

Les techniques de biorémédiation



Journée d'information du Cedre
10 mars 2015

Dr. Ronan Jézéquel
Service Recherche

After the incident, main responses

At Sea

Mechanical recovery



Dispersion



In Situ Burning



On the Shoreline

First Cleanup



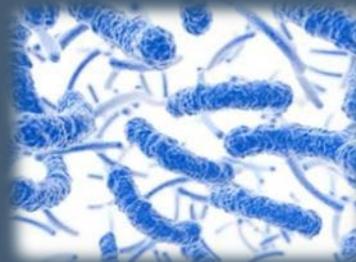
Manual cleaning



Sand screening



and **Bioremediation**

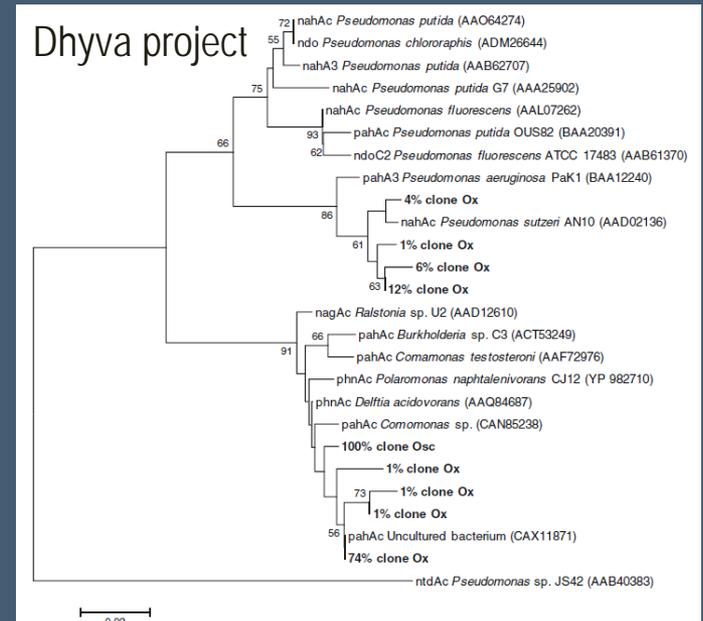


La biorestauration d'un milieu contaminé consiste à agir sur les conditions environnementales pour optimiser la biodégradation naturelle du contaminant.



Capacité de certains organismes à
assimiler les hydrocarbures en tant que
source d'énergie

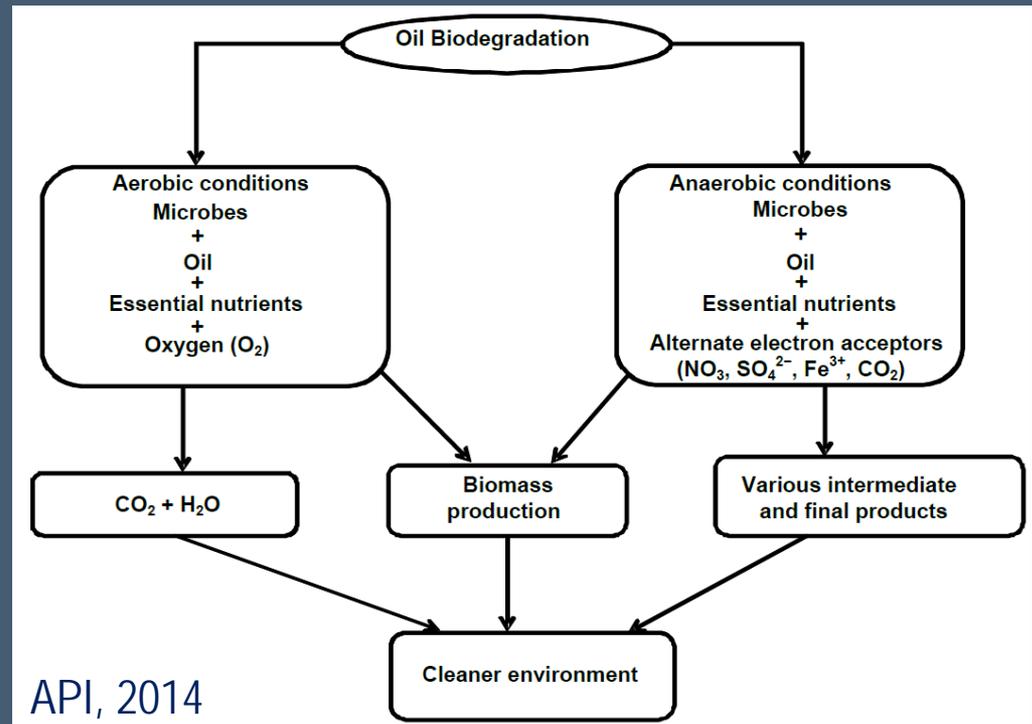
- Bactéries
- Champignons
- Levures



La biorestauration d'un milieu contaminé
consiste à agir sur les conditions
environnementales pour optimiser la
biodégradation naturelle du contaminant.



2 voies de dégradation:
- oxic
- anoxique



La biorestauration d'un milieu contaminé consiste à agir sur les conditions environnementales pour optimiser la biodégradation naturelle du contaminant.

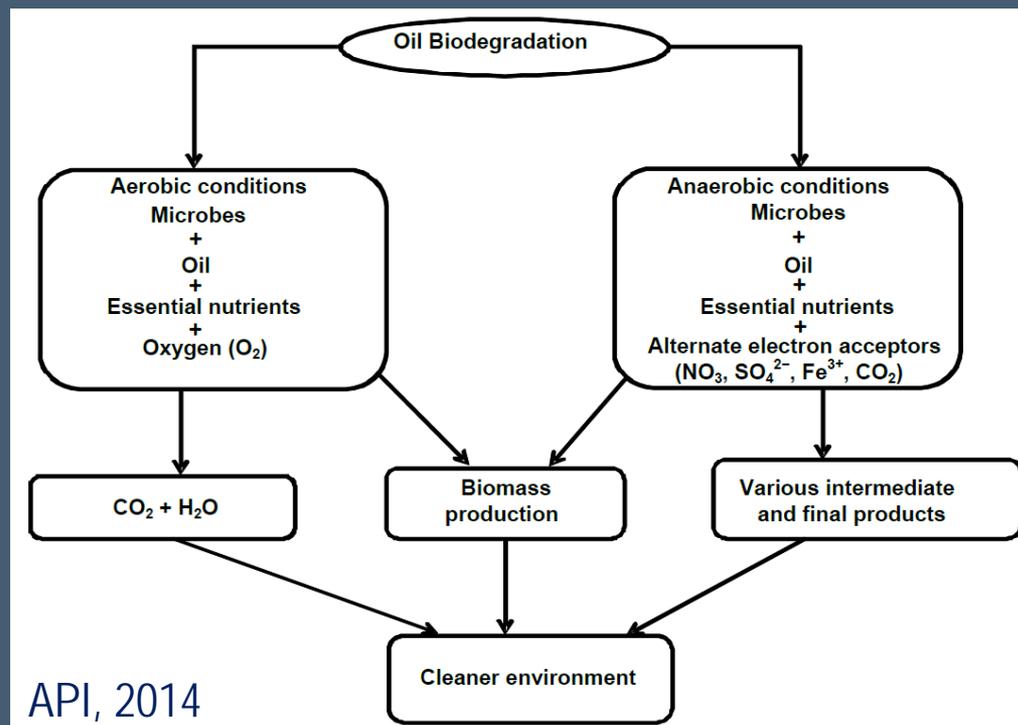


2 voies de dégradation:

- oxic
- anoxique



Dans le meilleur des cas
 $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$

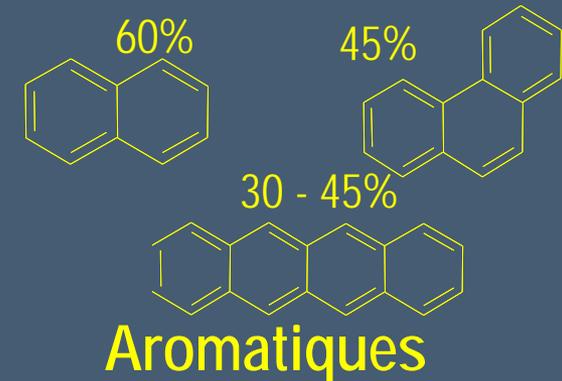
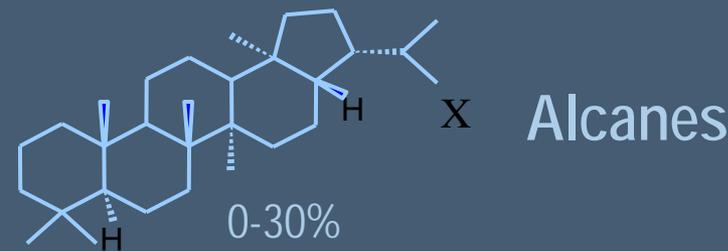
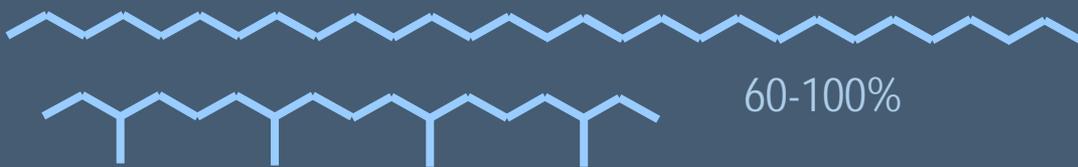


La biorestauration d'un milieu contaminé consiste à agir sur les conditions environnementales pour optimiser la biodégradation naturelle du contaminant.

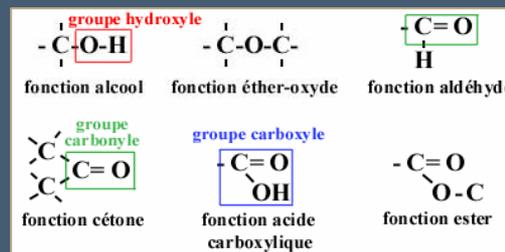


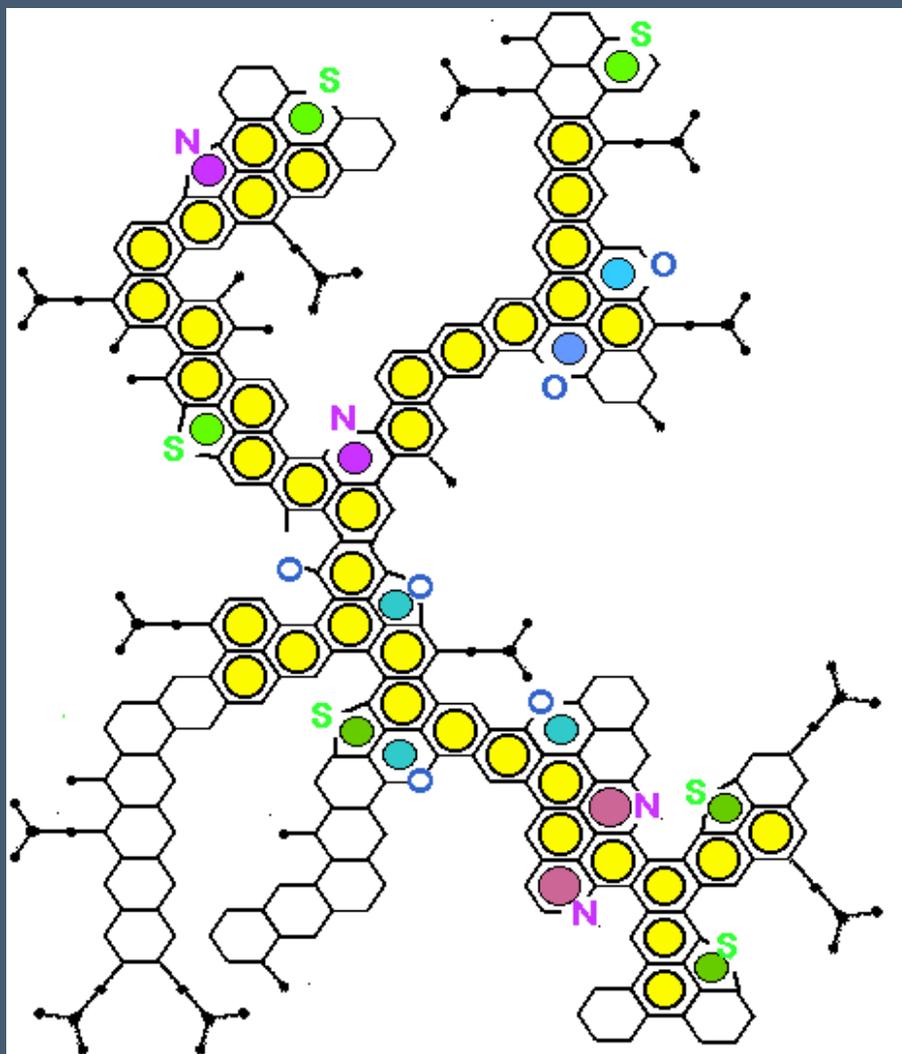
Nature de la contamination

Selon la composition chimique, l'hydrocarbure sera + / - biodégradable:



Résines
10 - 30%





Asphaltènes
0 - 10%

La biorestauration d'un milieu contaminé consiste à agir sur les conditions environnementales pour optimiser la biodégradation naturelle du contaminant.



Nature de la contamination

Selon la composition chimique, l'hydrocarbure sera + / - biodégradable:

Type d'hydrocarbure	Biodégradabilité (%)
Essence	> 90%
Kérosène	> 80%
Gasoil	60 – 80%
Lubrifiants	< 50%
Pétrole brut (variable)	30 – 70%
Fioul lourd	10 - 20%
Bitume	négligeable

La biorestauration d'un milieu contaminé
consiste à agir sur les conditions
environnementales pour optimiser la
biodégradation naturelle du contaminant.



Nature de la contamination

Etat physique des
hydrocarbures influe sur leur
biodisponibilité

- dispersé ou concentré
- émulsionné
- film, nappe, ...

Concentration en hydrocarbures
Biorestauration est à entreprendre
après un nettoyage grossier du milieu

La biorestauration d'un milieu contaminé
consiste à agir sur les conditions
environnementales pour optimiser la
biodégradation naturelle du contaminant.



- Température, salinité, pH
- Concentration en oxygène, eau
- Flore bactérienne en place
- Abondance en nutriments (N, P, K)

Bioremediation

- Is considered as a « green » techniques compared to others
- Can be limited due to **oil nature / concentration** and environmental parameters (Temperature, Oxygen, Nutrients) => these **parameters need to be assessed systematically** before bioremediation deployment
- Implies that **commercial products** are used to increase oil biodegradation

Différents procédés de biorestauration

- **Biostimulation** consiste à **accroître l'activité de la microflore indigène** d'un environnement donné en palliant à l'insuffisance d'un élément fondamental au processus de biodégradation d'un hydrocarbure. Elle est réalisée par **apport de nutriments et/ou d'accepteurs finaux d'électrons** (oxygène, nitrate, sulfate).

3 types de solutions:

- Les **engrais minéraux hydrosolubles** à usage agricole ou horticole composés d'azote et phosphore,
- Les **supports solide à diffusion lente**: N et P associés à un élément solide carboné,
- Les **supports oléophiles liquides** développés pour assurer un apport en nutriments au plus proche de l'activité bactérienne (i.e. à l'interface eau – hydrocarbure).

Différents procédés de biorestauration

- **Biostimulation** consiste à **accroître l'activité de la microflore indigène** d'un environnement donné en palliant à l'insuffisance d'un élément fondamental au processus de biodégradation d'un hydrocarbure. Elle est réalisée par **apport de nutriments et/ou d'accepteurs finaux d'électrons** (oxygène, nitrate, sulfate).

- **Bioaugmentation** consistent à **ajouter des microorganismes exogènes** dans un environnement caractérisé par **l'absence ou le manque d'abondance de bactéries hydrocarbonoclastes**. Leur mise en œuvre se fait en général par pulvérisation d'un lyophilisat réhydraté.

Activités du Cedre sur la thématique

- 1990 – 2000 : multiples études expérimentales en laboratoires et *in situ* sur le test et amélioration de techniques.
- 2006 – 2015: 2 projets ANR sur la biodégradation naturelle dans les vasières (DHYVA / DECAPAGE) et l'adaptation des communautés à une pollution par hydrocarbures

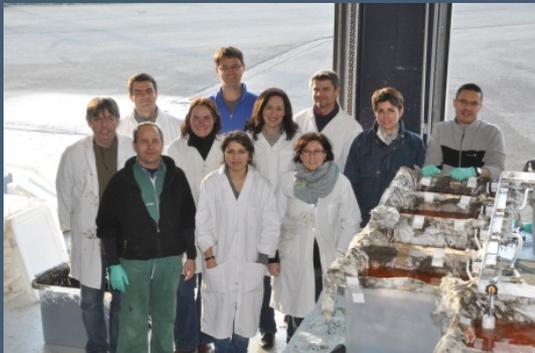
Oil degradation in coastal muddy areas and anoxic ecosystems



In DEpth characterization of HC-degradation CAPacities of marine sediment microbial communities: adaptation, metabolic processes and influence of oxyGEnation regimes



Nov. 2011 - Nov. 2015
1500 k€



- University of Toulouse
- University of Pau (2 laboratories)
- University of Marseille
- Cedre



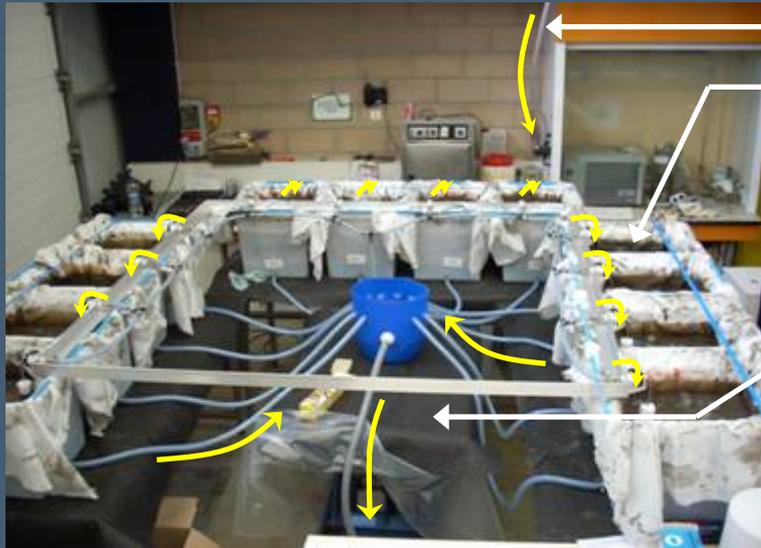
Main Objectives of the project:

- Understanding how microbial communities **respond, adapt and degrade** petroleum compounds in anoxic area
- How bacterial **metabolisms interact** in the degradation of oil ?
- Estimating the **bioturbation effects** on these bacterial activities.
- Assess the influence of **dispersant** on the **oil distribution** in sediment, on **microbial and macrofauna** communities



Mesoscale Experimentation (jan. - nov. 2012)

Microcosms of a mud type ecosystem



Seawater supply

16 microcosms (30L of mud each) equipped of :

- geotextile membrane
- ball cock
- evacuation pipes of tides water

Lifting table with collector of tides water



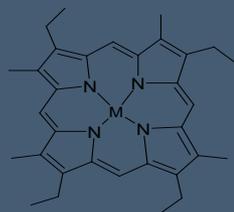
Conditions :

- negative control (only sediments)
- sediments with oil pollution
- sediments with *Hediste diversicolor* (bioturbation)
- sediments with oil pollution + bioturbation
- sediment with dispersed oil with or without *Hediste*.



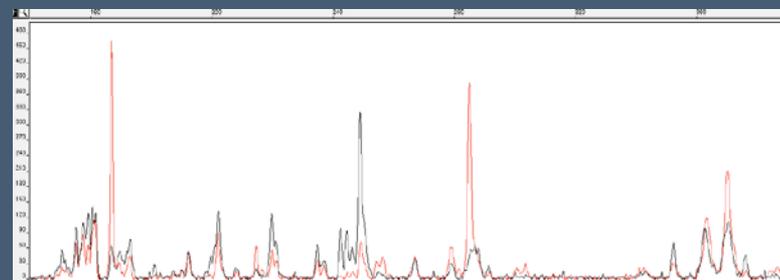
10 sampling rounds of sediment cores (10 x 3 cm) were dispatched to the different laboratories during the 10 months of experiment.

ICP-MS analysis of metals in petroleum



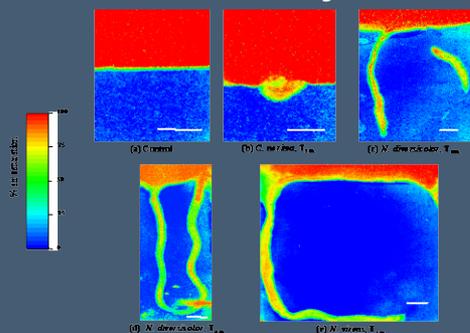
Metal - complex type in petroleum:
ETIO porphyrin

Bacterial diversity (DNA and RNA)



A T-RFLP profile of extracted DNA from mud polluted (black) or not (red)

Bioturbation analysis

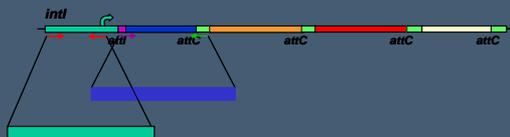


Examples of oxygen distribution in sediments.

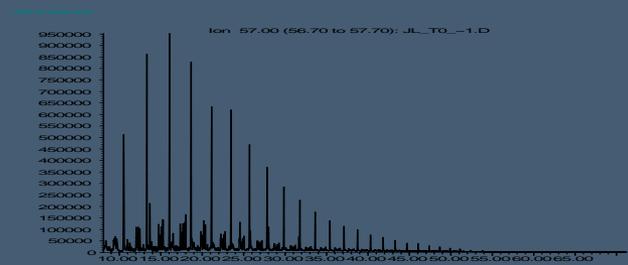


Hydrocarbons titration

Mechanisms of adaptation and genes involved



Schematic representation of an integron and location of the fragment containing the "first gene cassette" targeted



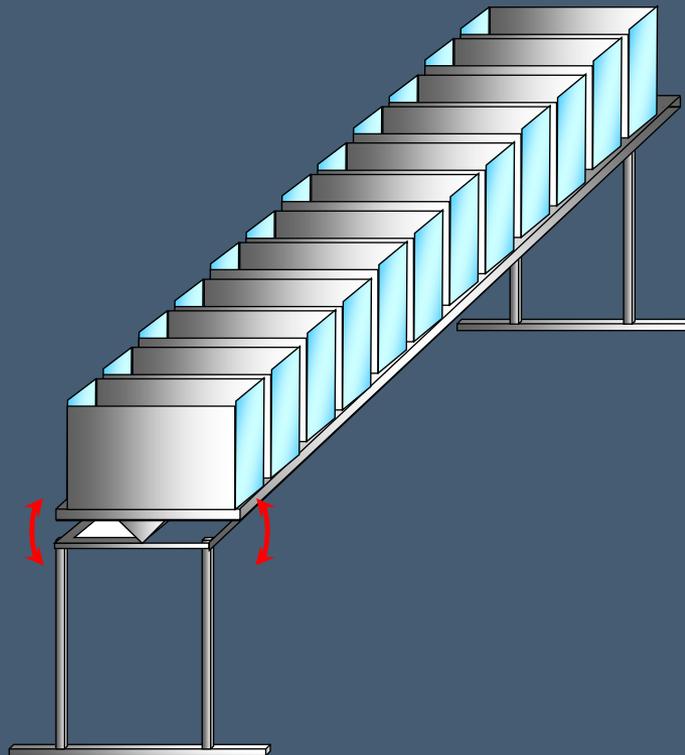
Ion chromatogram of *n*-alkanes ($m/z=57$) of the initial oil

Activités du Cedre sur la thématique

- 1990 – 2000 : multiples études expérimentales en laboratoires et *in situ* sur le test et amélioration de techniques.
- 2004 – 2015: 2 projets ANR sur la biodégradation naturelle dans les vasières (DHYVA / DECAPAGE) et l'adaptation des communautés à une pollution par hydrocarbures
- 2012: état de l'art sur les techniques de biorestauration
- 2014 – 2015 : développement d'un test d'efficacité des agents de biorémédiation

Développement d'un test d'efficacité des agents de biorémédiation

Objectif: disposer d'un dispositif expérimental avec simulation des cycles de marées (phénomène de dilution) dans un environnement contaminé traité par un agent de biorémédiation.



12 tanks
(L = 40cm; l = 20 cm; h = 30 cm)

Oscillating table
(L = 4,80m ; l = 20 cm)

Développement d'un test d'efficacité des agents de biorémédiation

Objectif: disposer d'un dispositif expérimental avec simulation des cycles de marées (phénomène de dilution) dans un environnement contaminé traité par un agent de biorémédiation.



- table d'agitation avec 12 bacs
- réserve d'eau de mer
- table élévatrice programmable dont les montées et descentes permettent de contrôler la vidange (marée basse) ou remplissage (marée haute) des bacs,

Développement d'un test d'efficacité des agents de biorémédiation

Planning de l'action:

- 2014: 1^{ère} série d'essai sur 2 produits biostimulant (non concluant car manque de bactéries)
- 2015: 2^{ème} série (avril)

Merci de votre attention

Thank you for your attention