

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MENTOURI-CONSTANTINE
FACULTE DES SCIENCES EXACTES
DEPARTEMENT DE CHIMIE
Laboratoire pollution et traitement des eaux

MEMOIRE

PRESENTE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE :

MAGISTER en CHIMIE

**BIODEGRADATION DU MEK EN REACTEUR BATCH :
INFLUENCE DE LA PRESENCE D'ACETONE ET DES CONDITIONS DE
CULTURE INITIALES**

Option : CHIMIE ANALYTIQUE ET PHYSIQUE

Par

AHMED TERROUCHE

Devant le jury :

Président	: M. C. MOUATS,	Professeur	Université Mentouri-Constantin
Rapporteur	: M.H. ALI-KHOUDJA,	Professeur	Université Mentouri-Constantin
Examineur	: M. A. HAOUAM,	Professeur	Université Mentouri-Constantin
Examineur	: M.A. DERRADJI,	M. Conférences	Université Badji-Mokhtar-Annab

Soutenance Prévue : 04 juillet 2009

Remerciements

Je souhaite adresser mes remerciements les plus sincères au professeur H.ALI-KHOUDJA pour avoir accepté de m'accueillir au sein de son laboratoire et de diriger ce travail de recherche. Il m'a accordé sa confiance tout au long de ces quelques années et je lui en suis vraiment très reconnaissant.

Je tiens à témoigner ici ma reconnaissance à Monsieur A. DERRADJI, maître de Conférences à l'Université Badji-Mokhtar-Annaba, d'avoir accepté d'examiner ce mémoire et de faire partie de ce jury.

Il m'est agréable d'associer à ces remerciements Monsieur. A. HAOUAM Professeur à l'Université Mentouri de Constantine et Monsieur. C. MOUATS Professeur à l'Université Mentouri de Constantine d'avoir accepté de faire partie de ce jury.

Je remercie aussi ma famille, et en particulier mes parents, pour leur patience et la compréhension dont ils ont fait preuve tout au long de mes études.

Enfin, c'est avec beaucoup de plaisir qu'il m'est donné aujourd'hui d'exprimer ma vive reconnaissance à l'ensemble des chercheurs, qui par leur gentillesse, leur modestie, leur aide, leur conseil et leur encouragement, ont fortement contribué à la réalisation de ce travail et particulièrement à moukhtar et nour.

TABLE DES MATIERES

Introduction générale	1
Chapitre I : synthèse bibliographique	
I.1. Une définition des COV.....	3
I.2. Origines des émissions des COV.....	4
I.2.1. Introduction.....	4
I.2.2. Sources biogéniques.....	4
I.2.3. Sources anthropiques.....	5
I.3. Effets et impacts des COV.....	6
I.3.1. Effets des COV sur l'environnement.....	6
I.3.2. Effets sur la santé.....	7
I.3.2.1. Effets directs.....	7
I.3.2.2. Effets indirects.....	9
I.4. Mesures de réduction des émissions de COV.....	10
I.4.1. Oxydation des COV.....	11
I.4.1.1. L'oxydation thermique.....	11
I.4.1.2. L'oxydation catalytique.....	12
I.4.1.3. Irradiation.....	13
I.4.1.3.1. Electricité haut voltage.....	13
I.4.1.3.2. UV (photo-oxydation).....	13
I.4.1.3.3. Plasma.....	13
I.4.1.3.4. Photocatalyse.....	14
I.4.1.4. Procédés biologiques.....	14
I.4.1.4.1. Les biolaveurs.....	15
I.4.1.4.2. Les filtres percolateurs (biotrickling).....	15
I.4.1.4.3. Les Biofiltres.....	16
I.5. La Dégradation de la matière organique par voie biologique.....	17
I.5.1. Les facteurs biologiques de la biodégradation.....	17
I.5.1.1. Les micro-organismes.....	17
I.5.1.2. Les enzymes.....	17
I.5.2. La biodégradation aérobie et anaérobie.....	18

I.5.2.1. Introduction.....	18
I.5.2.2. La biodégradation aérobie.....	18
I.5.2.3. La biodégradation anaérobie.....	18
I.5.3. Description de la cinétique de croissance microbienne.....	19
I.5.4. Quelques rappels sur le monde microbien.....	21
I.5.4.1. Les Bactéries.....	22
I.5.4.2. Les Moisissures et levures.....	23
I.5.4.3. Métabolites, toxines ou fragments de micro-organismes.....	25
I.5.4.4. Conditions de croissance.....	26
I.5.4.4.1. Les besoins nutritionnels.....	27
I.5.4.4.1.1. Les macromolécules nutritives.....	27
I.5.4.4.1.2. Les microsubstances nutritives.....	30
I.5.4.4.2. Influence de l'environnement.....	31
I.6. Informations générales sur la méthyl éthyl cétone	31
I.6.1. Principaux synonymes.....	31
I.6.2. Utilisation et sources d'émission.....	32
I.6.3. Propriétés physiques de MEK.....	33
I.6.4. Toxicocinétique.....	33

Chapitre II : matériels et méthodes

II.1. Origine du consortium.....	35
II.2. Description du réacteur batch.....	35
II.3. Milieu nutritif.....	35
II.4. Conditions opératoires de culture.....	36
II.5. Calcul de la charge maximal de MEK biodégradable dans un réacteur.....	37
II.6. Obtention des micro-organismes pour constituer l'inoculum.....	37
II.7. Prélèvements.....	39
II.8. Suivi de la croissance du consortium.....	39
II.9. Suivre la consommation de la MEK.....	40

Chapitre III : traitement des résultats

III.1. Introduction.....	41
III.2. Influence de la concentration initiale en substrat S_0	41

III.2.1.	Introduction.....	41
III.2.2.	Modélisation.....	43
III.2.2.1.	Modélisation de la croissance.....	43
III.2.2.2.	Modélisation de la consommation du MEK.....	44
III.2.3.	La concentration initiale en substrat (S_0) en fonction du temps nécessaire pour la dégradation total du MEK.....	45
III.2.4.	Le taux spécifique de croissance.....	47
III.2.5.	Le taux spécifique de croissance et la concentration initiale du substrat..	56
III.2.5.1.	Modélisation.....	56
III.2.5.1.1.	Le Modèle de Monod.....	56
III.2.5.1.2.	Le Modèle d'Haldane.....	57
III.2.6.	La vitesse spécifique de consommation de la MEK.....	58
III.2.7.	Rendement de conversion de la MEK en biomasse.....	62
III.2.8.	Discussion.....	63
III.2.8.1.	Croissance et dégradation.....	63
III.2.8.2.	Taux spécifique de croissance en fonction du temps et de la concentration en MEK résiduelle.....	63
III.2.8.3.	Taux spécifique de croissance en fonction de la concentration initiale du MEK.....	64
III.2.8.4.	Vitesse spécifique de consommation de la MEK en fonction du temps.....	64
III.3.	Influence de la présence d'une autre source de carbone sur la dégradation du MEK.....	65
III.3.1.	Introduction.....	65
III.3.2.	Modélisation.....	68
III.3.2.1.	Modélisation de la croissance.....	68
III.3.2.2.	Modélisation de la consommation de mélange (MEK /Acétone).	68
III.3.3.	Le Taux spécifique de croissance.....	69
III.3.4.	Le taux spécifique de croissance et la concentration initiale du substrat...77	
III.3.5.	La vitesse spécifique de consommation des substrats.....	78
III.3.6.	Rendement de conversion des substrats en biomasse.....	85

III.3.7. Discussion.....	86
III.3.7.1. Croissance et dégradation.....	86
III.3.7.2. Le taux spécifique de croissance et la concentration initiale du substrat.....	87
III.3.7.3. Vitesse spécifique de consommation des substrats.....	88
III.4. Influence de la concentration initiale de biomasse X_0	88
III.4.1. Introduction.....	88
III.4.2. Le Taux spécifique de croissance.....	90
III.4.3. Le Taux spécifique de croissance et la concentration initiale de biomasse (X_0).....	92
Conclusion générale.....	93

Introduction générale

Les préoccupations environnementales prennent, de nos jours, une importance sans cesse croissante. Dans ce contexte, la protection de l'atmosphère par le contrôle des émissions gazeuses chargées en polluants devient un enjeu environnemental majeur.

Parmi les différentes sources de pollution de l'atmosphère, les industries émettrices de rejets chargés en composés organiques volatils (COV) font l'objet d'une attention particulière. En effet, les COV sont des polluants avérés de la basse atmosphère de par leurs impacts sur l'environnement et la santé humaine.

La méthyléthylcétone (MEK), dont l'élimination des vapeurs de l'atmosphère est l'objet de notre étude, sert principalement de solvant, en particulier dans les divers revêtements, comme le vinyle, les adhésifs, la nitrocellulose et les revêtements à l'acrylique, dans les décapants à peinture, les vernis, les peintures en aérosol, les bouche-pores, les colles, les rubans magnétiques, les encres d'imprimerie, les résines, la colophane, les solutions de nettoyage et la polymérisation. Elle est utilisée dans les huiles lubrifiantes de déparaffinage, le dégraissage des métaux, la production de cuirs synthétiques, le papier transparent et le papier d'aluminium. Elle sert aussi d'intermédiaire chimique et de catalyseur. Elle sert de solvant d'extraction dans la transformation des produits et des ingrédients alimentaires. La MEK est extrêmement inflammable sous forme de liquide et de vapeurs. Les vapeurs qui sont plus denses que l'air peuvent se répandre sur de grandes distances et entraîner la possibilité d'allumage à distance et de retour de flamme. La MEK est très volatile. Il s'agit d'un irritant oculaire, d'un irritant de l'appareil respiratoire et d'un dépresseur du système nerveux central. De fortes concentrations peuvent causer des maux de tête, des nausées, des étourdissements, de la somnolence, de l'incoordination et de la confusion.

C'est ainsi que les rejets toxiques d'industries utilisatrices de solvants sont soumis à des réglementations de plus en plus strictes, contraignant l'industriel à établir des stratégies de réduction des émissions.

Afin de répondre à cette attente, il apparaît nécessaire de s'orienter vers des techniques de traitement. Parmi les techniques existantes, les procédés biologiques apparaissent comme une alternative intéressante. Ils exploitent la diversité fonctionnelle des micro-organismes dans le but de métaboliser les polluants présents dans les effluents

gazeux. Leurs impacts environnementaux mineurs, leur bonne image auprès du grand public et leurs coûts modérés en termes d'investissement et de fonctionnement comparé aux techniques physico-chimiques, sont des arguments qui plaident pour leur développement et leur utilisation.

Le premier chapitre de cette étude présente la problématique de la présence des COV dans l'atmosphère. La définition de ces composés, les aspects législatifs qui leur sont liés, leurs utilisations et sources de rejets ainsi que leurs impacts sur la santé et l'environnement sont tout d'abord exposés. Les différentes techniques de traitement sont également présentées.

Les matériels, ainsi que les différentes techniques d'analyse de la dégradation et de la croissance sont décrits dans le chapitre II.

Dans le troisième chapitre nous avons étudié la cinétique de croissance d'un consortium en présence de MEK dans un réacteur batch, l'influence de la concentration initiale en biomasse et en MEK ainsi que l'influence de la présence de l'acétone sur la biodégradation de la MEK.

I.1. Définition des COV

Il n'y a pas d'accord sur une définition exacte des COV. D'une manière générale les COV sont des substances organiques, c'est-à-dire contenant au moins un atome de carbone, qui passent facilement à l'état de gaz.

Dans le langage courant, les COV sont souvent synonymes des solvants organiques. Aux Etats-Unis, sous l'influence des problèmes environnementaux, on appelle COV tous les composés organiques qui contribuent à la création de l'ozone photochimique. La plupart des définitions reposent sur les propriétés physiques et chimiques de ces composés : le point d'ébullition, l'équilibre gaz/liquide ou la tension de vapeur.

La propriété qui est généralement prise en compte est la pression de vapeur saturante. Aux Etats-Unis, les COV sont des composés organiques dont la pression de vapeur est au-dessus de 13,3 Pa à 25 °C (Dewulf et Langenhove, 2002). En Europe, la Directive 1999/13/CE du Conseil du 11 mars 1999 définit les COV comme des produits chimiques organiques dont la pression de vapeur est au-dessus de 10 Pa à 20°C. En Australie les COV sont définis comme des composés chimiques ayant une pression de vapeur supérieure à 0,27 kPa à 25 °C (Dewulf et Langenhove, 2002).

Les divergences qui existent au niveau de la définition des COV rendent difficile de dresser une liste exhaustive de ces composés.

Ils incluent un éventail très large de différentes substances.

Rafson (1998) répertorie environ 500 COV. Les familles de COV qui reviennent le plus souvent dans la littérature sont :

- Les aliphatiques (heptane, hexane, pentane, ...)
- Les aromatiques (benzène, toluène, éthylbenzène et xylène appelé aussi famille des BTEX)
- Les alcools (éthanol, méthanol, butanol, IPA : alcool isopropanol ...)
- Les cétones (acétone, méthyléthylcétone, cyclohexanone...)
- Les esters (acétates d'éthyle, de butyle, d'isopropyle...)
- Les composés chlorés (perchloréthylène, trichloréthylène, dichlorométhane)
- Les composés azotés (amines, nitriles...)
- Les composés soufrés (mercaptans, diméthylsulfure...)
- Les éthers (1,4-Dioxane)
- Les aldéhydes (formaldéhyde)

I.2. Origines des émissions des COV

I.2.1. Introduction

L'origine des COV est multiple. En effet, ce sont des composés émis de façon naturelle par les processus géologiques ou biologiques (origine biogénique tant animale que végétale) mais aussi par les activités humaines du fait de leur utilisation directe dans les processus industriels, majoritairement sous la forme de solvants mais aussi de façon indirecte lors de la combustion d'hydrocarbures notamment (origine anthropique). En raison de leur forte volatilité, ces composés sont très majoritairement émis dans la troposphère sous forme de gaz. Une fois dans l'atmosphère, les COV interagissent avec les différentes phases (gaz, liquide, solide) et sont soumis à de très nombreuses réactions chimiques.

I.2.2. Sources biogéniques

Les mesures d'émissions de COV des végétaux ont mis en évidence l'importance de ces sources de COV. Helmig *et al.* (1999) et Janson et Serves (2001) ont montré que les émissions d'acétone varient fortement en fonction de l'espèce considérée. De plus, ces émissions sont fonction de la latitude, la température, l'ensoleillement, du stress de la plante ou de l'humidité notamment. Kirstine *et al.* (1998) ont mesuré les émissions de COV de pâturages (herbe et trèfle) et ont observé la production d'acétone, du MEK et de MIBK (Tableau 1). La MEK apparaît comme le composé le plus important et représente pour le trèfle près de 50 % des COV émis. De plus, les résultats obtenus montrent que le stress de la plante influe sur les émissions de COV, par exemple, lors de la tonte de la prairie étudiée, les émissions de COV augmentent de 80 à 180 fois pour le trèfle et l'herbe respectivement. Les émissions de COV représenteraient, selon Kirstine *et al.* (1998), 0,25% du carbone fixé par ces plantes.

Tableau 1. Emission d'acétone et du MEK par le trèfle et l'herbe de pâturage en microgramme de carbone par mètre carré et par heure, d'après Kirstine *et al.* (1998).

	Emission en $\mu\text{g de C / m}^2 \cdot \text{heure}$	
	Trèfle	Herbe
acétone	0,25	0,06
MEK	0,86	0,01
MIBK	0,003	0,002

L'origine des émissions de COV par les plantes est relativement méconnue. Cependant, Fall *et al.* (2001) proposent une explication à ces émissions. En effet, les plantes émettent du cyanure d'hydrogène comme moyen de défense contre d'éventuels «prédateurs» comme les herbivores. Le cyanure d'hydrogène est stocké dans les cellules sous forme d'acides aminés. Les composés carbonylés émis sont des déchets de cette réaction de défense. Selon Fall *et al.* (2001), un tel phénomène aurait déjà été répertorié sur plus d'un millier d'espèces de plantes.

Les plantes ne sont pas les seules sources de COV biogéniques. Les océans jouent aussi le rôle de puits et de sources d'acétone, du MEK et de méthylglyoxal par exemple selon Zhou et Opper (1997). L'origine de ces composés est due à la photodégradation de la matière organique dissoute à la surface des océans.

I.2.3. Sources anthropiques

Les COV peuvent aussi être directement issus des activités humaines. En effet, les composés carbonylés dont l'acétone, la MEK, le MIBK et le méthylglyoxal, sont présents dans les carburants automobiles et sont émis lors de la combustion incomplète de ces carburants (Kean *et al.*, 2001 ; Staehelin *et al.*, 1998). Avec l'utilisation de plus en plus grande d'essences dite de nouvelle génération contenant de plus en plus de composés oxygénés comme substituts aux composés organiques plus toxiques, les émissions de ces COV sont en augmentation.

Les feux de forêts, dont la majorité est issue des activités humaines, sont aussi d'importantes sources de COV. En effet, d'après les simulations faites en laboratoire par Holzinger *et al.* (1999), les feux de forêts et de savanes sont des grands émetteurs de COV

Les émissions en COV anthropiques peuvent aussi être directement liées à leur utilisation dans les activités humaines principalement par un processus d'évaporation. C'est le cas par exemple du formate d'éthyle qui est utilisé comme solvant pour la nitrocellulose, insecticide et larvicide pour les cultures de tabac et céréales et même comme agent de saveur pour la limonade (Health Council of the Netherlands, 2002).

Le NMP ou *N*-méthyl, pyrrolidinone est un solvant organique dont l'usage est croissant car il constitue un excellent substituant aux hydrocarbures chlorés très toxiques. Son usage couvre un large spectre de domaines allant de l'industrie pétrochimique où il peut être utilisé comme catalyseur, à l'industrie de la microélectronique où il est utilisé dans les processus de nettoyage, en passant par la fabrication de pigments, cosmétiques, médicaments, produits phytosanitaires.

I.3. Effets et impacts des COV

La présence de COV dans l'atmosphère présente des risques directs et indirects pour la santé humaine et pour l'environnement. Cependant, c'est un sujet complexe et encore mal connu du fait de la rareté des travaux réalisés. Ce paragraphe présente les effets les mieux étudiés de certains COV sur l'environnement et la santé humaine.

I.3.1. Effets des COV sur l'environnement

L'effet principal des COV sur l'environnement est lié à leur participation à des réactions photochimiques complexes avec d'autres composés présents dans l'atmosphère.

En présence d'oxydes d'azote et du rayonnement solaire, ils contribuent à la formation de composés oxydés et nitrés dont les plus connus sont les Peroxy-Acyle Nitrate (PAN). Ils font aussi partie des gaz précurseurs de l'ozone troposphérique (basse atmosphère) en se conjuguant avec les oxydes d'azote. L'ozone est présent de manière naturelle dans l'air et il se forme par combinaison d'un atome de dioxygène et d'un atome d'oxygène provenant de la dissociation d'une molécule de dioxyde d'azote sous l'effet du rayonnement solaire. Cette apparition d'ozone est régulée par la réaction inverse puisque O_3 se recombine avec le monoxyde d'azote précédemment créé. Cependant la présence de COV provoque une modification de ce cycle.

En effet, ceux-ci sont transformés en composés radicalaires au fort pouvoir oxydant qui se combinent avec le monoxyde d'azote pour former du dioxyde d'azote. Un excès

d'ozone est alors généré, aboutissant à un déséquilibre entre les concentrations d'ozone et de dioxygène dans l'air, la réaction étant défavorisée. Cet ozone va alors s'accumuler dans l'atmosphère. La présence d'ozone dans la basse atmosphère est aussi à l'origine de divers problèmes écologiques notamment la perturbation de la photosynthèse des végétaux (forêts et cultures). De plus, les COV sont également impliqués dans le phénomène des pluies acides à l'origine de graves dégâts principalement dans les zones forestières.

Mais à l'heure actuelle, le problème majeur reste l'augmentation de l'effet de serre et donc le réchauffement accéléré de la planète. La part de l'ozone participant à l'effet de serre total est estimée à 18 % sur l'ensemble de la planète. A ce titre, une réduction de 70 à 80 % de la teneur en COV est estimée indispensable pour réduire significativement les concentrations élevées en photo-oxydants (Le Cloirec, 1998).

Enfin du fait de flaques accidentelles, de fuites sur des réservoirs de stockage souterrains, ou de décharges de produits non contrôlées, une pollution de certains sols a été observée (Braidia et Ong, 2000).

I.3.2. Effets sur la santé

Les troubles causés par les COV sur la santé peuvent aller de simples irritations à des troubles beaucoup plus sévères comme des problèmes cardiaques ou l'apparition de cancers. A ce titre ils constituent donc un problème sanitaire à prendre en compte.

I.3.2.1. Effets directs

Les COV présentent un caractère irritant pour les yeux, la peau, et les muqueuses. Les solvants à base de composés halogénés ou aromatiques comme le chloroforme ou le styrène entraînent des irritations cutanées et plus particulièrement des tissus adipeux (Lauwerys, 1992). Une exposition à certains composés aromatiques peut également entraîner des irritations des yeux (Das *et al.*, 1991). Par ailleurs, à des concentrations plus élevées, d'autres COV sont aussi à l'origine de troubles cardiaques comme le toluène, le chloroforme ou le trichlorométhane (Lauwerys, 1992). Enfin, certains composés sont connus pour induire des cancers; parmi eux, seulement 17 COV différents induisaient 2000 cas de cancers par an aux Etats-Unis d'après l'EPA (Hill *et al.*, 1991). De plus, il a été montré qu'une exposition aux BTEX (benzène, toluène, éthylbenzène, xylène) pouvait entraîner le cancer de la vessie par exemple (Foo, 1991). Les hydrocarbures halogénés sont

eux reconnus pour leurs effets mutagènes, et pour leurs effets néfastes sur le système nerveux provoquant généralement un état d'excitation proche de l'état d'ivresse alcoolique suivi d'une dépression du système nerveux (Lauwerys, 1992). Le tableau 2 présente les maladies associées à certains COV.

Tableau. 2 Impacts et effets de certains COV sur la santé humain (Hill *et al.*, 1991)

Composées	Maladies Induites
Phénol	Irritations du système respiratoire & effets
Toluène	Attaques du système nerveux & effets
Trichloréthylène	Effets cancérogènes & attaques du système
Chlorure de Vinyle	Effets cancérogènes
Benzène	Effets cancérogènes (leucémie)
Tétrachlorure de	Effets cancérogènes (cancer du foie)
Crésol	Irritations cutanées & maladies du foie
Chlorure de	Effets cancérogènes & attaques du système

Ainsi, vu les risques sanitaires encourus, l'INERIS (Institut National d'Etudes des Risques Industriels et Sanitaires) fixe pour certains composés, une valeur limite de seuil d'exposition pour protéger les utilisateurs de solvants à des expositions chroniques (VME) ou aiguës (VLE). La VME (Valeur Moyenne d'Exposition) est la concentration moyenne maximale admissible pondérée pour une durée de travail de 8 heures/jour et de 40 h/semaine; la VLE (Valeur Limite d'Exposition) est la concentration maximale ne pouvant être dépassée pour une exposition supérieure à 15 minutes. Le tableau 3 présente ces valeurs pour un certains nombre de COV.

Tableau. 3 VME et VLE pour quelques COV couramment utilisés (Dusserre *et al.*, 1998)

Composées	VLE (mg/m ³)	VME (mg/m ³)
Acétate de	ND	150
Benzène	25	5
Acétone	ND	750
Dichloromét	100	50
Formaldéhy	1	0,5
Hexane	ND	50
Méthanol	1000	200
Trichloréthy	200	75
Toluène	150	100
Xylène	150	100

Enfin, il faut noter la gêne olfactive provoquée par la présence de certains COV dans l'atmosphère. A proximité des installations émettrices de solvants, cette gêne est effective pour le voisinage ainsi que pour le personnel travaillant à l'intérieur des ateliers. Les composés susceptibles de générer des mauvaises odeurs sont les composés soufrés (mercaptans) (Humeau *et al.*, 1999; Hansen et Rindel, 2000). Mais un grand nombre d'autres COV occasionnent des gênes olfactives comme les alcools, les aldéhydes, les composés aminés ou les hétérocycles (Derek et Sercombe, 1995). Tous ces composés génèrent une gêne olfactive de par leurs faibles seuils de perception, inférieurs en moyenne à 1mg/m³ (Humeau et al., 1999). Même s'il n'y a pas de nocivité avérée de ces composés, ces rejets sont considérés comme des pollutions atmosphériques par la gêne qu'ils engendrent.

I.3.2.2. Effets indirects

Les COV sont des précurseurs de l'ozone troposphérique, reconnu pour ses effets irritants et toxiques. A ce titre, une étude menée par l'Institut Français de Veille Sanitaire (InVS) (Institut de Veille Sanitaire, 1999) évalue une augmentation de la mortalité quotidienne de 2 à 3% pour une augmentation de 50 µg/m³ de la teneur moyenne en ozone pendant huit heures. La présence de COV dans l'atmosphère a donc des effets néfastes aussi bien sur l'environnement (avec pour principal impact l'effet de serre) que sur la santé

humaine. Des réglementations ont donc été mises en place afin de limiter les émissions des différentes sources de pollution anthropique.

I.4. Mesures de réduction des émissions de COV

Plusieurs options se présentent pour la réduction des émissions de COV :

- remplacement des COV par d'autres substances, substitution des produits à forte teneur, utilisation de COV moins nocifs,
- modification des pratiques de gestion,
- modification des procédés,
- recyclage et récupération des COV,
- destruction des COV.

Si aucune solution préventive ou récupérative n'est techniquement possible ou économiquement abordable, il ne reste plus qu'à traiter les effluents chargés de COV.

En première étape, il faut identifier l'origine des effluents et mettre en place un système de captage. Pour des raisons économiques, on va essayer de minimiser les volumes d'air à véhiculer et à traiter sans pour autant dépasser en aucun point du réseau une concentration en COV entraînant des risques d'explosion.

Il existe deux principes de traitement des COV: l'oxydation (destruction) et la récupération. Pour ce qui est de l'oxydation, on distingue entre l'incinération thermique (régénérative et récupérative), l'incinération catalytique (régénérative et récupérative), l'irradiation (UV, plasma, faisceau d'électrons, photo-oxydation) et les procédés biologiques (biofiltres, biolaveurs, biotrickling).

La récupération peut se faire par absorption ou lavage, par adsorption, par condensation ou par séparation membranaire.

L'emploi des différentes techniques dépend de

- l'effluent: débit de gaz (valeur absolue, variations), niveau de température, composition des COV (nature, complexité du mélange, variabilité des concentrations), présence de particules et d'eau, limites inférieure et supérieure d'explosion,
- d'autres conditions telles que : objectif d'épuration, optimisation du procédé en amont, impact sur le procédé de fabrication, adaptabilité aux modifications ultérieures du procédé, sources d'énergie disponibles, possibilités de valorisation d'énergie, possibilité de

récupération des matières premières, traitement des eaux résiduaires, déchets, sécurité, maintenance, compétences humaines, place disponible, prix, etc.

- La détermination du meilleur procédé de traitement exige donc une analyse détaillée pour chaque établissement.

Les différentes techniques sont décrites plus explicitement dans les paragraphes suivants.

I.4.1. Oxydation des COV

Tous les COV peuvent être transformés par oxydation totale en composés inorganiques. Les produits d'oxydation dépendent du COV à détruire. Selon la composition du COV à oxyder, les composés formés sont soit uniquement du dioxyde de carbone (CO₂) et de l'eau (H₂O), soit un mélange de CO₂, de H₂O et d'autres produits d'oxydation. Parmi ces derniers figurent par exemple le NO, le HCl, le SO₂ ainsi que les dioxines (polluants secondaires). Dans ce cas, un traitement des fumées en aval de l'incinérateur est éventuellement à prévoir.

Pour que les COV s'oxydent, une certaine vitesse de réaction est indispensable. Elle peut être atteinte par augmentation de la température, par diminution de l'énergie d'activation nécessaire, par augmentation de la quantité d'oxygène ou par augmentation de la teneur en polluants. Trois facteurs déterminent donc le bon fonctionnement de l'oxydation: température, turbulence et temps de séjour.

I.4.1.1. L'oxydation thermique

L'oxydation thermique est également appelée «incinération thermique». Elle représente 80 % des installations de traitement actuellement en fonctionnement.

Un incinérateur thermique est composé d'une chambre de combustion munie d'un brûleur ou (plus rarement) préchauffée électriquement et d'un système d'échange thermique.

Le brûleur est alimenté avec l'effluent à traiter, avec de l'air et, si nécessaire, avec le combustible d'appoint. Ce dernier n'est pas ajouté, si la concentration en COV est assez élevée de manière à ce que la température libérée par leur oxydation est suffisamment haute pour maintenir la température d'oxydation nécessaire dans l'incinérateur. L'incinération fonctionne alors en autothermie.

I.4.1.2. L'oxydation catalytique

Hormis le lit catalytique, l'oxydation catalytique est peu différente de l'oxydation thermique. Elle se déroule à des températures inférieures aux températures de l'oxydation thermique, la plage de température étant de 200-600 °C (la température est plus élevée pour les COV halogénés).

La présence d'un catalyseur permet cette réduction de température et, par conséquent, une réduction de la quantité de gasoil à ajouter au processus. La récupération d'énergie peut se faire par système récupératif ou régénératif. Le catalyseur se compose d'une espèce active (métaux précieux, par exemple le platine ou oxydes métalliques, par exemple à base de chrome, de fer ou de nickel) en forme de billes, de pastilles, de granulés, d'extrudé, de nid d'abeilles, etc., qui est déposée sur un support inorganique comme par exemple l'alumine ou la céramique. Il n'est pas consommé dans le procédé, mais son fonctionnement peut être atténué dans le temps par empoisonnement (halogènes, phosphore, silicones et certains métaux s'y déposent), par un masquage des surfaces actives par les poussières, par une perte de matière (attrition) ou par des températures trop élevées (dégradation thermique). Il est très important de connaître la composition des gaz à traiter afin d'éviter un endommagement du catalyseur. Les catalyseurs «usés» doivent être régénérés ou remplacés.

Muni d'un échangeur d'énergie type «récupératif», la température d'oxydation est en général de 200-450 °C et l'autothermie est possible à partir de 2-4 g/Nm³. Un rendement thermique de ± 80 % est possible.

Muni d'un échangeur d'énergie type «régénératif», la température d'oxydation est en général de 300-500 °C et l'autothermie est possible à partir d'environ 1 g/Nm³. Un rendement thermique de 90-95 % est possible.

Bien qu'en général l'oxydation thermique catalytique produise moins de NOx que l'oxydation thermique non catalytique (les azotes proviennent de l'air de combustion et leur concentration est fonction de la température d'oxydation), il faut surveiller la libération d'azote chimiquement lié dans les produits à oxyder.

Une réduction des coûts est essentiellement possible par le bon choix du catalyseur et le développement de catalyseurs moins sensibles à l'empoisonnement et travaillant à plus basse température.

I.4.1.3. Irradiation

I.4.1.3.1. Electricité haut voltage

Dans un réacteur Corona, de l'électricité haut voltage est utilisée pour détruire les COV. Le réacteur est par exemple un tube en verre rempli de billes de verre. A l'extérieur du tube, une couche de métal mise à la terre est appliquée. Une électrode haut voltage traverse le tube dans le sens de la longueur, le voltage et l'intensité du courant sont réglés en fonction du COV à détruire. De par cette électrode, des faisceaux d'électrons à haute vitesse bombardent les COV, créant des radicaux libres qui rompent leurs liaisons chimiques. Le produit restant de cette destruction des COV est un mélange d'eau, du dioxyde de carbone et de sel. Le procédé fonctionne à température ambiante, avec une efficacité de l'ordre de 99,99%. Il se prête particulièrement au traitement du trichloréthylène, du tétrachlorure de carbone et du benzène.

I.4.1.3.2. UV (photo-oxydation)

La destruction des COV gazeux est réalisée en les exposant à de la lumière UV haute intensité, leurs liens chimiques sont ainsi brisés. On peut aussi oxyder les COV en les mettant en contact avec des oxydants tels que l'ozone, les peroxydes ou les radicaux OH⁻ et O⁻ sous un rayonnement ultraviolet de 150 à 250 nm.

I.4.1.3.3. Plasma

La technique du plasma - plutôt connue pour le traitement de surfaces - élimine les COV en ayant recours à un plasma non thermique (oxydation froide) qui détruit les COV en les exposant à l'action des micro-ondes. Ces micro-ondes ionisent l'oxygène de l'air, produisant ainsi un plasma d'électrons et de radicaux hydroxyles et azotyles qui dissocient les COV en dioxyde de carbone et eau. Cette technique s'applique principalement à des effluents à faible concentration. Les coûts d'investissement et d'exploitation sont peu élevés par rapport à d'autres techniques; elle convient par ce fait parfaitement aux petites entreprises présentant un flux de solvants de faible volume (par exemple cabines de peinture au pistolet).

I.4.1.3.4. Photocatalyse

La photocatalyse fonctionne moyennant un semi-conducteur (en général du dioxyde de titane TiO₂) et un rayonnement lumineux (UV ou visible). Sous l'action du rayonnement, le semi-conducteur produit des radicaux très oxydants qui détruisent des polluants adsorbés à sa surface. Cette technique s'apprête pour les effluents gazeux faiblement pollués à débits faibles à moyens.

I.4.1.4. Procédés biologiques

Le traitement biologique imite les mécanismes auto-épurgateurs de la nature dans une application technique. A condition qu'ils soient solubles dans l'eau, biodégradables et en concentration acceptable, les COV peuvent être dégradés par des micro-organismes à qui ils servent comme source de carbone pour leur biosynthèse et comme source d'énergie. L'oxydation complète d'un substrat carboné organique conduit à la formation de biomasse et de composés minéraux (CO₂ et NO_x).

Les micro-organismes sont pour la plupart des bactéries, des champignons, des moisissures, des levures ou des algues microscopiques. Leur activité métabolique ainsi que leur croissance dépendent de la présence des éléments nutritifs (carbone, azote, phosphore, soufre, ...), du degré d'humidité, du pH et de la température (idéal : 20-40 °C) du milieu. Tandis que des COV facilement dégradables comme les alcools, les acides, les esters et les cétones peuvent être dégradés par presque tout type de micro-organisme, ceci n'est pas le cas pour les substances plus difficilement dégradables (par exemple solvants chlorés, composés aromatiques). Pour de tels composés, il s'avère utile et/ou nécessaire de sélectionner des micro-organismes particulièrement adaptés à la décomposition de telles substances.

La dégradation s'effectue toujours en deux étapes : absorption des COV dans la phase aqueuse, puis oxydation des COV. On distingue plusieurs types de procédés:

- les biolaveurs,
- les filtres percolants,
- les biofiltres.

Les systèmes biologiques sont tous insensibles aux variations en charge et supportent même des périodes de non alimentation. Comme les micro-organismes se développent en fonction des COV, un changement de la composition des COV peut également être

envisagé, ceci toutefois à condition de ne pas ajouter des COV toxiques pour les micro-organismes.

I.4.1.4.1. Les biolaveurs

Dans les biolaveurs, deux étapes se déroulent séparément: l'absorption est effectuée dans une tour de lavage à pulvérisation (les biolaveurs s'appliquent donc en principe uniquement aux COV hydrosolubles) tandis que la biodégradation se fait dans un bassin d'activation contenant de la biomasse en suspension. Après le lavage, l'eau chargée en COV est donc traitée dans un réacteur à boues activées. L'eau circule en circuit fermé: elle traverse d'abord le biolaveur, puis le réacteur, puis de nouveau le biolaveur.

I.4.1.4.2. Les filtres percolateurs (biotrickling)

Les filtres percolateurs sont une combinaison de biolaveurs et de biofiltres. Dans les filtres percolateurs, le biofilm se développe à la surface d'un support fixe en matériau inerte («filtre») ayant une structure garantissant une surface de contact maximale entre l'air vicié et l'eau. Il peut atteindre plusieurs millimètres d'épaisseur. Ces micro-organismes produisent des enzymes capables de détruire les COV: ils sont transformés en dioxyde de carbone, en vapeur d'eau et en masse biologique.

Les COV et l'oxygène sont absorbés d'abord par l'eau d'arrosage puis transportés sous forme aqueuse vers le matériel de support. Autour du biofilm se crée ainsi une phase liquide à travers laquelle les COV et l'oxygène sont absorbés et transférés vers le biofilm. L'eau d'arrosage peut contenir le cas échéant un complément nutritif et du NaOH (neutralisation).

Par ce système, un grand nombre de COV, hydrosolubles et difficilement hydrosolubles (toluène, xylène, benzène, chlorure de méthylène, ...) peut être traité, les COV à haute concentration en chlore sont toutefois moins faciles à éliminer. Pour le traitement de certaines substances particulières, une «vaccination» de l'eau avec les souches adaptées peut être réalisée. La charge biologique est constamment renouvelée par élimination de la masse en surplus. Les boues qui se forment sont éliminées par simple décantation.

Pour une efficacité identique, le volume occupé est généralement moindre que celui d'un biofiltre.

A part les biofiltres percolateurs «classiques» à l'eau, il en existe également fonctionnant avec d'autres liquides comme par exemple avec une émulsion huile organique/eau. Ils sont destinés à élargir les possibilités de traitement à des composés non solubles dans l'eau ou toxiques à faible concentration, tels que le styrène, le benzène ou les solvants chlorés. Avec de l'huile de silicone, on peut par exemple obtenir une dégradation de 90% du toluène et du xylène, alors qu'elle est quasiment nulle avec de l'eau seule.

I.4.1.4.3. Les biofiltres

Dans les biofiltres, les micro-organismes sont fixés sur un matériau (tourbe, fibres, compost, écorces, copeaux de bois, billes en céramique, etc.) dans un réacteur que le flux chargé traverse de haut en bas, de bas en haut ou horizontalement. Sur ce matériau, qui est arrosé périodiquement, se forme un biofilm. Au passage de l'effluent, les COV y sont absorbés et oxydés.

Certaines substances qui ne peuvent pas être absorbées par les micro-organismes y sont adsorbées. Leur durée de séjour dans le filtre est ainsi prolongée. Ceci permet le développement de micro-organismes spécialisés pour l'oxydation de ces substances (si de tels micro-organismes ne faisaient pas partie du biofilm). On peut accélérer et stimuler l'oxydation des COV en vaccinant le lit biologique des souches utiles.

Afin de bien éliminer les COV, le matériau est épais de 0,5 à 1 mètre et son humidité relative doit être maintenue entre 40 et 60 % par l'aspersion périodique. L'écoulement des liquides (gaz et fluides) et leur répartition plus ou moins uniforme peut être favorisée par l'ajout d'éléments plus légers au matériel de base (par exemple copeaux, billes de polystyrène). Lors de l'aspersion, un apport nutritif complémentaire ou un apport de chaux afin de régler la valeur pH du milieu, est possible. Comme la présence d'eau et d'air et la densité de la masse ne sont pas uniformes, la capacité épurante peut considérablement varier. En principe, un biofiltre se régénère lui-même par élimination de la masse biologique en surplus. Cette masse et les eaux de percolation éventuellement en trop sont traitées par la suite.

Cette technique s'apprête surtout pour les COV non-chlorés. Elle existe en version ouverte et fermée. La dernière est préférée en raison des fortes odeurs émises par certaines composantes.

I.5. La dégradation de la matière organique par voie biologique

I.5.1. Les facteurs biologiques de la biodégradation

I.5.1.1. Les micro-organismes

Le terme « micro-organismes » couvre un groupe hétérogène d'êtres vivants de taille microscopique et pour la plupart, unicellulaires. Les micro-organismes appartiennent à deux principaux groupes :

- les procaryotes qui n'ont pas de noyau. Ils comprennent les eubactéries et archéobactéries, et
- les eucaryotes dont l'ADN est contenu dans un noyau délimité par une double membrane. Ils comprennent les protozoaires, les algues unicellulaires et les champignons.

Les champignons et les bactéries ont évolué durant des millions d'années et ont développé la capacité à dégrader toutes sortes de composés chimiques après une période d'adaptation.

I.5.1.2. Les enzymes

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques. Elles induisent des augmentations très importantes des vitesses de réaction dans un environnement qui, sans elles, ne serait pas favorable à ces réactions biochimiques. Elles sont produites par les cellules (animales, végétales ou microbiennes).

D'un point de vue structural, toutes les enzymes sont des protéines spécialisées de structure tridimensionnelle et dont les masses moléculaires varient entre 10^3 et 10^6 Da.

L'activité enzymatique d'un enzyme est reliée à la structure conformationnelle de ce dernier, qui présente certaines régions spécifiques à sa surface, formant ainsi un site actif. L'activité de l'enzyme disparaît avec la perte de sa conformation. L'interaction entre l'enzyme et le substrat a lieu sur ce site actif et conduit à la réaction chimique. Les sites actifs sont spécifiques pour un substrat donné ou une série de substrats.

Les enzymes sont classées en six groupes, selon leur activité : hydrolases, estérases, isomérases, réductases, lyases et ligases (Durand *et al.*, 1982 ; Lenz, 1993).

I.5.2. La biodégradation aérobie et anaérobie

I.5.2.1. Introduction

Les ordures ménagères, placées dans un milieu où la température et l'humidité sont adaptées, présentent toutes les conditions pour le développement d'une flore microbiologique capable de dégrader la matière organique biodégradable.

La biodégradabilité de substrats organiques solides dépend de leur disponibilité pour les micro-organismes. Les micro-organismes occupent le milieu réactionnel en formant des colonies ou biofilms à la surface des particules (Molz *et al.*, 1986). La première étape commune à toute action microbiologique est une phase d'hydrolyse au cours de laquelle les molécules organiques complexes sont, sous l'action d'enzymes, transformées en molécules solubles de plus petite taille, substrat indispensable aux réactions biologiques qui suivent. La suite de la chaîne réactionnelle dépend de la nature des accepteurs d'électrons présents dans le milieu et surtout de la présence ou non d'oxygène qui déterminera le type de processus à venir : la voie aérobie ou la voie anaérobie.

I.5.2.2. La biodégradation aérobie

Une grande diversité de micro-organismes préexistants dans les déchets (principalement des bactéries, actinomycètes et champignons) consomme l'oxygène gazeux pour minéraliser la matière organique en CO₂ et H₂O (Mustin, 1987). Comme peu de micro-organismes sont capables de minéraliser complètement la matière organique, les sous-produits organiques peuvent être consommés directement par d'autres micro-organismes ou subsister pour un temps plus ou moins long dans la matrice déchet (Bardos, 2004). C'est cette voie métabolique qui est privilégiée lors du compostage. Elle est caractérisée par son exothermicité (2830 KJ pour une mole de glucose minéralisée (Gourdon, 2002). Ce dégagement de chaleur entraîne des modifications thermiques importantes du milieu nécessitant l'adaptation de la flore microbienne.

I.5.2.3. La biodégradation anaérobie

La biodégradation anaérobie fait référence à un enchaînement d'étapes métaboliques souvent simultanées où les sous-produits d'une étape deviennent les substrats de l'étape suivante. Les produits de cette chaîne de réaction sont majoritairement le dioxyde de

carbone (CO₂) et le méthane (CH₄), dont le mélange est communément appelé biogaz. Les trois étapes de la dégradation anaérobie de la matière organique ont été abondamment décrites dans la littérature (Aragno, 1988; Christensen *et al.*, 1989) :

1. La fermentation acide ou l'acidogénèse des molécules hydrolysées en acides gras volatils (AGV), alcools, hydrogène et dioxyde de carbone par des bactéries fermentatives.

2. L'acétogénèse, où les bactéries acétogènes transforment les acides organiques de 3 à 6 atomes de carbone et les alcools en l'AGV le plus simple : l'acide acétique, en hydrogène et en dioxyde de carbone.

3. La méthanogène qui est l'étape finale conduisant à la production de méthane et de dioxyde de carbone soit à partir de l'acide acétique par les méthanogènes acétoclastes, soit par la voie hydrogénophile où les bactéries convertissent l'hydrogène et le dioxyde de carbone en méthane.

Les bactéries acidogènes sont anaérobies facultatives, c'est-à-dire qu'elles vont prioritairement consommer l'oxygène présent mais peuvent vivre en conditions anaérobies, alors que les acétogènes et les méthanogènes sont anaérobies strictes.

La chaîne de réaction de méthanisation qui transforme la matière organique en méthane et en dioxyde de carbone est faiblement exothermique par rapport à la réaction aérobie (401 kJ pour une mole de glucose convertie en 3 moles de CH₄ et trois moles de CO₂ (Gourdon, 2002)). Selon (Hartz *et al.*, 1982), la température optimale de dégradation anaérobie pour les ordures ménagères est comprise entre 35 et 41°C. La méthanogénèse et plus généralement la croissance anaérobie sont ralenties à une température inférieure à 20°C (Gourdon, 2002).

I.5.3. Description de la cinétique de croissance microbienne

Depuis la première description de Buchanan (1918), il est classique de distinguer plusieurs phases dans la croissance des cultures bactériennes. Ces phases sont caractérisées par certaines valeurs ou variations de la vitesse de multiplication de la culture. On reconnaît classiquement les sept phases successives suivantes :

1. La phase de latence correspond à une phase d'adaptation des cellules à un nouvel environnement permettant la croissance. Cette phase de latence est une phase d'ajustement pendant laquelle les bactéries procèdent à des modifications dans le but de pouvoir initier la phase de croissance exponentielle (Buchanan et Klawitter, 1991). Sur la Figure 1 est

représentée la phase de latence pour une population de cellules inoculées dans un nouvel environnement. Au niveau des cellules individuelles la latence est associée à l'élongation des cellules au cours du cycle cellulaire (Kutalik et al., 2005). Le cycle cellulaire bactérien est divisé en trois phases. Au cours de la première phase, la cellule accroît sa masse jusqu'à ce qu'elle atteigne un niveau lui permettant l'initiation de la synthèse d'ADN.

La période de réplication totale de l'ADN bactérien depuis l'origine de réplication est la deuxième phase. La troisième et dernière phase du cycle bactérien, représente le temps nécessaire à la division de la cellule en deux cellules distinctes. Cette période regroupe la séparation des deux chromosomes, la synthèse des protéines de complétion, la formation d'un septum et la séparation des deux cellules. La croissance de la masse cellulaire est exponentielle tout au long du cycle (Donachie, 1968). Cependant le démarrage de la croissance exponentielle de la masse dès le début de la première phase est fonction de l'histoire des cellules. En effet, une cellule bactérienne peut présenter une latence avant la croissance exponentielle de sa masse (Kutalik et al., 2005). La première phase joue donc un rôle primordial sur la durée de la période du cycle cellulaire complet (Koppes et al., 1980 ; Kutalik et al., 2005) et ainsi sur la latence individuelle.

2. La phase d'augmentation de la vitesse de croissance qui passe plus ou moins rapidement de zéro à sa valeur maximale.

3. Les cellules en phase de croissance exponentielle constituent un autre état physiologique particulier des cellules bactériennes. Au niveau d'une population de cellules, la croissance se traduit par une augmentation exponentielle du nombre de cellule au cours du temps. Une mesure de la vitesse de croissance est le taux de croissance spécifique, μ_{\max} . Au niveau d'une cellule bactérienne, la phase exponentielle de croissance se traduit par une croissance continue en longueur et en masse de la bactérie (Dens *et al.*, 2005).

4. La phase de diminution de la vitesse de croissance qui progressivement devient nulle.

5. La phase stationnaire maximale ou plus simplement phase stationnaire qui correspond à un arrêt de la croissance, la culture atteint alors sa densité maximale. Le ralentissement puis l'arrêt de la croissance sont dus à l'épuisement d'une substance nutritive ou à toutes autres modifications des propriétés du milieu de culture le rendant impropre à la croissance des micro-organismes.

6. La phase de début de décroissance.

7. La phase de décroissance.

La cinétique de croissance des cultures bactériennes est donc essentiellement composée d'une phase de latence suivie d'une phase exponentielle puis d'une phase stationnaire. Les microbiologistes utilisent classiquement les paramètres suivants pour caractériser ces différentes phases : la densité cellulaire initiale (X_0), le temps de latence (t_{lag}), la vitesse de multiplication maximale (μ_{max}) ou le temps de génération (t_g) et la densité maximale atteinte (X_{max}).

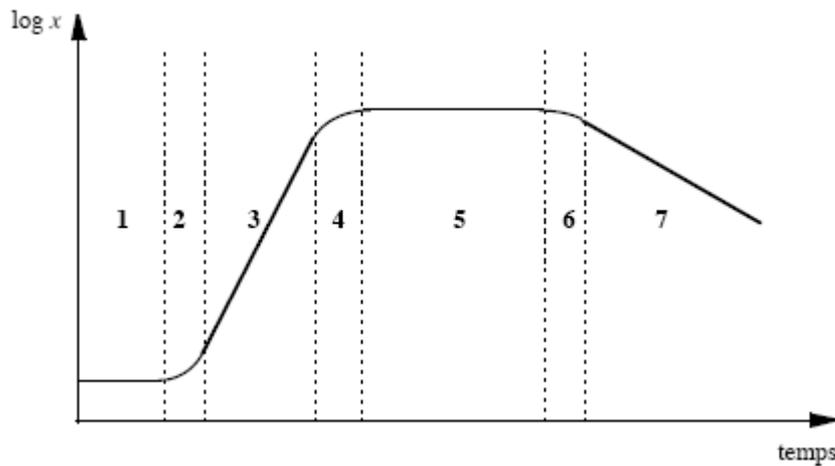


Figure 1. Courbe de croissance d'une culture bactérienne et ses différentes phases (Buchanan, 1918). x représente la densité ou la biomasse de la culture. Les phases sont : (1) phase stationnaire initiale ou de latence, (2) phase d'accélération de la croissance, (3) phase de croissance à vitesse constante, (4) phase de ralentissement de la croissance, (5) phase stationnaire maximale, (6) et (7) phases de décroissance.

Le temps de latence, t_{lag} , est défini par convention comme étant l'intersection de la droite correspondant à la phase exponentielle (en coordonnées semi-logarithmiques) avec la droite horizontale passant par la concentration initiale, X_0 . La vitesse de multiplication ou taux de croissance (vitesse de croissance par unité de densité) maximum, μ_{max} , est la pente correspondant à la phase exponentielle (en coordonnées semi-logarithmiques).

I.5.4. Quelques rappels sur le monde microbien

Les micro-organismes sont omniprésents dans notre environnement : eau, sol, air, plantes, animaux, humains. L'intérêt du point de vue de l'hygiène industrielle porte principalement sur les bioaérosols ou micro-organismes dans l'air, et plus spécifiquement sur les bactéries, les moisissures et levures et leurs métabolites, toxines ou fragments.

D'autres micro-organismes, associés occasionnellement à la qualité de l'air, il s'agit des mites de poussières ou acariens et des virus. La majorité des bioaérosols sont de dimension respirable, soit de l'ordre de 0,003 Fm pour les virus, de 0,5 à 20 Fm pour les bactéries, de 10 à 100 Fm pour les pollens de plantes et de 2 à 200 Fm pour les moisissures. Les effets sur la santé rapportés ici sont de nature globale et générale, cet aspect de la démarche devant toujours être confié à un médecin.

I.5.4.1. Les bactéries

Les bactéries sont abondantes dans l'environnement et chez les humains. On en connaît plus de 150 000 espèces. Ce sont des organismes unicellulaires qui se reproduisent par simple division cellulaire. La majorité des bactéries contiennent l'information génétique et la capacité énergétique nécessaires pour assurer leur croissance et leur reproduction. Elles sont aptes à utiliser diverses sources nutritives, inorganiques et organiques. La majorité des espèces rencontrées en qualité de l'air sont saprophytes, c'est-à-dire qu'elles tirent leur énergie de sources organiques.

La classification des bactéries est basée sur des caractéristiques cellulaires, morphologiques ou biochimiques. Elles se répartissent dans deux grands groupes, selon leur réaction à la coloration de Gram : bactéries Gram positives et bactéries Gram négatives. Les bactéries ont besoin de beaucoup d'humidité pour se multiplier. Les bactéries Gram négatives ont une paroi cellulaire fragile qui supporte mal la déshydratation subie pendant un passage prolongé dans l'air ou lors de l'échantillonnage. Les bactéries Gram positives ont une paroi plus résistante et certaines produisent des spores qui leur confèrent une résistance accrue aux variations des conditions environnementales. Dans ce groupe se trouvent les bactéries thermophiles, dont la croissance est favorisée par des températures plus élevées, et qui sont d'un intérêt particulier en qualité de l'air.

A l'extérieur, les bactéries proviennent majoritairement de l'eau, du sol et des plantes et elles sont associées à la présence d'humains et d'animaux.

Des étendues d'eau peuvent en dissiper dans l'air par aérosolisation, tout comme le font les émissions de certains procédés industriels et celles des unités de refroidissement.

A l'intérieur des édifices non industriels, les bactéries proviennent principalement des occupants puisqu'elles constituent la flore naturelle de la peau et des muqueuses.

Leurs espèces y sont plus nombreuses et leurs concentrations, supérieures à celles de l'environnement extérieur. Certains milieux de travail, tels que les granges, les fermes d'élevage, les centres de traitement des déchets et des eaux usées, les usines d'aliments et de boissons, sont quant à eux propices à la présence et à la croissance bactérienne.

C'est dans les environnements de ce type que les bactéries Gram négatives sont le plus susceptibles d'être mesurées.

La majorité des bactéries présentes naturellement ne causent pas d'effets néfastes à la santé. Certaines sont même essentielles autant à l'organisme humain qu'à l'environnement.

Les risques pour la santé apparaissent lorsque les concentrations de certaines espèces deviennent anormalement élevées. Ainsi, de fortes concentrations de bactéries thermoactinomycètes peuvent causer une pneumonite d'hypersensitivité, telle que la maladie du poumon du fermier.

Certaines bactéries sont reconnues comme étant des agents responsables de maladies infectieuses. Le risque pour la santé relié à la présence de la bactérie *Legionella pneumophila*, soit la légionellose, est bien documenté. Il existe deux formes distinctes de légionellose : la maladie du légionnaire, une pneumonie progressive pouvant être mortelle, et la fièvre de Pontiac, qui cause des symptômes similaires à ceux de la grippe. Cette bactérie est connue pour sa capacité à se développer dans des réservoirs d'eau. Elle est sujette au dessèchement et ne survit pas à l'extérieur de l'eau. Elle peut cependant être transmise dans l'air par la projection des gouttelettes d'eau qui en contiennent.

I.5.4.2. Les moisissures et levures

On compte actuellement plusieurs dizaines de milliers d'espèces connues de moisissures et de levures, les deux groupes appartenant à la famille des champignons. Omniprésents dans l'environnement, les champignons sont des saprophytes primaires, c'est-à-dire qu'ils utilisent la matière organique morte comme source nutritive pour leur croissance et leur reproduction. Plusieurs vivent dans les sols et prennent une part active dans la décomposition de la matière organique. Ils sont habituellement aérobies.

Les humains seraient exposés couramment à plus de 200 espèces d'entre eux, dont plusieurs prolifèrent bien dans un environnement intérieur humide.

Les levures sont des organismes unicellulaires qui se divisent par fission et par bourgeonnement. Les moisissures sont des organismes pluricellulaires qui se propagent par

leurs spores. Ces éléments se développent en filaments appelés hyphes, lesquels, en s'agglomérant, forment le mycélium. Celui-ci donne naissance à des structures plus spécialisées, les appareils sporifères, responsables de la formation des spores. Les spores diffèrent en formes, en dimensions et en couleurs. Elles peuvent survivre de quelques jours à quelques années. Chaque spore qui germe peut donner lieu à la croissance d'une nouvelle moisissure, laquelle peut, à son tour, produire des millions de spores dans des conditions de croissance appropriées.

Les moisissures libèrent leurs spores sous l'effet des mouvements d'air importants ou en réaction à des conditions défavorables, telles que l'augmentation ou la diminution rapide de l'humidité ou encore, en réponse au besoin d'atteindre une nouvelle source de nourriture. La présence de ces spores dans l'air dépend également de leur façon de se disperser. En fait, le mode de dispersion et de transfert des spores diffère selon les espèces. Certaines, appelées gloeiospores, ont une paroi épaisse, de consistance humide, et restent collées entre elles par un mucus. Elles forment des amas lourds difficilement transportables par l'air. Elles sont véhiculées au niveau des substrats par contact, par des insectes ou par l'eau. C'est le cas des moisissures du genre *Acremonium* et *Exophiala*. D'autres genres, tels que *Penicillium* et *Cladosporium* ont des spores à paroi sèche, facilement dissociables et légères. Elles sont ainsi plus facilement dispersées dans l'air.

Les concentrations de spores dans l'air étant dépendantes des conditions environnantes, elles varient donc au cours d'une même journée.

Dans la nature, la concentration des moisissures atteint son pic de juillet à la fin de l'automne. Contrairement aux pollens, les moisissures persistent malgré le premier gel. Quelques-unes peuvent se développer à des températures inférieures au point de congélation, mais la plupart tombent alors en dormance.

Le couvert de neige diminue de façon draconienne les concentrations dans l'air mais ne tue pas les moisissures. À la fonte des neiges, celles-ci se développent sur la végétation morte. La température influence leur taux de croissance.

Les moisissures ont une température de croissance minimale, maximale et optimale. La température ambiante de l'ordre de 20 à 25 °C maintenue dans la majorité des environnements intérieurs correspond à une zone idéale de croissance pour la majorité d'entre elles.

Les levures et les moisissures peuvent se trouver partout où il y a une température adéquate, de l'humidité, de l'oxygène, une source de carbone, d'azote et les minéraux dont elles ont besoin. Leurs activités de biodégradation ou de biodétérioration dépendent de leurs activités enzymatiques propres, des conditions environnementales, du phénomène de la concurrence et de la nature du substrat. Par exemple, certaines moisissures utilisent facilement la cellulose et leur prolifération est favorisée lorsque les matériaux qui en contiennent sont imbibés d'eau.

I.5.4.3. Métabolites, toxines ou fragments de micro-organismes

Les mycotoxines

Pendant le processus de dégradation de la matière nutritive, les moisissures libèrent des métabolites secondaires, appelés mycotoxines, qui leur servent de défense contre les autres micro-organismes, incluant les autres moisissures. Une même espèce fongique peut produire différentes toxines, selon le substrat et les facteurs environnementaux locaux. Les mycotoxines sont des composés non volatils qui se retrouveront dans l'air uniquement en cas d'agitation du milieu où elles sont produites.

Les effets sur la santé résultant d'une exposition respiratoire aux mycotoxines ne sont pas bien connus. Celles-ci pourraient être les agents causaux des effets rapportés suivant une exposition aux moisissures. Les symptômes décrits varient selon le type, la nature et l'ampleur du contact. Ils incluent l'irritation cutanée et celle des muqueuses, l'immunosuppression et des effets systémiques tels que étourdissements, nausées, maux de tête, effets cognitifs et neuropsychologiques. Notons que ces derniers effets sont peu documentés et que le mécanisme causal potentiel n'est pas élucidé. Certaines mycotoxines, dont l'aflatoxine, sont considérées cancérigènes ; l'ingestion de l'aflatoxine est une cause reconnue du cancer hépatique. La seule association entre le cancer et l'inhalation des mycotoxines a été démontrée dans des environnements agricoles ou industriels très contaminés.

Les endotoxines

Les endotoxines sont des constituantes de la membrane cellulaire extérieure des bactéries Gram négatives. Elles se composent de lipopolysaccharides associés à des

protéines et à des lipides. Le terme « endotoxine » fait référence à la toxine présente soit dans la cellule bactérienne, soit dans les fragments des parois cellulaires libérés pendant la lyse bactérienne. Leur présence dans un environnement de travail est en lien avec celle des bactéries Gram négatives.

Les effets sur la santé varient beaucoup selon les espèces, les individus, la dose et la voie d'entrée. Les symptômes rapportés suivant une exposition respiratoire aux endotoxines sont la toux, le souffle court, la fièvre, l'obstruction et l'inflammation des poumons ainsi que des problèmes gastro-intestinaux.

Glucan et ergostérol

Le -(1-3)-D-glucan est un polymère de glucose à haut poids moléculaire qui se trouve dans les parois cellulaires des moisissures, des bactéries et des plantes. Des évidences récentes suggèrent qu'il serait un agent irritant pour les voies respiratoires. L'ergostérol est une composante de la membrane cellulaire des moisissures dont la proportion en masse serait à peu près constant. Les glucans et l'ergostérol pourraient agir comme des marqueurs environnementaux potentiels d'une exposition aux moisissures, mais leur signification quantitative est encore inconnue.

Autres

Les peptidoglycans sont des composantes de la paroi cellulaire des bactéries. Ils sont soupçonnés d'être un agent causal potentiel de l'inflammation pulmonaire associée à l'inhalation des bactéries Gram positives.

Les exotoxines sont des molécules bioactives, habituellement des protéines sécrétées pendant la croissance des bactéries. Elles sont aussi libérées pendant la lyse des bactéries. Bien que généralement associées avec des maladies infectieuses, telles que le botulisme, le choléra et le tétanos, elles peuvent se retrouver sur des substrats qui supportent la croissance bactérienne et prendre subséquemment la forme d'un aérosol. Les risques associés à leur présence dans l'air ne sont pas documentés.

I.5.4.4. Conditions de croissance

La croissance d'un micro-organisme peut être considérée comme une série d'interactions entre les cellules et l'environnement. En plus de l'apport d'éléments

nutritifs, le milieu crée autour des cellules un environnement plus ou moins favorable en fonction de son humidité, de sa température, de son pH ou par la présence de substances antimicrobiennes.

I.5.4. 4.1. Les besoins nutritionnels

- Les macromolécules nutritives sont nécessaires dans des concentrations plus grandes que 10^{-4} mol L⁻¹. Le carbone, l'azote, l'oxygène, l'hydrogène, le soufre, le phosphore, Mg²⁺ et K⁺, sont des macromolécules nutritives majeures.

- Les micromolécules nutritives sont nécessaires dans les concentrations de moins que 10^{-4} mol L⁻¹. Les éléments en traces comme Mo²⁺, Zn²⁺, Cu²⁺, Mn²⁺, Fe²⁺, Ca²⁺, Na²⁺, des vitamines, des hormones de croissance et des précurseurs métaboliques sont des micromolécules nutritives.

I.5.4. 4.1.1. Les macromolécules nutritives

Des composés carboniques sont les sources majeures de carbone cellulaire et d'énergie. Les micro-organismes sont classifiés dans deux catégories sur la base de leur source carbonique :

1. Hétérotrophes utilisent des composés organiques comme des glucides, des lipides et des hydrocarbures comme le carbone et une source d'énergie.

2. Autotrophes utilisent le dioxyde de carbone comme une source carbonique.

Les micro-organismes mixotrophes grandissent simultanément tant sous des conditions hétérotrophiques qu'autotrophiques; cependant, chez les micro-organismes autotrophiques, la croissance est stimulée par certains composés organiques. Les micro-organismes autotrophes facultatifs grandissent normalement dans des conditions d'autotrophie; cependant, ils peuvent grandir dans des conditions d'hétérotrophie en absence de CO₂.

Les micro-organismes chimioautotrophes utilisent le CO₂ comme une source carbonique et obtiennent l'énergie de l'oxydation de composés inorganiques.

Les micro-organismes photoautotrophes utilisent le CO₂ comme une source carbonique et utilise la lumière comme une source d'énergie.

Les sources carboniques les plus communes dans des fermentations industrielles sont la mélasse (la saccharose), l'amidon (le glucose, le dextrine) et le sirop de maïs. Dans des

fermentations de laboratoire, le glucose, la saccharose et le fructose sont les sources carboniques les plus communes. Le méthanol, l'éthanol et le méthane constituent aussi des sources carboniques bon marché dans certaines fermentations. Dans la fermentation aérobie, environ 50 % de carbone de substrat sont incorporés dans des cellules et environ 50 % de cela sont utilisés comme une source d'énergie. Dans la fermentation anaérobie, une grande fraction de carbone de substrat est convertie en produits et une fraction plus petite est convertie en masse cellulaire (moins de 30 %).

L'azote constitue environ 10 % à 14 % de poids sec cellulaire. Les sources d'azote le plus largement utilisées sont l'ammoniac ou les sels d'ammonium [NH_4Cl , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4NO_3], des protéines, des peptides et des acides aminés. Quelques organismes comme *Azotobacter* et les cyanobactéries fixent l'azote de l'atmosphère à de l'ammonium. L'urée peut aussi être utilisée comme une source d'azote par quelques organismes. Des sources d'azote organiques comme l'extrait de levure et les peptones sont chères comparées aux sels d'ammonium. Quelques sources de carbone et d'azote utilisées par l'industrie de fermentation sont repri dans le tableau 4.

L'oxygène est présent dans tous les composants cellulaires organiques et l'eau cellulaire et constitue environ 20 % du poids sec des cellules. L'oxygène moléculaire est exigé comme un accepteur électronique terminal dans le métabolisme aérobie des composés carboniques. L'oxygène gazeux est présent dans le milieu de croissance en épargnant l'air ou par l'aération superficielle.

L'hydrogène constitue environ 8 % du poids sec cellulaire et est tiré principalement de composés carboniques, comme des glucides. Quelques bactéries (ex : méthanogènes) peuvent utiliser l'hydrogène comme une source d'énergie.

Tableau 4. Quelques sources de carbone et d'azote utilisées par l'industrie de fermentation

Sources carboniques	Sources d'azote
Déchets d'amidon (maïs et pomme de terre)	Repas de soja
Mélasse (canne et betterave)	Extrait de levure
Petit-lait	Distillateurs solubles
n-alkanes	Extrait de graine de coton
Gas-oil	Sang Séché
Sulfite gaspillent le spiritueux	Spiritueux raide de maïs
Vidanges domestiques (intérieurs)	Pêchez solubles et le repas
Déchets de cellulose	Repas d'arachide
Carob haricot	

Le phosphore constitue environ 3 % du poids sec cellulaire il est présent dans des acides nucléiques et dans la paroi cellulaire de quelques bactéries. Des sels de phosphate inorganiques, comme KH_2PO_4 et K_2HPO_4 , sont les sels de phosphate les plus communs. Les glycérophosphates peuvent aussi être utilisés comme des sources de phosphate organiques. Le phosphore est un élément clef dans le règlement de métabolisme cellulaire. Le niveau de phosphate dans le milieu devrait être inférieur à 1 mM pour la formation de beaucoup de métabolites secondaires comme des antibiotiques.

Le soufre constitue presque 1 % du poids sec cellulaire et est présent dans des protéines et certains coenzymes. Les sels de sulfate comme $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sont la source de soufre la plus commune. Des acides aminés contenant le soufre peuvent aussi être utilisés comme une source de soufre. Certain autotrophes utilisent S^{2-} et S^0 comme des sources d'énergie.

Le potassium est un cofacteur pour quelques enzymes et est exigé dans le métabolisme des glucides. Les cellules ont tendance à activement prendre K^+ et Mg^{2+} et exclure Na^+ et Ca^{2+} . Les sels de potassium le plus généralement utilisés sont K_2HPO_4 , KH_2PO_4 et K_3PO_4

Le magnésium est un cofacteur pour quelques enzymes et est présent dans des parois cellulaires et des membranes. Les ribosomes exigent spécifiquement des ions Mg^{2+} . Le magnésium est d'habitude fourni comme $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ou MgCl_2 .

I.5.4. 4.1.2. Les microsubstances nutritives

Les éléments en traces sont essentiels pour la nutrition microbienne. Le manque d'éléments en trace essentiels augmente la phase de retard (le temps de l'inoculation à la reproduction cellulaire active dans la culture batch) et peut diminuer le taux de croissance spécifique et le rendement. Les trois catégories majeures de microsubstances nutritives sont discutées ci-dessous.

1. Les éléments en trace le plus largement utilisés sont : Fe, Zn et Mn. Le fer joue un rôle régulateur dans quelques processus de fermentation). Le zinc (Zn) est un cofacteur pour quelques. Le manganèse (Mn) est aussi un enzyme cofacteur et joue un rôle dans le règlement du métabolisme secondaire et l'excrétion de métabolites primaire.

2. Les éléments en trace nécessaires dans des conditions de croissance spécifiques sont : Cu, Co, Mo, Ca, Na, Cl, Ni et Se. Le cuivre (Cu) est présente dans des certains composants de la chaîne respiratoire et les enzymes. Certains micro-organismes méthanogènes exigent le cobalt. Le molybdène (Mo) est exigé pour la croissance sur NO_3^- et N_2 comme sources uniques d'azote. Le sodium (Na) est nécessaire en quantités infimes par quelques bactéries, particulièrement méthanogènes pour l'équilibre ionique. Les chlorures (Cl^-) sont nécessaires par certaines halobactérie et des microbes marins, qui exigent Na^+ . Le nickel (Ni) est exigé par certains micro-organismes méthanogènes comme cofacteur et le sélénium (Se) est exigé dans le métabolisme de quelques organismes.

3. Les éléments en trace qui sont rarement exigés sont B, Al^- , Si, Cr, V, Sn, Be, F, Ti, Ga, Ge, Br, Zr, W, Li et I. Ces éléments sont exigés dans les concentrations de moins que $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ et sont toxique à de haute concentration, comme $10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$.

Quelques ions comme Mg^{2+} , Fe^{3+} et PO_4^{3-} peuvent précipiter dans le milieu nutritif et devenir indisponibles aux cellules. Les chélateurs sont utilisés pour former des composés solubles avec les ions de précipitation.

Les polyphosphates, histidine, tyrosine et cystéine sont les agents chélateurs le plus généralement utilisés. Na_2EDTA est l'agent chélateur le plus commun. EDTA peut enlever quelques composants d'ions métalliques de la paroi cellulaire, comme Ca^{2+} , Mg^{2+} et Zn^{2+} et peut causer la désintégration de la paroi cellulaire. Les facteurs de croissance stimulent la croissance et la synthèse de certains métabolites. Les vitamines, des hormones et des acides aminés sont des facteurs de croissance majeurs. Les vitamines fonctionnent d'habitude comme coenzymes. Les vitamines sont exigées à une gamme de concentration

de 10^{-6} mol L⁻¹ à 10^{-12} mol L⁻¹. Selon l'organisme, certains ou tous les acides aminés peuvent devoir être fournis extérieurement dans des concentrations de 10^{-6} mol L⁻¹ à 10^{-13} mol L⁻¹.

Quelques acides gras, comme l'acide oléique et stérols, sont aussi nécessaires dans de petites quantités par quelques organismes (Michael L. Shuler et Fikert Kargi, 1992).

I.5.4. 4.2. Influence de l'environnement

Les nutriments constitutifs et énergétiques nécessaires aux micro-organismes doivent être apportés dans des conditions d'environnement favorables. En effet, plusieurs facteurs de l'environnement peuvent influencer la croissance des micro-organismes tel que la température, le pH, l'oxygène, et l'activité de l'eau.

La température optimale de croissance des micro-organismes se situe entre 25 et 30°C (BeliN, 1988). Alors que l'optimum de pH pour la croissance des micro-organismes varie de 4,5 à 6,5, beaucoup d'espèces tolèrent de grandes variations de pH: il est de 3,6 pour *S. cerevisiae* (Yarrow, 1984). D'autre part, toutes les micro-organismes sont capables de se développer en présence d'oxygène: il n'y a pas de micro-organismes anaérobies stricts. Cependant, certains micro-organismes sont aérobies stricts. En ce qui concerne les micro-organismes aéro-anaérobies facultatifs, certains préfèrent un métabolisme fermentaire même en présence d'oxygène. Les saccharomyces et d'autres préfèrent un métabolisme respiratoire (*Candida*) (Ribéreau *et al.*, 2000). A signaler aussi que la plupart des micro-organismes ne peuvent pas se développer pour des activités de l'eau inférieures à 0,90 (Leveau et Bouix, 1993).

I.6. Informations générales sur la méthyl éthyl cétone

I.6.1. Principaux synonymes

Noms français	Noms anglais
Méthyl éthyl cétone	Methyl ethyl ketone (MEK)
Méthyléthylcétone (MEC)	Ethyl methyl ketone
Butanone-2	

(Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology. (1991-1998))

I.6.2. Utilisation et sources d'émission

La MEK est surtout utilisée comme solvant. Son pouvoir de dissolution lui permet de dissoudre des gommes, des résines, plusieurs polymères synthétiques, des graisses et des huiles. Ainsi, on l'utilise dans diverses formulations dont :

- des revêtements de polymères vinyliques
- des laques, notamment les laques à base de nitrocellulose et des acryliques
- des vernis et peintures à vaporiser
- des décapants et diluants à peintures et vernis
- des encres d'imprimeries
- des colles et autres adhésifs

En industrie, on utilise la MEK dans de nombreux procédés tels que :

- le dégraissage du métal
- l'extraction de graisses, huiles, cires et résines naturelles
- le déparaffinage des huiles minérales
- la fabrication de cuir synthétique, de ruban magnétique, de film transparent et autres polymères
- la fabrication des poudres colloïdales en pyrotechnie
- la décaféination du café et du thé
- l'extraction de saveurs.

La MEK est aussi un intermédiaire de synthèse de plusieurs produits chimiques de différentes catégories dont :

- la méthyl isopropyl cétone
- le peroxyde de méthyl éthyl cétone, un catalyseur de polymérisation
- la méthyl éthyl cétoxime, un antioxydant utilisé par exemple, dans les peintures
- Le diacétyle.

D'autre part, l'activité humaine peut être source d'émission de méthyl éthyl cétone dans l'atmosphère, dont entre autres, les gaz d'échappement des véhicules et la fumée de cigarette. L'activité bactérienne, certaines plantes et quelques aliments seraient des sources naturelles à faible teneur (International Programme on Chemical Safety, 1992 ; Bohnet *et al.*, 2003)

I.6.3. Propriétés physiques du MEK

Tableau. 5 propriétés physique du MEK (Vincoli, 1997 ; Bohnet, 2003)

État physique	Liquide
Masse moléculaire	72,11
Densité	0,806 g/ml à 20 °C 0,7999 g/ml à 25 °C
Solubilité dans l'eau	275 g/l à 20 °C
Densité de vapeur (air=1)	2,49
Concentration à saturation	93000 ppm
Point de fusion	-86,6 °C
Point d'ébullition	79,6 °C

I.6.4. Toxicocinétique

La méthyléthylcétone (MEK) est rapidement absorbée par inhalation. Le taux de rétention pulmonaire se situe entre 41 et 53 % chez des volontaires exposés à 200 ppm pendant 4 heures. La quantité absorbée est proportionnelle à la concentration inhalée, à la durée de l'exposition et au taux de ventilation alvéolaire. L'exercice physique augmente l'absorption de la MEK. L'absorption cutanée de la MEK est rapide puisqu'on la retrouve dans l'air expiré 2,5 à 3 minutes après son application sur une peau normale au niveau de l'avant bras. La concentration de la MEK dans l'air expiré atteint un plateau en 2 à 3 heures.

Une étude montre que l'absorption est plus lente et moins importante sur une peau sèche ou normale que sur une peau humide. Lorsque la peau est humide, l'absorption est très rapide. En effet, la MEK est détectée dans l'air expiré moins de 30 secondes après son application sur l'avant-bras. La concentration maximale de la MEK dans l'air expiré, qui est atteinte en 10 à 15 minutes, est environ 4 fois supérieure à celle que l'on observe sur une peau normale ou sèche. L'absorption des vapeurs par la peau n'a pas été étudiée.

La MEK est absorbée par les voies digestives puisqu'elle a été mesurée dans le sang de personnes en ayant ingéré.

Des études de toxicité aiguë (DL50) nous indiquent que le produit est absorbé par les voies digestives.

On pense que la majorité de la MEK absorbée chez l'humain est métabolisée en butanediol-2,3 lequel entre par la suite dans le cycle métabolique général et est éliminé sous forme de molécules simples comme le dioxyde de carbone et l'eau. Cependant, les voies métaboliques n'ont pas été complètement élucidées.

Chez l'humain, suite à une exposition par inhalation, les deux métabolites retrouvés en faibles concentrations dans l'urine sont l'hydroxy-3 butanone-2 (0,1 %) et le butanediol-2,3 (2 %).

De l'alcool butylique secondaire a été retrouvé dans le sang de volontaires exposés à 200 ppm du MEK pendant 4 heures.

A partir d'études chez plusieurs espèces animales, un schéma généralisé du métabolisme de la MEK a été observé. La MEK est métabolisée dans le foie où la majeure partie est oxydée en hydroxy-3 butanone-2 avant d'être réduite en butanediol-2,3 qui lui est transformé en dioxyde de carbone et en eau. Une petite partie de la MEK peut être réduite en alcool butylique secondaire qui sera à son tour rapidement oxydé pour redonner de la MEK.

Chez le rat, environ 35 % de la MEK administrée oralement est convertie en butanediol-2,3, 4 % en alcool butylique secondaire et 4 % en hydroxy-3 butanone-2.

De manière qualitative, le métabolisme est similaire chez l'humain et l'animal puisqu'ils ont les mêmes métabolites.

L'élimination san

guine de la MEK chez l'humain est bi-phasique, comportant une phase rapide et une phase lente. La demi-vie est de 30 minutes pour la phase rapide et d'environ 81 minutes pour la phase lente.

La demi-vie d'élimination dans l'urine est de 4 heures.(Dowty et al., 1976 ; Dietz et al., 1981 ;Bates, 2002 ;Liira et al., 1988)

II.1. Origine du consortium

Le consortium utilisé pour l'inoculation provient d'une culture mixte de micro-organismes prélevée dans les bassins d'aération de la station d'épuration biologique d'El Menia Constantine.

II.2. Description du réacteur batch

Des bouteilles en verre scellées d'un volume total de 1,045 litres, ont servi de réacteurs batch le bouchon muni d'un orifice protégé afin d'éviter tout échange gazeuses avec le milieu extérieur, permet les prélèvements aqueux, prévus pour le suivi de la croissance des micro-organismes et la dégradation du substrat.

II.3. Milieu nutritif

Un premier essai de mise en culture des micro-organismes en présence du MEK/acétone a été lancé avec un milieu nutritif dont la composition est repri au tableau 6 (Deseveaux, 1995). Ce milieu liquide constitué de macroéléments et de micro-éléments apporte aux micro-organismes tous les éléments nécessaires au développement cellulaire, à part la source de carbone représentée par la MEK ou par l'acétone ou par les deux.

Le pH du milieu est compris entre 6 et 7, elle est du aux ions NH_4^+ produits par l'unique source d'azote qu'est le sulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Tableau 6. Composition du milieu nutritif (Deseveaux. 1995)

Milieu nutritif		Concentrations
Tampon et macroéléments	(NH ₄) ₂ SO ₄	3,00 g L ⁻¹
	KH ₂ PO ₄	1,09 g L ⁻¹
	Na ₂ HPO ₄ , 2H ₂ O	3,49 g L ⁻¹
	MgSO ₄ , 7H ₂ O	0,2 g L ⁻¹
Micro-éléments	EDTA	10 mg L ⁻¹
	FeSO ₄ , 7H ₂ O	5 mg L ⁻¹
	MnCl ₂ , 4H ₂ O	1,22 mg L ⁻¹
	ZnSO ₄ , 7H ₂ O	0,25 mg L ⁻¹
	CuSO ₄ , 5H ₂ O	0,2 mg L ⁻¹
	CaCl ₂ , 2H ₂ O	1 mg L ⁻¹
	Na ₂ MoO ₄ , H ₂ O	0,2 mg L ⁻¹

II.4. Conditions opératoires de culture

Les caractéristiques de la croissance et de la dégradation du MEK sont étudiées pour des cultures mixtes en suspension, dans des réacteurs batch.

L'objectif de ces expériences est de mettre en évidence l'influence de la concentration initiale du MEK et de la concentration initiale de biomasse sur les paramètres cinétiques de biodégradation, ainsi que l'influence de la présence de second substrat.

La charge maximale du MEK biodégradable dans un réacteur a été calculé afin d'éviter la limitation par l'oxygène.

Cependant, il est évident qu'un minimum de phase liquide est nécessaire pour la croissance des micro-organismes, pour suivre la densité optique et la concentration au cours de l'expérience sans perturber la croissance. Nous avons cherché un compromis et fixé le volume de phase liquide à 90 ml.

La taille de l'inoculum est fixée à 20 % (v/v) de la phase liquide. La concentration de cet inoculum est ajustée de façon à avoir une concentration de départ dans les réacteurs de 0,125 g_{ps} L⁻¹.

Les réacteurs sont placés dans un bain-marie MEMMERT de type GFL 1083, avec agitation, à 35C⁰.

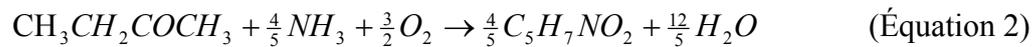
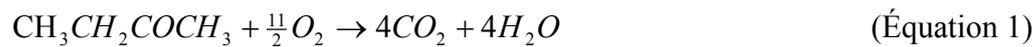
II.5. Calcul de la charge maximal du MEK biodégradable dans un réacteur

L'oxygène est indispensable à notre consortium pour la dégradation et la transformation en biomasse de la MEK et de l'acétone. Sachant que l'oxygène est peu soluble et que nous voulons appliquer des charges élevées en MEK et en acétone aux réacteurs, nous devons donc réduire le volume de phase liquide au maximum pour que les micro-organismes trouvent l'oxygène nécessaire.

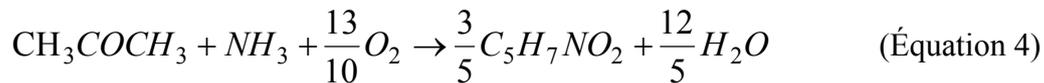
Il nous reste maintenant à calculer, connaissant la quantité d'oxygène en phase gazeuse via la loi des gaz parfaits, la quantité maximale des substrats qui peut être dégradée par les micro-organismes dans les réacteurs. Ceci nécessite de connaître la ou les équations stoechiométriques reliant l'oxygène et les substrats.

Nous avons supposé que les deux substrats (MEK et acétone) pourraient être transformés intégralement en biomasse et en CO_2 par les voies métaboliques classiques suivant les deux équations suivantes :

Pour la MEK :



Et pour l'acétone :



Cette supposition semble être confirmée par des expériences préliminaires de croissance et de dégradation. En effet, lors de ces expériences où ont été suivies simultanément les concentrations en biomasse et en substrat au cours du temps, nous avons observé que la formation de biomasse et la dégradation des substrats étaient liées.

Les équations n° 1 et 2 et les équations n° 3 et 4 sont reliées par un rendement $Y_{x/s}$ appelé rendement de conversion du substrat en biomasse.

II.6. Obtention des micro-organismes pour constituer l'inoculum

Pour réduire, voire éliminer la phase de latence de nos expériences de cinétique, nous utilisons pour ensemercer nos réacteurs des cellules se trouvant en phase de pleine croissance. Des précultures sont réalisées à cet effet.

Pour standardiser ces précultures, nous avons défini les conditions opératoires suivantes :

- Notre réacteur batch contient 90 ml de phase liquide
- La densité de l'inoculum de départ est de $0,125 \text{ g}_{\text{ps}} \text{ L}^{-1}$
- La concentration appliquée est de 1000 ppm du MEK ou 500ppm de MEM plus 500ppm d'acétone lorsque le consortium est en présence d'un mélange des deux.

Dans ces conditions, le moment où les micro-organismes se trouvent à la moitié de leur croissance totale est repéré grâce à la mesure de densité optique. Nous désignons ce moment le point de "mi-croissance" (figure 2).

Après récolte des cellules au point de "mi-croissance", il faut procéder au lavage des cellules pour éliminer les substrats résiduels et les suspendre dans du milieu défini neuf.

Ceci se fait suivant la procédure : centrifugation (35000 rpm, 3 minutes, ROTO FIX), élimination du surnageant et resuspension dans du milieu défini. Cette opération est réalisée deux ou trois fois.

Nous pouvons analyser un échantillon grâce à un CPG (Shimadzu A17) pour vérifier l'absence de traces des substrats résiduelle.

Finalement, nous procédons à un ajustement de la concentration en biomasse afin d'obtenir un inoculum adapté à nos expériences, c'est-à-dire un inoculum à la concentration de $0,625 \text{ g L}^{-1}$, avant de diluer 5 fois dans du milieu défini.

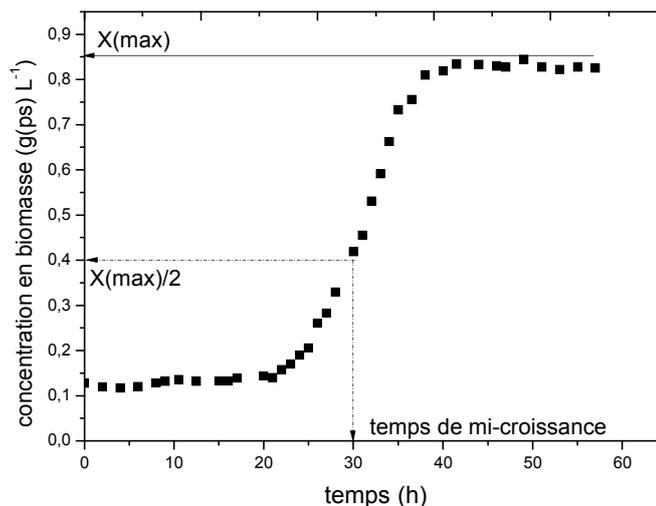


Figure 2. Cinétiques de croissance de la MEK par le consortium bactérien en l'absence d'acclimatation pour éliminer la phase de latence (concentration initiale en MEK = 20 mMol L^{-1}).

II.7. Prélèvements

Les prélèvements horaires doivent se faire à partir de chaque réacteur batch. Ces prélèvements d'un volume de 2 ml sont répartis dans deux tubes.

- 1,5 ml du volume total permet la lecture de la densité optique (D.O)
- Le volume restant est mis dans un tube fermé, pour éviter les pertes de substrat, il subit alors une centrifugation à 35000 rpm pendant 3 mn afin d'obtenir un surnageant exempt des cellules microbiennes.

Les échantillons, conservés dans des flacons à 4 °C, sont prêts à la mesure de la concentration en substrat par chromatographie en phase gazeuse.

II.8. Suivi de la croissance du consortium

Le suivi de la quantité de biomasse au cours du temps se fait par lecture directe de la densité optique sur le spectrophotomètre à 546nm.

Un étalonnage a été réalisé afin de convertir la densité optique en concentration en biomasse. Elle est exprimée en grammes de poids sec de cellules par litre (figure 3).

Le principe de l'étalonnage consiste en la préparation de suspensions homogènes à différentes concentrations à partir d'une culture de notre consortium arrivée en phase stationnaire de croissance et en la mesure du poids sec de ces étalons.

Pour réaliser cette dernière étape, les différentes suspensions de biomasse, dont la densité optique a été lue préalablement sur le spectrophotomètre, sont placées dans des creusets. Ensuite ils sont mis à l'étuve à 100 °C pendant 24 heures.

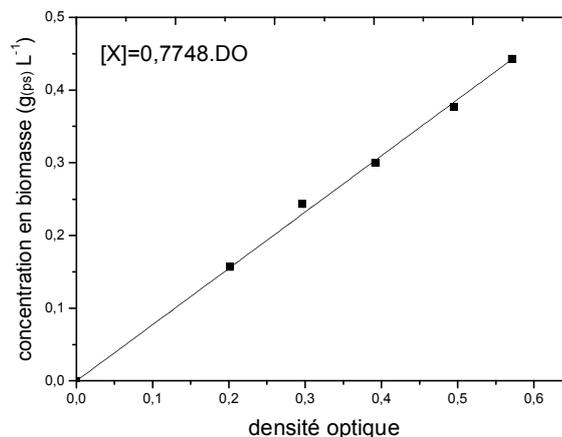


Figure 3. Courbe d'étalonnage reliant la concentration en biomasse X à la densité optique DO

II.9. Suivre la consommation des substrats

Le suivi de la consommation des substrats au cours du temps se fait par chromatographie en phase gazeuse. Cette méthode chromatographique permet de séparer des mélanges gazeux complexes suite à un équilibre s'établissant entre une phase mobile gazeuse et une phase stationnaire appropriée. Cette méthode ne s'adresse pas seulement aux molécules se trouvant naturellement à l'état de gaz, mais à tout composé susceptible d'être volatilisé par l'élévation de la température. La nécessité de maintenir les molécules à l'état gazeux implique donc que toute l'opération d'analyse chromatographique se réalise à une température compatible avec cet état sans provoquer leur destruction. Un nombre de molécules peuvent ainsi être séparées directement ou après transformation lorsqu'elles sont thermolabiles ou peu volatiles.

Un volume de 1 µl d'échantillon est manuellement introduit avec une micro-seringue SGE de 10 µl dans un chromatographe SHIMADZU de type GC-17A opérant isothermiquement à 130 °C, combiné à une colonne capillaire de type DB-5 (0,25 mm D.I × 30m) et un détecteur FID. L'azote est utilisé comme gaz vecteur avec un débit entrant de 45 ml/mn. Un split ratio de 50 étant utilisé, il s'ensuit que le débit de l'azote traversant la colonne est de 0,9 ml/mn. Les températures atteintes par le détecteur et l'injecteur sont de 200 °C et de 250 °C respectivement.

L'utilisation d'un standard externe avec une concentration de 1000 ppm du MEK permet l'étalonnage de l'appareil. Dans le cas où on utilise un mélange du MEK et d'acétone, le standard externe est préparé avec 500 ppm du MEK et 500 ppm d'acétone.

Le temps de rétention de la MEK est en moyenne de 2,3 minutes. Celui de l'acétone est de 2,1 minutes.

On effectue trois mesures du substrat pour chaque échantillon. La reproductibilité et la fiabilité des résultats sont confirmées par le calcul du coefficient de variation (écart type / moyenne) qui ne doit pas dépasser 5 %.

III.1. Introduction

Ces expériences de cinétique ont été menées comme expliqué au chapitre II. Les concentrations appliquées ont été choisies de façon à être suffisamment élevées, mais pas trop, pour que l'oxygène ne soit pas limitant.

Dans ce chapitre, pour chaque influence, nous essayerons de modéliser l'évolution de la concentration en biomasse et en substrat au cours du temps. A partir de ces modèles et par traitement des données expérimentales, nous déterminons les paramètres cinétiques de croissance et de dégradation. En dernier lieu, nous donnerons une valeur pour le rendement de conversion de la MEK en biomasse.

III.2. Influence de la concentration initiale en substrat S_0

III.2.1. Introduction :

Dans la présente étude, la cinétique de la biodégradation de la MEK est étudiée pour différentes concentrations initiales (tableau 7). Les résultats obtenus de la concentration de biomasse et les concentrations résiduelles du MEK sont employés pour obtenir la cinétique de biodégradation.

Dans cette partie, une modélisation de l'évolution de la concentration en biomasse et en substrat au cours du temps est réalisée. A partir de ces modèles, on déterminera les paramètres cinétiques de croissance et de dégradation.

Tableau 7. Les concentrations du MEK pour chaque expérience

Réacteurs batch	A	B	C	D	E
Concentration initiale en MEK (mMol L ⁻¹)	20	10	5	2,5	1,25
Concentration initiale du MEK (mg L ⁻¹)	1440	720	360	180	90

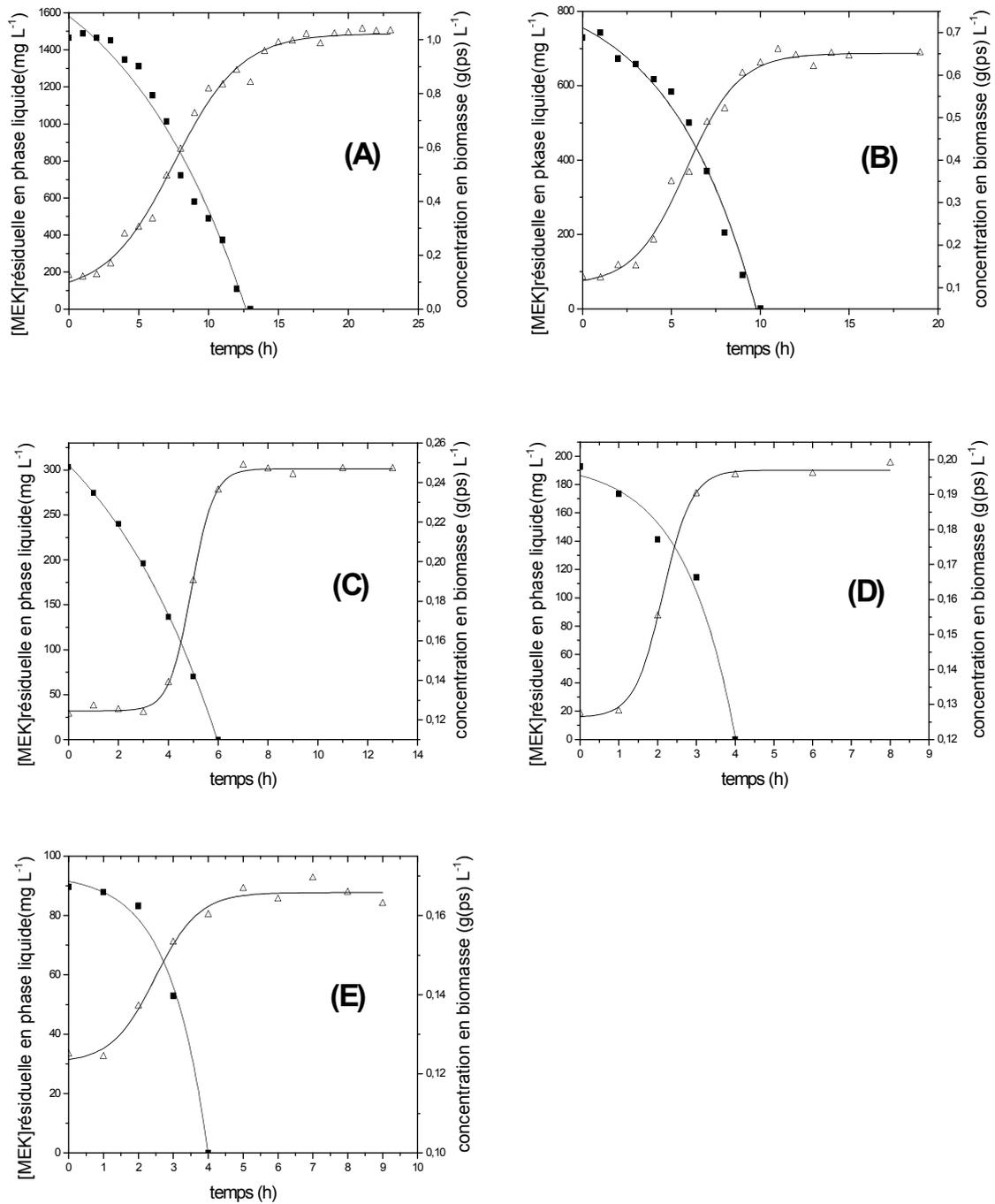


Figure 4. Cinétiques de croissance et de dégradation de la MEK par le consortium bactérien. Evolution de la concentration en biomasse (Δ) et en MEK (\blacksquare) en fonction du temps pour les batch contenant 20 mMol L⁻¹ (A), 10 mMol L⁻¹ (B), 5 mMol L⁻¹ (C), 2,5 mMol L⁻¹ (D), 1,25 mMol L⁻¹ (E) du MEK au départ. Les lignes sont des courbes théoriques calculées à l'aide des modèles en utilisant le meilleur ajustement paramétrique, tandis que les points sont les mesures expérimentales.

III.2.2. Modélisation

III.2.2.1. Modélisation de la croissance

Les résultats des batch sont présentés sous forme graphique à la figure 4. Nous remarquons que l'allure des différentes courbes relatives à l'évolution de la concentration en biomasse est de type sigmoïde. Afin d'essayer de modéliser la croissance, nous pouvons tenter d'appliquer le modèle de Boltzmann dont l'équation générale est reprise ci-dessous.

$$X = \frac{p_1 - p_2}{1 + e^{\frac{t-p_3}{p_4}}} + p_2 \quad (\text{Equation. 5})$$

X = concentration en biomasse au temps t [g_{ps} L⁻¹]

t = temps [h]

p₁, p₂, p₃, p₄ = paramètres

Les paramètres de cette équation sont ajustés par rapport aux mesures expérimentales par une méthode itérative. Les séries de paramètres obtenus pour chaque batch sont reprises au tableau 8.

Une signification est donnée à chacun de ces paramètres :

- p₁ est égale à la concentration initiale en biomasse [g_{ps} L⁻¹].
- p₂ est égale à la concentration finale en biomasse [g_{ps} L⁻¹].
- p₃ centre de sigmoïde [h].
- p₄ constante de temps.

Tableau 8. Valeurs des paramètres de l'équation sigmoïde de croissance obtenues par ajustement paramétrique de celle-ci sur la courbe expérimentale de croissance du consortium.

Réacteurs batch	A	B	C	D	E
Concentration initiale en MEK (mMol L ⁻¹)	20	10	5	2,5	1,25
P₁	0,124	0,126	0,125	0,123	0,122
P₂	0,792	0,44	0,247	0,196	0,160
P₃	7,522	5,841	4,126	3,663	2,966
P₄	2,390	1,471	0,667	1,764	0,817
R²	0,992	0,990	0,994	0,987	0,990

D'après le tracé des courbes théoriques obtenues par l'ajustement paramétrique du modèle (Equation 5) sur les données expérimentales, nous remarquons que celui met en évidence l'allure sigmoïdale de la croissance.

III.2.2.2. Modélisation de la consommation du MEK

L'évolution de la concentration en MEK est de type logarithmique. Nous pouvons donc essayer d'utiliser un modèle de consommation de substrat de type logarithmique.

$$S = p_1 + p_2(1 - e^{p_3 t}) \quad (\text{Equation 6})$$

S = concentration en MEK résiduelle en phase liquide au temps t [ppm (w/v)]

t = temps [h]

p₁, p₂, p₃ = paramètres

A partir du modèle décrit ci-dessus, nous pouvons donc donner une signification à chacun de ces paramètres :

- p₁ est égale à la concentration initiale de substrat en phase liquide [ppm (w/v)]
- P₂ est égale à la quantité de substrat nécessaire à la création de la quantité de biomasse initiale [ppm (w/v)]
- p₃ donne le taux spécifique maximum de croissance [h⁻¹]

Tableau 9. Valeurs des paramètres de l'équation logarithmique de dégradation obtenues par ajustement paramétrique de celle-ci sur la courbe expérimentale de dégradation de la MEK par le consortium.

Réacteurs batch	A	B	C	D	E
Concentration initiale en MEK (mMol L ⁻¹)	20	10	5	2,5	1,25
P₁	1582,251	1015,951	305,338	190,685	91,597
P₂	536,112	165,017	153,181	111,846	8,595
P₃	0,108	0,201	0,184	0,164	0,489
R²	0,975	0,981	0,999	0,992	0,952

Au vu des valeurs des paramètres obtenues après ajustement du modèle logarithmique sur les mesures expérimentales (Tableau 9), nous remarquons que p_1 correspond à la concentration initiale en MEK, et que p_3 a les mêmes unités que le taux spécifique de croissance et que ce dernier paramètre est plus ou moins constant pour les concentrations étudiées.

Par contre, le paramètre p_2 n'est pas constant, ce qui signifie que la quantité du MEK nécessaire à la création de la quantité de biomasse initiale varie et par conséquent, que cette dernière n'est pas la même pour les différents batch. Or ceux-ci ont été inoculés avec la même quantité de biomasse. La consommation du MEK n'est donc pas exactement décrite par le modèle proposé ci-dessus. Néanmoins, il définit correctement l'allure logarithmique de la consommation car les courbes théoriques passent au plus près de tous les points expérimentaux.

III.2.3. La concentration initiale en substrat (S_0) en fonction du temps nécessaire pour la dégradation total du MEK

Selon les figures 5 et 6, le temps mis par les micro-organismes pour dégrader la MEK dépend de la concentration initiale. Si la concentration initiale du MEK est augmentée de 1,25 à 20 mMol L⁻¹, le temps de dégradation de la MEK augmente de 5 à 14 heures. La concentration en MEK diminue avec le temps ce qui montre que la MEK consommée par les microorganismes est utilisée comme source de carbone (Deviny et al., 1999).

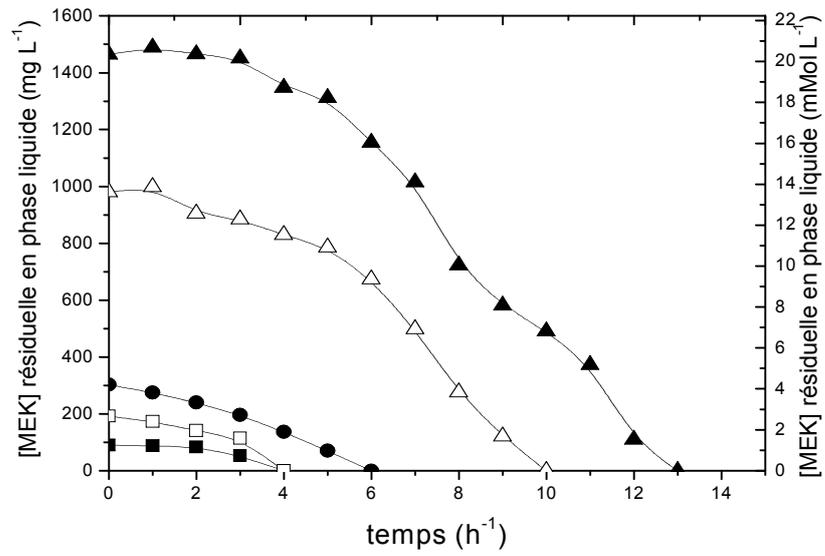


Figure 5. Evolution de la concentration en MEK résiduelle en fonction du temps pour les batch contenant 1,25 mMol L⁻¹ (■), 2,5 mMol L⁻¹ (□), 5 mMol L⁻¹ (●), 10 mMol L⁻¹ (Δ), 20 mMol L⁻¹ (▲) au départ.

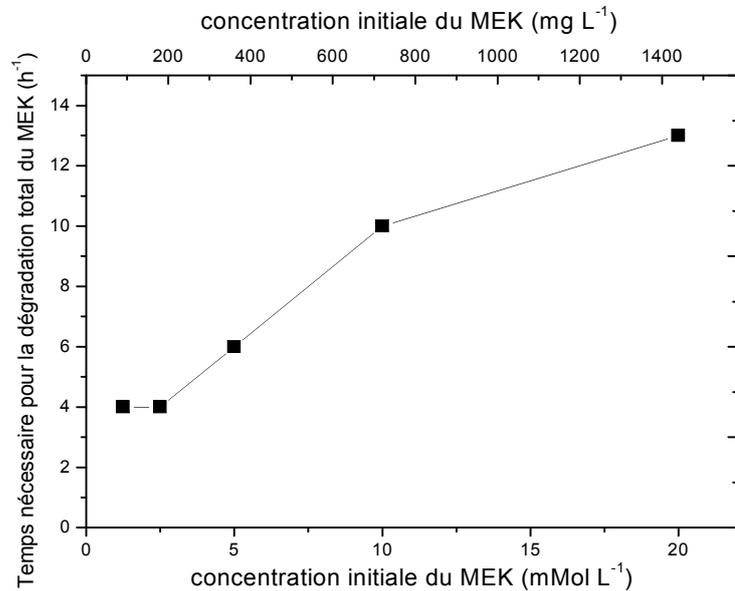


Figure 6. Evolution de la concentration initiale en MEK en fonction du temps nécessaire pour la dégradation totale du substrat.

III.2.4. Le taux spécifique de croissance

Le coefficient de proportionnalité, noté μ et appelé taux spécifique de croissance, est une fonction des conditions du milieu. Il existe de nombreux modèles pour calculer ce taux de croissance dont la plupart est basée sur le modèle de Monod (1942) qui relie μ à la concentration des molécules limitantes (substrats, inhibiteurs).

Le taux spécifique de croissance est défini selon Monod, pour une souche pure, par :

$$\mu = \left(\frac{dx}{dt} \right) \times \left(\frac{1}{x} \right) \quad (\text{Equation 7})$$

Où μ = taux spécifique de croissance [h^{-1}]

X = concentration en biomasse [$\text{g}_{(\text{ps})}/\text{l}$]

t = temps [h]

Dans le cadre du présent travail, il faut prendre garde quant à la valeur et à la signification données à μ . Il caractérise, non pas une souche pure, mais un consortium composé de plusieurs types de bactéries ayant chacune un taux spécifique de croissance déterminé.

Ce taux désigne un nombre de générations par unité de temps caractéristique d'une cellule représentative du consortium, et dans un état physiologique et structural représentatif de l'ensemble des différentes bactéries du consortium.

Pour une souche bactérienne pure, tant qu'il n'y a pas de limitation de la croissance (par le substrat, par exemple), le taux spécifique de croissance est maximal et constant durant toute la phase exponentielle.

Dans ces conditions, la croissance est décrite par :

$$X = X_0 e^{(\mu_{\text{max}} \times t)} \quad (\text{Equation 8})$$

Où X = concentration en biomasse à l'instant t [$\text{g}_{(\text{ps})}/\text{l}$]

X_0 = concentration en biomasse initiale [$\text{g}_{(\text{ps})}/\text{l}$]

μ_{max} = taux spécifique de croissance maximum [h^{-1}]

t = temps [h]

Des lors, le taux spécifique de croissance se détermine en portant le logarithme népérien de la concentration en biomasse mesurée expérimentalement en fonction du temps. Le taux est donné par la pente de la partie linéaire de la courbe ainsi obtenue.

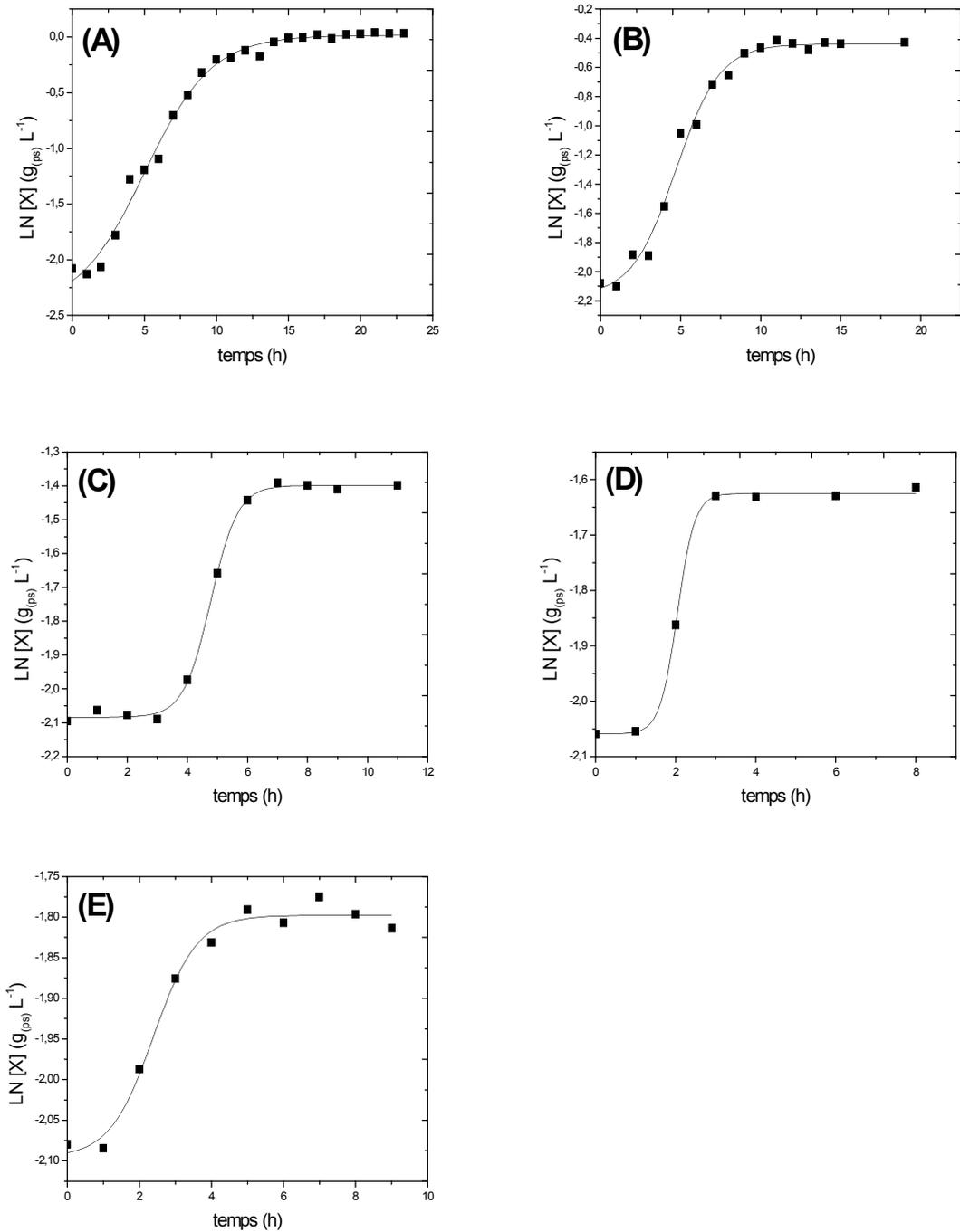


Figure 7. Evolution du logarithme népérien de la concentration en biomasse en fonction du temps pour les batch contenant 20 mMol L^{-1} (A). 10 mMol L^{-1} (B). 5 mMol L^{-1} (C). 2,5 mMol L^{-1} (D). 1,25 mMol L^{-1} (E) du MEK au départ. Les points représentent les valeurs du logarithme déterminées à partir des mesures expérimentales. Les lignes sont des courbes théoriques calculées à l'aide du modèle de Boltzmann.

Nous pouvons aussi estimer μ à chaque temps expérimental, à partir des mesures expérimentales non lissées, par la formule suivante :

$$\mu_n = \left(\frac{1}{X_n} \right) \frac{(X_{n+4} - X_n)}{(t_{n+4} - t_n)} \quad \text{(Equation 9)}$$

Où

n = numéros d'ordre de la mesure de la concentration en biomasse.

μ_n = taux spécifique de croissance au temps t_n [h⁻¹]

X_n = concentration en biomasse au temps t_n [g_(ps)/l]

X_{n+4} = concentration en biomasse au temps t_{n+4} [g_(ps)/l]

t_n = temps lors de la n^{ième} mesure de la concentration en biomasse [h]

t_{n+4} = temps lors de la n^{ième+4} mesure de la concentration en biomasse [h]

Les résultats pour les différents batch sont repris à la figure 8 ci-après.

Ces graphiques montrent que l'évolution du μ est bien progressive au cours de la croissance. Ceci confirme ce qui a été mis en évidence précédemment par les graphiques obtenus par la méthode logarithmique de linéarisation (Figure. 4).

Donc, pour décrire la croissance en fonction du temps, il faut un modèle qui tienne compte de cette évolution particulière de μ au cours de la croissance. Le modèle qui a été proposé est de type sigmoïde (Equation 5).

Nous pouvons vérifier la validité de ce modèle pour chaque batch en calculant μ en chaque temps de la courbe théorique (modèle sigmoïde) de croissance (Figure 9) ci-après.

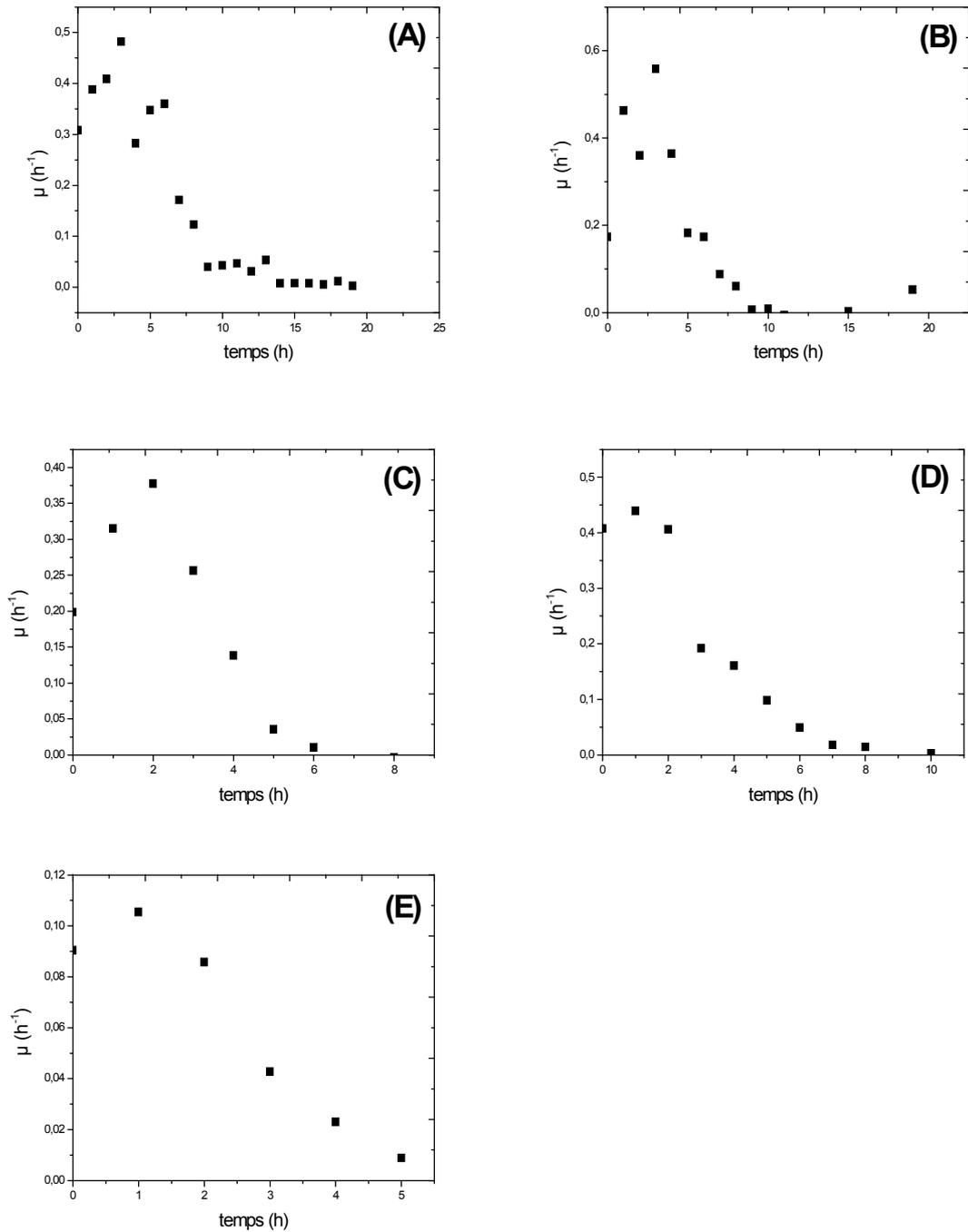


Figure 8. Évolution du taux spécifique de croissance (μ) du consortium en fonction du temps pour les batch contenant 20 mMol L^{-1} (A). 10 mMol L^{-1} (B). 5 mMol L^{-1} (C). 2,5 mMol L^{-1} (D). 1,25 mMol L^{-1} (E) en MEK au départ. μ est calculé par la formule $\mu_n = (1/x_n) \cdot (x_{n+4} - x_n) / (t_{n+4} - t_n)$ où n est le numéro d'ordre de la mesure de la concentration en biomasse. x et t sont les données expérimentales.

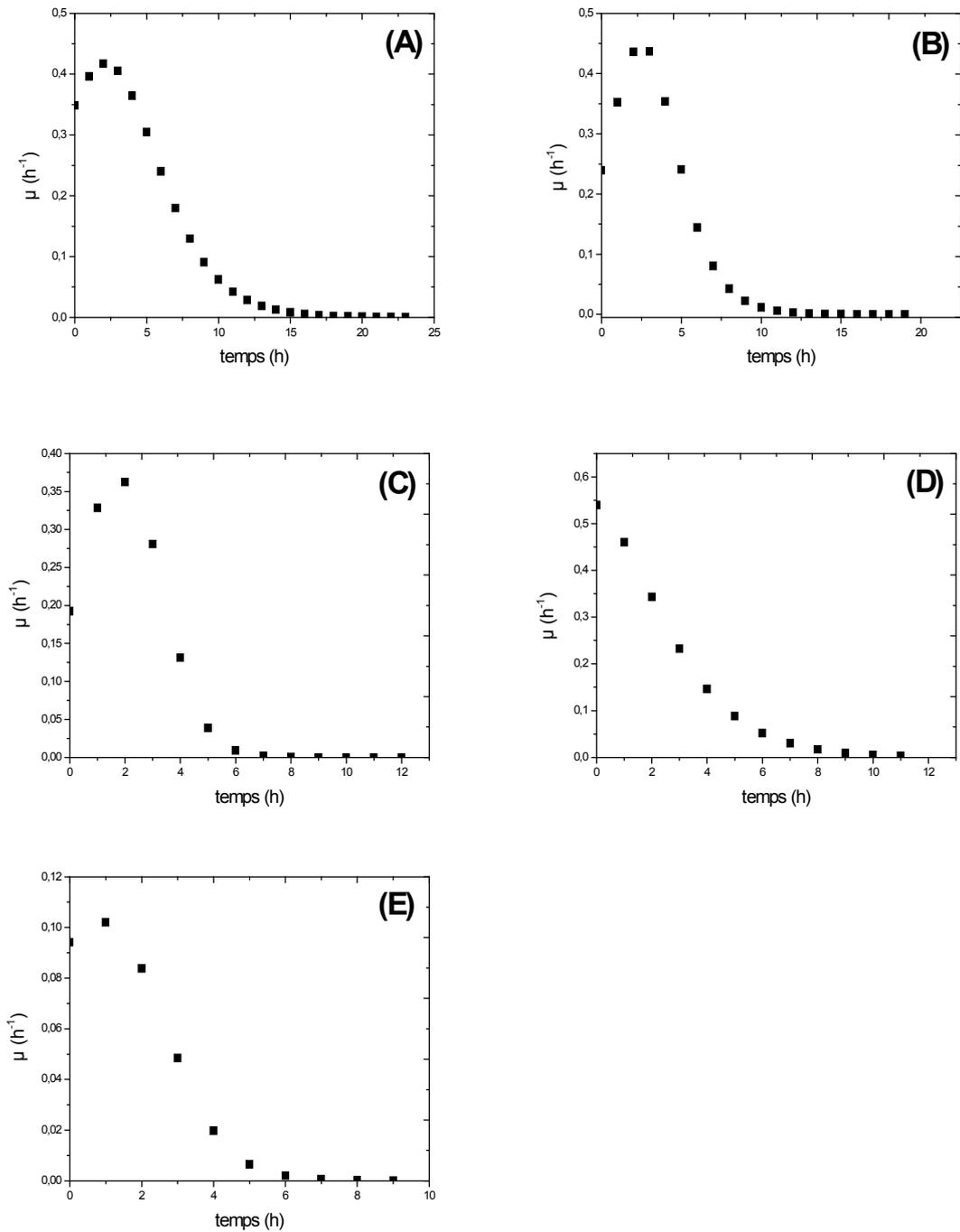


Figure 9. Évolution du taux spécifique de croissance (μ) du consortium en fonction du temps pour les batch contenant 20 mMol (A). 10 mMol (B). 5 mMol (C). 2,5 mMol (D). 1,25 mMol (E) en MEK au départ. μ est calculé par la formule $\mu_n = (1/x_n) \cdot (x_{n+4} - x_n) / (t_{n+4} - t_n)$ où x est la concentration en biomasse définie par la courbe théorique de croissance (modèle sigmoïde).

Les différents profils de μ en fonction du temps obtenus à partir des courbes théoriques de croissance (Figure 9) présentent le même profil gaussien que ceux qui sont obtenus directement à partir des données expérimentales (Figure 8). Donc l'emploi de ce modèle pour décrire la croissance est correct, même si la courbe théorique ne passe pas au plus près de tous les points expérimentaux (Figure 4).

Les taux spécifiques de croissance maximum des cinq batch, calculés par les trois méthodes décrites ci-dessus, ainsi que le temps auquel ils sont atteints, sont rassemblés dans le tableau suivant.

Tableau 10. Valeurs des taux spécifiques de croissance maximum pour le consortium, déterminées par trois méthodes différentes

A partir des mesures expérimentales non lissées (Figure 8)					
Réacteurs batch	A	B	C	D	E
Concentration initiale du MEK (mMol L ⁻¹)	20	10	5	2,5	1,25
μ_{\max} (h ⁻¹)	0,482	0,558	0,377	0,439	0,105
Temps (h)	3	3	2	1	1
A partir des courbes théoriques de croissance (Figure 9)					
Réacteurs batch	A	B	C	D	E
Concentration initiale du MEK (mMol L ⁻¹)	20	10	5	2,5	1,25
μ_{\max} (h ⁻¹)	0,417	0,436	0,362	0,540	0,102
Temps (h)	2	3	2	0	1
A partir de partie linéaire de la phase exponentielle (Figure 7)					
Réacteurs batch	A	B	C	D	E
Concentration initiale en MEK (mMol L ⁻¹)	20	10	5	2,5	1,25
P₁	-2,444	-2,071	-2,079	-2,096	-2,104
P₂	-0,233	-0,821	-1,398	-1,630	-1,833
P₃	5,029	4,701	4,773	1,979	2,808
P₄	2,086	0,992	0,459	0,372	0,533
μ_{\max} (h ⁻¹) = (P ₂ -P ₁)/4P ₄	0,265	0,315	0,371	0,313	0,127

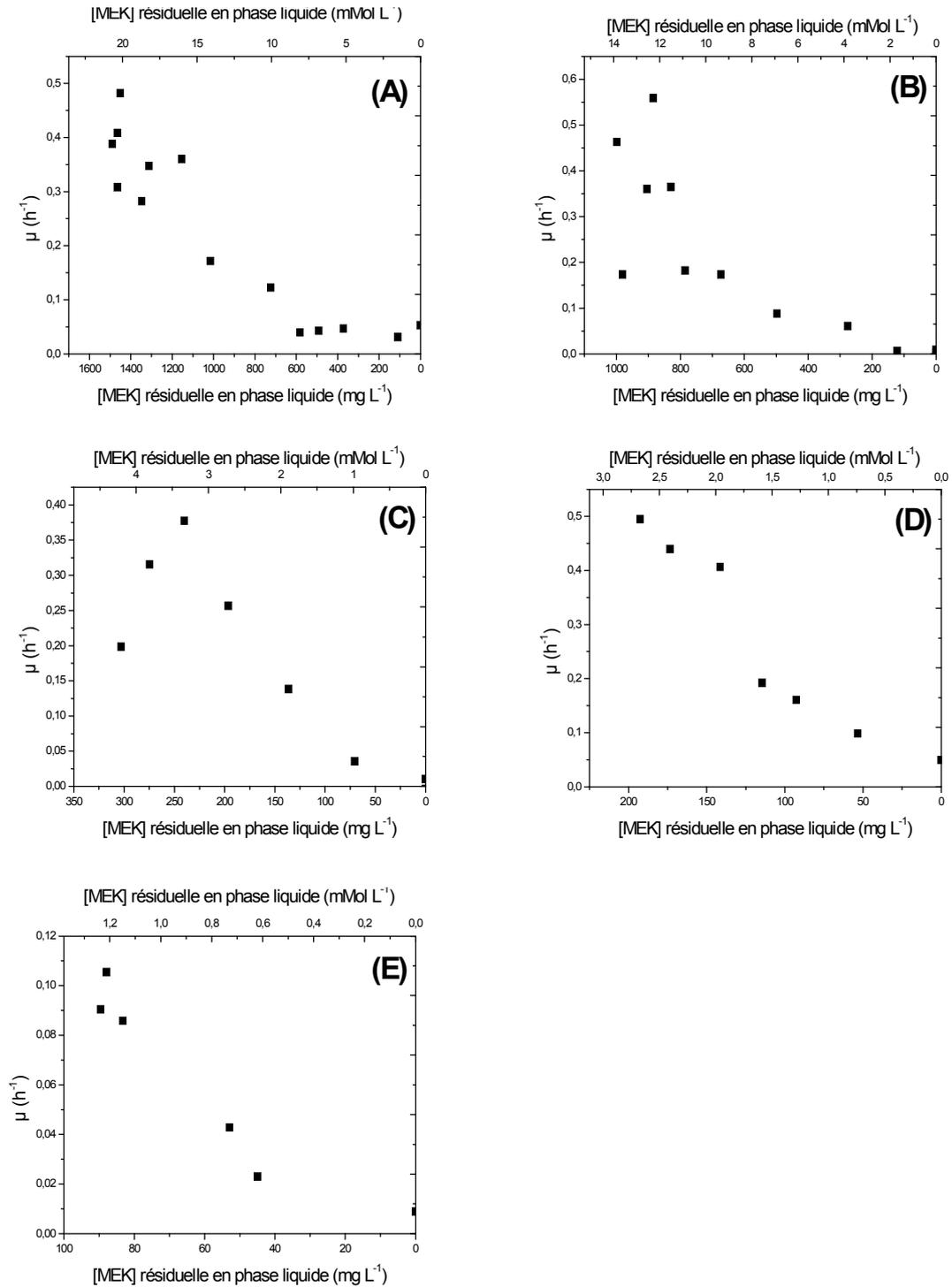


Figure 10. Evolution du taux spécifique de croissance en fonction de la concentration en MEK résiduelle en phase liquide pour les batch contenant 20 mMol L⁻¹ (A), 10 mMol L⁻¹ (B), 5 mMol L⁻¹ (C), 2,5 mMol L⁻¹ (D), 1,25 mMol L⁻¹ (E) en MEK au départ. μ est calculé par la formule $\mu_n = (1/X_n)(X_{n+4} - X_n)/(t_{n+4} - t_n)$. X et t sont les données expérimentales.

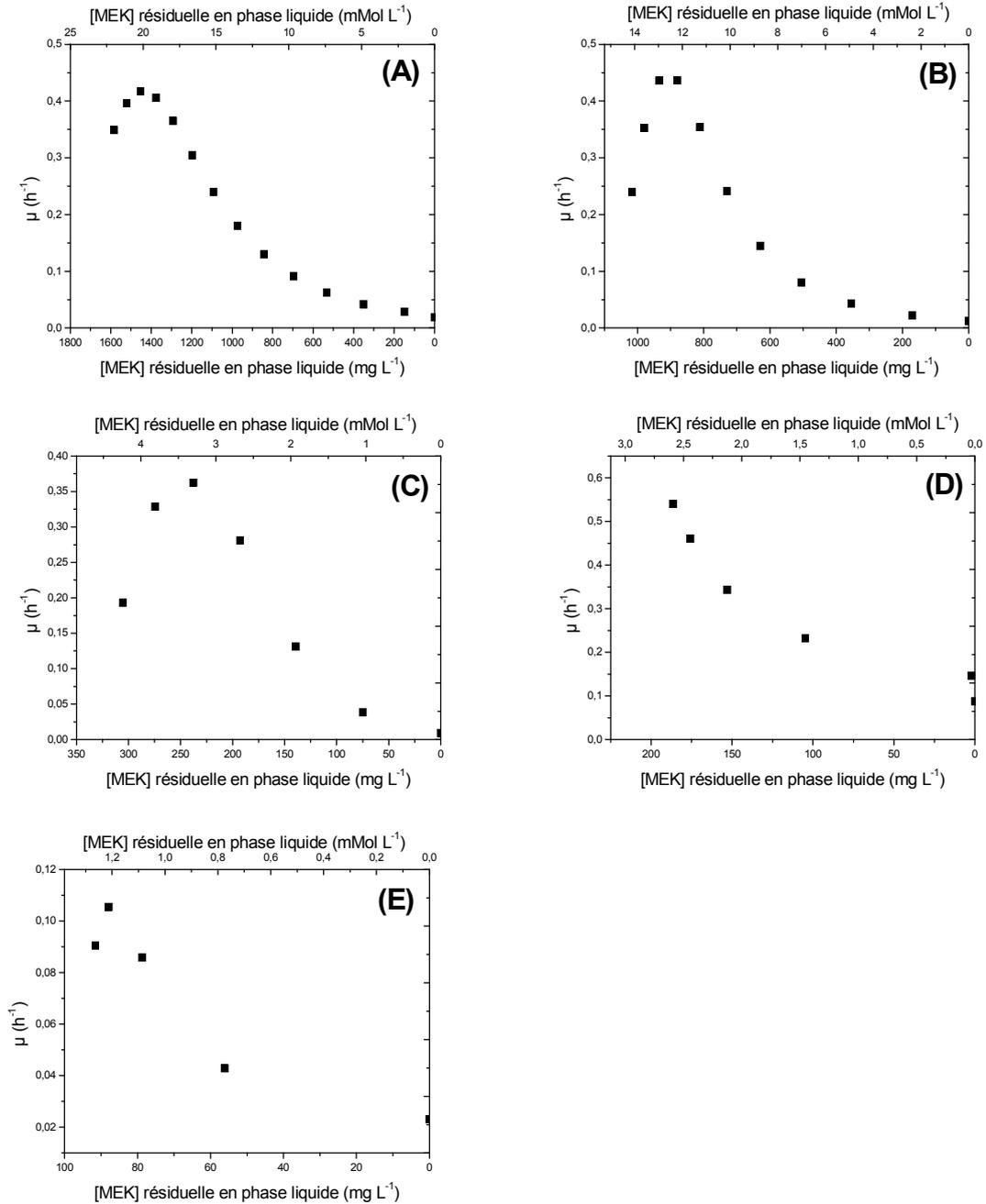


Figure 11. Evolution du taux spécifique de croissance en fonction de la concentration en MEK résiduelle en phase liquide pour les batch contenant 20 mMol L⁻¹(A). 10 mMol L⁻¹ (B). 5 mMol L⁻¹ (C). 2,5mMol L⁻¹ (D). 1,25 mMol L⁻¹ (E) en MEK au départ. μ est calculé par $(1/X)(dX/dt)$ où X est la concentration en biomasse définie par la courbe théorique de croissance.

Le profil d'évolution des taux spécifiques de croissance en fonction de la concentration en MEK résiduelle en phase liquide est présenté aux figures 10 et 11.

En comparant les graphiques de ces deux figures, nous remarquons que les profils de μ obtenu à partir du modèle sigmoïde de croissance et à partir des mesures expérimentales indique que le consortium continue à croître lorsqu'il ne reste plus du MEK en phase liquide.

Cette remarque est confirmée par les courbes de croissance qui n'ont pas encore atteint leurs plateaux au moment où la concentration en MEK résiduelle est nulle (Figure 4).

III.2.5. Le taux spécifique de croissance et la concentration initiale du substrat

III.2.5.1 Modélisation

Les concentrations de biomasse obtenues à différentes concentrations initiales en MEK sont utilisées pour calculer les taux spécifiques de croissance qui sont donnés par l'équation 7.

Les valeurs des taux spécifiques de croissance sont calculées à partir de l'équation 8 (Figure 7).

III.2.5.1.1. Le Modèle de Monod

Comme illustré dans la figure 9, le taux spécifique de croissance varie avec la concentration initiale de substrat. Le rapport entre le taux spécifique de croissance et la concentration de substrat a été proposé par une équation empirique proposée par Monod en 1942.

$$\mu = \mu_m \frac{S}{K_s + S} \quad (\text{Equation 10})$$

μ = taux spécifique

μ_m = taux spécifique maximum

K_s = constant de demis saturation

S = concentration en substrat

Le modèle de Monod décrit seulement la dépendance du taux de croissance sur la concentration en substrat (Okpokwasili et Nweke, 2005)

Quand une biodégradation de substrat montre une inhibition, le modèle de Monod échoue. Parmi les divers modèles d'inhibition de substrat, le modèle de Haldane est couramment employé (Sokol, 1986 ; Tang et Fan, 1987)

III.2.5.1.2. Le Modèle d'Haldane

Le modèle d'Haldane a été initialement proposé en 1968 pour l'inhibition de substrat. Selon ce modèle, le taux de croissance spécifique peut être représenté par

$$\mu = \frac{\mu_m S}{k_s + s + \left(\frac{s^2}{k_i} \right)} \quad (\text{Equation 11})$$

μ = taux spécifique

μ_m = taux spécifique maximum

S = concentration en substrat

K_S = constant de demis saturation

K_i = constant d'inhibition

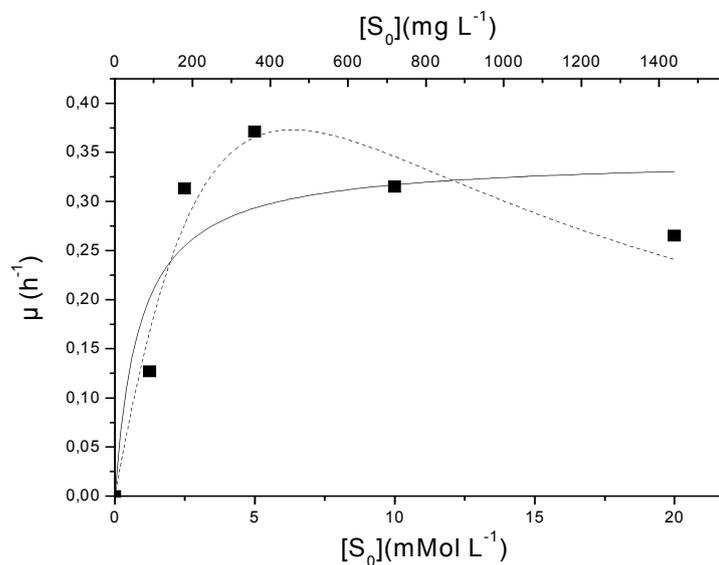


Figure 12. Taux spécifique de croissance par rapport à la concentration initiale en MEK : valeurs expérimentales (■), relation de Monod (la ligne continue) et la relation d'Haldane (la ligne discontinue). La cinétique simple de Monod n'a pas montré un bon ajustement pour les données expérimentales. Les valeurs des taux spécifiques de croissance ont été obtenues à partir de la figure 7. Le modèle de l'équation est non linéaire ; il est résolu en utilisant la méthode de régression non linéaire du logiciel Origin-8.

Les paramètres optimisés pour la cinétique de Monod et Haldane sont indiqués dans le tableau suivant.

Tableau 11. Les paramètres optimisés pour les modèles de Monod et Haldane.

	Modèle de Monod	Modèle d'Haldane
μ_m	0,345 h ⁻¹	1,454 h ⁻¹
K_s	0,882 mMol L ⁻¹	9,176 mMol L ⁻¹
	63,536 mg L ⁻¹	658,263 mg L ⁻¹
K_i		4,373 mMol ² L ⁻²
		316,099 mg ² L ⁻²
R^2	0,755	0,923

III.2.6. La vitesse spécifique de consommation du MEK

La vitesse spécifique de croissance représente la vitesse de consommation de substrat ramenée à 1 g de biomasse (dS/dt) (1/X).

Cette vitesse peut être calculée directement à partir des données expérimentales non lissées par la formule :

$$(r_{x,MEK})_n = -\left(\frac{1}{X_n}\right)\left(\frac{ds}{dt}\right) = -\left(\frac{1}{X_n}\right)\left[\frac{(S_{n+4} - S_n)}{(t_{n+4} - t_n)}\right] \quad \text{(Equation 12)}$$

Où

n = numéros d'ordre de la mesure de la concentration en MEK

$(r_{x,MEK})_n$ = vitesse spécifique de consommation de la MEK au temps t_n [g_{MEK}/g_(ps)]

X_n = concentration en biomasse au temps t_n [g_(ps) L⁻¹]

S_n = concentration en MEK résiduelle en phase liquide au temps t_n [ppm (w/v)]

S_{n+4} = concentration en MEK résiduelle en phase liquide au temps t_{n+4} [ppm (w/v)]

t_n = temps lors de la n^{ième} mesure de la concentration en MEK résiduelle [h]

t_{n+4} = temps lors de la n^{ième+4} mesure de la concentration en MEK résiduelle [h]

Les profils de vitesse spécifique en fonction du temps et de la concentration en MEK résiduelle obtenus par cette méthode sont représentés aux figures 13 et 14 ci après.

Comme il a été expliqué au point III.2.2.2, nous avons essayé d'appliquer un modèle logarithmique (Equation 6) pour décrire la consommation de la MEK.

Nous avons fait remarquer à ce moment qu'à cause de la signification et de la valeur d'un des ces paramètres (p_2), le modèle ne correspondait pas exactement à celui dérivé de l'équation de Monod. Cependant, il passe au plus près de tous les points expérimentaux (Figure. 4). Nous avons donc appliqué ce modèle pour obtenir $r_{x,MEK}$. En dérivant la courbe théorique obtenue par l'ajustement paramétrique du modèle de consommation de la MEK aux mesures expérimentales, nous obtenons la vitesse de consommation volumique :

$$r_{MEK} = \frac{dS}{dt} = p_3(p_1 + p_2 - S) \quad (\text{Equation 13})$$

Où

r_{MEK} = vitesse volumique de consommation de la MEK au temps t [$mg_{MEK}/(l.h)$]

S = concentration en MEK résiduelle en phase liquide au temps t [ppm (w/v)]

P_1, p_2, p_3 = paramètres déterminés par l'ajustement du modèle aux données expérimentales.

Ensuite, lorsque nous divisons r_{MEK} par la concentration en biomasse au temps correspondant, nous obtenons la vitesse spécifique de consommation de la MEK ($r_{x,MEK}$).

Les profils de $r_{x,MEK}$ en fonction du temps et de la concentration en MEK résiduelle en phase liquide, sont présentés aux figures 13 et 14 ci-après.

Si nous comparons les profils de $r_{x,MEK}$ en fonction du temps et de la concentration en MEK, obtenus pour chaque batch avec lissage, nous remarquons que nous n'avons pas les mêmes profils de vitesse en fin d'expérience.

Le modèle choisi pour décrire l'évolution de consommation en MEK est correct pour définir l'allure logarithmique de la consommation en fonction du temps. Cependant le modèle ne convient pas pour une analyse plus fine des résultats expérimentaux. A défaut de posséder un autre modèle, nous utiliserons pour notre discussion sur le paramètre cinétique $r_{x,MEK}$ les graphiques obtenus sans lissage des données expérimentales.

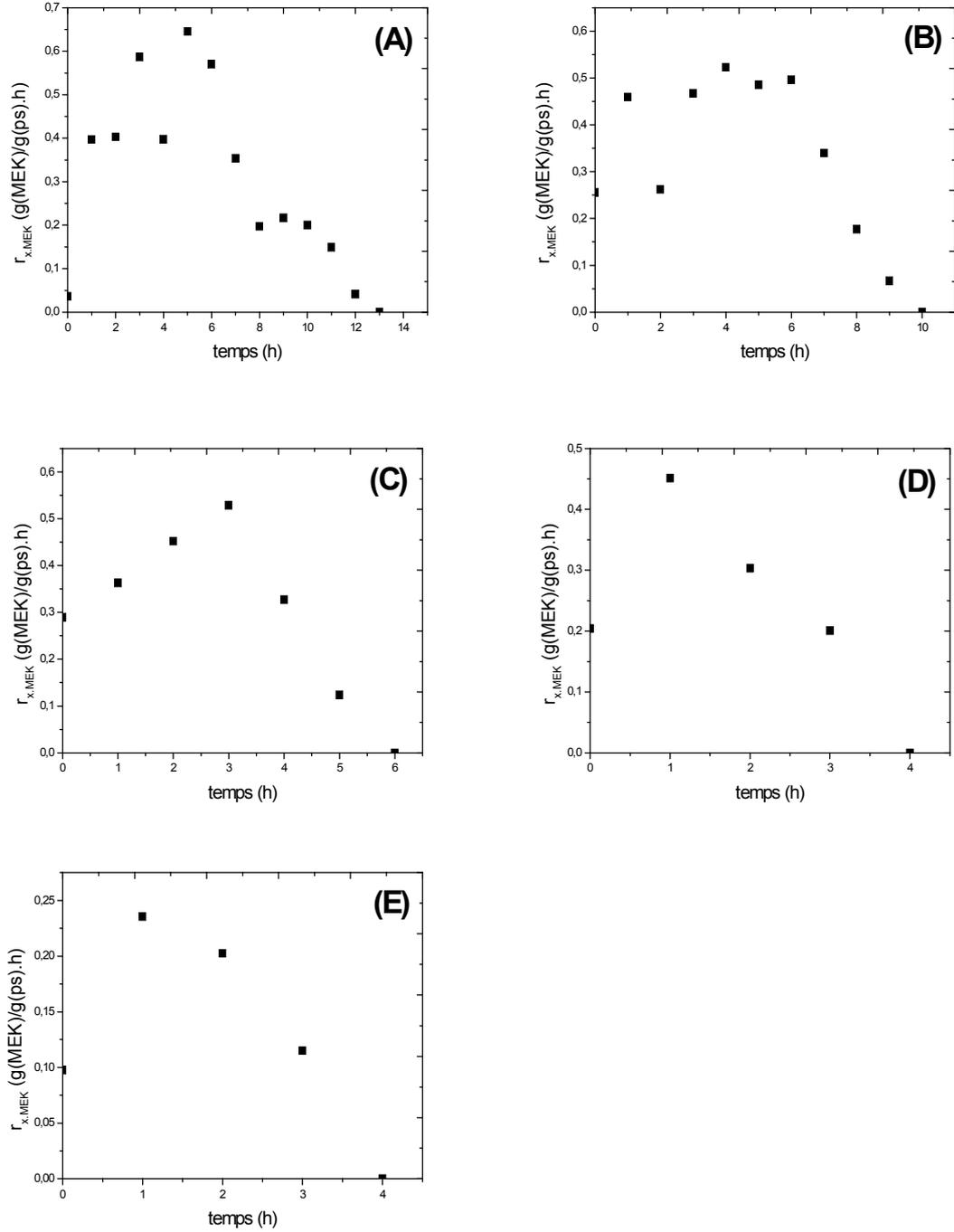


Figure 13. Evolution de la vitesse spécifique de consommation de la MEK par le consortium $r_{x,MEK}$ en fonction du temps pour les batch contenant 20 mMol L⁻¹ (A). 10mMol L⁻¹ (B). 5mMol L⁻¹ (C). 2,5mMol L⁻¹ (D). 1,25mMol L⁻¹ (E) en MEK au départ. $r_{x,MEK}$ est calculé par la formule $r_{x,MEK} = (1/X_n) \cdot (S_{n+4} - S_n) / (t_{n+4} - t_n)$ où n est le numéro d'ordre de la mesure de la concentration en biomasse. X, S et t sont les données expérimentales.

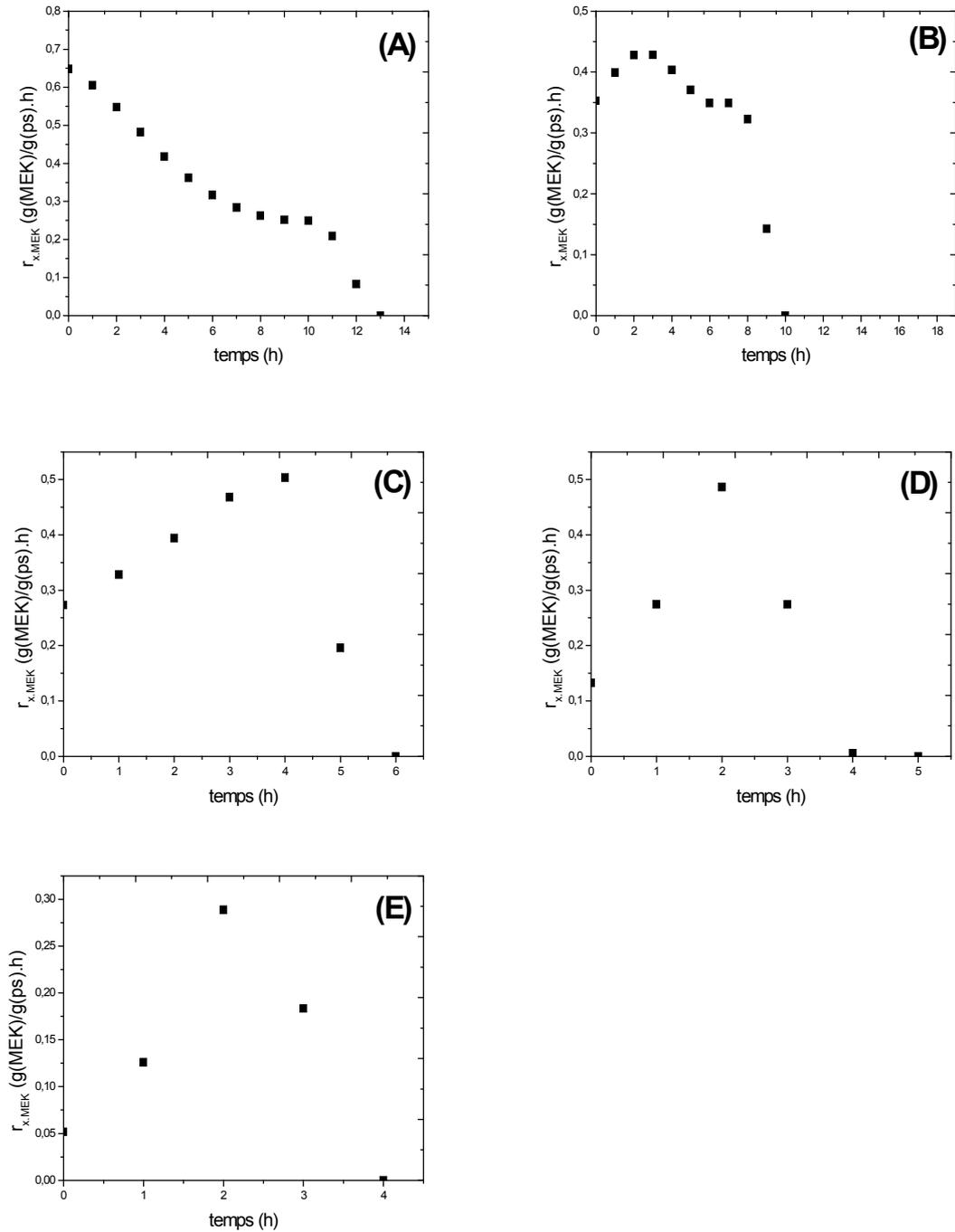


Figure 14. Evolution de la vitesse spécifique de consommation de la MEK par le consortium $r_{x,MEK}$ en fonction du temps pour les batch contenant 20mol L⁻¹ (A). 10mol L⁻¹ (B). 5mol L⁻¹ (C). 2,5mol L⁻¹ (D). 1,25mol L⁻¹ (E) en MEK au départ. $r_{x,MEK}$ est calculé par la formule $(1/X)(ds/dt)$. X est la concentration en biomasse donnée par la courbe théorique de croissance et ds/dt est la dérivée de la courbe théorique décrivant la consommation de la MEK au cours du temps.

III.2.7. Rendement de conversion du MEK en biomasse

La MEK pourrait être transformée intégralement en biomasse et en CO₂ par les voies métaboliques suivant les deux équations mentionnées auparavant (Equations 1 et 2). Ces deux équations sont reliées par le rendement de conversion de la MEK en biomasse. On peut calculer ce rendement à partir des graphiques de la figure 4 reprenant l'évolution de la concentration en biomasse au cours du temps.

$$Y_{X/S} = \frac{\Delta X}{\Delta S} \quad [g_{(ps)}/g_{MEK}] \quad \text{(Equation 14)}$$

ΔX = variation de la concentration en biomasse entre le début et la fin de la croissance
[g_(ps)/l]

ΔS = charge du MEK appliquée au réacteur et rapportée au volume de phase liquide initiale [g_{MEK}/l]

Les résultats pour les différents batch sont repris au tableau 12 Ci-après.

Tableau 12. Valeurs du rendement de conversion de la MEK en biomasse par le consortium dans les réacteurs en batch contenant 20mMol L⁻¹ (A).10mMol L⁻¹ (B).5mMol L⁻¹ (C).2,5mMol L⁻¹ (D).1,25mMol L⁻¹ (E) en MEK au départ.

Réacteurs batch	A	B	C	D	E	unités
Concentration initiale du MEK (mMol L ⁻¹)	20	10	5	2,5	1,25	
ΔX	0,671	0,315	0,122	0,071	0,035	g _{ps} /l
ΔS	1,44	0,72	0,36	0,18	0,09	g _{MEK} /l
$Y_{X/MEK}$	0,466	0,438	0,339	0,394	0,389	g _{ps} /g _{MEK}
$Y_{X/MEK}$	0,395	0,371	0,287	0,334	0,33	Mole _X /Mole _S
$Y_{X/MEK}$ moyenne	0,405					g _{ps} /g _{MEK}
	0,343					Mole _X /Mole _S

La valeur moyenne du rendement de conversion de la MEK en biomasse est plus faible que celle attendue (0,738 g_{ps}/g_{MEK}). On suppose que la biomasse sèche contient 90% de la matière organique.

III.2.8. Discussion

III.2.8.1. Croissance et dégradation

Les graphiques de la figure 4 montrent que la croissance et la dégradation sont liées, un déphasage temporel est cependant observé entre la croissance et la dégradation en début d'expérience.

En effet, la disparition de la MEK en phase liquide débute quelques heures avant la croissance, bien qu'il y ait un manque de points expérimentaux (concentration en MEK) dans ce domaine. Ce phénomène peut s'expliquer par le fait que la technique colorimétrique du suivi de la biomasse est beaucoup moins sensible que la technique chromatographique de suivi de la concentration en MEK. Il faut donc qu'en début de croissance la biomasse se multiplie suffisamment avant de pouvoir la détecter par densité optique.

Une autre explication, plus plausible, est qu'avant que ne s'amorce la croissance, la MEK est stockée à l'intérieur des microorganismes.

Nous remarquons que la courbe de croissance n'a pas encore atteint son maximum au moment où la concentration en MEK résiduelle est nulle, ce qui signifie que la croissance continue alors qu'il n'y a plus de MEK en phase liquide et que les micro-organismes pourraient croître sur la MEK qu'ils ont stockée ou sur les produits de sa dégradation.

III.2.8.2. Taux spécifique de croissance en fonction du temps et de la concentration en MEK résiduelle

Le taux spécifique de croissance est obtenu, à tout moment de la croissance, directement à partir des mesures expérimentales de la concentration en biomasse en fonction du temps, en utilisant l'équation 9.

Les profils d'évolution de μ pour chaque batch en fonction du temps et de la concentration en MEK résiduelle en phase liquide, sont repris aux figures 8 et 10. Le taux spécifique de croissance augmente rapidement avec le temps et la consommation en MEK jusqu'à atteindre un maximum, puis diminue progressivement avec le temps.

Cette diminution en fonction du temps et de la concentration en MEK pourrait s'expliquer par une limitation d'origine exogène telle que la limitation de la croissance par la concentration en MEK. Cependant, cette limitation par le substrat est peu probable, car

si l'on compare l'évolution de μ des cinq graphiques de la figure 10, nous remarquons que la gamme de concentration durant laquelle μ diminue, augmente avec l'importance de la charge appliquée au départ dans chaque réacteur.

III.2.8.3. Taux spécifique de croissance en fonction de la concentration initiale du MEK

La figure 12 montre l'ajustement des modèles de Monod et Haldane avec les résultats expérimentaux. La valeur du coefficient de corrélation ($R^2= 0,923$) a prouvé que les données actuelles confirment bien le modèle d'Haldane par rapport au modèle de Monod ($R^2= 0,755$).

Il est clairement remarqué dans la figure 9 que le taux de croissance spécifique augmente de $0,127$ à $0,371 \text{ h}^{-1}$ quand la concentration initiale en MEK augmente de 90 à 360 mg L^{-1} . Après 360 mg L^{-1} , le taux de croissance spécifique commence à diminuer.

La diminution des taux spécifiques de croissance avec l'augmentation de la concentration en substrat est le résultat d'une inhibition qui a eu lieu en raison de l'excès de concentration de substrat (Saravanan et al., 2006; Deshusses, 1994).

Le comportement cinétique qui est obtenu expérimentalement peut être modélisé en utilisant des modèles cinétiques différents tels que Monod, Haldane, Han-Levenspiel également disponible dans la littérature (Kovar et Egli, 1998; Okpokwasili et Nweke, 2005).

III.2.8.4. Vitesse spécifique de consommation du MEK en fonction du temps

La vitesse spécifique de consommation de la MEK est obtenue à tout moment, directement à partir des mesures expérimentales non lissées de concentration en MEK en fonction du temps, en utilisant l'équation 12.

Le profil d'évolution de la vitesse spécifique de consommation de la MEK pour chaque batch, en fonction du temps est repris à la figure 13.

Par une vue d'ensemble des graphiques, nous remarquons que la vitesse spécifique de consommation de la MEK augmente progressivement au cours du temps, jusqu'à atteindre un maximum et ensuite diminue.

Le tableau 13 reprend la vitesse spécifique maximale de consommation de la MEK ainsi que le taux spécifique de croissance maximum atteints pour les différents batch. Les valeurs ont été obtenues à partir des figures 10 et 13.

Tableau 13. Valeurs des μ_{\max} et $r_{x,MEK}$ pour les batch contenant 20mMol L⁻¹ (A). 10mMol L⁻¹ (B). 5mMol L⁻¹ (C). 2,5mMol L⁻¹ (D). 1,25mMol L⁻¹ (E) en MEK au départ

Batch	μ [h ⁻¹]		$r_{x,MEK}$ [g _{MEK} /g _(ps)]	
	Maximum	Temps [h]	Maximum	Temps [h]
20 mMol L ⁻¹	0,482	3	0,64536	5
10 mMol L ⁻¹	0,558	3	0,5226	4
5 mMol L ⁻¹	0,377	2	0,36238	2
2,5 mMol L ⁻¹	0,439	1	0,45091	1
1,25 mMol L ⁻¹	0,105	1	0,23548	1

Nous remarquons que la durée de la phase de montée de $r_{x,MEK}$ et de μ sont presque les mêmes.

Nous remarquons aussi que la phase de montée de $r_{x,MEK}$ et de μ diminué avec la diminution de la concentration initiale de substrat.

III.3. Influence de la présence d'une autre source de carbone sur la dégradation du MEK

III.3.1. Introduction :

Les taux de biodégradation et les caractéristiques de croissance ont été étudiés pour un mélange de (MEK/acétone). Les concentrations liquides en fin préparées sont données dans le tableau 14.

Tableau 14. Les concentrations du mélange (MEK/acétone) pour chaque expérience

concentration total des polluants	MEK + acétone	
	MEK (mg L ⁻¹)	acétone (mg L ⁻¹)
1,25 mMol L ⁻¹	45	36,3
2,5 mMol L ⁻¹	90	72,6
5 mMol L ⁻¹	180	145,2
10 mMol L ⁻¹	360	290,4
20 mMol L ⁻¹	720	580,8

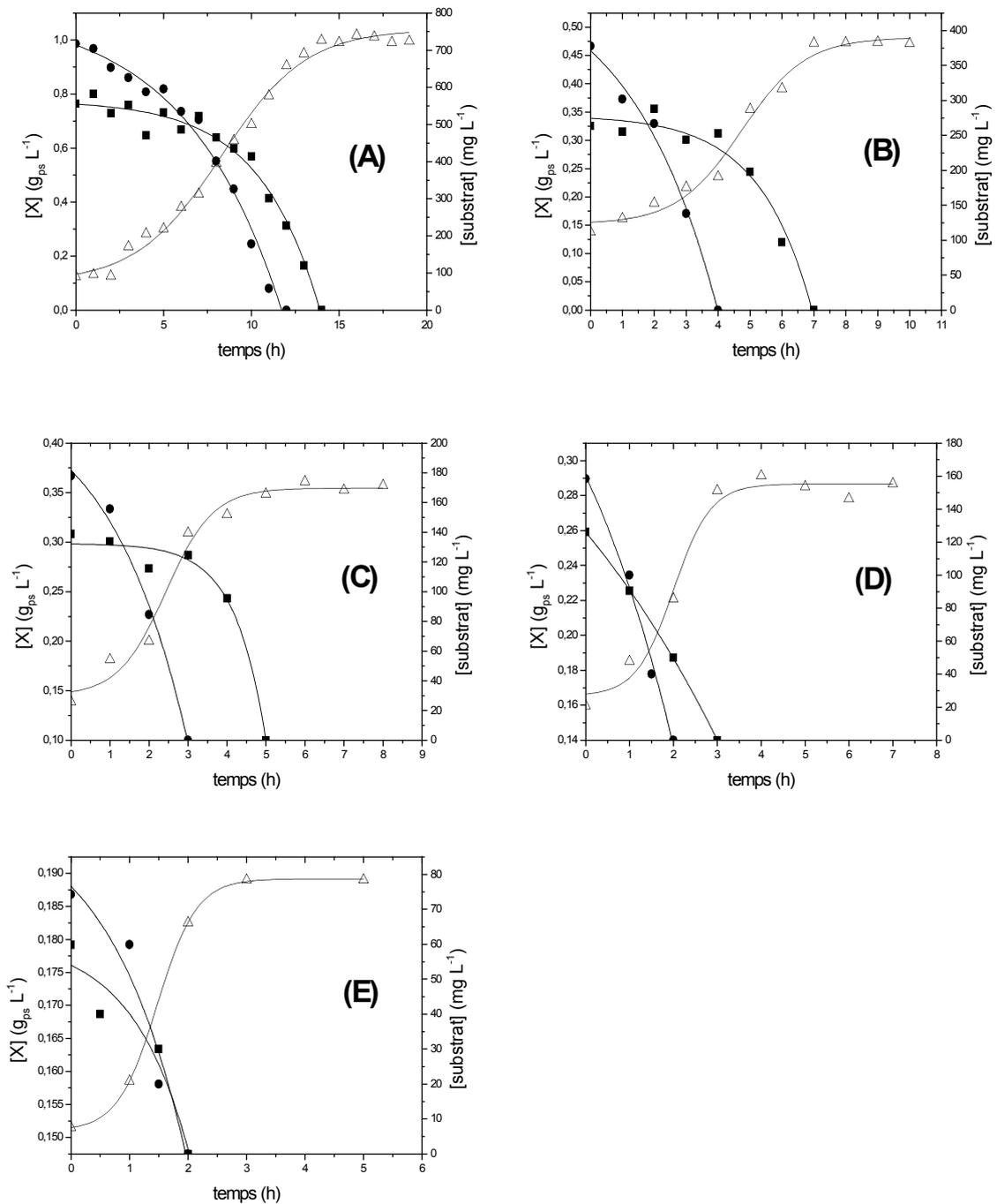


Figure 15. Cinétiques de croissance et de dégradation du mélange (MEK/acétone) par le consortium bactérien. Evolution de la concentration en biomasse (Δ) et en MEK (\bullet), acétone (\blacksquare) en fonction du temps pour les batch contenant 20 mMol L^{-1} (A), 10 mMol L^{-1} (B), 5 mMol L^{-1} (C), $2,5 \text{ mMol L}^{-1}$ (D), $1,25 \text{ mMol L}^{-1}$ (E) de mélange (acétone/MEK) au départ. Les lignes sont des courbes théoriques calculées à l'aide des modèles en utilisant le meilleur ajustement paramétrique, tandis que les points sont les mesures expérimentales.

III.3.2. Modélisation

III.3.2.1. Modélisation de la croissance

Les résultats des réacteurs batch sont présentés sous forme graphique sur la figure 15. Afin d'essayer de modéliser la croissance, nous pouvons donc appliquer un modèle dont l'équation générale est représentée par l'équation 5 reprise dans la section III.2.2.1.

Les paramètres de cette équation sont ajustés par rapport aux mesures expérimentales par une méthode itérative. Les séries de paramètres obtenues pour chaque batch sont reprises au tableau 15

Tableau 15. Valeurs des paramètres de l'équation sigmoïde de croissance obtenus par ajustement paramétrique de celle-ci sur la courbe expérimentale de croissance du consortium.

Réacteurs batch	A	B	C	D	E
Concentration initiale de mélange (mMol L ⁻¹)	20	10	5	2,5	1,25
P₁	0,104	0,152	0,145	0,165	0,151
P₂	1,039	0,482	0,355	0,287	0,189
P₃	8,291	4,730	2,430	2,002	1,473
P₄	2,419	1,008	0,606	0,424	0,337
R²	0,993	0,981	0,973	0,972	0,998

III.3.2.2. Modélisation de la consommation de mélange (MEK /acétone)

Les résultats des réacteurs batch sont présentés sous forme graphique à figure 15 L'évolution de la concentration des substrats est de type logarithmique. Nous pouvons donc essayer d'utiliser un modèle de consommation des substrats de type logarithmique. Un tel modèle est décrit par l'équation 6 (déjà repris dans la section III.2.2.2.).

Les valeurs des paramètres obtenues après ajustement du modèle logarithmique sur les mesures expérimentales pour chaque batch sont reprises au tableau 16.

Tableau 16. Valeurs des paramètres de l'équation logarithmique de dégradation obtenues par ajustement paramétrique de celle-ci sur la courbe expérimentale de dégradation de mélange par consortium.

Réacteurs batch		A	B	C	D	E
Concentration initiale de mélange (mMol L ⁻¹)		20	10	5	2,5	1,25
P₁	MEK	713,360	371,046	181,700	159,962	76,539
	acétone	554,459	274,308	131,966	126,068	53,972
P₂	MEK	95,340	117,895	54,731	162,581	23,134
	acétone	10,241	4,303	0,250	186,156	7,814
P₃	MEK	0,182	0,356	0,490	0,347	0,743
	acétone	0,288	0,600	1,254	0,172	1,022
R²	MEK	0,984	0,982	0,980	0,970	0,854
	acétone	0,976	0,957	0,969	0,999	0,787

Au vu des valeurs des paramètres obtenues après ajustement du modèle logarithmique sur les mesures expérimentales, nous remarquons que p_1 correspond à la concentration initiale du substrat, Par contre, le paramètre P_2 n'est pas constant, ce qui signifie que la quantité de substrat nécessaire à la création de la quantité de biomasse initiale varie et par conséquent, que cette dernière n'est pas la même pour les différents batch. Or ceux-ci ont été inoculés avec la même quantité de biomasse.

III.3.3. Le Taux spécifique de croissance

Le taux spécifique de croissance se détermine en portant le logarithme népérien de la concentration en biomasse mesurée expérimentalement en fonction du temps.

Le taux est donné par la pente de la partie linéaire de la courbe ainsi obtenue.

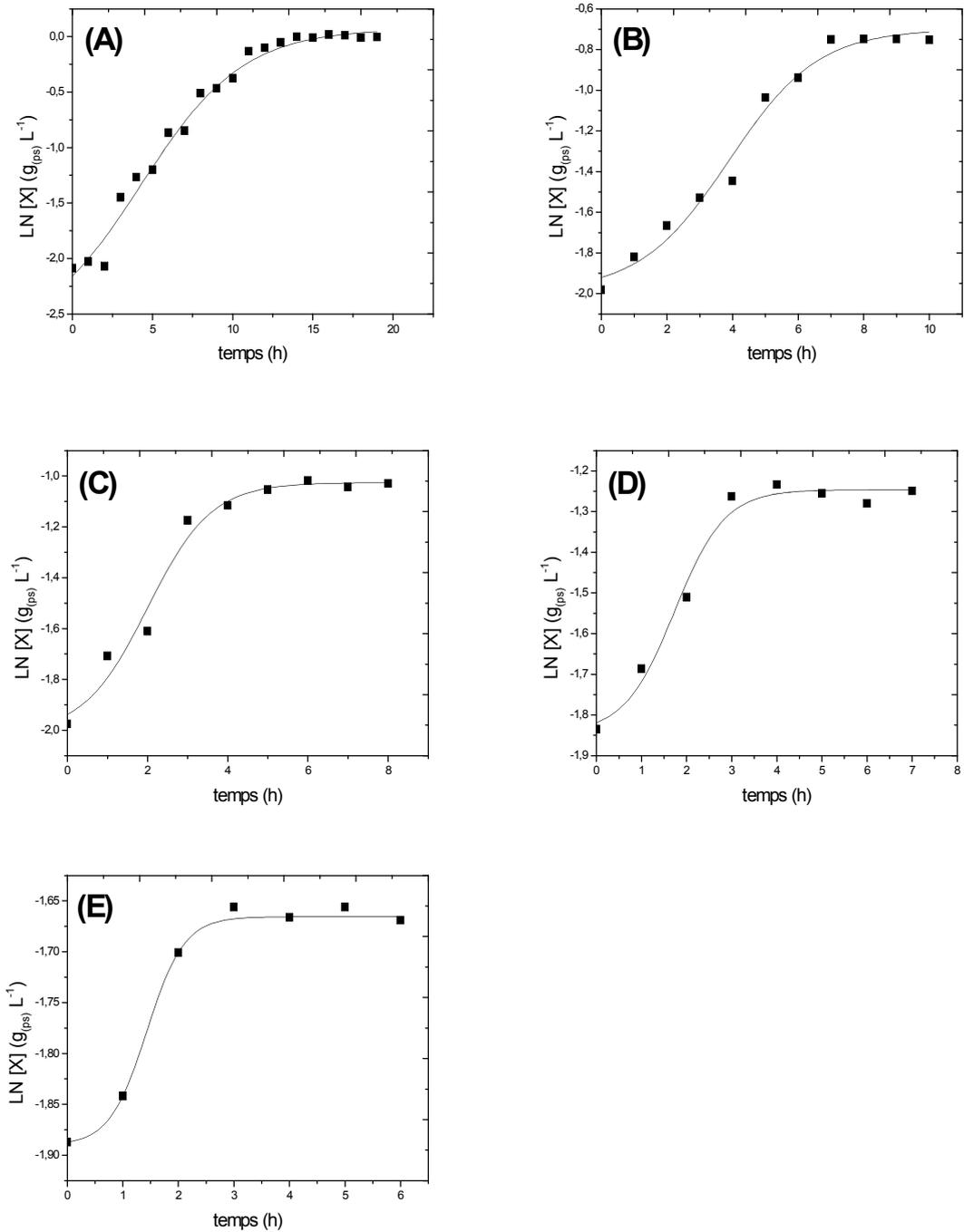


Figure 16. Evolution du logarithme népérien de la concentration en biomasse en fonction du temps pour les batch contenant 20 mMol L^{-1} (A), 10 mMol L^{-1} (B), 5 mMol L^{-1} (C), $2,5 \text{ mMol L}^{-1}$ (D), $1,25 \text{ mMol L}^{-1}$ (E) de mélange (acétone/MEK) au départ. Les points représentent les valeurs du logarithme déterminées à partir des mesures expérimentales. Les lignes sont des courbes théoriques calculées à l'aide de modèle de Boltzmann.

Nous pouvons aussi estimer μ en chaque temps expérimental, à partir des mesures expérimentales non-lissées, par la l'équation 9. (Voir section III.2.4).

Les résultats pour les différents batch sont repris aux figures 17 et 18 ci-après.

Ces graphiques montrent que l'évolution du μ est bien progressive au cours de la croissance.

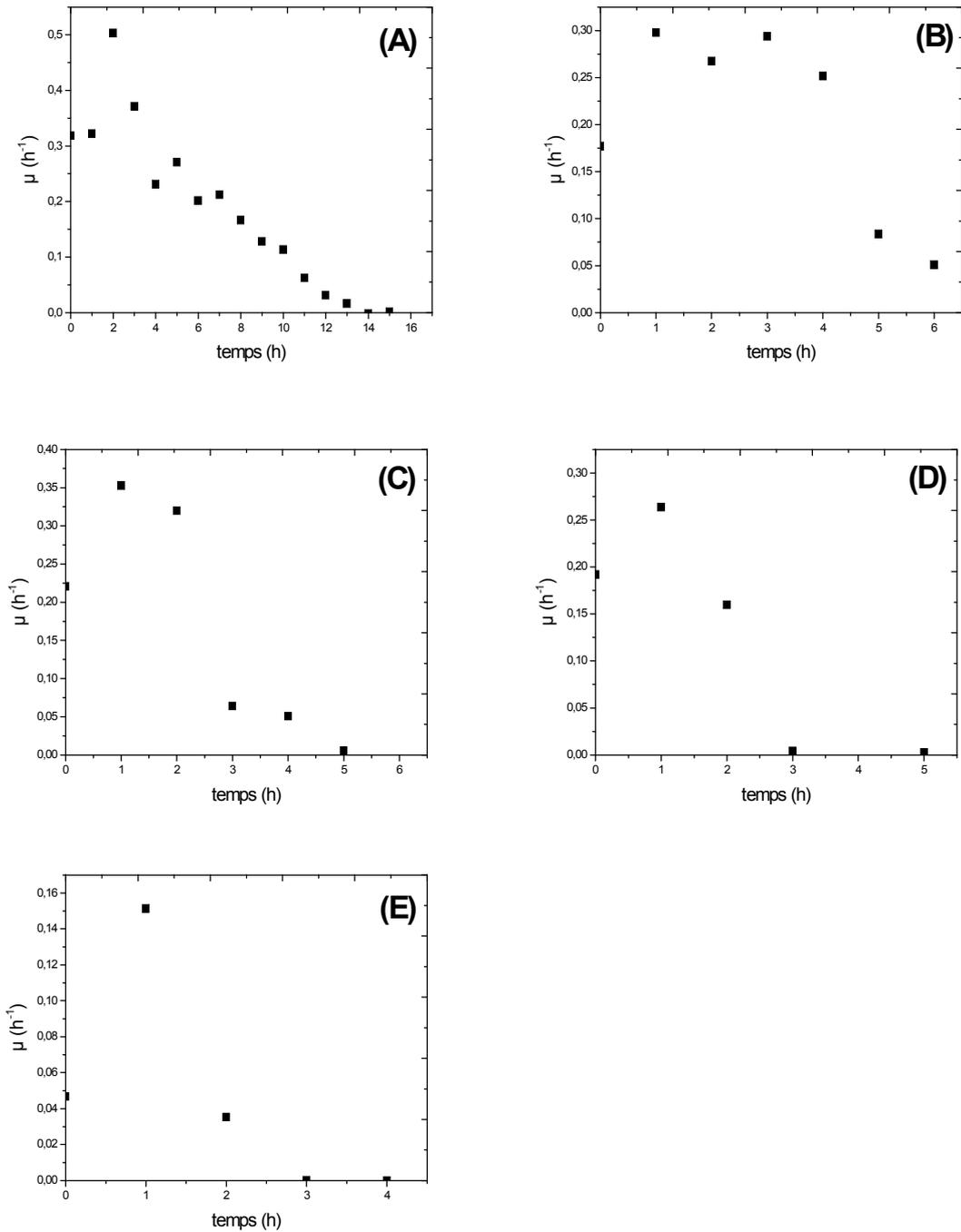


Figure 17. Evolution du taux spécifique de croissance (μ) du consortium en fonction du temps pour les batch contenant 20 mMol L⁻¹ (A). 10 mMol L⁻¹ (B). 5 mMol L⁻¹ (C). 2,5 mMol L⁻¹ (D). 1,25 mMol L⁻¹ (E) de mélange (acétone/MEK) au départ. μ est calculé par la formule $\mu_n = (1/x_n) \cdot (x_{n+4} - x_n) / (t_{n+4} - t_n)$. X et t sont les données expérimentales.

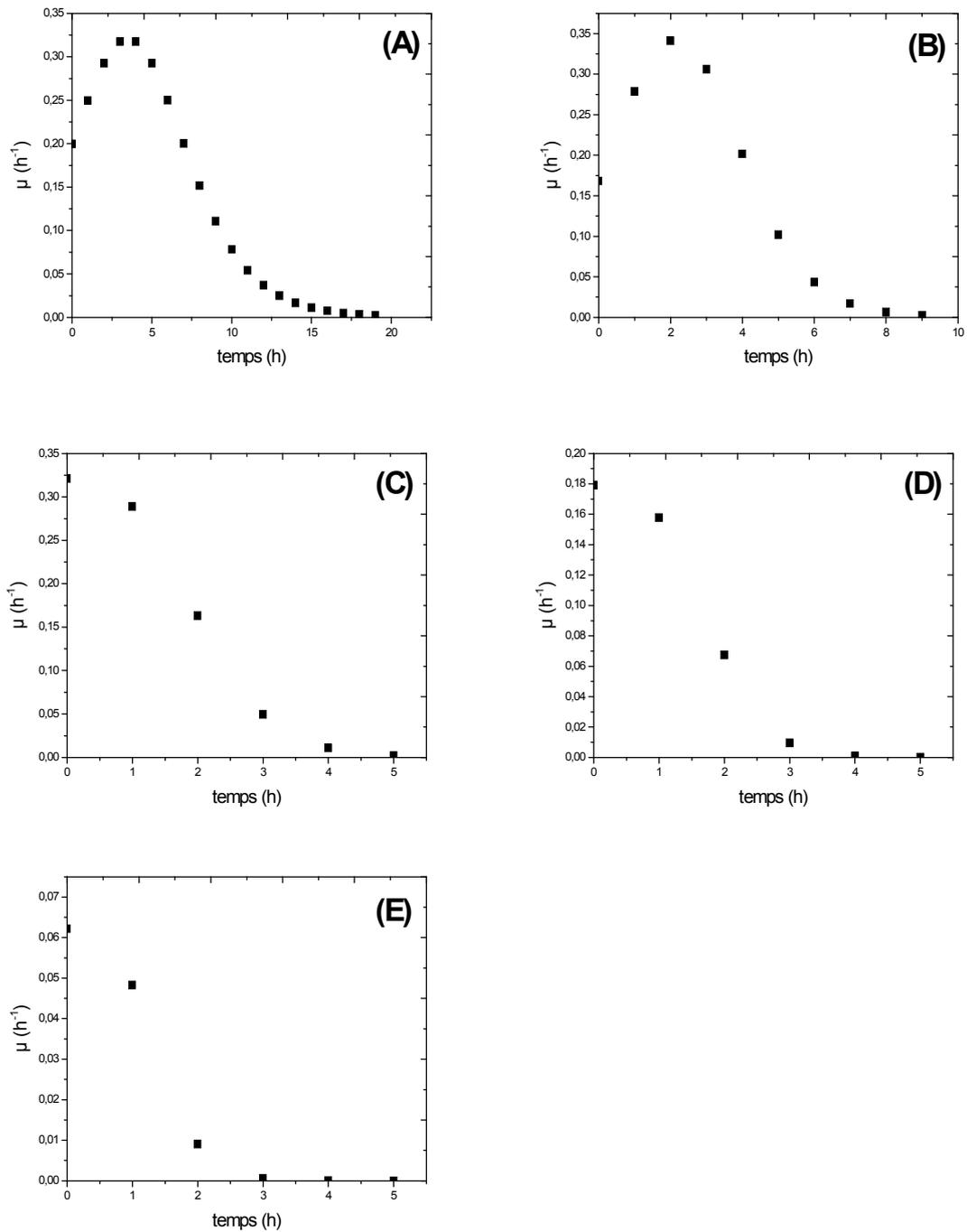


Figure 18. Évolution du taux spécifique de croissance (μ) du consortium en fonction du temps pour les batch contenant 20 mMol L⁻¹ (A). 10 mMol L⁻¹ (B). 5 mMol L⁻¹ (C). 2,5 mMol L⁻¹ (D). 1,25 mMol L⁻¹ (E) en mélange (acétone/MEK) au départ. μ est calculé par la formule $\mu_n = (1/x_n) \cdot (x_{n+4} - x_n) / (t_{n+4} - t_n)$ où x est la concentration en biomasse définie par la courbe théorique de croissance (modèle sigmoïde).

Les taux spécifiques de croissance maximum des cinq batch, calculés par trois méthodes différentes, ainsi que le temps auquel ils sont atteints, sont rassemblés dans le tableau 17.

Tableau. 17 Valeurs des taux spécifiques de croissance maximum pour le consortium, déterminées par trois méthodes différentes

A partir des mesures expérimentales non lissées (Figure 17)					
Réacteurs batch	A	B	C	D	E
Concentration initiale en MEK (mMol L ⁻¹)	20	10	5	2,5	1,25
μ_{\max} (h ⁻¹)	0,503	0,298	0,353	0,126	0,151
Temps (h)	2	1	1	2	1
A partir des courbes théoriques de croissance (Figure 18)					
Réacteurs batch	A	B	C	D	E
Concentration initiale en MEK (mMol L ⁻¹)	20	10	5	2,5	1,25
μ_{\max} (h ⁻¹)	0,317	0,341	0,321	0,179	0,062
Temps (h)	4	2	0	0	0
A partir de partie linéaire de la phase exponentielle (Figure 16)					
Réacteurs batch	A	B	C	D	E
Concentration initiale en MEK (mMol L ⁻¹)	20	10	5	2,5	1,25
P₁	-2,734	-1,989	-2,011	-1,844	-1,890
P₂	0,071	-0,700	-1,026	-1,246	-1,666
P₃	4,298	3,896	1,999	1,736	1,433
P₄	3,173	1,356	0,793	0,556	0,336
μ_{\max} (h ⁻¹) = (P ₂ -P ₁)/4P ₄	0,221	0,238	0,311	0,269	0,167

Nous remarquons que pour les cinq réacteurs en batch étudiés, les valeurs maximums de μ , déterminées par trois méthodes différentes, sont du même ordre de grandeur.

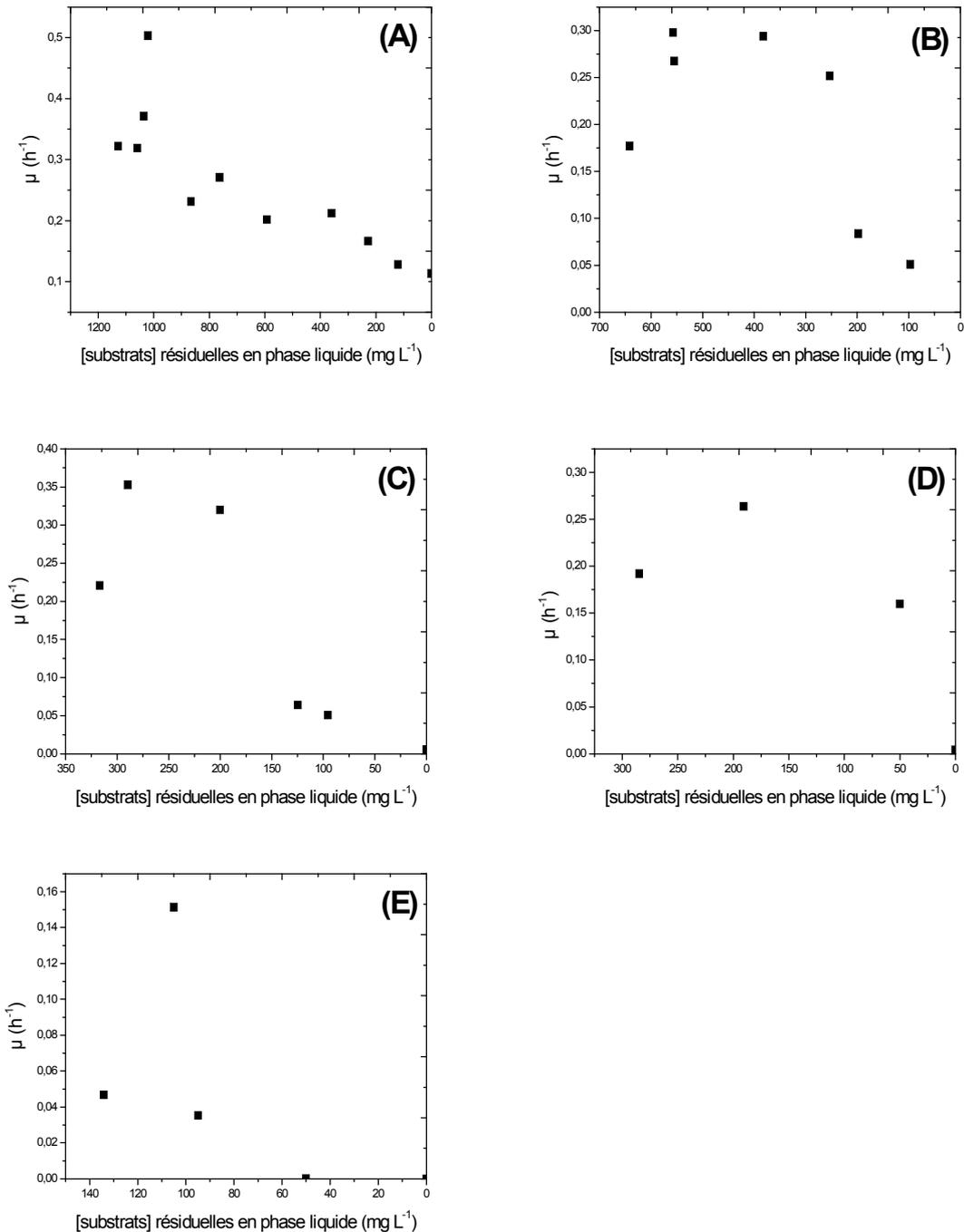


Figure 19. Evolution du taux spécifique de croissance en fonction de la concentration résiduelle en substrat en phase liquide pour les batch contenant 20 mMol L^{-1} (A). 10 mMol L^{-1} (B). 5 mMol L^{-1} (C). 2,5 mMol L^{-1} (D). 1,25 mMol L^{-1} (E) de mélange (acétone/MEK) au départ. μ est calculé par la formule $\mu_n = (1/X_n)(X_{n+4} - X_n)/(t_{n+4} - t_n)$. X et t sont les données expérimentales.

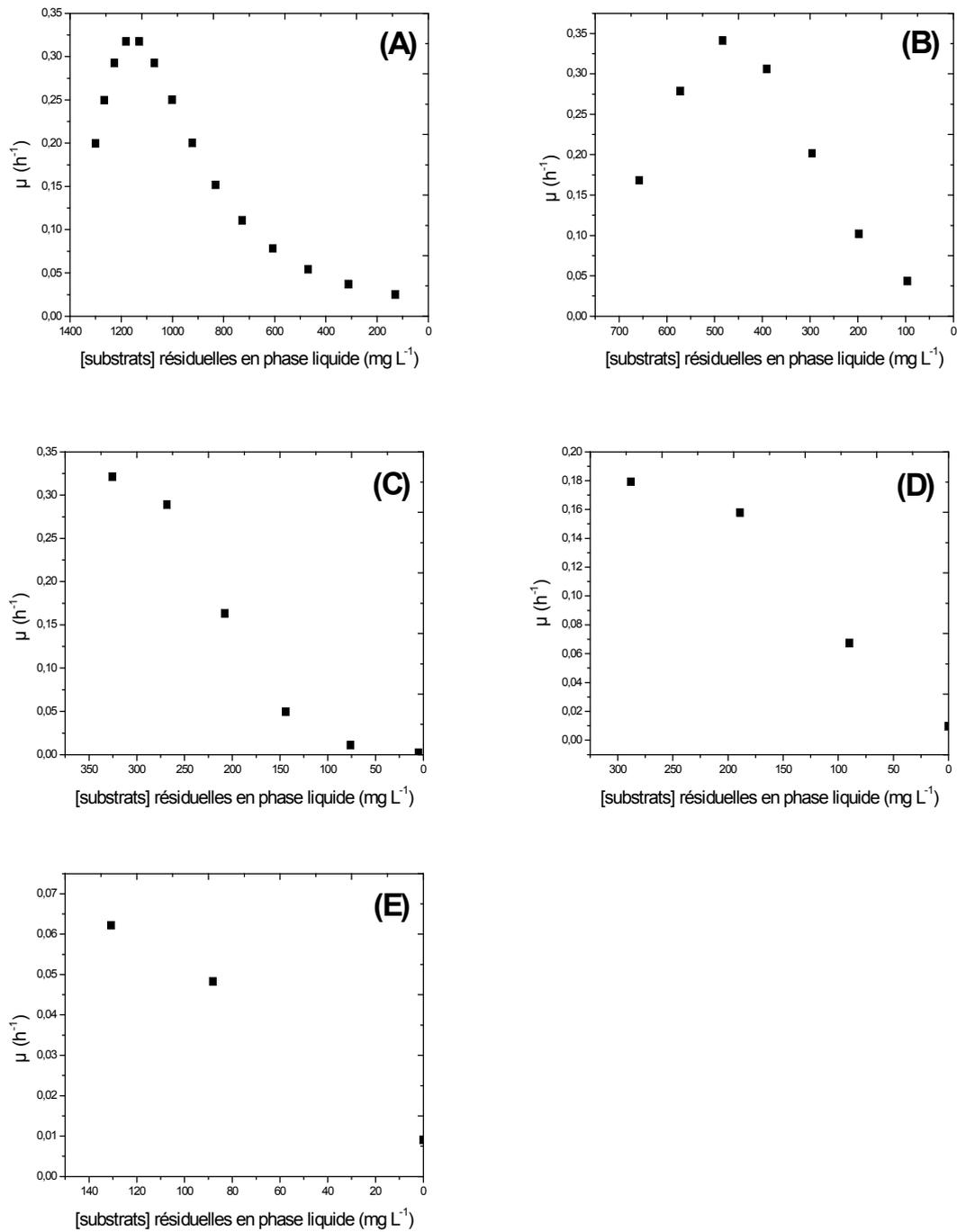


Figure 20. Evolution du taux spécifique de croissance en fonction de la concentration résiduelle en mélange en phase liquide pour les batch contenant 20 $mMol L^{-1}$ (A), 10 $mMol L^{-1}$ (B), 5 $mMol L^{-1}$ (C), 2,5 $mMol L^{-1}$ (D), 1,25 $mMol L^{-1}$ (E) de mélange (acétone/MEK) au départ. μ est calculé par $(1/X)(dX/dt)$ où X est la concentration en biomasse définie par la courbe théorique de croissance.

Le profil d'évolution des taux spécifiques de croissance, en fonction de la concentration résiduelle en mélange (acétone/MEK) en phase liquide, est présenté aux figures (19 et 20). En comparant les graphiques théoriques aux graphiques expérimentaux, nous remarquons que les profils de μ obtenus à partir du modèle sigmoïde de croissance et à partir des mesures expérimentales indiquent que le consortium continue à croître lorsqu'il ne reste plus de substrat en phase liquide.

Cette remarque est confirmée par les courbes de croissance qui n'ont pas encore atteint leurs plateaux au moment où la concentration en MEK résiduelle est nulle (figure 15).

III.3.4. Le taux spécifique de croissance et la concentration initiale du substrat

Les concentrations de la biomasse obtenues à différentes concentrations initiales en mélange (acétone/MEK) sont utilisées pour calculer les taux spécifiques de croissance qui est donné par l'équation 7. Les valeurs des taux spécifiques de croissance sont calculées à partir de l'équation 8 (Figure 16).

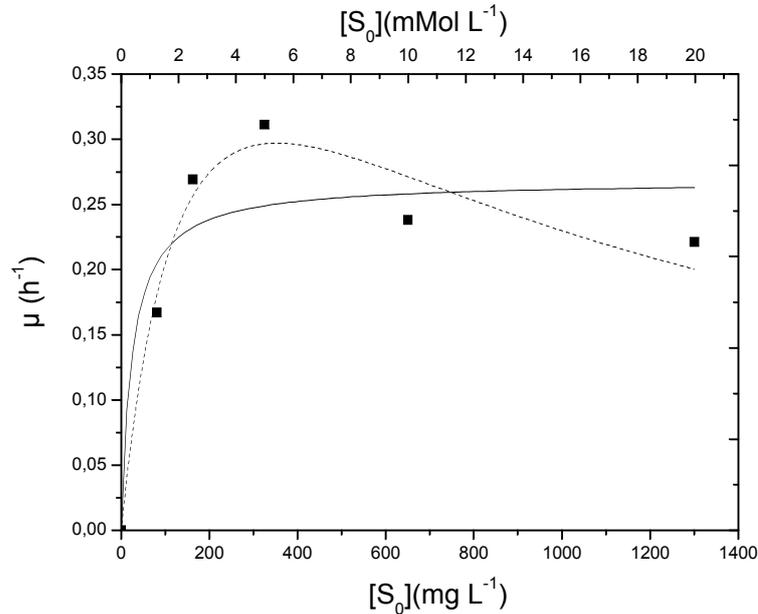


Figure 21. Taux spécifiques de croissance par rapport à la concentration initiale de mélange (MEK/acétone): valeurs expérimentales (■), relation de Monod (ligne continue) et la relation d'Haldane (ligne discontinue). La cinétique simple de Monod n'a pas montré un bon ajustement pour les données expérimentales. Les valeurs des taux spécifiques de croissance ont été obtenues à partir de figure 16. Le modèle de l'équation est non linéaire, il est résolu en utilisant la méthode de régression non linéaire du logiciel Origin-8.

Les paramètres optimisés pour la cinétique de Monod et Haldane sont indiqués dans le tableau suivant.

Tableau 18. Paramètres optimisés pour les modèles de Monod et Haldane

		MEK	MEK + acétone
Modèle de Monod	R ²	0,819	0,817
	μ _m	0,436 h ⁻¹	0,268 h ⁻¹
	K _s	0,847 mMol L ⁻¹	0,382 mMol L ⁻¹
		60,975 mg L ⁻¹	24,867 mg L ⁻¹
Modèle d'Haldane	R ²	0,979	0,942
	μ _m	1,363 h ⁻¹	0,588 h ⁻¹
	K _s	6,416 mMol L ⁻¹	2,663 mMol L ⁻¹
		461,946 mg L ⁻¹	173,198 mg L ⁻¹
	K _i	6,863 mMol ² L ⁻²	11,093 mMol ² L ⁻²
		494,226 mg ² L ⁻²	721,445 mg ² L ⁻²

III.3.5. La vitesse spécifique de consommation des substrats

On entend par vitesse spécifique de la consommation du mélange (acétone/MEK), la quantité du mélange consommée exprimée en gramme par gramme de poids sec de biomasse et par heure.

Cette vitesse spécifique peut être calculée directement à partir des données expérimentales non lissées par la formule décrite par l'équation 12 (voir section III.2.6).

L'évolution des profils des vitesses spécifiques en fonction du temps sont représentés par les figures suivantes.

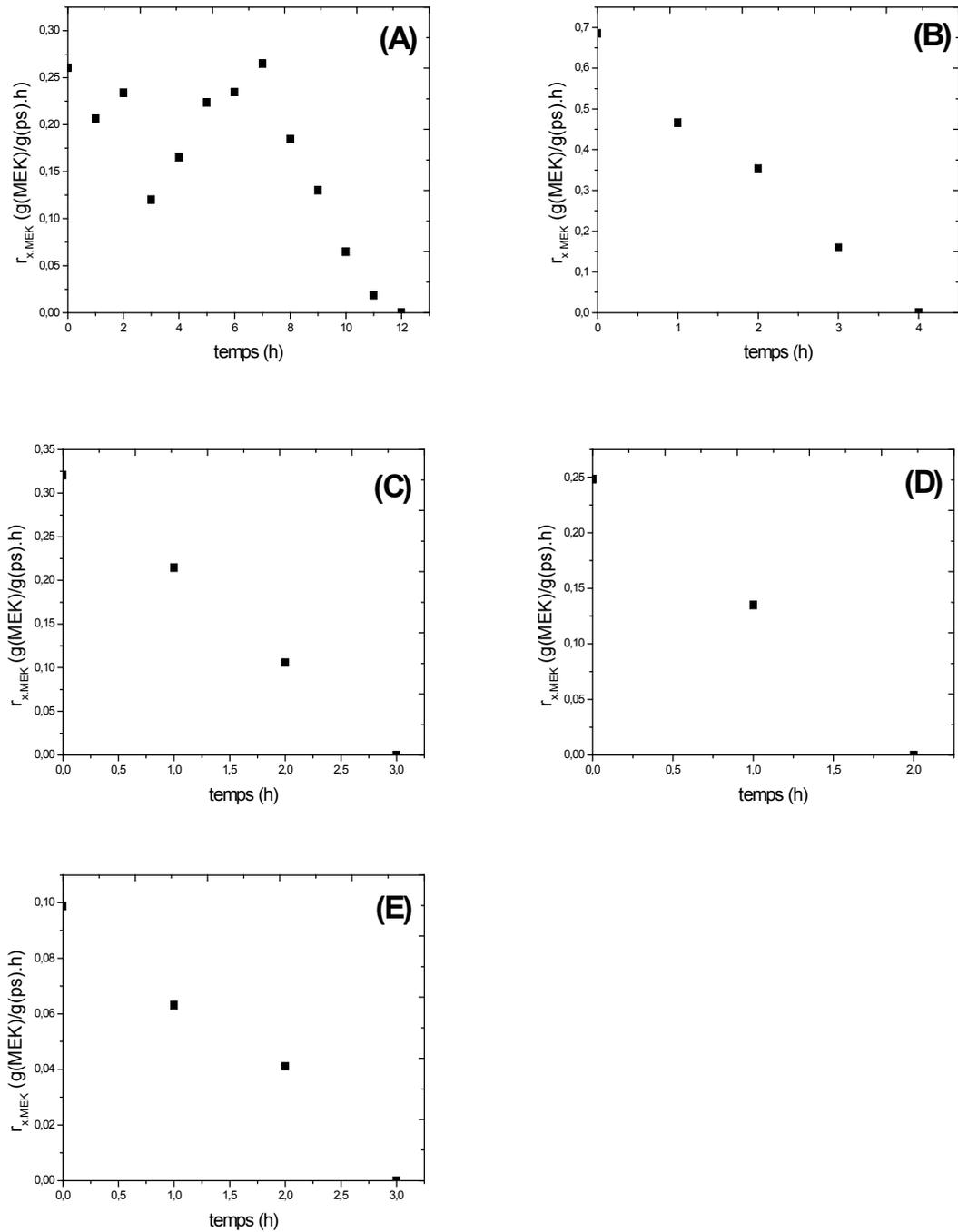


Figure 22. Évolution de la vitesse spécifique de consommation de la MEK par le consortium $r_{x,MEK}$ en fonction du temps pour les batch contenant 20mMol L⁻¹ (A). 10mMol L⁻¹ (B). 5 mMol L⁻¹ (C). 2,5 mMol L⁻¹ (D). 1,25 mMol L⁻¹ (E) en mélange (acétone/MEK) au départ. $r_{x,MEK}$ est calculé par la formule $r_{x,MEK} = (1/X_n) \cdot (S_{n+4} - S_n) / (t_{n+4} - t_n)$ où n est le numéro d'ordre de la mesure de la concentration en biomasse. X, S et t sont les données expérimentales.

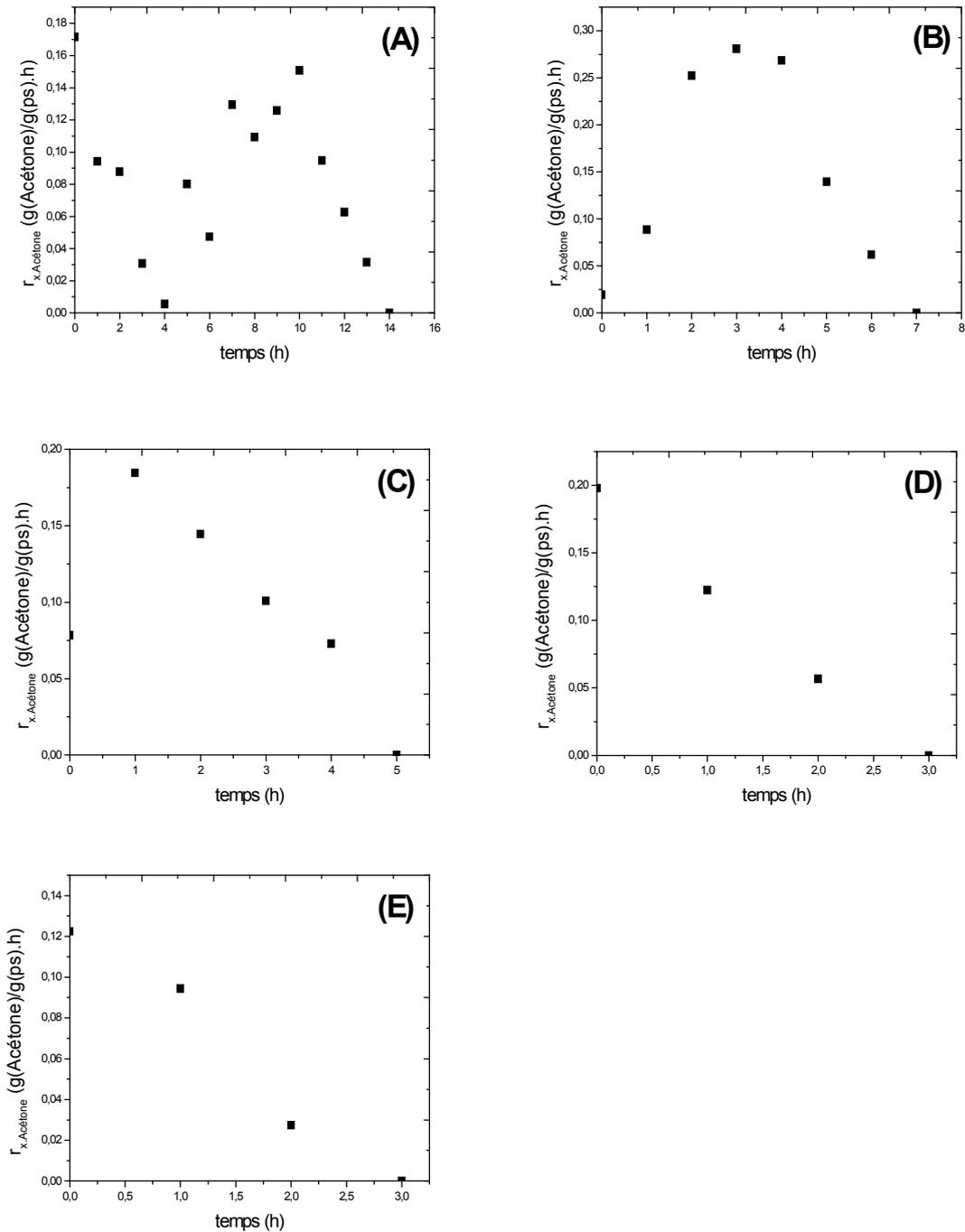


Figure 23. Évolution de la vitesse spécifique de consommation de l'acétone par le consortium $r_{x,MEK}$ en fonction du temps pour les batch contenant 20 mMol L⁻¹ (A). 10 mMol L⁻¹ (B). 5 mMol L⁻¹ (C). 2,5 mMol L⁻¹ (D). 1,25 mMol L⁻¹ (E) en mélange (acétone/MEK) au départ. $r_{x,MEK}$ est calculé par la formule $r_{x,MEK} = (1/X_n) \cdot (S_{n+4} - S_n) / (t_{n+4} - t_n)$ où n est le numéro d'ordre de la mesure de la concentration en biomasse. X, S et t sont les données expérimentales.

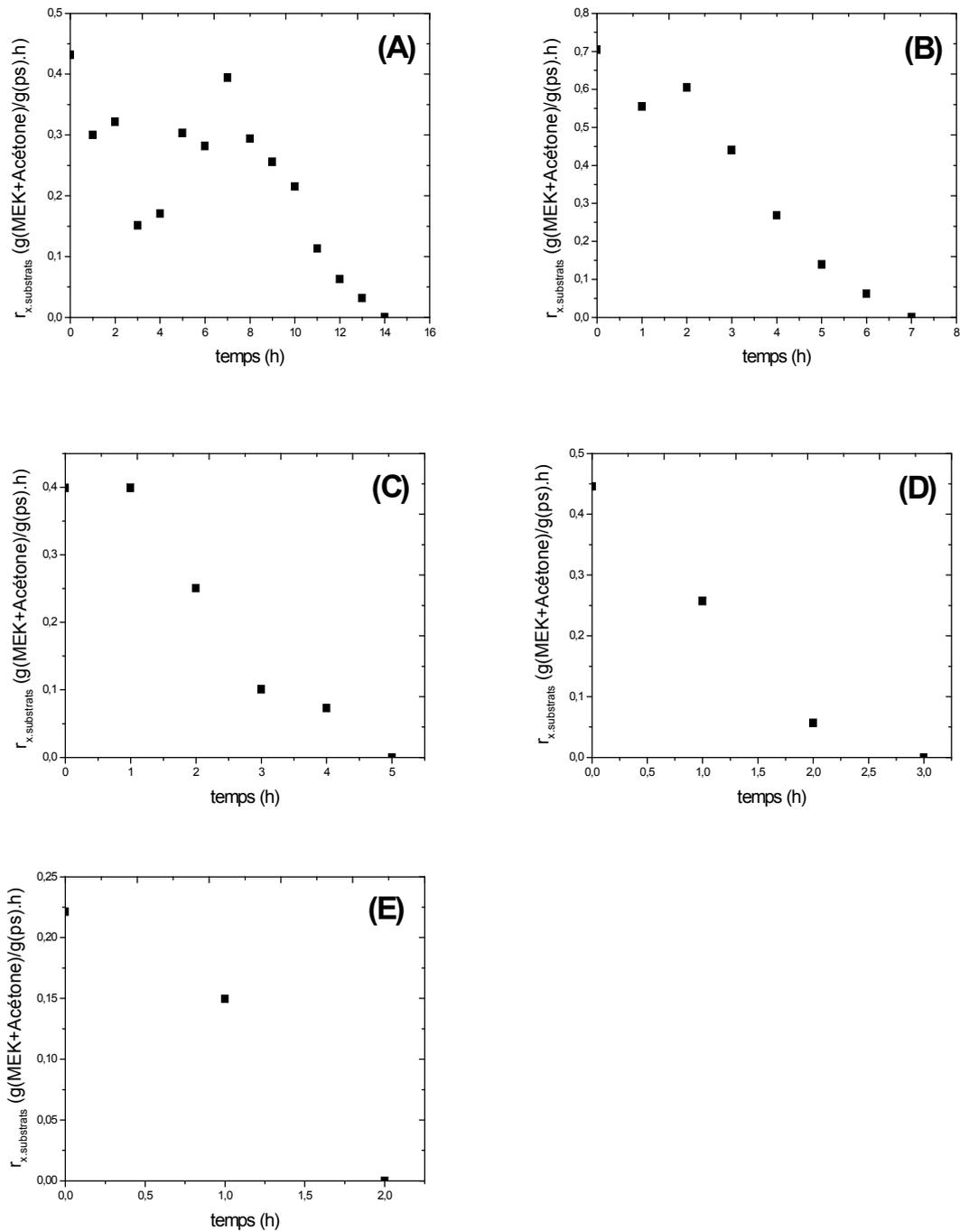


Figure 24. Évolution de la vitesse spécifique de consommation du mélange ([acétone] + [MEK]) par le consortium $r_{x,MEK}$ en fonction du temps pour les batch contenant 20 mMol L⁻¹ (A). 10 mMol L⁻¹ (B). 5 mMol L⁻¹ (C). 2,5 mMol L⁻¹ (D). 1,25 mMol L⁻¹ (E) en mélange (acétone/MEK) au départ. $r_{x,MEK}$ est calculé par la formule $r_{x,MEK} = (1/X_n) \cdot (S_{n+4} - S_n) / (t_{n+4} - t_n)$ où n est le numéro d'ordre de la mesure de la concentration en biomasse. X, S et t sont les données expérimentales.

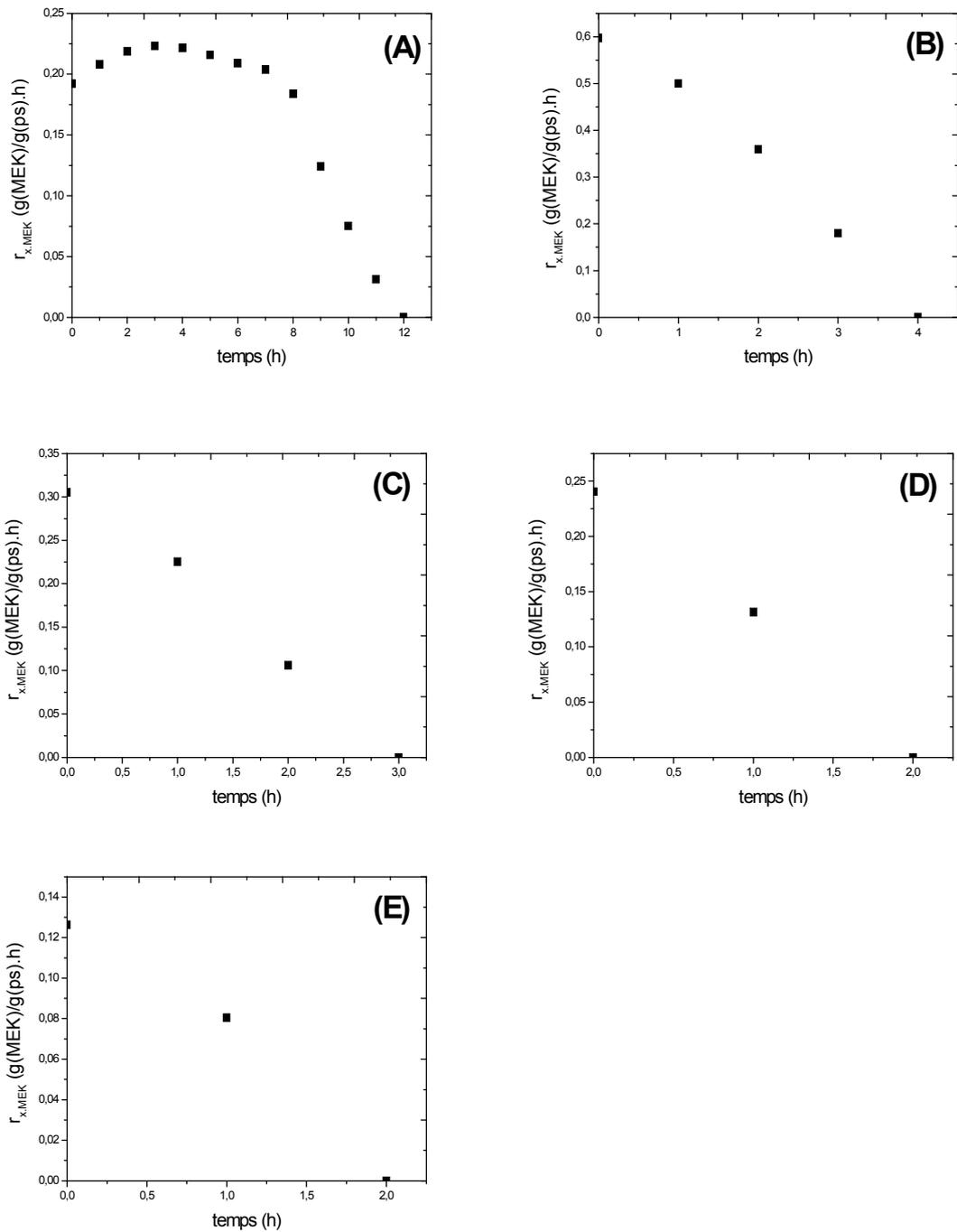


Figure 25. Evolution de la vitesse spécifique de consommation de la MEK par le consortium $r_{x,MEK}$ en fonction du temps pour les batch contenant 20 mMol L⁻¹ (A). 10 mMol L⁻¹ (B). 5 mMol L⁻¹ (C). 2,5 mMol L⁻¹ (D). 1,25 mMol L⁻¹ (E) en mélange (acétone/MEK) au départ. $r_{x,MEK}$ est calculé par la formule $(1/X)(ds/dt)$. X est la concentration en biomasse donnée par la courbe théorique de croissance et ds/dt est la dérivée de la courbe théorique décrivant la consommation du mélange au cours du temps.

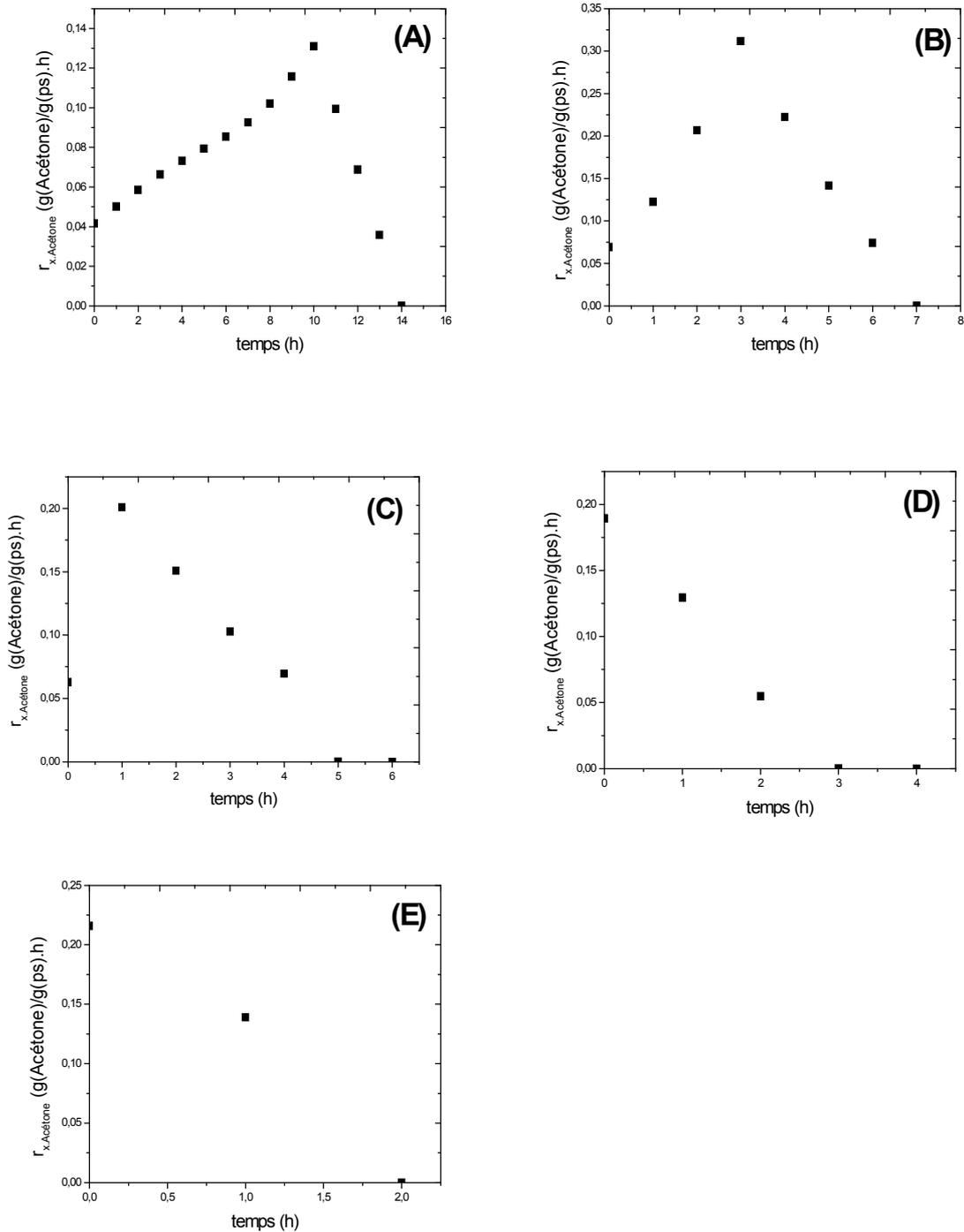


Figure 26. Evolution de la vitesse spécifique de consommation de l'acétone par le consortium en fonction du temps pour les batch contenant 20 mMol L⁻¹ (A). 10 mMol L⁻¹ (B). 5 mMol L⁻¹ (C). 2,5 mMol L⁻¹ (D). 1,25 mMol L⁻¹ (E) en mélange (acétone/MEK) au départ. $r_{X,Acétone}$ est calculé par la formule $(1/X)(ds/dt)$. X est la concentration en biomasse donnée par la courbe théorique de croissance et ds/dt est la dérivée de la courbe théorique décrivant la consommation du mélange au cours du temps.

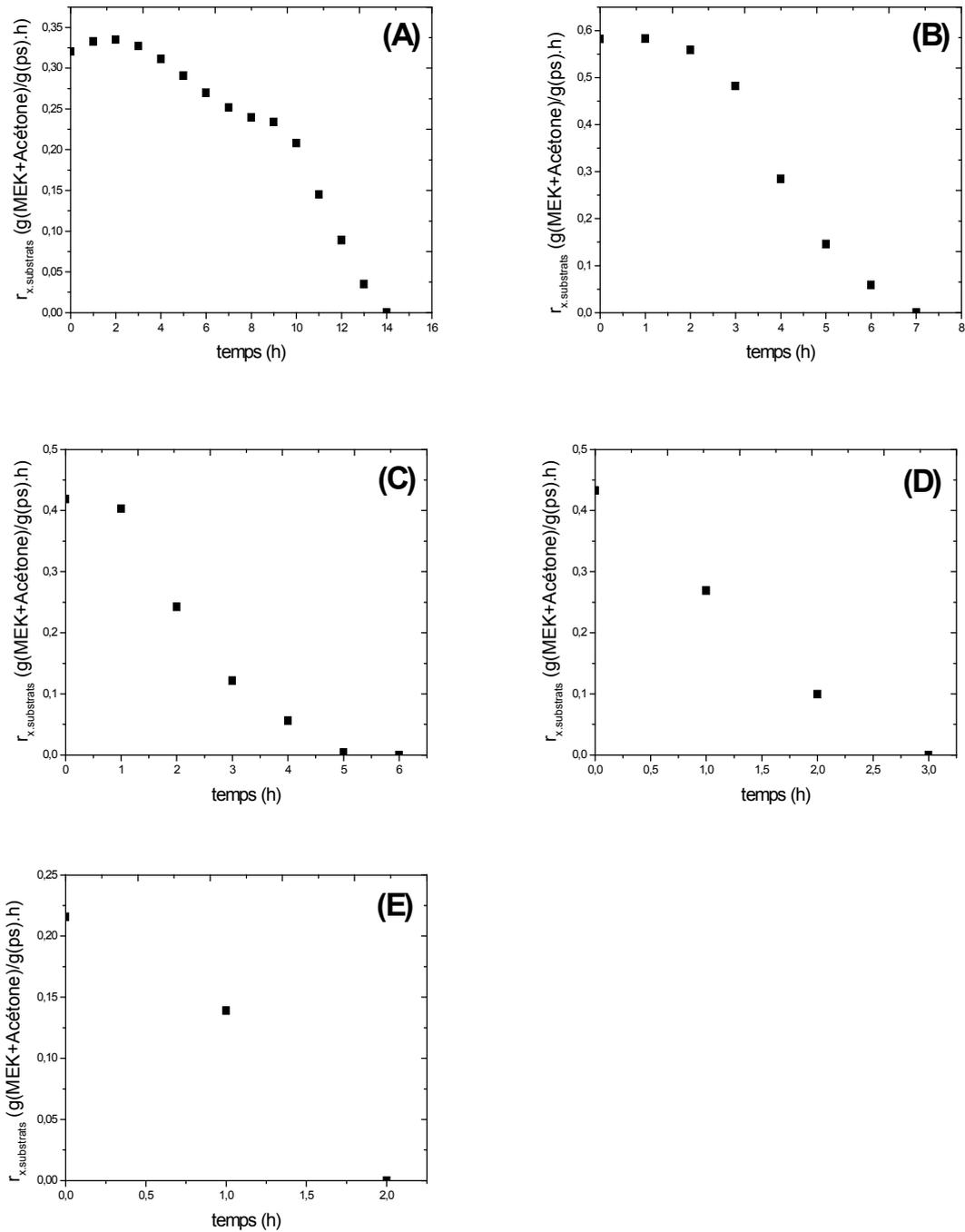


Figure 27. Evolution de la vitesse spécifique de consommation du mélange ([acétone]+[MEK]) par le consortium en fonction du temps pour les batch contenant 20 mMol L⁻¹ (A). 10 mMol L⁻¹ (B). 5 mMol L⁻¹ (C). 2,5 mMol L⁻¹ (D). 1,25 mMol L⁻¹ (E) en mélange (acétone/MEK) au départ. $r_{x,mélange}$ est calculé par la formule $(1/X)(ds/dt)$. X est la concentration en biomasse donnée par la courbe théorique de croissance et ds/dt est la dérivée de la courbe théorique décrivant la consommation du mélange au cours du temps.

III.3.6. Rendement de conversion des substrats en biomasse

Les substrats pourraient être transformés intégralement en biomasse et en CO₂ par les voies métaboliques suivant les équations mentionnées auparavant (Equations 1, 2, 3 et 4). Ces équations sont reliées par le rendement de conversion de substrat en biomasse. On peut calculer ce rendement à partir de l'équation 14. (Voir section III.2.7.).

Les résultats pour les différents batch sont repris au tableau 19.

Tableau 19. Valeurs du rendement de conversion du substrat en biomasse par le consortium dans les réacteurs en batch contenant 20 mMol L⁻¹ (A). 10 mMol L⁻¹ (B). 5 mMol L⁻¹ (C). 2,5 mMol L⁻¹ (D). 1,25 mMol L⁻¹ (E) en mélange (acétone/MEK) au départ.

Réacteurs batch	A	B	C	D	E	unités
Concentration initiale du mélange (mMol L ⁻¹)	20	10	5	2,5	1,25	
ΔX	0,935	0,33	0,21	0,122	0,038	g _{ps} /l
ΔS	1,301	0,65	0,325	0,163	0,081	g mélange /l
$Y_{X/mélange}$	0,719	0,508	0,646	0,748	0,469	g _{ps} /mélange
$Y_{X/mélange}$	0,55	0,388	0,494	0,547	0,358	Mole _X /Mole _S
$Y_{X/mélange}$ moyenne	0,618					g _{ps} /g mélange
	0,467					Mole _X /Mole _S

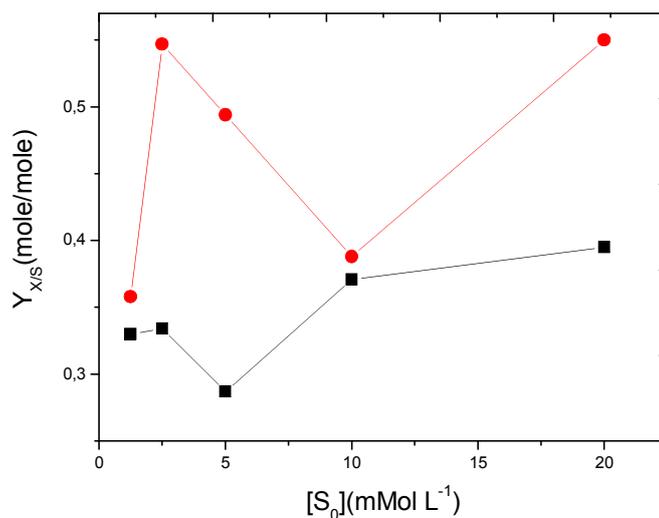


Figure 28. Evolution du rendement de conversion du substrat en biomasse en fonction de la concentration initiale du substrat. MEK (■), MEK/acétone mélangé (●).

Dans la figure 28, des rendements en biomasse sont rapportés pour les différentes situations étudiées. Clairement, la biodégradation de mélanges MEK/acétone produit beaucoup plus de biomasse que la biodégradation du MEK. Aucune explication n'a été trouvée pour cette observation car les équations 1, 2, 3 et 4 montrent que la biodégradation du MEK menée a beaucoup plus de formation de biomasse qu'a fait la biodégradation d'acétone (1 mole du MEK produit 4/5 mole de biomasse par contre 1 mole d'acétone produit 3/5 mole de biomasse).

III.3.7. Discussion

III.3.7.1. Croissance et dégradation

La biodégradation des mélanges équimolaires du MEK et d'acétone, illustrée à la figure 15 a prouvé que les cultures en suspension en milieu liquide pourraient dégrader les deux cétones en même temps.

La figure 15 montre que la MEK a toujours été le premier polluant à être épuisé. En termes de concentration massique, sa concentration initiale était plus grande que celle de l'acétone ($20 \text{ mMol L}^{-1} = 720 \text{ mg L}^{-1}$ du MEK et 580.8 mg L^{-1} d'acétone).

L'inhibition significative de la dégradation de l'acétone par la MEK peut expliquer son épuisement précoce, un fait soutenu par le taux de biodégradation de l'acétone nettement plus élevé qui a toujours été observé après la dégradation complète de la MEK.

La comparaison de la diminution globale des mélanges (MEK/acétone) et de la diminution du MEK en tant que substrat unique sur la figure 29 indique une évolution essentiellement semblable. Ceci indique que la biodégradation des mélanges du MEK et d'acétone n'était pas simplement la somme de la biodégradation des deux polluants séparés.

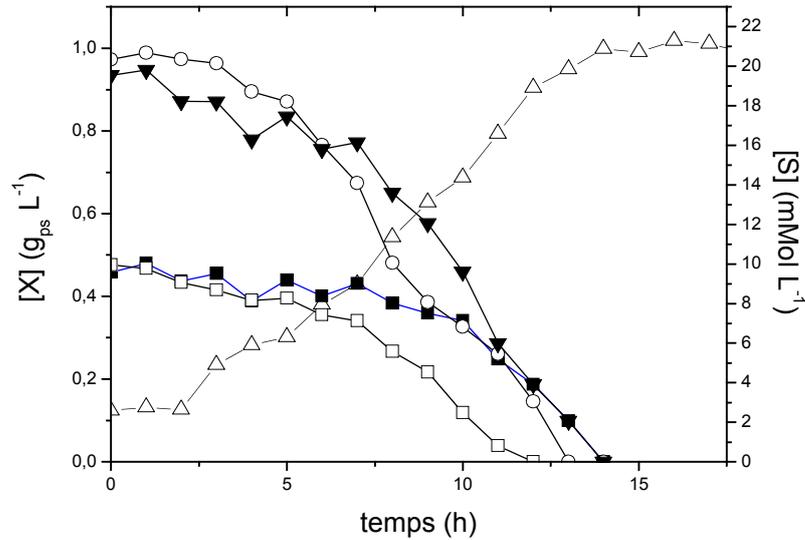


Figure 29. Evolution de la biodégradation de MEK/acétone en tant que substrats multiples pour une concentration initiale totale du 20 mMol L⁻¹, 10 mMol L⁻¹ pour la MEK et l'acétone, respectivement. MEK(□), acétone (■) et la concentration totale en phase liquide (▼) et la concentration de biomasse (Δ), (○) représente l'évolution dans le temps de la biodégradation de 20 mMol L⁻¹ du MEK en tant que polluant unique.

III.3.7.2. Le taux spécifique de croissance et la concentration initiale du substrat

Les valeurs obtenues pour le taux spécifique de croissance maximum, μ_m (tableau 18) montrent que l'amélioration de la croissance est soutenue plus par la MEK que par le mélange MEK/acétone. Les valeurs de μ_m pour la MEK (Modèle d'Haldane) et pour le mélanges (MEK/ acétone) (Modèle de Monod) sont très similaires, mais de grandes différences dans les valeurs de K_s ont été observées. Les valeurs observées de K_s sont de façons significatives plus hautes que 10 mg/l rapporter par Cooney (1981) pour la croissance bactérienne typique.

Les valeurs de K_i de 6,863 mMol²L⁻² i.e., 494.226 mg² L⁻² pour la MEK indiquent que l'inhibition significative de substrat se produira à des concentrations supérieures à 5 mMol L⁻¹ i.e., 360 mg L⁻¹.

Sous l'inhibition de substrat le taux maximum de croissance qu'on peut obtenir est :

$$\mu = \frac{\mu_m}{2\sqrt{\frac{k_s}{k_i} + 1}} \quad \text{à une concentration de substrat : } S = \sqrt{k_s \cdot k_i}$$

Donc pour la MEK : $\mu_m = 0,346 \text{ h}^{-1}$ à $S = 6,636 \text{ mMol L}^{-1}$

III.3.7.3. Vitesse spécifique de consommation des substrats

L'équation 8 permet de calculer les vitesses maximales de consommation pour chaque expérience. Le profil de vitesse spécifique maximale en fonction de la concentration initiale des substrats est présenté à la figure 21.

Dans cette figure nous remarquons que la vitesse spécifique de consommation du $\text{MEK}_{(\text{dans le mélange})}$ est plus élevée que celle de l'acétone $_{(\text{dans le mélange})}$. Cette remarque pourrait expliquer pourquoi la MEK est toujours été le premier polluant à être épuisé.

Nous remarquons aussi que, après la concentration initiale de 10 mMol L^{-1} , la vitesse spécifique maximum de consommation de la $\text{MEK}_{(\text{dans le mélange})}$ diminue rapidement jusqu'à atteindre une valeur très bas de celle du $\text{MEK}_{(\text{seul})}$. Cette remarque pourrait s'expliquer par l'inhibition significative de la dégradation du MEK par l'acétone.

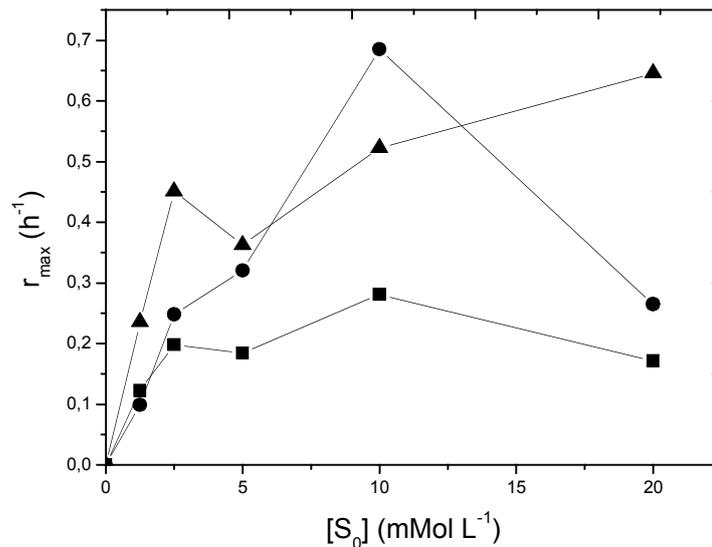


Figure 30. Evolution de la vitesse spécifique maximum de consommation du substrat en fonction de la concentration initiale du substrat (S_0). MEK(seul) (▲), acétone (mélange) (■), MEK (mélangé) (●).

III.4. Influence de la concentration initiale de biomasse X_0

III.4.1. Introduction

Dans cette section nous avons cherché à étudier l'effet de la concentration initiale en biomasse. Pour cela, nous avons effectué une étude où la concentration initiale du MEK a

été maintenue constante (20 mMol L^{-1}) et nous avons fait varier la concentration initiale en biomasse.

Les concentrations de biomasse appliquées pour ces expériences sont présentées au tableau suivant.

Tableau. 20 les concentrations des substrats pour chaque expérience

Réacteur batch	A	B	C	D	E	F
concentration de biomasse $\text{g}_{(\text{ps})}/\text{L}$	0,25	0,125	0,06	0,03	0,015	0,007

Les résultats des batch sont présentés sous forme graphique à la figure 31 ci-après.

Afin d'essayer de modéliser la croissance, nous pouvons donc appliquer un modèle dont l'équation générale est représentée par l'équation 5 reprise dans la section III.2.2.1.

Les paramètres de cette équation sont ajustés par rapport aux mesures expérimentales par une méthode itérative. Les séries de paramètres obtenues pour chaque batch sont reprises au tableau 21 ci-après.

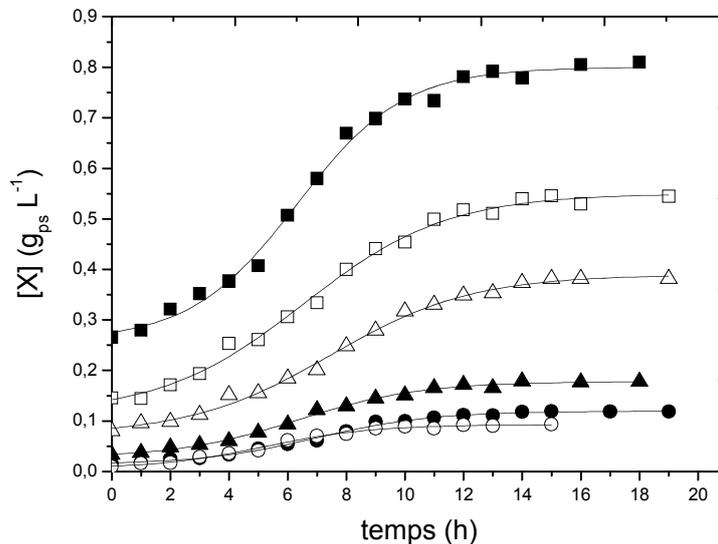


Figure 31. Cinétiques de croissance bactérienne pour les batch contenant $0,25 \text{ g}_{(\text{ps})}/\text{L}$ (■). $0,125 \text{ g}_{(\text{ps})}/\text{L}$ (□). $0,06 \text{ g}_{(\text{ps})}/\text{L}$ (Δ). $0,03 \text{ g}_{(\text{ps})}/\text{L}$ (▲). $0,015 \text{ g}_{(\text{ps})}/\text{L}$ (●). $0,007 \text{ g}_{(\text{ps})}/\text{L}$ (○) de biomasse au départ.

Tableau 21. Valeurs des paramètres de l'équation sigmoïde de croissance obtenues par ajustement paramétrique de celle-ci sur la courbe expérimentale de croissance du consortium.

Réacteurs batch	A	B	C	D	E	F
Concentration initiale en biomasse $g_{(ps)}/L$	0,25	0,125	0,06	0,03	0,015	0,007
P₁	0,259	0,114	0,072	0,028	0,014	0,006
P₂	0,8	0,55	0,389	0,178	0,119	0,093
P₃	6,325	6,554	7,476	6,385	6,998	5,214
P₄	1,824	2,442	2,405	2,074	1,971	1,834
R²	0,994	0,994	0,995	0,995	0,995	0,991

III.4.1. Le Taux spécifique de croissance

Le taux spécifique de croissance se détermine en portant le logarithme népérien de la concentration en biomasse mesurée expérimentalement en fonction du temps (figure 32). Le taux est donné par la pente de la partie linéaire de la courbe ainsi obtenue.

Les taux spécifiques de croissance maximum des six batch, sont rassemblés dans le tableau 22.

Tableau. 22 Valeurs des taux spécifiques de croissance maximum pour le consortium.

Réacteurs batch	A	B	C	D	E	F
Concentration initiale en biomasse $g_{(ps)}/L$	0,25	0,125	0,06	0,03	0,015	0,007
P₁	-1,379	-2,23	-2,767	-3,6	-4,459	-5,86
P₂	-0,216	-0,591	-0,922	-1,719	-2,102	-2,34
P₃	5,2	4,416	4,976	4,447	4,386	1,585
P₄	1,989	2,668	2,852	2,242	2,446	2,494
$\mu_{max} (h^{-1}) = (P_2 - P_1)/4P_4$	0,146	0,154	0,162	0,21	0,241	0,353

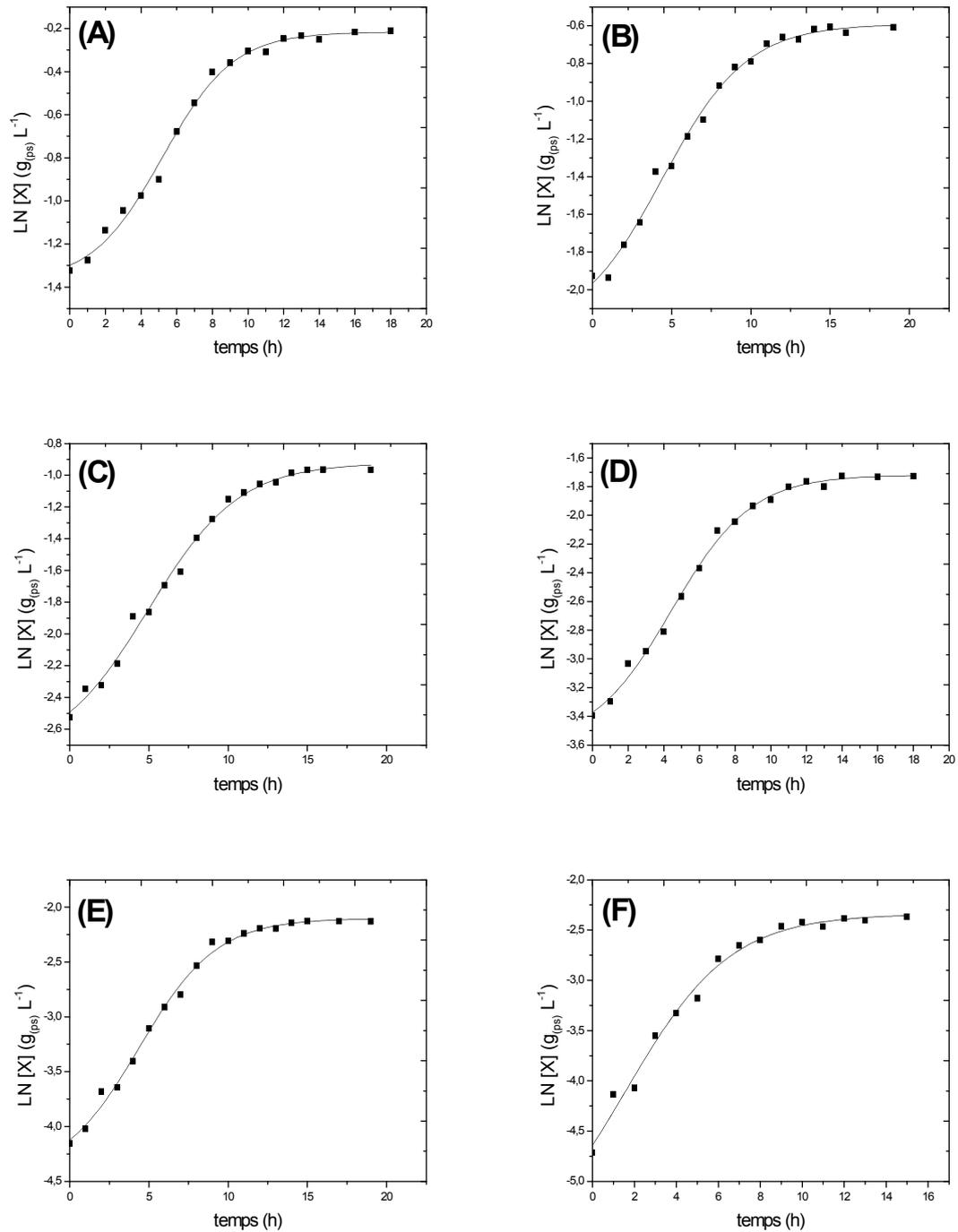


Figure 32. Evolution du logarithme népérien de la concentration en biomasse en fonction du temps pour les batch contenant $0,25 \text{ g}_{(\text{ps})}/\text{L}$ (A). $0,125 \text{ g}_{(\text{ps})}/\text{L}$ (B). $0,06 \text{ g}_{(\text{ps})}/\text{L}$ (C). $0,03 \text{ g}_{(\text{ps})}/\text{L}$ (D). $0,015 \text{ g}_{(\text{ps})}/\text{L}$ (E). $0,007 \text{ g}_{(\text{ps})}/\text{L}$ (F) de biomasse au départ. Les points représentent les valeurs du logarithme déterminées à partir des mesures expérimentales. Les lignes sont des courbes théoriques calculées à l'aide du modèle de Boltzmann.

III.4.2. Le Taux spécifique de croissance et la concentration initiale de biomasse (X_0)

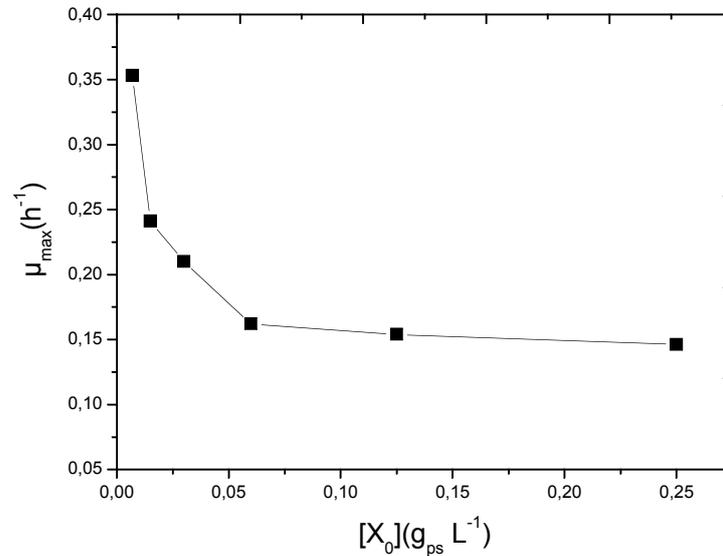


Figure 33. Evolutions du taux spécifique de croissance en fonction de la concentration initiale en biomasse. Les valeurs des taux spécifiques de croissance ont été obtenues à partir de figure 32.

D'après la figure 33, les meilleures conditions de croissance du consortium correspondent aux faibles concentrations en biomasse.

Nous remarquons que le taux spécifique de croissance décroît brusquement avec l'augmentation de X_0 .

Quand X_0 augmente de 0,007 à 0,06 $g_{(ps)}/L$, le taux spécifique de croissance diminue de 0,353 à 0,162 h^{-1} . Après 0,06 $g_{(ps)}/L$ le taux de croissance spécifique commence à diminuer légèrement jusqu'à atteindre la valeur de 0,146 h^{-1} .

Conclusion générale

La pollution par les COV devient de plus en plus préoccupante. Les études de leurs traitements sont nombreuses, cependant, les biotraitements des COV n'ont été pris en considération que récemment. L'étude que nous avons menée a montré le pouvoir de dégradation de la méthyléthylcétone dans un réacteur batch par l'utilisation d'une culture mixte de micro-organismes prélevée dans les bassins d'aération de la station d'épuration biologique d'El Menia Constantine. L'étude a été menée à 35°C.

Ce travail porte à la fois sur l'étude des caractéristiques de croissance des microorganismes et de la biodégradation du polluant. Nous avons aussi examiné l'influence de nombre de paramètres opératoires tel que la concentration initiale en biomasse et l'influence de la concentration initiale du MEK sur la vitesse de la dégradation et sur le rendement en biomasse et l'influence de la présence de l'Acétone.

Les résultats expérimentaux montrent que l'évolution de la concentration en biomasse suit quatre phases de croissances principales : une phase de latence, une phase de croissance exponentielle, une phase de croissance négative et une phase stationnaire.

L'inhibition de la dégradation a été observée pour des concentrations en méthyléthylcétone supérieures à 5 mMol L⁻¹.

Notre étude a montré également que le temps nécessaire pour la dégradation totale de la MEK augmente avec l'augmentation de la concentration initiale du MEK.

La présence de l'acétone a prouvé que les cultures, en suspension en milieu liquide, pourraient dégrader les deux cétones en même temps, et que la biodégradation des mélanges de MEK et d'acétone n'était pas simplement la somme de la biodégradation des deux polluants séparés.

Le taux spécifique de croissance de la biomasse est inversement proportionnel à la concentration initiale en biomasse.

- Aragno, M. (1988). The Landfill Ecosystem: A microbiologist's look inside a black box. P. Baccini Editions, Swiss Workshop on land disposal of solid waste, Gerzensee : Springer Verlag
- Bardos, P. (2004). Composting of mechanically segregated fraction of municipal solid waste. a review, r3 Environmental Technology Limited, SITA Environmental Trust, p.143.
- Bates, N. (2002). Methyl Ethyl Ketone (MEK). In : Toxicology of solvents. G-B : RAPRA Technology. [MO-024601], pp. 249-261.
- Beck-friis, B., Pell, M., Sonesson, U., Jönsson, H., Kirchmann, H. (2000). Formation and emission of N₂O and CH₄ from compost heaps of organic household waste, Environmental Monitoring and assessment, 62, pp. 317-331,
- Belin. (1988). Les levures, Dans: Microbiologie alimentaire, aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaires, Tome 1 (Edité par Bourgeois C.M., Mescle J.F., Zucca J.). Techniques et Documentation - Lavoisier, Apria, Paris, pp. 161-171.
- Bohnet, M. et al., (2003). Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, 7th. Wiley InterScience (John Wiley & Sons), (Ressource électronique) <http://www3.interscience.wiley.com> (<http://www3.interscience.wiley.com>)
- Buchanan, R.L., Klawitter, L.A. (1991). Effect of temperature history on the growth of *Listeria monocytogenes* Scott A at refrigeration temperatures. Int J Food Microbiol 12, pp. 23-46.
- Dens, E.J., Bernaerts, K., Standaert, A.R., Van Impe, J.F. (2005). Cell division theory and individual-based modeling of microbial lag : part I. The theory of cell division. Int J Food Microbiol 101, pp. 303-18.
- Deseveaux S. (1995). Etude du comportement d'un biofilm et de sa capacité à biodégrader la methyl-ethyl-cetone dans un réacteur essentiellement à phase gazeuse. Memoire d'ingénieur en chimie et en industrie agricole. Faculté des sciences agronomiques, unité de génie biologique, université catholique de louvain.
- Deshusses, M.A. (1994). Biodegradation of mixtures of ketone vapors in biofilters for the treatment of waste air. Ph.D. dissertation, Swiss Federal Institute of Technology, Zurich, Switzerland.
- Deviny, S.J., Deshusses, M.A., Webster, S.T. (1999). Biofiltration for Air Pollution Control, First Edition, Lewis Publishers, New York.
- Dewulf, J.O., Langenhove, H.V. (2002). Analysis of volatile organic compounds using gas chromatography, Trends in Analytical Chemistry, vol. 21, n° 9-10, pp. 637-645.
- Dietz, F.K. et al., (1981). "Pharmacokinetics of 2-butanol and its metabolites in the rat." Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. Vol. 9, n°. 5, p. 553-576.

Donachie, W.D. (1968). Relationship between cell size and time of initiation of DNA replication. *Nature* 219.

Dowty, B.J., Laseter, J.L. et Storer, J. (1976). The transplacental migration and accumulation in blood of volatile organic constituents. *Pediatric Research*. Vol. 10, pp. 696-701.

Durand, G., Monsan, P. (1982). *Les enzymes. Productions et utilisations industrielles*. Bordas, Paris.

Fall R., Custer. T. G., Kato, S., Bierbaum, V. M . (2001). New directions : The biogenic acetone-HCN connection, *Atmospheric Environment*, 35, pp.1713-1714.

Gourdon, R. (2002). Aide à la définition des déchets dits biodégradables, fermentescibles, méthanisables, compostables. Association RECORD, Etude n° 00-0118/1A, p.151

Hartz, S. R., Klink, R. E., Ham, R. K. (1982). Temperature effects : Methane generation from landfill samples. *Journal of the Environment Engineering Division*, Vol. 108, pp. 629-638.

Health Council of the Netherlands. (2002). Ethyl formate : Health-based reassessment of administrative occupational exposure limits; <http://www.gr.nl/pdf.php?ID=256>

Helmig, D., Klinger, L. F., Guenther, A., Vierling, L., Geron, C., Zimmerman, P. (1999). Biogenic volatile organic compound emissions (BVOCs) I. Identifications from three continental sites in the U.S., *Chemosphere*, 38, 9, pp. 2163-2187.

Holzinger, R., Carsten, W., Hansel, A., Jordan, A., Lindinger, W., Scharffe, D. H., Schade, G., Crutzen, P. J. (1999). Biomass burning as a source of formaldehyde, acetaldehyde, methanol, acetone, acetonitrile, and hydrogen cyanide, *Geophysical research letters*, 26, 8, pp.1161 -1164.

International Programme on Chemical Safety. (1992). Methyl ethyl ketone. Environmental health criteria, 143. Genève : World Health Organization. [MO-009582] <http://www.inchem.org/pages/ehc.html>

Janson, R., De Serves, C. (2001). Acetone and monoterpene emissions from the boreal forest in northern Europe, *Atmospheric Environment*, 35, 27, pp. 4629-4637.

Karin Kova'Rova'-Kovar., Egli, T. (1998). Growth Kinetics of Suspended Microbial Cells: From Single-Substrate-Controlled Growth to Mixed-Substrate Kinetics. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62 (3), pp.646-666.

Kean A. J., Grosjean, E., Grosjean, D., Harley, R. A. (2001). On-road measurement of carbonyls in California light-duty vehicle emissions, *Environmental Science and Technology*, 35, 21, pp. 4198-4204.

- Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology. (1991-1998) 4th ed. New York : John Wiley & Sons.. [RT-423004]
- Kirstine W., Galbally, I., Hooper, M. (1998). Emissions of volatile organic compounds (primarily oxygenated species) from pasture., *Journal of Geophysical Research*, 103, D9, pp. 10605 - 10619.
- Koppes, L., Meyer, M., Oonk, H., de Jong, M., Nanninga, N. (1980). Correlation between size and age at different events in the cell division cycle of *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 143, pp. 1241-52.
- Kutalik, Z., Razaz, M., Elfwing, A., Ballagi, A., Baranyi, J. (2005). Stochastic modelling of individual cell growth using flow chamber microscopy images. *Int J Food Microbiol*.
- Le Cloirec. (1998). Les composés organiques volatils (COV) dans l'environnement. Lavoisier 2000. Paris, Tec & Doc, p 734.
- Lenz, R.W. 1993. Biodegradable polymers. *Advances in Polymer Science*. 107: p1-40.
- Leveau, J.Y., Bouix, M., (1993). *Microbiologie industrielle: les microorganismes d'intérêt industriel*. Techniques et Documentation. Lavoisier, Apria, Paris, p. 612
- Liira, J. et al., (1988). Coexposure of man to m-xylene and methyl ethyl ketone. Kinetics and metabolism. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*. Vol. 14, pp. 322-327
- Michael, L., Fikert, K.(1992). *Bioprocess Engineering Basic Concepts*, prentice hall P T R Englewood Cliffs, New jersey 07632. pp. 48-53.
- Molz, F. J., Widdowson, M., Benefield, L. D. (1986). Simulation of microbial growth dynamics coupled to nutrient and oxygen transport in porous media. *Water resources Research*, vol. 22, n°8, pp 1207-1216.,
- Mustin, M. (1987). *Le compost, gestion de la matière organique*. Editions François Dubusc : Paris, p. 954.
- Okpokwasili, G.C., Nweke, C.O., (2005). Microbial growth and substrate utilization kinetics. *African J. Biotechnol.* 5, pp. 305-317.
- Pohland, F., Kim, J. (1999). In situ anaerobic treatment of landfills for optimum stabilization and biogas production. *Water Science and Technology*, 40 (8), pp. 203-210.
- Rafson, H.J. (1998). *Odor and VOC control handbook*. New York : McGraw-Hill, p. 800.
- ReiNhart, D. R., Al-yousfi, A. B. (1996). The impact of leachate recirculation on municipal solid waste landfill operating characteristics. *Waste management and Research*, vol. 14, pp.337-346,
- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B., Lonvaud, A., (2000). *Handbook of*

enology : the microbiology of wine and vinifications, Vol. 1. John Wiley & Sons, Angleterre, p. 454.

Saravanan, P., Pakshirajan, K., Saha P. (2006). Modeling the Degradation of Phenol by a mixed microbial culture in a Batch Reactor. Proceedings of International Symposium & 59th Annual Session of IChE in association with International Partners (CHEMCON-2006), GNFC Complex, Bharuch, December 27-30, 2006.

Sokol, W. (1986). Oxidation of an inhibitory substrate by washed cells (oxidation of phenol by *Pseudomonas putida*). *Biotechnol. Bioengng.* 30, pp. 921-927.

Stahelin, J., Keller, C., Stahel, W., Schlapfer, K., Wunderli, S. (1998). Emission factors from road traffic from a tunnel study (Gubrist tunnel, Switzerland). Part III: Results of organic compounds, SO₂ and speciation of organic exhaust emission, *Atmospheric Environment*, pp. 999-1009.

Tang, W.T., Fan, L.S., (1987). Steady state phenol degradation in a draft tube gas-liquid-solid fluidized bed bioreactor. *AIChE J.* 33, pp. 239-249.

Vincoli, J.W. (1997). Risk management for hazardous chemicals: G-Z. Vol. 2. Boca Raton: Lewis Publishers. [RM-515112]

Yarrow, D., (1984). Genus 22. *Saccharomyces* Meyen ex Reess. Dans: *The yeasts: a taxonomic study*, 3ème édition (Edité par Kreger-van Rij N.J.W.). Elsevier Science Publishers, Amsterdam, pp. 379-395.

Zhou, X., Mopper, K. (1997). Photochemical production of low-molecular-weight carbonyl compounds in seawater and microlayer and their air-sea exchange, *Marine Chemistry*, pp. 201-213.

Résumé

La pollution par les COV devient de plus en plus préoccupante. Les études de leurs traitements sont nombreuses, cependant, les biotraitements des COV n'ont été pris en considération que récemment. L'étude que nous avons menée a montré le pouvoir de dégradation de la méthyléthylcétone dans un réacteur batch par l'utilisation d'une culture mixte de micro-organismes prélevée dans les bassins d'aération de la station d'épuration biologique d'El Menia Constantine. L'étude a été menée à 35°C.

Ce travail porte à la fois sur l'étude des caractéristiques de croissance des microorganismes et de la biodégradation du polluant. Nous avons aussi examiné l'influence de nombre de paramètres opératoires telles que :

- la concentration initiale en biomasse,
- la concentration initiale de MEK sur la vitesse de dégradation et sur le rendement de conversion de substrat en biomasse et
- l'influence de la présence de l'acétone comme seconde source de carbone.

Mots clés : COV, méthyléthylcétone, biodégradation, modélisation, milieu nutritif.

Abstract

Pollution from VOCs is the subject of numerous treatment studies; however, the biotreatment of VOCs has been considered only recently. The study that we conducted showed the effective degradation of methylethylketone in a batch reactor by using a mixed culture of microorganisms taken from the aeration tanks of biological treatment plant of El Menia Constantine. The study was carried out at 35 ° C.

This work involves both the study of the kinetics of growth characteristics of microorganisms and of the biodegradation of the pollutants. We also examined the influence of a number of operating parameters such as:

- The initial concentration of biomass
- The initial concentration of MEK on the rate of substrate degradation and the yield of substrate conversion into biomass and
- The influence of the presence of acetone as a second source of carbon.

Key words: COV, methylethylketone, biodegradation, modeling, nutritive medium

ملخص

إن التلوث بالمركبات العضوية المتطايرة أدى إلى زيادة الاهتمام بطرق معالجتها غير أن المعالجة البيولوجية لم تحض بالاهتمام الكافي إلا حديثاً.

الدراسة التي قمنا بها تبين قدرة تحلل الميثيل إيثيل كيتون في مفاعل (batch) باستعمال مزيج من الكائنات الحية الدقيقة المأخوذة من حوض التهوية من محطة المعالجة البيولوجية بالمنية (قسنطينة). الدراسة تم إجراؤها في درجة حرارة ثابتة 35 م.

هذا العمل يهتم بدراسة كلا من خصائص الكائنات الحية الدقيقة والتحلل البيولوجي للملوث كما قمنا أيضاً بدراسة مجموعة من العوامل العملية مثل :

- التركيز الابتدائي للكائنات الحية الدقيقة
 - التركيز الابتدائي للميثيل إيثيل كيتون على سرعة التحلل وكذلك على مردود الكتلة الحيوية
 - تأثير وجود الأسييتون كمصدر ثاني للكربون
- الكلمات المفتاح : الميثيل إيثيل كيتون, التحلل البيولوجي, بالمركبات العضوية المتطايرة