

Contribution aux exercices de prospective 2020-2030
Contribution to the 2020-2030 prospective reflection

Energie nucléaire et environnement
Nuclear energy and environment

1) Aperçu / Overview

Thème de recherche proposé : Encapsulation de bactéries pour en améliorer le potentiel de bioremédiation

Research topic of the proposition: *Bacterial encapsulation to enhance their bioremediation potential*

Axe principal concerné : Radioactivité et environnement: exploration de procédés de remédiation.

Main research topic: *Radioactivity and environment: exploration of remediation processes.*

Contributeurs (et affiliations) de la proposition: Claire Sergeant et Adam Williamson (CENBG)

Proposition's authors and affiliations: *Claire Sergeant and Adam Williamson (CENBG)*

Email du contact de la proposition : sergeant@cenbg.in2p3.fr

E-mail of the corresponding author: *sergeant@cenbg.in2p3.fr*

Résumé (500 caractères max., incluant les espaces) :

Summary (500 characters maximum, including spaces):

Des technologies efficaces et durables sont requises pour dépolluer les quantités croissantes de déchets radioactifs. Des μ organismes peuvent immobiliser des radioéléments (RNs) en laboratoire, mais des facteurs (a)biotiques limitent leur efficacité à l'échelle industrielle. L'encapsulation chimique de bactéries permettrait d'augmenter leurs capacités métaboliques et de protéger les cellules. Ce projet explorerait les interactions entre microbes encapsulés et RNs, jusqu'à une application industrielle.

Effective and sustainable technologies are required to remediate the increasing amounts of radioactive wastes. Microorganisms can immobilize radionuclides at lab scale, however, biotic and abiotic scale up factors limit its effectiveness at industrial scale. Encapsulating bacteria can overcome these issues by augmenting metabolic processes and/or protect cells. This collaborative project will thus explore fundamental encapsulated microbe-radionuclide interactions towards scale up for industrial application.

2) Description de la question/problématique scientifique rattachée au thème (1 page) / Description of the scientific issue connected to the topic (1 page)

Merci d'indiquer le positionnement des objectifs dans l'état de l'art (échelle internationale), les liens avec des projets existants et/ou futurs, la pertinence du cadre académique dans la question abordée.

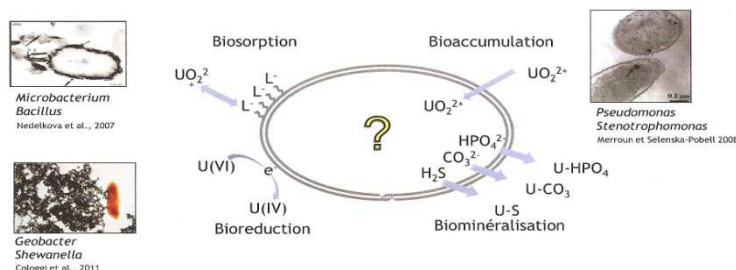
Please include description of motivation against (international) state-of-the-art, as well as links to other projects (existing or foreseen), relevance of the academic frame for the issue suggested.

La pollution des sols et la nécessité de les dépolluer est un problème de plus en plus important, comme le montre le tonnage des terres dépolluées en France qui a progressé de plus de 68% entre 2006 et 2010, d'après un rapport de l'INRS du 1er trimestre 2013 (INRS HST ND2372-230-13). Les sols réhabilités sont majoritairement pollués par des hydrocarbures, du plomb, des composés halogénés volatils ou encore du chrome.

Parmi les techniques de dépollution, la biodépollution des sols, faisant appel aux capacités naturelles des microorganismes à dégrader des polluants, est actuellement le choix prioritaire car son coût moyen est nettement inférieur à celui des autres techniques.

D'autre part, on sait que le démantèlement des installations nucléaires va produire dans les prochaines décennies des volumes non négligeables de déchets (solides et liquides) plus ou moins contaminés en métaux et en radionucléides, pour lesquels il faudra trouver des solutions les moins onéreuses possible.

De nombreuses études (Nedelkova et al., 2007 ; Collogi et al., 2011 ; Merroun & Selensaka-Pobell, 2008) ont montré le potentiel de biodépollution de certaines souches bactériennes vis à vis de métaux et de radionucléides (exemple des mécanismes mis en jeu pour l'Uranium).



Mais peu d'essais ont pour l'instant été menées sur des sites pollués en radionucléides, et avec des succès variables (Newsome et al., 2014, Francis and Nancharaiah 2015). Les échecs dans ces procédés de bio-augmentation résultent de paramètres abiotiques (fluctuations du pH, de la température, de la salinité, mauvais accès aux nutriments et apparition de composés toxiques) et biotiques (compétition avec les consortia microbiens indigènes, limitation des nutriments, prédation par des protozoaires et bactériophages).

Le concept d'encapsulation microbienne par des polymères a commencé à montrer son intérêt pour la remédiation de métaux en présentant différents avantages: haute densité microbienne à l'intérieur des capsules, activité métabolique accrue, protection des bactéries contre des éléments toxiques, développement de process (semi)continus permettant de récupérer les bactéries après biodépollution (Ontanon et al., 2017 ; Vermeulen and Nicolay, 2017).

Une seule étude a pour le moment décrit la bioremédiation pour ôter le césium des sols contaminés de Fukushima (Sasaki et al 2015). Il y a clairement un très grand potentiel de recherche sur ces techniques d'immobilisation et sur les matrices d'encapsulation, pour

explorer les processus en jeu pour différents radionucléides et différents microorganismes, afin de décontaminer des sols mais aussi des effluents liquides. Ceci pourrait ouvrir tout un pan de recherches dans les années à venir.

With the number of contaminated sites in France (primarily hydrocarbons; lead, volatile halogens and chromium) increasing by 68 % between 2006 and 2010 (INRS HST ND2372-230-13), the need for effective remediation techniques is becoming increasingly important.

Among the remediation techniques, bioremediation involves the capacity of indigenous microorganisms capable of degrading the pollutant and for several contaminants. For several contaminants including (halogenated) hydrocarbons, it is currently applied at field scale, with enhanced efficiency, sustainability and reduced costs over other remediation techniques.

With the decommissioning of legacy nuclear reactors and continuous rise in solid and liquid radioactive wastes of low to high metal/ radionuclide content over the coming decades, cheap and efficient technologies are also increasingly needed. A number of studies (Nedelkova et al., 2007 ; Collogi et al., 2011 ; Merroun & Selensaka-Pobell, 2008) have demonstrated the potential for microorganisms capable of metal and radionuclide bioremediation (e.g. examples given for Uranium). However, from the small number of studies that have applied this to field scale, success has been jeopardized by abiotic (fluctuations in pH, temperature, salinity) and/or biotic (competition for nutrients, predation by bacteriophage/protozoa), compounded by scale up issues from the laboratory (Newsome et al., 2014; Francis and Nancharaiah, 2015).

Encapsulating microorganisms in polymeric matrices are starting to be demonstrated for biotechnologies including wastewater treatment and metal recovery (Ontanon et al., 2017; Vermeulen & Nicolay 2017). They can be advantageous over planktonic suspensions as they can facilitate high cell densities within the encapsulation matrix, which can lead to enhanced metabolic rates and protection against other toxic elements. Furthermore, encapsulated microorganisms can permit higher flow rates and allow microbial biomass to be recovered and/or reused, which can lead to reduced process costs for future (semi) continuous reactor systems.

Only one study to date focussed towards radionuclide bioremediation, to remove radio caesium from Fukushima contaminated soils (Sasaki et al 2015). Clearly there is great potential and scope for this research, to explore different radionuclides, microorganisms, radionuclide immobilisation techniques and encapsulation matrices for both contaminated soils and radioactive effluents, therefore this will serve as a research pillar for the coming years.

* Cologgi DL, Lampa-Pastirk S, Speers AM, Kelly SD & Reguera G., 2011. Extracellular reduction of uranium via *Geobacter* conductive pili as a protective cellular mechanism, *Proc Natl Acad Sci U.S.A.*, 108(37), pp. 15248-52.

*Francis, A.J. & Nancharaiah, Y. V., 2015. “*In situ* and *ex situ* bioremediation of radionuclide- contaminated soils at nuclear and norm sites”, in L. van Velzen (Ed.) *Environmental Remediation and Restoration of Contaminated Nuclear and Norm Sites*, Woodhead publishing, UK, pp.257-262.

*Lloyd, J.R., Coates, J. C., Williamson, A. J., and Watts, M. P., 2016. “Chapter 19: Geomicrobial Interactions with Other Transition Metals (Chromium, Molybdenum, Vanadium, Technetium), Metalloids (Polonium), Actinides

(Uranium, Neptunium, and Plutonium), and the Rare Earth Elements,” in H. L. Lutz, D. K. Newman and A. Kappler, eds. *Ehrlich's Geomicrobiology*.

*Merroun M. & Selenska-Pobell S., 2008. Bacterial interactions with uranium: an environmental perspective, *J Contam Hydrol.* 102(3-4), pp.285-95.

*Nedelkova, M., Merroun, M., Rossberg, A., Hennig, C. & Selenska-Pobell, S. 2007. Microbacterium isolates from the vicinity of a radioactive waste depository and their interactions with uranium. *FEMS microbiology ecology*, 59, pp. 694-705.

*Newsome, L., Morris, K. & Lloyd, J.R., 2014. The biogeochemistry and bioremediation of uranium and other priority radionuclides. *Chemical Geology*, 363(0), pp.164-184.

* Ontanon, O.M., Gonzalez, P.S., Barros, G.G. & Agostini, E., 2017. Improvement of simultaneous Cr(VI) and phenol removal by an immobilized bacterial consortium and characterization of biodegradation products, *New Biotechnology*, 37, pp. 172-79.

*Sasaki, Kei, Takeno, K., Shinkawa, H., Sasaki, Ken & Das, N., 2015. Removal of radioactivity and recovery of radioactive Cs from sediment mud and soil in Fukushima, Japan, using immobilized photosynthetic bacteria. *Advanced Materials Research*, 1091, pp.125–130.

*Vermeulen, F. & Nicolay, X., 2017. Sequential bioleaching of copper from brake pads using encapsulated bacteria, *Min. Engin.*, 106, pp.39-45.

Collaborateurs (personnes ou organismes) identifiés ou potentiels (dans et hors IN2P3) : ***Identified of potential collaborators (people or organizations, in- and outside IN2P3):***

Dans l'IN2P3

-CENBG

-SUBATECH: spéciation et modélisation.

-IPHC

-LPC Clermont

Hors IN2P3

- Bordeaux Imaging Center (BIC)/ Université de Bordeaux – Minéralogie, MET, SEM

-Dr Rob Van Houdt SCK_CEN, Mol, Belgique. 10 ans d'expérience avec Cupriavidus metallidurans- systèmes moléculaires et interactions avec les radionucléides.

-Dr Xavier Nicolay, UBT-IRMW, Bruxelles, Belgique. 15 ans d'expérience dans l'encapsulation par de l'alginate

-Dr Jun Kameoka's à A&M Energy Institute, Texas, USA. Pionnier de l' encapsulation par PEGDA

-Hans Carlson, LBNL, Berkeley, USA. 10 ans d'expérience dans l'écologie moléculaire incluant la protéomique et le séquençage de microorganismes modèles pour identifier les gènes impliqués durant la réponse au stress, incluant la radioactivité.

Within IN2P3

-CENBG

-SUBATECH-speciation and modelling.

-IPHC

-LPC Clermont

Outside IN2P3

-Bordeaux Imaging Center/ Bordeaux University- mineralogy, TEM, SEM

- Dr Rob Van Houdt SCK_CEN, Mol, Belgium. 10 years experience with Cupriavidus metallidurans- molecular systems and radionuclide interactions
- Xavier Nicolay at UBT-IRMW, Brussels, Belgium. 15 years experience in alginate based encapsulations
- Jun Kameoka's at A&M Energy Institute, TX, US. Pioneering PEGDA encapsulation work
- Hans Carlson, LBNL, Berkeley. 10 years of experience in molecular ecology including proteomics and transposon sequencing of model microorganisms to identify genes implicated during stress response, including radioactive sites. (Eg. Could be used to identify differences during encapsulation)

Instruments/Outils impliqués:

Facilities/tools involved:

Le CENBG est équipé des laboratoires nécessaires à la plus grande partie de ces recherches: cultures bactériennes en aérobie et en anaérobie, en batch ou en continu, chimie d'encapsulation, techniques de biologie moléculaire pour la caractérisation bactérienne, incubation avec des isotopes stables du Cs, Sr et I. De plus, des sources radioactives peuvent y être utilisées, permettant les études avec des radionucléides (actinides ^{238}U , produits de fission comme le ^{99}Tc). Les aspects d'analyse moléculaire avancée (protéomique, Tn-seq) et de caractérisation minéralogique (SEM, TEM, XAS) pourront faire l'objet de collaborations.

The CENBG is equipped with several laboratories dedicated to this type of research, and French competent authorities have permitted the use of radioactive sources. The major aspects of this project can be realised in the CENBG laboratory: bacterial culture in aerobic and anaerobic conditions in batch and flow through, encapsulation modification chemistry, molecular biology techniques for bacterial characterization, and incubation with stable Cs, Sr and I, followed up radioisotopes and towards actinides e.g. ^{238}U and other fission products e.g. (^{99}Tc). Advanced molecular (proteomics, Tn-seq) and mineralogical (SEM/TEM/XAS) characterisations can be foreseen through collaborative efforts (previously mentioned).

3) Suggestion de projet(s) pouvant répondre à la question/problématique proposée (1 page max.) / Suggestion of project(s) addressing the issue proposed (1 page max)

*Indiquer si possible l'envergure qu'auraient ce ou ces projets (manpower, budget, durée).
Indicate if possible the scale of this(these) project(s) (manpower, budget, duration).*

Notre équipe du CENBG vient de soumettre un projet exploratoire (BioCraTE) dans ce domaine au défi NEEDS-Environnement.

Ce projet nécessiterait l'implication de plusieurs chercheurs à plein temps (période 2020-2030), de support technique et de quelques investissements pour les laboratoires impliqués.

Actuellement au CENBG, seraient concernés :

Claire Sergeant (CR) et Adam Williamson (CDD chercheur de 2 ans, CENBG)

Une ingénieur d'étude Marie-Hélène Vesvres (IE)

Trois phases de thèse pourraient être envisagées :

Thèse 1 : Encapsulation par de l'alginate pour la bioremédiation de RNs (Sr, Cs, U) par des μ organismes modèles

Thèse 2 : Encapsulation alternative par PEGDA de multiples espèces bactériennes

Thèse 3 : Mise au point de systèmes de réacteurs industriels pour la récupération de radionucléides par de la biomasse (suite thèses 1 et 2).

Puis, selon les résultats, le programme pourrait être étendu à un plus grand nombre de polluants.

Our CENBG team had just submitted an exploratory project (BioCraTE) in this domain to NEEDS-Environment.

This project needed several full time researchers during the period 2020-2030, a solid technical support, and some invests for the labs concerned.

Now in CENBG, would be concerned:

Claire Sergeant (CR) and Adam Williamson (2 years contract)

Marie-Hélène Vesvres (IE)

Three PhD thesis projects envisaged:

Thesis 1- alginate encapsulations for radionuclide bioremediation (Sr, Cs, U + model microorganisms)

Thesis 2- follow up alternate encapsulations-PEGDA- multi microbe

Thesis 3- scale up of thesis 1 and 2 towards reactor systems, biomass and metal recovery

Then, according to the results, the project could be extended to several pollutants.