

# Les microorganismes, acteurs de la chimie des nuages ?

Anne Marie Delort, Gilles Mailhot et Laurent Deguillaume

- Résumé** Cet article présente les recherches interdisciplinaires du consortium « Biophysicochimie de l'eau atmosphérique » de l'Université Blaise Pascal de Clermont-Ferrand. Il met l'accent sur la découverte récente de la contribution de l'activité des microorganismes à la chimie des nuages comme alternative aux voies radicalaires (photochimiques). Ces études allient des approches *in situ* au sommet du puy de Dôme, des expériences en laboratoire et des simulations numériques.
- Mots-clés** **Biodégradation, photodégradation, radicaux, chimie atmosphérique, modélisation, climat, nuage.**
- Abstract** **The microorganisms, actors of cloud chemistry?**  
This paper describes the interdisciplinary researches of the « Bio-physical-chemistry of the atmosphere » consortium of the Blaise Pascal University of Clermont-Ferrand. It focuses on the recent discovery of the contribution of microorganisms' activity to cloud chemistry as an alternative to radical routes (photochemistry). These studies combine *in situ* approaches at the puy de Dôme site, laboratory experiments and numerical simulations.
- Keywords** **Biodegradation, photodegradation, radicals, atmospheric chemistry, modeling, climate, cloud.**

## Le consortium clermontois « Biophysicochimie des nuages »

L'évaluation des risques sanitaires et écologiques dus à la présence de contaminants dans l'environnement nécessite une bonne connaissance de leurs voies de dispersion et de transformation dans les différents compartiments environnementaux.

Dans l'axe Environnement de l'Institut de Chimie de Clermont-Ferrand (ICCF), le groupe « Biophysicochimie du milieu nuageux » a une position originale, sur un thème encore peu abordé. Même si les nuages ne représentent que 7 % du volume total de la troposphère, ils ont une influence majeure sur l'ensemble de l'atmosphère en raison de la surface de contact importante offerte par les gouttes de nuage et de pluie. Ce sont des vecteurs de transport efficaces des gaz traces et des particules d'aérosols émises depuis le sol, qui sont transformés par diverses voies photochimiques et biologiques. Pour pouvoir quantifier les effets de l'anthropisation

des nuages sur la pollution atmosphérique et sur le climat, l'Auvergne dispose d'un site de référence internationalement reconnu : la station du puy de Dôme (*figure 1*).

Son intérêt vient de ce que, se trouvant dans une zone de l'atmosphère appelée « troposphère libre », le puy de Dôme est très généralement exempt de toutes pollutions locales, notamment en période de nuages. Il permet des mesures atmosphériques en continu, et des laboratoires de chimie et de microbiologie permettent des analyses de la phase aqueuse du nuage, grâce à des prélèvements d'eau de nuage à partir de dispositifs appelés « impacteurs à nuage ». Il est ainsi possible d'analyser des événements nuageux présentant des degrés d'anthropisation variés. Des mesures de pH, de potentiel redox et de conductivité, tous trois de très bons indicateurs de l'origine de la masse d'air et de son vieillissement, sont effectuées. Les mesures de concentrations en TOC (carbone organique total), de composés ioniques (organiques et inorganiques) et d'espèces oxydantes importantes dans ce milieu, comme le fer et  $H_2O_2$ ,



Figure 1 - Le puy de Dôme dans les nuages.

complètent les précédentes en documentant la composition de la phase liquide atmosphérique, notamment son pouvoir oxydant. En parallèle, des analyses biologiques directement sur les échantillons naturels d'eau nuageuse permettent de décrire la communauté bactérienne et son activité métabolique. Ces prélèvements sont accompagnés de mesures de propriétés microphysiques des nuages (contenu en eau, taille des gouttes). Ces données couplées aux mesures météorologiques, ainsi qu'à des rétrotrajectoires, permettent de créer une base de données unique reliant propriétés microphysiques, chimiques et biologiques des nuages en fonction des masses d'air [1].

Le consortium formé dans le cadre de cette action de recherche est unique en Europe puisqu'il associe chimistes, photochimistes et microbiologistes de l'ICCF et des physiciens de l'atmosphère du Laboratoire de Météorologie Physique/Observatoire de Physique du Globe de Clermont-Ferrand (LaMP/OPGC) qui, outre les observations, développent des outils de modélisation numérique.

Afin d'évaluer l'importance des processus photochimiques et microbiologiques nuageux, une démarche en laboratoire en trois étapes a été mise en place à l'ICCF. Des premières études en milieu simplifié et contrôlé (un composé organique (acide carboxylique) et un oxydant photochimique ou une souche bactérienne particulière isolée du milieu) servent à évaluer des constantes de réactivité. Nous travaillons ensuite sur des milieux synthétiques un peu plus complexes, modèles de la composition chimique d'un nuage. Enfin, des expériences similaires sont menées directement avec de l'eau de nuage réel. Les processus de photodégradation et de biodégradation peuvent ainsi être étudiés individuellement ou de façon combinée.

Des outils de modélisation dits de « processus » (OD), développés au LaMP afin de simuler les processus multiphasiques chimiques et microphysiques au sein du nuage [2], intègrent les cinétiques de dégradations photochimiques et biologiques déterminées en laboratoire. Ils permettent aussi de simuler des événements nuageux documentés, caractérisés par des compositions chimiques contrastées, correspondant à des masses d'air d'origine océanique, anthropique ou continentale.

## Le nuage, un milieu complexe, siège de processus chimiques et physiques

### Un réacteur chimique multiphasique

Le nuage est un milieu multiphasique constitué de gaz traces, de particules d'aérosol, d'hydrométéores liquides ou glacés. La « chimie multiphase » (figure 2), qui résulte des interactions entre phases, requiert l'étude de chaque phase isolée, la prise en compte des processus se déroulant aux interfaces et leurs conséquences sur la chimie au sein de chaque phase. Il reste toujours complexe d'évaluer la contribution de la chimie multiphase sur l'atmosphère en raison de la nature et de la réactivité des phases condensées encore mal connues, même si les nuages constituent un milieu réactionnel très efficace, avec trois aspects originaux :

- les processus photochimiques dans le nuage et particulièrement dans les gouttes sont fortement amplifiés par rapport à une situation en ciel clair ;
- les réactions chimiques homogènes en phase aqueuse sont la plupart du temps plus rapides qu'en phase gaz, et certaines réactions comme celles impliquant les espèces ioniques ou les métaux de transition n'ont pas lieu en phase gaz ;

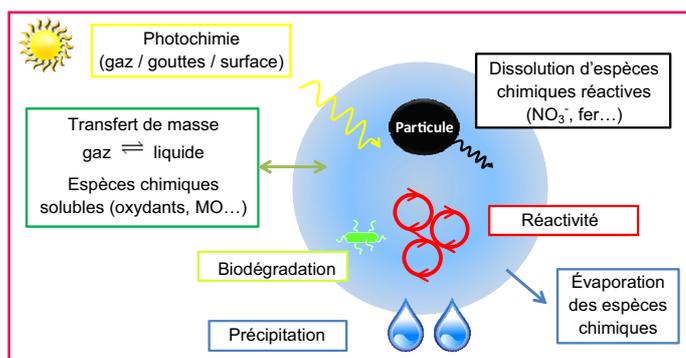


Figure 2 - Principaux processus biophysicochimiques contrôlant le devenir des espèces chimiques dans le nuage.

- enfin, la présence de microorganismes dans la phase aqueuse du nuage implique la possibilité de biotransformation des composés chimiques constitutifs.

La réactivité du nuage est par ailleurs fortement impactée par les processus microphysiques (condensation/évaporation, collision/coalescence des gouttes) qui redistribuent les espèces chimiques entre les différentes phases du nuage (gaz, liquide, solide).

En phase aqueuse du nuage, les composés chimiques peuvent soit absorber la lumière solaire et donc subir une photolyse directe, soit absorber très peu ou pas du tout la lumière solaire et dans ce cas, subir une dégradation photoinduite par des espèces absorbantes présentes dans le milieu aqueux. En milieu nuageux, ces processus peuvent devenir très importants en raison du flux actinique plus élevé dans les gouttelettes nuageuses par rapport à l'air interstitiel. La présence d'espèces photochimiquement actives (fer,  $H_2O_2$ , nitrate, nitrite) contribue de manière importante à la capacité oxydante du milieu (production de radicaux hydroxyle  $HO^\bullet$ ) dont l'évaluation reste difficile (sources multiples d'oxydants de réactivité variée).

La matière organique générée par l'anthropisation et les modifications de nos modes de vie va être transférée dans la phase aqueuse du nuage via la fraction soluble des aérosols organiques qui servent de noyaux de condensation nuageuse (CCN, pour « cloud condensation nuclei ») ou qui sont lessivés.

La matière organique dissoute, enrichie des composés organiques issus d'une précédente oxydation, va alors subir différentes transformations: oxydation abiotique, biodégradation par les microorganismes vivants du nuage, ou même formation de composés chimiques de plus haut poids moléculaire (LMC : « low molecular compound », ou métabolite) (figure 3). Après évaporation du nuage, de nouveaux aérosols organiques secondaires (AOS) peuvent ainsi se former [3].

### Un habitat pour les microorganismes

Bien qu'ignorés il y a encore dix ans, des microorganismes sont présents dans les nuages et peuvent participer, dans ce compartiment comme partout dans la biosphère, à des cycles biogéochimiques [4]. Ils sont « aérosolisés » à partir des océans, des plantes, du sol, principalement par des phénomènes de « bubbling » et par le vent, puis transportés dans les airs pendant plusieurs jours, voire des semaines. Ils peuvent servir de noyau de condensation pour former des gouttelettes d'eau de nuage. Certaines bactéries (principalement des *Pseudomonas syringae*) dites « glaço-gènes » possédant une protéine de surface particulière peuvent également servir de noyau de nucléation extrêmement

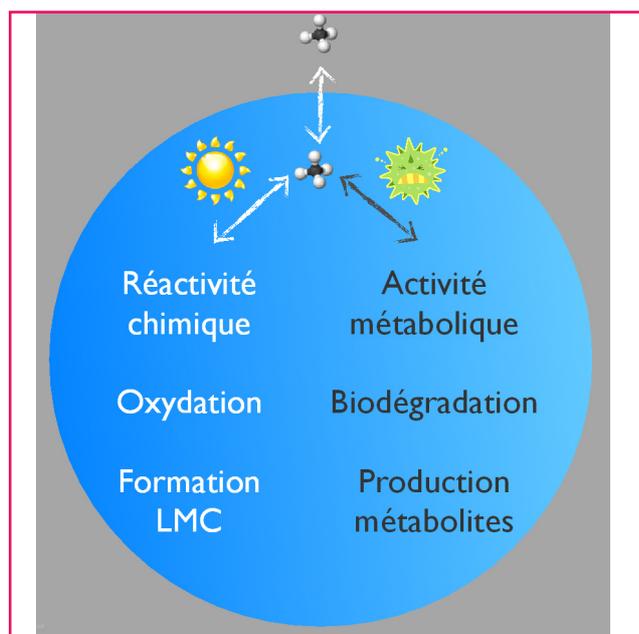


Figure 3 - Devenir des molécules organiques dans les gouttelettes de nuage (LMC : « low molecular compound »).

efficace (à partir de  $-2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) et participer ainsi aux phénomènes de précipitation [5]. Nous avons à la fois démontré l'existence de ces microorganismes (bactéries, champignons, levures) dans les nuages, les avons dénombrés ( $10^4$  à  $10^5$  cellules par mL d'eau de nuage) et caractérisé la fraction cultivable.

À ce jour, nous avons isolé près de 700 souches ; les bactéries les plus fréquemment rencontrées appartiennent aux genres *Pseudomonas*, *Shingomonas*, *Streptomyces*, *Rhodococcus* et *Bacillus* [6]. Viables bien que majoritairement non cultivables, ces microorganismes sont métaboliquement actifs comme l'indique leur taux d'ATP (adénosine triphosphate). De ce fait, leur activité comme biocatalyseurs et leur participation à la chimie atmosphérique est probable, voire certaine. Ce concept nouveau ébranlait la théorie admise jusqu'alors d'une activité uniquement due à des processus radicalaires (générés en grande partie par des réactions photochimiques). Nous avons pu démontrer que le métabolisme de ces microorganismes, que nous avons été les premiers à détecter et isoler, leur permettait d'utiliser comme substrat la majorité des composés organiques présents dans les nuages. Ils peuvent ainsi métaboliser des acides organiques à courte chaîne (succinique, acétique, lactique) *via* leur métabolisme central, notamment le cycle de Krebs, ou des composés en C1 (méthanol, formaldéhyde, formiate) *via* leur métabolisme des composés en C1 [7-10]. Le groupe de P. Ariya au Canada a également montré leur potentiel de biodégradation d'acides dicarboxyliques présents dans l'atmosphère [11-12].

Ce potentiel de métabolisation démontré, il fallait alors quantifier les vitesses de biodégradation et les comparer avec celles des voies radicalaires. Dans une première approche, nous avons mesuré expérimentalement les vitesses de biodégradation de souches modèles incubées dans des microcosmes et les avons comparées avec celles calculées à partir des constantes de réactivité de radicaux  $\text{HO}^{\bullet}$  (uniquement diurne) et  $\text{NO}_3^{\bullet}$ . Pour les acides carboxyliques [8-9] comme pour le méthanol et le formaldéhyde [10], les microorganismes s'avèrent beaucoup plus efficaces que les radicaux

$\text{NO}_3^{\bullet}$  bien qu'actifs la nuit. En ce qui concerne les radicaux  $\text{HO}^{\bullet}$ , leur activité reste prépondérante de jour. Comme l'activité est fonction de la concentration dans l'eau atmosphérique de ces espèces réactives, estimées entre  $10^{-14}$  à  $10^{-16}$  M [9], nous avons cherché à comparer directement les vitesses de biodégradation et de photodégradation des acides carboxyliques en utilisant des incubateurs, éclairés ou non par des lampes mimant la lumière solaire. Là encore, les vitesses mesurées sont très proches, y compris de jour.

## Interaction microorganismes/espèces oxydantes dans les nuages

La contribution des microorganismes au bilan des espèces oxydantes a été l'objectif suivant.

### Sources des espèces oxydantes

Une source importante du radical hydroxyle dans l'eau des nuages – au cœur des processus d'oxydation observés, il est surnommé le « détergent de l'atmosphère » – provient essentiellement de son transfert depuis la phase gaz où il est formé principalement par photolyse de l'ozone sous irradiation UV [13]. Il peut cependant être également formé directement dans la goutte de nuage à partir de composés comme  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-/\text{HNO}_2$  et les complexes aqueux ou organiques de Fe(III) [14-15]. Lors d'une étude préliminaire, nous en avons mesuré la vitesse de formation sous irradiation solaire simulée directement dans de l'eau de nuage prélevée au sommet du puy de Dôme, vitesses variant entre 0,3 et  $2,5\ \mu\text{M h}^{-1}$  [15] en accord avec les valeurs de la littérature [16] qui ne tentent généralement pas de corrélérer la photoformation du radical  $\text{HO}^{\bullet}$  avec la composition chimique de l'échantillon utilisé. Or cette corrélation suscite toujours des controverses. En effet, les nitrates en sont la source majeure dans la fraction soluble d'aérosols représentant  $32 \pm 24\%$ , alors que les ions nitrites et  $\text{H}_2\text{O}_2$  contribuent pour moins de 12 % [17]. Pour l'eau des nuages, nous avons estimé en 2012 que les contributions des nitrates et de  $\text{H}_2\text{O}_2$  pouvaient atteindre 82 % [18], alors que selon les modèles, les nitrites contribueraient jusqu'à 100 % de la source du radical et  $\text{H}_2\text{O}_2$  à moins de 26 %. De plus, une des sources majeures du radical  $\text{HO}^{\bullet}$  a souvent été attribuée au fer [19] : les acides polycarboxyliques ou amino-polycarboxyliques complexent aisément le fer, ce qui peut augmenter considérablement la concentration en fer dissous. Ces complexes de fer, sous l'effet de la lumière solaire et du processus redox qui s'en suit, conduisent à la réduction du Fe(III) et à la formation d'espèces oxydantes ( $\text{HO}^{\bullet}$ ) [20]. De plus, la complexation du fer avec des ligands organiques permet tout d'abord une stabilisation du fer en solution aqueuse à des pH plus élevés (jusqu'à 9,0), donc plus représentatifs de l'environnement, et augmente ainsi son efficacité par un accroissement de la production de radicaux  $\text{HO}^{\bullet}$  [21-23].

### Interactions microorganismes/oxydants

Lorsqu'ils sont dans les nuages, les microorganismes sont en interaction directe avec les oxydants présents dans ce milieu. Se posent alors deux questions :

- La présence de radicaux  $\text{HO}^{\bullet}$  issus de la combinaison d'oxydants ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) et de lumière et/ou de métaux dans le milieu d'incubation est-elle délétère pour le fonctionnement des microorganismes ?

- Les microorganismes peuvent-ils dégrader  $H_2O_2$  (et les autres oxydants potentiels), source de radicaux, *via* leur métabolisme du stress oxydant ?

Des échantillons d'eau nuageuse ont été prélevés au sommet du puy de Dôme, correspondant à trois niveaux croissant de pollution (marin, continental et urbain), et contenant donc l'ensemble de la biodiversité microbienne et des composés chimiques (y compris les composés organiques et  $H_2O_2$ ). Des microcosmes ont été élaborés grâce au design de photobioréacteurs permettant d'incuber les échantillons filtrés (microorganismes éliminés) ou non, avec et sans lumière. Ce protocole discriminant a permis de montrer que les microorganismes étaient capables de dégrader  $H_2O_2$ , processus compétitif par rapport aux mécanismes radicalaires de type Fenton ou purement photochimiques. De plus, la mesure du rapport ADP/ATP, marqueur de la vie cellulaire, montre que la présence de radicaux ne change pas l'état énergétique des cellules [24].

Les microorganismes joueraient donc un double rôle dans la chimie atmosphérique : d'une part directement sur la matière organique, *via* leur métabolisme du carbone, et d'autre part en dégradant  $H_2O_2$ , *via* leur métabolisme du stress oxydant, notamment grâce à la présence d'enzymes du type catalase. En diminuant sa concentration, une des sources principales des radicaux  $HO^\bullet$ , ils influent sur l'efficacité des réactions radicalaires.

## Les nuages, acteurs du changement climatique

La description de la chimie atmosphérique s'est ainsi enrichie d'une composante biologique, souvent sous-estimée, voire ignorée.

Pour pouvoir évaluer l'impact des processus nuageux sur la chimie atmosphérique et sur le climat, il serait nécessaire d'utiliser un modèle numérique 3D intégrant un ensemble « système nuageux » et simulant des conditions météorologiques à l'échelle régionale, le transport et la transformation des polluants et la formation des nuages. Actuellement, ces modèles traitent une chimie du nuage simplifiée, qui ne prend pas en compte l'effet de la composante biologique sur la transformation des composés chimiques. Les modèles dits de processus (0D) permettent d'étudier dans le détail l'effet des réactions photochimiques. Dans les modèles 3D, les interactions complexes entre processus physiques, chimiques et microbiologiques sur une vaste gamme d'échelles (de la molécule à l'impact régional) pourront être évaluées.

Au final, nos travaux de recherche permettront à terme d'améliorer la représentation de l'effet des microorganismes sur la chimie des nuages afin de mieux déterminer leur rôle, notamment vis-à-vis du changement climatique.

## Références

- [1] Deguillaume L. *et al.*, 10-year monitoring of cloud chemical composition at the puy de Dôme station: mean features, *Atmos. Chem. Phys.*, **2014**, *14*, p. 1485.
- [2] Long Y. *et al.*, Evaluation of modeled cloud chemistry mechanism against laboratory irradiation experiments: the HxOy/iron/carboxylic acid chemical system, *Atmos. Environ.*, **2013**, *77*, p. 686.
- [3] Ervens B., Turpin B.J., Weber R.J., Secondary organic aerosol formation in cloud droplets and aqueous particles (aqSOA): a review of laboratory, field and model studies, *Atmos. Chem. Phys.*, **2011**, *11*, p. 11069.
- [4] Delort A.M. *et al.*, A short overview of the microbial population in clouds: potential roles in atmospheric chemistry and nucleation processes, *Atmos. Res.*, **2010**, *98*, p. 249.
- [5] Joly M. *et al.*, Ice nucleation activity of bacteria isolated from cloud water, *Atmos. Environ.*, **2013**, *70*, p. 392.
- [6] Vaïtilingom M. *et al.*, Long-term features of cloud microbiology at the puy de Dôme (France), *Atmos. Environ.*, **2012**, *56*, p. 88.
- [7] Amato P. *et al.*, A fate for organic acids, formaldehyde and methanol in cloud water: their biotransformation by micro-organisms, *Atmos. Chem. Phys.*, **2007**, *7*, p. 4159.
- [8] Vaïtilingom M. *et al.*, Contribution of microbial activity to carbon chemistry in clouds, *Appl. Environ. Microbiol.*, **2010**, *76*, p. 23.
- [9] Vaïtilingom M. *et al.*, Atmospheric chemistry of carboxylic acids: microbial implication versus photochemistry, *Atmos. Chem. Phys.*, **2011**, *11*, p. 8721.
- [10] Husárová S. *et al.*, Biotransformation of methanol and formaldehyde by bacteria isolated from clouds: comparison with radical chemistry, *Atmos. Environ.*, **2011**, *45*, p. 6093.
- [11] Ariya P.A. *et al.*, Microbiological degradation of atmospheric organic compounds, *Geophys. Res. Lett.*, **2002**, *29*, p. 2077.
- [12] Côté V. *et al.*, Microbial and "de novo" transformation of dicarboxylic acids by three airborne fungi, *Sci. Total Environ.*, **2008**, *390*, p. 530.
- [13] Jacob D.J., Chemistry of OH in remote clouds and its role in the production of formic acid and peroxymonosulfate, *J. Geophys. Res.*, **1986**, *91*(D9), p. 9807.
- [14] Charbouillot T., Thèse de doctorat, « Physico-chimie de la phase aqueuse des nuages prélevée au sommet du puy de Dôme : caractérisation et réactivité photochimique », UBP Clermont-Ferrand, **2011**.
- [15] Charbouillot T. *et al.*, Atmospheric aqueous-phase photoreactivity: correlation between the hydroxyl radical photoformation and pesticide degradation rate in atmospherically relevant waters, *Photochem. Photobiol.*, **2012**, *88*, p. 32.
- [16] Faust B.C., Allen J.M., Aqueous-phase photochemical formation of hydroxyl radical in authentic cloudwaters and fogwaters, *Environ. Sci. Technol.*, **1993**, *27*, p. 1221.
- [17] Arakaki T. *et al.*, Chemical composition and photochemical formation of hydroxyl radicals in aqueous extracts of aerosol particles collected in Okinawa, Japan, *Atmos. Environ.*, **2006**, *40*, p. 4764.
- [18] Albinet A., Minero C., Vione D., Photochemical generation of reactive species upon irradiation of rainwater: negligible photoactivity of dissolved organic matter, *Sci. Total Environ.*, **2010**, *408*, p. 3367.
- [19] Faust B.C., Hoigné J., Photolysis of Fe(III)-hydroxy complexes as sources of OH radicals in clouds, fog and rain, *Atmos. Environ.*, **1990**, *24*, p. 79.
- [20] Abida O. *et al.*, Impact of iron-complex (Fe(III)-NTA) on photoinduced degradation of 4-chlorophenol in aqueous solution, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2006**, *5*, p. 395.
- [21] Wang L. *et al.*, Photoinduced degradation of 2,4-dichlorophenol in water: influence of various Fe(III) carboxylates, *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2009**, *8*, p. 1059.
- [22] Li J. *et al.*, Photochemical efficiency of Fe(III)-EDDS complex: OH radical production and 17 $\beta$ -estradiol degradation, *J. Photochem. Photobiol. A*, **2010**, *212*, p. 1.
- [23] Huang W. *et al.*, Development of a new homogenous photo-Fenton process using Fe(III)-EDDS complexes, *J. Photochem. Photobiol. A*, **2012**, *239*, p. 17.
- [24] Vaïtilingom M. *et al.*, Potential impact of microbial activity on the oxidant capacity and organic carbon budget in clouds, *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **2013**, *110*, p. 559.



A.M. Delort



G. Mailhot



L. Deguillaume

Anne Marie Delort et Gilles Mailhot sont directeurs de recherche CNRS à l'Institut de Chimie de Clermont-Ferrand (ICCF)\*.

Laurent Deguillaume est physicien-adjoint à l'Université Blaise Pascal au sein de l'ICCF et du Laboratoire de Météorologie Physique (LaMP)\*\*.

\* UMR 6296, Institut de Chimie de Clermont-Ferrand, Université Blaise Pascal, 24 avenue des Landais, F-63177 Aubière.  
Courriels : A-marie.Delort@univ-bpclermont.fr ; gilles.mailhot@univ-bpclermont.fr

\*\* UMR 6016, Laboratoire de Météorologie Physique, Université Blaise Pascal, 24 avenue des Landais, F-63177 Aubière.  
Courriel : Laurent.Deguillaume@univ-bpclermont.fr