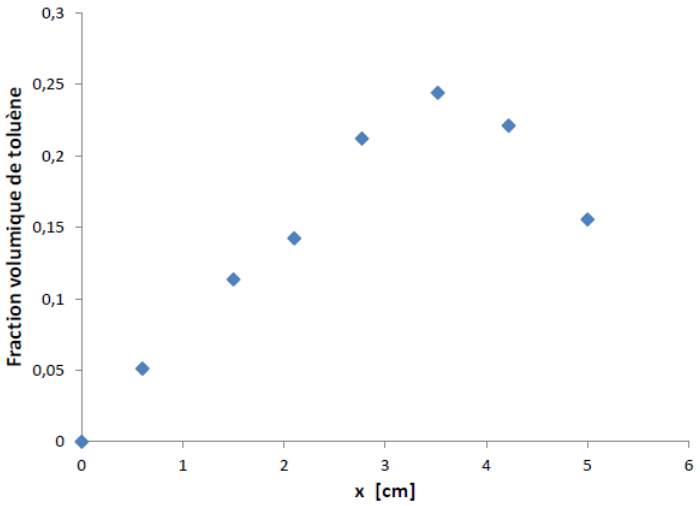

FIGURE 4.17 – Évolution de la fraction volumique du NAPL en fonction de la position moyenne pour un $P_e = 3.5$

La première étape consiste à calculer les paramètres effectifs via la résolution des problèmes de fermeture associés au modèle macroscopique sur des cellules unitaires représentatives du milieu poreux. La démarche de résolution de ces problèmes de fermeture est identique à celle détaillée au chapitre 3.

La seconde étape est la résolution de l'équation macroscopique sur l'ensemble du domaine. Le problème macroscopique est mono-dimensionnel et transitoire. In fine, nous obtenons l'évolution de la concentration en fonction du temps (courbe de percée) que nous comparons avec la courbe expérimentale de dissolution du toluène résiduel.

4.4.1.4 Paramètres du modèle et effet d'historicité

Les paramètres effectifs du modèle macroscopique sont représentés par les coefficients $\mathbf{D}^*_{\beta\omega}$, $\mathbf{d}_{\beta\omega}$, α^*_A et $\mathbf{U}_{\beta\omega}$ qui sont fonction uniquement des problèmes de fermeture (cf Chapitre 3). Les coefficients effectifs les plus représentatifs sont la dispersion effective et le coefficient d'échange de masse. Les termes additionnels ($\mathbf{d}_{\beta\omega}$ et $\mathbf{U}_{\beta\omega}$) représentent les termes de convection non traditionnels variant très peu et sont généralement négligés devant le terme de convection classique [93]. Nous vérifions toutefois ce point par la suite.

La difficulté sous-jacente ici est que la résolution des problèmes de fermetures nécessite que la géométrie de l'interface fluide-solide soit connue. Or, cette interface peut évoluer d'une manière complexe au cours du processus de dissolution entraînant une variation de l'indicatrice de phase et par la même de la porosité. Autrement dit, les propriétés effectives peuvent dépendre du processus de dissolution d'une manière historique et évoluer de manière complexe en fonction du temps. Dans ce travail, nous adopterons l'approche traditionnelle, et nous approximerons le comportement historique du système en considérant une relation macroscopique directe entre les variables macroscopiques. Il est souvent admis, dans les problèmes de dissolution par exemple, pour un échantillon de roche donné, l'existence d'une

corrélation reliant directement la perméabilité à la porosité, soit $K(\varepsilon)$ au lieu de $K(t)$ et $\varepsilon(t)$. En se basant sur les relations observées à l'échelle de Darcy (cf. Chapitre 3) et à partir de la forme des problèmes de fermeture, nous exprimerons l'hypothèse que le coefficient de transfert de masse α_A^* et le coefficient longitudinal de dispersion dépendent du nombre de Péclet de pore Pe_{pore} et de la fraction volumique de NAPL (ou de sa saturation). En première approximation, nous considérerons que la dépendance en fonction du nombre de Péclet (qui varie faiblement) est négligeable comparée à l'influence de ε_ω. Notons que cette approche a déjà été utilisée pour la dissolution en milieu poreux (Golfier et al. [37]) et des situations similaires sont observées dans les problèmes de formation de dendrites en solidification (e.g., Goyeau et al. [11]).

Nous déterminons le coefficient de dispersion effectif adimensionné de notre équation macroscopique par la relation suivante :

$$\frac{\mathbf{D}^*_{\beta\omega}}{D_{A\beta}} = \varepsilon_\beta \mathbf{I} - P_{eA}\langle \tilde{\mathbf{v}}'_\beta \mathbf{b}'_\beta \rangle + \left(\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} n_{\beta\gamma}\mathbf{b}'_\beta dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} n_{\beta\sigma}\mathbf{b}'_\beta dA \right) \quad (4.12)$$

où $D_{A\beta}$ est la diffusion moléculaire du polluant dans la phase β, P_{eA} est le nombre de Péclet et $\mathbf{b}'_\beta$ représente la variable de fermeture.

Afin d'étudier le mécanisme de transfert de masse du cas binaire mono-constituant (système NAPL-Eau), nous exprimons le coefficient d'échange de masse adimensionné par la relation suivante :

$$\frac{\alpha_A^* L^2}{D_{A\beta}} = \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} n_{\beta\gamma}\nabla \mathbf{s}_\beta dA \quad (4.13)$$

où $D_{A\beta}$ est la diffusion moléculaire du polluant dans la phase β et $\mathbf{s}_\beta$ représente la variable de fermeture.

4.4.2 Résultats et discussion

Nous présentons dans un premier temps, les résultats sur le calcul des paramètres effectifs basés sur des géométries réalistes capturant l'essentiel des propriétés microscopiques du milieu poreux. La dissolution au cours du temps du toluène induit une variation spatio-temporelle de ces propriétés (saturation en toluène, fractions volumiques des phases, etc) et une prédiction correcte des expériences nécessite donc la prise en compte de cette variabilité. Notre dispositif expérimental nous offre l'avantage d'avoir des images du processus de dissolution au cours du temps qui par la suite seront traitées pour l'obtention des configurations réalistes. Nous avons étudié deux paramètres effectives à savoir : le coefficient d'échange de masse et la dispersion effective. Ces études permettent d'illustrer la variation des propriétés énumérés ci-dessus en fonction des conditions hydrodynamiques. En outre, ils permettent aussi de quantifier les propriétés dispersives du milieu poreux ainsi que le transfert de masse impliqué lors de la dissolution du toluène. La seconde étape est la résolution de l'équation macroscopique sur l'ensemble du domaine (domaine 1D). Rappelons que le problème macroscopique est mono-dimensionnel et transitoire. Nous obtenons l'évolution de la concentration en fonction du temps (courbe de percée) que nous comparons avec la courbe expérimentale de dissolution du toluène résiduel.

Les cellules unitaires construites à partir des images de la cellule expérimentale (micromodèle) sont représentées sur la Figure 4.18. La cellule(A) représente l'état initial du micromodèle (image de la saturation résiduelle en toluène à t = 0), la cellule(B) est l'image du micromodèle après deux cent heures de dissolution (saturation résiduelle à t = 200 h) et enfin la cellule(C) présente l'état final du micromodèle après trois cent soixante-sept heures de suivi (saturation résiduelle à t = 367 h). Ces cellules unitaires sont issues des expériences à faible nombre de Péclet ($P_{eA} = 3,5$). Pour le calcul à fort Péclet, nous gardons les mêmes cellules unitaires bien qu'après l'état initial, nous ne capturons pas le maximum d'informations lors du processus de dissolution. Il est important de préciser que lors de la construction des cellules, des pertes d'informations (sous-estimation de la saturation résiduelle par exemple) sont intervenus lors des processus de traitement des images (seuillage et reconstruction de la géométrie sous Comsol). Pour illustrer ces pertes d'informations, nous représentons les images réelles utilisées pour la construction des cellules (cellule(A), cellule(B), cellule(C)) sur la Figure 4.19. Toutefois, l'erreur induit par les processus de traitement des images n'a pas un effet significatif sur le calcul des propriétés effectives car nous cherchons simplement des cellules unitaires renfermant le maximum possible des informations microscopiques (taille du pore, hétérogénéités diverses, distribution des fractions volumiques, forme des gouttelettes de toluène, etc). Globalement les cellules unitaires obtenues remplissent ces critères malgré la sous-estimation (erreur de l'ordre de 10 à 15%) très marquée de la saturation résiduelle pour la cellule (C). Les principaux paramètres physiques associées aux différents cellules unitaires sont résumés dans le Tableau 4.4.

Il faut toutefois bien souligner que les valeurs des coefficients effectifs obtenus peuvent être notablement différentes de celles mesurées expérimentalement. La solution donnée par le problème de fermeture correspond en effet aux conditions asymptotiques. Le choix de la cellule unitaire est à ce titre tout à fait significatif : si le choix de conditions périodiques est parfaitement pertinent loin des conditions de bord, celui-ci devient plus discutable lorsqu'on se rapproche des limites macroscopiques du domaine (cf. les travaux de Cushman et Moroni [53] en particulier sur l'influence des effets non-locaux sur le tenseur de dispersion). D'autre part, le tenseur de dispersion et le coefficient de transfert de masse sont des paramètres intrinsèquement dépendant de l'échelle d'observation. Autrement dit, les valeurs calculées pour ces paramètres sur l'ensemble de la zone (via le choix de la cellule de fermeture) peuvent être différentes de celles mesurées localement (compte tenu en particulier de la forte variabilité spatiale de la saturation initiale en toluène).

TABLE 4.4 – Les paramètres physiques associés aux différents cellules unitaires

Parameter	**Cellules unitaires**		
	(A)	(B)	(C)
Fraction volumique de fluide ε_β	0,34	0,4	0,47
Fraction volumique de NAPL ε_γ	0,16	0,1	0,025
Longueur caractéristique L (cm)	3,7	3,7	3,7

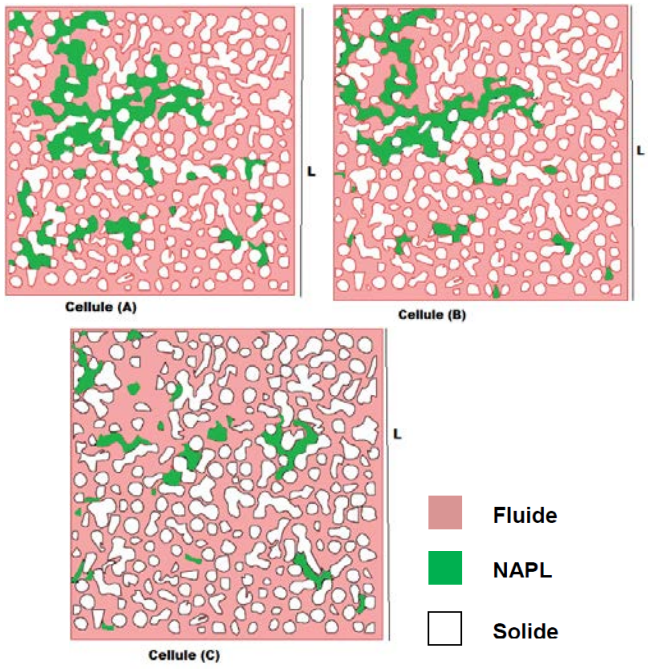

FIGURE 4.18 – Cellules unitaires utilisées dans la résolution des problèmes de fermeture

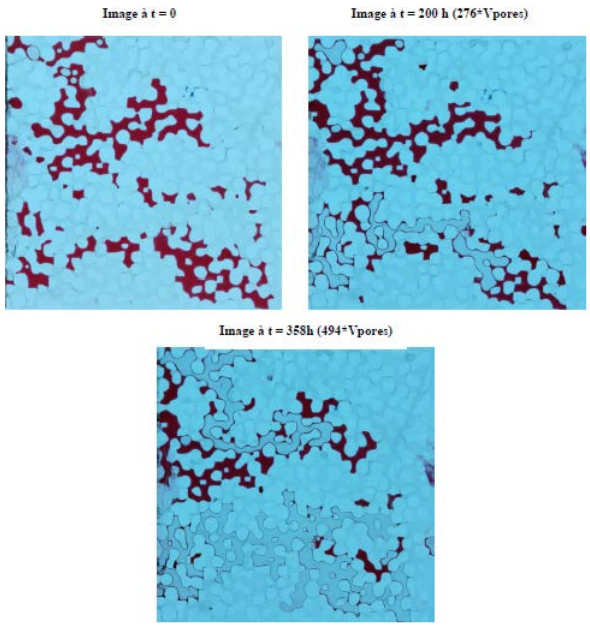

FIGURE 4.19 – Images réelles utilisées pour la construction des cellules

4.4.2.1 Dispersion effective longitudinale : Influence du nombre de Péclet et de la saturation en toluène

La Figure 4.20 présente l'évolution de la dispersion effective longitudinale (sous forme adimensionnelle) en fonction de la saturation en toluène et pour différentes valeurs du nombre de Péclet. Globalement, il s'agit d'une allure type du coefficient de dispersion en milieu poreux similaire aux résultats obtenus au chapitre 3. A faible nombre de Péclet (régime purement diffusif), cas où la dispersion dépend essentiellement de fractions volumiques des phases, nous observons un faible impact de la géométrie induite par la variation de la saturation en toluène (influence de la réduction des amas de toluène). A fort Péclet, on retrouve la forme classique d'une dispersion convective ayant une dépendance en loi puissance en fonction du nombre de Péclet et ceci pour l'ensemble des configurations (géométries). Quant les effets convectifs prédominent (haut Péclet), il apparait un écart significatif entre les résultats des différentes configurations où on observe une augmentation de la dispersion au cours des processus de dissolution du toluène. Ce résultat peut s'expliquer par le fait que la dissolution des gouttelettes de toluène (pas nécessairement orienté vers la direction de l'écoulement) permet de réduire les effets mécaniques de la dispersion. Un résultat similaire est obtenu par Radilla et al. [44] (expériences de dissolution du TCE en colonne). Nous

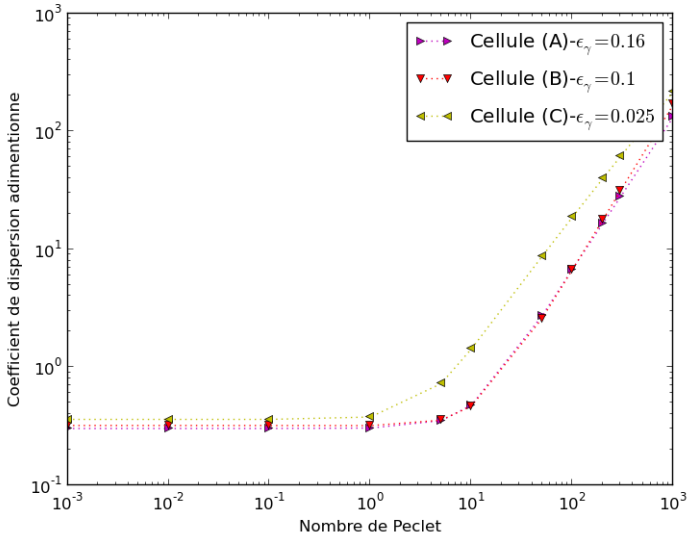

FIGURE 4.20 – Dispersion effective longitudinale : Influence du nombre de Péclet et de la saturation en toluène

avons reporté sur les Figures 4.21 et 4.22 les valeurs de dispersion longitudinal issues de ces calculs pour les nombres de Péclet correspondant à chacune des configurations. Les valeurs ainsi obtenues sont représentés en fonction de la fraction volumique de NAPL afin d'en déduire la corrélation régissant l'évolution de ce paramètre.

Pour la simulation numérique 1D de l'expérience, nous conservons un coefficient de dispersion constant compte tenu de sa variation relativement faible en fonction des géométries

utilisées. Nous montrons dans les Figures 4.21 et 4.22 la variation du coefficient de dispersion adimensionné en fonction des fractions volumique de toluène pour les deux expériences de dissolution ($P_{eA} = 3,5$ et $P_{eA} = 11$). Ces résultats montrent bien que l'impact de la géométrie reste relativement faible. Pour la prédiction de la courbe de percée expérimentale, nous avons gardé la valeur maximale de la dispersion correspondant aux trois saturations résiduelles pour chaque Péclet.

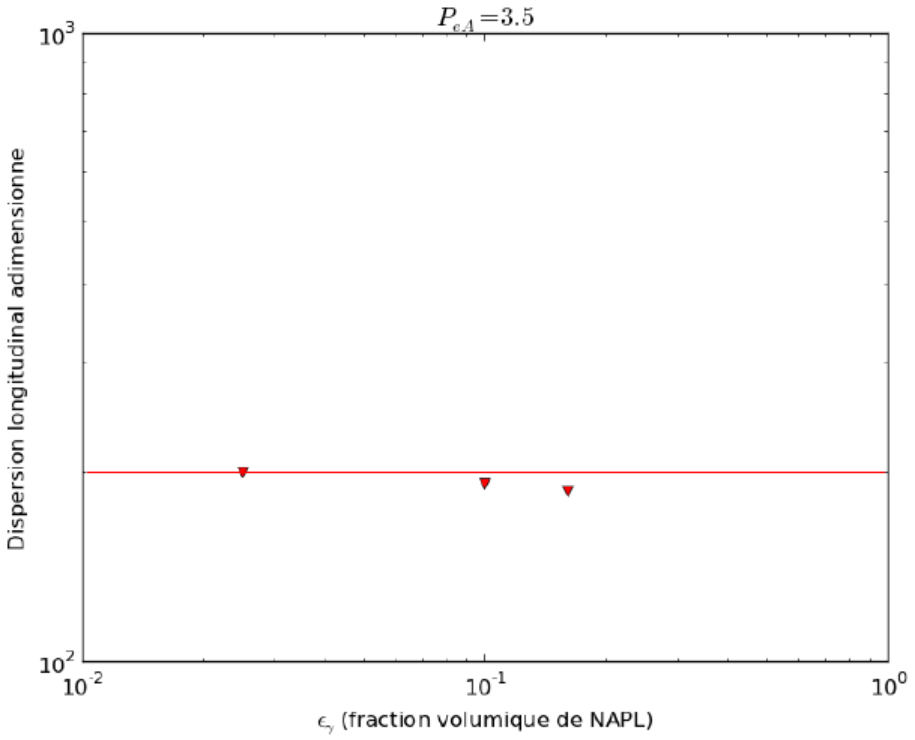

FIGURE 4.21 – Évolution du coefficient de dispersion en fonction de la saturation en polluant pour $P_{eA} = 3,5$

4.4.2.2 Coefficient d'échange de masse : Influence du nombre de Péclet et de la saturation en toluène

L'influence du nombre de Péclet et de la saturation en toluène sur le coefficient d'échange de masse est présentée sur la Figure 4.23. Le résultat montre globalement une augmentation du transfert de masse avec la saturation en toluène et le nombre de Péclet. Pour des faible Péclets, le transfert de masse est contrôlé essentiellement par la surface d'échange entre le polluant et la phase aqueuse. La surface d'échange diminue au cours de la dissolution entrainant ainsi une baisse du coefficient d'échange (résultat similaire obtenu au chapitre 3). La vitesse d'écoulement au voisinage de l'interface fluide-NAPL diminue en parallèle de la dissolution (baisse de la saturation résiduelle), ce qui accentue cette différence entre la géométrie initiale (cellule (A)) et finale (cellule (C)) en termes de transfert de masse

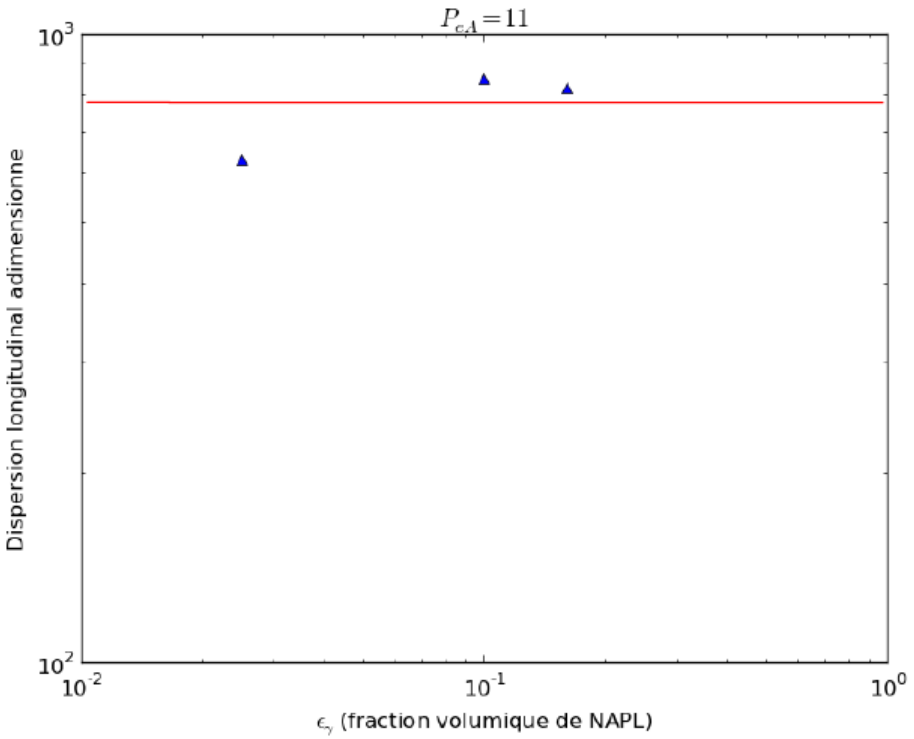

FIGURE 4.22 – Évolution du coefficient de dispersion en fonction de la saturation en polluant pour $P_{eA} = 11$

(résultat similaire obtenu par Miller et al. [27]). Nos résultats confirment que la variation de la géométrie induit par la dissolution du toluène peuvent expliquer des limitations sur le transfert de masse.

Pour la prédiction de la courbe de percée expérimentale, le modèle numérique nécessite la connaissance du coefficient d'échange de masse correspondant au Péclet du pore utilisé pour les manipulations. En gardant un coefficient d' échange de masse constant lors des calculs, il est fortement probable que la courbe de dissolution ne sera pas correctement prédite. Raison pour laquelle, nous avons opté pour une corrélation du coefficient de transfert de masse en se basant sur les résultats numériques de la Figure 4.23. L'avantage principal de cette approche réside dans le fait que le coefficient d'échange de masse est corrélé à la dynamique du problème physique. Finalement nous obtenons une relation liant le coefficient de transfert de masse à la fraction volumique du NAPL pour les deux expériences (Figure 4.24 et 4.25). Ces relations sont obtenus avec un très bon coefficient de corrélation et tendent vers une valeur nulle (pas de transfert de masse) quand la saturation en toluène est nulle ce qui n'est pas le cas pour certains corrélations [27, 56, 144].

4.4.2.3 Comparaison des résultats expérimentaux et numériques

La première étape de cette partie consiste à l'obtention de l'ensemble des paramètres effectifs y compris les termes non traditionnels (termes de correction pour les flux diffusifs

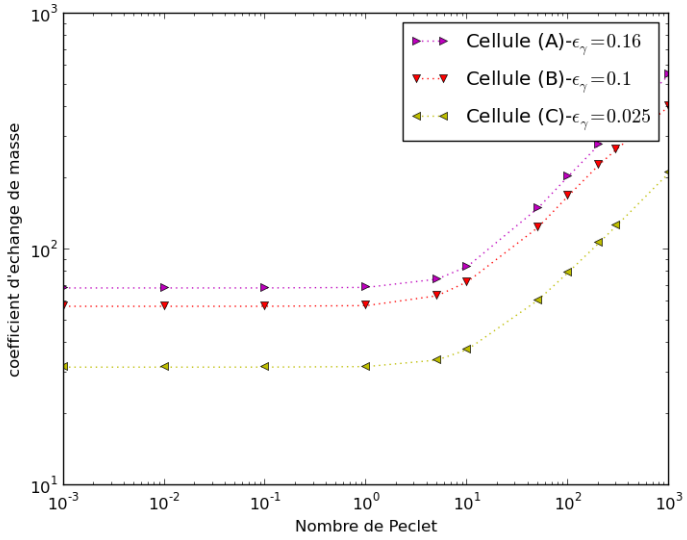

FIGURE 4.23 – Coefficient d'échange de masse : Influence du nombre de Péclet et de la saturation en toluène

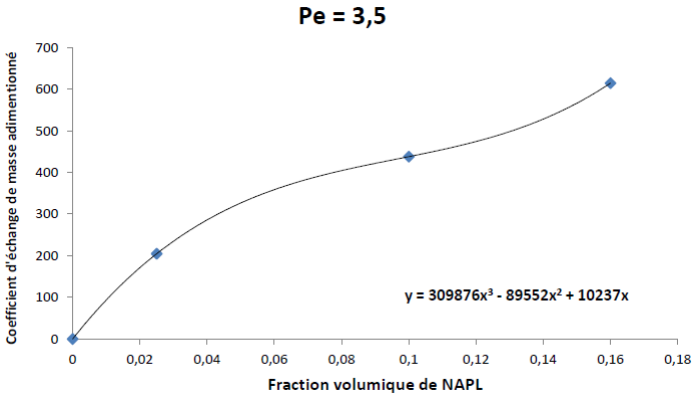

FIGURE 4.24 – Courbe de corrélation du coefficient de transfert de masse en fonction de la saturation en polluant pour $P_{eA} = 3,5$

et convectifs). Nous avons remarqué une variation relativement faible de ces termes ($\mathbf{d}_{\beta\omega}$ et $\mathbf{U}_{\beta\omega}$) en fonction des géométries testés (cellule (A), cellule(B) et cellule(C)) lors de nos simulations. De plus, une corrélation satisfaisante de ces paramètres est difficile à obtenir compte tenu de la tendance observée. Nous avons gardé les valeurs de la cellule (A) correspondant à l'état initial de dissolution pour les simulations numériques car ces propriétés géométriques reflètent exactement l'image expérimentale. Leurs valeurs sont résumés dans le Tableau 4.5 ci-dessous. Les résultats issus des simulations numériques sont comparés à ceux obtenus expérimentalement (pour les deux valeurs de Péclet) sur les Figures 4.26 et

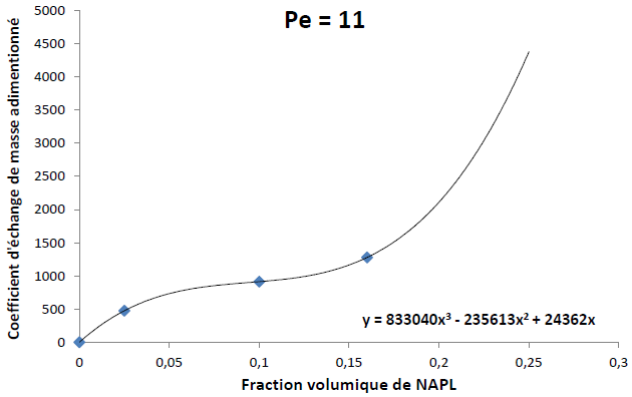

FIGURE 4.25 – Courbe de corrélation du coefficient de transfert de masse en fonction de la saturation en polluant pour $P_{eA} = 11$

TABLE 4.5 – paramètres effectifs du modèle macroscopique

$Pe_{pore} = 3,5$		$Pe_{pore} = 11$	
$\mathbf{D}^*_{\beta\omega}$	200	$\mathbf{D}^*_{\beta\omega}$	800
$\mathbf{U}_{\beta\omega}$	66	$\mathbf{U}_{\beta\omega}$	200
$\mathbf{d}_{\beta\omega}$	-185	$\mathbf{d}_{\beta\omega}$	-600

4.27. L'examen de ces figures montre que les courbes de percée prédites ($P_{eA} = 3.5$ et $P_{eA} = 11$) décrivent de manière plus que satisfaisante la phénoménologie du processus de dissolution observé expérimentalement. Nous récupérons bien les trois étapes de la courbe de dissolution expérimentale qui ont fait l'objet d'une analyse approfondie dans le paragraphe 4.3.3 (Figures 4.15 et 4.16). Cependant, la courbe de percée simulée pour $P_{eA} = 3.5$ s'écarte de la courbe expérimentale dès que V/V_p atteigne environ 150. L'augmentation de cet écart avec l'augmentation de V/V_p pourrait être due à l'intrusion d'air dans le micro-modèle (problème déjà signalé précédemment) et qui entraîne une brusque variation de la concentration sur la courbe de percée expérimentale. Quant à l'évolution de la concentration à fort Péclet ($P_{eA} = 11$), les prévisions numériques montrent également une différence par rapport aux résultats expérimentaux. Cette différence, beaucoup moins accentuée que pour le cas précédent, pourrait trouver une explication dans les valeurs des propriétés effectives utilisées dans le modèle numérique, valeurs extrapolés par rapport aux résultats à faible Péclet. Pour une prédiction correcte de la courbe expérimentale à fort Péclet, les propriétés effectives (coefficient de transfert de masse, coefficient de dispersion, termes additionnels) doivent provenir des géométries issues de la manipulation correspondante.

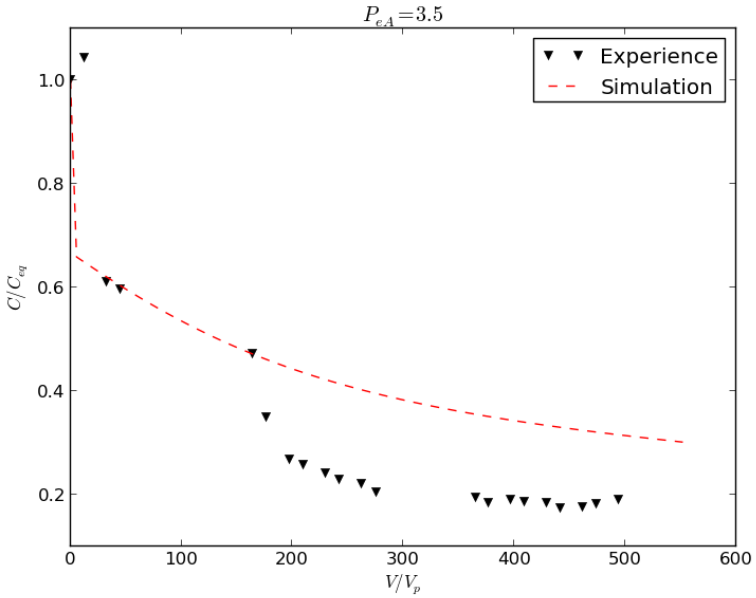

FIGURE 4.26 – Évolution de la concentration en polluant lors de la dissolution pour $P_{eA} = 3.5$

4.5 Conclusion

Dans la première partie de ce chapitre, nous avons décrit la mise en place d'un dispositif expérimental, représenté par un micromodèle, permettant d'étudier la dissolution du toluène en condition abiotique. La deuxième partie du travail a fait l'objet d'une description détaillée des techniques utilisées et le protocole mis en place afin de quantifier les courbes de percées et les saturations résiduelles suite au phénomène de dissolution. En fait, Pour suivre la dissolution résiduel, deux méthodes ont été envisagées et utilisées : suivi par imagerie (analyse d'images) et par analyse chromatographique (suivi à la CPG). Ces deux méthodes ont été testées au travers le calcul du bilan de masse du polluant. La comparaison des résultats montrent globalement un bon accord malgré les difficultés expérimentales rencontrées (intrusion de l'air par exemple). A la fin de cette étape, nous avons obtenus des courbes d'évolutions de la concentration et de la saturation en fonction des volumes de pores injectés pour les deux expériences (fort et faible Péclet). Ces résultats ont clairement mis en évidence l'influence du régime hydrodynamique sur la dissolution et montrent que le phénomène de non équilibre augmente avec le nombre de Péclet. La présence de ce phénomène de non équilibre est attribuée au caractéristiques physiques du milieu poreux, à savoir : hétérogénéité du milieu poreux, répartition complexe des gouttelettes de toluène, etc.

La confrontation des résultats numériques (simulation macroscopique 1D) avec les résultats expérimentaux présentée dans la dernière partie montre que le modèle proposé est capable de décrire avec satisfaction la dissolution du NAPL en milieu poreux. L'approche

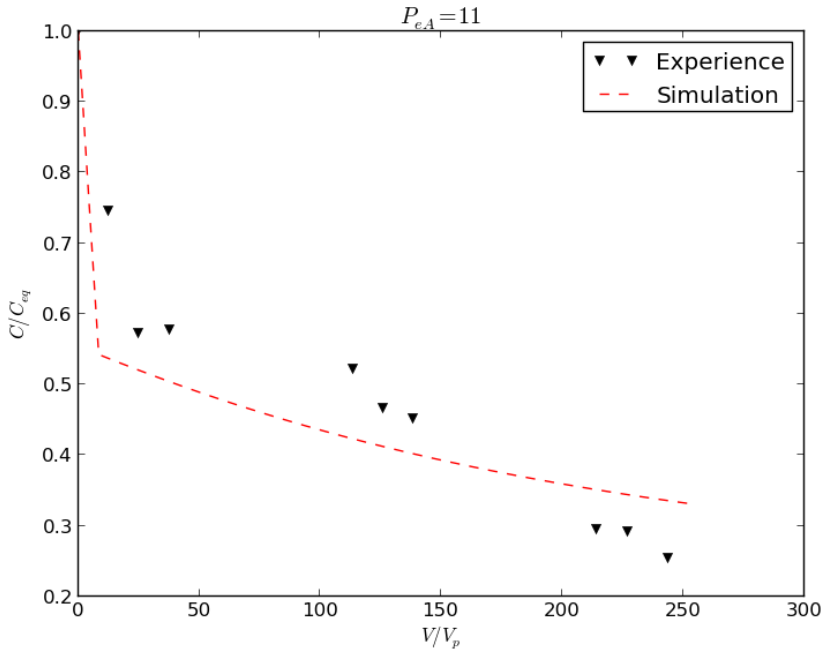

FIGURE 4.27 – Évolution de la concentration en polluant lors de la dissolution pour $P_{eA} = 11$

novatrice proposée dans cette partie repose sur le calcul des paramètres effectifs (coefficient d'échange de masse, dispersion, etc) à partir des géométries réalistes provenant des images réelles du milieu poreux. L'utilisation de cette approche a permis d'estimer la courbe de percée et de la comparée avec la courbe expérimentale. Les différences entre ces courbes pourraient être attribuées : aux problèmes expérimentaux survenus durant le déroulement des expériences (intrusion d'air) pour le cas du faible Péclet ($P_{eA} = 3,5$), à l'extrapolation des propriétés effectives (fort Péclet -$P_{eA} = 11$) ou encore aux problèmes liés à la conception du micro-modèle et en particulier aux réservoirs (existence des zones mortes) qui peuvent entrainer une erreur plus ou moins significative sur les mesures chromatographiques.

Chapitre 5

Étude expérimentale : transport et biodégradation du toluène en micromodèle

5.1 Introduction

L'étude expérimentale présentée dans ce chapitre a pour objectif d'étudier à l'aide d'un micromodèle, constitué par un milieu poreux transparent 2D, le transport et la biodégradation d'une phase NAPL en présence des bactéries à l'échelle du pore. Les résultats expérimentaux devraient nous fournir, outre des images représentatives du système eau/biofilm/NAPL, des courbes de percée mettant en évidence le dégradation du NAPL, ainsi que des informations sur l'évolution de la saturation résiduelle du NAPL dans le milieu. Cette partie expérimentale est menée en collaboration avec le Laboratoire Chimie, Physique et Microbiologie pour l'Environnement (LCPME,UMR 7564), qui apporte son expertise microbiologique.

Dans une première étape, nous présentons la démarche méthodologique ayant permis le choix de la souche bactérienne ainsi que les différents protocoles expérimentaux mis en place pour la culture de la souche bactérienne en batch et en micromodèle. Ensuite, nous nous attacherons à l'interprétation des résultats expérimentaux sur la dissolution du toluène résiduel en présence des bactéries.

5.2 Choix de la souche bactérienne

Afin d'étudier les mécanismes de transport multiphasique en présence du biofilm à l'échelle du pore, un travail préalable a été effectué pour choisir la souche bactérienne devant servir à la formation du biofilm. Sur la base de la recherche bibliographique [12, 38, 39, 147], nous avons finalement opté pour la souche *Pseudomonas Putida F1*. Ce choix s'est imposé en raison d'une part, de sa capacité à former un biofilm en présence du toluène comme source de carbone [34] et d'autre part, de l'importante littérature disponible sur cette souche bactérienne.

5.2.1 Présentation et condition de culture de la *souche Pseudomonas Putida F1*

La souche *Pseudomonas Putida F1* (DSMZ 6899) lyophilisée est fournie par le Leibniz Institute DSMZ (German collection of microorganisms and cell cultures). Il s'agit une souche

environnementale présente dans le sol, l'eau et surtout dans les milieux humides [119]. D'un point de vue morphologique, elle se présente sous forme de bâtonnet de $0,7-1,1$ sur 2 à $4\mu m$, et étant un organisme aérobie stricte à Gram négatif (Myris [90]). D'un point de vue physiologique, *Pseudomonas Putida F1* croît à des températures optimales comprises entre 25 et 35°C (optimum autour de 30°C) et pour des valeurs de pH comprises entre 7 et 8 (croissance préférentielle proche de la neutralité). Ce micro-organisme est capable de croître en utilisant comme source de carbone les composés aromatiques dont le toluène. L'ensemble des matériels utilisés pour la culture de la souche a été autoclavé (127°C pendant 20 minutes) afin d'éviter l'influence d'autres microorganismes.

Le milieu minéral de base choisi est de type MBM (Modified Brunner Medium) dont la composition est donné par le Tableau 5.1 ci-dessous (eg.,Bordel et al. [127]) :
Nous avons ajouté à ce milieu 4 g/l de $NaNO_3$ (accepteur d'électrons). Le PH du milieu

Table 5.1 – Composition du milieu MBM

Composition	Concentration (g/l)
$NaHPO_4.12H_20$	2.44
KH_2PO_4	1.52
$(NH_4)_2SO_4$	1
$MgS0_4.7H_2O$	0.2
$CaCl_2$	0.05
Élément trace (10 mL)	
Composition	Concentration (g/l)
$EDTA$	0.5
$FeSO_4.7H_2O$	0.2
$ZnSO_4.7H_2O$	0.01
$MnCl_2.4H_2O$	0.003
H_3BO_3	0.03
$CoCl_2.6H_2O$	0.02
$CuCl_2.2H_2O$	0.01
$NiCL_2.6H_2O$	0.02
$NaMo0_4.2H_2O$	0.003

ainsi préparé est ajusté à 6.9.

La préparation de l'inoculum commence par un ensemencement sur gélose TSA (Trypticase Soja Agar composé de 15 g de tryptone, 5 g de peptone papaïnique de soja, 5 g de chlorure de sodium, 15 g d'agar et ajusté à un PH de 7,3). A partir de sa conservation à -80°C, la souche est revivifiée sur boîtes de Pétri en milieu TSA puis incubée à 30°C pendant 48 heures pour avoir des colonies identifiables. Ensuite, des colonies sont prélevées pour préparer une préculture dans un erlenmeyer de 250 ml contenant 100 ml de TSB (Broth Tryptic

Soja), pré-culture placé dans un bain marie (type AQUATRON 920477) à 150 tours par minute pendant vingt quatre heures et à 30°C. La dernière étape de préparation d'inoculum est la pré-culture avec du toluène dont le but est d'adapter les bactéries au nouveau substrat (toluène). Nous récupérons 1 à 2 mL de la pré-culture précédente (milieu riche TSB) que nous ajoutons dans un erlenmeyer de 500 ml contenant 250 mL de milieu de base MBM et 100 μL de toluène. Cet ensemble est cultivé pendant 24 heures dans un bain marie à 200 tours par minute et à 30°C. Après 24h, la pré-culture est centrifugée à 5000 tours par minute à 21°C pendant 10 minutes puis remise en suspension dans de l'eau physiologique (NaCl à $0,9\%$).

Il faut préciser que les premiers tests de caractérisation de la souche bactérienne ont été effectués au LCPME à l'issue d'un stage d'initiation en microbiologie. Après la fourniture de la souche par le Leibniz Institute DSMZ, nous avons procédé à la vérification de la pureté de *Pseudomonas Putida F1* (souche isolée sur boite de pétri) et aussi à un premier test de croissance de la souche en milieu riche TSB. La courbe de croissance obtenue (Figure 5.1) est comparable aux courbes de croissance habituellement rencontrées en microbiologie et illustre les différentes phases de croissance (phase de latence, phase de croissance exponentielle et phase stationnaire) [2].

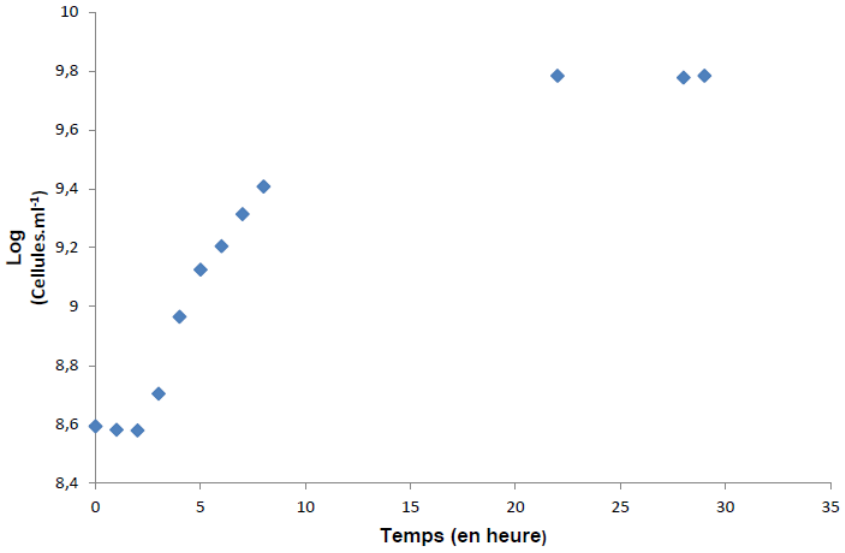

FIGURE 5.1 – Courbe de croissance de *Pseudomonas Putida F1* en milieu riche TSB

5.2.2 Protocole expérimental pour les cultures en batch

Une série d'expériences en batch a été mise en place afin d'étudier d'une part la biodégradation du toluène à travers deux concentrations en toluène (100 et 200 mg/l) et d'autre part, l'influence du toluène sur la croissance bactérienne pour différentes concentrations (50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 et 500 mg/l).

Les cultures sont préparées dans un Erlenmeyer rodé avec bouchon en verre de 250 ml contenant 120 ml de milieu minéral de base (MBM) présenté ci-haut et du toluène comme

seule source de carbone et d'énergie. Après passage à l'autoclave et refroidissement des flacons (Erlenmeyer), le toluène pur est injecté directement sous un environnement stérile à l'aide d'une micropipette pour préparer les différentes concentrations. L'étape suivante passe par l'introduction de l'inoculum (1 mL) dans les flacons permettant l'obtention d'une concentration initiale en bactérie autour de 0.02 OD_{600} (8.6×10^7bacteries/ml). Les flacons de culture ont été fermés avec des bouchons en verre pour empêcher la volatilisation du toluène. Ensuite, les cultures ont été placées dans un incubateur (bain marie) à 150 tours par minute et à 30°C tout au long du suivi de la culture. Des échantillons ont été prélevés à des intervalles de temps régulier pour le suivi de la croissance des bactéries et de l'abattement du toluène. Des témoins placés dans les mêmes conditions que les cultures ont été mis en place afin de vérifier la volatilité du toluène d'une part et que la croissance bactérienne est dû uniquement à la consommation du toluène d'autre part. Le suivi de la croissance bactérienne se fait par spectrophotométrie (UV-visible) à 600 nm. La spectrophotométrie est une méthode analytique qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique (DO) d'une solution. Cette technique est utilisée dans les limites de proportionnalité enoncées par la loi de Beer-Lambert. Nous utilisons ici un modèle (cell density meter model 40) proposé par Fisher Scientific.

5.2.3 Résultats expérimentaux des tests en batch

5.2.3.1 Tests de biodégradation du toluène en batch

Avant d'étudier le transport et la biodégradation du toluène en présence de bactéries au sein du micromodèle, nous avons auparavant vérifié la biodégradation du toluène par *P.putida F1*. Les études effectuées sont basées essentiellement sur des cultures en batch. La première expérience portait sur le suivi de l'abattement du toluène dans le temps. Ensuite, nous avons testé l'influence de la concentration en toluène sur une série des cultures en batch . In fine, nous nous sommes intéressés à la cinétique de croissance bactérienne afin de déterminer les paramètres de croissance de la souche étudiée.

5.2.3.2 Expériences en batch de la biodégradation du toluène

Dans ce paragraphe, nous nous limitons à l'étude du processus d'assimilation du toluène par la souche bactérienne via deux concentrations différentes. Il s'agit de 100 et 200 mg/l. Les données expérimentales présentées sur les Figure 5.2 et Figure 5.3 montrent clairement une diminution, dans le temps de la concentration et une augmentation de la biomasse. La croissance bactérienne a vite démarré pour le cas à faible concentration (100 mg/l) et le toluène est totalement consommé après une durée d'environ sept heures. Quant au cas correspondant à une concentration de 200 mg/l en toluène, il est marqué par : (i) une masse finale bactérienne largement supérieure au premier cas et (ii) une consommation totale du toluène après environ neuf heures. Cependant, quel que soit le cas considéré, nous remarquons un abattement plus élevé du toluène au cours de la phase exponentielle de croissance. Quant à la phase stationnaire de croissance, elle coïncide bien avec l'absence totale du toluène. Ce comportement montre bien que les bactéries utilisent leurs réserves internes pour survivre. Par conséquent, les expériences menées en batch sont tout à fait en

accord avec les résultats trouvés dans la littérature [12, 39, 147] et prouvent que la souche *Pseudomonas putida F1* utilise bien le toluène en tant que source de carbone et d'énergie.

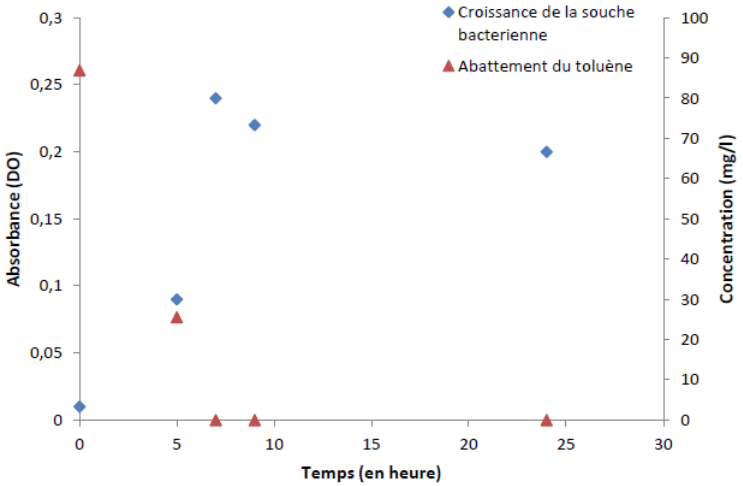

FIGURE 5.2 – Croissance bactérienne et dégradation du toluène (C=100 mg/l)

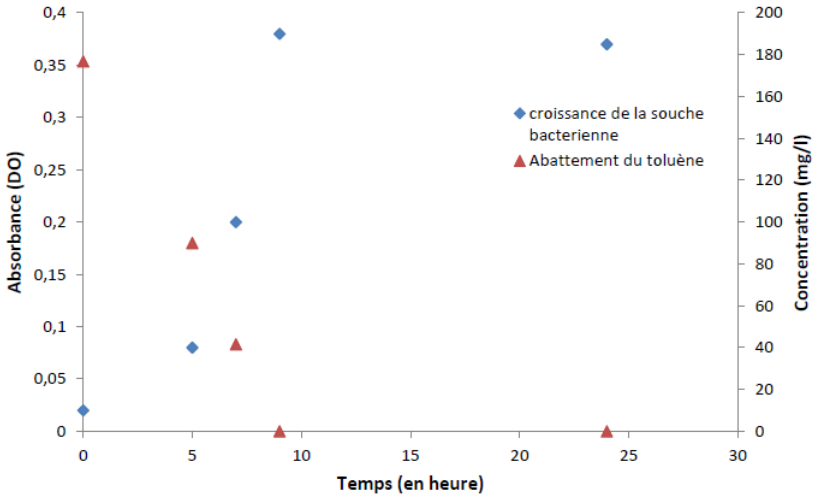

FIGURE 5.3 – Croissance bactérienne et dégradation du toluène (C=200 mg/l)

5.2.3.3 Influence de la concentration en toluène sur la croissance bactérienne

L'effet de la concentration en toluène est ensuite étudié au travers de différentes valeurs de concentrations (50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450 et 500 mg/l). Selon les résultats présentés sur la Figure 5.4 (effet plus visible avec le « zoom »effectué au sein de la Figure 5.4), nous remarquons que, tant que la concentration est inférieure à 200 mg/L,

le taux de croissance bactérienne semble augmenter avec l'augmentation de la concentration suggérant ainsi une bonne adaptation de la bactérie à notre polluant. Une fois cette concentration dépassée, on observe une chute significative du taux de croissance bien que la souche bactérienne ait été adaptée en pré-culture à une concentration de 350 mg/l. La limite de toxicité apparait donc vers 200 mg/l. Au-delà de cette concentration, le toluène semble provoquer un dysfonctionnement du métabolisme bactérien [129] ce qui se traduit par une diminution du taux de croissance (effet d'inhibition).

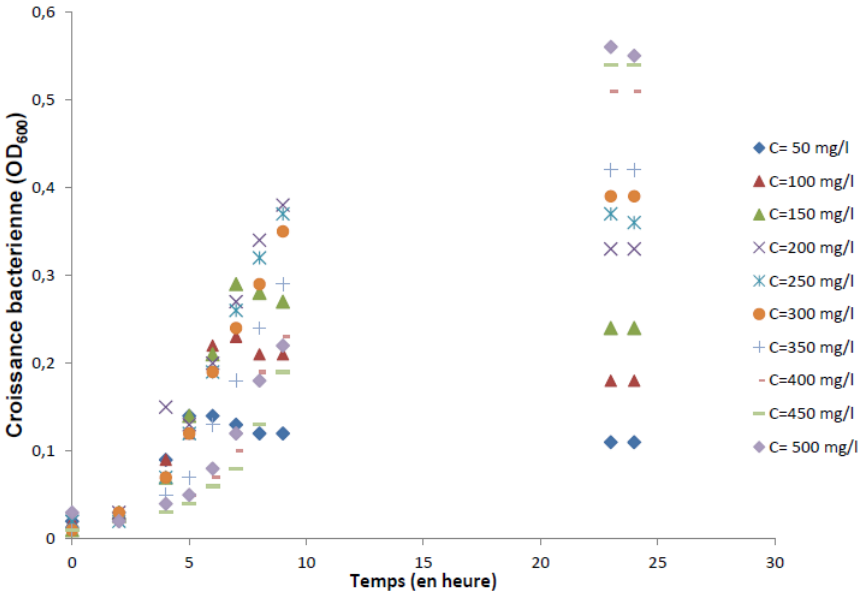

FIGURE 5.4 – Influence de la concentration en toluène

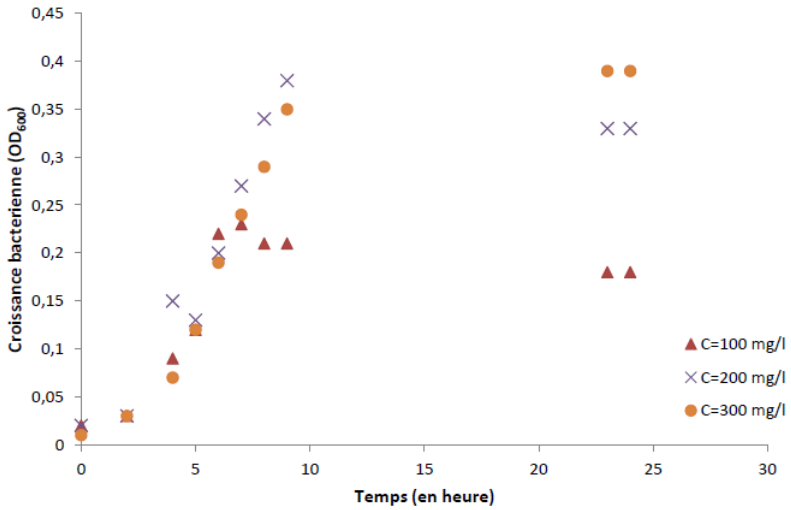

FIGURE 5.5 – Influence de la concentration en toluène (Zoom effectué sur la Figure 5.4)

5.2.3.4 Caractérisation de la cinétique de croissance

Afin de mieux quantifier la limite entre la croissance et la décroissance bactérienne, nous avons utilisé les résultats expérimentaux précédents (Figure 5.4) afin d'estimer pour chaque concentration le taux de croissance spécifique (μ) via la relation suivante :

$$\mu = \frac{ln(\frac{X2}{X1})}{(t2 - t1)} \tag{5.1}$$

où X1 et X2 représente respectivement la densité optique (OD_{600}) à l'instant t1 et t2. L'application de cette formule durant la phase de croissance exponentielle conduit aux résultats fournis par la courbe présentée sur la Figure 5.6. Les résultats montrent que le

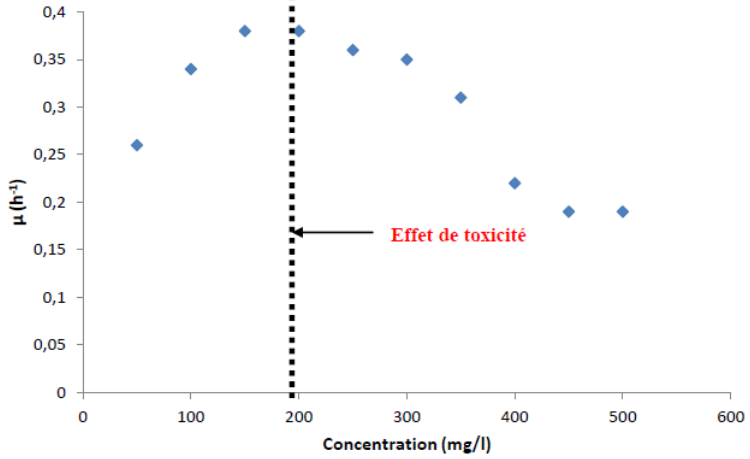

FIGURE 5.6 – Cinétique de la croissance bactérienne

taux de croissance spécifique (μ) augmente avec la concentration en toluène de $0,26h^{-1}$ pour 50 mg/l à un maximum de $0,38h^{-1}$ pour 200 mg/l. Ces résultats sont en très bon accord avec ceux publiés par Bordel et al. [127] et indiquent une toxicité au-delà d'une concentration en toluène de 200 mg/l.

D'une manière générale, la détermination des paramètres bio-cinétiques de la souche bactérienne se fait en ajustant les données expérimentales aux modèles mathématiques de croissance les plus adaptés. Afin de déterminer les paramètres de croissance de la souche *Pseudonmoas putida F1*, nous utilisons ici deux modèles : le modèle de Monod [28] et celui de Haldane [28].

Le modèle proposé par Monod est bien adapté pour rendre compte de la croissance bactérienne dans un milieu non renouvelé (culture en batch). Ce modèle donne une relation entre le taux de croissance μ d'une population des micro-organismes et la concentration C en substrat limitant :

$$\mu = \mu_{max} \frac{C}{K_s + C} \tag{5.2}$$

où μ_{max} représente le taux de croissance maximal observé à saturation en substrat et K_s la constante de demi-saturation, correspondant à la concentration pour laquelle $\mu = \mu_{max}/2$.

D'après la littérature [88], le modèle de Monod peut être non valable pour des substrats limitants à des faibles voire des concentrations modérées. A des fortes concentrations, de nombreux substrat s'avèrent inhibiteurs pour la croissance des espèces et dans ces conditions on s'écarte encore plus du domaine de validité du modèle de Monod. Raison pour laquelle, pour le cas avec inhibition, nous proposons d'utiliser le modèle de Haldane [28] :

$$\mu = \mu_{max} \frac{C}{K_s + C + \frac{C^2}{K_i}} \tag{5.3}$$

La constante K_i est la constante d'inhibition qui représente la concentration en substrat à partir de laquelle, le substrat devient inhibiteur pour la croissance de la biomasse. Il faut aussi noter que si K_i est assez grand, le modèle devient équivalent à celui de Monod (Équation 5.2)

Les résultats de l'application des modèles de Monod et Haldane aux données expérimentales de croissance sont présentés sur la Figure 5.7. Concernant l'ajustement au modèle

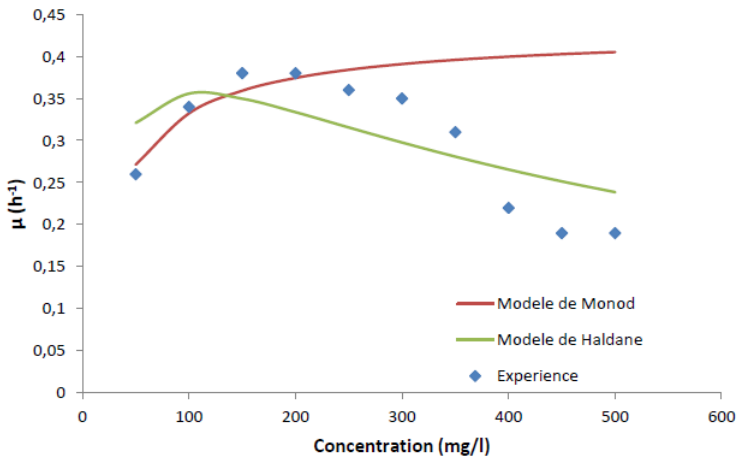

FIGURE 5.7 – Ajustement des données expérimentaux aux modèles de Monod et Haldane

de Monod, nous remarquons un bon accord entre le modèle et les données expérimentales tant que la concentration en toluène est en dessous de 200 mg/l, i.e., le seuil de toxicité.

Quant à la comparaison des résultats expérimentaux avec le modèle de Haldane, bien que celui-ci ne permette pas de caractériser parfaitement toute la complexité de la courbe de croissance expérimentale, nous obtenons une tendance relativement satisfaisante pour la variation du taux de croissance spécifique avec la concentration en substrat. Contrairement au modèle de Monod, le modèle de Haldane est valable quelle que soit la concentration en toluène et réussit à decrire cet effet d'inhibition.

5.2.3.5 Détermination des paramètres des modèles de croissance

Notons que les paramètres intervenant dans les équations 5.2 et 5.3 ont étés estimés en minimisant l'erreur entre la valeur prédite par le modèle et la valeur expérimentale obtenue.

Les valeurs des paramètres caractérisant les modèles étudiés sont résumés dans le Tableau 5.2. Pour le modèle de Monod nous obtenons $\mu_{max} = 0.42h^{-1}$ et $K_s = 29.01mg/l$. La

Monod				
paramètres	$\mu_{max}(h^{-1})$	$K_s(mg/l)$	$\frac{\mu_{max}}{K_s}$	**Erreur (SSE)**
Valeur	0.42	29.01	0.0147	0.00123

Haldane					
paramètres	$\mu_{max}(h^{-1})$	$K_s(mg/l)$	$K_i(mg/l)$	$\frac{\mu_{max}}{K_s}$	**Erreur (SSE)**
Valeur	0.54	29.01	404.85	0.0188	0.0207

TABLE 5.2 – Paramètres des modèles de Monod et Haldane

détermination des paramètres de Monod est basée sur les valeurs de concentration de 50 à 250 mg/l ce qui explique la faible erreur de calibration indiquée dans le Tableau 5.2 pour la cinétique de Monod. Les paramètres du modèle de Haldane estimés sont μ_{max} et $K_i(mg/l)$. Nous avons gardé la même valeur de K_s que celle obtenue lors du calibrage du modèle de Monod afin de faciliter la convergence de la solution. Nous obtenons ainsi $\mu_{max} = 0.54$ et $K_i = 404.85mg/l$. Le coefficient stoechiométrique F_λ est égale à 2 (valeur obtenue par calage des données de croissance).

Il convient de souligner que la valeur du paramètre μ_{max} dépend du modèle choisi. Ceci est bien évidement dû aux hypothèses portant sur la cinétique de croissance associées à ces modèles : le modèle de Haldane tient compte du facteur inhibition et pas celui de Monod.

5.3 Transport et biodégradation du toluène en micromodèle

5.3.1 Études préliminaires de la croissance bactérienne en micromodèle

Afin de suivre les interactions toluène/bactéries dans le micromodèle sous l'influence d'un champ de vitesses, une méthode de quantification de la croissance bactérienne (dénombrement des bactéries) a été envisagée et mise en place durant la phase d'étude préliminaire. Via le comptage des bactéries, cette méthode permet de suivre la croissance bactérienne dès les premières phases de croissance. Deux expériences ont été effectuées. La première nous a permis de vérifier le développement bactérien dans la cellule d'écoulement en présence du toluène comme seule source de carbone et d'énergie. Quant à la seconde, il s'agit d'une expérience de croissance microbienne en milieu riche TSB (expérience en micromodèle) dont les résultats doivent permettre, outre de valider la méthode de dénombrement, de comparer le nombre des bactéries produites en présence du toluène et en milieu riche TSB à un instant donné.

5.3.1.1 Inoculation du micromodèle et conditions opératoires

Pour la réalisation de ces expériences de suivi de la croissance bactérienne, nous avons mis en place deux protocoles expérimentaux en vue de l'inoculation du micromodèle. L'étape

de préparation de la cellule (décontamination du micromodèle et accessoires) est identique aux deux expériences.

L'expérience en présence du toluène a débuté par une saturation en eau du micromodèle. Ensuite, une mise en circulation de 2% d'hypochlorite de sodium a été effectuée pendant environ quatre heures. L'objectif de cette étape était de décontaminer le micromodèle et les autres accessoires (tubes, vannes). L'élimination de la solution chlorée de la cellule a été réalisée par une circulation dans notre micromodèle d'un milieu mineral de base (MBM) stérile pendant environ 18 heures. In fine, nous démarrons la phase de drainage et d'imbibition pour l'obtention du toluène résiduel piégé au sein de micromodèle qui correspond à l'état initial de nos expériences de dissolution du toluène résiduel. Pour assurer la mise à l'équilibre entre la phase aqueuse et le toluène, le système a été mis au repos pendant environ vingt quatre heures. L'inoculation est alors réalisée de manière stérile au même débit que celui de la phase d'imbibition pour empêcher le déplacement des gouttelettes de toluène piégé. Nous injectons environ dix volumes de pores d'inoculum. Ensuite, la circulation est interrompue pendant 24 heures afin d'assurer la mise au repos du système. Cette dernière phase permet une adhésion initiale des bactéries aux grains de la matrice solide (micromodèle). Pour faciliter la croissance bactérienne, nous injectons en continu du milieu minéral de base à un très faible débit (Q=0,001 ml/min) pour éviter le détachement des colonies. La croissance microbienne est suivie dans le temps par des prises régulières d'échantillons qui seront observés au microscope à epi-fluorescence (comptage des bactéries).

Concernant la seconde expérience, i.e., en milieu riche TSB, une circulation d'eau distillée stérile est effectuée pendant dix-huit heures afin d'éliminer la solution chlorée du micromodèle. L'inoculation en micromodèle d'environ dix volumes de pores est réalisée dans les mêmes conditions que l'expérience précédente (expérience avec du toluène comme source de carbone). Pour faciliter l'adhésion des bactéries dans les pores du micromodèle, une interruption de la circulation a été effectuée pendant deux heures. Durant cette phase d'arrêt de la circulation, l'adhésion des bactéries devient irréversible et le développement du biofilm peut commencer par la formation des micro-colonies. Pour parfaire la croissance bactérienne, le milieu de culture riche (TSB) est injecté en continu tout au long du suivi de la croissance bactérienne. L'injection du TSB été faite à faible débit (Q=0,005 ml/min) pour éviter le détachement des colonies. Nous suivons régulièrement la croissance de biofilm par des prises régulières d'échantillons qui seront observés au microscope à epi-fluorescence.

5.3.1.2 Méthode de dénombrement des bactéries

Le dénombrement des cellules bactériennes a été mené par un marquage au SYBR green II, un fluorochrome spécifique des acides nucléiques colorant toutes les cellules en vert. Une solution stock de SYBR green II est préalablement préparée (dilution au 1/100). Dans des tubes stériles de 5 ml, nous avons ajouté 1 mL de la suspension bactérienne préalablement fixée (glutaraldéhyde 2%). Ensuite, $100\mu L$ de la solution stock ont été ajoutées dans les tubes stériles contenant les échantillons (soit une dilution finale au 1/1000), incubés pendant 15 minutes à l'obscurité et à température ambiante. La suspension est ensuite filtrée à l'aide d'une rampe de filtration sur membrane de nylon $(0,22\mu m)$ et rincée à l'eau apyrogène. Immédiatement après passage de la dernière goutte, la membrane est montée entre lame et

lamelle avec une goutte de glycérine tamponnée. L'observation est effectuée au microscope à épi-fluorescence sous l'objectif x100 à immersion, nous avons dénombré entre 20 et 300 bactéries par champ sur au moins 10 champs. In fine, la moyenne du nombre des bactéries par champ est estimée, moyenne qui est par la suite extrapolée à la surface totale de filtration et au nombre des bactéries par mL dans l'échantillon brut.

5.3.1.3 Résultats des tests de suivi de la croissance bactérienne

Les résultats issus de cette méthode sont reportés sur les Figures 5.8 et 5.9 qui représentent l'évolution de la masse bactérienne en fonction du temps pour les deux expériences.

Pour l'expérience en présence du toluène, nous observons une baisse progressive de la masse bactérienne avec une tendance, en fin de manipe, vers une certaine stabilisation (Figure 5.8). Cette baisse pourrait être imputée au détachement des colonies initialement adhérées à la matrice solide lors de l'injection continue du milieu minéral de base. Quant au "palier" observé, il pourrait être attribué à la "naissance" suivie par un développement du biofilm dans la cellule. En fait, la formation du biofilm en présence du toluène comme seule de carbone et d'énergie est un processus lent qui nécessite un suivi suffisamment long pour identifier les premières colonies observables dans le micromodèle.

Le résultat de l'expérience de croissance bactérienne en milieu riche TSB (Figure 5.9) suggère, en négligeant la première valeur une augmentation de la masse bactérienne en fonction du temps. Négliger la première valeur revient à considérer que, en début d'expérience, les bactéries récupérées en sortie corresponde aux bactéries non adhèrées à la matrice solide et entraînées par l'injection de TSB. A la fin de l'expérience, i.e., après 192 heures de croissance, on note une baisse du nombre des bactéries récupérés. Cette baisse pourrait s'expliquer par un manque d'oxygène (accepteur d'électron) qui affecte considérablement la croissance bactérienne. Pour appuyer ces résultats, nous présentons sur la Figure 5.10 trois photographies de micromodele prises à différents temps où on peut suivre la croissance microbienne (zones marquées en rouge sur les trois photographies). Bien que ces images soient qualitatives, on peut constater une diminution de la transparence du milieu. Notons que ces images correspondent, pour l'heure aux images bruts n'ayant subi aucun processus de post-traitement. Il n'a pas été possible d'observer une baisse de transparence similaire en présence de toluène ce qui confirme un processus de développement beaucoup plus lent.

Nous avons procédés également à l'estimation du nombre des bactéries produites au cours du temps au sein du micromodèle en présence du toluène et en milieu riche TSB. L'objectif étant de confirmer les observations photographiques qui mettent en évidence une forte croissance bactérienne en milieu TSB. Le principe de calcul est basé sur l'estimation de la masse bactérienne produite entre deux instants au sein du micromdèle. Le calcul s'effectue en utilisant la loi classique d'évolution de la biomasse connaissant la quantité initiale des bactéries. Les résultats sont résumés dans les Tableau 5.3 et 5.4 ci-dessous : D'après les résultats des Tableau 5.3 et 5.4, on observe une évolution rapide de la biomasse en milieu riche qu'en présence du toluène après 72 heures de culture. Ce résultat théorique est en concordance avec les observations expérimentaux qui ont mis en exergue cette différence.

TABLE 5.3 – Estimation de la population bactérienne en milieu riche TSB

Expérience en milieu riche TSB ($\mu = 0,6h^{-1}$)		
Temps (heures)	24	72
Nombre des bactéries (cellules/mL)	$5,87 \times 10^{7}$	$1,89 \times 10^{20}$

TABLE 5.4 – Estimation de la population bactérienne en présence du toluène

Expérience en Présence du toluène ($\mu = 0,19h^{-1}$)		
Temps (heures)	24	72
Nombre des bactéries (cellules/mL)	$5,64 \times 10^{7}$	$5,16 \times 10^{11}$

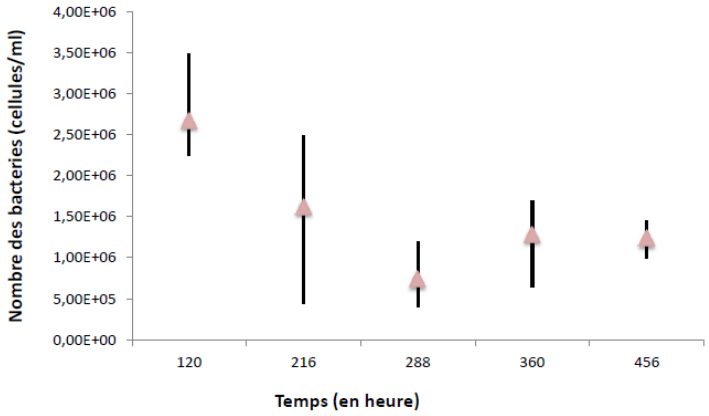

FIGURE 5.8 – Courbe d'évolution de la masse bactérienne (valeur cumulée) en fonction du temps (cas avec toluène)

5.3.1.4 Conclusion partielle et perspectives expérimentales

Les travaux préliminaires ont permis de faire des tests de croissance bactérienne en micromodèle et nous avons mis au point une méthode de dénombrement des bactéries pour suivre cette croissance. Malheureusement le test de croissance bactérienne en présence du toluène comme seule source de carbone et d'énergie n'a pas atteint l'objectif fixé et n'a pas permis de confirmer la formation de biofilm dans le micromodèle. Néanmoins, nous notons une stabilité de la masse bactérienne après quelques heures de culture (Figure 5.8) et ceci est un bon signe pour la suite de nos investigations. En revanche, le suivi de la croissance bactérienne en milieu riche TSB a montré une croissance bactérienne dans le temps observable directement sur le micromodèle. Le résultat de cette expérience a permis également de comparer la masse bactérienne produite au sein de la cellule en présence du toluène et en milieu riche TSB.

A partir de ces tests préliminaires, nous envisageons d'étudier la dissolution du toluène résiduel en présence du biofilm. Pour la formation du biofilm dans la cellule et afin d'accé-

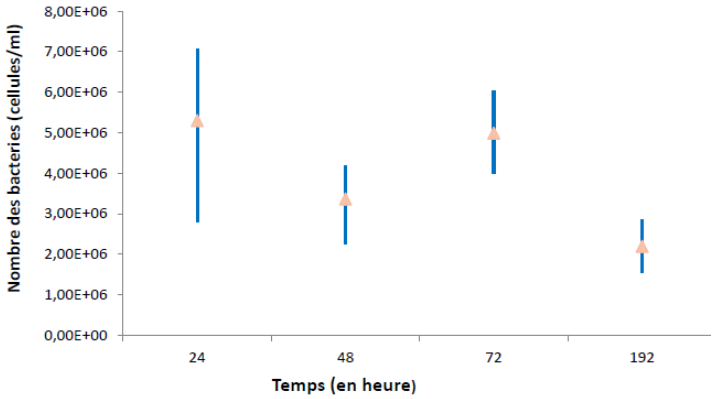

FIGURE 5.9 – Courbe d'évolution de la masse bactérienne (valeur cumulée) en fonction du temps (cas avec le milieu riche TSB)

lérer la phase de développement initial, nous utilisons le milieu riche TSB pour alimenter la croissance bactérienne durant les premières phases. Ce protocole permettra le développement du biofilm dans la cellule pour le démarrage de l'expérience de dissolution du toluène et d'analyser l'impact de cette phase bactérienne sur la cinétique de dissolution.

5.3.2 Étude de la dissolution du toluène résiduel en présence d'une phase biofilm

5.3.2.1 Formation du biofilm dans le milieu poreux

Dans cette partie nous étudions la dissolution du toluène résiduel en présence d'une phase biofilm au sein du micromodèle. Les conditions d'inoculation ainsi que les conditions opératoires sont identiques à l'expérience en présence du toluène décrit précédemment. Après l'étape d'inoculation du micromodèle, nous injectons le milieu riche TSB durant 120 heures pour parfaire la croissance bactérienne. Via l'analyse des images enregistrées par la camera, nous avons pu observer de manière qualitative la formation du biofilm. En fait, les images acquises au cours du temps montrent une colonisation progressive du micromodèle (Figure 5.11) localisée à proximité du toluène. Nous commençons donc les expériences de dissolution à la fin de cette étape en injectant en continu le milieu minéral de base (MBM).

5.3.2.2 Suivi de la dissolution du toluène résiduel

Le suivi de la dissolution du toluène résiduel se fait via l'analyse de la courbe de percée en utilisant la CPG dont le protocole expérimental est détaillé dans le chapitre 4. En parallèle à l'analyse chromatographique, nous avons également suivi de manière qualitative à l'aide d'une caméra (ou appareil photo) la dissolution du toluène résiduel et la variation de la biomasse dans le micromodèle. Une série d'images a ainsi été acquise au cours du temps. Les images présentées sur la Figure 5.12 montrent une dissolution progressive des amas de

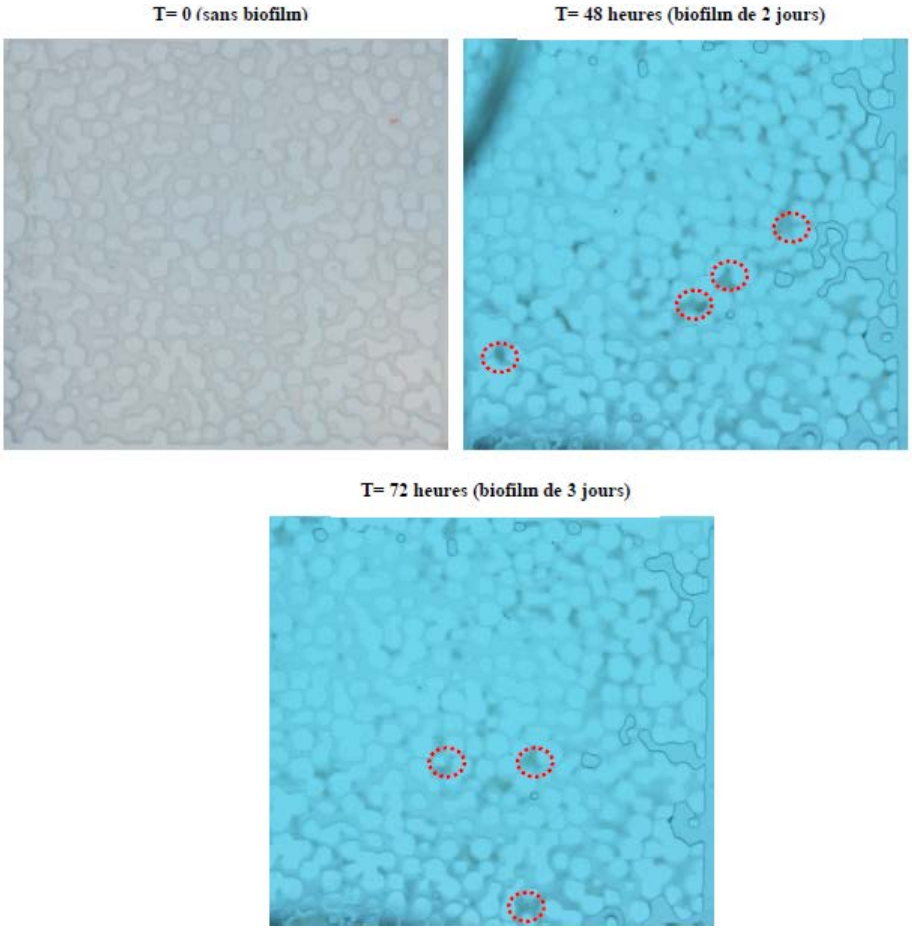

FIGURE 5.10 – Croissance bactérienne dans le micromodèle en milieu riche TSB (à t= 0 ; t= 48 heures ; t=72 heures)

toluène au cours du temps (zones marquées en jaune). En outre, nous constatons aussi un détachement du biofilm de la matrice solide au cours de l'expérience (zones marquées en rouge sur la Figure 5.12). La baisse de la masse bactérienne observée pourrait s'expliquer par la faible bioadhérence du support solide (le verre du micromodèle). Tout au long de l'expérience, nous observons une diminution lente de la transparence du milieu autour des gouttelettes de toluène (zones à proximité de la source) contrairement aux zones loin de la source où l'on constate une baisse rapide de la biomasse (cf Figure **??**). Afin de confirmer cette analyse, des "zooms" ont été effectués au niveau des pores à l'aide de la camera pour observer localement le comportement du système eau/biofilm/toluène. Les images de la cellule avec biofilm après 14 jours de culture sont présentées sur la Figure 5.13. Il faut préciser que ces images représentent l'état final de notre expérience, i.e., l'état après la mort des bactéries (étape post-mortem). Ensuite, la cellule est vidée afin de récupérer la totalité du volume fluide (liquide résiduel) et une caractérisation post-mortem des bactéries en microscopie optique sous epi-fluorescence est menée.

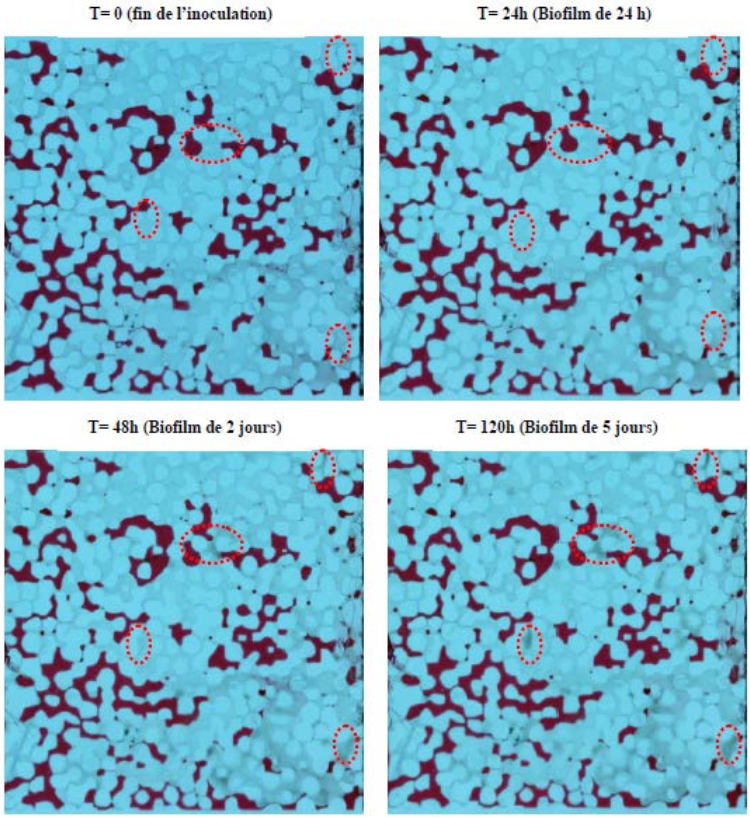

FIGURE 5.11 – Suivi de la croissance bactérienne en milieu riche TSB (les zones entourées indiquent les régions fortement colonisées)

L'analyse des différentes images de la Figure 5.13, laisse envisager la présence des biofilaments développés autour des gouttelettes de toluène ou aux interfaces toluène/air (zones fléchées en rouge). Cette présomption confirmerait ainsi l'hypothèse d'une colonisation plus importante à proximité de la source et serait tout à fait en accord avec les observations de Paulsen et al. [66]. Quant aux zones fléchées en jaune, elles suggèrent une bioaccumulation ou d'un « dépôt bactérien » induit par la croissance bactérienne. La confirmation de cette hypothèse nécessite, bien évidement, une investigation supplémentaire. Malheureusement, les caractéristiques optiques de nos appareils de mesure (camera et microscope AZ100) ne nous ont pas permis de distinguer la nature de biofilm en conditions dites in situ. Néanmoins, une tentative d'observation in-situ en microscopie à fluorescence (Optic Inverted Microscope Olympus IX71) a été effectuée au LCPME mais n'a pas conduit au succès escompté en raison d'une profondeur de champ insuffisante de l'appareil. Bien que ces observations soient qualitatives et moins précises, nous pouvons cependant noter que l'objectif initialement affiché, i.e. : obtention d'images représentatives du système eau/biofilm/toluène, a été globalement atteint.

La seconde étape de notre analyse a porté sur la caractérisation des bactéries présentes dans la cellule à la fin de l'expérience (T=14 jours) par marquage spécifique (fluorochrome

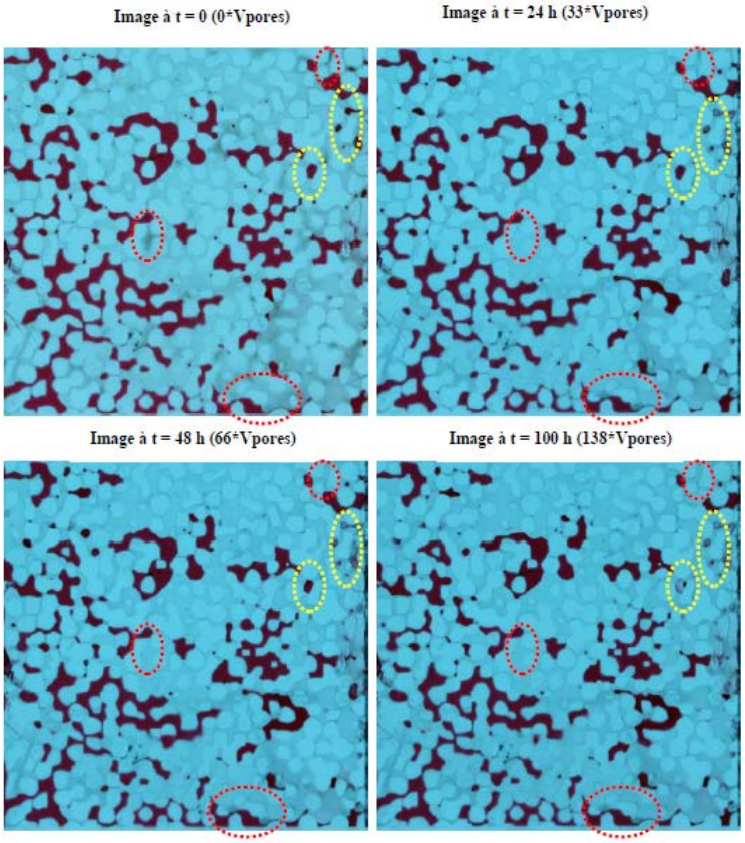

FIGURE 5.12 – Dissolution progressive du toluène résiduel pour Pe=3,5

de type SYBR II). Selon la Figure 5.14, nous constatons globalement le développement d'une même souche (*Pseudomonas putida F1*). Cette affirmation repose, d'une part, sur la morphologie de la population bactérienne observée (images (a') et (b') de la Figure 5.14) et d'autre part, par la comparaison aux résultats préliminaires en milieu riche TSB obtenus précédemment (images (c') et (d') de la Figure 5.14). En outre, la comparaison, en termes de nombre des bactéries, entre les images (a') et (b') (images après 14 jours de culture) et images (c') et (d') (images après 2 jours de culture) conforte l'hypothèse de la croissance bactérienne dans le temps pour l'expérience de dissolution. Cette analyse confirme en première approximation que la nature des amas observés autour des gouttelettes (Figure 5.13) est bien celle d'un biofilm.

5.3.3 Impact de la phase bactérienne sur la dissolution du toluène résiduel : Comparaison des cas biotiques et abiotiques

L'impact de la phase bactérienne sur la dissolution du toluène résiduel est analysé au travers de la comparaison des expériences ($P_e = 3,5$) en condition abiotique détaillé au chapitre 4 avec le cas biotique. Les deux expériences sont réalisées dans les mêmes conditions

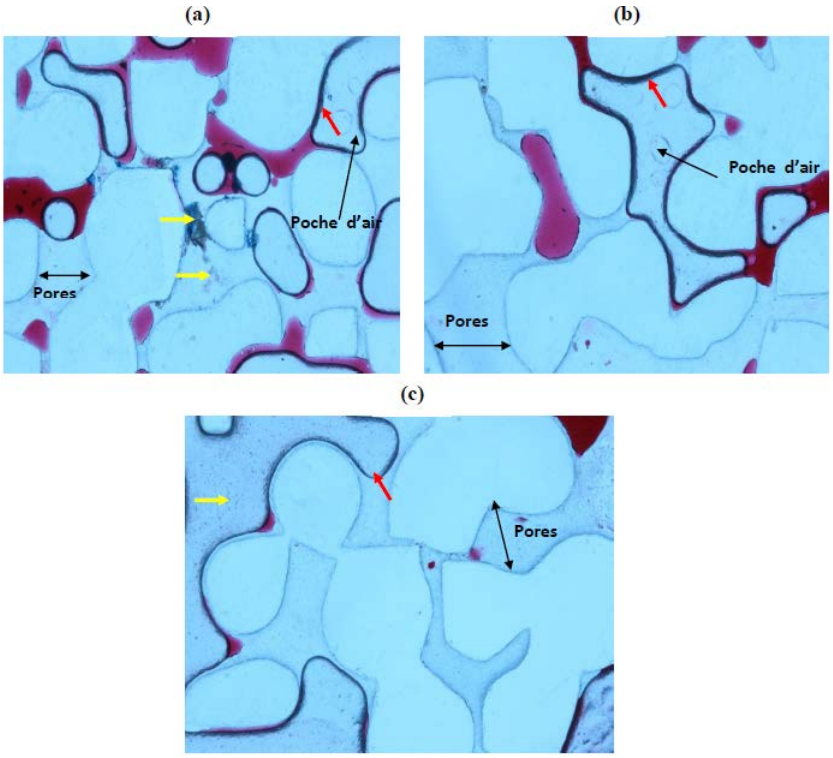

FIGURE 5.13 – Image finale de la cellule après 14 jours de suivi

(analyse et suivi des paramètres, préparation et mise en place du dispositif expérimental, etc) comme détaillé dans le Chapitre 4. Les Figures 5.15 et 5.16 montrent respectivement l'évolution de la saturation résiduelle en toluène dans le micromodèle (en présence ou non des bactéries) et la courbe de percée de dissolution du toluène (en présence ou non des bactéries). Ces courbes permettent d'expliquer les mécanismes spécifiques liés aux deux cas étudiés et de mettre en évidence l'influence de l'activité bactérienne sur la dissolution du toluène. Au vu des résultats obtenus (Figure 5.15 et 5.16), il est bien évident que la croissance bactérienne impacte significativement la dissolution du toluène résiduel. Afin d'analyser la différence entre les deux cas, nous proposons de mettre en évidence l'impact de la phase biofilm selon les trois étapes représentées sur la Figure 5.16.

– Phase d'équilibre (Étape I de 0 à $50V_p$ injectés) : Durant cette phase, le toluène et la phase aqueuse (eau) sont à l'équilibre et une grande quantité de polluant soluble est éliminée. Dans les deux cas (avec et sans bactéries) on observe que la concentration en polluant est proche de sa valeur à l'équilibre et les saturations résiduelles (Figure 5.15) sont quasiment constantes (les gouttelettes de toluène sont peu ou pas dissoutes). La présence de la phase bactérienne semble renforcer et prolonger encore plus cet état d'équilibre entre l'eau et le toluène (environ deux fois plus long que celui observé dans le cas abiotique) comme le montre la Figure 5.16. Cet état de fait pourrait s'expliquer par l'augmentation de la solubilité du toluène à l'interface fluide/biofilm sous l'effet de la production de biosurfactants, générant ainsi un accroissement des

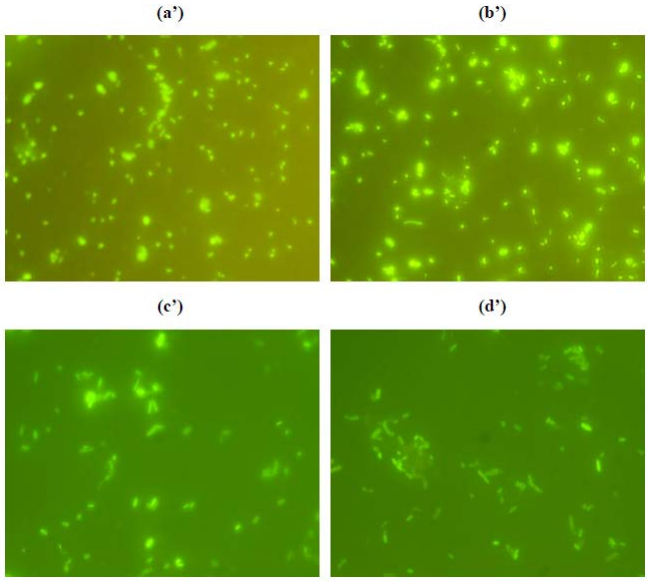

FIGURE 5.14 – Caractérisation post-mortem des bactéries présentes dans la cellule par microscopie à epifluorescence après 14 jours de culture (images (a') et (b')) et après 2 jours de culture en milieu riche TSB (images (c') et d'))

transferts de masse comme nous l'avons montré de manière théorique dans le Chapitre 3 et comme cela a été observé expérimentalement [110, 126]. Toutefois, la souche bactérienne (*P. putida F1*) utilisée dans cette étude n'est pas supposée produire des surfactants. Cependant, même en absence de surfactant, il est bien connu que le coefficient de transfert de masse peut être significativement modifié sous l'effet de mécanismes réactionnels. Yang et McCarty [155] ont observé ce mécanisme dans le cas de la dissolution de DNAPL en présence de bactéries et plusieurs études ont confirmé théoriquement ce processus de dissolution accéléré par les bactéries [33, 87]. En effet, le coefficient de transfert de masse $\alpha_A^{'}$ est un terme global regroupant les effets combinés de l'hydrodynamique, la dispersion, la surface d'échange ainsi que de la diffusion sur le processus de transfert de masse. En présence de réactions à l'interface fluide/NAPL (là où sont localisées préférentiellement les bactéries), les gradients de concentration interfaciaux peuvent être fortement impactés modifiant ainsi l'échelle de longueur caractéristique de la diffusion locale et donc en retour le coefficient d'échange $\alpha_A^{'}$ [87].

– Étape de baisse exponentielle (Étape II de 50 à $150V_p$ injectés) : Cette étape est marquée par une baisse aussi bien de la concentration en toluène (Étape II sur la Figure 5.16) que de la saturation résiduelle (Figure 5.15). L'impact de la phase microbienne est bien visible durant cette phase. Cette étape coïncide probablement avec la phase exponentielle de croissance bactérienne où le métabolisme bactérien nécessite une quantité non-négligeable de substrat. Cette « demande »se traduit inévitablement par une consommation presque instantanée de la concentration en NAPL dissous dans

la phase aqueuse. Le mécanisme de dégradation du toluène par les bactéries prend ici le pas sur l'augmentation du coefficient d'échange évoqué précédemment. En comparant les saturations résiduelles (avec et sans bactéries) présenté sur la Figure 5.15, on note tout d'abord une augmentation de la saturation en toluène pour les deux cas (augmentation plus significative pour le cas abiotique qui passe de 32 à 36%). Cette augmentation de la saturation en toluène est dû à l'effet de remobilisation du toluène piégé dans les réservoirs du micromodèle (présence des zones mortes). On observe également une baisse brutale de la saturation résiduelle pour le cas biotique à $150V/V_p$ dû probablement à une forte remobilisation des gouttelettes de toluène.

– Étape asymptotique (Étape III de 150 à $300V_p$) : La période asymptotique correspond à l'étape durant laquelle la concentration en toluène varie très peu et atteint un état quasiment stationnaire. L'évolution de la concentration en toluène (Figure 5.16) et celle de la saturation résiduelle (Figure 5.15) durant la troisième période de dissolution (Étape 3) confirment ce comportement. L'impact de la phase bactérienne au cours de cette phase devient de plus en plus négligeable. Nous argumentons cela par le fait que le substrat devient de plus en plus difficile à mobiliser compte tenu de la baisse de quantité de toluène dans le milieu forçant ainsi les bactéries présentes à puiser sur leurs réserves internes pour survivre (état stationnaire de croissance bactérienne). Le problème de détachement des bactéries du milieu poreux au cours de la dissolution du toluène signalé précédemment peut aussi expliquer le ralentissement du métabolisme bactérien et donc le faible impact du cas biotique durant cette période.

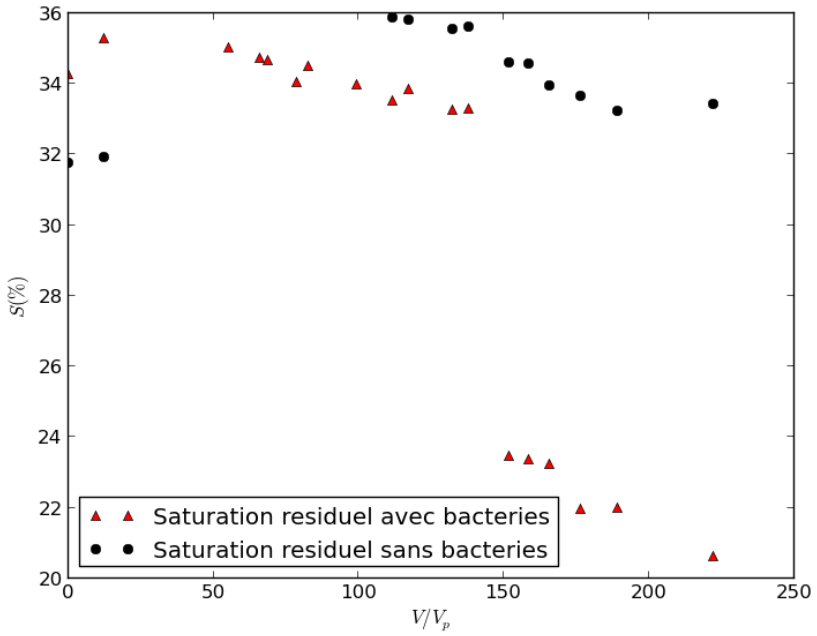

FIGURE 5.15 – Saturation résiduel en toluène : comparaison des cas avec et sans bactéries

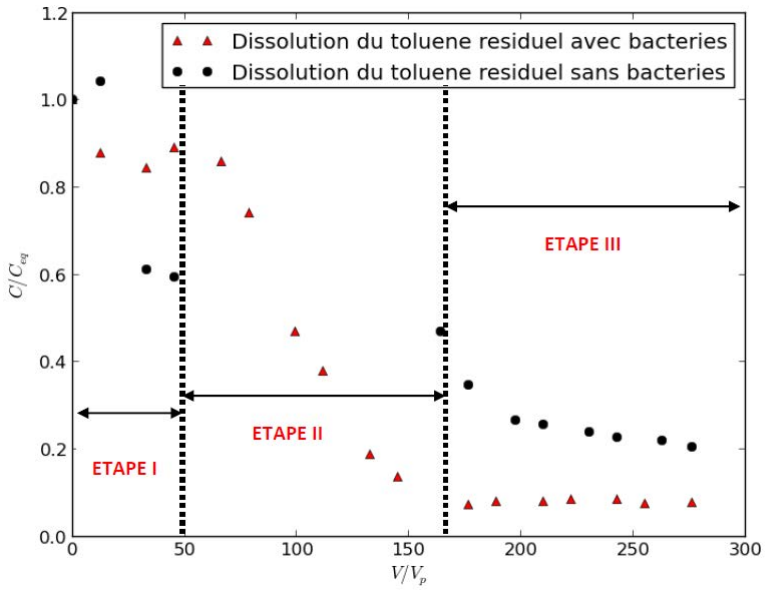

FIGURE 5.16 – Courbe de dissolution du toluène résiduel : comparaison des cas avec et sans bactérie

L'étude comparative du bilan de masse issue des profils de saturation et des courbes de percée (cas biotique) vient renforcer notre analyse. Plus précisément, nous comparons l'évolution du flux de masse dissout au cours du temps obtenu via ces deux méthodes (courbe de percée et évolution de la saturation résiduelle). Le résultat présenté sur la Figure 5.17 montre bien une augmentation du flux de masse dissout issu des gouttelettes de NAPL alors que le flux de masse récupéré en sortie se réduit progressivement. Ceci suggère une augmentation progressive de l'activité bactérienne qui va venir dégrader le toluène durant son temps de résidence au sein du micromodèle.

5.4 Confrontation des résultats expérimentaux et théoriques : cas biotique

Cette dernière partie concerne la comparaison des résultats expérimentaux avec ceux numériques (résultats du modèle théorique). Il s'agit précisément de comparer la courbe de dissolution expérimentale obtenue en condition biotique ($Pe_A = 3,5$) avec la prédiction du modèle macroscopique de transport multiphasique et réactive développé au chapitre 3. Initialement cette comparaison devrait permettre de tester la capacité et les limites de notre modèle ainsi que d'améliorer notre compréhension des mécanismes mis en jeu.

Toutefois, pour parfaire cette comparaison, la détermination des propriétés effectives du milieu bio-réactive est une étape incontournable comme pour le cas abiotique étudié au chapitre 4. Pour le calcul des paramètres effectifs (coefficient d'échange de masse, dispersion effective, termes additionnels), nous n'avons malheureusement pas pu obtenir des images

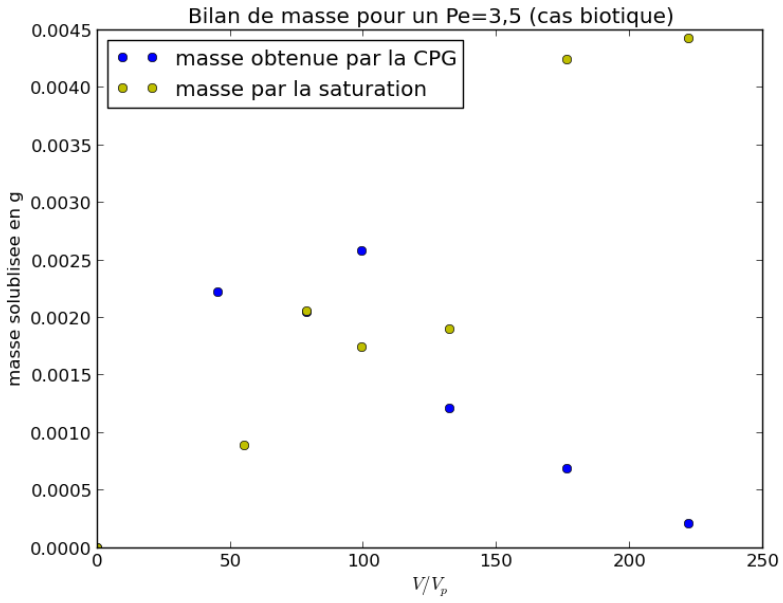

FIGURE 5.17 – Évolution du flux de masse dissous en présence des bactéries : comparaison de deux méthodes de suivi

réelles du système eau/biofilm/toluène nous permettant la construction des géométries réalistes. En effet, le biofilm (ou le biovolume) obtenu lors des expériences n'était pas suffisant pour avoir une image fortement contrastée. De plus, les problèmes liés au détachement du biofilm signalé précédemment ont compliqué l'obtention des informations sur l'évolution de la géométrie du système au cours de la dissolution. Compte tenu de ses raisons, il n'a pas été possible de réaliser une analyse prédictive similaire à celle mené dans le Chapitre 4. Néanmoins, il est toujours possible de conserver le formalisme du modèle numérique macroscopique en calant les valeurs des paramètres effectifs par rapport aux résultats expérimentaux. Nous ajusterons le coefficient d'échange de masse et la concentration bactérienne qui représentent les termes les plus significatifs pour reproduire la courbe de percée obtenue expérimentalement. Cette comparaison visera à :

- Valider la pertinence d'un modèle d'équilibre de masse local fluide/biofilm pour décrire les résultats expérimentaux ;
- Améliorer au travers de cette simulation la compréhension des mécanismes mis en jeu.

5.4.1 Modèle Mathématique

5.4.1.1 Équations du modèle

Le modèle mathématique 1D utilisé est celui développé au chapitre 3 et la différence avec le cas abiotique réside au niveau de la présence du terme réactif. Plusieurs hypothèses seront effectuées pour mener cette modélisation :

1. En absence d'information supplémentaire, la fraction volumique de biomasse sera supposée constante tout au long de l'expérience et fixée arbitrairement à une valeur relativement faible soit $\varepsilon_\omega = 0,05$.
2. Les bactéries ne produisent pas de biosurfactants et les concentrations à l'interface fluide/biofilm sont supposées parfaitement identiques ; en d'autres termes, $k_{\beta\omega}$ (coefficient de partage à l'interface NAPL/biofilm) est égal à 1.
3. Comme dans le chapitre 4 et sur la base des résultats obtenus dans le chapitre 3, le coefficient de dispersion longitudinal ainsi que les termes convectifs non traditionnels $\mathbf{d}_{\beta\omega}$ et $\mathbf{U}_{\beta\omega}$ sont supposés constants et identiques aux valeurs définis pour les conditions abiotiques.
4. La cinétique de réaction est régie par le modèle de Haldane et les paramètres cinétiques macroscopiques ($\mu_{A\omega}$, K_i, $K_{A\omega}$) sont fixés à partir des mesures en batch. Seul la concentration bactérienne (i.e. le nombre de Damköhler en terme adimensionnel) sera calé par rapport à la courbe de percée expérimentale.
5. L'évolution du coefficient de transfert de masse en fonction de la saturation en NAPL n'étant pas connue, celui-ci sera supposé évoluer de manière similaire aux conditions abiotiques à un coefficient multiplicateur près qui sera préalablement calé. Nous avons ainsi :
$$\alpha_{biofilm}(\varepsilon_\omega) = A_\alpha \alpha_{abiotique}(\varepsilon_\omega) \tag{5.4}$$
Avec A_α la constante à caler par rapport aux données expérimentales.

Sur la base de ces hypothèses, les équations du modèle se simplifient sous la forme :

Phase fluide

$$\frac{\partial}{\partial t'}(\varepsilon_\beta + \varepsilon_\omega)\langle c_{A\beta}\rangle' + (\varepsilon_\beta Pe_A - \mathbf{d}'_{\beta\omega} - \mathbf{U}'_{\beta\omega})\frac{\partial \langle c_{A\beta}\rangle'}{\partial x} = \mathbf{D}^{*'}_{\beta\omega}\frac{\partial^2 \langle c_{A\beta}\rangle'}{\partial x^2} + \alpha^{*'}_A(1 - \langle c_{A\beta}\rangle') - F_\lambda D_a \frac{\langle c_{A\beta}\rangle'}{k_{\beta\omega} + \frac{\langle c_{A\beta}\rangle'}{K'_{A\omega}} + \frac{k^{-1}_{\beta\omega}\langle c^2_{A\beta}\rangle'}{K'_{A\omega}K'_i}} \tag{5.5}$$

Phase NAPL

$$\rho'_\gamma \frac{\partial \varepsilon_\gamma}{\partial t'} = -\alpha^{*'}_A(1 - \langle c_{A\beta}\rangle') \tag{5.6}$$

Où :

$$\langle c_{A\beta}\rangle' = \frac{\langle c_{A\beta}\rangle^\beta}{c^{eq}_{A\beta}} \qquad \mathbf{D}^{*'}_{\beta\omega} = \frac{\mathbf{D}^*_{\beta\omega}}{D_{A\beta}} \tag{5.7}$$

$$\mathbf{d}'_{\beta\omega} = \frac{\mathbf{d}_{\beta\omega}L}{D_{A\beta}} \qquad \mathbf{U}'_{\beta\omega} = \frac{\mathbf{U}_{\beta\omega}L}{D_{A\beta}} \qquad \alpha^{*'}_A = \frac{\alpha^*_A L^2}{D_{A\beta}} \qquad t' = \frac{tD_{A\beta}}{L^2} \tag{5.8}$$

$$\rho'_\gamma = \frac{\rho_\gamma}{c^{eq}_{A\beta}} \qquad Da = \varepsilon_\omega \frac{\mu_{A\omega}\rho_\omega L^2}{D_{A\beta}K_{A\omega}} \tag{5.9}$$

5.4.1.2 Conditions aux limites et conditions initiales

Les conditions aux limites sont définies à partir des conditions expérimentales et sont présentées ci-dessous :

- à l'entrée (pour x=0) : $\langle c_{A\beta} \rangle' = 0$
- à la sortie (pour x=L) : $\mathbf{D}^*_{\beta\omega} \frac{\partial \langle c_{A\beta} \rangle'}{\partial x} = 0$,

La mise à l'équilibre entre la phase aqueuse et le toluène conduit aux conditions initiales suivantes :
à t=0 : $\langle c_{A\beta} \rangle' = c^{eq}_{A\beta}$ et $\varepsilon_\gamma = \varepsilon S_{or}$ (S_{or} est la saturation résiduelle initiale et ε la porosité du milieu poreux).
Comme pour le cas abiotique, la saturation résiduelle varie en fonction de x et nous avons obtenu par traitement d'image l'évolution de la fraction volumique de toluène en fonction de la position moyenne x représenté sur la Figure 5.18. Cette variabilité est prise en compte dans la simulation macroscopique (modèle 1D).

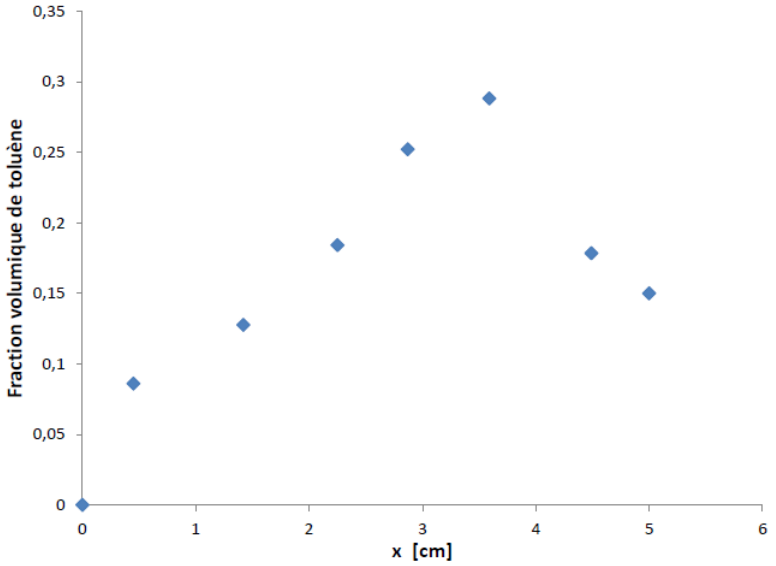

FIGURE 5.18 – Évolution de la fraction volumique du NAPL en fonction de la position moyenne pour un $P_e = 3.5$

5.4.2 Résultats et discussions

La méthode de résolution des equations ainsi que les autres procédures numériques est identique au cas abiotique détaillé au chapitre 4. L'objectif visé par cette comparaison est de quantifier l'effet du transfert de masse et du terme réactif sur la prédiction de la dissolution du toluène résiduel en condition biotique. Les paramètres numériques utilisés pour caler le modèle macroscopique sont résumés dans le Tableau 5.5.

Les résultats montrent une bonne concordance entre le modèle théorique et les résultats expérimentaux en ce qui concerne la courbe de percée (Figure 5.19). On récupère quasiment

TABLE 5.5 – paramètres numériques utilisés pour caler le modèle macroscopique

Paramètres de croissance bactérienne		**Paramètres calés**	
$\mu_{A\omega}$	$0,54$	A_α	10
K_i (mg/cm^3)	$0,40$	$\rho_\omega(mg/cm^3)$	1027
$K_{A\omega}(mg/cm^3)$	$0,029$	–	–
F_λ	2	–	–

la phénoménologie du processus de dissolution observé expérimentalement où l'on distingue bien les trois étapes de dissolution (étape d'équilibre, étape de chute exponentielle et étape asymptotique). Il ressort tout d'abord de cette comparaison qu'une hypothèse d'équilibre local entre les phases fluide et biofilm est pertinente et qu'un modèle basé sur une formalisme de ce type capture parfaitement le comportement expérimental observé. D'autre part, le calibrage des paramètres du modèle requiert (i) une forte augmentation du coefficient de transfert par un facteur 10 et (ii) un nombre de Damköhler suffisamment haut. Comme nous l'avons évoqué précédemment, l'accroissement du transfert de masse ne peut pas s'expliquer par une modification du coefficient de partage à l'interface NAPL/biofilm (les *P. putida F1* ne produisent pas de surfactants) mais par un accroissement des gradients de concentration interfaciaux sous l'effet de la cinétique bactérienne qui favoriserait en retour le coefficient de transfert de masse α_A^*.

5.5 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons étudié la dissolution du toluène résiduel en condition biotique (en présence du biofilm) au sein d'un milieu poreux (micromodèle) saturé. Dans un premier temps, nous avons effectué des études préliminaires (cultures en batch) sur la souche bactérienne (*Pseudomonas putida F1*) afin de caractériser la croissance bactérienne et de tester sa capacité à former un biofilm en présence du toluène. Les résultats de ces études ont permis : (i) de confirmer l'assimilation du toluène par la souche bactérienne *Pseudomonas putida F1*, (ii) de déterminer et d'évaluer la limite de toxicité du substrat sur la souche bactérienne qui est de 200 mg/l de toluène et (iii) de déterminer les paramètres des modèles de croissance. Selon le dernier point, l'interprétation des résultats expérimentaux ont montré que les données de croissance s'ajustent bien au modèle de Monod en dessous du seuil de toxicité. Au-dessus de ce seuil, les données suivent le modèle de Haldane capable de prendre en compte l'effet d'inhibition sur les bactéries. Pour la simulation à l'échelle macroscopique (aquifère, réacteur) de la biodégradation du NAPL, le modèle de Haldane semble le plus approprié et il a constitué le terme de réaction de notre modèle macroscopique détaillé au chapitre 3.

Quant à l'étude de la dissolution du toluène en présence des bactéries à l'aide du micromodèle, elle a commencé par une étape préliminaire dédiée aux tests sur la croissance du biofilm. Les objectifs de ces tests étaient de vérifier les protocoles en batch et de tester leurs conditions d'application au niveau de la cellule. Comme les résultats de ces études n'ont pas

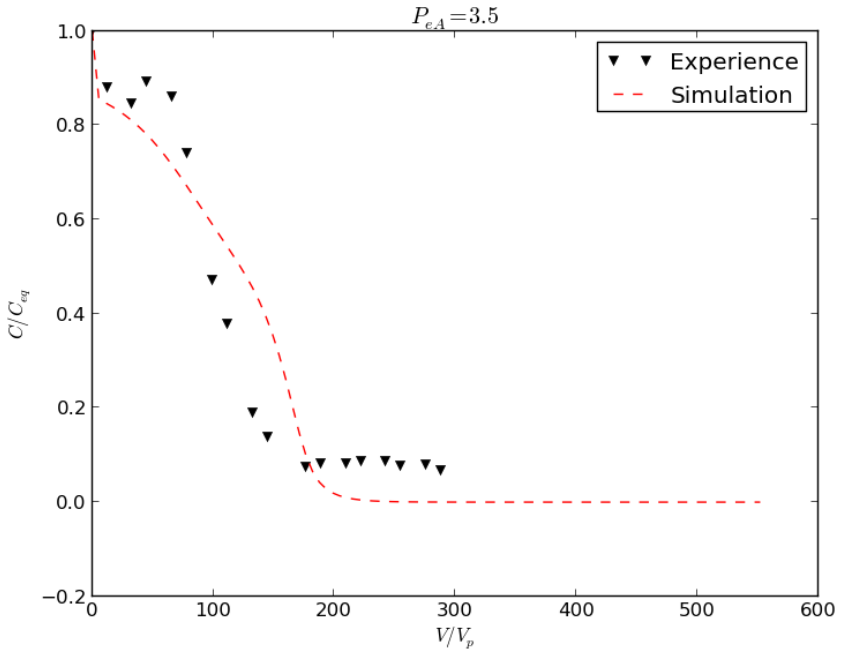

FIGURE 5.19 – Évolution de la concentration en polluant lors de la dissolution du toluène en condition biotique pour un $P_e = 3.5$ (comparaison numérique/expérimental)

permis d'observer une croissance bactérienne suffisante en présence du toluène comme seule de carbone et d'énergie, une solution alternative a été envisagée. Cette solution repose sur la formation d'un biofilm via l'utilisation, avant le début de la dissolution d'un milieu riche TSB. Le résultat a été plus que satisfaisant et il a montré une croissance bactérienne significative et suffisante pour débuter les expériences de dissolution. La dissolution du toluène résiduel a été suivi de la même manière que pour le cas abiotique détaillé au chapitre 4. Les résultats (courbes de percées et évolution de la saturation résiduelle) ont montré un très net impact de la présence de la biomasse sur les processus de dissolution par comparaison au cas sans bactérie étudié précédemment. Nous n'avons toutefois pas pu observer en condition in-situ la croissance bactérienne pour confirmer les hypothèses émises dans l'interprétation des résultats.

La capacité du modèle macroscopique de transport multiphasique et réactif a été testé par comparaison avec les résultats expérimentaux. Le résultat a montré une reproduction satisfaisante de la courbe expérimentale de dissolution du toluène en présence des bactéries ce qui confirme la pertinence d'un modèle d'équilibre local pour les conditions expérimentales étudiées ici. L'analyse croisée des résultats expérimentaux et du modèle numérique souligne l'impact de deux mécanismes liés à la présence des bactéries (i) une augmentation des transferts de masse interfaciaux et (ii) la dégradation du toluène par les bactéries elles-mêmes. Pour une prédiction correcte et proche des phénoménologies expérimentales, néanmoins, il serait nécessaire de calculer les paramètres effectifs à partir des géométries

réalistes prenant en compte la dynamique du système eau/biofilm/toluène (construction des cellules unitaires à partir des images réelles).

Pour quantifier ces hypothèses et donc d'étudier d'avantage l'impact de la phase bactérienne sur les processus de dissolution, des améliorations au niveau expérimental sont possibles. Elles seront détaillées dans les perspectives de la thèse (chapitre 6).

Chapitre 6

Conclusions générales et Perspectives

Dans ce chapitre, nous effectuons un retour sur les points importants de ce travail de thèse, Ensuite une brève revue des possibilités de développements numériques et expérimentaux des outils mise en place sera proposée. Enfin, nous proposons les perspectives à long terme visé par ce travail de recherche.

6.1 Conclusions

La problématique de cette thèse a porté sur l'impact d'une phase bactérienne sur les processus d'écoulement et de transport multiphasique en milieu poreux. On cherche une meilleure compréhension des processus de croissance de biofilm sur la dissolution d'une phase NAPL en milieu poreux. La poursuite de cet objectif a nécessité une approche à la fois numérique et expérimentale. L'approche expérimentale a consisté à l'étude du transport et biodégradation du NAPL en présence des bactéries à l'aide d'un micromodèle. Ce travail expérimental a fait l'objet d'une collaboration avec le Laboratoire Chimie Physique et Microbiologie pour l'Environnement qui a apporté son expertise sur l'aspect microbiologique. L'approche numérique a porté sur le développement d'un modèle macroscopique de transport multiphasique et réactive à l'échelle de Darcy en utilisant la méthode de prise de moyenne volumique qui permet le passage de l'échelle du pore à l'échelle de Darcy. In fine, le modèle développé vise une comparaison avec les données expérimentales.

Le travail de thèse a démarré par le développement théorique du modèle qui décrit le transport et la biodégradation du NAPL en milieu poreux. La modélisation de transport de soluté biologiquement actif en milieu poreux à fait l'objet des nombreux travaux [36, 63, 68, 71, 77, 145, 153]. Ces modèles s'intéressent au transport et biodégradation du polluant loin de la source. Cependant, peu des travaux existent sur l'impact d'une phase bactérienne à proximité de la source de pollution où le polluant (e.g., NAPL) se retrouve souvent piégé, en effet, sous l'action des forces capillaires, sous forme de « gouttelettes ». Une méthode pour résoudre ce problème est de maintenir un couplage explicite entre les informations à l'échelle du pore et les coefficients macroscopiques par un processus de changement d'échelle. Notre travail a consisté à l'extension des résultats théoriques obtenus par Golfier et al. [36], Davit et al. [153] et Orgogozo et al. [77] aux systèmes triphasiques (eau/biofilm/NAPL). L'effort de recherche a été axé principalement sur l'impact de cette phase supplémentaire (phase NAPL) sur les processus de transport et biodégradation plutôt que sur la dynamique de croissance bactérienne elle-même (distribution du biofilm dans le milieu poreux pour les systèmes multiphasiques). Le modèle à deux équations est établit sous les hypothèses d'équilibre de masse local à l'interface fluide-NAPL et les contraintes associées à ces hypothèses ont étés définies. L'évaluation des propriétés effectives a été effectuée au travers différents types de

cellules unitaires 2D réalistes. Les résultats présentés ont confirmé l'impact des processus microbiens sur le coefficient d'échange de masse et le tenseur de dispersion par rapport aux cas abiotiques. Enfin, le domaine de validité du modèle a été établit (en termes de conditions hydrodynamiques et biochimiques de transport, i.e : nombre de Péclet et nombre de Damköhler) par comparaison avec la simulation numérique direct à l'échelle du pore pour la géométrie complexe 2D considérée. Pour des faibles valeurs de Péclet et Damköhler (i.e., condition d'équilibre de masse local), un très bon accord entre ces solutions a été obtenu. Pour des valeurs élevés de Péclet et Damköhler où des gradients de concentration se développent à l'interface biofilm-NAPL, l'erreur relative est de 10% environ. L'extension de ce modèle à des situations de non équilibre local exigerait l'élaboration d'un ensemble de trois équations macroscopiques couplées, avec une équation par phase.

Parallèlement au développement théorique, une étude expérimentale en micromodèle a été mise en place. L'étude expérimentale a démarré par le choix des éléments constituant le dispositif (micromodèle, système d'injection, souche bactérienne, systèmes d'acquisition des données, etc) et par la mise au point de la Chromatographie en Phase Gazeuse (réglage, calibration). La caractérisation de la souche bactérienne au travers des cultures en batch a constitué la première étape de la partie expérimentale. Les résultats des tests en batch ont permis de confirmer l'assimilation du toluène par la souche bactérienne. Ensuite, une étude en micromodèle de la dissolution du toluène en condition abiotique a été conduite à l'aide de deux méthodes de suivi : suivi à la camera (acquisition d'images) et par analyse à la Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG). Les résultats obtenus (courbes d'évolution de la concentration et de la saturation en fonction du temps) pour deux expériences (fort et faible Péclets) montrent clairement l'influence du régime hydrodynamique sur la dissolution et le phénomène de non équilibre augmente avec le nombre de Péclet. Nous avons comparé les résultats de dissolution du toluène en condition abiotiques avec les prédictions du modèle théorique. Les paramètres du modèle théorique (propriétés effectives) sont calculés à partir des géométries réalistes provenant des images réelles du milieu poreux. Les résultats de cette confrontation numérique/expérience montrent que le modèle proposé est capable de décrire avec une précision plus que suffisante la dissolution du NAPL en milieu poreux. Les écarts observés peuvent être attribués au problème d'intrusion d'air survenu au cours de la manipulation. Une étude expérimentale en micromodèle portant sur la dissolution du toluène en condition biotique a clôturé la partie expérimentale de ce travail de thèse. Cette partie a démarré par des tests préliminaires sur la croissance du biofilm. Ces tests préliminaires nous ont permis de vérifier nos protocoles en batch. Après cette étape, un suivi de la dissolution du toluène résiduel en condition biotique a été effectué et les résultats obtenus (courbe de dissolution et évolution de la saturation résiduelle) ont montrés un impact significatif de la présence des bactéries sur les processus de dissolution par comparaison au cas abiotique. Finalement, une comparaison des résultats expérimentaux (cas biotique) avec les simulations numériques (résultats du modèle théorique) a permis de testé la capacité du modèle multiphasique et bio-réactif. Les résultats de cette comparaison ont montré une reproduction satisfaisante de la courbe expérimentale de dissolution et des conclusions intéressantes ont découlés de cette confrontation : (i) une augmentation des transferts de masse interfaciaux liée à la présence des bactéries et (ii) la dégradation du toluène par les bactéries elles-mêmes.

6.2 Perspectives

Un des premiers points à aborder pour améliorer le modèle théorique développé est la prise en compte des phénomènes de non équilibre. En effet, l'hypothèse d'équilibre de masse local appliqué à l'interface fluide-NAPL peut paraitre non physique en présence de forts gradients aux interfaces. Raison pour laquelle, le développement d'un modèle de non équilibre avec une équation par phase s'avère nécessaire. Par la suite ce modèle de non équilibre peut être étendu aux systèmes multi-constituants (plusieurs composants dans la phase NAPL). Dans ces conditions, des améliorations sont à prévoir en ce qui concerne les outils numériques utilisés pour la résolution des problèmes de fermeture (développement des codes numériques supplémentaire par exemple). Il serait aussi intéressant de procéder à l'application des modèles développés sur une géométrie tridimensionnelle (milieu poreux 3D) réaliste, étape intermédiaire avant de passer à une plus grande échelle (réacteur, aquifère).

Pour parfaire l'étude du transport et biodégradation du NAPL à l'aide d'un micromodèle, des améliorations au niveau expérimental sont nécessaires. La formation d'un biofilm au sein du micromodèle avec du NAPL comme seul source de carbone et d'énergie est l'un des premiers points à aborder car il reste encore un défi expérimental majeur. La réussite de ce défi permet de produire continuellement du biofilm dans la cellule et pallier ainsi au phénomène des pertes de biomasse observé actuellement (détachement du biofilm). L'amélioration des outils analytiques sont également à prévoir. En effet, une caractérisation in-situ du système fluide/biofilm/NAPL permet d'obtenir des informations locales (structuration du biofilm par rapport à la phase eau ou NAPL, fragmentation des gouttelettes de NAPL, épaisseur du biofilm autour des grains, etc). Pour ce faire, des techniques avancées de microscopie (microscope confocal à balayage laser par exemple) seront pertinentes pour une meilleure caractérisation du biofilm. Ces observations pourraient être couplées avec des techniques de marquage cellulaire pour la détermination des fractions volumiques du biofilm, informations qui seront nécessaires pour la comparaison avec les résultats du modèle théorique. L'analyse des expériences de dissolution a mis en évidence la présence des zones mortes au sein des réservoirs du micromodèle. Pour réduire l'impact de ces zones mortes sur les mesures chromatographiques, il convient d'optimiser la taille des réservoirs (ou prévoir une solution alternative).

Le travail de doctorat présenté ici s'inscrit dans un large programme de recherche (MOBIOPOR) dont l'objectif visé était la : Modélisation de la biodégradation de polluants en milieu poreux. Le travail restant à faire consiste à coupler le modèle développé dans cette thèse au modèle intégrant l'écoulement, le transport, la croissance bactérienne et la dissolution de NAPL développé par Benioug et al. [82]. Ce couplage permettra de confronter les résultats numériques à ceux obtenus sur des dispositifs de terrain (e.g., lysimètres sur le site expérimental de GISFI).

Annexe A

ANNEXE A

A.1 Dérivation des champs de déviation

Nous déterminons ici les équations de conservation pour le problème de déviation en soustrayant l'Eq.((3.51)) de l'Eq.((3.64)) et l'Eq. ((3.52)) de l'Eq.((3.65)). Nous dérivons les équations de déviation en considérant la décomposition de Gray (Eqs.((3.27) et ((3.28)).

$$\begin{aligned}
&\frac{\partial \tilde{c}_{A\beta}}{\partial t} + v_\beta.\nabla\tilde{c}_{A\beta} + \tilde{v}_\beta.\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^\beta - \varepsilon_\beta^{-1}\nabla.\langle\tilde{v}_\beta\tilde{c}_{A\beta}\rangle = \nabla.(D_{A\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta}) \\
&-\varepsilon_\beta^{-1}\nabla.\left[D_{A\beta}\left(\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}} n_{\beta\omega}\tilde{c}_{A\beta}dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} n_{\beta\gamma}\tilde{c}_{A\beta}dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} n_{\beta\sigma}\tilde{c}_{A\beta}dA\right)\right] \\
&+\frac{\varepsilon_\beta^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} n_{\beta\gamma}.\tilde{c}_{A\beta}(v_\beta - \mathbf{w}_{\beta\gamma})dA + \frac{\varepsilon_\beta^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\omega}} n_{\beta\omega}.\tilde{c}_{A\beta}(v_\beta - \mathbf{w}_{\beta\omega})dA \\
&+\frac{\varepsilon_\beta^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} n_{\beta\sigma}.\tilde{c}_{A\beta}(v_\beta - \mathbf{w}_{\beta\sigma})dA - \frac{\varepsilon_\beta^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} n_{\beta\gamma}.D_{A\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta}dA \\
&-\frac{\varepsilon_\beta^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\omega}} n_{\beta\omega}.D_{A\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta}dA - \frac{\varepsilon_\beta^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} n_{\beta\sigma}.D_{A\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta}dA
\end{aligned} \tag{A.1}$$

$$\begin{aligned}
&\frac{\partial \tilde{c}_{A\omega}}{\partial t} = \nabla.(D_{A\omega}.\nabla\tilde{c}_{A\omega}) \\
&-\varepsilon_\omega^{-1}\nabla.\left[D_{A\omega}.\left(\frac{1}{V}\int_{A_{\omega\beta}} n_{\omega\beta}\tilde{c}_{A\omega}dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\gamma}} n_{\omega\gamma}\tilde{c}_{A\omega}dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\sigma}} n_{\omega\sigma}\tilde{c}_{A\omega}dA\right)\right] \\
&+\frac{\varepsilon_\omega^{-1}}{V}\int_{A_{\omega\gamma}} n_{\omega\gamma}.\tilde{c}_{A\omega}(v_\omega - \mathbf{w}_{\omega\gamma})dA + \frac{\varepsilon_\omega^{-1}}{V}\int_{A_{\omega\beta}} n_{\omega\beta}.\tilde{c}_{A\omega}(v_\omega - \mathbf{w}_{\omega\beta})dA \\
&+\frac{\varepsilon_\omega^{-1}}{V}\int_{A_{\omega\sigma}} n_{\omega\sigma}.\tilde{c}_{A\omega}(v_\omega - \mathbf{w}_{\omega\sigma})dA - \frac{\varepsilon_\omega^{-1}}{V}\int_{A_{\omega\gamma}} n_{\omega\gamma}.D_{A\omega}.\nabla\tilde{c}_{A\omega}dA \\
&-\frac{\varepsilon_\omega^{-1}}{V}\int_{A_{\omega\beta}} n_{\omega\beta}.D_{A\omega}.\nabla\tilde{c}_{A\omega}dA - \frac{\varepsilon_\omega^{-1}}{V}\int_{A_{\omega\sigma}} n_{\omega\sigma}D_{A\omega}\nabla\tilde{c}_{A\omega}dA + (R_{A\omega} - \langle R_{A\omega}\rangle^\omega)
\end{aligned} \tag{A.2}$$

Les champs de déviations spatiales sont évalués en dehors du centroide du volume de prise de moyenne volumique. Nous adoptons les hypothèses suivantes :

$$\varepsilon_\beta^{-1}\nabla.\left(\frac{D_{A\beta}}{V}\int_{A_\beta} n_{\beta\omega}\tilde{c}_{A\beta}dA\right) << \nabla.(D_{A\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta})$$
$$\varepsilon_\omega^{-1}\nabla.\left(\frac{D_{A\omega}}{V}\int_{A_\omega} n_{\omega\beta}\tilde{c}_{A\omega}dA\right) << \nabla.(D_{A\omega}.\nabla\tilde{c}_{A\omega}) \tag{A.3}$$
$$\varepsilon_\beta^{-1}\nabla.\langle\tilde{v}_\beta\tilde{c}_{A\beta}\rangle << \tilde{v}_\beta.\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^\beta \tag{A.4}$$

La déviation correspondant au terme de réaction est négligeable devant le terme de déviation (e.g., Golfier et al. [36]) :

$$(R_{A\omega} - \langle R_{A\omega}\rangle^\omega) << \nabla.(D_{A\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta}) \tag{A.5}$$

Sous ces hypothèses, nous obtenons les equations suivantes pour les deux phases (β et ω) :

$$\begin{aligned}
&\frac{\partial\tilde{c}_{A\beta}}{\partial t} + v_\beta.\nabla\tilde{c}_{A\beta} + \tilde{v}_\beta.\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^\beta = \nabla.(D_{A\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta}) + \frac{\varepsilon_\beta^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} n_{\beta\gamma}.\tilde{c}_{A\beta}(v_\beta - \mathbf{w}_{\beta\gamma})dA\\
&+\frac{\varepsilon_\beta^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\omega}} n_{\beta\omega}.\tilde{c}_{A\beta}(v_\beta - \mathbf{w}_{\beta\omega})dA + \frac{\varepsilon_\beta^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} n_{\beta\sigma}.\tilde{c}_{A\beta}(v_\beta - \mathbf{w}_{\beta\sigma})dA\\
&-\frac{\varepsilon_\beta^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} n_{\beta\gamma}.D_{A\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta}dA - \frac{\varepsilon_\beta^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\omega}} n_{\beta\omega}.D_{A\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta}dA\\
&-\frac{\varepsilon_\beta^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} n_{\beta\sigma}.D_{A\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta}dA
\end{aligned} \tag{A.6}$$

$$\begin{aligned}
&\frac{\partial\tilde{c}_{A\omega}}{\partial t} = \nabla.(D_{A\omega}.\nabla\tilde{c}_{A\omega}) + \frac{\varepsilon_\omega^{-1}}{V}\int_{A_{\omega\gamma}} n_{\omega\gamma}.\tilde{c}_{A\omega}(v_\omega - \mathbf{w}_{\omega\gamma})dA\\
&+\frac{\varepsilon_\omega^{-1}}{V}\int_{A_{\omega\beta}} n_{\omega\beta}.\tilde{c}_{A\omega}(v_\omega - \mathbf{w}_{\omega\beta})dA + \frac{\varepsilon_\omega^{-1}}{V}\int_{A_{\omega\sigma}} n_{\omega\sigma}.\tilde{c}_{A\omega}(v_\omega - \mathbf{w}_{\omega\sigma})dA\\
&-\frac{\varepsilon_\omega^{-1}}{V}\int_{A_{\omega\gamma}} n_{\omega\gamma}.D_{A\omega}.\nabla\tilde{c}_{A\omega}dA - \frac{\varepsilon_\omega^{-1}}{V}\int_{A_{\omega\beta}} n_{\omega\beta}.D_{A\omega}.\nabla\tilde{c}_{A\omega}dA\\
&-\frac{\varepsilon_\omega^{-1}}{V}\int_{A_{\omega\sigma}} n_{\omega\sigma}.D_{A\omega}.\nabla\tilde{c}_{A\omega}dA
\end{aligned} \tag{A.7}$$

Les conditions limites données par les equations les Eqs.(4.6), (4.7), (4.2), (3.8), (3.9) and (3.10) sont nécessaires pour compléter les equations de déviation. Nous utilisons la décomposition spatiale de Gray donnée par les Eqs.(3.27) et (4.2) pour développer les conditions

limites associés au problème de déviation.

$$\text{B.C.1} \quad -\mathbf{n}_{\beta\sigma}.\mathbf{D}_{\mathbf{A}\beta}\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta} = \mathbf{n}_{\beta\sigma}.\mathbf{D}_{\mathbf{A}\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta} \qquad \text{at } A_{\beta\sigma} \tag{A.8}$$

$$\text{B.C.2} \quad -\mathbf{n}_{\omega\sigma}.\mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}.\nabla\langle c_{A\omega}\rangle^{\beta} = \mathbf{n}_{\omega\sigma}.\mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}.\nabla\tilde{c}_{A\omega} \qquad \text{at } A_{\omega\sigma} \tag{A.9}$$

$$\text{B.C.3} \quad \tilde{c}_{A\beta} + \langle c_{A\beta}\rangle^{\beta} = k_{\beta\omega}\tilde{c}_{A\omega} + k_{\beta\omega}\langle c_{A\omega}\rangle^{\omega} \qquad \text{at } A_{\beta\omega} \tag{A.10}$$

$$\begin{aligned}\text{B.C.4} \quad & \mathbf{n}_{\beta\omega}.(\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}(v_{\beta} - \mathbf{w}_{\beta\omega}) - \mathbf{D}_{\mathbf{A}\beta}\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}) + \mathbf{n}_{\beta\omega}.(\tilde{c}_{A\beta}(v_{\beta} - \mathbf{w}_{\beta\omega}) - \mathbf{D}_{\mathbf{A}\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta}) = \\ & \mathbf{n}_{\beta\omega}.(\langle c_{A\omega}\rangle^{\omega}(v_{\omega} - \mathbf{w}_{\omega\beta}) - \mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}.\nabla\langle c_{A\omega}\rangle^{\omega}) + \\ & \mathbf{n}_{\beta\omega}.(\tilde{c}_{A\omega}(v_{\omega} - \mathbf{w}_{\omega\beta}) - \mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}.\nabla\tilde{c}_{A\omega}) \qquad \text{at } A_{\beta\omega}\end{aligned} \tag{A.11}$$

$$\text{B.C.5} \quad \tilde{c}_{A\omega} = c_{A\omega}^{eq} - \langle c_{A\omega}\rangle^{\omega} \qquad \text{at } A_{\omega\gamma} \tag{A.12}$$

$$\text{B.C.6} \quad \tilde{c}_{A\beta} = c_{A\beta}^{eq} - \langle c_{A\beta}\rangle^{\beta} \qquad \text{at } A_{\beta\gamma} \tag{A.13}$$

$$\text{B.C.7} \quad \tilde{c}_{A\beta}(r + l_i) = \tilde{c}_{A\beta}(r), \qquad i = 1, 2, 3 \tag{A.14}$$

$$\text{B.C.8} \quad \tilde{c}_{A\omega}(r + l_i) = \tilde{c}_{A\omega}(r), \qquad i = 1, 2, 3 \tag{A.15}$$

$$\text{B.C.9} \quad \langle \tilde{c}_{A\beta}\rangle^{\beta} = 0 \tag{A.16}$$

$$\text{B.C.10} \quad \langle \tilde{c}_{A\omega}\rangle^{\omega} = 0 \tag{A.17}$$

Le problème de déviation est en général quasi-stationnaire. Nous appliquons les hypothèses suivantes :

$$\frac{\partial\tilde{c}_{A\beta}}{\partial t} << \nabla.(D_{A\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta}) \quad \frac{\partial\tilde{c}_{A\omega}}{\partial t} << \nabla.(D_{A\omega}.\nabla\tilde{c}_{A\omega}) \tag{A.18}$$

En utilisant les hypothèses de quasi-stationnarité et d'équilibre de masse local (Eq.(3.59)), nous obtenons finalement le système d'équation régissant le champ de déviation :

$$\begin{aligned} & v_{\beta}.\nabla\tilde{c}_{A\beta} + \tilde{v}_{\beta}.\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta} = \nabla.(D_{A\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta}) + \frac{\varepsilon_{\beta}^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} n_{\beta\gamma}.\tilde{c}_{A\beta}(v_{\beta} - \mathbf{w}_{\beta\gamma})dA \\ & + \frac{\varepsilon_{\beta}^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\omega}} n_{\beta\omega}.\tilde{c}_{A\beta}(v_{\beta} - \mathbf{w}_{\beta\omega})dA + \frac{\varepsilon_{\beta}^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} n_{\beta\sigma}.\tilde{c}_{A\beta}(v_{\beta} - \mathbf{w}_{\beta\sigma})dA \\ & - \frac{\varepsilon_{\beta}^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} n_{\beta\gamma}.D_{A\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta}dA - \frac{\varepsilon_{\beta}^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\omega}} n_{\beta\omega}.D_{A\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta}dA \\ & - \frac{\varepsilon_{\beta}^{-1}}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} n_{\beta\sigma}.D_{A\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta}dA \end{aligned} \tag{A.19}$$

B.C.1 $$- \mathbf{n}_{\beta\sigma}.\mathbf{D}_{\mathbf{A}\beta}.\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta} = \mathbf{n}_{\beta\sigma}.\mathbf{D}_{\mathbf{A}\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta} \qquad \text{at } A_{\beta\sigma} \tag{A.20}$$

B.C.2 $$- \mathbf{n}_{\omega\sigma}.\mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}k_{\beta\omega}^{-1}.\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta} = \mathbf{n}_{\omega\sigma}.\mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}.\nabla\tilde{c}_{A\omega} \qquad \text{at } A_{\omega\sigma} \tag{A.21}$$

B.C.3 $$\tilde{c}_{A\beta} = k_{\beta\omega}\tilde{c}_{A\omega} \qquad \text{at } A_{\beta\omega} \tag{A.22}$$

B.C.4 $$\mathbf{n}_{\beta\omega}.((v_\beta - \mathbf{w}_{\beta\omega}) - k_{\beta\omega}^{-1}(v_\omega - \mathbf{w}_{\omega\beta}))\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta} + \mathbf{n}_{\beta\omega}.(\tilde{c}_{A\beta}(v_\beta - \mathbf{w}_{\beta\omega}) - \mathbf{D}_{\mathbf{A}\beta}\nabla\tilde{c}_{A\beta}) = \mathbf{n}_{\beta\omega}.(\mathbf{D}_{\mathbf{A}\beta}\mathbf{I} - k_{\beta\omega}^{-1}D_{A\omega}).\nabla\langle c_{A\beta}\rangle^{\beta} + \mathbf{n}_{\beta\omega}.(\tilde{c}_{A\omega}(v_\omega - \mathbf{w}_{\omega\beta}) - \mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}.\nabla\tilde{c}_{A\omega}) \qquad \text{at } A_{\beta\omega} \tag{A.23}$$

B.C.5 $$\tilde{c}_{A\omega} = k_{\beta\omega}^{-1}(c_{A\beta}^{eq} - \langle c_{A\beta}\rangle^{\beta}) \qquad \text{at } A_{\omega\gamma} \tag{A.24}$$

B.C.6 $$\tilde{c}_{A\beta} = c_{A\beta}^{eq} - \langle c_{A\beta}\rangle^{\beta} \qquad \text{at } A_{\beta\gamma} \tag{A.25}$$

B.C.7 $$\tilde{c}_{A\beta}(r + l_i) = \tilde{c}_{A\beta}(r), \qquad i = 1, 2, 3 \tag{A.26}$$

B.C.8 $$\tilde{c}_{A\omega}(r + l_i) = \tilde{c}_{A\omega}(r), \qquad i = 1, 2, 3 \tag{A.27}$$

B.C.9 $$\langle \tilde{c}_{A\beta}\rangle^{\beta} = 0 \tag{A.28}$$

B.C.10 $$\langle \tilde{c}_{A\omega}\rangle^{\omega} = 0 \tag{A.29}$$

$$\begin{aligned}\nabla.(D_{A\omega}.\nabla\tilde{c}_{A\omega}) = {} & \frac{\varepsilon_\omega^{-1}}{V}\int_{A_{\omega\gamma}} n_{\omega\gamma}.\tilde{c}_{A\omega}(v_\omega - \mathbf{w}_{\omega\gamma})dA + \frac{\varepsilon_\omega^{-1}}{V}\int_{A_{\omega\beta}} n_{\omega\beta}.\tilde{c}_{A\omega}(v_\omega - \mathbf{w}_{\omega\beta})dA \\ & + \frac{\varepsilon_\omega^{-1}}{V}\int_{A_{\omega\sigma}} n_{\omega\sigma}.\tilde{c}_{A\omega}(v_\omega - \mathbf{w}_{\omega\sigma})dA - \frac{\varepsilon_\omega^{-1}}{V}\int_{A_{\omega\gamma}} n_{\omega\gamma}.D_{A\omega}.\nabla\tilde{c}_{A\omega}dA \\ & - \frac{\varepsilon_\omega^{-1}}{V}\int_{A_{\omega\beta}} n_{\omega\beta}.D_{A\omega}.\nabla\tilde{c}_{A\omega}dA - \frac{\varepsilon_\omega^{-1}}{V}\int_{A_{\omega\sigma}} n_{\omega\sigma}.D_{A\omega}.\nabla\tilde{c}_{A\omega}dA\end{aligned} \tag{A.30}$$

ANNEXE B

B.1 Développement des problèmes de fermeture

Les concentrations de déviation données par les Eqs.(A.19) and (A.30) conduisent aux problèmes de fermeture.
Le problème de fermeture vectoriel (variables b_β et b_ω) est donné par :

Problème I

$$\beta\textbf{-phase}: \quad v_\beta.\nabla b_\beta + \tilde{v}_\beta = \nabla.(D_{A\beta}\nabla b_\beta) + \varepsilon_\beta^{-1}\mathbf{U}_\beta \tag{B.1}$$

$$\text{B.C.1} \quad -n_{\beta\sigma}.\nabla b_\beta = n_{\beta\sigma} \qquad \text{at } A_{\beta\sigma} \tag{B.2}$$

$$\text{B.C.2} \quad -n_{\omega\sigma}.\nabla b_\omega = n_{\omega\sigma} \qquad \text{at } A_{\omega\sigma} \tag{B.3}$$

$$\text{B.C.3} \quad b_\beta = b_\omega \qquad \text{at } A_{\beta\omega} \tag{B.4}$$

$$\begin{aligned}\text{B.C.4} \quad & \mathbf{n}_{\beta\omega}.(b_\beta(v_\beta - \mathbf{w}_{\beta\omega}) - \mathbf{D}_{\mathbf{A}\beta}\nabla b_\beta) = \mathbf{n}_{\beta\omega}.(\mathbf{D}_{\mathbf{A}\beta}\mathbf{I} - k_{\beta\omega}^{-1}D_{A\omega}) \\ & + \mathbf{n}_{\beta\omega}.(k_{\beta\omega}^{-1}b_\omega(v_\omega - \mathbf{w}_{\omega\beta}) - \mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}k_{\beta\omega}^{-1}\nabla b_\omega) \qquad \text{at } A_{\beta\omega}\end{aligned} \tag{B.5}$$

$$\text{B.C.5} \quad b_\beta = 0 \qquad \text{at } A_{\beta\gamma} \tag{B.6}$$

$$\text{B.C.6} \quad b_\omega = 0 \qquad \text{at } A_{\omega\gamma} \tag{B.7}$$

$$\text{B.C.7} \quad b_\beta(r + l_i) = b_\beta(r), i = 1,2,3 \qquad i = 1,2,3 \tag{B.8}$$

$$\text{B.C.8} \quad b_\omega(r + l_i) = b_\omega(r), i = 1,2,3 \qquad i = 1,2,3 \tag{B.9}$$

$$\text{B.C.9} \quad \langle b_\beta\rangle^\beta = 0 \qquad \text{at } A_{\beta e} \tag{B.10}$$

$$\text{B.C.10} \quad \langle b_\omega\rangle^\omega = 0 \qquad \text{at } A_{\omega e} \tag{B.11}$$

$$\omega\textbf{-phase}: \quad \nabla.(D_{A\omega}.\nabla b_\omega) = \varepsilon_\omega^{-1}\mathbf{U}_\omega \tag{B.12}$$

$$\begin{aligned}\mathbf{U}_\beta = & \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} n_{\beta\gamma}.b_\beta(v_\beta - \mathbf{w}_{\beta\gamma})dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}} n_{\beta\omega}.b_\beta(v_\beta - \mathbf{w}_{\beta\omega})dA \\ & + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} n_{\beta\sigma}.b_\beta(v_\beta - \mathbf{w}_{\beta\sigma})dA - \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} n_{\beta\gamma}.D_{A\beta}\nabla b_\beta dA \\ & - \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}} n_{\beta\omega}.D_{A\beta}\nabla b_\beta dA - \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} n_{\beta\sigma}.D_{A\beta}\nabla b_\beta dA\end{aligned} \tag{B.13}$$

$$\mathbf{U}_\omega = \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\gamma}} n_{\omega\gamma}.b_\omega(v_\omega - \mathbf{w}_{\omega\gamma})dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\beta}} n_{\omega\beta}.b_\omega(v_\omega - \mathbf{w}_{\omega\beta})dA$$
$$+\frac{1}{V}\int_{A_{\omega\sigma}} n_{\omega\sigma}.b_\omega(v_\omega - \mathbf{w}_{\omega\sigma})dA - \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\gamma}} n_{\omega\gamma}.D_{A\omega}.\nabla b_\omega dA$$
$$-\frac{1}{V}\int_{A_{\omega\beta}} n_{\omega\beta}.D_{A\omega}.\nabla b_\omega dA - \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\sigma}} n_{\omega\sigma}.D_{A\omega}.\nabla b_\omega dA \tag{B.14}$$

Le problème de fermeture scalaire (variables s_β et s_ω) est donné par :

Problem II

$$\beta\textbf{-phase}: \quad v_\beta.\nabla s_\beta = \nabla.(D_{A\beta}\nabla s_\beta) + \varepsilon_\beta^{-1}\mathbf{S}_\beta \tag{B.15}$$
$$\text{B.C.1} \quad -n_{\beta\sigma}.\nabla s_\beta = 0 \qquad \text{at } A_{\beta\sigma} \tag{B.16}$$
$$\text{B.C.2} \quad -n_{\omega\sigma}.\nabla s_\omega = 0 \qquad \text{at } A_{\omega\sigma} \tag{B.17}$$
$$\text{B.C.3} \quad s_\beta = s_\omega \qquad \text{at } A_{\beta\omega} \tag{B.18}$$
$$\text{B.C.4} \quad \mathbf{n}_{\beta\omega}.(((v_\beta - \mathbf{w}_{\beta\omega}) - k_{\beta\omega}^{-1}(v_\omega - \mathbf{w}_{\omega\beta}))\langle c_{A\beta}\rangle^\beta +$$
$$\mathbf{n}_{\beta\omega}.(s_\beta(c_{A\beta}^{eq} - \langle c_{A\beta}\rangle^\beta)(v_\beta - \mathbf{w}_{\beta\omega}) - \mathbf{D}_{\mathbf{A}\beta}\nabla s_\beta) =$$
$$\mathbf{n}_{\beta\omega}.(s_\omega k_{\beta\omega}^{-1}(c_{A\beta}^{eq} - \langle c_{A\beta}\rangle^\beta)(v_\omega - \mathbf{w}_{\omega\beta}) - \mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}k_{\beta\omega}^{-1}\nabla s_\omega) \qquad \text{at } A_{\beta\omega} \tag{B.19}$$
$$\text{B.C.5} \quad s_\beta = 1 \qquad \text{at } A_{\beta\gamma} \tag{B.20}$$
$$\text{B.C.6} \quad s_\omega = 1 \qquad \text{at } A_{\omega\gamma} \tag{B.21}$$
$$\text{B.C.7} \quad s_\beta(r + l_i) = s_\beta(r), i = 1,2,3 \qquad i = 1,2,3 \tag{B.22}$$
$$\text{B.C.8} \quad s_\omega(r + l_i) = s_\omega(r), i = 1,2,3 \qquad i = 1,2,3 \tag{B.23}$$
$$\text{B.C.9} \quad \langle s_\beta\rangle^\beta = 0 \tag{B.24}$$
$$\text{B.C.10} \quad \langle s_\omega\rangle^\omega = 0 \tag{B.25}$$
$$\omega\textbf{-phase}: \quad \nabla.(D_{A\omega}.\nabla s_\omega) = \varepsilon_\omega^{-1}\mathbf{S}_\omega \tag{B.26}$$

$$\mathbf{S}_\beta = \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} n_{\beta\gamma}.s_\beta(v_\beta - \mathbf{w}_{\beta\gamma})dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}} n_{\beta\omega}.s_\beta(v_\beta - \mathbf{w}_{\beta\omega})dA$$
$$+\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} n_{\beta\sigma}.s_\beta(v_\beta - \mathbf{w}_{\beta\sigma})dA - \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} n_{\beta\gamma}D_{A\beta}.\nabla s_\beta dA$$
$$-\frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}} n_{\beta\omega}D_{A\beta}.\nabla s_\beta dA - \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} n_{\beta\sigma}D_{A\beta}.\nabla s_\beta dA \tag{B.27}$$

$$\mathbf{S}_\omega = \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\gamma}} n_{\omega\gamma}.s_\omega(v_\omega - \mathbf{w}_{\omega\gamma})dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\beta}} n_{\omega\beta}.s_\omega(v_\omega - \mathbf{w}_{\omega\beta})dA$$
$$+\frac{1}{V}\int_{A_{\omega\sigma}} n_{\omega\sigma}.s_\omega(v_\omega - \mathbf{w}_{\omega\sigma})dA - \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\gamma}} n_{\omega\gamma}.D_{A\omega}.\nabla s_\omega dA$$
$$-\frac{1}{V}\int_{A_{\omega\beta}} n_{\omega\beta}.D_{A\omega}.\nabla s_\omega dA - \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\sigma}} n_{\omega\sigma}.D_{A\omega}.\nabla s_\omega dA \tag{B.28}$$

Pour la simplification des problèmes de fermeture, nous négligeons les termes de flux ($v_\beta - \mathbf{w}_{\beta\omega}$) devant les flux de diffusion. Par exemple, la condition limite C.L.4 (Eq.(B.5)) du premier problème de fermeture devient :

$$-\mathbf{n}_{\beta\omega}.\mathbf{D}_{\mathbf{A}\beta}\nabla b_\beta = \mathbf{n}_{\beta\omega}.(\mathbf{D}_{\mathbf{A}\beta}\mathbf{I} - k_{\beta\omega}^{-1}D_{A\omega}) - \mathbf{n}_{\beta\omega}.\mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}.k_{\beta\omega}^{-1}\nabla b_\omega \tag{B.29}$$

Sous l'hypothèse précédente, les problèmes de fermeture deviennent :

Problème I

$$\beta\textbf{-phase}: \quad v_\beta.\nabla b_\beta + \tilde{v}_\beta = \nabla.(D_{A\beta}\nabla b_\beta) + \varepsilon_\beta^{-1}\mathbf{U}_\beta \tag{B.30}$$

$$\text{B.C.1} \quad -n_{\beta\sigma}.\nabla b_\beta = n_{\beta\sigma} \quad \text{at } A_{\beta\sigma} \tag{B.31}$$

$$\text{B.C.2} \quad -n_{\omega\sigma}.\nabla b_\omega = n_{\omega\sigma} \quad \text{at } A_{\omega\sigma} \tag{B.32}$$

$$\text{B.C.3} \quad b_\beta = b_\omega \quad \text{at } A_{\beta\omega} \tag{B.33}$$

$$\text{B.C.4} \quad -\mathbf{n}_{\beta\omega}.\mathbf{D}_{\mathbf{A}\beta}\nabla b_\beta = \mathbf{n}_{\beta\omega}.(\mathbf{D}_{\mathbf{A}\beta}\mathbf{I} - k_{\beta\omega}^{-1}D_{A\omega}) - \mathbf{n}_{\beta\omega}.\mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}.k_{\beta\omega}^{-1}\nabla b_\omega \quad \text{at } A_{\beta\omega} \tag{B.34}$$

$$\text{B.C.5} \quad b_\beta = 0 \quad \text{at } A_{\beta\gamma} \tag{B.35}$$

$$\text{B.C.6} \quad b_\omega = 0 \quad \text{at } A_{\omega\gamma} \tag{B.36}$$

$$\text{B.C.7} \quad b_\beta(r + l_i) = b_\beta(r), i = 1, 2, 3 \qquad i = 1, 2, 3 \tag{B.37}$$

$$\text{B.C.8} \quad b_\omega(r + l_i) = b_\omega(r), i = 1, 2, 3 \qquad i = 1, 2, 3 \tag{B.38}$$

$$\text{B.C.9} \quad \langle b_\beta \rangle^\beta = 0 \quad \text{at } A_{\beta e} \tag{B.39}$$

$$\text{B.C.10} \quad \langle b_\omega \rangle^\omega = 0 \quad \text{at } A_{\omega e} \tag{B.40}$$

$$\omega\textbf{-phase}: \quad \nabla.(D_{A\omega}\nabla b_\omega) = \varepsilon_\omega^{-1}\mathbf{U}_\omega \tag{B.41}$$

$$\mathbf{U}_\beta = \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} n_{\beta\gamma}.D_{A\beta}\nabla b_\beta dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}} n_{\beta\omega}.D_{A\beta}\nabla b_\beta dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} n_{\beta\sigma}.D_{A\beta}\nabla b_\beta dA \tag{B.42}$$

$$\mathbf{U}_\omega = \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\gamma}} n_{\omega\gamma}.D_{A\omega}.\nabla b_\omega dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\beta}} n_{\omega\beta}.D_{A\omega}.\nabla b_\omega dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\sigma}} n_{\omega\sigma}.D_{A\omega}.\nabla b_\omega dA \tag{B.43}$$

Problème II

$$\beta\textbf{-phase}: \quad v_\beta.\nabla s_\beta = \nabla.(D_{A\beta}\nabla s_\beta) + \varepsilon_\beta^{-1}\mathbf{S}_\beta \tag{B.44}$$

$$\text{B.C.1} \quad -n_{\beta\sigma}.\nabla s_\beta = 0 \qquad \text{at } A_{\beta\sigma} \tag{B.45}$$

$$\text{B.C.2} \quad -n_{\omega\sigma}.\nabla s_\omega = 0 \qquad \text{at } A_{\omega\sigma} \tag{B.46}$$

$$\text{B.C.3} \quad s_\beta = s_\omega \qquad \text{at } A_{\beta\omega} \tag{B.47}$$

$$\text{B.C.4} \quad -\mathbf{n}_{\beta\omega}.\mathbf{D}_{\mathbf{A}\beta}\nabla s_\beta = -\mathbf{n}_{\beta\omega}.k_{\beta\omega}^{-1}\mathbf{D}_{\mathbf{A}\omega}.\nabla s_\omega \qquad \text{at } A_{\beta\omega} \tag{B.48}$$

$$\text{B.C.5} \quad s_\beta = 1 \qquad \text{at } A_{\beta\gamma} \tag{B.49}$$

$$\text{B.C.6} \quad s_\omega = 1 \qquad \text{at } A_{\omega\gamma} \tag{B.50}$$

$$\text{B.C.7} \quad s_\beta(r+l_i) = s_\beta(r), i = 1,2,3 \qquad i = 1,2,3 \tag{B.51}$$

$$\text{B.C.8} \quad s_\omega(r+l_i) = s_\omega(r), i = 1,2,3 \qquad i = 1,2,3 \tag{B.52}$$

$$\text{B.C.9} \quad \langle s_\beta \rangle^\beta = 0 \tag{B.53}$$

$$\text{B.C.10} \quad \langle s_\omega \rangle^\omega = 0 \tag{B.54}$$

$$\omega\textbf{-phase}: \quad \nabla.(D_{A\omega}.\nabla s_\omega) = \varepsilon_\omega^{-1}\mathbf{S}_\omega \tag{B.55}$$

$$\mathbf{S}_\beta = \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} n_{\beta\gamma}.D_{A\beta}\nabla s_\beta dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}} n_{\beta\omega}.D_{A\beta}\nabla s_\beta dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} n_{\beta\sigma}.D_{A\beta}\nabla s_\beta dA \tag{B.56}$$

$$\mathbf{S}_\omega = \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\gamma}} n_{\omega\gamma.}D_{A\omega}.\nabla s_\omega dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\beta}} n_{\omega\beta}.D_{A\omega}.\nabla s_\omega dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\sigma}} n_{\omega\sigma}.D_{A\omega}.\nabla s_\omega dA \tag{B.57}$$

ANNEXE C

C.1 Validation analytique des problèmes de fermeture associés au modèle à deux equations

Le premier problème de fermeture vectoriel est donné par les equations suivantes :
Problème I
phase fluide

$$0 = \nabla^2 \mathbf{b}'_\beta - \varepsilon_\beta^{-1} \mathbf{U}'_\beta \tag{C.1}$$

phase Biofilm

$$\mathbf{D_\Gamma} \nabla^2 \mathbf{b}'_\omega = \mathbf{D_\Gamma} \varepsilon_\omega^{-1} \mathbf{U}'_\omega \tag{C.2}$$

$$\mathbf{U}'_\beta = \frac{1}{V} \int_{A_{\beta\gamma}} n_{\beta\gamma} \nabla b'_\beta dA + \frac{1}{V} \int_{A_{\beta\omega}} n_{\beta\omega} \nabla b'_\beta dA + \frac{1}{V} \int_{A_{\beta\sigma}} n_{\beta\sigma} \nabla b'_\beta dA$$

$$\mathbf{U}'_\omega = \frac{1}{V} \int_{A_{\omega\gamma}} n_{\omega\gamma} \nabla b'_\omega dA + \frac{1}{V} \int_{A_{\omega\beta}} n_{\omega\beta} \nabla b'_\omega dA + \frac{1}{V} \int_{A_{\omega\sigma}} n_{\omega\sigma} \nabla b'_\omega dA$$

CL1 : $-n_{\beta\sigma} \nabla \mathbf{b}'_\beta = n_{\beta\sigma}$ sur $A_{\beta\sigma}$

CL2 : $\mathbf{b}'_\beta = \mathbf{b}'_\omega$ sur $A_{\beta\omega}$

CL3 : $-\mathbf{n}_{\beta\omega} \nabla \mathbf{b}'_\omega = -\mathbf{n}_{\beta\omega} \nabla \mathbf{b}'_\beta$ sur $A_{\beta\omega}$

CL4 : $\mathbf{b}'_\omega = 0$ sur $A_{\omega\gamma}$

CL5 : $\mathbf{b}'_\beta(r + l_i) = \mathbf{b}'_\beta(r), i = 1, 2, 3$ sur $A_{\beta e}$

CL6 : $\mathbf{b}'_\omega(r + l_i) = \mathbf{b}'_\omega(r), i = 1, 2, 3$ sur $A_{\omega e}$

CL7 : $\langle \mathbf{b}'_\beta \rangle^\beta = 0$

CL8 : $\langle \mathbf{b}'_\omega \rangle^\omega = 0$

Le deuxième problème de fermeture scalaire est donné par :

Problème II
Problème II
phase fluide

$$0 = \nabla^2 \mathbf{s}_\beta - \varepsilon_\beta^{-1} \mathbf{S}_\beta \tag{C.3}$$

phase Biofilm

$$\mathbf{D_\Gamma} \nabla^2 \mathbf{s}_\omega = \mathbf{D_\Gamma} \varepsilon_\omega^{-1} \mathbf{S}_\omega \tag{C.4}$$

$$\mathbf{S}_\beta = \frac{1}{V} \int_{A_{\beta\gamma}} n_{\beta\gamma} \nabla s_\beta dA + \frac{1}{V} \int_{A_{\beta\omega}} n_{\beta\omega} \nabla s_\beta dA + \frac{1}{V} \int_{A_{\beta\sigma}} n_{\beta\sigma} \nabla s_\beta dA$$

$$\mathbf{S}_\omega = \frac{1}{V} \int_{A_{\omega\gamma}} n_{\omega\gamma} \nabla s_\omega dA + \frac{1}{V} \int_{A_{\omega\beta}} n_{\omega\beta} \nabla s_\omega dA + \frac{1}{V} \int_{A_{\omega\sigma}} n_{\omega\sigma} \nabla s_\omega dA$$

CL1 : $-n_{\beta\sigma} \nabla s_\beta = 0 \qquad \text{sur } A_{\beta\sigma}$

CL2 $s_\beta = s_\omega \qquad \text{sur } A_{\beta\omega}$

CL3 $-\mathbf{n}_{\beta\omega} \nabla s_\beta = -\mathbf{n}_{\beta\omega} \nabla s_\omega \qquad \text{sur } A_{\beta\omega}$

CL4 : $s_\omega = 1 \qquad \text{sur } A_{\omega\gamma}$

CL5 : $s_\beta(r + l_i) = s_\beta(r), i = 1, 2, 3 \qquad \text{sur } A_{\beta e}$

CL6 : $s_\omega(r + l_i) = s_\omega(r), i = 1, 2, 3 \qquad \text{sur } A_{\beta e}$

CL7 : $\langle s_\beta \rangle^\beta = 0$

CL8 : $\langle s_\omega \rangle^\omega = 0$

Pour la configuration stratifiée considéré, la composante x du vecteur de fermeture est nulle et en plus le vecteur de fermeture ne dépend que de la composante y du fait de l'invariance de la configuration le long de l'axe x.
Problème I
phase fluide

$$\frac{d^2 \mathbf{b}_\beta^{'}}{dy^2} = \varepsilon_\beta^{-1} \mathbf{c}_{\beta\gamma} = a \tag{C.5}$$

phase Biofilm

$$\frac{d^2 \mathbf{b}_\omega^{'}}{dy^2} = \varepsilon_\omega^{-1} \mathbf{c}_{\omega\gamma} = b \tag{C.6}$$

CL1 : $\frac{d\mathbf{b}_\beta^{'}}{dy} = -1 \qquad \text{en } y = y_{\beta\sigma} = 0$

CL2 : $\mathbf{b}_\beta^{'} = \mathbf{b}_\omega^{'} \qquad \text{en } y = y_{\beta\omega} = 1/4$

CL3 : $\frac{d\mathbf{b}_\beta^{'}}{dy} = \frac{d\mathbf{b}_\omega^{'}}{dy} \qquad \text{en } y = y_{\beta\omega} = 1/4$

CL4 : $\mathbf{b}_\omega^{'} = 0 \qquad \text{en } y = y_{\omega\gamma} = 1/2$

CL5 : $\langle \mathbf{b}_\beta^{'} \rangle^\beta = 0$

CL6 : $\langle \mathbf{b}_\omega^{'} \rangle^\omega = 0$

$$\mathbf{c}_{\beta\gamma} = \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\gamma}} \frac{d\mathbf{b}_\beta^{'}}{dy} dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\omega}} \frac{d\mathbf{b}_\beta^{'}}{dy} dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\beta\sigma}} \frac{d\mathbf{b}_\beta^{'}}{dy} dA \tag{C.7}$$

$$\mathbf{c}_{\omega\gamma} = \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\gamma}} \frac{d\mathbf{b}_\omega^{'}}{dy} dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\beta}} \frac{d\mathbf{b}_\omega^{'}}{dy} dA + \frac{1}{V}\int_{A_{\omega\sigma}} \frac{d\mathbf{b}_\omega^{'}}{dy} dA \tag{C.8}$$

Ces deux problèmes de fermeture (vectoriel et scalaire) peuvent se résoudre analytiquement pour des géométries simplifiées (cas stratifiés). Étant donné que le terme d'échange est connu à travers les conditions limites, la résolution de ces equations différentielles se fait en suivant la méthode classique qui au final nous donnera deux polynômes de deuxième degré.

Résolution analytique du problème I

En intégrant ces equations, on obtient :
Problème I
phase fluide

$$\frac{d\mathbf{b}_\beta^{'}}{dy} = ay + \mathbf{c1} \tag{C.9}$$

phase Biofilm

$$\frac{d\mathbf{b}_\omega^{'}}{dy} = by + \mathbf{k1} \tag{C.10}$$

La condition limite CL1 conduit à :

$$\mathbf{c1} = -1 \tag{C.11}$$

On aura donc :

$$\frac{d\mathbf{b}_\beta^{'}}{dy} = ay - 1 \tag{C.12}$$

La condition limite CL3 permet d'écrire :

$$\frac{d\mathbf{b}_{\beta}^{'}}{dy}\Big|_{y=y_{\beta\omega}} = \frac{d\mathbf{b}_{\omega}^{'}}{dy}\Big|_{y=y_{\beta\omega}} \tag{C.13}$$

$$ay_{\beta\omega} - 1 = by_{\beta\omega} + \mathbf{k1} \tag{C.14}$$

D'où :

$$\mathbf{k1} = y_{\beta\omega}(a-b) - 1 = \frac{1}{4}(a-b) - 1 \tag{C.15}$$

En intégrant une seconde fois, les equations de la phase fluide et biofilm, nous obtenons les equations suivantes :
Problème I
phase fluide

$$\mathbf{b}_{\beta}^{'} = \frac{a}{2}y^2 - y + \mathbf{c2} \tag{C.16}$$

phase Biofilm

$$\mathbf{b}_{\omega}^{'} = \frac{b}{2}y^2 + \mathbf{k1}y + \mathbf{k2} \tag{C.17}$$

D'après la condition limite CL4, nous avons :

$$\mathbf{b}_{\omega}^{'}(y = y_{\omega\gamma}) = 0 \tag{C.18}$$

$$\frac{b}{2}y_{\omega\gamma}^2 + \mathbf{k1}y_{\omega\gamma} + \mathbf{k2} = 0 \tag{C.19}$$

Ce qui donne donc :

$$\mathbf{k2} = -y_{\omega\gamma}(\frac{b}{2}y_{\omega\gamma} + \mathbf{k1}) = -\frac{1}{8}a + \frac{1}{2} \tag{C.20}$$

la condition limite CL2 nous donne :

$$\mathbf{b}_{\omega}^{'}(y = y_{\beta\omega}) = \mathbf{b}_{\beta}^{'}(y = y_{\beta\omega}) \tag{C.21}$$

$$\frac{b}{2}y_{\beta\omega}^2 + \mathbf{k1}y_{\beta\omega} + \mathbf{k2} = \frac{a}{2}y_{\beta\omega}^2 - y_{\beta\omega} + \mathbf{c2} \tag{C.22}$$

Au final nous aurons :

$$\mathbf{c2} = \frac{y_{\beta\omega}^2}{2}(b-a) + y_{\beta\omega}(\mathbf{k1}+1) + \mathbf{k2} = -\frac{1}{32}b - \frac{3}{32}a + \frac{1}{2} \tag{C.23}$$

Les deux conditions de moyenne nulle par phase permettent d'écrire :

$$\langle \mathbf{b}_{\beta}^{'} \rangle^{\beta} = \frac{a}{6}y_{\beta\omega}^3 - \frac{1}{2}y_{\beta\omega}^2 + \mathbf{c2}y_{\beta\omega} = 0 \tag{C.24}$$

$$\langle \mathbf{b}_{\omega}^{'} \rangle^{\omega} = \frac{b}{6}(y_{\omega\gamma}^2 + y_{\omega\gamma}y_{\beta\omega} + y_{\beta\omega}^2) + \frac{\mathbf{k1}}{2}(y_{\omega\gamma} + y_{\beta\omega}) + \mathbf{k2} = 0 \tag{C.25}$$

Cela conduit aux deux equations suivantes :

$$\frac{2}{3}a + \frac{1}{4}b = 3 \tag{C.26}$$

$$\frac{1}{6}b + \frac{1}{4}a = 1 \tag{C.27}$$

La résolution de ce système d'équation donne :

$$a = \frac{36}{7} \tag{C.28}$$

$$b = -\frac{12}{7} \tag{C.29}$$

L'expression finale des equations du problème I est :
phase fluide

$$\mathbf{b}_{\beta}^{'} = \frac{18}{7}y^2 - y + \frac{1}{14} \tag{C.30}$$

phase Biofilm

$$\mathbf{b}_{\omega}^{'} = -\frac{6}{7}y^2 + \frac{5}{7}y - \frac{1}{7} \tag{C.31}$$

Résolution analytique du problème II

En intégrant ces equations, nous obtenons :
Problème I
phase fluide

$$\frac{d\mathbf{s}_{\beta}^{'}}{dy} = a^{'}y + \mathbf{c1}^{'} \tag{C.32}$$

phase Biofilm

$$\frac{d\mathbf{s}_{\omega}^{'}}{dy} = b^{'}y + \mathbf{k1}^{'} \tag{C.33}$$

La condition limite CL1 conduit à :

$$\mathbf{c1}^{'} = 0 \tag{C.34}$$

La condition limite CL3 permet d'écrire :

$$\frac{d\mathbf{s}_{\beta}^{'}}{dy}\Big|_{y=y_{\beta\omega}} = \frac{d\mathbf{s}_{\omega}^{'}}{dy}\Big|_{y=y_{\beta\omega}} \tag{C.35}$$

$$a^{'}y_{\beta\omega} = b^{'}y_{\beta\omega} + \mathbf{k1}^{'} \tag{C.36}$$

D'où :

$$\mathbf{k1}^{'} = y_{\beta\omega}(a-b) = \frac{1}{4}(a^{'} - b^{'}) \tag{C.37}$$

En intégrant une seconde fois les equations de la phase fluide et biofilm, nous aboutissons aux equations suivantes :
Problème I
phase fluide

$$\mathbf{s}_{\beta}^{'} = \frac{a^{'}}{2}y^2 + \mathbf{c}^{'}\mathbf{2} \tag{C.38}$$

phase Biofilm

$$\mathbf{s}_{\omega}^{'} = \frac{b^{'}}{2}y^2 + \mathbf{k1}^{'}y + \mathbf{k2}^{'} \tag{C.39}$$

D'aprés la condition limite CL4, nous avons :

$$\mathbf{s}_{\omega}^{'}(y = y_{\omega\gamma}) = 1 \tag{C.40}$$

$$\frac{b^{'}}{2}y_{\omega\gamma}^2 + \mathbf{k1}^{'}y_{\omega\gamma} + \mathbf{k2}^{'} = 0 \tag{C.41}$$

Ce qui donne donc :

$$\mathbf{k2}^{'} = -y_{\omega\gamma}(\frac{b^{'}}{2}y_{\omega\gamma} + \mathbf{k1}^{'}) = 1 - \frac{1}{8}a \tag{C.42}$$

la condition limite CL2 nous donne :

$$\mathbf{s}_{\omega}^{'}(y = y_{\beta\omega}) = \mathbf{s}_{\beta}^{'}(y = y_{\beta\omega}) \tag{C.43}$$

$$\frac{b^{'}}{2}y_{\beta\omega}^2 + \mathbf{k1}^{'}y_{\beta\omega} + \mathbf{k2}^{'} = \frac{a^{'}}{2}y_{\beta\omega}^2 + \mathbf{c2}^{'} \tag{C.44}$$

Finalement :

$$\mathbf{c}^{'}\mathbf{2} = \frac{y_{\beta\omega}^2}{2}(b^{'} - a^{'}) + y_{\beta\omega}\mathbf{k1}^{'} + \mathbf{k2}^{'} = -\frac{1}{32}b^{'} - \frac{3}{32}a^{'} + 1 \tag{C.45}$$

Les deux conditions de moyenne nulle par phase permettent d'écrire :

$$\langle \mathbf{s}_{\beta}^{'} \rangle^{\beta} = \frac{a^{'}}{6}y_{\beta\omega}^3 + \mathbf{c2}^{'}y_{\beta\omega} = 0 \tag{C.46}$$

$$\langle \mathbf{s}_{\omega}^{'} \rangle^{\omega} = \frac{b^{'}}{6}(y_{\omega\gamma}^2 + y_{\omega\gamma}y_{\beta\omega} + y_{\beta\omega}^2) + \frac{\mathbf{k1}^{'}}{2}(y_{\omega\gamma} + y_{\beta\omega}) + \mathbf{k2}^{'} = 0 \tag{C.47}$$

Cela conduit aux deux equations suivantes :

$$\frac{2}{3}a + \frac{1}{4}b = 8 \tag{C.48}$$

$$\frac{1}{6}b + \frac{1}{4}a = 8 \tag{C.49}$$

La résolution de ce système d'équation donne :

$$a^{'} = -\frac{480}{35} \tag{C.50}$$

$$b^{'} = \frac{480}{7} \tag{C.51}$$

L'expression finale des equations du problème II est :
phase fluide

$$\mathbf{s}_{\beta}^{'} = -\frac{240}{35}y^2 + 0.145 \tag{C.52}$$

phase Biofilm

$$\mathbf{s}_{\omega}^{'} = \frac{240}{7}y^2 - 20.571y + 2.714 \tag{C.53}$$

C.1.1 Résolution des problèmes de fermeture : validation de l'outil numérique

En vue de la validation du code commercial **COMSOL MULTIPHYSICS** utilisé dans ce travail, une comparaison des solutions analytiques et numériques (résultats du code Comsol) des problèmes de fermeture sur une géométrie simple est proposée. **COMSOL MULTIPHYSICS** est un logiciel de résolution des équations différentielles (EDP) basé sur la méthode des éléments finis. Nous utilisons une géométrie stratifiée (Figure.C.1) au vu de la complexité de nos équations qui renferment des termes integro-différentiels. La géométrie stratifiée considérée est bi-dimensionnel et périodique suivant la direction y, et uniforme suivant x. Pour les validations analytiques, on suppose qu'il n'y a pas d'écoulement dans la phase fluide. Pour les validations numériques, on considère un écoulement type poiseuille suivant l'axe des x croissant. Dans les deux cas, on prend le ratio de diffusion $\mathbf{D}_{\Gamma} = 1$.

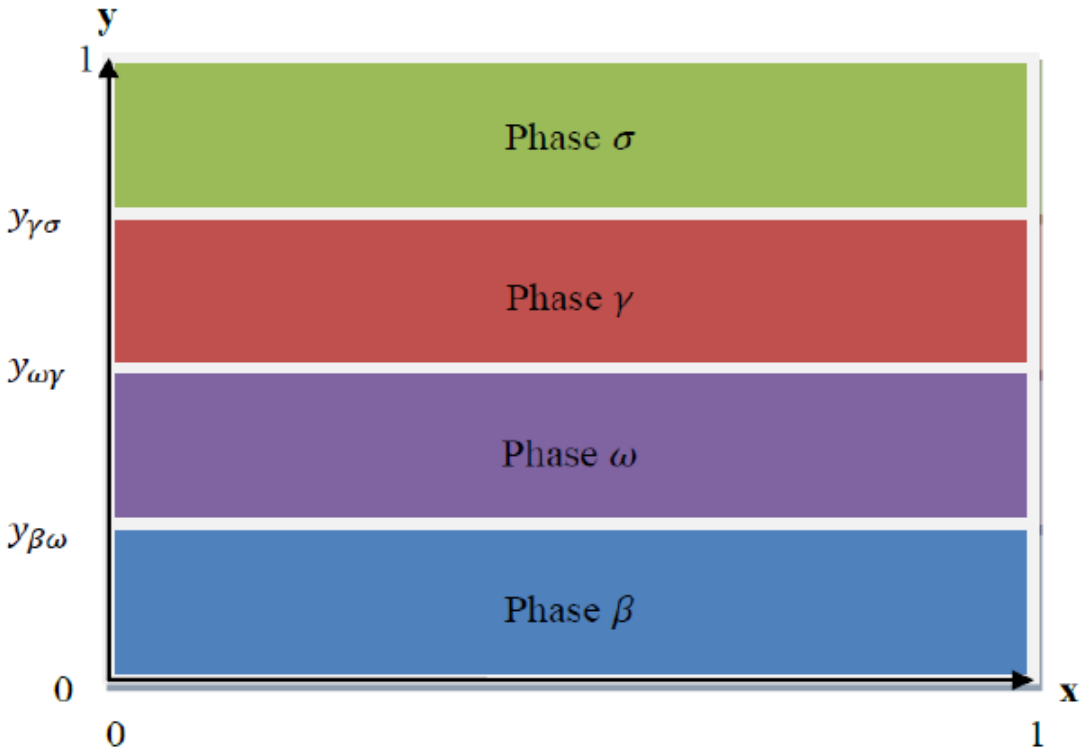

FIGURE C.1 – Géométrie stratifié considérée pour les validations analytiques et numériques

C.1.1.1 Résolution analytique du problème I

L'expression finale desequations du problème I est donné par (Le détail du développement se trouve en annexe 3) :

phase fluide

$$\mathbf{b}'_{\beta} = \frac{18}{7}y^2 - y + \frac{1}{14} \tag{C.54}$$

phase Biofilm

$$\mathbf{b}'_{\omega} = -\frac{6}{7}y^2 + \frac{5}{7}y - \frac{1}{7} \tag{C.55}$$

La Figure.C.2 montre les comparaisons analytiques et numériques des champs vectoriels $\mathbf{b}'_{\beta}$ (Figure.C.2-(a)) et $\mathbf{b}'_{\omega}$ (Figure.C.2-(b)).

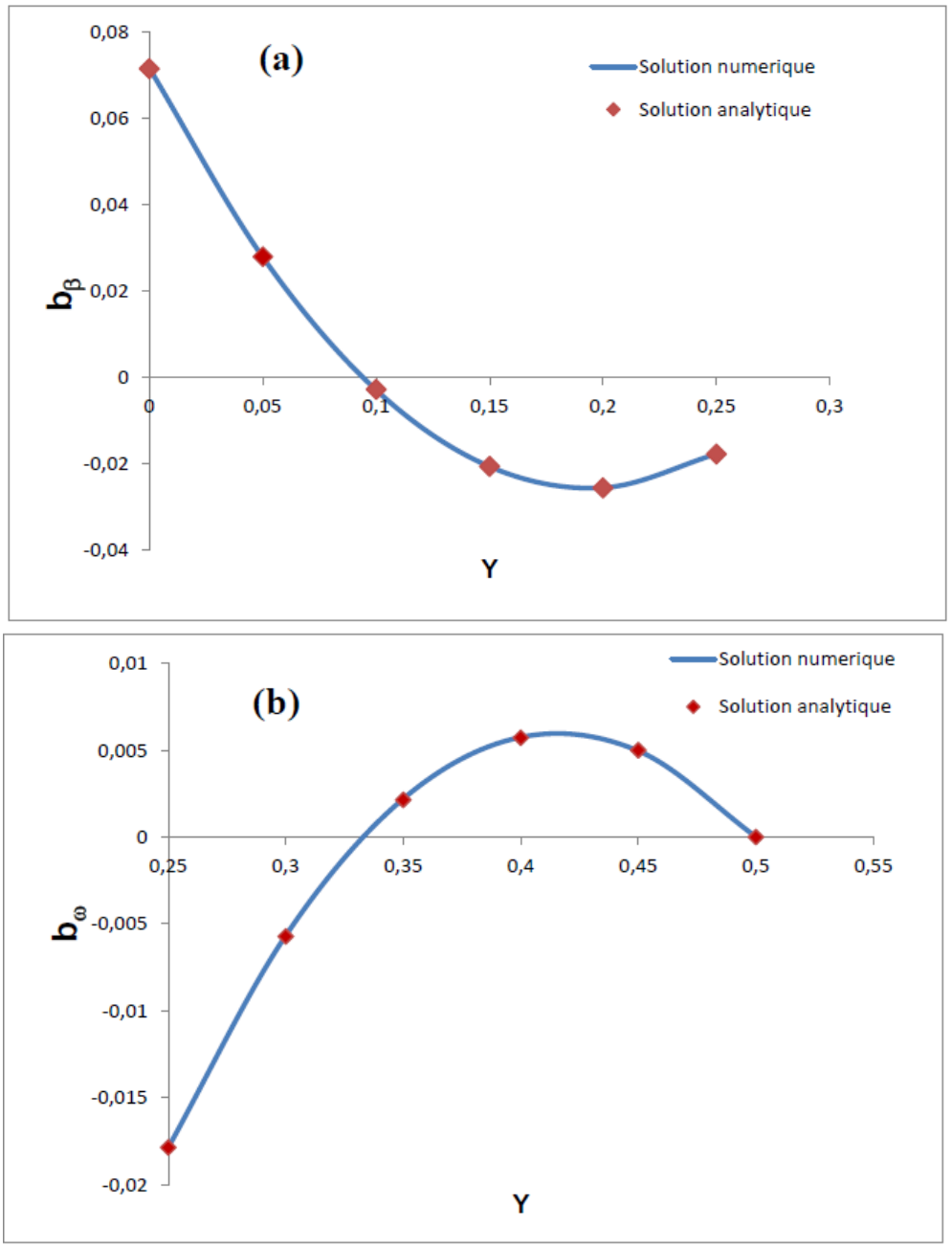

FIGURE C.2 – Comparaison des solutions analytiques et numériques du premier problème de fermeture

Nous observons un très bon accord entre les solutions analytiques et numériques pour le premier problème de fermeture.

C.1.1.2 Résolution analytique du problème II

L'expression finale desequations du problème II est donné par (Le détail du développement se trouve en annexe 3) :
phase fluide

$$\mathbf{s}_{\beta}^{'} = -\frac{240}{35}y^2 + 0.145 \tag{C.56}$$

phase Biofilm

$$\mathbf{s}_{\omega}^{'} = \frac{240}{7}y^2 - 20.571y + 2.714 \tag{C.57}$$

La Figure.C.3 montre les comparaisons analytiques et numériques des champs scalaires $\mathbf{s}_{\beta}^{'}$ (Figure.C.3-(a)) et $\mathbf{s}_{\omega}^{'}$ (Figure.C.3-(b)).

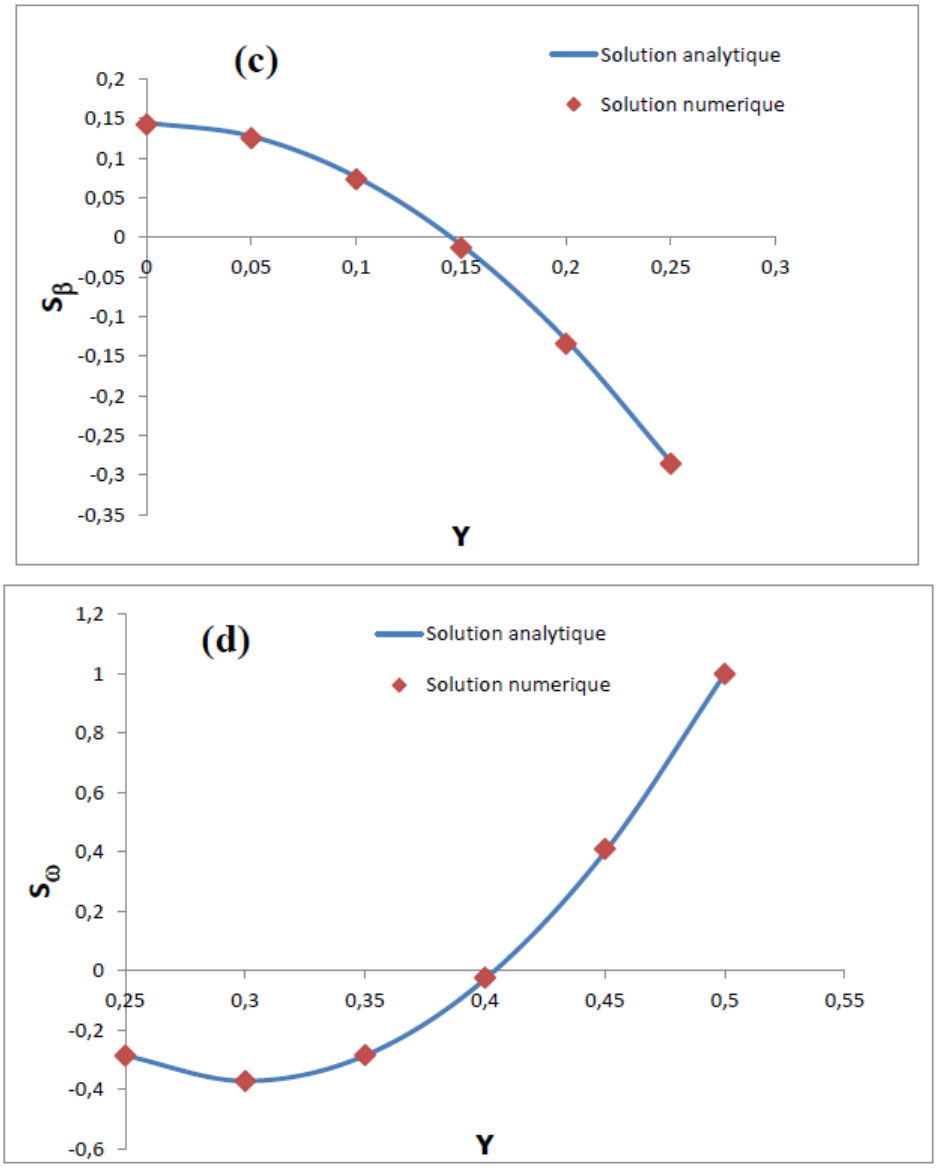

FIGURE C.3 – Comparaison des solutions analytiques et numériques du deuxième problème de fermeture

Nous observons également un très bon accord entre les solutions analytiques et numériques pour le deuxième problème de fermeture.

Bibliographie

[1] Ahmadi A, Aigueperse A, and Quintard M. Calculation of the effective properties describing active dispersion in porous media : from simple to complex unit cells. *Advances in Water Resources*, 24 :423–431, 2001. 22, 47, 62, 95

[2] Anceaux A. Construction de biofilms : étude en chambre d'écoulement. Master's thesis, Université Henri Poincaré, Nancy 1, 2008. ix, 2, 3, 115

[3] Boyd A and Chakrabarty A.M. Rôle of alginate lyase in cell detachment of pseudomonas aeruginosa. *Applied and Environnemental Microbiology*, 60 :2355–2359, 1994. 4

[4] Brun A and Engesgaard P. Modelling of transport and biogeochemical processes in pollution plumes : literature review and model development. *Journal of Hydrology*, 256 :149–1159, 2002. 32

[5] Brun A and Engesgaard P. Modelling of transport and biogeochemical processes in pollution plumes literature review and model development. *Journal of Hydrology*, 256 :1149–1159, 2002. 44

[6] Richards A, Gerhard J.I, and Kueper B. Hydraulic displacement of dense nonaqueous phase liquids for source zone stabilization. *Ground Water*, 50 :765–774, 2013. 21

[7] Soudmand-asli A, Shahab Ayatollahi S, Mohabatkar H, Zareie M, and Farzad Shariatpanahi S. The in situ microbial enhanced oil recovery in fractured porous media. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 58 :161–172, 2007. 44

[8] Jackson A.S, Miller C.T, and Gray W.G. Thermodynamically constrained averaging theroy approach for modeling flow and transport phenomena in porous medium systems :6. two-fluid-phase flow. *Advances in Water Resources*, 32 :709–795, 2009. 21

[9] Mayer A.S and Miller C.T. An experimental investigation of pore-scale distributions of nonaqueous phase liquids at residual saturation. *Transport in Porous Media*, 10 :57–80, 1993. 44

[10] Agaoglu B, Copty N.K, Sheytt T, and Hinkelmann R. Interphase mass transfer between fluids in subsurface formations : A review. *Advances in Water Resources*, 79 :162–194, 2015. 21

[11] Goyeau B, Benihaddadene T, Gobin D, and Quintard M. Numerical calculation of the permeability in a dendritic mushy zone. *Metall.and Mater.Trans*, 30B :613–622, 1999. 102

[12] Sergio B, Raoul M, Luis F, and Santiago V. New insights on toluene biodegradation by pseudomons putida f1 : influence of pollutant concentration and excreted metabolites. *Microbiology Biotechnology*, 74 :857–866, 2007. 113, 117

[13] Wood B, Golfier F, and Quintard M. Dispersive transport in porous media with biofilm : Local mass equilibrium in simple unit cells. *International Journal Environmental waste management*, 7 :24–48, 2011. 5, 56

[14] Wood B.D and Whitaker S. Diffusion and reaction in biofilms. *Chemical Engineering Science*, 53 :397–425, 1998. 33, 45, 49, 51

[15] Wood B.D and Whitaker S. Multi-species diffusion and reaction in biofilms and cellular media. *Chemical Engineering Science*, 55 :3397–3418, 2000. 49, 51, 52

[16] Kueper B.H and Gerhard J.I. Variability of point source infiltration rates for two phase flow in heterogeneous porous media. *Water Resources Research*, 31, 1995. 10

[17] Amos B.K, Suchomel E.J, Penell K.D, and Löffler F.E. Microbial activity and distribution during enhanced contaminant dissolution from a NAPL source zone. *Water Research*, 42 :2963–2974, 2008. 27

[18] Mougin C. Bioremediation and phytoremediation of industrial pah-polluted soils. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 22 :1011–1043, 2002. ix, 17, 18

[19] Picioreanu C, van Loosdrecht M.C, and Heijnen J.J. Effect of diffusive and convective substrate transport on biofilm structure formation : a twodimensional modeling study. *Biotechnol Bioeng*, 69 :504–515, 2000a. 7

[20] Picioreanu C, van Loosdrecht M.M, and Heijnen J.J. Effect of diffusive and convective substrate transport on biofilm structure formation : A two-dimensional modeling study. *Biotechnology and Bioengineering*, 69, 2000. 7, 50

[21] Soulaine C, Debenest G, and Quintard M. Upscaling multi-component two-phase flow in porous media with partitioning coefficient. *Chemical Engineering Science*, 66 :6180–6192, 2011. 53, 68

[22] Kennedy C.A and Lennox and W.C. A pore-scale investigation of mass transport from dissolving DNAPL droplets. *Journal of Contaminant Hydrology*, 24 :221–246, 1997. 19

[23] M. Chen, Abriola L.M, Amos B.K, Suchomel E.J, Pennell K.D, Löffler F.E, and Christ J.A. Microbially enhanced dissolution and reductive dechlorination of pce by a mixed culture : model validation and sensitivity analysis. *Journal of Contaminant Hydrology*, 151 :117–130, 2013. 44

[24] Van Oss C.J, Chaudhury M.K, and Good R.J. Interfacial lifshitz-van der waals and polar interactions in macroscopic systems. *Chemical Reviews*, 88 :927–941, 1988. 3

[25] Laspidou C.S and Rittman B.E. A unified theory for extracellular polymeric substances, soluble microbial products, and active and inert biomass. *Water Research*, 36 :2711–2720, 2002. 2

[26] Miller C.T, Poirier-McNeill M, and Mayer A.S. Dissolution of trapped nonaqueous phase liquids : Mass transfer characteristics. *Water Resources Research*, 26 :2783–2796, 1990. 19, 20, 21, 22

[27] Miller C.T and Poirier-Mcnell M.M. Dissolution of trapperd nonaqueous phase liquids : Mass transfer characteristics. *Water Resources Research*, 26 :2783–2796, 1990. 21, 32, 65, 95, 98, 107

[28] Kim D-J, Choi J-W, Choi N-C, and Lee C-E. Modeling of growth kinetics for Pseudomonas spp. during benzene degradation. *Applied Microbiology Biotechnology*, 69 :456–462, 2005. 119, 120

[29] Savage D.C and Fletcher M. *Bacterial adhesion : Mechanisms and physiological significance*. ISBN 0-306-41941-6. Plenium Press, 1985. 3

[30] Vayenas D.V, Michalopoulou E, Constantinides G.N, Pavlou S, and Payatakes A.C. Visualization experiments of biodegradation in porous media and calculation of the biodegradation rate. *Advances in Water Resources*, 25 :203–219, 2002. 4

[31] Sanchez-Palencia E. Lecture notes in physics, chapitre non-homogeneous media and vibration theory. *Springer-Verlaag*, 127, 1980. 36

[32] Seagren E.A, Rittmann B.E, and Valocchi A. A critical evaluation of the local-equilibrium assumption in modeling NAPL-poll dissolution. *Journal of Contaminant Hydrology*, 7 :109–135, 1999. 21

[33] Seagren E.A, Rittmann B.E, and Valocchi A.J. Quantitative-evaluation of the enhancement of NAPL-pool dissolution by flushing and biodegradation. *Environment Science Technology*, 28 :833–9, 1994. 130

[34] Seagren E.A, Rittmann B.E, and Valocchi A.J. Bioenhancement of NAPL-pool dissolution : experimental evaluation. *Journal of Contaminant Hydrology*, 55 :57–85, 2002. 113

[35] Delay F, Porel G, and Chatelier M. A dual flowing continuum approach to model denitrification experiments in porous media colonized by biofilms. *Journal of Contaminant Hydrology*, 150 :12–24, 2013. 27

[36] Golfier F, Wood B.D, Orgogozo L, Quintard M, and Bues M. Biofilms in porous media : Development of macroscopic transport equations via volume averaging with closure for local mass equilibrium conditions. *Advances in Water Ressources*, 32 :463–485, 2009. 5, 33, 34, 38, 40, 41, 44, 45, 48, 49, 50, 51, 55, 56, 62, 68, 73, 139, 144

[37] Golfier F, Quintard M, and Whitaker S. Heat and mass transfer in tubes : An analysis using the method of volume averaging. *Journal of Porous Media*, 5 :169–185, 2002. 102

[38] Kenneth F, Douglas C, and Julia D. Biodegradation kinetics of benzene, toluene, and phenol as single and mixed substrates of Pseudomonas Putida F1. *Biotechnology and Bioenginnering*, 69(4), 2000. 113

[39] Luis F, Raoul M, Sergio B, and Santiago V. Toluene biodegradation by Pseudomonas Putida F1 : targeting culture stability in long-time operation. *Biodegradation*, 19 :197–208, 2008. 113, 117

[40] Schwille F. Dense chlorinated solvents in porous and fractured media-model experiments. *Chelsea*, 1988. 8, 16, 17

[41] Valdès-Parada F.J, Porter M.L, Narayanaswamy K, Ford R.M, and Wood B.D. Upscalling microbial chemotaxis in porous media. *Advances in Water Resources*, 32 :1413–1428, 2009. 44

[42] Marsily G. *Hydrogéologie : comprendre et estimer les écoulements et le transport des polluants*. Ecole des mines de Paris, 1994. 20

[43] Matheron G and De Marsily G. Is transport in porous media always diffusive ? a counter example. *Water Resour. Res*, 16 :1955–1974, 1980. 36

[44] Radilla G, Aigueperse A, Bertin H, LE Thiez P, and Quintard M. Dispersion active en milieu poreux : experiences de laboratoire et interpretation. *Académie des Sciences/Elsevier*, t.324 :143–150, 1997. 105

[45] Radilla G, Quintard M, and Bertin H. NAPL dissolution in saturated porous media : model experiments and pore scale interpretation. In *Sixth Symposium on multiphase transport in porous media*, volume FED 244, pages 423–429. 19, 20, 22, 98, 99

[46] Kapellos G.E, Alexiou T.S, and Payatakes A.C. Hierarchical simulator of biofilm growth and dynamics in granular porous materials. *Advances in Water Resources*, 30 :1648–1667, 2007. 4

[47] Jerauld G.R and Salter S.J. The effect of pore-structure on hysteris in relative permeability and capillary pressure : pore level modeling. *Transport in Porous Media*, 5 :103–151, 1990. ix, 15

[48] Ceri H, Olson ME, Stremick C, Read RR, Morck D, and Buret A. The calgary biofilm device : new technology for rapid determination of antibiotic susceptibilities of bacterial biofilms. *J. Clin. Microbiol*, 37 :1771–1776, 1999. 1

[49] Kim H, Jaffé P.R, and Young L.Y. Simulating biodegradation of toluene in sand column experiments at the macroscopic and pore-level scale for aerobic and denitrifying conditions. *Advances in Water Resources*, 27 :335–348, 2004. 27

[50] Jones H.C, Roth I.L, and Saunders III W.M. Electron microscopic study of a slime layer. *Journal of bacteriology*, 41 :316–325, 1969. 1

[51] Lugo-Mèndez H.D, Valdès-Parada F.J, Porter M.L, Wood B.D, and Ochoa-Tapia J.A. Upscaling diffusion and nonlinear reactive mass transport in homogeneous porous media. *Transport in Porous Media*, 107 :683–716, 2015. 51

[52] H Heukelekian and A Heller. Relation between food cocentration and surface for bacterial growth. *Journal of bacteriology*, 40 :547–558, 1940. 1

[53] Cushman H.J and Moroni M. Statistical mechanics with three-dimensional particle tracking velocimetry experiments in the study of anomalous dispersion. i. theory. *Phys. Fluids*, 13 :75–80, 2001. 103

[54] Banat I.M, Makkar S.R, and Cameotra S.S. Potential commercial application of microbial surfactants. *Applied Microbiology Biotechnology*, 53 :495–508, 2000. 23

[55] Nambi I.M, Werth C.J, Sanford R.A, and Valocchi A.J. Pore-scale analysis of anaerobic halorespiring bacterial growth along the transverse mixing zone of an etched silicon pore network. *Environ. Sci. Technol*, 37 :5617–5624, 2003. v, ix, 19, 27, 28, 29, 30, 31, 32

[56] Nambi I.M and Powers S.E. Mass transfer correlations for nonaqueous phase liquid dissolution from regions with high initial saturations. *Water Resources Research*, 39 :10–30, 2003. 21, 22, 107

[57] Niessner J and Hassanizadeh S.M. A model for two-phase flow in porous media including fluid-fluid interfacial area. *Water Ressources Research*, 44 :43–1397, 2008. 21

[58] Niessner J and Hassanizadeh S.M. Modeling kinetic interphase mass transfer for two-phase flow in porous media including fluid-fluid interfacial area. *Transport in Porous Media*, 80 :329–344, 2009. 21

[59] Zhu J and Sykes J.F. The influence of NAPL dissolution characteristics on field-scale contaminant transport in subsurface. *Journal of Contaminant Hydrology*, 41, 2000. 9

[60] Kreft J-U, Booth G, and Wimpenny J.W.T. Bacsim, a simulator for individual-based modelling of bacterial colony growth. *Microbiology*, 144 :3275–3287, 1998. 6

[61] Christ J.A and Abriola L.M. Modeling metabolic reductive dechlorination in dense non-aqueous phase liquid source zones. *Advances in Water Resources*, 30 :1547–1561, 2006. 44

[62] Block J.C. Biofilms in drinking water distribution system. *Kluwer Academic*, pages 469–485, 1992. 1

[63] Chambon J.C, Broholm M.M, Binning P.J, and P.L Bjerg. Modeling multi-component transport and enhanced anaerobic dechlorination processes in a single fracture-clay matrix system. *Journal of Contaminant Hydrology*, 112 :77–90, 2010. 44, 139

[64] Desai J.D and Banat I.M. Microbial production of surfactants and their commercial potential. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64 :47–64, 1997. 23

[65] Seymour J.D, Codd S.L, Gjersing E.L, and Stewart P.S. Magnetic resonance microscopy of biofilm structure and impact on transport in a capillary bioreactor. *Journal of Magnetic Resonance*, 167 :322–327, 2004. 62

[66] Paulsen J.E, Ekrann S, and Oppen E. Visualisation of bacterial degradation and mobilisation of oil in a porous medium. *Environmental Geology*, 38, 1999. v, ix, 19, 27, 28, 29, 30, 33, 44, 45, 127

[67] Sykes J.F, Soyupak S, and Farquhar G.J. Modeling of leachate organic migration and attenuation in groundwater below sanitary landfills. *Water Resources Research*, 18 :135–145, 1982. 32

[68] Becker J.G and Seagren E.A. Modeling the effects of microbial competition and hydrodynamics on the dissolution and detoxification of dense nonaqueous phase liquid contaminants. *Environmental Science & Technology*, 43 :870–877, 2009. 44, 139

[69] Kaluarachchi J.J and Parker J.C. Modeling multi-component organic chemical transport in three-fluid-phase porous media. *Journal of Contaminant Hydrology*, 5 :349–374, 1990. 19

[70] Hunt J.R and Sitar N. Nonaqueous phase liquid transport and cleanup 1. analysis of mechanisms. *Water Ressources Research*, 24 :1247–1258, 1988. 44

[71] Kindred J.S and Celia M.A. Contaminant transport and biodegradation 2. conceptual model and test simulations. *Water Resources Research*, 25 :1149–1159, 1989. 44, 139

[72] Walker J.T, Marsch P.D, and Fletcher M. A review of biofilms and their role in microbial contamination of dental unit water systems (duws). *International Biodeterioration and Biodegradation*, 54 :87–98, 2004. 3, 4

[73] Costerton J.W, Geesey G.G, and Cheng K-J. How bacteria stick. *Sci Am*, 238 :86–95, 1978. 1

[74] Hall-Stoodley L and Stoodley P. Developmental regulation of microbial biofilms. *Current Opinion in Biotechnology*, 13 :228–233, 2002. 2

[75] Orgogozo L. *Transport de soluté biologiquement actif en milieu poreux incluant une phase biofilm : de la modelisation numerique aux perspectives experiementales*. PhD thesis, Institut National Polytechnique de Lorraine, 2009. 24

[76] Orgogozo L, Golfier F, Buès M, and Quintard M. Upscaling of transport processes in porous media with biofilms in non-equilibrium conditions. *Advances in Water Resources*, 33 :585–600, 2010. 34

[77] Orgogozo L, Golfier F, Buès M.A, Quintard M, and Kone T. A dual-porosity theory for solute transport in biofilm-coated porous media. *Advances in Water Ressources*, 62 :266–279, 2013. 5, 34, 38, 40, 41, 44, 45, 48, 51, 55, 68, 75, 139

[78] Semprini L and McCarty PL. Comparison between model simulations and field results for in situ biorestoration of chlorinated aliphatics.part 1 : Biostimulation of methanotrophic bacteria. *Ground Water*, 29 :365–74, 1991. 44

[79] Abriola L.M. Modeling multiphase migration of organic chemicals in groundwater systems- a review and assessment. *Environmental Health Perspectives*, 83 :143–148, 1989. 20

[80] Gelhar L.W, Welty C, and Rehfeldt K.R. A critical review of data on field-scale dispersion in aquifers. *Water Resour. Res*, 28 :1955–1974, 1992. 36

[81] Benioug M. *Etude numerique de coissance microbienne en milieu poreux*. PhD thesis, Doctorat de l'Université de Lorraine, 2015. 6

[82] Benioug M, Golfier F, Tinet A.-J, Buès M.A, and Oltean C. Numerical efficiency assessment of ib-lb method for 3d pore-scale modeling of flow and transport. *Transport in Porous Media*, 109 :1–23, 2015. 75, 141

[83] Bisson M, Diderich R, Dujardin R, Hulot C, Lacroix G, Lefevre J.P, leveque S, Magaud H, Pepin G, and Pichard A. *Fiche des données toxicologiques et environnementales des substances chimiques*. INERIS, 2005. xiii, 78

[84] Brun M and Hatfield K. Dimensionless parameters to summarize the influence of microbial growth and inhibition on the bioremediation of groundwater contaminants. *Bioremediation*, 22 :877–896, 2011. 44

[85] Chatelier M. *Faisabilité d'un pilote de dénitrification in situ dans un aquifère karstifié*. PhD thesis, Doctorat de l'Université de Poitiers, 2010. 5

[86] Chu M, Kitanidis P.K, and McCarty P.L. Possible factors controlling the effectiveness of bioenhanced dissolution of non-aqueous phase tetrachloroethene. *Advances in Water Ressources*, 27 :601–615, 2004. 18, 23

[87] Chu M, Kitanidis P.K, and McCarty P.L. Dependence of lumped mass transfer coefficient on scale and reactions kinetics for biologically enhanced NAPL dissolution. *Advances in Water Resources*, 30 :1618–1629, 2007. 21, 22, 44, 130

[88] El Hajji M. *Modélisation et analyse mathèmathiques pour les ecosystèmes microbiens-approche par les systèmes dynamiques-*. PhD thesis, Université Montpellier II, 2010. 120

[89] Garcia-Junco M, Gomez-Lahoz C, Niqui-Arroyo J-L, and Ortega-Calvo J-L. Biosurfactant- and biodegradation-enhanced partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons from nonaqueous-phase liquids. *Environ. Sci. Technol*, 37 :2988–2996, 2003. 47

[90] Muris M. *Caractérisation du transport colloïdal du zinc en milieu sableux*. PhD thesis, Université Joseph Fourier-Grenoble, 2004. 114

[91] Oostrom M, Hofstee C, Walker R.C, and Dane J.H. Movement and remediation of trichloroethylene in a saturated heterogeneous porous medium. spill behavior and initial dissolution. *Journal of Contaminant Hydrology*, 37 :159–178, 1999. 16

[92] Quintard M and Whitaker S. One-and two-equation models for transient diffusion processes in two-phase system. *Advances in Heat Transfer*, 23 :369–465, 1993. 37

[93] Quintard M and Whitaker S. Convection, dispersion, and interfacial transport of contaminants : Homogenous porous media. *Advances in Water Ressources*, 17 :221–239, 1994. 20, 21, 38, 43, 45, 52, 62, 65, 99, 101

[94] Quintard M and Whitaker S. Transport in ordered and disordered porous media. ii. generalized volume averaging. *Transport in Porous Media*, 14 :179–206, 1994. 52

[95] Quintard M and Whitaker S. Dissolution of an immobile phase during flow in porous media. *Ind. Eng. Chem. Res*, 38 :833–844, 1999. 45, 47, 49, 51, 52, 53, 54, 55, 58, 60, 61

[96] Schubert M, Paschke A, Lau S, Geyer W, and Knöller K. Radon as a naturally occurring tracer for the assessment of residual NAPL contamination of aquifers. *Environmental Pollution*, 145 :920–927, 2007. 43

[97] Starek M, Kolev K.I, Berthiaume L, William Yeung C, Sleep B.E, Wolfaardt G.M, and Hausner M. A flow cell simulating a subsurface rock fracture for investigations of groundwater-derived biofilms. *International Microbiology*, 14 :163–171, 2011. 27

[98] Wahl M. Marine epibiosis. i. fouling and antifouling : some basic aspects. *Marine Ecology progress series*, 58 :175–189, 1989. 3

[99] Seyedabbasi M.A, Farthing M.W, and Imhoff P.T. The influence of wettability on NAPL dissolution fingering. *Advances in Water Resources*, 31 :1687–1696, 2008. 65

[100] Rockhold M.L, Yarwood R.R, Niemet M.R, Bottomley P.J, Brockman F.J, and Selker J.S. Visualization and modeling of the colonization dynamics of a bioluminescent bacterium in variably saturated, translucent quartz sand. *Advances in Water Resources*, 30 :1593–1607, 2007. 4

[101] Cowan M.M, Warren T.M, and Fletcher M. Mixed species colonization of solid surfaces in laboratory biofilms. *Biofouling*, 208 :23–34, 1991. 3

[102] Hamed M.M, Nelson P.D, and Bedient P.B. A distributed-site model for non-equilibrium dissolution of multi-component residually trapped NAPL. *Environmental Modelling and Software*, 15 :443–450, 2000. 20

[103] Corapcioglu M.Y and Baehr A.L. A compositional multiphase model for groundwater contamination by petroleum 1 : Theroretical considerations. *Water Resources Research*, 23 :191–200, 1987. 19

[104] Corapcioglu M.Y, Yoon S, and Chowdhury S. Pore-scale analysis of NAPL blob dissolution and mobilization in porous media. *Transport in Porous Media*, 79 :419–442, 2009. 44

[105] Schenk O and Gärtner K. Solving unsymmetric sparse systems of linear equations with pardiso. *Journal of Future Generation Computer Systems*, 20 :475–487, 2004. 64

[106] Wanner O, Cunningham A.B, Xavier J.B, Kleerebezem R, Kreutzer M, Kapteijn F, Lundman R, and van Loosdrecht M.C.M. Modeling biofilm accumulation and mass transport in a porous medium under high substrate loading. *Biotechnology and Bioengineering*, 47 :703–12, 1995. 4

[107] Cirpka OA, Frind EO, and and R, Helmig. Numerical simulation of biodegradation controlled by transverse mixing. *J Contam Hydrol*, 40 :159–82, 1999. 44

[108] Baveye P and Valocchi A. An evaluation of mathematical models of the transport of biologically reacting solutes in saturated soils and aquifers. *Water Resour. Res*, 25 :1413–1421, 1989. 32

[109] Gaganis P, Karapanagioti H.K, and Burganos V. N. Modeling multicomponent NAPL transport in the unsaturated zone with the constituent averaging technique. *Advances in Water Resources*, 25, 2002. 44

[110] Osswald P, Baveye P, and Block J.C. Bacterial influence on partitioning rate during the biodegradation of styrene in a biphasic aqueous-organic system. *Biodegradation*, 7 :297–302, 1996. 47, 66, 130

[111] Saravanan P, Pakshirajan K, and Saha P. Growth kinetics of an indigenous mixed microbial consortium during phenol degradation in a batch reactor. *Bioresource Technology*, 79 :205–209, 2008. 48

[112] Sivasankar P and SureshKumar G. Numerical modelling of enhanced oil recovery by microbial flooding under non-isothermal conditions. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 124 :161–172, 2014. 44

[113] Jennings P.A, Snoeyink V.L, and Chian E.S.K. Theoretical model for a submerged biological filter. *Biotechnol. Bioeng*, 18 :1249–1273, 1976. 32

[114] Imhoff P.T, Jaffé P.R, and Pinder G.F. An experimental study of complete dissolution of a nonaqueous phase liquid in saturated porous media. *Water Resources Research*, 30 :307–320, 1994. 19, 20, 21, 22

[115] Chesnaux R. Analytical closed-form solutions for assessing pumping cycles, times, and costs required for NAPL remediation. *Environmental Geology*, 55, 2008. 10

[116] Lefebvre R. *Notes de cours*, chapter Ecoulement multiphase en milieu poreux. Université Laval/INRS-Eau, 2010. ix, 14, 15, 16

[117] Lenormand R, Zarcone C, and Sarr A. Mechanism of the displacement of one fluid by another in a network of capillary ducts. *J. Fluid Mech*, 135 :337–351, 1983. 14, 28

[118] Lenormand R, E Touboul, and Zarcone C. Numerical models and experiments on immiscible displacements in porous media. *J. Fluid Mech*, 189 :165–187, 1988. 28

[119] Pardo R, Herguedas M, Barrado E, and Vega M. Biosorption of cadmium, copper, lead and zinc by inactive biomass of Pseudomonas Putida. *Anal Bioanal Chem*, 376 :26 ?32, 2003. 114

[120] Singh R, Paul D, and Jain R.J. Biofilms : implications in bioremediation. *Trends in Microbiology*, 14 :389–397, 2006. ix, 23, 24

[121] Singh R and Olson M.S. Kinetics of trichloroethylene and toluene toxicity to Pseudomonas Putida F1. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29 :56–63, 2009. 45

[122] Borden R.C and Kao C.-M. Evaluation of groundwater extraction for remediation of petroleum-contaminated aquifers. *Water Environment Research*, 64 :28–36, 1992. 96

[123] Borden R.C and Bedient P.B. Transport of dissolved hydrocarbons influenced by reaeration and oxygen limited biodegradation. *Water Resources Research*, 22 :1973–1982, 1982. 32

[124] Larson R.G, Scriven L.E, and Davis H.T. Percolation theory of two phase flow in porous media. *Chemical Engineering Science*, 36 :57–73, 1981. 16

[125] Sharp R.P, Cunningham A.B, Komlos J, and Billmayer J. Observation of thick biofilm accumulation and structure in porous media and corresponding hydrodynamic and mass transfer effects. *Water Science and Technology*, 39 :195–201, 1999. 5

[126] Armstrong R.T and Wildenschild D. Investigating the pore-scale mechanisms of microbial enhanced oil recovery. *Journal of Petroleum Science and Engineering*, 94-95 :155–164, 2012. v, ix, x, 8, 17, 27, 28, 31, 35, 36, 44, 130

[127] Bordel S, Raoul M, Luis F, and Santiago V. New insights on toluene biodegradation by Pseudomonas Putida F1 : influence of pollutant concentration and excreted metabolites. *Microbio Biotechnol*, 74 :857–866, 2008. 114, 119

[128] Ebrahimi S, Picioreanu C, Xavier J.B, Kleerebezem R, Kreutzer M, Kapteijn F, Moulijn J.A, and van Loosdrecht M.C.M. Biofilm growth pattern in honeycomb monolith packings : Effect of shear and substrate transport limitations. *Catalysis Today*, 105 :448–454, 2002. ix, 4, 5

[129] Ray S and Peters C.A. Changes in microbiological metabolism under chemical stress. *Chemosphere*, 71 :474–483, 2008. 23, 45, 118

[130] Whitaker S. Diffusion and dispersion in porous media. *Aiche J*, 13 :420–427, 1967. 36

[131] Whitaker S. The method of volume averaging. *Dordrecht : Kluwer Academic Publishers*, 1999. 37, 49, 50

[132] Jeong S-W, Corapcioglu M.Y, and Roosevelt S.E. Micromodel study of surfactant foam remediation of residual trichloroethylene. *Environment Science Technology*, 34 :3456–3461, 2000. 78, 84

[133] Bradford S.A, Phelan T.J, and Abriola L.M. Dissolution of residual tetrachloroethylene in fractional wettability porous media : correlation development and application. *Journal of Contaminant Hydrology*, 45 :35–61, 2000. 20

[134] Bradford S.A, Phelan T.J, and Abriola L.M. Dissolution of residual tetrachloroethylene in fractional wettability porous media : correlation development and application. *Journal of Contaminant Hydrology*, 45 :35–61, 2000. 65

[135] Powers S.E, Loureiro C.O, Abriola L.M, and Weber W.J. Theoretical study of the significance of nonequilibrium dissolution of nonaqueous phase liquids in subsurface systems. *Water Resources Research*, 27 :463–477, 1991. 21, 98

[136] Powers S.E, Abriola L.M, and Weber W.J. An experimental investigation of nonaqueous phase liquid dissolution in saturated subsurface systems : Steady state mass transfer rates. *Water Resources Research*, 28 :2691–2705, 1992. 19, 21, 89, 98

[137] Powers S.E, Abriola L.M, and Weber W.J. An experimental investigation of nonaqueous phase liquid dissolution in saturated subsurface systems : Transient mass transfer rates. *Water Ressources Research*, 30 :321–332, 1994. 98

[138] Conrad S.H, Wilson J.L, Mason W.R, and Peplinski W.J. Visualisation of residual organic liquid trapped in aquifers. *Water Resources research*, 28 :467–478, 1992. 17, 89

[139] Nielsen S.M. *Microbial Enhanced Oil Recovery -Advanced Reservoir Simulation*. PhD thesis, DTU of chemical engineering, 2010. 8

[140] Taylor S.W, Milly P.C.D, and Jaffé P.R. Biofilm growth and the related changes in the physical properties of a porous medium 2. permeability. *Water Ressources Research*, 26 :2161–2169, 1990. 4

[141] Bahar T, Golfier F, and Oltéan C. Impact of microbial phase on NAPL dissolution in porous media. In *?*, Padova, Italy, 18-21 May 2015. 62

[142] Kone T. *Etude experimentale du couplage entre croissance bacterienne et transport d'un polluant organique en milieu poreux*. PhD thesis, Universite de Lorraine, 2012. 24

[143] Kone T, Golfier F, Orgogozo L, Oltéan C, Lefèvre E, Block J.C, and Buès M.A. Impact of biofilm-induced heterogeneities on solute transport in porous media. *Water Resources Research*, 50 :9103–9119, 2014. 4, 5, 7

[144] Saba T and Illangasekare T.H. Effect of groundwater flow dimensionality on mass transfer from entrapped nonaqueous phase liquid contaminants. *Water Resources Research*, 36 :971–979, 2000. 21, 22, 107

[145] Clement T.P, Gautam T.R, Lee K.K, Truex M.J, and Davis G.B. Modeling of DNAPL-dissolution, rate-limited sorption and biodegradation reactions in groundwater systems. *Bioremediation Journal*, 8 :47–64, 2004. 44, 139

[146] Scheuerman T.R, Camper A.K, and Hamilton M.A. Effects of substratum topography on bacterial adhesion. *Journal of Colloid and Interface Science*, 208 :23–33, 1998. 3

[147] Hae-jin W, John S, Chris C, Kevin R, and Gary S. Measurement of tolouène dioxygenase activity in biofilm culture of Pseudomonas Putida F1. *Journal of microbiological methods*, 40 :181–191, 2000. 113, 117

[148] Characklis W.G. Attached microbial growth-ii. frictional resistance due to microbial slimes. *Water Res*, 7 :1249–1258, 1973. 1

[149] Gray W.G, LEIJNSE A, KOLAR R.L, and BLAIN C.A. Mathematical tools for changing spatial scales in the analysis of physical systems. *CRC Press : Boca Raton*, 1993. 37, 50

[150] Li X, Wang H, Hu X, Hu C, and Liao L. Characteristics of corrosion sales and biofilm in aged pipe distribution systems with switching water source. *Engineering Failure Analysis*, 60, 2016. 7

[151] Adrienne Y. *Dispersion active en milieux poreux hétérogènes contaminés par des produits hydrocarbonés*. PhD thesis, Universite de Bordeaux I, 2006. ix, 19, 20, 21

[152] Davit Y. *Analyse multi-échelles des phénomènes de transport dans des milieux poreux colonisés par des biofilms*. PhD thesis, Institut National Polytechnique de Toulouse, 2010. 24

[153] Davit Y, Debenest G, Wood B.D, and Quintard M. Modeling non-equilibrium mass transport in biologically reactive porous media. *Advances in Water Ressources*, 33 :1075–1093, 2010. 34, 41, 44, 45, 50, 139

[154] Davit Y, Iltis G, Debenest G, Veran-Tissoires S, Wildenschild D, Gerino M, and Quintard M. Imaging biofilm in porous media using x-ray computed microtomography. *Journal of Microscopy*, 242 :15–25, 2010. 62

[155] Yang Y.R and McCarty P.L. Biologically enhanced dissolution of tetrachloroethene DNAPL. *Environment Science Technology*, 34 :2979 ?84, 2000. 44, 130

[156] Zhang Z.F and Smith J.E. Visualisation of DNAPL fingering processes and mechanisms in water-saturated porous media. *Transport in porous media*, 31, 2002. 10

[157] Zobell. The effect of solid surfaces upon bacterial activity. *Journal of bacteriology*, 41 :39–56, 1943. 1