

# EVALUATION DE LA POLLUTION D'UN MILIEU MARIN PAR LES HYDROCARBURES PÉTROLIERS ET LA DECONTAMINATION PAR BIODÉGRADATION MICROBIENNE

Z. Ghnim-Khedir <sup>1</sup>, J. Cheriaa <sup>2</sup>, M. Hammami <sup>3</sup> et D. Saidane <sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Physiologie Faculté de Pharmacie, Monastir, Tunisie

<sup>2</sup> Laboratoire de Microbiologie Faculté de Pharmacie, Monastir, Tunisie

<sup>3</sup> Laboratoire de Biochimie Faculté de Médecine, Monastir, Tunisie

## Résumé

L'objet de cette étude est d'évaluer la décontamination d'un milieu marin pollué avec des hydrocarbures pétroliers par la biodégradation bactérienne. Des échantillons d'eau ont été collectés à partir de la raffinerie (STIR) de Bizerte en Tunisie, d'autres du milieu environnant. L'étude organique des hydrocarbures (HC) réalisée sur les échantillons montre : que le traitement effectué par la raffinerie ne permet pas d'éliminer les HC et que la biodégradation est responsable en grande partie de l'élimination des HC légers. L'identification des bactéries actives sur les HC montre la présence des bactéries du genre Burkholderia, Pseudomonas, Brevundimonas, Acinetobacter, Serratia à côté des bacilles Gram+ sporulés.

**Keywords :** petroleum, sea water, bacteria, pollution

Les hydrocarbures (HC) pétroliers libérés dans le milieu marin, auront des conséquences graves aussi bien sur le plan économique que sur le plan écologique, en causant souvent la dégradation des écosystèmes. Une fois libérés, le devenir de ces HC sera fonction des différents facteurs abiotiques et biologiques (1).

Certaines études ont montré que plusieurs espèces bactériennes ont la capacité de biodégrader les composés pétroliers en les utilisant comme source de carbone et d'énergie (2). C'est dans ce cadre que cette étude a été entreprise afin de déterminer le degré de pollution marine causée par la raffinerie (STIR) de Bizerte en Tunisie, qui utilise l'eau de mer pour le nettoyage de ses réservoirs ainsi que ceux des bateaux. Cette étude a aussi pour but d'évaluer la décontamination du milieu marin par la biodégradation bactérienne.

Plusieurs échantillons ont été collectés à partir de la raffinerie elle-même à savoir les eaux des bassins de décantation et l'eau de rejet. Des échantillons sont aussi collectés du milieu environnant : l'eau de mer, l'eau interstitielle, les sédiments marins ainsi que l'eau de mer d'une station située à quelques kilomètres du milieu de rejet. Une étude organique a été réalisée sur tous les échantillons, elle consiste à faire une extraction des (HC) par un solvant organique le chloroforme, un fractionnement de l'extrait chloroformique par chromatographie en phase liquide sur colonne en silice. L'étude organique se termine par une étude qualitative des (HC) saturés et insaturés non aromatiques par chromatographie en phase gazeuse.

Les résultats obtenus montrent que tous les échantillons présentent des teneurs en HC totaux assez élevées allant jusqu'à 92 ppm pour les sédiments marins. L'examen des pourcentages pondéraux des fractions constituant l'extrait chloroformique montre une grande richesse en HC légers (toujours > 70 %) par rapport aux composés lourds (toujours < 30 %) (voir tableau 1), on peut conclure que les (HC) présents dans ces échantillons ont nécessairement une origine pétrolière (3).

L'étude qualitative des HC saturés et insaturés non aromatiques par chromatographie en phase gazeuse permet d'identifier une distribution régulière des n-alcanes montrant une décroissance des plus légers vers les plus lourds rappelant le chromatogramme d'un pétrole brut (4). Par conséquent le traitement de l'eau de rejet réalisé par la raffinerie ne permet pas de la décontaminer.

L'évaluation de la biodégradation bactérienne des HC pétroliers a été réalisée au laboratoire en effectuant une étude organique quantitative et qualitative des HC sur une 2ème portion des échantillons de départ placés à l'air libre pendant une période de 3 mois.

Les résultats obtenus montrent une diminution importante des teneurs en HC totaux pour tous les échantillons (10 ppm à 86 ppm) et une chute des pourcentages pondéraux de la fraction légère (HC saturés et insaturés non aromatiques et aromatiques) qui varie de 0 % à 54 % par rapport à la fraction lourde (résine et asphaltène) qui varie de 47 % à 100% (voir tableau 1).

Ces données permettent désormais de conclure que les micro-organismes et en particuliers les bactéries attaquent principalement la fraction légère alors que la fraction lourde n'est pas significativement utilisée.

L'analyse des chromatogrammes des HC saturés et insaturés non aromatiques montre en premier lieu la présence des "humps" représentatifs des UCM au niveau des n-alcanes moyens à lourds traduisant l'intervention d'une activité microbienne (5), on remarque aussi une

**Tableau 1: Teneurs en HC totaux (HCT) exprimées en ppm, HC saturés et insaturés non aromatiques (HCS) exprimées en % des (HCT), HC aromatiques (HCA) exprimées en % des (HCT) et composés lourds (NSO) exprimées en % des (HCT) dans les échantillons.**

- Eau du 1<sup>er</sup> bassin : eau du 1<sup>er</sup> bassin de décantation.

- Eau de mer (1) : eau de mer du milieu de rejet.

- Eau de mer (2) : eau de mer d'une station située à quelques kilomètres du milieu de rejet.

- Eau interstitielle : eau interstitielle des sédiments marins.

	Teneurs initiales en HC				Teneurs en HC 3 mois plus tard			
	HCT en ppm	HCS en 10 <sup>4</sup> g	HCA en 10 <sup>4</sup> g	NSO en 10 <sup>4</sup> g	HCT en ppm	HCS en 10 <sup>4</sup> g	HCA en 10 <sup>4</sup> g	NSO en 10 <sup>4</sup> g
Eau du 1 <sup>er</sup> bassin	30	8	5	2	14	1	0	6
Eau du rejet initial	30	10	2	3	16	0	0	8
Eau du rejet final	38	6	9	4	10	0	0	5
Eau de mer (1)	36	9	4	5	8	3	0	1
Eau de mer (2)	30	10	1	4	10	2	0	3
Eau interstitielle	18	8	1	0	68	1	1	32
Sédiments marins	92	23	15	8	86	23	0	20

dégradation des pics représentatifs des n-alcanes. On peut conclure alors que la biodégradation microbienne est responsable en grande partie des changements chimiques de la composition des HC pétroliers. Ceci est conforme aux résultats de certaines études qui ont montré qu'en culture pure, la biodégradation des HC saturés et insaturés non aromatiques est plus importante que celle des aromatiques. Toutefois, les résines et les asphaltènes (fraction lourde) résistent à l'attaque microbienne (6).

L'identification des bactéries hydrocarbonoclastes actives sur les hydrocarbures a été réalisée à l'aide des galeries biochimiques API 20 E et API 20 NE (bio-Mérieux). Elle montre la présence des bactéries du genre Burkholderia, Pseudomonas, Brevundimonas, Acinetobacter, Serratia à côté des bacilles Gram+ sporulés.

## Références

- 1 - Harayama S, Kishira H, Kasai Y, et Shutsubo K., 1999. Petroleum biodegradation in marine environments. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.*, 1(1) : 63-70.
- 2 - Chaîneau C. H., Morel J., Dupont J., Bury E., Oudot J., 1999. Comparison of the fuel oil biodegradation potential of hydrocarbon-assimilating microorganisms isolated from a temperate agricultural soil. The science of the total environment, 227: 237-247.
- 5 - Albrecht P., Datillung M., Corbert B. et Riolo J., 1983. Etude de l'origine et de la transformation des marqueurs moléculaires dans les sédiments marins profonds. D'ORGON A MISSADOR. (Rapport de synthèse). Ed. CNRS. Paris pp: 407-420.
- 6 - Mille G. Yan Yu Chen et Du H., 1982. Hydrocarbures présents dans des sédiments superficiels méditerranéens (zone côtière Os/mer - Monaco). VIème journée. Etud. Pollution, Cannes. CAEM.: pp 191-198.
- 7 - Gramby K. et Spliid N. H. (1995) - Hydrocarbons and organochlorines in common mussels from the kattaegat and the belts and their relation to condition indices. *Marine pollution bulletin*. Vol. 30 (1) : 74-82.
- 8 - Oudot J., Merlin F. X. et Pinvicic P., 1998. Weathering rates of oil components in a bioremediation experiment in estuarine sediments. *Marine environmental research*, Vol. 45 (2) : 113-125.