

Traitements biologiques des déchets

Quel avenir pour les (nouvelles) biotechnologies ?



C4H5O2_5 2/ 9/99 THERMC 4H 50 2 0G 300.000 5000.000 1392.000 1
1.64121890E+01 1.20184883E-02-4.40468566E-06 7.30124728E-10-4.42784365E-14 2

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

RAPPORT FINAL

octobre 2003

R. GOURDON – INSA DE LYON, LAEPSI

Créée en 1989 à l'initiative du Ministère en charge de l'Environnement, l'association RECORD – REseau COopératif de Recherche sur les Déchets et l'Environnement – est le fruit d'une triple coopération entre industriels, pouvoirs publics et chercheurs. L'objectif principal de RECORD est le financement et la réalisation d'études et de recherches dans le domaine des déchets et des pollutions industrielles.

Les membres de ce réseau (groupes industriels et organismes publics) définissent collégalement des programmes d'études et de recherche adaptés à leurs besoins. Ces programmes sont ensuite confiés à des laboratoires publics ou privés.

Avertissement :

Les rapports ont été établis au vu des données scientifiques et techniques et d'un cadre réglementaire et normatif en vigueur à la date de l'édition des documents.

Ces documents comprennent des propositions ou des recommandations qui n'engagent que leurs auteurs. Sauf mention contraire, ils n'ont pas vocation à représenter l'avis des membres de RECORD.

- ✓ Pour toute reprise d'informations contenues dans ce document, l'utilisateur aura l'obligation de citer le rapport sous la référence :
RECORD, Traitements biologiques des déchets. Quel avenir pour les (nouvelles) biotechnologies ?, 2003, 39 p, n°02-0410/1A.
- ✓ Ces travaux ont reçu le soutien de l'ADEME (Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie)
www.ademe.fr

© RECORD, 2003

Etude RECORD n°02-0410/1A

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 synthetizes 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.

METHODOLOGIE SUIVIE

Les experts ont dans un premier temps formulé leur avis en renseignant un questionnaire élaboré par le coordonnateur, dont la structure était la suivante :

I- Domaines et techniques d'application

I.1- Type de matériaux considérés

I.1.1- *Déchets*

I.1.2- *Boues et sédiments*

I.1.3- *Sols pollués*

I.2- Type de substrats (polluants)

I.3- Type de traitement

II- Limites

II.1- Limites physico-chimiques

II.2- Limites biologiques

II.3- Limites technologiques

II.4- Limites économiques ou technico-économiques

III- Besoins en recherche

III.1- Connaissance et description des processus métaboliques

III.2- Génie génétique

III.3- Dynamique des populations, écologie microbienne

III.4- Génie des procédés, modélisation

III.5- Mécanismes physico-chimiques et biologiques couplés

III.6- Autres domaines

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 compilation des avis collectés auprès des experts à l'issue de l'ensemble de la procédure (réponses au questionnaire, discussions en réunion, additions sur le document écrit).

I- Domaines et techniques d'application

Question posée :

Quel est l'avis de l'expert sur l'application (effective ou potentielle) des biotechnologies pour le traitement des matériaux ou milieux considérés, en fonction des grands types de mise en œuvre possibles.

Mode de notation :

Sauf recommandation différente, il est demandé de noter l'applicabilité de 1 à 4 selon l'échelle suivante :

1 → non adapté ; 2 → peu adapté ; 3 → adapté ; 4 → bien adapté ; 0 → pas d'avis

Faire précéder la note de E pour rendre compte de l'état actuel, et de P pour exprimer l'avis de l'expert sur les évolutions récentes ou à court ou moyen terme (« nouvelles biotechnologies »).

Exemple : « E1, P3 » signifie que dans le domaine considéré, les biotechnologies ne sont actuellement pas applicables mais que les évolutions scientifiques et/ou technologiques laissent penser qu'elles seront adaptées à court ou moyen terme.

Recommandation :

Il est demandé d'exprimer un avis sur l'applicabilité dans le cas général, en faisant abstraction de cas particuliers éventuels.

Le cas échéant, l'expert peut exprimer un commentaire à la fin des différents items (par exemple, pour faire état de situations particulières qui contredisent l'avis général donné par l'expert dans les questions précédentes).

I.1- Type de matériaux :

(La préoccupation de Record porte ici sur les déchets, les boues et sédiments, et les sols pollués. Le cas des effluents liquides ou gazeux n'est donc pas considéré ici).

1 → non adapté ; 2 → peu adapté ; 3 → adapté ; 4 → bien adapté ; 0 → pas d'avis (V : Variable, fonction du cas)

E : note effective (état actuel) ; P : Note potentielle (évolution probable)

I.1.1- *Déchets (solides, pâteux ou liquides)*

	Agricoles	Agro-alimentaires	Industriels	Ménagers
Note E	2, 3, 3, 3, 0, ?, 2, 3, 4, 3, 2, 4 → 3	2, 3, 3, 3, 0, ?, 2, 4, 4, 3, 3, 4 → 3	2, 2, 2, 3, V, V, 1, 2, 3, 2, 2, 3 → 2 (V)	2, 2, 3, 3, 0, ?, 2, 1, 4, 1, 4, 2 → 2-3
P	4, 3, 0, 4, 0, 4, 4, 4, ?, 3, 2, ? → 4	2, 4, 0, 4, 0, 4, 4, 4, ?, 3, 3, ? → 4	2, 3, 3, 4, V, V, 3, 4, ?, 3, 2, ? → 3 (V)	3, 3, 0, 4, 0, 4, 4, 2, 4, 3, 3, 3 → 3-4
Commentaire	Techniques classiques de compostage et méthanisation. Effort à faire vers des systèmes rustiques et robustes et également pour développer des technologies adaptées aux petits gisements.	Techniques classiques de compostage et méthanisation. Effort à faire vers des systèmes rustiques et robustes et également pour développer des technologies adaptées aux petits gisements.	Problèmes possibles liés à la toxicité vis à vis des organismes épurateurs de certains produits (industrie chimique, ...). L'applicabilité des biotechnologies à ce type de déchets est très variable et doit être évaluée au cas par cas. Elle dépend entre autres du caractère organique (+ favorable) ou minéral du déchet, de la nature (biodégradabilité) et de la concentration des polluants.	Le tri des déchets ménagers est indispensable avant la mise en œuvre de tout traitement biologique pour une valorisation agricole. Le développement de la collecte sélective est un des facteurs favorables pour le traitement biologique des fractions organiques non recyclées (MO « fermentescible »). Le concept de « décharge bioréacteur » est également à considérer.

I.1.2- Boues et sédiments

	Boues de STEP municipales	Boues industrielles	Sédiments d'ouvrages pour eaux de ruissellement de chaussées	Boues de dragage (canaux, ports, ...)
Note	2, 2, 3, 3, 0, ?, 1, 3, 3, 3, 4, 4 → 3	2, 1, 2, 3, 0, V, 1V, 2, 3, 2, 2, 3 → 2 (V)	1, 2, 0, 0, 0, V, 1, 0, 1, 0, 2, 0 → 1-2 mais ??	1, 1, 2, 0, V, V, 1, 0, 0, 2, 3, 0 → 2 (V)
P	4, 3, 3, 4, 0, 4, 0, 4, 4, 3, 3, ? → 3-4	4, 2, 3, 4, 0, V, 2V, 4, 4, 2, 2, 4 → 3 (V)	4, 4, 0, 0, 0, V, 3, 0, 2, 0, 2, 3 → 3 mais ??	4, 2, 0, 0, V, V, 0, 0, 0, 3, 2, 3 → 3 (V)
Commentaire	<p>Pour le traitement de ce type de déchets, mais aussi pour tout type de déchets, il est indispensable de tenir compte des durées de traitement nécessaires pour atteindre les objectifs de traitement fixés.</p> <p>Les boues à faible taux de matières sèches posent problème pour le compostage.</p> <p>La présence de micropolluants organiques ou minéraux dans les boues et leur devenir au cours du traitement doivent être examinés.</p> <p>Effort à faire vers des systèmes adaptés aux petits gisements pour un traitement sur le site de production.</p>	<p>L'applicabilité des biotechnologies à ce type de déchets est très variable et doit être évaluée au cas par cas. Elle dépend entre autres du caractère organique (+ favorable) ou minéral du déchet, de la nature (biodégradabilité) et de la concentration des polluants.</p> <p>Il existe de nombreux cas particuliers. L'avis général formulé doit être considéré avec prudence.</p>	<p>Ce cas de figure est peu connu en terme de traitabilité des sédiments et boues de curage. Les données successibles sont succinctes.</p> <p>L'applicabilité des biotechnologies dépend notamment de la charge organique et de la biodégradabilité de ces composés.</p> <p>Les hydrocarbures présents dans ces déchets sont connus pour être bien biodégradables.</p> <p>Des études spécifiques sont cependant nécessaires (fonction du réseau de collecte, climat, ...).</p> <p>L'incidence des traitements sur la mobilité des polluants métalliques oit être considérée.</p>	<p>Il s'agit d'un secteur probablement insuffisamment exploité, qui mérite donc des études spécifiques complémentaires compte tenu des volumes à traiter.</p> <p>L'applicabilité des biotechnologies est probable pour la charge organique, mais il faut surveiller l'incidence de l'activité microbienne induite sur la mobilité des polluants métalliques (passage de conditions anoxiques à l'aérobiose par exemple).</p> <p>Il existe là aussi une grande variabilité possible sur la nature et la concentration des polluants présents, donc la prudence s'impose.</p>

I.1.3- Sols pollués

	Pollution ancienne massive	Pollution accidentelle	Pollution diffuse
Note E	2, 3, 2, 3, 4V, V, 1V, 2, 1V, 2, 1, 3 → 2-3 (V)	3, 2, 2, 0, 4V, V, 1, 2, 2, 1, 2, 3 → 2 (V)	1, 3, 2, 0, 4V, ?, 1, 1, 2, 2, 3, 4 → 2
P	3, 4, 3, 3, 4V, V, 2V, 4, 3V, 3, 1, 4 → 3 (V)	4, 0, 3, 0, 4V, V, 3, 3, 2, 2, 1, 4 → 2-3 (V)	4, 4, 0, 3, 4V, 1, 3, 0, 3, 4, 3, ? → 3-4
Commentaire	<p>Il existe une grande diversité de situations possibles. L'applicabilité des biotechnologies dépend de la nature et de l'ampleur de la pollution, et des risques environnementaux existant sur le site considéré.</p> <p>L'âge de la pollution rend possible l'adaptation de la microflore indigène (et donc des traitements <i>in situ</i> si les concentrations ne sont pas trop élevées), mais réduit la biodisponibilité des polluants.</p> <p>En cas de pollutions très massives, les niveaux de concentration peuvent être toxiques. Si une intervention rapide est nécessaire, les cinétiques de biodégradation peuvent être trop lentes pour atteindre des objectifs de traitement raisonnables.</p> <p>Mais les biotechnologies sont potentiellement applicables dans certains cas, au moins en complément d'autres techniques ou pour traiter de grandes étendues à coût raisonnable.</p>	<p>Si les risques environnementaux imposent une intervention rapide, d'autres techniques que les biotechnologies sont généralement préférables.</p> <p>Si le facteur temps n'est pas primordial et les polluants biodégradables (hydrocarbures, ...), les biotechnologies sont applicables, généralement par des techniques <i>ex-situ</i> car la microflore indigène est souvent trop perturbée par la pollution accidentelle pour permettre un traitement <i>in situ</i>.</p>	<p>Les domaines de concentrations en polluants et l'étendue des zones touchées sont des facteurs favorables à la mise en œuvre de traitements biologiques <i>in situ</i>.</p> <p>Cependant, la faible concentration des polluants limite les cinétiques de biodégradation, et seules des techniques « douces » sont envisageables à coût raisonnable : bio-atténuation naturelle, phytoremédiation.</p> <p>Il est nécessaire de s'assurer au préalable de la biodisponibilité des polluants.</p> <p>Il convient également d'examiner la mobilité résiduelle des polluants (formation de résidus liés) au regard des seuils de concentration jugés tolérables.</p>

1.1.4- Commentaires généraux

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).

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. 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.

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.

I.2- Type de substrats ou polluants :

I.2.1- *Organiques*

	Biopolymères et autres produits naturels	Hydrocarbures aliphatiques	Hydrocarbures aromatiques dont HAP	Organo-halogénés (solvants, ...)	Autres (à spécifier)
Note E	0, 2, 3, 3, 4, ?, 3, 3, 4, 3, 3, 0 → 3	1, 2, 3, 3, 4, ?, 2, 2, 2, 4, 4, 3 → 3 mais avis partagé	2, 1, 2, 3, 4, ?, 2, 2, 2, 3, 3, 3 → 2-3	2, 2, 3, 2, 4, ?, 1, 0, 2, 2, 2, 3 → 2	
P	0, 4, 0, 3, 4, 4, 4, 4, 4, 3, 3, 0 → 4	3, 3, 0, 3, 4, 4, 3, 4, 3, 4, 3, ? → 3-4	4, 3, 2, 3, 4, 4, 3, 0, 3, 3, 2, ? → 3	4, 2, 0, 0, 4, 4, 3, 0, 3, 4, 2, ? → 3	
Commentaire éventuel	C'est le domaine classique d'application. Les progrès possibles résident surtout dans l'amélioration des process.	Les hydrocarbures sont bien biodégradables en aérobiose, à l'exception des ramifiés et autres substitués.	Les HAP de plus de 3 noyaux sont biodégradés très lentement (très faible hydrosolubilité). Les traitements biologiques peuvent engendrer une forte réduction d'impact, même si les concentrations résiduelles sont élevées. La durée des traitements biologiques engendre des incertitudes sur la pertinence économique.	Les composés les plus halogénés sont les plus récalcitrants. La dé-halogénéation réductive est possible en anaérobiose ; la biodégradation peut ensuite être complétée en aérobiose.	Pesticides, composés organiques oxygénés (solvants polaires)

I.2.2- Inorganiques

	Métaux lourds	Organo-métalliques	Autres (à spécifier)
Note E	2, 1, 3, 0, 0, 0, 1, 2, 1, 2, 4, 3 → 2 mais ?	2, 2, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 3, 3 → 2 mais ??	
P	4, 2, 0, 0, 0, 2, 3, 4, 3, 3, 3, ? → 3 mais ?	4, 3, 0, 0, 0, 2, 0, 0, 0, 0, 1, ? → 3 mais ??	
Commentaire	<p>Certaines activités microbiennes peuvent modifier (positivement ou négativement) la solubilité des polluants métalliques. La biolixiviation des métaux est une technique utilisée en métallurgie extractive, potentiellement utilisable pour le traitement de certains déchets (résidus miniers, boues, ...), sédiments ou sols pollués. La bio-immobilisation est également envisageable.</p> <p>La phytoremédiation est utilisable soit pour stabiliser la pollution, soit pour extraire les polluants métalliques sur une profondeur limitée.</p> <p>Post-traitement nécessaire dans tous les cas de traitement par extraction.</p> <p>Des recherches sont encore nécessaires pour mieux évaluer les possibilités d'application de ces principes.</p>	<p>Il s'agit d'un domaine relativement peu connu.</p> <p>La biodégradation de la partie organique peut engendrer une très grande réduction de la toxicité des polluants considérés (par exemple, cas des organo-arséniés présents dans les résidus de production ou de stockage d'armes chimiques).</p> <p>L'élément métallique (ou métalloïde) peut voir sa mobilité modifiée par suite du changement de spéciation.</p>	Cyanures, nitrates, métalloïdes des (As), ...

I.2.3- Biologiques

	Micro-organismes pathogènes, virus	Parasites	Toxines	Organismes génétiquement modifiés
Note E	3-4 (aérobiose)	3-4	?	?
P	3-4 (aérobiose)	3-4	?	?
Commentaire	<p>Les virus résistent rarement longtemps en dehors de leur hôte, le risque de contamination semble donc faible. Ils sont a priori détruits à la chaleur produite les traitements biologiques aérobies lorsque les conditions opératoires le permettent.</p> <p>Les organismes pathogènes sont également généralement sensibles à la chaleur.</p> <p>Les traitements biologiques aérobies (compostage) permettant une élévation de température du milieu conduisent donc généralement à une bonne hygiénisation du déchet traité si le temps de traitement est suffisant.</p>	<p>Les parasites sont souvent inactivés à la chaleur ou en l'absence d'air. Ils devraient donc être éliminés par des traitements de type compostage ou digestion anaérobie.</p> <p>Nécessité également de maintenir une bonne biodiversité en cours de traitement pour atteindre une forte capacité de prédation et compétition.</p>	<p>Le devenir des toxines en cours de traitement biologique est mal connu.</p> <p>Certaines toxines fongiques peuvent être générées en cours de traitement (compostage) et la dispersion de particules aéroportées doit donc être contrôlée.</p>	<p>La dissémination des OGM est illicite sauf autorisation particulière. On ne devrait donc pas en retrouver dans les déchets à traiter.</p> <p>Il existe des techniques de biologie moléculaire (PCR) permettant de détecter la présence d'OGM, quand ceux-ci sont connus. Le principe est le même que celui employé pour la détection des plantes OGM.</p> <p>Si la législation change en faveur de l'emploi contrôlé des OGM, les techniques de suivi existent déjà.</p> <p>L'utilisation d'OGM comme agents de traitement est un aspect traité plus loin dans le questionnaire.</p>

1.2.4- Commentaires généraux

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.

Certains pathogènes, notamment s'ils sont sensibles à la chaleur (virus) ou dépendent d'un métabolisme aérobie (champignons, bactéries aérobie stricte) peuvent être éliminés par des traitements biologiques (respectivement compostage et digestion anaérobie).

La présence de pathogènes et/ou d'OGM est *a priori* contrôlable par des techniques de routine de biologie moléculaire dans la mesure où des éléments spécifiques de la séquence de leur génome sont connus. Ces dernières années, les banques de données se sont enrichies d'un nombre sans cesse croissant de séquences de génomes entiers de pathogènes, ce qui laisse penser que les outils de détection seront bientôt disponibles.

I.3- Type de traitement :

Parmi la liste d'approches techniques suivante :

AE : Aérobie

AN : Anaérobie

MIX : combinaison ou séquence anaérobie / aérobie

BS : Biostimulation (micro-organismes indigènes)

BA : Bioaugmentation (micro-organismes exogènes dont organismes génétiquement modifiés)

EZ : Techniques enzymatiques

PR : Phyto-remédiation

Pour les sols ou sédiments pollués :

IS : *In situ*

ES : *Ex situ* (=> après excavation)

Autres : A préciser explicitement (nouvelles technologies, nouveaux organismes ou agents biologiques, nouveaux concepts)

indiquez dans le tableau ci-dessous la ou les solutions qui vous paraissent potentiellement efficaces de manière générale.

Indiquez « 0 » si vous n'avez pas d'avis.

AVERTISSEMENT : Les réponses formulées par les experts expriment des tendances générales. Il existe souvent de nombreux cas particuliers pouvant donner lieu à des traitements très différents de ceux applicables dans le cas général. L'examen des réponses suivantes doit donc être fait avec prudence.

	Déchets solides	Boues et sédiments (Tts <i>ex situ</i> sauf indication contraire)	Sols pollués (Traitements <i>in situ</i> IS ou <i>ex situ</i> ES)
Biopolymères (substrats d'origine naturelle)	AE, AN, EZ BS	AE, AN, MIX, EZ BS ou BA si nécessaire	A compléter (décharges sauvages, déchets agro-alimentaires)
HC aliphatiques	AE BS, BA	AE BS ou BA si nécessaire PR-IS (phytostabilisation)	AE-IS ou -ES BS, BA PR-IS (phytostabilisation)
HC aromatiques	AE BS, BA	AE BS ou BA si nécessaire PR-IS (phytostabilisation)	AE-IS ou -ES BS, BA PR-IS (phytostabilisation)
Organo-halogénés	AN ou MIX BS, BA	AN ou MIX BS ou BA si nécessaire	AN ou MIX -IS ou -ES BS, BA
Autres organiques	AE, AN, MIX BS, BA	AE, AN ou MIX BS ou BA si nécessaire PR-IS (phytostabilisation)	AE, AN ou MIX -IS ou -ES BS, BA PR-IS (phytostabilisation)
Métaux	AE, AN BA	AE, AN BA ou BS si possible (à tester) PR-IS ou -ES (phytoextraction)	AE, AN -ES ou IS si possible BA ou BS si possible (à tester) PR-IS ou -ES (phytoextraction)
Organo-métalliques	AE BA	AE BA	AE-ES BA
Autres minéraux	AE, AN, MIX BA, BS	AE, AN, MIX BA, BS	Etude au cas par cas

Commentaires :

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).

Pour le traitement des sols pollués, certaines techniques biologiques peuvent être utilisées dans des opérations de « confinement » du site → barrières réactives, phytostabilisation.

Le choix de la technique la plus pertinente doit passer par une étude de faisabilité technique adaptée et par une étude économique et environnementale → choix de la technique la plus « éco-efficente ».

II- Limites

Question posée :

*Quel est l'avis de l'expert sur les mécanismes ou les phénomènes scientifiques ou techniques qui limitent l'application des biotechnologies pour le traitement des **déchets, boues/sédiments, ou sols pollués.***

Mode de notation :

Il est demandé de noter de 1 à 4 les différents facteurs proposés selon leur importance dans la limitation de l'application des biotechnologies de traitement :

1 → non limitant ; 2 → peu limitant ; 3 → limitant ; 4 → très limitant ; 0 → pas d'avis

Faire précéder la note de E pour rendre compte de l'état actuel, et de P pour exprimer l'avis de l'expert sur les évolutions récentes ou à court ou moyen terme (« nouvelles biotechnologies »).

Exemple : « E3, P1 » signifie que le mécanisme considéré est actuellement un facteur limitant mais que les évolutions scientifiques et/ou technologiques laissent penser que cette limitation pourra être vaincue à court ou moyen terme.

L'expert peut proposer et noter d'autres facteurs en les explicitant.

Recommandation :

Il est demandé d'exprimer un avis sur le caractère limitant du facteur dans le cas général, en faisant abstraction de cas particuliers éventuels.

Le cas échéant, l'expert peut exprimer un commentaire sur chaque tableau de notation, par exemple s'il souhaite préciser dans quel domaine d'application ou pour quel type de mise en œuvre le facteur considéré est particulièrement limitant.

L'expert peut également apporter un commentaire plus général à la fin des différents items, par exemple pour faire état de situations particulières qui contredisent l'avis général donné par l'expert dans les questions précédentes.

II.1- Limites physico-chimiques :

	Biodisponibilité du substrat (polluant)	Biodisponibilité de l'accepteur d'électrons ou des nutriments	Variabilité spatiale (hétérogénéité) du milieu	Variabilité temporelle de la composition du matériau à traiter
Note E	4, 3, 4, 3, 4, 4, 3, 3, 2, 3, 3, 4 → 3-4	3, 2, 4, 3, 4, 2, 2, 0, 0, 3, 4, 0 → 3	2, 4, 3, 3, 4, 4, 3, 2, 2, 3, 2, 3 → 3	3, 2, 4, 3, 1, 3, 3, 3, 2, 3, 3, 2 → 3
P	1, ?, 1, 3, 4, 4, 2, 2, 1, 3, 2, ? → 2 mais avis partagé	1, ?, 1, 2, 4, 2, 1, 0, 0, 4, 1, 0 → 2 mais avis partagé	1, ?, ?, 2, 4, 4, 2, ?, ?, 3, 2, ? → 2-3 mais ??	1, ?, ?, 3, 1, 3, 2, ?, ?, 3, 1, ? → 2 mais ??
Commentaire	<p>C'est l'une des principales limites pour le traitement des sols pollués, surtout <i>in situ</i> et pour des polluants peu hydrosolubles et pour de faibles niveaux de concentrations.</p> <p>Certains traitements physico-chimiques ou mécaniques peuvent réduire cette limitation.</p> <p>Effet important du temps (« maturation, vieillissement »).</p> <p>En phytoremédiation, le développement racinaire et l'activité microbienne associée ont une incidence importante.</p> <p>Pour les déchets « agro », la limite est surtout physique (granulométrie) mais aussi chimique (lignine protégeant les autres biopolymères).</p>	<p>Important pour le traitement des sols pollués, surtout <i>in situ</i> et surtout pour un traitement aérobie.</p> <p>Les solutions techniques dépendent des caractéristiques du milieu et de la nature du traitement biologique sélectionné.</p> <p>Le recours à la phytoremédiation peut améliorer les choses (ex : effet du développement racinaire sur l'oxygénation des sols).</p>	<p>Facteur capital pour le traitement <i>in situ</i> des sols pollués.</p> <p>En traitement <i>ex situ</i>, le problème peut être corrigé par des traitements mécaniques.</p> <p>En phytoremédiation, la répartition verticale de la pollution sur une grande profondeur est une limite qui impose une excavation ou une mise en œuvre par couches successives.</p>	<p>Une variabilité trop importante de composition du déchet à traiter peut perturber considérablement la stabilité biologique du réacteur (toxicité vis à vis de la flore microbienne active, ...).</p> <p>Des contrôles en amont, avec des opérations de prétraitements mécaniques (tris, mélangeages, broyages, ...) peuvent réduire utilement cette variabilité.</p>

Commentaires généraux :

L'application des biotechnologies au traitement des déchets, sols et sédiments pollués dépend en 1^{er} lieu de la biodégradabilité de leur charge organique. Celle-ci 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), teneur en eau, 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.

Le facteur « biodisponibilité » des polluants (y compris métalliques), 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. 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 :

	Cinétiques de croissance microbienne	Sensibilité aux conditions de milieu (température, pH, ...)	Présence de composés toxiques	Compétitions entre communautés microbiennes	Autres → préciser
Note E	2, 3, 3, 2, V, 4, 3, 2, 2, 3, 2, 3 → 2-3	2, 4, 4, 3, V, 3, 2, 3, 2, 2, 2, 4 → 3	3, 3, 4, 0, 4, 3, 3, 4, 4, 3, 4, 4 → 3-4	2, 2, 4, 2, 4, 4, 3, 4, 1, 2, 2, 0 → 3	
P	1, 2, 1, 2, V, 4, 1, ?, ?, 1, 3, ? → 2 mais ?	1, 2, 2, 3, V, 3, 1, ?, ?, 1, 2, ? → 2 mais ?	1, 2, 2, 0, 4, 3, 2, 0, 4, 0, 3, 2 → 2-3	1, 2, 1, 2, 4, 4, 2, 1, ?, 1, 2, 0 → 2 mais avis partagé	
Commentaire	<p>C'est un problème surtout dans le cas où les polluants ne permettent pas de supporter correctement la croissance (peu solubles ou accessibles) et donc la limite si d'autres substrats ne sont pas disponibles (cométabolisme). En anaérobiose, les cinétiques de croissance sont souvent plus lentes qu'en aérobiose, l'énergie libérée par les réactions redox étant plus faible.</p> <p>Le contrôle des conditions d'incubation (lorsque possible) ou l'apport d'organismes exogènes (s'ils peuvent survivre dans le milieu) peut permettre de réduire cette limitation.</p>	<p>Paramètre important pour le traitement de certains déchets industriels ou de sols pollués de manière accidentelle et/ou massive.</p> <p>Les conditions de milieu peuvent être corrigées en bioréacteur, mais avec un certain coût et éventuellement des risques de réactions indésirables.</p> <p>Le recours à des organismes « extrémophiles » et/ou génétiquement modifiés peut être intéressant dans certains cas particuliers (Ex : biolixiviation des métaux par des bactéries acidophiles).</p>	<p>Peut rendre problématique le traitement de déchets, sols ou sédiments à pollution complexe et/ou variable dans le temps ou l'espace.</p> <p>Des prétraitements peuvent être nécessaires pour extraire ou diluer les éléments toxiques.</p> <p>On peut aussi sélectionner ou adapter des micro-organismes résistants, voire en développer par génie génétique pour des cas particuliers.</p> <p>Une étude au cas par cas est nécessaire.</p> <p>Ces limites existent aussi en phytoremédiation.</p>	<p>Ce domaine est encore relativement mal connu et mérite des recherches, notamment en vue du développement de consortiums microbiens pouvant être adaptés au traitement de pollutions particulières.</p> <p>Le comportement de tels inocula exogènes (y compris des OGM) dans des milieux aussi complexes qu'un déchet, sol ou sédiment pollué est encore mal connu, notamment « l'effet barrière » des populations indigènes.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Adaptation au climat (PR) et aux polluants ; - Dévt d'OGM résistants à des conditions extrêmes ou des toxiques - Mécanismes enzymatiques de dégradation des polluants et leur régulation

Commentaires généraux :

Des recherches en écologie microbienne appliquée sont nécessaires pour mieux comprendre l'incidence de l'apport de micro-organismes exogènes (génétiquement modifiés ou pas). La survie et la dynamique de colonisation de communautés exogènes dans des milieux complexes en présence d'une flore indigène sont encore mal connues.

Le recours à des organismes génétiquement modifiés, mutés ou adaptés pourrait permettre de lever certaines limites. 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. Ainsi, une bactérie résistance aux radiations a été rendue capable de dégrader des hydrocarbures, ce qui ouvre la voie au traitement biologique de déchets radioactifs contenant des solvants organiques. 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 (sol, sédiment) 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.

D'autre part, toujours concernant l'apport d'organismes exogènes, leur accession aux polluants présents dans le déchet, sol ou sédiment pollué est une limite encore plus grande que pour la flore indigène. Cette démarche 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 s'avérer utile.

Enfin pour les déchets organiques solides, la phase d'hydrolyse de la matière organique est un aspect fondamental qui est souvent cinétiquement limitant.

Pour la phyto-extraction, les limites 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 :

	Maîtrise des conditions opératoires (agitation, aération, pH, ...)	Suivi (monitoring) des processus bio-physico-chimiques	Maîtrise des processus polyphasiques	Modélisation imparfaite des processus (cultures mixtes, poly-substrats, milieux complexes)	Autres → préciser
Note	E 3, 3, 3, 4, V, 3, 2, 2, 2, 2, 3, 3 → 2-3	2, 2, 1, 4, V, 3, 3, 2, 3, 2, 2, 3 → 2-3	0, 3, 4, 0, 4, 4, 4, 3, 2, 4, 0, 3 → 3-4	3, 4, 4, 4, 0, 4, 4, 3, 3, 4, 2, 4 → 3-4	
	P 2, ?, 1, 3, V, 3, 1, ?, 1, 2, 1, 1 → 1-2	1, 1, ?, 2, V, 3, 1, ?, 2, 2, 1, 1 → 1-2	0, ?, 1, 0, 4, 4, 2, 1, 2, 2, 0, 1 → 2 mais avis partagé	1, 3, ?, 2, 0, 4, 2, 0, 2, 2, 3, 2 → 2-3	
Commentaire	<p>Pose des problèmes surtout pour des traitements <i>in situ</i>. Pour des traitements <i>ex situ</i>, le contrôle des conditions est plus facile et devrait s'améliorer encore avec une meilleure maîtrise des réacteurs industriels.</p> <p>Le contrôle de la stabilité des conditions opératoires en cours de traitement est particulièrement important, notamment pour les techniques anaérobies (microflore généralement plus sensible).</p>	<p>Le recours aux analyses « classiques » se heurte aux difficultés d'échantillonnage, de préparation des échantillons et d'analyses (représentativité, fiabilité, coûts...).</p> <p>Ces difficultés sont accrues pour une application <i>in situ</i>, où le suivi de paramètres globaux devient alors indispensable.</p> <p>Le développement de capteurs fiables (dont biocapteurs) et de méthodes simples et fiables d'évaluation de l'activité microbienne serait utile.</p>	<p>Les limitations cinétiques des transferts de matière entre phases liquides non miscibles (phases organique et aqueuse) et entre phases solides et aqueuses (désorption, solubilisation, partage) sont importantes dans le traitement des sols et sédiments pollués.</p> <p>Une meilleure connaissance de ces phénomènes permettrait d'améliorer la description et donc améliorerait la fiabilité des modèles permettant d'évaluer la durée et l'efficacité des traitements.</p>	<p>Outre la description imparfaite des processus polyphasiques, la description des cinétiques de croissance microbienne en milieu complexe et du couplage avec les réactions physico-chimiques est incomplète.</p> <p>Bien qu'il soit illusoire de prétendre modéliser parfaitement des systèmes si complexes, des progrès sont encore nécessaires pour améliorer la « prédictibilité » des traitements biologiques.</p>	

Commentaires généraux :

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 l'approche empirique des phénomènes pour générer des données plus fiables et plus facilement généralisables.

Le suivi analytique des polluants cibles est insuffisant => recourir à des indicateurs plus globaux d'impacts environnementaux de type tests de toxicité et 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 :

	Coûts d'investissement	Coûts de fonctionnement (réactifs, fluides, consommables divers)	Coûts en personnels (besoins de personnels très qualifiés et/ou nombreux)	Coûts liés aux post-traitements éventuels	Autres → préciser
Note E	4, 3, 2, 2, V, ?, 2, 3, 2, 0, 1, 2 → 2	2, 2, 3, 2, V, 0, 2, 3, 2, 0, 1, 2 → 2	2, 2, 3, 2, V, 0, 0, 2, 2, 3, 1, 3 → 2	3, 0, 3, 3, V, 0, 0, 3, 3, 0, 3, 0 → 3	
P	2, ?, 1, 2, V, ?, 1, ?, ?, 0, 1, ? → 1-2 mais ??	1, ?, ?, 2, V, 0, 1, ?, ?, 0, 2, ? → 1-2 mais ??	1, ?, ?, 2, V, 0, 0, ?, ?, 0, 2, ? → 2 mais ??	1, 0, 1, 2, V, 0, 0, ?, 2, 0, 2, 0 → 1-2	
Commentaire	Les coûts d'investissement semblent raisonnables par rapport aux techniques concurrentes.	La difficulté particulière des traitements biologiques (notamment pour les sols et sédiments pollués) réside dans l'incertitude d'évaluation de la durée de traitement nécessaire pour atteindre un objectif de traitement donné. Il est alors difficile d'exprimer le coût de fonctionnement effectif. Cependant, lorsque les traitements biologiques sont applicables, les coûts sont généralement très compétitifs (biostimulation <i>in situ</i> ou atténuation naturelle, phytoremédiation).	Ces coûts sont directement liés à la durée du traitement. Les traitements biologiques n'exigent généralement pas de personnels en nombre très important ou de grande qualification, mais peut occuper à temps partiel des personnels sur une longue durée.	Les traitements biologiques (comme la plupart des autres techniques) ne peuvent souvent pas permettre à elles seules d'atteindre tous les objectifs de traitements => traitements complémentaires. Lorsqu'une valorisation matière est envisagée après traitement biologique, les pré- et post-traitements engendrent des surcoûts importants. Dans le cas des techniques d'extraction (phytoextraction, biolixiviation, ...), le traitement des extraits est bien sûr nécessaire.	Evolution de la réglementation sur les niveaux de traitement, le contrôle des installations, etc...

Commentaires généraux :

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

III.1- Connaissance et description des processus métaboliques

Secteurs ou sujets prioritaires :

1- Etude des potentialités métaboliques de consortiums microbiens : Exploitation des consortiums connus, recherche ou construction de nouveaux consortiums. Voir aussi III.3.1.

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 :

- 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 mécanismes et voies cataboliques de polluants xénobiotiques cibles en milieux complexes. *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 culturaux.

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.

Secteurs ou sujets importants :

5- Persistance et toxicité des intermédiaires métaboliques des hydrocarbures : validation des tests de (éco)toxicologie existants, comparaisons labo-terrain.

6- Métabolisme des aromatiques chlorés, phénomènes de blocage métabolique par libération de métabolites toxiques.

7- Quantification de la production de chaleur métabolique (traitements aérobies).

8- Hydrolyse enzymatique de la matière organique.

9- Pérennité des traitements de phytostabilisation.

III.2- Génie génétique

Secteurs ou sujets prioritaires :

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- 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.

3- 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).

Secteurs ou sujets importants :

4- Modification de souches en vue de la production de systèmes enzymatiques de dégradation performants.

Construction de souches dont il serait possible de suivre le devenir dans l'environnement ou en conditions de compétition avec des populations naturelles.

Ex : introduction de marqueurs génétiques rendant les bactéries fluorescentes ou émettrices de lumière

5- Recensement des espèces de plantes hyper-accumulatrices de métaux, amélioration génétique des plantes sauvages pour les rendre capables de résister à d'autres métaux ou bien pour leur transférer des enzymes bactériennes de dégradation des polluants.

Les plantes hyperaccumulatrices connues sont de petite taille, comparées aux plantes accumulatrices qui produisent une grande quantité de biomasse ; si l'on regarde la quantité de métaux extraite (au lieu de la concentration) les cultures classiques extraient plus en un cycle de culture. Il serait peut-être plus intéressant (sur un plan procédé) de s'orienter sur ces plantes là et d'augmenter leur capacité d'extraction (génie génétique, pratiques culturales, etc...) ; il faut aussi regarder quelle peut-être la valorisation de la biomasse obtenue.

6- Associations de métabolismes complémentaires dans un même OGM.

III.3- Dynamique des populations, écologie microbienne

Secteurs ou sujets prioritaires :

1- Fonctionnement des communautés microbiennes (biofilms, etc...) : structuration, relations métaboliques, dynamique des populations, synergie, compétitions, ... Voir aussi III.1.1.

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 (c'est à dire l'introduction de fonctionnalités exogènes dans des communautés microbiennes existantes).
- 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.

Secteurs ou sujets importants :

- 3- Détermination des seuils de toxicité microbienne des métaux et minéraux dans les sols et sédiments pollués.
- 4- Mécanisme de maintien des microflores biodégradatrices dans les sols en présence de faibles concentrations résiduelles en polluants (queues de panache, ...).

Secteurs ou sujets prioritaires :

1- Modélisation des cinétiques de biodégradation de polluants multiples par des populations microbiennes mixtes et des transferts de matière inter-phases limitant la biodisponibilité de 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.

2- 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

3- 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.

Secteurs ou sujets importants :

5- Facteurs d'échelle dans l'extrapolation des résultats de laboratoire : existe-t-il des spécificités pour les systèmes où ont lieu des traitements biologiques ?

6- Optimisation des complémentarités aérobiose / anaérobiose dans des procédés simples et peu coûteux (du point de vue pratique, surtout pour les petites installations, il faut viser à obtenir des filières de traitement simples et à faible coût). *Voir aussi III.3.1.c.*

7- Description et modélisation des écoulements (gaz, liquides) et des transferts de matière et de chaleur dans les déchets solides (cas du compostage notamment).

8- Contrôle de la formation de résidus stabilisés lors du traitement biologique des déchets, sols ou sédiments pollués.

9- Réduction et contrôle des émissions (gaz, poussières) lors des traitements biologiques de déchets.

10- Traitements biologiques des pollutions mixtes (organique-minérale).

11- Influence de la teneur en eau sur l'activité microbienne dans les milieux solides poreux.

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

Secteurs ou sujets prioritaires :

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 des phases liquides non aqueuses dans les milieux poreux (sols, sédiments pollués) : localisation relative des phases fluides, localisation et métabolisme des micro-organismes aux interfaces, effet des biosurfactants.

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.

Secteurs ou sujets importants :

- 4- Effets des activités microbiennes et des caractéristiques du milieu poreux (porosité, nature et réactivité des surfaces et des phases présentes) sur la formation de résidus liés dans les déchets, sols et sédiments pollués.
- 5- Interactions entre l'adsorption des polluants sur des surfaces solides et la formation de biofilms.
- 6- Régénération microbiologique de matériaux adsorbants utilisés en traitement d'effluents aqueux ou gazeux.
- 7- Couplage de procédés physico-chimiques et biologiques pour l'élimination des graisses.

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