

# 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



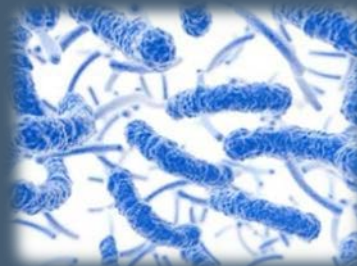
Manual cleaning



Sand screening



and **Bioremediation**

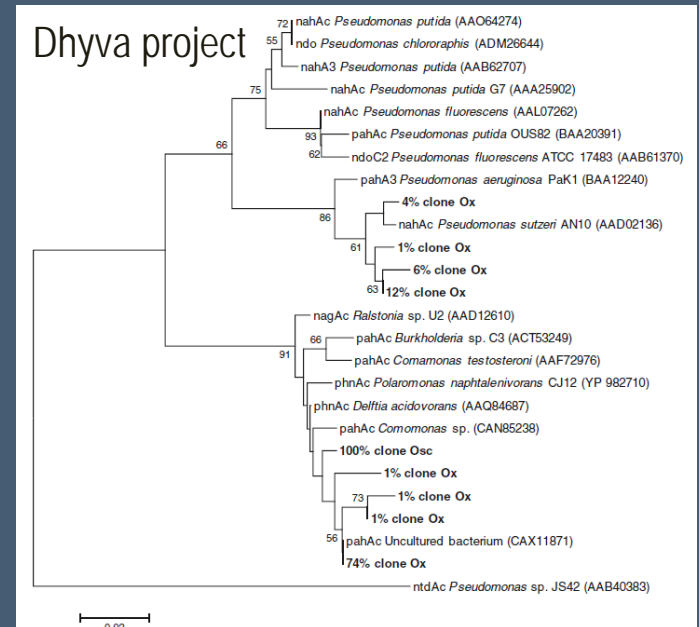


# La biorestauration d'un milieu contaminé consiste à agir sur les conditions environnementales pour optimiser la biodégradation naturelle du contaminant.



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

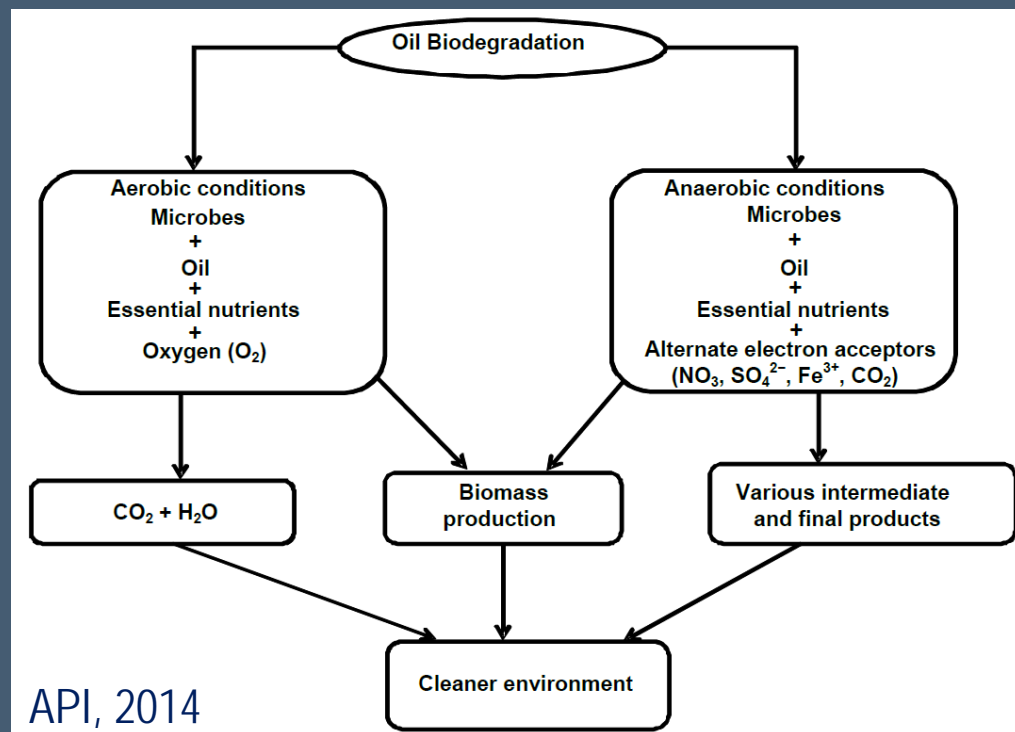
- Bactéries
- Champignons
- Levures



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.

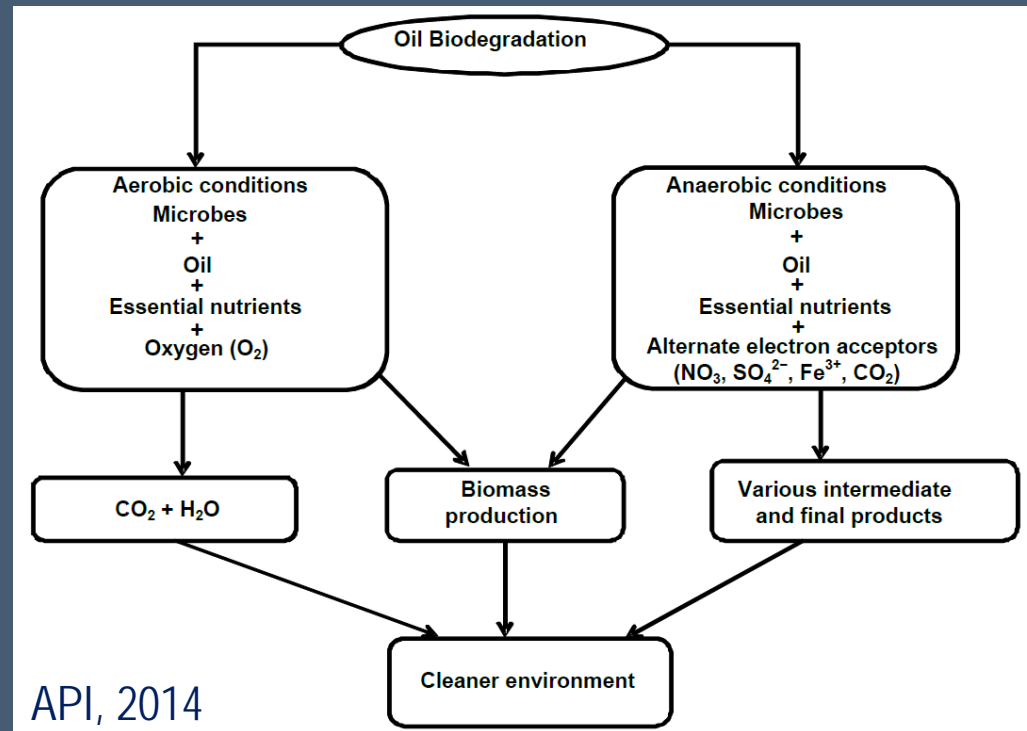


2 voies de dégradation:

- oxic
- anoxique



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

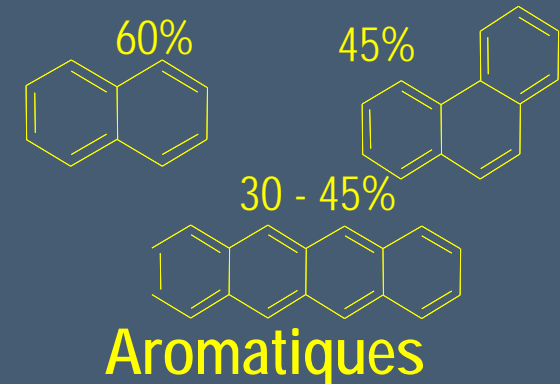
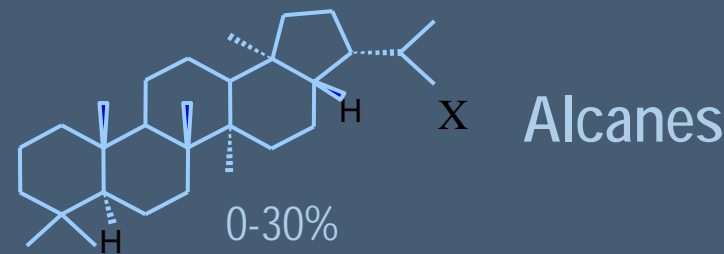
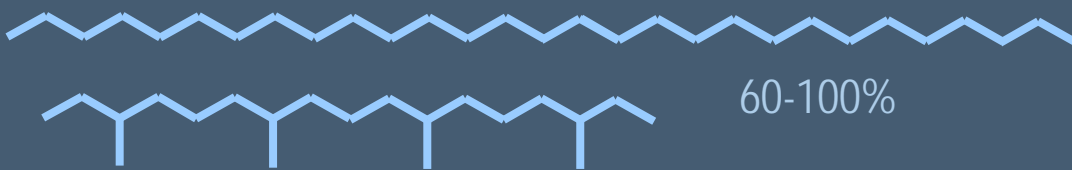


# La biorestauration d'un milieu contaminé consiste à agir sur les conditions environnementales pour optimiser la biodégradation naturelle du contaminant.

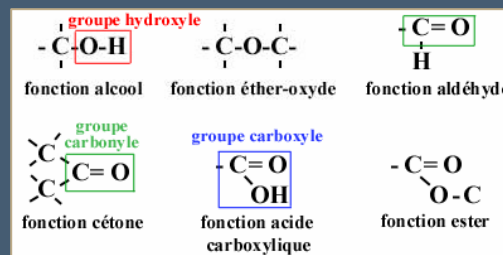


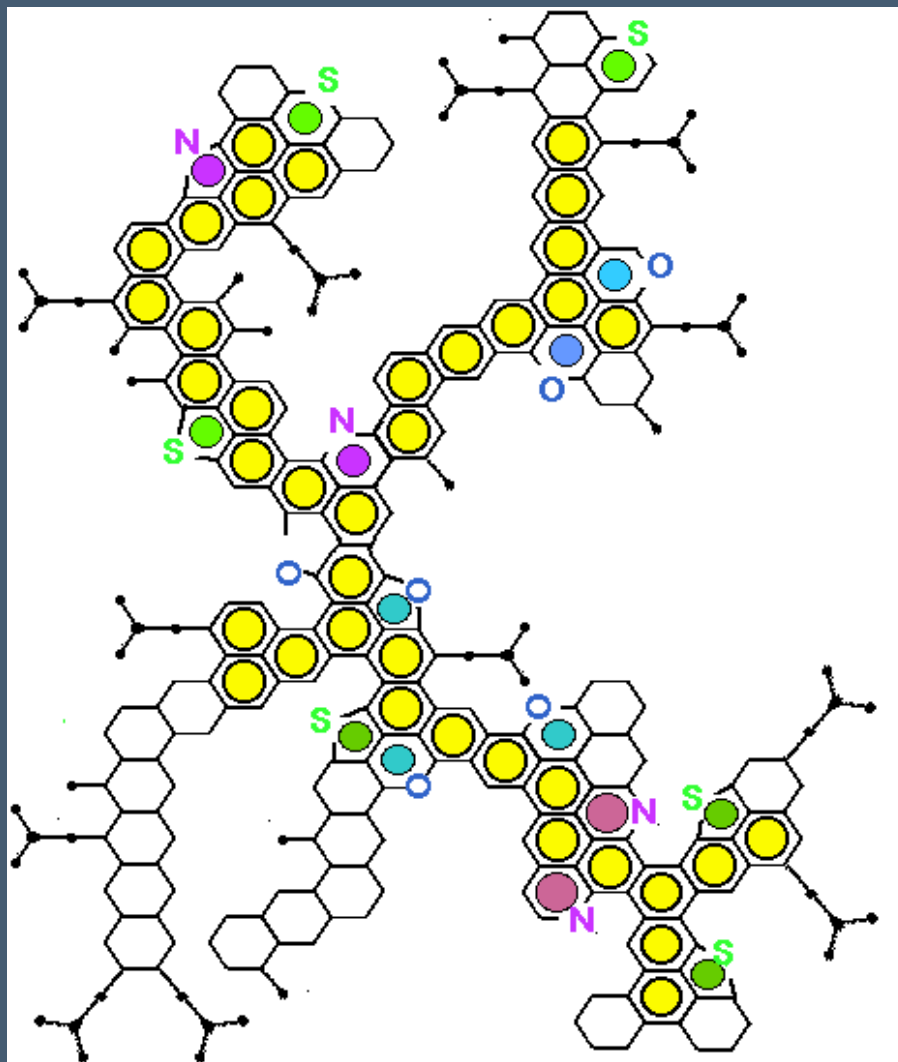
Nature de la contamination

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** consiste 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

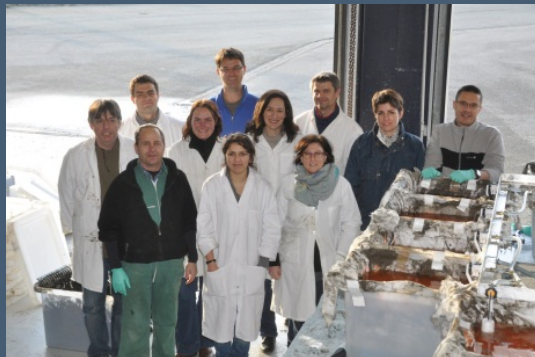
# Oil degradation in coastal muddy areas and anoxic ecosystems



*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€

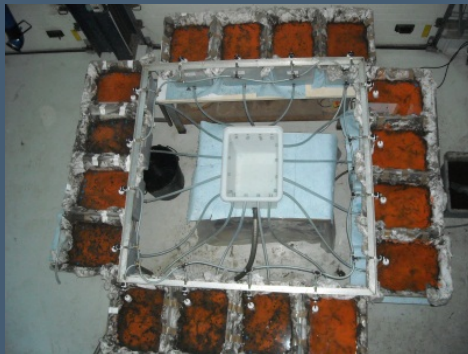


- University of Toulouse
- University of Pau (2 laboratories)
- University of Marseille
- Cedre



## *Main Objectives of the project:*

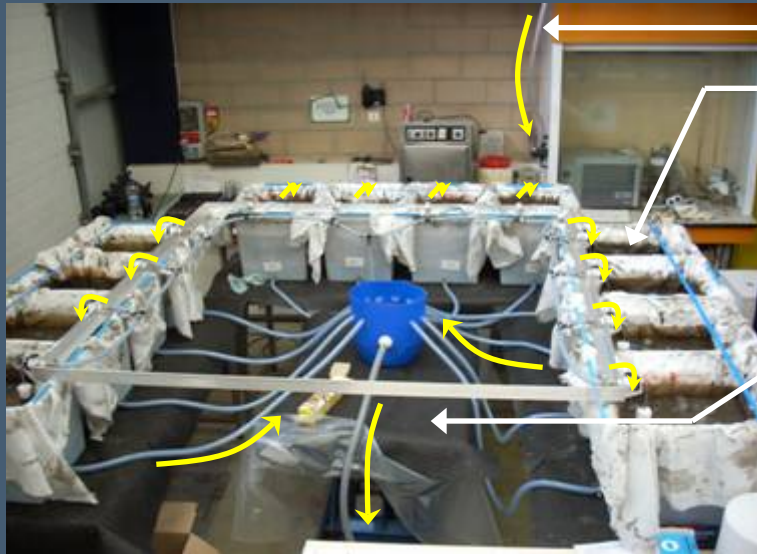
- Understanding how microbial communities **respond, adapt and degrade** petroleum compounds in anoxic area
- How bacterial **metabolisms interact** in the degradation of oil ?
- Estimating the **bioturbation effects** on these bacterial activities.
- Assess the influence of **dispersant** on the **oil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



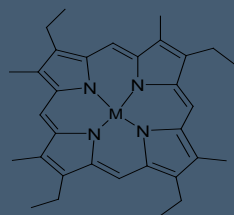
Conditions :

- 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*.



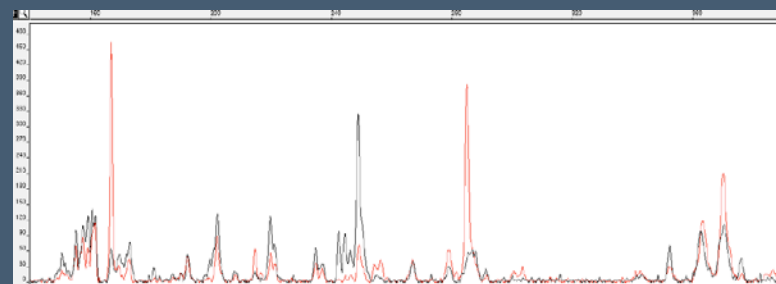
10 sampling rounds of sediment cores (10 x 3 cm) were dispatched to the different laboratories during the 10 months of experiment.

## ICP-MS analysis of metals in petroleum



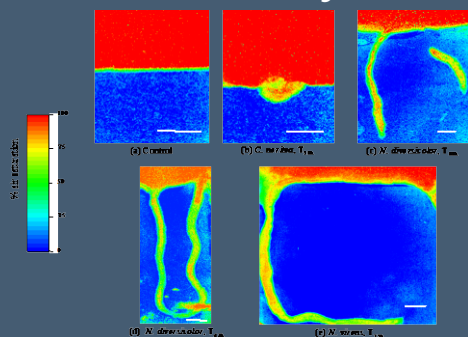
Metal - complex type in petroleum:  
ETIO porphyrin

## Bacterial diversity (DNA and RNA)



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

## Bioturbation analysis

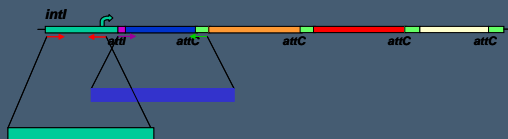


Examples of oxygen distribution in sediments.

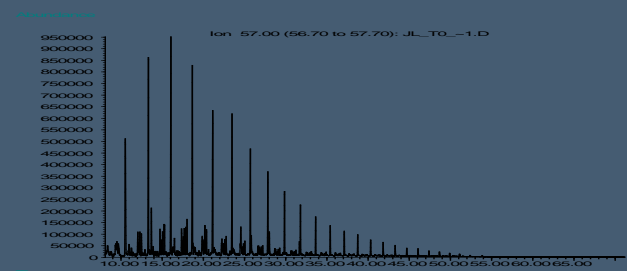


## Hydrocarbons titration

## Mechanisms of adaptation and genes involved



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



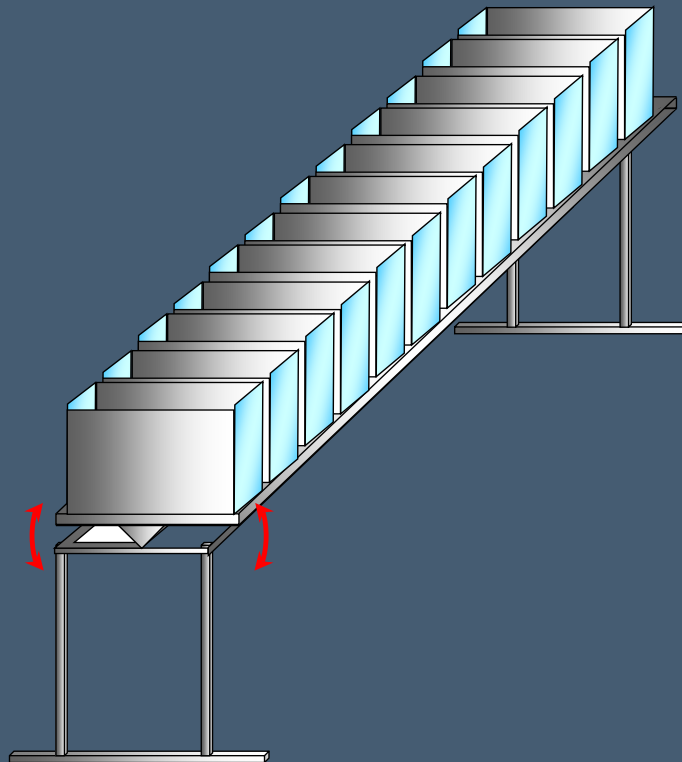
Ion chromatogram of *n*-alkanes ( $m/z=57$ ) of the initial oil

# 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<sup>ère</sup> série d'essai sur 2 produits biostimulant (non concluant car manque de bactéries)
- 2015: 2<sup>ème</sup> série (avril)

Merci de votre attention

Thank you for your attention