

La microbiologie des produits pétroliers et ses applications

Jean-Paul Vandecasteele, Frédéric Monot et Daniel Ballerini

Summary

Applications of the petroleum products microbiology

Because of the use on a massive scale of petroleum products, hydrocarbons constitute the most frequent organic pollutants of soils. At a polluted site, natural attenuation is the process by which the pollutants are removed by the joint action of dispersion and biodegradation. Only biodegradation can ensure complete *in situ* removal by mineralization of pollutants. For this reason, both aerobic and anaerobic degradation of hydrocarbons and related products constitute research fields in full expansion. Actually, the remarkable microbial capacities for hydrocarbon conversion can lead to applications in bioconversion that are besides the scope of pollutant degradation, such as microbial desulfurization of petroleum products.

In addition to biodesulfurization, the points discussed involve the aerobic biodegradation of gasoline (over 200 hydrocarbons) and of ethers such as methyl *tert*-butyl ether (MTBE) that are presently important constituents of gasoline, as well as the anaerobic degradation of monoaromatic hydrocarbons. The discussion also includes soil bioremediation.

Mots-clés

Biodégradation, sols pollués, hydrocarbures, MTBE, biodésulfuration.

Key-words

Biodegradation, polluted soils, hydrocarbons, MTBE, biodesulfurization.

La pollution des milieux terrestres et aquatiques constitue un problème environnemental majeur parce que, du fait de l'échelle massive à laquelle elle intervient, son impact sur la santé humaine et sur la biosphère est devenu très préoccupant. Les hydrocarbures sont les polluants organiques les plus fréquents, ce qui est compréhensible étant donné les quantités énormes utilisées de par le monde, en particulier pour la production d'énergie (production mondiale de pétrole de 3,4 Gt en 1999).

La connaissance du devenir des polluants dans l'environnement est indispensable pour évaluer l'acceptabilité des produits industriels vis-à-vis de l'environnement. Elle l'est aussi pour apprécier les perspectives de restauration des sites pollués. Les processus physico-chimiques, de transfert en particulier, et la biodégradation sont les composantes qui gouvernent ce devenir. Nous traiterons ici du cas des pollutions terrestres par les produits pétroliers.

Les actions à entreprendre lors d'une pollution peuvent être très variées selon la nature du polluant et l'ensemble des caractéristiques du site considéré. C'est pourquoi les études préalables de diagnostic et de risque sont essentielles. Les options qui en ressortent peuvent être une surveillance du site, lorsque les conditions sont réunies pour que l'atténuation naturelle, c'est-à-dire l'épuration du milieu sans intervention humaine, ait une efficacité compatible avec les exigences imposées par le site. La réhabilitation de sites pollués, par des techniques diverses faisant ou non appel à la microbiologie, est une autre option qui s'impose dans d'autres cas. L'évaluation de l'atténuation naturelle et des possibilités de biorestauration pour un site donné est un objectif ambitieux qui sollicite fortement les connaissances des processus de biodégradation. Ces connaissances concernent les capacités des microflore indigènes ainsi que les caractéristiques environnementales locales, différentes selon les sites, qui gouvernent la cinétique des processus de biodégradation.

Nous présenterons d'abord les polluants des sols. Nous donnerons ensuite un aperçu des recherches menées en microbiologie en mettant l'accent sur quelques exemples, y compris sur des applications dans d'autres domaines comme la bioconversion. Enfin, nous évoquerons la biorestauration de sites contaminés par les hydrocarbures.

Les hydrocarbures, polluants des sols

De nombreux cas de contamination du sol et de l'eau souterraine par des hydrocarbures sont découverts en permanence dans les pays industrialisés, et la majorité de ceux-ci ont des incidences importantes sur l'environnement, tant du point de vue de la qualité des ressources en eau potable que du point de vue de la sécurité.

Les hydrocarbures sont les principaux types de polluants organiques des sols, avant les solvants chlorés et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). Ils sont la cause d'au moins 50 % des pollutions répertoriées en France. Parmi les produits pétroliers mis en cause, viennent en premier les carburants (essences, gazole, kérosène), suivis des fiouls de chauffage puis des produits plus lourds telles les huiles de lubrification et de graissage.

Le produit pétrolier, déversé sur un sol qui est un milieu hétérogène formé de graviers, sables, limons, argiles et matières organiques, de porosité et perméabilité variables, peut être piégé au-dessus de la nappe phréatique ou l'atteindre plus ou moins rapidement, en fonction de la nature du sol et de la qualité et de la quantité de polluant (*figure 1*).

Plus un composé est volatil, moins son affinité pour la matrice poreuse sera grande. Plus grande est son hydrophobicité, plus son adsorption sur le solide sera importante, la présence d'argile et de matière organique favorisant la rétention des hydrocarbures dans un sol. La

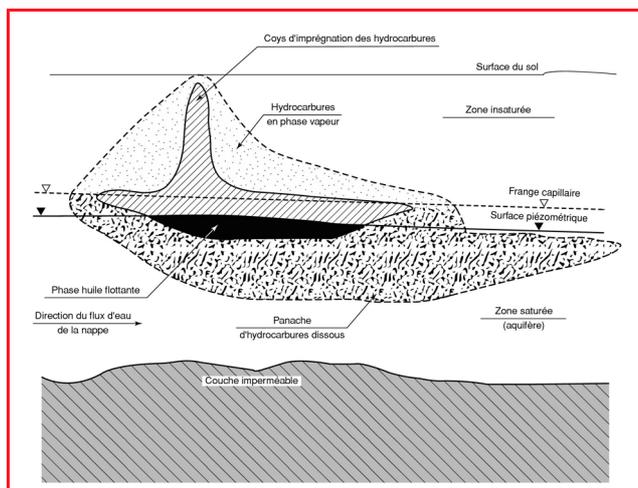


Figure 1 - Migration des hydrocarbures dans les sols.

partie des hydrocarbures non retenue dans le terrain au cours de son trajet vertical atteint le niveau de l'eau souterraine où, retrouvant une mobilité horizontale propre à la zone saturée, elle s'étale. Au contact des deux zones, insaturée et saturée, une frange capillaire soumise aux battements verticaux de la nappe se développe sur une hauteur variable. Ainsi, le volume de milieu poreux dans lequel le produit pétrolier est immobilisé à l'état résiduel peut se trouver très largement augmenté. L'huile résiduelle constitue une source continue d'hydrocarbures susceptibles de contaminer la nappe sur de longues périodes.

Au contact de l'eau, les hydrocarbures les plus solubles vont créer un panache de polluants dissous. La solubilité des hydrocarbures est directement liée à leur nature. Alors qu'une essence est composée à parts sensiblement égales d'hydrocarbures saturés et d'hydrocarbures aromatiques (surtout des alkylbenzènes), la composition de la fraction dissoute dans l'eau est aromatique à 96 % environ.

La microbiologie des hydrocarbures

Les questions posées

D'une façon générale, la dégradation aérobie existe à des degrés divers pour la majorité des composés organiques, sauf les plus lourds [1]. La dégradation aérobie des hydrocarbures pétroliers sera développée plus loin. Il faut noter par ailleurs les progrès importants relatifs à la dégradation des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), essentiellement les HAP non substitués d'origine pyrolytique [2].

Un point général, qui sera illustré par la suite, est l'importance de la dégradation par co-métabolisme, c'est-à-dire la dégradation par un micro-organisme d'un composé qui ne peut en assurer la croissance. Ce phénomène, fréquent en conditions aérobies, est lié pour une bonne part à l'attaque par des oxygénases. Il constitue le seul mode de dégradation connu pour le trichloroéthylène par exemple.

L'existence de la dégradation anaérobie d'hydrocarbures comme les BTEX (benzène, toluène, éthylbenzène, xylènes) et les *n*-alcane a été reconnue assez récemment et l'étude des processus impliqués est en plein essor [3]. Ce point est tout à fait remarquable car on s'était longtemps demandé si le mode d'attaque d'un hydrocarbure par une oxygénase n'était pas le seul mécanisme d'activation biologique

efficace de ce type de structures. La dégradation anaérobie des hydrocarbures est importante dans le cas des sites contaminés, surtout pour les hydrocarbures suffisamment solubles pour diffuser dans les zones anoxiques des aquifères. Cette préoccupation explique les développements récents de ce domaine. Le cas des BTEX sera détaillé plus loin.

La dégradation aérobie des produits pétroliers

Des études très détaillées concernant la dégradation aérobie des hydrocarbures ont été menées depuis les années 60 [1]. Les hydrocarbures sont des composés hydrophobes. La solubilité très faible de la plupart d'entre eux implique des mécanismes spécifiques d'accès au substrat, tels que la production de biosurfactants, qui ont fait l'objet de nombreux travaux [1]. En fait, les capacités remarquables de conversion des hydrocarbures dont fait preuve le monde microbien, par exemple celle d'utiliser des hétérocycles soufrés comme sources de soufre pour leur croissance, sont susceptibles d'autres applications que la dégradation des polluants (voir encadré).

La connaissance du métabolisme des hydrocarbures repose principalement sur un certain nombre d'hydrocarbures individuels, essentiellement les BTEX et les *n*-alcane qui sont rapidement dégradés, de quelques isoalcane et du cyclohexane [1]. De ce fait, il existe peu de données précises dans le cas du métabolisme des produits complexes comme les produits pétroliers. Un aspect important est la dégradation par co-métabolisme qui prend toute sa signification dans la dégradation de mélanges.

Les pollutions par les essences constituent l'un des cas les plus importants de pollutions des sols et aquifères et les travaux ci-dessus ne donnent que des réponses partielles aux questions posées car les essences contiennent en fait plus de 200 composés identifiables. Des études directes des capacités de dégradation des microflores de l'environnement à leur égard ont été récemment effectuées. Solano-Serena *et al.* [4] ont déterminé le devenir de ces composés lors de leur dégradation aérobie par des microflores directement prélevées dans différents milieux de l'environnement. Les sols naturels et les boues de station d'épuration présentent une capacité de dégradation élevée (90 à 95 % de dégradation en 30 jours). Cette capacité élevée des microflores de milieux non pollués est la conséquence de la présence ubiquiste d'hydrocarbures produits par les plantes. De plus, la plupart des sols pollués sont capables d'une dégradation quasi complète. La dégradabilité intrinsèque de l'essence est donc quasi totale en conditions aérobies mais fait appel pour certains composés à des microflores spécialisées. En effet, quelques hydrocarbures, plus difficilement dégradables, sont dits récalcitrants. Il s'agit de certains triméthylalcane, notamment ceux qui portent un carbone quaternaire comme le 2,2,4-triméthylpentane (isooctane), qui sont dégradés souvent incomplètement par co-métabolisme. Cependant, certaines souches spécialisées, présentes dans les milieux pollués, peuvent les utiliser pour leur croissance.

On ne dispose pas de résultats de biodégradabilité aussi détaillés que pour l'essence dans le cas des autres produits pétroliers. Il faut noter la multiplicité des composés dans les fractions pétrolières plus lourdes que l'essence, qui est déjà de plusieurs milliers pour un gazole (fraction C₁₀ à C₂₀), ce qui ne permet pas leur résolution chromatographique en composés individuels. Cependant, on a pu déterminer des

La désulfuration microbiologique des produits pétroliers

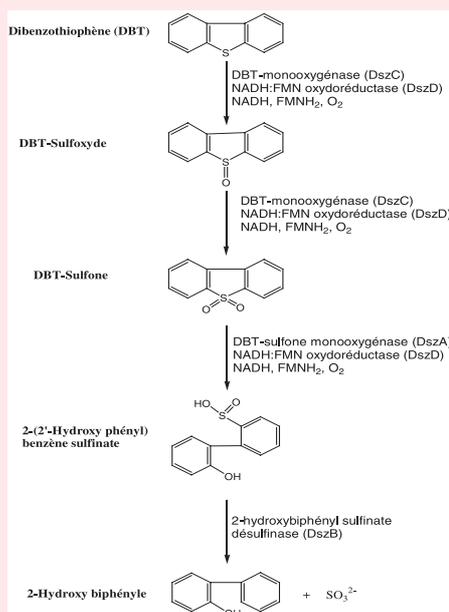
Les conséquences sur l'environnement et sur la santé humaine des émissions d'oxyde de soufre liées à la combustion des combustibles fossiles ont contraint les législateurs à imposer des réductions de plus en plus draconiennes des teneurs en soufre des carburants automobile. A titre d'exemple, dans l'Union Européenne, la teneur maximale en soufre du gazole, qui était de 0,3 % en 1994, sera de 50 ppm en 2005 et probablement de 10 ppm en 2010. Les surcoûts induits au niveau des procédés d'hydrosulfuration (HDS) utilisés dans les raffineries sont tels qu'un intérêt s'est manifesté à l'égard d'autres procédés comme la désulfuration microbiologique. En effet, depuis le début des années 90, plusieurs bactéries aérobies capables d'oxyder spécifiquement, en sulfite, le soufre de composés comme le dibenzothiophène (DBT), composé utilisé comme modèle pour les études de désulfuration de coupes pétrolières comme le gazole, ont été isolées et leur mode d'action sur le DBT élucidé [1] (voir figure).

Ces micro-organismes oxydent le DBT successivement en sulfoxyde, sulfone et sulfinate avant de conduire au produit final, le 2-hydroxy biphenyle. Cette voie catabolique, fréquemment appelée voie des 4S, a été étudiée principalement chez *Rhodococcus erythropolis* IGTS8, première souche isolée utilisant le DBT comme seule source de soufre pour sa croissance. Les gènes de *R. erythropolis* IGTS8 impliqués dans cette voie ont été localisés, caractérisés, séquencés et clonés. De même, les différentes enzymes ont été purifiées et caractérisées. Les deux premières réactions d'oxydation du DBT sont catalysées par une même mono-oxygénase, DszC, et nécessitent deux molécules d'oxygène et deux molécules de NADH. DszA est également une mono-oxygénase. Pour être actives, ces deux enzymes nécessitent de la flavine mononucléotide sous forme réduite (FMNH₂) qui est fournie par une NADH:FMN oxydoréductase (DszD). Enfin, la désulfinase, DszB, est une enzyme qui catalyse une réaction enzymatique jusqu'alors ignorée. Le génotype *dsz* semble bien conservé au sein des souches capables de désulfurer le DBT, quelle que soit leur origine.

La nature complexe du système multi-enzymatique de désulfuration condamne *a priori* l'emploi des enzymes purifiées et il est plus raisonnable d'envisager l'utilisation de cellules entières non proliférantes. En termes de procédés, deux étapes sont alors inévitables, la production de cellules actives par fermentation

précédant leur mise en œuvre en bioconversion. Cette dernière est réalisée en milieu aéré et biphasique comprenant une phase aqueuse contenant le biocatalyseur et une phase organique constituée de l'huile à traiter. De nombreux travaux ont été consacrés à l'amélioration des souches, notamment en vue d'augmenter leur activité [2]. Ceux-ci émanent principalement de la société américaine Energy BioSystems Corporation (dénommée Enchira depuis quelques mois) et d'équipes japonaises. Les avancées les plus marquantes sont à mettre au compte de la génétique (mutants dérégulés*, surexpression des enzymes de la désulfuration, clonage...). Un développement récent concerne l'application de techniques d'évolution moléculaire dirigée *in vitro* pour obtenir de nouvelles enzymes ayant des propriétés différentes, par exemple une spécificité plus large permettant d'agir sur les dibenzothiophènes alkylés très réfractaires à l'HDS [3].

En dépit de tous ces progrès, la biodésulfuration n'a pas encore connu de développement dans le domaine du raffinage. Pourtant, du point de vue énergétique (bilan en CO₂), les conditions opératoires douces requises plaident en sa faveur. Néanmoins, le procédé reste complexe et sa fiabilité à grande échelle doit être démontrée. Dans le même temps, les procédés et les catalyseurs d'HDS ont été améliorés. Par conséquent, l'insertion d'un procédé de biodésulfuration dans un schéma de raffinage comporterait un risque jugé encore trop démesuré par rapport à une HDS profonde. C'est peut-être ce même raisonnement qui a poussé la société Enchira à envisager la valorisation de ses recherches dans la synthèse de détergents à partir de sulfinate de dibenzothiophènes produits par des souches mutantes *dszB*⁻ ne produisant pas la dernière enzyme de la voie des 4S [2]. La biodésulfuration connaîtrait alors une retombée indirecte inattendue qui pourrait peut-être faciliter son implantation ultérieure dans les raffineries.



Voie des 4S de biodésulfuration du dibenzothiophène.

[1] Oldfield C., Pogrebinsky O., Simmonds J., Olson E.S., Kulpa C.F., *Microbiology*, **1997**, *143*, p. 2961.

[2] Monticello D.J., *Curr. Opin. Biotechnol.*, **2000**, *11*, p. 540.

[3] Coco W.J., Levinson W.E., Crist M.J., Hektor H.J., Darzins A., Pienkos P.T., Squires C.H., Monticello D.J., *Nature Biotechnol.*, **2001**, *19*, p. 354.

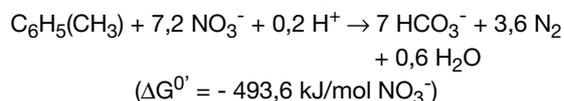
* mutant dérégulé : mutant chez lequel la production d'enzyme n'est plus sensible à la répression (en l'occurrence par le sulfate).

taux de dégradation de l'ordre de 65 % pour un pétrole brut « Arabian light », de 70 à plus de 90 % pour des gazoles selon leur composition, et de près de 10 % pour un fioul lourd No 2. La biodégradation des composés lourds est limitée en particulier par leur accessibilité aux micro-organismes.

La dégradation anaérobie des hydrocarbures monoaromatiques

La dégradation anaérobie est particulièrement importante pour le devenir des BTEX dans les aquifères. La plupart de ces constituants majeurs de l'essence peuvent être dégradés en conditions anaérobies par des bactéries utilisant comme accepteurs d'électrons NO₃⁻, Fe³⁺, SO₄²⁻, ou par des bactéries fermentatives (réducteurs de protons) en association syntrophique avec des méthanogènes (réducteurs de CO₂) [3]. Par exemple, le bilan de la

minéralisation du toluène par les bactéries dénitrifiantes capables de croissance sur cet hydrocarbure, s'écrit :



Le mode d'activation initiale le plus fréquemment observé en anaérobiose, très récemment élucidé, est illustré dans la figure 2 pour le cas du toluène.

Il s'agit d'un mécanisme radicalaire d'un type nouveau permettant la fixation de fumarate sur l'hydrocarbure [3]. La réaction est catalysée par la benzylsuccinate synthase qui a été purifiée chez *Azoarcus T.* Ce mode d'activation a également été observé dans la dégradation anaérobie des *n*-alcane. Le benzylsuccinate formé à partir du toluène est métabolisé en benzoyl-CoA. Cet intermédiaire central dans la dégradation de beaucoup de composés aromatiques subit une désaromatation réductrice et une ouverture du cycle

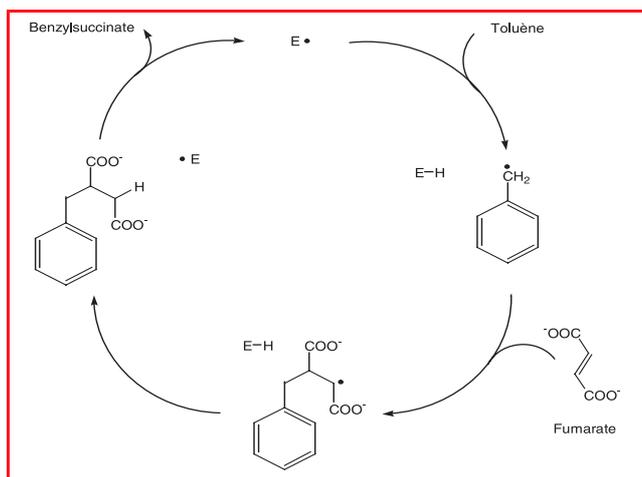


Figure 2 - Mécanisme d'activation anaérobie du toluène par la benzylsuccinate synthase (adapté de [3]).

La forme active de l'enzyme contient un groupe sous forme radicalaire ($E\cdot$) qui fixe un atome d'hydrogène du groupe méthyle du toluène, formant un radical benzyle qui réagit sur la carbone sp^2 du fumarate. L'atome H fixé à l'enzyme ($E-H$) réagit avec le radical benzylsuccinyle et régénère la forme radicalaire de l'enzyme.

suivi par une séquence réactionnelle comparable à la β -oxydation des acides gras.

Le cas des éthers-carburants

Des produits oxygénés, des éthers ou des alcools, sont des composants communs des essences qui améliorent l'indice d'octane et l'efficacité de la combustion. Les structures de produits classiques sont présentées ci-dessous :

$CH_3OC(CH_3)_3$	méthyl <i>tert</i> -butyl éther	MTBE
$CH_3OC(CH_3)_2CH_2CH_3$	<i>tert</i> -amyl méthyl éther	TAME
$CH_3CH_2OC(CH_3)_3$	éthyl <i>tert</i> -butyl éther	ETBE
$HOC(CH_3)_3$	alcool <i>tert</i> -butylique	TBA

Le MTBE (capacité mondiale de production 25 Mt) est de loin le produit le plus utilisé, surtout aux États-Unis et à des teneurs importantes (jusqu'à 15 % en volume de l'essence). L'ETBE est notamment utilisé en France. Du fait de son usage massif, le MTBE a été détecté, principalement aux États-Unis, dans les nappes aquifères et les eaux de surface où sa présence pose un problème du fait des effets possibles sur la santé et d'autres propriétés indésirables (goût et odeur des eaux contaminées). Le cas du MTBE est intéressant à plusieurs points de vue. Au plan environnemental, sa solubilité élevée ($48 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) et sa mobilité dans les sols conduisent à de longs panaches de pollution dans les aquifères lors des fuites des stockages d'essence. Un aspect essentiel est sa récalcitrance à la biodégradation. Les études de terrain s'accordent pour estimer que, de ce fait, l'atténuation naturelle est lente, avec une demi-vie du MTBE d'au moins deux ans. Le cas des éthers souligne l'importance cruciale des processus microbiens d'auto-épuration du milieu, déjà évoqués, ainsi que ses limites. Le sujet a suscité une importante activité de recherche [5]. Les éthers-carburants sont récalcitrants mais ils ne sont pas réfractaires. Au sujet de la biodégradation en conditions anaérobies, dont la place dans l'atténuation naturelle ne peut être négligée, peu d'éléments positifs peuvent être actuellement avancés. Par contre, en conditions aérobies, la

croissance sur MTBE apparaît possible, bien que difficile. De plus, bon nombre de bactéries dégradent ce composé par co-métabolisme, le substrat de croissance étant souvent un hydrocarbure, notamment un alcane court comme le butane ou le propane. Cette association résulte du fait que le groupement méthyle du MTBE est hydroxylé en *tert*-butoxyméthanol par une monooxygénase dont le NAD(P)H est le co-substrat réducteur, la même enzyme qui effectue l'hydroxylation initiale de l'hydrocarbure utilisé pour la croissance (figure 3). Dans plusieurs cas, cette monooxygénase est un cytochrome P-450.

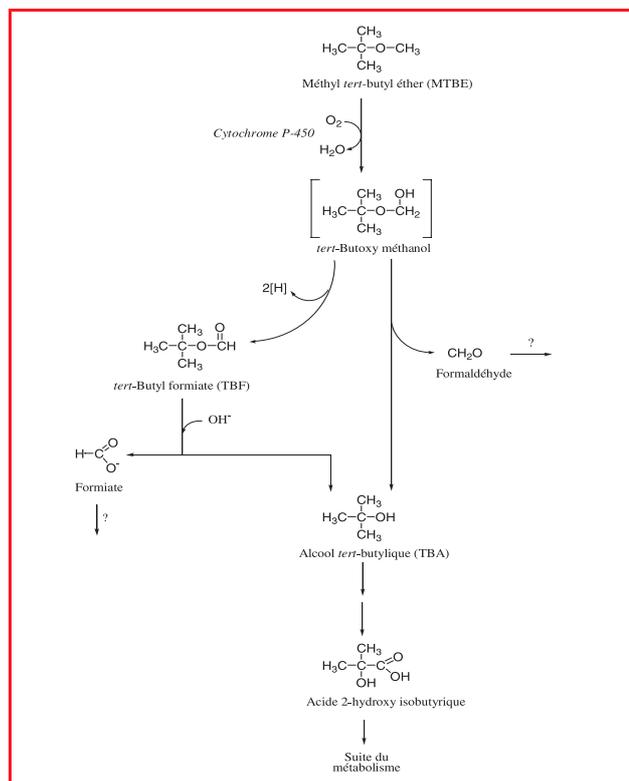


Figure 3 - Voies de dégradation du MTBE par les micro-organismes (adapté de [5]).

La libération du groupement méthoxy (sous forme de formiate ou de formaldéhyde) conduit au TBA qui peut, dans certains cas, être dégradé par la même souche. La figure 3 illustre les raisons de la récalcitrance du MTBE, à savoir l'attaque, souvent par co-métabolisme, d'un groupement méthyle stériquement encombré, suivi par le métabolisme d'un composé en C1 et/ou celui d'un autre composé récalcitrant, le TBA. En fait, un éther homologue, l'ETBE, est métabolisé de façon analogue mais plus facilement que le MTBE, l'hydroxylation qui conduit au TBA libérant dans ce cas un composé en C2 qui peut servir facilement de source de carbone au micro-organisme. Des souches utilisant le TBA comme source de carbone peuvent être isolées. Il existe donc un potentiel microbiologique significatif de dégradation des éthers-carburants, bien que les éléments d'appréciation restent encore limités quant à la répartition dans l'environnement, le rôle physiologique et les possibilités d'évolution des systèmes impliqués. Cependant, la caractérisation des gènes impliqués dans la dégradation de l'ETBE vient d'être effectuée [6]. On peut donc espérer que les sondes d'acides nucléiques dérivées de la séquence des gènes concernés se révéleront utiles pour détecter une fraction significative des

souches capables de dégrader les éthers-carburants dans les environnements contaminés.

Traitements biologiques des sols pollués

Pratiquement, ce sont les pollutions pétrolières qui ont donné l'occasion de développer le plus grand nombre de techniques de restauration des sites contaminés [7] : traitements physiques (lavages à l'eau et/ou aux solvants), thermiques (combustion catalytique, incinération, désorption thermique), biologiques.

Les techniques de biorestauration, qui méritent d'être encore améliorées, sont en plein essor [8]. Elles utilisent la capacité des micro-organismes à améliorer la qualité de l'environnement, en éliminant complètement le polluant (c'est le processus dit de minéralisation au cours duquel la molécule organique est transformée en CO₂ et H₂O avec une faible production de biomasse), ou en le transformant en d'autres composés moins toxiques et plus facilement éliminables du milieu.

Avant de procéder à l'opération de dépollution du site, une étude de biotraitabilité doit être réalisée. Cette étude, qui doit aboutir à la sélection de la technologie la mieux adaptée, examine différents critères comme la biodégradabilité et la toxicité des contaminants, la présence dans le sol de micro-organismes capables de dégrader les polluants en place, les caractéristiques du sol, les teneurs en éléments minéraux (N,P) et en oxygène, la présence ou non d'autres produits susceptibles d'inhiber les processus microbiologiques (des métaux lourds par exemple)...

Si l'apport de bactéries exogènes, spécifiquement adaptées au polluant mis en cause, est parfois proposé – c'est le concept dit de bioaugmentation – on s'accorde à penser que très souvent dans le cas des hydrocarbures, les facteurs limitant leur biodégradation rapide sont essentiellement la teneur en oxygène nécessaire au métabolisme aérobie des micro-organismes et, dans un second temps, la concentration en éléments nutritifs minéraux à base d'azote et de phosphore. Le concept de biostimulation, appliqué lors de la mise en œuvre des procédés biologiques de dépollution,

visé à pallier ces limitations. L'apport de micro-organismes est justifié quand les capacités dégradatives de la microflore indigène sont limitées ou inexistantes, en dépollution des aquifères et pour des opérations *ex situ*.

Conclusions

La biodégradation est le processus essentiel de l'épuration d'un milieu pollué dont la maîtrise exige des connaissances approfondies du métabolisme et de l'écologie des systèmes considérés. Ces connaissances, pour ce qui est des hydrocarbures et des xénobiotiques apparentés, couvrent un domaine particulièrement vaste. La grande diversité des structures hydrocarbonées naturellement présentes dans l'environnement est à la base des capacités étendues de biodégradation observées. Une contribution très importante est attendue des outils génétiques maintenant disponibles.

Notre présentation a mis l'accent sur la microbiologie de la biodégradation et sur la biorestauration des sols pollués. L'étude sur le terrain de l'atténuation naturelle en relation avec les conditions locales qui déterminent l'activité des microflores est une orientation qui s'est fortement développée ces dernières années. Les travaux concernent en particulier l'évolution dans les aquifères des pollutions par le MTBE, par les BTEX et par les solvants aliphatiques chlorés [9].

Références

- [1] Ratledge C., *Biochemistry of microbial degradation*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, **1994**.
- [2] Kanaly R.A., Harayama S., *J. Bacteriol.*, **2000**, *182*, p. 2059.
- [3] Spormann A.M., Widdel F., *Biodegradation*, **2000**, *11*, p. 85.
- [4] Solano-Serena F., Marchal R., Lebeault J.-M., Vandecasteele J.-P., *Biodegradation*, **2000**, *11*, p. 29.
- [5] Fayolle F., Vandecasteele J.-P., Monot F., *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **2001**, *56*, p. 339.
- [6] Chauvaux S., Chevalier F., Le Dantec C., Fayolle F., Miras I., Glaser P., Béguin P., *J. Bacteriol.*, **2001**, *183*, p. 6551.
- [7] Riser-Roberts E., *Remediation of petroleum contaminated soils*, Lewis Publishers, London, **1998**.
- [8] Ballerini D., Gatellier C., Vogel T., *Techniques de traitement par voie biologique des sols pollués*, ADEME Éditions, **1998**.
- [9] Suarez M.P., Rifai H.S., *Bioremediation J.*, **1999**, *3*, p. 337.



J.-P.
Vandecasteele



F. Monot

Jean-Paul Vandecasteele¹ est directeur de recherche associé, **Frédéric Monot**², chef de projets, et **Daniel Ballerini**³, directeur de Département, à l'Institut Français du Pétrole*.



D. Ballerini

* Institut Français du Pétrole,
1 & 4 avenue de Bois-Préau,
92852 Rueil-Malmaison Cedex.

¹ Tél. : 01 47 52 64 85. Fax : 01 47 5 2 70 01.
E-mail : j-paul.vandecasteele@ifp.fr

² Tél. : 01 47 52 73 53. Fax : 01 47 52 70 01.
E-mail : frederic.monot@ifp.fr

³ Tél. : 01 47 52 62 88. Fax : 01 47 52 70 01.
E-mail : daniel.ballerini@ifp.fr