



RE.CO.R.D.

ETUDE N° 02-0410/1A

SYNTHESE DE L'ETUDE

FRANÇAIS / ANGLAIS

**TRAITEMENTS BIOLOGIQUES DES DECHETS :
QUEL AVENIR POUR LES (NOUVELLES) BIOTECHNOLOGIES ?**

octobre 2003

Rémy GOURDON - INSA DE LYON, LAEPSI

Liste des experts

Nom, prénom	Organisme	Laboratoire	Mél	Domaine de compétences
Gourdon Rémy Bayard Rémy	INSA Lyon	Laboratoire d'Analyse environnementale des Procédés et des Systèmes Industriels	Remy.Gourdon@insa-lyon.fr Remy.Bayard@insa-lyon.fr	Biophysicochimie des déchets et sols pollués. Traitements biologiques.
Bedell Jean-Philippe	ENTPE Vaulx en Velin	Laboratoire des Sciences de l'Environnement	Bedell@entpe.fr	Microbiologie et rhizosphère
Blake Gérard	Univ. de Savoie, Chambéry	Laboratoire LOCIE, Ecole Supérieure d'Ingénieur de Chambéry (ESIGEC)	Gerard.Blake@univ-savoie.fr	Traitement biol. Des effluents aqueux, relations plantes / microorganismes
De Guardia Amaury	CEMAGREF Rennes	Unité de Recherche en Gestion des Effluents d'Elevage et des Déchets Municipaux	Amaury.de.guardia@cemagref.fr	Compostage des déchets municipaux et effluents d'élevage
Dictor Marie- Christine	BRGM Orléans	Service Environnement et Procédés, Unité Biotechnologie	mc.dictor@brgm.fr	Traitement biologique sols et effluents pollués (organiques, métalliques), biogéochimie
Haesler Frank	IFP Rueil Malmaison	Institut Français du Pétrole	Frank.haeseler@ifp.fr	Traitement biologique des sols pollués
Houot Sabine	INRA Grignon	UMR environnement et grandes cultures	Houot@grignon.inra.fr	Valorisation de déchets urbains en agriculture, valeur agronomique et impacts env.
Jouanneau Yves	CENG-CNRS Grenoble	Laboratoire de Biochimie et Biophysique des Systèmes Intégrés	yjouanneau@cea.fr	Microbiologie, enzymologie de la dégradation des hydrocarbures aromatiques
Lejeune Philippe	INSA – CNRS Lyon	Unité de Microbiologie et Génétique	Philippe.Lejeune@insa-lyon.fr	Physiologie des biofilms et des consortiums. Construction de souches
Moletta René	ENSAM – INRA Narbonne	Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement	Moletta@ensam.inra.fr	Méthanisation des effluents liquides et des déchets
Pauss André Cochet Nelly	UT Compiègne	Equipe de Physiologie Microbienne - Génie des Procédés Industriels	Andre.Pauss@utc.fr Nelly.Cochet@utc.fr	Méthodologies suivi des communautés microb. et de leurs activités dans milieux complexes
Sahut Claire	CEA Cadarache	Laboratoire Chimie de la Décontamination	Sahut@desdcad.cea.fr	Traitement biologique des sols pollués : biolixiviation, phytoremédiation
Schwartz Christophe	ENSAIA Nancy	Laboratoire Sols et Environnement	Schwartz@ensaia.inpl-nancy.fr	Phytoremédiation des sols pollués

RESUME

Les experts consultés ont dans un premier temps formulé leur avis en renseignant un questionnaire élaboré par le coordonnateur, portant sur trois volets :

- domaines et techniques d'application,
- limites,
- besoins en recherche.

Les réponses des experts au questionnaire ont été compilées par le coordonnateur, puis discutées, amendées et complétées en réunion tenue à l'INSA le 23 mai, et enfin vérifiées et complétées par les experts par échange de méls au cours du mois de juin. Ce document présente la synthèse des avis collectés auprès des experts à l'issue de l'ensemble de la procédure.

L'avis des experts sur l'usage des biotechnologies pour le traitement des déchets, sols et sédiments pollués, est globalement positif, malgré un certain nombre de limites physico-chimiques, biologiques, technologies et économiques qui doivent en général être examinées au cas par cas.

Les experts ont le sentiment que les nouvelles biotechnologies ont un potentiel important que ce soit :

- dans de nouveaux domaines d'application (polluants métalliques, polluants organiques xénobiotiques),
- dans l'émergence de nouveaux outils (consortiums microbiens, phytoremédiation, association de plusieurs procédés, etc...),
- dans une meilleure maîtrise des processus biologiques et des moyens techniques permettant de lever certaines des limites actuelles.

L'avenir des biotechnologies de traitement des déchets, sols et sédiments pollués sera directement lié à l'effort de recherche qui sera consenti pour développer de nouvelles technologies ou améliorer l'adaptation des technologies actuelles ou émergentes.

Des recherches portant sur l'étude du fonctionnement des consortiums microbiens (ou communautés microbiennes), apparaissent prioritaires car les consortiums microbiens sont jugés par les experts comme potentiellement beaucoup plus efficaces que les souches pures). Les points suivants devraient être abordés :

- Structuration et fonctionnement des consortiums microbiens (physiologie, régulations, ...)
- potentiel métabolique,
- comportement dans des milieux complexes.

L'utilisation de micro-organismes exogènes (qui peuvent être ou non génétiquement modifiés, mutés ou adaptés) peut dans certains cas améliorer l'efficacité des traitements, mais des recherches sont nécessaires sur les procédures d'obtention des consortiums exogènes actifs ainsi que pour maîtriser leur introduction et leur devenir dans le milieu à traiter.

Les techniques de biostimulation sont à l'heure actuelle à privilégier lorsque la flore indigène peut être efficacement stimulée. Des progrès technologiques sont cependant encore nécessaires pour mieux maîtriser les facteurs de stimulation (aération, mélangeage, molécules induisant spécifiquement les biocatalyseurs enzymatiques, etc...), ou réduire les limitations cinétiques liées à l'accessibilité des polluants (adsorption et diffusion dans les sols ou sédiments pollués, hydrolyse de substrats solides dans les déchets organiques).

Enfin, les experts jugent que l'application des biotechnologies pourra être améliorée :

- en recherchant des complémentarités entre différentes biotechnologies (par exemple phytoremédiation et biostimulation, ou association aérobie/anaérobie) ou entre biotechnologies et autres traitements,
- en développant des outils de suivi « en ligne » et in situ de paramètres fondamentaux (biocapteurs et sondes moléculaires pour l'analyse des polluants et le suivi des activités et des communautés microbiennes).

SUMMARY

The group of experts was firstly consulted via a questionnaire which focused on the three following issues :

- fields and technologies of application
- limitations
- research needs.

The responses of the experts to the questionnaire were compiled by the coordinator and subsequently discussed, amended and completed during a meeting held at INSA Lyon on May 23rd, 2003. Then, the compilation was further verified and completed by the experts by exchanges of e-mails.

This document synthesizes the advices of the experts obtained at the completion of the whole process.

The opinion of the experts regarding the use of biotechnologies for the treatment of waste and contaminated soils and sediments is globally positive, despite the existence of a certain number of physical-chemical, biological, technical and economical limitations which should be considered following a case-by-case approach. The potentialities of application of the new biotechnologies are considered to be high:

- new fields of application (metallic and organo-metallic contaminants, xenobiotic organics)
- new approaches and tools (microbial consortia, phytoremediation, combination of several technologies, etc...)
- better control of biological processes and technical solutions to break some of the limitations).

The actual development of biotechnologies for the treatment of waste and contaminated soils and sediments will obviously depend upon the research effort that will be done to develop new technologies or improve the adaptation of current or emerging technologies.

Research on microbial consortia (communities) are considered as the first priority by the experts, because consortia are usually much more efficient than pure strains for the treatment of waste and contaminated soils and sediments. The following issues should be studied :

- Global structuration and organization of microbial consortia (physiology and regulations),
- Metabolic potential,
- Microbial ecology in complex systems.

The use of exogenous microorganisms, either wild consortia (resp. strains) or genetically modified, adapted or muted strains, may in some cases improve the treatments' efficiency. However, further research is still needed to develop procedures for the construction of active exogenous consortia and to control their introduction and fate in the complex media to be treated.

Biostimulation techniques are currently recommended when the endogenous microflora may be efficiently stimulated. Technical progress is needed however to better control the stimulation factors (such as aeration, mixing, enzymes' stimulators, ...) or break the kinetic limitations related to the accessibility of the contaminants (adsorption and diffusion in contaminated soils and sediments, hydrolysis of solid substrates in organic waste).

Finally, the group of experts considers that the application of biotechnologies to the treatment of waste or contaminated soils or sediments could be improved:

- by working on possible complementarities between different biotechnologies (such as phytoremediation + biostimulation, or anaerobic/aerobic biotreatments) or between biotechnologies and other types of treatments,
- by developing on line and in situ monitoring tools such as biocaptors and molecular probes for the detection and rapid analysis of target contaminants or the monitoring of microbial consortia and activities.

I- Domaines et techniques d'application

I.1- Type de matériaux

De manière générale, les biotechnologies classiques mettant en œuvre des micro-organismes sont applicables pour le traitement des déchets organiques dits « biodégradables ». Les intérêts principaux résident dans la relative simplicité des techniques classiques et dans la possibilité d'envisager, outre la réduction de l'impact environnemental potentiel, une valorisation matière du déchet organique (lorsque celui-ci répond à certains critères), et/ou une valorisation énergétique (cas des traitements anaérobies). Dans tous les cas, le facteur temps est primordial. Il est à mettre en balance notamment avec les coûts des traitements, généralement moins élevés pour les biotechnologies que pour les techniques thermiques ou physico-chimiques.

La question se pose quant aux niveaux de « biodégradabilité » jugés nécessaires pour considérer les biotechnologies comme applicables et aux méthodes d'évaluation de la « traitabilité biologique » des déchets, sols et sédiments pollués. La biodégradabilité s'évalue soit « théoriquement » sur la base de la composition du déchet, soit expérimentalement. Cependant, la biodégradabilité dépend de nombreux facteurs tels que la granulométrie (accessibilité de la matière aux micro-organismes), la teneur en eau, la température, etc... Des procédures à « géométrie variable » doivent être développées pour évaluer la biodégradabilité de manière pertinente vis-à-vis du traitement ou du scénario considéré. Des recherches sont nécessaires sur ce point.

Il est également indispensable d'examiner le devenir possible des produits traités (usage agricole, post-traitements divers, stockage en CET), qui est directement lié aux caractéristiques initiales du déchet considéré et à la technique de traitement utilisée.

De nouvelles biotechnologies utilisant des micro-organismes peuvent s'appliquer au traitement de certaines pollutions minérales (biolixiviation ou bio-immobilisation des métaux, ...), bien que des études complémentaires restent encore nécessaires pour en démontrer la faisabilité industrielle.

Dans le cas des sites et sols pollués, les biotechnologies peuvent apporter des solutions intéressantes mais souvent en association avec d'autres techniques. Même si les traitements biologiques ne permettent pas d'éliminer complètement la charge polluante, ils permettent de réduire les impacts environnementaux souvent de manière efficace, c'est à dire avec des moyens relativement réduits. A ce niveau, les techniques dites d'atténuation naturelle, de biostimulation, de barrières réactives et de phytoremédiation sont à privilégier selon les cas.

La phytoremédiation désigne l'utilisation de végétaux supérieurs à des fins de traitement de sols pollués. Le terme inclut la phytostabilisation qui consiste en l'implantation d'un couvert végétal protégeant la zone polluée contre l'érosion et l'entraînement des polluants. Cette technique est applicable pour des pollutions organiques ou métalliques lorsque la croissance végétale reste possible (=> sélection de plantes tolérantes). La phyto-extraction permet l'extraction sélective des polluants minéraux des sols. Elle est essentiellement applicable aux pollutions métalliques.

I.2- Type de substrats ou polluants :

Les recherches concernant les interactions métaux – microorganismes - végétaux ouvrent la voie à des développements possibles pour le traitement des pollutions métalliques : phyto-extraction, biolixiviation, bio-immobilisation.

Dans le cas des pollutions mixtes sur lesquelles les biotechnologies sont utilisées pour traiter la pollution organique, l'incidence des activités microbiennes sur la mobilité et la rémanence des métaux doit être examinée car elle peut engendrer de nouveaux impacts environnementaux (mobilisation de certains métaux par production de chélatants organiques par exemple).

La dissipation des polluants organiques dans les milieux traités peut englober la formation de résidus inextractibles (donc non détectés à l'analyse) qui doit être évaluée car ceux-ci peuvent être remobilisés en fonction du devenir du produit traité (valorisation agricole par exemple). D'autre part, la formation de métabolites intermédiaires doit être prise en compte, ceux-ci pouvant être plus mobiles et/ou plus toxiques que les polluants initiaux.

I.3- Type de traitement :

La sélection de la technique la plus « éco-efficente » doit passer par une étude de faisabilité technique adaptée et par une étude économique et environnementale.

Le choix d'apporter ou non une flore exogène doit reposer sur une étude préalable :

- de la capacité de la flore indigène à dégrader ou transformer les polluants
- de la capacité du consortium exogène à coloniser le milieu et à développer son activité sur les polluants dans le milieu complexe à traiter.

Des recherches sont nécessaires pour caractériser les potentialités métaboliques des consortiums microbiens (c'est à dire de communautés microbiennes pouvant contenir une grande diversité de genres et d'espèces), dont l'utilisation est, dans l'immense majorité des cas, bien plus pertinente que celle de souches pures pour le traitement de déchets, sédiments ou sols pollués. De nouvelles procédures ou technologies permettant la mise en œuvre optimale de tels consortiums pourraient être développées sur la base d'une meilleure connaissance de leur fonctionnement.

L'association de plusieurs techniques mécaniques, physico-chimiques et biologiques doit toujours être considérée, ainsi que l'association éventuelle de plusieurs techniques biologiques (par exemple effet stimulateur de la flore de la rhizosphère dans la phytoremédiation).

II- Limites

II.1- Limites physico-chimiques :

Le facteur « biodisponibilité » des polluants (y compris métalliques), des nutriments ou des accepteurs d'électrons dépend des caractéristiques physico-chimiques du milieu considéré. Ce facteur est capital pour le traitement des sols pollués et des sédiments et pour le compostage des déchets organiques. Pour les déchets organiques solides, la phase d'hydrolyse de la matière organique est un aspect fondamental qui est souvent cinétiquement limitant. Des études préalables sont donc nécessaires au cas par cas, pour lesquelles des protocoles « standard » devraient être développés par des travaux de recherche.

Certains polluants sont très peu solubles dans l'eau (HAP, PCB) ce qui en limite la biodisponibilité. Trois stratégies peuvent être imaginées pour contourner cette limite : (1) sélectionner ou construire des souches ou consortiums plus aptes à se développer en biofilms sur particules contaminées qu'en culture planctonique ; (2) sélectionner des souches capables de produire des biosurfactants, molécules naturelles qui solubilisent les substances hydrophobes un peu à la manière des détergents et (3) associer des traitements physicochimiques (usages de surfactants, ...) aux traitements biologiques. Ces approches ont donné des premiers résultats prometteurs et doivent être encouragées.

II.2- Limites biologiques :

Le recours à des organismes génétiquement modifiés, mutés ou adaptés pourrait permettre de lever certaines limites. Des recherches sont cependant nécessaires pour mieux caractériser l'incidence de l'apport de micro-organismes exogènes (génétiquement modifiés ou pas) sur l'efficacité des traitements. La survie et la dynamique de colonisation de communautés exogènes dans des milieux complexes en présence d'une flore indigène sont en effet encore mal connues.

Il existe dans la nature des milliers de micro-organismes aux potentialités quasi illimitées en terme de dégradation de polluants. Quand il s'agit d'éliminer tel ou tel polluant, la démarche la plus simple est sans doute d'aller puiser dans ce réservoir pour sélectionner le ou les micro-organismes adaptés. La situation se complique quand il s'agit de traiter des xénobiotiques (polluants non naturels) ou un mélange de produits toxiques. Dans ce cas, le processus de l'évolution des espèces n'a pas permis, faute de temps, de sélectionner les organismes ayant des enzymes permettant de dégrader ou de résister au(x) substance(s) toxique(s). Le traitement biologique est alors souvent inefficace, et le recours aux OGM devient l'une des seules alternatives. Pour améliorer ou confirmer l'intérêt de recourir à des organismes exogènes, il est encore nécessaire de travailler notamment sur les points suivants :

- 1- *Méthodes pour obtenir ces « nouveaux » organismes : recherche dans des milieux naturels (dont extrêmophiles), génie génétique, pression sélective, ... → quelles en sont les potentiels et les limites ?* Les potentialités du génie génétique se sont considérablement accrues ces dernières années. Avec l'augmentation parallèle des données sur les génomes, les perspectives d'application sont très vastes. Par exemple, chez les bactéries, on sait que les gènes de résistance aux métaux, ou ceux qui codent les enzymes de dégradation des hydrocarbures sont très souvent portés par des éléments mobiles, c'est-à-dire transférables d'une espèce à une autre. Dans un autre registre, on a obtenu des plantes transgéniques dans lesquelles ont été transférés des gènes bactériens de dégradation de polluants, stratégie qui pourrait accroître les performances de la phytoremédiation.
- 2- *Ces organismes peuvent-ils exprimer efficacement et durablement leurs potentiels pour traiter des déchets, sols et sédiments pollués ?* Les performances de la bio-augmentation sont très variables, notamment parce que l'étude des conditions de survie des micro-organismes ajoutés en milieu complexe (déchets, sols, sédiments) est souvent négligée. L'adaptation des micro-organismes au milieu à traiter doit donc faire l'objet d'études préalables. Dans certains cas, la sélection de micro-organismes à partir de la microflore endogène peut être une bonne solution, quitte à en améliorer les performances avant de les réintroduire dans le milieu à traiter.
- 3- *moyens de confiner ou de contrôler la dissémination éventuelle de ces organismes ?* Différentes solutions sont envisageables : inféoder les micro-organismes à un support, rendre leur croissance et leur survie dépendante d'un paramètre contrôlable tel que la présence d'une molécule normalement absente des milieux à traiter).

L'accessibilité aux organismes exogènes des polluants présents dans le déchet, sol ou sédiment pollué est une limite encore plus grande que pour la flore indigène. La bio-augmentation n'est donc pertinente que dans des cas où ce type de facteurs n'est pas limitant (cas des pollutions anciennes des sols notamment). Dans le cas des pollutions accidentelles des sols, la flore endogène n'est généralement pas adaptée à (et peut être très perturbée par) l'apport massif de polluants, et le recours à des organismes exogènes en technologies *ex-situ* peut alors s'avérer utile.

Pour la phyto-extraction, les limites biologiques sont liées à la profondeur d'enracinement des végétaux (le traitement se limite donc aux horizons de surface, ou doit être conduit par couches successives), à l'obtention des semences des végétaux appropriés, au maintien de l'état sanitaire des cultures, et au fait que les végétaux hyper-accumulateurs actuellement connus ne sont capables d'extraire au maximum que 2 éléments métalliques simultanément. La phytoremédiation de sols ou sédiments contaminés par des polluants organiques est cependant une technique récente. L'association plantes-microorganismes se traduit au niveau des racines par une stimulation du métabolisme bactérien, qui conduit souvent à une stimulation de la dégradation des polluants. Ces aspects justifieraient des recherches complémentaires.

II.3- Limites technologiques :

La technologie à utiliser dépend notamment du secteur industriel considéré. Les moyens financiers, techniques et humains mobilisables conditionnent le niveau de « sophistication » technologique envisageable. La nature de l'activité du secteur industriel considéré (contraintes d'espace et environnementales, besoins énergétiques, etc...) a une incidence sur le choix de la filière de traitement.

Un effort important est encore nécessaire pour le développement de procédés relativement rustiques utilisables au sein de petites et moyennes entreprises. Cependant, cette démarche doit impérativement s'accompagner d'un suivi rigoureux du process et de la qualité du produit traité. La qualité du produit englobe ses caractéristiques sanitaires (pathogènes, parasites, etc...). Le contrôle du process doit inclure la minimisation de ses impacts environnementaux (émissions gazeuses, poussières, lixiviation, hygiène et sécurité).

L'hétérogénéité de la matière est souvent une grande difficulté pour la mise en œuvre des traitements biologiques dans des conditions correctement prévisibles et reproductibles. Les conditions opératoires (circulation de l'air, etc...) sont rendues plus difficilement maîtrisables. Le contrôle de la qualité du produit traité est également plus difficile, mais cela n'est pas spécifique aux traitements biologiques.

Pour certaines techniques « émergentes » comme la phytoremédiation ou la biolixiviation / bioimmobilisation des métaux, les essais à l'échelle industrielle sont encore trop peu nombreux pour permettre de recommander des choix technologiques. L'association avec d'autres techniques est probablement nécessaire mais des recherches doivent en évaluer la pertinence environnementale et technico-économique.

Le monitoring pertinent du traitement impose une connaissance préalable des voies cataboliques (pour identifier les métabolites intermédiaires).

Il faut tenter d'éviter le recours trop systématique à une approche empirique des phénomènes pour générer des données plus fiables et plus facilement généralisables.

Le suivi analytique des polluants cibles est souvent insuffisant pour un monitoring pertinent des procédés. Il est utile de recourir à des indicateurs plus globaux d'impacts environnementaux de type tests de toxicité et d'écotoxicité. Il faut cependant recourir à des batteries de tests relativement simples à mettre en œuvre, rapides et fiables. En outre, la prise en compte de la formation éventuelle de résidus « stabilisés » est indispensable.

II.4- Limites économiques ou technico-économiques :

Les coûts du traitement biologique des déchets en unités centralisées paraissent compétitifs par rapport aux autres technologies (en écartant les surcoûts liés aux tris éventuels des déchets avant ou après traitement). En revanche, le coût peut devenir dissuasif pour de petits gisements. Cet aspect, qui n'est pas spécifique des traitements biologiques, peut être amélioré par le développement de techniques rustiques adaptées.

Le coût global est le critère à considérer pour comparer les différentes filières de A à Z. Cependant, l'analyse est complexe et dépend des conditions locales (=> analyse au cas par cas nécessaire). En outre, le coût des techniques émergentes est forcément plus élevé (et difficile à estimer) que celui des techniques déjà éprouvées => éviter de les pénaliser a priori.

La comparaison des coûts de traitement entre plusieurs techniques doit bien évidemment tenir compte du niveau de traitement atteint. Ce niveau doit généralement être évalué en terme de « risque environnemental résiduel » plutôt qu'en terme de concentrations résiduelles, les concentrations totales en polluants n'étant que l'un des éléments du risque environnemental.

III- Besoins en recherche pour le développement et/ou l'application des nouvelles biotechnologies (secteurs ou sujets jugés prioritaires)

III.1- Connaissance et description des processus métaboliques

1- Etude des potentialités métaboliques de consortiums microbiens : Exploitation des consortiums connus, recherche ou construction de nouveaux consortiums. *L'étude des métabolismes des consortiums microbiens et/ou en conditions extrêmes peut permettre de développer des traitements particuliers et de dégager de nouveaux domaines d'application.*

Sous-sujets :

- Implantation de fonctionnalités exogènes dans des communautés microbiennes existantes.
- Complémentarité des processus aérobies et anaérobies dominants pour les grands groupes de polluants.
- Métabolisme des extrémophiles et recherche d'applications au traitement des déchets, sols et sédiments.

2- Evaluation de la biodégradabilité et de la biodisponibilité de la matière organique et des activités microbiennes : procédures d'incubation, méthodes de fractionnement de la MO, méthodes biochimiques, etc... *Le développement de méthodes standard est nécessaire notamment pour rendre plus fiable les études de faisabilité et permettre des comparaisons inter-laboratoires.*

3- Caractérisation des voies cataboliques de polluants organiques récalcitrants. *La connaissance des systèmes enzymatiques (cinétiques, inhibitions, ...) est nécessaire pour une meilleure maîtrise des processus de biodégradation).*

Ex : Métabolisme des HAP à 4 cycles et plus, « nouveaux » polluants récalcitrants comme les éthers dans les carburants (identification des enzymes, régulations, co-métabolisme).

4- Mécanismes d'hyperaccumulation des métaux par les plantes, et effets des paramètres cultureux.

Exemples : Influence du rythme d'apport d'additifs en cours de culture pour améliorer le transfert vers les parties aériennes des plantes. Alternance de cultures et des pratiques culturales pour stimuler la phyto-extraction.

5- Complémentarité plantes – microorganismes en phytoremédiation. *Les plantes ne prélèvent que la fraction de polluant qui est dans la solution du sol ; les microorganismes ayant pour rôle d'alimenter cette fraction ; l'optimisation de ces deux processus devrait permettre une meilleure extraction des polluants (phyto-extraction) et/ou une meilleure biodégradation des polluants organiques. Les connaissances sur les espèces bactériennes associées aux racines ou vivant dans la rhizosphère, sur les interactions plante-microorganismes et sur leur incidence mutuelle sur le devenir des polluants sont encore très lacunaires. Des études pluridisciplinaires sur ces aspects devraient être soutenues.*

III.2- Génie génétique

1- Devenir des OGM et autres micro-organismes exogènes en milieux complexes : atténuation des capacités dans le temps, transferts de gènes, compétition avec la flore indigène.

L'utilisation d'organismes génétiquement modifiés peut être la seule voie possible pour le traitement de polluants xénobiotiques récalcitrants ou de milieux aux caractéristiques physico-chimiques très défavorables. Cependant, le maintien d'un organisme exogène (dont les OGM) dans un milieu où existe une flore indigène est incertain et nécessite d'être étudié pour être mieux maîtrisé.

2- Modification de la sélectivité de certaines enzymes (ex : dioxygénases) pour accroître les cinétiques de biodégradation de certains polluants (ex : HAP).

Certaines enzymes jouent un rôle clé dans la biodégradation des hydrocarbures, notamment des dioxygénases qui catalysent l'étape d'oxydation initiale. Cependant leur sélectivité est souvent limitée à quelques hydrocarbures. Des méthodes dites 'd'évolution moléculaire dirigée', mises au point depuis

moins d'une dizaine d'années, et qui miment l'évolution naturelle mais sur une période très courte, sont susceptibles de décupler les performances catalytiques des enzymes. Cette stratégie peut être employée sur une enzyme ou un groupe d'enzymes cataboliques, pour en améliorer des caractères tels que la stabilité thermique, la cinétique de transformation, la sélectivité vis-à-vis des polluants organiques.

Ex : élargissement de la sélectivité des dioxygénases aux HAP récalcitrants (HAP constitués de 4 cycles aromatiques ou plus tels que le benzo[a]pyrene).

3- Manipulation d'organismes extrémophiles pour les rendre capables de dégrader des polluants.

Les extrémophiles occupent en général des niches étroites (températures, pH extrêmes, forte salinité) et ont un métabolisme peu diversifié. De ce fait, ils ont une capacité d'adaptation souvent limitée.

Cependant, on pourrait les rendre capables de dégrader certains polluants organiques en y introduisant des gènes cataboliques d'autres bactéries, car ces gènes sont souvent portés par des éléments mobiles (plasmides, transposons). Ce type de manipulation peut conduire au développement de procédés de traitement biologique de déchets ou de milieux pollués en conditions extrêmes. Ceci suppose néanmoins une meilleure connaissance de la physiologie et de la génétique des extrémophiles.

III.3- Dynamique des populations, écologie microbienne

1- Fonctionnement des communautés microbiennes (biofilms, etc...) : structuration, relations métaboliques, dynamique des populations, synergie, compétitions, ...

Le traitement biologique de milieux aussi complexes que des déchets, sols et sédiments pollués (multi-pollutions, milieux multiphasiques, variabilités spatiales et/ou temporelles,...) impose l'utilisation de consortiums microbiens plutôt que de souches pures. Les potentialités des consortiums sont considérablement supérieures à celles des souches pures. Leur étude pourrait permettre de découvrir de nouvelles potentialités. L'étude des interactions entre les populations constituant le consortium actif est nécessaire pour une meilleure maîtrise des processus.

Sous-sujets :

- a- Recherche de mécanismes de déstabilisation et de déstructuration des communautés capables de « remettre le système à zéro » pour rendre possible l'évolution vers un nouvel état d'équilibre qui permettrait d'inclure efficacement des organismes exogènes.
- b- Etude des nécessités métaboliques bactériennes exigeant des complémentarités de substrats et pouvant induire des successions de populations en cours de traitement.
- c- Evolution de la dynamique des communautés microbiennes lors du traitement de sols ou sédiments pollués en fonction de la disponibilité des polluants et/ou des accepteurs d'électrons (La succession des accepteurs d'électrons peut jouer notamment sur les complémentarités aérobie / anaérobie de manière très intéressante en terme de résultats de dégradation).

2- Développement d'outils moléculaires pour la détection et le suivi d'espèces microbiennes dans des milieux complexes (méthode « FISH ») ou pour l'analyse globale de profils microbiens, et de méthodes de quantification de la biomasse microbienne et des activités microbiennes.

Les communautés microbiennes naturelles et celles qui se sont adaptées à des situations particulières comme la présence de polluants ont généralement une composition très stable et exercent un "effet barrière" contre l'introduction de microbes exogènes. La mise au point de souches ou de consortiums capables de pénétrer ces communautés et de s'y maintenir (voir sujet ci-dessus) implique de pouvoir suivre l'évolution des espèces présentes, sur les plans qualitatifs, quantitatifs et métaboliques.

III.4- Génie des procédés (mise en œuvre des bioréacteurs, transferts de matière, ...) et modélisations

1- Biodégradation des phases liquides non aqueuses dans les milieux poreux (sols, sédiments pollués) : disposition relative des phases fluides et leur mobilité, localisation des micro-organismes aux interfaces, effets des biosurfactants.

Voir aussi III.5.2.

2- Modélisation des cinétiques de biodégradation de polluants multiples par des populations microbiennes mixtes et des transferts de matière inter-phases limitant la biodisponibilité des polluants dans les sols, sédiments et déchets : comment rester simple sans être simpliste ?

La modélisation des phénomènes de biodégradation dans des déchets, sols ou sédiments pollués est extrêmement complexe du fait de la présence simultanée de plusieurs polluants, de très nombreuses espèces microbiennes, et de la complexité du milieu polyphasique où les réactions physico-chimiques et biologiques sont interdépendantes. En terme d'application cependant, les modèles doivent être obligatoirement simplifiés, sans cependant occulter les facteurs prépondérants qui doivent généralement être déterminés expérimentalement. En outre, les modèles pour être utilisables doivent pouvoir être paramétrés en utilisant des données accessibles.

3- Développement de biocapteurs, sondes moléculaires, etc... pour la détection et l'analyse rapide des polluants et le suivi des activités ou espèces microbiennes.

Voir aussi III.3.2

4- Association de procédés biologiques et physico-chimiques (ex : préoxydation par ozonation, sonification, hydrolyses, etc...).

Une mise en œuvre efficace des traitements biologiques implique souvent le recours à des pré- ou post-traitements mécaniques et/ou physico-chimiques. En outre, l'utilisation de traitements physico-chimiques (surfactants, sonication, ...) peut permettre d'améliorer la biodisponibilité des polluants.

III.5- Mécanismes physico-chimiques et biologiques couplés (interdépendants)

1- Effets des phénomènes de partage, de diffusion intraparticulaire, et de la localisation des micro-organismes lors du traitement biologique de sols ou sédiments pollués. Amélioration de la biodisponibilité des polluants par traitements physico-chimiques.

Les transferts de matière entre phases (solubilisation, partage, désorption, diffusion intraparticulaire) limitent souvent les cinétiques de biodégradation en milieu polyphasique complexe. Pour tenter d'améliorer l'efficacité des traitements biologiques dans ces milieux et les rendre plus facilement maîtrisables, il est nécessaire de mieux caractériser l'ensemble des processus. L'utilisation de traitements physico-chimiques complémentaires peut permettre d'améliorer significativement l'efficacité.

2- Biodégradation de polluants organiques à l'interface entre des phases liquides organique et aqueuse non miscibles.

Voir aussi III.4.1. Les milieux pollués par des hydrocarbures peuvent contenir des phases liquides non aqueuses lorsque la pollution est relativement massive. Le traitement de ces milieux est possible par voie biologique, mais le comportement des micro-organismes à l'interface entre les deux phases doit être mieux compris pour exploiter au mieux les potentialités des micro-organismes.

3- Mécanismes et cinétiques d'attaque microbienne directe et indirecte des matières organiques ou minérales solides.

Le traitement biologique de déchets solides, qu'ils soient organiques (compostage, méthanisation) ou minéraux (biolixiviation, bio-immobilisation) se heurte à des limitations cinétiques. Les mécanismes par lesquels des communautés microbiennes peuvent dégrader un substrat solide sont encore incomplètement connus, surtout pour les polluants métalliques, et la description cinétique des phénomènes reste incomplète. La description des phénomènes de biodégradation dans des déchets, sols ou sédiments pollués doit considérer les processus biologiques et physico-chimiques comme des mécanismes couplés et dynamiques : Les activités microbiennes en modifiant le milieu modifient les interactions physico-chimiques et réciproquement. L'évolution des caractéristiques du milieu induit des successions d'activités microbiennes, lesquelles ont à nouveau des influences évolutives sur les caractéristiques physico-chimiques du milieu.

III.6- Autres domaines

Maîtrise environnementale des biotechnologies de traitement des déchets, sols et sédiments pollués (émissions gazeuses, etc...)

Qualité des produits après traitement lorsqu'une valorisation matière est envisagée.

Exploitation des symbioses plantes terrestres / micro-organismes dans le traitement des sols et sédiments en jouant sur les successions microbiennes et les successions végétales (herbacées, ligneuses, ...) : Concept des « écosystèmes de biotraitement ». *Cette approche mettant en jeu la rhizosphère des plantes nécessite encore beaucoup de connaissance afin de dépasser certaines approches encore empiriques qui peuvent même discréditer ces techniques.*