(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

(11) N° de publication : **2 573 770**
(à n'utiliser que pour les commandes de reproduction)

(21) N° d'enregistrement national : **84 17965**

(51) Int Cl⁴ : C 12 N 1/38; C 02 F 3/02; C 07 C 129/08.

(12) DEMANDE DE BREVET D'INVENTION A1

(22) **Date de dépôt :** 26 novembre 1984.

(30) **Priorité :**

(43) **Date de la mise à disposition du public de la demande :** BOPI « Brevets » n° 22 du 30 mai 1986.

(60) **Références à d'autres documents nationaux apparentés :**

(71) **Demandeur(s) :** *LABOFINA SA.* — BE.

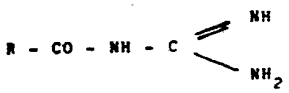
(72) **Inventeur(s) :** Robert David Edgard Bronchart et Alain Raymond Albert Ghislain Gillot.

(73) **Titulaire(s) :**

(74) **Mandataire(s) :** Cabinet Baudin.

(54) Agents nutritifs pour micro-organismes de biodégradation d'huiles minérales.

(57) Afin d'accélérer le processus de biodégradation d'huiles minérales polluant les eaux de mers par les micro-organismes marins, on utilise comme agent nutritif pour ces micro-organismes, une acylguanidine :



où R est un radical d'hydrocarbure aliphatique contenant de 1 à 10 atomes de carbone.

FR 2 573 770 - A1

La présente invention se rapporte à des agents nutritifs favorisant le développement, dans les eaux de mers, des micro-organismes de biodégradation d'huiles minérales. Elle concerne plus particulièrement des agents nutritifs consistant en acylguanidines. L'invention se rapporte à des compositions dispersantes contenant des acylguanidines et qui sont utilisées pour lutter contre les nappes d'huiles.

La pollution de l'eau de mer par des huiles (ce terme englobant le pétrole brut ainsi que des fractions de pétrole brut), provoquée par des accidents, des opérations de forage en mer, le rejet d'eaux de ballast ou des débordements à partir de navires pétroliers, conduit à la formation d'un film continu ou nappe d'huile qui tend à s'étendre à la surface de l'eau de mer. En haute mer, cette nappe est nuisible, car elle empêche le transfert, à partir de l'atmosphère, de l'air et de la lumière qui sont indispensables à la flore et à la faune marines. En eaux côtières, elle est responsable de la dégradation des plages et de parcs d'élevage de crustacés.

Une technique largement employée pour combattre les nappes d'huiles consiste à utiliser des compositions dispersantes à base d'agents tensio-actifs qui sont appliquées sur ces nappes d'huiles, le plus souvent par pulvérisation. Ces compositions désintègrent la nappe d'huile en gouttelettes d'huile et les dispersent dans la colonne d'eau sous la surface de la mer jusqu'à une profondeur de quelques mètres. L'huile ainsi traitée ne s'oppose plus au transfert d'air et de lumière à partir de l'atmosphère. De plus, elle ne risque plus d'engluer les structures aux abords des côtes.

Les gouttelettes d'huiles dispersées sous la surface de la mer sont ensuite biodégradées par certains micro-organismes contenus dans l'eau de mer et qui sont capables de métaboliser l'huile. Mais cette dégradation biologique est un processus assez lent, de sorte que, par sédimentation, des gouttelettes d'huile non dégradées se déposent sur les fonds marins de faible profondeur d'eau.

La lenteur de ce processus s'explique par le fait que la biodégradation nécessite la présence en très grand nombre de micro-organismes concentrés à l'interface eau-huile. Au départ, ces micro-organismes sont peu nombreux et ils

doivent donc se multiplier. Pour ce faire, il est nécessaire qu'ils disposent non seulement d'oxygène, présent dans l'eau, et de carbone, prélevé dans l'huile, mais aussi d'azote et de phosphore. Généralement, la concentration de ces deux derniers éléments est nettement insuffisante dans l'eau de mer.

Afin d'accélérer ce processus, on a donc proposé d'ajouter à l'eau de mer des agents nutritifs nécessaires au développement des micro-organismes. On a notamment utilisé des sels minéraux, tels que des sels d'ammonium, des nitrates, des phosphates. Cependant, ces sels minéraux sont trop solubles dans l'eau et n'ont pratiquement pas d'affinité pour les huiles. Ils sont trop rapidement dissous et dilués dans l'eau de mer et ne se maintiennent donc pas à l'interface eau-huile, où leur présence est requise.

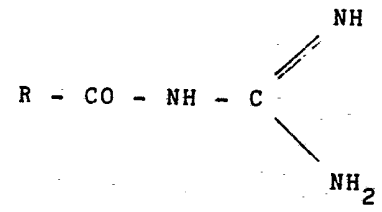
On a aussi proposé d'utiliser, comme source d'azote, des composés organiques solubles dans les hydrocarbures, tels que des produits de condensation de l'urée ou de la mélamine avec des aldéhydes. Mais le problème de la solubilité dans l'eau se pose également. Ces composés organiques se désolidarisent du milieu huileux et se perdent dans la phase aqueuse. On a proposé quelques procédés pour remédier à cet inconvénient. C'est ainsi que, pour réduire la solubilité dans l'eau de certains composés azotés ou phosphorés et pour les rendre lipophiles, on peut les soumettre à un traitement d'enrobage à l'aide d'une paraffine ou tout autre colloïde protecteur. Mais ce traitement exige un équipement spécial et augmente le prix de revient des agents nutritifs. De plus, le produit d'enrobage peut être rapidement dissous si le polluant contient des hydrocarbures aromatiques, ce qui est toujours le cas lors du traitement de pétrole brut frais.

D'autres techniques utilisées pour réduire la solubilité dans l'eau des agents nutritifs conduisent à des compositions qui flottent à la surface de l'eau. Or les gouttelettes d'huiles dispersées se trouvent dans les pre-

miers mètres d'eau sous la surface de la mer et, de ce fait, ces compositions nutritives flottantes ne sont d'aucune utilité pour favoriser le développement des micro-organismes à l'interface eau-huile.

On voit donc que le problème de l'élimination des nappes d'huiles qui dérivent à la surface des eaux de mers nécessite la mise au point de nouveaux agents nutritifs pour les micro-organismes présents dans ces eaux et susceptibles de métaboliser les huiles minérales. Ces nouveaux agents doivent assurer une biodégradation accélérée et plus complète des huiles, de façon économique. A cet effet, ils doivent posséder un ensemble de qualités. Il doivent notamment se disperser dans la colonne d'eau se trouvant sous la surface des océans, posséder un équilibre hydrophile-lipophile tel qu'ils se fixent à l'interface eau-huile des gouttelettes d'huile, et avoir une toxicité réduite vis-à-vis de la faune et de la flore marines.

La présente invention a pour objet de tels agents nutritifs qui consistent en acylguanidines de formule générale :



où R est un radical d'hydrocarbure aliphatique linéaire, saturé ou oléfinique, contenant de 1 à 10 atomes de carbone.

On peut préparer ces acylguanidines par réaction de carbonate de guanidine avec un anhydride d'acide aliphatique carboxylique, cet anhydride ayant la formule générale $(RCO)_2O$, où R a la signification donnée ci-dessus.

La réaction peut être schématisée comme suit :

$$2\ (RCO)_2O + [H_2NC\ (=NH)\ NH_2]_2 \cdot H_2CO_3 \longrightarrow$$

$$2\ R - CO - NH - C(=NH)(NH_2) + 2\ RCOOH + CO_2 + H_2O$$

Le procédé de préparation consiste à faire réagir 2 moles d'anhydride $(RCO)_2O$ avec 1 mole de carbonate de guanidine, en présence d'un solvant. En général, on utilise des anhydrides où le radical R contient de 1 à 10 atomes de carbone. Le choix de l'anhydride dépend surtout de la facilité d'approvisionnement et du prix. De plus, l'utilisation d'anhydrides où le radical R contient plus de 10 atomes de carbone conduirait à la production d'acylguanidines dont la teneur en azote serait moindre que celle des composés correspondants préparés au départ d'anhydrides d'acides inférieures. Pour ces raisons, on utilise de préférence des anhydrides d'acides où le radical R contient de 1 à 8 atomes de carbone et, en particulier, l'anhydride acétique. La réaction s'effectue en présence d'un solvant, notamment un hydrocarbure paraffinique liquide, tel que l'heptane. Bien que la réaction puisse être conduite à température ambiante, on a intérêt, au point de vue vitesse de réaction, à l'effectuer à la température de reflux du mélange réactionnel, sous agitation. Après réaction, on élimine le solvant ainsi que l'acide RCOOH obtenu comme sous-produit de la réaction et on obtient ainsi l'acylguanidine sous forme solide. Ce produit de réaction est soumis à une recristallisation dans l'isopropanol ou solvant similaire, puis il est séché sous vide.

Comme mentionné ci-dessus, les acylguanidines constituent des agents nutritifs favorisant le développement et la prolifération, dans les eaux de mers, des microorganismes de biodégradation de produits pétroliers. Ces composés azotés possèdent une caractéristique particulièrement intéressante : ils ont une solubilité limitée dans

l'eau et ils possèdent un caractère lipophile. Ils ne nécessitent donc aucun traitement complémentaire, par exemple d'enrobage par une paraffine. Lorsqu'ils sont ajoutés à l'eau de mer polluée par des hydrocarbures, ils ne sont pas dissous rapidement et ne sont pas perdus dans le grand volume d'eau. Ils se placent à l'interface eau-huile, où leur présence assure la prolifération des micro-organismes capables de métaboliser l'huile. On tire particulièrement profit de cette caractéristique des composés de l'invention, quand ils sont utilisés avant, pendant ou après traitement des eaux par des compositions rompant le film d'huile polluante en petite gouttelettes, qui sont dispersées dans l'eau de mer. Les composés de l'invention sont également dispersés et ils adhèrent à ces gouttelettes, d'où accélération de la biodégradation de ces dernières. Par conséquent, la possibilité de pouvoir disposer de ces nouveaux agents nutritifs, très efficaces, représente un progrès notable dans la lutte contre la pollution des eaux de mers par les hydrocarbures.

Afin de mettre cette caractéristique en évidence, on détermine le coefficient de partage de l'agent nutritif azoté entre la phase aqueuse et la phase huileuse polluante.

A cet effet, dans une ampoule à décanter de 1 litre, on mélange 700 ml d'eau de mer, 28 g de pétrole brut, 7 g de composition dispersante usuelle et une quantité d'agent nutritif azoté telle que son apport en azote soit d'environ 120 mg. On agite vigoureusement durant 5 minutes puis on laisse reposer pendant au moins 12 heures. On détermine ensuite la quantité d'azote se trouvant dans la phase aqueuse. On procède de même avec un mélange témoin ne contenant pas d'agent nutritif azoté, afin de corriger l'apport d'azote provenant du pétrole brut.

Le coefficient de partage (CP) est calculé comme suit :

$$CP = 1 - \frac{A - B}{C}$$

où A est l'azote présent dans la phase aqueuse dans l'essai avec addition d'agent nutritif,

B est l'azote présent dans la phase aqueuse du témoin,

C est l'azote apporté au système par l'agent nutritif.

Lorsque le coefficient de partage du composé examiné est proche de ou égal à 0, cela signifie que ce composé est trop hydrophile et qu'il se dissout et se perd dans la masse d'eau de mer. Par contre, un composé ayant un coefficient de partage proche de ou égal à 1 est un composé fortement lipophile et il n'a pratiquement aucune action de stimulation de la dégradation bactérienne.

On a trouvé que le coefficient de partage des composés de la présente invention était compris entre environ 0,35 et 0,60. Ces composés possèdent par conséquent un bon équilibre entre leur propriété hydrophile et leur propriété lipophile.

Ces agents nutritifs azotés peuvent être utilisés conjointement avec d'autres agents nutritifs, dont notamment des composés phopsphorés, dont la présence est cependant moins importante pour le développement des micro-organismes. En tant que composés phosphorés assimilables par les micro-organismes, on peut employer des phosphates minéraux, tels que $NaH_2PO_4 . H_2O$ et $(NH_4)_2HPO_4$, ou des dérivés d'acides organiques phosphoriques ou phosphoreux ou phosphoniques, comme par exemple les esters d'acide phophorique et d'acide phosphoreux et d'alcools aliphatiques supérieurs, les sels alcalins et alcalino-terreux de ces esters, les esters obtenus au départ d'acide hexaméthylènediamine tétra (méthylène phosphonique) de formule $(H_2PO_3CH_2)_2-N-(CH_2)_6N-(CH_2PO_3H_2)_2$ et d'une amine ou alcanolamine. On peut aussi employer des phosphatides ou phospholipides, dont notamment la lécithine ou la

képhaline, qui présentent l'avantage d'apporter en même temps du phosphore et de l'azote et de renforcer par conséquent l'action des composés azotés de la présente invention.

D'autres constituants apportant des éléments nutritifs complémentaires, utiles pour le développement des micro-organismes, peuvent être utilisés avec les composés de l'invention. Ces autres constituants, tels des composés de fer, comme le $FeSO_4.7\ H_2O$, et les composés de magnésium et de calcium, par exemple des alkylbenzènesulfonates de ces métaux, ne sont présents qu'en faible quantité et constituent des oligo-éléments.

Les acylguanidines de la présente invention présentent l'avantage d'être solubles ou, au moins, d'être facilement mis en suspension dans les compositions dispersantes généralement utilisées pour combattre les pollutions des eaux de mers par les hydrocarbures.

La présente invention se rapporte aussi aux compositions dispersantes qui sont caractérisées par le fait qu'elles contiennent des acylguanidines comme agents nutritifs azotés pour les micro-organismes marins, actifs dans la biodégradation des hydrocarbures.

Les compositions dispersantes comprennent au moins un agent tensio-actif choisi non seulement pour son efficacité dispersante, mais aussi pour sa faible toxicité vis-à-vis de la flore et de la faune marines.

Parmi ces agents tensio-actifs, on peut citer le tall oil éthoxylé, les mono- ou polyesters d'alcools polyhydroxyliques, dont notamment les esters d'acides aliphatiques carboxyliques, saturés ou non, contenant de 12 à 20 atomes de carbone, et d'alcools ou dérivés d'alcools, tels que sorbitane, glycérol ou polyéthylène-glycol. On peut utiliser des mélanges de deux ou plusieurs de ces esters, auxquels on peut ajouter d'autres composés tensio-actifs, comme par exemple des alcools aliphatiques supérieurs étho-

xylés, des sels alcalins de sulfosuccinates dialkyliques ou des produits de condensation d'oxyde d'éthylène ou d'oxyde de propylène sur les esters mentionnés ci-dessus.

Les compositions dispersantes comprennent aussi un solvant ou un mélange solvant qui est choisi notamment en fonction de sa faible toxicité pour la flore et la faune marines. Comme exemples de solvants, on peut citer les liquides hydrocarbonés contenant moins de 5 %, et de préférence moins de 3 % de composés aromatiques. On utilise des hydrocarbures liquides ayant de 5 à 20 atomes de carbone, notamment des paraffines, en particulier celles ayant de 6 à 12 atomes de carbone, les cycloparaffines, comme le cyclopentane et le cyclohexane, les alkylcycloparaffines et les hydrocarbures naphténiques. Des alcools aliphatiques ayant de 1 à 8 atomes de carbone et notamment les alcools éthylique, propylique, isopropylique, peuvent aussi être utilisés comme solvants. Les monéthers de glycols, en particulier les monoalkyléthers (où le radical alkyle contient de 1 à 4 atomes de carbone) de glycols tels que mono- ou di-éthylèneglycol et mono- ou di-propylèneglycol, constituent aussi des solvants intéressants. Le solvant organique peut contenir de l'eau en une quantité qui ne dépasse pas celle du solvant organique et qui est le plus souvent comprise entre environ 10 et 50 %, calculée sur le poids de solvant organique.

Le rôle du solvant est double : il facilite la manipulation et la dispersion des compositions et, de plus, grâce à son affinité, il favorise la pénétration de ces compositions dans la nappe d'huile. Aussi, on a avantage à utiliser une composition où la quantité d'eau (pour autant que l'eau soit présente) ne dépasse pas environ 25 % du poids total du solvant organique et de l'eau.

Le rapport pondéral entre la quantité d'agents tensio-actifs et celle de solvant peut aussi varier entre de larges limites. On a évidemment intérêt à utiliser des

compositions aussi concentrées que possible, mais la quantité de solvant présent dans la composition doit être suffisante pour dissoudre les composés tensio-actifs et les agents nutritifs, ainsi que pour permettre l'application des compositions à basse température. Il a été observé que des compositions contenant plus de 85 % environ d'agents tensio-actifs sont trop visqueuses aux basses températures et, de plus, perdent une partie de leur efficacité, du fait de leur moins bonne pénétration dans les nappes d'huiles. D'autre part, des compositions contenant moins de 30 % d'agents tensio-actifs sont peu efficaces.

La quantité d'acylguanidine dissoute ou au moins maintenue en suspension dans les compositions dispersantes peut varier dans des limites assez larges. Cette quantité dépend de nombreux facteurs, dont notamment du type de radical R et, par conséquent, de sa teneur en azote, de la présence éventuelle d'autres agents favorisant le développement des micro-organismes, du type de solvant utilisé, etc ...

En général, on utilise des compositions contenant une ou plusieurs acylguanidines en quantité telle que la teneur pondérale en azote du mélange final soit comprise entre environ 0,25 et 5 %, en particulier entre environ 0,5 et 2 %.

Les exemples suivants sont donnés à titre d'illustration et ne comportent aucun caractère limitatif.

Exemple 1. (exemple de préparation)

Dans un ballon multitubulaire, équipé d'un agitateur central, d'un thermomètre et d'un réfrigérant ascendant, on introduit 1/6 mole (soit 30 g) de carbonate de guanidine et 1/3 mole (soit 34 g) d'anhydride d'acide acétique, ainsi que 100 millilitres d'heptane en tant que solvant. On porte le mélange à la température de reflux (97°C) pendant environ 2 heures, tout en agitant. Ensuite, on

élimine l'heptane et l'acide acétique formé. L'acétylguanidine est recristallisée dans l'isopropanol, puis séchée sous vide. On récupère 23,7 g de produit pratiquement pur, soit un rendement de 70,3 %.

Le coefficient de partage de l'acétylguanidine est 0,55.

Exemple 2. (exemple de préparation)

On a suivi le mode opératoire décrit à l'Exemple 1 mais en remplaçant l'anhydride d'acide acétique par une quantité équimoléculaire d'anhydride d'acide butyrique.

On a obtenu la butyrylguanidine avec un rendement de 68 %.

Le coefficient de partage de ce produit est 0,41.

Exemple 3. (exemple de préparation)

On a suivi le mode opératoire décrit à l'Exemple 1 mais en remplaçant l'anhydride d'acide acétique par une quantité équimoléculaire d'anhydride d'acide octanoïque.

On a obtenu l'acylguanidine correspondante avec un rendement de 67,5 %

Le coefficient de partage de ce produit est 0,44.

Exemple 4. (exemple d'application)

On a préparé une composition dispersante (composition A) comprenant (parties en poids) :

58 parties d'éther monobutylique de diéthylèneglycol
25 parties de monooléate de polyéthylèneglycol (poids moléculaire moyen du glycol : 400)
7 parties du monolaurate de sorbitane
10 parties d'eau.

Une partie de cette composition A a été utilisée en tant que composition de contrôle.

D'autres parties de la composition A ont été utilisées pour préparer les compositions suivantes :

composition B = composition A + nitrate ammonique

composition C = composition A + acétyylguanidine

composition D = composition A + butyrylguanidine

composition E = composition A + octanoylguanidine.

Dans les compositions B à E, le composé azoté a été utilisé en quantité telle que chaque composition contienne 2 % d'azote.

Pour la détermination de l'évolution du processus de dégradation biologique de l'huile minérale polluante, on a utilisé de l'eau de mer à laquelle on a ajouté une des compositions citées ci-dessus (1 g/litre) ainsi que du pétrole brut étêté (4 g/litre). On a agité vigoureusement durant 5 minutes, puis on a laissé reposer pendant 18 heures. On a séparé 90 % de la phase aqueuse, que l'on a remplacé par de l'eau de mer pure. (Par cette méthode de décantation, on a simulé la dilution des nutriments dans l'eau de mer). On a ajouté alors à tous les milieux 0.2 % de phosphore minéral. On a laissé incuber le mélange obtenu à 25°C. On a déterminé la quantité d'huile polluante dégradée par les micro-organismes en mesurant la quantité de CO_2 dégagée par suite du métabolisme. Cette quantité de CO_2 permet donc de déterminer la quantité de carbone consommé par les micro-organismes au cours de la biodégradation de l'huile polluante.

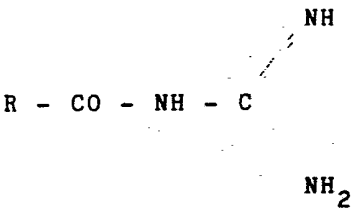
Les résultats obtenus sont donnés dans le tableau suivant

Tableau

Composition	Quantité de carbone biodégradé (mg de carbone par litre d'eau de mer) après	
	21 jours	42 jours
A (contrôle)	15	45
B	66	180
C	285	1090
D	250	985
E	230	912

REVENDICATIONS

1) Agents nutritifs pour micro-organismes marins de biodégradation d'huiles minérales, caractérisés en ce qu'ils consistent en acylguanidines de formule générale



où R est un radical d'hydrocarbure aliphatique linéaire, saturé ou oléfinique, contenant de 1 à 10 atomes de carbone, ou leurs mélanges.

2) Agents nutritifs selon la revendication 1, caractérisés en ce que le radical R contient de 1 à 8 atomes de carbone.

3) Agent nutritif selon l'une quelconque des revendications 1 et 2, caractérisé en ce qu'il consiste en acylguanidine.

4) Agents nutritifs selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisés en ce que leur coefficient de partage entre une phase aqueuse et une phase d'huile minérale est compris entre 0,35 et 0,60.

5) Compositions dispersantes pour le traitement de nappes d'huiles polluantes, caractérisées en ce qu'elles contiennent, en tant qu'agent nutritif pour les micro-organismes de biodégradation de ces huiles, une acylguanidine selon l'une quelconque des revendications 1 à 4.

6) Compositions dispersantes selon la revendication 5, caractérisées en ce qu'elles contiennent au moins un agent tensio-actif dispersant, au moins un solvant et au moins une acylguanidine.

7) Compositions selon l'une quelconque des revendications 5 et 6, caractérisées en ce qu'elles contiennent une acyl-

guanidine en une quantité telle que la teneur en azote de ces compositions soit comprise entre 0,25 et 5 %.

8) Compositions selon la revendication 7, caractérisées en ce que la teneur en azote soit comprise entre 0,5 et 2%.

9) Procédé de lutte contre la pollution des mers par des huiles minérales, caractérisé en ce qu'on traite ces huiles polluantes par une composition dispersante selon l'une quelconque des revendications 5 à 8.