

Développement de population produit par radiolyse l'hydrogène produit par radiolyse



FR0400997

Développement de populations microbiennes oxydant l'hydrogène produit par radiolyse ou par corrosion des métaux

MARIE FRANÇOISE LIBERT
RÉGINE SELLIER
VINCENT MARTY
SYLVIE CAMARO
(DCC/DESD/SEP
CEA CADARACHE)

INTRODUCTION - OBJECTIF

La présence d'eau ou de matériaux organiques en milieu irradiant conduit à la production d'hydrogène. Différentes installations nucléaires sont concernées. Ainsi, les piscines de stockage de combustible sont le siège d'une production de H_2 par radiolyse de l'eau. Au sein d'un stockage géologique de déchets nucléaires, de l'hydrogène pourra être généré par radiolyse des déchets (ex : déchets organiques technologiques), par radiolyse des matériaux d'enrobage comme le bitume [2] ou encore par radiolyse des matériaux de barrières ouvragées contenant de l'eau (ciment, argile...). Une autre source possible est la corrosion des conteneurs métalliques de déchets.

Dans ces différents environnements, le développement d'activités bactériennes dû à la présence simultanée d'eau et d'éléments nutritifs nécessaires aux activités bactériennes C, H, O, N, S, P, a été démontré [3], [4]. Les microorganismes utilisent principalement la matière organique comme source d'énergie en réduisant l'oxygène si celui-ci est présent ou à défaut des ions nitrate (c'est le cas de la biodégradation des enrobés bitumés en conditions anaérobies) [5]. Il a été démontré récemment au laboratoire que des microorganismes pouvaient consommer, comme source énergétique, de l'hydrogène dissous. Ainsi, des lixiviats d'enrobés bitumés contenant de l'hydrogène de radiolyse ou provenant de la corrosion des aciers sont le siège d'un développement microbien important qui consomme l'hydrogène [6].

Des scénarios d'entreposage et de stockage en formations géologiques sont retenus pour les colis bitumés [7]. L'environnement d'un colis bitumé en stockage géologique est pris comme exemple dans cet article pour préciser le rôle de bactéries oxydant l'hydrogène sur le terme-source gaz, ou sur la composition chimique du milieu.

Microbiennes oxydant l'hydrogène ou par corrosion des métaux

RÉSULTATS - DISCUSSION

Production d'hydrogène en stockage géologique profond

Trois mécanismes peuvent conduire à la production d'hydrogène :

- la radiolyse de l'eau [8],
- la corrosion des conteneurs [9] en acier,
- la radiolyse de composés organiques [2] (bitume).

Principe des activités microbiennes sur hydrogène

Pour se développer un microorganisme a besoin :

- d'éléments nutritifs : C, H, O, N, P, S, qui seront transformés en biomasse microbienne,
- de substrats énergétiques qui lui permettront de récupérer de l'énergie pour réaliser les synthèses de matériau cellulaire. Cette énergie est issue de réactions d'oxydo-réduction qui correspondent à un transfert d'électrons entre un donneur et un accepteur d'électrons [3].

Dans l'atmosphère ambiante, l'oxydation de l'hydrogène n'est possible que lorsqu'elle est catalysée. Les microorganismes peuvent réaliser cette réaction. L'oxydation bactérienne de l'hydrogène va s'accompagner d'une réduction d'un accepteur d'électrons qui peut être :

- soit l'oxygène : il s'agit alors d'un métabolisme oxydatif aérobie de l'hydrogène,
- soit, en absence d'oxygène, des espèces chimiques oxydées comme les ions nitrate ou sulfate : il s'agit alors d'un métabolisme oxydatif anaérobie de l'hydrogène.

La plupart de ces bactéries sont autotrophes facultatives, c'est-à-dire qu'elles peuvent :

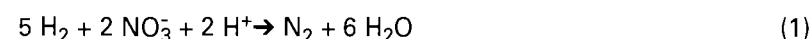
- soit tirer leur énergie de la seule oxydation de l'hydrogène. Dans ce cas la source de carbone est minérale, c'est le CO₂ (autotrophie),
- soit tirer leur énergie de l'oxydation de l'hydrogène mais aussi de substrats organiques qui joueront à la fois les rôles de donneurs d'électrons et de source carbonée (hétérotrophie) [10].

Une confrontation

- des réactions catalysées par les bactéries oxydant l'hydrogène [10],
- et de l'inventaire des substrats nutritifs et énergétiques présents au sein d'un colis bitumé, en conditions de stockage (anaérobie), et autorisant un développement bactérien [11],

indique que la réaction thermodynamiquement la plus favorable à l'oxydation de l'hydrogène par les microorganismes est la réduction des ions nitrate relâchés par le colis bitumé.

L'équation d'oxydoréduction est la suivante :



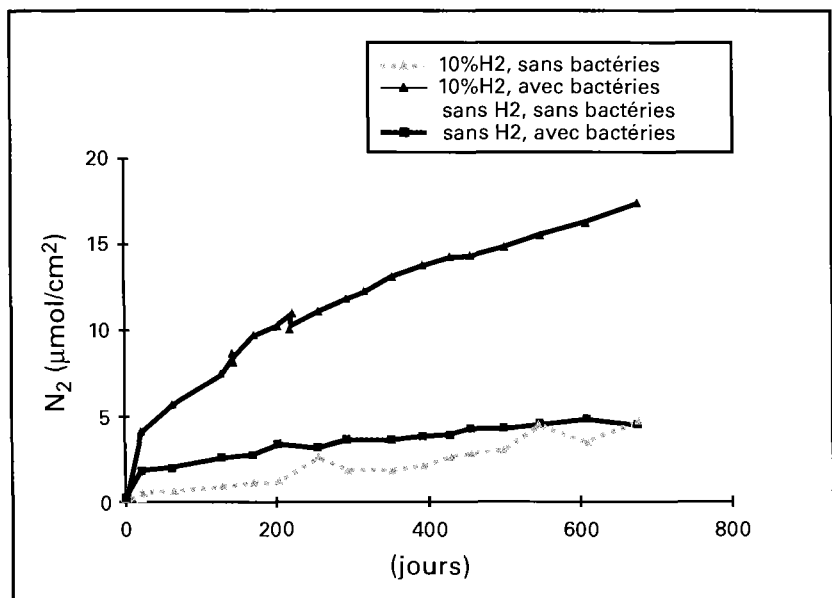
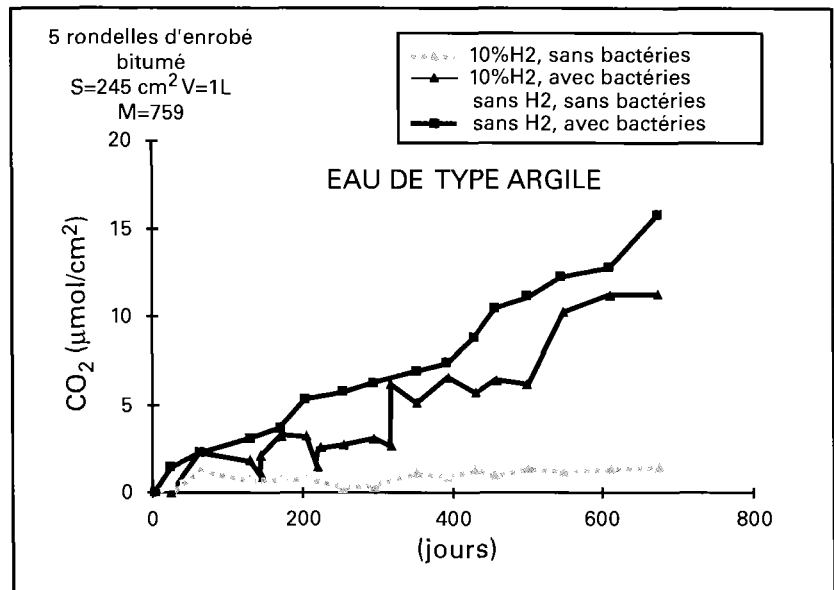
Développement de population produit par radiolys l'hydrogène produit par radiolys

A partir de résultats expérimentaux, les premiers éléments permettant de caractériser l'activité bactérienne par oxydation de l'hydrogène en présence de colis bitumés et dans deux situations de stockage sont présentés.

Activité bactérienne en présence d'hydrogène issu de la corrosion métallique, et en conditions anaérobies

Des échantillons d'enrobé bitumé, sous forme de rondelles, ont été mis au contact d'eau de type argile (eau représentative d'une future situation de stockage) ou d'eau de type argile contenant des produits de corrosion métallique notamment de l'hydrogène dissous (10 %) dans une atmosphère anaérobie. Les microorganismes mis en œuvre sont des microorganismes aéro/anaérobies dénitrifiants, connus pour leur aptitude à se développer, en conditions anaérobies, hors présence d'hydrogène, en oxydant les hydrocarbures du bitume et en réduisant les ions nitrate relâchés par l'enrobé.

Figure 1
Production de CO_2 et de N_2
(en $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$ d'enrobé),
en présence d'enrobés
bitumés, en eau de type
argile, en présence ou non
de microorganismes et
d'hydrogène (10%), conditions
anaérobies, à 25°C.



Microbiennes oxydant l'hydrogène ou par corrosion des métaux

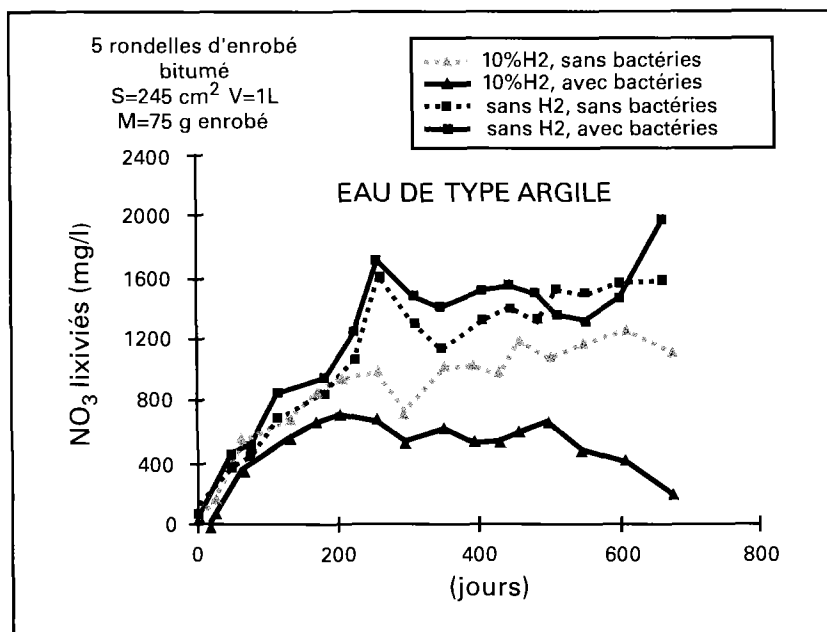
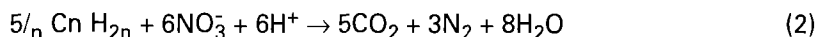


Figure 2
Cinétique de relâchement des ions nitrate d'échantillons d'enrobés de type STE3 (La Hague), en eau de type argile, en présence ou non de microorganismes et d'hydrogène (10%), conditions anaérobies, à 25°C.

L'activité bactérienne dans ces conditions a été quantifiée par le suivi des gaz et le relâchement des ions nitrate de l'enrobé, pendant deux ans environ. La seule source de carbone dont disposaient les microorganismes provenait de la matrice bitume. Les éléments nutritifs, C, H, O, N, P, S, étaient apportés par l'eau ou l'enrobé. La consommation par les microorganismes de l'hydrogène simulant la corrosion a nécessité un ajout régulier d'hydrogène. Une expérience témoin sans microorganismes a été suivie en parallèle :

- en présence d'enrobé bitumé comme seule source de carbone et d'énergie, dans de l'eau de type argile, en absence d'hydrogène et dans des conditions anaérobies, les microorganismes oxydent les hydrocarbures du bitume, produisent du CO₂ et réduisent les ions nitrate, selon l'équation simplifiée suivante :



L'activité bactérienne est alors mise en évidence par :

- la production de CO₂ et N₂ (Figure 1),
- le suivi des ions NO₃⁻ relâchés (Figure 2).

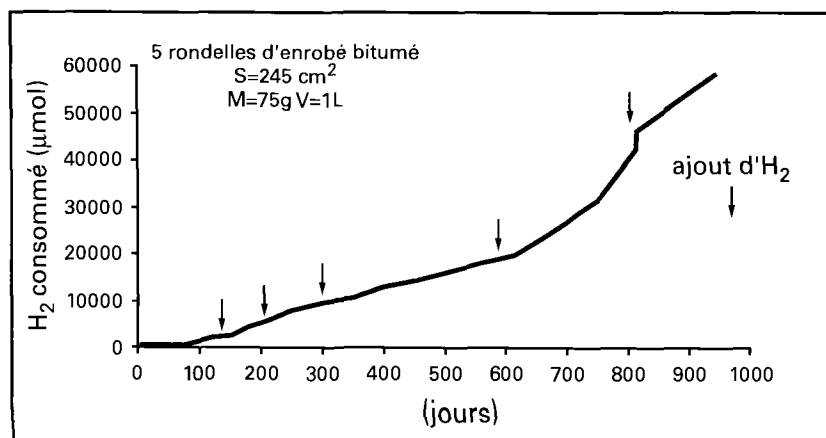


Figure 3
Consommation d'hydrogène par les microorganismes, en eau de type argile + hydrogène (10%), conditions anaérobies, à 25°C.

Développement de population produit par radiolys

- En présence d'enrobé bitumé et d'hydrogène (eau de type argile + produits de corrosion) et en conditions anaérobies, les microorganismes peuvent utiliser le carbone du bitume comme source de carbone et d'énergie mais aussi l'hydrogène comme source d'énergie, selon la réaction (1), réaction qui s'ajoute à la précédente.

L'activité bactérienne est mise en évidence dans ce cas par :

- une production de CO_2 et de N_2 (Figure 1),
- le suivi des ions relâchés par l'enrobé (Figure 2),
- une consommation d' H_2 (Figure 3).

En présence de microorganismes et d'eau de type argile + hydrogène, une production d'azote importante, soit $17.5 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$ à 700 jours est observée, significativement supérieure à celle mesurée pour une eau de type argile, soit $4 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$.

Une production de CO_2 plus faible est observée pour les eaux de type argile + hydrogène soit $8 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$ à 700 jours, comparée à celle observée en eau de type argile, soit $13 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$. Parallèlement, une nette consommation de l'hydrogène est observée, soit 24 mmol à 700 jours.

Dans le cas des expériences en eau de type argile + hydrogène, avec microorganismes, l'activité microbienne par oxydation de l'hydrogène s'ajoute à celle par oxydation des hydrocarbures du bitume, observée dans l'eau de type argile. Il en résulte selon les équations appelées ci-dessus :

- une production d'azote supplémentaire,
- une consommation de CO_2 par les bactéries, selon un mode de croissance autotrophe correspondant à l'utilisation du carbone minéral par les bactéries pour fabriquer de la biomasse.

Dans le cas de l'eau de type argile, il n'y a pas de différence significative entre les teneurs en ions nitrate présentes dans les lixiviats avec ou sans microorganismes. La production d'azote liée à l'activité bactérienne est de $5 \mu\text{mol}/\text{cm}^2$, ce qui correspondrait à 1 mmole d'ions nitrate réduits (soit 62 mg), valeur faible comparée à la quantité d'ions nitrate relâchés par l'enrobé et qui ne peut être mise en évidence.

En revanche, la forte activité bactérienne en présence d'hydrogène entraîne une chute importante de la teneur en ions nitrate dans les lixiviats en eau type argile + hydrogène, avec bactéries.

Ainsi à 700 jours, 664 mg soit $10,7 \text{ mmole}$ d'ions NO_3^- ont disparu (valeur calculée par différence entre les essais avec et sans microorganismes) pour une consommation de 25 mmole d' H_2 . Le rapport 5 moles de H_2 pour 2 moles de NO_3^- est respecté, (cf équation (1)).

Dans les conditions de ces essais, il apparaît que la vitesse de consommation de l'hydrogène est limitée par la cinétique de relâchement des ions nitrate de l'enrobé.

Activité bactérienne en présence d'hydrogène produit par radiolyse, en conditions anaérobies

Des échantillons d'enrobé sous forme de rondelles ont été mis au contact d'eau de type granitique (eau représentative d'une future situation de stockage), dans une atmosphère anaérobie et ont été soumis à une irradiation γ externe à un débit de dose proche du débit réel initial d'un colis STE3 standard ($\approx 6 \text{ Gy/h}$) tel que produit à l'usine de Cogéma La Hague. L'étude a été réalisée avec ou sans microor-

Microbiennes oxydant l'hydrogène ou par corrosion des métaux

ganismes. L'activité bactérienne a été évaluée par le suivi des gaz, H_2 , CO_2 , N_2 et le relâchement des ions nitrate sur une période de un an. Une expérimentation témoin en absence de rayonnements, avec microorganismes a été menée en parallèle.

Les réactions mises en œuvre par les microorganismes sont les mêmes que précédemment : oxydation des hydrocarbures du bitume et de l'hydrogène de radiolyse et réduction des ions nitrate lixivés.

Dans ces conditions d'irradiation, l'activité bactérienne, mesurée par la production de CO_2 , est significative; elle est du même ordre de grandeur que les microorganismes soient irradiés ou non [5]. L'irradiation à un débit de dose correspondant à un colis bitumé de moyenne activité ne modifie pas l'activité bactérienne.

La production d'hydrogène dans un colis bitumé due à la radiolyse du bitume est de l'ordre de 1 L H_2 /kg de bitume/MGy, [2]. A un débit de dose proche du débit réel initial (6 Gy/h) d'un colis bitumé, la production d'hydrogène sur 300 jours est faible. En présence de microorganismes cet hydrogène est entièrement consommé. Cette consommation s'accompagne d'une réduction des ions nitrate qui est faible comparée à la quantité d'ions nitrate relâchée par l'enrobé.

La cinétique de production d'hydrogène est, dans ces conditions, le facteur limitant de la réaction.

CONCLUSION

Dans un stockage géologique, le rôle des microorganismes sur le devenir de l'hydrogène est à prendre en compte dans l'évaluation du terme-source des gaz. Deux situations conduisant à la production d'hydrogène ont été étudiées :

- la corrosion des conteneurs métalliques,
- la radiolyse d'un enrobé bitumé à un débit de dose voisin de celui rencontré avec les colis bitumés produits à La Hague.

Dans les deux cas l'hydrogène est consommé par les microorganismes avec simultanément une production de CO_2 et de N_2 et une réduction des ions NO_3^- relâchés par l'enrobé. Les résultats montrent, qu'en présence d'hydrogène issu de la corrosion des métaux, la cinétique de consommation d'hydrogène est limitée par celle du relâchement des ions nitrate. En présence d'hydrogène issu de la radiolyse du matériau bitumé, c'est la cinétique de production d'hydrogène qui limite l'activité bactérienne. Dans le cas d'un colis de déchet bitumé réel, les données sont à examiner dans le contexte du stockage géologique en prenant en compte :

- le dimensionnement des colis et des conteneurs,
- les vitesses de corrosion des différents matériaux, acier inoxydable ou acier noir, constitutifs des conteneurs ou surconteneurs,
- les cinétiques de production et d'évacuation de l'hydrogène par diffusion.

Ces résultats illustrent la facilité d'adaptation des microorganismes à leur environnement. Les expériences réalisées sur des enrobés bitumés mettent en œuvre des microorganismes aéro-anaérobies dénitrifiants adaptés à la dégradation des hydrocarbures du bitume. La présence soudaine d'hydrogène dans leur environnement, leur donnant un substrat thermodynamiquement plus favorable, a modifié leur comportement métabolique avec une période d'adaptation de quelques jours.

Développement de populations microbiennes oxydant l'hydrogène produit par radiolyse ou par corrosion des métaux

RÉFÉRENCES

- [1] S. KOTELNIKOVA, K. PEDERSEN
Evidences for the presence of homoacetogenic bacteria in deep granitic groundwater, obtained with culturing, molecular, and radioisotopic techniques.
International Symposium on Subsurface Microbiology ISSM - Davos 1996
- [2] P. BERNAT
Étude du comportement des enrobés bitumineux sous irradiation gamma.
Thèse universitaire Paris V 1994
- [3] H.A. GROGAN
The significance of microbial activity in a deep repository for L/ILW.
NAGRA INTERNER BERICHT NIB 87-05 1987
- [4] H. CAMU, R. LION, J. BERTHELIN, T. DESJARDIN
A. BIANCHI, J. GARCIN
Étude des microorganismes présents dans les couches géologiques profondes.
Rapport CCE EUR 11141 FR. 1987
- [5] M.F. LIBERT, F. JACQUOT, M.A. ROMERO, B. BESNAINOU
In vitro evaluation of microbial effects on bitumen waste form. in "Microbial Degradation Processes in Radioactive Waste Repository and in Nuclear Fuel Storage Areas", Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands, WOLFRAM J.H. et al. (Eds), 275-283 1997
- [6] M.F. LIBERT, V. MARTY, R. SELLIER
H₂ consumption by hydrogen oxidising bacteria.
International Symposium on Subsurface Microbiology, Vail, Colorado 1999
- [7] S. CAMARO, B. BESNAINOU,
B. SIMONDI-TEISSEIRE, P.P. VISTOLI
Comportement à long terme des colis de déchets bitumés.
Rapport scientifique CEA-DCC-R-5801 1997
- [8] C. FERRADINI, J. PUCHEAULT
Biologie de l'action des rayonnements ionisants.
Ed. Masson 1983
- [9] D. LANDOLT
Corrosion et chimie des surfaces des métaux.
Ed. Press polytechnic et
Université romande - Lausanne - Suisse 1993
- [10] R. CORD-RUWISH
Contribution à l'étude du métabolisme de H₂ par les bactéries anaérobies.
Thèse Université Provence Aix-Marseille I 1987
- [11] M.F. LIBERT, B. BESNAINOU
Application de la thermodynamique à l'évaluation de la biodégradation des colis de déchets bitumés en situation de stockage profond.
Rapport scientifique CEA-DCC-R-5835 1998

Extended Abstract

Development of hydrogen oxidizing bacteria using hydrogen from radiolysis or metal corrosion

MARIE FRANÇOISE LIBERT

RÉGINE SELLIER

VINCENT MARTY

SYLVIE CAMARO

The effect of many parameters need to be studied to characterize the long term behavior of nuclear waste in a deep repository. These parameters concern the chemical effects, radiolytic effects, mechanical properties, water composition, and microbiological activity.

To evaluate microbial activity in such an environment, work was focused on an inventory of key nutrients (C, H, O, N, P, S) and energy sources required for bacterial growth.

The production of hydrogen in the nuclear waste environment leads to the growth of hydrogen oxidizing bacteria, which modify the gas production balance.

A deep repository containing bituminized waste drums implies several sources of hydrogen :

- water radiolysis,
- corrosion of metal containers,
- radiolysis of the embedding matrix (bitumen).

Two deep geological disposal conditions leading to H₂ production in a bituminized nuclear waste environment were simulated in the present study :

- H₂ production by iron corrosion under anaerobic conditions was simulated by adding 10% of H₂ in the atmosphere,
- H₂ production by radiolysis of bitumen matrix was approached by subjecting this material to external gamma irradiation with a dose rate near real conditions (6 Gy/h).

The presence of dissolved H₂ in water allows the growth of hydrogen oxidizing bacteria leading to :

- CO₂ and N₂ production,
- H₂ consumption,
- lower NO₃⁻ concentration caused by reduction to nitrogen.

In the first case, hydrogen consumption is limited by the NO₃⁻ release rate from the bitumen matrix. In the second case, however, under gamma radiation at a low dose rate, hydrogen production is weak, and the hydrogen is completely consumed by microorganisms.

Knowledge about these hydrogen oxidizing bacteria is just beginning to emerge [1]. Heterotrophic denitrifying bacteria adapt well to hydrogen metabolism (autotrophic metabolism) by oxidizing H₂ instead of hydrocarbons.