

Pour nous contacter:

Dr Trello BEFFA
MADEP SA
Z.i. Maladières 22
BEVAIX CH-2022 (Suisse)
Tél. 0041 (0) 32 846.45.51
trello.beffa@madep-sa.com



FRANCE
Marc Grenet
249 rue des Ecoles
69290 POLLIGNONNAY
tél. 0033 (0)6 62 68 29 18
fax: 0033 (0)9 81 38 51 73
marc.grenet@madep-sa.com

info@madep-sa.com www.madep-sa.com

intersol'2011
Congrès-Exposition International sur les Sols, les Sédiments et l'Eau
International Conference-Exhibition on Soils, Sediments and Water

**La bio-remédiation :
développement et
application de procédés
efficaces pour une dépollution
durable**

 Laboratoire MADEP SA 



MADEP



Labo. privé de microbiologie créé en 2002

- Par le Dr Trello Beffa de l'université de Neuchâtel
- Au service de l'industrie de l'environnement



CV de Trello BEFFA

- 1988-2002: Responsable de l'unité de Biodégradation de la chaire de microbiologie de l'Université de Neuchâtel
- 1982-1988 : Doctorat ès sciences (Ph.D), en microbiologie de l'Université de Genève
- 1982-1984 : Certificat de chimie analytique de l'environnement de l'Université de Genève



MADEP partenaire de INFORS HT

MADEP est partenaire du projet
Européen sur la Bioremediation



Mise au point de bioréacteurs pour traiter
les matières solides et semi-solides

(sols, sédiments, déchets organiques et
boues)



Domaines de compétences de la Bio-remédiation

- Bio-dépollution des sites contaminés
 - sols et nappes
 - lixiviats de décharge)
- Traitement des eaux usées urbaines et industrielles
- Conversion de biomasse et méthanisation
- Traitement des déchets organiques par compostages



intersol
Congrès-Exposition International par les Sols
International Conference-Exhibition on Soils

L'approche de Bio-remediation par MADEP

- Sélectionner et identifier les souches remarquables
- Vérification de leurs propriétés et de leur biologie au labo.
- Définir un protocole d'utilisation sur le terrain
- Produire un consortium de qualité
- Réussir l'inoculation du consortium
- Vérifier l'implantation des souches et l'efficacité



2011
des Sédiments et l'Eau
Sediments and Water



4

Spectre d'action de la Bio-remédiation



Sols
BTEX, hydrocarbures aliphatiques et aromatiques polycycliques (HAP)



Nappes phréatiques
Hydrocarbures, BTEX, COV, COHV (PCE, TCE, DCE, VC, chlorobenzènes, etc.) et les pesticides



Lixiviats de décharges
(abattements DCO, COT réfractaire, NH₄, NO₂, NO₃)

PCE = perchloroéthylène, TCE = trichloroéthylène, DCE = dichloroéthylène, VC = chlorure de vinyle



intersol
Congrès-Exposition International par les Sols, les Sédiments et l'Eau
International Conference-Exhibition on Soils, Sediments and Water



5

Mesure des performances exemple: les hydrocarbures

Chantier	Type de pollution	Degré de pollution	SANS apport de bactéries et de nutriments		AVEC apport de nutriments	
Type de Client	Hydrocarbures divers	En mg par Kg de sol	Biomasse Autochtone (1)	TDM (2)	Biomasse Autochtone (1)	TDM (2)
Raffinerie	Kérosène	10'000	3 à 7	1 à 3	10 à 15	4 à 7
Dépôt pétrolier	Hydrocarbures volatils et huiles lourdes	25'000	1 à 2	2 à 4	2 à 3	3 à 6
Dépôt pétrolier	Mazout	8'000	2 à 3	3 à 4	4 à 7	5 à 8
Usine automobile	Huiles lourdes	18'000	< 1	< 1	1 à 2	2 à 3
Centrale thermique	Huiles lourdes	9'000	1 à 3	1 à 2	2 à 4	2 à 5

Synthèse de tests labo.
en micro-fermenteurs

Chantier	Type de pollution	Degré de pollution	AVEC apport de bactéries de MADEP		AVEC apport de bactéries et de nutriments de MADEP	
Type de Client	Hydrocarbures divers	En mg par Kg de sol	Biomasse Totale (1)	TDM (2)	Biomasse Totale (1)	TDM (2)
Raffinerie	Kérosène	10'000	75 à 200	39 à 62	150 à 500	58 à 94
Dépôt pétrolier	Hydrocarbures volatils et huiles lourdes	25'000	37 à 70	17 à 35	56 à 99	22 à 47
Dépôt pétrolier	Mazout	8'000	18 à 32	15 à 21	28 à 44	18 à 24
Usine automobile	Huiles lourdes	18'000	14 à 28	18 à 33	36 à 55	31 à 42
Centrale thermique	Huiles lourdes	9'000	16 à 25	11 à 22	22 à 37	15 à 26

Synergie

(1) nombre de bactéries en millions par g de sol. (2) Taux de dégradation en mg de polluant dégradé par Kg de terre et par jour.



6

Du labo au site



Production des souches unitaires

Préparation des mélanges de souches sous forme de concentré réfrigéré ou congelé dans des flacons/bidons de 1 à 10 litres.



Multiplication rapide (24h-48h) sur site : quantité et nutriments selon expertise



Sur le Site

Méthode pragmatique selon contraintes du site

- Exemple Bioterre: Fixation préalable des micro-organismes sur du compost mur et ensuite incorporation aux terres avec de préférence un godet cribleur.



- Injection directe



8

Résumé : pour réussir la Bio-remédiation

Exploiter la biodiversité des bactéries:

- les écosystèmes des sols et des nappes contaminés disposent des meilleurs souches possibles
- Pour la plupart des polluants il existe des souches efficaces



La performance d'une souche

- disposer des bons enzymes dégradant le polluant
- être compétitive dans le milieu pollué
- facile à produire

Réussir l'inoculation sur le terrain

- pureté et concentration de la suspension fournie
- choix de la congélation sans attendre une sporulation
- rigueur, qualité et nutriments adaptés
- mode d'application adapté au chantier
- Monitoring



27

Exemple1 :Bioremédiation terres/nappe - kérosène et bitume

Client : raffinerie PETROPLUS, Cressier/Suisse

➤ Situation Initiale

La fuite d'une ligne de chargement du kérosène avec dissolution de l'enrobage bitumineux des lignes enterrées surface évaluée à 500 m2.

➤ **Pollution à traiter** : 4'000 à 8'000 ppm de HCT (kérosène + bitumineux)



Exemple1 Bioterre des terres excavées

➤ Mise en andains des terres après ajout de compost mur

➤ Ajout au démarrage et après chaque mois de bactéries

➤ préalablement multipliées sur site

➤ Suivi microbiologique et chimique régulier.

	Vitesse de dégradation ppm/Kgxj	Biomasse en million/g
échantillon de contrôle (15°C)	2	< 1
échantillons de sol traité	42 à 86	> 60



intersol 2011
Congrès-Exposition International sur les Sols, les Sédiments et l'Eau
International Conference-Exhibition on Soils, Sediments and Water



10

Exemple1 Résultat en période hivernale

Date	Jours de traitement	HCT (ppm)	% abattement des HCT
Janvier	0	4'000 à 8'000	0
Février	35 à 40	2'000 à 3'000	25 à 76
Avril	85 à 90	200 à 300	92,5 à 97,6
Mai	115 à 125	< 150	> 96,2 à > 98,2
Juin	145 à 152	<< 150	>> 98,2



intersol 2011
Congrès-Exposition International sur les Sols, les Sédiments et l'Eau
International Conference-Exhibition on Soils, Sediments and Water



11

Exemple 2 : nappe sous station enrobage (HCT et COV)

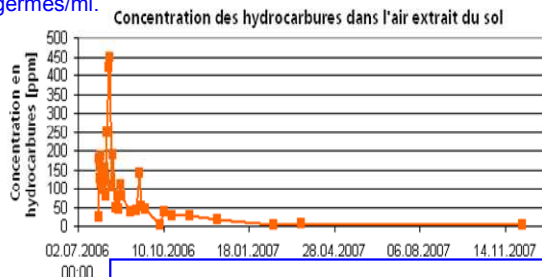
Situation initiale et objectifs à atteindre

- **Nappe très alcaline : pH 8,5 à 9,5**
- hydrocarbures aliphatiques lourds et volatils (HCT et COV de 500 à 1'500 ppm)
- Objectif à atteindre : < 1 ppm de HCT et COV dans l'air et eaux.
- Biomasse autochtones très faible à nulle (< 7'500 germes/ml nappe)



Après injection bactéries en amont et centre zone polluée

- Après 4 mois abattement de > 90% la pollution,
- biomasse augmentée: > 1 million de germes/ml.
- Après 10 mois : objectifs atteints



Exemple 3 : Traitement direct in-situ (MAZOUT)

(dépôt pétrolier en Suisse)

Situation initiale et objectifs à atteindre

- 6'000 m3 de terres contaminées par une fuite de 300 m3 de mazout.
- Degré de pollution 5'000 ppm de HCT.
- Objectif à atteindre : < 500 ppm de HCT après 2-3 ans.
- **Contraintes :**
 - Une seule intervention possible in-situ
 - Sol très argileux et hétérogène.



traitement et résultats obtenus

- 1 seule incorporation aux terres (avec godet cribleur) de bactéries spécifiques fixées sur du compost.
- Après 12 mois de traitement abattement de 60-70% de la pollution initiale.



Exemple 4 : Biodépollution en biopile sol argileux à forte pollution Hydrocarbures (site industriel France)

ersol'2011
Forum International sur les Sols, les Sédiments et l'Eau
 Conference-Ergebnisse in Selt, Sediments und Wasser



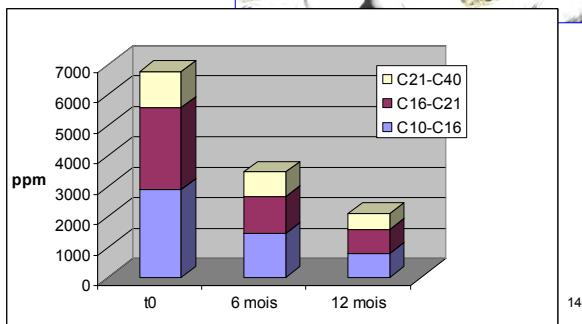
13

Conditions de traitement et résultats obtenus

- biopile de 10'000 m3 de terres excavées.
- Avec incorporation de compost
- Pollution initiale de 7'000 ppm HCT
- objectif atteint en 10 mois
 (> 2'400 ppm de HCT)



Mise en œuvre des Bactéries
 24h de multiplication sur site
 3 injections avec brassage



14

Exemple 5 : Sol et Nappe (HCT, HAP et BTEX)

(raffinerie – France)

Situation initiale et objectifs à atteindre après 2 ans

- Surface de 7'000 m² de sols hétérogènes & nappe contaminées: HCT dont BTEX et HAP. pollution terres de 15 à 40'000 ppm (HCT), 1'600 ppm BTEX et 260 ppm (HAP).
- Objectifs à atteindre : < 10'000 ppm en HCT et < 50 ppm en HAP et BTEX.
- Contraintes : sans excavation ni mise en biopile des terres.

Double approche: bioremédiation+venting

- injection régulière sur site de nutriments spécifiques (20 tonnes) et de micro-organismes spécifiques (> 400 m³) (bactéries pour les HCT et BTEX et champignons pour les HAP).
- Pompages et recirculation de l'aval vers l'amont des eaux de nappe avec venting pour aérer les eaux et terres.
- Monitoring microbiologique et chimique



intersol'2011
Congrès-Exposition International sur les Sols, les Sédiments et l'Eau
International Conference-Exhibition on Soils, Sediments and Water



Exemple 5 : Premiers résultats à 6 mois

Résultats obtenus après seulement 6 mois :

- Dégradation de 50% de la charge polluante

mg/Kg sol	HCT	C10-C16	C16-C21	C21-C35	C35-C40
initial	21 576	7 736	6 040	6 808	992
reste à dégrader	10 260	4 526	2 588	2 590	556

- Biomasse très fortement augmentée: 22 000 000 cfu/mg de sol

Exemple 6: MTBE fuite en Raffinerie

MTBE = méthyl tert butyl éther

Pompage des eaux polluées

La pollution initiale de 300'000 à 500'000 µg de MTBE / litre volume à traiter de 2'000 m³.

- Les **bactéries et nutriments** sont ajoutés toutes les 3 semaines, et les eaux sont circulées par pompage à de très faibles débits.
- Un **suivi microbiologie** régulier est réalisé afin d'évaluer et optimiser le processus de biodépollution.
- Après 14 semaines de traitement les concentrations résiduelles en MTBE étaient comprises entre 1'000 et 2'000 µg de MTBE / litre.
- Rendement d'abattement du MTBE : > 99,6 %



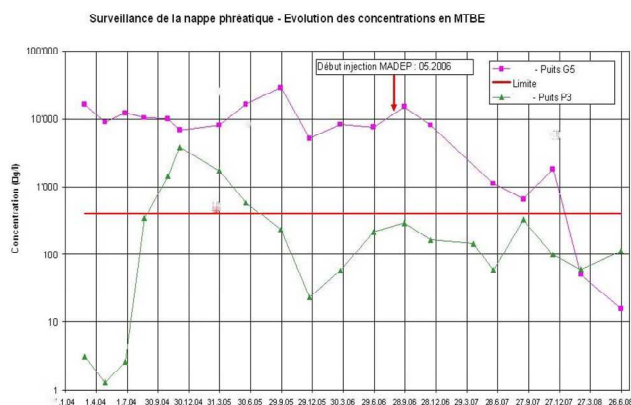
intersol'2011
Congrès-Exposition International sur les Sols, les Sédiments et l'Eau
International Conference-Exhibition on Soils, Sediments and Water



intersol'2011
Congrès-Exposition International sur les Sols, les Sédiments et l'Eau
International Conference-Exhibition on Soils, Sediments and Water

Exemple 7: Traitement de la nappe (MTBE)

- Degré de pollution initiale jusqu'à 20'000 ppb (objectif à atteindre : < 400 ppb de MTBE).
- **Traitement mis en place** : injection régulière de bactéries et nutriments spécifiques en amont et dans la zone polluée, avec monitoring microbiologique régulier.



P3: aval G5: centre zone polluée

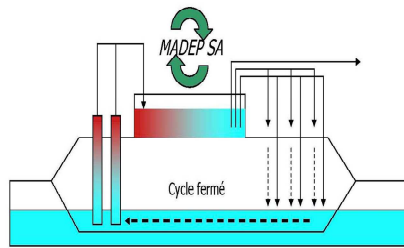


Exemple 7: Bio-dépollution COHV dans sols/nappe

(PCE = perchloroéthylène, TCE = trichloroéthylène, DCE = 1,2-cis dichloroéthylène, CV = chlorure de vinyle)

Traitement in situ accès limité 6 mois / an

- Confinement hydraulique de la nappe
- et re-circulation des eaux avec pompes
- Additions régulières de bactéries et de nutriments spécifiques
- Cycles de traitement
 - anaérobie (dégradation PCE et TCE)
 - aérobie (dégradation des DCE et CV).



Résultats obtenus au bout de 4 cessions

COHV	Conc. max initiales (ppb)	Conc. max en fin de traitement au 17.9.2009 (ppb)	Normes à atteindre (ppb)
PCE	3'000	< 0.1	20
TCE	80'000	8.0	35
DCE	53'000	23.9	25
CV	800	9.0	0.05



intersol
Congrès-Exposition International sur les Sols
International Conference Exhibition on Soils

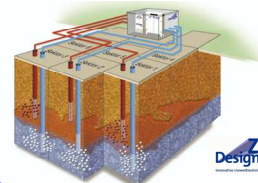
Exemple 8 En cours Bio-dépollution PCE dans nappe

(PCE = perchloroéthylène, TCE = trichloroéthylène, DCE = 1,2-cis dichloroéthylène, CV = chlorure de vinyle)

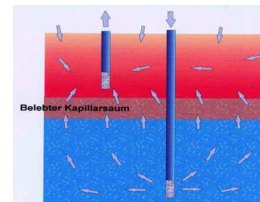
Combinaison des techniques

Durée 18 mois.

- Démarrage TERRACURE pour l'injection d'air en profondeur avec aspiration de l'air vicié dans la zone superficielle et filtration sur charbon actif.
- Puis le 3^{ème} et 6^{ème} mois injections avec le TERRACURE de micro-organismes anaérobies et aérobes et nutriments spécifiques à différentes profondeurs.
- Biodégradation réalisée avec des cycles aérobes et anaérobies.
- Suivi sur site on-line des concentrations en COHV et monitoring microbiologique régulier.



Terracure® - Technik



Exemple 9 : Projet OFEV - Biodégradation de PCB

OFEV = Office Fédéral Suisse de l'Environnement

Objet du projet : Sélectionner et valider l'utilisation de micro-organismes aérobes et anaérobies adaptés et performants pour dégrader les PCB (1 à 1'000 ppm) dans l'environnement, et en particulier dans des sols, des sédiments et des eaux naturelles et des lixiviats.

- Définir les conditions biologiques, physico-chimiques, nutritionnelles et techniques
- Développer une méthodologie analytique rapide de préparation d'échantillon du dosage par GC-MS des PCB (méthodes Headspace Index).
- Commercialiser des techniques de dépollution biologiques novatrices et performantes.
- Dépolluer des sites considérés actuellement comme impossibles à assainir à cause de leurs coûts de traitement exorbitant et/ou de leur inaccessibilité.



intersol 2011
Congrès-Exposition International sur les Sols, les Sédiments et l'Eau
International Conference Exhibition on Soils, Sediments and Water



21

Site de la décharge de Pila

- dispositif expérimental de mini biopiles



Exemple 9 : sols pollués de la décharge de Pila

Analyse départ terres Pila, référence Pyralène

Classe de PCB (masse utilisée pour l'intégration des pics GC-MS)	PCB et autres composés chlorés ou dérivés	Composition du Pyralène pur utilisé en référence	Composition des terres de la Pila biopile et labo.
154 uma	Biphényl	Pas détectable	Traces
180 uma	Trichlorobenzènes	2 à 5%	Pas détectable
216 uma	Tetrachlorobenzènes	< 1%	Pas détectable
222 uma	Dichlorobiphényles	2 à 5%	Traces
230 uma	Trichloronaphtalènes	Pas détectable	2%
256 uma	Trichlorobiphényles	2 à 5%	2%
266 uma	Tetrachloronaphtalènes	Pas détectable	1%
292 uma	Tetrachlorobiphényles	5 à 7%	30%
326 uma	Pentachlorobiphényles	10 à 20%	40%
360 uma	Hexachlorobiphényles	25 à 35 %	21%
394 uma	Heptachlorobiphényles	20 à 25%	2%
430 uma	Octachlorobiphényles	8 à 10%	2 %
464 uma	Nonachlorobiphényles	1 à 2%	Pas détectable
498 uma	Decachlorobiphényles	Pas détectable	Pas détectable



Congrès-Exposition International sur les Sols, les Sediments et l'Eau
International Conference-Exhibition on Soils, Sediments and Water



22

CONCLUSION étude PCB

1. L'utilisation de bactéries est efficace

2. Nécessité d'une combinaison bactéries x nutriments

Exemple 9 : sols pollués de la décharge de Pila

résultats d'abattement des PCB (terres et milieux liquides)

Classe de PCB (masse utilisée pour l'intégration des pics GC-MS)	PCB et autres composés chlorés ou dérivés (nom)	% abattement après 5 mois dans terre biopile site Pila (Initial 900 ppm)	% abattement après 6 mois dans terre Pila tests au labo (initial 900 ppm)	% abattement au labo après 3 mois sur milieu minéral + Pyralène (initial 500 ppm)
154 uma	Biphényl	Absent	Absent	> 98 %
180 uma	Trichlorobenzènes	Absent	Absent	> 98 %
216 uma	Tetrachlorobenzènes	Absent	Absent	> 98 %
222 uma	Dichlorobiphényles	Absent	Absent	> 98 %
230 uma	Trichloronaphtalènes	> 75 %	> 90 %	Absent
256 uma	Trichlorobiphényles	> 75 %	> 90 %	> 98 %
266 uma	Tetrachloronaphtalènes	> 75 %	> 90 %	Absent
292 uma	Tetrachlorobiphényles	25 - 30 %	85 - 90 %	85 - 90 %
326 uma	Pentachlorobiphényles	20 - 25 %	65 - 70 %	75 - 80 %
360 uma	Hexachlorobiphényles	25 - 30 %	50 - 55 %	60 - 65 %
394 uma	Heptachlorobiphényles	20 - 25 %	40 - 45 %	45 - 50 %
430 uma	Octachlorobiphényles	15 - 20 %	25 - 30 %	25 - 30 %
464 uma	Nonachlorobiphényles	Absent	Absent	25 - 30 %
498 uma	Decachlorobiphényles	Absent	Absent	Absent



3 répétitions

intersol 2011
Congrès-Exposition International sur les Sols, les Sediments et l'Eau
International Conference-Exhibition on Soils, Sediments and Water

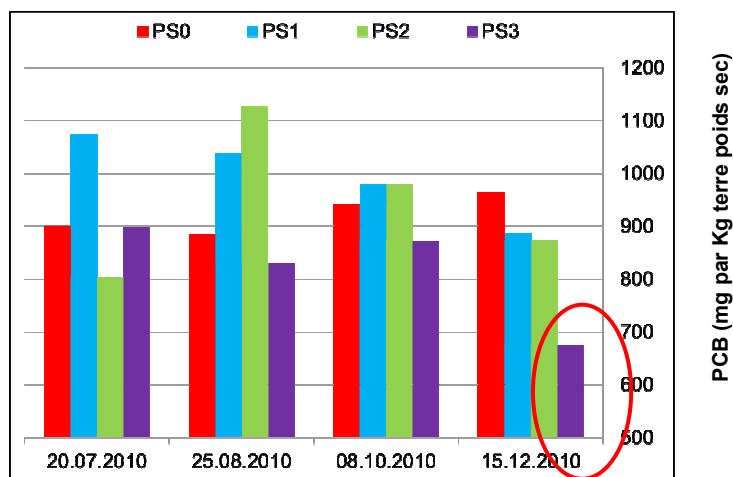


25

Exemple 9 : Biopiles Pila: importance de la synergie nutriments x bactéries (aérobies + anaérobies) sélectionnées

PS0 : référence sans addition des bactéries et nutriments
PS1 : avec addition de nutriments et bactéries aérobies
PS2 : avec addition de nutriments et bactéries anaérobies
PS3 : avec addition de nutriments et de bactéries aérobies + anaérobies

NB: une étude antérieure avait
conclu à l'inefficacité de l'apport
de nutriments seuls



Congrès-Exposition International sur les Sols, les Sediments et l'Eau
International Conference-Exhibition on Soils, Sediments and Water



24

3. Plusieurs types de biodégradation observés

- Dans tous les tests on observe une rapide dégradation des tri- et tetra- chlorobenzènes et naphtalènes. Selon les mélanges de bactéries utilisés et les conditions de mise en œuvre on constate que les PCB sont dégradés :
- soit une dégradation des PCB les moins lourds avec formation en partie et de manière transitoire de molécules de PCB contenant moins d'atomes de chlore.
- soit une dégradation linéaire avec une diminution progressive de toutes les différentes classes de PCB.

...l'étude continue.....