

**SYNTHESE / EXTENDED ABSTRACT**  
FRANÇAIS / ENGLISH

**ÉTAT DES CONNAISSANCES SUR LE DEVENIR  
DE POLLUANTS ORGANIQUES DANS LES SOLS  
LORS DE LA BIODEGRADATION NATURELLE  
ET APRES BIOTRAITEMENTS : IDENTIFICATION DES  
COMPOSES « METABOLITES »  
ET DES CINETIQUES**

**STATE OF KNOWLEDGE ON BECOMING TO ORGANIC  
POLLUTANTS IN SOILS DURING THE NATURAL  
BIODEGRADATION AND AFTER BIOTREATMENTS:  
IDENTIFICATION OF COMPOUNDS “METABOLITES”  
AND THE KINETICS**

mars 2007

**M.-J. JOURDAIN, A.-M. CHARISSOU** - IRH ENVIRONNEMENT - Service Impact  
sur les Milieux

Crée en 1989 à l'initiative du Ministère en charge de l'Environnement, l'association RECORD – REseau COopératif de Recherche sur les Déchets – 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.

En Bibliographie, le document dont est issue cette synthèse sera cité sous la référence :

**RECORD.** Etat des connaissances sur le devenir de polluants organiques dans les sols lors de la biodégradation naturelle et après biotraitements : Identification des composés « métabolites » et des cinétiques, 2007, 148 p, n°05-0513/1A

## ***Contexte de l'étude***

Ce projet vise à documenter l'importance des processus impliqués dans le traitement des sites et sols pollués en ciblant plus spécifiquement les facteurs influençants et les métabolites issus de la biodégradation pour 3 familles de composés organiques :

- les alcanes
- les hydrocarbures aromatiques polycycliques
- les solvants chlorés

En effet, les produits de métabolisation résultant des moyens de lutte mis en place par l'homme (biotraitements) ou de procédés naturels (atténuation naturelle), peuvent, sous certaines conditions, générer un risque pour l'environnement et la santé humaine.

Le terme biodégradation signifie la transformation biologique d'un composé organique en une autre forme. Ce processus peut conduire un composé inoffensif en composé toxique et inversement un composé toxique formé un composé toxique, changer une substance immédiatement métabolisable en substance persistante ou atténuer la toxicité du composé. La biodégradation naturelle est un processus non intrusif dont l'utilisation peut être envisagée lors de la remédiation des sites contaminés. Il faut parler alors d'atténuation naturelle (ou remédiation passive). L'homme a également mis en place des méthodes de traitement biologique utilisant les activités naturelles enzymatiques des micro-organismes pour transformer, dégrader, fixer ou immobiliser des polluants rencontrés dans différents milieux (eaux, sols, déchets,...). Ces deux voies ont permis d'envisager un « biotraitement » des sites et sols pollués.

Cette étude s'inscrit comme un état de l'art des voies de dégradation de molécules organiques ciblées dans les sols et de l'implication de micro-organismes spécifiques pour la transformation et l'aboutissement en métabolites.

## ***Objectifs et plan de l'étude***

### *1. Objectifs de l'étude*

L'objectif de cette étude est de réaliser un état des connaissances sur le devenir des polluants organiques dans les sols contaminés en particulier des trois familles majoritairement rencontrées (Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques : HAP ; Solvants chlorés ; Alcanes) et pour lesquelles l'Association RE.CO.R.D. souhaitait réunir des informations. Un recensement des mécanismes de biodégradation, des cinétiques de réactions et des métabolites formés a ainsi été réalisé.

Plus spécifiquement, l'étude s'est intéressée à :

1. réaliser une recherche la plus exhaustive possible des informations disponibles concernant les voies de biodégradation dans les sols des trois familles de polluants sélectionnées ;
2. collecter les informations du devenir des polluants auprès de banques de données ou de retours de terrain en privilégiant les cinétiques d'apparition et les propriétés (physico-chimiques et (éco)toxicologiques) des métabolites obtenus ;
3. réaliser une synthèse claire et complète des informations obtenues sur le devenir des polluants organiques dans les sols en précisant, le cas échéant, l'existence des lacunes bibliographiques relevées.

## 2. Plan de l'étude

Le document se présente sous forme de différentes sous-parties. Tout d'abord, sont données les détails d'obtention de la synthèse bibliographique. Puis, divers rappels sont faits afin de clarifier les informations apportées dans les chapitres suivants :

- sur le devenir dans les sols des polluants organiques
- sur les éléments (éco)toxicologiques
- sur les principaux bioprocédés appliqués aux sols pollués.

Concernant les 3 familles de composés organiques, chacun des chapitres se décompose en 4 parties distinctes :

- les propriétés physico-chimiques et (éco)toxicologiques des molécule-parents,
- les voies de dégradation (aérobie et anaérobie),
- les retours de terrain,
- les propriétés physico-chimiques et (éco)toxicologiques des métabolites sous format de tableaux de synthèse,
- des conclusions sous format de partie « A RETENIR »

Enfin, des éléments de réflexion sont amenés à propos de retours de terrain et de leurs évaluations en terme de biotraitement d'une part et, sur les cinétiques de dégradation d'autre part.

## **Exposé des principaux résultats obtenus**

### 1. Biodégradation des alcanes

La plupart des alcanes (excepté l'hexane chez les mammifères) ne possède pas de propriétés carcinogènes, mutagènes ou tératogènes. Durant leur métabolisation chez l'homme, les alcanes subissent une réaction de fonctionnalisation, les transformant en alcools, moins lipophiles et plus hydrophiles d'où le faible risque de stockage dans les compartiments lipidiques des organismes.

#### a) Dégradation aérobie

Les n-alcanes dont le nombre de carbone est supérieur à 9, sont les hydrocarbures les plus facilement dégradables par une très grande variété de microorganismes. La première étape dans la dégradation aérobie des alcanes par les bactéries, levures et champignons, est catalysée par des oxygénases et aboutit à la formation de composés peu toxiques. Peu d'espèces sont capables d'utiliser les cycloalcanes comme source seule de carbone ; la voie la plus commune consiste en un cométabolisme par des cultures mixtes. Il en résulte une multitude de dérivés cétoniques.

#### b) Dégradation anaérobie

Le principe biochimique du métabolisme anaérobie des alcanes est encore peu connu. L'attaque initiale n'inclut pas d'étape oxygène-dépendante, mais suppose un couplage à un métabolite cellulaire (toluène succinate par exemple).

#### c) Etudes de terrain

Les études en laboratoire concernant les alcanes seuls sont faites d'une part pour tester de nouvelles souches de microorganismes biodégradantes ou pour de nouvelles techniques de traitement des sites et sols pollués. Les cas de terrain sont rarement documentés et ils traitent le plus souvent d'un

mélange de HAP et d'alcanes pour lesquels principalement est prise en compte la dégradation des HAP.

d) (Eco)toxicité des métabolites

La plupart des travaux montrent un potentiel de dégradation existant pour les molécules à longue chaîne carbonée et identifient les micro-organismes impliqués dans ces voies chimiques. Les métabolites obtenus en laboratoire sont des composés d'acides gras, des acides et d'alcool ayant une toxicité moindre voire inexistante (non classé par l'IARC, DL50 orale > 1000 mg/Kg).

## 2. Biodégradation des HAP

L'étude de la biodégradation des HAP dans les sols contaminés se différencie selon la taille des molécules car les communautés de micro-organismes dégradent différemment les HAP de faible poids moléculaire (2-3 noyaux) de ceux à fort poids moléculaire (5-6 cycles).

a) Dégradation aérobie

Les bactéries oxydent initialement les hydrocarbures aromatiques polycycliques par l'incorporation de deux atomes d'oxygènes moléculaires dans le substrat pour former des dihydrodiols de configuration cis. Cette réaction est catalysée par une enzyme, la dioxygénase.

Diverses espèces de *Pseudomonas* oxydent les HAP à 2-3 cycles tels que le naphthalène pour aboutir dans un premier temps à un radical cis-dihydrodiol. Le radical cis-dihydrodiol va donner le 1,2-dihydroxynaphthalène qui sera métabolisé en dérivé salicylé.

Les auteurs ont montré dans la bibliographie que leurs voies métaboliques des HAP à plus de 4 cycles ressemblent à celles du naphthalène avec incorporation initiale d'une molécule de dioxygène par une dioxygénase suivie d'une dégradation en chaîne des cycles benzéniques.

b) Dégradation anaérobie

Deux étapes initiales ont été proposées dans le mécanisme de dégradation anaérobie : la carboxylation et l'hydroxylation. Dans ce cas, le potentiel redox devient un facteur critique dans la détermination de la diversité métabolique des populations microbiennes dans les sols, sédiments et systèmes aquifères. Néanmoins, les HAP lourds tels que le Pyrène, le Benzo(a)Anthracène et le Benzo(a)Pyrène semblent difficilement dégradables en conditions anaérobies. Le manque de travaux ne permet pas de conclure sur ce point.

c) Etudes de terrain

Les études de terrain rencontrées dans la littérature regroupe des essais de bio traitement aérobie sur sols pollués ou des retours d'observation d'atténuation naturelle après échantillonnage des terres polluées. Divers paramètres spécifiques des sols analysés influencent la biodégradation des HAP : pH, nutriments, O<sub>2</sub>, T°, % humidité, biodisponibilité des HAP, historique de la contamination.

d) Propriétés des métabolites

Les HAP, jusqu'à 5 cycles, sont intrinsèquement dégradables, et peuvent directement être utilisés comme substrat organique par certaines espèces de micro-organismes en milieu aérobie (essentiellement) ou anaérobie. Ces métabolites néoformés sont généralement plus solubles, et par conséquent plus mobiles, et présentent une toxicité différente de celle des HAP initiaux souvent plus faible. Ces métabolites peuvent eux-même se dégrader et se minéraliser. Ils peuvent également s'accumuler dans les sols si leur cinétique de dégradation est plus lente que leur cinétique d'apparition. Le dioxyde de carbone et quelques quinones sont excrétés par les micro-organismes lors du processus de dégradation. Le CO<sub>2</sub> gazeux se dissémine dans l'air et les quinones dont

certaines interviennent comme facteurs de croissance des végétaux, peuvent interagir au niveau racinaire et être absorbées par certaines plantes. Néanmoins, beaucoup des métabolites identifiés sont intracellulaires ou bien aucune indication n'est précisée, ce qui limite les remarques concernant les interactions possibles sol-métabolites.

### 3. Biodégradation des solvants chlorés

L'étude du devenir des solvants chlorés dans les sols contaminés se différencie selon la présence ou non d'oxygène car dans la plupart des cas la biodégradation est anaérobie, surtout pour les plus chlorés.

#### a) Le chlorométhane

Il peut être dégradé en conditions aérobie et anaérobie. Une multitude d'espèces bactériennes présentes dans le sol et les sédiments sont capables d'utiliser le chlorométhane comme source d'énergie. La voie aérobie semble plus préoccupante car elle induit la formation de formol.

#### b) Les trichloroéthanes

Le 1,1,1-TCA peut être dégradé par co-métabolisme en conditions aérobie et anaérobie dans l'environnement. La biodégradation passe par une simplification moléculaire avec clivage des atomes chlorés. Ainsi, les principaux métabolites sont des acides et le dioxyde de carbone.

Le 1,1,2-TCA est dégradé en conditions anoxiques et donne comme intermédiaire métabolique le chlorure de vinyle.

#### c) Les tétrachloroéthanes

La bibliographie a montré que les métabolites majeurs issus de la biodégradation anaérobie des TeCA dans des sols humides en microcosmes sont les isomères de DCE, le chlorure de vinyle et l'éthène.

#### d) Le chlorure de vinyle

A quelques exceptions près, **le chlorure de vinyle n'est pas facilement dégradable** par les groupements de microorganismes inadaptés dans les conditions ambiantes (1 atm, 25°C). Toutefois, **certaines cultures microbiennes** (par exemple *Mycobacterium sp.*) **sont capables de décomposer** le chlorure de vinyle. Le métabolisme aérobie de ce composé peut suivre 2 voies : **une voie directe intracellulaire** passant par un composé intermédiaire dégradé lui-même en composés ultimes (CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O) et **une voie méthanotrophe extracellulaire** via un co-métabolisme. Le CV peut également être dégradé par voie anaérobie sous l'action de *Clostridium sp.* ou *Dehalococcoides sp.*

#### e) Propriétés des métabolites

Les solvants ciblés lors de l'étude sont tous dégradables. La destruction des molécules par des microorganismes résulte d'une simplification par clivage des atomes de chlore, et conduit à la formation de produits de dégradation (métabolites) dont la structure chimique est moins complexe que la molécule parente. Il faut cependant noter la formation d'intermédiaires toxiques tels que le chlorure de vinyle ayant un caractère cancérigène reconnu. Parmi les métabolites excrétés, le CO<sub>2</sub> gazeux se dissémine dans l'air et l'éthylène va interagir avec les végétaux.

#### 4. Retours de terrain et évaluation des biotraitements

Dans les 6 exemples choisis, les résultats relatifs au comportement des polluants et ceux relatifs au traitement restent intimement liés. Il apparaît que les tests d'écotoxicité appliqués évaluent l'efficacité de traitement utilisé. Les analyses chimiques seules ne permettent pas de juger de l'efficacité des procédés de bioremédiation. L'application des essais biologiques permet d'appréhender l'évolution à plus ou long terme des matériaux traités.

#### 5. Cinétiques de dégradation

L'ensemble des données bibliographiques rapportées indique l'importance d'identifier les propriétés et compositions des composés potentiellement dégradables dans un mélange de contaminants afin de mieux appréhender les comportements des substances chimiques dans l'environnement. Les informations relatives aux cinétiques de dégradation permettent de donner des indications concernant la durée nécessaire à la dégradation des composés en question et donc à la nécessité de mettre en place des traitements sur le terrain plus poussés que les phénomènes de dégradation naturels (ou atténuation naturelle).

### **Analyse et commentaire des résultats**

Le manque de travaux et de données expérimentales ne permet pas d'aboutir à des fiches synthétiques complètes des voies de **dégradation des alcanes**. De plus, concernant la réactivité des métabolites avec les constituants du sol, aucune remarque ne peut être avancée, d'une part, car les métabolites sont pour la plupart intracellulaires et d'autre part, du fait du manque de données sur les produits excrétés. Il serait intéressant de développer des études sur ces composés afin de compléter les informations de métabolisation microbienne et des métabolites produits.

La **dégradation des HAP** dans le sol est dominée par des souches bactériennes appartenant à un nombre limité de groupes taxonomiques. Des composés comme le naphthalène, le B(a)A et B(a)P sont des composés à surveiller car classés par l'IARC comme cancérigènes potentiels. Ainsi, les sites contaminés par ces molécules représentent des lieux « à risque » potentiel et dont le devenir doit être bien défini. Peu de travaux existent sur la biodégradation des HAP à 6 cycles (Benzo(ghi)pérylène, Indéno(123-cd)pyrène). Les données recensées montrent que des composés tels que le Benzo(ghi)perylène sont biodégradés lentement. Néanmoins, le champignon *Phanerochaete chrysosporium* est capable d'oxyder le Benzo(ghi)pérylène au cours d'expérimentations en batch.

Beaucoup des métabolites identifiés lors de la **dégradation des solvants chlorés** sont intracellulaires ou bien aucune indication n'est précisée (par exemple, aucune précision n'est apportée sur le chlorure de vinyle et sa localisation lorsqu'il apparaît en milieu du chaînon métabolique), ce qui limite les remarques concernant les interactions possibles sol-métabolites.

Le recours à des tests biologiques pour conclure de **l'efficacité des biotraitements** permet une comparaison de la toxicité avant et après traitement, ce qui va valider l'application du traitement sur le terrain. Dans ce sens une meilleure connaissance des effets des produits de transformation peut être conçue par le développement d'études d'écotoxicité pour chaque cas de terrain.

Les **modèles cinétiques de dégradation microbienne** sont basés sur la concentration en substrat et la biomasse. Ceci aboutit à plusieurs types de cinétique de dégradation dans les environnements naturels, souvent basés sur une approche empirique, et reflétant les niveaux rudimentaires des populations microbiennes et de leurs activités dans ces écosystèmes.

## **Conclusions**

La dégradation aérobie *des alcanes* aboutit à la formation de composés peu toxiques. Peu d'espèces sont capables d'utiliser les cycloalcanes. Le principe du métabolisme anaérobie des alcanes est encore peu connu. Les cas de terrain sont rarement documentés. Les métabolites obtenus en laboratoire sont des composés d'acides gras, des acides et d'alcool. Concernant la réactivité des métabolites avec les constituants du sol, les métabolites sont pour la plupart intracellulaires et peu de données existent sur les produits excrétés.

Pour les *hydrocarbures aromatiques polycycliques* par voie aérobie, les bactéries incorporent une molécule de dioxygène au moyen de dioxygénases pour former des dihydrodiols suivie d'une dégradation en chaîne des cycles benzéniques. Deux étapes initiales ont été proposées dans le mécanisme de dégradation anaérobie : la carboxylation et l'hydroxylation. Concernant les études de terrain, Divers paramètres spécifiques des sols influencent la biodégradation des HAP : pH, nutriments, O<sub>2</sub>, T°, % humidité, biodisponibilité des HAP, ancienneté de la contamination. Les métabolites néoformés sont généralement plus solubles, et par conséquent plus mobiles, et présentent une toxicité différente de celle des parents souvent plus faible. Ces métabolites peuvent se minéraliser ou s'accumuler dans les sols si leur cinétique de dégradation est plus lente que leur cinétique d'apparition. Néanmoins, beaucoup des métabolites identifiés sont intracellulaires ou bien aucune indication n'est précisée, ce qui limite les remarques concernant les interactions possibles sol-métabolites.

Parmi *les solvants chlorés*, la voie aérobie du chlorométhane induit la formation de formol comme intermédiaire métabolique. Le 1,1,1-TCA peut être dégradé par co-métabolisme en conditions aérobie et anaérobie dans l'environnement. Les principaux métabolites sont des acides et le dioxyde de carbone. En conditions anoxiques, le 1,1,2-TCA est dégradé en un intermédiaire toxique : le chlorure de vinyle. Le chlorure de vinyle n'est pas facilement dégradable : seules quelques bactéries peuvent le décomposer en conditions aérobies (*Mycobacterium sp.*) et anaérobies (*Clostridium sp.*). Les métabolites majeurs issus de la biodégradation anaérobie des TeCA dans des sols humides en microcosmes sont les isomères de DCE, le chlorure de vinyle et l'éthène (métabolite excété). Les solvants ciblés lors de l'étude sont donc tous dégradables.

Une problématique de sols pollués représente toujours un cas unique. Il est donc important qu'une caractérisation précise (physique, chimique et microbiologique) des sols soit réalisée en amont de toute décision allant au-delà d'une simple mesure de polluants.



## ***Context of the study***

This project aims at documenting the importance of the processes implied in the treatment of the polluted sites and soils by more specifically targeting the influencing factors and the metabolites resulting from the biodegradation for 3 families of organic compounds:

- Alkanes
- Polycyclic aromatic hydrocarbons
- Chlorinated solvents.

Indeed, the metabolisation products resulting from the means of fight set up by the man (biotreatments) or natural processes (natural attenuation), can, under certain conditions, to generate a hazard for the environment and human health.

The biodegradation term simply means the biological transformation of an organic compound into another form. This process can thus convert an inoffensive compound into toxic compound, change a substance immediately biodegradable into persistent substance or modify the toxicity of the compound. The natural biodegradation is a nonintrusive process whose use can be considered at the time of the contaminated sites remediation. People speak then about natural attenuation (or passive remediation). Man also set up methods of biological treatment using the enzymatic natural activities of microorganisms to transform, degrade, fix or immobilize pollutants met in various ecosystems (water, grounds, waste...). These two ways made it possible to consider "biotreatment" of polluted sites and soils.

This study is thus registered like a state of art in the degradation ways of organic molecules targeted in soils and of the specific microorganisms implication for the transformation and the result in metabolites.

## ***Objectives and study plan***

### *1. The objectives of study*

The objective of this study is to carry out a state of knowledge on becoming to organic pollutants in the contaminated soils in particular of the three families mainly met (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: HAP; Chlorinated solvents; Alkanes) and for which the RE.CO.R.D. Association wanted to have information. A inventory of the biodegradation mechanisms, the kinetics of reactions and the formed metabolites were thus carried out. More specifically, the study allowed :

- To realize the most exhaustive research of available information concerning the ways of biodegradation in soils of the three families of selected pollutants;
- To collect information of becoming pollutants in data banks by privileging the kinetics of appearance and the properties (physicochemical and (eco) toxicological) of the obtained metabolites;
- To realize a clear and complete synthesis of informations obtained on becoming to organic pollutants in soils while specifying, if necessary, the existence of the bibliographical gaps.

### *2. Study plan*

The document is presented with various under-parts. First of all, the details to obtain the bibliographical synthesis are given. Then, various recalls are realized in order to clarify the information in the following chapters on:

- the soils becoming of the organic pollutants
- the (eco) toxicological elements
- the principal process applied on polluted soils.

Concerning the 3 families of organic compounds, each chapter breaks up into 4 distinctes parts:

- physicochemical and (eco) toxicological properties of the molecule parents,

- ways of degradation (aerobic and anaerobic),
- field studies,
- physicochemical and (eco) toxicological properties of the metabolites resumed in tables of synthesis,
- conclusions with a part "TO RETAIN"

Lastly, some reflexion elements are brought in connection with field studies and their evaluations in term of biotreatments on the one hand and, on the kinetics of degradation, on the other hand.

## ***Principal obtained results***

### 1. Biodegradation of alkanes

The majority of alkanes (except hexane in mammals) have no carcinogenic, mutagen or teratogenic properties. During their metabolisation in human, the alkanes undergo a reaction of fonctionnalisation, transforming them into alcohols, less lipophilic and more hydrophilic and the risk is a possible storage in the lipidic compartments of organisms.

#### a) Aerobic degradation

The n-alkanes whose number of carbon is higher than 9, are the hydrocarbons most easily degradable by a very large variety of microorganisms. The first stage in the aerobic decomposition of alkanes by the bacteria, yeasts and mushrooms, is catalysed by oxygenases and leads to the formation of products not very toxic. Few species are able to use the cycloalkanes like source of carbon; the most common way consists of a cometabolism by mixed cultures. It results multiple forms of ketonic derivatives.

#### b) Anaerobic degradation

The biochemical principle of the alkane anaerobic metabolism is still little known. The initial attack does not include an oxygen-dependent stage, but supposes a coupling with a cellular metabolite (toluene succinate for example).

#### c) Field surveys

The studies in laboratory concerning alkanes are made on the one hand to test new species of microorganisms or for new techniques of treatment of the polluted sites and soils. The field cases are seldom documented and they generally treat mixtures of HAP and alkanes for which mainly is well documented the degradation of the HAP.

#### d) (Eco)toxicity of metabolites

The majority of studies show a potential of degradation existing for the molecules with long chain of carbons and identify the implied microorganisms in these chemical ways. The obtained metabolites are fatty acids compounds, acids and alcohol having a non-existent toxicity (not classified by the IARC, oral DL50 > 1000 Mg/kg).

### 2. Biodegradation of PAH

The study of the PAH biodegradation in the contaminated soils is different according to the size from the molecules because the microorganisms communities differently degrade the molecular low-weight PAH (2-3 cycles) of those with high molecular weight (5-6 cycles).

#### a) Aerobic degradation

The bacteria initially oxidize polycyclic aromatic hydrocarbons by the incorporation of two molecular oxygen atoms in the substrate to form dihydrodiols of configuration cis. An enzyme, the dioxygenase, catalyses this reaction.

Various species of *Pseudomonas* oxidize the PAH with 2-3 cycles such as naphthalene to lead initially to a radical cis-dihydrodiol. The radical cis-dihydrodiol will give the 1,2-dihydroxynaphthalene which will be metabolized in salicylated derivative.

The authors showed in the bibliography that their metabolic ways of the PAH to more than 4 cycles look like those of naphthalene with initial incorporation of a molecule of dioxygen by a dioxygenase followed by a degradation in chain of the benzene cycles.

#### b) Anaerobic degradation

Two initial stages were proposed in the anaerobic mechanism of degradation: the carboxylation and the hydroxylation. In this case, the potential redox becomes a critical factor in the determination of the metabolic diversity of the microbial populations in the grounds, aquiferous sediments and systems. Nevertheless, the heavy HAP such as Pyrene, Benzo (has) Anthracene and Benzo (has) Pyrene seem hardly degradable in anaerobic conditions. The lack of work does not make possible to conclude on this point.

#### c) Field studies

The field surveys met in the literature combine tests of aerobic bio treatment on polluted soils or the returns of natural attenuation observation after sampling of the polluted soils. Various specific parameters of the analyzed soils influence the biodegradation of PAH: pH, nutrients, O<sub>2</sub>, T°, % moisture, PAH biodisponibility, the date of contamination.

#### d) Properties of metabolites

The PAH, up to 5 cycles, are intrinsically degradable, and can directly be used like organic substrate by certain microorganisms species in aerobic (primarily) or anaerobic medium. These newly metabolites formed are generally more soluble, and consequently more mobile, and have a different toxicity than the initial PAHs that are often much toxic. These metabolites can be degraded and be mineralized. They can also accumulate in the soils if their kinetics of degradation is slower than their kinetics of appearance. The carbon dioxide and some quinones are excreted by the microorganisms during biodegradation. Gas CO<sub>2</sub> is disseminated in the air and quinones, some intervene like growth promoters in plants, can react on the root level and be absorbed by certain plants. Nevertheless, much of the identified metabolites are intracellular or no indication is specified, which limits the remarks concerning the possible reactions soil-metabolites.

### 3. Biodegradation of chlorinated solvents

The becoming study of chlorinated solvents in the contaminated soils is different according to the presence or not from oxygen but in the majority of the cases the anaerobic biodegradation is frequent, especially for the most chlorinated.

#### a) Chloromethane

It can be degraded in aerobic and anaerobic conditions. A multitude of bacterial species present in the soil and the sediments are able to use chloromethane like source of energy. The aerobic way seems more alarming because it induces the formol formation.

#### b) Trichloroethanes

The 1,1,1-TCA can be degraded by Co-metabolism in aerobic and anaerobic conditions in environment. The biodegradation consists by a molecular simplification with cleavage of the chlorinated atoms. Thus, the principal metabolites are acids and carbon dioxide.

The 1,1,2-TCA is degraded in anoxic conditions and gives as vinyl chloride metabolic product.

#### c) Tetrachloroethanes

The bibliography showed that the major metabolites resulting from the anaerobic way of TeCA in wet soils in microcosms are the isomers of DCE, vinyl chloride and ethene.

#### d) Vinyl chloride

Short of some exceptions, the vinyl chloride is not easily degradable by the micro-organisms unsuited under the environmental conditions (1 atm, 25°C). However, certain microbe cultures (for example *Mycobacterium sp.*) are able to consume vinyl chloride. The aerobic metabolism of this compound can follow 2 ways: an intracellular direct way passing by an intermediate compound degraded itself in ultimate compounds (CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O) and an extracellular methanotrophic way via a Co-metabolism. The VC can also be degraded by anaerobic way under the action of *Clostridium sp.* or *Dehalococcoides sp.*

#### e) Properties of metabolites

The targeted solvents at the time of the study are all degradable. The molecules destruction by microorganisms results from a simplification by cleavage of the chlorine atoms, and led to the formation of metabolic products whose chemical structure is less complex than the molecule parent. It is however necessary to note the formation of toxic intermediaries such as vinyl chloride being recognized cancerogenic. Among the excreted metabolites, gas CO<sub>2</sub> is disseminated in the air and the ethylene may react with plants.

### 4. Fields studies and evaluation of treatments

In the 6 chosen examples, the results relating to the pollutant behaviors and those relating to the treatment closely remain dependent. It appears that the applied ecotoxicity tests evaluate the effectiveness of used treatment. The chemical analyses do not permit to judge effectiveness of the processes of bioremediation. The biological tests application permit to apprehend the evolution in long term of treated materials.

### 5. Kinetics of degradation

The whole of the reported bibliographical data indicates the importance to identify the properties and compositions of the potentially degradable compounds in a mixture of contaminants in order to better apprehend the behaviors of the chemical substances in the environment. Information relating to the kinetics of degradation permit to give indications concerning the duration necessary to the degradation of the selected compounds. Thus the study demonstrates the need to organize treatments in situ more thorough than the natural phenomena of degradation (or natural attenuation).

## **Analyze and comment of the results**

The lack of experimental data does not permit to lead to complete synthetic cards with the degradation ways of alkanes. Moreover, concerning the reactivity of the metabolites with the

components of the soil, no remark can be advanced, on the one hand, because the metabolites are for the majority intracellular and on the other hand, because of the lack of data on the excreted products. It would be interesting to develop studies on these compounds in order to supplement information of microbial metabolism and produced metabolites.

The degradation of PAH in soil is dominated by bacterial strains belonging to a limited number of taxonomic groups. Compounds like naphthalene, B (a) A and B (a) P are compounds to monitor because classified by the IARC like potential carcinogens. Thus, the sites contaminated by these molecules represent environment "with potential risk" and whose evolution must be well defined. Few work exist on the biodegradation of the PAH with 6 cycles (Benzo (ghi) perylene, Indéno (123-Cd) pyrene). The listed data show that compounds such as Benzo (ghi) perylene are slowly degraded. Nevertheless, the mushroom *Phanerochaete chrysosporium* is able to oxidize Benzo (ghi) perylene during experiments in batch.

Many of the metabolites identified during the decomposition of chlorinated solvents are intracellular or no indication is specified (for example, no precision is brought on vinyl chloride and its localization when it appears in medium of the metabolic link), which limits the remarks concerning the possible interactions soils-metabolites.

The recourse to biological tests to conclude from the biotreatment effectiveness allows a comparison of toxicity before and after treatment, which will validate the application of the treatment on soil. In this direction a better knowledge of the effects of the processed products can be conceived by the development of ecotoxicity studies for each case of soil.

The kinetic models of microbial degradation are based on the concentration in substrate and the biomass. This leads to several types of degradation kinetics in the natural environments, often based on an empirical approach, and reflecting the rudimentary levels of the microbial populations and their activities in these ecosystems.

## ***Conclusions***

The aerobic decomposition of *alkanes* leads to the formation of not very toxic products. Few species are able to use the cycloalkanes. The principle of the anaerobic metabolism of alkanes is still little known. The in situ cases are seldom documented. The metabolites obtained in laboratory are compounds of fatty acids, acids and of alcohol. Concerning the reactivity of the metabolites with the ground components, the metabolites are for the majority intracellular and few data exist on the excreted products.

In the aerobic way, the bacteria incorporate a molecule of dioxygene by means of dioxygenases in the *polycyclic aromatic hydrocarbons* to form dihydrodiols followed by a degradation in chain of the benzene cycles. Two initial stages were proposed in the anaerobic mechanism of degradation: the carboxylation and the hydroxylation. Concerning the field surveys, specific parameters of soil influences the biodegradation of PAH: pH, nutrients, O<sub>2</sub>, T°, % moisture, biodisponibility of PAH, age of the contamination. The metabolites newly formed are generally more soluble, and consequently more mobile, and have toxicity different from the molecule parents. These metabolites can be mineralized or accumulate in the grounds if their kinetics of degradation is slower than their kinetics of appearance. Nevertheless, much of the metabolites identified are intracellular or no indication is specified, which limits the remarks concerning the possible interactions soil-metabolites.

Among chlorinated solvents, the aerobic way of chloromethane induces the formol formation as metabolic intermediary. The 1,1,1-TCA can be degraded by Co-metabolism in aerobic and anaerobic conditions. The principal metabolites are acids and the carbon dioxide. In anoxic conditions, the 1,1,2-TCA is degraded in a toxic intermediary: vinyl chloride. Vinyl chloride is not easily degradable:

only some bacteria can consume it into aerobic (*Mycobacterium sp.*) and anaerobic (*Clostridium sp.*) conditions. The major metabolites resulting from the anaerobic biological breakdown of TeCA in wet grounds in microcosms are the isomers of DCE, vinyl chloride and the ethene (excreted metabolites). The solvents targeted at the time of the study are thus all degradable.

Problems of polluted soils always represent a single case. It is thus important that a precise characterization (physical, chemical and microbiological) is carried out upstream any decision going beyond of a simple measurement of pollutants.