

La Méthanisation thermophile permet de dégrader la chlordécone !

Introduction

Lors de la valorisation agricole de biomasse végétale et d'effluents d'élevage, il est nécessaire de veiller à éviter toute diffusion de pollution vers une zone non contaminée notamment dans le cas de contamination de ces matières organiques par la chlordécone (CLD) (Liber et al., 2020 ; Saint-Hilaire et al., 2021). Ainsi, leur valorisation énergétique par méthanisation, avec retour au sol de la matière organique, doit être associée avec la dégradation de la CLD.

Il est désormais établi que la transformation biotique de la CLD est possible, notamment en conditions réductrices. Elle se traduit par la formation de différents produits de transformation (PTs) (Chevallier et al., 2019; Lomheim et al., 2020; Della-Negra et al., 2020; Hellal et al., 2021). La biotransformation la plus rapide a été obtenue par Jablonski et al. (1996) en conditions méthanogènes en présence de l'archée *Methanosarcina thermophila*. Un profil de dégradation similaire a été obtenu avec la coenzyme F430 réduite isolée de cette archée. Le fait que cette coenzyme soit commune à toutes les archées méthanogènes (Ragsdale, 2009) suggère que ces archées ont toutes le potentiel de dégrader la CLD. Plus récemment, Macarie et al. (2014) ont testé la dégradation de la CLD en conditions méthanogènes dans un réacteur anaérobie continu et ont mis en évidence une légère augmentation de la concentration d'une monohydroCLD. Cependant, lors de ces études déjà anciennes, un certain nombre de PTs n'étaient pas connus et les méthodes analytiques insuffisantes pour obtenir une vision complète.

Nous avons décidé de mettre en place une nouvelle étude pour évaluer les capacités de digestats méthanogènes à dégrader la CLD.

Démarche expérimentale

Nous avons utilisé le digestat issu d'un chémostat alimenté en effluents bovins de la ferme expérimentale de l'ENSAIA, en conditions mésophiles, et un digestat issu de l'unité de méthanisation Méthavos de Sarreguemines fonctionnant en voie sèche continue, alimenté en déchets verts, fonctionnant en conditions thermophiles. Des bouteilles en verre ont été remplies avec un volume de digestat, des solutions de chlorure de cobalt(II) hexahydraté et de glucose. La solution de CLD dans l'éthanol a été ajoutée sauf pour les témoins négatifs. Les bouteilles ont été incubées dans l'obscurité à 37,5 °C pour les conditions mésophiles et à 55 °C pour les conditions thermophiles. La production de biogaz a été suivie tout au long de la période d'incubation. 3 répétitions biologiques ont été arrêtées à chaque temps d'incubation (T0, T5, T20 et T40 jours) ; le pH et le potentiel rédox ont été mesurés, et les digestats ont été analysés. Chaque bouteille a été extraite 2 fois avec un protocole d'extraction QuEChERS, optimisé pour ces matrices. Chaque extrait a été analysé successivement en LC-HRMS (pour quantifier la CLD et les PTs des familles A et C) et GC-MS (pour suivre les PTs de la famille B, le chlordécol et le chlordecthiol).

Principaux résultats

La production de biogaz n'a pas été affectée dans les bouteilles supplémentées avec de la CLD, comme en témoigne une production similaire avec les témoins négatifs (sans CLD), dans les deux conditions. La production totale de biogaz est 3 fois plus élevée dans les bouteilles thermophiles par rapport aux bouteilles mésophiles. Les valeurs de pH étaient comprises entre 7,2 et 7,6 pour les conditions

mésophiles ; tandis que des valeurs plus élevées ont été observées dans les conditions thermophiles (7,8 et 8,2). La méthanisation s'est donc déroulée normalement malgré la présence de CLD et a généré des conditions de pH et rédox théoriquement favorables à la dégradation du contaminant introduit.

La concentration moyenne en CLD dans les bouteilles T0 mésophiles (bouteilles remplies de digestat, dopées en CLD et stockées immédiatement à -20°C) a été déterminée à $18,9\pm 1,2 \text{ mg.L}^{-1}$. Une diminution significative à $11,1\pm 1,5 \text{ mg.L}^{-1}$ a été obtenue après 40 jours d'incubation (Figure 1, A). Le suivi des hydroCLD a conduit à la détection de la 10-monohydroCLD, A1, après 5 jours d'incubation. Sa concentration augmente avec le temps pour atteindre $1,4\pm 0,2 \text{ mg.L}^{-1}$ après 40 jours. Deux dihydroCLD, la 2,8-dihydroCLD (A3) et une autre non identifiée, ont été détectées à l'état de traces dès le 5^{ème} jour (<LOQ). Les deux tétrachloroindènes B3/B4 ont été détectés, à T5 avec une concentration croissante, atteignant $0,07\pm 0,01 \text{ mg.L}^{-1}$ à T40 (Figure 1, B). De plus, 4 PTs appartenant à la famille C, les acides tétrachloroindène-carboxyliques C1/C2 et les trichloroindène-carboxyliques C3/C4, ont été détectés à T5. Leurs concentrations augmentaient jusqu'à T40 pour atteindre $0,35\pm 0,04$ et $0,26\pm 0,02 \text{ mg.L}^{-1}$, respectivement. La diminution de la concentration en CLD en condition mésophile a été donc concomitante à l'apparition de plusieurs PTs appartenant à différentes familles : les hydroCLD, (A1, dihydroCLDs), les polychloroindènes (B1, B3/B4), et les acides polychloroindène carboxyliques (C1/C2, C3/C4). Ces résultats concordants indiquent une dégradation significative de la CLD en conditions mésophiles.

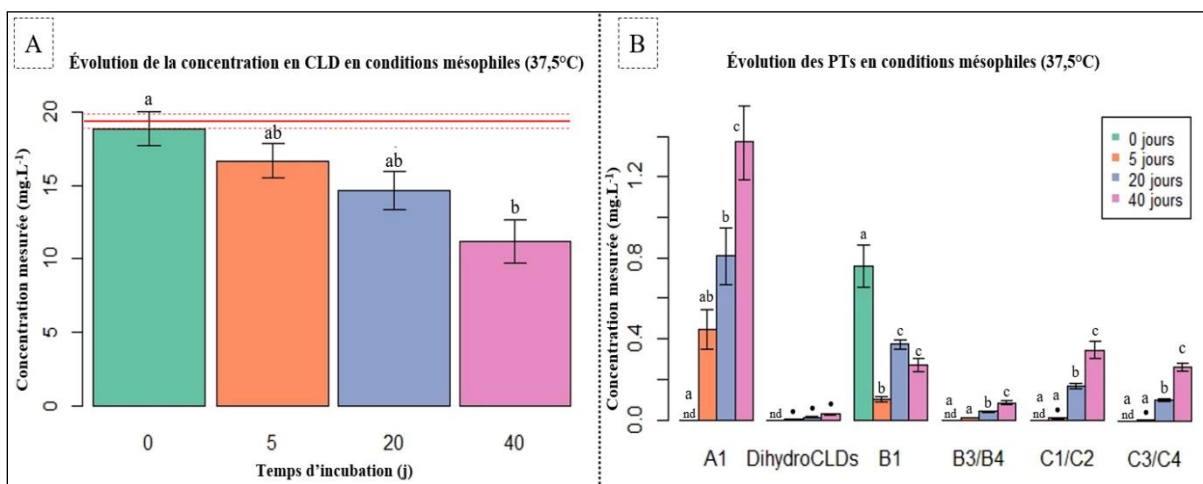


Figure 1. Évolution de la CLD (A) et de ses PTs (B) en conditions mésophiles (37,5°C). Les lignes rouges représentent la concentration initiale théorique en CLD ($19,4\pm 0,5 \text{ mg.L}^{-1}$). Les barres d'erreur représentent les erreurs standard ($n = 6$ extractions : 3 répétitions biologiques, 2 extractions chacune) ; des lettres minuscules différentes indiquent une différence significative entre les concentrations moyennes et les temps d'incubation associés (Tukey's HSD p -value < 0,05) ; B2, CLDOH, F1 < LOD. ● : < LOQ ; nd : non détecté.

Une concentration moyenne de $17,4\pm 0,3 \text{ mg.L}^{-1}$ en CLD a été déterminée dans les bouteilles T0 thermophiles. Cette concentration a significativement diminué pour atteindre $2,5\pm 0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ après 40 jours. En parallèle, les mêmes PTs observées en conditions mésophiles ont été observées, mais avec des concentrations 2 à 3 fois plus élevées en conditions thermophiles.

Tous ces PTs ont été détectés dès le 5^{ème} jour d'incubation et leurs concentrations ont augmenté d'une manière significative au cours du temps. A1 a atteint une concentration finale de $1,5\pm 0,02 \text{ mg.L}^{-1}$ à T40, alors que la somme des deux dihydroCLDs était de $0,08\pm 0,004 \text{ mg.L}^{-1}$. Le B1, le seul PT détecté à T0 à l'état de traces, a augmenté jusqu'à $0,77\pm 0,04 \text{ mg.L}^{-1}$ après 40 jours. Simultanément, B3/B4, C1/C2 et

C3/C4 ont été mesurés à $0,19 \pm 0,01 \text{ mg.L}^{-1}$, $0,72 \pm 0,21 \text{ mg.L}^{-1}$ et $0,82 \pm 0,23 \text{ mg.L}^{-1}$, respectivement à T40 (Figure 2).

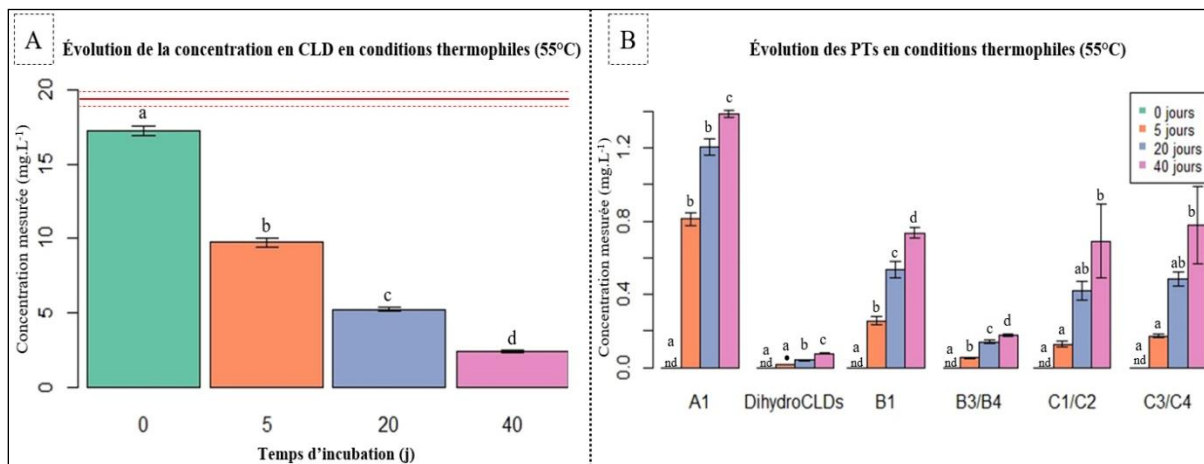


Figure 2. Évolution de la CLD (A) et de ses PTs (B) en conditions thermophiles (55°C). Les lignes rouges représentent la concentration initiale théorique en CLD ($19.4 \pm 0.5 \text{ mg.L}^{-1}$). Les barres d'erreur représentent les erreurs standard ($n = 6$) ; les lettres minuscules différentes indiquent une différence significative entre les concentrations moyennes et les temps d'incubation associés (Tukey's HSD p -value < 0,05). B2 a été détecté à l'état de traces à T40. CLDOH et F1 < LOD. ● : < LOQ ; nd : non détecté.

La diminution importante des concentrations de CLD combinée à l'apparition simultanée de différents PTs des familles A, B et C, confirment qu'une forte dégradation de la CLD a été obtenue durant la méthanisation en conditions thermophiles. Ce résultat élimine l'hypothèse d'une fixation massive de la CLD dans la matrice du digestat.

Dans les deux conditions étudiées, la monohydroCLD A1 est le principal PT formé. De très faibles quantités d'hydroCLD plus déchlorés sont également retrouvées. Le pentachloroindène B1 et les acides tétrachloro- et trichloro-indènedicarboxyliques, C1/C2 et C3/C4, représentent les autres PTs principaux issus de l'ouverture de la cage bishomocubane de la CLD.

Conclusion

Cette étude est la preuve de concept de l'intérêt de la méthanisation pour dégrader la CLD. La présence de la CLD, même à des concentrations élevées, irréalistes sur le terrain, n'a aucun effet sur la production de biogaz. Bien si les même 11 PTs ont été détectés dans les deux conditions étudiées, la dégradation de la CLD est plus efficace en conditions thermophiles (55°C) avec un taux d'abattement de plus de 80% en 40 jours. La différence de température combinée à la différence de microbiote explique sans doute la supériorité du traitement thermophile. L'ensemble de ces résultats sont valorisés dans une publication récemment parue dans le journal *Science of The Total Environment* (Martin et al., 2023). L'absence d'une minéralisation complète de la CLD durant la méthanisation pose cependant la question des risques éventuels liés à l'accumulation de ses PTs dans le digestat. Par conséquent, la dégradabilité des principaux PTs formés au cours de cette étude et celle du chlordécol, présent dans les déjections animales, devra être étudiée plus en détails.

Contacts

Perla ALNAJJAR⁽¹⁾, Déborah MARTIN⁽²⁾, Delphine MUSELET⁽²⁾, Claire SOLIGOT-HOGNON⁽¹⁾, Hussein KANSO⁽²⁾, Stéphane PACAUD⁽³⁾, Cyril FEIDT⁽¹⁾, Pierre-Loïc SAAIDI⁽²⁾, Yves LE ROUX^(1,3)

(1) URAFPA, Université de Lorraine, 2 Avenue de la Forêt de Haye, 54505 Vandœuvre-Lès-Nancy, France – perla.alnajar@univ-lorraine.fr

(2) UMR 8030 Génomique Métabolique, CEA, Institut de Biologie François Jacob, Genoscope, Université d'Evry Val d'Essonne, Université Paris-Saclay, Evry, France – plsaaidi@genoscope.cns.fr

(3) Agrométhas, Chaire industrielle-ENSAIA, 54280 Champenoux, France



Bibliographie citée

- Chevallier, M. L., Della-Negra, O., Chaussonnerie, S., Barbance, A., Muselet, D., Lagarde, F., Darij, E., Ugarte, E., Lescop, E., Fonknechten, N., Weissenbach, J., Woignier, T., Gallard, J.-F., Vuilleumier, S., Imfeld, G., Le Paslier, D., & Saaidi, P.-L. (2019). Natural Chlordecone Degradation Revealed by Numerous Transformation Products Characterized in Key French West Indies Environmental Compartments. *Environmental Science & Technology*, 53(11), 6133–6143. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b06305>
- Della-Negra, O., Chaussonnerie, S., Fonknechten, N., Barbance, A., Muselet, D., Martin, D. E., Fouteau, S., Fischer, C., Saaidi, P.-L., & Le Paslier, D. (2020). Transformation of the recalcitrant pesticide chlordecone by *Desulfovibrio* sp. 86 with a switch from ring-opening dechlorination to reductive sulfidation activity. *Scientific Reports*, 10(1), 1–14.
- Hellal, J., Saaidi, P.-L., Bristeau, S., Crampon, M., Muselet, D., Della-Negra, O., Mauffret, A., Mouvet, C., & Joulain, C. (2021). Microbial Transformation of Chlordecone and Two Transformation Products Formed During in situ Chemical Reduction. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2021.742039>
- Jablonski, P. E., Pheasant, D. J., & Ferry, J. G. (1996). Conversion of Kepone by *Methanosarcina thermophila*. *FEMS Microbiology Letters*, 139(2–3), 169–173. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1996.tb08198.x>
- Liber, Y., Cornet, D., Tournebize, R., Feidt, C., Mahieu, M., Laurent, F., Bedell, J.-P., 2020. A Bayesian network approach for the identification of relationships between drivers of chlordecone bioaccumulation in plants. *Environmental Science and Pollution Research*, 27 (33), 41046–41051.
- Lomheim, L., Laquitaine, L., Rambinaising, S., Flick, R., Starostine, A., Jean-Marius, C., Edwards, E. A., & Gaspard, S. (2020). Evidence for extensive anaerobic dechlorination and transformation of the pesticide chlordecone (C10Cl10O) by indigenous microbes in microcosms from Guadeloupe soil. *PloS One*, 15(4), e0231219.
- Macarie H. Labrousse Y., Amic A., Soler A., Bristeau S., Mouvet C. (2014). Devenir de la chlordercone en conditions méthanogéniques. 44ème congrès du Groupe Français des Pesticides, 26-29 mai 2014, Schoelcher, Martinique, France. (<http://www.manioc.org/fichiers/V14184>)
- Martin, D. E., Alnajar, P., Muselet, D., Soligot-Hognon, C., Kanso, H., Pacaud, S., Le Roux, Y., Saaidi, P.-L., & Feidt, C. (2023). Efficient biodegradation of the recalcitrant organochlorine pesticide chlordecone under methanogenic conditions. *Science of The Total Environment*, 903, 166345. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.166345>
- Ragsdale, S. W. (2009). Nickel-based Enzyme Systems. *The Journal of Biological Chemistry*, 284(28), 18571–18575. <https://doi.org/10.1074/jbc.R900020200>
- Saint-Hilaire, M., Fourcot, A., Bousquet-Mélou, A., Rychen, G., Thomé, J.-P., Parinet, J., Feidt, C., & Fournier, A. (2021). Characterization and quantification of chlordecone elimination in ewes. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 87, 103698. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2021.103698>