

TRAITEMENT BIOLOGIQUE DES MILIEUX AQUATIQUES CONTAMINÉS PAR LES HYDROCARBURES AROMATIQUES POLYCYCLIQUES

BIOLOGICAL TREATMENT OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS CONTAMINATED WATER

Fatma zohra MESBAIAH. *Laboratoire de génie chimique, Dép^t Chimie Industrielle. Univ. SAAD Dahlab Blida, Algérie. Centre national de la recherche et de développement de la pêche et l'aquaculture, Bou-Ismaïl, Algérie. fatmazohra-env@hotmail.fr*

Abdelmalek BADIS. *Laboratoire de biochimie et microbiologie Département de Chimie Industrielle. Univ. SAAD Dahlab. Blida. Algérie. badisabdelmalek@yahoo.fr*

RESUME : Le potentiel biodégradatif de la souche K1C, aérobie thermophile, isolée à partir d'un sol sableux contaminé par le pétrole brut, de la région de Hassi-Messaoud (Algérie); sélectionnée comme souche performante pour la dégradation d'anthracène a été étudié. Les résultats obtenus montrent que la dégradation des deux hydrocarbures (anthracène et naphthalène) est possible dans un milieu acide, la souche sélectionnée supporte des concentrations en sel (NaCl) arrivant à 100 g/l. Le meilleur taux de dégradation est obtenu lorsque la température est de 45°C. Le suivi de dégradation des deux contaminants dans l'eau de mer a montré que la dégradation du naphthalène et d'anthracène est possible même en présence d'autres composés comme source du carbone et d'énergie.

Mots clés : Biodégradation, Anthracène, Naphthalène, Bactérie Thermophile, Hydrocarbures aromatiques polycycliques.

ABSTRACT: The biodégradatif potential of aerobic thermophilic strain K1C isolated from crude oil contaminated soil (Hassi Massoud, Algeria), selected as effective strain for anthracene degradation was studied. The results show that the degradation of two hydrocarbons (naphthalene and anthracene) is possible in an acidic medium; the selected strain supports concentrations of salt (NaCl) reaching 100 g / l. The best degradation rate is obtained when the temperature is 45 ° C. Monitoring degradation of contaminants in seawater showed that degradation of naphthalene and

anthracene is possible even in the presence of other compounds as a source of carbon and energy.

Keywords: Biodegradation, Anthracene, Naphthalene, Thermophilic strain, HAP

INTRODUCTION

L'importance du trafic pétrolier maritime, le développement de l'exploitation offshore, l'implantation littorale d'unités de raffinage et du secteur industriel sont autant des causes chroniques ou accidentelles de rejets d'hydrocarbures dans les milieux aquatiques.

Les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) regroupent un ensemble très vaste de composés organiques constitués de deux à sept cycles aromatiques. Ils sont formés en mélange et ont trois origines principales : pyrolytique (combustion de matériel organique par les industries, transports, incinérateurs, incendies), pétrogénique (introduction dans l'environnement à partir de produits pétroliers et dérivés) et diagénétique (formation naturelle du pétrole).

La toxicité des HAP est reconnue et ces substances sont classées cancérigènes, mutagènes et reprotoxiques. Outre leur caractère ubiquiste, leur forte toxicité justifie leur classement en Polluant Organique Persistant et leur inscription comme substances prioritaires sur les listes de la Commission Européenne, de l'Agence de Protection de l'Environnement des Etats-Unis et de l'Organisation Mondiale de la Santé (Marchand, *et al*, 1996).

Le naphthalène et l'anthracène sont des composés potentiellement dangereux, ils sont généralement utilisés comme des modèles des HAP à cause de leur forte détection dans les trois compartiments de l'environnement (Bisht *et al*, 2010).

Différentes solutions ont été proposées pour traiter les milieux contaminés par les HAP ; des procédés physiques et chimiques tels que stripping, La flottation, le lavage, la désorption thermique, l'extraction par solvant, l'oxydation avancée, l'ultrason et le traitement électrochimique (Fritsche et Hofrichter, 2008). Les procédés chimiques doivent être rigoureusement testés afin de déterminer la quantité de réactif à utiliser, et éviter qu'il se trouve en défaut ou en excès. Il est primordial de bien connaître les propriétés des milieux afin d'éviter les risques de réactions secondaires qui mèneraient à la formation de nouveaux polluants.

Par voie de conséquence, les recherches actuelles s'orienteront vers l'élimination des HAP par les bioprocédés d'où l'intérêt de ces nouvelles techniques réside surtout dans son aspect non polluant, et l'absence de sous produits chimiques (Lan, 2009).

Les conditions environnementales jouent un rôle très important dans le contrôle de la croissance et l'activité bactérienne durant la biodégradation du naphthalène, par conséquent, il est très important d'étudier l'effet des facteurs physico-chimiques sur la biodégradation des HAP pour une implantation de la biodégradation comme une technologie de bioremédiation (Patel, 2012).

L'objectif de ce travail est d'étudier l'effet de ces facteurs sur la croissance bactérienne et la biodégradation du naphthalène et d'anthracène par une souche bactérienne isolée localement à partir d'un sol contaminé par le pétrole brut. Un suivi de la biodégradation a été effectué dans l'eau de mer artificiellement contaminée par le naphthalène et l'anthracène, en vue d'une application de la biodégradation des hydrocarbures en milieu marin.

MATERIEL ET METHODES

La souche bactérienne utilisée dans cette étude a été isolée à partir d'un sol anciennement contaminé par le pétrole brut dans la région de Hassi Messaoud (Algérie), par l'ensemble des chercheurs impliqués dans le projet « Etude du potentiel biodégradatif des souches isolées à partir de sols contaminés par le pétrole brut de la région de Hassi-Messaoud : biodégradation des hydrocarbures et production de biosurfactant » (Eddouaouda *et al*, 2012).

Milieu et conditions de culture

Les tests de biodégradation ont été réalisés dans des flacons de 250 ml qui contiennent 100 ml de milieu de base, additionné de la source de carbone (naphthalène ou anthracène : 100 mg/l) et d'inoculum bactérien, l'incubation a été à 45°C sous une agitation de 150 tr/min.

Biodégradation des HAP

L'influence de différents paramètres de culture sur la croissance de la souche utilisée et sur la biodégradation de naphthalène et d'anthracène a été étudiée. La concentration du substrat, le pH du milieu et la salinité ont été testés.

Les conditions de culture sont résumées comme suit : la concentration de naphthalène (50 ; 100 ; 150mg/l), la concentration

d'anthracène (25 ; 50 ; 100mg/l), le pH du milieu (2.5, 4, 5.5, 7, 8.5, 10 et 11.5), la concentration de sel (0, 1, 2, 4, 6, 8 et 10%). Les milieux ont été inoculés par la souche K1C et incubés à 45°C sous une agitation de 150 tr/min.

Biodégradation du naphthalène et d'anthracène dans l'eau de mer

Deux échantillons de l'eau de mer ont été prélevés, le premier à partir d'une plage (moins contaminé par les hydrocarbures) et le deuxième à partir d'un port (contaminé par les hydrocarbures), ces deux échantillons ont été stérilisés et contaminés artificiellement par le naphthalène et l'anthracène (concentration ajoutée est de 100 mg/l). Les milieux ont été inoculés et incubés à T=45 °C sous une agitation de 150tr/min.

Détermination de la concentration résiduelle des HAP

L'anthracène et le naphthalène résiduel est quantifié par UV-VIS (6800 UV-VIS JENWAY) à une longueur d'onde égale à 293 nm et 266 nm respectivement, avec une cellule en quartz de 10 mm. La longueur d'onde est fixée après un balayage de trois solutions des HAP dans différents solvants à savoir : le méthanol, l'hexane, l'acétate d'éthyle

Ces analyses sont confirmées par CPG après extraction avec le même volume d'hexane, l'échantillon subit ensuite une agitation pendant 5min par le vortex pour dissoudre les HAP dans l'hexane, centrifugé à 5000 tr/min pendant 10 min. La courbe d'étalonnage est préparée par des solutions d'anthracène et du naphthalène dans l'hexane.

RESULTATS ET DISCUSSION

Plusieurs études ont montré que la biodégradation des hydrocarbures dépend des conditions environnementales comme le pH, la salinité et la température. Ces derniers peuvent influencer la biodégradation par l'inhibition de la croissance bactérienne (Lin *et al*, 2010)

Effet de la concentration du substrat

La concentration d'hydrocarbure joue un rôle très important dans le processus de la biodégradation, l'effet de la concentration initiale d'anthracène et du naphthalène est représenté dans la figure 1.

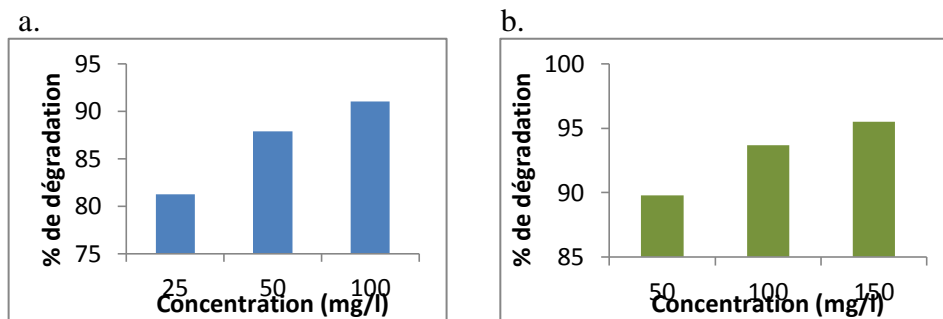


Fig. 1. Effet de la concentration initiale sur le taux de dégradation après 48h d'incubation (a : anthracène, b : naphthalène)

Ces résultats montrent que l'efficacité de dégradation est proportionnelle à la quantité du substrat ; plus la quantité est élevée plus le taux d'élimination augmente. Des études rapportent que les concentrations élevées des HAP ont un effet positif sur la croissance des bactéries car ces derniers sont la seule source de carbone, par contre les faibles concentrations sont un facteur limitant pour la croissance bactérienne (Othman *et al*, 2009), la présence d'une concentration moyenne du naphthalène ou d'anthracène dans le milieu provoque une force motrice importante pour réduire la concentration du substrat, de le solubiliser pour l'utiliser comme source de carbone nécessaire pour la croissance bactérienne (Lin *et al*, 2010).

Effet de la salinité

Vu les grandes variétés en sel dans les sites contaminés (mers, lacs, différents types de sols) et l'effet de ce paramètre sur la physiologie du microorganisme en affectant l'efficacité de la biodégradation. L'effet de ce paramètre a été étudié et les résultats sont regroupés dans la figure 2.

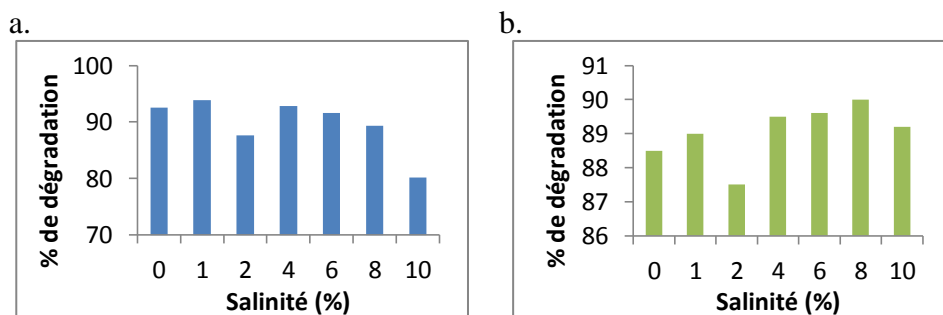


Fig. 2. Effet de la salinité sur le taux de dégradation après 48h d'incubation (a : anthracène, b : naphthalène)

Dariush Minai-Tehrani *et al*, 2009 ont rapporté que la salinité optimale de dégradation dépend de l'hydrocarbure à dégrader ; la biodégradation de pétrole brute est élevée en absence de sel alors que la dégradation du mélange d'hydrocarbures est optimale à 1%.

La souche K1C montre une bonne résistance à des concentrations en sel très importantes arrivant à 100g/l, ce qui favorise l'utilisation de cette souche dans la bioremédiation des milieux extrêmes.

Effet du pH

Le pH est un indicateur d'acidité qui lorsqu'il est réduit ou élevé peut affecter le processus de biodégradation. Généralement les bactéries hétérotrophes sont neutrophiles, la figure 3 montre l'influence du pH sur la biodégradation du naphtalène et d'anthracène.

Le pourcentage de réduction le plus élevé est révélé lorsque le pH du milieu est de 7, ce qui confirme que la croissance des bactéries hétérotrophes est favorisée par un pH proche de la neutralité ou légèrement basique (Othman, 2009 et Lin *et al*, 2010).

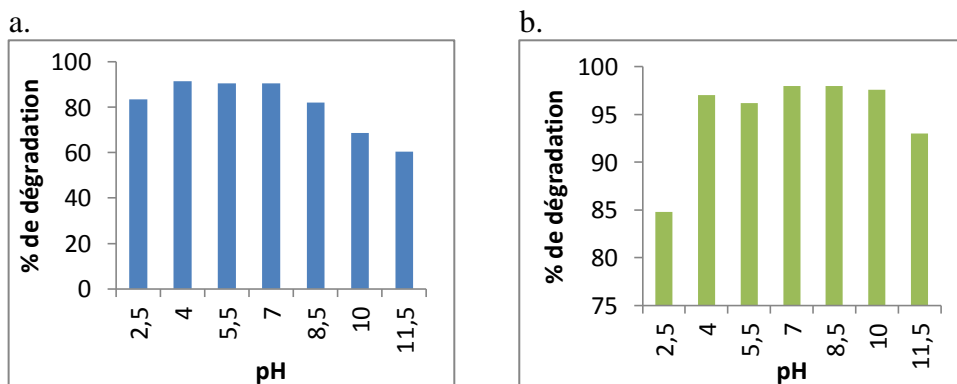


Fig. 3. Effet du pH sur le taux de dégradation après 48h d'incubation (a : anthracène, b : naphtalène).

Biodégradation des HAP dans l'eau de mer

Les milieux aquatiques et en particulier le milieu marin sont les plus exposés à la pollution par les hydrocarbures, et comme l'eau de mer est pauvre en éléments nutritifs et présente une forte salinité, seules des souches bactériennes spécifiques qui peuvent supporter les conditions du milieu et dégrader les hydrocarbures (Fig.4).

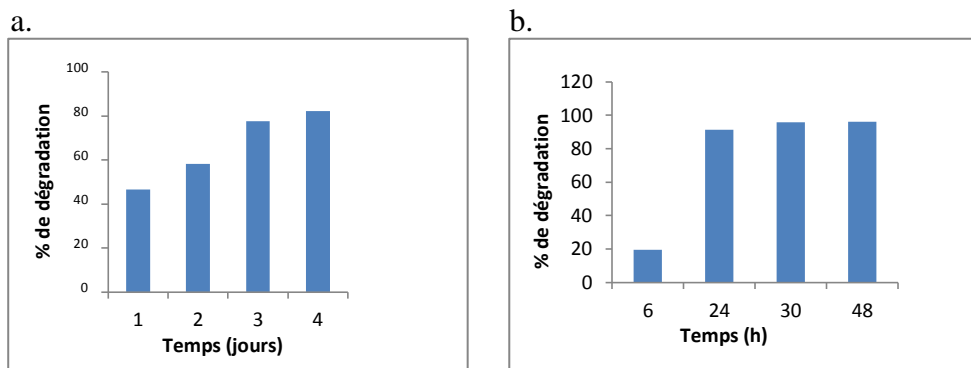


Fig. 4. Biodégradation d'anthracène (a) et du naphtalène (b) par la souche K1C dans l'eau de mer

Les résultats montrent que la souche K1C dégrade les deux substrats dans l'eau de mer, Le pH initial du milieu est de 8 et une salinité de 3,6%, et d'après nos résultats présentés avant, ces conditions sont incluses dans la gamme optimale de l'activité de la souche K1C.

CONCLUSION

La biodégradation des hydrocarbures est un processus complexe qui dépend de la nature et des quantités d'hydrocarbure présentes, des conditions environnementales et de la composition des communautés microbiennes.

Les résultats obtenus montrent que le naphtalène et l'anthracène sont dégradés par la souche K1C, une souche thermo-halophile isolée localement à partir d'un sol contaminé par le pétrole brut.

La biodégradation du naphtalène et d'anthracène dans des conditions extrêmes du pH et salinité est possible à cause de la résistance de la souche K1C : $4 \leq \text{pH} \leq 10$ est $0 \% \leq \text{salinité} \leq 10\%$.

La souche K1C résiste bien aux conditions environnementales du milieu marin, une bonne croissance bactérienne a été observée accompagné par une dégradation du naphtalène et d'anthracène dans le milieu ce qui favorise l'utilisation de cette souche dans la bioremédiation des milieux extrêmes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bisht.S, Pandey.P, Sood.A, Sharma.S, Bisht .N. S. (2010) *Biodegradation of naphthalene and anthracene by chemo-tactically active rhizobacteria of populus deltoids*. Brazilian Journal of Microbiology. 41, 922-930.
- Dariush M.T., Saeed M & Herfatmanesh A. (2009) *Effect of Salinity on Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) of Heavy Crude Oil in Soil*. Bull Environ Contam Toxicol. 82:179–184
- Eddouaouda k., Mnif S., Badis A, Ben Younes S., Cherif S., Ferhat S., Mhiri N, Chamkha M & Sayadi S. (2012). *Characterization of a novel biosurfactant produced by Staphylococcus sp. strain 1E with potential application on bioremediation of hydrocarbons contaminated sites*. Journal of Basic Microbiology. 51, pp. 1-11.
- Fritsche, W. and Hofrichter, M. (2008) *Aerobic Degradation by Microorganisms*, in Biotechnology: Environmental Processes II, Volume 11b, Second Edition, (eds H.-J. Rehm and G. Reed), Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, Germany.
- Lan H. T. (2009) *Destruction par voie électrochimiques d'hydrocarbures aromatiques polycycliques contenus dans des matrices fortement contaminées*. Thèse de doctorat. Univ. Québec. Canada.
- Lin .C, Gan.L & Chen.Z-L, (2010) *Biodegradation of naphthalene by strain Bacillus fusiformis (BFN)* .Journal of Hazardous Materials 182. pp 771–777.
- Marchand M, Kantin R. (1996) *Contaminants chimiques en milieux aquatiques. Comportement des substances selon les modes de contamination chroniques ou accidentels (2e partie)*. Océanis, Documents océanographiques; 22 : 275-400
- Othman.Z, Noor Hana Hussain.N.H, Abd Karim A.T, Abdul-Talib.S (2009) *Isolation and Optimization of Napthalene Degradative Bacteria*. International Conference on Sustainable Infrastructure and Built Environment in Developing Countries November, 2-3 Bandung, West Java, Indonesia
- Patel V, Jain S & Madamwar D (2012) *Naphthalene degradation by bacterial consortium (DV-AL) developed from Alang-Sosiya ship breaking yard, Gujarat, India* Bioresource Technology 107, 122-130.

&&&&&