

# Eawag

# News

## Biofilms

Les biofilms du Tagliamento. Page 11

Influence des métaux sur les biofilms d'algues. Page 16

Les boues activées: biofilms en flocons. Page 28





Thomas Egli, microbiologiste, dirige de manière intérimaire le département de «Microbiologie environnementale».

## Les biofilms: calamité ou providence?

Les dents déjà râpeuses peu après leur brossage, le réservoir d'eau de la cafetière expresso ou de l'humidificateur d'air constamment visqueux, la pierre glissante qui nous a fait prendre un bain involontaire dans le ruisseau que nous voulions traverser: autant de situations qui nous ont tous agacés un jour ou l'autre. Nous devons tous ces désagréments à la croissance des habitants les plus petits de la Terre, les microorganismes. Il est établi que ceux-ci s'installent sur toutes les surfaces possibles et imaginables, généralement sous la forme de communautés appelées biofilms. Ces derniers peuvent être de taille très variable, allant de la micro colonie formée de quelques cellules à la couche de plusieurs millimètres ou même de plusieurs centimètres d'épaisseur dans laquelle les microorganismes sont englobés dans une gangue visqueuse.

Ce qui fascine dans les biofilms, c'est qu'ils rassemblent sur un espace des plus réduits et à leur bénéfice mutuel des organismes appartenant aux groupes les plus différents sur le plan physiologique, comme les bactéries, les algues et les champignons. La forme d'existence offerte par le biofilm est particulièrement avantageuse: les organismes se pourvoient souvent mutuellement en nourriture et se protègent des prédateurs et des biocides tout en tirant bénéfice de la gangue visqueuse qui leur permet de mieux résister aux situations de stress comme le dessèchement. D'un autre côté, le biofilm présente aussi des inconvénients comme l'immobilisme ou la restriction des transports de nutriments.

La question de savoir si les microorganismes choisissent délibérément cette vie sédentaire ou si cette sédentarisation est plutôt un processus imposé par les circonstances divise le monde scientifique en deux camps opposés. Cette querelle occupe les scientifiques depuis déjà plus de trente ans.

Mais quelle que soit la stratégie à l'origine du phénomène, la différence entre le «bien» et le «mal» est bien souvent difficile à distinguer. La formation de niches anaérobies dans lesquelles s'amorce la corrosion des conduites métalliques, les problèmes d'hygiène dans le réseau de distribution d'eau potable, les problèmes médicaux dus à la colonisation microbienne d'implants et

cathéters, la réduction de l'efficacité des échangeurs thermiques et l'augmentation de la résistance à l'avancement des bateaux suite à la colonisation de leur coque ne sont que quelques exemples des effets indésirables des biofilms. A l'opposé, les biofilms jouent un rôle décisif dans l'auto-épuration des cours d'eau naturels. Ils trouvent une application dans les stations d'épuration où, fixés sur des supports particuliers à grande surface de contact, ils sont chargés d'éliminer les polluants dans les eaux usées. Les écotoxicologues cherchent à utiliser les biofilms pour évaluer le degré de contamination des eaux par certains polluants. Les fabricants de cosmétiques profitent de la capacité de certains constituants de la matrice visqueuse à stocker l'eau pour augmenter la teneur en eau des crèmes de soin sans que celles-ci perdent en volume et en onctuosité.

Les recherches très actives menées au cours des dernières décennies nous ont beaucoup appris sur le comportement des microorganismes au sein des biofilms. Mais ce mode d'existence garde malgré tout une grande part de mystère et ne cesse de nous étonner. Certains aspects et résultats de la recherche dans ce domaine sont exposés dans ce nouveau numéro des Eawag News.

Thomas Egli

L'Eawag, l'Institut de Recherche de l'Eau du Domaine des EPF, a modifié son image graphique en mai 2005. Nous avons réinterprété le design et la mise en page de l'Eawag News en conséquence. Vos commentaires et critiques constructives sont les bienvenus.

*Martina Bauchrowitz, rédactrice*

[eawag.news@eawag.ch](mailto:eawag.news@eawag.ch)

# Sommaire

## Article thématique

### 4 Les biofilms sont omniprésents



Les biofilms ne se développent pas uniquement sur les dents. On peut dire que presque chaque interface, qu'elle soit technique ou naturelle, est colonisée par des microorganismes. Certains biofilms, comme la plaque dentaire, sont indésirables. D'autres sont même cultivés, comme ceux qui sont chargés de l'élimination des polluants organiques dans les stations d'épuration.

## Recherches actuelles

### 8 La modélisation des biofilms: un outil de recherche

Les modèles mathématiques sont des outils précieux pour la simulation du comportement des systèmes complexes.

### 11 Les biofilms du Tagliamento

Le développement des biofilms est-il dépendant des échanges d'eau entre écoulement de surface et sédiments?

### 14 Précipitation de calcite à la surface des cyanobactéries



Le carbonate de calcium se dépose au fond des lacs sous la forme de craie lacustre. Mais quelle est l'origine de cette précipitation? Des scientifiques de l'Eawag ont cherché à savoir si des substances présentes à la surface des cyanobactéries et jouant un rôle dans les biofilms ne pourraient pas être impliquées.

### 16 Influence des métaux sur les biofilms d'algues

Une nouvelle stratégie d'évaluation des effets: du niveau cellulaire aux effets secondaires sur les communautés.

### 19 L'accumulation des métaux dans les biofilms d'algues

Les pluies peuvent faire augmenter brusquement les concentrations en métaux dans les cours d'eau. Avec quelle rapidité les biofilms réagissent-ils?

### 22 Les phytochélatines: indicateur d'exposition aux métaux?



Les phytochélatines protègent les algues des métaux toxiques. Les algues synthétisent ces petits polypeptides lorsque les teneurs en métaux augmentent dans l'eau. Est-il possible d'utiliser les phytochélatines comme bioindicateur de stress métallique?

### 24 Les biofiltres au banc d'essai

Le rendement d'épuration des biofiltres est-il équivalent à celui des installations traditionnelles de traitement des eaux?

### 28 Les boues activées: biofilms en flocons

Les flocons de boues activées sont des biofilms très particuliers. Leur taille est-elle décisive pour le rendement d'épuration?

### 31 Les biofilms s'opposent à la récupération de chaleur

Les biofilms limitent le rendement des échangeurs de chaleur. Comment résoudre ce problème?

## Divers

### 33 Publications

### 36 Notes

**eawag**  
aquatic research

**Editeur, Distribution:** Eawag, Case postale 611, 8600 Dübendorf, Suisse, Tél. +41 (0)44 823 55 11, Fax +41 (0)44 823 53 75, [www.eawag.ch](http://www.eawag.ch)

**Rédaction:** Martina Bauchrowitz, Eawag

**Traductions:** Laurence Frauenlob-Puech, D-Waldkirch

**Conseiller linguistique:** Fabrice Combes, F-Marseille

**Copyright:** Reproduction possible après accord avec la rédaction.

**Parution:** Irregularité en français, allemand et anglais. Production chinoise en coopération avec INFOTERRA China National Focal Point.

**Figures:** Peter Nadler, Küssnacht

**Crédit photographique:** Eawag. Le scientifique Michael Döring prend des mesures au Tagliamento.

**Maquette:** TBS Identity, Zürich

**Graphisme:** Peter Nadler, Küssnacht

**Impression:** sur papier recyclé

**Abonnements et changement d'adresses:** Les nouveaux abonné(e)s sont les bienvenu(e)s! [eawag.news@eawag.ch](mailto:eawag.news@eawag.ch)

ISSN 1420-3928

## Les biofilms sont omniprésents



Oskar Wanner, spécialiste de l'analyse des systèmes et chercheur au département de «Gestion des eaux dans les zones urbaines» et Martina Bauchrowitz, biologiste et rédactrice de l'Eawag News.

La plaque dentaire que nous éliminons par le brossage des dents n'est autre qu'un biofilm bactérien. Si nous ne nous soumettons pas à ce nettoyage quotidien, notre haleine se charge, nos gencives s'enflamment et nos dents finissent par être parsemées de caries. Tout cela est bien connu. Mais savez-vous aussi que les biofilms jouent un rôle tout à fait positif dans bien des domaines?

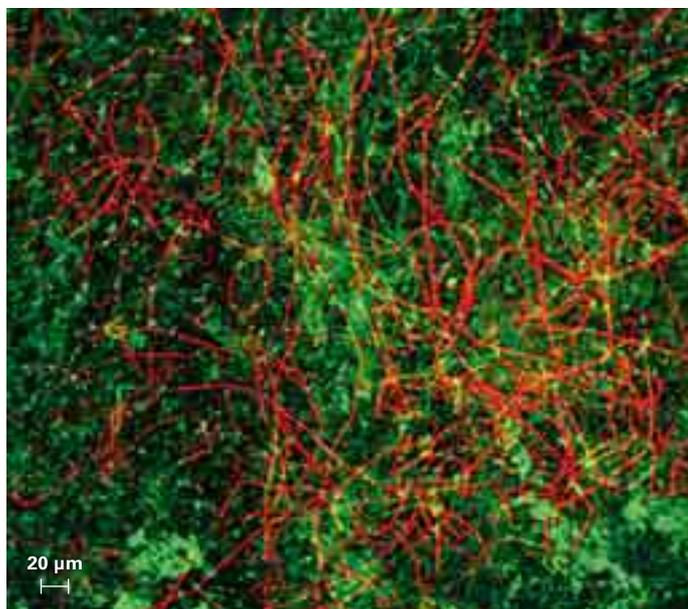
Les biofilms sont des assemblages de microorganismes colonisant des supports solides en milieu humide ou aqueux [1]. On les rencontre dans les endroits les plus divers tels que les cours d'eau, les réseaux de distribution d'eau potable, les stations d'épuration et les nappes d'eau souterraine mais ils interviennent aussi dans certaines applications techniques et médicales. Ils se présentent également sous les formes les plus diverses, pouvant s'organiser en minuscules colonies isolées ou au contraire en pellicules de plusieurs millimètres d'épaisseur. Les biofilms sont en interaction constante avec leur environnement. Ainsi, s'ils sont directement influencés par les caractéristiques physico-chimiques du milieu, ils sont également capables de le modifier de façon sensible. C'est exactement ce qui se produit dans la cavité buccale: l'humidité et l'apport régulier de substances nutritives constituent des condi-

tions idéales au développement de biofilms sur les dents. Ceux-ci transforment les sucres en acides qui ne peuvent être évacués puisque le biofilm constitue en lui-même un obstacle au transport des matières. C'est ainsi que s'installe un milieu acide particulièrement agressif pour l'émail des dents.

**Les avantages de la vie en biofilm.** Les microorganismes qui adoptent un mode de vie sessile vivent et se reproduisent de préférence là où la nourriture est abondante. A l'inverse, les organismes en suspension libre sont emportés facilement. C'est pourquoi la densité de microorganismes est beaucoup plus élevée dans un biofilm qu'en suspension. Mais le biofilm ne protège pas uniquement de la dérive mais également de l'action de biocides et autres substances toxiques. Il semble en effet que ces toxiques soient piégés dans la couche de mucus (dans laquelle sont englobés les microorganismes) et ne puissent ainsi pénétrer dans les cellules. D'un autre côté, le biofilm est le lieu privilégié de réactions de synergie, c'est-à-dire d'action conjuguée de microorganismes d'espèces différentes: la nitrification est par exemple un processus très important pour l'épuration des eaux qui se déroule en deux étapes correspondant tout d'abord à la production de nitrites à partir d'ammonium par des *Nitrosomonas*, puis à la transformation de ces nitrites en nitrates par *Nitrospira*. Le biofilm présente un grand avantage pour *Nitrospira* en lui offrant une proximité immédiate avec les producteurs de son substrat.

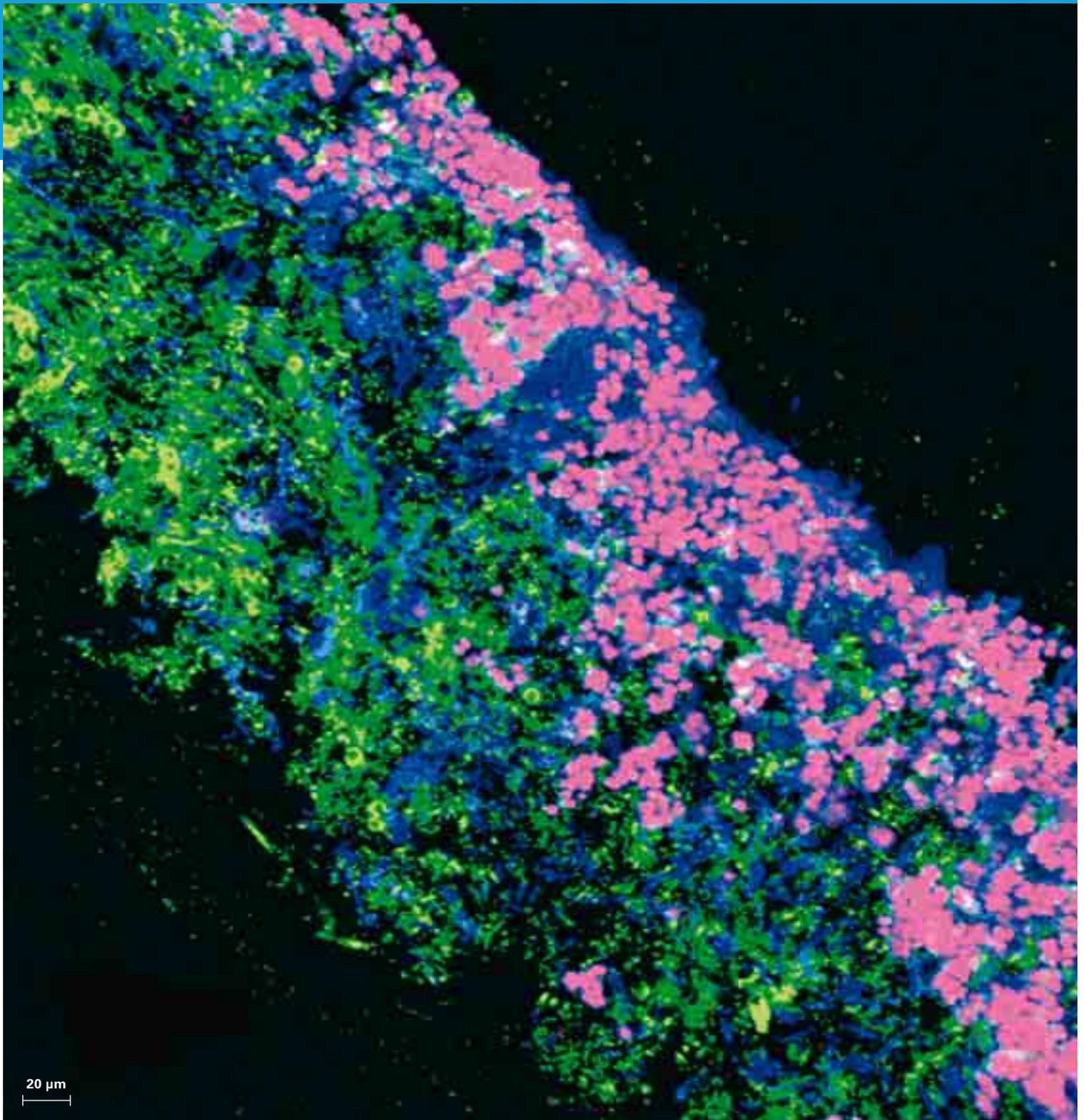
**Constitution des biofilms.** Au vu de tous ces avantages, il n'est guère étonnant que les microorganismes affichent une préférence nette pour la vie en communautés sessiles [2]. Celles-ci abritent des bactéries, des algues, des amibes, des ciliés et des mycètes dans toutes les combinaisons possibles et imaginables. Les biofilms éclairés par la lumière du soleil sont en majeure partie dominés par des organismes phototrophes tels que des algues ou des cyanobactéries qui pratiquent la photosynthèse et élaborent leur biomasse à partir de substances minérales. Ils constituent de ce fait un maillon de base très important de la chaîne alimentaire. Les biofilms qui se forment en l'absence de lumière abritent principalement des bactéries hétérotrophes qui dégradent la matière orga-

Biofilm hétérotrophe issu de la Saale. En rouge = bactéries filamenteuses; en vert = matrice du biofilm.



Photos: Thomas Neu, UFZ-Leipzig

20 µm



Biofilm photoautotrophe d'eau douce. En fuchsia = autofluorescence des cyanobactéries; en bleu = autofluorescence des algues vertes; en vert = matrice du biofilm.

nique, mais également des bactéries chimiotrophes capables de transformer certaines substances minérales.

Dans les biofilms, les microorganismes sont englobés dans une matrice visqueuse. Cette gangue constituée de polymères extracellulaires ou EPS («extrapolymeric substances») est sécrétée par les organismes eux-mêmes. Les EPS renferment en majorité des polysaccharides macromoléculaires et en moindre mesure des protéines, d'autres hydrates de carbone comme par exemple l'acide uronique ainsi que de petites quantités de lipides et d'acides nucléiques.

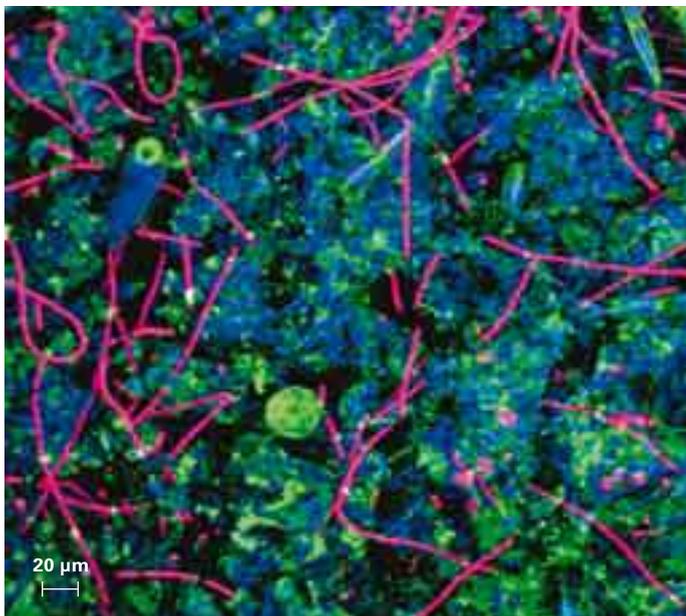
Les biofilms sont parcourus d'une multitude de pores et canaux et présentent une surface très irrégulière formée de structures en forme de tulipes, de champignons ou de coraux. Au sein des biofilms, des gradients très marqués peuvent également apparaître. Ces gradients d'oxygène, de substrats, de pH ou autre, peuvent conduire au développement et à la juxtaposition de communautés microbiennes clairement délimitées et très différentes sur le plan physiologique. Le transport des substances au sein du biofilm se fait par diffusion et par advection, c'est-à-dire par mouvement avec l'eau dans le réseau de pores et canaux. Les biofilms sont enfin

caractérisés par une grande dynamique interne. Les microorganismes se développent, se déplacent au sein du biofilm, meurent, sont consommés ou se détachent et sont entraînés. Ces processus induisent une alternance perpétuelle de phases d'extension et d'amincissement du biofilm.

**Les biofilms: des structures complexes.** La grande variabilité des communautés microbiennes qui composent les biofilms et la multitude des processus biologiques et physico-chimiques qui s'y déroulent induisent une grande complexité structurelle. C'est cette complexité qui rend leur étude expérimentale particulièrement difficile, celle-ci ne pouvant être effectuée que sur des biofilms à la structure parfaitement intacte. Face à ces difficultés, les modèles mathématiques constituent alors des instruments de valeur permettant d'exprimer de façon quantitative la vision que nous avons de ces systèmes et d'en vérifier la validité par comparaison avec les résultats expérimentaux disponibles. Des modèles et des programmes de simulation des biofilms ont été développés à l'Eawag et sont aujourd'hui largement utilisés de par le monde (cf. l'article d'Oskar Wanner, p. 8).

**Les biofilms fluviaux: lieux privilégiés d'activité biologique.** Dans les cours d'eau, les biofilms autotrophes principalement composés d'algues se développent sur le fond du lit tandis que les biofilms hétérotrophes à dominante bactérienne occupent majoritairement l'espace interstitiel sous la surface du lit [3]. En tant que producteurs de biomasse et décomposeurs, ils constituent un maillon vital de la chaîne alimentaire. Dans le Tagliamento, l'un des derniers fleuves sauvages et préservés d'Europe qui s'écoule au nord-est de l'Italie, Michael Döring a cherché à savoir quelle était

Biofilm photoautotrophe d'eau douce. En fuchsia = autofluorescence des cyanobactéries; en bleu = autofluorescence des algues vertes; en vert = matrice du biofilm.



l'influence des échanges d'eau entre la masse d'eau en écoulement et l'espace interstitiel sous-jacent sur le développement et l'activité des biofilms (cf. article p. 11).

Au fond de nombreux lacs on trouve un dépôt blanchâtre de carbonate de calcium communément appelé «craie lacustre». Sabine Sibler et Maria Dittrich ont cherché à en déterminer l'origine (cf. article p. 14), soupçonnant une implication des EPS des cyanobactéries dans le processus de précipitation du carbonate de calcium. Ce groupe de bactéries constitue la majeure partie de la biomasse phytoplanctonique des lacs et mers pauvres en éléments nutritifs. Les résultats de l'étude indiquent que les bactéries jouent un rôle non négligeable dans le cycle des métaux dont elles sont en mesure de réduire les concentrations dans l'eau. Elles participent ainsi de manière décisive à l'activité d'auto-épuration des lacs.

Près de 70 % de l'eau potable que nous consommons provient des réserves d'eau souterraine. Lors de son passage dans le sous-sol, l'eau subit une épuration naturelle par l'action de biofilms avant d'être captée. Dans une certaine mesure, les biofilms peuvent être utilisés de façon ciblée pour épurer les nappes d'eau souterraine contaminées, à la suite d'une pollution chimique accidentelle par exemple. Quand les polluants sont biodégradables, il est possible d'injecter des microorganismes spécialisés dans l'aquifère concerné dans le but de les faire s'y installer et utiliser les polluants comme source d'énergie à défaut d'autre substrat.

**Les biofilms comme indicateur de pollution.** L'écotoxicologie fait souvent appel aux microorganismes pour déterminer le degré de pollution des cours d'eau ou le risque représenté par les substances toxiques. Dans ce contexte, les biofilms fluviaux constituent des modèles très intéressants: d'une part, parce qu'ils jouent un rôle central dans le bilan de matières et qu'ils interagissent avec les toxiques, d'autre part parce qu'en tant qu'éléments biologiques fixés dans le milieu, ils ont la faculté d'accumuler les polluants éventuels sur de longues périodes et donnent ainsi une indication sur le degré de pollution chronique de leur habitat. Une équipe de l'Eawag tente actuellement d'évaluer la capacité des biofilms à servir d'indicateur de stress métallique.

L'article de Sébastien Meylan (p. 19) traite d'un projet de terrain de l'Eawag. Les sédiments du Furtbach dans le canton de Zurich présentent une contamination au cuivre et au zinc. Lorsque l'écoulement s'amplifie sous l'effet de fortes pluies, les sédiments sont agités par les remous et les métaux sont libérés dans les eaux. Les biofilms réagissent très rapidement à ces nouvelles conditions environnementales. Peu après le début de la pluie, leurs concentrations en métaux augmentent déjà de façon significative. D'autres études expérimentales montrent que les algues des biofilms réagissent au stress métallique par la formation de phytochélatines, des polypeptides qui neutralisent les métaux en les liant (cf. article de Séverine Le Faucheur p. 22).

Les métaux provoquent donc des réactions au niveau cellulaire. Mais les organismes entiers en sont-ils également affectés? C'est à ce niveau qu'intervient l'étude amplective menée par Renata Behra (cf. article p. 16). Son objectif est de mettre en évidence des réactions secondaires au niveau de la communauté (modification

de la diversité spécifique, inhibition de la photosynthèse, etc.) pour tenter d'établir un rapport de causalité entre le stress par les métaux et les effets au niveau écologique.

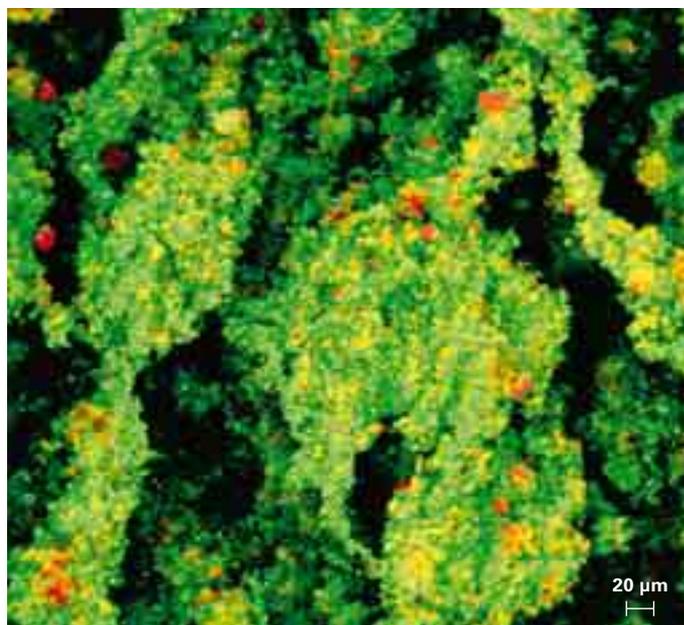
**Les biofilms dans les stations d'épuration.** Les microorganismes jouent un rôle essentiel dans l'épuration des eaux de par leur capacité à dégrader les polluants véhiculés par les effluents. En Suisse, cette activité est principalement mise à profit dans le procédé des boues activées dans lequel les bactéries forment des floccs de jusqu'à 2 mm de diamètre maintenus en suspension dans des bassins d'aération. Ces floccs peuvent contenir des millions de bactéries. Etant donné qu'ils présentent des structures et processus typiques des biofilms, ils sont souvent qualifiés de «biofilms en suspension». Dans son projet, Reto Manser a cherché à savoir si la taille des floccs avait une influence sur les communautés bactériennes formées et donc sur le degré d'élimination des polluants (cf. article p. 28).

Mais la Suisse met également en œuvre de véritables réacteurs à biofilms pour l'épuration des eaux. Dans ces bioréacteurs, les microorganismes viennent se fixer sur des supports mis à leur disposition. Adriano Joss s'est attaché à caractériser la dégradation des micropolluants dans la station d'épuration d'Altenrhein (cf. article p. 24). Dans cette station, la moitié des effluents est traitée dans un système à boues activées classique tandis que l'autre moitié est épurée dans un réacteur à biofilms nettement moins encombrant. La question était alors de savoir si les deux systèmes présentaient la même efficacité d'épuration.

**Biofilms indésirables.** A côté de ces aspects utiles, les biofilms peuvent aussi avoir des effets très désagréables. Ainsi, les biofilms se développant dans les réseaux d'alimentation en eau potable et dans les systèmes de climatisation peuvent abriter des légionelles agents de la très redoutée légionellose. Dans le domaine médical, les biofilms peuvent se former dans les appareils, les canules ou les implants comme les pacemakers et provoquer des infections ou réactions de rejet chez les patients. On tente d'empêcher la colonisation par les bactéries en intervenant sur les propriétés des surfaces, par modification de leur rugosité ou par traitement préalable des cathéters avec des antibiotiques par exemple.

Les équipements techniques et les bâtiments ne sont pas épargnés non plus. Les attaques d'algues et de champignons imposent des mesures fort coûteuses de rénovation et de restauration des façades et monuments. Les biofilms qui se fixent sur la coque des bateaux augmentent la résistance à l'avancement et induisent une consommation supplémentaire de carburant. Les bactéries sulfato-réductrices sont à l'origine de la corrosion perforante des matériaux métalliques qui occasionne des dommages considérables. On estime que tous ces phénomènes regroupés sous les termes de biofouling et de biocorrosion occasionnent ne serait-ce qu'aux Etats-Unis des dégâts d'un coût annuel de 200 milliards de dollars [4].

Les biofilms qui se développent sur les échangeurs de chaleur en limitent fortement l'efficacité. Les appareils installés dans les égouts afin de récupérer la chaleur des eaux usées sont particulièrement exposés à ce risque, la grande richesse de ces eaux en nutriments étant particulièrement favorable à la croissance micro-



Biofilm chimioautotrophe de boues activées. En rouge = bactéries; en vert = matrice du biofilm.

bienne. Une étude a donc été menée à l'Eawag pour tenter de déterminer une technique de régulation du développement des biofilms sur ce type d'échangeurs thermiques (cf. article de O. Wanner, p. 31). Les résultats ont montré que le biofilm pouvait être en grande partie éliminé grâce à une amplification du cisaillement provoqué par une augmentation de la vitesse d'écoulement des effluents. Le nettoyage mécanique reste donc l'un des moyens les plus efficaces de lutter contre les biofilms indésirables, comme celui qui se développe sur nos dents. ○ ○ ○

Les photos prises au microscope confocal à balayage laser ont été gracieusement mises à notre disposition par Thomas Neu de l'UFZ de Leipzig [5].

- [1] Costerton J.W., Lewandowski Z., De Beer D., Caldwell D., Korber D., James G. (1994): Minireview: biofilms, the customized microniche. *Journal of Bacteriology* 176, 2137–2142.
- [2] Flemming H.C., Wingender J. (2001): Biofilme – die bevorzugte Lebensform der Bakterien. *Biologie in unserer Zeit* 31, 169–180.
- [3] Lock M.A. (1993): Attached microbial Communities in rivers. In: *Aquatic Microbiology* (ed. T.E. Ford). Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 113–138.
- [4] Okabe S., Jones W.L., Lee W., Characklis W.G. (1994): Anaerobic SRB biofilms in industrial water systems: a process analysis. In: *Biofouling and Biocorrosion in industrial water systems* (ed. G.G. Geesey et al.). Lewis Publishers, Boca Raton, pp. 189–204.
- [5] Neu T.R., Lawrence J.R. (2002): Laser scanning microscopy in combination with fluorescence techniques for biofilm study. In: *The encyclopedia of environmental microbiology* (ed. G. Bitton) Volume 4. John Wiley & Sons, New York, pp. 1772–1788.



Oskar Wanner, spécialiste de l'analyse des systèmes et chercheur au département de «Gestion des eaux dans les zones urbaines».

## La modélisation des biofilms: un outil de recherche

Les modèles mathématiques sont des outils très précieux de la recherche scientifique. Ils facilitent l'exploitation des données et livrent une représentation quantitative des hypothèses de travail qui permet ensuite de les confirmer ou infirmer par voie expérimentale. Les ingénieurs se servent des modèles pour simuler et optimiser le comportement de systèmes complexes comme les stations d'épuration ou pour dimensionner de nouvelles installations.

Un seul millimètre cube de biofilm renferme déjà des millions de microorganismes. Ceux-ci prélèvent de l'oxygène, du carbone et de l'azote sous différentes formes dans l'eau environnante et utilisent ces substances, que nous appellerons ici «substrats», pour leur croissance. Selon la nature et la concentration des substrats disponibles, certains microorganismes peuvent se développer très rapidement au sein du biofilm tandis que d'autres ne font que végéter. Il existe donc des interactions très fortes entre la disponibilité en substrats et les microorganismes. Ces interactions définissent la distribution spatiale et l'évolution temporelle des populations microbiennes et sont à l'origine d'une très grande hétérogénéité spatiale des conditions physico-chimiques qui peuvent changer de manière radicale sur quelques dixièmes de millimètres à peine. Cet état de fait est bien illustré par les microorganismes aérobies qui vivent près de la surface du biofilm où ils peuvent consommer la totalité de l'oxygène diffusant à travers celui-ci. Ce prélèvement crée à l'intérieur du biofilm des conditions favorables au développement de microorganismes anaérobies. Les biofilms sont donc des structures très intéressantes et particulièrement complexes dont le comportement résulte d'une multitude de processus biologiques et physico-chimiques qui se déroulent simultanément.

Les dernières décennies ont vu se développer des méthodes expérimentales de caractérisation des biofilms de plus en plus fines qui nous livrent aujourd'hui des informations très détaillées sur leur structure. Dans le même temps, des modèles mathématiques ont été élaborés pour analyser et simuler les processus qui se déroulent au sein des biofilms. Ces recherches et développements ont été menés de concert, se stimulant et s'enrichissant mutuellement.

**Tout a commencé par un simple modèle de lit bactérien.** Le premier lit bactérien destiné au traitement des eaux résiduelles a été mis en service à Saint-Gall en 1912. Les effluents s'écoulaient alors par percolation à travers un réservoir rempli de pierres. En l'espace de peu de temps, les pierres étaient colonisées par des microorganismes qui utilisaient les polluants comme substrat et épuraient

ainsi les eaux usées. Cette technique s'est rapidement répandue, faisant augmenter la demande d'outils pour le dimensionnement des nouvelles installations. Les instruments alors développés étaient de simples équations mathématiques permettant de calculer le rendement des lits bactériens pour différentes valeurs de la charge polluante, du débit d'effluents et du volume du lit. Ces équations correspondaient à ce que l'on appelle des modèles empiriques ou boîte-noire c'est-à-dire qu'elles n'étaient basées que sur les mesures de charge polluante en entrée et en sortie des installations existantes. Les processus qui se déroulaient à l'intérieur des lits bactériens étaient alors encore inconnus et n'étaient donc absolument pas pris en compte.

**Les modèles s'affinent.** C'est vers 1970 qu'il a été possible pour la première fois de mesurer les concentrations de substrat au sein même des biofilms en utilisant des microélectrodes. C'est alors que l'on constata que ces concentrations pouvaient varier très fortement sur de très courtes distances (Fig. 1). Les premiers modèles de biofilm mécanistes, c'est-à-dire basés sur les lois physiques, ont alors été développés. Ils considèrent la concentration en substrat comme étant le résultat des interactions entre les processus de «transport des substrats» et de «consommation des substrats

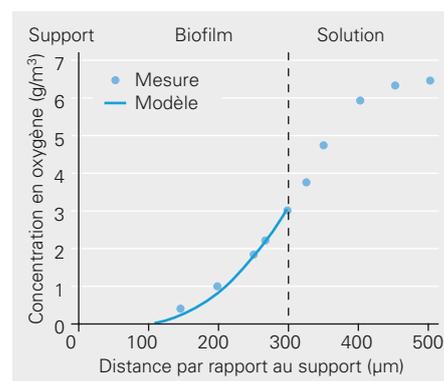
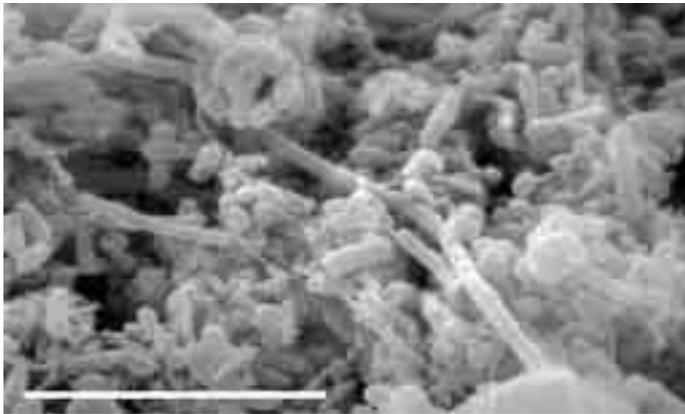


Fig. 1: Profil d'oxygène à travers un biofilm déterminé par mesure directe à l'aide de microélectrodes d'une part et par simulation d'autre part.



Hansruedi Siegrist, Eawag

Fig. 2: Observation d'un biofilm au microscope électronique à balayage. Longueur du trait blanc = 10 µm.

par les microorganismes». Ils partent cependant encore du principe simplificateur selon lequel les différentes espèces microbiennes sont réparties de manière homogène au sein du biofilm. C'est seulement à partir de la confirmation par la microscopie de la réalité d'une répartition potentiellement très hétérogène en fonction de la distribution des substrats (Fig. 2) qu'il a été possible d'élaborer des modèles figurant la composition microbienne des biofilms. Le premier de ces modèles a vu le jour à l'Eawag en 1984. Il permet dès lors de représenter la distribution spatiale et l'évolution temporelle des différentes espèces microbiennes sur l'épaisseur du biofilm ainsi que de simuler la croissance du film (Fig. 3). A partir de là, le modèle a été constamment perfectionné en y intégrant systématiquement tous les résultats expérimentaux porteurs d'informations nouvelles obtenus par la suite.

#### Les modèles actuels reflètent la complexité des biofilms.

A l'heure actuelle, le modèle de l'Eawag intègre tous les processus de transformation et de transport des substances reconnus d'importance pour le comportement des biofilms [1]. On compte au nombre des processus de transformation:

- ▶ la consommation et la production de substrats,
- ▶ la croissance, l'inactivation et la dégradation des microorganismes.

Les processus de transport décrivent (Fig. 4):

- ▶ Le mouvement des substrats par advection et par diffusion de l'eau environnante jusqu'à la surface du biofilm et de là, dans les pores grossiers et les espaces intercellulaires du biofilm,
- ▶ l'adsorption et le détachement des microorganismes à la surface du biofilm,
- ▶ le déplacement actif ou passif des microorganismes à l'intérieur du biofilm,
- ▶ les variations de volume de la matrice suite à la multiplication et à la mort de microorganismes à l'intérieur du biofilm.

Ce modèle s'intègre dans le programme de simulation Aquasim mis en place à l'Eawag (cf. encadré) et peut être assez facilement appliqué à la résolution de problèmes concrets. Il a cependant un défaut: il considère en effet que les biofilms sont formés de cou-

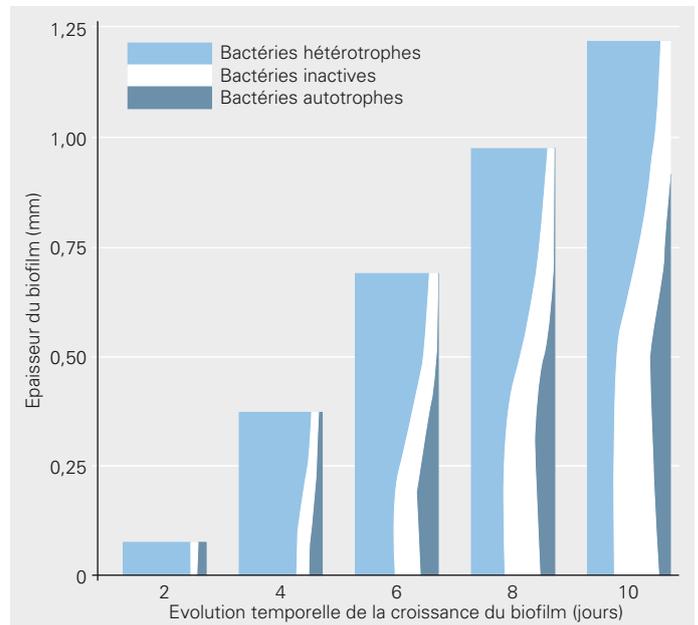
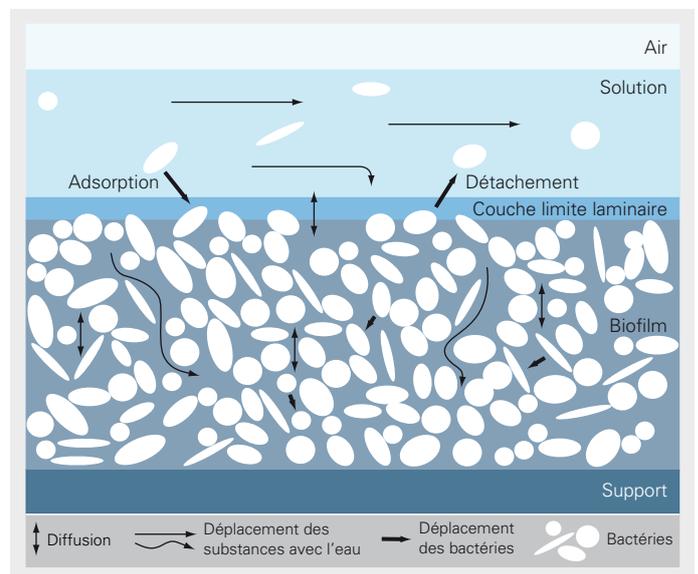


Fig. 3: Croissance du biofilm et évolution temporelle de la part relative des différents types de microorganismes de la surface du support (en bas) à la surface du biofilm (en haut).

ches homogènes et compactes de microorganismes et donc que les gradients de microorganismes et de substrats s'expriment principalement perpendiculairement à la surface du support, les autres dimensions pouvant être négligées. Or on sait depuis les années 90 que les biofilms présentent des structures spatiales des plus diverses: ils peuvent par exemple être traversés de pores de grande dimension ou présenter en surface des structures en forme de

Fig. 4: Différents processus de transport des microorganismes et des substrats pris en compte dans le modèle de l'Eawag.



### Le programme de simulation Aquasim

Aquasim est un logiciel développé à l'Eawag et aujourd'hui utilisé dans le monde entier pour l'identification et la simulation des systèmes aquatiques [2]. Le programme est également doté de fonctions mathématiques permettant une analyse statistique des données. Par la fonction «estimation des paramètres», le programme cherche les valeurs inconnues des paramètres du modèle étudié par une mise en adéquation itérative des séries chronologiques de grandeurs calculées avec celles de grandeurs mesurées. Par la fonction «analyse de sensibilité», il évalue dans quelle mesure les séries chronologiques des grandeurs calculées sont influencées par les variations de la valeur d'un des paramètres du modèle. Si cette influence est notable, il est possible de déterminer les valeurs du paramètre sur la base des séries chronologiques des grandeurs mesurées. Aquasim intègre différents modèles de systèmes environnementaux

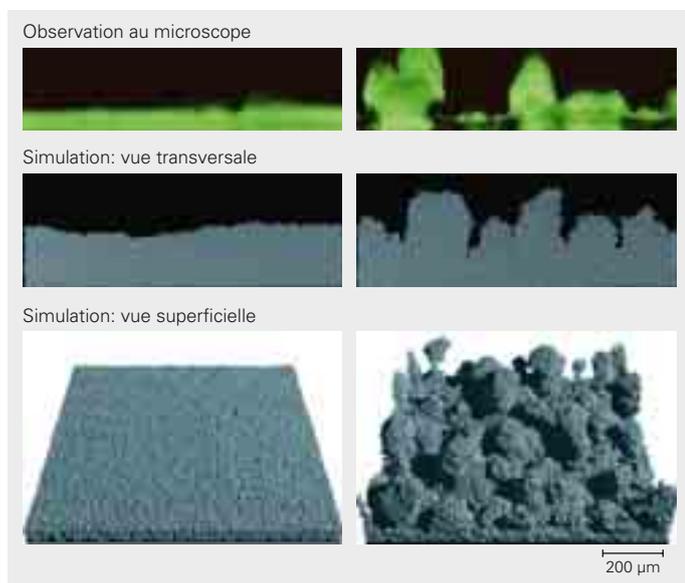
tels les lacs et les rivières, dont certains ont été développés à l'Eawag, et notamment un modèle permettant la simulation de biofilms à espèces microbiennes et substrats multiples [1]. Une fois que les données biologiques et physico-chimiques dont il a besoin lui ont été fournies, Aquasim est en mesure de calculer le rendement d'un réacteur à biofilm donné ou encore la consommation en substrat d'un biofilm intégré dans un écosystème aquatique. Il peut en outre simuler la croissance du biofilm ainsi que la distribution spatiale des microorganismes et des substrats sur l'épaisseur du biofilm. Il décrit également l'évolution temporelle de ces grandeurs dans la phase aqueuse à l'intérieur et à l'extérieur du biofilm ainsi que les échanges de substrats, de microorganismes et de particules entre le biofilm et l'eau environnante.

tulipe ou de champignon (Fig. 5, en haut à droite). Suite à ces nouvelles observations, de nouveaux modèles multidimensionnels capables d'imiter cette diversité de structures ont été élaborés (Fig. 5, au milieu et en bas) [3]. Ils ont cependant l'inconvénient d'être très complexes, ce qui limite leur applicabilité pratique.

**Le problème du choix du modèle.** Maintenant, quel est le modèle qui convient le mieux à la résolution d'un problème donné? Pour répondre à cette question, une étude d'envergure impliquant des chercheurs de six nations a été menée. Le but était de résoudre

une série de problèmes typiques à l'aide des différents modèles aujourd'hui disponibles et de comparer les résultats livrés par les simulations [5]. L'exercice a montré que le choix du modèle adéquat dépendait en première ligne de la nature du problème posé: ainsi, si l'on souhaite décrire l'évolution d'un petit cluster de microorganismes d'une espèce bien définie immergé dans un biofilm ainsi que les concentrations de substrats autour de ce cluster, le choix se portera sur un modèle bi ou tridimensionnel. Par contre, pour calculer la concentration en sortie d'un réacteur à biofilm constitué de microorganismes autotrophes et hétérotrophes, le modèle unidimensionnel de l'Eawag reste encore le mieux adapté. Enfin, si on cherche uniquement à décrire un biofilm dont l'activité est dominée par une seule espèce et un seul type de substrat, bien souvent des modèles encore plus simples suffisent. L'enseignement majeur de cette étude est qu'il existe dans la pratique bon nombre de problèmes pour lesquels les modèles simples de longue tradition livrent des résultats au moins aussi bons que les nouveaux modèles complexes.

Fig. 5: Différents types de structure tridimensionnelle de biofilms de *Pseudomonas aeruginosa* observés par Søren Molin (UT du Danemark, Lyngby) au microscope confocal à balayage laser (en haut) ou figurés par modélisation (au milieu et en bas) [4].



- [1] Wanner O., Reichert P. (1996): Mathematical modeling of mixed-culture biofilms. *Biotechnology and Bioengineering* 49, 172–184.
- [2] Reichert P. (1998): Aquasim 2.0 – User Manual. Eawag, Dübendorf.
- [3] Wanner O. (2002): Modeling of biofilms. In: *Encyclopedia of Environmental Microbiology* (ed. G. Bitton). John Wiley & Sons, New York, pp. 2083–2094.
- [4] Picioreanu C., van Loosdrecht M.C.M., Heijnen J.J. (1998): Mathematical modeling of biofilm structure with a hybrid differential-discrete cellular automaton approach. *Biotechnology and Bioengineering* 58, 101–116.
- [5] Wanner O., Eberl H.J., Morgenroth E., Noguera D.R., Picioreanu C., Rittmann B.E., van Loosdrecht, M.C.M. (2006): Mathematical modeling of biofilms. Scientific and Technical Report 18, IWA Publishing, London, 179 p.

# Les biofilms du Tagliamento



Michael Döring, géographe en thèse de doctorat et Urs Uehlinger, biologiste et chercheur au département de «Ecologie aquatique».

Les biofilms occupent une position centrale dans le métabolisme des cours d'eau. Dans le Tagliamento, leur croissance et leur activité dépendent de manière décisive des échanges d'eau entre l'écoulement de surface et les sédiments du fond du lit.

Dans les cours d'eau, les biofilms se forment aussi bien sur les pierres et rochers du fond du lit que dans les sédiments sous-jacents, dans la zone dite hyporhéique. Leur développement dépend de toute une série de facteurs tels que l'ombrage, la pression de prédation, la teneur en nutriments dans l'eau, la morphologie du lit ou le régime d'écoulement. Un autre facteur important est l'échange d'eau entre l'écoulement de surface et l'eau interstitielle de la zone hyporhéique.

De façon générale, cet échange est d'autant plus intense que la variabilité morphologique du cours d'eau est grande, c'est-à-dire quand les zones à fort et à faible courant s'alternent (séquences radier-mouille) et quand l'écoulement entraîne régulièrement un remaniement du fond du lit. Mais que se passe-t-il si l'écoulement de surface disparaît dans sa totalité dans la zone hyporhéique pour ne réapparaître que bien plus loin en aval? Cette situation se présente par exemple dans le Tagliamento. Quelle est son influence sur les biofilms?

## Le Tagliamento, l'un des derniers fleuves sauvages d'Europe.

Le dernier grand fleuve alpin à être encore naturel prend sa source dans les Alpes vénitiennes et se jette dans la mer Adriatique entre

Venise et Trieste après avoir parcouru quelque 170 km [1, 2]. Le débit du Tagliamento est en moyenne de 110 m<sup>3</sup> par seconde dans son cours moyen mais peut atteindre plus de 4000 m<sup>3</sup> par seconde après de fortes pluies d'automne. Entre les kilomètres 92 et 114, il présente un tronçon dans lequel, par temps sec, l'eau ne s'écoule qu'en sous-sol.

Nous avons mesuré le débit du fleuve entre les kilomètres 85 et 125 pendant une année et demie (Fig. 1). Les résultats montrent que dans la zone dite de perte qui s'étend jusqu'au kilomètre 114, le Tagliamento livre entre 1,6 et 4,5 m<sup>3</sup> par seconde et par kilomètre à la zone hyporhéique. La fin de cette zone de perte est définie par une bande de sédiments imperméables appelée «linea delle risorgive» qui suit l'ancien tracé côtier. Dans la zone de résurgence qui fait suite, l'écoulement de surface augmente de 0,2 à 0,4 m<sup>3</sup> par seconde et par kilomètre. La quantité d'eau infiltrée et la longueur du tronçon à sec dépendent du débit d'écoulement du fleuve. Lors de sécheresses prolongées, comme en juillet-août 2003, le Tagliamento disparaît sur plus de 20 km alors qu'il peut maintenir un écoulement de surface sur toute sa longueur lorsque le niveau de l'eau est élevé, comme ce fut le cas en octobre 2004 (Fig. 1).

Fig. 1: Débit du Tagliamento dans les zones de perte et de résurgence.

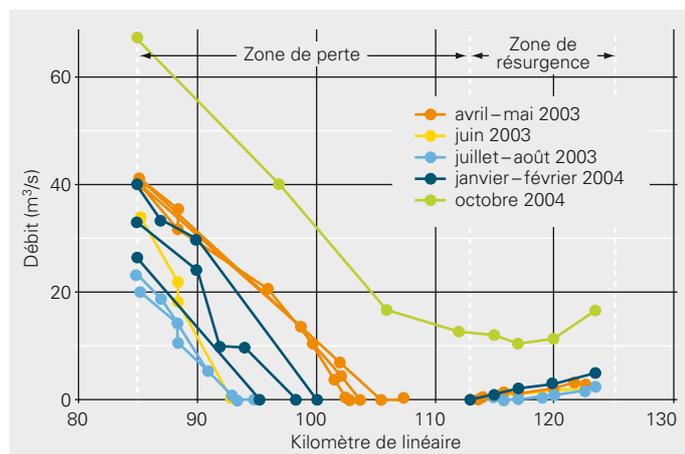
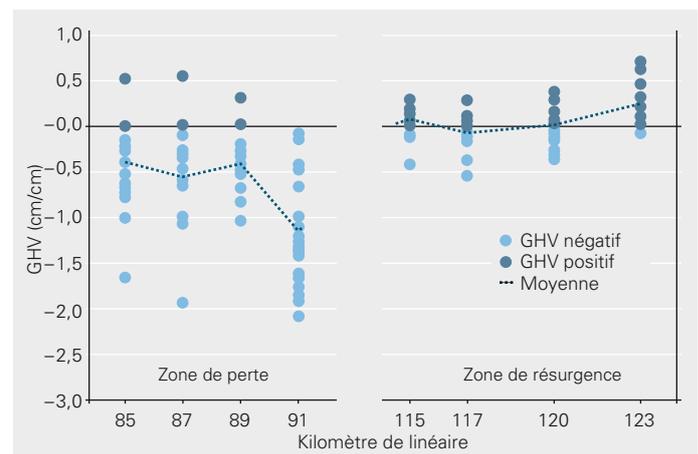


Fig. 2: Gradient hydraulique vertical (GHV) dans les zones de perte et de résurgence.





Dimitry van der Nat, Eawag

La zone de perte du Tagliamento. Au premier plan: l'eau est en train de s'infiltrer; à l'arrière-plan: le fleuve est à sec.

Début de la zone de résurgence du Tagliamento.



Michael Döring, Eawag

**Caractérisation des zones de perte et de résurgence.** Le gradient hydraulique vertical (GHV) vient souligner les résultats des mesures de débit (Fig. 2). Pour mesurer ce gradient, on utilise des cylindres de PVC enfoncés jusqu'à une profondeur d'environ 50 cm dans les sédiments. Les 10 centimètres inférieurs de ces cylindres sont perforés de trous au travers desquels l'eau peut circuler librement dans un sens et dans l'autre. Au bout d'un certain temps, on compare le niveau de l'eau à l'intérieur et à l'extérieur du cylindre: si l'eau est plus basse dans le cylindre qu'à l'extérieur, cela signifie que l'écoulement de surface enregistre des pertes vers la zone hyporhéique (GHV négatif); dans le cas inverse, c'est-à-dire si le niveau est plus élevé à l'intérieur du cylindre, de l'eau résurge de l'hyporhéos (GHV positif).

Les conditions habitationnelles diffèrent selon le sens des échanges d'eau. Ainsi, les fluctuations de température journalières et saisonnières sont plus faibles dans la zone de résurgence que dans la zone de perte. On observe également des différences au niveau des concentrations en nutriments: ainsi, la concentration en nitrates était plus faible dans la zone de perte que dans la zone de résurgence, leurs valeurs moyennes étant respectivement de 0,75 et 1,1 mg par litre. Cette différence est notamment due au fait que le biofilm hyporhéique abrite des bactéries nitrificatrices qui transforment l'ammonium en nitrates.

**Davantage de biofilm dans la zone de résurgence que dans la zone de perte.** Pour quantifier les biofilms, on a procédé à l'échantillonnage de 5 pierres dans quatre stations de prélèvement définies dans chacune des deux zones de perte et de résurgence. Le biofilm développé sur chacune des pierres a été raclé à l'aide d'une brosse métallique avant d'être pesé, calciné puis quantifié par sa masse sèche sans cendre («ash-free dry mass» AFDM) par m<sup>3</sup> de support (Fig. 3A). La quantité moyenne de biofilm était de 25,3 g/m<sup>3</sup> dans la zone de résurgence et de la moitié seulement (12,2 g/m<sup>3</sup>) dans la zone de perte. Cette différence s'explique probablement par la plus grande abondance en nutriments dans la zone de résurgence. Les fluctuations saisonnières de la biomasse globale de biofilm s'expliquent par les variations des conditions environnementales. Les biomasses élevées de juillet et août sont probablement dues aux bonnes conditions d'éclairage et de température qui règnent alors. A l'inverse, les crues d'août et d'octobre (Fig. 3C) réduisent la biomasse des biofilms suite au charriage qu'elles entraînent. Le développement des biofilms reprend dès l'hiver qui suit.

**Un biofilm actif dans la zone de perte.** L'activité du biofilm hyporhéique est quantifiée à l'aide de mesures de respiration consistant à déterminer la quantité d'oxygène consommée par les microorganismes pour effectuer la dégradation de la matière organique. Pour ce faire, nous avons utilisé des cylindres de plexiglas de dimensions connues comblés à moitié de sédiment extrait du lit naturel puis remplis d'eau du fleuve. La teneur initiale en oxygène est ensuite mesurée à l'aide d'un analyseur d'oxygène. Les cylindres sont alors fermés hermétiquement avant d'être enfouis dans les sédiments fluviaux. Au bout d'environ quatre heures, un nouveau dosage d'oxygène est effectué (voir photo de couverture). La différence entre les concentrations initiale et finale permet de calculer la

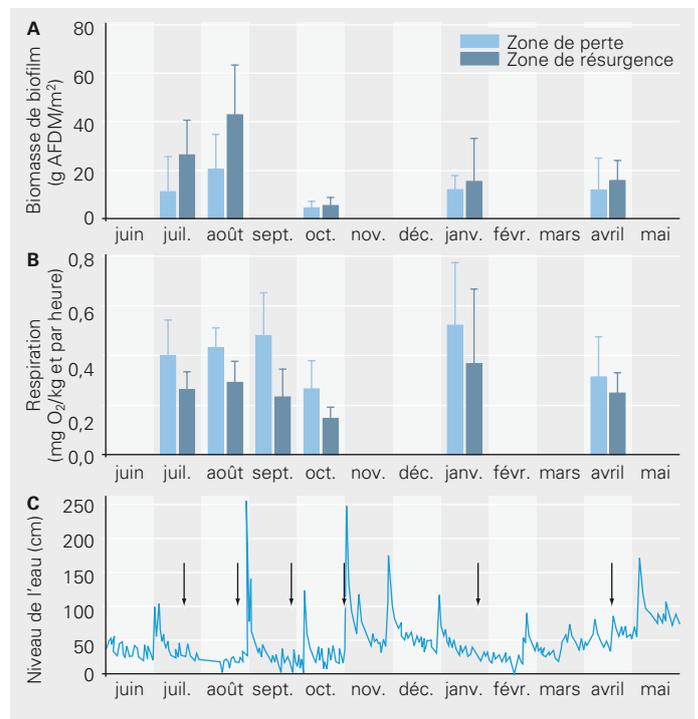


Fig. 3: Biomasse de biofilm au fond du lit (A), respiration du biofilm hyporhéique exprimée par la consommation en oxygène par kg de sédiment <8 mm et par heure à 20 °C (B) et niveau de l'eau dans le Tagliamento de juin 2003 à avril 2004 (C). Barre d'erreur = écart-type, AFDM = «ash-free dry mass» (masse sèche sans cendres).

consommation en oxygène des microorganismes. La respiration était en moyenne de 0,4 mg d'oxygène par kg de sédiments et par heure dans la zone de perte, ce qui était à peu près deux fois plus important que dans la zone de résurgence (Fig. 3). L'eau de la zone de perte est probablement plus riche en matière organique de qualité supérieure (algues p. ex.) ensuite transportée dans la zone hyporhéique.

Notre étude a démontré que les échanges d'eau à grande échelle et leurs effets sur les conditions habitationnelles ont une influence décisive sur le développement des biofilms. Cette constatation permet d'extrapoler les relations mises en évidence à petite échelle (effet des séquences radier/mouille) à la situation de rivières naturelles de grande échelle. Nos travaux soulignent encore toute l'importance de la zone hyporhéique pour les cours d'eau naturels. Cette zone se trouve malheureusement souvent altérée dans son fonctionnement dans les fleuves et rivières généralement aménagés qui composent les paysages actuels. ○ ○ ○

- [1] Tockner K., Ward J.V., Arscott D.B., Edwards P.J., Kollmann J., Gurnell A.M., Petts G.E., Maiolini B. (2003): The Tagliamento River: a model ecosystem of European importance. *Aquatic Sciences* 65, 239–253.
- [2] Tockner K., Ward J.V., Edwards P.J., Kollmann J., Gurnell A.M., Petts G.E. (2001): Der Tagliamento (Norditalien): Eine Wildflusssau als Modellökosystem für den Alpenraum. In: *Laufener Seminarbeitrag, Laufen/Salzach: Bayerische Akademie für Naturschutz und Landschaftspflege*, S. 25–34.

# Précipitation de calcite à la surface des cyanobactéries



Sabine Sibler, ingénieur en protection de l'environnement et collaboratrice scientifique, et Maria Dittrich, physicienne et chef de l'équipe de «Biominéralisation» au sein du département «Eaux de surface».

La calcite, ou carbonate de calcium  $\text{CaCO}_3$ , est un produit naturel présent dans tous les lacs riches en calcium de la Terre. Précipitée dans la colonne d'eau, elle vient se déposer dans les sédiments lacustres. Mais quel est l'initiateur de la formation de calcite?

Les lacs suisses produisent eux aussi de grandes quantités de calcite. Cette production est ainsi estimée à environ 8000 t par an dans le lac de Lugano et à env. 2500 t par an dans le lac de Sempach [1]. La quantité de calcite précipitée est particulièrement importante lors de la principale période de «floraison» des cyanobactéries photosynthétiques (voir encadré) [2]. D'autre part, nous avons observé dans le lac des Quatre-Cantons des particules entièrement recouvertes de cristaux de calcite (Fig. 1) dont nous supposons qu'il s'agit de cyanobactéries. Ces deux observations semblaient montrer un rapport entre la précipitation de calcite et l'activité photosynthétique responsable d'une absorption de  $\text{HCO}_3^-$  par les cellules. Les essais que nous avons alors conduits avec des cyanobactéries dont la fonction de photosynthèse était soit intacte, soit inhibée, ont cependant infirmé cette hypothèse, les deux types de cellules se recouvrant pareillement de cristaux de calcite. Selon notre nouvelle hypothèse, la précipitation de calcite serait favorisée par des substances présentes à la surface des cyanobactéries.

Les cyanobactéries peuvent être planctoniques, c'est-à-dire en suspension libre dans l'eau ou fixées sur un substrat solide (particules en suspension, végétaux...) sous la forme de biofilms [2]. Comme beaucoup d'autres microorganismes, elles portent à leur surface ce que l'on appelle des substances polymériques extracellulaires (EPS = «extrapolyméric substances», cf. article thématique). L'excrétion d'EPS est particulièrement importante lorsque les cyanobactéries ou autres microorganismes s'organisent en biofilms, ces exopolymères formant alors une sorte de ciment entre

les cellules [3]. Dans notre étude, nous avons tout particulièrement cherché à savoir si les EPS des cyanobactéries induisaient une précipitation de calcite tout en visant une meilleure caractérisation de la surface des cyanobactéries et des propriétés de leurs EPS.

**Des EPS de deux souches différentes.** Nous avons utilisé pour notre étude deux souches de *Synechococcus elongatus* de pigmentation différente: l'une rouge suite à la présence de phycoérythrine (Syn-rouge), l'autre verte suite à la présence de phycocyanine (Syn-verte). Syn-rouge a été isolée dans le lac Majeur tandis que Syn-verte provient du Plönersee au nord de l'Allemagne. Les EPS ont été séparées des cyanobactéries par extraction phénolique puis lyophilisées pour être par la suite réhydratées avant utilisation.

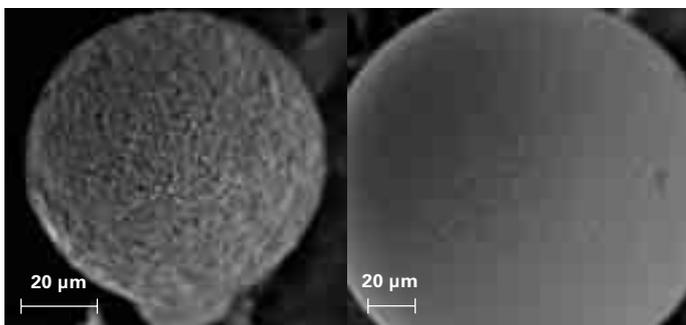
Les échantillons d'EPS ont ensuite été séparés par électrophorèse sur gel d'agarose en vue de leur caractérisation. Cette séparation a permis de mettre en évidence deux séries de bandes bien distinctes, indiquant une différence de taille moléculaire entre les exopolymères des deux souches de *Synechococcus elongatus*.

## Cyanobactéries et précipitation de calcite

Les cyanobactéries appartiennent au groupe d'organismes constituant ce qu'on appelle le picoplancton [2]. Bien que ce groupe domine généralement la biomasse phytoplanctonique des lacs oligotrophes et des océans, il n'a été découvert qu'il y a une vingtaine d'années [4]. La raison en est la taille extrêmement réduite de ces organismes qui mesurent entre 0,5 et 3  $\mu\text{m}$  de long. Contrairement au phytoplancton classique qui peut atteindre 100  $\mu\text{m}$  de long, les cyanobactéries ne sont pas des algues mais des bactéries. Comme les algues, elles assurent la production primaire et se situent à la base de la chaîne alimentaire, c'est-à-dire qu'elles pratiquent la photosynthèse qui consiste à utiliser l'énergie solaire pour transformer le gaz carbonique, l'eau et les sels minéraux en sucres et autres substances organiques, fournissant ainsi la nourriture nécessaire à tous les organismes aquatiques.



Fig. 1: Particules en forme de bâtonnets entièrement recouvertes de calcite issues du lac des Quatre-Cantons. Il s'agit très probablement de cyanobactéries.



Photos: Maria Dittrich, Eawag

Fig. 2: Des cristaux de calcite se forment à la surface de billes d'agarose recouvertes d'EPS (photo de gauche) mais restent absents des billes d'agarose nues (photo de droite).

### Caractérisation des groupes fonctionnels présents à la surface des bactéries.

On appelle groupes fonctionnels les fonctions chimiques réactives situées en position terminale dans une molécule (Tab. 1). Ces groupes sont souvent responsables du comportement chimique dans l'environnement de la substance qui les porte; c'est-à-dire les groupes fonctionnels déterminent la nature des groupes avec lesquels la substance réagit de préférence, la vitesse de cette réaction et la nature des liaisons dans lesquelles elle peut s'engager. Un titrage acide-base suivi d'une analyse informatique des résultats à l'aide du programme de modélisation des surfaces bactériennes FiteQL nous a permis de calculer le pourcentage relatif des différents groupes fonctionnels à la surface des deux souches Syn-rouge et Syn-verte (Tab. 1). Dans les deux cas, les fonctions acide carboxylique étaient les plus largement représentées, suivies des fonctions amine et des fonctions phosphate [5].

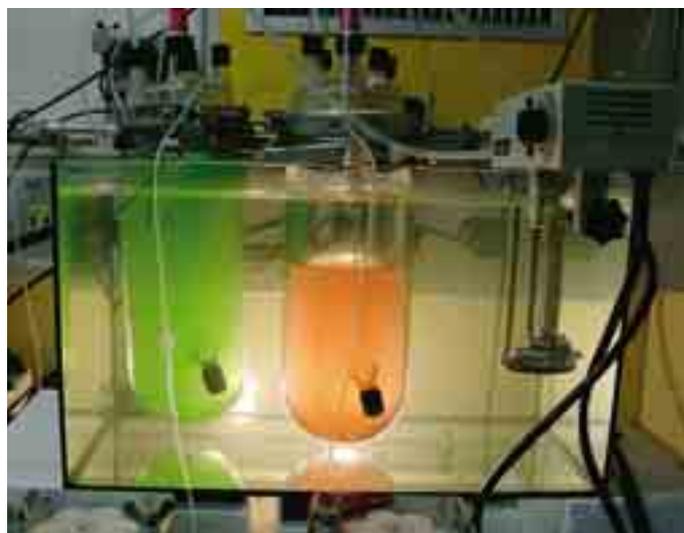
Notre méthode n'a cependant pas uniquement mis en évidence les groupes fonctionnels des EPS mais aussi ceux de la paroi cellulaire des bactéries. Pour tenter de déterminer les fonctions spécifiquement portées par les exopolymères, nous avons répété la manipulation de titrage acide-base avec des EPS isolées à partir de Syn-vertes. Les résultats ont montré que les polymères extracellulaires comportaient des groupes carboxyle et que 90% des fonctions acide carboxylique mises en évidence à la surface des cyanobactéries étaient fournies par les EPS contre seulement 10% par la paroi cellulaire elle-même.

### Les EPS sont-elles effectivement impliquées dans la précipitation de la calcite?

Pour répondre à cette question, nous avons fixé les EPS isolées sur des billes d'agarose de 50 à 150 µm de diamètre qui ont ensuite été placées en incubation pendant 5 jours dans un bain de  $\text{NaCO}_3/\text{CaCl}_2$ . La même manipulation a été effectuée en

Tab. 1: Part relative des différents groupes fonctionnels à la surface des souches de *Synechococcus* étudiées Syn-rouge et Syn-verte.

Groupe fonctionnel	Formule	Syn-rouge	Syn-verte
carboxyle	-COOH	44%	37%
amine	-NH	26%	36%
phosphate	-PO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	26%	27%



Réacteurs de culture contenant des cyanobactéries pigmentées en vert et en rouge.

parallèle avec des billes non porteuses d'EPS. Si les exopolymères sont effectivement responsables de la précipitation de la calcite, des cristaux doivent se former à la surface des billes «enrobées». C'est en effet ce que nous avons pu constater: Les billes d'agarose observées au microscope électronique à balayage étaient effectivement recouvertes de cristaux de calcite quand elles avaient été enrobées d'EPS extraites de Syn-rouges ou Syn-vertes alors qu'elles restaient nues si elles n'étaient pas porteuses d'EPS (Fig. 2).

Nos études [4] ont permis de démontrer que les substances polymériques extracellulaires présentes à la surface des cyanobactéries servent effectivement de noyaux de cristallisation pour la précipitation de la calcite. Nos résultats viennent d'autre part appuyer l'hypothèse selon laquelle les cyanobactéries ne jouent pas uniquement un rôle important dans le cycle du calcium des écosystèmes aquatiques mais que leur grande surface de contact encore augmentée par les cristaux favorise la précipitation d'autres métaux, notamment de métaux lourds toxiques, à la surface des cristaux de calcite. Les cyanobactéries joueraient alors un rôle majeur dans les processus d'autoépuration des eaux. ○ ○ ○

- [1] Ramisch F., Dittrich M., Mattenberger C., Wehrli B., Wüest A. (1999): Calcite dissolution in two deep eutrophic lakes. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 63, 3349–3356.
- [2] Dittrich M., Kurz P., Wehrli B. (2004): The role of autotrophic picocyanobacteria in calcite precipitation in an oligotrophic lake. *Geomicrobiology Journal* 21, 45–53.
- [3] Sutherland I.W. (2001): Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. *Microbiology* 147, 3–9.
- [4] Weisse T. (1993): Dynamics of autotrophic picoplankton in marine and freshwater ecosystems. In: J.G. Jones (Ed.), *Advances in microbial ecology* 13. Plenum Press, p. 328–370.
- [5] Dittrich M., Sibley S. (2005): Cell surface groups of two picocyanobacteria strains studied by zeta potential investigations, potentiometric titration, and infrared spectroscopy. *Journal of Colloid and Interface Science* 286, 487–495.

# Influence des métaux sur les biofilms d'algues

A l'heure actuelle, les rejets de métaux dans l'environnement sont beaucoup moins importants que par le passé. Toutefois, même de faibles concentrations de métaux peuvent porter atteinte aux organismes aquatiques et donc perturber l'ensemble de l'écosystème concerné. C'est là qu'interviennent les écotoxicologues. Leur mission est de développer des approches conceptuelles et méthodologiques permettant d'évaluer les impacts écologiques.



Renata Behra, écotoxicologue, dirige l'équipe «Populations et biocénoses» du département de «Toxicologie de l'environnement».

Coauteurs: W. Ruperez, B. Wagner, D. Kistler, L. Sigg, E. Navarro, C. Robinson

Les biofilms algaux réagissent très vite à des concentrations de métaux élevées en milieu aquatique. Nous savons que les biofilms filtrent et accumulent les métaux présents dans l'eau et qu'ils mettent en œuvre des mécanismes de détoxification pour les neutraliser (voir aussi les articles de S. Meylan p. 19 et de S. Le Faucheur p. 22). Au vu de ces deux phénomènes, il n'est cependant pas possible de conclure à un effet délétère des métaux sur les algues ou d'estimer si les effets éventuels se ressentent également au niveau communautaire.

## Les microcosmes: un outil de recherche expérimentale sur les biofilms

Un microcosme est un dispositif permettant de cultiver et d'étudier les biofilms d'algues dans des conditions relativement naturelles. Ils sont constitués de bacs ou de canaux expérimentaux (Fig. 1) dans lesquels les biofilms se développent sur des supports, dans notre cas des lames de verre. Les microcosmes sont alimentés par des eaux tirées du milieu naturel en conditions soit statiques (l'eau n'est pas renouvelée), soit semi-statiques (l'eau est renouvelée au bout d'un certain temps), soit en continu (apport continu d'eau fraîche). Les microorganismes contenus dans l'eau viennent coloniser les surfaces support disposées dans les microcosmes. Dans ces systèmes, les biofilms formés sont plurispécifiques, leur composition en espèces correspondant à celle du cours d'eau d'origine. Ceci permet de comparer les effets observés dans des essais portant sur une espèce spécifique avec les réactions d'une communauté mixte et donc d'évaluer leur pertinence au niveau écologique. Dans notre étude, nous avons utilisé des microcosmes semi-statiques alimentés par de l'eau de la rivière Glatt.

Notre objectif est donc de développer une approche de recherche en plusieurs étapes permettant à la fois de mettre en évidence les effets secondaires et d'identifier les relations de cause à effet [1]. Cette démarche doit alors permettre d'établir un lien entre le stress provoqué par les métaux et les effets écologiques observés.

Pour les besoins de notre étude, nous avons cultivé des biofilms d'algues dans des systèmes appelés microcosmes (cf. encadré) avant de les exposer à des concentrations élevées de cuivre (Cu) et de cadmium (Cd), deux métaux lourds souvent impliqués dans la pollution métallique des cours d'eau.

**Impacts au niveau cellulaire: accumulation de métaux et production de phytochélatines.** Contrairement à ce qu'ils subissaient par le passé, les cours d'eau sont aujourd'hui confrontés à une pollution par les métaux à faible concentration mais diffusée en continu. Nous avons donc cherché à savoir si une pollution continue à faible concentration avait des effets au niveau cellulaire, tout

Fig. 1: Dispositif de microcosmes pour la culture de biofilms d'algues et leur exposition à des concentration élevées de métaux.



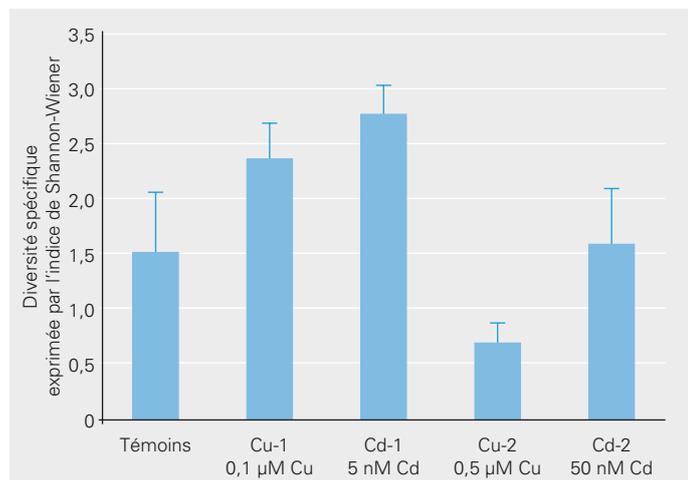
comme une pollution temporaire à concentration élevée. Pour cela, les biofilms algaux cultivés en microcosme ont été exposés pendant six semaines à deux concentrations différentes de cuivre et de cadmium (Cu-1 = 0,1 µM, Cu-2 = 0,5 µM, Cd-1 = 5 nM et Cd-2 = 50 nM). Les concentrations de cuivre et de cadmium employées étaient respectivement de 3 à 15 fois et de 5 à 50 fois plus élevées que les objectifs de qualité fixés par l'Ordonnance sur la protection des eaux (2 µg Cu /l soit env. 30 nM et 0,05 µg Cd /l soit env. 0,5 nM). A l'inverse, les biofilms témoins ont été exposés à de l'eau de la rivière Glatt dont les teneurs en cuivre et en cadmium sont légèrement inférieures aux objectifs de qualité (25 nM Cu et 0,2 nM Cd).

Pour que les métaux aient l'opportunité d'affecter les biofilms d'algues au niveau cellulaire, il faut tout d'abord qu'ils soient absorbés. En effet, les teneurs en Cu et Cd des biofilms augmentent après une exposition aux métaux alors qu'elles restent inchangées dans les biofilms témoins (Tab. 1).

Nous avons d'autre part déterminé les teneurs en phytochélatines, des peptides intervenant dans les processus de détoxification des métaux et synthétisés en présence de concentration en métaux élevée. Nos résultats indiquent une surproduction de phytochélatines dans les biofilms exposés aux métaux. Par contre, ces peptides ont également été mis en évidence dans les biofilms témoins (Tab. 1). Ainsi, il est clair que les phytochélatines ne peuvent pas être utilisés comme indicateur spécifique de stress par les métaux.

**Impacts au niveau des communautés: effectif des populations de différentes espèces d'algues et diversité d'espèces.** La nature et le nombre des espèces d'algues qui peuplent un biofilm dépendent à la fois des conditions environnementales et des caractéristiques physiologiques des différentes espèces. Il importe donc de connaître les effets de faibles concentrations continues sur la taille des populations des différentes espèces et sur la diversité

Fig. 2: Diversité spécifique des biofilms algaux étudiés mesurée par l'indice de Shannon-Wiener au bout de 6 semaines d'exposition à différentes concentrations de métaux lourds.



Paramètre	Biofilms exposés au cuivre	Biofilms exposés au cadmium
Accumulation de cuivre	↑	Pas d'exposition au cuivre
Accumulation de cadmium	Pas d'exposition au cadmium	↑
Teneur en phytochélatines	↑ Problème: ↑ également chez les témoins	↑
Taille de la population des différentes espèces	Selon l'espèce: ↑, — ou ↓	Selon l'espèce: ↑, — ou ↓
Diversité spécifique	↑ ou ↓	↑ ou ↓
Tolérance aux métaux	↑ par rapport au Cu et au Cd	↑ par rapport au Cd

Tab. 1: Différentes réactions des biofilms étudiés au stress par les métaux. ↑ = augmentation, — = stagnation, ↓ = diminution.

spécifique au sein du biofilm. Pour tenter de répondre à cette question, nous avons procédé à un examen microscopique des biofilms au bout de six semaines d'exposition, ceci de manière à enregistrer les espèces présentes et à évaluer leur fréquence.

Les communautés des biofilms étudiés ont réagi de façon très sensible aux variations des concentrations en métaux, aussi faibles soient-elles. Nous avons constaté que le stress par les métaux influait sur la taille des différentes populations, provoquant la régression ou même la disparition de certaines espèces tandis que d'autres espèces devenaient plus abondantes. D'un autre côté, ce stress affectait également la diversité spécifique, exprimée ici par l'indice de Shannon-Wiener (Fig. 2). Plus la valeur de cet indice est élevée, plus la diversité est grande. Nous avons constaté une perte de diversité pour la concentration de cuivre la plus forte (Cu-2). Il est probable que les espèces les plus sensibles se trouvent alors exclues de la communauté de biofilm. A l'inverse, la diversité spécifique des biofilms exposés à la concentration Cd-2 était similaire à celle des biofilms témoins, et ce, bien que les deux types de communautés soient composées d'espèces différentes. L'exposition aux concentrations Cu-1 et Cd-1 a même induit une diversification des communautés qui s'explique probablement par une régression des espèces dominantes en l'absence de stress par les métaux et par une dominance des espèces qui s'imposent en présence de métaux.

Pour tenter de savoir si les modifications observées au niveau de la distribution des espèces étaient effectivement dues au stress par les métaux, nous avons procédé à une analyse statistique des données. Les résultats ont alors montré que certaines espèces d'algues présentaient une corrélation positive, d'autres une corrélation négative avec la teneur en cuivre du milieu et avec l'accumulation de cuivre dans le biofilm. Les résultats concernant le cadmium étaient moins probants.

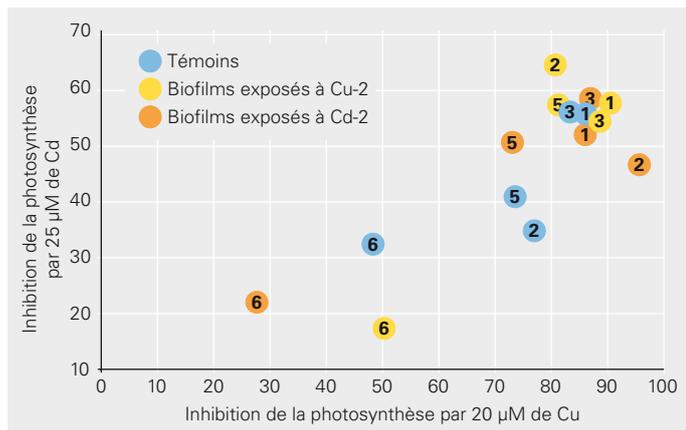
**Impacts au niveau physiologique: tolérance aux métaux.** Les algues disposent de différentes stratégies pour faire face aux excès de métaux [2] et réagissent en outre de manière plus ou moins sensible au stress qu'ils représentent. L'impact des métaux sur les communautés de biofilms composées de plusieurs espèces est

donc particulièrement variable: les espèces sensibles manifestent des dysfonctionnements physiologiques ou sont même éliminées tandis que les espèces tolérantes se voient favorisées. Le stress métallique instaure donc une succession d'espèces au sein du biofilm. On considère que la nouvelle communauté algale est dans son ensemble plus tolérante au métal à l'origine de sa restructuration [3]. Nous avons tenté de vérifier le bien fondé de cette hypothèse.

Des biofilms algaux ayant été exposés pendant 1 à 6 semaines aux concentrations Cu-2 et Cd-2 ont ensuite été soumis pendant 3 heures à des concentrations beaucoup plus élevées de métal (20  $\mu\text{M}$  de Cu et 25  $\mu\text{M}$  de Cd). Nous avons ensuite déterminé leur activité photosynthétique et évalué dans quelle mesure la photosynthèse avait été inhibée par rapport aux biofilms témoins. Alors que, au bout de 1 à 3 semaines d'exposition aux métaux, l'inhibition de la photosynthèse était encore comparable à celle des biofilms témoins (env. 60% par le Cd et 80% par le Cu), nous avons observé une tolérance nettement accrue au bout de 6 semaines (Fig. 3). Les deux communautés sont effectivement devenues plus tolérantes vis-à-vis du métal ayant induit la succession. De plus, les biofilms initialement exposés au cuivre étaient également mieux protégés contre les effets du cadmium. Nous en concluons que les biofilms initialement exposés au cuivre et au cadmium ont des mécanismes de défense différents. Ainsi, les processus de défense efficaces dans les communautés exposées au cuivre semblent aider aussi contre le stress dû au cadmium.

**Des pollutions par les métaux sont clairement décelables.** Nos études ont montré que l'exposition chronique des biofilms à des concentrations modérément élevées de cuivre et de cadmium induisait des effets à tous les niveaux d'organisation biologique (Tab. 1). Le paramètre le plus sensible s'est avéré être la diversité spécifique. Les essais de tolérance indiquent très nettement chez

Fig. 3: Evolution dans le temps de la tolérance aux métaux des biofilms témoins et des biofilms exposés aux concentrations Cu-2 et Cd-2. Les chiffres correspondent au nombre de semaines pendant lesquelles les biofilms ont été exposés aux faibles doses Cu-2 et Cd-2 avant de subir pendant 3 heures des concentrations beaucoup plus élevées de Cu ou de Cd. Plus l'inhibition de la photosynthèse est faible, plus la tolérance est grande.



Biofilms d'algues cultivés en microcosmes.

les biofilms exposés à une pollution par le cuivre un rapport de causalité entre les modifications de la diversité spécifique et le stress par les métaux. Si on considère d'autre part les données relatives à l'accumulation des métaux dans les biofilms, il est alors possible d'attribuer clairement les modifications structurales des communautés des biofilms exposés au cuivre à la présence de ce métal. Dans le cas des biofilms exposés au cadmium, la tolérance accrue à ce métal est clairement attribuable au contact avec celui-ci, ce qui est confirmé par les données d'accumulation. Les analyses de tolérance s'avèrent donc être des outils très utiles pour la mise en évidence d'impacts dus aux modifications des communautés de biofilms induites par les contaminations métalliques. ○ ○ ○

[1] Eggen R.I.L., Behra R., Burkhardt-Holm P., Escher B.I., Schweigert N. (2004): Challenges in ecotoxicology. *Environmental Science & Technology* 38, 58A–64A.

[2] Soldo D., Hari R., Sigg L., Behra R. (2005): Tolerance of *Oocystis nephrocystioides* to copper: intracellular distribution and extracellular complexation of copper. *Aquatic Toxicology* 71, 307–317.

[3] Soldo D., Behra R. (2000): Long-term effects of copper on the structure of freshwater periphyton communities and their tolerance to copper, zinc, nickel and silver. *Aquatic Toxicology* 47, 181–189.

# L'accumulation des métaux dans les biofilms d'algues



Sébastien Meylan, chimiste, est chercheur au département de «Toxicologie de l'environnement».

Coauteurs: L. Sigg, R. Behra

Lors d'événements pluvieux, la concentration en métaux dissous dans les cours d'eau peut augmenter brutalement. Les biofilms d'algues réagissent de manière particulièrement sensible à ce type de modifications du milieu. Ils ont en effet tendance à accumuler les métaux. Mais le degré d'absorption des métaux par les algues dépend de la forme, libre ou liée, sous laquelle ils sont présents dans le milieu.

Les métaux tels que le cuivre et le zinc sont des éléments traces essentiels pour les organismes aquatiques. A trop forte concentration, ils peuvent cependant se révéler toxiques. Les effets de leur action toxique dépendent toutefois en premier lieu de leur biodisponibilité pour les microorganismes. Cette biodisponibilité est à son tour influencée par la spéciation des métaux qui décrit sous quelle forme ils sont présents dans le milieu. Ainsi, les métaux sont aisément disponibles s'ils sont présents sous leur forme libre, c'est-à-dire si les ions ( $\text{Cu}^{2+}$  ou  $\text{Zn}^{2+}$ , par exemple) ne sont com-

plexés que par des molécules d'eau. Leur disponibilité est plus faible s'ils sont complexés avec des ligands organiques ou inorganiques faibles. Enfin, les métaux ne seront pas du tout disponibles s'ils sont liés à des ligands organiques forts.

Ainsi, les expériences conduites en laboratoire montrent que les métaux s'accumulent d'autant plus dans les algues que la concentration d'ions métalliques libres dans le milieu est élevée [1, 2]. Jusqu'à présent, cet aspect a été peu étudié dans les cours d'eau naturels à cause de la complexité de ces systèmes. Nous avons voulu combler cette lacune en réalisant une étude de terrain visant à évaluer si des biofilms d'algues établis dans un ruisseau accumulent davantage de métaux lorsque la concentration en métaux du cours d'eau augmente provisoirement suite à un événement pluvieux.

Prélèvements dans le Furtbach.



Eawag

**Un ruisseau, cadre de l'étude.** Nous avons réalisé notre étude expérimentale dans le Furtbach, un ruisseau du canton de Zurich. Le Furtbach traverse une région à caractère agricole puis la zone industrielle de Regensdorf avant de se jeter dans la Limmat. Ce ruisseau a longtemps servi de récepteur aux eaux traitées de la station d'épuration de Regensdorf. Etant donné que dans les années 1980, la capacité de cette station était insuffisante pour assurer une épuration efficace des effluents qu'elle recevait, les sédiments du ruisseau présentent une forte contamination en métaux lourds en aval du point de rejet. Depuis la construction de la nouvelle station d'épuration en 2000, la pollution du cours d'eau a régressé. Les sédiments contaminés continuent cependant de libérer des métaux dans l'eau du ruisseau. Cette contamination secondaire est particulièrement forte lorsque des pluies viennent gonfler l'écoulement, induisant une remobilisation des sédiments dans l'eau.

Nous avons effectué un suivi dans le Furtbach pour savoir si les événements pluvieux avaient une influence sur la concentration en cuivre et en zinc dans l'eau du ruisseau, et en particulier sur la spéciation de ces métaux. Parallèlement, nous avons suivi l'accumulation des métaux dans les biofilms d'algues naturels [3]. Les biofilms étudiés ont été obtenus par colonisation naturelle de plaques de verre installées par nos soins dans le courant. Le calendrier d'échantillonnage n'était pas fixé à l'avance, de nouveaux prélève-

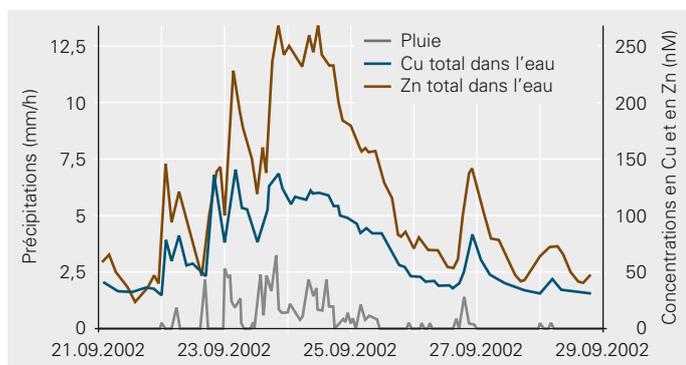


Fig. 1: Les concentrations en cuivre et en zinc dans le Furtbach varient avec l'intensité des événements pluvieux.

ments étant planifiés dès l'annonce d'un événement pluvieux par Meteo-Swiss.

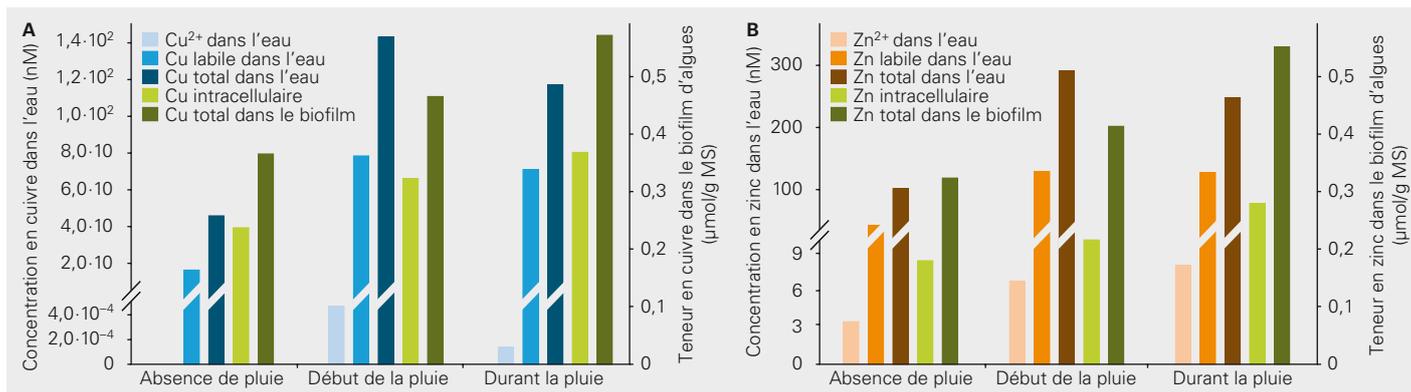
**Influence des pluies sur la spéciation des métaux.** Nos résultats montrent que la concentration totale en cuivre et en zinc dissous augmente dans le Furtbach au cours d'un événement pluvieux (Fig. 1). Les figures 2A et 2B indiquent la contribution des différentes espèces métalliques biodisponibles ainsi que la concentration totale. Les espèces biodisponibles représentées sont les ions libres  $\text{Cu}^{2+}$  et  $\text{Zn}^{2+}$  ainsi que les espèces métalliques labiles (= ions libres + ions liés aux ligands faibles). De manière générale, les espèces étudiées augmentent constamment leur concentration tout au long de l'événement pluvieux, ce qui s'explique par la libération de métaux par les sédiments. La seule exception est constituée par les ions libres  $\text{Cu}^{2+}$  dont la concentration commence par augmenter avant de rechuter alors que la pluie se poursuit. Contrairement aux ions  $\text{Zn}^{2+}$ , une grande partie des ions  $\text{Cu}^{2+}$  désorbés se lie probablement aux ligands présents dans l'eau du ruisseau. Les ions  $\text{Cu}^{2+}$  ont sans doute une affinité plus grande que les ions  $\text{Zn}^{2+}$  pour les ligands. Il est également pensable que l'eau du Furtbach renferme davantage de ligands ne pouvant se complexer qu'avec les ions  $\text{Cu}^{2+}$ .

**Accumulation du cuivre et du zinc dans les biofilms.** Les biofilms d'algues réagissent très rapidement aux changements de concentration en métaux provoqués par les événements pluvieux. Dès le début de la pluie, les teneurs en cuivre et en zinc des biofilms affichent une augmentation qui se poursuit tout au long de l'événement pluvieux (Fig. 2A + B). A la suite de la perturbation, ces concentrations baissent alors lentement pour retrouver leur niveau initial au bout d'environ 2 jours. La teneur totale correspond aux métaux intracellulairement accumulés et à ceux adsorbés à la surface du biofilm. Une part assez grande des deux métaux est en effet adsorbée à la surface des biofilms au cours de l'événement pluvieux. La part accumulée à l'intérieur des cellules algales est beaucoup plus faible (Fig. 2A + B), cette accumulation étant contrôlée par un système actif de régulation.

**La biodisponibilité est déterminée par les différentes espèces métalliques.** Quelles sont les espèces métalliques présentes dans le ruisseau qui influencent de manière décisive la biodisponibilité et donc l'accumulation des métaux dans les biofilms d'algues? Pour répondre à cette question, nous avons étudié les relations entre les teneurs intracellulaires en métaux et les teneurs en différentes espèces des métaux dans l'eau (Fig. 3). Cette approche a montré qu'il existait une corrélation positive entre la teneur intracellulaire en zinc et celle en ions  $\text{Zn}^{2+}$  libres dans l'eau. C'est en revanche avec la teneur en espèces labiles du cuivre qu'est corrélée la concentration intracellulaire de ce métal. Il s'agit là d'une observation entièrement nouvelle. Cette situation est probablement due à la très faible présence des ions libres  $\text{Cu}^{2+}$  dans l'eau: pour que les algues puissent couvrir leurs besoins élémentaires en cuivre, elles se voient contraintes d'utiliser également du cuivre issu d'espèces faiblement complexées. La biodisponibilité du cuivre et du zinc, et donc le risque potentiel qu'ils représentent, ne dépendent donc pas du même type d'espèces métallique. Ces résultats ont été par la suite confirmés par des essais en microcosme [4].

**Intérêt des résultats pour l'évaluation de l'état des cours d'eau.** Une augmentation momentanée des concentrations en cuivre et en zinc dans les cours d'eau, causée par de fortes pluies

Fig. 2: Concentrations des différentes espèces de cuivre (A) et de zinc (B) dans l'eau du Furtbach et dans les biofilms d'algues. Avant la pluie, la concentration en ions  $\text{Cu}^{2+}$  dans l'eau était tellement faible qu'elle n'a pu être représentée.





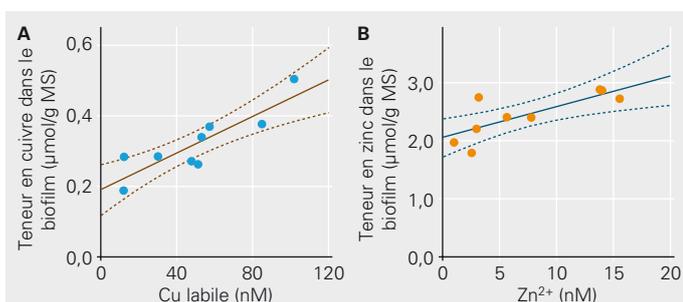
Le dispositif expérimental installé dans le Furtbach: Les biofilms d'algues se développent sur des plaques de verre.

par exemple, a donc un impact mesurable sur les biofilms d'algues naturels. Le cuivre et le zinc sont accumulés rapidement et ne sont relibérés que lentement. Nous avons pu montrer dans notre étude de terrain que la spéciation des métaux jouait un rôle important dans le processus de bioaccumulation. Cet aspect devrait être dorénavant pris en compte dans l'évaluation de la qualité des cours d'eau. Jusqu'à présent, le paramètre pris en compte pour évaluer le degré de contamination est la teneur totale en métaux. Mais c'est oublier que la biodisponibilité des métaux pour les microorganismes et donc leur danger potentiel dépendent de la nature des espèces de métaux présentes. De plus, la capacité de complexa-

tion de l'eau joue un rôle non négligeable: la nature et l'abondance des ligands présents définissent la part relative des espèces complexées. Si la capacité de complexation est faible, la majeure partie des métaux est présente sous la forme d'ions libres facilement disponibles. Des effets négatifs sur les organismes aquatiques peuvent alors se produire même si la teneur totale en métaux est relativement faible. Si l'on souhaite à l'avenir assurer une évaluation plus exacte de la contamination des cours d'eau par les métaux, il serait judicieux de développer des méthodes compactes et robustes pour l'analyse de la spéciation des métaux sur le terrain.

○ ○ ○

Fig. 3: Les teneurs intracellulaires en cuivre (A) et en zinc (B) sont respectivement régulées par les concentrations en espèces labiles du cuivre et en ions libres du zinc.



- [1] Knauer K., Behra R., Sigg L. (1997): Effects of free  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  ions on growth and metal accumulation in freshwater algae. *Environmental Toxicology and Chemistry* 16, 220–229.
- [2] Campbell P.G.C., Errécalde O., Fortin C., Hiriart-Baer V.P., Vigneault B. (2002): Metal bioavailability to phytoplankton: applicability of the biotic ligand model. *Comparative Biochemistry and Physiology, C-Toxicology & Pharmacology* 133, 189–206.
- [3] Meylan S., Behra R., Sigg L. (2003): Accumulation of copper and zinc in periphyton in response to dynamic variations of metal speciation in freshwater. *Environmental Science & Technology* 37, 5204–5212.
- [4] Meylan S., Behra R., Sigg L. (2004): Influence of metal speciation in natural freshwater on bioaccumulation of copper and zinc in periphyton: a microcosm study. *Environmental Science & Technology* 38, 3104–3111.

# Les phytochélatines: indicateur d'exposition aux métaux?



Séverine Le Faucheur, chimiste, a effectué une thèse sur ce sujet au département de «Toxicologie de l'environnement». Laura Sigg, chimiste, dirige l'équipe de «Biogéochimie des métaux». Coauteur: R. Behra

Les algues utilisent les phytochélatines pour se prémunir de la toxicité des métaux. Elles synthétisent ces petits polypeptides lorsque les concentrations en métaux augmentent dans leur environnement. Est-il possible d'utiliser les phytochélatines comme bioindicateur de stress par les métaux? Les réponses que nous avons trouvées sont surprenantes.

Les métaux sont des composés naturels de l'environnement qui sont apportés aux écosystèmes aquatiques par différents processus (érosion des sols, précipitations, émission volcanique...). Mais ils sont également présents dans certains produits industriels, matériaux de construction et produits agrochimiques, tels que les engrais, qui génèrent des apports supplémentaires dans le milieu naturel et aquatique.

Si certains métaux sont essentiels à la vie à des concentrations traces, des concentrations plus élevées peuvent les rendre toxiques, au même titre que les métaux non essentiels [1]. Pour se prémunir de cette toxicité, les algues ont développé plusieurs mécanismes de détoxification, dont la production de molécules intracellulaires, les phytochélatines (PC<sub>n</sub>, voir encadré). Leur rôle est de lier les métaux accumulés en excès dans les cellules. La synthèse de phytochélatines est induite chez les algues par une augmentation de la concentration en métaux dans leur environnement. Nous avons cherché à savoir si, à l'inverse, il était possible d'évaluer la contamination par les métaux du milieu aquatique à partir de la teneur des algues en phytochélatines et donc d'utiliser la concentration en phytochélatines comme bioindicateur.

**La production de phytochélatines est-elle stimulée lors d'un stress par les métaux?** Il nous importait d'étudier le comportement des algues non pas en culture pure et en conditions artificielles de laboratoire mais dans un système naturel. Nous avons alors utilisé des biofilms d'algues naturels [2] développés en microcosmes sur le terrain (cf. l'article de R. Behra p. 17) pour étudier les effets de trois métaux: le cuivre, le zinc et le cadmium. Les microcosmes ont été exposés pendant cinq semaines à l'eau en circulation de la rivière Glatt qui présente elle-même de faibles concentrations des métaux étudiés: 25 nM de cuivre, 34 nM de zinc et 0,2 nM de cadmium.

Dans les microcosmes, les biofilms d'algues sont colonisés sur des lames de verre maintenues sur des portants. Pour notre étude, les lames colonisées ont été extraites du milieu de contrôle pour être exposées pendant 24 heures à un stress par les métaux. Le milieu d'exposition était constitué d'eau de la rivière Glatt adi-

tionnée de quantités connues de cuivre, de zinc et de cadmium pour obtenir les concentrations suivantes: 500 et 1500 nM de cuivre, 250 et 1000 nM de zinc et 1000 nM de cadmium. Les biofilms témoins ont été exposés à l'eau de la rivière Glatt sans ajout de métal. Après exposition, les biofilms ont été collectés et analysés pour déterminer leur teneur en phytochélatines.

**Des résultats inattendus.** Curieusement, les biofilms témoins ne contiennent pas uniquement du glutathion, précurseur des phytochélatines, mais également de la phytochélatine PC2 (Fig. 1, barres grises). Autre élément surprenant, les biofilms exposés à des concentrations accrues de cuivre (barres bleues) ne présentent ni diminution de la concentration en glutathion ni augmentation de la teneur en phytochélatines. Par contre, l'augmentation des concentrations en zinc et en cadmium (barres orange et vertes) dans le milieu provoque une légère diminution du glutathion et une augmentation significative de la production de PC2. Le cadmium induit également une synthèse de phytochélatines PC3 et PC4 (barres

## Les métaux – indispensables à la vie mais toxiques à forte dose

Tous les êtres vivants ont besoin pour vivre de certains métaux dits essentiels (cuivre, zinc, fer, nickel etc.). Ces oligo-éléments servent en quantités infimes de cofacteurs pour les enzymes ou les protéines [1]. Il existe aussi des métaux non essentiels comme le cadmium, le mercure et le plomb. Suivant leur concentration, les métaux qu'ils soient essentiels ou non peuvent être cytotoxiques. Cette toxicité est due à leur capacité à se fixer de façon non spécifique sur certaines biomolécules et se traduit par:

- ▶ un blocage de groupes fonctionnels,
- ▶ un évincement de métaux essentiels
- ▶ ou une modification de la forme active (configuration) des biomolécules touchées.

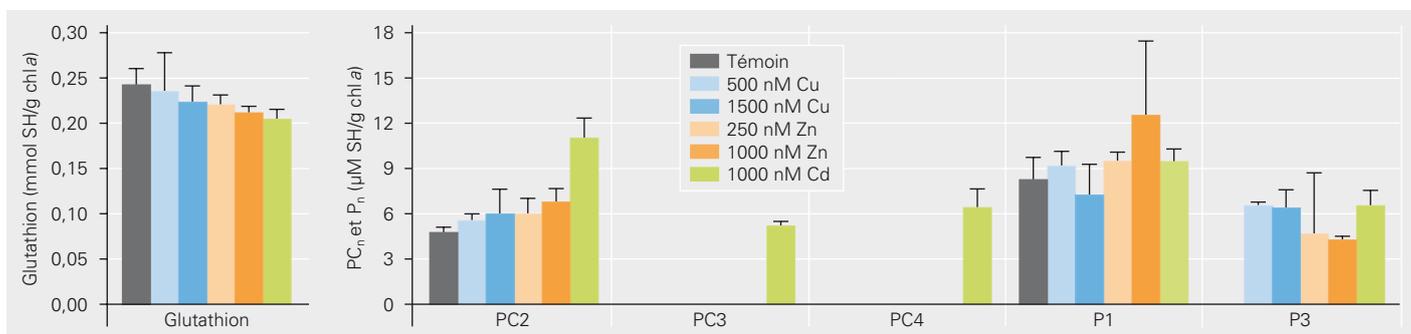


Fig. 1: Concentrations en glutathion, en phytochélatines (PC2–4) et en thiols non identifiés (P1–3) dans des biofilms d’algues exposés à un stress par les métaux.

vertes). Nous avons d’autre part observé dans tous les biofilms la formation des deux thiols non identifiés P1 et P3 à l’exception des biofilms témoins qui restaient exempts de P3.

**Influence d’autres facteurs.** Contrairement à nos attentes, les phytochélatines sont déjà présentes dans les biofilms d’algues aux faibles concentrations environnementales en métaux. D’autres facteurs de stress semblent donc être responsables de leur production. Tout d’abord, les nutriments, la lumière et la température sont connus pour influencer le contenu en thiols intracellulaires. De plus, les phytochélatines sont formées à partir du glutathion et sont

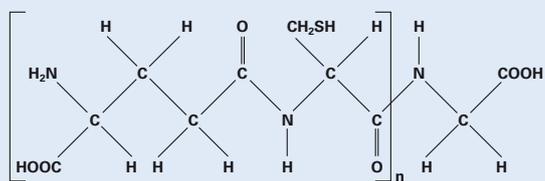
donc dépendantes de la concentration de celui-ci. Or le glutathion remplit plusieurs fonctions dans la cellule en plus de celle de précurseur des phytochélatines. Il intervient par exemple dans les mécanismes de lutte contre le stress oxydatif et les xénobiotiques. Ces derniers peuvent ainsi faire varier le contenu en glutathion de la cellule et influencer indirectement la production en phytochélatines.

D’un autre côté, la composition en algues d’un biofilm affecte aussi sa réponse vis-à-vis des métaux. Ainsi, un biofilm constitué en majorité d’espèces d’algues produisant des phytochélatines à de faibles concentrations en métaux contiendra plus de phytochélatines qu’un biofilm contenant des espèces d’algues moins sensibles (en induction) en métaux. Dans nos biofilms naturels, la production de phytochélatines ne semble pas être significativement stimulée par une augmentation de la teneur en cuivre dans le milieu aquatique. Par contre, cette production augmente suite à une exposition à des concentrations accrues en zinc et en cadmium. L’idée de se servir des phytochélatines comme bioindicateur de stress au zinc et au cadmium semble donc intéressante.

Une autre molécule mérite cependant toute notre attention dans ce contexte: le thiol P3. Absent des biofilms témoins, il n’apparaît dans notre étude qu’en présence de contamination par les métaux, sa production étant stimulée aussi bien par le cuivre que le zinc et le cadmium (Fig. 1). Il est donc bien possible que ce thiol P3 s’avère être un meilleur bioindicateur de stress par les métaux que les phytochélatines étudiées. D’autres études sont nécessaires pour tenter de le vérifier, et en particulier pour déterminer la structure de P3.

### Que sont les phytochélatines?

Les phytochélatines sont de petits polypeptides intracellulaires possédant la séquence d’acides aminés  $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n\text{-Gly}$ , où  $n = 2-11$ , et une très grande affinité pour les métaux grâce à leurs fonctions thiol (SH) et carboxyle (COOH). Ils sont enzymatiquement produits par les plantes, les champignons et les algues à partir du glutathion, thiol prédominant dans les cellules de tout organisme, en réponse à une augmentation de la concentration en métaux dans leur environnement. Une de nos études en laboratoire a clairement mis en évidence une induction de phytochélatines dans une algue verte unicellulaire *Scenedesmus vacuolatus* exposée à un milieu de culture enrichi en cadmium [2]. Dans les algues exposées, les phytochélatines étaient alors produites à différents degrés de polymérisation selon la concentration en cadmium. Dans la littérature, le cadmium est souvent cité comme étant l’inducteur le plus fort, mais l’exposition à d’autres métaux comme le cuivre, le zinc ou le plomb peut également dans une moindre mesure induire leur production. La production de phytochélatines est d’autre part spécifique à chaque espèce d’algues.



- [1] Mason A.Z., Jenkins K.D. (1995): Metal detoxification in aquatic organisms. In: Tessier A., Turner D.R. (Eds.) Metal speciation and bioavailability in aquatic systems. John Wiley & Sons: Chichester, p. 479–608.
- [2] Le Faucheur S., Behra R., Sigg L. (2005): Thiol and metal content in periphyton exposed to elevated copper and zinc concentrations: a field and microcosm study. *Environmental Science and Technology* 39, 8099–8107.
- [3] Le Faucheur S., Behra R., Sigg L. (2005): Phytochelatin induction, cadmium accumulation and algal sensitivity to free cadmium ion in *Scenedesmus vacuolatus*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24, 1731–1737.

# Les biofiltres au banc d'essai



Adriano Joss, microbiologiste, et Max Maurer, ingénieur chimiste et technologue, au département de «Génie de l'environnement».

Coauteur: H. Siegrist

Les biofiltres reviennent en force dans le domaine du traitement des eaux. Ces systèmes fonctionnent à l'aide de biofilms développés sur un matériau solide comme par exemple des billes de polystyrène expansé. Leur atout principal est la faible emprise au sol obtenue grâce à un temps de séjour très bref des effluents dans le réacteur. Mais quel est leur rendement d'épuration? Permettent-ils une élimination efficace des substances indésirables?

La biofiltration demande nettement moins d'espace que le système des boues activées classique (cf. photo p. 26) grâce à un temps de séjour réduit des eaux usées dans les biofiltres. Nous avons cherché à savoir si le rendement d'épuration atteignait malgré cela le niveau de celui des boues activées. L'expérience montre que c'est effectivement le cas pour l'azote et le phosphore. Mais qu'en est-il des micropolluants organiques (cf. encadré) réputés difficilement dégradables? C'est à ce niveau qu'intervient notre projet.

**Comparaison biofiltration/boues activées classiques.** C'est à la station de traitement des eaux polluées (STEP) d'Altenrhein (cf. photo p. 26) que nous avons trouvé les conditions d'étude idéales.

## Micropolluants organiques

Le terme de «Micropolluants organiques» désigne les polluants que l'on rencontre dans le milieu aquatique à des concentrations très faibles (de l'ordre du microgramme ou du nanogramme par litre). Particulièrement toxiques, ces substances peuvent déjà être nocives aux organismes aquatiques à ces concentrations infinitésimales. Les micropolluants organiques peuvent être d'origine industrielle (dégraissants, additifs des plastiques, ...), agricole (pesticides, ...) ou hospitalière et domestique (médicaments, hormones naturelles et synthétiques, produits cosmétiques, ...). De nombreux micropolluants organiques ne sont que partiellement dégradés dans les stations d'épuration ou, comme les pesticides, sont directement déversés dans le milieu naturel sans passer par un traitement quelconque.

Cette station traite en effet les eaux usées pour moitié par un système des boues activées classique et pour moitié par biofiltration. Les caractéristiques hydrauliques des deux systèmes diffèrent de manière fondamentale: alors que les eaux demeurent entre 6 et 20 heures au contact des boues activées dans le traitement biologique du dispositif classique (9000 m<sup>3</sup>), leur temps de séjour n'est que de 0,5 à 1,4 heures dans les biofiltres (env. 450 m<sup>3</sup> = volume traversé moins volume du matériau solide). La STEP d'Altenrhein est conçue pour une charge polluante de 90 000 équivalent-habitants (somme des personnes physiques et de la charge polluante convertie des industries du secteur drainé) et traite un débit par temps sec de 400 l d'eaux usées par seconde.

**Dégradation de 18 micropolluants organiques différents.** Notre projet avait pour objectif de quantifier le taux de dégradation de 18 micropolluants organiques différents (cf. tableau de la Fig. 1). Pour ce faire, nous avons effectué trois prélèvements automatiques chaque fois pendant une semaine à l'aide d'échantillonneurs placés respectivement en entrée et en sortie de chacun des deux dispositifs. Etant donné les fortes fluctuations journalières de la quantité et de la charge polluante des effluents à traiter, nous avons utilisé un programme d'échantillonnage pondéré sur le débit: au cours d'une semaine, les échantillons sont pris dès qu'un certain volume d'eau s'est écoulé au niveau de l'appareil. Cette précaution nous a permis une évaluation réaliste des charges polluantes hebdomadaires d'entrée et de sortie, et donc le calcul des quantités de micropolluants réellement dégradés dans le dispositif de biofiltration d'une part, et dans le système de boues activées d'autre part.

**Des rendements d'épuration similaires.** La figure 1 présente les résultats de notre étude [1]. Chaque point correspond à un micropolluant et indique le pourcentage de dégradation de la substance par les boues activées (en abscisse) et par la biofiltration (en ordonnée). La plupart des polluants est aussi bien éliminé par les biofiltres que par les boues activées. Les points qui leurs correspon-

## Les biofilms: un retour réussi dans le traitement des eaux usées

Les premiers systèmes de traitement biologique des eaux usées ressemblaient à des lits de cours d'eau mis à la verticale. Les effluents à traiter ruisselaient le long de galets empilés cependant que leurs polluants se trouvaient transformés et dégradés. L'épuration de l'eau est assurée par les biofilms formés à la surface des pierres. Ces systèmes de biofilm ont été constamment développés et perfectionnés et connaissent depuis quelques années une renaissance inattendue dans le domaine du traitement des eaux usées.

**Les biofilms s'épanouissent aussi bien en lit fixe qu'en lit fluidisé.** Une des raisons majeures en est certainement que les galets des débuts ont été remplacés par des matériaux filtrants plus performants offrant aux microorganismes une surface de contact nettement plus importante par unité de volume. Deux procédés principaux ont actuellement recours aux biofilms: l'épuration biologique à lit fixe et celle à lit fluidisé [1, 2]. Dans ces deux techniques, les bioréacteurs permettent en leur sein le développement de biofilms de 0,02 à 1 mm d'épaisseur.

Dans le bioréacteur à lit fixe ou biofiltre, le matériau solide le plus souvent choisi est le polystyrène expansé sous

forme de billes ou de granulés. Ces billes sont versées dans une sorte de cage ensuite immergée dans l'effluent à traiter. Sous l'effet de la poussée d'Archimède, les billes de polystyrène s'agglutinent dans la partie supérieure de la cage. La structure qu'elles composent est alors qualifiée de lit fixe étant donné leur liberté de mouvement très limitée. Les lits fixes peuvent également faire appel à d'autres matériaux comme par exemple l'argile expansée ou des plastiques à surface structurée.

Les systèmes à lit fluidisé sont composés d'éléments et de plaquettes de plastique de taille et de forme différentes. Ces médias présentent un poids volumique comparable à celui de l'eau et sont maintenus en suspension par aération ou par agitation mécanique. Les lits fluidisés ne nécessitent donc pas de forme de réacteur particulière et sont souvent utilisés pour l'extension d'installations classiques de boues activées.

**Les systèmes combinés: à la fois biofilms et boues activées.** La dernière innovation dans ce domaine est un système combiné associant la technologie des lits fluidisés à celle des boues activées. Les spécialistes à croissance lente (bactéries

nitrificatrices) colonisent alors principalement les biofilms formés sur les éléments de plastique cependant que les généralistes à croissance rapide occupent majoritairement les boues en suspension. Les deux populations de bactéries ne se font ainsi aucune concurrence, ce qui devrait permettre de tirer profit des deux systèmes à la fois pour produire des réacteurs particulièrement performants. De nombreuses agglomérations se sont étendues ces dernières décennies autour des stations d'épuration, celle-ci ne disposant souvent pas d'espace pour les extensions nécessaires. Des constructions compactes sont alors demandées. L'expérience de terrain montrera si les systèmes combinés sont à la hauteur des attentes de la profession.

- [1] Tschui M., Boller M. (1997): Abwasserreinigung mit submersen Festbettreaktoren. GWA Gas Wasser Abwasser 77, 796-781.
- [2] Maurer M., Siegrist H. (1999): Nitrifikation und Denitrifikation im Wirbelbett. Mitteilungen zum Gewässerschutz Nr. 36, Buwal, Bern



Photos: Eawag



Billes de polystyrène expansé et éléments de plastique comme supports de biofilms pour les lits fixes et les lits fluidisés.

dent se situent soit sur la diagonale soit dans la zone bleue des 10 % d'écart. Les rendements d'épuration ne diffèrent que dans le cas de 3 micropolluants. L'estrone est mieux dégradée dans les biofiltres (85%) que dans les boues activées (50%). C'est l'inverse pour l'azithromycine et la sulfapyridine dont respectivement 50% et 70% sont dégradés dans les boues activées contre seulement 20% et 35% dans les biofiltres. Dans une deuxième campagne de mesures, la sulfapyridine était cependant aussi bien dégradée dans les deux types d'installations.

Nous avons d'autre part constaté que, quel que soit le système d'épuration choisi, les micropolluants organiques n'étaient que partiellement biodégradés (Fig. 1). Seules 3 des 18 substances étudiées étaient dégradées à plus de 80%. A l'inverse, 10 sur 18 l'étaient à moins de 50%.

**Les biofiltres: compacts et efficaces.** Malgré une taille 10 fois moins importante et un temps de séjour de 10 à 20 fois plus court, le système de biofiltration de la STEP d'Altenrhein présente donc

un rendement comparable à celui d'un système classique. Comment est-ce possible?

► Il est probable qu'une dégradation séquentielle se produise au sein du biofiltre au fur et à mesure du ruissellement. Les matières organiques facilement biodégradables sont dégradées dans les premiers niveaux du filtre. La charge polluante diminue donc au cours de l'écoulement. On peut ainsi supposer que les différentes couches du biofiltre sont occupées par différents microorganismes spécialistes de certains types de dégradation, l'installation étant alors caractérisée par une forte diversité de la flore microbienne.

► Le rinçage quotidien assure d'autre part une élimination régulière des généralistes à croissance très rapide. Ces bactéries qui se nourrissent de substances facilement dégradables coloniseraient autrement les biofiltres en très peu de temps. Le biofiltre se voit alors doté d'un biofilm très efficace formé de spécialistes à croissance lente dont notamment des nitrificateurs qui transforment l'urée en nitrates et des bactéries à croissance lente qui métabolisent les substances organiques plus difficilement biodégradables.

Vue aérienne de la STEP d'Altenrhein: Le bâtiment de biofiltration (entouré) a une emprise au sol huit fois plus faible que le système à boues activées classique comprenant 3 bassins d'aération rectangulaires et 3 clarificateurs circulaires; chacune des deux installations traite cependant la moitié des effluents reçus par la station.



STEP Altenrhein

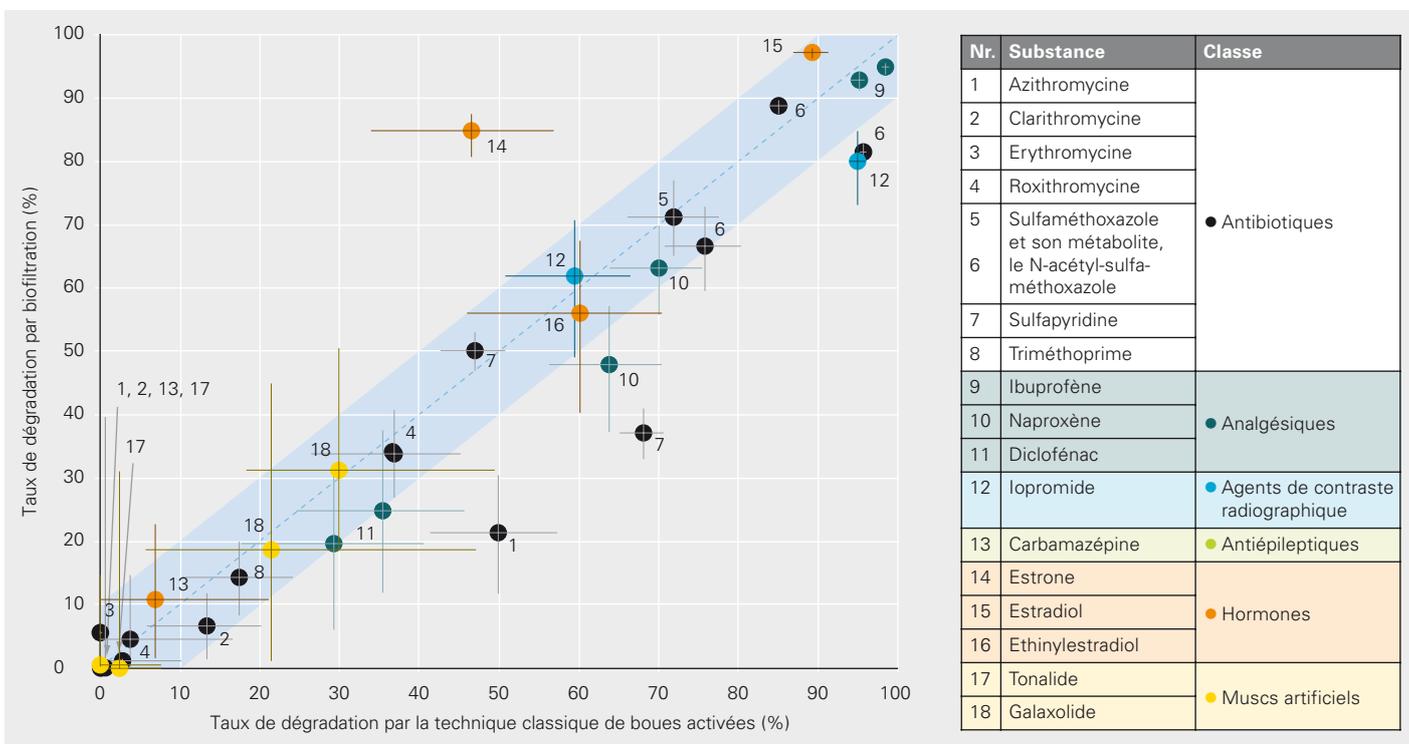


Fig. 1: Comparaison du taux de dégradation de 18 micropolluants organiques obtenu par biofiltration d'une part et par la technique classique des boues activées d'autre part. Etant donné que certaines substances ont été dosées plusieurs fois, la figure compte plus de 18 points. Les traits horizontaux et verticaux indiquent les domaines d'incertitude approximatifs correspondant aux mesures des taux de dégradation [1]. Les 18 micropolluants étudiés sont présentés dans le tableau.

Dans les biofiltres, ces spécialistes forment des biofilms très fins et sont en contact direct avec les effluents à traiter. Ils peuvent donc absorber et éliminer les polluants beaucoup plus facilement que dans un floc de boues activées dont la surface est dominée par des bactéries à croissance rapide.

**Inconvénients des biofiltres.** A côté des avantages déjà mentionnés, la biofiltration présente aussi un certain nombre d'inconvénients par rapport au procédé des boues activées:

- ▶ Le temps de séjour hydraulique très bref dans les réacteurs de biofiltration implique une moindre capacité d'absorption des pointes de charge.
- ▶ Les réacteurs de biofiltration doivent être rincés quotidiennement. 30% de l'eau épurée est utilisée pour ce rinçage. Nécessitant des conditions de turbulence, ce rinçage est effectué en écoulement accéléré et sous insufflation d'air.
- ▶ La consommation d'énergie d'une installation de biofiltration est de 0,4 à 0,6 kWh par m<sup>3</sup> d'effluent à traiter [2, 3] contre 0,2 à 0,5 kWh par m<sup>3</sup> pour une installation classique [4].
- ▶ Etant donné la forte charge particulière en aval des biofiltres, les installations de biofiltration doivent souvent être dotées de filtres à sable placés en fin de chaîne. Cet équipement est nécessaire dès que le seuil de 15 mg/l de particules en suspension défini par la loi est dépassé dans l'eau épurée dans un cinquième des échantillons

prélevés en 24 heures. Le biofiltre de la STEP d'Altenrhein est ainsi lui aussi équipé d'un filtre à sable.

Sur les sites où une extension de la station d'épuration est nécessaire, la préférence va souvent aux systèmes de biofiltration, l'avantage de la faible emprise au sol l'emportant alors sur les inconvénients. ○ ○ ○

[1] Joss A., Keller E., Alder A.C., Göbel A., McArde C.S., Ternes T., Siegrist H. (2005): Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment. *Water Research* 39, 3139–3152.

[2] Keller U. (2005): Communication personnelle, Abwasser-verband Altenrhein.

[3] Kunz H. (2005): Communication personnelle, ARA Region Bern AG.

[4] Müller E.A., Thommen R., Stähli P. (1994): Energie in ARA. BUWAL, Bern.

# Les boues activées: biofilms en flocons



Reto Manser, ingénieur environnementaliste, vient de terminer une thèse de doctorat au département de « Génie de l'environnement », Hansruedi Siegrist, ingénieur, dirige ce département.

Les flocons de boues activées intervenant dans l'épuration des eaux polluées sont des biofilms bien particuliers. Il leur manque en effet le support solide. Suivant le type de traitement biologique choisi, les flocons sont de taille plus ou moins grande, étant par exemple plus petits dans les bioréacteurs à membrane que dans les dispositifs traditionnels. Ce paramètre a-t-il une influence sur le rendement de l'épuration?

Les phénomènes d'agglomération des bactéries jouent un rôle primordial dans le traitement biologique des eaux polluées. Dans les procédés faisant appel à des biofilms, elles forment une pellicule fixée sur des surfaces solides (cf. l'article de A. Joss, p. 26). Dans celui des boues activées, elles s'organisent à l'inverse en flocons de 0,1 à 2 mm de diamètre maintenus en suspension par agitation mécanique ou par insufflation d'air. De par leur structure, ces flocons de boues activées sont similaires aux biofilms classiques à la différence qu'ils ne disposent pas de support solide.

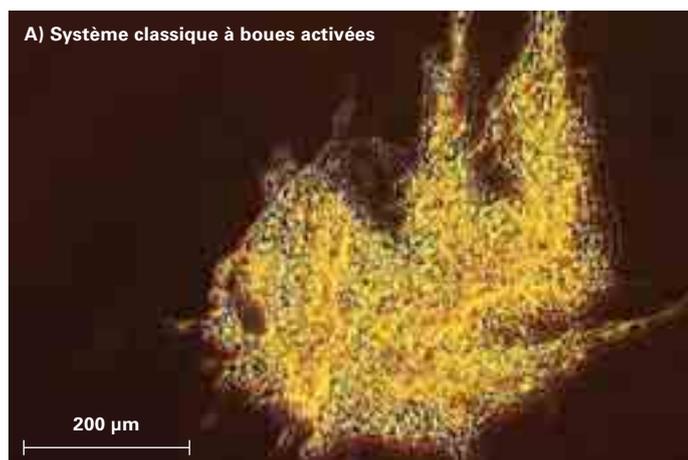
**Clarification: décantation contre membranes immergées.** Jusqu'à ces dernières années, les flocons issus de la technique des boues activées étaient séparés de l'eau épurée par décantation dans des bassins appelés décanteurs secondaires ou clarificateurs. Ces derniers temps, il est de plus en plus question d'effectuer cette séparation par le biais de membranes immergées dans le bassin de boues activées. Ces bioréacteurs à membranes immergées semblent constituer une alternative prometteuse aux techniques traditionnelles [1 p. ex.]. Leurs atouts sont la rétention totale de la

biomasse, ceci impliquant une qualité supérieure de l'eau épurée ainsi qu'un encombrement réduit.

Les travaux exposés dans la littérature indiquent cependant que les flocons produits dans les systèmes à membranes sont nettement plus petits que ceux des installations à décantation secondaire classique. La taille des flocons a une influence directe sur l'approvisionnement en oxygène et en éléments nutritifs des bactéries vivant en leur cœur et donc sur l'activité de celles-ci. C'est pour cette raison que nous avons cherché à savoir si la taille réduite des flocons avait un effet négatif sur le rendement d'épuration des stations faisant appel au procédé membranaire.

**Deux stations pilotes au banc d'essai.** Pour répondre à cette question, nous avons mené une étude comparative entre deux stations pilotes installées à l'Eawag. La première est une station d'épuration à clarification classique, la seconde fait appel à la technologie des membranes. Les deux stations sont rattachées au système d'assainissement communal et sont donc alimentées par des eaux usées de la région de Dübendorf. L'eau épurée qu'elles

Fig. 1: Flocons de boues activées issus du traitement biologique classique à boues activées et clarificateur (A) et du bioréacteur à membranes (B) observés au microscope à contraste de phase.



Photos: Reto Manser, Eawag

produisent est renvoyée dans les égouts. Les réglages de base des deux stations pilotes sont identiques. Des échantillons ont été prélevés hebdomadairement sur une période de deux ans et demi. Les paramètres étudiés sont le débit et la qualité de l'eau épurée, la composition bactérienne des boues activées, la taille des floccs formés et les taux de biodégradation.

**Taille des floccs de boues activées.** Conformément aux résultats reportés dans la littérature, les floccs de notre bioréacteur à membrane étaient systématiquement plus petits que ceux de la station classique (Fig. 1A et 1B). Les floccs du système traditionnel présentaient un diamètre compris entre 200 et 500  $\mu\text{m}$ , leur taille variant fortement en fonction des saisons. Les boues du bioréacteur à membrane étaient constituées de floccs d'environ 100  $\mu\text{m}$  de diamètre au début du projet, cette taille n'atteignant plus que 40  $\mu\text{m}$  au bout de deux ans de fonctionnement.

Mais pourquoi les floccs sont-ils plus grands dans les systèmes classiques? L'une des raisons est probablement que la capacité de sédimentation des petits floccs dans le clarificateur est trop faible et qu'ils sont donc emportés avec l'eau épurée. La sélection induite par la clarification favorise donc les bactéries se trouvant dans les floccs de taille moyenne à forte (>100  $\mu\text{m}$ ). A l'inverse, la séparation membranaire oppose un obstacle infranchissable à l'ensemble des bactéries et ne favorise donc pas les floccs de grande taille. Il est de plus possible que les forces de cisaillement dues à l'aération à grosses bulles des modules membranaires empêchent la croissance des floccs. Enfin, les floccs de petite taille correspondent peut-être pour les bactéries au meilleur compromis entre alimentation en oxygène et en éléments nutritifs d'une part et protection contre la prédation d'autre part.

**Les nitrificateurs des floccs de boues activées.** Les bactéries nitrifiantes comptent parmi les bactéries les plus importantes pour l'épuration biologique des eaux usées communales bien qu'elles ne représentent que moins de 5% de la biomasse bactérienne totale. On distingue parmi les nitrificateurs les bactéries nitrosantes qui oxydent l'ammonium contenu dans les urines en nitrites et les bactéries nitratantes qui oxydent ensuite les nitrites en nitrates. Ces deux groupes bactériens sont à la fois autotrophes, c'est-à-dire qu'ils élaborent leur propre substance organique à partir de substances anorganiques de leur environnement, et aérobies stricts, c'est-à-dire qu'ils sont absolument dépendants de la présence d'oxygène.

Nous avons cherché à savoir s'il existait une différence entre les communautés de bactéries nitrifiantes des deux stations pilotes et avons pour cela utilisé l'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH). Cette technique d'analyse de biologie moléculaire permet d'identifier les bactéries dans leur habitat propre [2].

Les résultats ont montré que la composition des communautés de bactéries nitrosantes était sensiblement la même dans les deux stations pilotes, les floccs y étant dominés par l'espèce *Nitrosomonas oligotropha*. Les stations pilotes sont en majeure partie alimentées par des eaux faiblement chargées particulièrement favorables à *N. oligotropha*. A côté de cette espèce, nous avons également mis en évidence des représentants des groupes *Nitrosomonas*

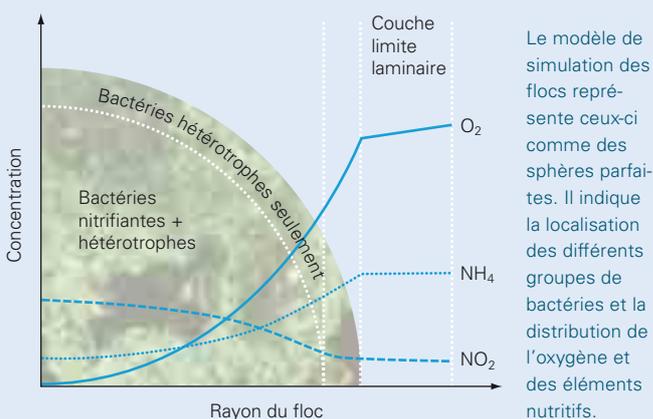
*communis* et *Nitrosomonas eutropha* dans les floccs des deux stations pilotes, alors que ces espèces affectionnent clairement les habitats donc très riches en éléments nutritifs. Leur présence pourrait notamment s'expliquer par la grande variabilité de la charge polluante présentant des pics très nets en substances nutritives et éventuellement provenir d'une inoculation par des bactéries issues du réseau d'assainissement. Nous partons du principe que l'hétérogénéité de la communauté bactérienne est plutôt favorable à la stabilité de la nitrification.

Dans les deux stations pilotes, la nitrification était assurée par des bactéries du genre *Nitrospira*. D'après un certain nombre de publications [3 p. ex.], *Nitrospira* serait responsable de l'oxydation des nitrites en nitrates dans la plupart des stations d'épuration et non pas *Nitrobacter* comme on le pensait jusqu'à présent. *Nitrospira* est en effet bien mieux adaptée que *Nitrobacter* aux milieux peu concentrés.

Les bactéries nitrifiantes forment généralement des agrégats de 10 à 10 000 cellules appelés «clusters» et ne se développent qu'à l'intérieur des floccs (Fig. 2, marquées en jaune). Elles se font probablement recouvrir suite à la prolifération des bactéries hété-

### Modèle de transport des substances dans les floccs de boues activées

Le modèle que nous avons développé pour représenter les processus de transport au sein des floccs de boues activées considère ceux-ci comme des sphères parfaites [4, 5]. Il suppose d'autre part que le transport des éléments nutritifs et de l'oxygène dans la couche limite entre flocc et phase liquide se fait uniquement par diffusion, ce qui induit l'apparition de gradients de concentration très marqués au sein des floccs de boues activées. Les teneurs en oxygène ( $\text{O}_2$ ) et en ammonium diminuent lorsque l'on se rapproche du cœur du flocc étant donné que la consommation de ces deux substrats est plus élevée que leur transport. A l'inverse, les nitrites sont produits à l'intérieur du flocc et leur concentration est donc peu influencée par la diffusion. Bien que les résultats soient accompagnés d'une certaine incertitude, ce modèle permet de visualiser les processus de transport et facilite leur compréhension.



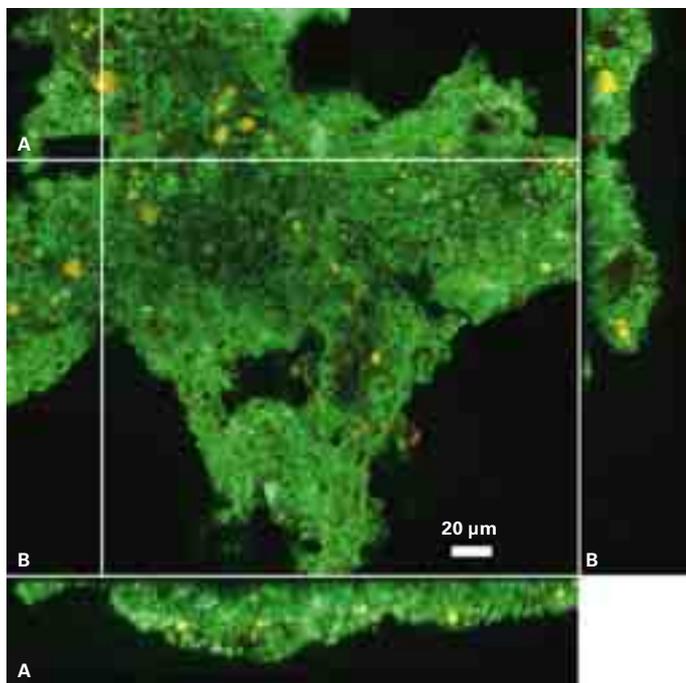
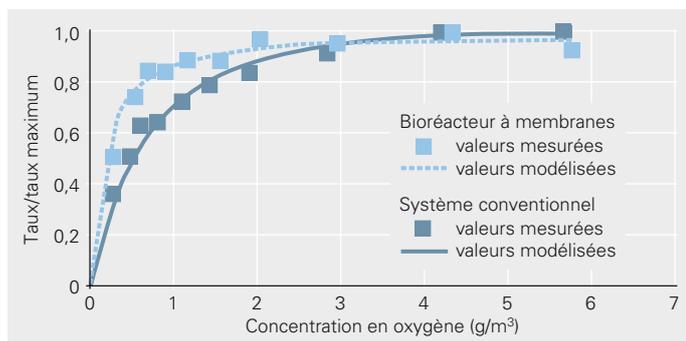


Fig. 2: Coupe de floc de boues activées observée au microscope confocal à balayage laser après marquage par des sondes nucléiques fluorescentes. En vert: sonde non spécifique marquant toutes les bactéries. En jaune: sonde spécifique des bactéries nitrosantes. Le floc a été légèrement écrasé pour les besoins de la préparation.

rotrophes strictement dépendantes de la présence de matière organique.

**Influence de la taille des flocs sur le taux de nitrification.** Nous avons d'autre part cherché à savoir si la taille des flocs avait une influence sur l'activité des bactéries nitrifiantes. Pour cela nous avons déterminé le taux de nitrification de deux façons différentes: par mesure directe et par calcul à l'aide d'un modèle de transport des substances développé par notre équipe (voir encadré et Fig. 2 et 3). Les résultats révèlent une bonne concordance entre les données mesurées et les données calculées, ce qui semble indiquer

Fig. 3: Valeurs mesurées et modélisées du taux de nitrification en fonction de la concentration en oxygène en conditions de surabondance de substances nutritives.



que notre simulation donne une représentation correcte de la distribution des substances au sein des flocs. Les données indiquent d'autre part des différences très nettes entre les deux techniques d'épuration. Ainsi le taux de nitrification est déjà presque maximal pour 1 g d'oxygène par m<sup>3</sup> dans les flocs de petite taille du réacteur membranaire alors que cette concentration est encore insuffisante pour oxygéner les flocs de grande taille du système classique dont les nitrificateurs ne sont encore que partiellement actifs. Ces flocs de grande taille ne sont totalement aérobies qu'à partir de 3 g d'oxygène par m<sup>3</sup>.

Par contre, les flocs sont bien alimentés en ammonium quelle que soit leur taille. Il ne semble pas exister de limitation à son transport. La raison en est sans doute que la nitrification nécessite deux molécules d'oxygène pour oxyder une seule molécule d'ammonium.

**Implications pour la gestion des stations.** La taille des flocs dépend fortement de la technique choisie pour la séparation des boues activées: décantation ou filtration sur membrane. D'un autre côté, cette taille a une influence sur l'approvisionnement en oxygène des bactéries situées au cœur des flocs et donc sur la capacité de nitrification: le bioréacteur à membranes atteint déjà 90 % du taux de nitrification maximal pour une concentration en oxygène de 1 g/m<sup>3</sup>.

Il est donc conseillé de réduire les apports d'oxygène dans le bassin d'aération du bioréacteur à membranes à une valeur de 1 g par m<sup>3</sup> pour les deux raisons suivantes:

- ▶ La puissance des ventilateurs peut être réduite puisque la quantité d'oxygène à insuffler est plus faible que dans le système conventionnel. Les besoins énergétiques de l'unité d'aération peuvent alors être réduits de 10 à 20 %.
- ▶ La moindre oxygénation du milieu permet un meilleur rendement de la dénitrification. En effet, la quantité d'oxygène transportée de la zone aérobie à la zone anaérobie de dénitrification s'en trouve de fait limitée. La dénitrification correspond à la transformation des nitrates en azote moléculaire.

Conclusion: Notre étude a permis de mettre en évidence le rôle primordial de la taille des flocs sur le rendement de l'épuration et l'efficacité des stations d'épuration des eaux polluées. ○ ○ ○

- [1] Stephenson T., Judd S., Jefferson B., Brindle K. (2000): Membrane bioreactors for wastewater treatment. IWA Publishing, London.
- [2] Amann R., Fuchs B.M., Behrens S. (2001): The identification of microorganisms by fluorescence *in situ* hybridisation. Current Opinions in Biotechnology 12, 231–236.
- [3] Daims H., Nielsen J.L., Nielsen P.H., Schleifer K.H., Wagner M. (2001): *In situ* characterization of *Nitrospira*-like nitrite oxidizing bacteria active in wastewater treatment plants. Applied and Environmental Microbiology 67, 5273–5284.
- [4] Manser R., Gujer W., Siegrist H. (2005): Consequences of mass transfer on the kinetics of nitrifiers. Water Research 39, 4633–4642.
- [5] Schwarzenbach R., Gschwend P., Imboden D. (2003): Environmental organic chemistry. John Wiley & Sons, Inc., New Jersey.

# Les biofilms s'opposent à la récupération de chaleur



Oskar Wanner, spécialiste de l'analyse des systèmes et chercheur au département de «Gestion des eaux dans les zones urbaines».

Il devient de plus en plus important d'utiliser avec efficacité l'énergie dont nous dépendons au quotidien. Dans un tel contexte d'économie des ressources, il devient alors intéressant de récupérer une partie de la chaleur véhiculée par les eaux usées à l'aide d'échangeurs de chaleur installés dans les égouts. Or l'efficacité de ces échangeurs thermiques se voit limitée par le développement de biofilms. Existe-t-il un moyen de remédier à ce problème?

Les eaux usées sont un réservoir d'énergie thermique. Elles sont en effet parfois déversées dans les égouts à des températures relativement élevées. Un simple calcul permet de voir à quel point il est intéressant de récupérer cette chaleur: Une station de récupération de chaleur qui refroidirait d'un degré Celsius la totalité des eaux usées de la ville de Zurich développerait une puissance théorique d'environ 8000 kW, ce qui correspond à la consommation de 80 000 ampoules de 100 Watt. Les eaux usées constituent donc une source d'énergie intéressante et surtout perpétuellement disponible. Nous pouvons exploiter cette énergie au lieu de la disperser dans la nature. C'est ce que fait déjà la Suisse sur plus de 50 sites. Un système de pompes à chaleur et d'échangeurs thermiques installés dans le flux d'eaux usées y permet le chauffage de bâtiments et la production d'eau chaude. C'est par exemple le cas à Zurich-Wipkingen où un échangeur de chaleur installé dans les égouts (Fig. 1) permet de chauffer plus de 900 logements.

Mais ces systèmes de récupération de chaleur sont confrontés à un problème de taille: le développement de biofilms. Favorisés par la richesse nutritive des effluents, ils se forment à la surface des échangeurs thermiques dont ils peuvent considérablement réduire l'efficacité. Nous avons cherché un moyen de lutter contre la formation de ces biofilms.

Fig. 1: Echangeur de chaleur de 200 m de long installé dans les égouts.



EWZ

**Un échangeur de chaleur testé au laboratoire.** Nous avons développé dans notre laboratoire un banc d'essai permettant de tester l'efficacité de différentes mesures sur le développement des biofilms (Fig. 2). Ce dispositif est constitué d'un canal en plexiglas dont le fond est équipé d'un petit échangeur thermique de 1 m de long présentant une surface d'acier inoxydable laminée à froid. De plus, quatre petites plaques constituées du même acier et pouvant être facilement échangées ont été intégrées au fond du conduit. Ces plaquettes permettent d'observer l'influence des caractéristiques de surface sur la formation des biofilms. Le canal expérimental est alors parcouru d'eaux usées communales prétraitées. L'échangeur thermique fonctionne quant à lui avec de l'eau déminéralisée. Les températures en entrée et en sortie de l'échangeur sont mesurées et enregistrées en continu. Un groupe frigorifique simule un consommateur utilisant la chaleur récupérée par l'échangeur.

## Récupération de chaleur dans les eaux usées et gestion des stations d'épuration

Dans le cadre d'un projet de recherche financé par l'Office fédéral de l'énergie, nous avons cherché à évaluer la quantité de chaleur pouvant être extraite des eaux usées sans que le rendement de la station d'épuration placée en aval s'en trouve affecté [1]. Nos résultats ont montré que le refroidissement naturel des effluents dans les égouts est de l'ordre de 1 °C et que les aléas météorologiques font fluctuer la température des eaux usées avec une amplitude de plusieurs degrés Celsius. Si l'abaissement de la température des effluents provoquée par un échangeur de chaleur reste dans une certaine limite et si le dimensionnement de la station d'épuration dispose de certaines réserves, c'est-à-dire si la station ne fonctionne pas au maximum de sa capacité, les effets de la récupération de chaleur sur le fonctionnement de la station d'épuration sont minimes [2, 3]. D'autre part, ce prélèvement de chaleur est même bénéfique aux cours d'eau récepteurs qui subissent de ce fait un réchauffement moindre avec les apports d'eau épurée.



Photos: Eawag

Fig. 2: Banc d'essai aménagé au laboratoire pour tester les effets du développement des biofilms sur l'efficacité d'un échangeur thermique.

**Le développement du biofilm peut être limité.** Lorsque l'eau usée s'écoule au-dessus de l'échangeur de chaleur, la surface de ce dernier commence à être colonisée au bout de quelques heures seulement. Au bout de quelques jours, un biofilm dont l'épaisseur peut atteindre plusieurs centaines de microns est déjà observable (Fig. 3). Ce biofilm oppose une résistance au flux de chaleur de l'eau usée vers l'échangeur thermique dont il réduit ainsi l'efficacité. Cette efficacité se calcule à partir de la différence entre les températures des flux d'entrée et de sortie de l'échangeur ainsi que de son flux volumique. La figure 4 montre comment l'efficacité de l'échangeur thermique diminue avec le temps suite à la formation du biofilm pour ne plus représenter que 50% du rendement de l'échangeur propre au bout de 18 jours.

Nous avons alors fait varier la vitesse d'écoulement dans le système, la faisant passer à 1,0 m/s au lieu de 0,4 m/s pendant 20 minutes. L'intensification des forces de frottement exercées par l'eau sur le biofilm a alors induit l'arrachement d'une partie du bio-

Fig. 4: Evolution dans le temps du rendement de l'échangeur de chaleur sous l'effet du développement de biofilm (en pourcentage du rendement de l'échangeur propre). Les flèches indiquent les augmentations ponctuelles de la vitesse d'écoulement des eaux usées.

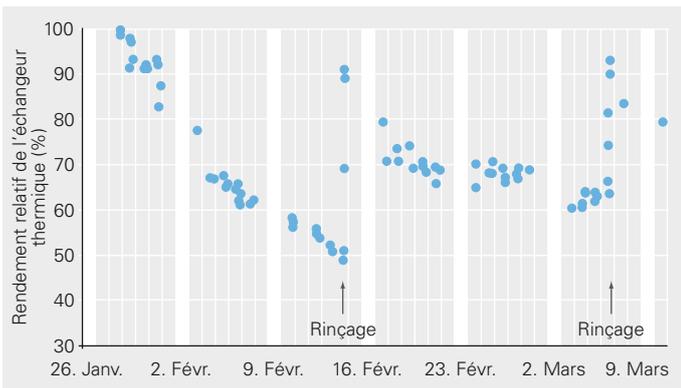


Fig. 3: Formation de biofilm sur des plaquettes d'acier présentant différentes propriétés de surface au bout de 0 (à gauche), 2 (au milieu) et 7 jours d'exposition au flux d'eaux usées (à droite).

film et permis une reprise de l'efficacité de l'échangeur de chaleur. A chacun de ces rinçages, répétés régulièrement, une partie du rendement d'origine a pu être reconquise [4]. Un maintien de la vitesse d'écoulement à la valeur élevée de 1,0 m/s a permis de limiter la perte de rendement qui, au bout de deux mois, n'avait jamais dépassé 20%.

Les essais sur les surfaces ont livré des résultats variables. Que les plaquettes aient été travaillées à la peau de chamois ou à la toile émeri fine ou grossière, qu'elles aient subi un polissage électrique ou diamanté, aucune limitation significative du développement de biofilm n'a pu être constatée. Seules les surfaces à revêtement de téflon semblaient moins propices à la colonisation. Les résultats les meilleurs ont été obtenus en combinant le revêtement de téflon et la forte vitesse d'écoulement. Ce type de revêtement est cependant très sensible aux sables et graviers véhiculés par les eaux usées et ne saurait être utilisé dans les égouts. Il pourrait toutefois trouver une application judicieuse dans d'autres systèmes d'échange de chaleur également confrontés au problème des biofilms.

**Conclusion.** Les études menées au banc d'essai ont montré qu'il n'était pas possible d'empêcher totalement la formation de biofilms sur les échangeurs thermiques installés dans les égouts. Elle peut cependant être maintenue à un niveau limitant la perte de rendement à une valeur maximale de 20% par le biais d'augmentations ponctuelles ou permanentes de la vitesse d'écoulement des effluents qui peuvent être obtenues par des aménagements produisant une chasse d'eau ou des interventions directes par nettoyage mécanique. ○ ○ ○

- [1] Wanner O. (2004): Wärmerückgewinnung aus Abwassersystemen. Schlussbericht BFE-Projekt Nr. 44 177. [www.waermepumpe.ch](http://www.waermepumpe.ch): Forschung/Entwicklung, Berichte, Wärmequellen.
- [2] Wanner O., Clavadetscher P., Siegrist H. (2005): Auswirkungen der Abwasserabkühlung auf den Kläranlagenbetrieb. *Gas Wasser Abwasser* 2, 111–118.
- [3] Wanner O., Panagiotidis V., Clavadetscher, P., Siegrist H. (2005): Effect of heat recovery from raw waste water on nitrification and nitrogen removal in activated sludge plants. *Water Research* 39, 4725–4734.
- [4] Wanner O., Delavy P., Hany R., Panagiotidis V., Zinn M.: Control of heat exchanger biofilms. En préparation.

# Publications

Les publications sont disponibles en fichiers pdf sous: <http://library.eawag.ch/ris/risweb.isa>

Recherche possible par auteur, titre ou mot-clé. En cas de problème, veuillez contacter: [bibliothek@eawag.ch](mailto:bibliothek@eawag.ch)

- [4115] **Markard J., Truffer B.** (2004): Innovation processes in large technical systems: market liberalization as a driver for radical changes? In: «Innovation, Sustainability and Policy», (Eds.). Kloster Seeon, Germany, 23.
- [4117] **Yoshimura C., Omura T., Furumai H., Tockner K.** (2005): Present state of rivers and streams in Japan. *River Res. Appl.* 21, (2–3), 93–112.
- [4118] **Göbel A.** (2004): Occurrence and fate of sulfonamide and macrolide antimicrobials in wastewater treatment. Diss., Naturwissenschaften ETH Zürich, Nr. 15703.
- [4119] **Karaus U.** (2004): The ecology of lateral aquatic habitats along river corridors. Diss., Naturwissenschaften ETH Zürich, Nr. 15 841.
- [4120] **Kaech A., Vallotton N., Egli T.** (2005): Isolation and characterization of heterotrophic bacteria able to grow aerobically with quaternary ammonium alcohols as sole source of carbon and nitrogen. *Syst. Appl. Microbiol.* 28, (3), 230–241.
- [4121] **Karaus U., Alder L., Tockner K.** (2005): «Concave islands»: Habitat heterogeneity of parafluvial ponds in a gravel-bed river. *Wetlands* 25, (1), 26–37.
- [4122] **Strassmann K.M., Brennwald M.S., Peeters F., Kipfer R.** (2005): Dissolved noble gases in the porewater of lacustrine sediments as palaeolimnological proxies. *Geochim. Cosmochim. Acta* 69, (7), 1665–1674.
- [4123] **Müller B., Maerki M., Schmid M., Vologina E.G., Wehrli B., Wüest A., Sturm M.** (2005): Internal carbon and nutrient cycling in Lake Baikal: sedimentation, upwelling, and early diagenesis. *Global and Planetary Change* 46, (1–4), 101–124.
- [4124] **Kaech A., Hofer M., Rentsch D., Schnider C., Egli T.** (2005): Metabolites and dead-end products from the microbial oxidation of quaternary ammonium alcohols. *Biodegradation* 16, (5), 461–473.
- [4125] **Ternes T.A., Bonerz M., Herrmann N., Löffler D., Keller E., Lacida B.B., Alder A.C.** (2005): Determination of pharmaceuticals, iodinated contrast media and musk fragrances in sludge by LC/tandem MS and GC/MS. *J. Chromatogr. A* 1067, (1–2), 213–223.
- [4126] **Leuz A.-K., Johnson C.A.** (2005): Oxidation of Sb(III) to Sb(V) by O<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in aqueous solutions. *Geochim. Cosmochim. Acta* 69, (5), 1165–1172.
- [4127] **Escher B.I., Bramaz N., Eggen R.I.L., Richter M.** (2005): In vitro assessment of modes of toxic action of pharmaceuticals in aquatic life. *Environ. Sci. Technol.* 39, (9), 3090–3100.
- [4128] **Zwank L., Berg M., Elsner M., Schmidt T.C., Schwarzenbach R.P., Haderlein S.B.** (2005): New evaluation scheme for two-dimensional isotope analysis to decipher biodegradation processes: Application to groundwater contamination by MTBE. *Environ. Sci. Technol.* 39, (4), 1018–1029.
- [4129] **Tillman D.E., Larsen T.A., Pahl-Wostl C., Gujer W.** (2005): Simulating development strategies for water supply systems. *J. Hydroinform.* 7, (1), 41–51.
- [4131] **Diemer M., Billeter R., Hooftman D.A., Oetiker K., Lienert J.** (2005): Die langfristigen Auswirkungen von Nutzungsänderungen auf häufige Pflanzenarten montaner Kalkflachmoore in der Schweiz. *Natur und Landschaft* 80, (2), 63–68.
- [4132] **Rosakis A., Koster W.** (2004): Transition metal transport in the green microalga *Chlamydomonas reinhardtii* – genomic sequence analysis. *Res. Microbiol.* 155, (3), 201–210.
- [4133] **Boller M.** (2005): Bedeutung von Schwermetalleinträgen durch Niederschlagswasser. In: «38. Essener Tagung für Wasser- und Abfallwirtschaft», (Eds.). GWA Gewässerschutz Wasser Abwasser, Aachen, 37/31–37/15.
- [4134] **Boller M.** (2005): Eawag – Eidg. Anstalt für Wasserversorgung, Abwasserreinigung und Gewässerschutz: Forschung im Dienste des Wassers. *GWA Gas, Wasser, Abwasser* 3, 191–202.
- [4135] **Soldo D., Hari R., Sigg L., Behra R.** (2005): Tolerance of *Oocystis nephrocytioides* to copper: intracellular distribution and extracellular complexation of copper. *Aquat. Toxicol.* 71, (4), 307–317.
- [4136] **Lorke A., Wüest A.** (2005): Turbulence and mixing regimes specific to lakes. In: «Marine turbulence: theories, observations, and models. Results of the CARTUM Project.» H.Z. Baumert, J. Simpson, J. Südermann (Eds.). Cambridge University Press, 346–354.
- [4137] **Wüest A., Lorke A.** (2005): Validation of microstructure-based diffusivity estimates using tracers in lakes and oceans. In: «Marine turbulence: theories, observations, and models. Results of the CARTUM Project.» H.Z. Baumert, J. Simpson, J. Südermann (Eds.). Cambridge University Press, 139–152.
- [4138] **Bloesch J.** (2005): IAD International Workshop «Hydrologie und Limnologie – eine andere Grenze im Donau Einzugsgebiet» in Petronell bei Wien, Oktober 14–16, 2004 – IAD International Workshop «Hydrology and Limnology – another boundary in the Danube River Basin» in Petronell near Vienna, October 14–16, 2004. *Donau Aktuell/ Danube News* 11, 10–11.
- [4139] **Zobrist J., Hoehn E.** (2005): Umgang mit Indikatorwerten im Grundwasser. *GWA Gas, Wasser, Abwasser* 5, 359–364.
- [4140] **Mavrocordatos D., Pronk W., Boller M.** (2004): Analysis of environmental particles by atomic force microscopy, scanning and transmission electron microscopy. *Water Sci. Technol.* 50, (12), 9–18.
- [4141] **Krejci V., Rossi L., Kreikenbaum S., Fankhauser R.** (2004): Projekt «STORM»: Abwassereinleitungen aus Kanalisationen bei Regenwetter – Einführung in das Projekt. *GWA Gas, Wasser, Abwasser* 6, 419–422.
- [4142] **Krejci V., Kreikenbaum S.** (2004): Projekt «STORM»: Abwassereinleitungen aus Kanalisationen bei Regenwetter – Konzepte des Gewässerschutzes. *GWA Gas, Wasser, Abwasser* 6, 423–430.
- [4143] **Rossi L., Krejci V., Kreikenbaum S.** (2004): Projekt «STORM»: Abwassereinleitungen aus Kanalisationen bei Regenwetter – Anforderungen an die Abwassereinleitungen. *GWA Gas, Wasser, Abwasser* 6, 431–438.
- [4144] **Kreikenbaum S., Krejci V., Fankhauser R., Rauch W.** (2004): Projekt «STORM»: Abwassereinleitungen aus Kanalisationen bei Regenwetter – Berücksichtigung von Unsicherheiten in der Planung. *GWA Gas, Wasser, Abwasser* 8, 587–594.
- [4145] **Krejci V., Kreikenbaum S., Fankhauser R.** (2004): Projekt «STORM»: Abwassereinleitungen aus Kanalisationen bei Regenwetter – Akute Ammoniak- und hydraulische Beeinträchtigungen. *GWA Gas, Wasser, Abwasser* 9, 671–679.
- [4147] **Brennwald M.S., Kipfer R., Imboden D.M.** (2005): Release of gas bubbles from lake sediment traced by noble gas isotopes in the sediment pore water. *Earth Planet. Sci. Lett.* 235, 31–44.
- [4148] **Wüest A., Zeh M.** (2005): Dem Felchenfangrückgang im Brienzersee auf der Spur. *Bulletin SEV/AES* 10, 25–28.
- [4149] **Dittrich M., Sibling S.** (2005): Cell surface groups of two picocyanobacteria strains studied by zeta potential investigations, potentiometric titration, and infrared spectroscopy. *J. Colloid Interface Sci.* 286, (2), 487–495.
- [4150] **Dittrich M., Obst M.** (2004): Are picoplankton responsible for calcite precipitation in lakes? *Ambio* 33, (8), 559–564.
- [4151] **Huber M.M., Gobel A., Joss A., Herrmann N., Löffler D., McArdell C.S., Ried A., Siegrist H., Ternes T.A., von Gunten U.** (2005): Oxidation of pharmaceuticals during ozonation of municipal

- wastewater effluents: A pilot study. *Environ. Sci. Technol.* **39**, (11), 4290–4299.
- [4152] **Treude T., Niggemann J., Kallmeyer J., Wintersteller P., Schubert C.J., Boetius A., Jorgensen B.B.** (2005): Anaerobic oxidation of methane and sulfate reduction along the Chilean continental margin. *Geochim. Cosmochim. Acta* **69**, (11), 2767–2779.
- [4153] **Lee Y., Yoon J., von Gunten U.** (2005): Spectrophotometric determination of ferrate (Fe(VI)) in water by ABTS. *Water Res.* **39**, (10), 1946–1953.
- [4154] **Sigg L., Behra R.** (2005): Speciation and bioavailability of trace metals in freshwater environments. In: «Metal ions in biological systems», A. Sigel, H. Sigel R.K.O. Sigel (Eds.). Taylor & Francis Group, Boca Raton, 47–73.
- [4164] **Stips A., Burchard H., Bolding K., Prandke H., Simon A., Wüest A.** (2005): Measurement and simulation of viscous dissipation in the wave affected surface layer. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* **52**, (9–10), 1133–1155.
- [4165] **Wüest A., Zeh M.** (2005): Dem Felchenrückgang im Brienersee auf der Spur. *natur+mensch* **2**, 5–9.
- [4171] **Maurer M.** (2005): Vom Transportsystem zum Gewässerschutzelement. *Die Schweizer Gemeinde* **6**, 25–26.
- [4172] **Udert K.M., Larsen T.A., Gujer W.** (2005): Chemical nitrite oxidation in acid solutions as a consequence of microbial ammonium oxidation. *Environ. Sci. Technol.* **39**, (11), 4066–4075.
- [4174] **Larsen T.A., Lienert J., Maurer M., Gujer W.** (2005): Ökologische Infrastrukturinnovationen in der Siedlungswasserwirtschaft – Ansätze und Perspektiven. In: «Die Zukunft der Infrastrukturen – Intelligente Netzwerke für eine nachhaltige Entwicklung», L. Reinhard R. Schaeffer (Eds.). Metro-Verlag, Marburg,
- [4175] **Fietz S., Sturm M., Nicklisch A.** (2005): Flux of lipophilic photosynthetic pigments to the surface sediments of Lake Baikal. *Global and Planetary Change* **46**, (1–4), 29–44.
- [4176] **Chevre N., Brazzale A.R., Becker-van Slooten K., Behra R., Tarradellas J., Guettinger H.** (2005): Modeling the concentration-response function of the herbicide dinoseb on *Daphnia magna* (survival time, reproduction) and *Pseudokirchneriella subcapitata* (growth rate). *Ecotox. Environ. Safe.* **62**, (1), 17–25.
- [4177] **Hammes F.A., Egli T.** (2005): New method for assimilable organic carbon determination using flow-cytometric enumeration and a natural microbial consortium as inoculum. *Environ. Sci. Technol.* **39**, (9), 3289–3294.
- [4186] **Gianella S., Wohlwend L.** (2005): Langfristige Bewirtschaftung von GEP-Daten und Kanalisationskataster – Problematik, Methodik und Erfahrungen mit den Gemeinden des Abwasserverbandes Altenrhein. In: «61. VSA-Hauptmitgliederversammlung», (Eds.). Verband Schweizer Abwasser- und Gewässerschutzfachleute, 35–43.
- [4187] **Kracht O., Gujer W.** (2005): Neue Wege der Fremdwasserbestimmung – Verbesserte Quantifizierung mit Tracermethoden? In: «61. VSA-Hauptmitgliederversammlung», (Eds.). Verband Schweizer Abwasser- und Gewässerschutzfachleute, 17–23.
- [4188] **Neumann M., Daebel H., Dominguez D., Gujer W.** (2005): Unsicherheiten bei der Modellierung siedlungswasserwirtschaftlicher Anlagen – Explizite Berücksichtigung in Planung und Dimensionierung. In: «61. VSA-Hauptmitgliederversammlung», (Eds.). Verband Schweizer Abwasser- und Gewässerschutzfachleute, 1–10.
- [4189] **Rieckermann J., Gujer W.** (2005): Abwasserverluste aufspüren. In: «61. VSA-Hauptmitgliederversammlung», (Eds.). Verband Schweizer Abwasser- und Gewässerschutzfachleute, 11–16.
- [4190] **Göbel A., Thomsen A., McArdell C.S., Joss A., Giger W.** (2005): Occurrence and sorption behavior of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in activated sludge treatment. *Environ. Sci. Technol.* **39**, (11), 3981–3989.
- [4191] **Blüm W., McArdell C.S., Hoehn E., Schaubert R., Labhart W., Bertschi S.** (2005): Organische Spurenstoffe im Grundwasser des Limmatales – Ergebnisse der Untersuchungskampagne 2004.
- [4193] **Muscheler R., Beer J., Kubik P.W., Synal H.-A.** (2005): Geomagnetic field intensity during the last 60,000 years based on <sup>10</sup>Be and <sup>36</sup>Cl from the Summit ice cores and <sup>14</sup>C. *Quat. Sci. Rev.* **24**, (16–17), 1849–1860.
- [4205] **Hendrickx B., Dejonghe W., Boenne W., Brennerova M., Cernik M., Lederer T., Bucheli-Witschel M., Bastiaens L., Verstraete W., Top E.M., Diels L., Springael D.** (2005): Dynamics of an oligotrophic bacterial aquifer community during contact with a groundwater plume contaminated with benzene toluene, ethylbenzene, and xylenes: an in situ mesocosm study. *Appl. Environ. Microbiol.* **71**, (7), 3815–3825.
- [4207] **Burkhardt M., Stamm C., Waul C., Singer H., Müller S.** (2005): Surface runoff and transport of sulfonamide antibiotics and tracers on manured grassland. *J. Environ. Qual.* **34**, 1363–1371.
- [4208] **Lienert J., Larsen T.A.** (2005): Making the first step towards a more sustainable urban water management system – with the NoMix toilet. In: «European Water Day, 84<sup>th</sup> ASTEE congress», (Eds.). Paris, France, 15.
- [4209] **Li W., Nowak W., Cirpka O.A.** (2005): Geostatistical inverse modeling of transient pumping tests using temporal moments of drawdown. *Water Resour. Res.* **41**, (8),
- [4210] **Hug T., Gujer W., Siegrist H.** (2005): Rapid quantification of bacteria in activated sludge using fluorescence in situ hybridization and epifluorescence microscopy. *Water Res.* **39**, (16), 3837–3848.
- [4211] **Hug T., Ziranke M., Siegrist H.** (2005): Dynamics of population and scumming on a full-scale wastewater treatment plant in Switzerland. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* **33**, (3), 216–222.
- [4212] **Ammann A.A.** (2005): Speciation of Aminopolycarboxylate and Aminophosphonate metal complexes by AEX ICP-MS in environmental water samples. In: «Biochemistry of Chelating Agents», B. Nowack J.M. VanBriesen (Eds.). American Chemical Society, Washington DC, 108–120.
- [4213] **Ihssen J.** (2005): Adaptation of *Escherichia coli* to growth with low concentrations of carbon and energy substrates. *Diss., Naturwissenschaften ETH Zürich*, Nr. 16 019.
- [4214] **Gächter R., Steingruber S.M., Reinhardt M., Wehrli B.** (2004): Nutrient transfer from soil to surface waters: Differences between nitrate and phosphate. *Aquat. Sci.* **66**, (1), 117–122.
- [4215] **Göbel A., Thomsen A., McArdell C.S., Alder A.C., Giger W., Theiss N., Löffler D., Ternes T.A.** (2005): Extraction and determination of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in sewage sludge. *J. Chromatogr. A* **1085**, (2), 179–189.
- [4216] **Jansson R., Backx H., Boulton A.J., Dixon M., Dudgeon D., Hughes F.M.R., Nakamura K., Stanley E.H., Tockner K.** (2005): Stating mechanisms and refining criteria for ecologically successful river restoration: a comment on Palmer et al. (2005). *J. Appl. Ecol.* **42**, (2), 218–222.
- [4217] **Gurnell A., Tockner K., Edwards E., Petts G.** (2005): Effects of deposited wood on biocomplexity of river corridors. *Frontiers in Ecology and the Environment* **3**, (7), 377–382.
- [4218] **Paetzold A., Tockner K.** (2005): Effects of riparian arthropod predation on the biomass and abundance of aquatic insect emergence. *J. N. Am. Benthol. Soc.* **24**, (2), 395–402.
- [4219] **Dodd M.C., Shah A.D., von Gunten U., Huang C.-H.** (2005): Interactions of Fluoroquinolone Antibacterial Agents with Aqueous Chlorine: Reaction kinetics, mechanisms, and transformation pathways. *Environ. Sci. Technol.* **39**, (18), 7065–7076.
- [4220] **Teutsch N., von Gunten U., Porcelli D., Cirpka O.A., Halliday A.N.** (2005): Adsorption as a cause for iron isotope fractionation in reduced groundwater. *Geochim. Cosmochim. Acta* **69**, (17), 4175–4185.

- [4221] **Johnson A.C., Aerni H.R., Gerritsen A., Gibert M., Giger W., Hylland K., Jurgens M., Nakari T., Pickering A., Suter M.J.F., Svenson A., Wettstein F.E.** (2005): Comparing steroid estrogen, and nonylphenol content across a range of European sewage plants with different treatment and management practices. *Water Res.* **39**, (1), 47–58.
- [4222] **Gabriel F.L.P., Heidberger A., Rentsch D., Giger W., Guenther K., Kohler H.P.E.** (2005): A novel metabolic pathway for degradation of 4-nonylphenol environmental contaminants by *Sphingomonas xenophaga* Bayram – ipso-hydroxylation and intramolecular rearrangement. *J. Biol. Chem.* **280**, (16), 15526–15533.
- [4223] **Huber M.M., Korhonen S., Ternes T.A., von Gunten U.** (2005): Oxidation of pharmaceuticals during water treatment with chlorine dioxide. *Water Res.* **39**, (15), 3607–3617.
- [4224] **Geueke B., Namoto K., Seebach D., Kohler H.P.E.** (2005): A novel beta-peptidyl aminopeptidase (BapA) from strain 3-2W4 cleaves peptide bonds of synthetic beta-tri- and beta-dipeptides. *J. Bacteriol.* **187** (17), 5910–5917.
- [4225] **Yildirim S., Franko T.T., Wohlgenuth R., Kohler H.P.E., Witholt B., Schmid A.** (2005): Recombinant chlorobenzene dioxygenase from *Pseudomonas* sp. P51: A biocatalyst for regioselective oxidation of aromatic nitriles. *Adv. Synth. Catal.* **347** (7–8), 1060–1072.
- [4226] **Geueke B., Namoto K., Agarkova I., Perriard J.C., Kohler H.P.E., Seebach D.** (2005): Bacterial cell penetration by beta(3)-oligohomoarginines: Indications for passive transfer through the lipid bilayer. *Chembiochem* **6**, (6), 982–985.
- [4227] **Wedekind C., Muller R.** (2005): Risk-induced early hatching in salmonids. *Ecology* **86**, (9), 2525–2529.
- [4228] **Le Faucheur S.** (2005): Phytochelatin induction by metals in freshwater algae. *Diss., Naturwissenschaften ETH Zürich*, Nr. 15 985.
- [4229] **Monaghan M.T., Robinson C.T., Spaak P., Ward J.V.** (2005): Macroinvertebrate diversity in fragmented Alpine streams: implications for freshwater conservation. *Aquat. Sci. online first*, 1–11.
- [4230] **Vermeirssen E.L.M., Burki R., Joris C., Peter A., Segner H., Suter M.J.F., Burkhardt-Holm P.** (2005): Characterization of the estrogenicity of Swiss midland rivers using a recombinant yeast bioassay and plasma vitellogenin concentrations in feral male brown trout. *Environ. Toxicol. Chem.* **24**, (9), 2226–2233.
- [4232] **Robinson C.T., Kawecka B.** (2005): Benthic diatoms of an alpine stream/lake network in Switzerland. *Aquat. Sci. online first*, 1–15.
- [4234] **Jankowski T., Straile D.** (2004): Allochronic differentiation among *Daphnia* species, hybrids and backcrosses: the importance of sexual reproduction for population dynamics and genetic architecture. *J. Evol. Biol.* **17** (2), 312–321.
- [4236] **Weyhenmeyer G.A., Meili M., Livingstone D.M.** (2004): Nonlinear temperature response of lake ice breakup. *Geophys. Res. Lett.* **31**, (7),
- [4237] **Peeters F., Beyerle U., Aeschbach-Hertig W., Brennwald M.S., Kipfer R.** (2004): Response to the comment by G. Favreau, A. Guero, and J. Seidel on «Improving noble gas based paleoclimate reconstruction and groundwater dating using <sup>20</sup>Ne/<sup>22</sup>Ne ratios» (2003) *Geochim. Cosmochim. Acta*, **67**, 587–600. *Geochim. Cosmochim. Acta* **68**, (6), 1437–1438.
- [4238] **Fette M., Kipfer R., Schubert C.J., Hoehn E., Wehrli B.** (2005): Assessing river-groundwater exchange in the regulated Rhone River (Switzerland) using stable isotopes and geochemical tracers. *Appl. Geochem.* **20**, (4), 701–712.
- [4239] **Jankowski T.** (2004): Predation of freshwater jellyfish on *Bosmina*: the consequences for population dynamics, body size, and morphology. *Hydrobiologia* **530–31**, 521–528.
- [4241] **Joss A., Keller E., Alder A.C., Göbel A., McArdell C.S., Ternes T., Siegrist H.** (2005): Removal of pharmaceuticals and fragrances in biological wastewater treatment. *Water Res.* **39**, (14), 3139–3152.
- [4242] **Le Faucheur S., Behra R., Sigg L.** (2005): Phytochelatin induction, cadmium accumulation, and algal sensitivity to free cadmium ion in *Scenedesmus vacuolatus*. *Environ. Toxicol. Chem.* **24**, (7), 1731–1737.
- [4243] **Sanchez-Polo M., von Gunten U., Rivera-Utrilla J.** (2005): Efficiency of activated carbon to transform ozone into OH radicals: Influence of operational parameters. *Water Res.* **39**, (14), 3189–3198.
- [4244] **Schmid M., Halbwachs M., Wehrli B., Wuest A.** (2005): Weak mixing in Lake Kivu: New insights indicate increasing risk of uncontrolled gas eruption. *Geochem. Geophys. Geosyst.* **6**.
- [4245] **Buschmann J., Canonica S., Sigg L.** (2005): Photoinduced oxidation of antimony(III) in the presence of humic acid. *Environ. Sci. Technol.* **39**, (14), 5335–5341.
- [4248] **Schwarz U., Bloesch J.** (2004): GIS-supported mitigation of the impact of hydropower dams on the flood plains of the Drava-Mura Rivers in Croatia/Hungary. In: «GIS and Remote Sensing in Hydrology, Water Resources and Environment», (Eds.). Proceedings of ICGRHWE, Three Gorges Dam, China, 178–187.
- [4249] **Bloesch J.** (2004): Water quality monitoring and the morphological paradigm in the Danube River basin – a review. In: «GIS and Remote Sensing in Hydrology, Water Resources and Environment», (Eds.). Proceedings of ICGRHWE, Three Gorges Dam, China, 285–292.
- [4269] **Blass A., Bühler R., Grosjean M., Margreth S., Sturm M.** (2005): The sedimentation of the last few centuries in three proglacial lakes, Upper Engadine, Switzerland. In: «Sediment 2005», H. Haas, K. Ramseyer F. Schlunegger (Eds.). Schriftenreihe der Deutschen Gesellschaft für Geowissenschaften, Gwatt, Lake Thun, Switzerland, 35.
- [4273] **Monecke K., Sturm M.** (2005): Late Glacial to Holocene climate variability and anthropogenic impact as reflected in a high resolution sedimentary record from Baldegger See, Central Switzerland. In: «Sediment 2005», H. Haas, K. Ramseyer F. Schlunegger (Eds.). Schriftenreihe der Deutschen Gesellschaft für Geowissenschaften, Gwatt, Lake Thun, Switzerland, 112.
- [4275] **Truffer B., Lienert J., Monstadt J.** (2005): Zukünfte der Siedlungswasserwirtschaft – Eine Szenarioanalyse für die Schweiz. *GWA Gas, Wasser, Abwasser* **9**, 695–702.
- [4277] **Lorke A., Peeters F., Wuest A.** (2005): Shear-induced convective mixing in bottom boundary layers on slopes. *Limnol. Oceanogr.* **50**, (5), 1612–1619.
- [4278] **Tandy S., Schulin R., Suter M.J.F., Nowack B.** (2005): Determination of [S,S]’-ethylenediamine disuccinic acid (EDDS) by high performance liquid chromatography after derivatization with FMOC. *J. Chromatogr. A* **1077**, (1), 37–43.
- [4279] **Nesatyy V.J., Rutishauser B.V., Eggen R.I.L., Suter M.J.F.** (2005): Identification of the estrogen receptor Cd-binding sites by chemical modification. *Analyst* **130**, (7), 1087–1097.
- [4280] **Nesatyy V.J., Suter M.J.F.** (2004): On the conformation-dependent neutralization theory and charging of individual proteins and their non-covalent complexes in the gas phase. *J. Mass Spectrom.* **39**, (1), 93–97.
- [4281] **Ledford H.K., Baroli I., Shin J.W., Fischer B.B., Eggen R.I.L., Niyogi K.K.** (2004): Comparative profiling of lipid-soluble antioxidants and transcripts reveals two phases of photo-oxidative stress in a xanthophyll-deficient mutant of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Mol. Genet. Genomics* **272**, (4), 470–479.
- [4282] **Fischer B.B., Krieger-Liszky A., Eggen R.I.L.** (2004): Photosensitizers neutral red (Type I) and rose bengal (Type II) cause light-dependent toxicity in *Chlamydomonas reinhardtii* and induce the Gpxh gene via increased singlet oxygen formation. *Environ. Sci. Technol.* **38**, (23), 6307–6313.

## Janet Hering prend la direction de l'Eawag



Le 26 juin dernier, sur proposition du Conseil des EPF, le Conseil fédéral a nommé Janet Hering à la tête de l'Eawag. La scientifique américaine de 48 ans est actuellement professeur de sciences et technologies de l'environnement au California Institute of Technology. Janet Hering est une spécialiste des méthodes de potabilisation des eaux polluées ainsi que du comportement biochimique des métaux traces. Elle assurera la direction de l'Eawag à partir du 1<sup>er</sup> janvier 2007, prenant ainsi le relais d'Ueli Bundi qui dirige l'institut et ses 400 personnes de manière intérimaire depuis le 1<sup>er</sup> juillet 2004.

○ ○ ○

## Compostage global – «decomp database»

Vous avez dit compost? Dans beaucoup de pays en développement, il n'y a même pas de mot qui lui corresponde. Dans les zones urbaines, où l'évacuation des déchets représente pourtant un problème crucial, la possibilité de composter les déchets organiques reste très méconnue. Et ce, bien que certains pays fassent déjà figure de pionniers en lançant des programmes de promotion du compostage à l'échelle du quartier. Ces activités sont cependant rarement coordonnées et se heurtent souvent aux mêmes problèmes. Pour faciliter les échanges et la coordination, le département Sandec de l'Eawag (Eau et assainissement dans les pays en développement) a mis en place une plateforme d'information: «decomp database». Cette banque de données basée sur l'internet rassemble des données sur des installations de compostage situées partout dans le monde. Son objectif est de centraliser l'expérience acquise dans les différents pays ou régions et de la faire partager à tous les intéressés.

○ ○ ○

Les déchets organiques sont distribués sur une pile de compost (Mumbai, India).



S. Drescher, Eawag

## Emménagement dans le Forum Chriesbach

L'Eawag a enfin pu occuper son nouveau bâtiment principal à Dübendorf. Le bâtiment abritant les services administratifs et des groupes de recherche ainsi que la bibliothèque commune à l'Eawag et l'Empa, un restaurant pour le personnel et des locaux destinés à la formation servira de nouvelle référence en matière de développement durable. Les constructions et développements techniques utilisés poussent jusqu'à la limite du possible. D'après les calculs, le bâtiment destiné à accueillir quelque 120 personnes devrait consommer quatre fois moins d'énergie qu'un bâtiment de construction traditionnelle. En effet, le Forum Chriesbach est conçu comme un bâtiment zéro-énergie, c'est-à-dire sans aucun chauffage ni climatisation. L'inauguration officielle aura lieu les 1<sup>er</sup> et 2 septembre prochains.

○ ○ ○



Eawag

## Biosenseur pour l'arsenic reçoit un prix

Une équipe de chercheurs de l'Eawag et des universités de Hanoi (Viêt Nam) et de Lausanne ont réussi la première mondiale d'utiliser sur le terrain un biosenseur pour la détection de l'arsenic. Le nouveau test permet à faible coût l'analyse rapide d'un grand nombre d'échantillons et peut être utilisé directement dans les régions touchées. L'article paru à ce sujet dans la revue «Environmental Science and Technology, ES&T» a obtenu le prix de la meilleure publication ES&T de l'année 2005. Il ne s'agit pas uniquement d'un grand succès pour la publication mais surtout pour une méthode dans le développement de laquelle l'Eawag s'est engagé en première ligne.

○ ○ ○

Workshop à Hanoi: Comment fonctionne le nouveau test de détection de l'arsenic?



M. Berg, Eawag