



HAL
open science

Evaluation biochimique de la transformation de la chlordécone par l'utilisation de biocatalyseurs fongiques

Christian Mougin

► **To cite this version:**

Christian Mougin. Evaluation biochimique de la transformation de la chlordécone par l'utilisation de biocatalyseurs fongiques. Cahiers du PRAM, 2011, 9-10, pp.37-39. hal-01601682

HAL Id: hal-01601682

<https://hal.science/hal-01601682>

Submitted on 29 May 2020

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.

4) PLAN DE RECHERCHE PROPOSÉ

4.1) Evaluation de modèles de désorption-adsorption et de disponibilité de la chlordécone: surfactants, biosurfactants, solvants

Une première phase d'expérimentations devra être menée afin de déterminer le coefficient d'hystérèse de la chlordécone sur les sols antillais et d'évaluer les effets des surfactants et des solvants sur la désorption et la disponibilité de la molécule. Ces informations pourront ensuite être utilisées aussi bien pour les études de faisabilité des traitements abiotiques que pour les expérimentations sur les bioréacteurs (en suspension). D'après notre expérience, les surfactants non ioniques et les biosurfactants sont les plus appropriés et constituent donc la priorité, au même titre que l'huile de silicone concernant les solvants.

4.2) Etudes sur l'élimination de la chlordécone par des procédés abiotiques : le fer à valence zéro (FVZ) pour la déchloration ; l'ozone pour l'ouverture de la cage

Dans un deuxième temps, les effets du FVZ sur la chlordécone retrouvée dans les eaux de lavage des sols doivent être identifiés à l'occasion de ces essais, c'est la déchloration de la molécule qui est attendue, non l'ouverture de sa cage. Le rapport de masse chlordécone/FVZ ainsi que la taille des particules de fer vont constituer des variables indépendantes. Il est possible d'intégrer d'autres métaux de valence zéro, soit seuls, soit couplés au FVZ.

En ce qui concerne l'évaluation de l'ozonation sur le lavage des sols, les tests vont être réalisés

lors d'essais en batch (milieu non renouvelé). Le débit d'ozone et la durée de l'opération seront les variables indépendantes. Dans ce cas, c'est l'ouverture du cycle de la molécule de chlordécone grâce aux réactions d'oxydation qui est escomptée. Une déchloration due à l'ozonation est également attendue, bien qu'il soit encore trop tôt pour en mesurer/estimer la portée.

4.3) Evaluation de la bioremédiation, en bioréacteurs, ayant recours à des accepteurs d'électron en simultané ou en séquence

La troisième partie du plan de recherche consiste en l'étude de la faisabilité de la remédiation des sols pollués par la chlordécone à l'aide des bioréacteurs (en suspension). Les facteurs ou variables indépendantes à considérer ici sont les suivants :

- Les différentes combinaisons d'accepteurs d'électron : seqM-A (phase A bactérienne), seqM-A (phase A fongique), seqDH-A (phase A bactérienne) où DH (déhalogénéation) est utilisé pour l'étape de bioaugmentation avec des bactéries déhalospirantes ;
- Les effets du type et des quantités de co-substrats (mélasses, vinasses, saccharose) ;
- Les effets sur la durée de traitement.

4.4) Etudes sur la possible intégration des techniques abiotiques aux bioréacteurs

En fonction des résultats obtenus pour les parties 4.2 et 4.3, les procédés intégrant une phase de traitement abiotique suivie d'une étape d'élimination par des voies biologiques pourront être considérés.



Christian Mougín
 Directeur de recherche
 UR251 - Physico-chimie
 et Ecotoxicologie des
 Sols d'Agrosystèmes
 Contaminés
 INRA - Institut National
 de la Recherche
 Agronomique
 Route de Saint-Cyr,
 78026 VERSAILLES
 Cedex, FRANCE
 E-mail :
 mougín@versailles.inra.fr

Figure 1 : différents champignons ligninolytiques dont *Phanerochaete chrysosporium* en erlen, crédit photo C. Mougín

Evaluation biochimique de la transformation de la chlordécone par l'utilisation de biocatalyseurs fongiques

CONTEXTE: BIOTRANSFORMATION DE LA CHLORDÉCONE

La persistance de la chlordécone, insecticide cyclodiené très fortement chloré, s'explique à la fois par sa forte affinité pour la matière organique du sol mais aussi sa structure chimique particulière, qui la rend récalcitrante à la biodégradation. Depuis les années 80, de nombreuses synthèses bibliographiques (les plus récentes Bath *et al.*, 2007 ; Rubilar *et al.*, 2008) présentent les mécanismes microbiens et fongiques impliqués dans la déhalogénéation et la transformation des produits chimiques chlorés, mais sans aborder le cas spécifique de la chlordécone. Les quelques publications qui traitent de la biodégradation de cet insecticide suggèrent le plus souvent sa transformation en molécules voisines, la monohydro- et la dihydro-chlordécone. Ainsi, il a été montré que, dans des cultures en milieu liquide, des *Pseudomonas* transformaient la chlordécone en ces deux composés (George and Claxton, 1988). Chez l'homme et plusieurs vertébrés, la chlordécone est réduite en chlordécol (Fariss *et al.*, 1980; Soine *et al.*, 1983 ; van Velde P.A. *et al.*, 1984). Les métabolites fonctionnalisés peuvent ensuite être conjugués à des composés glucidiques. Si les conditions anaérobies semblent, de façon classique, favorables à l'activité des déshalogénases

(Wohlfarth and Diekert 1997), plusieurs études suggèrent l'intérêt du métabolisme oxydatif, un des processus principaux pouvant se dérouler dans les sols. Cependant, les publications actuelles ne démontrent aucune transformation biologique de la chlordécone dans les sols, quel que soit le type de métabolisme.

Il est donc important de développer de nouvelles recherches en biochimie pour compléter les approches moléculaires (métagénomique du sol...) ou biotechnologiques (mutagénèse aléatoire par « DNA shuffling » de déshalogénases microbiennes. Par ailleurs, les approches biochimiques doivent être développées en fonction des avancées des études génomiques. Plusieurs pistes sont à étudier concernant la transformation biologique de la chlordécone, qui représente à l'heure actuelle un enjeu environnemental et social majeur. Les biocatalyseurs fongiques montrent des potentialités avantageuses dans ce contexte (Mougín *et al.*, 2009).

PROPOSITIONS POUR DE FUTURES PISTES DE RECHERCHE SUR LA TRANSFORMATION DE LA CHLORDÉCONE

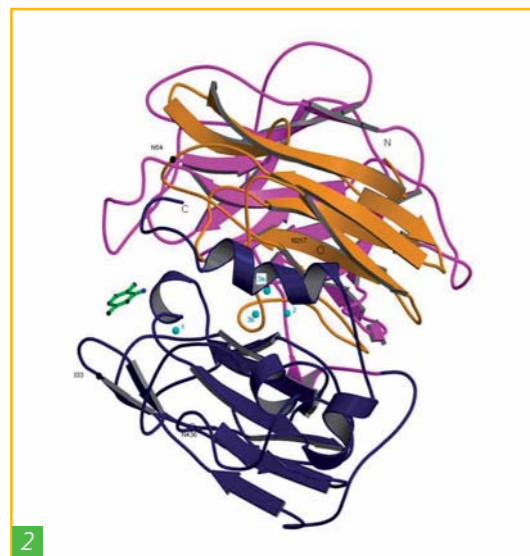
1 - Criblage de champignons filamenteux produisant des enzymes ligninolytiques impliquées dans la transformation des xénobiotiques

Une première étape devrait consister à effectuer un criblage de collections fongiques (constituées par exemple de souches disponibles à l'INRA) afin de mettre en évidence de nouvelles potentialités de transformation de la chlordécone par les champignons ligninolytiques (figure 1). Une étude réalisée en milieu de culture liquide (Kennedy *et al.*, 1990) a révélé une faible minéralisation du Mirex (un insecticide parent proche de la chlordécone) en présence du basidiomycète *Phanerochaete chrysosporium*. Un métabolite polaire a également été détecté en culture liquide et dans les



Figure 2 : structure tridimensionnelle de la laccase de *T. versicolor*, ref: Bertrand T., Jolivald C., Briozzo P., Caminade E., Joly N., Madzak C. and *Mougin C.* 2002b. Crystal structure of a four-copper laccase complexed with an arylamine: insights into substrate recognition and correlation with kinetics. *Biochemistry* 41:7325-7333.

sols, néanmoins en quantité très faible. De nouveaux développements devraient baser leurs approches sur la déchloration oxydative, éventuellement via une médiation par des enzymes oxydatives impliquées dans la dégradation des substrats ligninolytiques, à savoir les peroxydases, les laccases (figure 2)... Cette approche devrait intégrer l'évolution des connais-



sances acquises durant les 20 dernières années dans le domaine des mécanismes d'actions de ces enzymes ligninolytiques (Mougin et al., 2003). Il est important de s'intéresser aux laccases, puissantes oxydases montrant un fort po-

tentiel en termes de traitements catalytiques et biotechnologiques. Comprendre les mécanismes catalytiques impliqués dans la transformation de la chlordécone pourrait permettre le développement de nouvelles stratégies, intégrant l'évolution des connaissances et l'optimisation de l'usage des enzymes par une approche multidisciplinaire destinée à regrouper différents partenaires aux compétences complémentaires.

Outre les enzymes ligninolytiques classiquement utilisées (peroxydases, laccases), les cellobioses déshydrogénases, capables de produire des radicaux réactifs contribuant à la transformation des polluants (Cameron and Aust, 1999), devraient être étudiées plus en détail.

D'une manière générale, les champignons filamenteux sont faciles à produire. Nous maîtrisons également plusieurs protocoles pour leur inoculation dans les sols. Une méthode efficace implique l'utilisation d'inocula formés de granulés lignino-cellulosiques (figure 3) colonisés par les champignons (Rama et al., 2001).

2 - Criblage de champignons produisant des enzymes induites par l'exposition à la chlordécone

Dans cette seconde approche, les souches fongiques pourraient être criblées sans a priori afin de mettre en évidence des protéines/systèmes enzymatiques spécifiquement sécrétés/induits durant le développement fongique en présence de chlordécone. Ces souches peuvent être soit isolées de sols pollués, soit sélectionnées dans les



Figure 3 : *Trametes versicolor* colonisant des granulés lignocellulosiques pour inoculation de sol, crédit photo C. Mougin

collections et exposées à la chlordécone. En raison de la faible biodisponibilité de la chlordécone, il est probable que sa transformation dans les sols implique des enzymes exocellulaires. Les protéines extracellulaires présentes dans le milieu des cultures seront analysées. Cette stratégie devrait permettre l'identification de protéines actuellement inconnues, mais peut-être capables de transformer l'insecticide. Cette approche devrait bénéficier des recherches actuelles dans les domaines de la sécrétomique fongique (électrophorèse en 2D) et de la protéomique (spectroscopie de masse).

3 - Criblage pour les autres biocatalyseurs impliqués dans la déchloration chimique

Des conditions catalytiques modérées pourraient permettre la déchloration et la dégradation plus complète de la chlordécone. L'utilisation de vitamines comme biocatalyseurs (hémoprotéines, porphyrines et corrines) peut être intéressante. Cette approche a été appliquée avec succès dans le passé pour la dégradation du lindane, insecticide organochloré (Marks et al., 1989; Mougin et al., 1996). Schrauzer and Katz ont montré en 1978 l'intérêt de la vitamine B₁₂ comme catalyseur pour la déchloration du Mirex et de la chlordécone. La réaction conduit à la fragmentation des organochlorés et à la formation d'organo-cobalamine. Cette approche, encore peu étudiée en détails, mérite d'être complétée et adaptée aux conditions environnementales rencontrées dans les sols. Dans un premier temps, des catalyseurs disponibles dans

le commerce seront utilisés. Dans un second temps, la présence de biocatalyseurs pertinents sera évaluée parmi les souches fongiques.

La vitamine B₁₂ a également été impliquée dans le complexe enzymatique «CO déshydrogénase» de l'archaebactérie méthanogène *Methanosarcina thermophila*, décrite comme décomposant la chlordécone (Jablonski et al., 1996).

Dans le cas des enzymes ligninolytiques et d'autres protéines, il sera nécessaire de développer un procédé pour faciliter leur utilisation et assurer leur stabilité. Encapsulation (billes d'alginate...) ou immobilisation (membranes greffées...) sont deux voies de développement possibles (Jolivald et al., 2000).

4 - Identification des produits de la transformation et évaluation de leur écotoxicité

Les expérimentations précédemment citées sont réalisées en milieu liquide, ce qui permet la collecte, la purification et l'identification des produits de transformation. Cette identification requiert l'utilisation de la chromatographie couplée à la spectrométrie de masse.

Les produits de transformation seront purifiés et concentrés (si possible synthétisés par des chimistes organiciens) et utilisés pour doper des Ecosystèmes Terrestres Modèles (cosmes). Ces dispositifs expérimentaux facilitent l'évaluation de l'écotoxicité des composés chimiques sur les vers de terre ou sur l'activité enzymatique globale du sol (Igel-Egalon et al., in press).