

La biodégradation du MonoChloroBenzène : Aérobic ou Anaérobic ?

Cédric MALANDAIN, Céline BAGUELIN, Sandra
ENTRESANGLES, Jean-Michel MONIER et Olivier SIBOURG



ENOVEO

7 place Antonin Poncet
Lyon, France

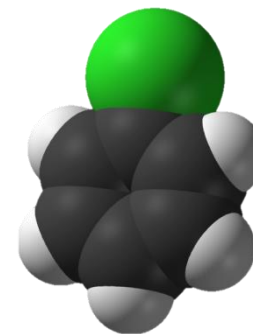
www.enoveo.com

tel : 04.27.11.85.44

Le MonoChloroBenzène

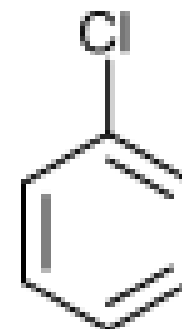
Quelques caractéristiques Physico-chimique :

- Masse molaire : 112,6 g/mol
- Solubilité (20°C) = 0,5 g/l
- Densité = 1,11



Partition du chlorobenzène entre les différents compartiments de l'environnement selon (Mackay and Patterson, 1990)

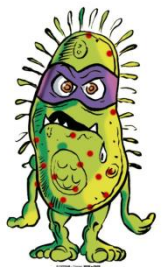
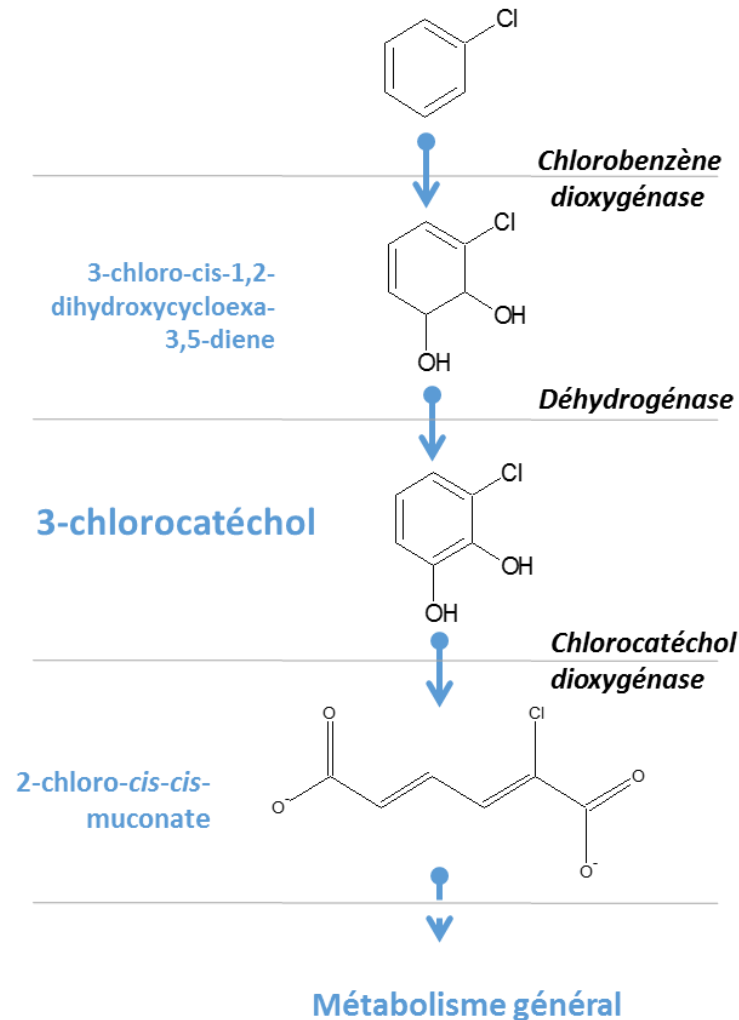
Air	99,52 %
Eau	0,44 %
Sol	0,02 %
Sédiments	0,02 %



Biodégradation aérobie du MonoChloroBenzène


Voie haute : Attaque de la molécule d'intérêt et formation d'un chlorocatechol

Voie basse : Attaque du chlorocatechol




Induction du mécanisme de biodégradation est lié à la présence de MCB ou d'un Chlorocatechol

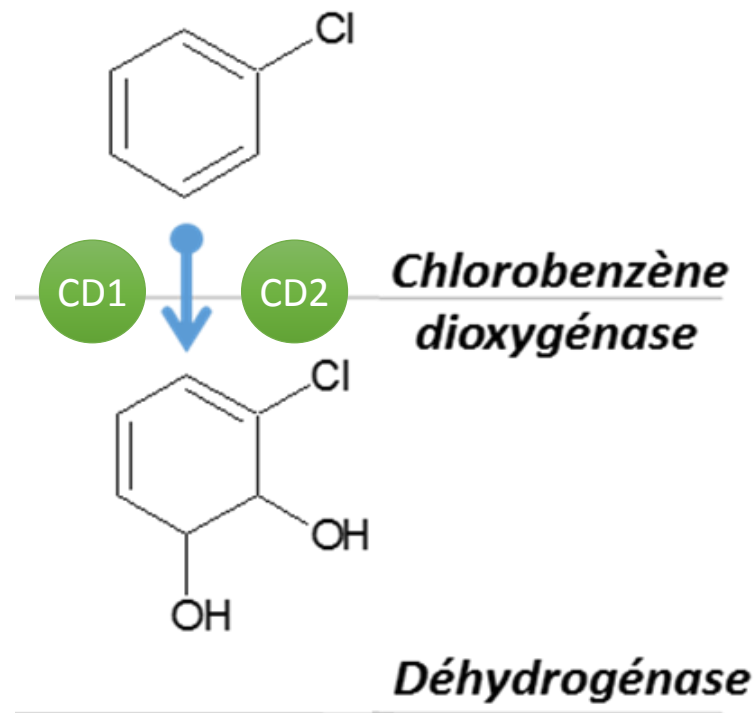
Biodégradation aérobie du MonoChloroBenzène



Les gènes fonctionnels impliqués dans le mécanisme de biodégradation de la voie haute sont connus et identifiés :
Ce sont des chlorobenzènes dioxygénases



A l'aide d'outils de biologie moléculaire il est possible de suivre précisément la présence et l'activité des mécanismes en place (Biomarqueurs CD1 & CD2)

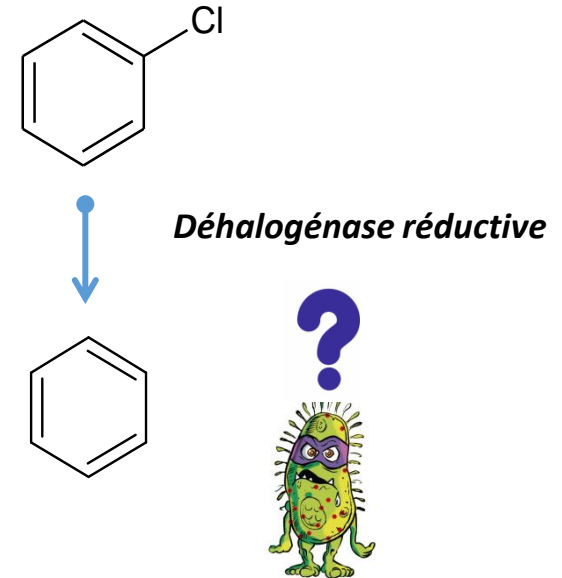


Biodégradation anaérobie du MonoChloroBenzène

La biodégradation du MCB en condition anaérobie n'a été que très récemment mise en évidence *in-situ* :

- _ Martínez-Lavanchy et al – 2011
- _ Liang et al – 2013
- _ Schmidt et al – 2014

Il s'agit principalement d'un mécanisme de déhalogénéation réductive



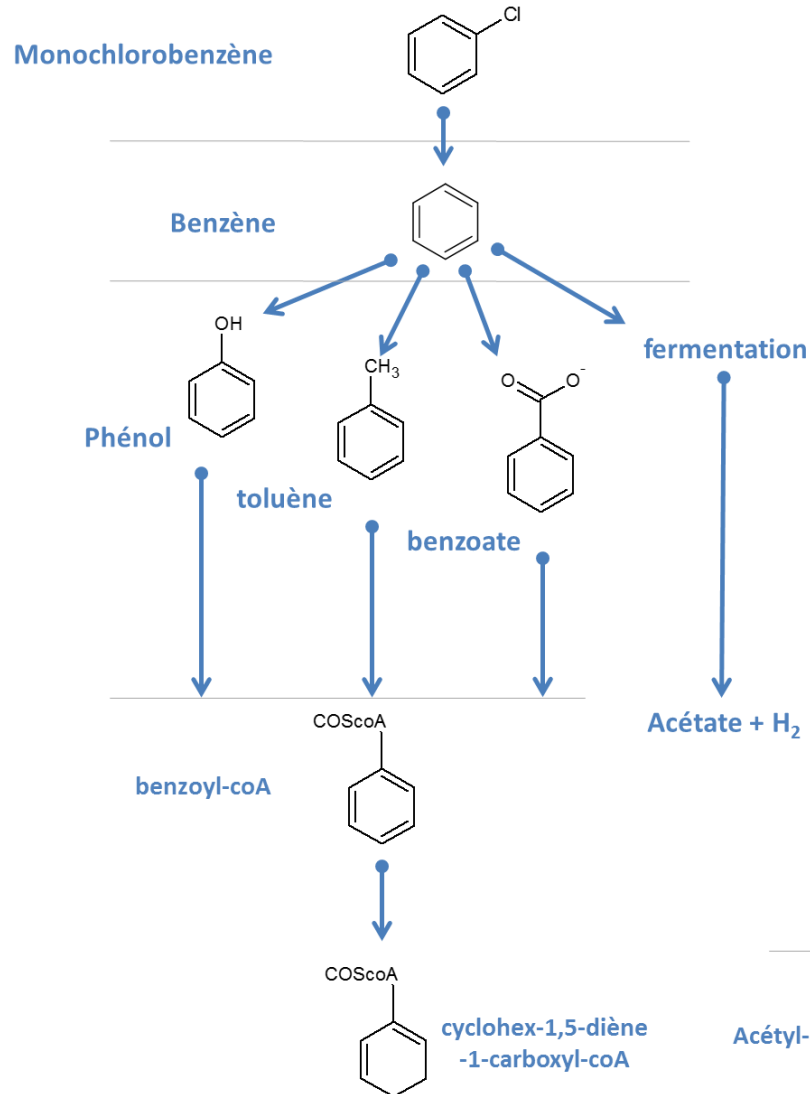
Métabolite de biodégradation :
Le Benzène

Biodégradation anaérobie du MonoChloroBenzène

Comment appréhender la stratégie de dépollution du MonoChloroBenzène en condition anaérobie ?

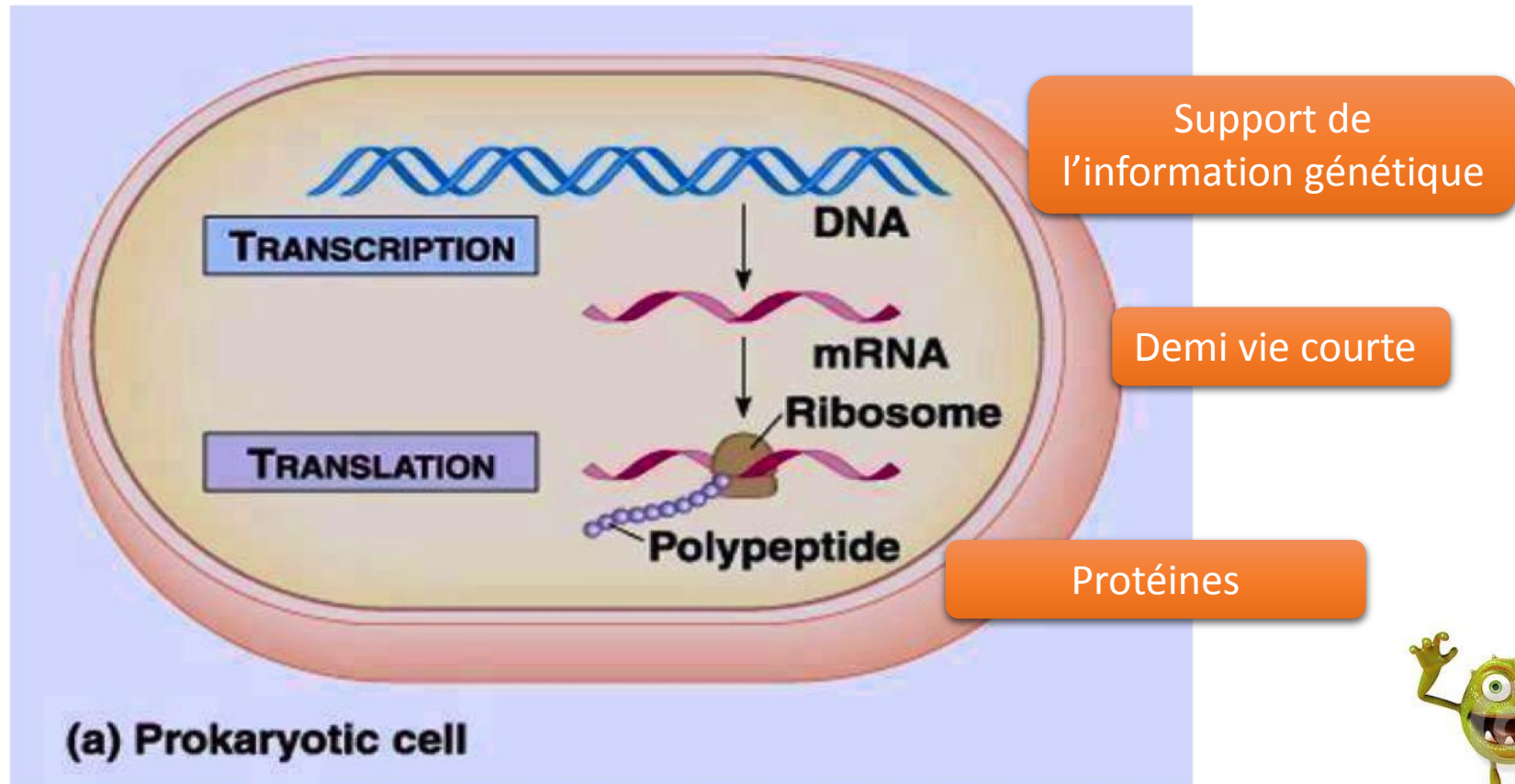


Biodégradation anaérobie du MonoChloroBenzène



Prendre en compte le fait que deux mécanismes de biodégradation anaérobie différents doivent être biostimulés.

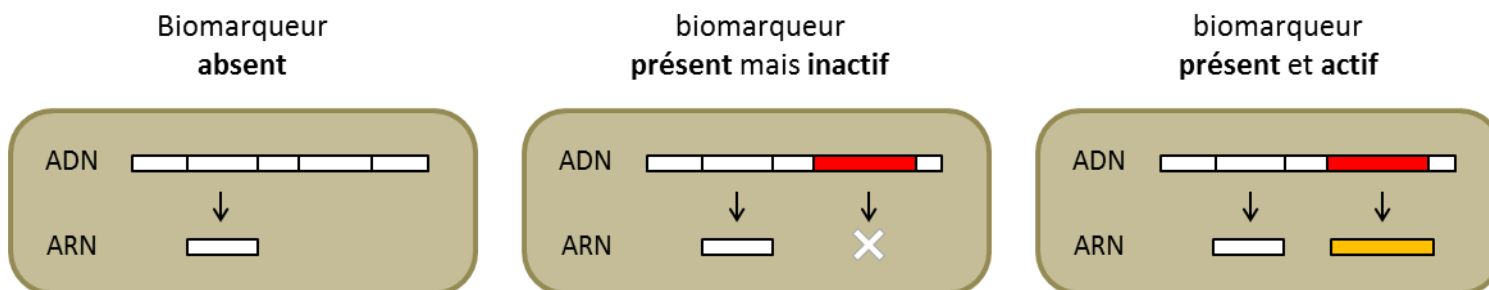
Les Outils de biologie moléculaire



Les Outils de biologie moléculaire

La q-PCR (sur une matrice ADN) est utilisée afin de quantifier la présence des gènes ciblés.

La RT-qPCR (sur une matrice ARN) est utilisée dans le but de quantifier l'activité de ces gènes.



Cette technologie permet de conclure quant à la présence, la quantité et l'activité d'un gène ou d'un genre bactérien impliqué dans un processus de biodégradation.

Etude de cas N°1 : Potentiel de biodégradation du MonoChloroBenzène dans une nappe phréatique

Site industriel situé en Europe :

	MW 8 µg/l	MW9 µg/l	MW10 µg/l	MW11 µg/l
benzène	< LQ	< LQ	1,6	17
éthylbenzène	1,8	230	2 000	380
toluène	< LQ	760	2 500	3 300
Xylènes (o,m,p)	< LQ	1 450	3 500	740
MCB	3 500	1 600	12 000	4 000
1,2 Dichlorobz	< LQ	< LQ	27	120
1,4 Dichlorobz	3,6	1,6	62	78
1,2,4 Trichlorobz	3,8	< LQ	< LQ	11
1,3,5 Trichlorobz	< LQ	< LQ	< LQ	< LQ

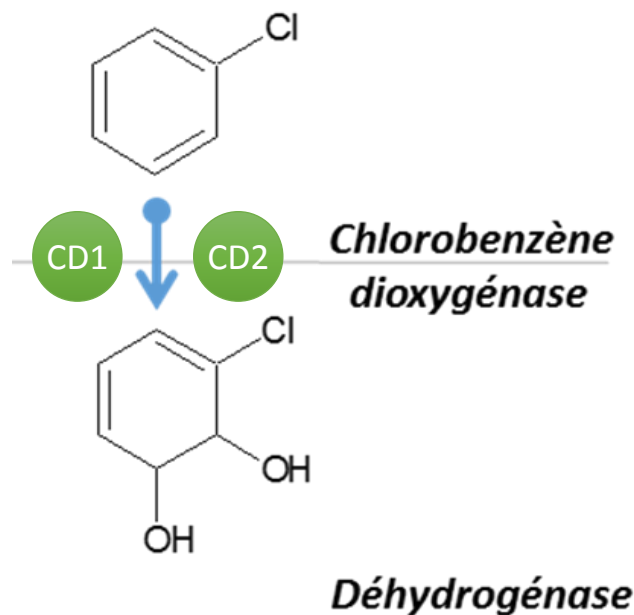
Etude de cas N°1 : Potentiel de biodégradation du MonoChloroBenzène dans une nappe phréatique

Caractérisation des biomarqueurs de la biodégradation aérobie :

		ADN	ARN
		Copies /litre	Copies/litre
CD1	MW8	n.d.	n.d.
	MW9	n.d.	n.d.
	MW10	n.d.	n.d.
	MW11	n.d.	n.d.

		ADN	ARN
		Copies /litre	Copies /litre
CD2	MW8	<L.Q.	n.d.
	MW9	<L.Q.	n.d.
	MW10	<L.Q.	<L.Q.
	MW11	<L.Q.	<L.Q.

< L.Q. : inférieur à la limite de quantification
n.d. : inférieur à la limite de détection

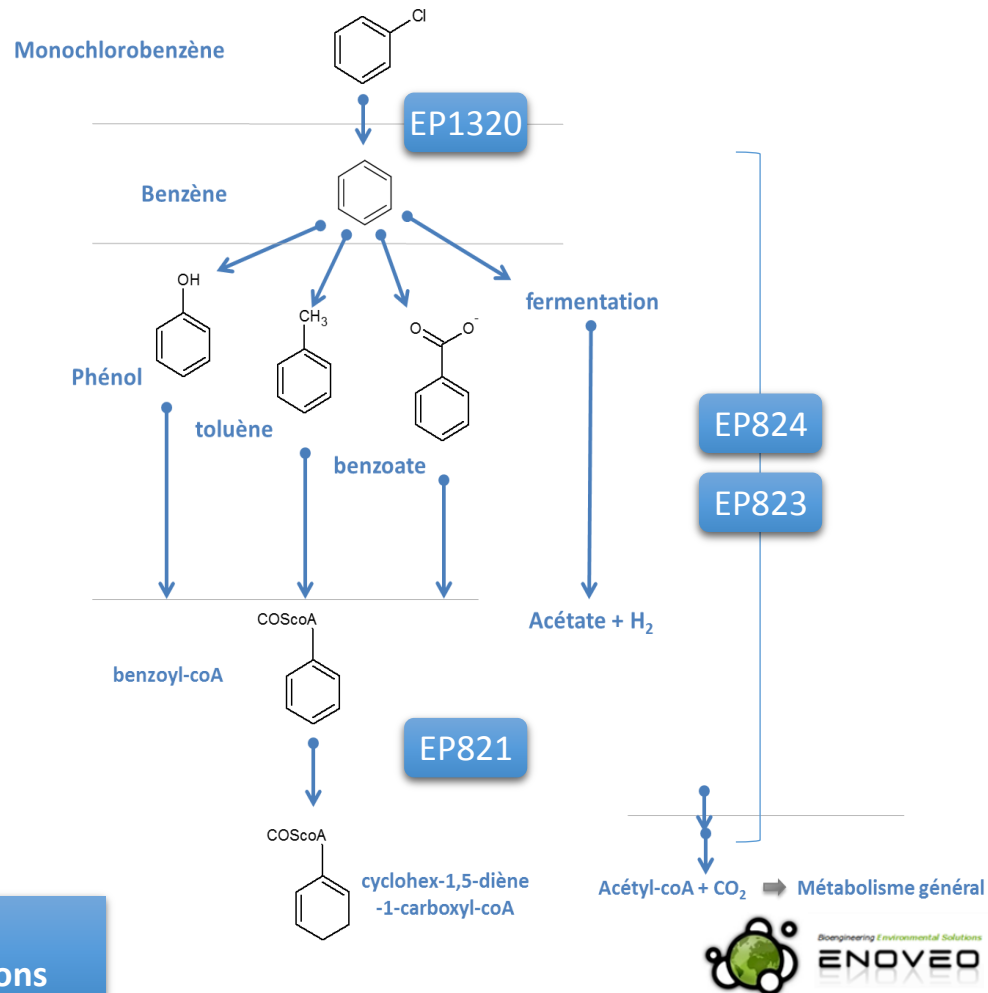


Etude de cas N°1 : Potentiel de biodégradation du MonoChloroBenzène dans une nappe phréatique

Caractérisation des biomarqueurs de la biodégradation anaérobie :

		ADN	ARN
		Copies /litre	Copies/litre
EP1320	MW8	6,13E+04	4,12E+06
	MW9	9,55E+04	6,39E+06
	MW10	4,58E+05	7,87E+07
	MW11	6,49E+05	4,31E+08

		ADN	ARN
		Copies /litre	Copies/litre
EP823	MW8	1,43E+04	5,55E+05
	MW9	3,79E+05	2,22E+05
	MW10	4,81E+04	6,43E+04
	MW11	5,26E+04	8,87E+04



EP824 absent dans tous les échantillons
EP821 présent mais non actif dans tous les échantillons

Etude de cas N°1 : Conclusion



Le potentiel de biodégradation aérobie est faible voire nulle. Les conditions physico-chimiques ne sont pas favorables à ce type de mécanismes. Par contre la présence du biomarqueur CD2 laisse entrevoir la possibilité de biostimuler ce type de flore microbienne.

La biodégradation anaérobie du MCB est effective sur le site. La densité microbienne reste faible mais très active, ce qui implique une cinétique de dégradation relativement lente. Toutefois la biodégradation des Composés Aromatiques Volatils ne semble pas effective (risque d'accumulation du Benzène). Le choix de la stratégie de biostimulation va être important pour activer les deux types de mécanismes (biodégradation anaérobie du MCB + CAV)

Etude de cas N°2 : Pilote de biodégradation aérobie du MonoChloroBenzène dans une nappe phréatique

Contexte :

- Site industriel en Europe
- Nappe phréatique impactée par du MCB (> 8 000 µg/l)
- Présence de Benzène (500 – 1000 µg/l)
- Réalisation d'un pilote laboratoire de biostimulation

Deux pilotes :

- Contrôle : sans amendement – Conc. MCB initiale: 7 800 µg/l
- Amendé : Ajout d'une solution nutritive à 1g/l.
Conc. MCB initiale : 8 400 µg/l

Incubation des pilotes à 11°C à l'abri de la lumière.

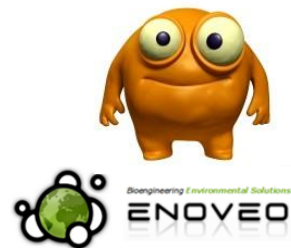
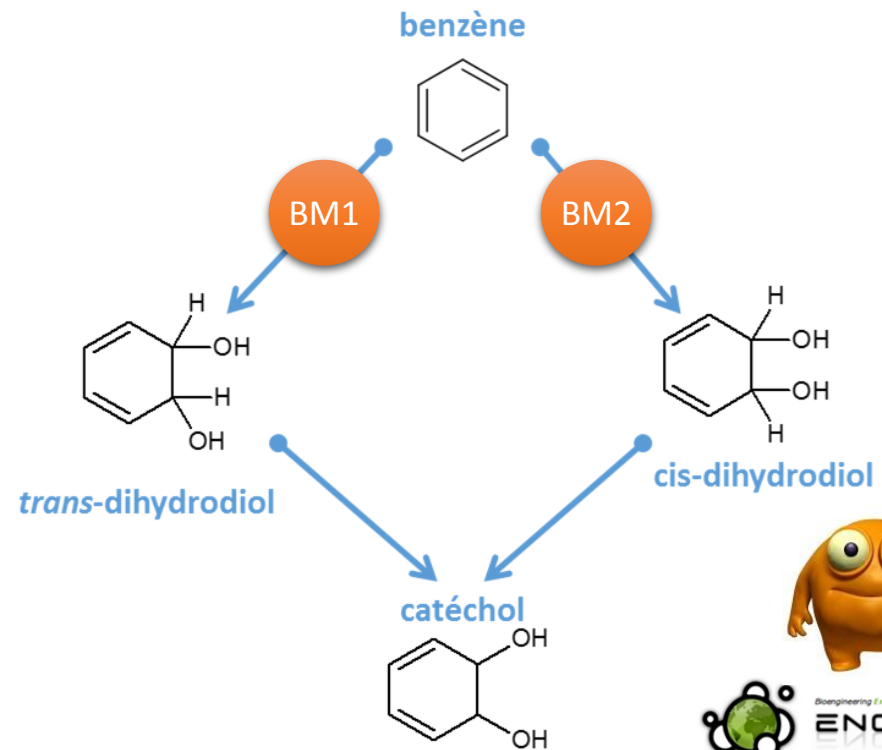
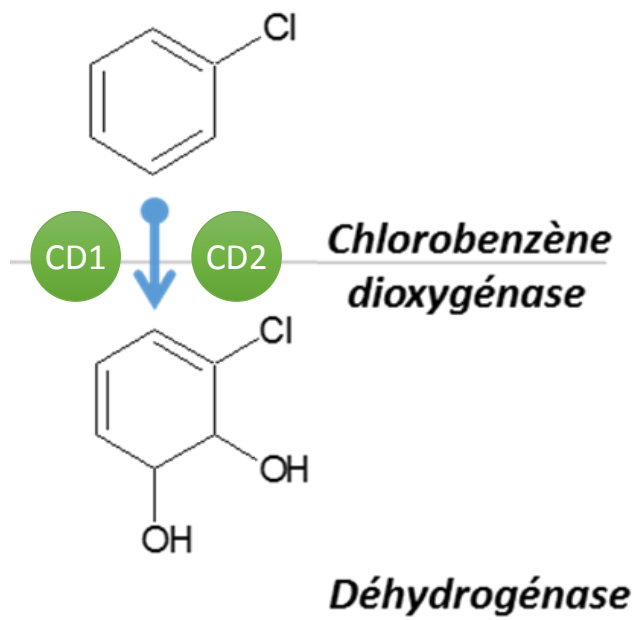
Monitoring chimie + biologie moléculaire

Etude de cas N°2 : Pilote de biodégradation aérobie du MonoChloroBenzène dans une nappe phréatique

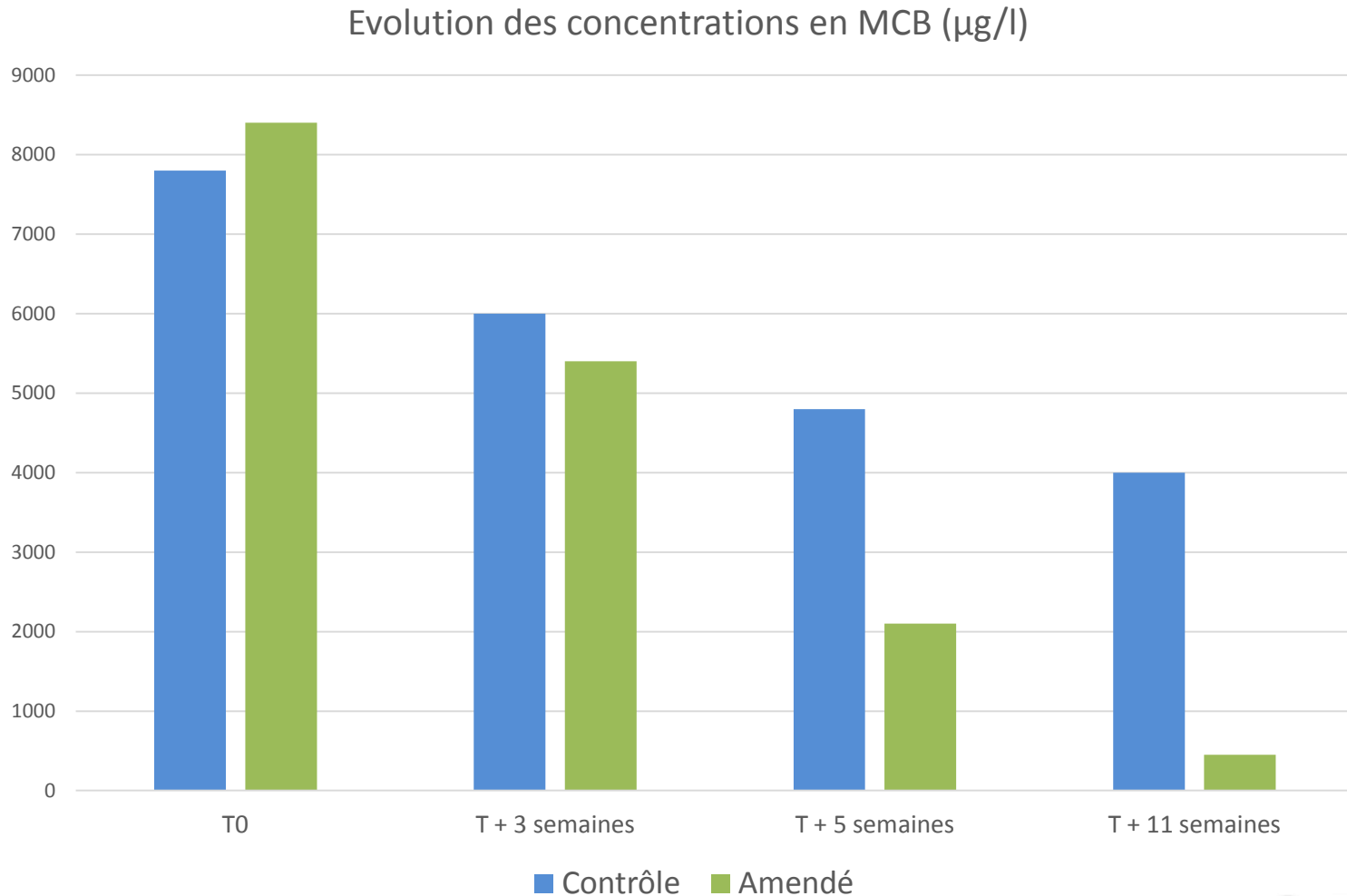
Choix des biomarqueurs codant pour la biodégradation du MCB :

CD1 & CD2 : Biomarqueurs fonctionnels

BM1 & BM2 : Biomarqueurs fonctionnels de la biodégradation du benzène et, par un possible co-métabolisme, du MCB (induction par le chlorocatéchol)



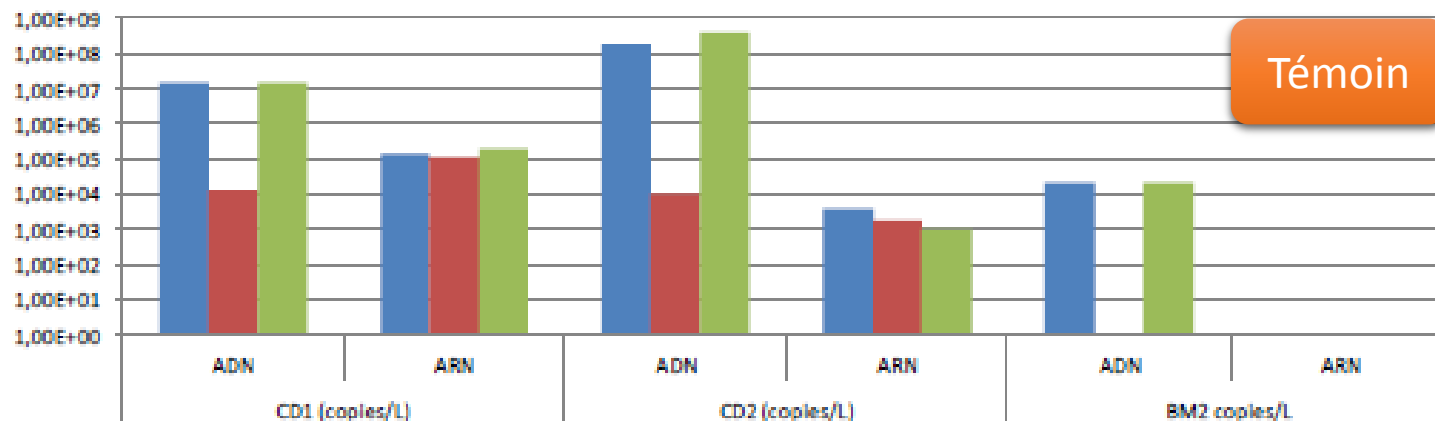
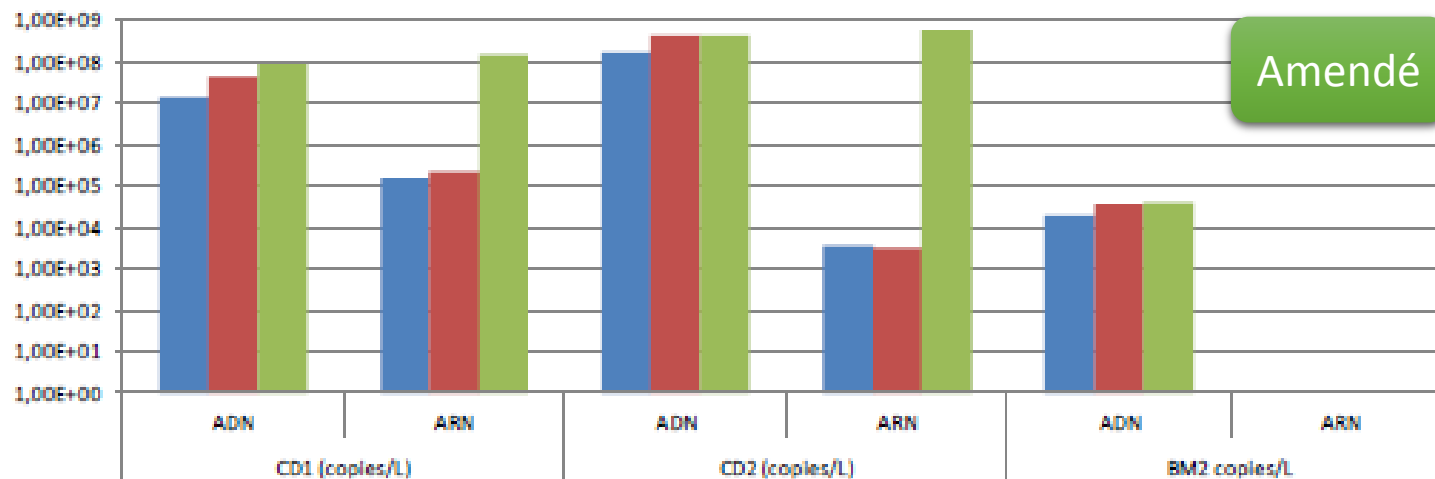
Etude de cas N°2 : Pilote de biodégradation aérobie du MonoChloroBenzène dans une nappe phréatique



Etude de cas N°2 : Pilote de biodégradation aérobie du MonoChloroBenzène dans une nappe phréatique

		Contrôle T0	Contrôle T + 5 semaines	Contrôle T + 11 semaines
pH		7	7,5	7,6
Azote Kjeldahl (NTK)	mg/l	10	11	11
Nitrates (NO3)	mg/l	11	14	10
Ammonium (NH4)	mg/l	250	15	16
Phosphore (P)	µg/l	35	<10	20
Potassium (K)	µg/l	4,3	5	5
		Amendé T0	Amendé + 5 semaines	Amendé + 11 semaines
pH		7	7,6	7,8
Azote Kjeldahl (NTK)	mg/l	580	590	520
Nitrates (NO3)	mg/l	610	630	580
Ammonium (NH4)	mg/l	5100	320	440
Phosphore (P)	µg/l	220	90	290
Potassium (K)	µg/l	500	410	420

Etude de cas N°2 : Pilote de biodégradation aérobie du MonoChloroBenzène dans une nappe phréatique



T0

T5

T11

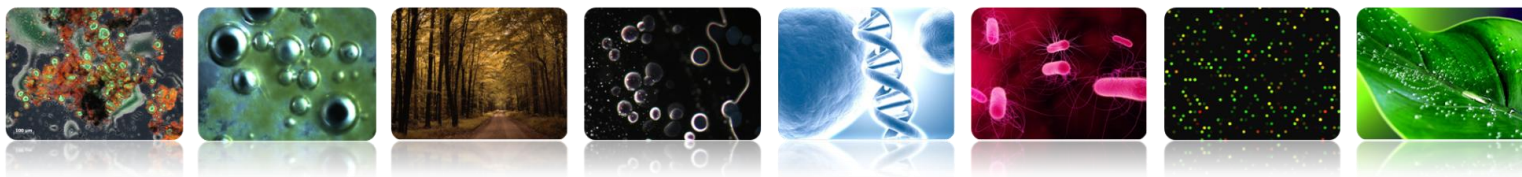
Etude de cas N°2 : Conclusion



- La biodégradation aérobie du MonoChloroBenzène est mise en évidence.
- La carence en nutriment est un facteur limitant pour la biostimulation
- Le témoin montre une faible activité de biodégradation naturelle
- Le mécanisme de biodégradation par co-métabolisme n'est pas encore activé au bout 11 semaines (Induction par le chlorocatéchol pas «encore» effective)

Hydrocarbures (fractions légères, moyennes, fractions lourdes)
Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques – HAP
Composés Aromatiques Polycycliques (Nitro-HAP)
PolyChloroBiphényls – PCB
Additif pétroliers (MTBE – ETBE)
Solvants chlorés (chloroéthylènes, chloroéthanes,
chlorométhanes)
Composés Aromatiques Volatils – (B, T, E, X)
Chlorobenzènes
Nitrobenzènes
Aniline ,ChloroAnilines, TFMA et dérivés
Explosifs (RDX, HMX, TNT, Pentrite ...)
Lindane et ses isomères
Acide Mono-ChloroAcétique (AMCA)
Phénol et dérivés du Phénol
Créosote
Phtalates
Glycol
Dioxines – Furannes

Chrome
Manganèse
Chlorate
Perchlorate



Céline BAGUELIN

Maude DAVID (USA)

Sandra ENTRESANGLES

Cédric MALANDAIN

Jean-Michel MONIER

Olivier SIBOURG (CEO)

Timothy M. VOGEL



ENOVEO

www.enoveo.com

7 place Antonin Poncet

69002 Lyon, France

Tel : +33 (0)4 27 11 85 44