

CODES DE BONNES PRATIQUES POUR L'UTILISATION DE  
TECHNIQUES ALTERNATIVES D'INVESTIGATION DU SOL

# BACTRAP

(microcosmes *in situ*)



BACTRAP®(André Künzelmann/UFZ)

## Description de la technique

Le microcosme *in situ* au substrat marqué au <sup>13</sup>C peut être utilisé pour démontrer la biodégradation *in situ* de contaminants (ex : BTEX, HAP) dans des conditions (an)oxiques en analysant la composition isotopique des acides gras extraits de la biomasse cultivée sur le BACTRAP.

## INFORMATIONS GÉNÉRALES

### A. Composantes du sol investiguées

La technique est utilisable pour investiguer la présence de contaminants dans les composantes du sol suivante :

Composantes du sol	Remarques
Matrice du sol	-
Eau souterraine	X
Phase gazeuse du sol	-

### B. Contaminants analysés

La technique permet l'investigation des contaminants suivants :

Contaminants analysés	Matrice du sol	Eau souterraine	Phase gazeuse du sol	Remarques
Aromatiques (BTEX)	-	X	-	
Solvants chlorés (VOCL, Cl-éthène, Cl-éthane, aromatiques chlorés)	-	X	-	
HAP	-	X	-	
HMV (C5-C10)	-	X	-	
HM (C10-C40)	-	X	-	
ML (+Cobalt)	-	-	-	
Cyanures	-	-	-	
LNAPL	-	-	-	
DNAPL	-	-	-	
Autres	-	X	-	Ethers (i.e. MTBE, ETBE, dioxanes, ...), Pesticides (i.e. MCPA, atrazine, heptachlore, ...)

### C. Contexte environnemental d'application

La technique alternative d'investigation du sol est utilisable dans les conditions environnementales suivantes :

Type de sol		Remarques
Remblais	X	Tout type de sol pour autant que le BACTRAP puisse être déployé dans l'eau du sol ou dans le puits/piézomètre. Dans les sols moins perméable des réseaux de mesure plus dense que dans du sable sont réalisés.
Sable	X	
Limon	X	
Gravier	X	
Tourbe	-	
Argile	-	
Grès	X	
Autres (schiste, roches métamorphiques, craies)	-	
<b>Caractéristiques hydrogéologiques</b>		
Hétérogène et perméable	X	
Hétérogène et semi-perméable	X	
Hétérogène et imperméable	X	
<b>Profondeur</b>		
Superficielle	X	
1-5 m-ns	X	
5-10 m-ns	X	
10-15 m-ns	X	
>15 m-ns	X	
<b>Revêtement de sol</b>		
Pas de revêtement	X	Tout type de revêtement pour autant que celui-ci puisse être retiré pour l'installation du BACTRAP
Maçonnerie (clinkers)	X	
Pavé	X	
Carrelage	X	
Asphalte	X	
Béton	X	
Autres	X	
<b>Espace de travail minimum</b>		
Dimension L x h x l	-	Le diamètre du puits/piézomètre est de 2 cm minimum.
<b>Technique applicable pour des zones contaminées de :</b>		
Petite surface (1-5 m <sup>2</sup> )	X	
Moyenne surface (5 – 200 m <sup>2</sup> )	X	
Grande surface (>200 m <sup>2</sup> )	X	

### D. Paramètres physico-chimiques analysés

La technique permet l'investigation des paramètres physico-chimiques suivants :

Paramètres physico-chimiques analysés	Matrice du sol	Eau souterraine	Phase gazeuse du sol	Remarques
pH	-	-	-	
EC	-	-	-	
Température	-	-	-	
Conductivité hydraulique	-	-	-	

### E. Principes – Modalités

Le BACTRAP est composé d'un tube en acier inoxydable ou en PTFE perforé, comprenant du charbon actif marqué au <sup>13</sup>C. Le matériau de croissance sert de surface de colonisation pour les micro-organismes qui dégradent et assimilent le substrat adsorbé, marqué par un isotope. Classiquement, le BACTRAP est installé dans un puits ou dans un piézomètre. De manière alternative, il peut être installé par la technique du Direct-Push.

Le BACTRAP est exposé à l'eau souterraine, à la profondeur souhaitée, durant 4-12 semaines. Le BACTRAP est alors renvoyé au fournisseur pour analyse (3-8 semaines). Certaines biomolécules (biomarqueurs) des micro-organismes colonisés sont extraites (généralement des acides gras ou des acides aminés) et leur signature isotopique  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  est déterminée. La comparaison des microcosmes normalisés marqués au  $^{13}\text{C}$  permet une évaluation quantitative relative de l'intensité de dégradation à différents points de mesure. Les BACTRAPs permettent une détermination particulièrement sensible de la dégradation des composants cibles sélectionnés, en particulier pour les HAP.

## F. Informations complémentaires

Des informations complémentaires sont fournies dans le tableau suivant :

Informations complémentaires	
Nature de la technique	Isotopique
Fréquence de prises de mesures	à usage unique
Temps d'acquisition des résultats	- présence du BACTRAP sur site : 4-12 semaines - analyse du BACTRAP : 3-8 semaines
Présentation / visualisation des résultats	Les variations des ratios en isotopes $^{13}\text{C}$ extraits des acides gras ( $\delta^{13}\text{C}_{\text{FA}}$ ) des bactéries du BACTRAP sont présentées sous forme de tableaux. Elles sont comparées avec celles des isotopes $^{13}\text{C}$ naturellement présents dans les acides gras des bactéries.
Niveau d'expérience requis	Medium
Nature du résultat de la mesure	Mesure semi quantitative : Les résultats du BACTRAP (ratio isotopes $^{13}\text{C}$ retrouvés dans les acides gras) sont comparés avec les ratios isotopes $^{13}\text{C}$ qui sont présents naturellement dans les acides gras des bactéries. Une augmentation de $\delta^{13}\text{C}_{\text{FA}}$ par rapport au ratio naturel indique une assimilation des isotopes $^{13}\text{C}$ dans les tissus bactériens et donc une dégradation naturelle des contaminants marqués par le $^{13}\text{C}$ .
ns le	5 $\mu\text{g}/\text{l}$
Prix d'utilisation	2.500 € (HTVA) (incl. Installation et rapportage)

## EXIGENCES TECHNIQUES

### A. Procédure avant utilisation sur site

1. Test de réponse : l'utilisation du BACTRAP ne nécessite pas de test de réponse préalable
2. Calibration : l'utilisation du BACTRAP ne nécessite pas de test de calibration préalable
3. Fréquence d'utilisation de la technique alternative
  - i. A Bruxelles et en Belgique la technique n'a jamais été utilisée.
  - ii. En Allemagne, l'atténuation naturelle a été acceptée par les autorités comme une option d'assainissement. Actuellement, l'utilisation de microcosmes *in situ* est limitée au puits de monitoring des eaux souterraines au niveau de l'aquifère. Le BACTRAP (classique) n'est donc applicable que sur les sites avec un réseau de puits de monitoring, et seule l'activité microbienne à l'intérieur des puits au niveau de l'aquifère peut être évaluée.

### B. Description de l'opération sur le terrain

Puits/piézomètre :

1. Forage à réaliser jusqu'à la profondeur souhaitée pour l'analyse de la biodégradation.
2. Installer un piézomètre (diamètre 2 cm minimum).
3. Attacher le BACTRAP à un câble/corde (ex : polypropylène, nylon).
4. Faire descendre le BACTRAP dans le puits/piézomètre jusqu'à la profondeur souhaitée.
5. Attacher le câble au couvercle du piézomètre.

6. Laisser le BACTRAP pendant 4-12 semaines (incubation).
7. Après la période d'incubation, retirer le BACTRAP et le transférer immédiatement dans un flacon stérile, sur glace carbonique.
8. Envoyer le BACTRAP au fournisseur par livraison express pour analyse.

Direct-Push :

1. Utiliser une machine Direct-Push pour amener le BACTRAP à la profondeur souhaitée pour l'analyse de la biodégradation : équiper le poussoir d'un embout solide et attacher le BACTRAP à la tige de poussée.
2. Retirer la machine et laisser la tige de poussée à laquelle est attachée le BACTRAP.
3. Laisser le BACTRAP pendant 4-12 semaines (incubation).
4. Après la période d'incubation, retirer le BACTRAP et le transférer immédiatement dans un flacon stérile, sur glace carbonique.
5. Envoyer le BACTRAP au fournisseur par livraison express pour analyse.

### C. Procédure après l'acquisition des résultats

Validation des résultats:

Semi-quantitatif : LE BACTRAP permet une évaluation quantitative relative de l'intensité de dégradation à différents points de mesure.

MESURES DE SÉCURITÉ SPÉCIFIQUES À LA TECHNIQUE
--

L'utilisation de gants en nitrile est requise pour la manipulation des BACTRAP. Afin de garantir la sécurité des travailleurs sur le terrain, un équipement de protection individuelle standard est également requis lors de l'utilisation de la technique alternative d'investigation du sol.

INFORMATIONS POUR L'UTILISATEUR
---------------------------------

#### A. Fournisseurs de services ou de la technique alternative d'investigation du sol (utilisation, mesures et analyses)

- Europe
  - Isodetect GmbH (fournisseur de BACTRAP et analyse)

#### B. Sources bibliographiques

- Bahr A., Fischer A., Vogt C., Bombach P. (2015) Evidence of polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation in a contaminated aquifer by combined application of in situ and laboratory microcosms using <sup>13</sup>C-labelled target compounds. *water research* 6 (2015) 100-109
- Stelzer N., Büning C., Pfeifer F., Dohrmann A. B., Tebbe C. C., Nijenhuis I., Kästner M., Richnow H. H. (2006) In situ microcosms to evaluate natural attenuation potentials in contaminated aquifers. *Organic Geochemistry* 37 (2006) 1394–1410
- Bombach P., Nägelec N., Rosella M.,d, Richnowa H. H., Fischerba A. (2015) Evaluation of ethyl tert-butyl ether biodegradation in a contaminated aquifer by compound-specific isotope analysis and in situ microcosms. *Journal of Hazardous Materials* 286 (2015) 100–106

- Fischer A., Manefield M., Bombach P. (2016) Application of stable isotope tools for evaluating natural and stimulated biodegradation of organic pollutants in field studies. *Opinion in Biotechnology* 2016, 41:99–107
- Schuring C, Melo V. A., Miltner A., Kaestner M. (2013) Characterisation of microbial activity in the framework of natural attenuation without groundwater monitoring wells?: a new Direct-Push probe. *Environ Sci Pollut Res* DOI 10.1007/s11356-013-1685-y
- Stelzer et al. (2005) Monitoring of in situ biodegradation of groundwater contaminants using a test system (BACTRAP) with <sup>13</sup>C-labelled substrates, UFZ Centre for Environmental Research Leipzig-Halle GmbH
- Isodetect GmbH – Contaminated sites - Monitoringstools