



## BIODEGRADATION DES HYDROCARBURES EN EAU DE MER : CAS DE LA NAPHTA B♦

**Nafissa Boutefnouchet\*, Noureddine Bouzerna, Chettibi Houria**

*Faculté des Sciences, Département de Biochimie, Université Badji  
Mokhtar, B.P. 12, El-Hadjar, Annaba (23200), Algérie,*

\*Correspondance : Tel/Fax : +213-38-87-67-65, E-mail: Boutefnaf@yahoo.fr

**Abstract:** Pollution of Mediterranean Sea with oil derived hydrocarbons is a public health problem. Among the numerous oil refineries located at the seacoast, the oil refinery of Skikda, in the north-eastern Algeria, no. 3 in the world as magnitude, is the object of the present study. The aim of the work is pollution prevention by biological means, mainly by biodegradation using selected microorganisms with high efficiency in the effluents treatment and accidental oil spills in marine waters.

**Keywords:** *biodegradation, hydrocarbons, microorganisms.*

**Résumé:** La pollution de la méditerranée par les hydrocarbures d'origine pétrolière est un problème de santé publique. Parmi de nombreuses raffineries qui sont situées le long des cotes de la méditerranée, la raffinerie de Skikda au Nord-est de l'Algérie, classée troisième dans le monde a fait l'objet de notre étude. Le but de ce travail est la lutte contre la pollution en utilisant des moyens biologiques représentés par le phénomène de biodégradation et ceci par la sélection de microorganismes efficaces dans le traitement des effluents et des nappes d'hydrocarbures en cas d'accidents pétroliers en eau de mer.

**Mots clés :** *biodégradation, hydrocarbures, micro-organismes.*

---

♦ Paper presented at **COFrRoCA 2006: Quatrième Colloque Franco-Roumain de Chimie Appliquée**, 28 June – 2 July, Clermont-Ferrand, France

## INTRODUCTION

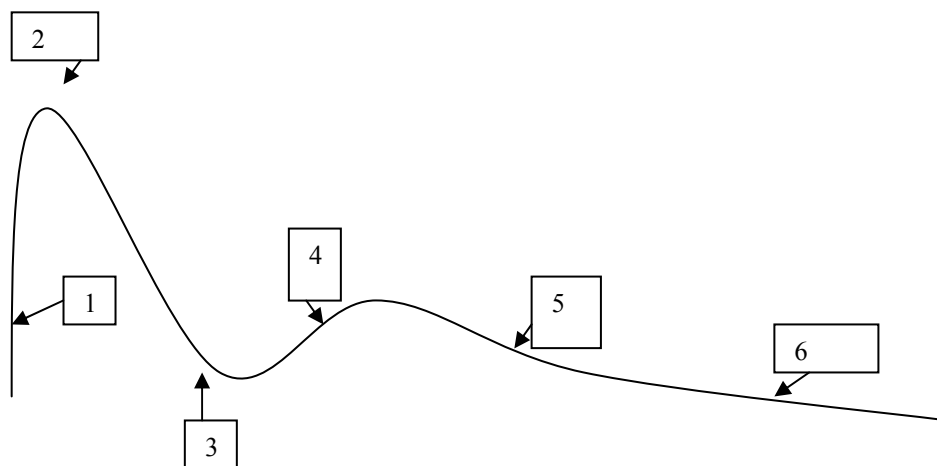
Les merveilleuses plages tout au long des cotes nord-est algérienne sont une caractéristique de la province de Skikda (ex-Philippeville). Cependant, à proximité de ces plages se trouve une implantation d'un énorme complexe d'hydrocarbures qui a été construit il y'a trois décades et est devenu par la suite un des plus grandes raffineries mondiales. Les déchets toxiques dus aux activités immanentes de ce complexe et la présence permanente de grands bateaux de transport de produits pétroliers peuvent créer en cas d'accidents des catastrophes écologiques irréparables. Ainsi, les régulations environnementales imposées par la communauté internationale [1] doivent être strictement respectées par toutes les activités industrielles.

Nous avons réalisé un travail qui a porté sur l'étude de l'impact des effluents chimiques et les rejets du complexe sur les plages limitrophes de la ville de Skikda (Algérie) [2]. L'objectif de cette étude est l'isolement des microorganismes capables d'éliminer les dégâts causés par les nappes pétrolières ou les déchets du complexe [3, 4] ; ceci va contribuer à aider les autorités concernées de prendre des mesures correctives si nécessaire dans le futur.

## METHODES, STATIONS D' ECHANTILLONNAGE

Les prélèvements effectués ont ciblé deux stations différentes :

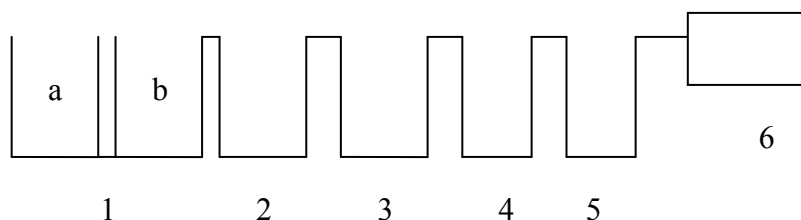
La station 1 : La baie de Skikda à différents endroits (voir schéma 1).



**Schéma 1.** Zone Littoral de la baie de Skikda

1-Port de la pêche situé à Stora. 2-Ancien port situé au centre ville. 3-Nouveau port situé à l'entrée de la zone industrielle. 4-Sortie des effluents du complexe pétrochimique de Skikda. 5- Station de baignade. 6-Marsa des platanes.

Station 2 : Les différents bassins de l'unité de traitement des effluents de la raffinerie de Skikda (voir schéma 2).



**Schéma 2.** *Schéma récapitulatif des différents bassins de l'unité de traitement des effluents de la raffinerie de Skikda*

**1** - Premier bassin recevant les effluents des différentes unités, composés de deux compartiments **a** et **b**, munis d'un grillage à l'entrée qui permet de maintenir les gros éléments, c'est la première étape de traitement des effluents : le dégrillage. **2** - Bassin de décantation primaire, muni d'un racleur, afin de racleur les dépôts du fond et le rejeter par dessous. **3** - Bassin de floculation, ou on traite les effluents par des poly-électrodes, sulfate de fer et la chaux, pour activer le traitement mécanique. **4** - Bassin microbiologique muni d'un aérateur pour assurer l'oxygénation du milieu, alimenté d'une source d'eau sanitaire. **5** - Bassin de décantation secondaire toujours en liaison avec le bassin 4. **6** - Les filtres de sable.

### **Méthode de prélèvement**

Les échantillons liquides ont été réalisés au niveau de chacune des stations dans des flacons de 250 mL à 500 mL. Les échantillons solides sont pris par carottage à l'aide d'une spatule ou un râteau et déposés dans des boîtes en verre tapissées de papier aluminium ; la masse de l'échantillon est de 100 g par boîte. Les échantillons sont transportés dans une glacière pour éviter la multiplication des micro-organismes et le phénomène de photooxydation de la matière organique.

### **Dénombrement de la microflore totale**

La recherche et le dénombrement de la microflore totale se réalise à deux températures différentes afin de cibler à la fois les micro-organismes à tendance psychrophiles soit à 20 °C et ceux mésophiles soit à 37 °C [5].

### **Recherche et dénombrement des coliformes totaux**

La recherche et le dénombrement des coliformes ainsi que l'identification d'*E.coli* ont été réalisés selon la technique de la colimétrie en milieu liquide qui fait appel à deux tests consécutifs à savoir :

- Test de présomption réservé à la recherche des coliformes totaux
- Test de confirmation réservé à la recherche des coliformes fécaux
- Le dénombrement s'est effectué suivant la méthode du nombre le plus probable NPP [6].

### **Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux**

La recherche et le dénombrement des streptocoques fécaux ont été faits de la même manière que pour les coliformes avec utilisation de milieu de culture sélectif à l'azoture de sodium.

### Recherche et dénombrement des spores de clostridium sulfito-reductrices

Les clostridiiums sulfito-réducteurs constituent un groupe de bactéries anaérobies caractérisées par la résistance de leurs spores et par un équipement enzymatique réduisant plus au moins activement les sulfites en sulfures. La recherche de ces bactéries est réalisée après destruction des formes végétatives par chauffage à 80°C pendant 10 minutes. Ensuite l'échantillon est incorporé dans un milieu de culture de base fondu additionné de sulfite de sodium et d'alumine de fer permettant la mise en évidence de l'action sulfito-réductrice [6].

### Recherche et identification de bactéries pathogènes spécifiques

Cette recherche est pratiquée en association avec la recherche de germes tests de pollution fécale ; ont été recherchés : *Salmonella*, *Shigella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae* et *Staphylococcus aureus*.

### Isolement et identification des levures et champignons

L'isolement a été réalisé sur milieux spécifiques : gélose sabouraud additionnée d'actidione et de chloramphénicol. L'incubation a été faite à 22 °C pendant 24 à 96 heures voire une semaine. L'examen macroscopique se fait à l'aide d'une loupe binoculaire. La recherche de la pseudofilamentation a été réalisée pour la mise en évidence de champignons caractéristiques de *Candida albicans* [5].

### Techniques complémentaires

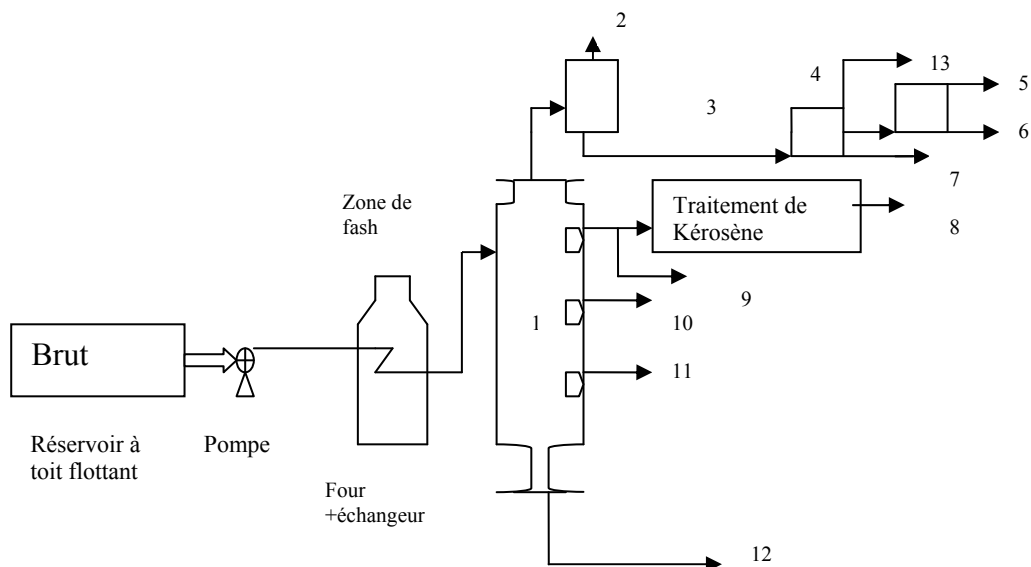
Pour apprécier le phénomène de la biodégradation des hydrocarbures dans l'eau de mer en particulier et également dans le sol nous avons préparé un milieu de culture par de l'eau de mer naturelle pour cela une source de carbone a été choisie ainsi qu'une population microbienne.

### Milieu naturel

Il s'agit de l'eau de mer naturelle prélevée dans une zone non polluée. Une quantité d'un litre est filtrée sur papier Whatman en premier lieu pour éliminer les grandes débris, puis sur filtres millipores 0,45 µm [7, 8]. Ont été ensuite rajoutés du chlorure d'ammonium (2 g/L) comme source d'azote et du phosphate de sodium (0,1 g/L) comme source de phosphore. Agiter magnétiquement ce milieu. Conserver à 4 °C à l'obscurité pendant un mois [9]. Le pH est ajusté à 8.

### Source de carbone

La source de carbone choisie peut être additionnée au milieu de culture est un dérivé du pétrole brut de Hassi Messaoud (extrême sud algérien). Ce dernier a subi une distillation par une unité de distillation atmosphérique comme le montre le Schéma 3.



**Schéma 3. Unité de distillation atmosphérique**

1 - Colonne atmosphérique, 2 - GPL à unité gaz plant, 3 - Essences stabilisées, 4 - Colonne de splitter, 5 - Isopentane au stockage, 6 - n-pentane au stockage, 7 - Naphta C au stockage, 8 - Jet A1 au stockage, 9 - Kérosène au stockage, 10 - Gaz léger au stockage, 11 - Gaz lourd au stockage, 12 - Résidu au stockage, 13 - Naphta B au stockage.

Nous avons souhaité travailler avec du pétrole brut pour se rapprocher plus des conditions réelles d'une pollution accidentelle mais malheureusement les conditions du chromatographe ne sont pas favorables nous avons donc le choix entre la naphta B et la naphta C. Nous avons choisi le naphta B qui va subir d'autres traitements à l'unité magnaforming et les déchets sont rejetés vers la station de traitement des effluents, contrairement à la Naphta C qui va être stocké, la Naphta B contient également une grande variété d'hydrocarbures.

### Populations microbiennes

Quatre populations microbiennes mixtes ont été prélevées à partir de différents biotopes :

- **Population microbienne mixte A (PMA):** a été prélevée à partir bassin microbiologique.
- **Population microbienne mixte B (PMB):** a été prélevée à partir du sol contaminé de la raffinerie.
- **Population microbienne mixte C et D (PMC, PMD):** ont été prélevées respectivement (position 3) et le crique de la sortie (position 4) de l'unité des l'effluents aboutissant directement à l'eau de mer (Schéma 1).

Toutes les populations prélevées à partir de différents biotopes vont être testées indépendamment pour comparer leur efficacité et choisir la meilleur en fonction de son potentiel de biodégradation. Un pré culture est préalablement faite pour les quatre

populations mixtes. Le temps de pré culture varie de 1 à 2 heures ce qui nous permet d'avoir des bactéries en phase exponentielle de croissance.

### **Souches microbiennes pures**

Après avoir isolé les différentes souches microbiennes à partir des quatre populations mixtes, on procède a une purification grâce a des repiquage successifs chacune des souches microbiennes pures et ensuite ensemencée sur des boites de pétri contenant le milieu minéral naturel et la source de carbone Naphta B. L'incubation a été faite à la température ambiante pendant 24 heures et jusqu'à 21 jours à l'obscurité pour éviter le phénomène de photooxydation.

## **RESULTATS**

Au cours de cette étude, nous avons testé l'activité des populations microbiennes mixtes et pures isolées à partir de différents biotopes contaminés ou non par des produits pétroliers.

### **Caractéristiques physiologiques et biochimiques des populations microbiennes isolées**

#### **- Population Mixte A : PMA**

Cette population microbienne a une densité totale de  $1,75.10^6$  cellules à 37 °C et  $2,5.10^4$  cellules à 22 °C. Les différentes souches qui ont été isolées à partir de cette population appartiennent aux genres : *Bacillus*, *Micrococcus*, *Klebsiella*, *Aeromonas*, *Aerobacter*, *Acinetobacter* et *Moraxella*. Les champignons et levures ont été représentés par les genres *Penicillium* et *Candida*. D'une façon globale la population PMA est composée de bactéries dont la majorité sont des bacilles à Gram négatif et ceci a été déjà confirmé par plusieurs auteurs [10, 11].

#### **- Population Mixte B : PMB**

La densité totale de cette population microbienne est de  $5,6.10^6$  cellules à 37 °C et  $3,2.10^5$  cellules à 22 °C. Les différentes souches qui ont été isolées de cette population appartiennent aux genres : *Klebsiella*, *Bacillus*, *Alcaligenes*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Providencia*, *Aerobacter* et *Aeromonas*.

Cette population microbienne est riche en levures et champignons, il s'agit de *Candida*, *Saccharomyces*, *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Fusarium* et *Aspergillus*. Cette richesse en champignons et levures s'explique par le prélèvement à partir du sol (ou) les champignons sont plus actifs qu'en milieu marin. Les points communs pour les populations PMA et PMB s'expliquent par le fait qu'ils reçoivent toutes les deux le même type d'effluents avec une certaine différence, c'est à dire que les hydrocarbures diffèrent lorsqu'ils sont dissous dans un liquide ou concentré dans un sédiment.

### **- Population Mixte C : PMC**

La densité globale de cette population microbienne est de  $6,5.10^5$  cellules à 37 °C et  $4,6.10^4$  à 22 °C. Les différentes souches de cette population appartiennent aux genres *Micrococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium* et *Vibrio*. On remarque que PMC diffère de PMA et PMB qui reçoivent d'autant plus une source d'eau sanitaire qui alimente des bactéries de type entérique. D'autre part PMC dont l'origine est un biotope complètement différent, la composition en éléments nutritifs minérales de ce biotope favorise l'apparition de nouveaux genres bactériens tels que *Pseudomonas*, *Flavobacterium* et *Vibrio*. En ce qui concerne les levures et les champignons ont été isolés les genres *Candida*, *Saccharomyces*, *Penicillium* et *Aspergillus*. Notons que les candidas rencontrés dans les trois populations microbiennes n'appartiennent pas au groupe de *Candida albicans*.

### **- Population Mixte D : PMD**

La densité globale de cette population microbienne est de  $5,2.10^4$  cellules à 37 °C et  $4,4.10^3$  cellules à 22 °C. La composition en genres de cette population est la suivante : *Micrococcus*, *Citrobacter*, *Aerobacter*, *Acinetobacter*, *Providencia*, *Proteus* et *Pseudomonas*. Les levures et champignons sont représentés par *Candida* et *Aspergillus*. Cette population s'approche d'autant plus à la population PMC qu'aux deux autres PMA et PMB, cela peut être du au biotope dont elle provient qui est intermédiaire plus proche à l'eau de mer qu'au sol ou au bac microbiologique.

### **Détermination des souches pures**

Etant donné que la source de carbone est une fraction pétrolière légère, une espèce bactérienne, de levure ou de champignon serait capable à elle seule de dégrader cette source de carbone (naphta B), c'est ce qui nous a orienté à l'isolement et à la purification de différentes souches à partir de quatre populations mixtes et de les tester isolément sur la naphta B. Les souches qui ont été testées sont les suivantes : *Escherichia coli*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Klebsiella*, *Aeromonas*, *Aerobacter*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Proteus*, *Moraxella*, *Providencia*, *Flavobacterium*, *Vibrio*, *Xanthomonas*, *Citobacter*, *Candida*, *Saccharomyces*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Trichoderma* et *Fusarium*. Ces souches ont également été utilisées par plusieurs auteurs [12, 13].

### **La biodégradation**

Dans notre expérience, nous avons réalisé une série de culture non renouvelées dans lesquelles, nous avons mesurés : la perte abiotique (évaporation), le CO<sub>2</sub> produit (minéralisation) et la biomasse (résidu de la biodégradation). Après extraction, le résidu est analysé par chromatographie de partage sur colonne capillaire qui permet la séparation en fractions des hydrocarbures. Les résultats sont obtenus par rapport à des témoins de référence stérilisés, ce qui permet d'éliminer les facteurs de variation non biologique.

### La flore adaptée

Pour la numération de la flore adaptée à la source de carbone choisie, il s'agit d'un ensemencement sur milieu minéral solidifié contenant comme seule source de carbone et d'énergie la Naphta B. Après une période de pré culture de 1 à 2 heures la population microbienne mixte subit le test de biodégradation. La mise en contact de produits pétroliers avec une population microbienne provoque des modifications relatives à la population mixte, en retour, les microorganismes s'adaptent à la biodégradation des hydrocarbures, ils modifient la composition chimique. Il faut donc faire une distinction entre l'adaptation de la souche et la vitesse de biodégradation pour le microorganisme. Les résultats du tableau 1 nous montre réellement une augmentation de la flore adaptée par rapport à la flore totale au début de la biodégradation, juste après la pré culture, puis une diminution à la fin du temps de biodégradation.

**Tableau 1.** *Enumération des micro-organismes actifs sur les hydrocarbures*

Populations mixtes	Début	Fin
PMA	$1,2.10^4$	$5,0.10^1$
PMB	$8,8.10^5$	$2,3.10^3$
PMC	$1,6.10^5$	$3,0.10^2$
PMD	$2,0.10^5$	$1,0.10^2$

### Témoin stérile

Le témoin stérile ne contient que le milieu minérale, une source de carbone et de l'azide de sodium pour éviter l'évaporation [14, 15]. L'analyse chromatographique de la source de carbone dissoute dans le milieu minérale montre une différence remarquable dans sa composition en hydrocarbures comparé avec celle de la Naphta B pure comme le montre les tableaux 2 et 3. On remarque la disparition de certains composants (CSOC<sub>4</sub>, orthoxylène, C<sub>9</sub> aromatique, et nC<sub>10</sub>) et l'augmentation d'autres composants (nC<sub>6</sub>, methylcyclopentane et naphtène C<sub>7</sub>) ainsi que la diminution de (isoC<sub>5</sub>, nC<sub>5</sub>, isoC<sub>8</sub>, toluène, les xylènes, naphtène C<sub>9</sub>, l'éthylbenzene, et nC<sub>9</sub>).

### Analyse gravimétrique

Nous avons procédé à l'analyse gravimétrique en fonction du temps pour chaque population microbienne mixte et chaque souche pure. Une extraction à l'aide du chloroforme du résidu total est la pesée de ce dernier pour chaque essai nous donnent les résultats rapportés dans le tableau 4. Nos essais ont été réalisés à une concentration de 1000 ppm soit 1 mg/mL d'hydrocarbure au départ.

Le taux d'hydrocarbure du témoin est de 685 ppm ce qui donne une pourcentage d'évaporation de l'ordre de 31,5 %. Cette valeur est prise en considération lors des calculs des pourcentages de biodégradation pour chaque population microbienne mixte et chaque souche pure. A partir du tableau 4 nous avons évalué le pourcentage de biodégradation en prenant en considération celui de 31,5 %. Le tableau 5 nous révèle les valeurs du taux de biodégradation pour les populations mixtes qui s'échelonnent de 46 % à 68 % pour un temps d'incubation qui varie de 2 à 21 jours et dans les mêmes conditions s'échelonnent entre 5 % et 65 % pour les souches pures.



**Tableau 2. Différentes sources de carbone exprimé en % poids**

Composants	Naphta B	Naphta C
iso C <sub>4</sub>	0.014	0.002
nC <sub>4</sub>	0.350	0.076
iso C <sub>5</sub>	2.035	0.635
nC <sub>5</sub>	4.280	1.488
Iso C <sub>6</sub>	5.650	3.214
Cyclopentane	0.290	0.165
nC <sub>6</sub>	7.073	5.533
Methylcyclopentane	2.160	2.097
iso C <sub>7</sub>	9.282	9.169
Cyclohexane	2.191	10.328
Benzène	1.380	0.958
Naphtène C <sub>7</sub>	11.494	10.288
nC <sub>7</sub>	12.143	8.308
iso C <sub>8</sub>	10.272	2.642
Naphtène C <sub>8</sub>	6.044	8.320
Toluène	3.024	6.857
nC <sub>8</sub>	6.390	0.723
iso C <sub>9</sub>	5.712	3.118
Ethylbenzène	0.916	10.288
Naphtène C <sub>9</sub>	2.360	5.874
(P+O+M) xylène	2.605	1.796
nC <sub>9</sub>	2.137	-
C <sub>9</sub> aromatique	0.660	0.267
iso C <sub>10</sub>	1.454	0.752
nC <sub>10</sub>	0.083	11.614
Naphtène C <sub>10</sub>	-	2.567

**Tableau 3. Composition de Naphta B témoin**

Composants	% Poids
nC <sub>4</sub>	0.21
iC <sub>5</sub>	0.23
nC <sub>5</sub>	0.36
iC <sub>6</sub>	1.03
CP(Cyclopentane)	0.23
nC <sub>6</sub>	25.10
MCP(Methylcyclopentane)	10.65
iC <sub>7</sub>	10.67
Benzène	7.80
Cyclohexane	3.60
Naph C <sub>8</sub>	6.78
nC <sub>7</sub>	7.32
iC <sub>8</sub>	6.12
Toluène	0.54
NPph C <sub>8</sub>	5.80
nC <sub>8</sub>	4.37
iC <sub>9</sub>	4.70
Ethylbenzène	0.20
(P+M) Xylène	0.43
Naph C <sub>9</sub>	0.53
nC <sub>9</sub>	1.53
iC <sub>10</sub>	1.62

**Tableau 4.** Taux en (ppm) d'hydrocarbures et de CO<sub>2</sub> pour chaque population microbienne mixte en fonction du temps

Temps (jours)		2 jours	6 jours	8 jours	15 jours	21 jours
PMA	Hydrocarbures	160± 5	93±2	52±1.73	23±2	12±2.64
	CO <sub>2</sub>	320±20	510±17.32	673.34±	833±11.78	100±10
PMB	Hydrocarbures	223.34±9.45	190.67±5.5	107 ±	42±2	15.67±4.04
	CO <sub>2</sub>	406.47±20.8	780.0±10	930±	1016.67±28.86	1333.34±152.75
PMC	Hydrocarbures	73.67±5.03	28.34±1.52	18.67±	9.34±0.57	5±1
	CO <sub>2</sub>	683.34±30.55	810.0±50	950±	1266.67±15.27	1473.34±25.16
PMD	Hydrocarbures	130±10	76±4	20±	9±1	3±1
	CO <sub>2</sub>	420±0	823.34±20.81	1066.67±	1400±0	1820±72.11

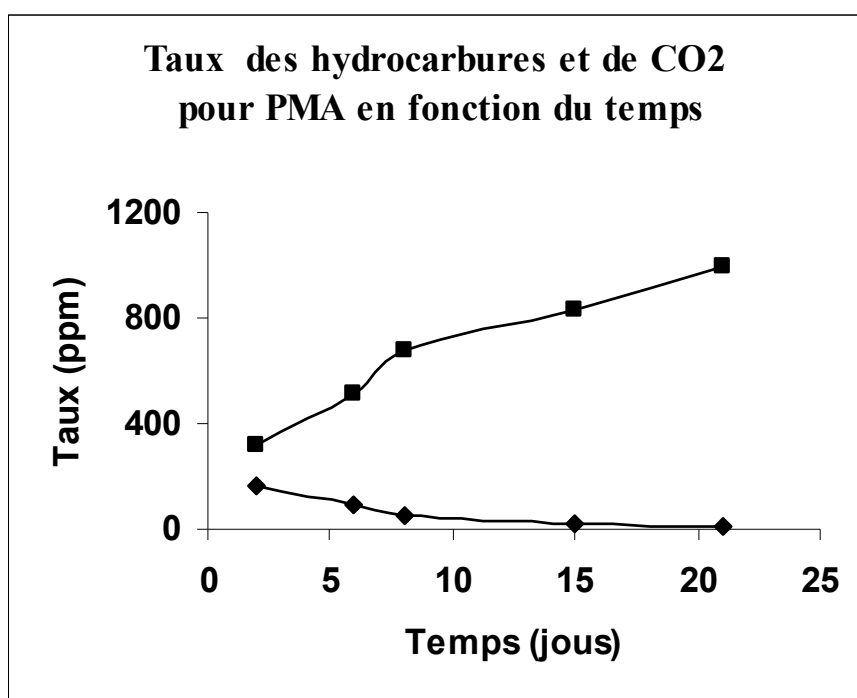
**Tableau 5.** Pourcentage de biodégradation des différentes populations microbiennes mixtes et souches pures

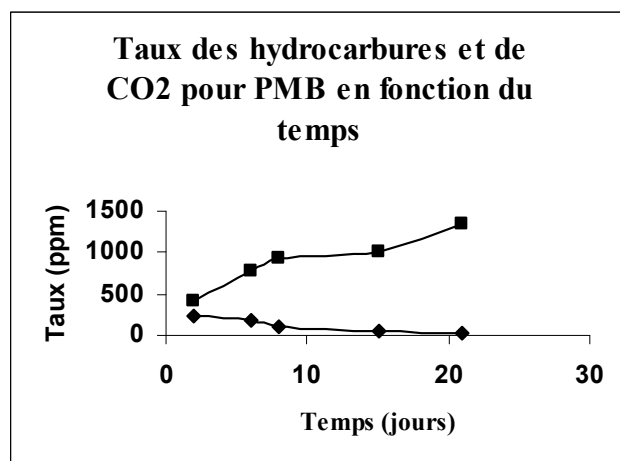
Populations microbiennes	Temps (jours)				
	2	6	8	15	21
PMA	52.5	59.2	63.3	66.2	67.3
PMB	46.2	49.4	57.8	64.3	66.9
PMC	61.1	65.7	66.6	67.5	68.0
PMD	55.5	60.9	66.5	67.6	68.2
<i>Aspergillus</i>	20.7	57.8	61.7	63.7	64.7
<i>Xanthomonas</i>	7.7	34.8	49.63	61.4	64.5
<i>Flavobacterium</i>	11.6	40.5	50.5	57.4	61.7
<i>Micrococcus</i>	18.8	36.4	52.2	59.3	61.9
<i>Bacillus</i>	6.8	38.0	43.5	59.8	64.3
<i>Alcaligenes</i>	5.8	17.5	45.0	50.1	64.5
<i>Achromobacter</i>	6.0	23.3	32.4	54.0	61.7
<i>Acinetobacter</i>	15.5	31.8	39.1	55.1	65.3
<i>Pseudomonas</i>	30.8	50.1	59.9	64.2	66.9
<i>Candida</i>	5.7	29.5	34.1	51.7	65.1
<i>Klebsiella</i>	2.3	17.0	33.1	48.4	58.0
<i>Aeromonas</i>	15.1	25.6	38.3	51.2	62.1

On révèle que le taux de biodégradation pour les quatre populations microbiennes mixtes provenant de divers biotypes est assez voisin. Ceci montre que dans tous les milieux étudiés, les microorganismes sont capables d'assimiler les produits pétroliers, c'est ainsi que les potentiels de biodégradation des microorganismes de biotopes non contaminé (PMC) sont identiques à celui mesuré à partir de biotopes contaminés (PMA, PMB, et PMD). La production de CO<sub>2</sub> est croissante en fonction du temps pour chacune des populations mixtes et souches pures, le taux de CO<sub>2</sub> produit est reporté dans le tableau 6. Les figures 1 - 4 illustrent l'augmentation du taux de CO<sub>2</sub> qui est en apport direct avec la diminution du taux des hydrocarbures.

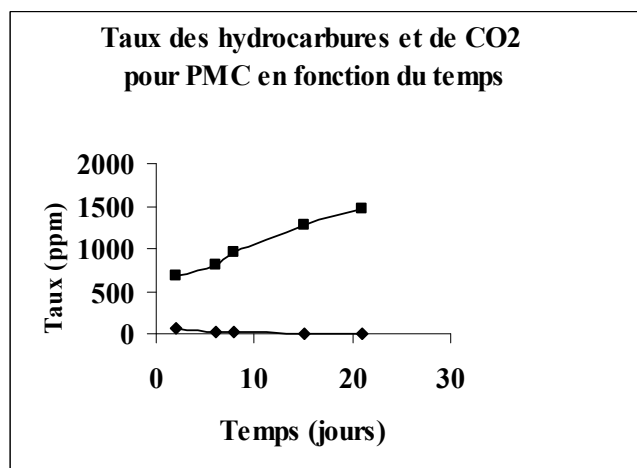
Tableau 6 : Taux en (ppm) de CO<sub>2</sub> après biodégradation en fonction du temps

Populations microbiennes	Temps (jours)				
	2	6	8	15	21
PMA	275.00	405.00	658.34	728.00	995.00
PMB	301.67	675.00	825.00	911.67	1228.34
PMC	578.34	705.00	845.00	1161.67	1368.34
PMD	315.00	718.00	961.67	1295.00	1715.00
<i>Aspergillus</i>	175.00	385.00	645.00	895.00	1225.00
<i>Xanthomonas</i>	73.34	258.34	325.00	395.00	515.00
<i>Flavobacterium</i>	28.34	285.00	495.00	515.00	675.00
<i>Micrococcus</i>	105.00	283.34	513.34	870.00	1168.34
<i>Bacillus</i>	40.00	375.00	703.34	938.34	1131.67
<i>Alcaligenes</i>	71.66	168.34	371.67	641.67	858.34
<i>Achromobacter</i>	48.00	213.34	448.34	575.00	978.34
<i>Acinetobacter</i>	105.00	253.34	463.34	541.67	691.67
<i>Pseudomonas</i>	186.67	481.67	976.34	1191.67	1395.00
<i>Candida</i>	86.67	400.00	528.34	886.67	835.00
<i>Klebsiella</i>	65.00	198.34	391.67	515.00	640.00
<i>Aeromonas</i>	38.34	170.00	258.34	418.34	685.00

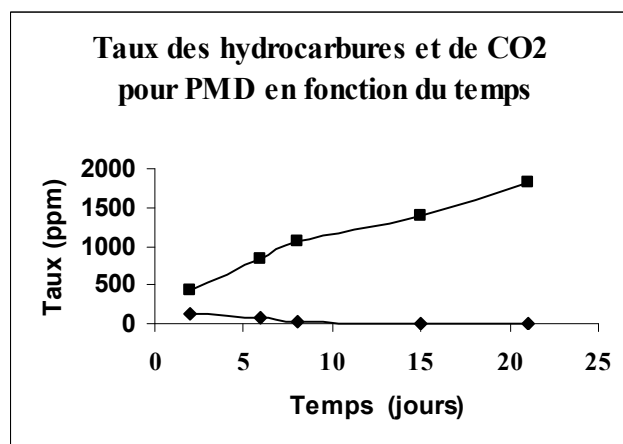
Figure 1. Taux en ppm d'hydrocarbures et de CO<sub>2</sub> pour PMA. □-Taux de CO<sub>2</sub> (ppm) ; ◆-Taux d'hydrocarbures (ppm)



**Figure 2.** Taux en ppm d'hydrocarbures et de CO<sub>2</sub> pour PMB. □-Taux de CO<sub>2</sub> (ppm);  
 de CO<sub>2</sub> pour PMB. □-Taux de CO<sub>2</sub> (ppm) ; ♦-Taux d'hydrocarbures (ppm)



**Figure 3.** Taux en ppm d'hydrocarbures et de CO<sub>2</sub> pour PMC. □-Taux de CO<sub>2</sub> (ppm);  
 ♦-Taux d'hydrocarbures (ppm)



**Figure 4.** Taux en ppm d'hydrocarbures et de CO<sub>2</sub> pour PMC. □-Taux de CO<sub>2</sub> (ppm);  
 ♦-Taux d'hydrocarbures (ppm)

## Résultats statistiques

Si on dénote par  $z$  le pourcentage de biodégradation, par  $x$  le pourcentage de  $\text{CO}_2$  produit, par  $y$  le temps mis pour l'achèvement de la biodégradation et par  $r$  le coefficient de corrélation globale. Les différents résultats statistiques pour les souches pures et les populations microbiennes mixtes sont rapportés sur le tableau 7.

**Tableau 7. Résultats statistiques**

<b>PMA</b>	x	y		<b>PMB</b>	x	Y
Y	0.917	-		Y	0.931	-
Z	0.902	0.990		Z	0.953	0.948
<b>PMC</b>	X	y		<b>PMD</b>	x	y
Y	0.822	-		Y	0.915	-
Z	0.827	0.996		Z	0.851 <sup>2</sup>	0.988
<b>A</b>	x	Y		<b>B</b>	x	y
Y	0.755	-		Y	0.972	-
Z	0.713	0.989		Z	0.895	0.953
<b>C</b>	0.976	-		<b>D</b>	x	y
Y	0.862	0.906		Y	0.917	-
Z		-		Z	0.890	0.995
<b>E</b>	x	Y		<b>F</b>	x	y
Y	0.969	-		Y	0.958	-
Z	0.912	0.906		Z	0.928	0.991
<b>G</b>	X	Y		<b>H</b>	x	y
Y	0.952	-		Y	0.979	-
Z	0.978	0.978		Z	0.983	0.952
<b>I</b>	x	Y		<b>I'</b>	x	y
Y	0.960	-		Y	0.818	-
z	0.860	0.936		Z	0.719	0.929
<b>J</b>	x	Y		<b>K</b>	x	y
y	0.963	-		Y	0.998	-
Z	0.975	0.922		Z	0.968	0.964
<b>L</b>	X	Y	<b>R</b>	X	Y	
y	0.976	-	Y	0.811***	-	
Z	0.982	0.993	Z	0.704***	0.760***	

D'une manière générale, on remarque que la corrélation entre le % de la biodégradation et le % de  $\text{CO}_2$  produit est très hautement significative ( $r = 0.811^{***}$ ), autrement dit, plus la quantité de  $\text{CO}_2$  produit est importante, plus le % de biodégradation est important.

Il est de même pour la corrélation entre le temps et le % de biodégradation ( $r = 0.704^{***}$ ), plus le temps de biodégradation est long plus le % de biodégradation est important.

La corrélation entre le temps et le % du  $\text{CO}_2$  produit est également très hautement significative ( $r = 0.760^{***}$ ), c'est à dire plus le temps est allongé, plus le  $\text{CO}_2$  produit est important.

Soit l'équation de régression :

$$z = 22.3 + 0.0321 x + 0.594 y$$

Compte tenu des valeurs globales, quelque soit leur nature (PMA, PMB, PMC, A, ....., L), le coefficient de détermination  $R^2 = 68$ , en d'autres termes, il y'a 68 % de chance que cette équation soit proche de la réalité.

## REFERENCES

1. Braga, C.E.: Diagnostico das Condições Hidrogeologicas da Area Industrial Activa da Petroflex. S. A. *Internal Report, Petroflex Ind. e. Com. S. A.*, **2001**, 1.
2. Boutefnouchet N., Bouzerna N.: Assessment of the Petrochemical Industry Pollution on the Skikda bay, Algeria, *Int. J. of Environ. Research and Public Health*, **2005**.
3. Andrade, M.L., Reyzaabal, M.L., Marcet, P., Montero, J.M.: Industrial Impact on Marsh Soils at the Bahia Blanca Ria, *J. Envir. Quality*, **2001**, 31, 532.
4. Cardoso da Silva Jr., G., Carlos, E., de Carvalho Lange, I.: Hydrogeology of study of mangrove area around Guanabara bay, Rio de Janeiro, Brazil, *Unuaro do Instito de Geociencias, UFRJ*, **2003**, 26, 92.
5. Daignostic Pasteur : *Milieux et réactifs de laboratoire de microbiologie et immunologie*, **1987**, 3<sup>eme</sup> Ed., 728.
6. Rodier, J. : L'analyse de l'eau : Eaux naturelles, résiduaires et eaux de mer, **1978**, Ed. Dunod, 388.
7. Mattei, G. : Application de la biodégradation en continu des hydrocarbures à la production des biosurfactants, *Thèse 3<sup>eme</sup> Cycle Océanologie Aix Marseille II*, **1985**.
8. Brisou, J.F., Denis, F.A. : *Techniques de surveillance de l'environnement maritime*, Masson Ed., **1980**, pp. 59-61.
9. Kawakami, Y, Nishimura, H.: Degradation of lubricating oils by marine bacteria observed by quantitative mass spectrometry, *J. Ocean Soc. Jap.*, **1981**, 37, 1.
10. Atlas, R.M., Bartha, R.: Biodegradation of petroleum in seawater at low temperature, *Can. J. Microbiol.*, **1972**, 18, 1851.
11. Westlake, D.W.S., Jobson, A., Phillipe, R., Cook, F.D.: Biodegradability and crude oil composition, *Can. J. Microbiol.*, **1974**, 20, 915.
12. Krug, M., Ziegler, H, Straube, G.: Dergradation of phenolic coumpounds by the yeast *Candida tropicalis* HP 15, *J. Basic Microbiol.*, **1985**, 25(2), 103.
13. Crow, S.A., Bell, S.L., Ahearn, D.G.: The uptake of aromatic and branched chain of hydrocarbons by yeast, *Botanica Marina*, **1980**, 23, 117.
14. Fusey, P., Oudot, J.: Essai d'accélération de la biodégradation des résidus d'hydrocarbures, de l'Amoco Cadiz dans les vases de l'Aber Benoit-rapport DGRST N° 78.7.2265, **1980**.
15. Boutefnouchet, N., Bouzerna, N.: *18 ICCE*, Istanbul, Turkey, **2004**.