

# BIODEGRADATION AEROBIE DU CHLORURE DE VINYLE

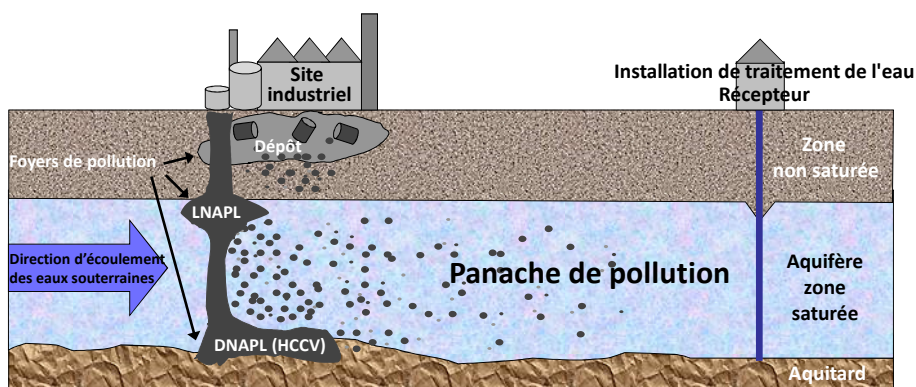
8ème Atelier ChloroForum, Berne-Iltigen, 08.03.2017



Dr Kathrin Schmidt, Prof. Dr Andreas Tiehm



## PRESTATION DE L'ECOSYSTEME - ATTENUATION NATURELLE (AN)



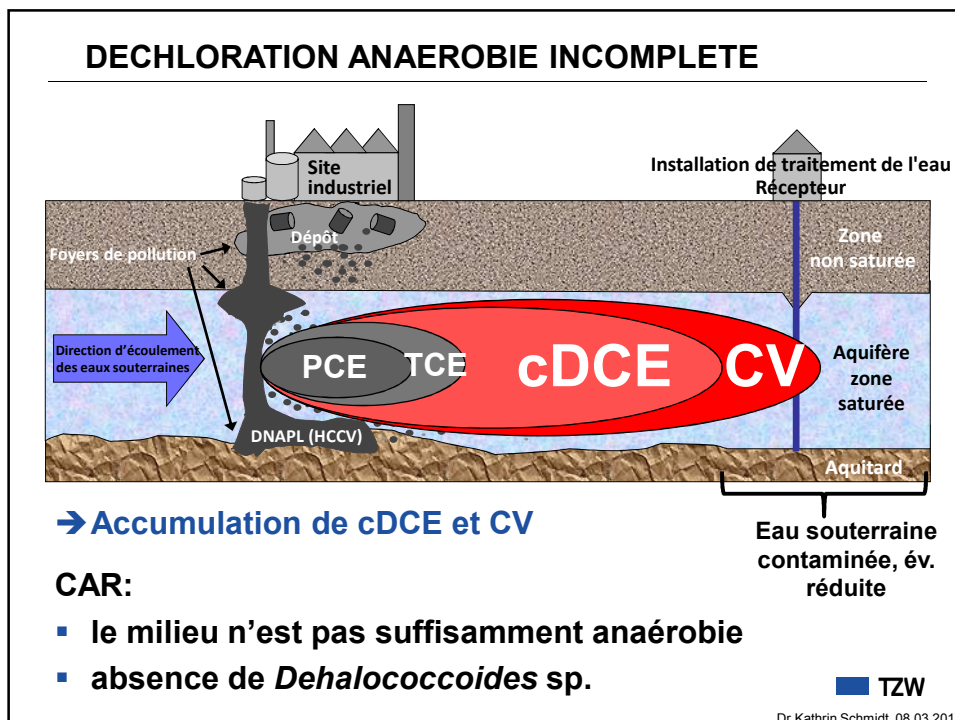
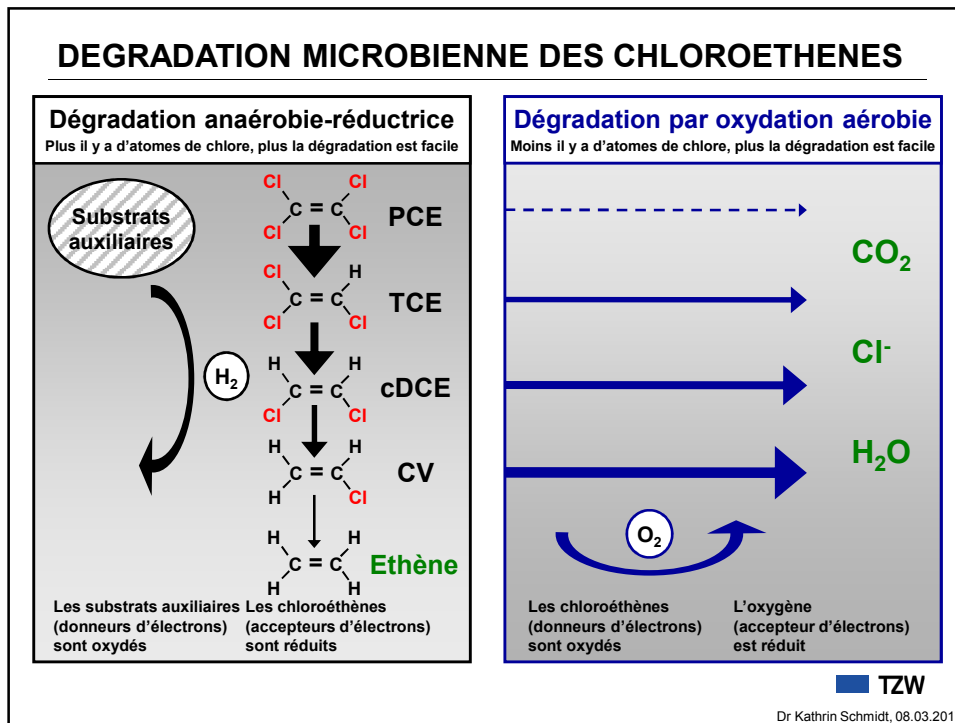
« Les processus naturels de dégradation des polluants sont des processus **biologiques**, chimiques et physiques qui mènent à la diminution (...) d'une substance dans le sol ou dans les eaux souterraines sans intervention humaine »

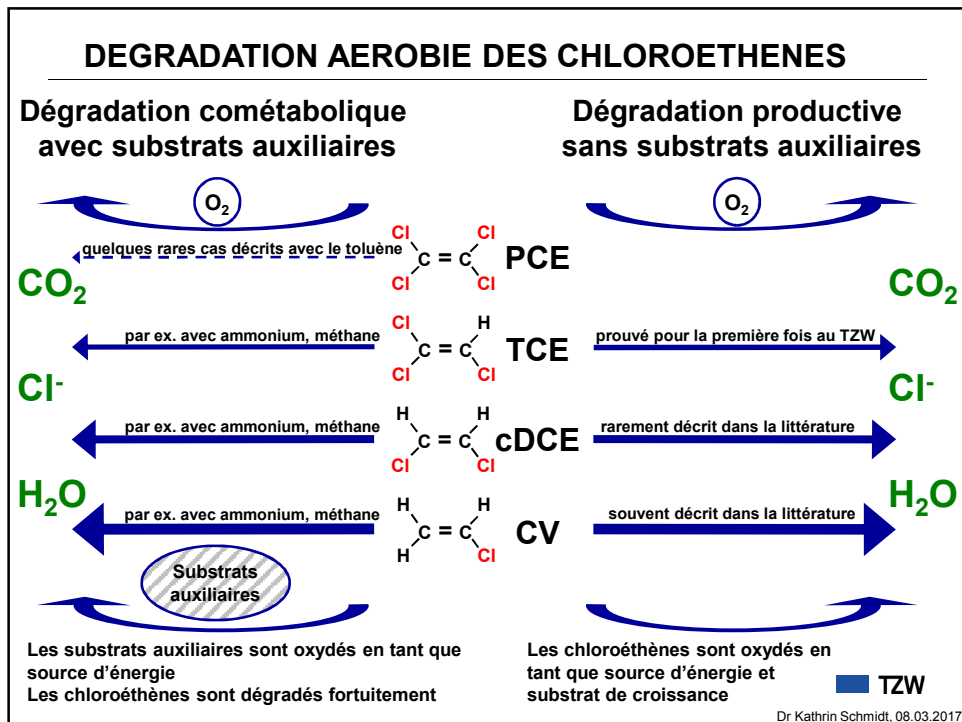
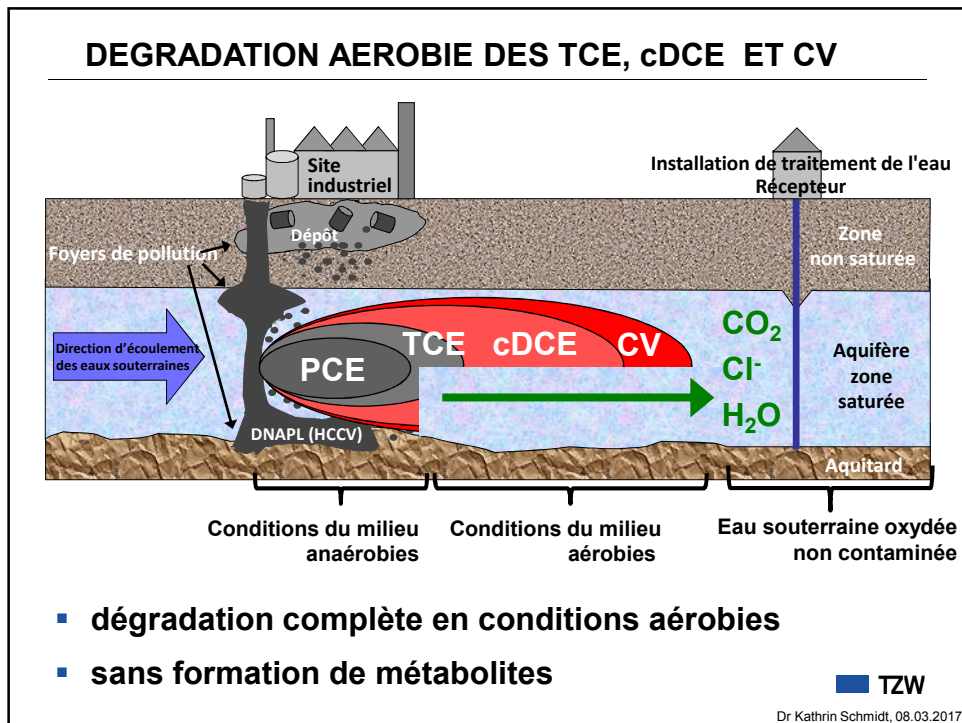
→ la dégradation biologique est souvent déterminante pour réduire la charge

→ Assainissement biologique / bioremédiation




Dr Kathrin Schmidt, 08.03.2017





## 2 EXEMPLES DE SITES DE KORA

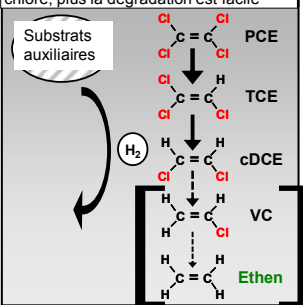
GEFORDERT VOM



Bundesministerium  
für Bildung  
und Forschung

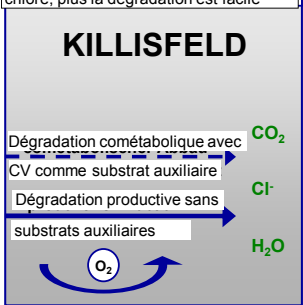
- Polluants de départ: PCE, TCE
- Killisfeld: dégradation anaérobie-réductrice jusqu'au stade de cDCE, CV, éthène
- Frankenthal: dégradation anaérobie-réductrice jusqu'au stade cDCE (CV)

**Dégradation anaérobie-réductrice** - Plus il y a d'atomes de chlore, plus la dégradation est facile



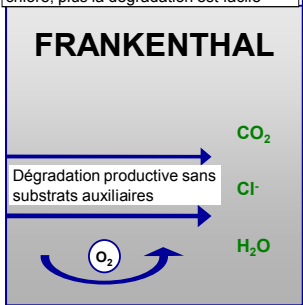
**Dégradation par oxydation anaérobie** - Moins il y a d'atomes de chlore, plus la dégradation est facile

**KILLISFELD**



**Dégradation par oxydation anaérobie** - Moins il y a d'atomes de chlore, plus la dégradation est facile

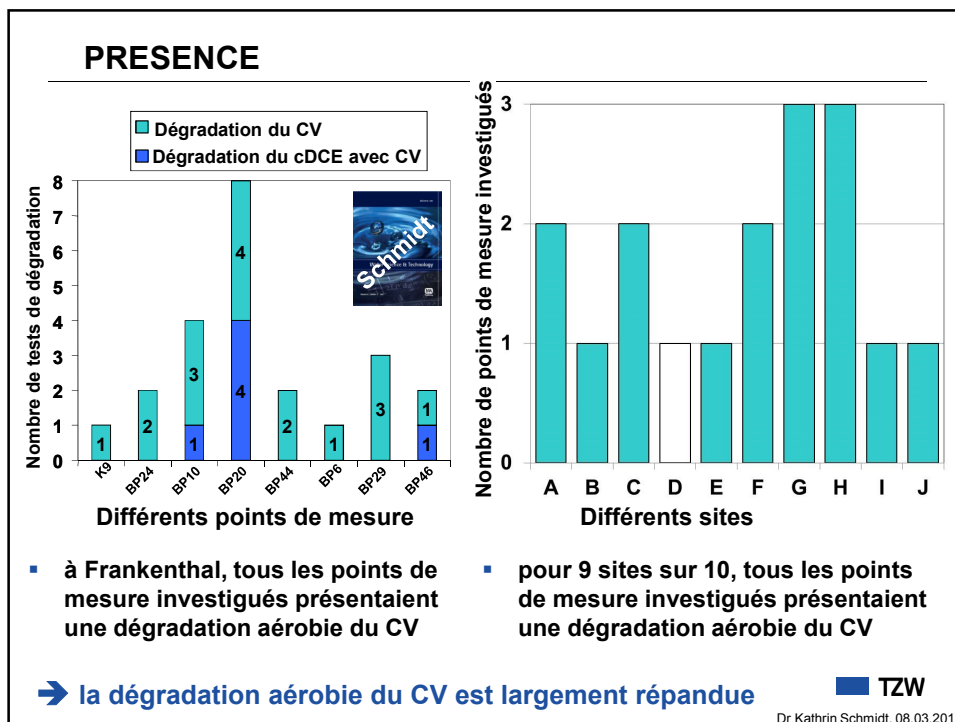
**FRANKENTHAL**



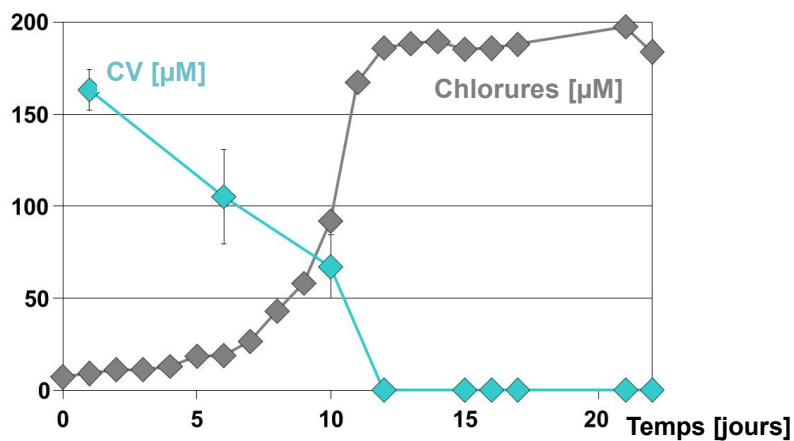
➔ La dégradation aérobie contribue de manière importante à l'élimination des polluants in situ

**TZW**

Dr Kathrin Schmidt, 08.03.2017



## DEGRADATION COMPLETE



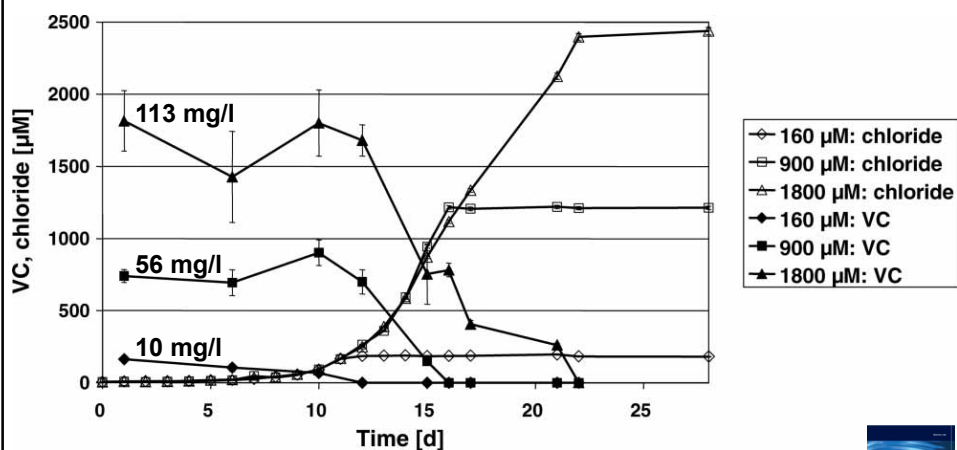
→ formation stœchiométrique de chlorure

→ Minéralisation jusqu'au stade de chlorure, eau et CO<sub>2</sub>

TZW

Dr Kathrin Schmidt, 08.03.2017

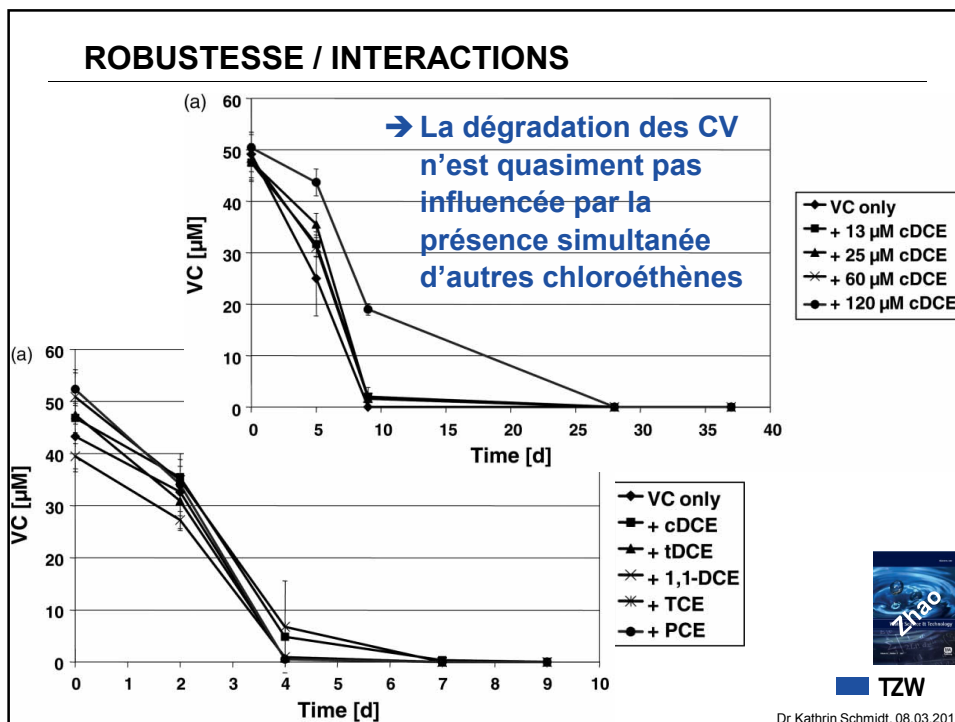
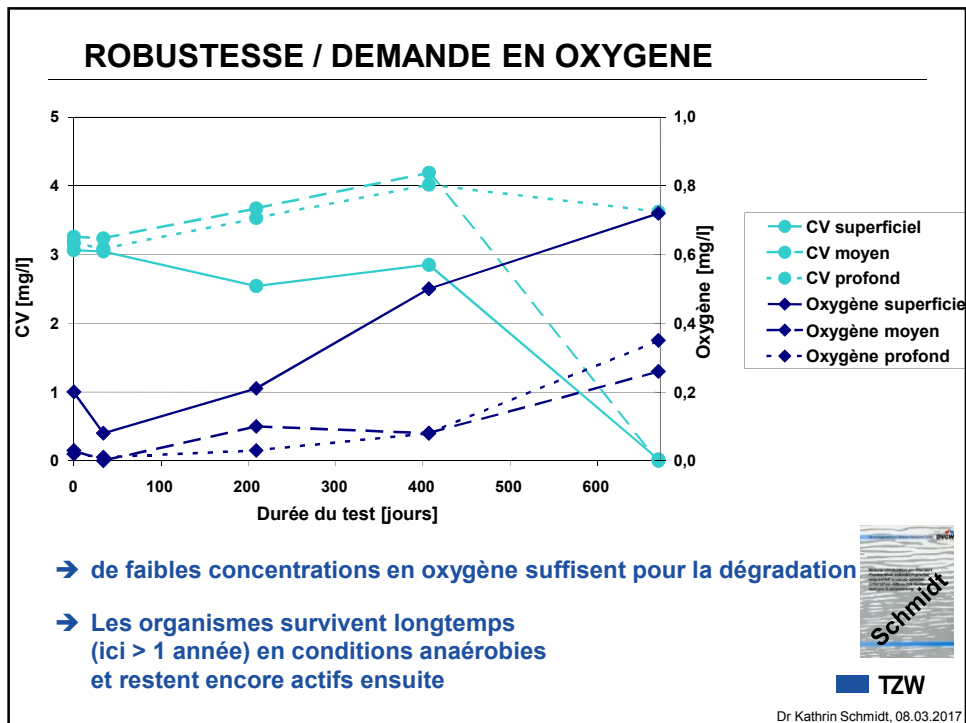
## DOMAINE DE CONCENTRATION



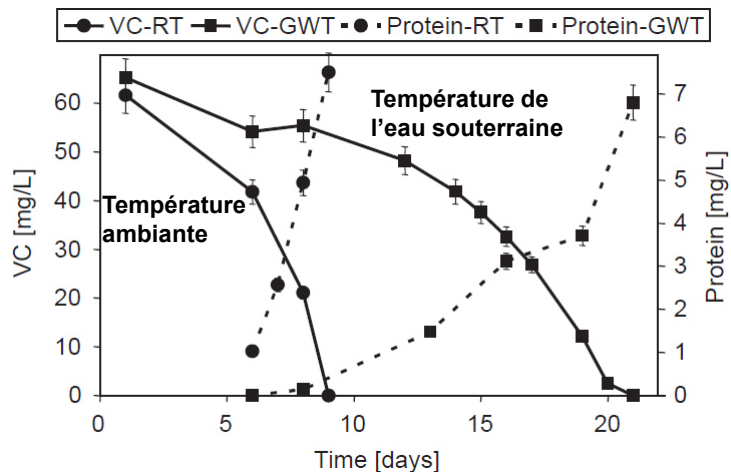
→ Les CV sont bien dégradables au-dessus de 100 mg/l

TZW

Dr Kathrin Schmidt, 08.03.2017



## CROISSANCE BACTERIENNE



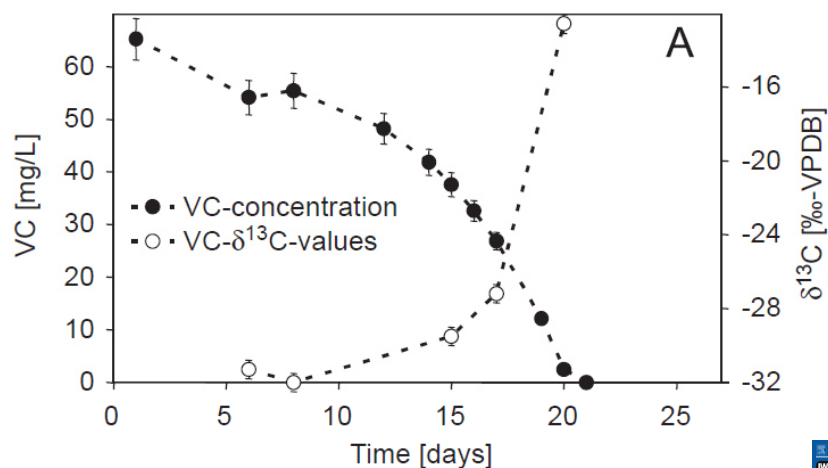
→ Dégénération productive: le CV est utilisé comme seul substrat (= source de carbone) et permet la croissance bactérienne



TZW

Dr Kathrin Schmidt, 08.03.2017

## FRACTIONNEMENT ISOTOPIQUE



→ Un fractionnement isotopique significatif ( $\epsilon = -6,3 \pm 0,3$ ) permet de prouver et de quantifier la dégradation aérobie du CV sur le terrain



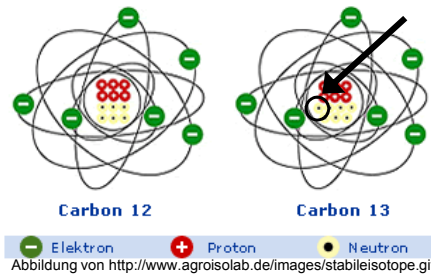
TZW

Dr Kathrin Schmidt, 08.03.2017

## ANALYSE ISOTOPIQUE

→ Mise en évidence de processus AN microbiologiques sur le site au moyen d'analyses chimiques

- Identification des sources et des causes
- Quantification de la dégradation biologique

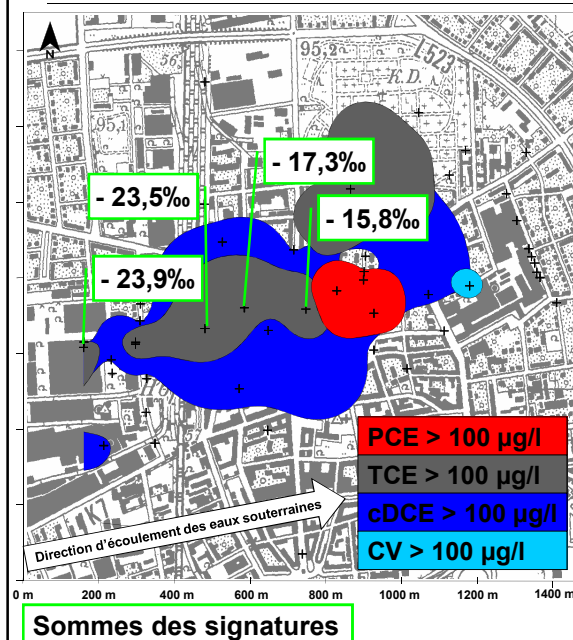


Isotope = atome du même élément mais avec un nombre de neutrons différent, par ex.  $^{12}\text{C}$  (léger) et  $^{13}\text{C}$  (lourd); les deux sont stables, donc non radioactifs

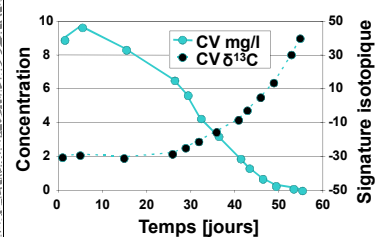
TZW

Dr Kathrin Schmidt, 08.03.2017

## ISOTOPES: EXEMPLE DE FRANKENTHAL



- Enrichissement en isotopes  $^{13}\text{C}$  sur le terrain



Détermination du facteur d'enrichissement lors du test de dégradation

→ Quantification de la dégradation sur le terrain

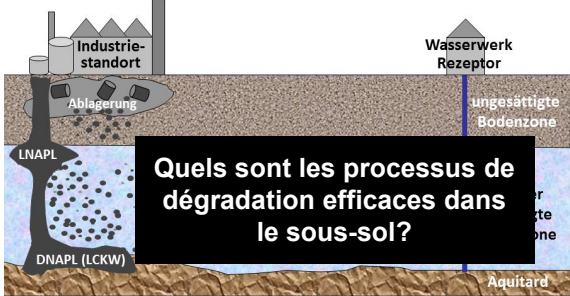


TZW

Dr Kathrin Schmidt, 08.03.2017



## MISE EN EVIDENCE D'UN PROCESSUS DE BIODEGRADATION / ATTENUATION NATURELLE SUR LE TERRAIN



!!!

**Quels sont les processus de dégradation efficaces dans le sous-sol?**

???

- Isotopes
- Tests de dégradation (en microcosmes)
- Dénombrement microbiologique (PCR+MPN)
- Milieu redox
- Échantillons de polluant

- quels polluants sont dégradés?
- dans quelles conditions de milieu?
- quelle est l'efficacité de la dégradation?
- l'ANS (AN sous surveillance) suffit-elle?
- est-il nécessaire de recourir à la stimulation/AN stimulée (enhanced NA)?
- quelles sont les options de stimulation?

TZW  
Dr Kathrin Schmidt, 08.03.2017

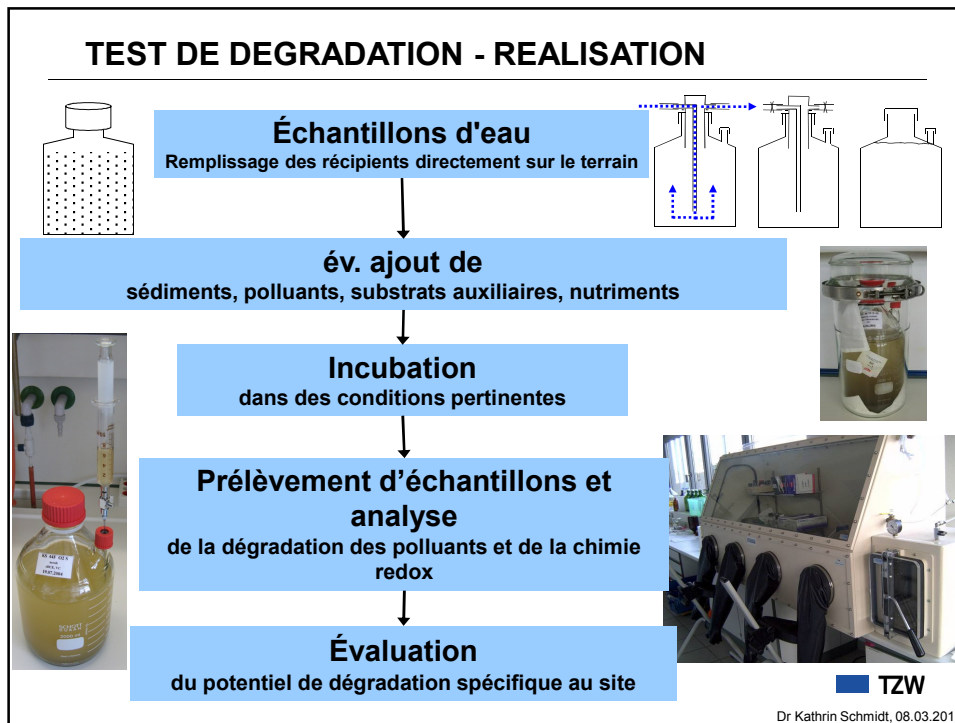
## TESTS DE DEGRADATION MICROBIOLOGIQUE

➔ **Mise en évidence des processus de dégradation microbiologique apparaissant sur le site**

- Matériau présent sur le site (eau souterraine, sédiment)
- Microcosmes
- Conditions semblables à celles du site ou modifiées de manière ciblée
- Analyse de la dégradation des polluants et des processus redox



TZW  
Dr Kathrin Schmidt, 08.03.2017



## DENOMBREMENT MICROBIOLOGIQUE (PCR+MPN)

**PCR = Polymerase Chain Reaction**

Spécifique aux bactéries/enzymes;  
présuppose une caractérisation par  
biologie moléculaire

→ **Détection de l'ADN**  
(= information génétique)

**MPN = Most Probable Number**

Dénombrement des  
bactéries (par culture)

→ **Mise en évidence de la croissance**  
**de groupes de microorganismes à**  
**l'aide de certains essais en laboratoire**

- Utilisation d'échantillons de terrain (eau souterraine, sol)
- Informations sur le potentiel de dégradation et le milieu redox

**TZW**  
Dr Kathrin Schmidt, 08.03.2017

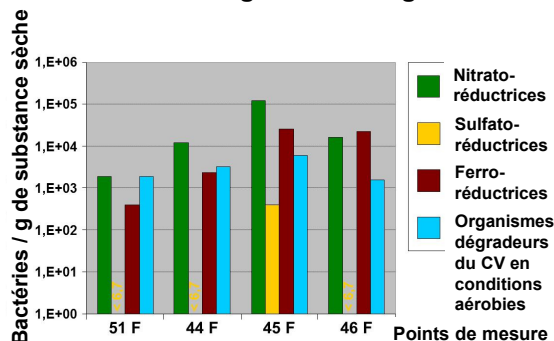
## DENOMBREMENT MICROBIOLOGIQUE (PCR+MPN)

La méthode PCR a largement fait ses preuves dans la pratique pour détecter le processus de **déchloration anaérobie-réductrice**

- Détection des bactéries  
Desulfomonile sp.,  
Desulfuromonas sp.,  
Dehalobacter sp.,  
Desulfitobacterium sp.,  
Dehalococcoides sp.
- et des enzymes pceA, tceA, vcrA, bvcA
- qualitativement et quantitativement

Les enzymes connues jusqu'à présent pour la dégradation aérobie productive du CV sont peu spécifiques

La méthode MPN est utilisée dans la pratique pour quantifier les différents organismes dégradeurs



→ Les organismes dégradeurs du CV en conditions aérobies sont largement répandus

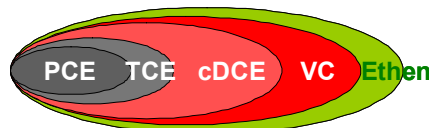
TZW

Dr Kathrin Schmidt, 08.03.2017

## METHODES DE DETECTION - RESUME

### Échantillon de polluant

Premières indications importantes, données la plupart du temps à disposition



### Milieu redox

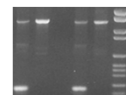
Conditions-cadres importantes, données la plupart du temps à disposition

Aérobie/anaérobie

### Dénombrement microbiologique

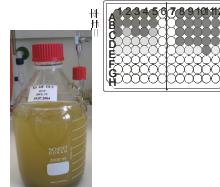
PCR: mise en évidence rapide des potentiels microbiens (avant tout anaérobie-réducteurs)

MPN: mise en évidence relativement rapide de l'activité microbienne



### Tests de dégradation (microcosmes)

fournissent des informations approfondies sur le comportement lors de la dégradation



### Fractionnement isotopique

permet de différencier la réduction de charge réalisée par biodégradation et par d'autres processus AN, et d'en établir une quantification

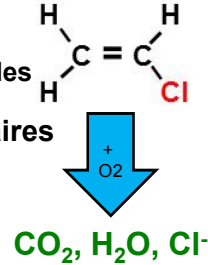
<sup>12</sup>C → dégradation plus rapide  
<sup>13</sup>C → dégradation plus lente

TZW

Dr Kathrin Schmidt, 08.03.2017

## EFFICACITE DE LA DEGRADATION AEROBIE DU CV

- élimination complète (minéralisation)
  - ➔ pas de formation de produits de dégradation stables
- ne nécessite en général pas de substrats auxiliaires
- fortes concentrations dégradables
- robuste relativement aux co-contaminants
- de faibles concentrations en oxygène suffisent
- tolérance par rapport à un large éventail de conditions environnementales (par ex. température, valeurs pH, manque de nutriments)
- croissance bactérienne (formation de protéines)
- reproductible et stable sur la durée



TZW

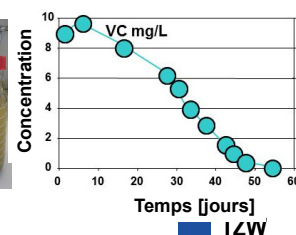
Dr Kathrin Schmidt, 08.03.2017

## DEGRADATION AEROBIE DU CV DANS LA PRATIQUE

- ➔ intéressant pour les stratégies d'assainissement biologiques
- ➔ application dans les processus séquentiels anaérobies-aérobies

Une compréhension approfondie du processus de biodégradation sur le site

- est requise pour recourir à l'AN (MNA / ENA)
- permet d'évaluer les risques et de faire des prévisions
- on peut y parvenir grâce à
  - une manière de procéder par étapes
  - et adaptée aux conditions du site (examen au cas par cas)
- la combinaison de plusieurs méthodes (multiple lines of evidence approach)



IZW

Dr Kathrin Schmidt, 08.03.2017

## NOUS REMERCIONS



Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses  
des Deutschen Bundestages



- pour le soutien financier
- les partenaires du projet pour leur collaboration
- les collègues du TZW pour leur participation
- et vous-mêmes pour votre attention!



 TZW

Dr Kathrin Schmidt, 08.03.2017

## BIBLIOGRAPHIE + CONTACT

[kathrin.schmidt@tzw.de](mailto:kathrin.schmidt@tzw.de); 0721 / 9678-223

[andreas.tiehm@tzw.de](mailto:andreas.tiehm@tzw.de); 0721 / 9678-137

Müller A., Schäfer W., Wickert F., Tiehm A. (2006) Nachweis und Identifikation von Natural Attenuation Prozessen in einer LCKW-Fahne. altlasten spektrum 6: 301-309.



Martin H., Heidinger M., Ertl S., Eichinger L., Tiehm A., Schmidt K., Karch U., Leve J. (2006) 13C-Isotopenuntersuchungen zur Bestimmung von Natural Attenuation – Abgrenzung und Charakterisierung eines CKW-Schadens am Standort Frankenthal. TerraTech 3-4: 14-17.

Schmidt K. R., Stoll C., Tiehm A. (2006) Evaluation of 16S-PCR detection of Dehalococcoides at two chloroethene-contaminated sites. Wa. Sci. Technol. 6(3): 129-136.



Tiehm A., Schmidt K. R., Pfeifer B., Heidinger M., Ertl S. (2008) Growth kinetics and carbon isotope fractionation during aerobic degradation of cis-1,2-dichloroethene and vinyl chloride. Water Res. 42 (10-11): 2431-2438.



Schmidt K. R., Tiehm A. (2008) Natural attenuation of chloroethenes: identification of sequential reductive/oxidative biodegradation by microcosm studies. Water Sci. Technol. 58(5): 1137-1145.




Schmidt K. R. (2009) Natural attenuation am Standort Frankenthal: mikrobiologischer sequentiell anaerob-aeroben Chlorethen-Abbau mit Kohlenstoff-Isotopenfraktionierung. Dissertation, Technische Universität Dresden / DVGW-Technologiezentrum Wasser, Karlsruhe. Veröffentlichungen aus dem Technologiezentrum Wasser (ISSN 1434-5765), Band 43.



Zhao H.-P., Schmidt K. R., Lohner S., Tiehm A. (2011) Robustness of an aerobic metabolically vinyl chloride degrading bacterial enrichment culture. Water Sci. Technol. 64(9): 1796-1803.

Schmidt K. R. und Tiehm A. (2011) Natural attenuation am Chlorethen-Standort Frankenthal: Bedeutung des sequentiell anaerob-aeroben Bio-Abbaus. altlasten spektrum 05: 212-219.

Tiehm A., Schmidt K. R. (2011) Sequential anaerobic/ aerobic biodegradation of chloroethenes – aspects of field application. Curr. Opin. Biotechnol. 22(3): 415-421  TZW

Dr Kathrin Schmidt, 08.03.2017