



HAL
open science

Les cycles biogéochimiques lors de la digestion anaérobie des déchets non dangereux

Laurent Mazéas

► **To cite this version:**

Laurent Mazéas. Les cycles biogéochimiques lors de la digestion anaérobie des déchets non dangereux. Master. France. 2018, pp.1-103. hal-04309100

HAL Id: hal-04309100

<https://hal.inrae.fr/hal-04309100>

Submitted on 27 Nov 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Les cycles biogéochimiques lors de la digestion anaérobie des déchets non dangereux



INRAE
université
PARIS-SACLAY

PROSE
PROCÉDÉS
BIOTECHNOLOGIQUES
AU SERVICE DE L'ENVIRONNEMENT

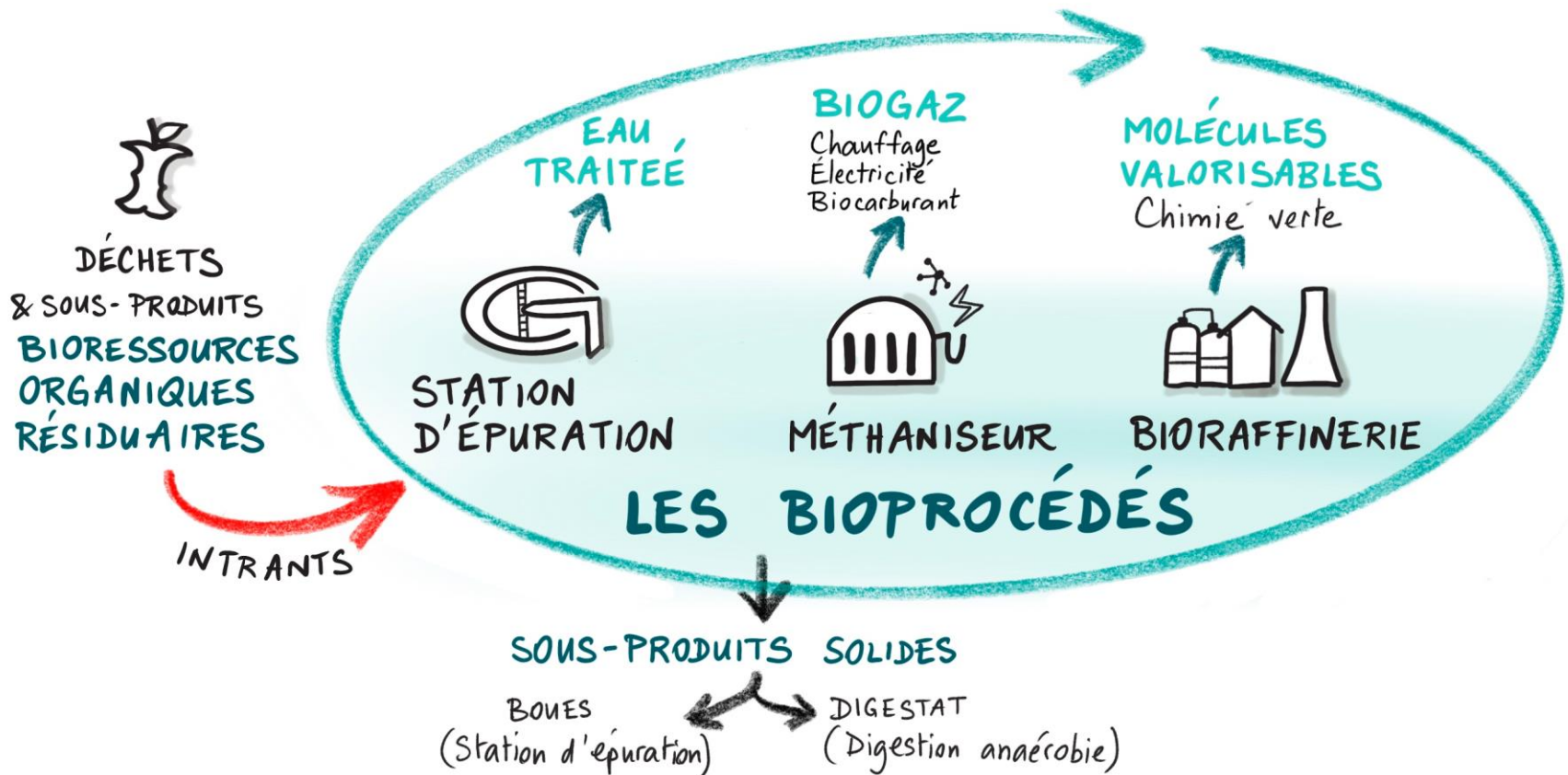
Laurent MAZEAS
Directeur de recherche
en biogéochimie

INRAE LES BIOTECHNOLOGIES ENVIRONNEMENTALES

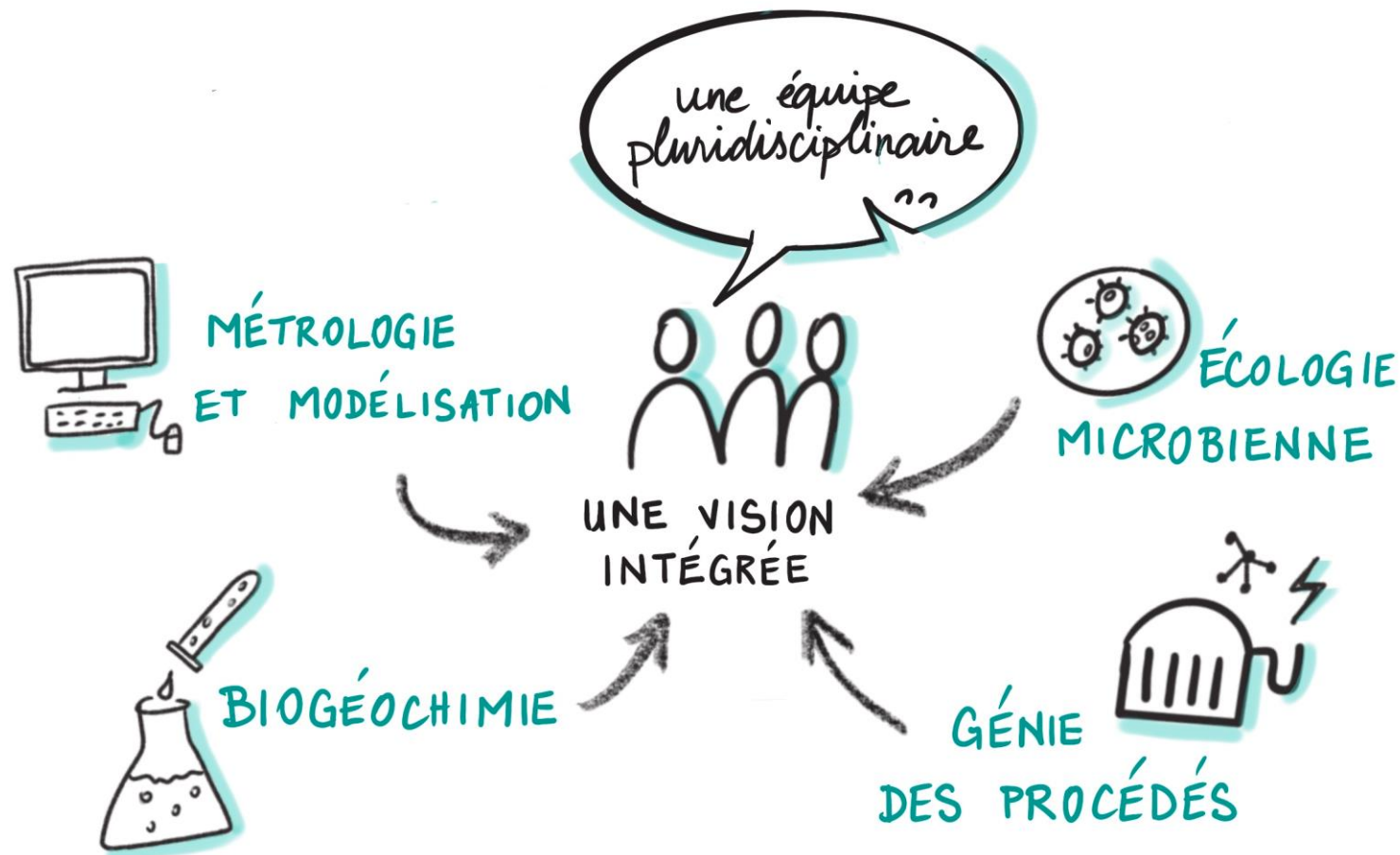


Un outil technologique **DANS LA BIOÉCONOMIE CIRCULAIRE**
pour répondre à **2 ENJEUX**

- 1 **ÉCONOMISER LES RESSOURCES NATURELLES**
- 2 **DIMINUER LES IMPACTS SUR L'ENVIRONNEMENT**



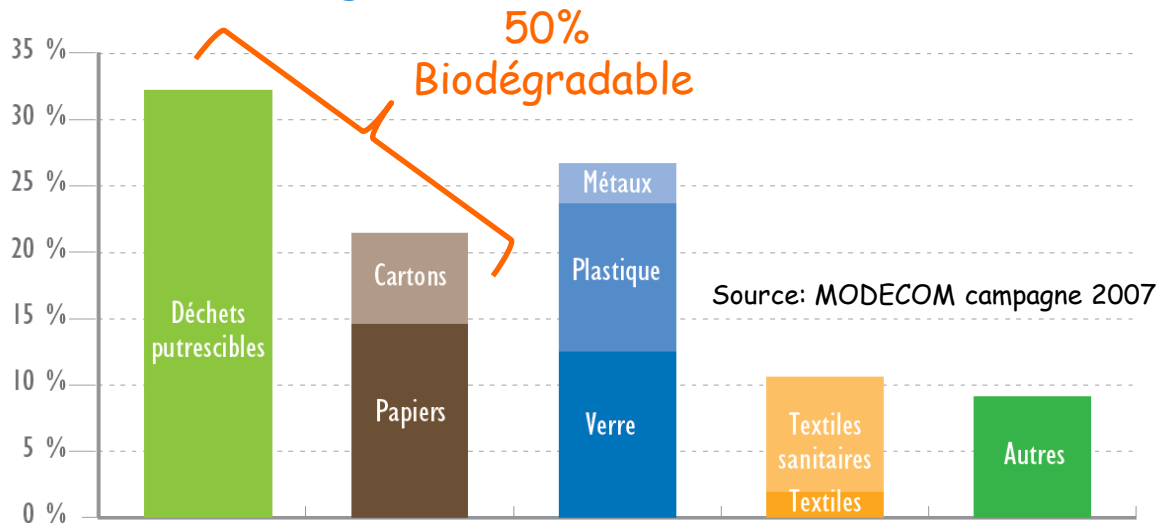
LA RECHERCHE SUR LES BIOTECHNOLOGIES ENVIRONNEMENTALES DANS L'UNITÉ DE RECHERCHE PROSE



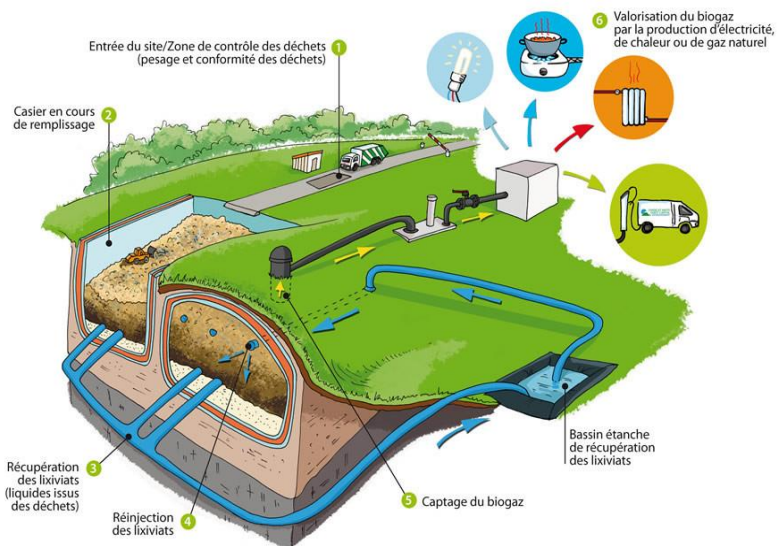


LA PROBLÉMATIQUE DU TRAITEMENT DES DÉCHETS

➤ Composition d'une ordure ménagère résiduelle



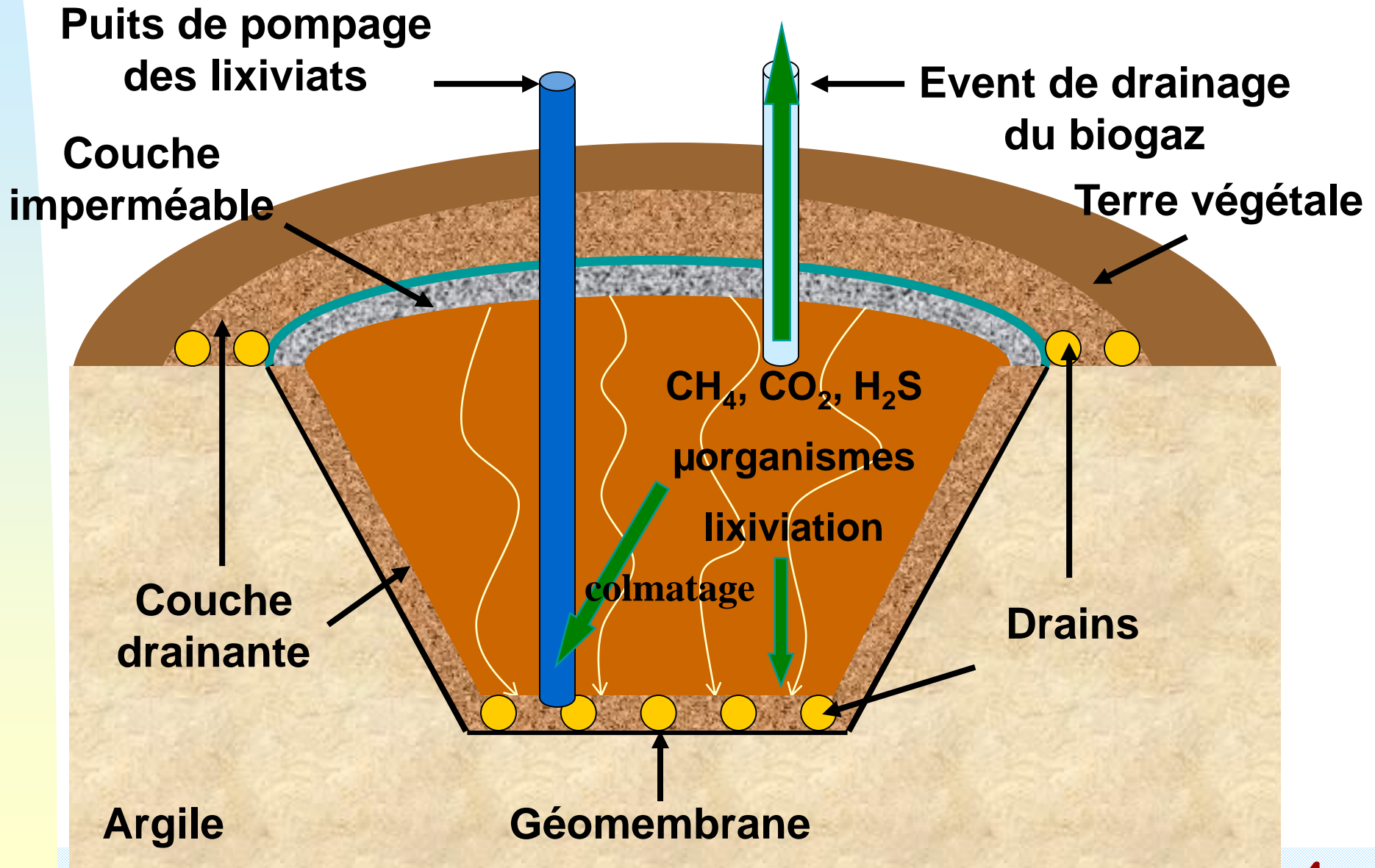
ISDND-BIOREACTEUR



MÉTHANISEUR



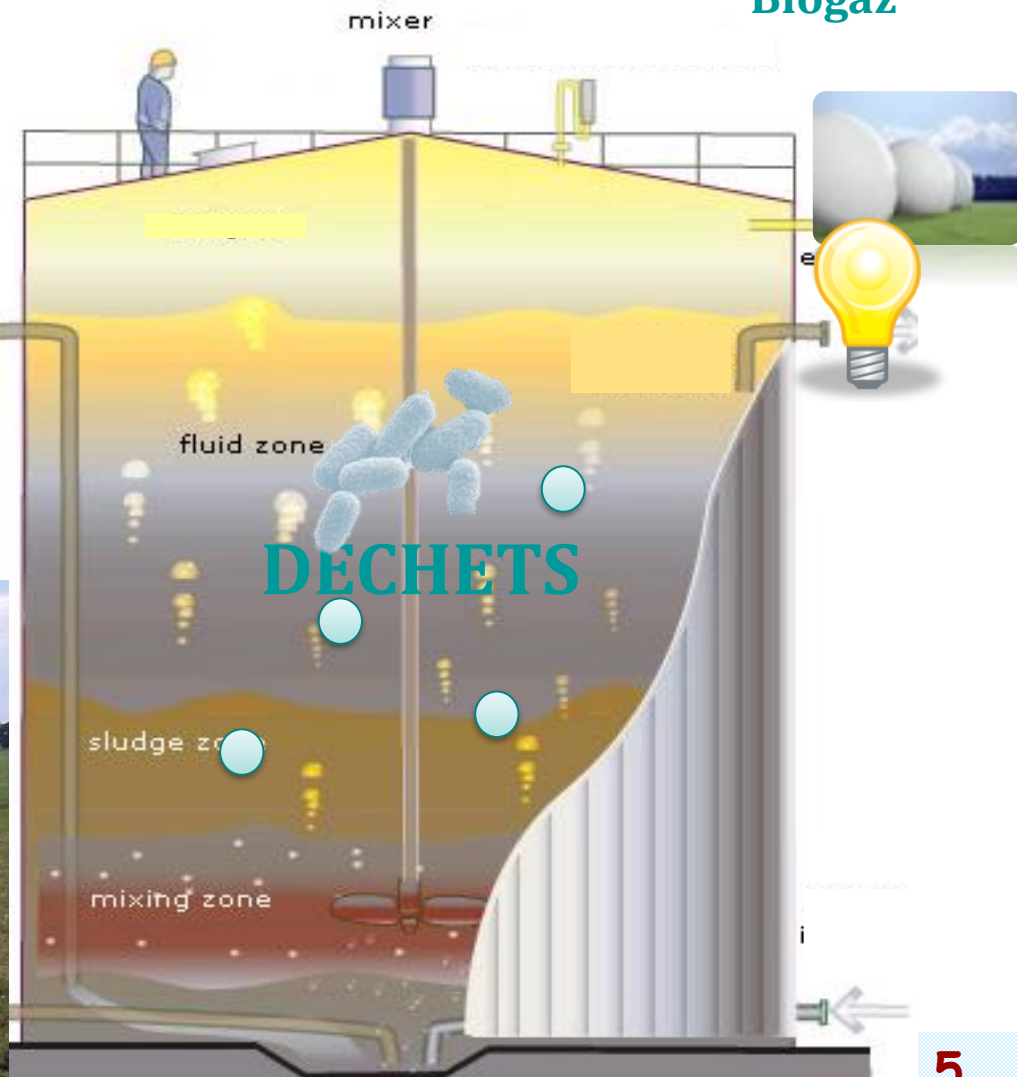
Les installations de stockage de déchets non dangereux (classe II)



Principe de la méthanisation

Biogaz

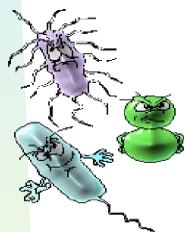
55°C





COMPRENDRE LE FONCTIONNEMENT DES BIOPROCÉDÉS ANAÉROBES

ISD BIORÉACTEUR



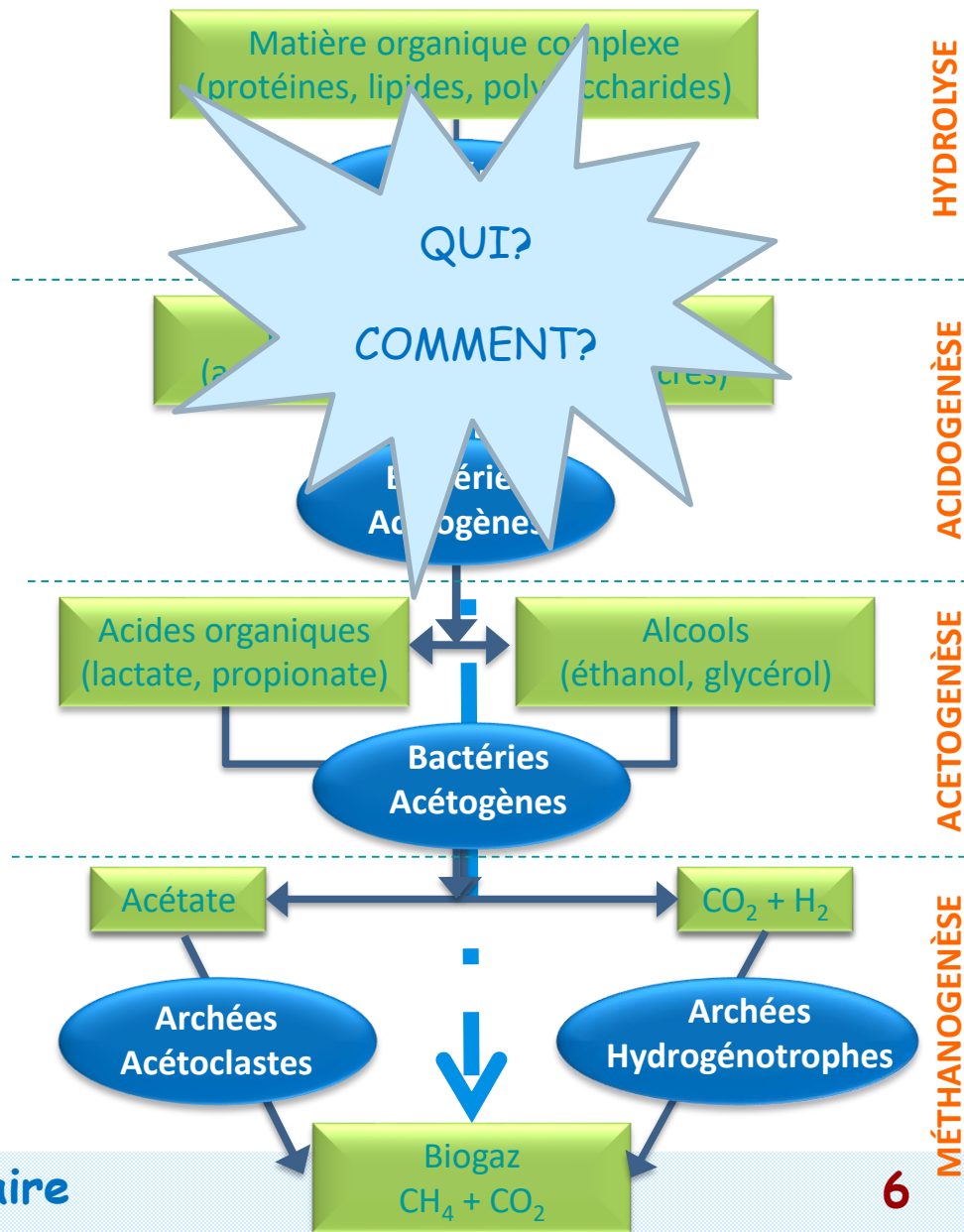
Moteur
microbien



MÉTHANISEUR

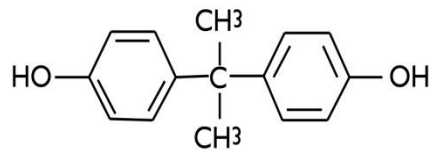


Utilisation d'approches couplées
biogéochimie-microbiologie moléculaire

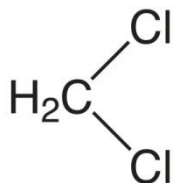




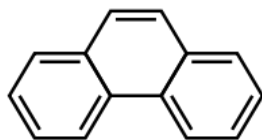
ÉVALUATION DES ÉMISSIONS POLLUANTES



Bisphénol A



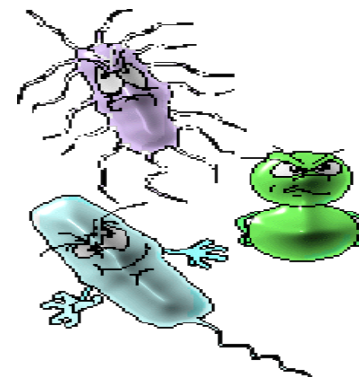
COV



Phénanthrène

Hg, As, Sn
Métaux

Impacts environnementaux et sanitaires



Impacts sur les performances du bioprocédés



Identification des micropolluants à prendre prioritairement en compte
Étude de l'écodynamique des micropolluants durant la digestion anaérobie

La digestion anaérobie des déchets non dangereux

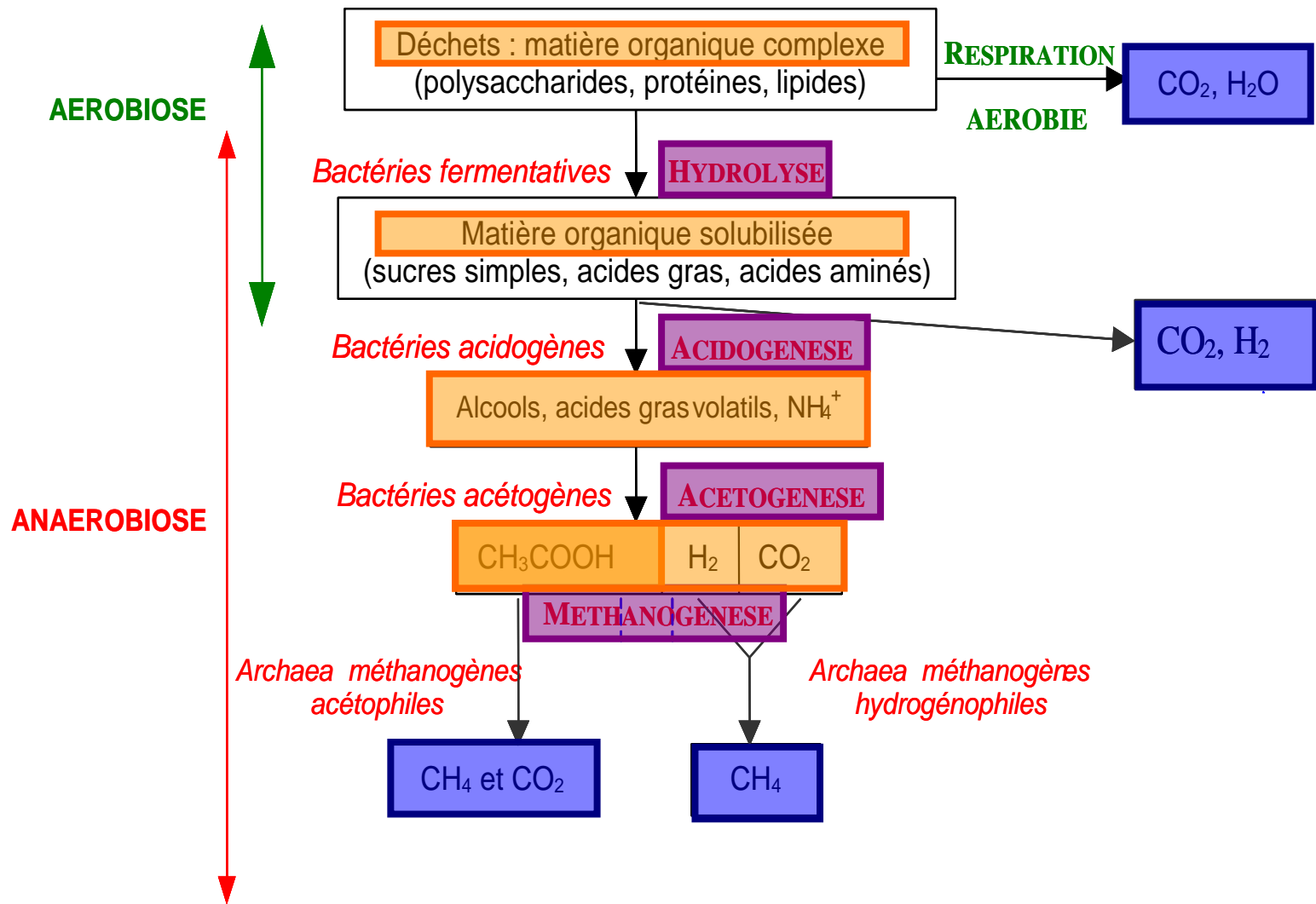
❖ COMPRENDRE LE FONCTIONNEMENT DES BIOPROCÉDÉS ANAÉROBIES

- Les différentes étapes de dégradation des déchets
- Problème de l'azote ammoniacal dans les lixiviats de centres de stockage de déchets ménagers
- Identification des métabolismes et des acteurs microbiens responsables de la dégradation des déchets

❖ ÉVALUATION DES ÉMISSIONS POLLUANTES

- Identification des polluants à prendre en compte dans les études d'impacts environnementaux et sanitaires
- Étude de l'écodynamique des micropolluants durant la digestion anaérobie

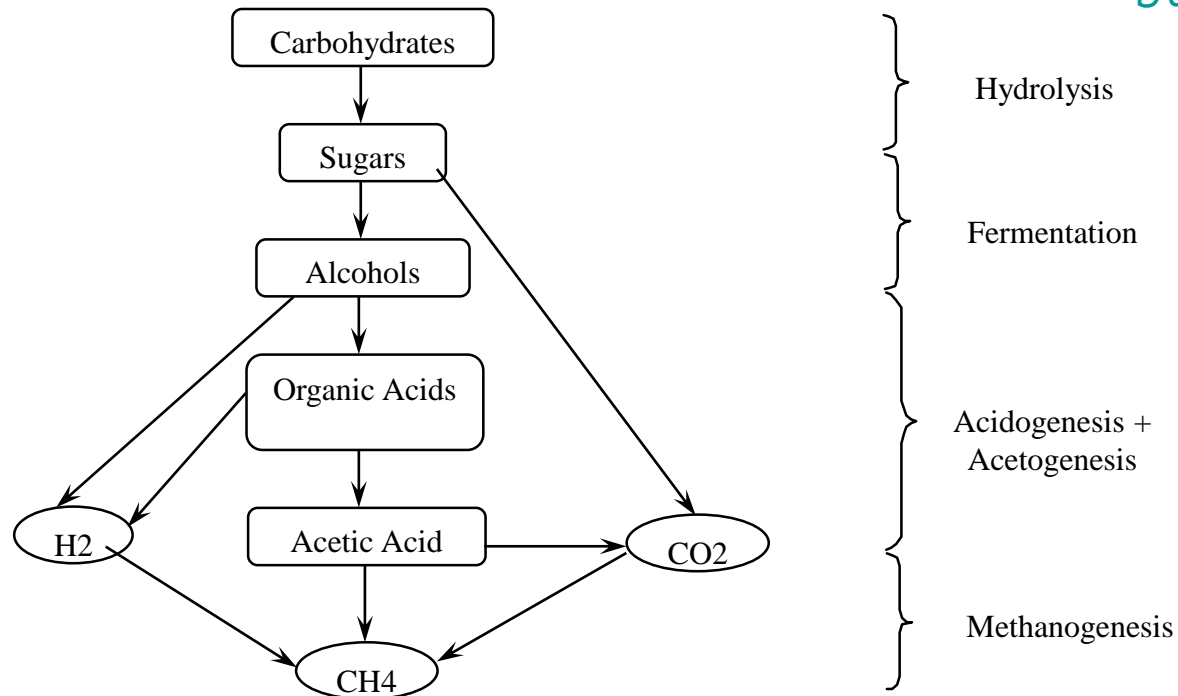
Les étapes de la dégradation anaérobie des déchets





La dégradation anaérobie des glucides

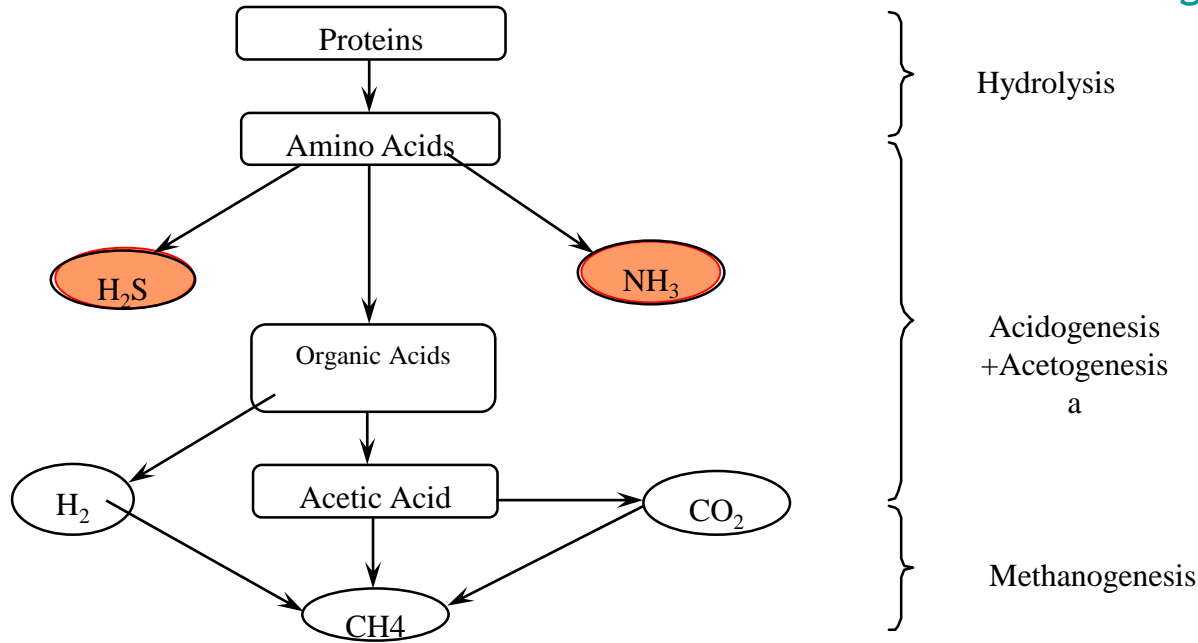
D'après Butler *et al.*, 99



Pour n=2 : $C_6H_{12}O_6 + 2 H_2O \rightarrow 2 CH_3-CH_2-OH + 2 CO_2 + 2 H_2O$ Glucose Ethanol	Hydrolyse des sucres et fermentation en alcools.
Pour n=3 : $C_9H_{18}O_9 + 2 H_2O \rightarrow 2 CH_3-(CH_2)_2-OH + 3 CO_2 + 3 H_2O$ Pour n=4 : $C_{12}H_{24}O_{12} + 2 H_2O \rightarrow 2 CH_3-(CH_2)_3-OH + 4 CO_2 + 4 H_2O$	
Pour n=2 : $CH_3-CH_2-OH + H_2O \rightarrow CH_3-COOH + 2 H_2$ Pour n=3 : $CH_3-(CH_2)_2-OH + H_2O \rightarrow H(CH_3)_2-COOH + 2 H_2$ Pour n=4 : $CH_3-(CH_2)_3-OH + H_2O \rightarrow H(CH_3)_3-COOH + 2 H_2$	Acidogénèse des alcools (conversion en acides gras volatils)
Pour n=3 : $H(CH_3)_2-COOH + 3 H_2O \rightarrow CH_3-COOH + H_2CO_3 + 3 H_2$ Pour n=4 : $H(CH_3)_3-COOH + 2 H_2O \rightarrow 2 CH_3-COOH + 2 H_2$	Oxydation des acides carboxyliques en acétate
Division Acetate : $CH_3-COOH \rightarrow CH_4 + CO_2$ Oxydation hydrogène : $CO_2 + 4 H_2 \rightarrow CH_4 + 2 H_2O$	Méthanogénèse

La dégradation anaérobie des protéines

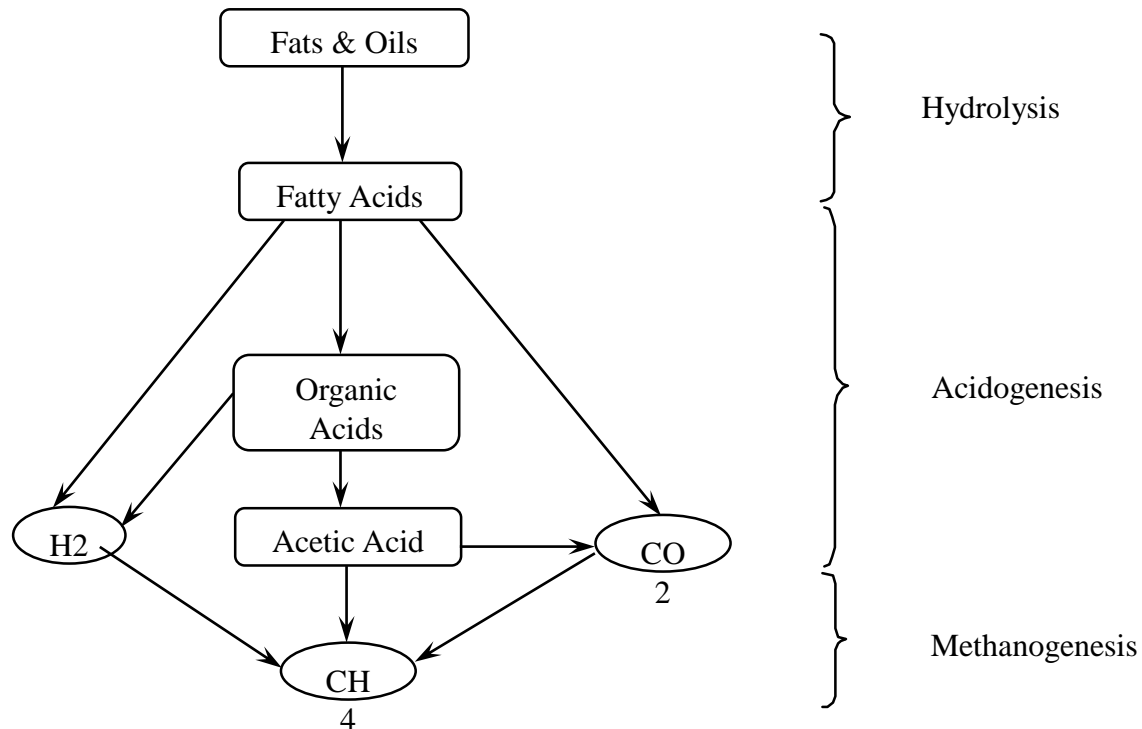
D'après Butler *et al.*, 99



$C_{53}H_{117}O_{22}N_{11}S \rightarrow 10 C_5H_{11}O_2N_1 + C_3H_7O_2NS +$ Protéine modèle (mélange de 10 molécules d'acide é-aminopentanoïque et d'une molécule de cystéine)	Hydrolyse des protéines en amino-acides correspondants
$C_5H_{11}O_2N_1 \rightarrow CH_3-CH_2-CH_2-CH_2-COOH + NH_3$ $C_3H_7O_2NS \rightarrow CH_3-CH_2-COOH + NH_3 + H_2S$	Acidogenèse : conversion des amino-acides en acides carboxyliques
$CH_3-CH_2-CH_2-CH_2-COOH + 5 H_2O$ $\rightarrow 2CH_3-COOH + H_2CO_3 + 5 H_2$ $CH_3-CH_2-COOH + 5 H_2O \rightarrow CH_3-COOH + H_2CO_3 + 3 H_2$	Acetogenèse : oxydation des acides carboxyliques en acétate
Division acétate : $CH_3-COOH \rightarrow CH_4 + CO_2$ Oxydation hydrogène : $CO_2 + 4 H_2 \rightarrow CH_4 + 2 H_2O$	Méthanogenèse

La dégradation anaérobie des lipides

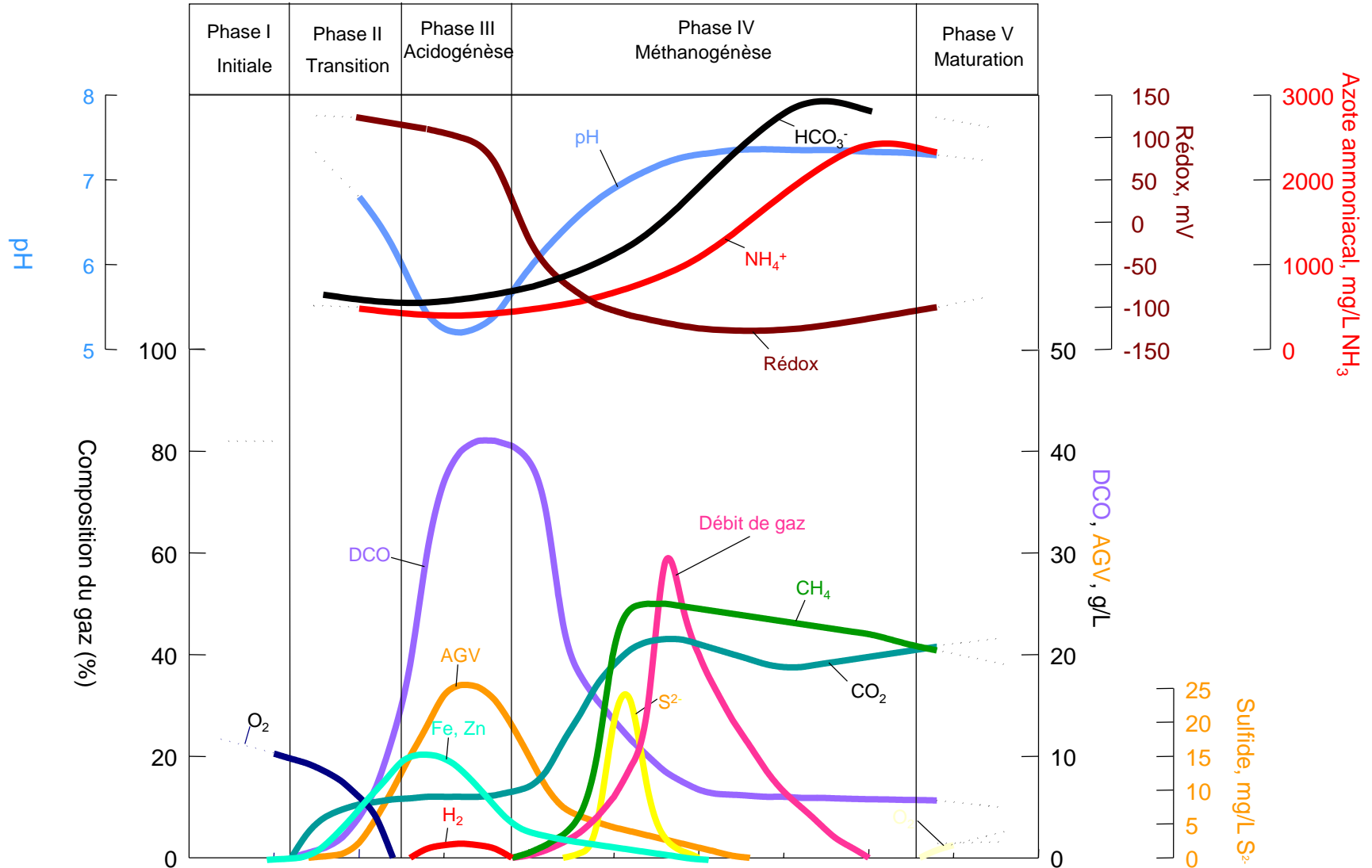
D'après Butler *et al.*, 99



$\text{C}_{55}\text{H}_{104}\text{O}_6 + 3 \text{H}_2\text{O} \rightarrow$ $\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{COOH} + \text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{COOH} + \text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{COOH} + \text{C}_3\text{H}_5(\text{OH})_3$ <p style="text-align: center;">[acides gras] [Glycerol]</p>	Hydrolyse en acides gras de structure plus simple
$\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{COOH} + 28 \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + 42 \text{H}_2 + 14 \text{CO}_2$ $\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{COOH} + 32 \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + 48 \text{H}_2 + 16 \text{CO}_2$ $\text{C}_{18}\text{H}_{33}\text{COOH} + 32 \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + 47 \text{H}_2 + 16 \text{CO}_2$	Oxydation des acides carboxyliques en acétate
$2 \text{C}_3\text{H}_5(\text{OH})_3 \rightarrow 3 \text{CH}_3\text{COOH} + 2 \text{H}_2$	Oxydation du glycerol en acide acétique
Division acétate : $\text{CH}_3\text{-COOH} \rightarrow \text{CH}_4 + \text{CO}_2$ Oxydation hydrogène : $\text{CO}_2 + 4 \text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2 \text{H}_2\text{O}$	Méthanogénèse

Evolution de la composition des effluents d'ISD

(d'après Pohland, 2002)



La digestion anaérobie des déchets non dangereux

❖ COMPRENDRE LE FONCTIONNEMENT DES BIOPROCÉDÉS ANAÉROBIES

- Les différentes étapes de dégradation des déchets
- Problème de l'azote ammoniacal dans les lixiviats de centres de stockage de déchets ménagers
- Identification des métabolismes et des acteurs microbiens responsables de la dégradation des déchets

❖ ÉVALUATION DES ÉMISSIONS POLLUANTES

- Identification des polluants à prendre en compte dans les études d'impacts environnementaux et sanitaires
- Étude de l'écodynamique des micropolluants durant la digestion anaérobie

Problème de l'azote ammoniacal dans les lixiviats de centres de stockage de déchets ménagers

Contexte :

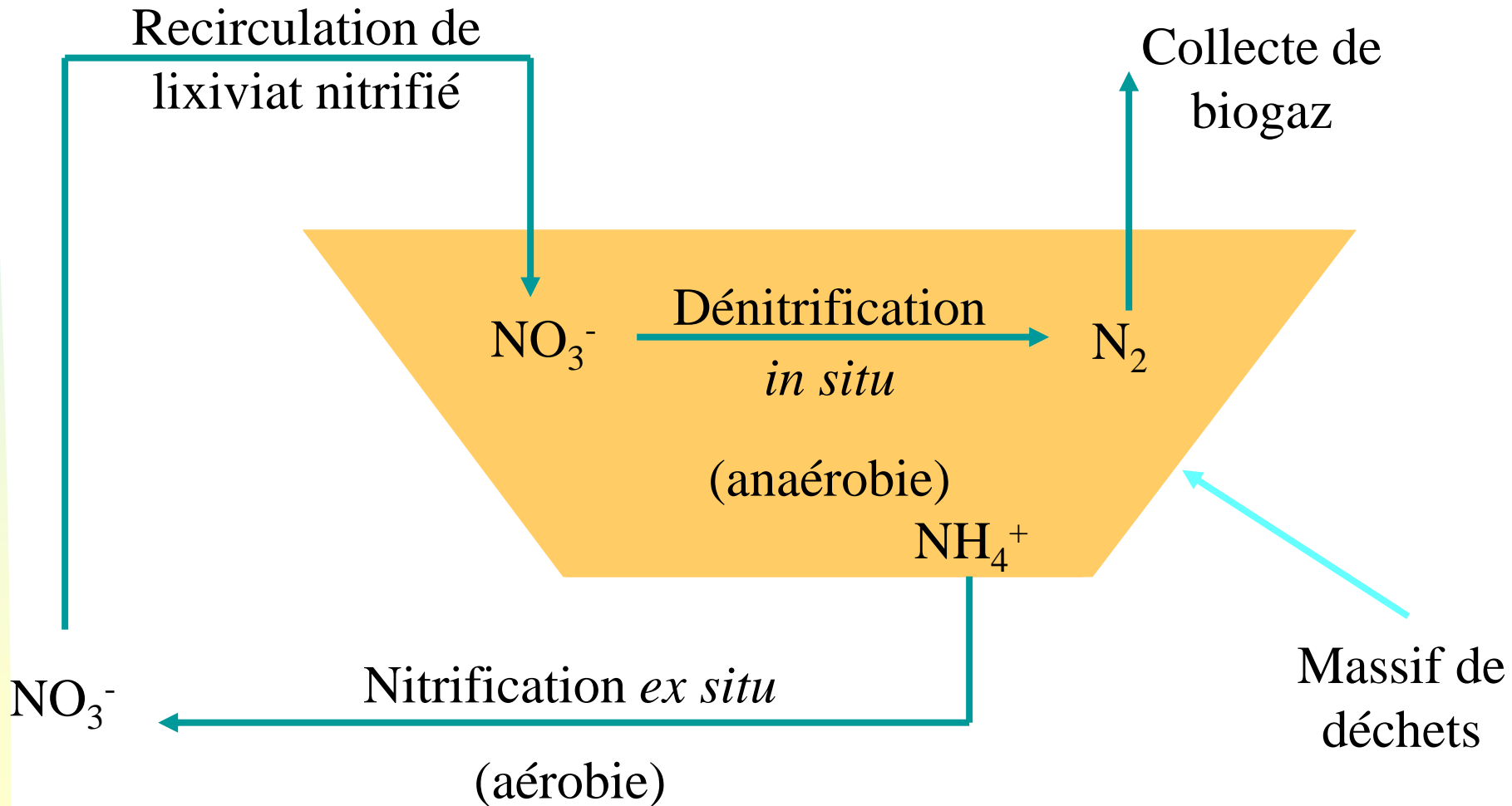
- Aucun processus naturel d'élimination de l'azote ammoniacal dans un CSD
- Concentrations souvent élevées. Moyenne : 500-1000 mg N/L
- Risque d'inhibition de la méthanogénèse possible
- Risque d'accumulation si recirculation de lixiviat

Principe de l'ISD Bioréacteur



Modifié à partir de <http://www.wm.com/WM/environmental/Bioreactor/bioreactorbrochure.pdf>

Stratégie envisagée pour gérer le problème de l'azote dans les ISD Bioréacteur



Étude expérimentale en microcosmes (flacons à plasma) Système expérimental

SYSTEME ANAEROBIE



Septum + bague à vis

Ciel gazeux

Lixiviat

Déchets

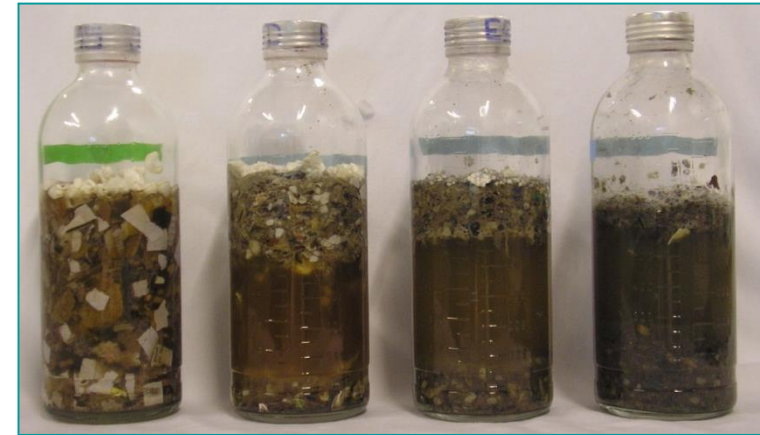
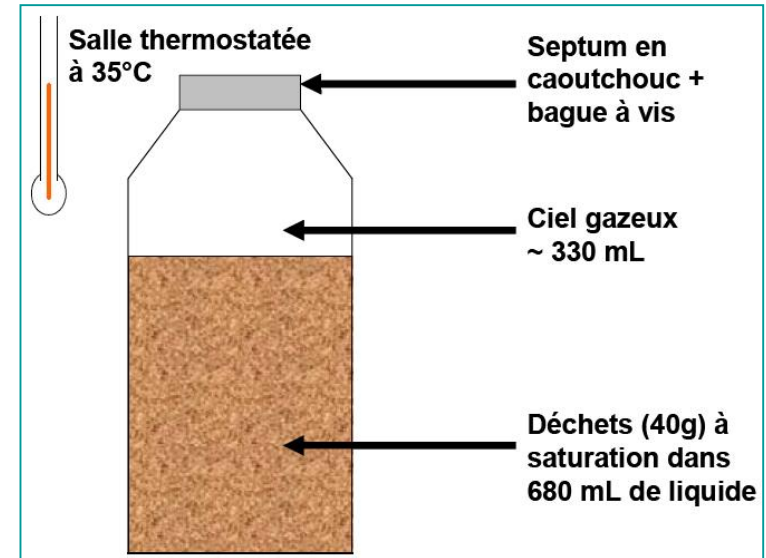
➔ Injection de nitrate pour suivre son devenir à différents stades de dégradation des déchets

Les flacons à plasma

➤ Flacons à plasma (différents volumes)

➤ Fermés par un septum en caoutchouc et une bague à vis

➤ Incubés, selon la température désirée, dans une pièce à 35°C ou dans une étuve à 55°C



Temps d'incubation

Analyse du biogaz



- Qualitative à l'aide d'analyses réalisées avec un μ GC
- Quantitative par mesure de pression et dégazage du biogaz

Avantages : Possibilité de calculer et de suivre la production de chaque gaz

Analyse des lixiviats

➤ Prélèvement de lixiviat

➤ Analyse des lixiviats

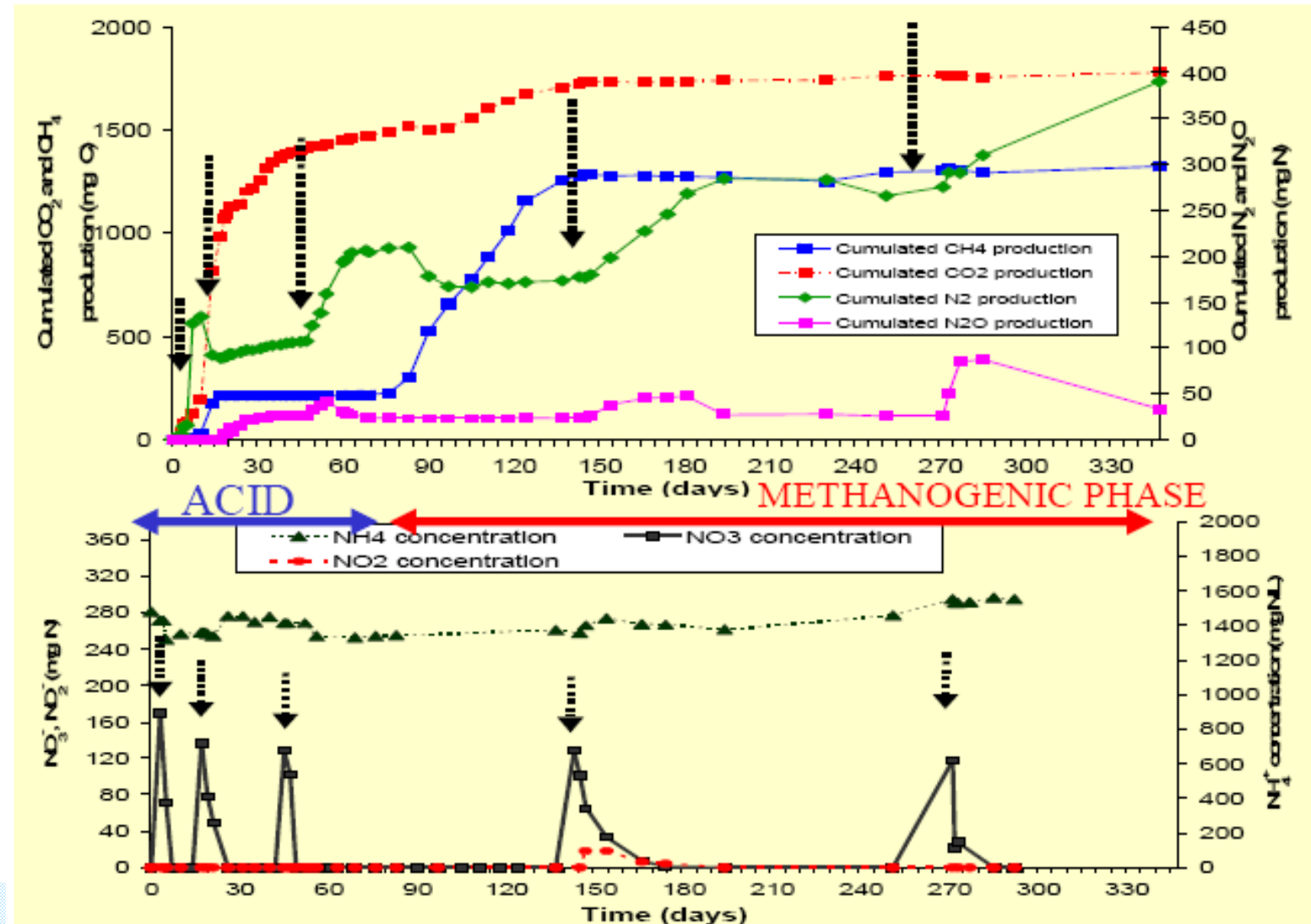
- pH
- COT, CIT
- AGV
- Microbiologie
- ...

Avantage : Suivi de
l'évolution des principaux
paramètres



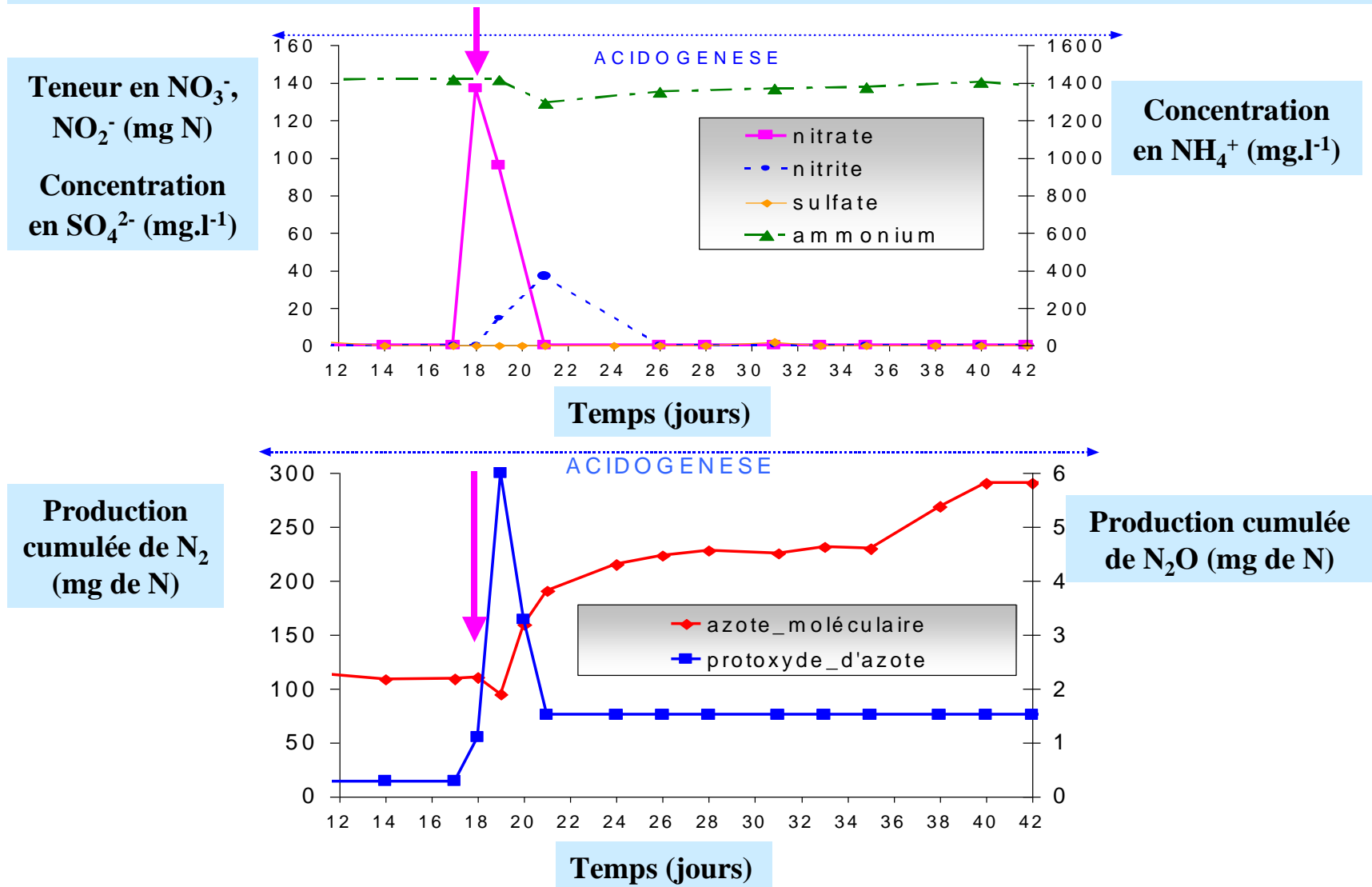
Principe de l'expérience en microcosmes

Injection de nitrate pour suivre son devenir à différents stades de dégradation des déchets



Étude expérimentale en microcosmes (flacons à plasma)

Voies de réduction du nitrate (3)

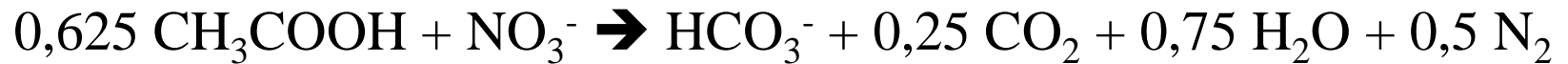


Étude expérimentale en microcosmes (flacons à plasma)

Voies de réduction du nitrate (3)

Production de N₂ = Dénitrification

Présence de source de carbone organique
→ probablement **dénitrification**
hétérotrophe

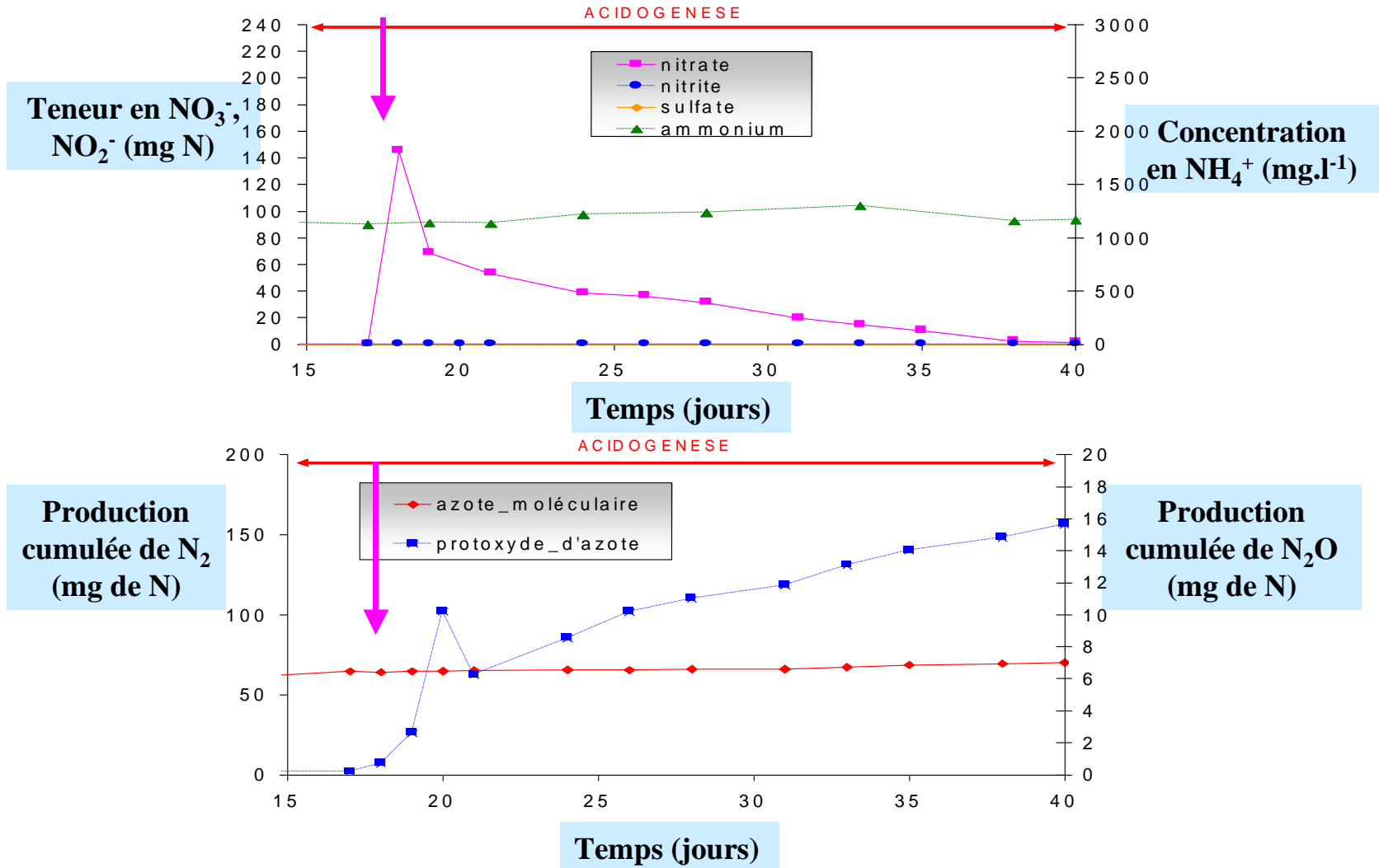


$\Delta G_0 = -518 \text{ kJ.mol}^{-1}$ de nitrate (*Thauer et al., 1977*)

Observation dans **13 cas sur les 20**
injections de nitrate

Étude expérimentale en microcosmes (flacons à plasma)

Voies de réduction du nitrate (5)



Étude expérimentale en microcosmes (flacons à plasma)

Voies de réduction du nitrate (5)

Absence de production de N₂
= Nitrammonification ???



$\Delta G_0 = -677 \text{ kJ.mol}^{-1}$ de nitrate (*Thauer et al., 1977*)

Observation dans **4 cas sur les 20**
injections de nitrate

Remarque : le N₂O est un intermédiaire à
la fois de la dénitrification et de la
nitrammonification (*Welsh et al., 2001*)

· Étude expérimentale en microcosmes (flacons à plasma) Identification du paramètre empêchant la dénitrification (2)

Résultats de l'analyse statistique ($p < 10^{-5}$) :

Production de $N_2 = 0,5245 + 0,1059$ [acétate] $- 6,2153$ [H_2S] $R^2=0,801$

Paramètre favorisant la production de N_2
(coefficient positif)

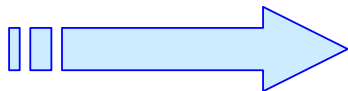
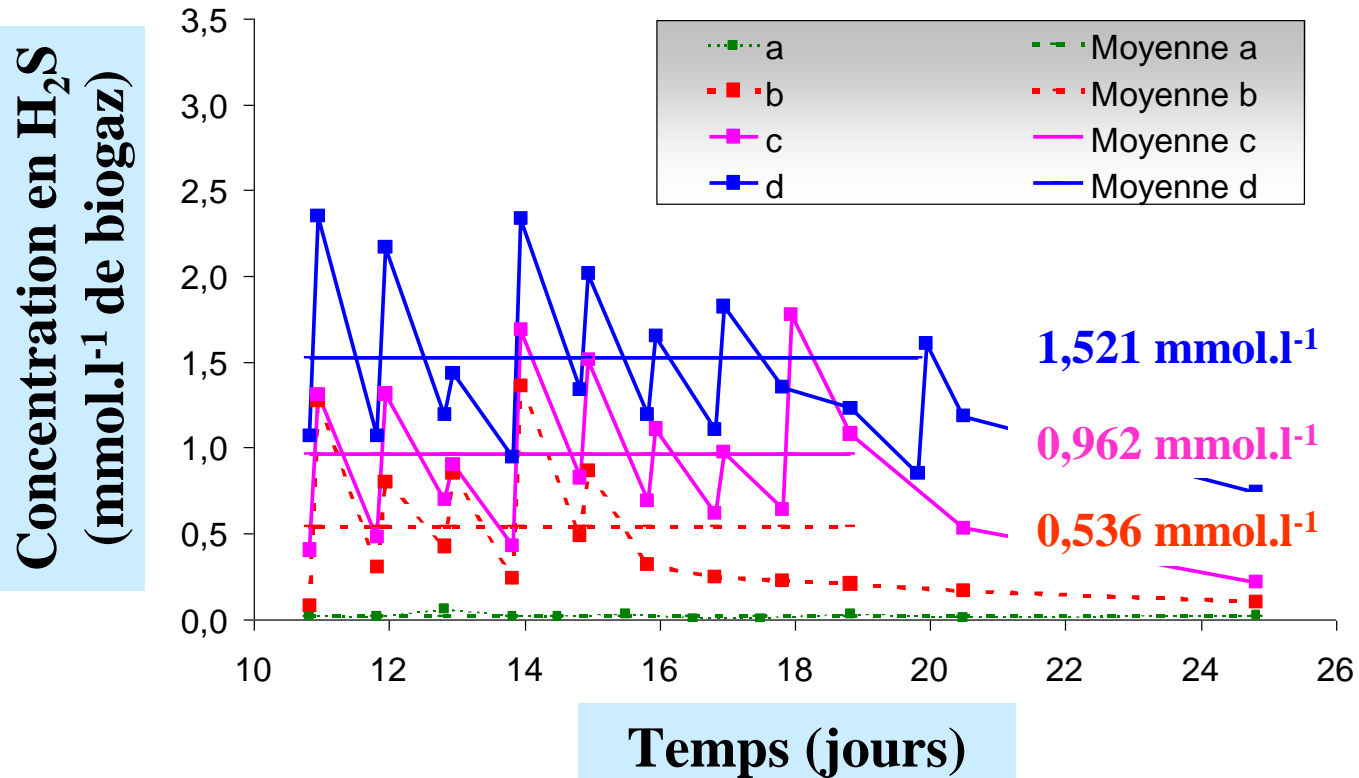
Paramètre ayant un effet négatif sur la production de N_2
(coefficient négatif)

En accord avec résultats de Brunet et Garcia-Gil (1996)

Les autres paramètres, soit n'ont **pas d'effet significatif** sur la production de N_2 (positif ou négatif), soit sont **liés** au H_2S ou à l'acétate

Étude expérimentale en microcosmes (flacons à plasma) Reproduction du phénomène... (2)

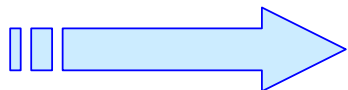
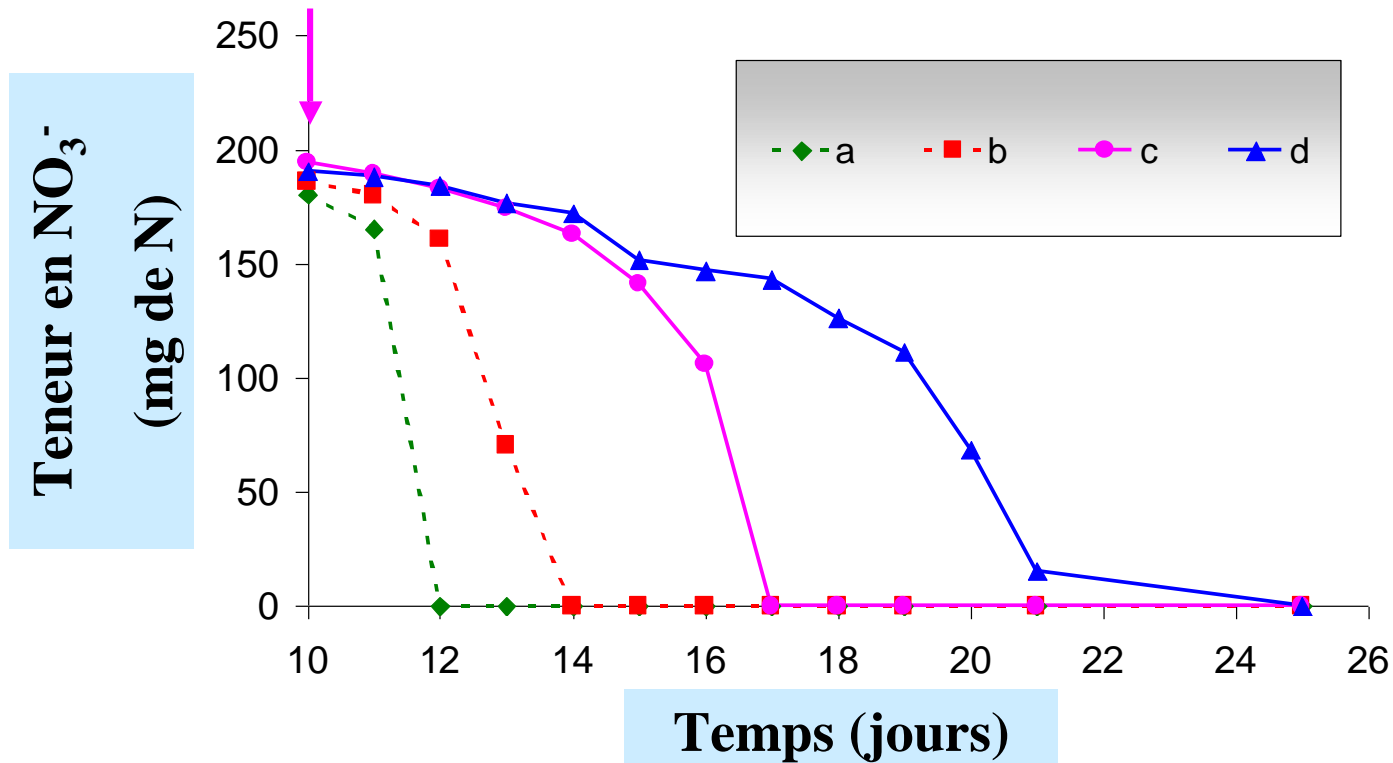
Injection de H_2S sous forme gazeuse dès l'injection de nitrate



Les réacteurs c et d \rightarrow concentration $\text{H}_2\text{S} \gg$

Étude expérimentale en microcosmes (flacons à plasma) Reproduction du phénomène... (3)

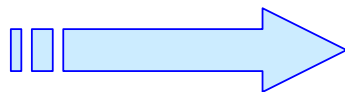
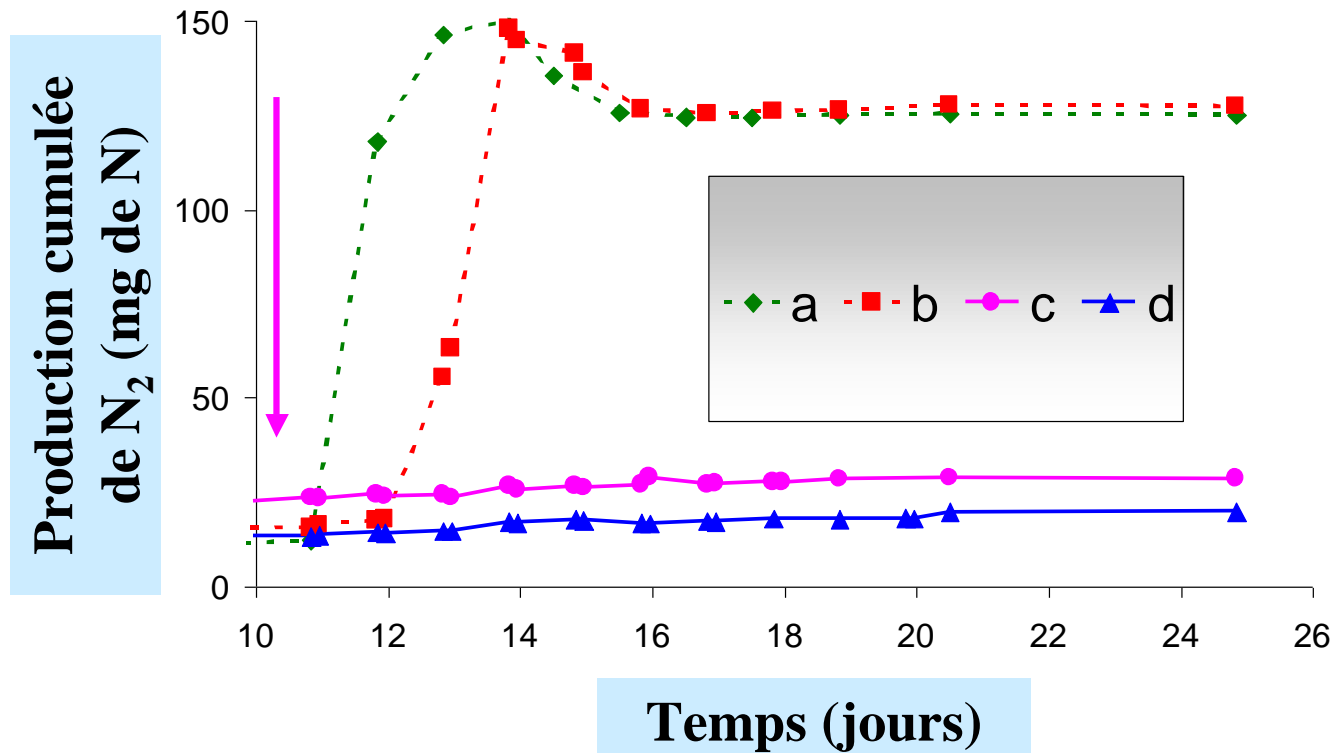
Réduction du nitrate dans les 4 réacteurs



Les réacteurs c et d → réduction plus longue

Étude expérimentale en microcosmes (flacons à plasma) Reproduction du phénomène...

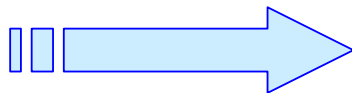
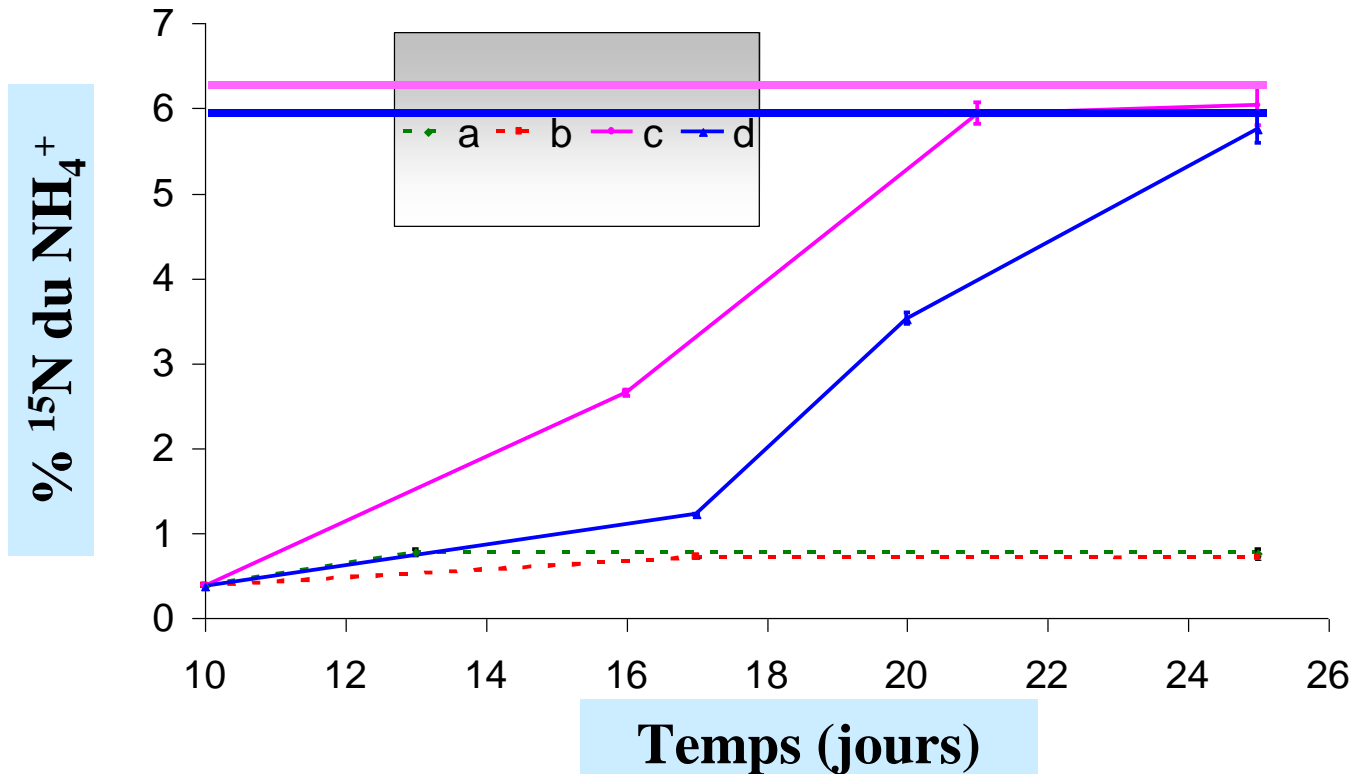
La présence de $\text{H}_2\text{S}_{\text{dissous}}$ à une concentration supérieure à $0,5 \text{ mmol.l}^{-1}$ a bien empêché le nitrate d'être réduit en N_2



Les réacteurs c et d → pas de dénitrification

Étude expérimentale en microcosmes (flacons à plasma) ... identification de la réaction de conversion

Démonstration formelle de la réduction du nitrate en ammonium

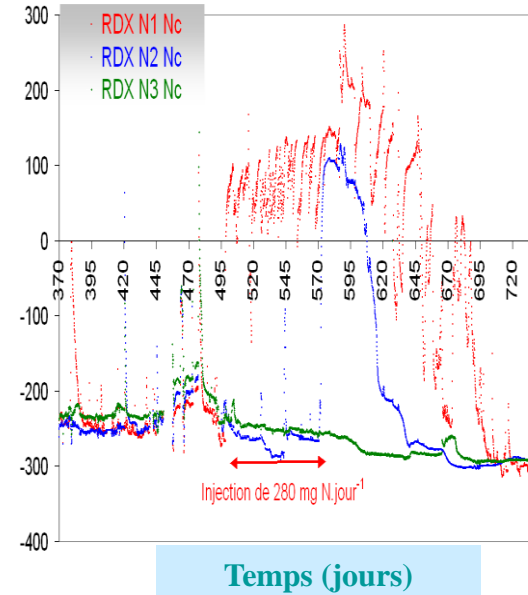


La **nitrammonification** remplace la dénitrification dans les réacteurs c et d

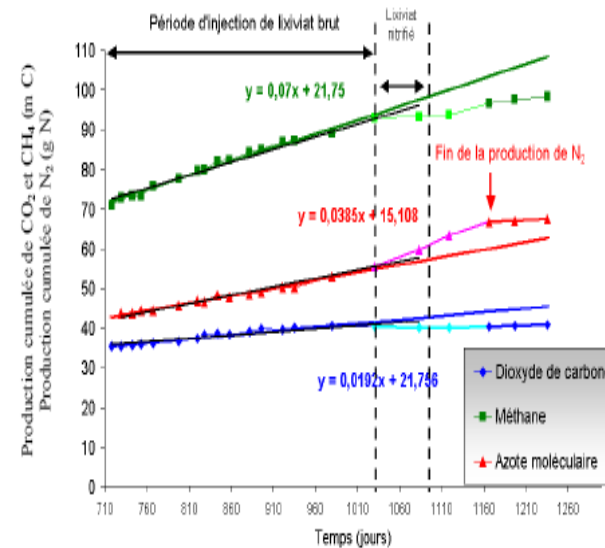
Expériences en mésocosme



Potentiel d'oxydo-réduction
(mV par rapport à E_H)

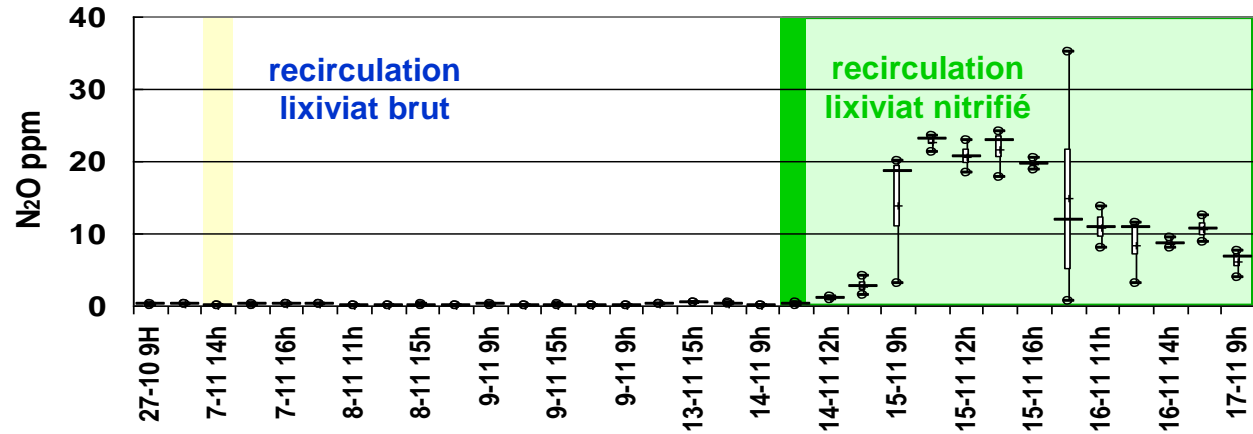


- Les intermédiaires de dénitrification n'atteignent pas le bas de la colonne.
- Les nitrates ont été réduits en N₂ sans produire de quantité importante de N₂O.

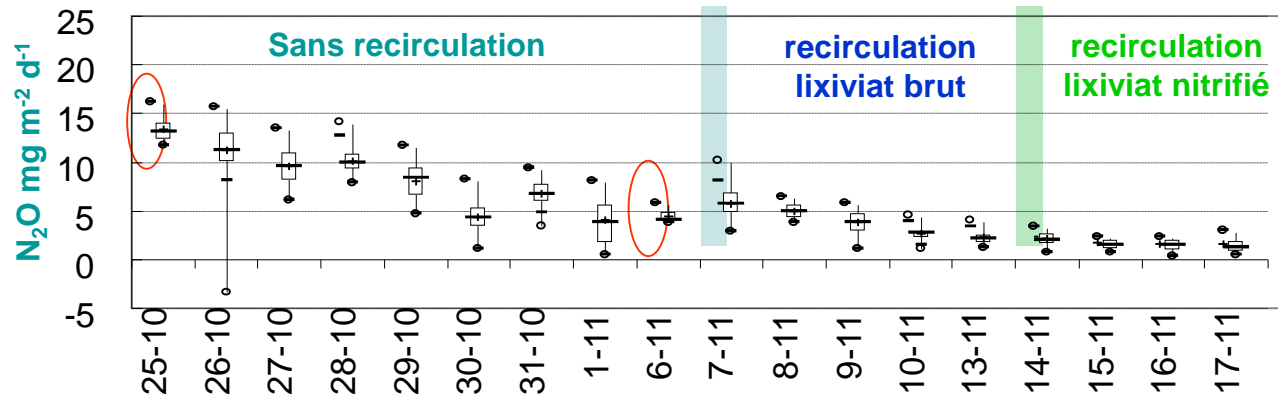


Expériences sur site

Concentration de N₂O dans le réseau de biogaz



Emission de N₂O en surface



Alors qu'une augmentation de la concentration en N₂O a été enregistrée dans le réseau de collecte du biogaz, aucune émission de surface n'a en revanche été observée.

La digestion anaérobie des déchets non dangereux

❖ COMPRENDRE LE FONCTIONNEMENT DES BIOPROCÉDÉS ANAÉROBES

- Les différentes étapes de dégradation des déchets
- Problème de l'azote ammoniacal dans les lixiviats de centres de stockage de déchets ménagers
- Identification des métabolismes et des acteurs microbiens responsables de la dégradation des déchets

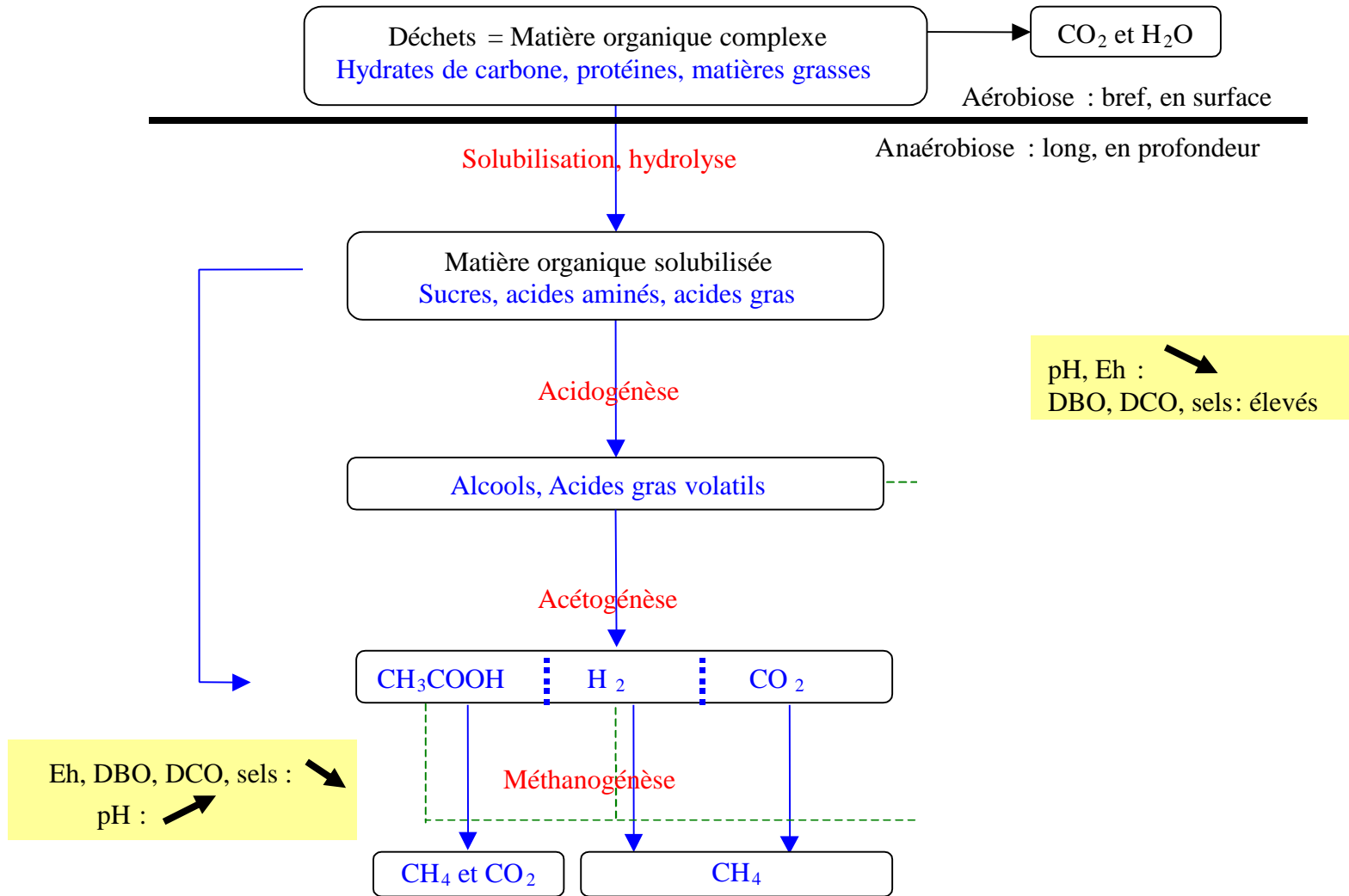
❖ ÉVALUATION DES ÉMISSIONS POLLUANTES

- Identification des polluants à prendre en compte dans les études d'impacts environnementaux et sanitaires
- Étude de l'écodynamique des micropolluants durant la digestion anaérobie

Identification des métabolismes et des acteurs microbiens responsables de la dégradation des déchets

- Hydrolyse de la cellulose
- Effet de la température sur les voies méthanogènes

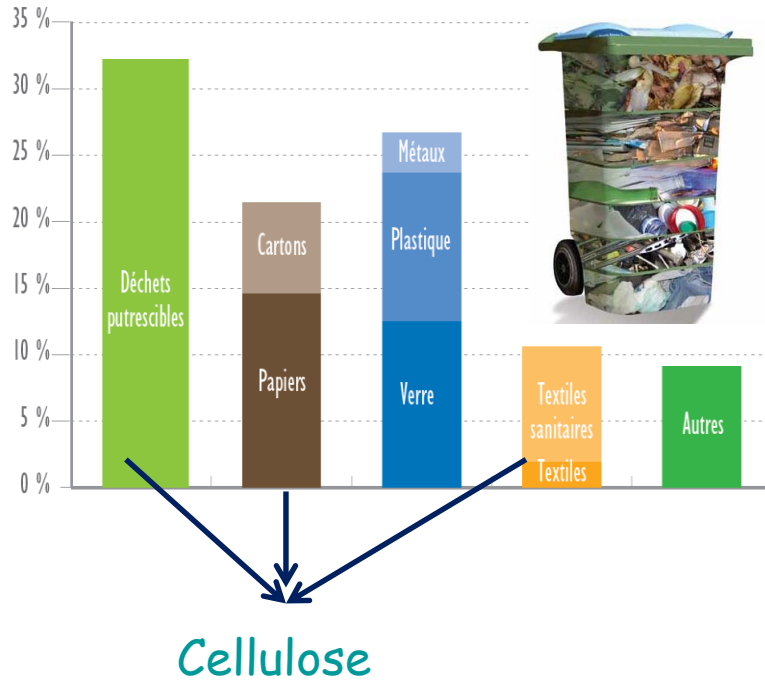
Les étapes de la dégradation anaérobie des déchets





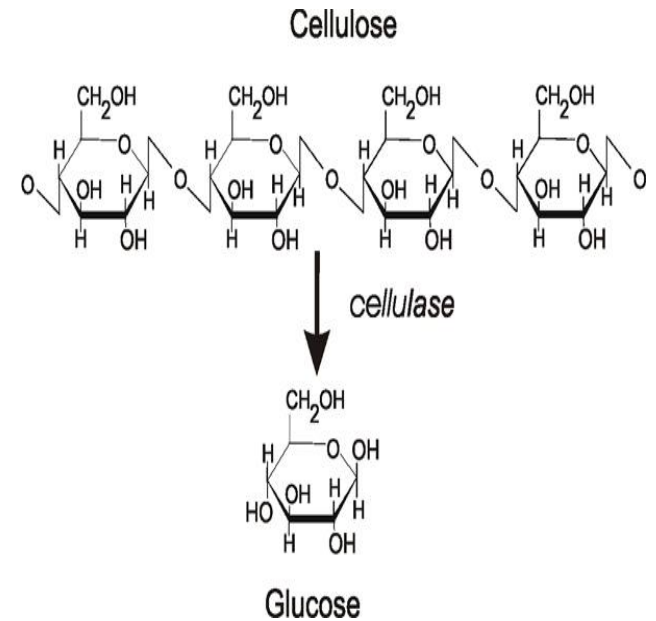
NÉCESSITÉ D'OPTIMISER LA DÉGRADATION DE LA CELLULOSE

Composition d'une ordure ménagère



80 % du potentiel méthanogène

Hydrolyse de la cellulose



Étape cinétiquement limitante

➔ Identifier les microorganismes impliqués dans l'hydrolyse de la cellulose

Incubations



35°C

55°C



Cellulose ^{12}C et ^{13}C



Glucose ^{12}C et ^{13}C

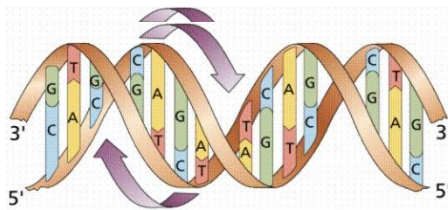
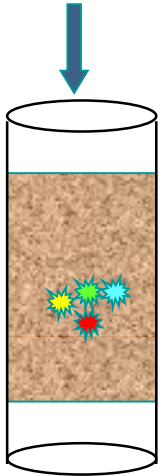


Acétate ^{12}C et ^{13}C



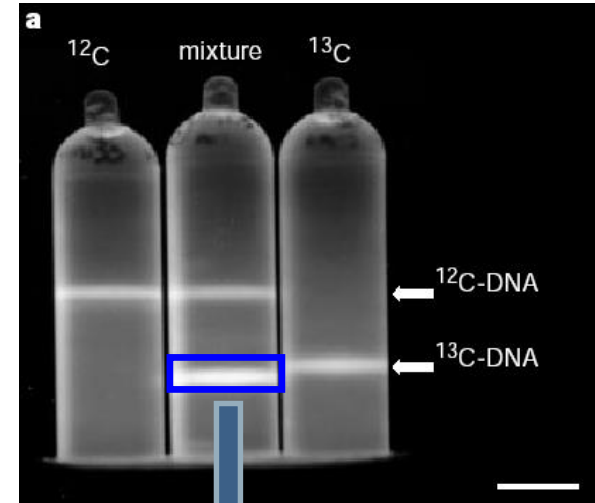
IMPLÉMENTATION DE LA TECHNIQUE STABLE ISOTOPE PROBING

Cellulose
marquée ^{13}C



Extraction
ADN

Radajewski, 2000
Ultra Centrifugation



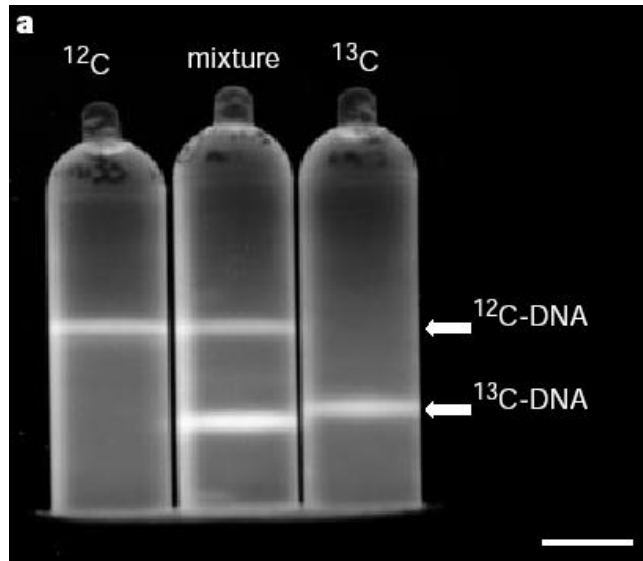
Séquençage

Identification des groupes
fonctionnels présumés

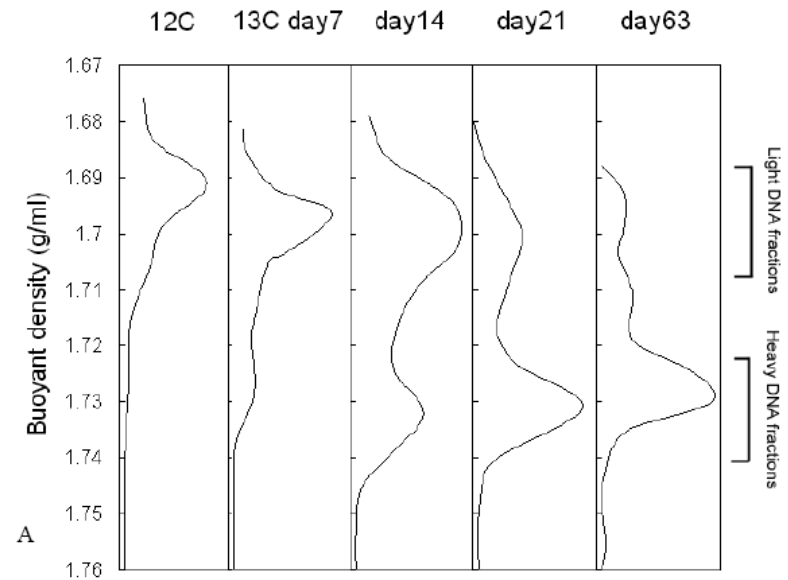
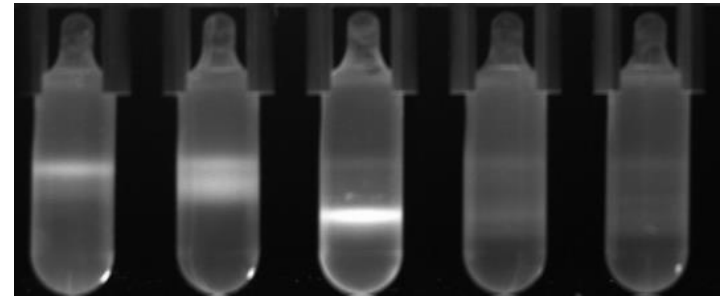
Méthodologie de rupture en écologie microbienne car elle
est sans à priori

Stable isotope probing

SIP lors de la dégradation de la cellulose

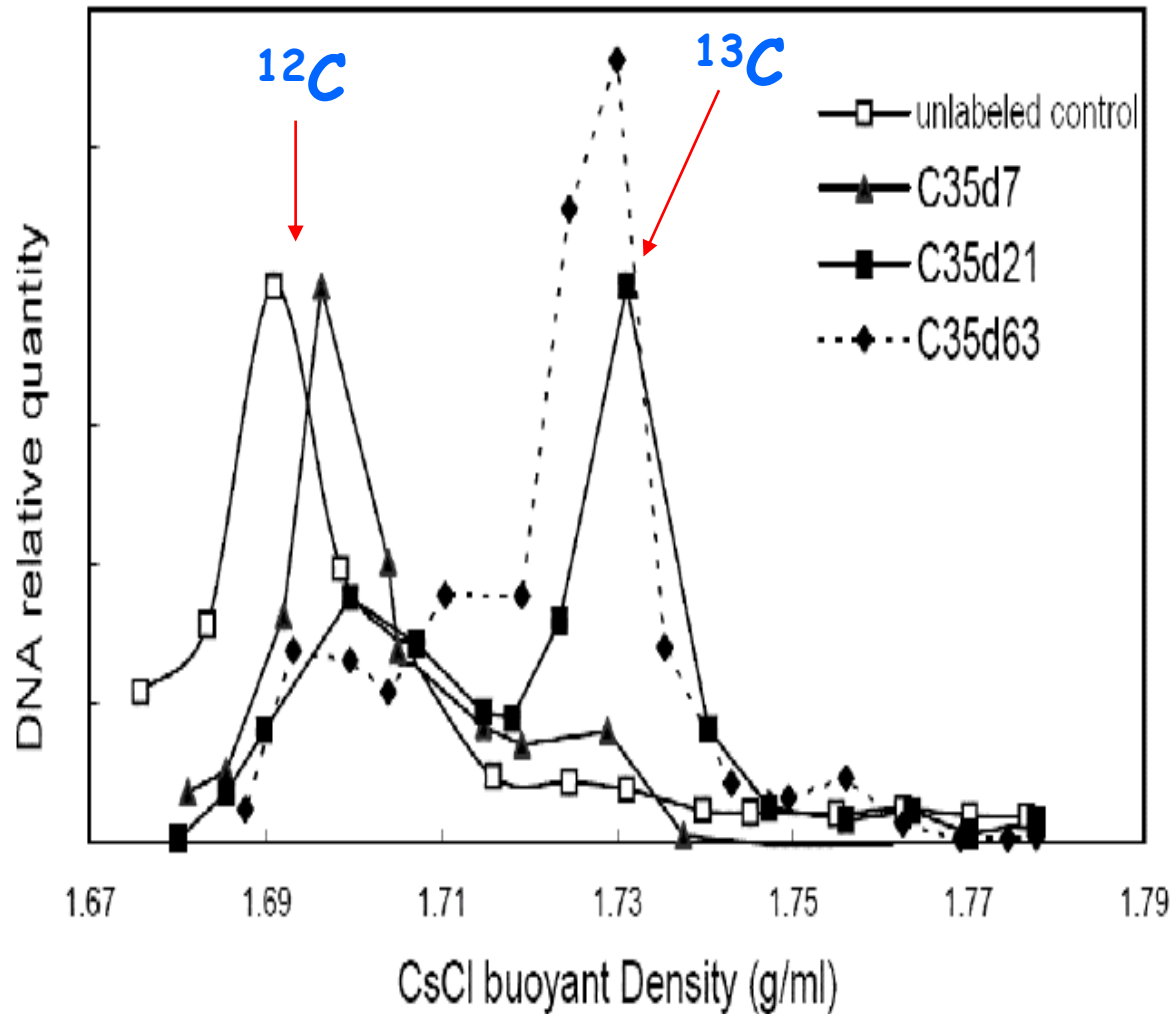


Radajewski, Nature, 2000



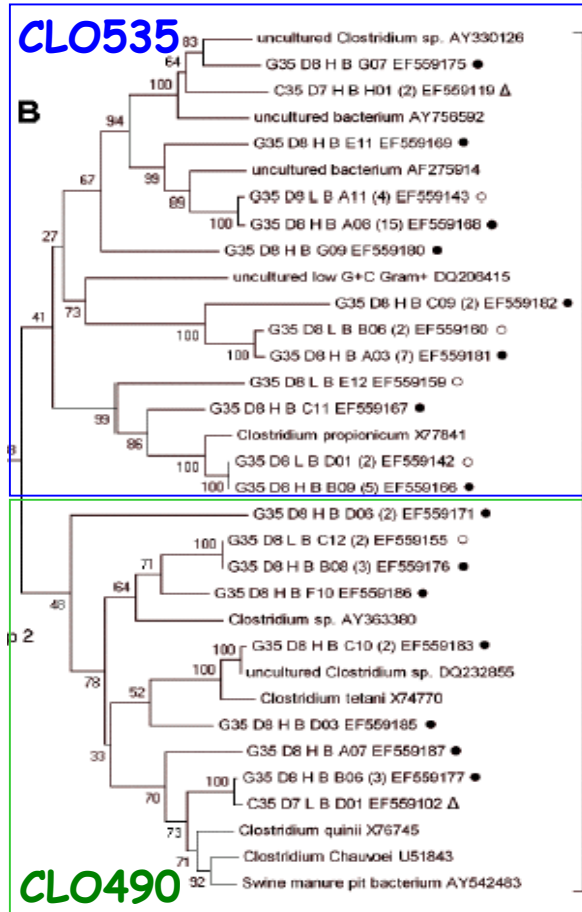
Profils de densité

Cellulose



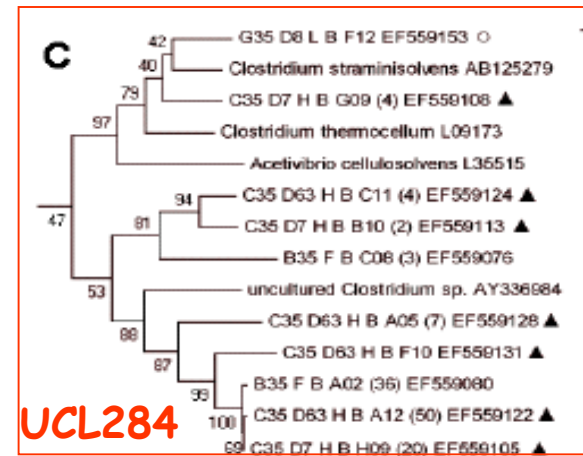
Identification des groupes responsables

Clostridium



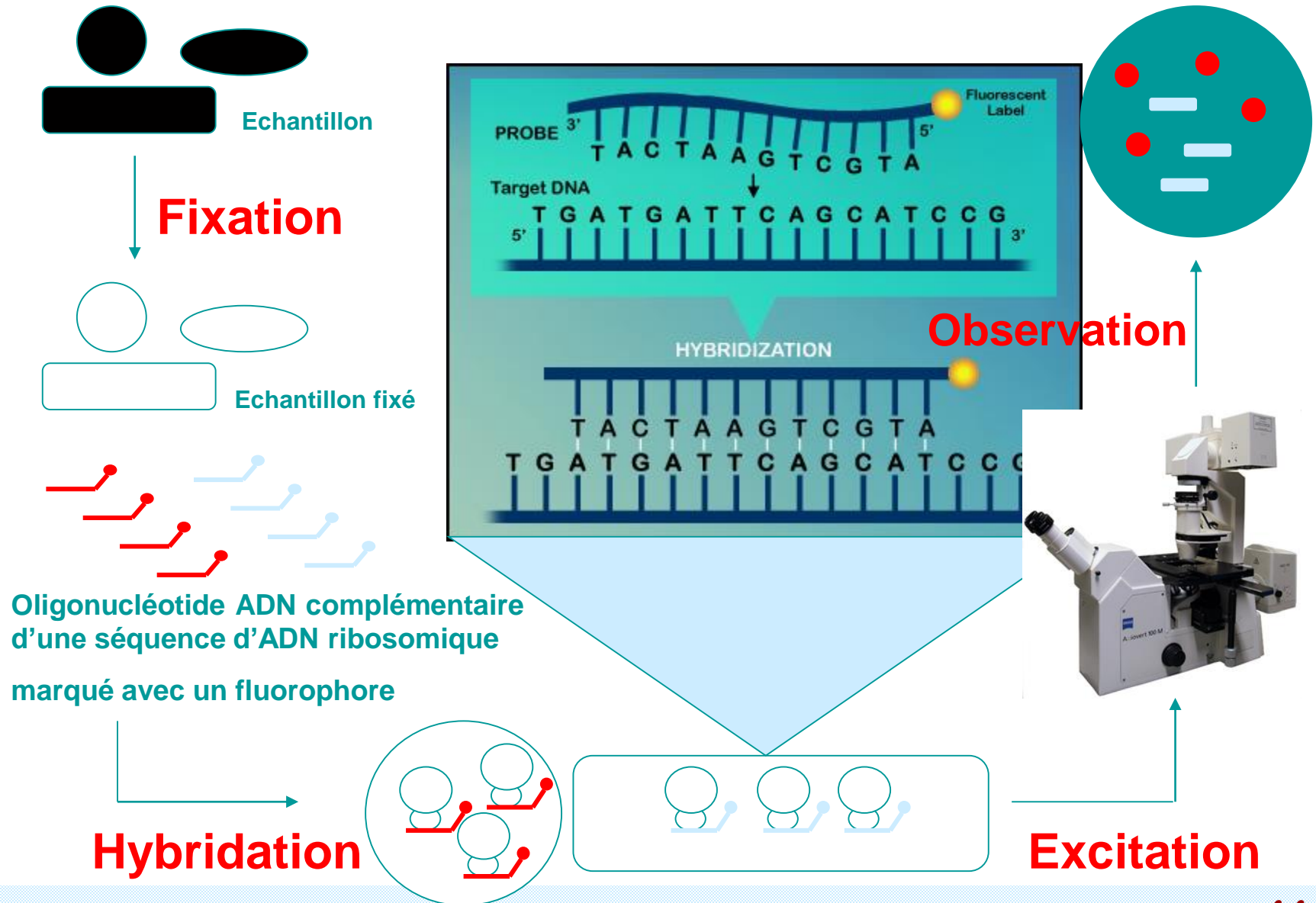
Impliqués dans la dégradation
du glucose à 35°C

Acetivibrio

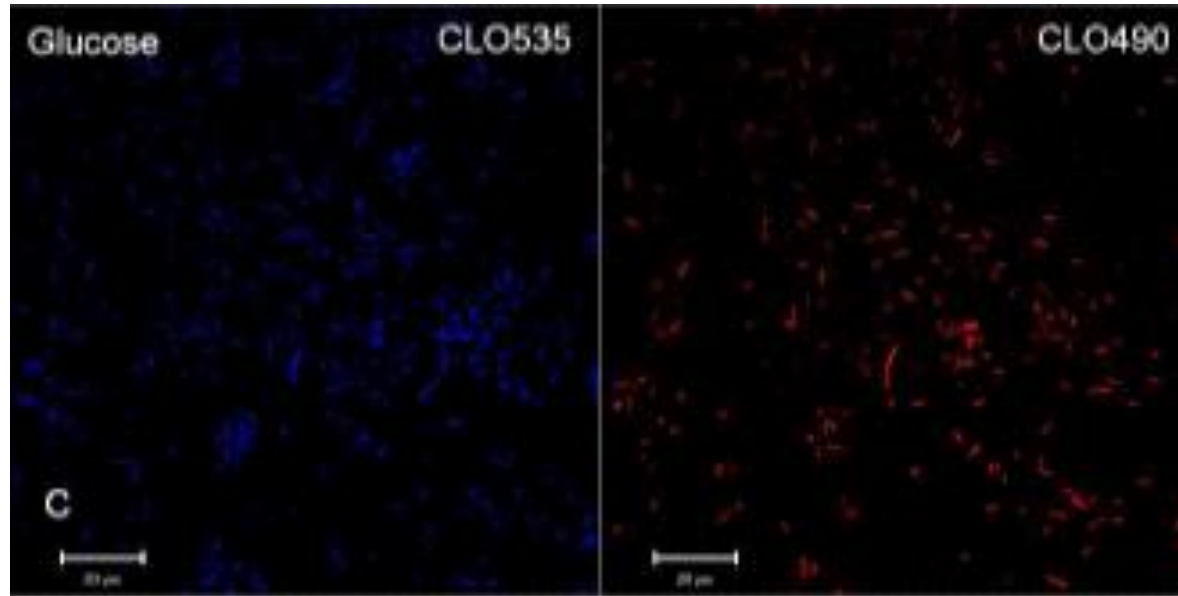


Impliqués uniquement dans la première
étape de dégradation de la cellulose
à 35°C

FISH (Fluorescence In Situ Hybridization)



Distribution spatiale des microorganismes

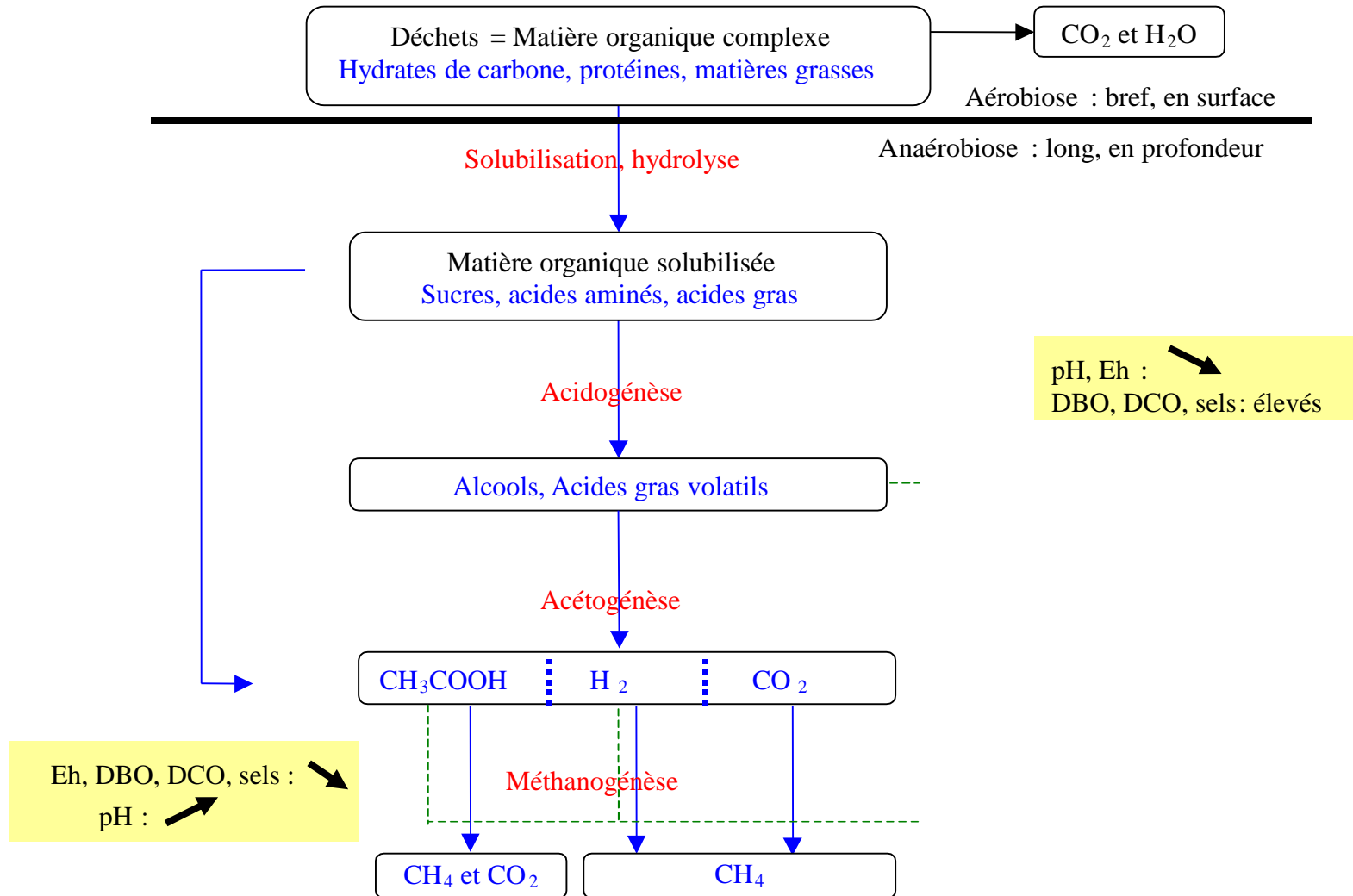


**Clostridium dans
incubation glucose**

Identification des métabolismes et des acteurs microbiens responsables de la dégradation des déchets

- Hydrolyse de la cellulose
- Effet de la température sur les voies méthanogènes
- Effet de la recirculation de différents effluents

Les étapes de la dégradation anaérobie des déchets

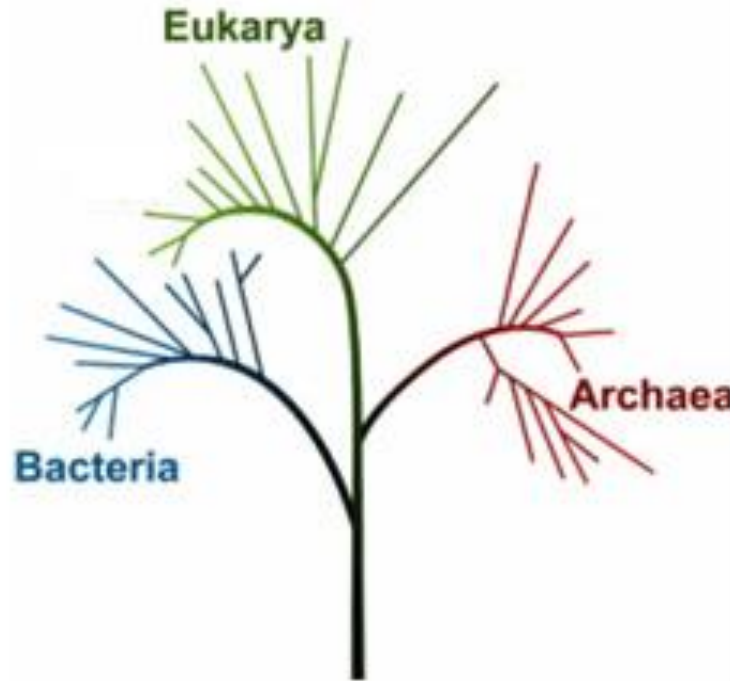


Archaea

**Aceticlastic
methanogenesis**

Methanosaeta

Methanosarcina



Life phylogenetic tree (C. WOESE)

Methanosarcina

Methanoculleus

Methanobacterium,

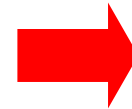
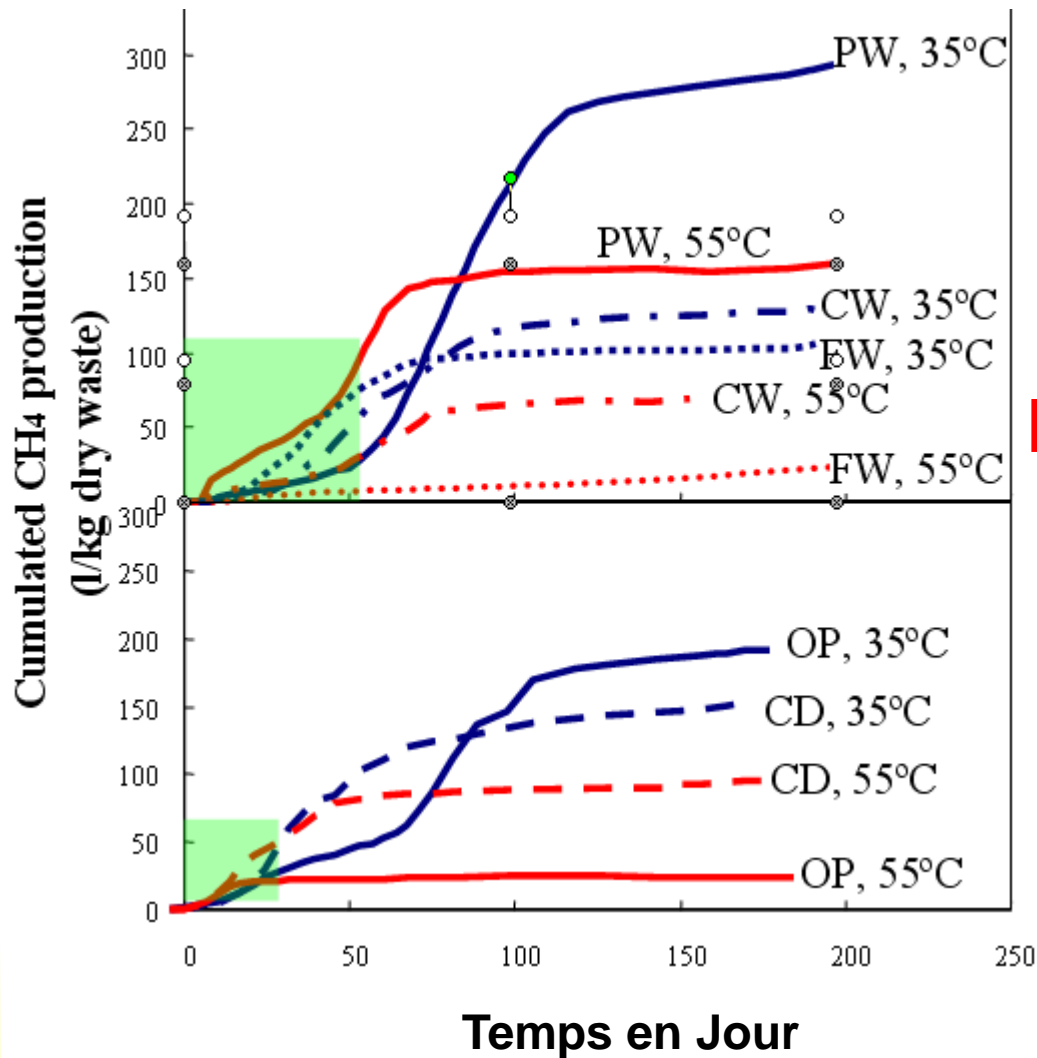
Methanobrevibacter,

Methanosphaera,

Methanothermobacter, ...

**Hydrogenotrophic
methanogenesis**

Effet de la température sur la production de méthane



Production de méthane plus faible à 55°C

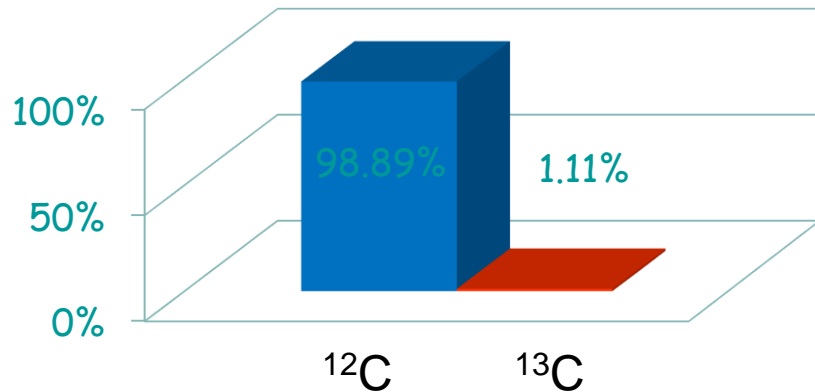


Identification des métabolismes par biogéochimie isotopique

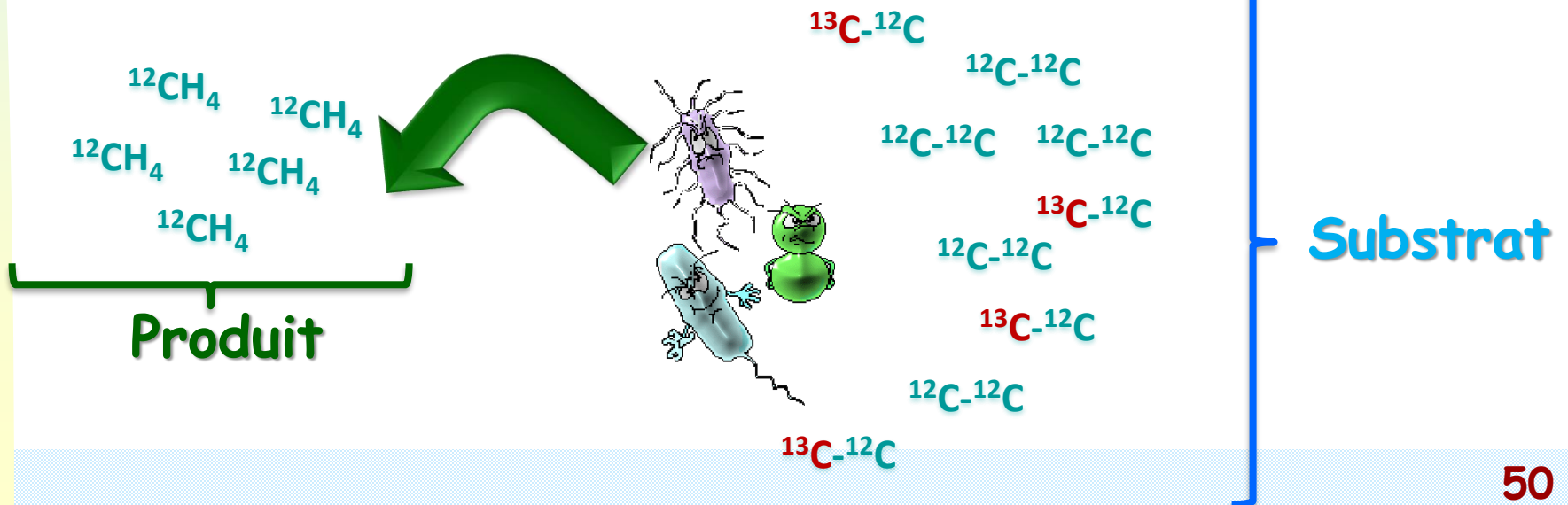


LA BIOGÉOCHIMIE ISOTOPIQUE

➤ Abondance naturelle des isotopes



➤ Fractionnement isotopique





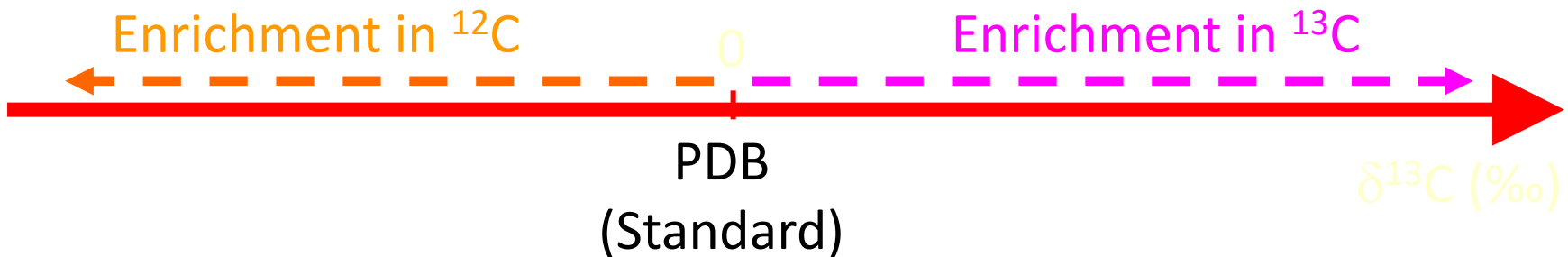
Isotopic composition

Delta notation is a way to express isotopic composition of a sample relative to an international standard (marine carbonate, PDB)

$$\delta^{13}\text{C} = \frac{R_{\text{sample}} - R_{\text{standard}}}{R_{\text{standard}}} \times 1000 \quad [‰] \quad R = {}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C}$$

→ When $\delta^{13}\text{C}$ is positive, the sample is enriched in ${}^{13}\text{C}$ / Standard

→ When $\delta^{13}\text{C}$ is negative, the sample is enriched in ${}^{12}\text{C}$ / Standard



Principe de l'approche isotopique

La composition isotopique de l'acétate et du CO₂ est différente

DE PLUS

les microorganismes utilisent préférentiellement le ¹²C



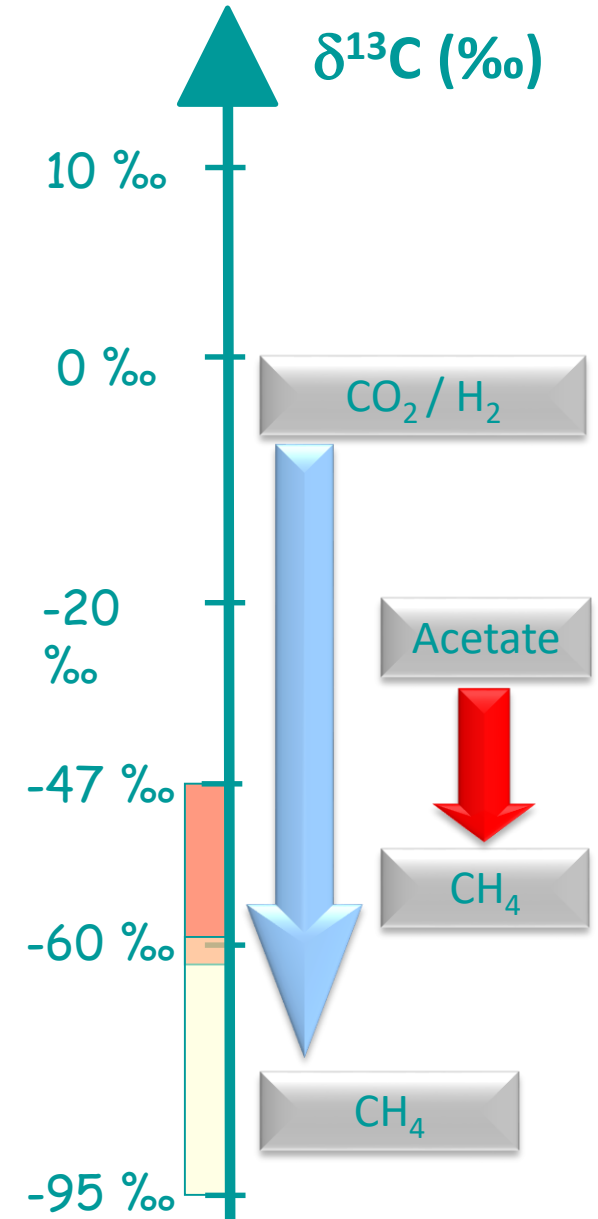
Le méthane sera donc plus enrichi en ¹²C que les substrats

&

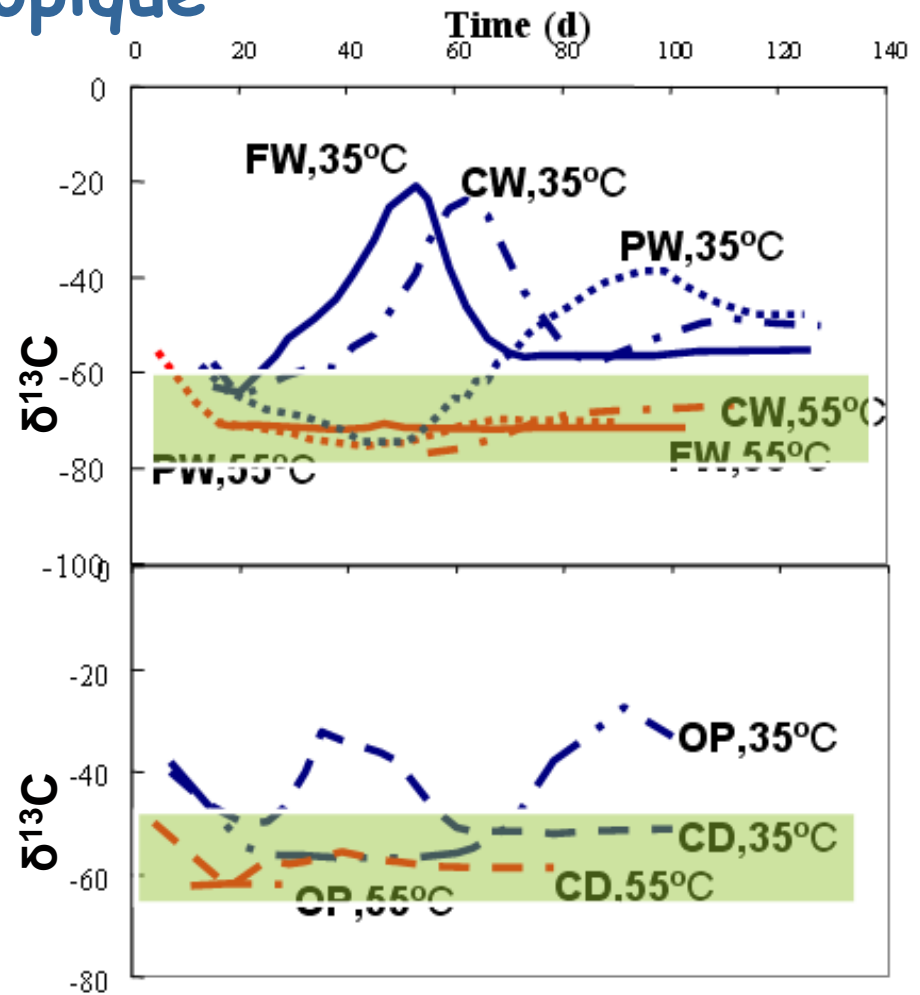
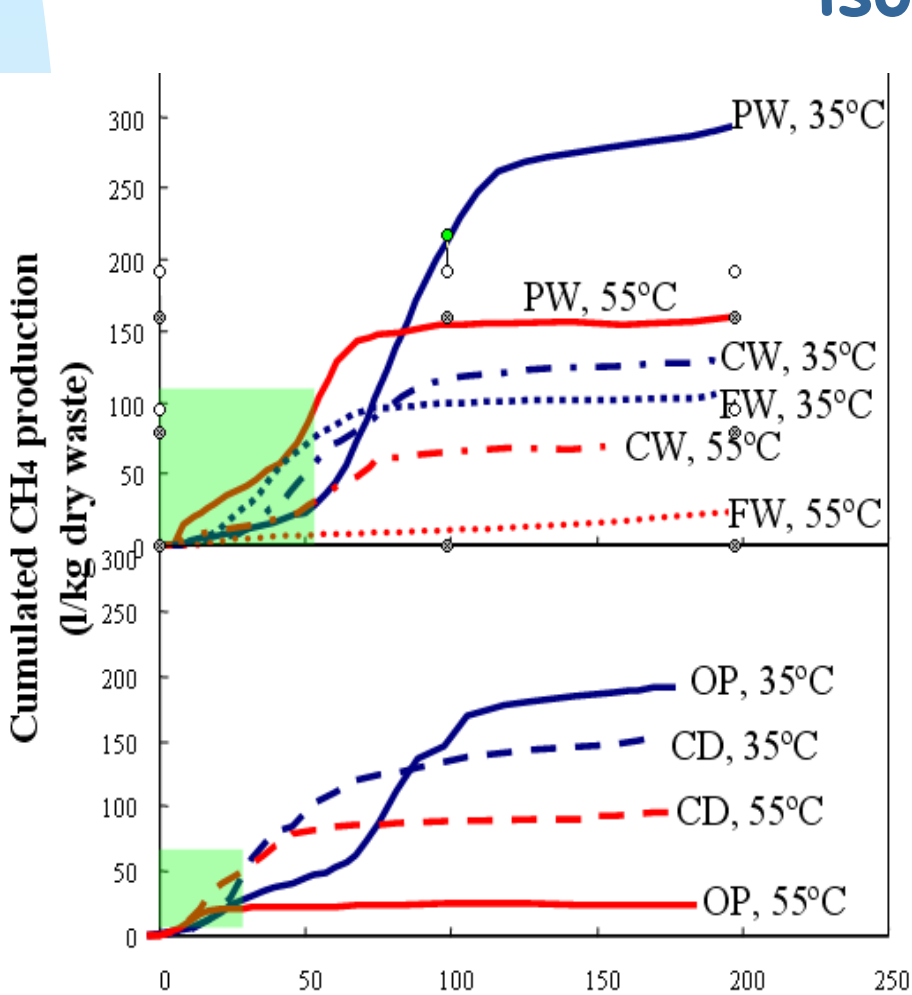
Le fractionnement isotopique est plus important pour la méthanogenèse hydrogénéotrophe



Il est alors possible de distinguer les différentes voies de production du méthane

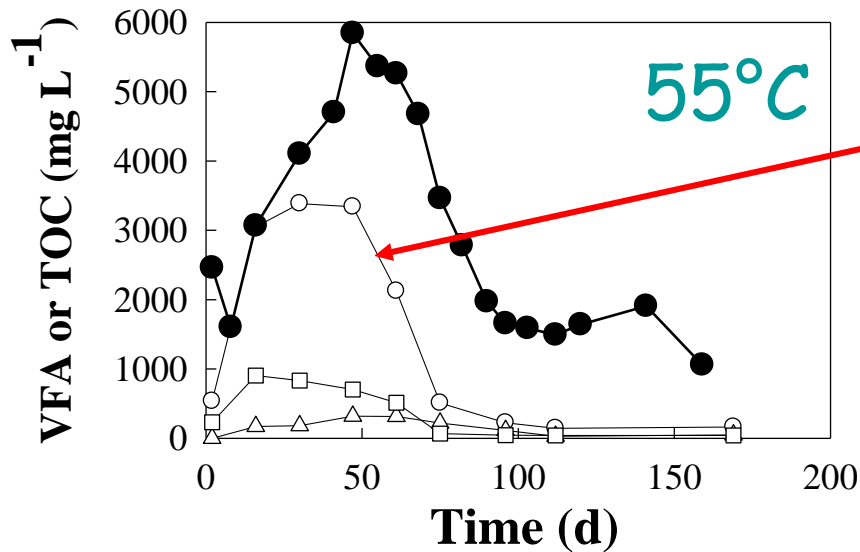
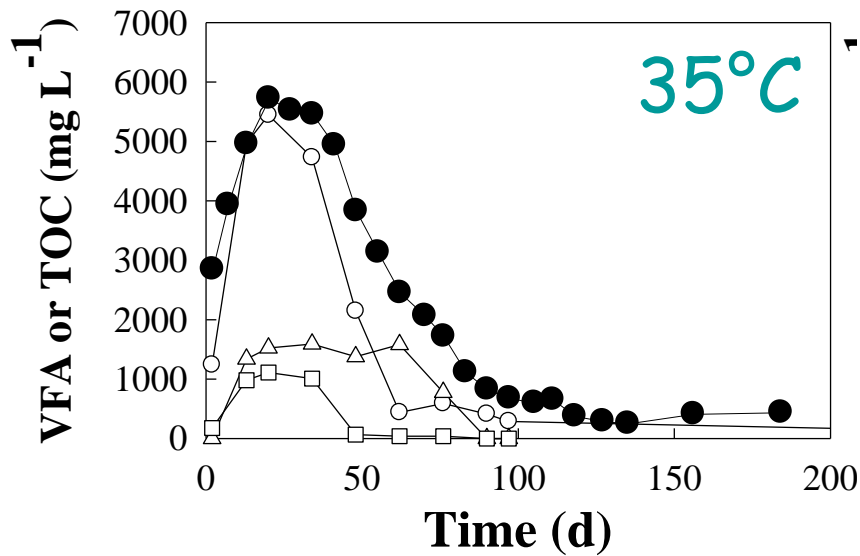


Identification des métabolismes par mesure isotopique



A 35 °C Hydrogenotrophe → acétoclaste → hydrogénotrophe
 A 55 °C Hydrogenotrophe

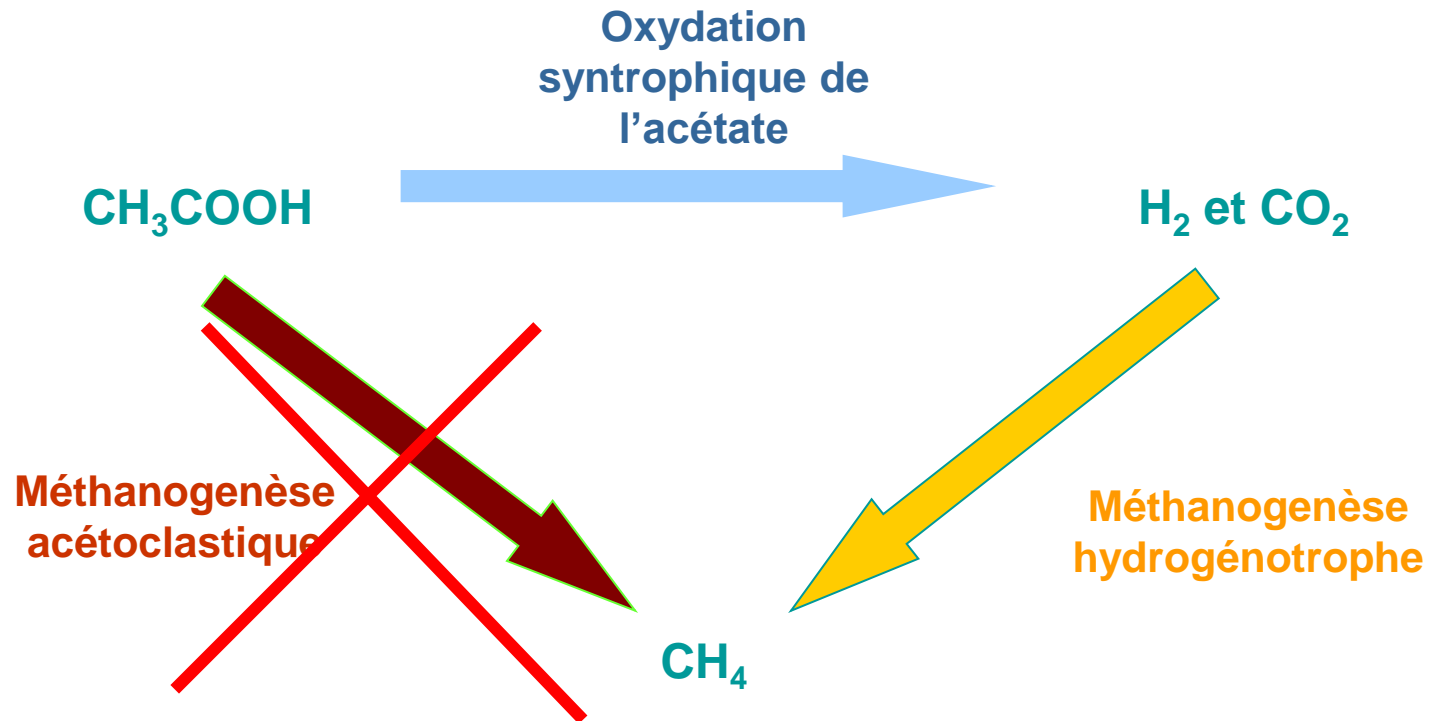
SUIVI DES ACIDES GRAS VOLATILES



Acetate (○);
Propionate (△);
Butyrate (□);

A 55°C il y production
et
consommation de l'acétate

Les voies métaboliques impliquées dans la méthanogenèse à 55°C

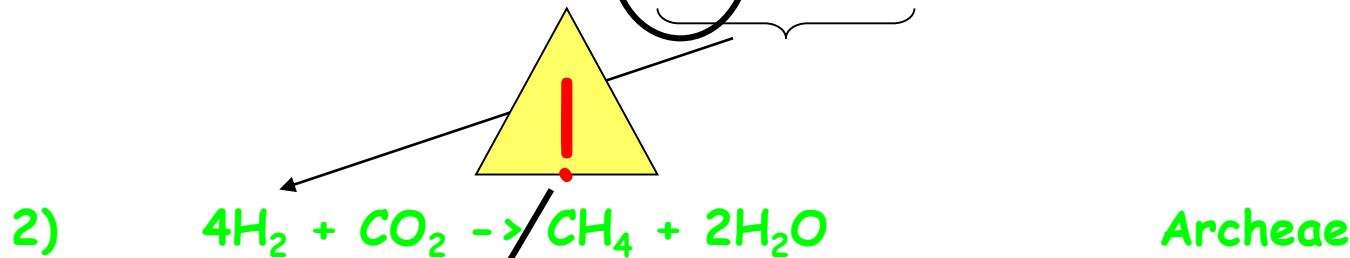
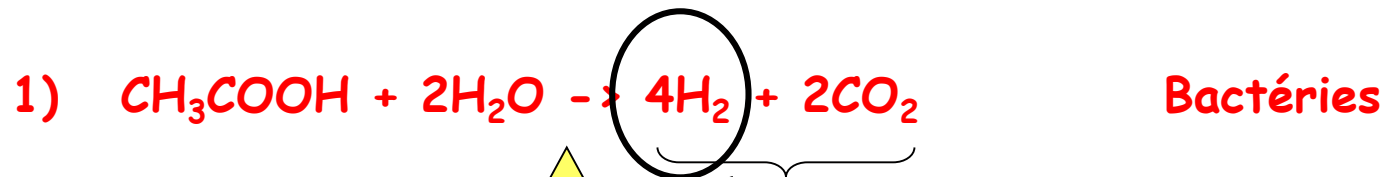


Réactions :



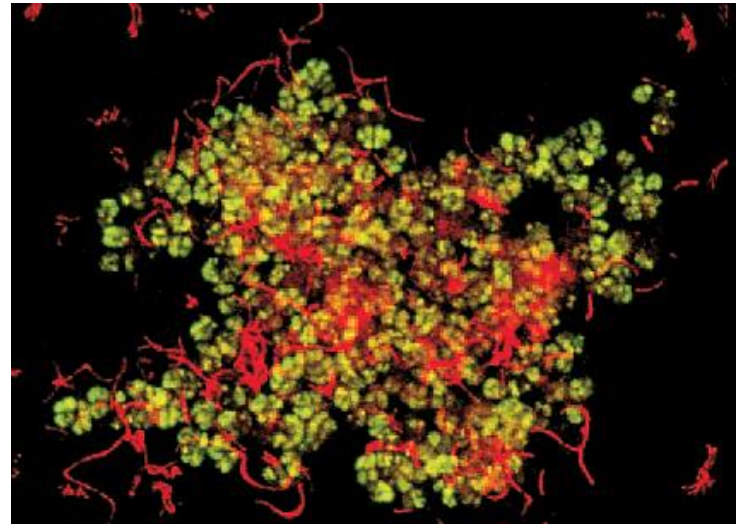
Oxydation syntrophique de l'acétate

Réaction en deux étapes:



relation syntrophique entre

bactérie et archaea



Oxydation syntrophique de l'acétate dans C4

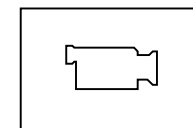
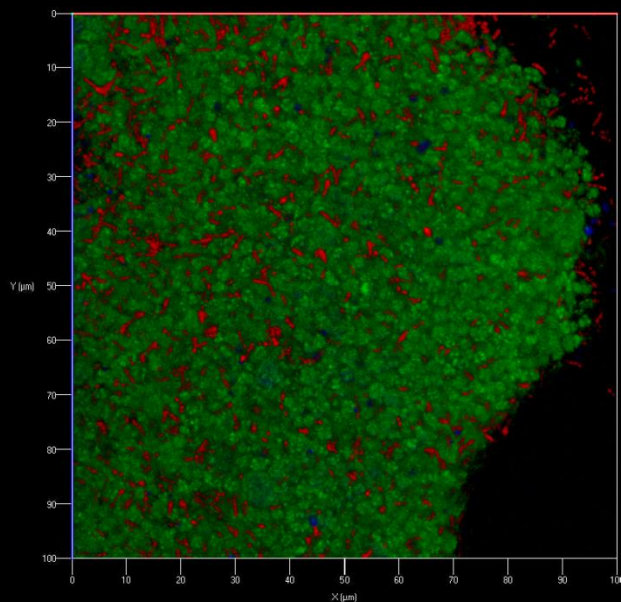


Table 1. Reactions involved in acetate and hydrogen metabolism

Process	Reaction	$\Delta G^{0'}$ (kJ/mol)
(1) Aceticlastic methanogenesis	*CH ₃ COO ⁻ + H ₂ O → *CH ₄ + HCO ₃ ⁻	-31.0
(2) Syntrophic acetate oxidation	*CH ₃ COO ⁻ + 4H ₂ O → H*CO ₃ ⁻ + 4H ₂ + HCO ₃ ⁻ + H ⁺	+104.6
(3) H ₂ -consuming methanogenesis	4H ₂ + HCO ₃ ⁻ + H ⁺ → CH ₄ + 3H ₂ O	-135.6
(4) sum (2)+(3)	*CH ₃ COO ⁻ + H ₂ O → H*CO ₃ ⁻ + CH ₄	-31.0
(5) H ₂ -consuming acetogenesis	4H ₂ + 2HCO ₃ ⁻ + H ⁺ → CH ₃ COO ⁻ + 4H ₂ O	-104.6

Asterisks (*) represent the fate of the methyl group carbon of acetate. It was assumed that 100% of the labeled carbon was converted to CH₄ (reaction 1) or HCO₃⁻ (reaction 4). The standard Gibbs free energy change ($\Delta G^{0'}$) values were calculated from reference 75.



DE LA BOITE NOIRE À LA BOITE GRISE

Outils d'exploration
des voies métaboliques

Biogéochimie
isotopique



Outils d'identification
du microbiote fonctionnel

Biologie
moléculaire

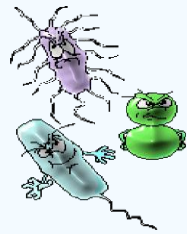


➔ Mise en évidence de l'inhibition de certaines voies métaboliques

➔ Identification des microorganismes responsables



LES APPORTS DES APPROCHES MÉTAOMIQUES



Communauté microbienne

ADN



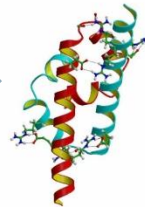
Transcription

ARN



Traduction

Protéines



Métagénomique

Métatranscriptomique

Métaprotéomique



Déchets



Substrats



Produits

Métabolomique



Effluents

➔ Relation entre biodiversité, activité, fonction et service éco systémique



MISE EN ŒUVRE DE L'APPROCHE MÉTABOLOMIQUE

Animal Feed Science and Technology 166-167 (2011) 93-100



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Animal Feed Science and Technology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/anifeedsci



Inhibition of rumen methanogenesis by tea saponins with reference to fermentation pattern and microbial communities in Hu sheep

Y.Y. Zhou^a, H.L. Mao^a, F. Jiang^a, J.K. Wang^{a,*}, J.X. Liu^{a,*}, C.S. McSweeney^b

^a Institute of Dairy Science, College of Animal Sciences, Zhejiang University, 268 Kaixuan Road, Hangzhou 310029, PR China

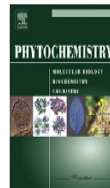
^b CSIRO Livestock Industries, 306 Carmody Rd. St Lucia, QLD, 0467, Australia

Phytochemistry 71 (2010) 1198-1222

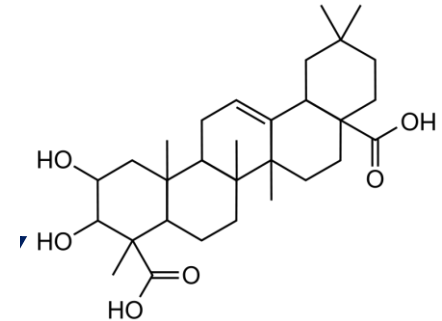
Contents lists available at ScienceDirect

Phytochemistry

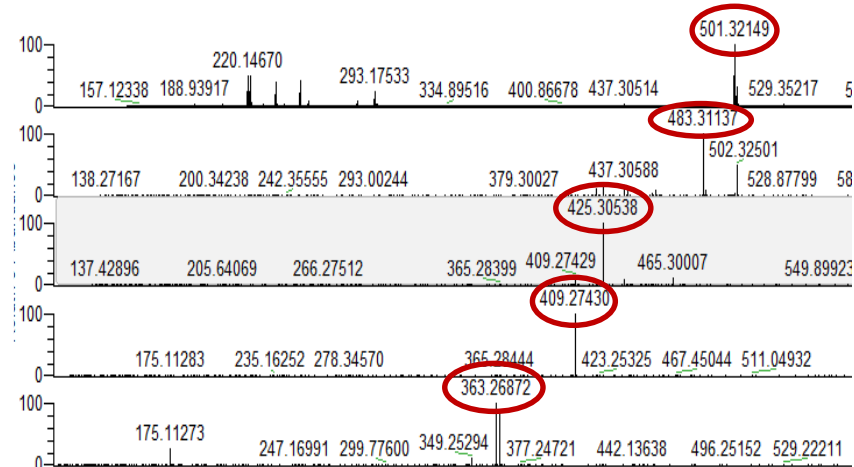
journal homepage: www.elsevier.com/locate/phytochem



$C_{30}H_{45}O_6$



Acide Médicagénique



Review

A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen

Amlan K. Patra^{a,*}, Jyotisna Saxena^b

^a Department of Animal Nutrition, Faculty of Veterinary and Animal Sciences, West Bengal University of Animal and Fishery Sciences, Belgachia, Kolkata 700037, India

^b Coskata Inc., 4575 Weaver Parkway, Warrenville, IL 60555, USA

La digestion anaérobie des déchets non dangereux

❖ COMPRENDRE LE FONCTIONNEMENT DES BIOPROCÉDÉS ANAÉROBES

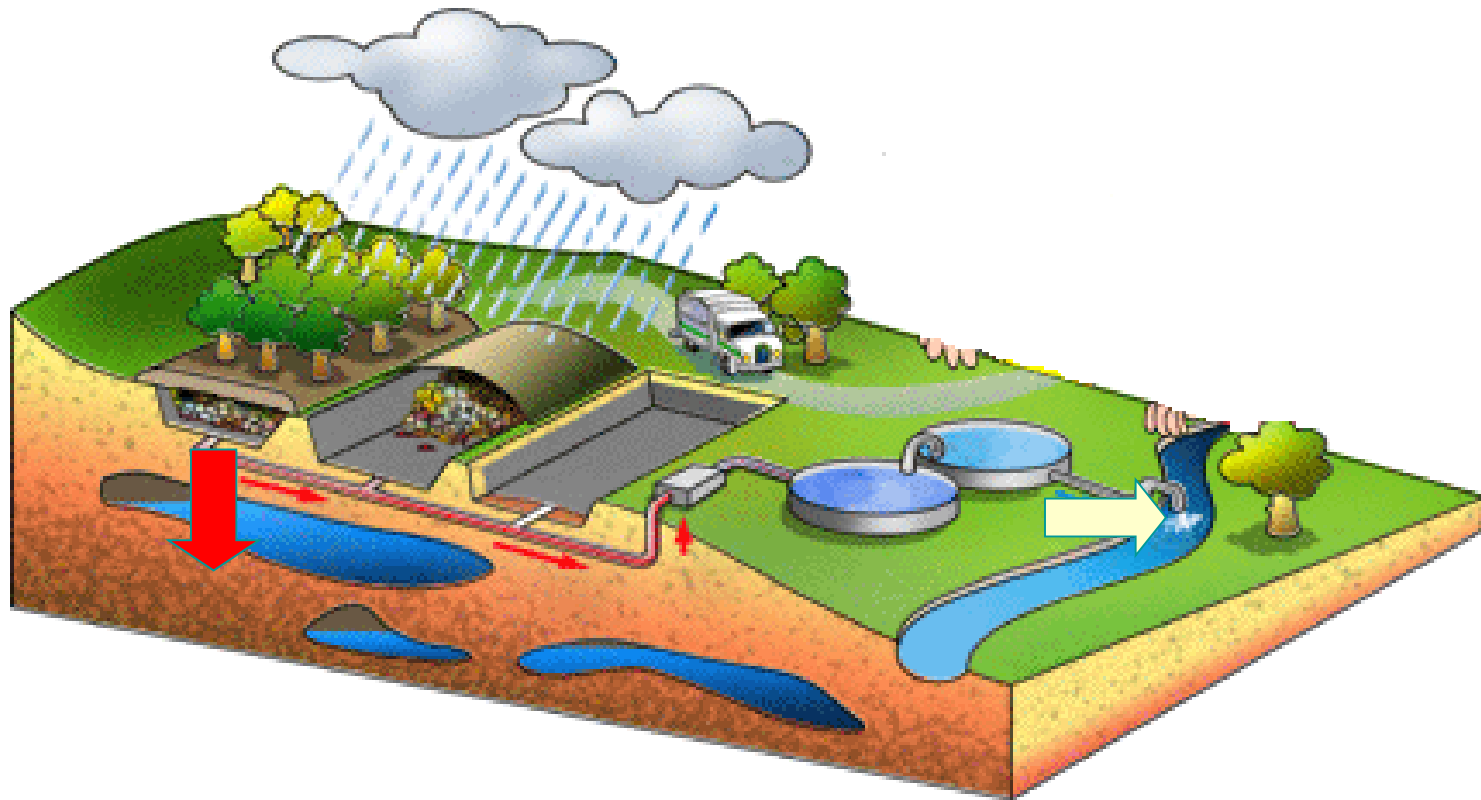
- Les différentes étapes de dégradation des déchets
- Problème de l'azote ammoniacal dans les lixiviats de centres de stockage de déchets ménagers
- Identification des métabolismes et des acteurs microbiens responsables de la dégradation des déchets

❖ ÉVALUATION DES ÉMISSIONS POLLUANTES

- Identification des polluants à prendre en compte dans les études d'impacts environnementaux et sanitaires
- Evaluation des transferts de micropolluants à travers les barrières d'étanchéité des ISD
- Étude de l'écodynamique des micropolluants durant la digestion anaérobie



LA PROBLÉMATIQUE DES LIXIVIATS D'ISD



1

Transferts des micropolluants à travers les barrières d'étanchéité



Contamination des sous sols et eaux souterraines

2

Micropolluants récalcitrants aux traitements des lixiviats



Contamination des eaux de surface

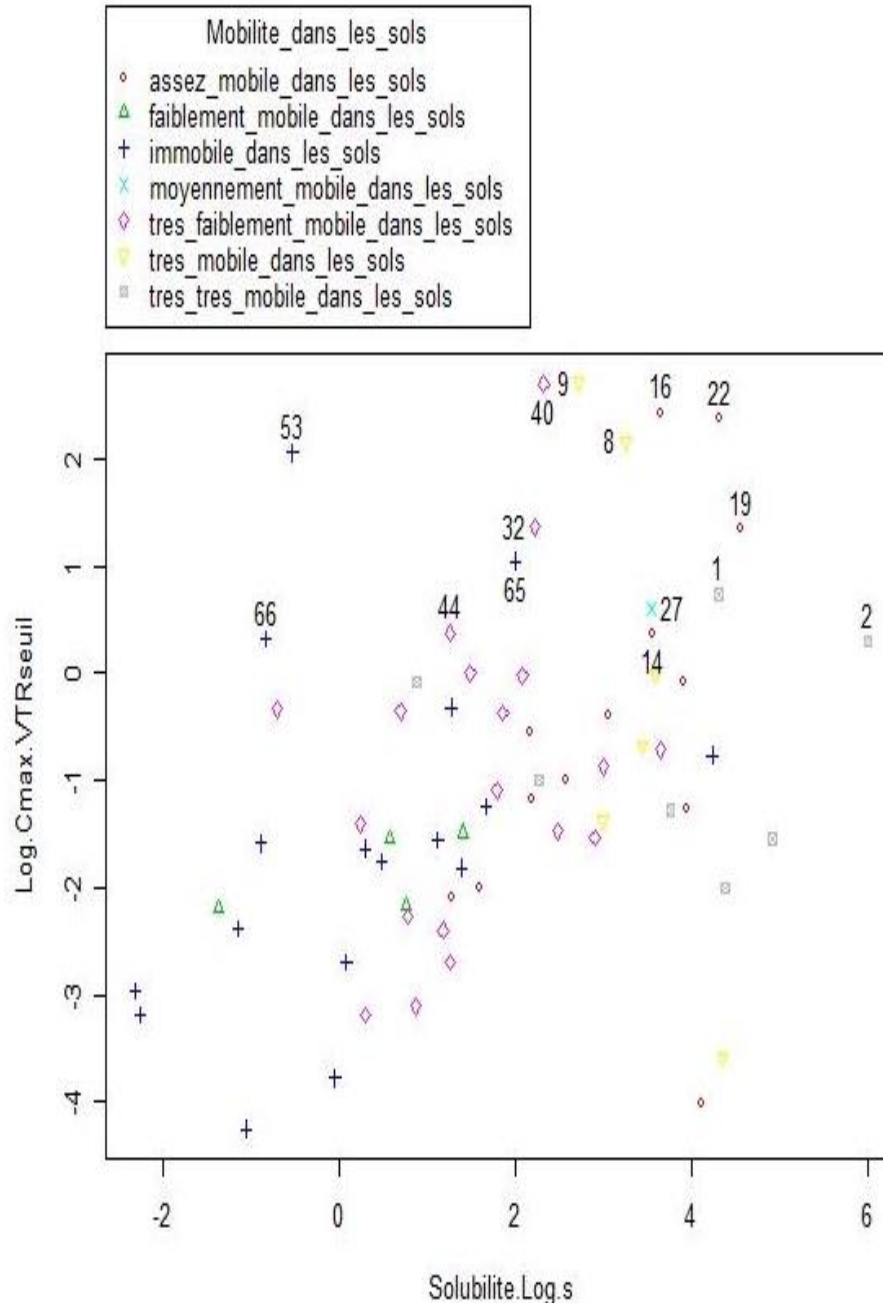
Les micro-polluants retrouvés dans les lixiviats

Base de données sous access regroupant :

- **33** publications et rapports d'études
- **100** ISD différentes
- **311** échantillons de lixiviat
- **402** composés organiques
- Les propriétés physique-chimiques (solubilité, Koc...)
- Les propriétés toxicologiques des polluants (VTR, classification CMR...)

MAIS aucune donnée publique en France

Micropolluants organiques retrouvés dans les lixiviats



- 1: Dichloromethane
- 2: 1,4_Dioxane
- 8: Benzene
- 9: Toluene
- 14: Z- 1,2_Dichloroethylene
- 16: E-1,2_Dichloroethylene
- 19: Aniline
- 22: p_Cresol
- 27: 1,1,2_Trichloroethane
- 32: Ethylbenzene
- 40: Bisphenol_A
- 44: 1,2,4_Trichlorobenzene
- 53:
- Bis2_ethylhexylphthalate
- 65: Aldrin
- 66: dieldrin

► Composition des lixiviats : campagne d'analyse

Le choix des sites de prélèvement des lixiviats :

- **8 sites** de prélèvement sélectionnés en collaboration avec la **FNADE**
- Répartition géographique sur **l'ensemble de l'hexagone**
- Lixiviats provenant de casiers **d'âges différents** contenant des OM, OM+DIB et DIB

	Site 1	Site 2	Site 3	Site 4	Site 5	Site 6	Site 7	Site 8
Age	< 5 ans	< 5 ans	> 5 ans	≥ 5 ans	> 5 ans	> 5 ans	> 5 ans	≥ 5 ans
déchets	DIB	OM	OM	OM + DIB	OM + DIB	OM	DIB	OM + DIB

► Les composés analysés

- Composés organiques Volatiles (COV)
 - Hydrocarbures aromatique polycycliques (HAP)
 - Polychlorobisphenyls (PCB)
 - Polybromodiphénylether (PBDE)
 - Phenols dont le bisphenol A
 - Phtalates
 - Pesticides organophosphorés
 - Produits pharmaceutiques
 - Hormones
- Composés organométalliques



LCABIE

Les composés organiques ont été analysés à la fois dans la phase dissoute et particulaire



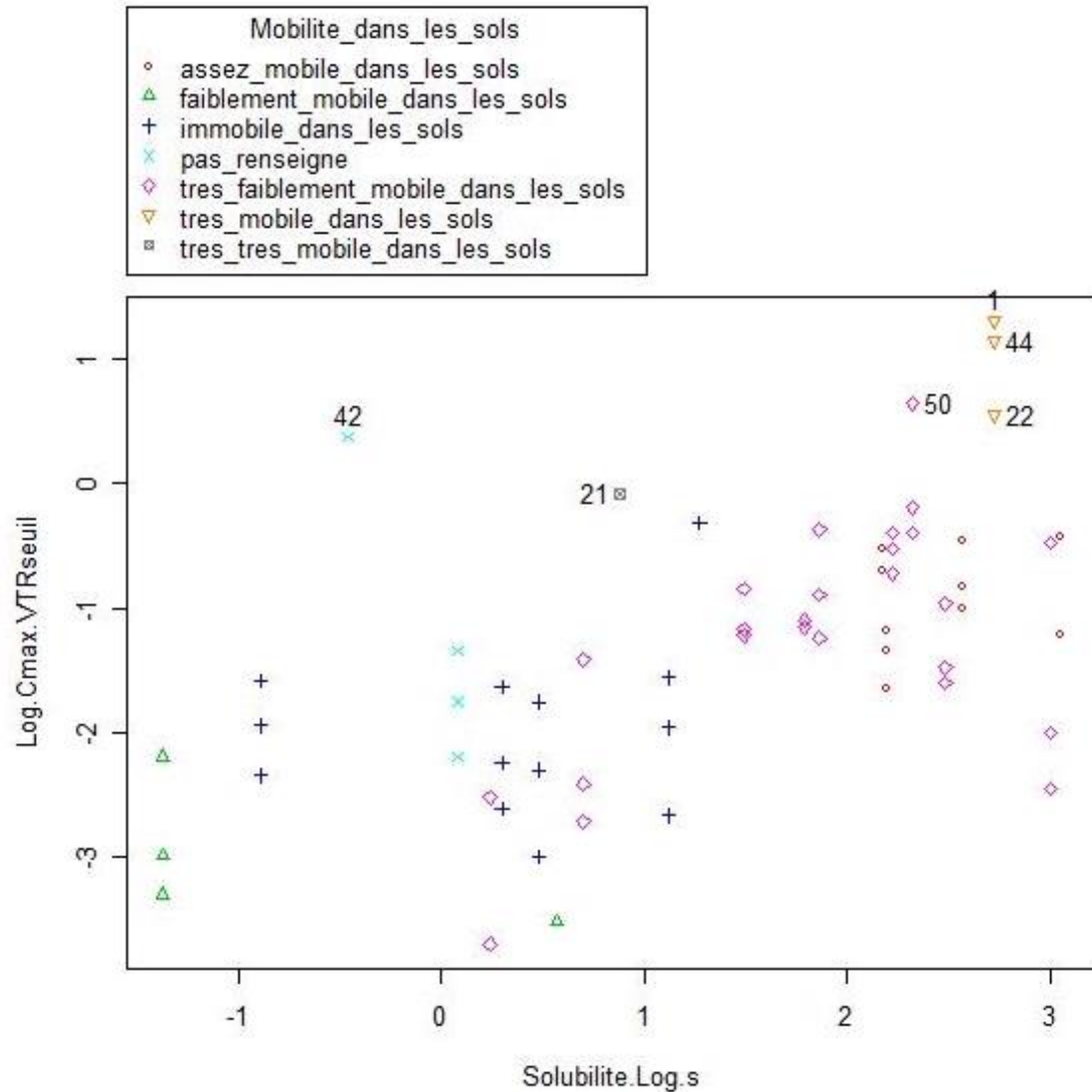
▶ Principaux résultats



- Présence en quantité importante du **bisphenol A** et des **phtalates** qui sont des plastifiants présentant des propriétés **reprotoxiques**
- Présence également de certains **COV** (mono-aromatiques, solvant chlorés...) présentant des propriétés **cancérigènes**
- Présence des HAP, PCB et PBDE essentiellement sur la **phase particulaire** car ces composés sont peu solubles
- Les produits pharmaceutiques et hormones recherchés n'ont pas été retrouvés



Micropolluants organiques retrouvés dans les lixiviats en France



1: Toluène (DIB)
44: Toluène (OM + DIB)
22: Toluène (OM)
50: Bisphenol_A (OM + DIB)
42: Heptachlor_epoxide (OM)

Composés CMR retrouvés dans les lixiviats

Composé	Classification CMR	Fréquence de repérage (%)
Dibutyl phthalate	REPRO 2 / REPRO 3	100
Bisphenol A	REPRO 3	100
Toluène	REPRO 3	100
Benzène	CARC1/MUTA2	100
Dichlorométhane	CARC 3	100
p-dichlorobenzène	CARC3	75
Benz[a]anthracène	CARC 2	62,5
Butyl benzyl phtalate	REPRO 2 / REPRO 3	37,5
Trichloroéthylène	CARC 2/ MUTA 3	37,5
Tetrachloroéthylène	CARC 3	37,5
Benzo[e]pyrène	CARC 2	25
Benzo[a]pyrène	CARC 2/ MUTA 2/ REPRO 2	25
Heptachlor epoxide	CARC3	12,5
Heptachlor	CARC 3	12,5

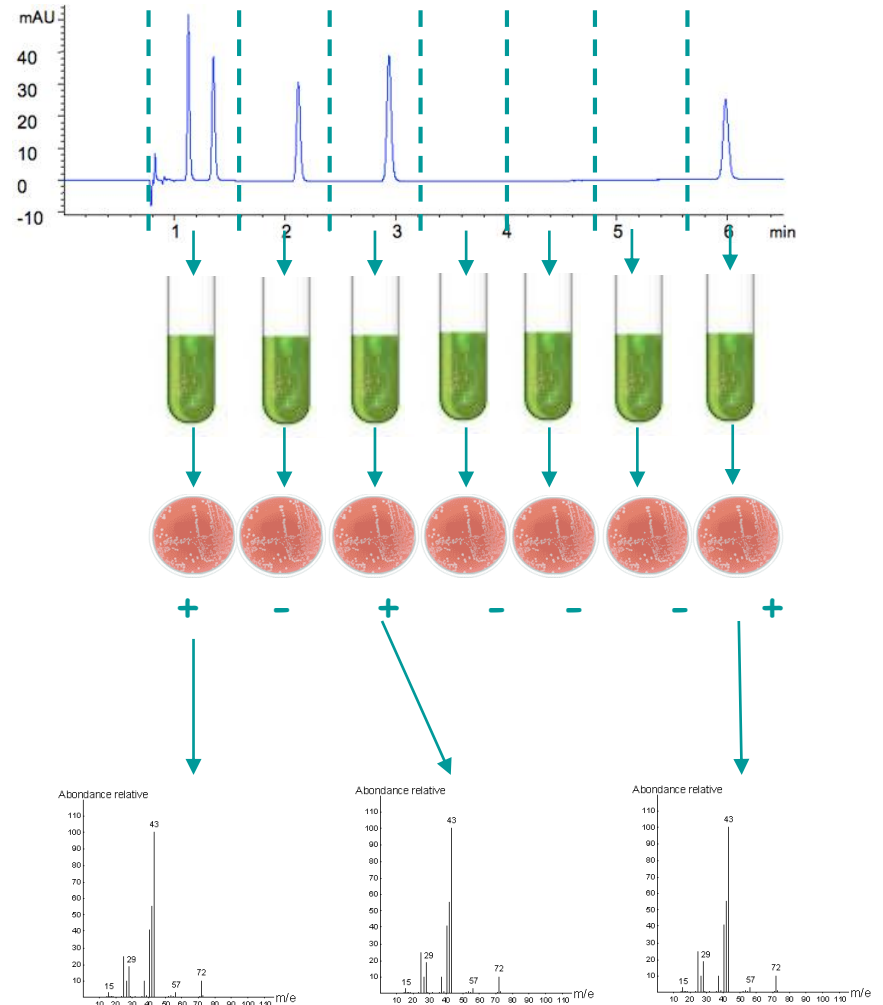


APPROCHE EFFECT DIRECTED ANALYSIS (EDA)

Fractionnement de l'extrait organique du lixiviat par HPLC

Identification des fractions toxiques par des tests de toxicité (Génotoxicité, activité oestrogénique)

Identification des agents chimiques présents dans les fractions présentant une toxicité par analyse chimique





APPROCHE EDA SUR LES LIXIVIATS D'ISDND



Lixiviat Brut



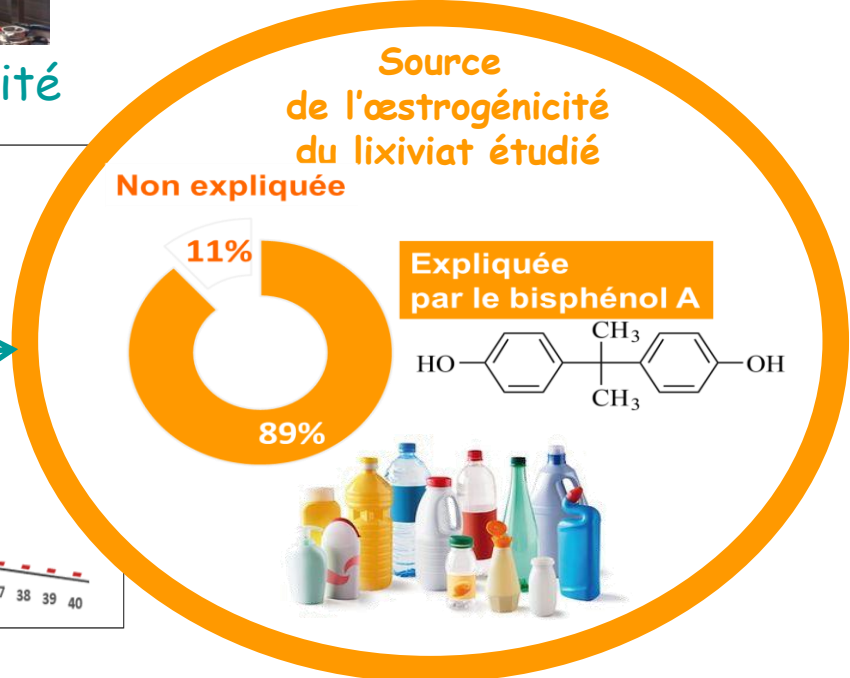
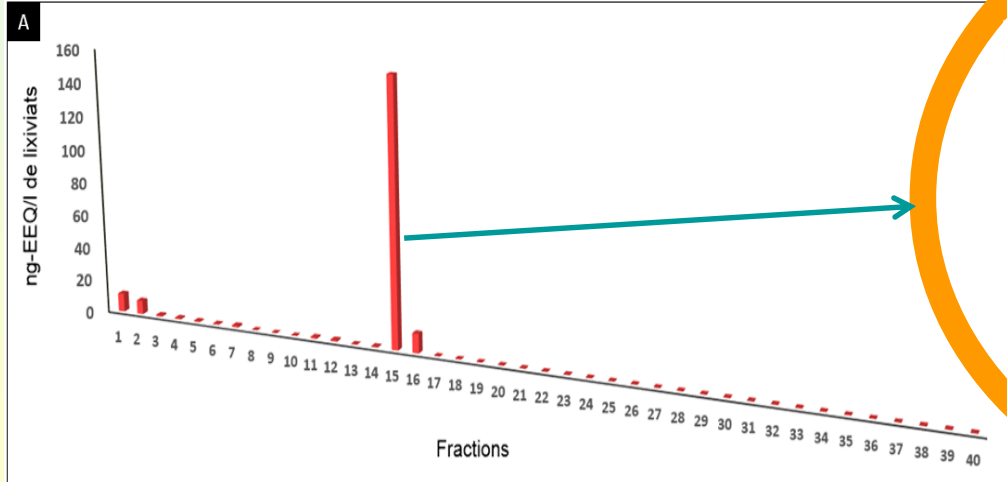
Lixiviat aéré



Lixiviat traité

Approche EDA

	Génotoxicité	Activités	
		Dixion-like	Oestrogénique
Site1-LB	+	++	+++
Site1-LA	-	+	+
Site1-LT	-	-	-



La digestion anaérobie des déchets non dangereux

❖ COMPRENDRE LE FONCTIONNEMENT DES BIOPROCÉDÉS ANAÉROBES

- Les différentes étapes de dégradation des déchets
- Problème de l'azote ammoniacal dans les lixiviats de centres de stockage de déchets ménagers
- Identification des métabolismes et des acteurs microbiens responsables de la dégradation des déchets

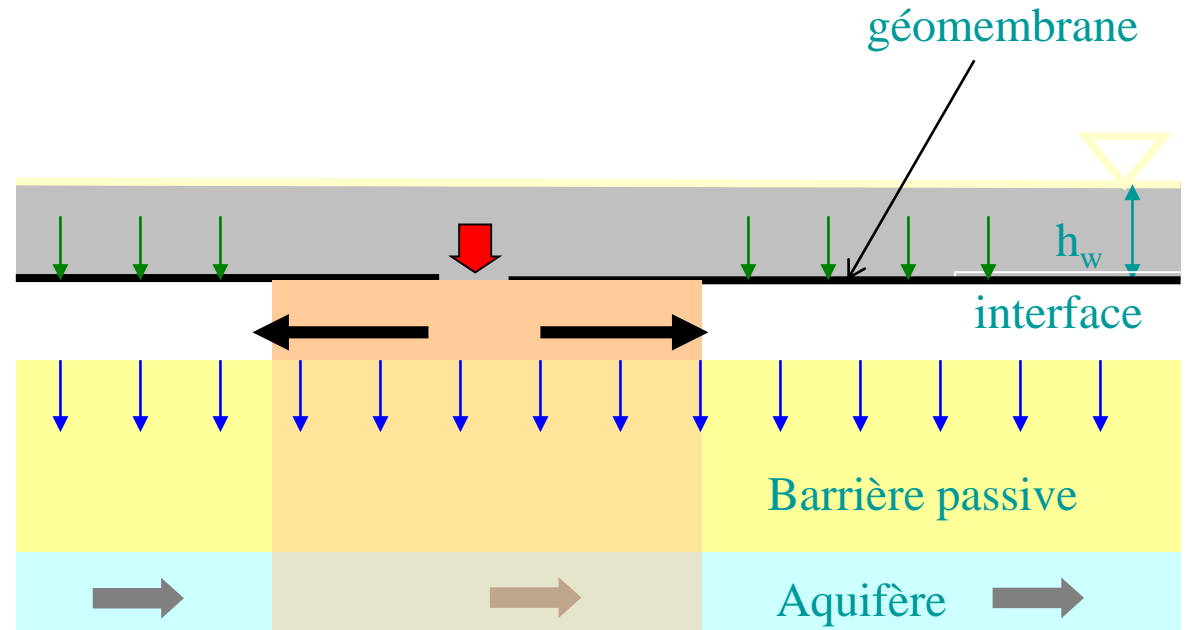
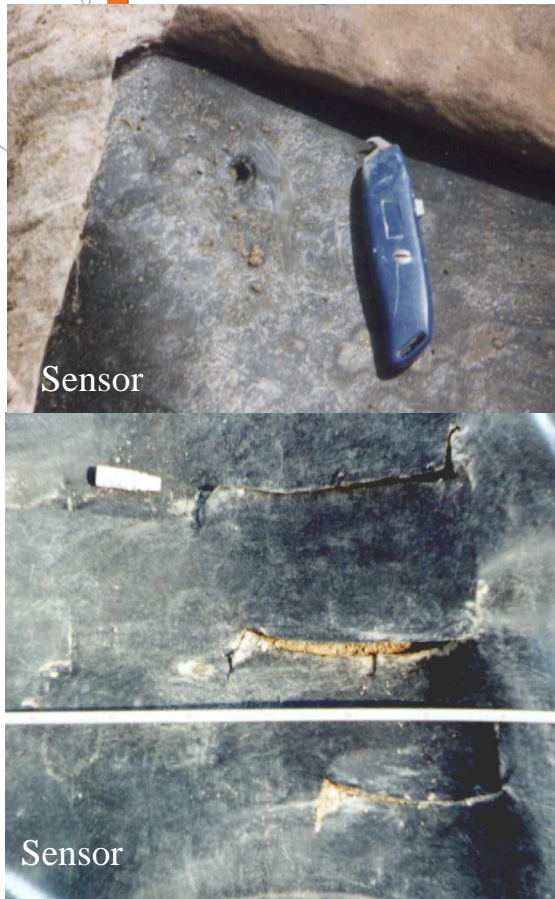
❖ ÉVALUATION DES ÉMISSIONS POLLUANTES

- Identification des polluants à prendre en compte dans les études d'impacts environnementaux et sanitaires
- Evaluation des transferts de micropolluants à travers les barrières d'étanchéité des ISD
- Étude de l'écodynamique des micropolluants durant la digestion anaérobie

► Problématique des transferts de lixiviats

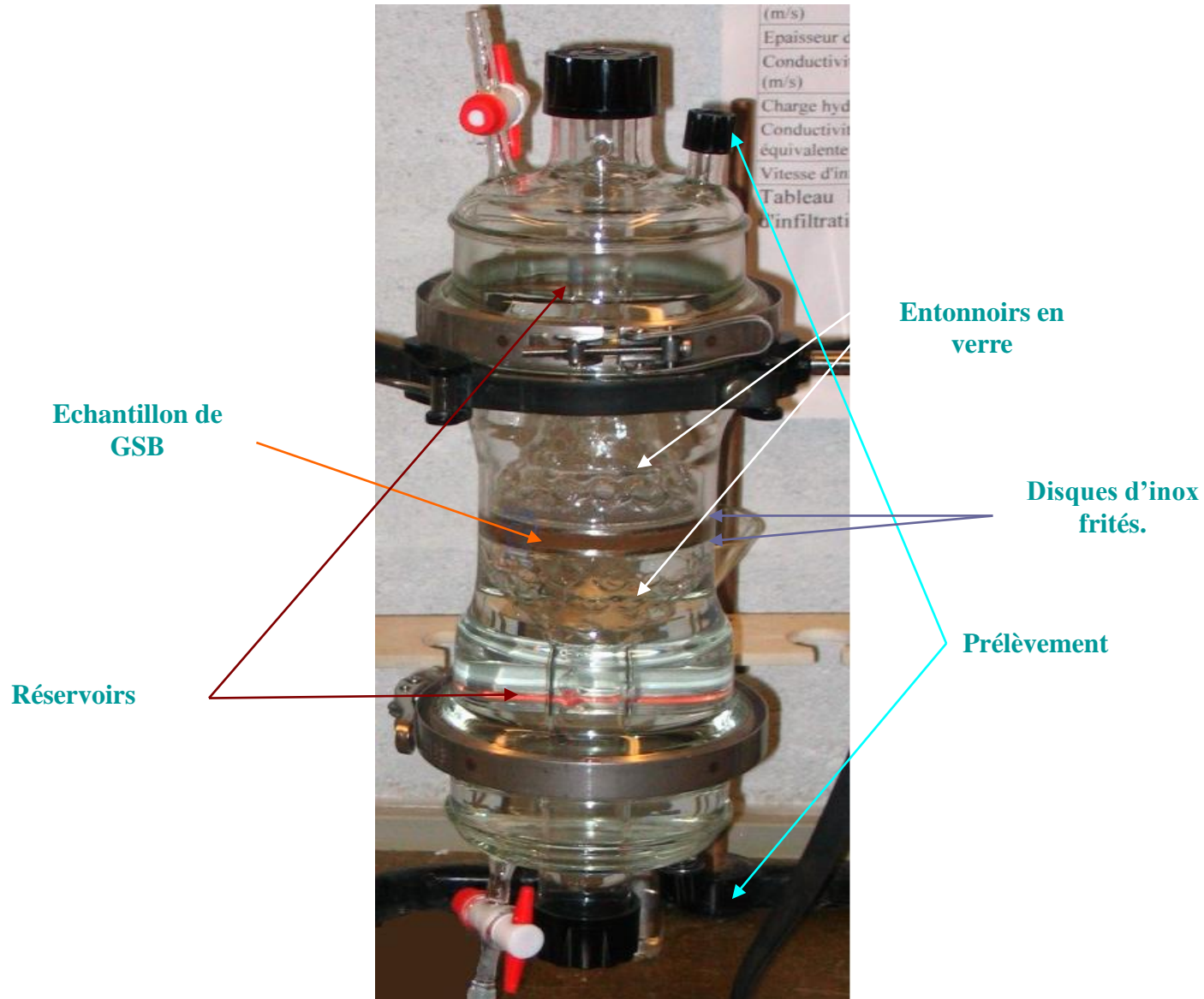


2 modes élémentaires de transfert dans les barrières d'étanchéité : **transferts advectifs** (défauts dans la géomembrane) et **transferts diffusifs**

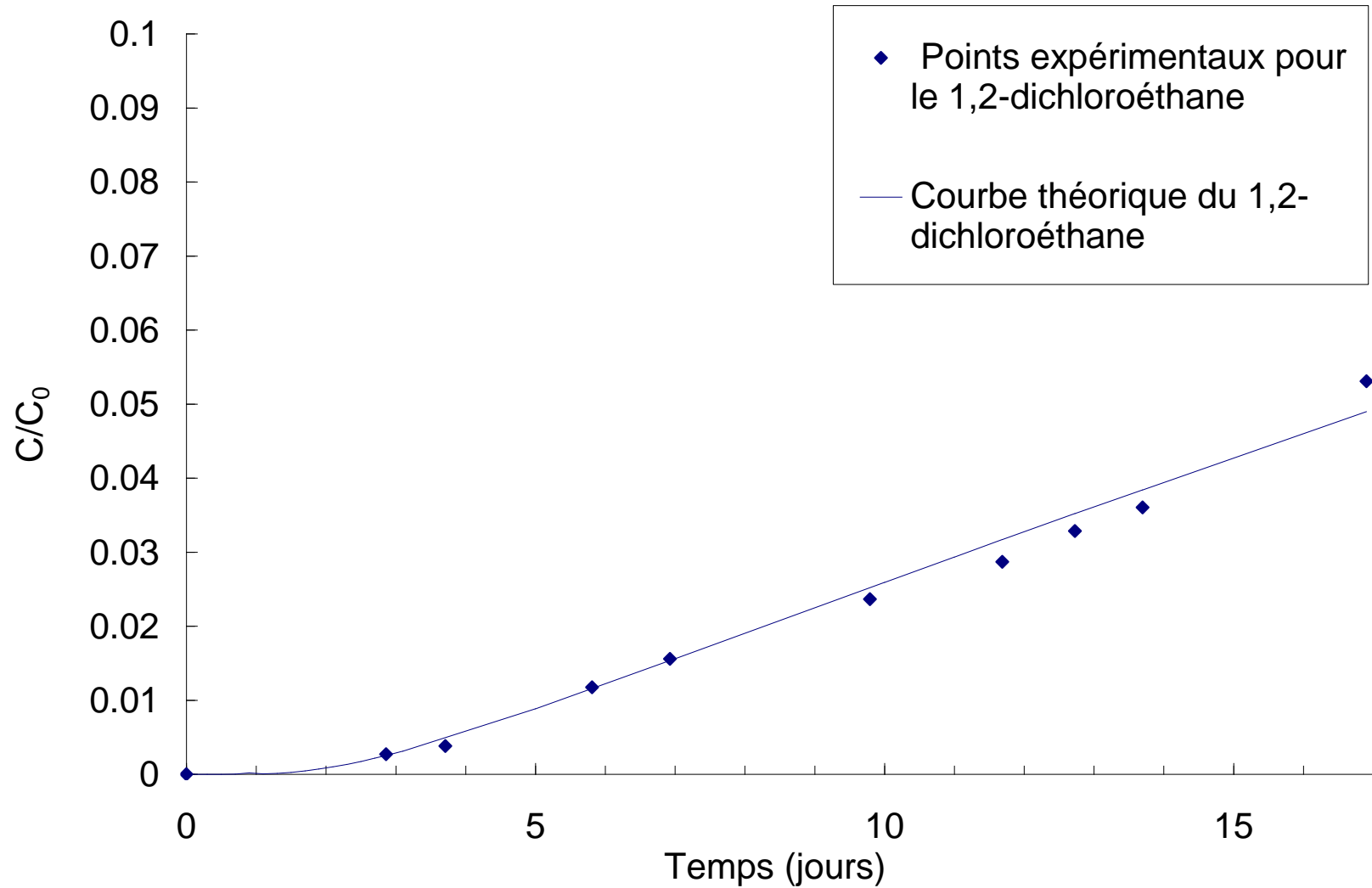


- : Dispersion latérale dans l'interface
- ↓ : Transfert diffusif à travers la géomembrane intacte
- ↓ : Transfert advectif-diffusif à travers le sol

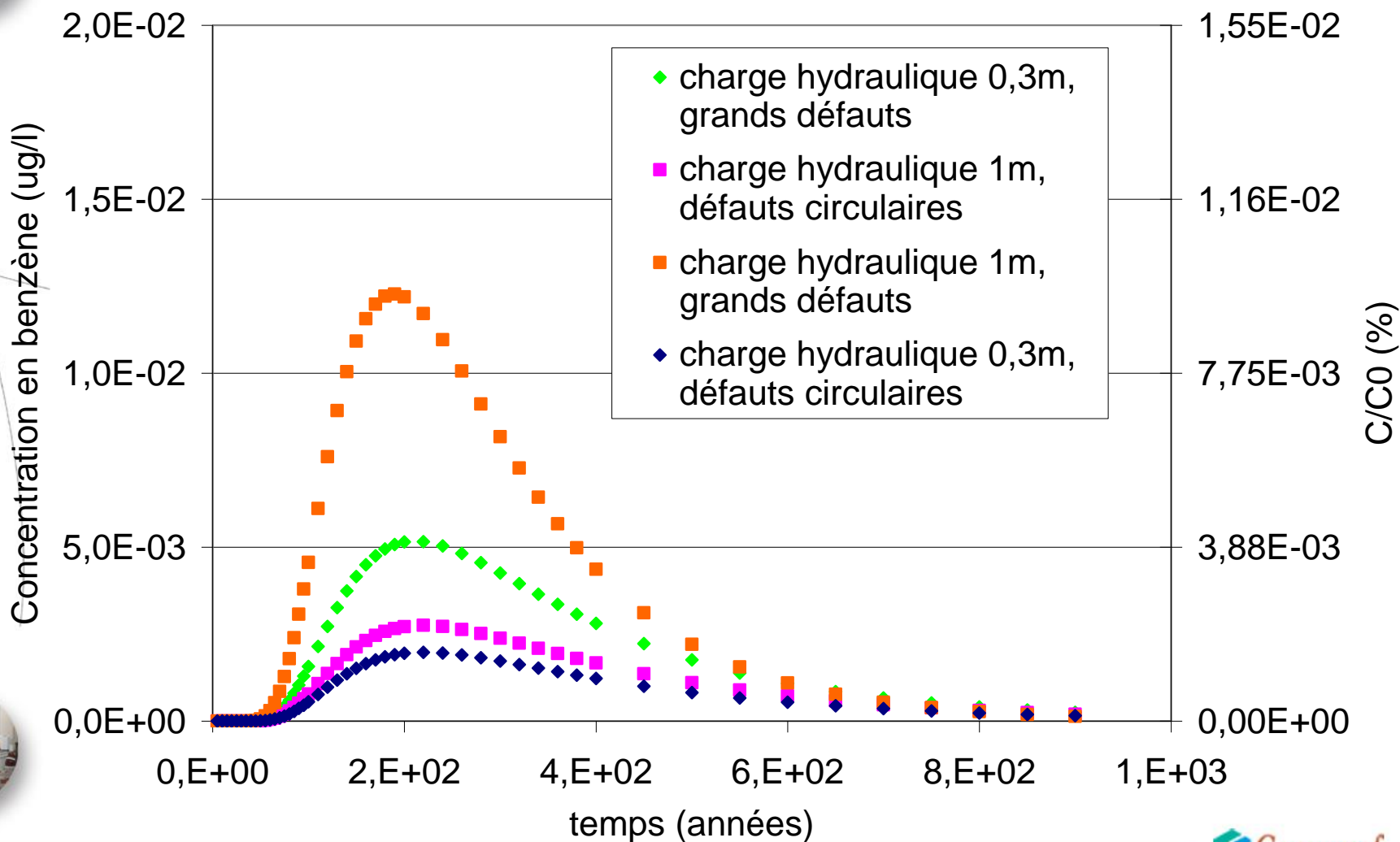
Détermination des coefficients de diffusion



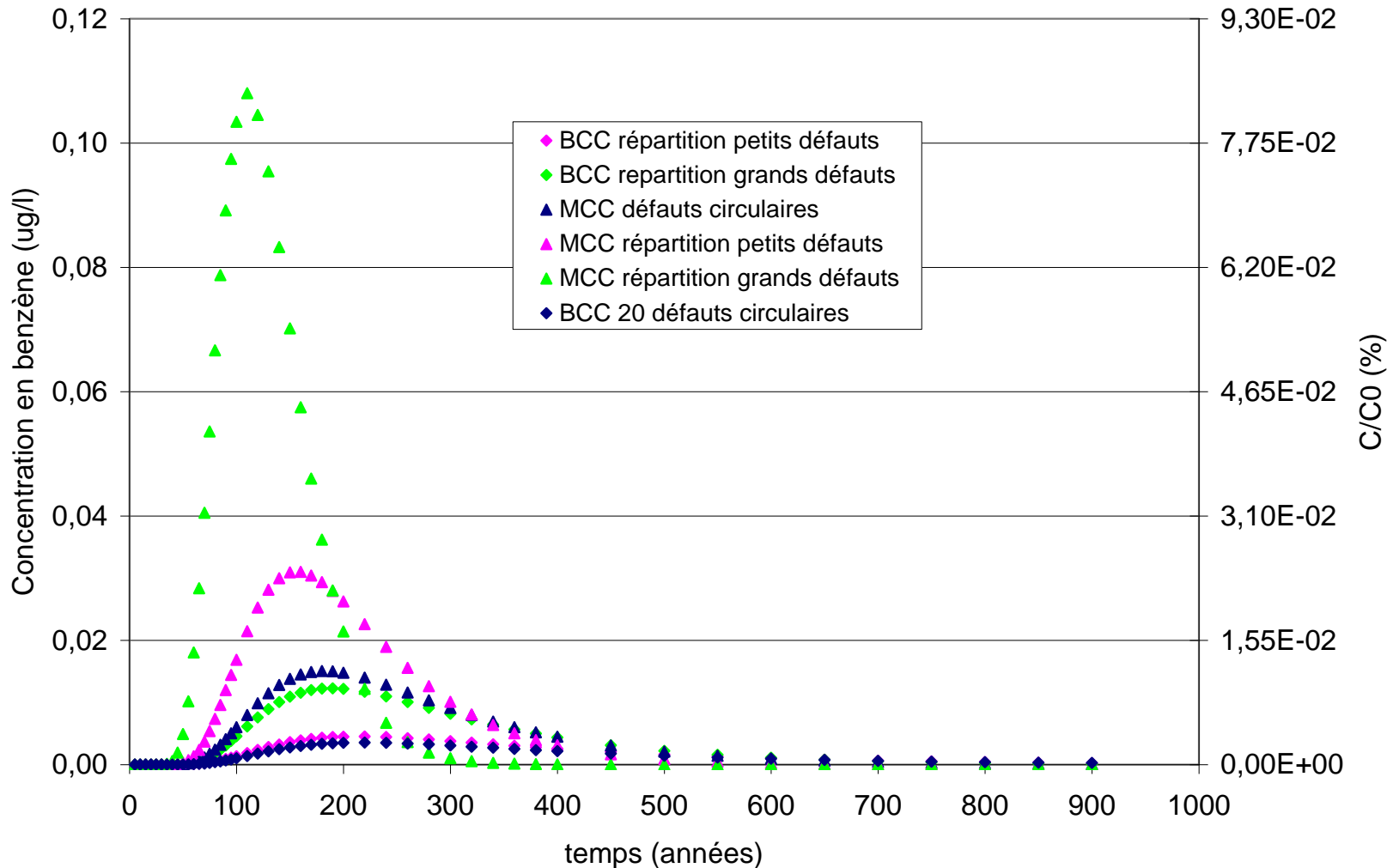
Détermination des coefficients de diffusion



► Calcul de la concentration dans la nappe



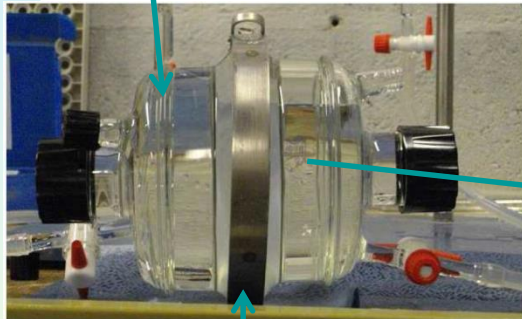
Concentration arrivant dans les nappes



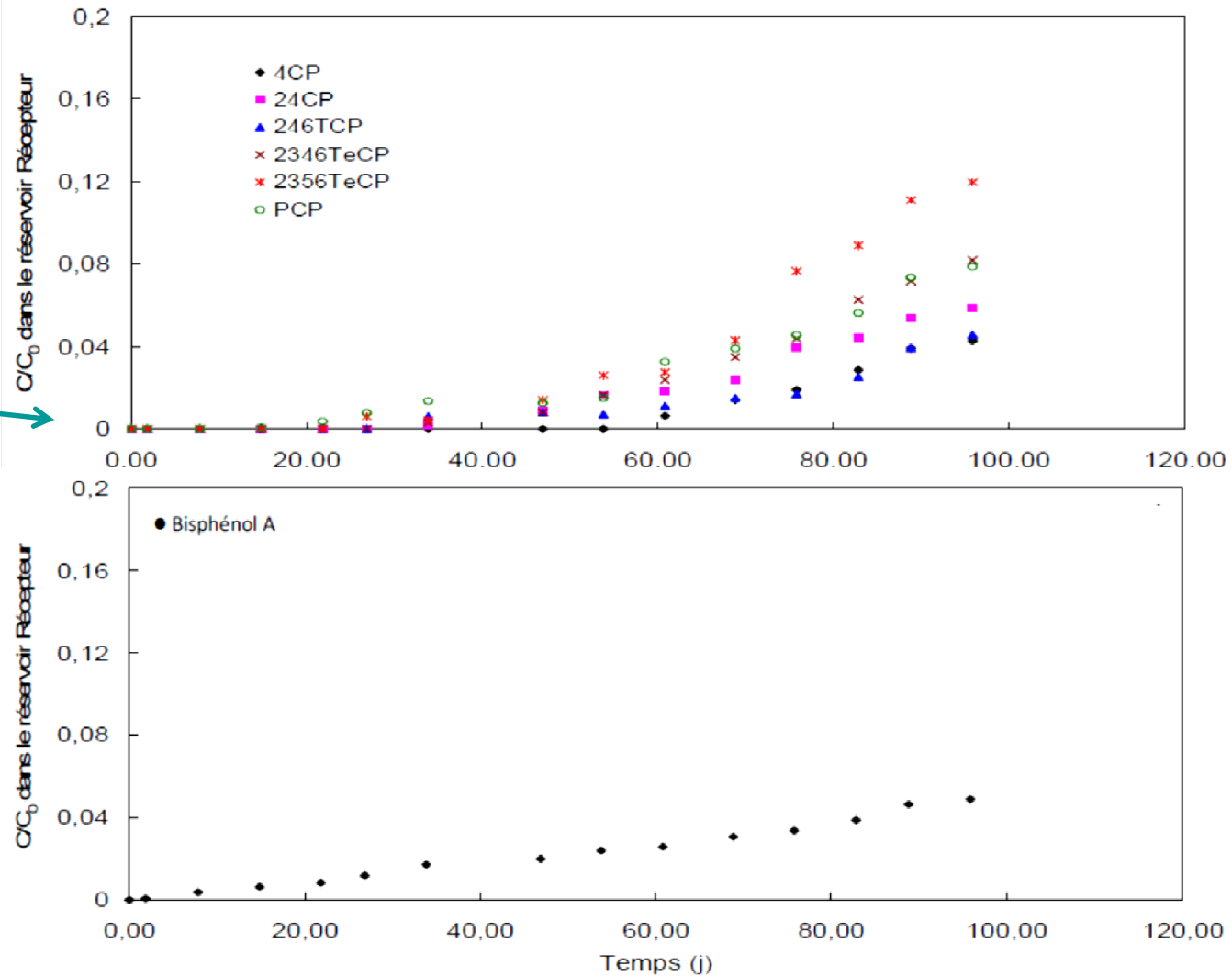


DIFFUSION À TRAVERS LES BARRIÈRES D'ÉTANCHÉITÉ

Introduction
des polluants



Matériau
d'étanchéité



La digestion anaérobie des déchets non dangereux

❖ COMPRENDRE LE FONCTIONNEMENT DES BIOPROCÉDÉS ANAÉROBES

- Les différentes étapes de dégradation des déchets
- Problème de l'azote ammoniacal dans les lixiviats de centres de stockage de déchets ménagers
- Identification des métabolismes et des acteurs microbiens responsables de la dégradation des déchets

❖ ÉVALUATION DES ÉMISSIONS POLLUANTES

- Identification des polluants à prendre en compte dans les études d'impacts environnementaux et sanitaires
- Evaluation des transferts de micropolluants à travers les barrières d'étanchéité des ISD
- Étude de l'écodynamique des micropolluants durant la digestion anaérobie

Concentrations des métaux dans les lixiviats

Concentrations en mg/l

	Danemark	Allemagne	Angleterre	Eau potable
Cd	0.006	0.005	< 0.04	0.005
Zn	0.67	0.6	< 0.47	5.0
Cu	0.07	0.065	< 0.17	1.3
Cr	0.08	0.28	< 0.05	0.1

Les concentrations des métaux dans les lixiviats sont faibles.

↳ Piégeage des métaux dans les déchets sous forme de précipité (sulfure, carbonate...) ou de complexes avec la matière organique.

Cependant, à long terme, Il pourrait y avoir relargage important de métaux lors du retour aux conditions aérobies.

La sulfo-oxydation : un risque à long terme ?

Principe de la sulfo-oxydation

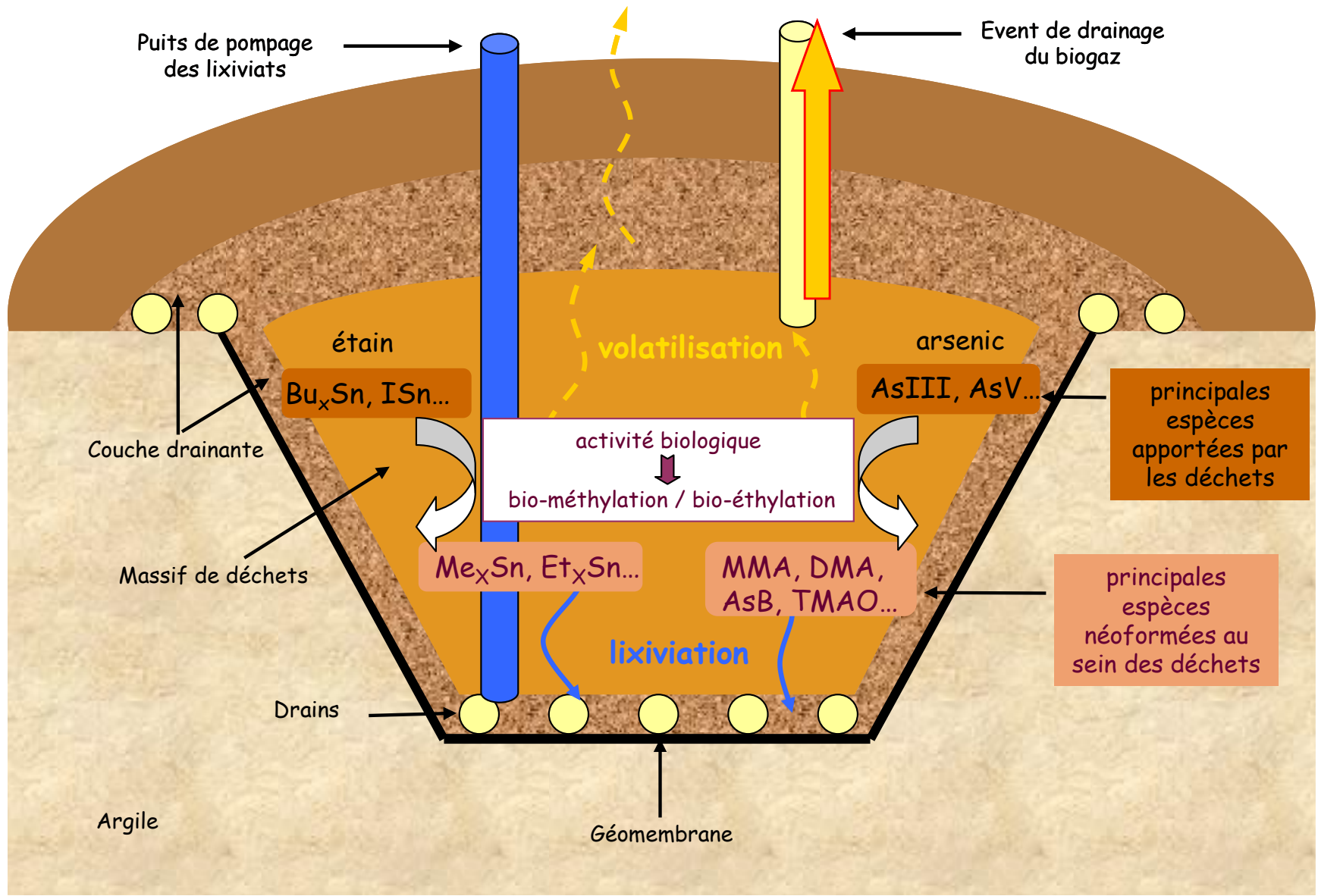
- Consommation de sulfures en présence d'oxygène ou de nitrates (DMA) :



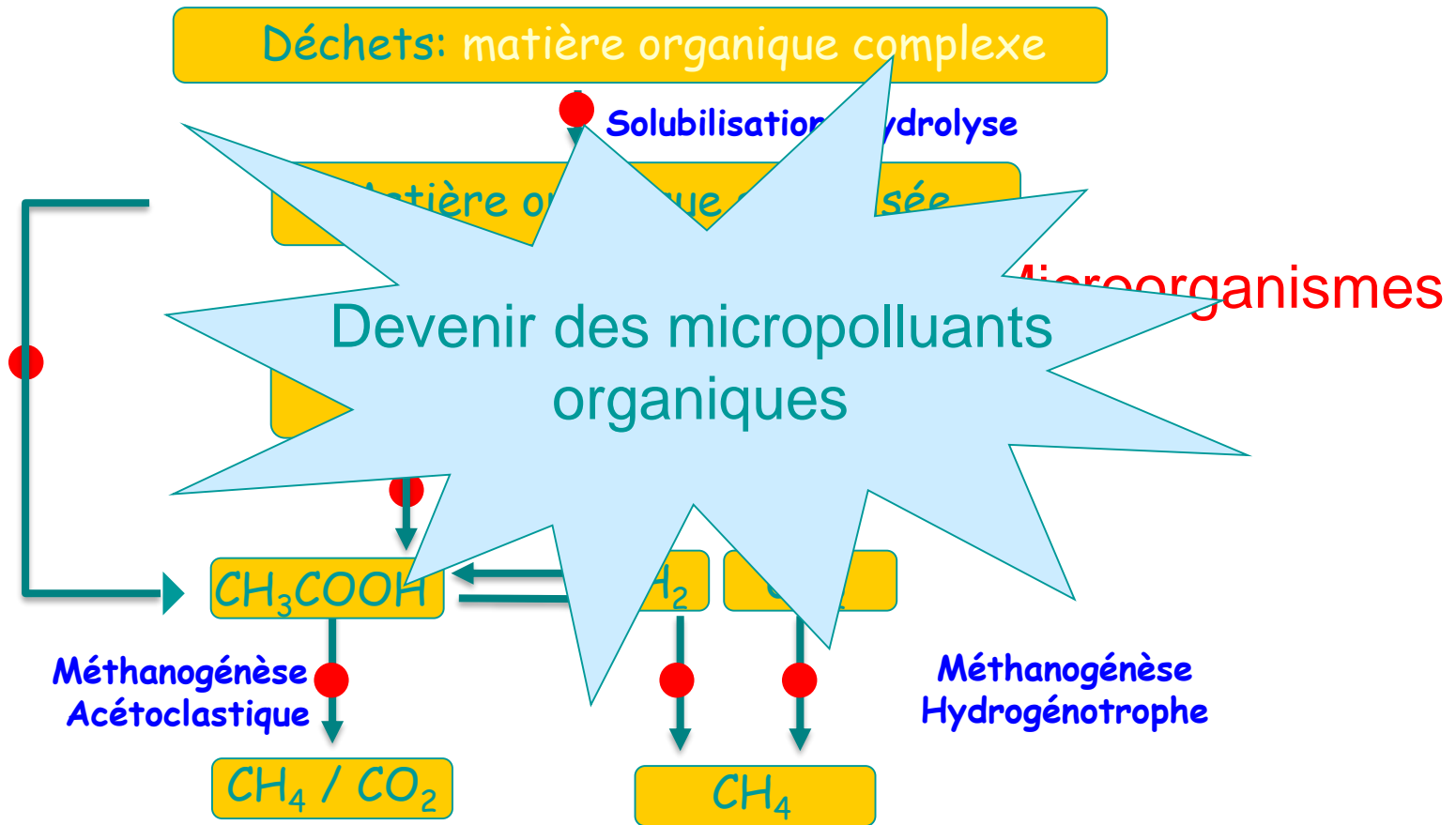
Conséquences :

- Baisse importante de pH
- Resolubilisation des sulfures, des hydroxydes et des carbonates

CYCLE BIOGEOCHIMIQUE DE L'ARSENIC DANS UNE ISD

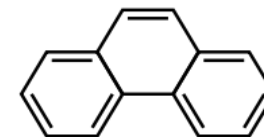
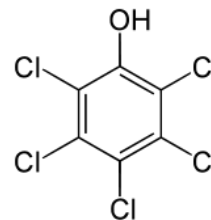
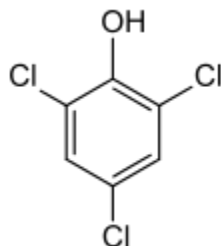
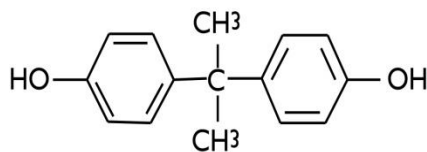


La digestion anaérobie: Méthanisation





ÉCODYNAMIQUE DES POLLUANTS ORGANIQUES



La mise en évidence de la disparition du polluant



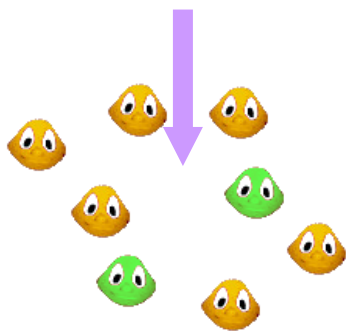
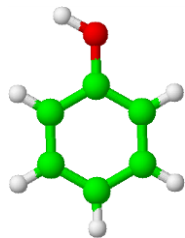
Abaissement de la toxicité

Car le polluant peut:

- 1- Être simplement adsorbé sur les déchets
- 2- Transformé en métabolite pouvant être plus toxique que le polluant initial

Approche moléculaire et isotopique

Composés phénoliques
marqués en ^{13}C



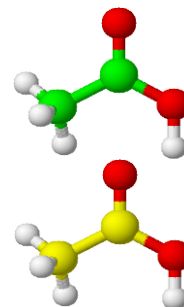
Dégradation sélective par
les microorganismes

Analyse
par
CPG-SM

+
Analyse par
CPG-SM
CPG+IRMS

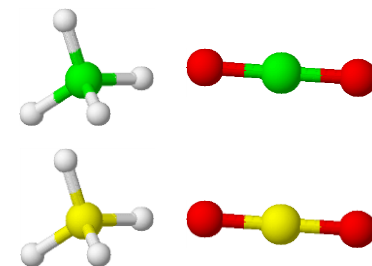
Métabolites
marqués en ^{13}C

+
Molécules en ^{12}C



^{13}C biogaz

^{12}C Biogaz

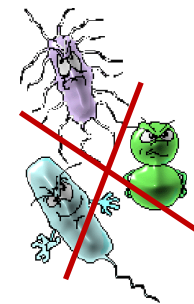
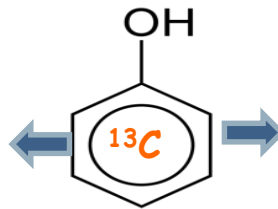
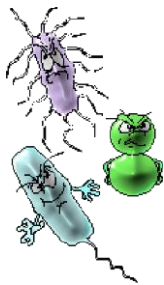


Analyse par
CPG-IRMS

➔ Suivi de la concentration du micropolluant

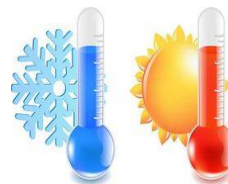
➔ Mise en évidence de la minéralisation du polluant

➔ Identification des produits de dégradation



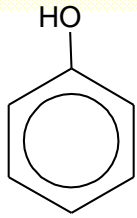
Incubation biotique

Incubation abiotique

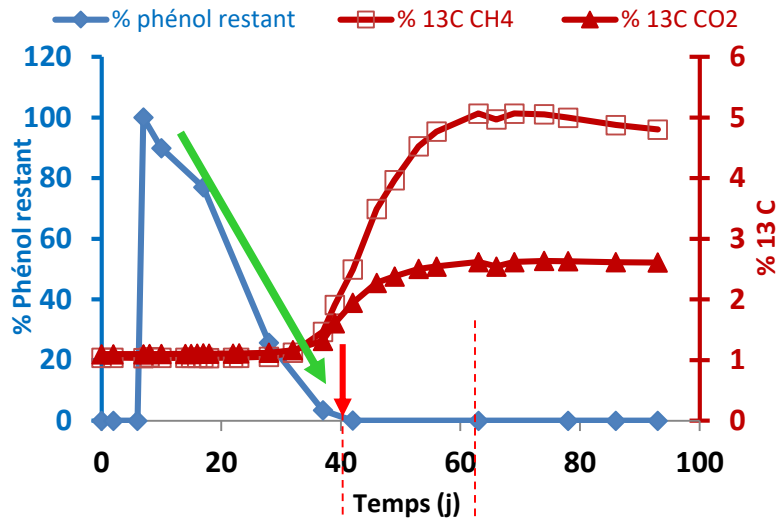


35°C 55°C

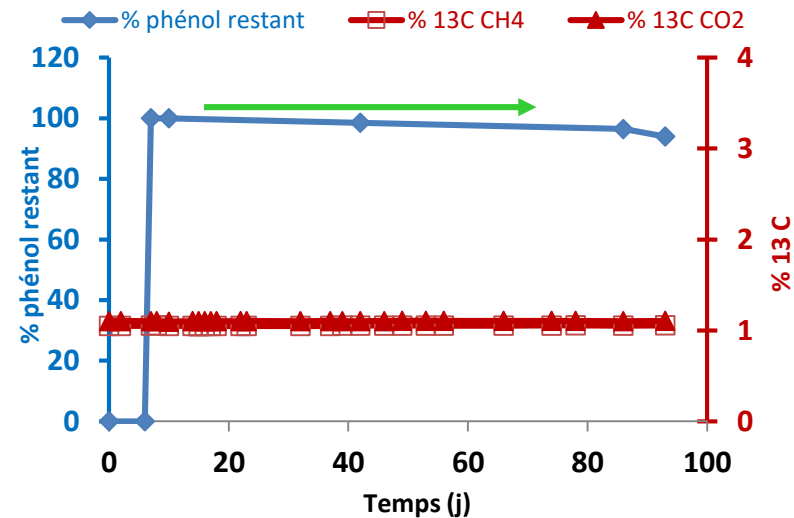
Etude de la dégradation du phénol T=35 ° C



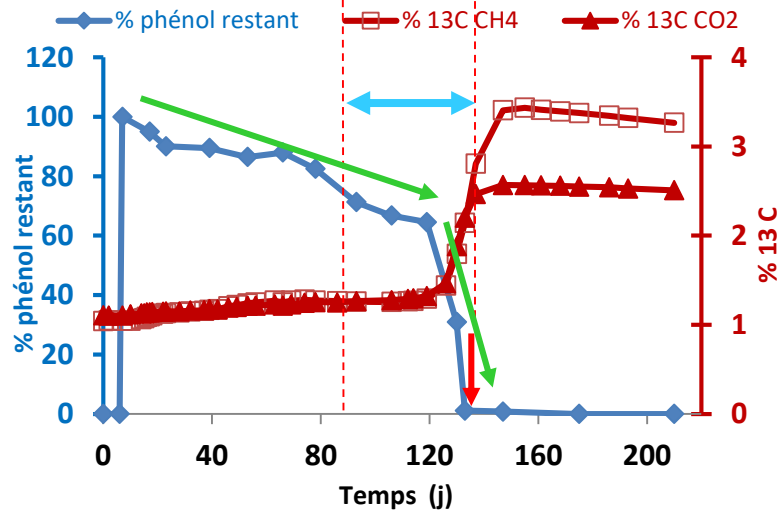
Incubation biotique 1



Incubation abiotique



Incubation biotique 2

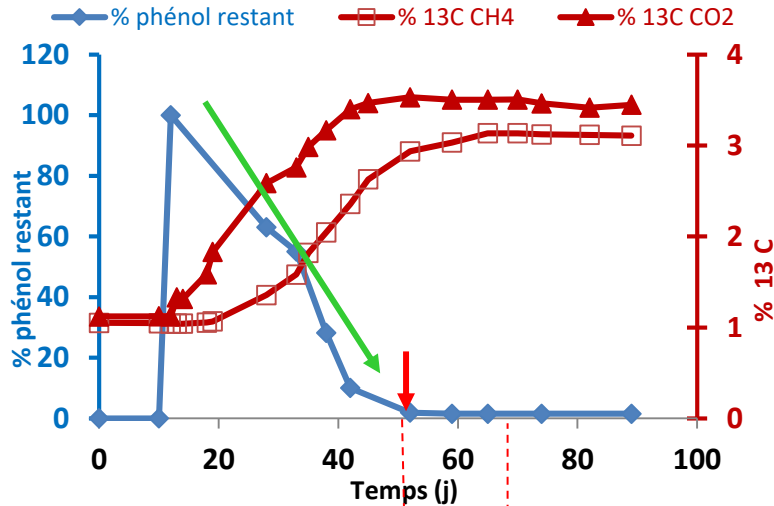


➡ Mise en évidence de la biodégradation et de la minéralisation du phénol en condition mésophile

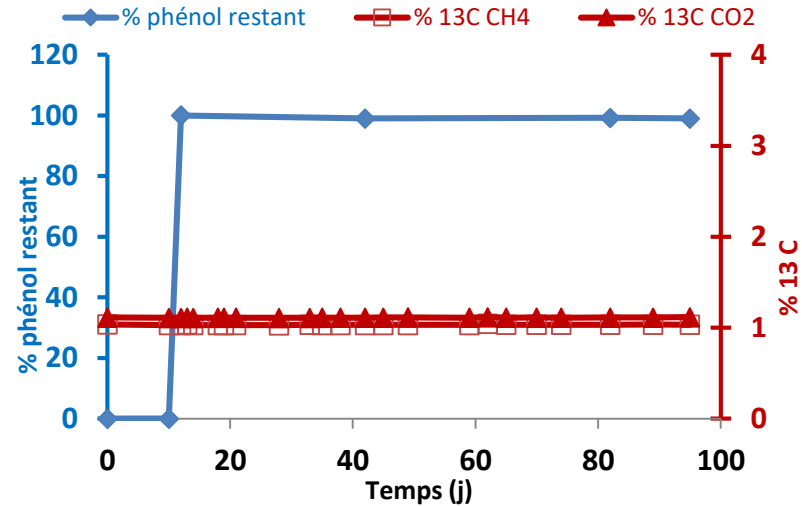
➡ Différence de cinétique de dégradation entre les duplicats 109

Incubations du phénol T=55 ° C

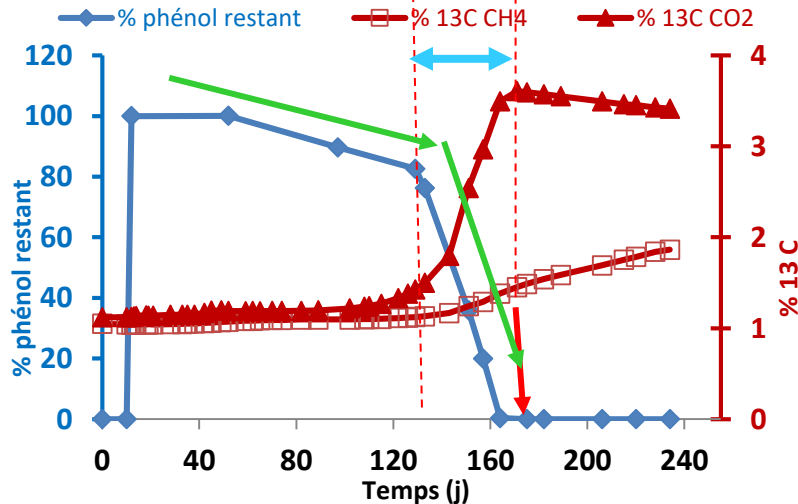
Incubation biotique 1



Incubation abiotique



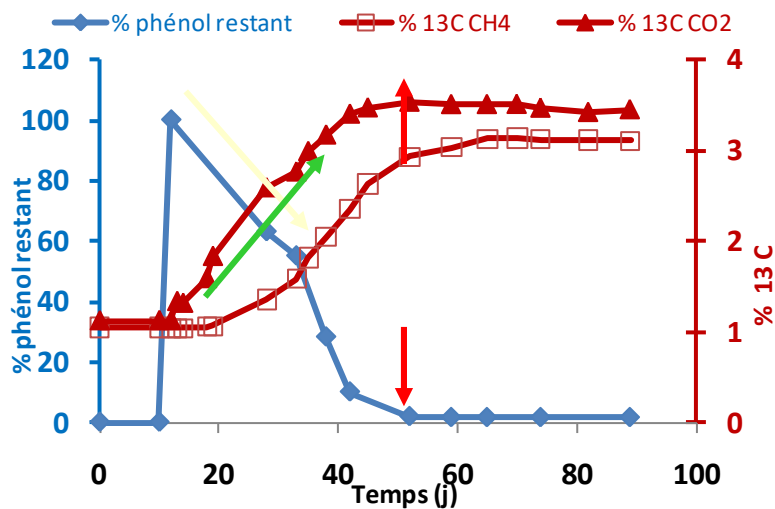
Incubation biotique 2



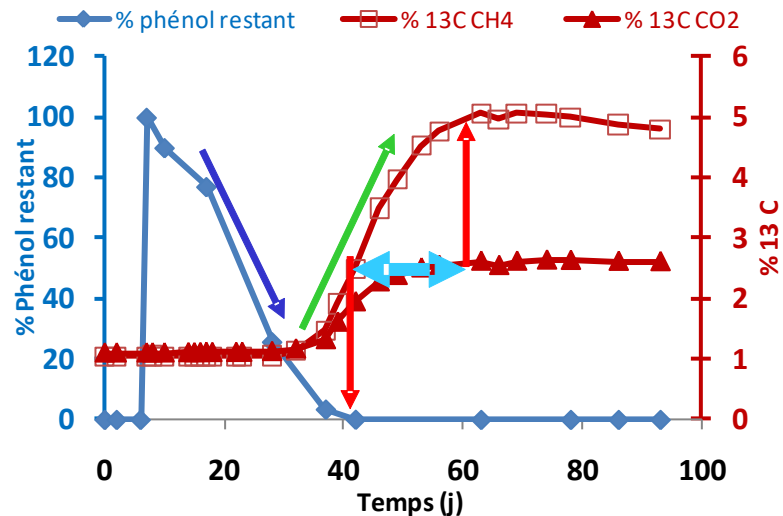
➡ Mise en évidence de la biodégradation et de la minéralisation du phénol en condition thermophile

➡ Différence de cinétique de dégradation entre les duplicats 110

Décalage entre la dégradation et la minéralisation à 35 et pas à 55° C

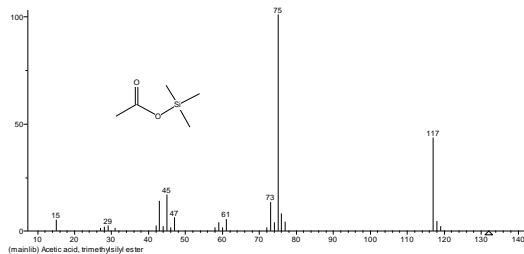
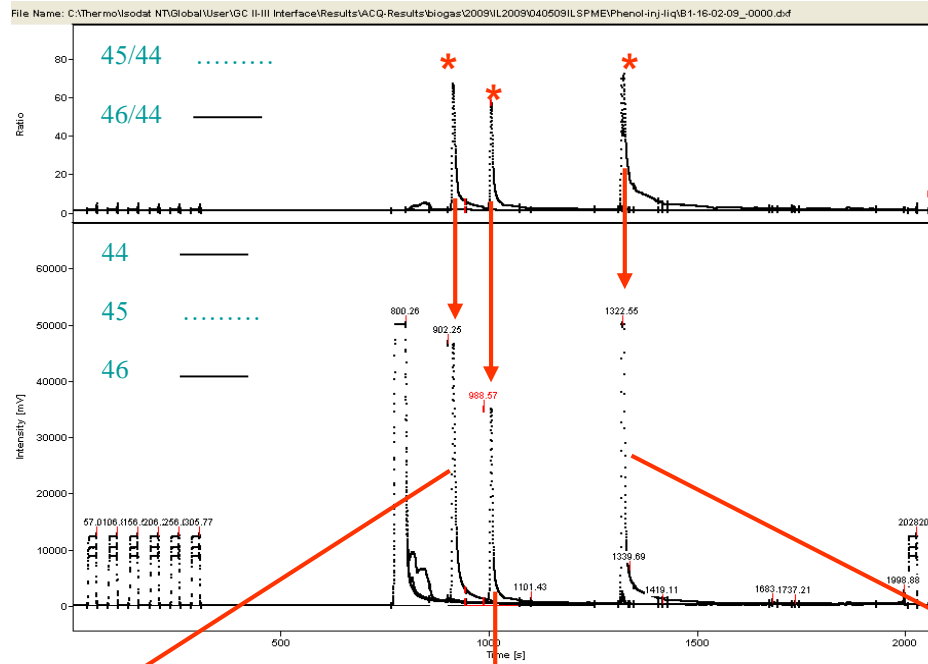


Incubation biotique 1
55° C

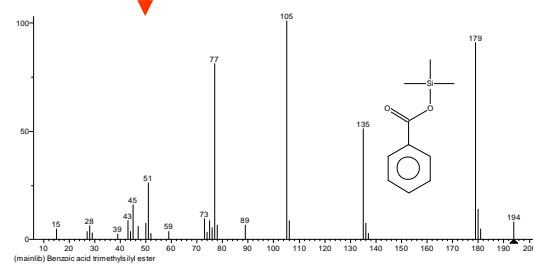


Incubation biotique 1
35° C

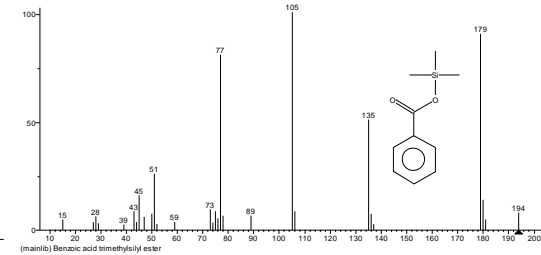
Identification des métabolites du phénol par CPG-IRMS et CPG-SM dans les incubations biotiques à T=35 ° C



ACIDE ACETIQUE



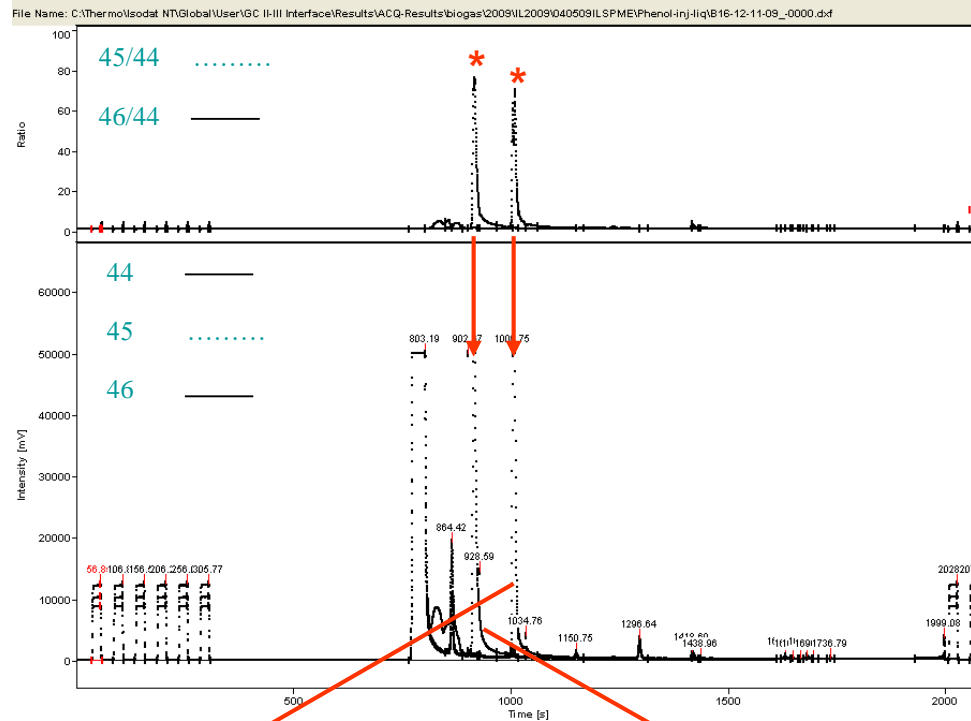
PHENOL



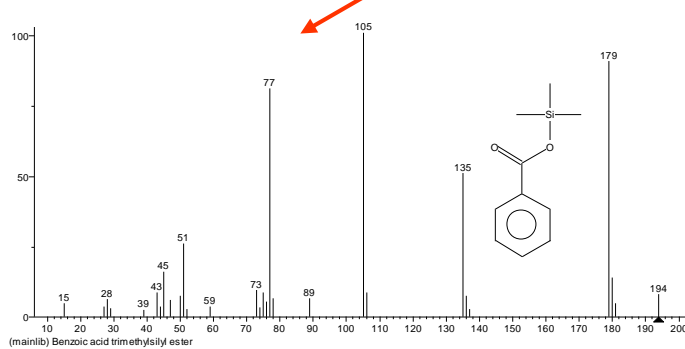
ACIDE BENZOIQUE

GC-MS

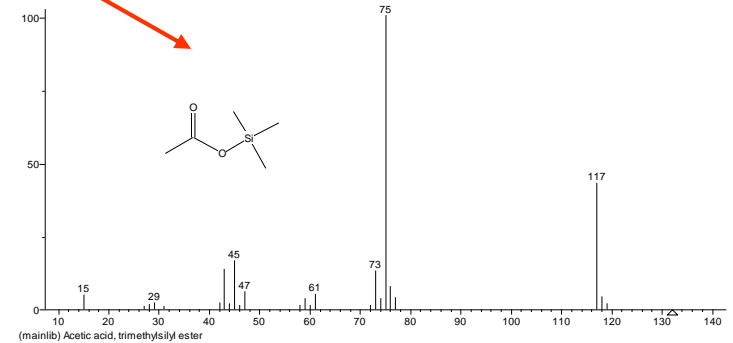
Identification des métabolites du phénol par CPG-IRMS et GC-MS dans les incubations biotiques à T=55 ° C



GC-IRMS



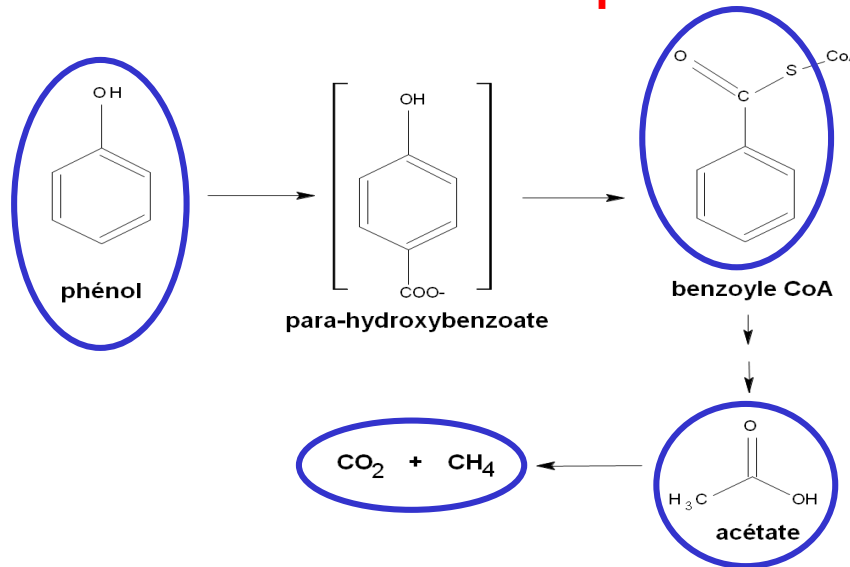
PHENOL



ACIDE ACETIQUE

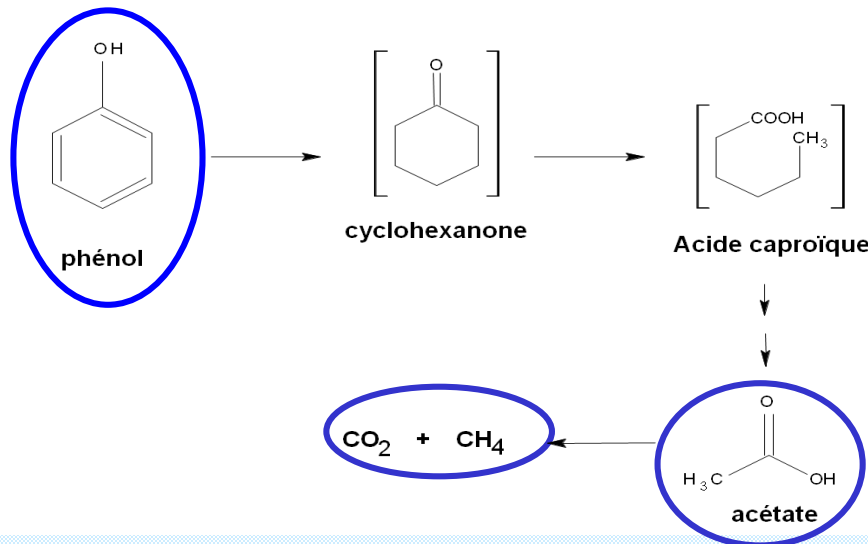
Voies métaboliques de dégradation anaérobie du phénol

Conditions mésophiles



On a bien identifié cette voie de dégradation dans nos incubations

Conditions thermophiles



Pas d'identification de certains intermédiaires

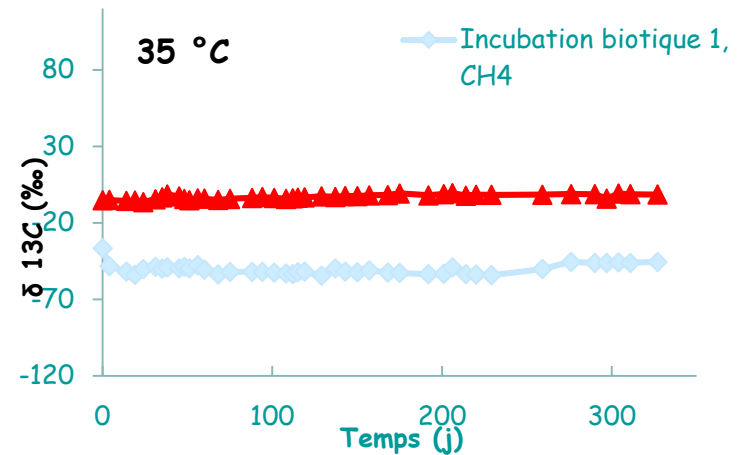
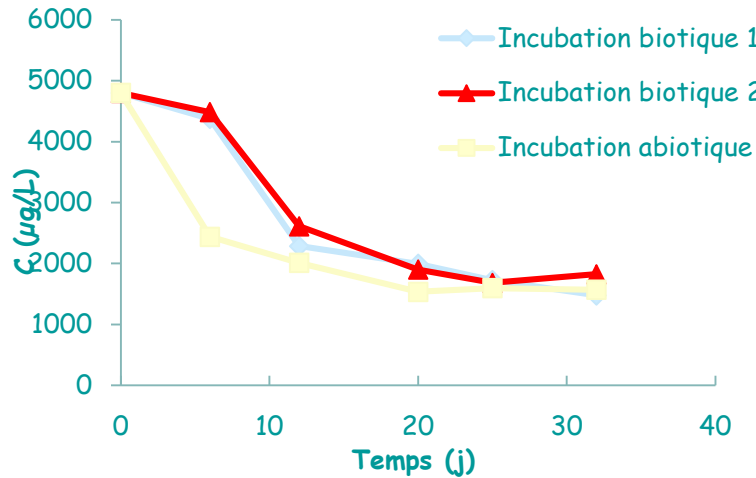
Soit autre voie utilisée
Ou pas d'accumulation des métabolites
car processus rapide

Suivi de la concentration du bisphénol-A dans les incubations par CPG-SM et de la composition isotopique du biogaz par CPG-IRMS

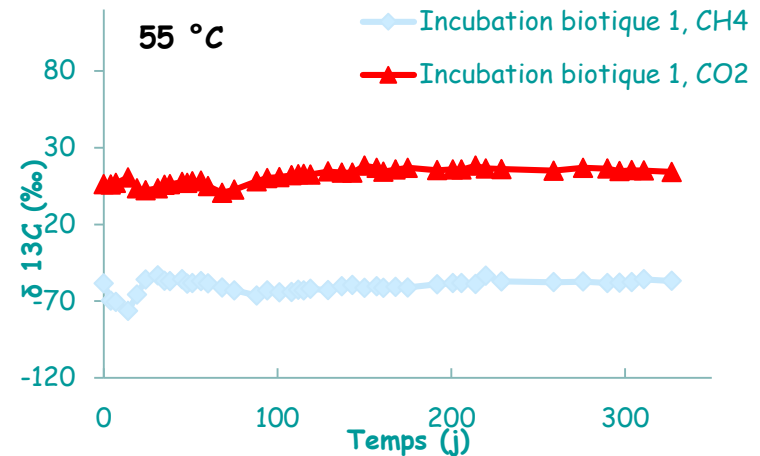
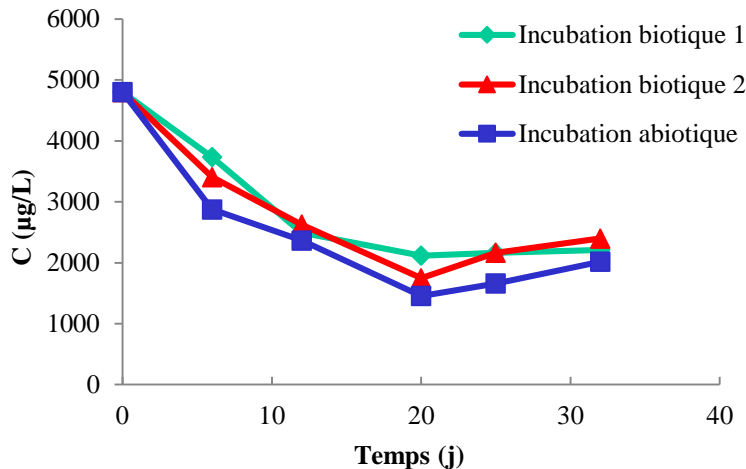
Suivi Moléculaire (CPG-SM)

Suivi isotopique (CPG-IRMS)

35°C



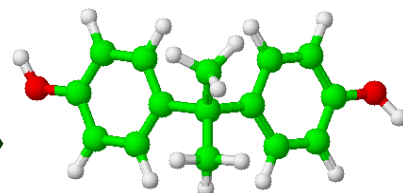
55°C



Pas de minéralisation du Bisphenol A mais certainement plutôt une adsorption sur les déchets

Introduction d'un deuxième inoculum

➔ Après 200 jours de suivi : réalisation de nouvelles incubations par des inocula provenant d'un digesteur de boues de STEP



Prélèvements gazeux

Dégradation du BPA-¹³C par les microorganismes



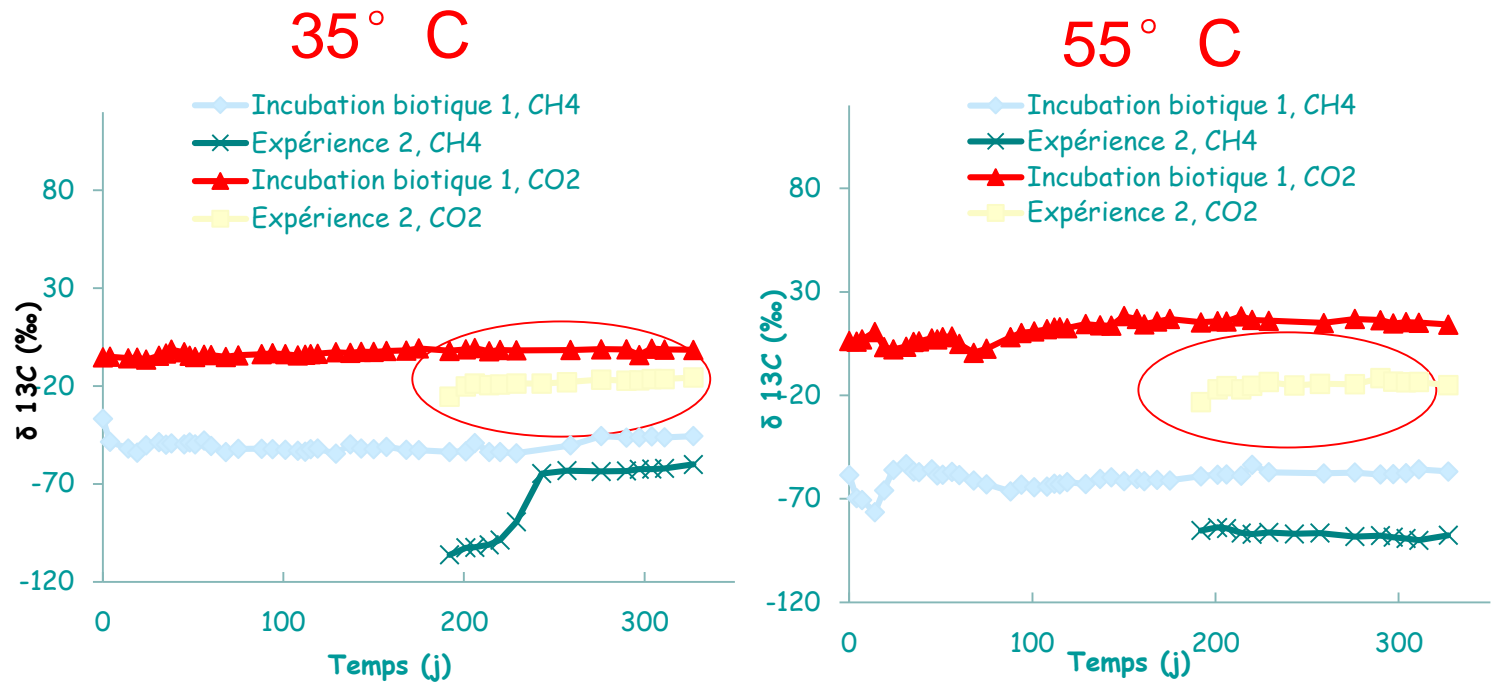
Prélèvements Liquide

Analyse quantitative : CPG-SM

Analyse des métabolites : CPG-IRMS & CPG-SM

Mise en évidence de la minéralisation par analyse de la composition isotopique du biogaz : CPG-IRMS

Suivi de la composition isotopique du biogaz dans les incubations biotiques par CPG-IRMS

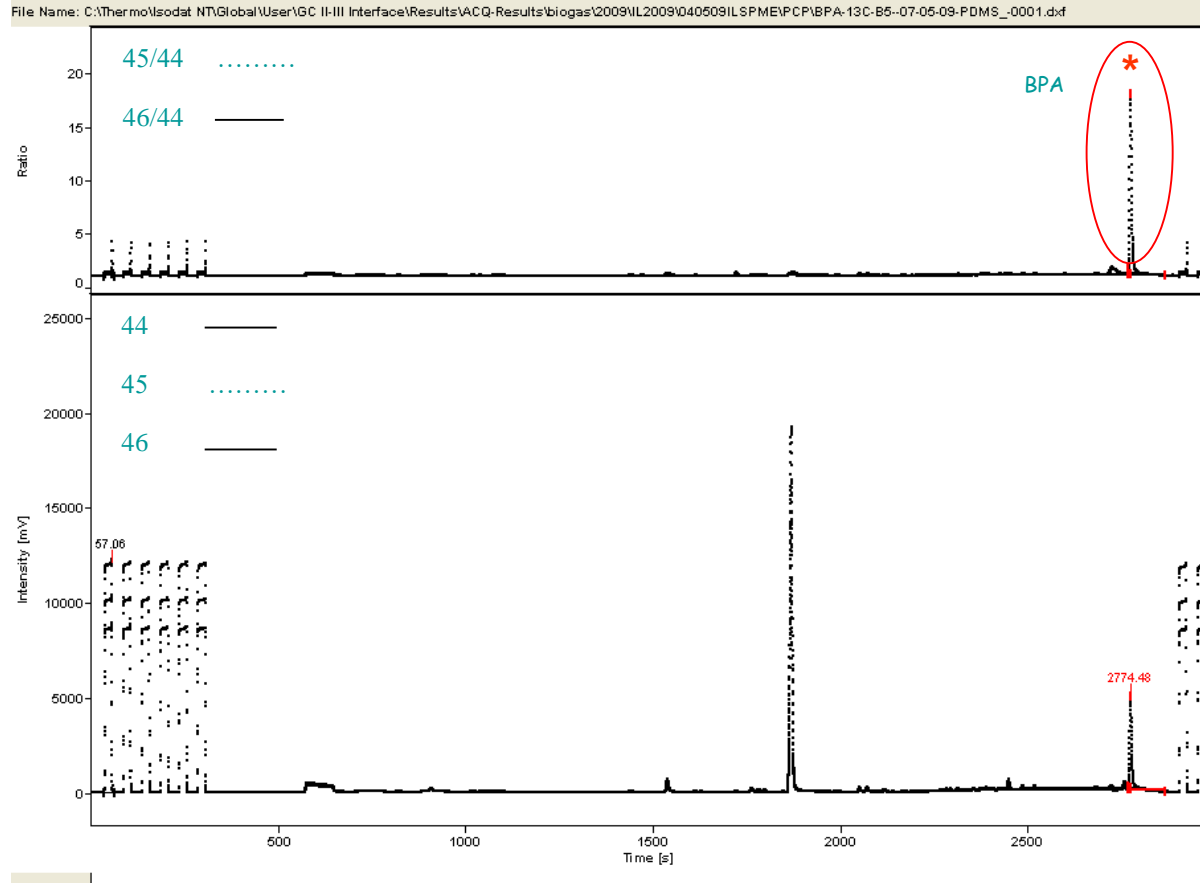


Absence de minéralisation du BPA même avec un second inoculum



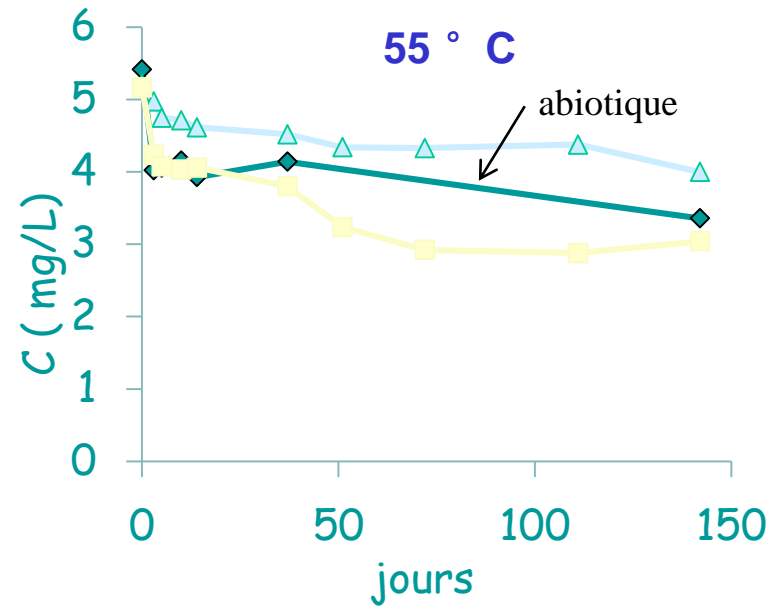
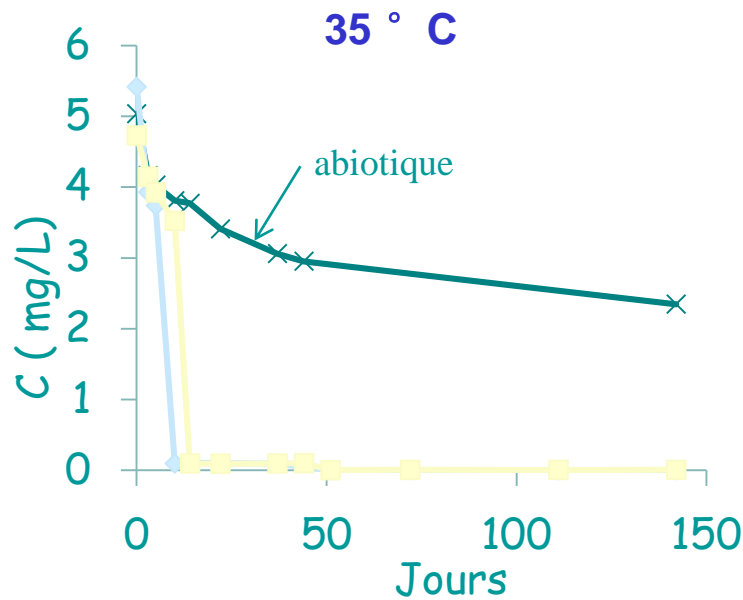
Le BPA apparaît réfractaire lors de la digestion anaérobie

Suivi des métabolites du bisphénol-A par CPG-IRMS



➔ **Persistance du BPA dans les incubations même après utilisation des inocula de digesteur de boues de STEP**
Le BPA apparaît réfractaire lors de la digestion anaérobie

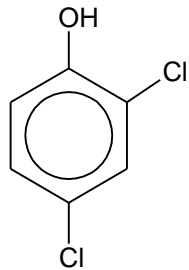
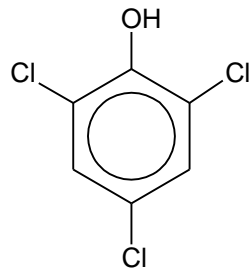
Analyse quantitative du $^{13}\text{C}_6$ -2,4,6-trichlorophénol



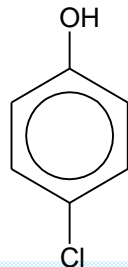
➡ Disparition de 2,4,6-TCP dans les incubations biotiques mésophiles, lors de la digestion anaérobie

➡ Persistance du 2,4,6-TCP à 55 ° C.

Identification des métabolites du $^{13}\text{C}_6$ -2,4,6-TCP dans les incubations à 35 ° C

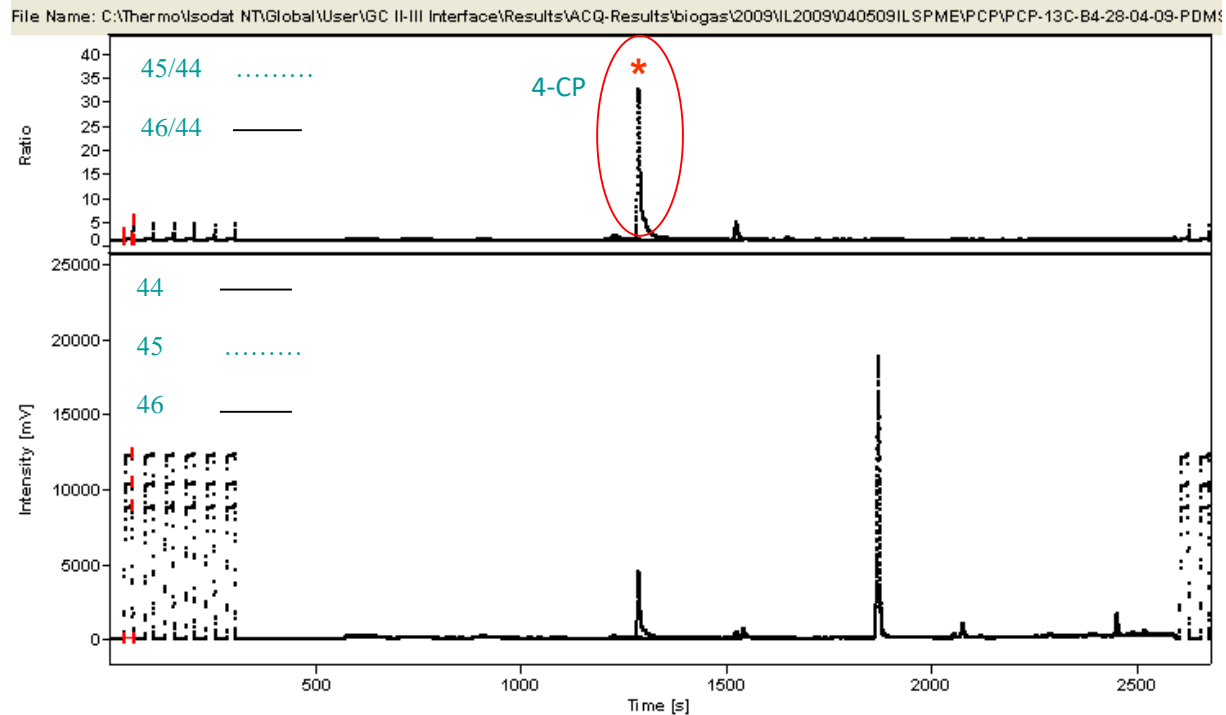


Présence du 2,4-DCP comme métabolite à 35 ° C



Persistance du 4-CP à 35 ° C

Persistence du métabolite $^{13}\text{C}_6$ -4-CP dans les incubations à 35 ° C



➔ **Persistence du 4-CP à 35 ° C et absence du phénol comme produit de dégradation du 4-CP**



➤ Chlorophénols

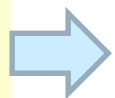
- Biodégradation jusqu'au 4-chlorophénol à 35°C
- Absence de biodégradation à 55°C

➤ Phénanthrène

- Absence de biodégradation à 35°C et 55°C
- Composé peu biodisponible en raison de son adsorption sur les déchets

➤ Bisphénol A

- Absence de biodégradation à 35°C et 55°C avec différents inocula



Identification des microorganismes responsables