



DEPOLLUTION A L'AIDE DES MICROORGANISMES DES SOLS CONTAMINES AVEC DU PETROLE ET DE L'EAU SALINE ♦

**Eva Trîmbițașu*, Raluca Oana Iliescu, Dorina Matei,
Stelian Neagoe, Alexandra Șchiopescu**

*Université du Pétrole et Gaz du Ploiesti, Faculté du Raffinage du
Pétrole et Péetrochimie, Département de Chimie, Bd. Bucuresti, 39,
100680 Ploiesti, Roumanie, *E-mail: evatrimbitasu@yahoo.com*

Abstract: The paper presents aspects on the cleaning of the soils contaminated with oil and salted water by using specialized microorganisms. For the artificial polluted land with oil and salted water has been determined the chemical and microbiological composition and it has been elaborated the pathway for a cleaning technology using microorganisms. Using this technology which involves the neutralization and regeneration of the polluted soils, the equilibrium between mineralization and humification has been reestablished by including the microbial proteins in the ecological cycle, with a very important role in the humification processes.

Keywords: *pollution, oil, salt, cleaning, microorganisms.*

INTRODUCTION

Les implications négatives de la pollution des sols avec du pétrole et de l'eau saline sont dues à la persistance pour beaucoup de temps du polluant dans le sol et la dégradation totale de son potentiel germinatif.

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

Si la source polluante agit suffisamment sans être éliminée, dans certains cas, le front de déplacement du polluant peut atteindre la première nappe phréatique, avec des effets négatifs très grands.

Choisir la plus adéquate technologie de dépollution dépend de la nature du produit pétrolier polluant, de la structure et la composition du sol et non pas au dernier rang de la quantité de polluant déversé sur ou dans le sol, respectivement de l'étendue sur la surface et dans la profondeur de la zone polluée [1-4].

Dans cet ouvrage on présente une étude de cas, à l'égard de la dépollution des sols avec du pétrole et de l'eau saline à l'aide des microorganismes spécialisés [5-7].

PARTIE EXPERIMENTALE

L'élaboration d'une technologie de dépollution à l'aide des microorganismes s'est faite en base des déterminations expérimentales en ce qui concerne les modifications dans la composition chimique, biologique et structurale. On a recueilli des échantillons de sol de 2, 20 respectivement 60 cm profondeur (échantillons A1, A2, și A3 et une échantillon étalon A4) pour établir sur une base expérimentale les modifications produites sur la verticale dans le sol pollué avec du pétrole et de l'eau saline. Les résultats de cette étude sont présentés dans un autre ouvrage [8].

Pour réaliser la dépollution avec des microorganismes spécialisés on a procédé ainsi : on a pesé 100 g de chaque échantillon de sol, qui a été introduite dans un ballon Erlenmayer ; sur cette quantité de sol pollué on a ajouté 500 mL d'eau. Dans chaque ballon Erlenmayer on a introduit les microorganismes avec précaution, sous la niche à flux d'air stérile, on a raclé avec l'anse microbiologique stérilisée jusqu'au rouge dans la flamme, la culture cellulaire sur le milieu hagarisé de l'éprouvette. Les échantillons ainsiensemencés ont été agitées sur des fourneaux agitateurs, pour assurer les conditions d'aération, aussi pour réaliser le contact entre les particules de sol et les microorganismes.

Les microorganismes spécialisés pour la biodégradation des produits pétroliers ont été testés sur des échantillons de sol contenant des grandes quantités de produits pétroliers. Les expériences de laboratoire se sont effectuées sur des solutions aqueuses de sol, dans lesquels ont étéensemencés des microorganismes spécialisés. On a réalisé des analyses sur la concentration en produits pétroliers au début de l'expérimentation et aux intervalles différentes de temps. Les résultats des déterminations analytiques ont montré une biodégradation des produits pétroliers en proportion de 70-90 % pour les différents échantillons de sol. La viabilité cellulaire des microorganismes utilisés dans les expériences s'est maintenue aux valeurs de 80-90 %.

L'évolution en temps de l'efficacité de dépollution avec des microorganismes dans les quatre échantillons, en fonction du temps de teste avec des microorganismes spécialisés, a été surveillée en déterminant *les extractibles en éther de pétrole (%)*, à des divers intervalles de temps (après les standards Roumaines - STAS), est présentée dans les figures 1- 3.

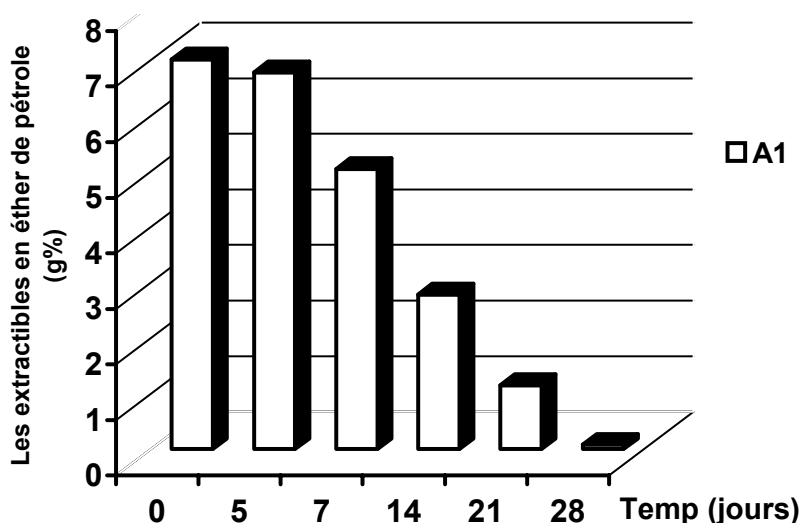


Figure 1. Evolution du contenu d'extractibles en éther de pétrole avec le temps – échantillon A1

Les résultats des déterminations effectuées pendant les expérimentations de laboratoire montrent une réduction lente dans l'intervalle 0-7 jours, à cause d'une période d'adaptation des microorganismes aux conditions d'environnement. La biodégradation des produits pétroliers s'est réalisée progressivement, dans l'intervalle 7 – 28 jours, en atteignant à la fin une concentration en produits pétroliers proche de celle identifiée dans l'échantillon témoin A4 – 0,05 g %.

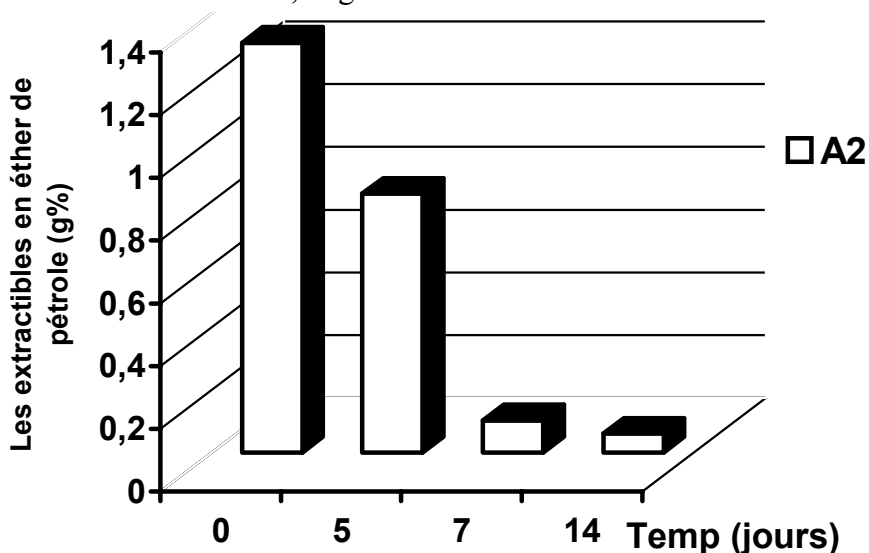


Figure 2. Evolution du contenu d'extractibles en éther de pétrole avec le temps – échantillon A2

Les résultats de traiter avec des microorganismes spécialisés dans la biodégradation des produits pétroliers présents dans l'échantillon de sol A2, montrent une réduction plus rapide de ceux-ci dans 14 jours, ce qui est du aussi à la concentration plus petite des produits pétroliers (initialement), mais aussi à cause du contenu plus petit en NaCl (0,76

g %), par comparaison avec l'échantillon A1. On peut observer l'influence de la pollution du sol avec de l'eau saline, qui inhibe dans une proportion plus grande ou plus petite (en fonction de la concentration) le processus de biodégradation des produits pétroliers.

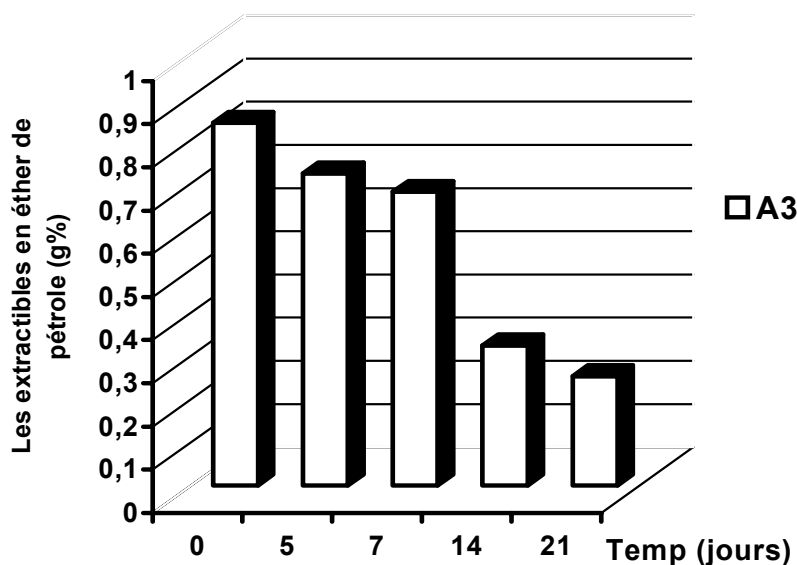


Figure 3. Evolution du contenu d'extractibles en éther de pétrole avec le temps, échantillon A3

Bien que pour cet échantillon de sol, les déterminations chimiques ont indiqué un contenu plus petit en produits pétroliers par comparaison avec A1 et A2, le processus de biodégradation a été limité par la grande concentration en chlorure de sodium (8,16 g %). Après un intervalle de 21 jours, on observe une petite réduction du contenu en produits pétroliers par comparaison avec la valeur initiale, donc s'impose un traitement concomitant des deux impurificateurs.

Par les solutions proposées concernant la neutralisation et la régénération des sols pollués avec du pétrole et de l'eau saline, on a suivi de rétablir l'équilibre entre le processus de minéralisation et humidification, par la réintroduction dans le cycle écologique d'un anneau important, c'est-à-dire la protéine microbienne, qui a un rôle déterminant dans le processus d'humidification. Ainsi, par la dégradation des protéines microbiennes il résulte des peptides, des acides aminés et ammonium, par la condensation (la synthèse) entre les radicaux phénoliques et les hydroquinones d'une part et les produits de dégradation des protéines, d'une autre part, suivie par la polymérisation dans des différents degrés, il résulte des substances humiques (des acides fulviques, des acides humiques, des humines).

L'apport de matière organique morte, nécessaire dans le processus de régénération du sol pollué, pour l'initiation du processus d'humification, va résider en protéines microbiennes, qui contiennent des éléments nutritifs de base, C, H, N, P et petites quantités de Ca, Mg, Fe, K, S. Les microorganismes vifs, existants dans les sols étudiés, vont assurer la délivrance de ces éléments dans des formes accessibles, par le processus de minéralisation.

Le humus a un rôle important dans la régénération et la récupération de la fertilité du sol pollué, parce qu'il représente une source principale d'éléments nutritifs aisément

mobilisables, ayant aussi d'autres effets favorables pour les plantes et la fertilité. Dans le cours des processus de décomposition et d'humification se forment des substances organiques complexes – bio-stimulateurs – avec des traits de stimulation de certains processus physiologiques. L'importance du processus d'humification et la nécessité de l'apport de matière organique morte pour la régénération des sols pollués et des microorganismes vifs nécessaires à la biodégradation des polluants d'intérêt, est présentée dans la figure 4.

Étapes antérieures à l'application des technologies de dépollution des sols

Le passage effectif aux actions de dépollution des sols ne se fait pas directement, mais il est précédé par des étapes antérieures, qui analysent le site polluant dans son intégralité. Le mot site, déjà introduit dans la langue roumaine, a son origine dans le latin «situs», qui signifie situation, position. Dans le domaine de la protection de l'environnement, le site pollué désigne un espace unitaire, situé dans un secteur géographique limité, affecté par la pollution. La démarche concernant la dépollution d'un site est séquentielle (fig. 4.)

La solution proposée, à l'égard de la neutralisation des effets de la pollution du sol avec du pétrole, est basée sur l'utilisation des microorganismes spécialisées dans la biodégradation des produits pétroliers et l'introduction dans le système ouvert dynamique – le sol – de la matière organique, pour rétablir l'équilibre entre le processus de minéralisation et le processus d'humification. La solution proposée pour la réfaction des sols pollués avec du pétrole et de l'eau saline, suppose qu'on parcourt les suivantes étapes :

Étape 1. La distribution sur la surface du sol affecté par le pétrole, d'une quantité calculée de matériel biologique actif, contenant des microorganismes spécialisés dans la biodégradation par les produits pétroliers. La quantité de matériel biologique actif se calcule fonction de la surface de terrain travaillée et de la concentration en produits pétroliers du sol. Ce matériel biologique actif a été produit dans l'installation de S.C. ProBIO -Cercetare S.A. Ploști, qui est équipée avec des bioréacteurs pour des cultures biologiques. L'efficacité de la biodégradation des produits pétroliers sera établie dans le temps, par des déterminations analytiques périodiques de produits pétroliers et des déterminations microbiologiques sur l'adaptation des microorganismes ensemencés dans les nouvelles conditions. Par les analyses microbiologiques on va établir la quantité de microorganismes morts qui vont constituer un apport de matière organique morte, figure 4, nécessaire à l'étape de régénération du sol. Dans le même temps, on suit la viabilité des microorganismes qui vont réaliser le processus de biodégradation des produits pétroliers jusqu'à la phase finale.

Étape 2. Cette étape réside en l'initiation du processus de régénération des sols pollués, par l'introduction du processus d'humification par apport de matière organique morte. Cette matière organique morte est formée d'une mixture de microorganismes morts, atomisés, ayant un haut contenu de protéines microbiennes, éléments nutritifs de base, facteurs d'accroissement, peptides, acides aminés, vitamines. Ce produit, sous forme de poussière, va être distribué sur l'entière surface de travail, dans une solution aqueuse.

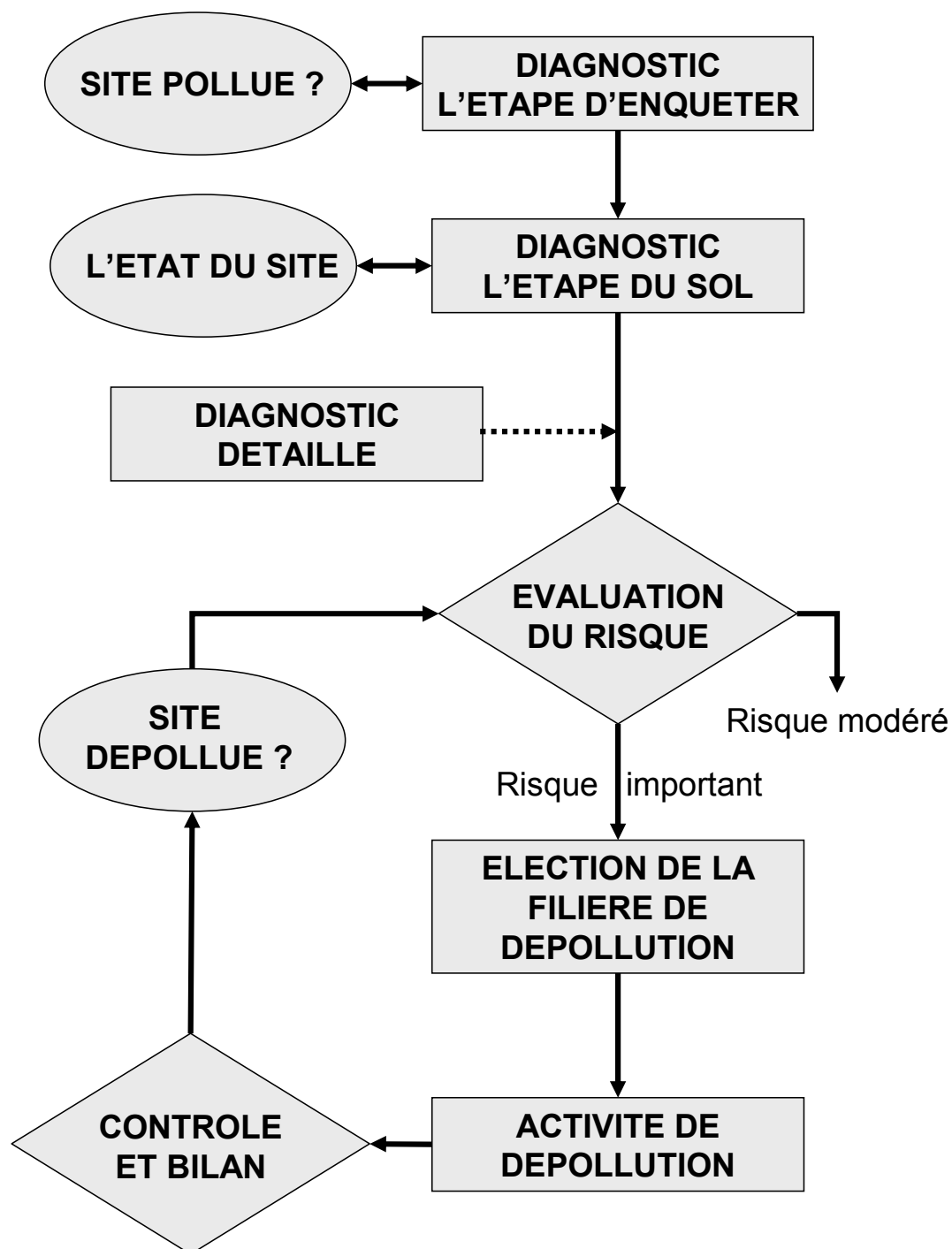


Figure 4. Modalités de neutralisation «en situ» des effets de la pollution du sol avec du pétrole

Le but de cette étape est d'initier le processus d'humification, sous l'action des des composants représentés par les microorganismes vifs existants dans le sol et des microorganismes vifs restés de la 1^e étape. Ces microorganismes agissent sur les protéines microbiennes du matériel organique mort, en déterminant le déchenement rapide du processus d'humification. En même temps, les microorganismes vifs délivrent, du complexe protéique introduit dans le circuit, les éléments nutritifs de base (C, H, N, P, K, Ca, etc.), qui représentent des facteurs de fertilisation du sol. Cette étape est strictement nécessaire, parce que les sols étudiés présentent un grand contenu de substances anorganiques, ce qui indique que le prédominant est le processus de minéralisation. Dans un sol fertile, il y a un équilibre stable entre le processus d'humification et le processus de minéralisation. En appliquant la 2^e étape on suit a réalisation de l'équilibre entre les deux processus, et implicitement la régénération des sols pollués avec du pétrole. Dans cette étape on va suivre, par des analyses chimiques, physiques et microbiologiques, l'évolution de la régénération du sol.

Etape 3. Cette étape réside en la réalisation d'un labourage de 25-30 m profondeur, au but d'introduire le matériel organique de la surface dans le sol, de l'aération du sol et du rétablissement de la porosité du sol. Pour l'enrichissement en azote du sol agressé, sur la surface du sol labouré se distribue une culture de microorganismes qui fixent l'azote.

Etape 4. Sur la surface du sol labouré, on sème du gazon, au but d'introduire dans la chaîne trophique de l'anneau des producteurs primaires – plantes vertes. Le rôle de la végétation dans ce moment réside en le processus de photosynthèse de matière organique fraîche, nécessaire pour reprendre le cycle dynamique du sol.

Modalités de neutraliser les sols affectés par l'eau saline "en situ"

La solution concernant la neutralisation des sols affectés par l'eau saline a été élaborée en base des résultats obtenus par l'étude des sols pollués. Les résultats obtenus des expérimentations de laboratoire, sur la biodégradation du NaCl du sol, en utilisant des microorganismes spécialisés, ont conduit à la solution de la neutralisation des sols pollués avec du NaCl par un traitement biologique. En utilisant le système de biodégradation microbiologique, concentrations de 25000 mg/L NaCl ont été réduites en proportion de 80-90%. La solution proposée sur la neutralisation et la régénération des sols affectés par l'eau saline, réside en les suivantes étapes:

Etape 1. La dispersion sur la surface du sol pollué avec de l'eau saline, d'une culture de microorganismes spécialisés dans la biodégradation du NaCl. La quantité de matériel biologique actif sera calculée fonction de la surface affectée et de la concentration du NaCl dans le sol. La nature liquide du matériel biologique actif utilisé, tient compte de la possibilité de le diffuser dans la profondeur du sol. Cet aspect est important tenant compte des résultats des déterminations effectuées des sols pollués, et qui ont indiqué la présence du NaCl dans sa profondeur. Le degré de biodégradation du NaCl du sol, va être suivi par des analyses chimiques et microbiologiques, sur l'horizontale et sur la verticale. S'il n'y arrive pas une pénétration des microorganismes spécialisés jusqu'à la profondeur (1,5 m), on propose une injection avec du matériel biologique actif à cette profondeur. Cette opération est nécessaire pour prévenir des phénomènes de migration inverse du NaCl de la profondeur vers la surface du sol et implicitement l'arrivée de la pollution avec de l'eau saline.

Etape 2. En fonction de l'évolution du processus de biodégradation, on initie le processus de régénération du sol pollué par apport de matière organique morte. Puisque l'eau saline représente un facteur écologique négatif, avec des effets fortement destructifs, il est nécessaire un apport plus grand de matière organique morte, pour l'initiation du processus d'humification. Le matériel organique sera constitué d'une mixture de microorganismes morts, atomisés, ayant un surplus de sels solubles d'azotés et phosphates nécessaires aux sols salés, qui sont pauvres en ces éléments nutritifs. La modalité de disperser le matériel organique mort, va se faire dans une solution aqueuse sur l'entière surface de travail. Les microorganismes vifs spécialisés dans la biodégradation du NaCl et ceux existants dans le sol pollué entière, vont agir par le processus de minéralisation sur les protéines microbiennes provenant par l'apport de matière organique morte et par la mort d'un pourcent de microorganismes spécialisés. Pour cette étape on va effectuer des déterminations sur l'évolution du contenu en substances organiques et la microbiologie du sol.

Etape 3. Puisque l'eau salée détermine la compactibilité des sols et implicitement le manque d'oxygène, il est nécessaire, après réaliser les premières étapes, un ouvrage d'aération, à la profondeur de 30-40 cm. Par cette opération on assure l'introduction dans le sol des microorganismes spécialisés et du matériel organique mort, pour continuer les processus de biodégradation du NaCl et d'humification. Dans le même temps, on modifie dans un sens positif la porosité du sol.

Etape 4. Après effectuer l'ouvrage agricole de labourer le sol, **on intervient avec un nouvel** apport de matière organique morte et de bactéries qui fixent l'azote. Ce nouvel adage de matière organique morte, a le but d'aider eu aussi de forcer le processus de fertilisation du sol. En même temps, les microorganismes qui fixent l'azote ont le rôle de fixer l'azote atmosphérique et de le transformer en azotites et azotates, qui sont accessibles pour la végétation.

Etape 5. Le sol ainsi préparé est ensemencé avec du gazon, une opération nécessaire à la réintroduction dans la chaîne trophique de l'anneau des producteurs primaires (plantes vertes, avec le rôle de produire matière organique fraîche).

Modalités de neutraliser les sols affectés par pétrole et par l'eau saline

Des résultats des déterminations effectuées des épreuves de sol pollué, on a observé l'existence d'un cumul de pollution, déterminé par le pétrole et l'eau saline. Pour ces cas on propose la solution qui suppose l'utilisation simultanée de microorganismes spécialisés dans la biodégradation du pétrole et microorganismes spécialisés dans la biodégradation du NaCl. La solution proposée contient les suivantes étapes :

Etape 1. Le traitement des sols avec du matériel biologique actif, qui contient des microorganismes spécialisés dans la biodégradation du pétrole. La biodégradation du pétrole est nécessaire dans la première étape, pour éliminer la couche de pétrole qui se trouve à la surface du sol, en permettant ultérieurement l'utilisation des autres microorganismes.

Etape 2. Le traitement des sols avec du matériel biologique actif, qui contient des microorganismes spécialisés dans la biodégradation du NaCl. La modalité de traitement va se réaliser fonction du degré de diffusion du NaCl sur la verticale.

Etape 3. Apport de matière organique morte, enrichi avec des sels solubles d'azote et de phosphore.

Etape 4. L'introduction dans le sol du matériel organique mort et vif, par des ouvrages agricoles, en suivant l'aération et le rétablissement de la porosité du sol.

Etape 5. Dispersion de matière organique morte et de bactéries qui fixent l'azote sur la surface labourée.

Etape 6. Ensemencer le sol ainsi préparé avec du gazon pour refaire l'équilibre écologique par l'introduction dans le circuit des producteurs primaires - plantes vertes.

CONCLUSIONS

Les sols affectés par le pétrole et l'eau saline peuvent être traités biologiquement, pour neutraliser l'équilibre des sols.

La régénération des sols affectés peut se réaliser seulement par apport de matière organique morte, pour rétablir l'équilibre minéralisation ↔ humification.

La neutralisation du sol affecté par le pétrole peut se réaliser par la solution proposée, seulement "en situ".

Le traitement centralisé du sol affecté par le pétrole n'est pas nécessaire dans les conditions de l'application de la solution proposée, puisque le processus est de longue durée et très cher. Par la solution proposée dans le système centralisé, il y a la possibilité de récupérer le pétrole et l'utilisation des matériels grossiers comme remblai asphaltier.

La neutralisation des sols affectés avec de l'eau saline, se peut réaliser seulement "en situ", grâce à la diffusion rapide sur la verticale, dans la profondeur, du chlorure de sodium.

Dans le système centralisé on peut traiter les eaux résiduelles salées, par un système d'épuration chimique-biologique centralisé.

Les microorganismes proposés é pour la neutralisation du pétrole et pour la neutralisation de l'eau salée, sont sélectionnés des environnements naturels, ne sont pas pathogènes et se peuvent intégrer aisément dans le circuit naturel, parce que le sol est un système dynamique – ouvert.

Les solutions proposées pour la neutralisation et la régénération des sols affectés par le pétrole sont écologiques.

RECOMMANDATIONS

1. Dans le cas des accidents de pollution du sol avec du pétrole et de l'eau saline, il est nécessaire d'intervenir rapidement en vue de neutraliser les polluants et de régénérer les sols affectés, en stoppant ainsi l'extension de la pollution sur l'horizontale et sur la verticale.
2. On recommande l'intervention rapide sur les é sols pollués, parce qu'en temps ils apparaissent des processus de destruction de la structure des sols, des microorganismes existants dans le sol, en déterminant l'amplification du processus de minéralisation au détriment de l'humification.

3. Pour démontrer la viabilité des solutions proposées, on recommande de les expérimenter sur une surface polluée, représentative.
4. On recommande que les solutions proposées soient appliquées dans l'intervalle avril-septembre.

BIBLIOGRAPHIE

1. Pătraşcu, C., Brebeanu, Gh., Dobre, L., Popa, M. : *Rev. Chim. (Bucharest)*, **56** (7), **2005**, p.744-778
2. Riser-Roberts, E. : *Remediation of Petroleum Contaminated Soils*, Lewis Publishers, London, **1998**, p. 65 - 80
3. Neag, Gh. : *La dépollution des sols et des l'eaux souterraines*, La Maison du Livre de Science, Cluj-Napoca, **1977**, p. 85 - 110
4. Marton, Al. : *Les bases biologiques de l'environnement*, Maison d'Editions de l'Université Timişoara, **1994**, p. 85 - 90
5. Negulescu, M., Vaicum, L., Pătru, P. : *La protection de l'environnement*, Maison d'Editions Technique, Bucarest, **1995**, p. 75 - 90
6. Trîmbiţaşu, E. : *Physico-chimie de l'environnement. Les facteurs d'environnement et leurs polluants*, Maison d'Editions de l'Université de Ploieşti, **2002**, p. 200 - 212
7. Mănescu, S., Cucu, M. : *La chimie sanitaire de l'environnement*, Maison d'Editions médicales, Bucarest, **1994**, p.189 – 210
8. Trîmbiţaşu, E., Popovici, D., Pantea, O., Iliescu, R.O., Mihai, S. : Aspects de la pollution des sols avec du pétrole et de l'eau salée, *Studii şi Cercetări Ştiinţifice – Chimie şi Inginerie Chimică, Biotehnologii, Industrie Alimentară*, **VII** (2), **2006**, pp. 469-478.