

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

N° d'ordre :
Série :

MEMOIRE

PRESENTE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE :

MAGISTER EN CHIMIE PHYSIQUE ET ANALYTIQUE

***BIODEGRADATION DU METHANOL EN REACTEUR
BATCH ET ETUDE DE L'INFUENCE DES PARAMETRES
PHYSICO- CHIMIQUE SUR LA CINETIQUE***

Par

BOUZIANE Mokhtar

Devant le jury :

Président	: Mr H. ALI-KHODJA	Professeur	Université Mentouri-Constantine.
Encadreur	: Mr A. DERRADJI	M. C	Université Badji- Mokhtar-Annaba.
Examineur	: Mr A.K. HAOUAM	Professeur	Université Mentouri-Constantine.
Examineur	: Mr C. MOUATS	Professeur	Université Mentouri-Constantine.

Soutenu le : 06 juillet 2009

Je dédie ce travail

A mes parents

A mes frères et ma sœur

A toute la famille BOUZIANE

A mes amis

*Vous êtes toujours présents dans mon cœur et
mon esprit*

REMERCIEMENT

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de pollution et traitement des eaux de l'Université Mentouri de Constantine.

Je voudrais exprimer mes remerciements les plus sincères et le plus chaleureux à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à son bon déroulement.

*Qu'il me soit permis d'exprimer ici à mon encadreur **Dr:A. DERRADJI** le témoignage de ma profonde reconnaissance pour les conseils qu'elle n'a cessé de me prodiguer au cours de ce travail.*

*Je remercie **Mr H. ALI-KHODJA**, professeur à l'université mentouri de Constantine, pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider le jury de soutenance de ce mémoire.*

*J'exprime toute ma gratitude à professeur **Mr A.K. HAOUAM**, à l'université mentouri de Constantine, d'avoir accepté de faire partie de ce jury et d'examiner ce travail.*

*Je tiens à adresser mes plus vifs remerciements à **Mr C. MOUATS**, professeur de à l'université mentouri de Constantine d'avoir accepté de faire partie de ce jury de ce travail.*

Ainsi que tous ceux et toutes celles qui ont toujours été très ouverts à mes multiples questions et interrogations.

SOMMAIRE

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	
I.1. Les composés organiques volatils (COV).....	3
I.1.1. Définitions des COV.....	3
I.1.2. Principales sources de COV.....	4
I.1.2.1. Des transports.....	5
I.1.2.2. Du secteur résidentiel et tertiaire.....	5
I.1.2.3. Des procédés industriels.....	5
I.1.2.4. Du secteur de l'agriculture et des forêts.....	5
I.1.3. Les impacts des COV sur la santé et l'environnement.....	6
I.1.3.1. Des impacts sur la santé.....	6
I.1.3.1.1. Des effets sur la santé très variés.....	6
I.1.3.1.2. De multiples effets chroniques.....	6
I.1.3.1.3. Des effets sur la plupart des fonctions de l'organisme.....	7
I.1.3.1.4. Des effets cancérigènes.....	7
I.1.3.1.5. Des effets sur la reproduction et le développement.....	8
I.1.3.1.6. Des effets mutagènes.....	8
I.1.3.2. L'impact des COV sur l'environnement.....	9
I.1.4. Les techniques de traitement des COV.....	10
I.1.4.1. Technique de récupération.....	10
I.1.4.1.1. Condensation.....	10
I.1.4.1.2. Adsorption.....	11
I.1.4.2. Les techniques de destruction.....	12
I.1.4.2.1. Destruction par oxydation.....	12
I.1.4.2.2. Destruction par voie biologique.....	13
I.1.5. Traitement biologique des COV.....	15
I.1.5.1. Les biolaveurs.....	16

I.1.5.2. Les filtres percolateurs (biotrickling).....	16
I.1.5.3. Biofiltres.....	17
I.2. Biodégradation – Biodégradabilité – biotransformation.....	18
I.3. Micro-organismes, nutrition et écologie microbienne.....	19
I.3.1. Micro-organisme.....	19
I.3.2. Nutrition et croissance microbienne.....	23
I.3.2.1. Introduction.....	23
I.3.2.2. Nutrition des micro-organismes.....	23
I.3.2.3. Croissance des micro-organismes.....	24
I.3.3. Notions générales d'écologie microbienne et facteurs d'influence de la croissance.....	26
I.3.3.1. Introduction à l'écologie microbienne.....	26
I.3.3.2. Facteurs environnementaux.....	27
I.3.3.2.1. Causes chimiques.....	28
I.3.3.2.1.1. Poids moléculaire.....	28
I.3.3.2.1.2. Nature, nombre et position des substituant.....	29
I.3.3.2.2. Causes physico-chimiques.....	29
I.3.3.2.3. Causes environnementales.....	29
I.3.3.2.3.1. Concentration trop faible, trop grande ou trop variable.....	29
I.3.3.2.3.2. pH.....	30
I.3.3.2.3.3. Température.....	30
I.3.3.2.3.4. activité de l'eau (A_w : water activity).....	31
I.3.3.2.3.5. Potentiel rédox.....	31
I.3.3.2.3.6. Nutriments.....	31
I.3.3.2.3.7. Présence d'inhibiteurs.....	32
I.3.3.2.4. Causes biologiques.....	32
I.4. Le méthanol.....	33
I.4.1. Utilisation et sources d'émission.....	34
I.4.2. Toxicité du méthanol sur l'homme.....	35
I.4.2.1. Effets d'une exposition grave de courte durée.....	35
I.4.2.2. Effets d'une exposition de longue durée (chronique).....	36

I.4.3. Biodégradabilité du méthanol.....	36
--	----

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

II.1. Description du réacteur batch.....	38
II.2. Origine du consortium.....	38
II.3. Choix du milieu nutritif.....	38
II.4. Mesure de la concentration Cellulaire X.....	40
II.5. Étalonnage de spectrophotomètre.....	40
II.6. Prélèvement.....	41
II.7. Définition générale de la chromatographie.....	42
II.8. La chromatographie en phase gazeuse.....	42
II.8.1. L'injecteur.....	43
II.8.2. La colonne.....	43
II.8.3. Le détecteur.....	44
II.9. Conditions opératoires de mesure de la concentration en substrat S.....	46
II.10. Calcul de la charge maximale de méthanol biodégradable dans un réacteur	47
II.11.1. pH.....	48
II.12. Standardisation l'inoculum.....	49
II.13. Préparation de l'inoculum.....	49

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Influence de la concentration initiale en méthanol S_0 sur la biodégradation..	51
III.1.1. Présentation des résultats.....	51
III.1.1.1. Traitement des résultats.....	51
III.1.1.2. Modélisation de la croissance	52
III.1.1.3. Modélisation de la consommation du méthanol.....	54
III.1.1.4. Taux de croissance spécifique μ	59
III.1.1.5. La vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{x,MET}$	66
III.1.1.6 Rendement de conversion du méthanol en biomasse $Y_{X/MET}$	74
III.1.2. Discussions à des résultats.....	75
III.1.2.1. Croissance.....	75

III.1.2.1.1. Phase de latence.....	75
III.1.2.1.2. Croissance et dégradation.....	75
III.1.2.1.3. Taux spécifique de croissance.....	76
III.1.2.2. Dégradation.....	78
III.1.2.2.1. Vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{X,MET}$	78
III.1.2.2.2. Rendement de conversion du méthanol en biomasse $Y_{X/MEY}$	79
III.2 .Effet de la concentration initiale de biomasse X_0	79
III.3. Influence de la température sur la biodégradation du méthanol.....	83
III.4. Influence de la présence du chloroforme ($CHCl_3$) sur la biodégradation du méthanol.....	86
III.4.1. Biodégradation.....	86
III.4.2. Présentation des résultats.....	87
III.5. Influence de la présence de l'éthanol sur la biodégradation du méthanol.....	93
III.6. Caractéristiques des taux spécifiques de croissance de la biodégradation....	95
III.6.1. Le Taux de croissance Spécifique.....	96
III.6.2. Modélisation de taux spécifique.....	96
III.6.2.1. Le Modèle de Monod	96
III.6 .2.2. Le Modèle d'Haldane.....	97
III.6.3. Modélisation de taux spécifique pour le méthanol.....	97
III.6.4. Modélisation de taux spécifique pour l'éthanol.....	99
III.6.5. Modélisation de taux spécifique pour le mélange (MeOH + EtOH).....	101
CONCLUSION.....	104
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	106

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Les composés organiques volatils (COV) favorisent le développement d'ozone troposphérique responsable du smog d'été et peuvent nuire à la santé et à l'environnement. Leurs origines principales sont l'utilisation de solvants, l'industrie du pétrole, l'industrie de la chimie organique, les petits foyers de combustion, l'industrie alimentaire, la sidérurgie, la manutention, le traitement des déchets, l'agriculture et les transports.

Afin de limiter les émissions de COV en provenance de la mise en œuvre de solvants en industrie, elles ont été réglementées par la directive européenne 1999/13/CE relative à la réduction des émissions des composés organiques volatils dues à l'utilisation de solvants organiques dans certaines activités et installations.

Le méthanol est l'un des solvants organiques les plus importants sur le plan industriel. Il est considéré comme l'un des substrats de départ les plus employés de l'industrie avec les plus forts tonnages affichés dans tous les pays industrialisés et une demande croissante qui augmente de 6 % par an [1]. Il est donc rejeté dans l'environnement en quantités importantes durant sa production, son stockage, son transport ou encore son utilisation [2].

La biodégradation du méthanol a été étudiée sous une large variété de condition et de milieu, y compris les eaux de surface, les eaux souterraines, les dépôts et les microsomes du sol. Le méthanol est complètement dégradé et sa dégradation ne produit pas d'intermédiaires persistants [3]. Des études plus approfondies ont montré qu'à des concentrations de méthanol inférieures à 3000 mg/l, le méthanol se dégrade facilement et rapidement dans différents environnements aquatiques. Il est dégradé par une large variété de bactéries aérobies et anaérobies.

Les travaux en cours visent à obtenir le maximum de données expérimentales concernant la croissance de micro-organismes et la dégradation concomitante

de COV afin de prédire leur comportement dans le milieu naturel ou contrôlé tel que dans le cas de réacteurs continus intégrant les cultures faisant l'objet de recherches en mode batch

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.

Le deuxième chapitre présente le matériel et les méthodes utilisés dans notre étude.

Le troisième chapitre présente les résultats et les discussions ainsi que l'étude de l'influence de quelques paramètres à savoir :

- Influence de la concentration initiale en méthanol S_0 .
- Influence de la concentration initiale de biomasse X_0 et la détermination de la concentration initiale de biomasse adéquate pour la dégradation.
- Influence de la température sur la biodégradation et la détermination de la température convenable.
- Influence de la présence d'un substituant gênant la biodégradation, le chlore provenant du chloroforme (CHCl_3).
- Influence de la présence de l'éthanol.

Enfin une étude des caractéristiques des taux spécifiques de croissance de la biodégradation pour le méthanol et pour le mélange (méthanol + éthanol).

CHAPITRE I :

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Les composés organiques volatils (COV)

I.1.1. Définitions des COV

La définition d'un composé organique volatil (COV) repose à la fois sur des critères chimiques et physiques. En effet, les COV sont tout d'abord des composés organiques, c'est-à-dire des composés contenant au moins l'élément carbone et un ou plusieurs autres éléments tels que l'hydrogène, l'oxygène, l'azote, les halogènes (fluor, chlore, brome, iode), le soufre, le phosphore, le silicium, etc. De plus, les COV se caractérisent par leur grande volatilité : ils passent facilement de l'état liquide à l'état gazeux, dans les conditions normales de pression et de température.

Cependant, il existe des hétérogénéités, voire des ambiguïtés, dans les définitions couramment utilisées pour les COV. Ces hétérogénéités s'expliquent en partie par le fait que différents critères peuvent être utilisés pour déterminer si un composé est volatil, notamment sa pression de vapeur saturante ou sa température d'ébullition. La température d'ébullition d'un composé correspond à la température à laquelle le changement d'état liquide-gaz a lieu. Aux températures supérieures à cette température d'ébullition, le composé n'est plus que sous sa forme gazeuse. Donc, plus la température d'ébullition d'un composé est faible, plus ce composé est volatil. La pression de vapeur saturante correspond, quant à elle, à la pression de la phase gazeuse du composé se trouvant en équilibre au-dessus de sa phase liquide, à une température donnée. Plus la pression de vapeur saturante d'un composé est élevée, plus le composé est volatil. Il est donc possible de raisonner à partir de l'un ou l'autre des critères pour aboutir à une définition des COV.

Ainsi, une définition précise, et souvent reprise, est celle de la directive européenne n° 1999/13/CE [4] qui repose sur la pression de vapeur saturante. Cette directive définit un composé organique volatil comme « un composé organique ayant une pression de vapeur de 0,01 kPa ou plus à une température de 293,15 K [c'est-à-dire 20 °C] ou ayant une volatilité correspondante dans

les conditions d'utilisation particulières ». Une autre façon de définir les COV est celle du décret n° 2006-623 [5] qui repose sur la température d'ébullition. D'après ce décret, les COV regroupent tous les composés organiques dont le point d'ébullition, mesuré à la pression standard de 101,3 kPa, est inférieur ou égal à 250°C. De même, la norme NF ISO 16000-6 définit les COV selon leur température d'ébullition et distingue, d'après la classification adoptée par l'OMS en 1989, les composés organiques très volatils, volatils et semi-volatils.

D'autres définitions plus vagues, ou du moins plus générales, peuvent être retrouvées dans la réglementation. Dans ce sens, d'après la directive NEC (National Emission Ceilings) n° 2001/81/CE [6], les COV sont tous les composés organiques découlant des activités humaines, autres que le méthane, et capables de produire des oxydants photochimiques par réaction avec des oxydes d'azote en présence de lumière solaire.

En général, le méthane n'est pas pris en compte dans les études sur les COV en raison de sa large présence naturelle dans l'air et de son innocuité. En effet, le méthane est notamment issu de la décomposition bactérienne de la matière organique. De plus, il est pratiquement inerte du point de vue photochimique.

I.1.2. Principales sources de COV

Il existe différents types de COV : les composés d'origines anthropique, biogénique, ou mixte, et les composés pouvant résulter d'une activité photochimique. Les COV sont des polluants primaires et secondaires.

Les émissions de COV sont estimées à environ 1 milliard de tonnes par an dans le monde. Les émissions d'origine naturelle représentent environ 90% des émissions totales. Elles proviennent majoritairement de la fermentation, des fuites de gaz naturel et de la végétation. Le reste des émissions est d'origine anthropique et provient généralement des industries, des solvants et des transports.

Les COV proviennent essentiellement :

I.1.2.1. Des transports

Une des principales sources de pollution est due aux émissions par les véhicules légers et les poids lourds (30% environ). Les COV émis proviennent des gaz d'échappement et de l'évaporation du carburant. Parmi ces COV on retrouve :

- les BTEX (Benzène, Toluène, Ethylbenzène et Xylènes) qui sont considérés comme des témoins de la pollution automobile car ils sont majoritairement présents dans les carburants et solvants pétroliers [7, 8, 9,10]
- les alcanes qui sont souvent associés à la pollution occasionnée par les véhicules diesels [11,12].
- l'isoprène (composé d'origine mixte) qui est présent également dans les essences,
- les additifs (éthers) tels que le MTBE (Méthyl TertioButhyl Ether) et l'ETBE (Ethyl TertioButhyl Ether) qui sont introduits dans la formulation des essences et qui sont susceptibles de se retrouver dans les gaz d'échappements des véhicules [13].

I.1.2.2.Du secteur résidentiel et tertiaire

L'utilisation domestique et artisanale de solvants, de peintures, dégraissants, désinfectants, Conduit à l'émission massive de COV [14]. Parmi ces composés, on retrouve des composés carbonylés et des composés chlorés, excellents solvants pour un grand nombre de substances synthétiques ou naturelles.

I.1.2.3. Des procédés industriels

Les composés chlorés, notamment le dichlorométhane, servent de solvant d'extraction dans les industries alimentaires et pharmaceutiques. Les composés carbonylés sont également utilisés dans l'industrie des plastiques, des peintures, et aussi au sein des usines d'incinération [15].

I.1.2.4. Du secteur de l'agriculture et des forêts

Alcanes .Ce secteur essentiellement composé de sources biogéniques, comprend

de nombreux composés organiques volatils : les terpènes, émis principalement par la végétation [18]; l'isoprène qui provient des arbres à feuilles caduques et de certaines plantes [19]; les aldéhydes émis par les plantes, les insectes, les excréments animales, la combustion de la biomasse; et les alcanes [16,17].

I.1.3. Les impacts des COV sur la santé et l'environnement

I.1.3.1. Des impacts sur la santé

Compte tenu de leur multitude et de leur hétérogénéité, les COV sont susceptibles d'avoir des effets sur la santé humaine très variés. Si les effets de certains COV sont bien connus, la plupart des COV sont peu étudiés et leur effets encore peu documentés.

I.1.3.1.1. Des effets sur la santé très variés

La toxicité aiguë résulte d'une exposition à une forte dose sur une courte période. Une exposition à des concentrations très élevées de COV dans l'air ou l'ingestion de grandes quantités de COV peuvent entraîner la mort, mais ces cas se révèlent très rares.

Une exposition aiguë aux COV entraîne le plus souvent des irritations des voies respiratoires, de la peau, ainsi que des atteintes du système nerveux central (fatigue, maux de tête, vertiges, etc). Parmi les COV très irritants, on trouve le formaldéhyde [20]. Cependant ces effets sont généralement transitoires.

I.1.3.1.2. De multiples effets chroniques

L'exposition à de faibles concentrations de COV sur une longue période peut affecter l'organisme, avec des effets variés sur diverses fonctions de l'organisme, mais aussi des effets cancérigènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction et le développement. Les effets chroniques des COV sont difficiles à mettre en évidence. En effet, le faible nombre de personnes exposées et le long temps de latence pour de nombreuses maladies entraînent des difficultés

méthodologiques pour l'étude de ces effets à long terme. Les données proviennent principalement d'études réalisées en milieu professionnel, où les individus sont susceptibles d'être exposés à de fortes doses de COV. Par ailleurs, les personnes sont souvent exposées à des mélanges de COV et la composition ainsi que la concentration des COV inhalés ne sont en général pas connues précisément. Les résultats sont alors difficilement interprétables.

I.1.3.1.3. Des effets sur la plupart des fonctions de l'organisme

Pour de nombreux COV, une exposition chronique peut entraîner des effets neurologiques. Des altérations du comportement et des potentiels auditifs et visuels ont été observées. A des Concentrations élevées, des effets neurologiques sévères tels que des tremblements, des troubles de mémoire ont été décrits. Des études ont notamment montré ces effets pour le toluène [21, 22]. Une exposition chronique aux COV peut aussi avoir des effets sur la fonction respiratoire. Une revue de la littérature indique qu'une relation entre exposition aux COV et asthme est souvent en évidence dans les études [23]. Des effets sanguins et sur le système immunitaire sont également observés, principalement pour le benzène pour lequel de nombreuses études ont mis en évidence ces effets. D'autres effets sont susceptibles d'être observés, notamment hépatiques, rénaux, cardiovasculaires, mais sont encore peu documentés.

I.1.3.1.4. Des effets cancérigènes

Pour déterminer le pouvoir cancérigène spécifique de chaque COV, les données disponibles (études épidémiologiques, études expérimentales chez l'animal) sont très variables d'un COV à l'autre. Si les effets cancérigènes de certains composés sont largement étudiés et plus ou moins reconnus (benzène, formaldéhyde), pour d'autres les données sont insuffisantes voire inexistantes. Le benzène est classé dans la catégorie 1 par l'Union européenne et le Centre International de Recherche sur le Cancer, c'est-à-dire comme substance cancérigène. Plus de 25 études ont

rapporté une augmentation des taux de cancer au cours d'expositions professionnelles au benzène. Le formaldéhyde, quant à lui, est classé dans la catégorie 1 par le CIRC, mais dans la catégorie 3 par l'Union européenne, c'est-à-dire comme substance préoccupante en raison d'effets cancérigènes possibles. Une demande de réévaluation est en cours au niveau de l'Union européenne.

I.1.3.1.5. Des effets sur la reproduction et le développement

Certaines études ont montré un lien entre l'exposition à certains COV et des altérations de la reproduction et du développement, notamment une augmentation du risque d'avortements spontanés, de malformations congénitales ou une augmentation du délai nécessaire pour concevoir. Le toluène fait partie des substances les plus préoccupantes en raison de ses effets possibles sur la fertilité et sur le développement (catégorie 3 pour l'Union européenne). De même, certains éthers de glycol sont assimilables à des substances altérant la fertilité (catégorie 2 pour l'Union européenne). En effet, un ensemble de résultats concordants est en faveur de l'existence d'un lien entre infertilité masculine et exposition professionnelle [24]. Pour de nombreux autres COV, les données sont plus limitées, en raison notamment du faible nombre de personnes exposées et d'une exposition fréquente à des mélanges de composés chimiques. Elles ne permettent donc pas de conclure sur leur éventuel effet sur la reproduction ou le développement sans pour autant faire preuve de leur innocuité.

I.1.3.1.6. Des effets mutagènes

Une substance mutagène est un agent qui augmente l'apparition de modifications permanentes du nombre ou de la structure du matériel génétique dans un organisme. Quelques COV sont considérés comme assimilables à des substances mutagènes ou préoccupantes en raison d'effets mutagènes possibles, comme le benzène. Mais très souvent les études disponibles sont des études expérimentales in vivo chez l'animal ou in vitro et les études chez l'homme sont insuffisantes pour conclure sur cet effet mutagène.

I.1.3.2. L'impact des COV sur l'environnement [25]

L'atmosphère est en permanence l'objet d'une importante contamination par de nombreux polluants d'origines naturelles ou anthropiques, présents à l'état gazeux ou sous forme particulaire. Parmi ceux-ci, les COV tiennent une place remarquable du fait des quantités présentes, de la diversité de leurs origines, de leurs structures, et de leurs caractéristiques vis à vis des écosystèmes.

L'impact environnemental des COV est lié à leur réactivité chimique avec les autres composés gazeux de l'atmosphère. Chaque COV a une réactivité qui lui est propre et qui conditionne son temps de vie dans l'atmosphère.

Quelques exemples de constantes cinétiques et de temps de séjour sont donnés dans les tableaux (1) et (2).

Tableau 1. Constantes cinétiques de réactions avec le radical OH

($k \text{ cm}^3 \text{ molécules}^{-1} \text{ s}^{-1}$; 22).

Composé	Benzène	Toluène	Ethylbenzène	Octane	Décane	Isoprène	Limonène	Formaldéhyde
k	1.2	5.96	7.1	8.68	11.5	101	17	9.37

Tableau 2. Temps de séjour (jour) de quelques composés organiques volatils.

Composé	Benzène	Toluène	Formaldéhyde	Acétaldéhyde
Temps de séjour	14	2,8	0,9	0,6

D'après les tableaux précédents il est clair que la réactivité des COV ainsi que les temps de séjour sont spécifiques à chaque composé.

La production d'ozone troposphérique due aux COV, comme on l'a vu précédemment, induit des répercussions au niveau de la végétation. En effet, l'ozone peut perturber l'activité photosynthétique des végétaux, altérer leurs résistances, diminuer la productivité des cultures et provoquer des lésions

caractéristiques [25].

L'échelle MIR (Maximum Incremental Reactivities) créée par CARTER fournit un indice correspondant à la capacité qu'a un composé pour former de l'ozone par gramme de composé émis. Plus cet indice est élevé, plus la quantité d'ozone formée va être importante et plus le composé va participer à la formation des oxydants secondaires. Quelques exemples sont donnés dans le tableau (3).

Tableau 3. Exemples d'indices de création d'ozone (en gramme d'ozone formé par gramme de COV émis).

Composé	Benzène	Toluène	Ethylbenzène	Octane	Décane	Isoprène	α -pinène	Formaldéhyde
MIR	0,81	3,97	2,7	1,11	0,83	10,69	4,29	7,2

I.1.4. Les techniques de traitement des COV [26]

On distingue les techniques de récupération qui permettent de valoriser les solvants en tant que matière première et les techniques de destruction qui permettent (parfois) de valoriser les solvants sous forme énergétique.

I.1.4.1. Technique de récupération

Les trois principales techniques de récupération sont :

- la condensation** : mécaniques/ou cryogénique
- **l'adsorption** : sur charbon actif en grains, sur tissu de charbon actif, sur zéolithes, sur gel de silice, sur polymères et autres adsorbants
- l'absorption**: par lavage à l'eau, à l'huile ou autre absorbant

I.1.4.1.1. Condensation

C'est un procédé adapté à des faibles débits d'effluents gazeux ($< 1000 \text{ m}^3/\text{h}$) avec de fortes concentrations de solvants qui permet de récupérer les composés sans modification de composition.

Domaines d'application : stockage d'hydrocarbures, chimie, pétrochimie, pharmacie et certaines applications de dégraissage (pulvérisation).

Les C.O.V. Sont largement utilisés en raison de leur capacité à s'évaporer dans l'air. Leur taux d'évaporation est grossièrement proportionnel à leur pression de vapeur. Lorsqu'une évaporation rapide est requise (pulvérisation de peinture par exemple) le solvant utilisé aura une pression de vapeur importante à température ambiante. Si une évaporation plus lente est requise (nettoyage de pièces mécaniques), le solvant utilisé aura une pression de vapeur plus basse à température ambiante.

Principe

Le principe de la condensation est limité par la pression de vapeur saturante des solvants. La pression de vapeur d'un solvant est la pression exercée par la vapeur à l'équilibre avec la phase liquide et/ou la phase solide. A pression constante et pour une composition globale donnée, un mélange est entièrement gazeux à une température supérieure à sa température de rosée (température à laquelle apparaît la première goutte de liquide lorsque que l'on refroidit à pression constante le mélange gazeux); il est entièrement liquide à une température inférieure à sa température d'ébullition et il est en équilibre Liquide-Vapeur entre ces deux températures.

I.1.4.1.2. Adsorption

L'adsorption est un phénomène physique par lequel un solide fixe les molécules d'un corps sur sa surface. L'adsorbant le plus utilisé pour les gaz et les vapeurs organiques est le charbon actif, mais on peut utiliser le gel de silice, des argiles particulières, des résines, etc. Le charbon actif est un carbone microporeux obtenu, par exemple, à partir de tourbe, bois, lignite, charbon bitumineux ou noix de coco. Au cours de l'activation se forment des pores de dimensions moléculaires qui sont la base d'une grande surface interne. Cette surface peut dépasser 1000 m² par gramme de charbon.

Les atomes de carbone présents à la surface interne du charbon actif exercent une force d'attraction sur les molécules des liquides et gaz ambiants. La puissance de ces forces est en partie déterminée par la nature des molécules présentes dans le milieu environnant.

Un certain nombre de molécules sont puissamment attirées par le charbon actif, les autres à un moindre degré. Le charbon actif se présente sur forme de grains, de tissu ou de feutre.

Il faut distinguer l'adsorption de l'absorption, ce dernier terme s'applique au remplissage d'un corps poreux par un liquide sans que celui-ci soit retenu par une quelconque force autre que la capillarité (absorption d'eau par une éponge). Il s'applique aussi pour désigner la fixation de l'humidité de l'air par un corps hygroscopique (chlorure de calcium, acide sulfurique etc) et pour désigner la dissolution d'une vapeur par un liquide, phénomène utilisé dans les procédés de lavage de gaz.

I.1.4.2. Les techniques de destruction

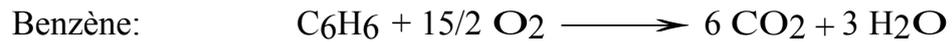
Les techniques de destruction sont utilisées généralement pour le traitement de mélanges de composés où la récupération serait complexe ou coûteuse. Elles permettent parfois de valoriser les solvants sous forme énergétique par récupération de chaleur dégagée lors d'une oxydation par exemple. Les deux familles de techniques par destruction sont l'oxydation thermique et le traitement biologique des composés.

I.1.4.2.1. Destruction par oxydation

L'oxydation consiste à transformer les molécules à l'état de CO_2 et H_2O moins nuisibles pour notre environnement en utilisant l'oxygène de l'air comme oxydant. La réaction chimique de base pour l'oxydation des hydrocarbures, C_mH_n , est donnée par :



Exemple:



Toutefois en présence d'autres atomes comme l'azote, le chlore et le soufre, des polluants secondaires tels que NO, HCl, SO₂ vont se constituer, il sera nécessaire dans ce cas de prévoir un traitement complémentaire de neutralisation. La réaction d'oxydation s'accompagne d'un dégagement de chaleur (ΔH) qui dépend de la nature du polluant.

Cette réaction n'est pas instantanée, aussi, pour oxyder les polluants, on porte le mélange de polluants et d'air à une température suffisante et pendant une durée suffisante pour que la réaction s'opère. On appelle communément « Règle des 3 T » les conditions indispensables à la réaction d'oxydation :

- Température :

Elle doit être supérieure à la température d'auto inflammation du polluant à oxyder (> 750°C pour une oxydation thermique).

- Turbulence :

Le mélange entre les polluants et l'oxygène nécessaire à la réaction (> 16%) doit être le plus homogène possible.

-Temps de séjour.

I.1.4.2.2. Destruction par voie biologique

L'épuration biologique repose sur la dégradation des composés organiques volatils (COV) en CO₂ + H₂O par des bactéries vivant en suspension dans un liquide ou déposées sur un support solide (tourbe, copeaux de bois, ...). Ce principe est largement utilisé dans le traitement d'effluents liquides (traitement d'eaux usées par voie aérobie ou anaérobie) de déchets solides

(compostage, traitement d'ordures ménagères), voire plus récemment dans la dépollution des sols.

Dans le cas du traitement biologique de gaz ces bactéries utilisent les composés organiques comme seule source de carbone pour leur biosynthèse (Anabolisme) et comme source d'énergie, indispensable à la dégradation d'un substrat (Catabolisme).

Dans le cas du traitement d'air, seul un métabolisme de type aérobie intervient. On distingue les biofiltres à support organique (tourbe ou autres) des filtres percolateurs à support minéral (zéolithes, chamotte ou autre) appelés aussi biofiltres à ruissellement. Dans le premier cas le support organique apporte au système des éléments nutritifs, l'humidité est maintenue par une aspersion ponctuelle d'eau et d'éléments nutritifs complémentaires le cas échéant. Dans le second cas, le support minéral est ensemencé de bactéries et un dispositif d'arrosage continu distribue l'eau et les compléments nutritifs nécessaires. Le développement des bactéries dans ce cas peut générer un colmatage ou des pertes de charge importantes qui sont contrôlées par des purges. En contrepartie cette technique réduit l'encombrement de l'équipement par rapport au biofiltre classique. Les micro- organismes ne peuvent se développer qu'en présence d'humidité, d'air et de chaleur (7 à 35°C). Le bon fonctionnement d'un procédé de biofiltration suppose que les trois conditions suivantes soient réunies :

- la surface du biofilm de transfert doit être maximisée pour favoriser l'absorption des COV contenus dans l'air.
- la température doit être maintenue hors gel
- les gaz doivent contenir suffisamment d'oxygène pour maintenir le procédé aérobie.

Les traitements par voie biologique sont généralement limités à de faibles concentrations ($<1,5 \text{ g/m}^3$) pour un rendement de dégradation allant jusqu'à 90%. Les limites en matière de débits sont directement liées à l'encombrement

(1 m³ de filtre environ par 100 m³/ h d'air traité). L'utilisation de biofiltres n'est pas récente, elle date des années 50. Plus particulièrement adaptée au traitement des odeurs, cette technique nécessite dans la plupart des cas des essais pilote permettant de confirmer la faisabilité de cette technique et les performances que l'on peut en attendre sur le traitement des COV.

I.1.5. Traitement biologique des COV

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 (CO₂et 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 (p.ex. 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.1.5.1. 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.1.5.2. 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 y atteindre plusieurs millimètres d'épaisseur. Ses 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 (minerais).

Ce filtre est arrosé continuellement. 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.1.5.3. 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 Microorganismes 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 uniforme peut être favorisée par l'ajout d'éléments plus légers au matériel de base (ex : 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 épurant 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.2. Biodégradation – Biodégradabilité - biotransformation

Généralement, les termes liés à la notion de biodégradation sont définis à l'échelle moléculaire et non à l'échelle du matériau et concernent dans la plupart des cas des substrats organiques. Le terme biodégradation généralement retenu dans la littérature scientifique correspond à une action de dégradation d'un composé organique par des agents biologiques (généralement microbiens) avec comme seuls rejets des produits simples tels que H_2O , CO_2 , CH_4 , H_2 , $Cl...$, mais encore des produits organiques simples (métabolites) tels que des acides organiques etc. Si la biodégradation du substrat organique est totale, c'est à dire formation uniquement de produits inorganiques tels H_2O , CO_2 , CH_4 , H_2 , on parle de minéralisation [27,28]. Le terme biotransformation implique la notion de transformation incomplète d'un substrat organique métabolisé qui n'aboutit donc pas forcément à son assimilation totale [27]. Il peut s'agir par exemple d'une oxydation partielle du substrat qui se traduit par un rejet de produits intermédiaires (métabolites) dans le milieu.

Le terme biodégradabilité regroupe les qualités nécessaires à une substance pour subir un processus d'altération microbienne.

L'altération microbienne ou bioaltération concerne non seulement les substances organiques mais aussi les substances inorganiques et résulte soit d'attaques

enzymatiques (action directe des micro- organismes), soit de modifications chimiques de l'environnement tels que le pH, sous-produit du métabolisme..., qui ont pour conséquence l'altération physique et/ou chimique (action directe) [29].

La détérioration, qui est l'action de détériorer ou son résultat, désigne une réduction de valeur du système [30]. Ce terme est souvent utilisé pour les matériaux solides tels que les plastiques, les pierres, les pièces métalliques etc. [31]. La biodétérioration se définit alors comme la réduction de qualité, de valeur ou de fonctionnalité du système considéré sous l'action directe ou indirecte et/ou partielle d'agents biologiques. Cette notion implique donc une appréciation du système en termes de «valeur» ou de «qualité » à partir des fonctions attribuées au système. Ainsi, la communauté scientifique propose de distinguer la détérioration, qui désigne la réduction ou perte de fonction d'un système, et l'altération ou la dégradation qui concernent les modifications des structures mécaniques et/ou chimiques (minérales ou organiques) du système considéré et qui peuvent ou non entraîner une réduction des fonctionnalités (détérioration) du système.

I.3. Microorganismes, nutrition et écologie microbienne

I.3.1. Microorganisme

Pour simplifier, la notion de micro-organisme sera ici limitée aux bactéries, levures, champignons filamenteux (moisissures) et algues classés en deux groupes. Procaryotes et eucaryotes, l'ensemble correspondant grosso modo aux protistes.

- Eucaryotes ou protistes supérieurs : (algues, protozoaires et champignons). Cellule avec un vrai noyau entouré d'une enveloppe nucléaire qui contient deux jeux semblables de chromosomes (cellule diploïde).

- Procaryotes ou protistes inférieurs (algues bleu-vert ou cyanophycées et bactéries). Cellule dépourvue d'un véritable noyau à tous les stades de son développement, un seul chromosome porteur de la grande majorité de l'information génétique (cellule haploïde).

Les bactéries et les algues bleues (ou cyanophycées) sont les plus petits organismes connus (diamètre 11µm, environ). Doués de métabolisme et capables de croître et de se diviser aux dépens de substance nutritives. Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires (voir figure 1). La membrane cytoplasmique joue un rôle fondamental dans les mécanismes de respiration et d'échanges chimiques avec le milieu extérieur. C'est une barrière qui empêche la fuite de composés intracellulaires et contrôle la pénétration des composés extracellulaires. La pénétration des éléments nutritifs est soit passive (diffusion selon la Loi de Fick), soit active (transport actif) avec l'intervention de protéines de transport, appelées perméases, présentes au niveau de la membrane cytoplasmique.

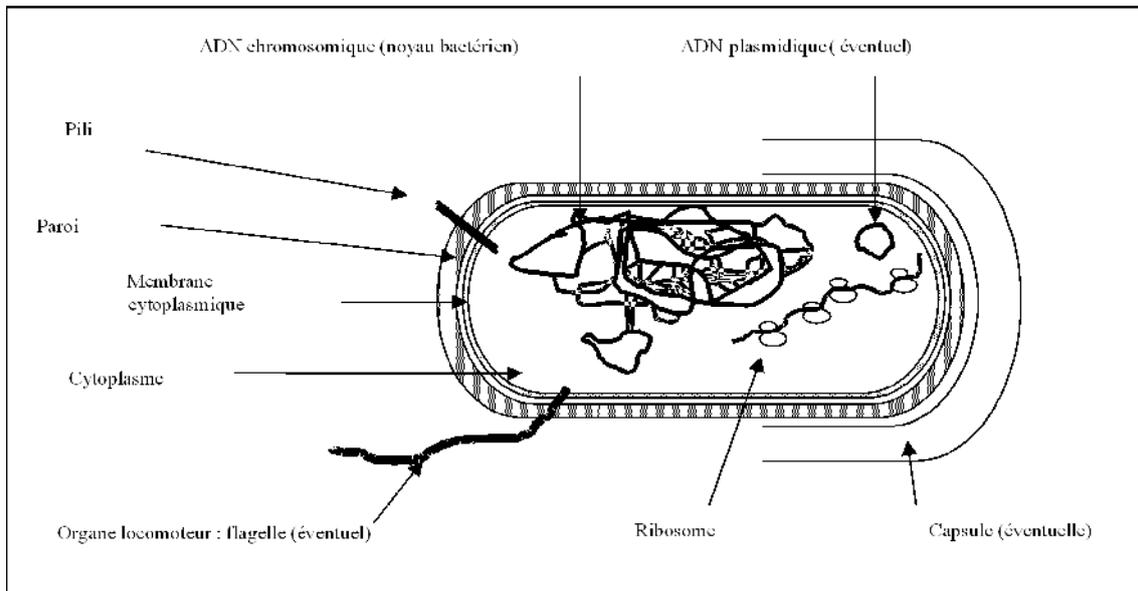


Figure 1. Schéma général d'une bactérie.

Les moisissures ou champignons filamenteux sont des micro-organismes eucaryotes à métabolisme aérobie. Dépourvus de pigments chlorophylliens, ils sont incapables d'effectuer la photosynthèse des algues ou des plantes supérieures. Ils tirent leur énergie de l'oxydation de composés organiques. On les rencontre en très grand nombre sur la matière organique en décomposition. Les moisissures sont des champignons caractérisés par une structure mycélienne. Leur appareil végétatif se

présente sous forme de filaments (hyphes) ramifiés, qui constituent le mycélium (ou thale) qui peut atteindre plusieurs mètres de longueur. L'organisation cellulaire est cénocytique : Ces filaments sont des tubes constitués de parois chitineuses qui constituent une enveloppe protectrice de la masse cytoplasmique mobile contenant de nombreux noyaux. Les hyphes laissent apparaître des cloisons transversales qui laissent supposer que ces filaments sont constitués de cellules séparées les unes des autres. En fait, les cellules communiquent entre elles par un pore central.

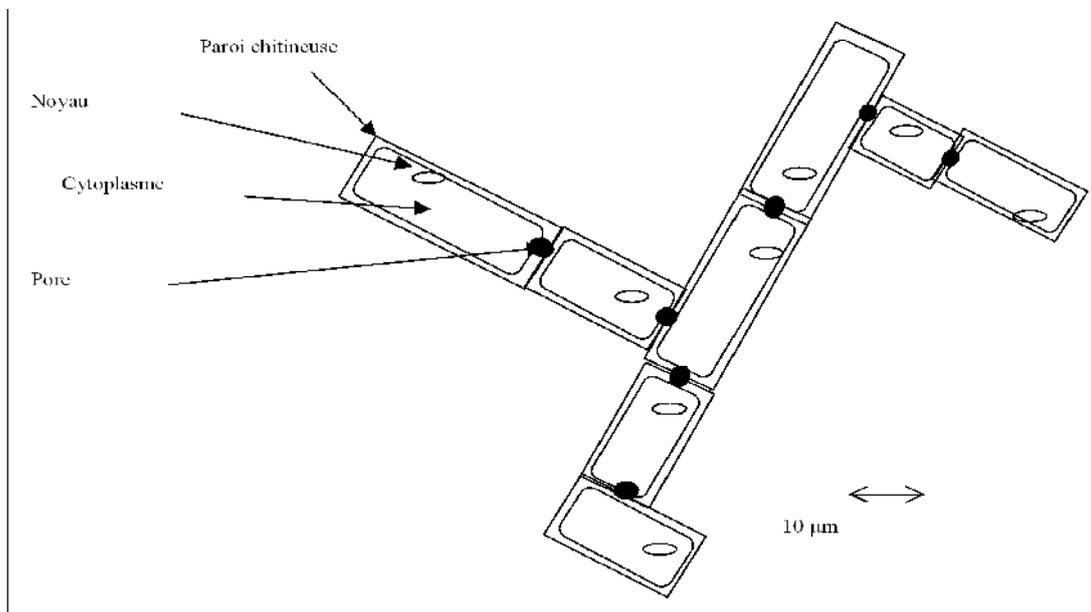


Figure 2. Schéma de la structure filamenteuse des moisissures.

Contrairement aux bactéries qui peuvent disposer de flagelles, les champignons sont incapables de se déplacer à cause de la rigidité des parois des hyphes. Leur développement sur un substrat solide conduit rapidement à un mycélium macroscopique généralement visible. La reproduction a lieu par production de spores. Elle peut être sexuée ou asexuée.

Les levures sont une branche des champignons mineurs en nombre d'espèces (seulement 350 espèces réparties dans 39 genres). Les levures sont des champignons

qui ont perdu la propriété de former un mycélium et qui sont devenus unicellulaires. Depuis des siècles, les levures sont utilisées par l'homme pour produire des boissons alcoolisées, pour la panification. Elles se développent principalement dans les milieux riches en sucres. Elles sont robustes, peu exigeantes et à croissance rapide. Sur la figure 3, on voit qu'en plus des constituants de la cellule procaryote, on a une membrane nucléaire, des mitochondries (siège des réactions d'oxydo-réduction, stockage d'ATP). Des structures de réticulum endoplasmique (rôle dans l'anabolisme, stockage), et l'appareil de Golgi (anabolisme pour synthèse de complexes polymériques). Notons que les levures ont un métabolisme anaérobie facultatif. Les levures se reproduisent généralement par bourgeonnement (processus asexué).

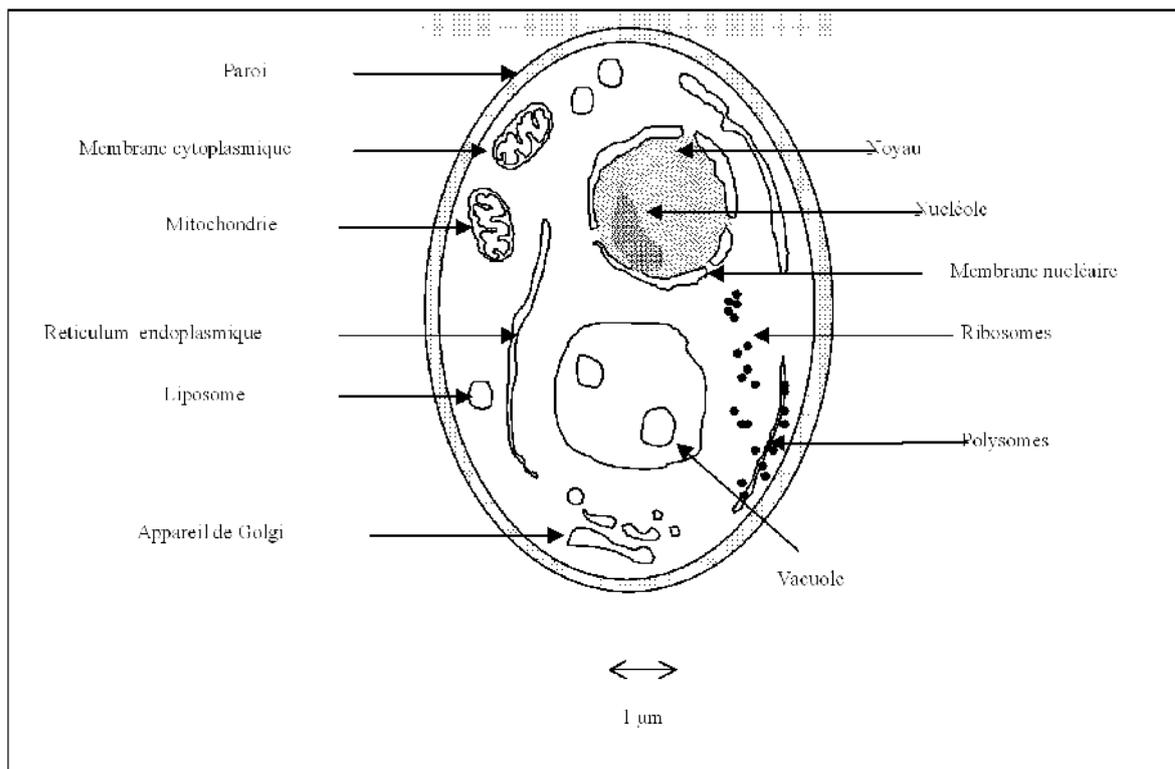


Figure 3. Schéma d'une cellule de levure, *Saccharomyces cerevisiae*.

I.3.2. Nutrition et croissance microbienne

I.3.2.1. Introduction

Les micro-organismes se développent et se divisent pour donner naissance à des bactéries filles qui héritent de la cellule-mère du même potentiel d'activité. La croissance microbienne n'est possible que dans le cas où les micro-organismes peuvent satisfaire leurs besoins nutritifs dans leur environnement.

I.3.2.2. Nutrition des micro-organismes

Leurs exigences nutritives aussi variées que la nature des habitats où ils vivent : sol, eau. Les substances élémentaires sont les matériaux constitutifs de la cellule. Les substances énergétiques permettent à la cellule de réaliser la synthèse de ses propres constituants. Il existe donc un certain nombre de contraintes nutritionnelles pour permettre un optimum de croissance des microorganismes.

- Les aliments constitutifs pour leurs constituants cellulaires: eau, C, H, N, O, S, P, etc.
- Les sources d'énergies: lumière ou substances chimiques (organiques et/ou inorganiques)
- Les nutriments spécifiques, appelés facteurs de croissance car ce sont des substances indispensables, les micro-organismes étant incapables de les synthétiser eux-mêmes. Ainsi, grâce aux aliments qu'on lui fournit et qu'elle dégrade, la bactérie synthétise ses propres constituants organiques. L'ensemble des échanges chimiques qui se produisent alors au niveau cellulaire constitue le métabolisme. Les multiples réactions assurant la dégradation d'un substrat libèrent simultanément de l'énergie qui servira à la biosynthèse, à la croissance et à la reproduction. Les aliments constitutifs des micro-organismes sont présentés dans le tableau (4) suivant.

Tableau 4. Les aliments constitutifs des micro-organismes.

<i>Constituant</i>	<i>Rôle</i>
Eau	75% du poids cellulaire, si teneur < 50%, développement limité.
Carbone	45-50% du poids sec cellulaire, Micro-organismes autotrophes : capables de synthétiser leurs constituants organiques à partir de CO ₂ ou de bicarbonates, Micro-organismes hétérotrophes : besoin de substances organiques pour se développer (la majorité des bactéries).
Azote	5-10% du poids sec cellulaire, Quelques bactéries fixatrices d'azote (N ₂) : <i>Rhizobium sp.</i> , <i>Azotobacter sp.</i> ..., Azote utilisé sous la forme de nitrates, nitrites (<i>Nitrobacter sp.</i>) ou ammonium, mais principalement, utilisation de l'azote sous forme organique (R-NH ₂).
Phosphore	3% du poids sec cellulaire, Constituant des acides nucléiques (ADN, ...), phospholipides, et des substances énergétiques telles que ATP.
Soufre	1-2% du poids sec cellulaire Constituant des acides aminés des protéines (Cystéine et méthionine, S sous la forme de groupements thiols -SH). Assimilation sous la forme de sulfures (S ²⁻). <i>(rem. : Oxydation du soufre par Thiobacillus sp : transfert d'é des sulfures ou du soufre vers l'O₂ .</i>
Na, K, Mg, Cl,	Rôle dans l' équilibre physico-chimique des cellules.
Fe, Mg, ...	Constituants de certains enzymes et coenzymes (cytochromes, chlorophylles, ...).
Ca, Mg, Mn, Cu, ...	Oligo-éléments indispensables sous forme de traces comme cofacteur ou activateur d'enzymes.

I.3.2.3. Croissance des micro-organismes

La croissance est définie comme l'accroissement ordonné de tous les composants d'un organisme. Dans le cas de micro-organismes unicellulaires tels que les bactéries et les levures, le phénomène de croissance se caractérise par une augmentation du nombre d'individus, entraînant progressivement une modification des caractéristiques du milieu de culture (appauvrissement en nutriments. enrichissement en métabolites. variation du pH, du potentiel d'oxydo-réduction ou de la conductivité). Sans renouvellement du milieu, on assiste à un appauvrissement du substrat consommable et à un enrichissement en métabolites (produits intermédiaires ou finals

du métabolisme). Dans un milieu liquide homogène, agité et non renouvelé, la courbe de croissance microbienne présente six phases successives.

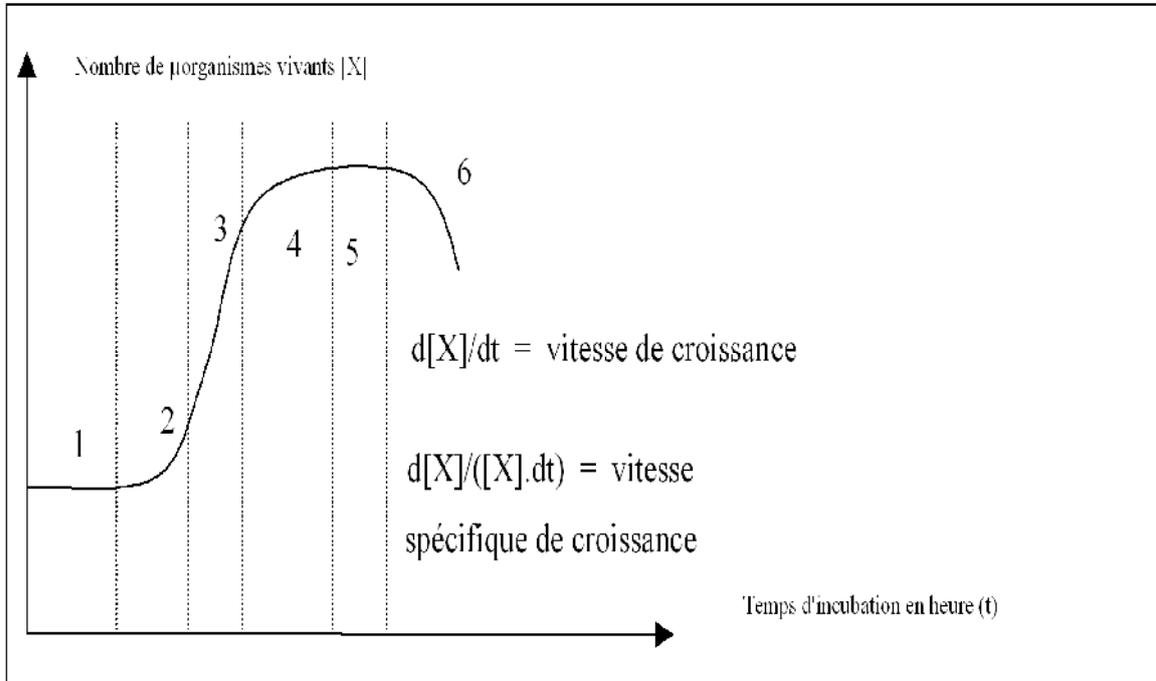


Figure 4. Courbe de croissance d'une culture bactérienne.

- **La phase 1** correspond à une phase de latence durant laquelle les micro-organismes s'adaptent au milieu de culture en synthétisant les enzymes dont ils auront besoin pour coloniser ce substrat. La durée de cette phase dépend de la nature du substrat et de la qualité de l'ensemencement.
- **Durant la phase 2 (de démarrage)**, le nombre d'organismes et la vitesse spécifique de croissance (ou taux de croissance) augmentent.
- **Phase 3(exponentielle)**. Au-delà d'une certaine concentration en substrat (Loi de Monod, 1942). Le taux de croissance μ demeure constant tandis que le nombre d'individus continue d'augmenter. (Phase 3).
- **Au cours de la phase 4(de ralentissement)**, on assiste à un épuisement du substrat et à une accumulation de métabolites pouvant être toxiques.
- **La phase 5(stationnaire)** est une phase stationnaire durant laquelle le nombre d'organismes nouveaux est en équilibre avec le nombre de cellules mortes.

-Phase 6 est une phase de déclin.

I.3.3. Notions générales d'écologie microbienne et facteurs d'influence de la croissance

I.3.3.1. Introduction à l'écologie microbienne

La croissance, la multiplication et la mort des micro-organismes sont influencées par un grand nombre de conditions environnementales favorables ou défavorables à leur développement [28]. Quel que soit l'environnement naturel considéré (on parle également de biotope), une espèce microbienne n'est jamais seule. Bien au contraire, elle doit cohabiter ou disparaître face à la «concurrence» d'autres espèces microbiennes de caractéristiques métabolites. Physiologiques et nutritionnelles qui peuvent être parfaitement identiques, similaires ou complètement différentes. L'ensemble des microorganismes présents dans un écosystème donné est appelé communauté. La communauté est donc un assemblage de populations microbiennes qui coexistent et interagissent les unes entres elles dans un même habitat (cohabitation). Un écosystème est un système autonome incluant les micro-organismes d'une communauté et l'environnement physico-chimique de cette communauté [28,31]. Chaque population de la communauté occupe un «espace fonctionnel », également appelé niche écologique au sein de la communauté. Cette notion de niche fonctionnelle est également liée à la notion de microhabitats qui correspondent à des sous-systèmes bio-physico-chimiques particulier au sein de l'écosystème ou biotope.

D'une grande diversité métabolique, les espèces microbiennes ne se développent pas toutes dans les mêmes conditions. Chaque espèce, voire chaque souche microbienne, a ses propres tolérances pour chaque paramètre environnemental spécifique en fonction de ses capacités physiologiques et génétiques [28]. Evidemment, dans une communauté biologique et dans un écosystème donné, il existe de nombreux types d'interactions entre les diverses populations microbiennes. Il peut s'agir soit d'interactions bénéfiques, soit d'interactions défavorables pour une

population donnée. Les principales interactions possibles sont décrites dans le tableau (5) suivant.

<i>Interaction</i>	<i>Description</i>
Commensalisme	Interaction unidirectionnelle entre deux populations au bénéfice de l'une d'entre elles. <i>Exemple : modification d'un paramètre physique de l'écosystème permettant de créer les conditions favorables de développement d'une autre population microbienne</i>
Cométabolisme	Transformation d'une substance chimique sans profit direct pour le micro-organisme. <i>Exemple : C'est le cas de nombreuses bactéries qui, synthétisant certaines enzymes tels que les oxygénases pour oxyder et assimiler un premier substrat, vont involontairement oxyder un deuxième substrat organique qui pourra être assimilé par une autre bactérie.</i>
Synergisme (ou protocoopération)	Coopération bénéfique entre deux populations microbiennes sans nécessité d'association directe. <i>Exemple : deux populations capables de survivre indépendamment qui se développent avec plus de facilité conjointement (bénéfice bidirectionnel).</i>

Syntrophisme	Cas particulier de synergie où les deux populations microbiennes assurent l'une part rapport à l'autre leur besoin nutritionnel, de manière indispensable.
Symbiose ou mutualisme)	Coopération bénéfique avec nécessité d'une relation directe entre une population microbienne et un autre organisme. Le mutualisme est une relation synergique particulière. <i>Exemple : fixation de l'azote par des bactéries associées au système racinaire de certaines plantes dites fixatrices d'azote</i>
Compétition	Interaction négative entre deux populations aux dépens de l'une d'entre elles ou des deux. <i>Exemple : c'est le cas de nombreuses bactéries qui utilisent dans un écosystème les même ressources nutritives (en particulier, le même substrat organique).</i>
Exclusion compétitive	Compétition particulière entre deux populations occupant la même niche écologique mais qui n'ont pas forcément le même rôle fonctionnel. Cette compétition se traduit par une occupation de la niche par une population microbienne au dépend de l'autre
Antagonisme	Interaction négative entre une population dont le développement inhibe la croissance d'une autre population. <i>Exemple : Il s'agit très souvent de métabolites (produits secondaires ou déchet du métabolisme) synthétisés par une espèce qui ont pour effet d'inhiber la croissance d'une autre espèce.</i>

Tableau 5. Principales interactions possibles entres différentes populations dans un système donné [28, 31, 32].

I.3.3.2. Facteurs environnementaux

Les conditions physico-chimiques de croissance des micro-organismes dépendent de l'environnement (température. Pression et pH).

Tableau 6. Facteurs physico-chimiques de croissance des micro-organismes.

<i>Facteurs</i>	<i>Rôle</i>
Température	- Organismes psychrophiles : temp. optimale < 1°C - Psychrotrophes : temp. optimale entre 5 et 15°C, - Mésophiles : temp. optimale entre 20 et 40°C, - Thermophiles : temp. optimale > 50°C.
pH	- pH optimal compris entre 3 et 6 pour les champignons Neutralité pour la plupart des bactéries. Cependant, certaines bactéries sont acidophiles (<i>Thiobacillus thiooxidans</i> avec optimum de croissance pour pH = 2) ou basophiles (certains <i>Vibrio</i>)
Oxygène	Aérobic ou Anaérobic (stricte ou facultative)
Salinité	Détermine la pression osmotique Micro-organismes halophiles qui se développent dans les saumures

Le caractère biodégradable d'un matériau solide organique ou d'une molécule organique dépend d'un certain nombre de facteurs externes et de paramètres caractéristiques intrinsèques au matériau. Ainsi, en 1992, un rapport de l'association Record (Association RECORD, 1992) proposait une série de quatre grandes causes pour expliquer le caractère récalcitrant de certaines molécules à la biodégradation. Globalement les deux premières causes rejoignent ce qu'on a désigné précédemment par "paramètre intrinsèque", les deux dernières par le terme "facteur externe". Plus que de rechercher la biodégradabilité d'un matériau, beaucoup d'études s'efforcent de mettre en avant les critères qui empêchent une molécule, un matériau, de se dégrader sous l'action de microorganismes dans un délai donné.

I.3.3.2.1. Causes chimiques:

I.3.3.2.1.1. Poids moléculaire, structure, charge : les composés à faible masse moléculaire et/ou à structure chimique linéaire sont plus facilement biodégradables. De même l'adhésion des microorganismes peut être favorisée par l'existence de forces de type Van der Waals et les interactions électrostatiques.

I.3.3.2.1.2. Nature, nombre et position des substituants : le tableau (7) donne quelques exemples de substituant influençant favorablement ou non la biodégradabilité de la molécule.

Tableau 7. Substituant influençant la biodégradabilité des substrats organiques.

Substituants favorisant la dégradation	Substituants gênant la dégradation
OH COOH NH ₂ OCH ₃	F Cl NO ₂ CF ₃ SO ₃ H

I.3.3.2.2. Causes physico-chimiques:

- Solubilité,
- Aptitude à former ou non des émulsions.
- Etat physique inadapté (solide, liquide, gazeux).
- Aptitude à s'adsorber sur des surfaces.
- Aptitude à former des liaisons ioniques ou covalentes avec les supports.

D'une manière générale. Toutes les caractéristiques physico-chimiques qui tendent à augmenter la disponibilité et la surface de contact entre le substrat et les micro-organismes facilitent la Biodégradation dudit substrat. Par exemple un corps soluble sera plus facilement mis à disposition de micro-organismes présents dans l'environnement aqueux.

I.3.3.2.3. Causes environnementales:

I.3.3.2.3.1. Concentration trop faible, trop grande ou trop variable

En effet si le substrat à dégrader n'est présent qu'en très petite quantité. Sa disponibilité auprès des micro-organismes sera limitée. A l'opposé, s'il est surabondant, la faune bactérienne ne pourra plus répondre efficacement, la syntrophie

nécessaire au bon fonctionnement des processus de dégradation, abordée dans le paragraphe précédent sera brisée.

I.3.3.2.3.2. pH : le pH optimal pour les champignons est compris entre 3 et 6. En revanche la plupart des bactéries se développent à un pH proche de la neutralité. Ainsi, par exemple. L'activité acétogène est optimale pour des valeurs de pH 7 à 7,4. [33]. Seules les bactéries acidogènes supportent des pH inférieurs à 6 et s'adaptent facilement à des pH de l'ordre de 4 [23]. Dans le cas de la méthanisation. Les populations les plus sensibles aux variations de pH sont les a cétogènes (optimum 7.2) et les méthanogènes (optimum entre 7 et 8). Les méthanogènes sont fortement inhibées en dessous de 6.5. En milieu trop acide (pH<6) il y a inhibition de la méthanogène et l'a cétogène pouvant entraîner l'accumulation d'acides organiques [23].

I.3.3.2.3.3. Température : on peut distinguer quatre classes d'organisme selon leur tolérance à une certaine plage de température. Les psychrophiles dont la température optimale est inférieure à 1°C. psychrotrophes entre 5 et 15°C. Les inésophiles entre 20 et 40°C et les thermophiles puis thermophiles extrêmes au-delà de 60°C.

Tableau 8 : Classification physiologique des bactéries en fonction de la température.

Type physiologique	Température de croissance (°C)	
	minimale	Maximale
Psychrophile	0	20
Mésophile	>20	< 40
Thermophile modéré facultatif	> 41	> 55
Thermophile modéré obligatoire	> 55	75
Thermophile extrême (hyperthermophiles)	> 60	> 80* (* optimum > 80)

Selon Hartz et al. (1982). la température mésophile optimale pour la dégradation des ordures ménagères est comprise entre 35 et 41°C. La méthanogène et plus

généralement la croissance anaérobie est relativement lente à une température inférieure à 20°C. La température est donc un facteur important à surveiller lors de la dégradation de la matière organique, mais il convient de noter que l'évolution de la température peut être aussi une conséquence de cette activité microbienne.

I.3.3.2.3.4. activité de l'eau (A_w : water activity) : toutes les bactéries ont besoin d'eau pour leur croissance et leur reproduction. La disponibilité de l'eau est un facteur important de la croissance bactérienne. Par définition, l'eau distillée pure a une activité en eau (A_w) de 1,0. Le paramètre A est un indicateur de la quantité d'eau qui est disponible pour les réactions. Elle est équivalente à la notion d'humidité relative dans l'atmosphère. Des phénomènes d'adsorption ou de solubilisation peuvent réduire la disponibilité de l'eau et donc A_w . Par exemple, une solution saturée de NaCl a une activité en eau de 0,8. L'eau de mer de 0,98. La plupart des bactéries ont besoin d'une activité en eau supérieure à 0,9 pour leur métabolisme [28]. Un développement microbien n'est possible que dans des milieux ayant des activités en eau comprises entre 0,6 et 0,99 environ [30].

I.3.3.2.3.5. Potentiel rédox : selon le potentiel oxydant ou réducteur du milieu étudié, certaines réactions pourront se réaliser ou, au contraire, seront impossibles. Cela joue donc également un rôle important dans la biodégradation de la matière organique. Mais, comme pour la température, il faut noter que l'activité microbienne peut faire varier ce potentiel. Ainsi, une croissance extensive de bactéries hétérotrophes utilisant l'oxygène disponible fait baisser le potentiel redox du milieu de manière significative [28].

I.3.3.2.3.6. Nutriments : certains composés comme le calcium, le magnésium, le sodium ou le potassium stimulent la méthanogènes [34]. De même certains métaux à l'état de trace comme le fer, le cobalt, le molybdène, le sélénium ou le tungstène

stimulent la méthanogènes. En 1990, Graindorge montrait que le nickel était indispensable à la croissance des bactéries méthanogènes [35].

I.3.3.2.3.7. Présence d'inhibiteurs : certaines molécules étrangères aux réactions étudiées mais présentes dans le milieu peuvent limiter la capacité métabolique de la micro-faune. Il convient alors de distinguer les substances interdisant totalement ces réactions de celles qui ne font que les ralentir. En 1982. Taylor indiquait comme principaux inhibiteurs potentiels de la méthanogènes. Les métaux lourds. Les hydrocarbures chlorés. Les AGV, les détergents. Les substances analogues au méthane (chloroforme etc). L'ammoniaque, les oxydants tels que l'oxygène. Un même composé pouvant être toxique ou non (voire même bénéfique et indispensable à l'état de trace) en fonction de sa concentration et de sa disponibilité dans le milieu.

I.3.3.2.4. Causes biologiques:

- Absence de la microflore appropriée,
- Absence d'enzymes exocellulaires ou d'agents émulsifiants,
- Incapacité des micro-organismes à métaboliser le produit par impossibilité d'induire les enzymes, les systèmes transporteurs nécessaires ou par production d'intermédiaires métaboliques terminaux toxiques.

Enfin le facteur temps est largement à prendre en compte dans ces phénomènes de biodégradation. Beaucoup de molécules peuvent subir une dégradation par des micro-organismes. Mais parfois à très long terme. La notion de biodégradabilité sera donc à nuancer en la confrontant à la durée d'incubation nécessaire à la dégradation de la molécule ou du déchet envisagé. Notons toutefois ici que le caractère "acceptable" d'un délai de dégradation est largement déterminé par les contraintes économiques ou environnementales du scénario considéré.

I.4. Le méthanol

Dérivé du gaz naturel, le méthanol est un hydrocarbure composé de carbone, d'hydrogène et d'oxygène. Sa formule chimique est CH₃OH. Le méthanol est un alcool. C'est un liquide incolore, neutre, polaire et inflammable. Il est miscible à l'eau, aux alcools, aux esters et à la plupart des autres solvants organiques. Il n'est que peu soluble dans les graisses et les huiles.

Nous présentons dans le tableau suivant les propriétés physiques et chimiques détaillées du méthanol.

Tableau 9. Propriétés physiques [36, 37, 38, 39, 40].

État physique :	Liquide
Masse moléculaire :	32,04
Densité :	0,7915 g/ml à 20 °C
Solubilité dans l'eau :	Miscible
Densité de vapeur (air=1) :	1,1
Point de fusion :	-97,8 °C
Point d'ébullition :	64,7 °C
Tension de vapeur :	92,3 mm de Hg à 20 °C
Concentration à saturation :	128 000 ppm
Coefficient de partage (eau/huile) :	5,9
pH :	Produit neutre.
Facteur de conversion (ppm->mg/m³) :	1,31
Taux d'évaporation (éther=1)	5,2

I.4.1. Utilisation et sources d'émission [36, 37, 41, 42, 43, 44]

L'alcool méthylique a de nombreux usages. Il est surtout utilisé comme solvant :

- pour des résines, dont les dérivés de cellulose
- pour différents polymères
- pour certaines teintures
- pour la production de cholestérol, de vitamines, d'hormones et de nombreux autres produits pharmaceutiques.

De même, l'alcool méthylique sert d'ingrédient antigel dans :

- le liquide lave-glace pour l'hiver
- les liquides pour radiateurs
- les liquides de purge des systèmes de freinage à air des véhicules.

Dans l'industrie chimique, il sert de matière première ou d'intermédiaire de synthèse pour de nombreux produits organiques dont :

- le formaldéhyde
- l'acide acétique
- l'éther de méthyle et de butyle tertiaire (MTBE)
- les esters de méthyle
- les amines méthylées
- le chlorométhane.

L'alcool méthylique est aussi un combustible. On le trouve notamment :

- dans les carburants pour la course automobile
- comme liquide pour les réchauds utilisés en camping ou pour les fondues.

Comme additif, on le trouve dans :

- les solutions de formaline, où il sert de stabilisant
- l'alcool éthylique, où il sert de dénaturant
- le gaz naturel, où il est un agent de déshydratation.

Le chauffage du bois ou de composés de bois à des températures et dans des conditions où il n'y a pas de combustion mais seulement de la décomposition, est une source d'émission d'alcool méthylique. Avant les années 30, c'est d'ailleurs par distillation sèche du bois qu'était produit l'alcool méthylique connu alors sous le nom « alcool de bois ».

I.4.2. Toxicité du méthanol sur l'homme [45]

I.4.2.1. Effets d'une exposition grave de courte durée :

Inhalation : L'inhalation de concentrations atmosphériques élevées peut également irriter les muqueuses, occasionner des maux de tête, de la somnolence, des nausées, de la confusion mentale, des pertes de conscience, des troubles de la digestion et de la vue, voire la mort, remarque : le seuil olfactif du méthanol est plusieurs fois supérieur au seuil de tolérance/moyenne pondérée dans le temps. Selon la gravité de l'empoisonnement et la rapidité de traitement, les survivants peuvent se rétablir complètement ou souffrir d'une cécité permanente, de troubles de la vue et/ou de séquelles au niveau du système nerveux. Des concentrations atmosphériques supérieures à 1000 ppm peuvent causer des irritations des muqueuses.

Contact avec la peau : Le méthanol est un irritant modéré pour la peau. Il peut être absorbé par la peau et des effets nocifs ont été rapportés suite à une absorption par cette voie. Les effets sont similaires à ceux décrits dans la section « Inhalation ».

Contact avec les yeux : Le méthanol est un irritant faible à modéré des yeux. Des vapeurs à forte concentration ou un contact du produit liquide avec les yeux peut causer des irritations, des écoulements de larmes et des brûlures.

Ingestion : L'ingestion de méthanol, même en quantité très réduite, peut causer la cécité ou la mort. L'ingestion de doses non létales peut occasionner des nausées,

des maux de tête, des douleurs abdominales, des vomissements et des troubles de la vue allant d'une vision trouble à une sensibilité légère.

I.4.2.2. Effets d'une exposition de longue durée (chronique) : L'exposition répétée par inhalation ou absorption peut causer un empoisonnement systémique, des maladies neurodégénératives, des troubles de la vue et la cécité. L'inhalation peut aggraver des états tels que l'emphysème ou la bronchite. Le contact répété avec la peau peut occasionner des irritations dermiques, un assèchement ou un fendillement de la peau.

Etats aggravés par l'exposition: Emphysème et bronchite.

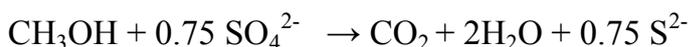
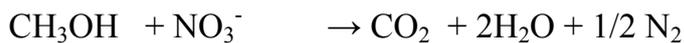
I.4.3. Biodégradabilité du méthanol

La biodégradation du méthanol a été étudiée sous une large variété de condition et de milieu, y compris les eaux de surface, les eaux souterraines, les dépôts et les microsomes du sol. Le méthanol est complètement dégradé et sa dégradation ne produit pas d'intermédiaires persistants [3]. Des études plus approfondies ont montré qu'à des concentrations de méthanol inférieures à 3000 mg/l, le méthanol se dégrade facilement et rapidement dans différents environnements aquatiques. Il est dégradé par une large variété de bactéries aérobies et anaérobies.

Sous des conditions aérobies, le méthanol est dégradé comme suit :



Sous des conditions anaérobies, la dégradation du méthanol s'opère comme suit :



Si la concentration en méthanol excède 8000 à 10.000 mg/l, on observe un effet inhibiteur significatif sur la population microbienne, qui est exprimée par une

extension de la période d'acclimatation qui précède la biotransformation du méthanol, une réduction de la vitesse de dégradation du méthanol peut être observée.

Si les concentrations de méthanol dépassent 50.000 à 100.000 mg/l, la dégradation microbienne du méthanol ne sera pas possible et on ne peut obtenir la stérilisation du sol contaminé [46].

CHAPITRE II :

MATERIEL ET METHODES

II.1. Description du réacteur batch

Des bouteilles en verre scellées d'un volume total de 1.045 L ont servi de réacteur batch. Le bouchon muni d'un orifice protégé afin d'éviter tout échange avec le milieu extérieur, permet les prélèvements aqueux, prévus pour le suivi de la croissance, du substrat et du pH

II.2. Origine du consortium

Le consortium utilisé pour l'inoculation provient d'un mélange de boues activées de la station d'épuration d'El Ménia.

II.3. Choix du milieu nutritif

Un premier essai de mise en culture des microorganismes en présence du méthanol a été lancé avec un milieu nutritif dont la composition est reprise au tableau (10) (Deseveaux, 1995). Ce milieu liquide constitué de macroéléments et de microéléments apporte aux micro-organismes tous les éléments nécessaires au développement cellulaire, à part la source de carbone C représentée par le méthanol. Cependant, une acidification du milieu (pH entre 3 et 4) est observée, elle est due aux ions NH_4^+ produits par l'unique source d'azote qu'est le sulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Un choix plus approprié du milieu nutritif s'est avéré essentiel vu que l'acidification provoqué par les milieux nutritif utilisé bloque la croissance bactérienne. Sachant que les ions NO_3^- éliminent radicalement le risque d'acidification du milieu, le sulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ et remplacé par le nitrate de potassium KNO_3 . Par contre, une légère caséification du milieu peut-être observée. La source de soufre S est représentée par le sulfate de sodium Na_2SO_4 . La nouvelle composition du milieu nutritif utilisé est reprise dans le tableau (11) (Vandermesse, 1996).

Tableau 10. Composition du milieu nutritif (Deseveaux, 1995).

Milieu nutritif		Concentration
Tampon et macro-éléments	(NH ₄) ₂ SO ₄	3,00 g/l
	KH ₂ PO ₄	1,09 g/l
	Na ₂ HPO ₄ , 2H ₂ O	3,49 g/l
	MgSO ₄ , 7 H ₂ O	0,2 g/l
micro-éléments	EDTA	10 mg/l
	FeSO ₄ , 7 H ₂ O	5 mg/l
	MnCl ₂ , 4 H ₂ O	1,22 mg/l
	Zn SO ₄ , 7 H ₂ O	0,25 mg/l
	Cu SO ₄ , 5 H ₂ O	0,2 mg/l
	Ca Cl ₂ , 2 H ₂ O	1 mg/l
	Na ₂ MoO ₄ , H ₂ O	0,2 mg/l

Tableau 11. Composition du milieu nutritif (Vandermesse, 1996).

Milieu nutritif		Concentration
Tampon et macro-éléments	KNO ₃	13.76 g/l
	KH ₂ PO ₄	1.78 g/l
	Na ₂ HPO ₄ , 2H ₂ O	4.66 g/l
	Na ₂ SO ₄	9.68 g/l
	MgSO ₄ , 7 H ₂ O	0.8 g/l
micro-éléments	EDTA	10 mg/l
	FeSO ₄ , 7 H ₂ O	5 mg/l
	MnCl ₂ , 4 H ₂ O	1,22 mg/l
	Zn SO ₄ , 7 H ₂ O	0,25 mg/l
	Cu SO ₄ , 5 H ₂ O	0,2 mg/l
	Ca Cl ₂ , 2 H ₂ O	1 mg/l
	Na ₂ MoO ₄ , H ₂ O	0,2 mg/l

II.4. Mesure de la concentration Cellulaire X

Le suivi de la quantité de biomasse au cours du temps, se fait par lecture directe de la densité optique (D.O) de chaque échantillon à 546 nm avec spectrophotomètre JENWAY de types 6300 spectrophotomètre (Figure 5), en utilisant l'eau distillée comme blanc. Après lavage et le milieu nutritif sert de référence pour suivre la croissance dans les réacteurs batch.



Figure 5. Spectrophotomètre JENWAY de types 6300 spectrophotomètre.

II.5. Courbe d'étalonnage

L'étalonnage est réalisé afin de convertir la D.O en concentration cellulaire X, exprimée en g_{ps}/l . Le principe de l'étalonnage consiste en la lecture de la D.O de suspensions homogènes à différentes concentrations à partir de la troisième préculture arrivée en phase stationnaire de croissance et en la mesure par sec de ses étalons par perte au feu. De réaliser cette étape, l'étalon mère subit une centrifugation 300 ml pendant 10 mn et l'aliquote resuspendue dans de l'eau distillée afin d'éviter que les concentrations élevées des macros éléments du milieu nutritif ne perturbent la mesure

du poids sec réel de la biomasse. Les suspensions préparées à partir de l'étalon mère sont ensuite placées dans des creusets qui sont mis à l'étuve à 105°C pendant 24 heures. Après refroidissement dans un dessiccateur, les creusets pleins sont pesés. Finalement, on obtient le poids sec réel de la biomasse par soustraction du poids de chaque creuset vide de celui du même creuset mais plein. La courbe d'étalonnage obtenue est suivante :

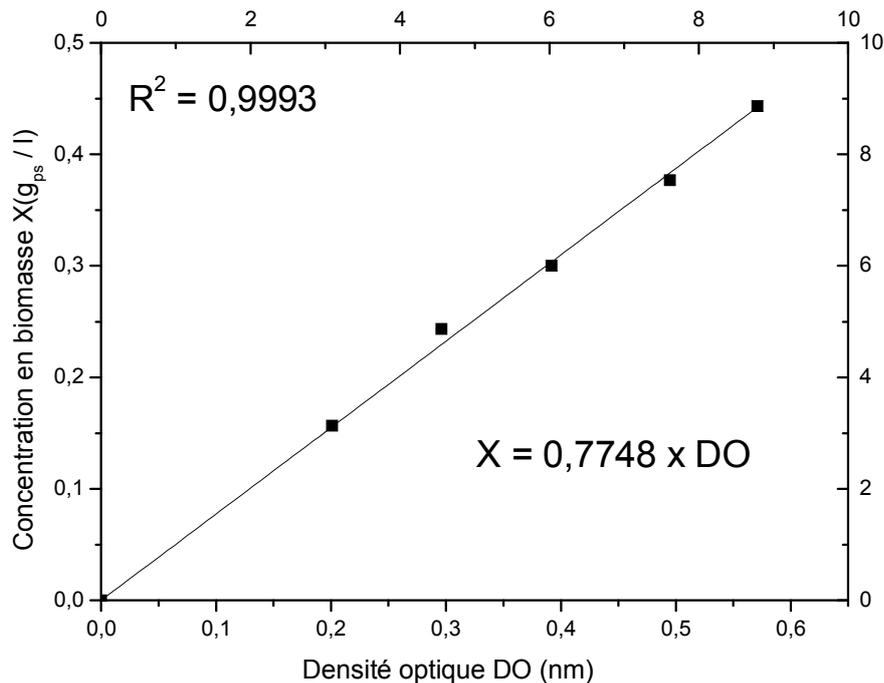


Figure 6. Courbe d'étalonnage reliant la concentration en biomasse X à la densité optique D.O

II.6. Prélèvement

Les prélèvements horaires doivent se faire à partir de chacun des réacteurs 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 D.O suivie de la mesure du pH. 0,5 ml du volume est mis dans un micro-tube, hermétiquement fermé, pour éviter les pertes de substrat, il subit alors une centrifugation à 400 g pendant 10 mn, afin d'obtenir un surnageant exempt de cellules microbiennes.

Les échantillons, conservés dans des micro-tubes à 4 °C, sont prêts à la mesure de la

concentration en substrat par chromatographie en phase gazeuse.

II.7. Définition générale de la chromatographie

Un ensemble de procédés applicables à des mélanges moléculaires ou ioniques, basés sur des différences de distribution des solutés entre une phase stationnaire, généralement dispersée et une phase mobile continue, les deux phases étant mises en contact intime et à contre courant.

II.8. La chromatographie en phase gazeuse

Dans la configuration la plus classique, le chromatographe est équipé d'un **injecteur diviseur**, d'une **colonne capillaire** et d'un **détecteur à ionisation de flamme**. Les données sont traitées par un système informatique.

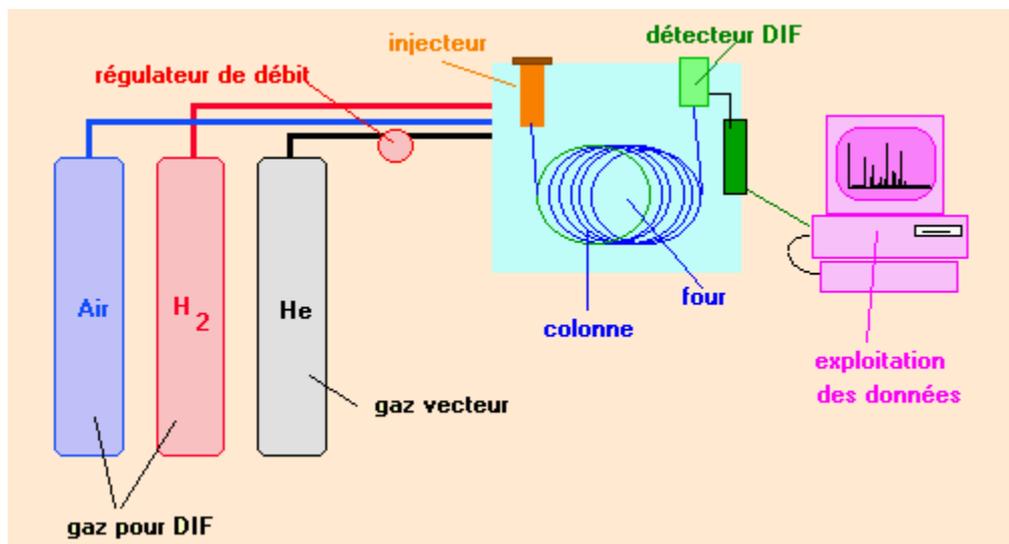


Figure 7. Schéma d'un appareil de CPG, muni d'un détecteur à ionisation de flamme.

II.8.1. L'injecteur

Un très grand choix d'injecteur est disponible sur le marché en fonction de la nature du mélange à séparer (solide, liquide, polaire, etc.).

Le système d'injection permet l'évaporation et le transfert dans la colonne des échantillons. Parmi les injecteurs classiques, **l'injecteur diviseur** est le plus utilisé dans le cas d'échantillon en solution. Celui-ci est introduit avec une **micro-seringue**. Un système de vannes élimine une partie de l'échantillon et permet ainsi une analyse plus précise d'une certaine quantité de produit sans surcharge de la colonne.

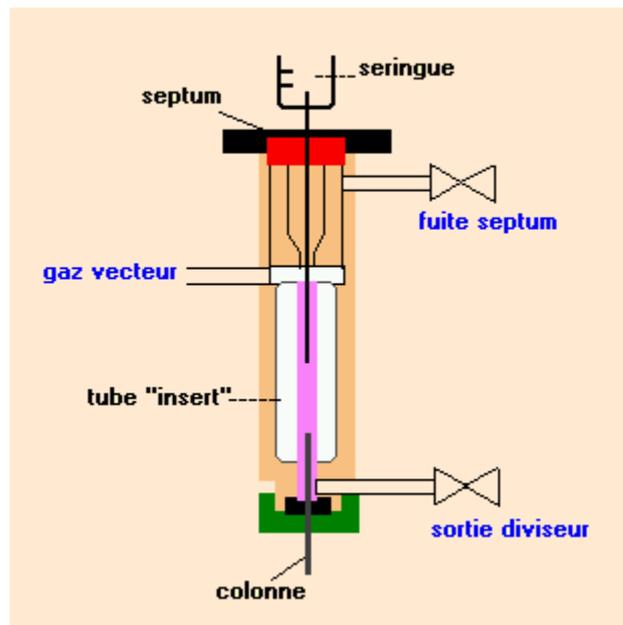


Figure 8. Injecteur diviseur.

I.8.2. La colonne

Deux grands types de colonnes sont employés à l'heure actuelle : les colonnes remplies et les colonnes capillaires.

Les **colonnes remplies**, encore utilisées pour l'analyse de gaz, sont généralement constituées d'un tube en métal de diamètre intérieur de 2 à 4 mm et de longueur 1 à 6m, rempli d'un granulé poreux.

Dans les **colonnes capillaires**, la phase stationnaire est déposée sous la forme d'un film régulier (d'épaisseur 0,1 à 5 μm). Leur diamètre intérieur varie entre 0,05 et 0,6 mm pour une longueur de 10 à 100 m. Les principaux avantages de telles colonnes sont : une grande efficacité, un faible débit et une faible capacité d'échantillon.

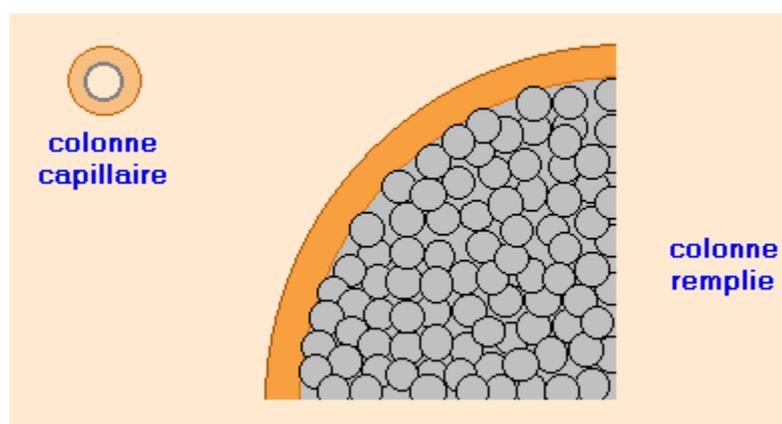


Figure 9. Représentation à la même échelle des deux colonnes (capillaire et remplie).

Il existe un grand nombre de phases stationnaires, principalement des liquides, classés en fonction de leur polarité : hydrocarbures ramifiés (squalane), polydialkylsiloxanes (silicones SE30[®], OV17[®], CPSIL5[®]) greffés ou non, polyéthers (Carbowax[®]) et polyesters (DEGS).

II.8.3. Le détecteur

Le détecteur est un appareil de mesure physico-chimique qui doit donner un **signal** au passage de chaque constituant, sans interaction avec le gaz vecteur. On distingue des **détecteurs universels**, répondant à tous les types de composés

(cathétomètre, balance de densité de gaz ou pour les composés organiques le détecteur à ionisation de flamme). Les **détecteurs spécifiques** présentent une très grande sensibilité pour certaines familles de composés (détecteur à capture d'électrons, thermo-ionique, photomètre de flamme...). D'autres détecteurs fournissent des données structurales permettant l'identification, comme la spectrométrie de masse et la spectroscopie infrarouge.

Le plus usuel des détecteurs en analyse organique est le **détecteur à ionisation de flamme**. L' éluât pénètre dans une flamme obtenue par combustion d'hydrogène et d'air. Les composés organiques forment alors des ions collectés par deux électrodes, entre lesquelles on applique une différence de potentiel. Il en résulte un courant électrique recueilli par un électromètre qui le transforme en courant que l'on peut enregistrer.

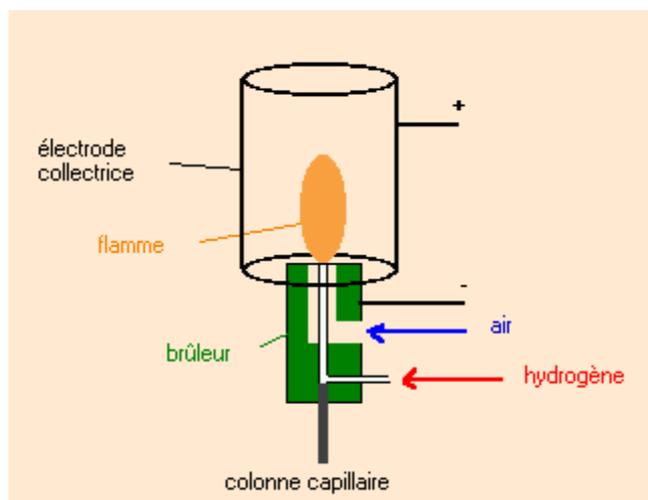


Figure 10. Détecteur à ionisation de flamme.



Figure 11. Chromatographe SCHIMADZU DE TYPE GC-17A combiné à une colonne capillaire de type DB-5 (0,25mm D.I×30 m) et un détecteur FID.

II.9. Conditions opératoires de mesure de la concentration en substrat S

Un volume de 1 μ l d'échantillon est manuellement introduit avec une microseringue SGE de 10 μ l dans un chromatographe de marque SCHIMADZU et de type GC-17A opérant isothermiquement à 130°C, combiné à une colonne capillaire de type DB-5(0,25mm D.I×30m) et un détecteur FID. L'azote N₂ 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 N₂ 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 (Figure 11).

Avant l'injection du substrat il faut étalonner le chromatographe par les substrats concernés.

Le temps de la tension du méthanol, dans ces conditions, est en moyenne de 2,1mn celui de l'éthanol est de 2,2mn.

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

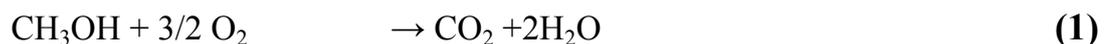
II.10. Calcul de la charge maximale de méthanol biodégradable dans un réacteur

L'oxygène est indispensable au consortium pour la dégradation du méthanol et sa transformation en biomasse. Sachant que l'oxygène est peu soluble et qu'on doit appliquer des charges élevées de méthanol aux réacteurs batch, on doit donc réduire le volume de phase liquide au maximum pour que les micro-organismes trouvent l'oxygène nécessaire.

Cependant, il est évident qu'un minimum de phase liquide soit nécessaire pour la croissance des micro-organismes ainsi que pour suivre la densité optique (D.O) et la concentration résiduelle en méthanol au cours de l'expérience sans perturber la croissance microbienne. On a cherché un compromis et fixé le volume de phase liquide à 90 ml.

Il reste maintenant à calculer, connaissant la quantité d'oxygène en phase gazeuse déterminée au moyen de la loi des gaz parfaits, la quantité maximale de méthanol qui peut être dégradée par les micro-organismes dans les réacteurs batch. Cela nécessite de connaître la ou les équations stœchiométriques reliant l'oxygène et le méthanol.

On a supposé que le méthanol pourrait être transformé intégralement en biomasse et en CO₂ par les voies métaboliques classiques suivant les deux équations suivantes :



En combinant les équations (1) et (2), on obtient :



Cette supposition semble être confirmée par des expériences préliminaires de croissance et de dégradation. On effect, lors de ces expériences pendant lesquelles ont été suivies simultanément les concentrations en biomasse et en méthanol au cours du temps, on a observé que la formation de biomasse et la dégradation du méthanol étaient liées par cette équation. Il est supposé que la formule pondérale stœchiométrique de la biomasse est $\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2$. Cette formule est généralement utilisée pour la plupart des bactéries [45].

Les deux équations (1) et (2) sont reliées par un rendement $Y_{X/MET}$ appelé rendement de conversion du méthanol en biomasse. On peut aussi déduire que 1 mole d'oxygène est nécessaire pour transformer 1 mole de méthanol.

Par conséquent, si au départ on n'effectue aucun enrichissement en oxygène dans la phase gazeuse, la concentration maximale qui peut être dégradée dans un réacteur batch vaut donc 273 mg de méthanol ce qui, pour 90 ml de phase liquide, correspond à 3030 ppm (w/v).

Suite à ces calculs, le choix des concentrations appliquées a donc été : 1000, 2000 et 3000 ppm.

II.11.1. pH

Le pH des échantillons est mesuré avec un analyseur multi-paramètres CONSORT de type C535. Le pH-mètre est préalablement étalonné au pH 4 et 7 à 20°C.

II.12. Standardisation l'inoculum

La phase de latence qui est présentée dans la figure (12) indique que l'inoculum n'adapte pas le substrat immédiatement. Pour activer les cellules avec le méthanol il faut standardiser l'inoculum et éliminer la phase de latence.

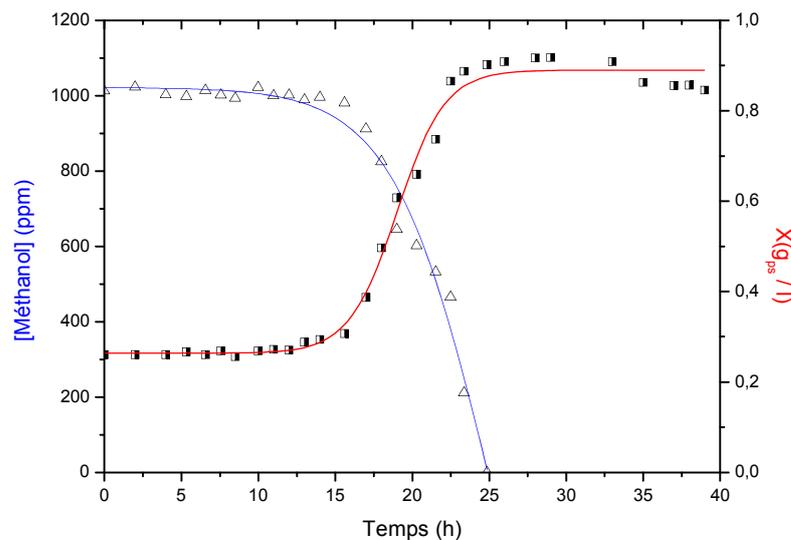


Figure 12. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{ps}/l) et de la concentration en méthanol résiduel (ppm) en fonction du temps (h) pour un réacteur batch contenant 1000 ppm de méthanol avant la standardisation de l'inoculum.

A partir de la figure (12) on remarque que le temps de demi-croissance est 12 heures et le temps de la phase de latence égal à 16 heures.

II.13. Préparation de l'inoculum

Pour réduire voire éliminer la phase de latence des expériences de cinétique, durant la phase de plain croissance, on procède à l'ensemencement au moyenne de cellules dans les réacteurs. Des précultures sont réalisées à cet effet, pour les standardiser, on a défini des conditions opératoires pour chaque expérience. Chaque réacteur batch contient 90ml de phase liquide avec une charge appliquée de méthane de 1000 ppm

(w/v) (même concentration appliquée à l'éthanol lorsque le consortium est en présence d'un mélange des deux produits).

Une centrifugation d'un volume de 18 ml provenant de la station d'épuration d'El Méria est réalisée à 300 g pendant 2 minutes. Cette opération permet la sédimentation des particules volumineuses. Le surnageant sert d'inoculum à la première préculture [47]. Après 24 heures, on prélève 18 ml de la première préculture et on fait subir un lavage aux cellules, par centrifugation 400 g pendant 20 mn, suivi d'une élimination du surnageant et donc du méthanol résiduel et de l'éthanol résiduel lorsqu'ils sont présents. L'aliquote est resuspendue dans un milieu nutritif neuf afin d'obtenir l'inoculum de la deuxième préculture. La troisième préculture est toujours lancée avec la concentration cellulaire initial X_0 fixée.

L'opération est réalisée par trois précultures, 24 heures, 12 heures et 6 heures successivement.

Après la standardisation de l'inoculum, on peut maintenant entamer la dégradation du méthanol en réacteur Batch.

CHAPITRE III :
RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Influence de la concentration initiale en méthanol S_0 sur la biodégradation

III.1.1. Présentation des résultats

Les résultats présentés dans cette section concernent l'expérience de dégradation du méthanol où la concentration initiale de biomasse a été ajustée à 0,130 g_{ps}/l.

III.1.1.1. Traitement des résultats

Introduction

Les réacteurs batch dans lesquels différentes concentrations de méthanol ont été injectées sont nommés comme suit :

Tableau 12. Concentrations dans les différents réacteurs

Dénomination des réacteurs batch	A	B	C
Concentration appliquée de méthanol (ppm)	1000	2000	3000

Un réacteur témoin est également réalisé. Il s'agit d'un réacteur batch non inoculé qui est préparé comme les réacteurs cités précédemment avec une concentration de 3000 ppm (w/v) de méthanol. Aucune dégradation abiotique du méthanol n'a lieu.

Dans cette partie, une modélisation de l'évolution de la concentration en biomasse (**X**) et en substrat (méthanol) (**S**) au cours du temps est réalisée. À partir de ces modèles et par traitement des données expérimentales, on déterminera les paramètres cinétiques de croissance (**μ**) et de dégradation (**$r_{X,MET}$**). En dernier lieu, on donnera une valeur pour le rendement de conversion du méthanol en biomasse (**$Y_{X,MET}$**).

III.1.1.2. Modélisation de la croissance

Les résultats de l'évolution de la concentration en biomasse X des différents réacteurs sont représentés sous forme graphique dans la figure (13 et 15). Une allure sigmoïdale est obtenue pour les différentes courbes.

Afin de modéliser la croissance, on applique un modèle dont l'équation (4) (relation de Boltzman) est reprise ci-dessous [47]:

$$X = P_1 / [1 + \exp (-P_2 + P_3 \cdot t)] + P_4 \quad (4)$$

Avec :

X : concentration en biomasse au temps t (g_{ps} / l)

t : Temps (h)

p_1, p_2, p_3, p_4 : Paramètres

Les paramètres de cette équation sont ajustés par rapport aux mesures expérimentales par une méthode itérative. Les séries de paramètres obtenus pour chaque réacteur batch sont reprises au tableau (13).

Une signification est donnée à chacun de ces paramètres:

P_1 : différence en valeur absolue entre les concentrations. (g_{pg} / l) :

P_1 est donc égal à la valeur de $(A_1 - A_2)$.

P_2 : Etalement de la courbe le long de l'axe des abscisses (sans unité) . Il est égal à x_0 / dx .

P_3 : pente de la sigmoïde (h^{-1}). P_3 est égal à $1/dx$.

P_4 : concentration finale en biomasse (g_{ps} / l). P_4 est représentée par A_2 .

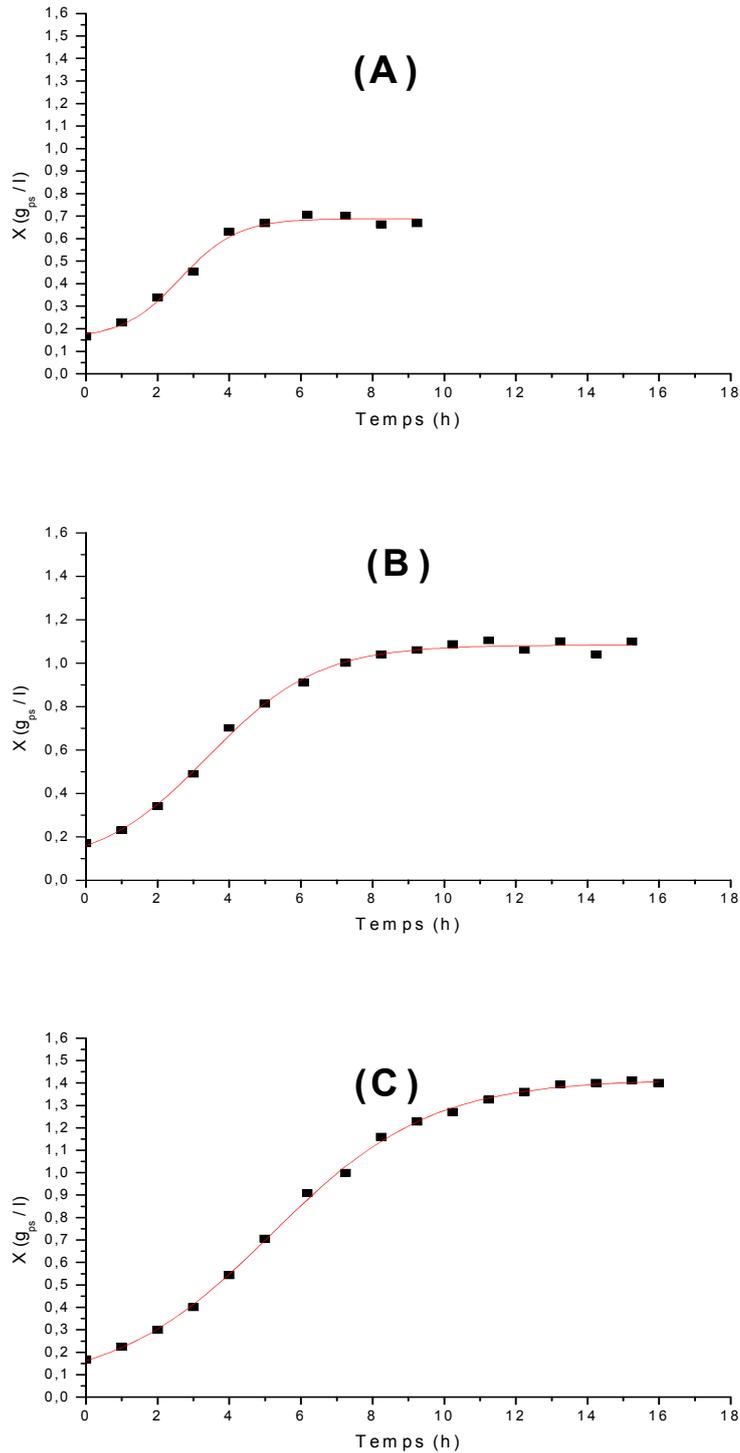


Figure 13. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{ps}/l) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol.

Tableau 13. Valeurs des paramètres du modèle de l'équation (4) obtenues après ajustement paramétrique sur la courbe expérimentale de croissance.

Réacteur batch	A ([MeOH] 1000 ppm)			
Paramètres	P1	P2	P3	P4
Valeur	0,531	3,322	1,259	0,689

Réacteur batch	B ([MeOH] 2000 ppm)			
Paramètres	P1	P2	P3	P4
Valeur	1,021	2,421	0,654	1,083

Réacteur batch	C ([MeOH] 3000 ppm)			
Paramètres	P1	P2	P3	P4
Valeur	1,374	2,355	0,453	1,417

Le tracé des courbes théoriques obtenues par ajustement paramétrique du modèle choisi (Equation 4) sur les données expérimentales met en évidence l'allure sigmoïdale de l'évolution de la croissance (Figures 13 et 15).

On peut remarquer que dans les trois réacteurs A, B et C, la courbe théorique passe presque par tous les points expérimentaux.

III.1.1.3. Modélisation de la consommation du méthanol

Les résultats de l'évolution de la concentration en méthanol des différents réacteurs sont représentés sous forme graphique dans les (Figures 14 et 15).

L'évolution de la concentration en méthanol est de type logarithmique. On peut donc essayer d'utiliser un modèle de consommation de substrat de type semblable.

Un tel modèle est décrit par l'équation (5).

$$S = S_0 + (X_0 / Y_{X/S}) \cdot [1 - \exp(\mu_{\max} \cdot t)] \quad (5)$$

Avec:

S: concentration en substrat au temps t [ppm (w/v)].

S₀: concentration initiale en substrat [ppm (w/v)].

(X₀/ Y_{X/S}): concentration en substrat requis pour produire la concentration initiale (**X₀**) en biomasse [ppm (w/v)], **Y_{X/S}** étant le rendement de conversion du substrat en biomasse.

μ_{max}: taux spécifique de croissance maximum (h⁻¹).

t: Temps (h).

Afin d'ajuster ce modèle à nos données expérimentales, on utilisera la forme générale de l'équation précédente, à savoir l'équation (6) :

$$S = P_1 + P_2 [1 - \exp(P_3 \cdot t)] \quad (6)$$

Avec :

S: Concentration en substrat en phase liquide au temps t [ppm (w/v)].

t: Temps (h).

p₁, p₂, p₃: Paramètres.

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

P₁: Concentration initiale en substrat en phase liquide [ppm (w/v)].

P₂: Quantité de substrat nécessaire à la création de la quantité de biomasse initiale **X₀** [ppm (w/v)].

P₃: Taux spécifique maximum de croissance **μ_{max}** (h⁻¹).

Les valeurs des paramètres **p₁, p₂** et **p₃** de chaque réacteur sont reprises dans le tableau (14) suivant :

Tableau 14. Valeurs des paramètres du modèle de l'équation (6) obtenues après son ajustement paramétrique sur la courbe expérimentale de dégradation du méthanol.

Réacteur batch	A ([MeOH] 1000 ppm)		
Paramètres	P1	P2	P3
Valeur	999,27	260,90	0,352

Réacteur batch	B ([MeOH] 2000 ppm)		
Paramètres	P1	P2	P3
Valeur	2126,30	1585,40	0,1068

Réacteur batch	C ([MeOH] 3000 ppm)		
Paramètres	P1	P2	P3
Valeur	2972,3	1283,37	0,0861

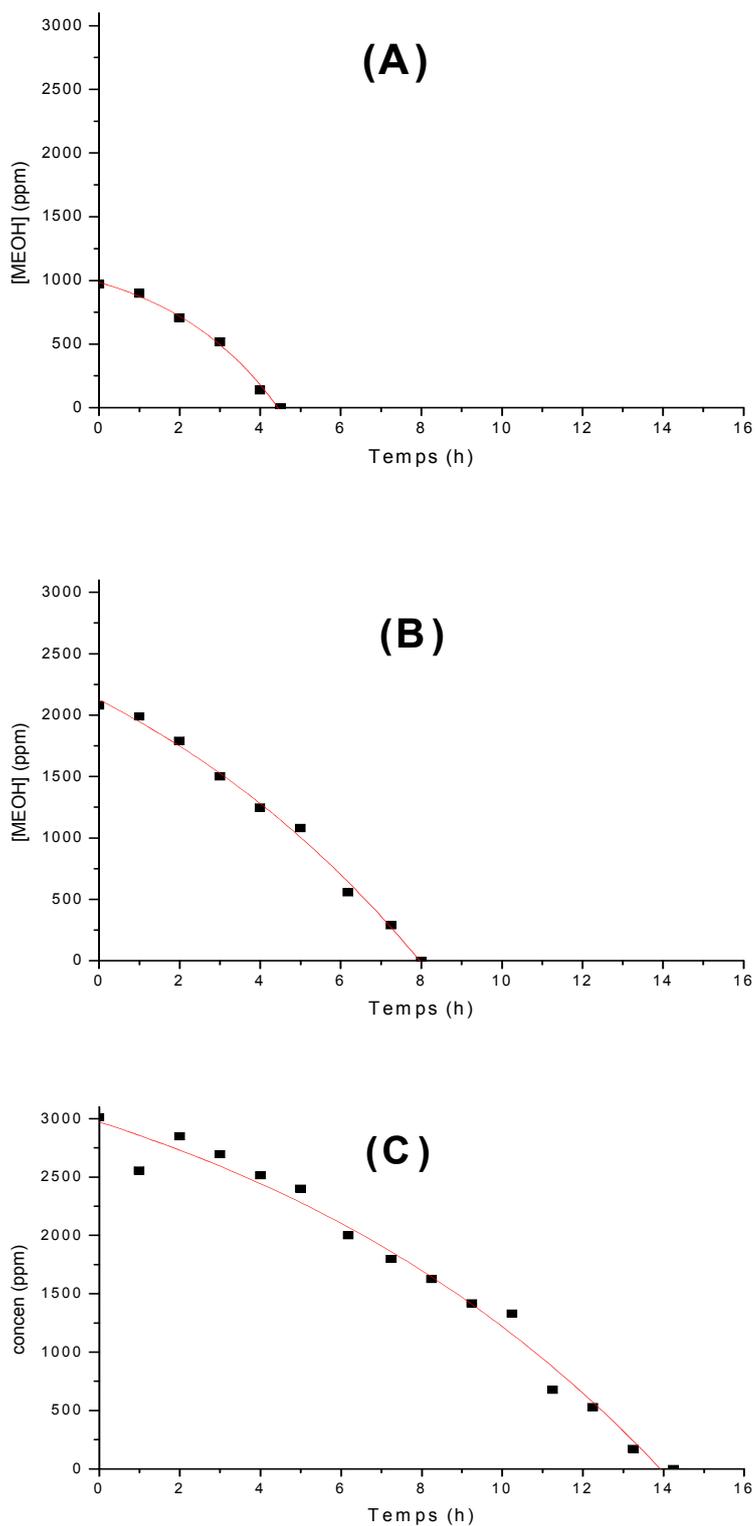


Figure 14. Evolution de la concentration en méthanol résiduel (ppm) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : **(A)** 1000 ppm de méthanol, **(B)** 2000 ppm de méthanol et **(C)** 3000 ppm de méthanol.

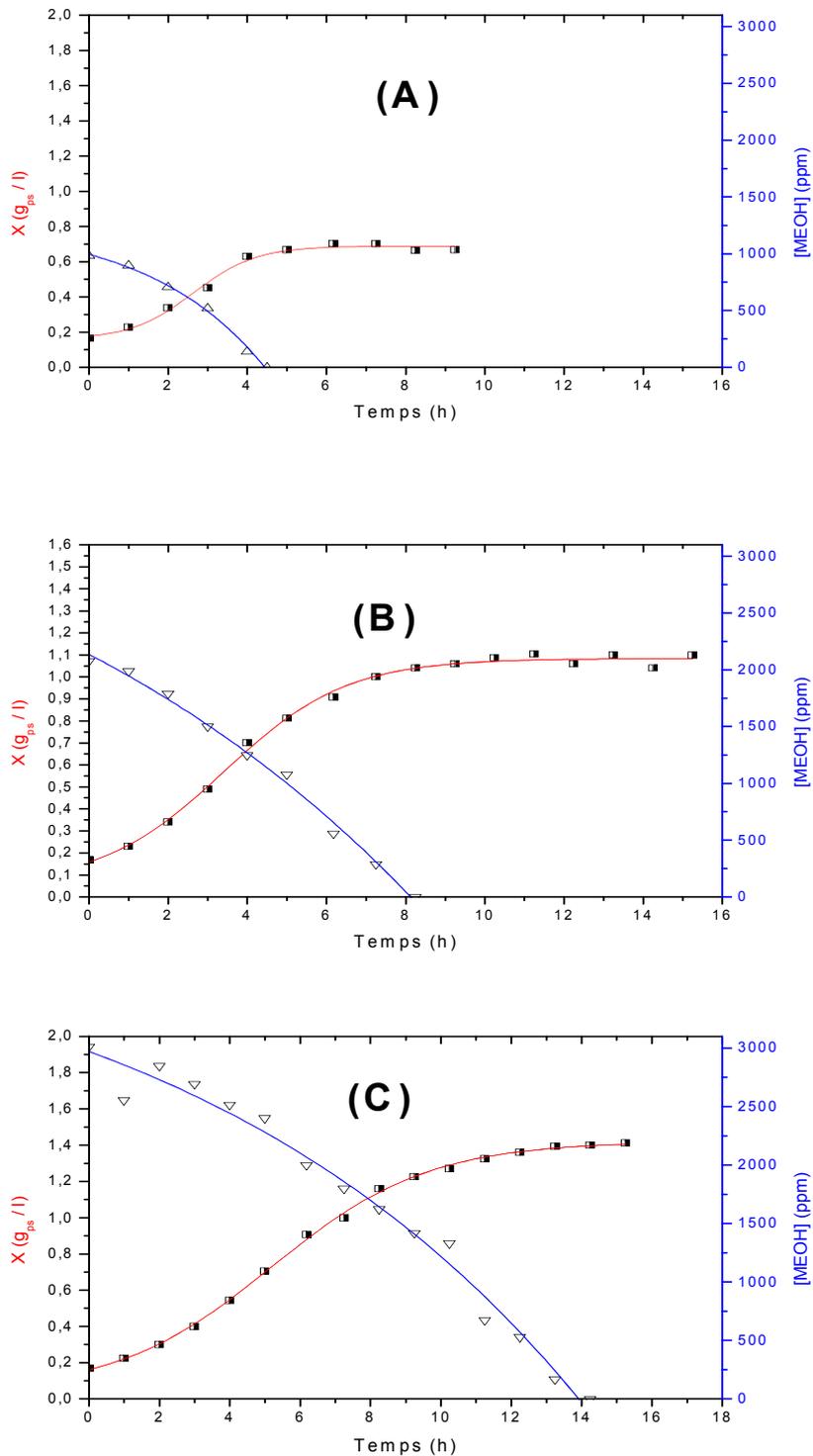


Figure 15. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{ps} / l) et de la concentration en méthanol résiduel (ppm) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : **(A)** 1000 ppm de méthanol, **(B)** 2000 ppm de méthanol et **(C)** 3000 ppm de méthanol.

On remarque que p_1 correspond à la concentration initiale du méthanol et que p_2 n'est pas constant alors que les différents réacteurs batch sont inoculés avec la même quantité de biomasse.

La consommation de méthanol n'est pas donc exactement décrite par le modèle proposé ci-dessus (Equation 5), même si l'allure logarithmique de la consommation du méthanol passent presque par tous les points expérimentaux.

III.1.1.4. Taux de croissance spécifique μ

Le taux spécifique de croissance est défini selon Monod par l'équation (7) [48].

$$\mu = (dX/dt) \cdot (1/X) \quad (7)$$

Avec :

μ : Taux spécifique de croissance (h^{-1}).

X : concentration en biomasse (g_{ps}/l).

t : Temps (h).

Dans notre cas, le taux de croissance spécifique n'aura plus la signification d'un taux de multiplication d'une souche pure mais bien d'un taux d'augmentation globale de la biomasse totale. Ce taux désigne donc un nombre de générations par unité de temps caractéristique d'une cellule « moyenne » représentative du consortium, et dans un état physiologique et structural représentatif de l'ensemble des différentes bactéries du consortium.

En modifiant l'équation (7), on obtient l'équation (8) :

$$\mu \cdot dt = dX / X \quad (8)$$

Le taux spécifique de croissance peut être déterminé en portant le logarithme népérien de la concentration en biomasse mesurée expérimentalement en fonction du temps (Equation 9).

$$\mu = (\text{Ln}X_{t_2} - \text{Ln}X_{t_1}) / (t_2 - t_1) \quad (9)$$

Où μ est le taux de croissance spécifique (h^{-1}) et X_{t_2} , X_{t_1} les concentrations en biomasse ($\text{g}_{\text{ps}}/\text{l}$) respectivement aux temps t_2 et t_1 .

Suite à l'adaptation des micro-organismes en méthanol grâce aux précultures, on peut aboutir à la dégradation du méthanol par une souche dominante ou unique. On sait que pour une souche bactérienne pure, tant qu'il n'y a pas de limitation de la croissance (par le substrat par exemple), μ reste constant durant toute la phase exponentielle.

Dans ces conditions, la croissance est décrite par l'équation (10) :

$$\text{Ln}X = \mu_{\text{max}} \cdot t + b \quad (10)$$

Les résultats sont représentés par la figure (18).

Une partie linéaire est définie sur une période de croissance appréciable, sa représentation par une droite (Figure 18) permet d'estimer le taux spécifique de croissance maximum μ_{max} qui représente la pente de la droite obtenue. Si la valeur obtenue de μ_{max} est proche de sa valeur expérimentale, on peut dire qu'on est en présence d'une souche pure.

Afin de donner une valeur réelle du taux spécifique de croissance, une estimation est faite en chaque temps, à partir des mesures expérimentales non-lissées, grâce à l'équation (11) :

$$\mu_n = (1/X_n) \cdot (X_{n+1} - X_n) / (t_{n+1} - t_n) \quad (11)$$

Les résultats pour les différents réacteurs batch sont repris à la figure (17). Ces graphiques montrent une évolution particulière de μ au cours de la croissance.

Pour chaque réacteur batch, le μ en chaque temps de la courbe théorique est calculé grâce à l'équation (7) (Figure 16).

Les taux spécifiques de croissance maximum μ_{\max} des trois réacteurs, calculés par les quatre méthodes décrites ci-dessus (Equations 6, 7, 10, et 11), ainsi que les temps auxquels ils sont atteints, sont rassemblés dans le tableau (8).

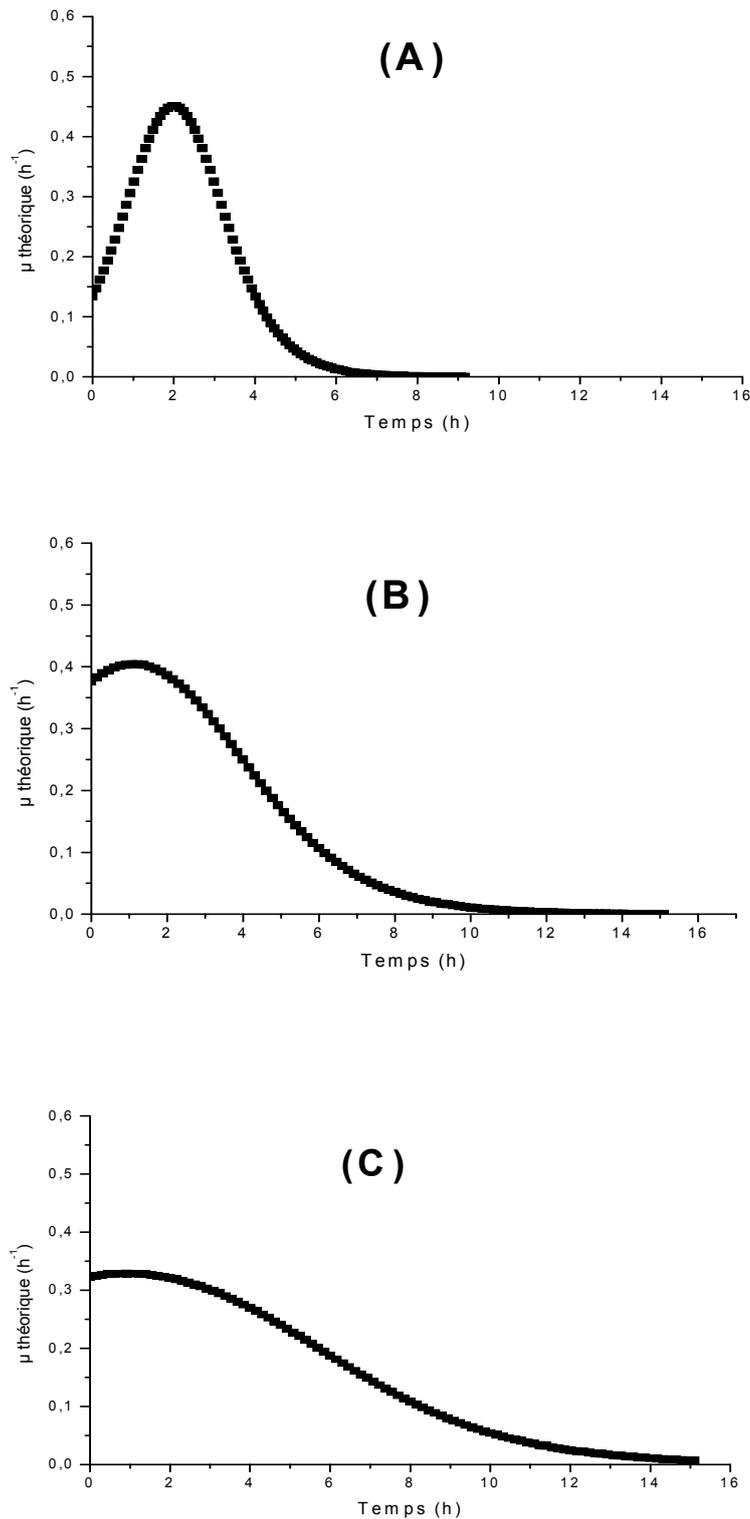


Figure 16. Evolution du taux spécifique de croissance théorique μ (h⁻¹) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol.

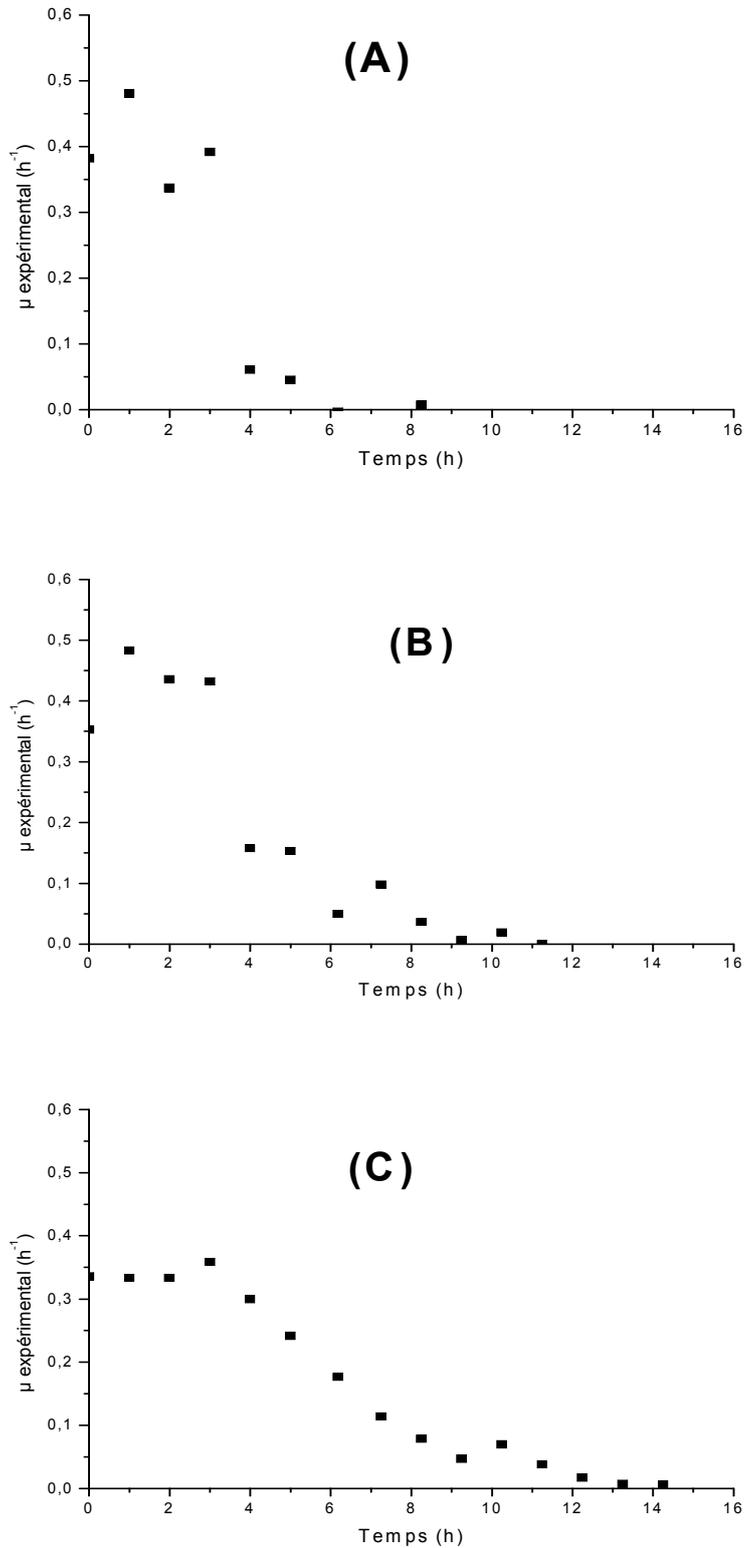


Figure 17. Evolution du taux spécifique de croissance expérimental μ (h⁻¹) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : **(A)** 1000 ppm de méthanol, **(B)** 2000 ppm de méthanol et **(C)** 3000 ppm de méthanol.

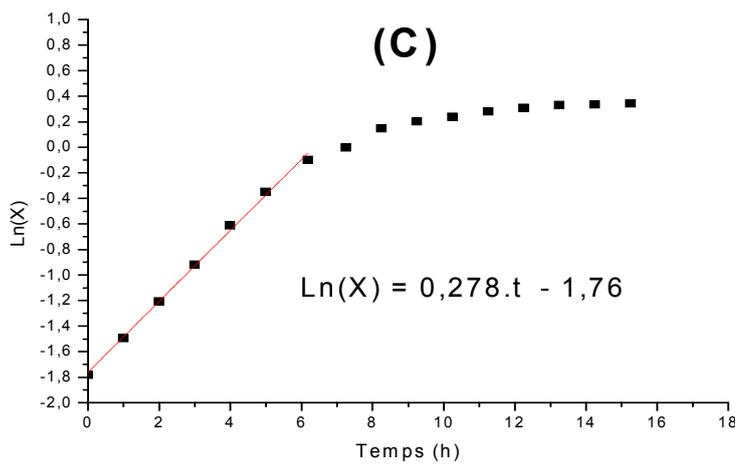
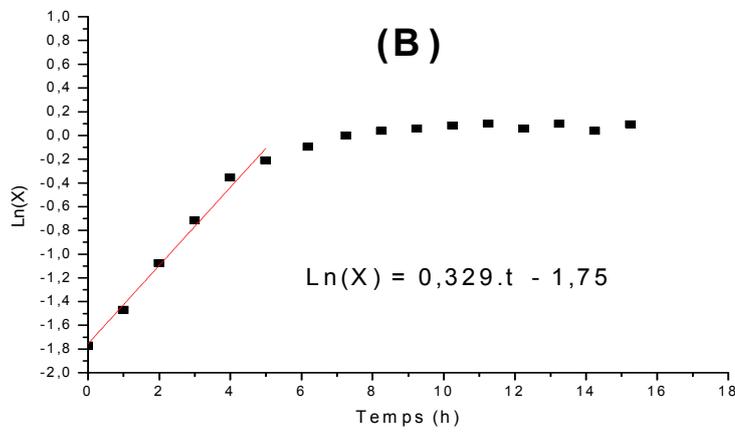
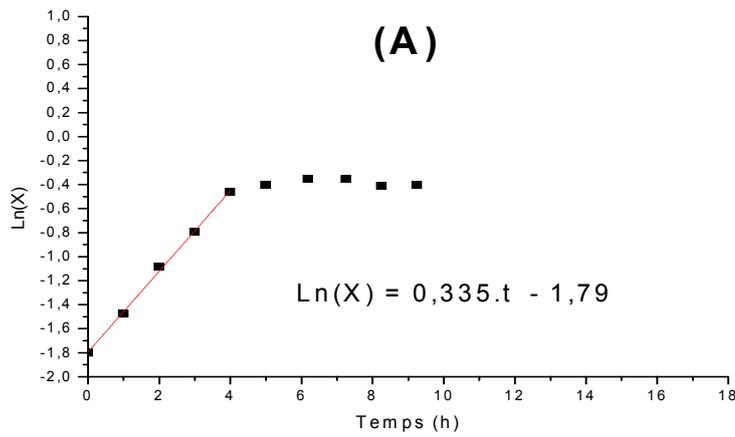


Figure 18. Partie linéaire de l'évolution du logarithme népérien de la concentration en biomasse $\text{Ln}(X)$ en fonction du temps (h) pour les réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol, (C) 3000 ppm de méthanol.

Tableau 15. Valeur du taux spécifique de croissance maximum déterminée par quatre méthodes décrites par les équations (6, 7, 10, 11).

Courbe théorique de croissance			
Réacteur Batch	A	B	C
$\mu_{\max} \text{ (h}^{-1}\text{)}$	0,45069	0,40464	0,32895
Temps (h)	1,96212	1,07828	1,07
Mesures expérimentales			
Réacteur Batch	A	B	C
$\mu_{\max} \text{ (h}^{-1}\text{)}$	0,48116	0,48361	0,35875
Temps (h)	1	1.25	3
Partie linéaire de l'évolution du logarithme népérien de X			
Réacteur Batch	A	B	C
$\mu_{\max} \text{ (h}^{-1}\text{)}$	0,335	0,329	0,278
Equation de consommation du méthanol			
Réacteur Batch	A	B	C
$\mu_{\max} \text{ (h}^{-1}\text{)}$	0,352	0,1068	0,0861

On remarque que les valeurs μ_{\max} obtenues par les quatre méthodes sont diminuées avec l'élevage de la concentration du substrat dans les trois réacteurs **A**, **B** et **C**. On remarque aussi que les valeurs de μ_{\max} obtenues à partir de courbes théoriques et les courbes expérimentales sont proches pour les trois réacteurs **A**, **B** et **C**.

Pour la concentration 1000 ppm on peut déterminer les valeurs de μ_{\max} par les quatre méthodes mais pour les réacteurs **B** et **C** on ne peut pas appliquer la méthode de la partie linéaire de la phase exponentielle parce que les valeurs sont très loin.

On effet, la courbe décrivant l'évolution de la croissance et la dégradation du méthanol pour chacun des trois réacteurs (Figure 16) montre que la phase stationnaire n'est pas encore atteinte au moment où la concentration en méthanol est nulle.

Les profils des évolutions du taux spécifique de croissance μ , sans et avec lissage des mesures expérimentales en fonction de la concentration en méthanol résiduel en phase liquide sont présentés aux figures (19) et (20).

Les graphiques représentant l'évolution de μ obtenu à partir des mesures expérimentales et du modèle sigmoïde de croissance (courbe théorique) (Figures 19 et 20) montrent que le consortium continu à croître alors que le méthanol dans la phase liquide est épuisé (lorsque $S=0$, le taux μ n'est pas nul pour les trois réacteurs).

III.1.1.5. Vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{x,MET}$

La vitesse spécifique de croissance représente la vitesse de consommation de substrat (dX/dt) 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 :

$$(r_{x,MET})_n = - (1/X_n) \cdot [(S_{n+1} - S_n) / (t_{n+1} - t_n)] \quad (12)$$

Où

n = numéro d'ordre de la mesure de la concentration en méthanol.

$(r_{x,MET})_n$ = vitesse spécifique de consommation du méthanol au temps t_n [$g_{MET}/g_{(ps)} \cdot h$]

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

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

S_{n+1} = concentration en méthanol résiduelle en phase liquide au temps t_{n+1} [ppm (w/v)]

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

t_{n+1} = temps lors de la $(n^{ième}+1)$ mesure de la concentration en méthanol résiduel [h]

Les profils de vitesses spécifiques en fonction du temps et de la concentration en méthanol résiduel obtenus par cette méthode sont représentés par la figure (22).

En dérivant la courbe théorique obtenue par l'ajustement paramétrique des mesures expérimentales à partir du modèle de consommation du méthanol, nous obtenons la vitesse de consommation volumique :

$$\mathbf{r_{MET}} = - \mathbf{dS/dt} = \mathbf{p_3 (p_1-p_2-S)} \quad (13)$$

Où

$\mathbf{r_{MET}}$ = vitesse volumique de consommation du méthanol au temps t [$\mathbf{mg_{MET}/(l.h)}$]

\mathbf{S} = concentration en méthanol résiduel en phase liquide au temps t [$\mathbf{ppm (w/v)}$]

$\mathbf{p_1, p_2, p_3}$ = paramètres déterminés par l'ajustement du modèle avec les données expérimentales.

Ensuite, lorsque nous divisons $\mathbf{r_{MET}}$ par la concentration en biomasse \mathbf{X} au temps correspondant, nous obtenons la vitesse spécifique de consommation du méthanol ($\mathbf{r_{x.MET}}$) théorique (Equation 14).les résultats sont présentés par la figure (21) :

$$\mathbf{r_{x.MET}} = - \mathbf{(1/X). dS/dt} \quad (14)$$

Les profils de ($\mathbf{r_{x.MET}}$) expérimentale théorique en fonction du temps et de la concentration en méthanol résiduel sont présentés sur les figures (23) et (24).

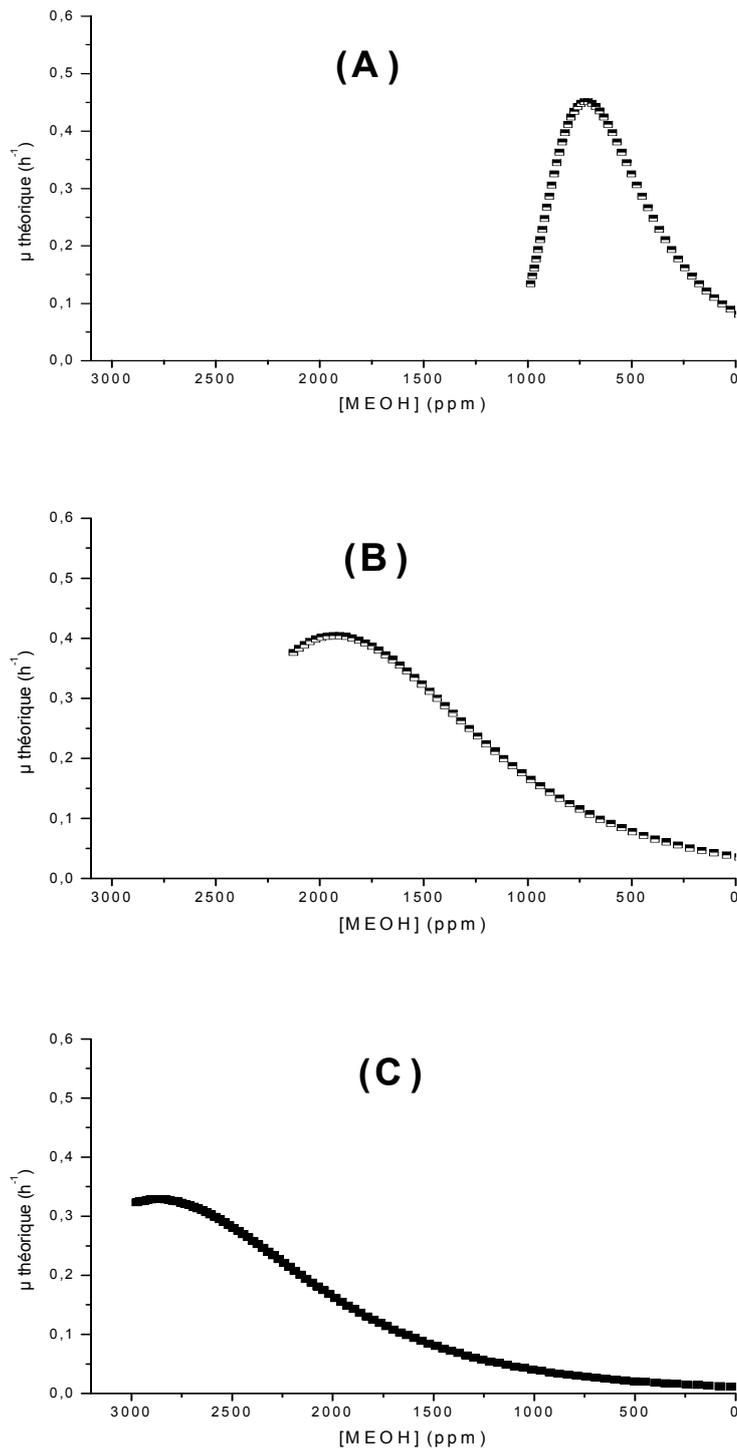


Figure 19. Evolution du taux spécifique de croissance théorique μ (h⁻¹) en fonction de la concentration en méthanol résiduel (ppm) (valeurs obtenues après lissage) pour les réacteurs batch contenant : **(A)** 1000 ppm de méthanol, **(B)** 2000 ppm de méthanol, **(C)** 3000 ppm de méthanol.

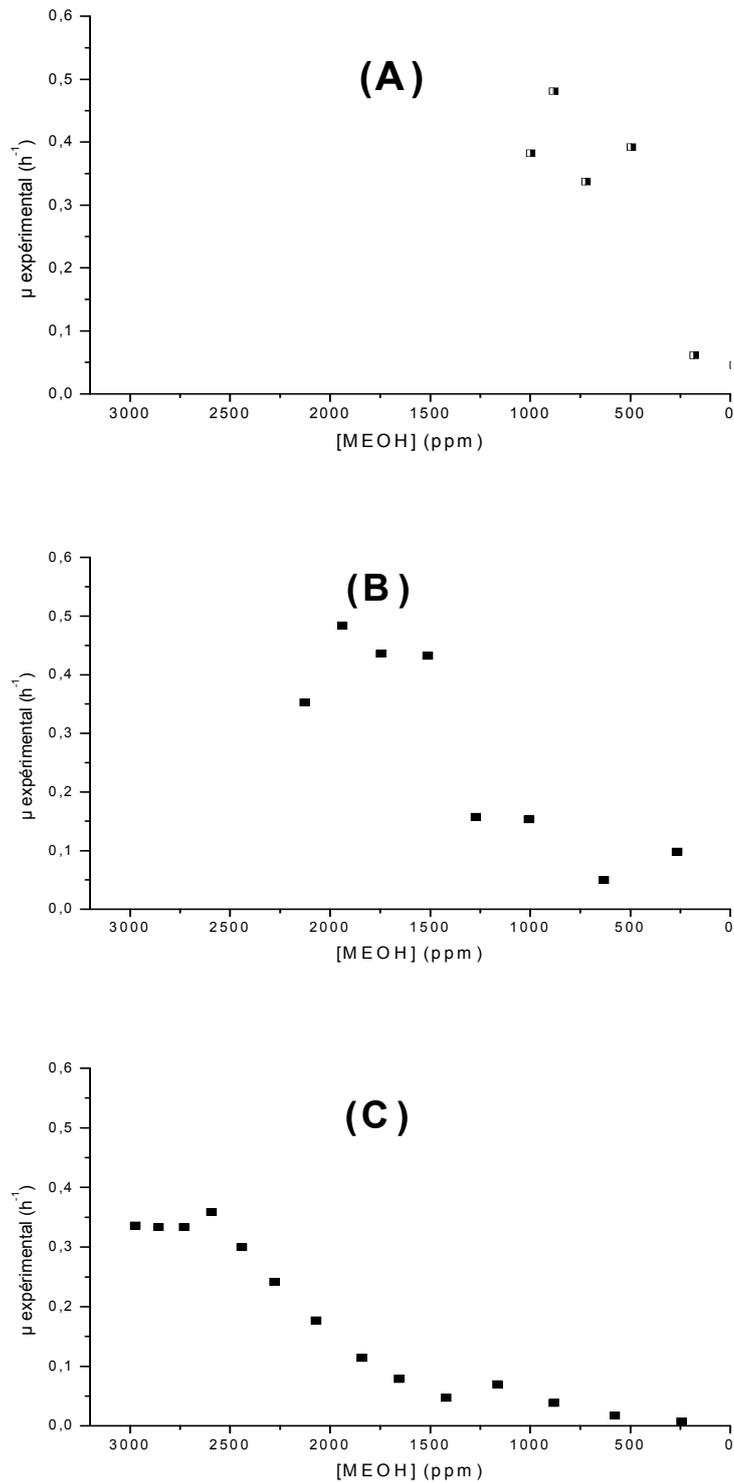


Figure 20. Evolution du taux spécifique de croissance expérimental μ (h⁻¹) en fonction de la concentration en méthanol résiduel (ppm) pour les réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol, (C) 3000 ppm de méthanol.

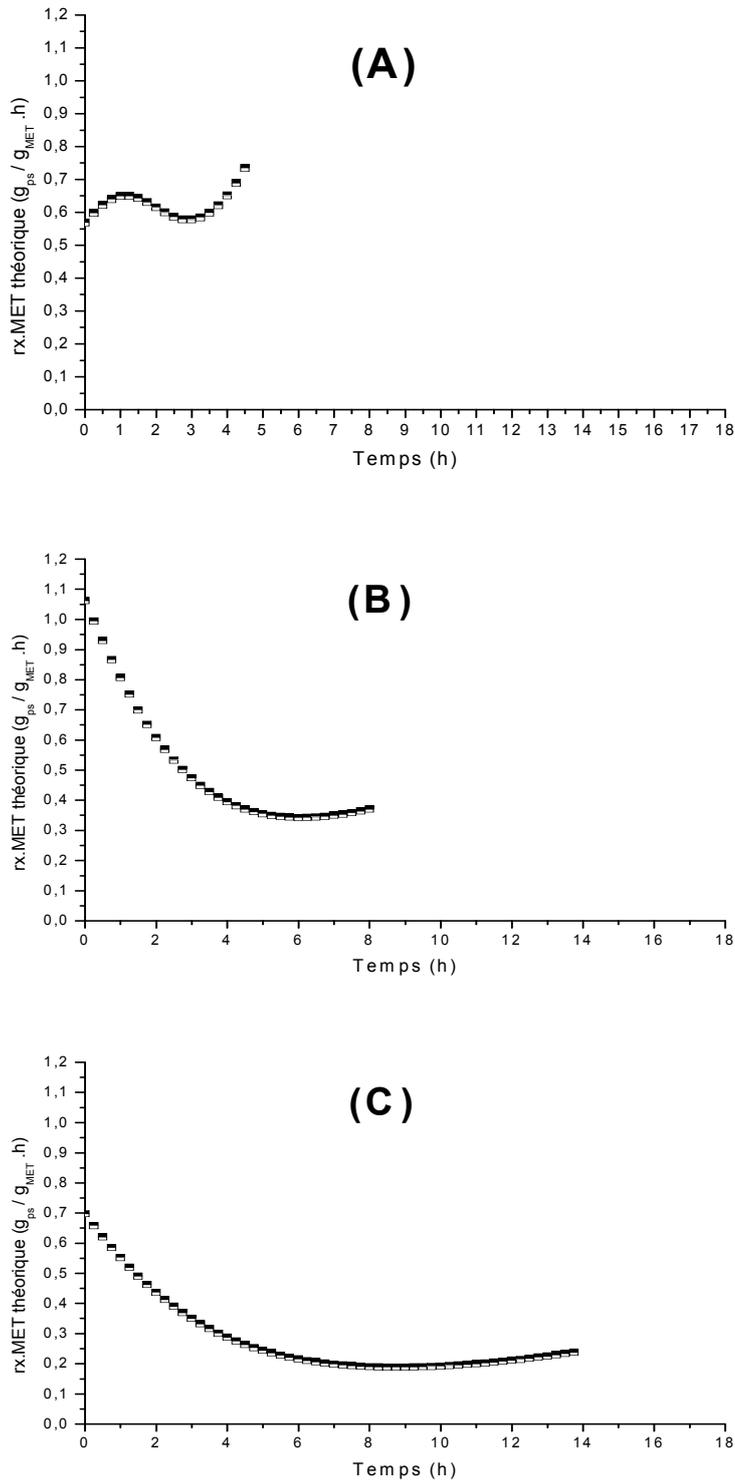


Figure 21. Evolution de la vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{x.MET(n+1)}$ théorique ($g_{ps}/g_{MET}.h$) en fonction du temps (h) pour les réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol, (C) 3000 ppm de méthanol.

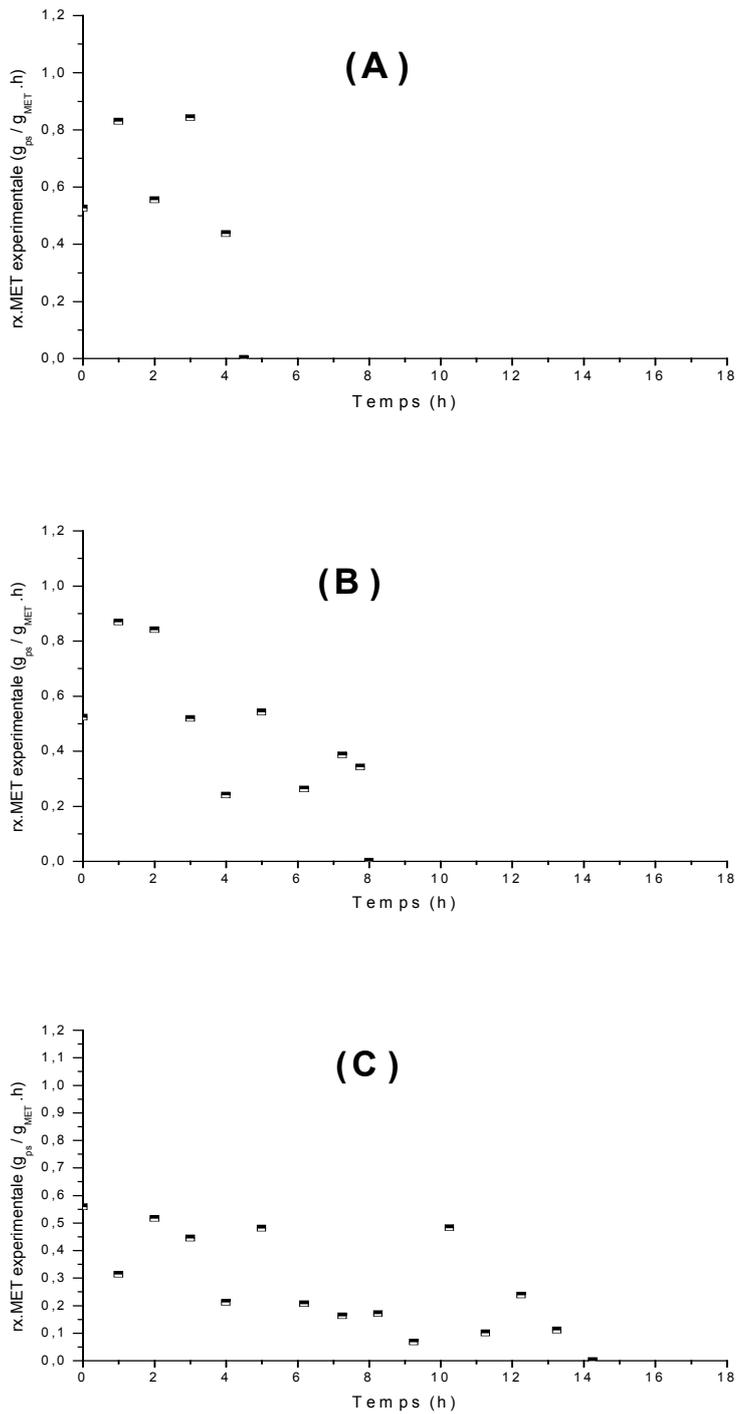


Figure 22. Evolution de la vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{x.MET(n+1)}$ expérimental ($g_{ps}/g_{MET}.h$) en fonction du temps (h) pour les réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol, (C) 3000 ppm de méthanol.

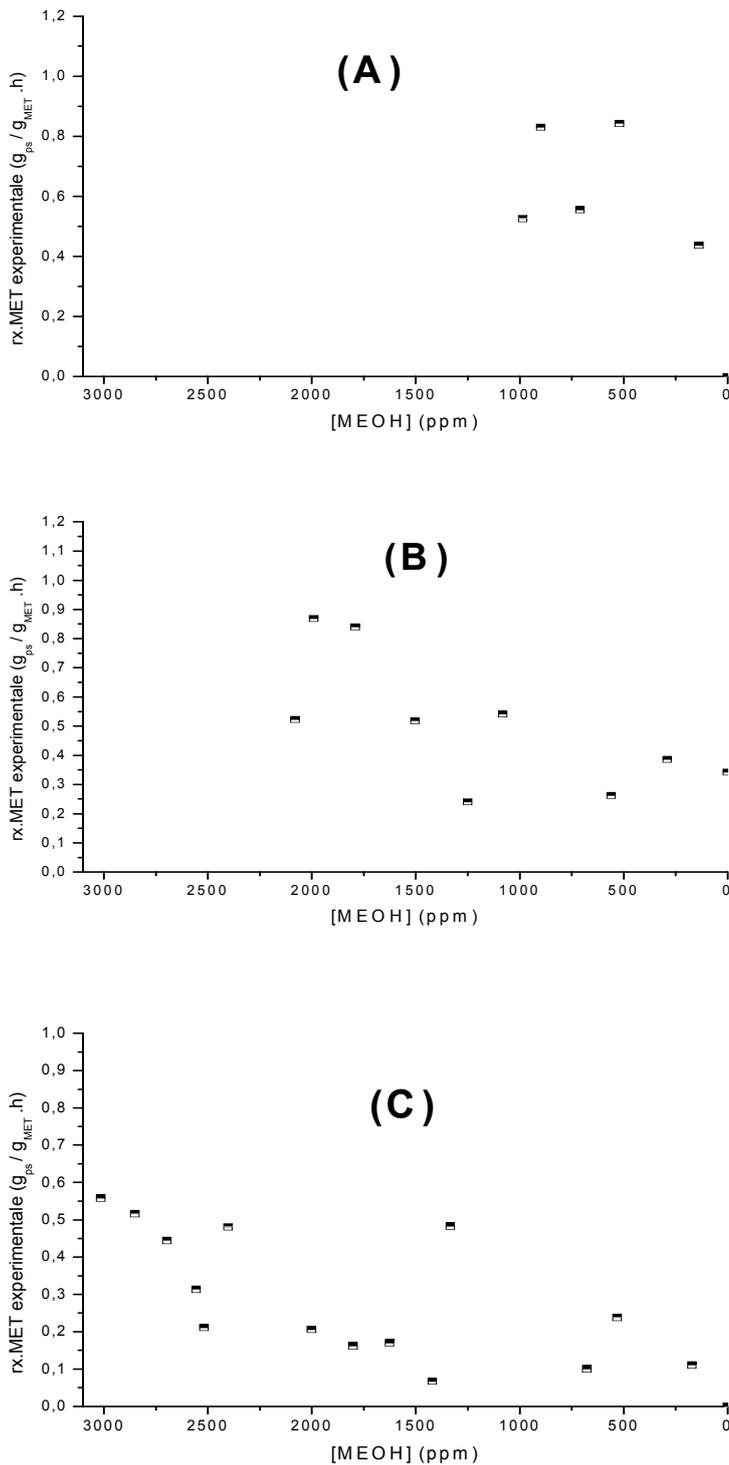


Figure 23. Evolution de la vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{x.MET(n+1)}$ expérimental ($\text{g}_{ps}/\text{g}_{MET} \cdot \text{h}$) en fonction de la concentration en méthanol résiduel (ppm) pour les réacteurs batch contenant : **(A)** 1000 ppm de méthanol, **(B)** 2000 ppm de méthanol, **(C)** 3000 ppm de méthanol.

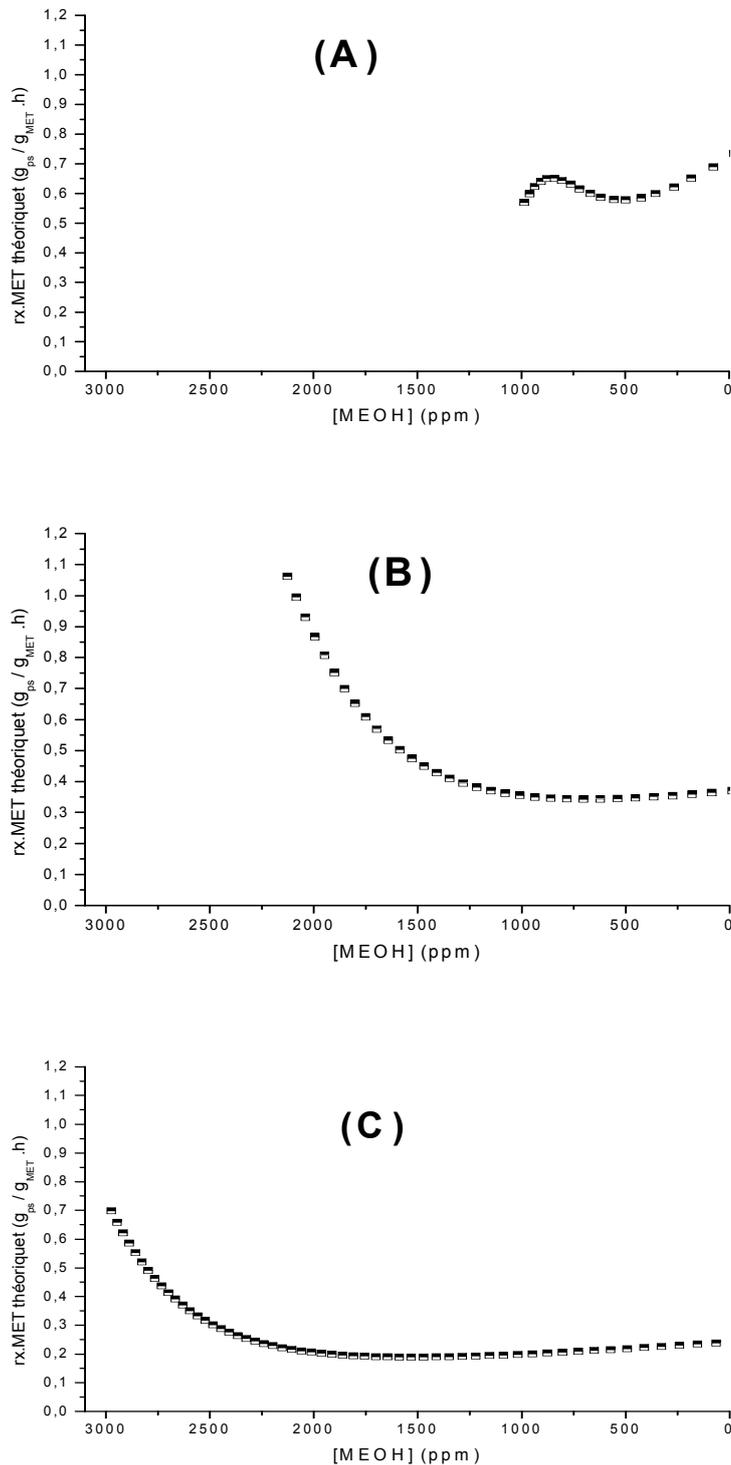


Figure 24. Evolution de la vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{x.MET(n+1)}$ théorique ($g_{ps}/g_{MET}.h$) en fonction de la concentration en méthanol résiduel (ppm) pour les réacteurs batch contenant : **(A)** 1000 ppm de méthanol, **(B)** 2000 ppm de méthanol, **(C)** 3000 ppm de méthanol.

III.1.1.6 Rendement de conversion du méthanol en biomasse $Y_{X/MET}$

Le méthanol pourrait être transformé intégralement en biomasse et en CO_2 par les voies métaboliques suivant les deux relations mentionnées auparavant équations (1) et (2). Ces deux équations sont reliées par le rendement à partir des graphiques de la figure (6). Reprenant l'évolution de la concentration en biomasse au cours du temps.

$$Y_{X/MET} = (\Delta X) / (\Delta S) \quad (15)$$

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

ΔS = charge du méthanol appliquée au réacteur et rapportée au volume de phase liquide initiale (g_{MET}/l)

Les résultats pour les différents batch sont repris sur le tableau (16).

Tableau 16. Valeurs du rendement de conversion du méthanol en biomasse par le Consortium dans les réacteurs batch contenant 1000, 2000, 3000 ppm en méthanol au départ.

	Réacteurs batch			unités
	A [Méthanol]=1000 ppm	B [Méthanol]=2000 ppm	C [Méthanol]=3000 ppm	
ΔX	0,514	0,913	1,206	g _{ps} /l
ΔS	1	2	3	g _{MET} /l
$Y_{X/MET}$	0,514	0,456	0,402	g _{ps} /g _{MET}
$Y_{X/MET}$	0,145	0,129	0,114	mole _X /mole MET
$Y_{X/MET}$ moyenne	0,129			mole _X /mole MET

La valeur moyenne du rendement de conversion du méthanol en biomasse est plus proche de la valeur attendue (0,11 mole/mole_{MET}), on suppose que la biomasse sèche contient 90% de la matière organique et 10 % de cendre [49].

III.1.2. Discussions des résultats

III.1.2.1. Croissance

III.1.2.1.1. Phase de latence

La disparition de cette phase dans les graphiques des trois réacteurs (Figure 13 et 15) est due au fait que des précultures sont lancées préalablement afin d'adapter le consortium au méthanol et que les cellules prélevées pour l'ensemencement des réacteurs sont au point de «mi-croissance».

III.1.2.1.2. Croissance et dégradation

Les trois réacteurs batch sont lancés avec approximativement la même concentration initiale en biomasse $X_0(0,13g_{ps} / l)$ mais avec des concentrations différentes de méthanol (1000 ppm, 2000 ppm et 3000 ppm). On remarque, d'après les graphiques de la figure (17), que la différence entre la concentration initiale en biomasse X_0 et la concentration finale X_f est proportionnelle à la concentration initiale de méthanol S_0 .

Les durées des phases exponentielles (**A** : 5h, **B** : 9h, **C** : 14h) s'avèrent proportionnelles à la concentration initiale en méthanol S_0 .

Les courbes théoriques obtenues par l'application de l'équation de Boltzmann (Figure 13), montrent une réelle concordance avec l'allure de l'évolution des points expérimentaux cependant, pour les trois réacteurs, on remarque que les courbes théoriques passent presque par tous les points expérimentaux.

Les valeurs de ($P_1 = S_0$) obtenues par l'application du modèle de consommation du substrat représentée par l'équation (6) s'avèrent proche des valeurs expérimentales de S_0 .

Les courbes théoriques obtenues par l'application de l'équation de Boltzmann (Figure 13), montrent une réelle concordance avec l'allure de l'évolution des points expérimentaux cependant, pour les trois réacteurs, on remarque que les courbes théoriques passent presque par tous les points expérimentaux.

L'évolution de la croissance exprimée en \mathbf{LnX} en fonction du temps (Figure 18) s'avère dépourvue de la phase d'accélération pour les trois réacteurs.

On remarque que l'épuisement du méthanol ($S_0=0$) coïncide avec le début de la phase de ralentissement de la croissance pour les trois réacteurs. La durée totale de consommation du méthanol est quant à elle proportionnelle à la concentration initiale en méthanol S_0 et dure environ (**A** : 4,5h, **B** : 8h, **C** : 13,5 h) pour les trois réacteurs **A**, **B** et **C**, mais on remarque aussi que les durées de la croissance sont légèrement élevées par rapport aux durées de consommation du méthanol, cela est due au fait que les cellules de consortium absorbent le méthanol avant la dégradation.

III.1.2.1.3. Taux spécifique de croissance

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 valeurs de μ_{\max} expérimentales avec les temps auxquels elles sont atteintes et les concentrations du méthanol correspondantes dans les trois réacteurs sont reprises dans le tableau (17).

L'équation (7) est utilisée pour calculer le μ théorique dont l'évolution en fonction du temps montre une allure hyperbolique avec une valeur maximale pour chaque réacteur qui est reportée dans le tableau (17) avec le temps auquel elle est atteinte et la concentration en méthanol correspondante. Une diminution progressive de μ_{\max} théorique est également observée au fur et à mesure que la concentration initiale en méthanol augmente, ce qui confirme la présence d'une forme d'inhibition.

Suite à ces observations, les concentrations initiales en méthanol applicables seront égales ou inférieures à 1000 ppm jusqu'à ce que l'origine de cette inhibition soit mise en évidence.

Tableau 17. Valeur du taux spécifique de croissance maximum μ_{\max} expérimental et théorique aux différents temps et aux concentrations en méthanol correspondantes pour les différents réacteurs batch.

Réacteur Batch	Expérimentales			Théoriques		
	A	B	C	A	B	C
μ_{\max} (h^{-1})	0,48116	0,48361	0,35875	0,45069	0,40464	0,32895
Temps (h)	1	1,25	3	1,96212	1,07828	1,07
S (ppm)	875	1958	2695	770	1937	2860

Un déphasage horaire de 0,96, -0,18, -1,93 h est observé pour les réacteurs **A**, **B** et **C** respectivement.

Le calcul de la constante de Michaelis K_m , qui rend compte de l'affinité du consortium pour le méthanol a donné les résultats suivants (Tableau 18).

Tableau 18. Valeurs de K_m des trois réacteurs batch.

Réacteur Batch	A ([MeOH]=1000ppm)	B ([MeOH]=2000ppm)	C ([MeOH]=3000ppm)
K_m (ppm)	294,6	2616,05	2790,39

Plus K_m est faible plus l'affinité est grande. C'est le cas du réacteur **A** qui présente la valeur de K_m la plus faible. Cette inhibition est donc fonction de la concentration initiale en méthanol lui-même, soit aux métabolites. Cette dernière supposition est confirmée par le fait que les graphiques représentant l'évolution de μ obtenu à partir des mesures expérimentales et du modèle sigmoïde de croissance (courbe théorique) (Figures 19 et 20) montrent que le consortium continue à croître alors que le méthanol dans la phase liquide est épuisé (lorsque $S=0$ lorsque μ n'est pas nul pour les trois réacteurs).

III.1.2.2. Dégradation

III.1.2.2.1. Vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{x,MET}$

Les valeurs de $(r_{x,MET})_{max}$ expérimentales et théoriques des trois réacteurs et le temps auquel elles sont atteintes sont repris dans le tableau (19) suivant :

Tableau 19. Valeurs expérimentales et théoriques de la vitesse maximale de consommation du méthanol $(r_{x,MET})_{max}$ décrites dans les équations (12) et (14).

Mesures expérimentales non -lissées			
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000ppm)	B ([MeOH]=2000ppm)	C ([MeOH]=3000ppm)
$(r_{x,MET})_{max}$	0,65	1,06	0,696
Temps (h)	1,25	0	0
Courbe théorique de croissance			
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000ppm)	B ([MeOH]=2000ppm)	C ([MeOH]=3000ppm)
$(r_{x,MET})_{max}$	0,83	0,869	0,558
Temps (h)	1	1	0

La comparaison entre les graphiques représentant l'évolution de $r_{x,MET}$ théorique et expérimentale au cours du temps de chaque réacteur batch montre que les valeurs de $r_{x,MET}$ théorique et expérimentale sont relativement proches pour les trois réacteurs (Tableau 20).

Un déphasage horaire de 0,25h, 1 h est observé pour les réacteurs **A** et **B** respectivement.

On remarque qu'on obtient la valeur de $r_{x,MET}$ dès les premières minutes (**A** : 1,25, **B** : 0, **C** : 0) et qu'elle est atteinte avant celle de μ_{max} (Tableau 19).

Tableau 20. Valeurs de $(r_{x,MET})_{max}$ et de μ_{max} expérimentales avec les temps auxquels ils sont atteints et les concentrations en méthanol correspondantes.

Paramètres	Réacteur batch		
	A ([MeOH]=1000ppm)	B ([MeOH]=2000ppm)	C ([MeOH]=3000ppm)
μ_{max}	0,48116	0,48361	0,35875
Temps (h)	1	1,25	3
S (ppm)	875	1958	2695
$(r_{x,MET})_{max}$	0,65	1,06	0,696
Temps (h)	1,25	0	0
S (ppm)	830	2079	3014
S_0 (ppm)	970	2079	3014

III.1.2.2.2. Rendement de conversion du méthanol en biomasse $Y_{X/MEY}$

La valeur moyenne obtenue de $Y_{X/MET}$ (0,457 g_{ps}/g_{MET}) et proche de la valeur de $Y_{X/MET}$ attendue (0,357 g_{ps}/g_{MET}) ainsi que celles de certaines souches pures dégradant le méthanol telles que [48].

Tableau 21. Valeurs du rendement de conversion du méthanol par des souches pures.

<i>Bactérie</i>	$Y_{X/S}$ (g_{ps}/g_{MET})
<i>Klebsiella sp</i>	0,38
<i>Methylomonas sp</i>	0,48
<i>Pseudomonas sp</i>	0,41

III.2 .Effet de la concentration initiale de biomasse X_0

Pour réaliser les expériences sur l'effet de la concentration initiale de biomasse X_0 , il faut appliquer plusieurs concentrations différentes de X_0 et fixer la concentration du méthanol à 1000 ppm.

Pour chaque concentration initiale de biomasse, Les concentrations appliquées dans les différents réacteurs batch sont choisies de façon à être suffisamment élevées sans pour autant rendre l'oxygène limitant. Les concentrations de biomasse X_0 appliquées sont données dans le tableau suivant :

Tableau 22. Concentrations de biomasse utilisées dans les différents réacteurs.

[Méthanol]	1000 ppm						
Réacteurs Batch	A	B	C	D	E	F	G
X_0 (g _{ps} / l)	0,2	0,15	0,13	0,1	0,07	0,03	0,02

Les résultats de l'évolution de la concentration en biomasse X des différents réacteurs sont représentés sous forme graphique dans la figure (25).

Les valeurs de la concentration finale de biomasse X_f , du taux spécifique maximum μ_{max} et les temps d'élimination totale du substrat sont reportées au tableau (23).

Le taux spécifique maximum μ_{max} est calculé à partir de la partie linéaire de l'évolution du logarithme népérien de la concentration en biomasse (Figure 18) $\ln X$ en fonction du temps (h).

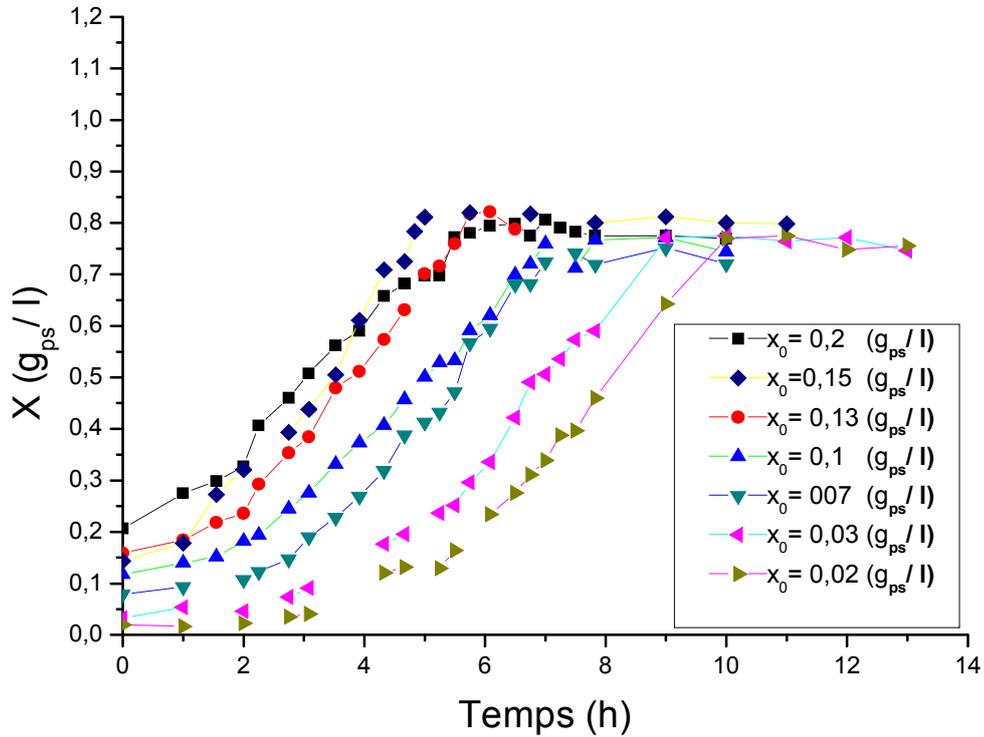


Figure 25. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{ps}/l) en fonction du temps (h) pour les différentes concentrations en biomasse X_0 .

Tableau 23. Comparaison de certaines grandeurs de croissance et de dégradation pour les différentes concentrations initiales en biomasse X_0 et $S_0 = 1000ppm$

Réacteurs Batch	A	B	C	D	E	F	G
X_0 (g_{ps}/l)	0,2	0,15	0,13	0,1	0,07	0,03	0,02
X_f (g_{ps}/l)	0,805	0,82	0,819	0,771	0,751	0,774	0,773
μ (h^{-1})	0,278	0,310	0,335	0,382	0,400	0,460	0,513
temps d'élimination totale du substrat (h)	4,5	4,67	4,5	7	8	9	10

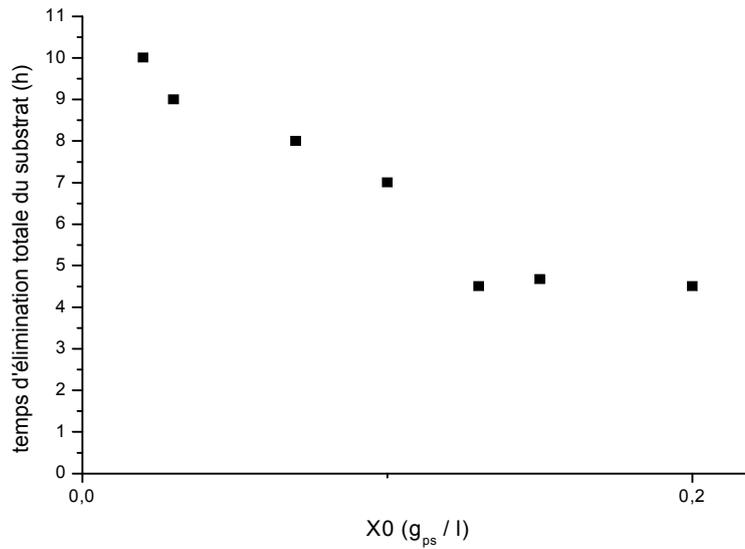


Figure 26. Temps d'élimination totale du substrat (h) en fonction de la concentration initial X_0 (g_{ps} / l) appliquée.

A partir de la figure (26) et le tableau (23), le temps d'élimination totale du substrat (h) pour les réacteurs (A, B, C) reste fixé à 4,5 h et le taux de croissance spécifique μ_{\max} (h⁻¹) augmente de 0,278 à 0,335 h⁻¹.

Pour les réacteurs (C, D, E, F, G), On remarque que le temps d'élimination totale du substrat (h) dépend de la concentration initiale de biomasse. Si la concentration initiale de biomasse diminue de 0,13 à 0,02 mg/l, le temps pour la dégradation du méthanol augmente de 4,5 à 10 heures.

La concentration finale de biomasse X_f (g_{ps} / l) reste entre 0,82 g_{ps} / l et 0,751 g_{ps} / l, ce qui signifie qu'au cours de notre expérience cette dernière X_f (g_{ps} / l) ne dépend pas de la concentration initiale X_0 (g_{ps} / l).

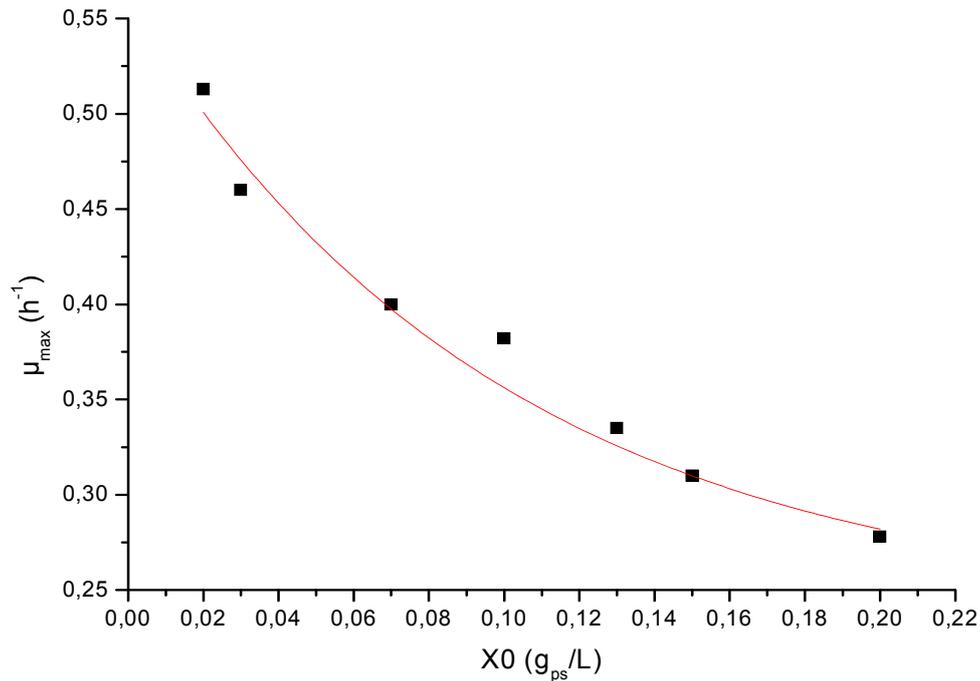


Figure 27. Evolution du taux spécifique de croissance μ_{\max} (h⁻¹) en fonction de la concentration initiale en biomasse X_0

Quand la concentration initiale de biomasse X_0 (g_{ps} / l) augmente de 0,02 à 0,2 mg/l, le taux de croissance spécifique μ_{\max} (h⁻¹) commence à diminuer de 0,513 h⁻¹ à 0,278 h⁻¹.

D'après ces résultats, on peut choisir la concentration initiale de biomasse X_0 (Temps court avec un taux spécifique élevé) qui correspond au réacteur C dont la valeur de $X_0 = 0,13$ g_{ps} / l.

III.3. Influence de la température sur la biodégradation du méthanol

Les résultats présentés dans cette section concernent l'expérience de dégradation du méthanol en fonction de la variation de la température, où la concentration du méthanol est 1000 ppm et la concentration initiale de la biomasse a été ajustées à 0,130 g_{ps}/ l.

Les figures (28, 29, 30,31) représentent les différents résultats de l'influence de la température.

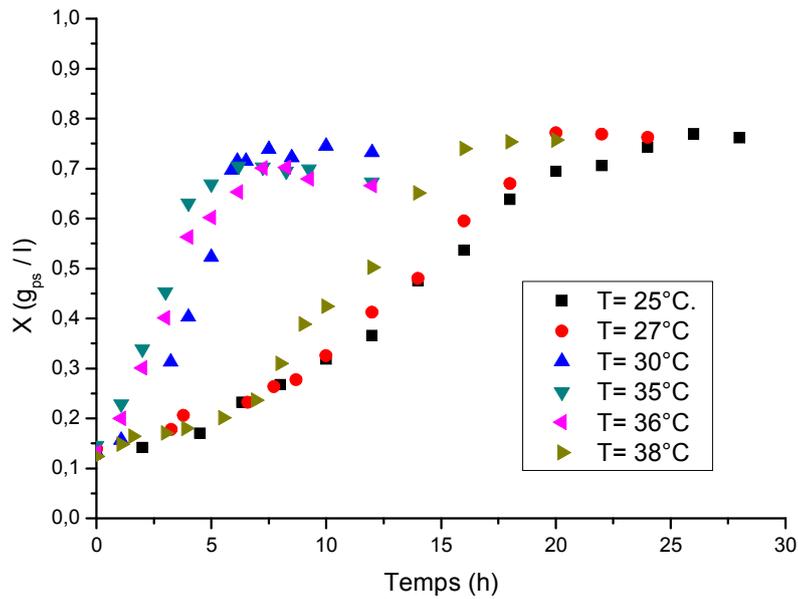


Figure 28 Evolution de la concentration en biomasse X (g_{ps}/l) en fonction du temps (h) pour les différentes températures T (°C)

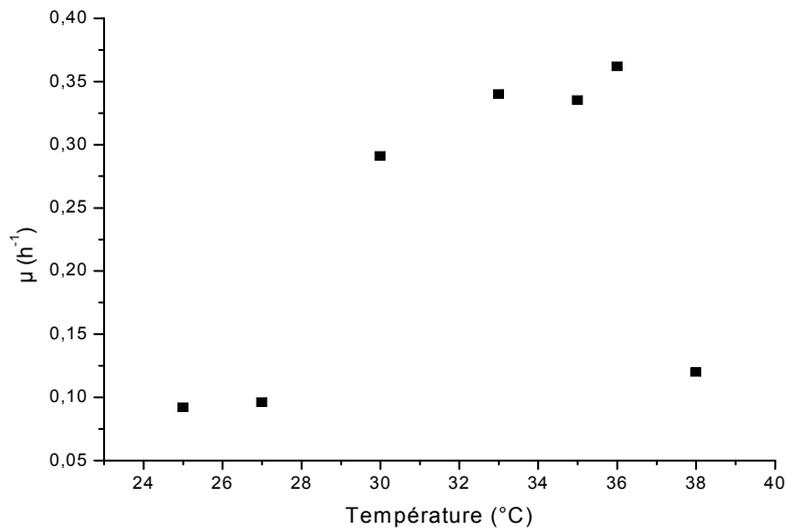


Figure 29. Evolution du taux spécifique de croissance μ_{max} (h⁻¹) en fonction de la température T (°C).

Quand la température augmente de 25 °C à 33 °C, le taux de croissance spécifique μ_{max} (h⁻¹) s'élève de 0,092 h⁻¹ à 0,340 h⁻¹, ensuite une stabilisation du taux observée

jusqu'à $T=36^{\circ}\text{C}$. Lorsque la température passe de 36°C à 38°C , le taux de croissance spécifique μ_{max} (h^{-1}) diminue de $0,362\text{h}^{-1}$ à $0,120\text{h}^{-1}$.

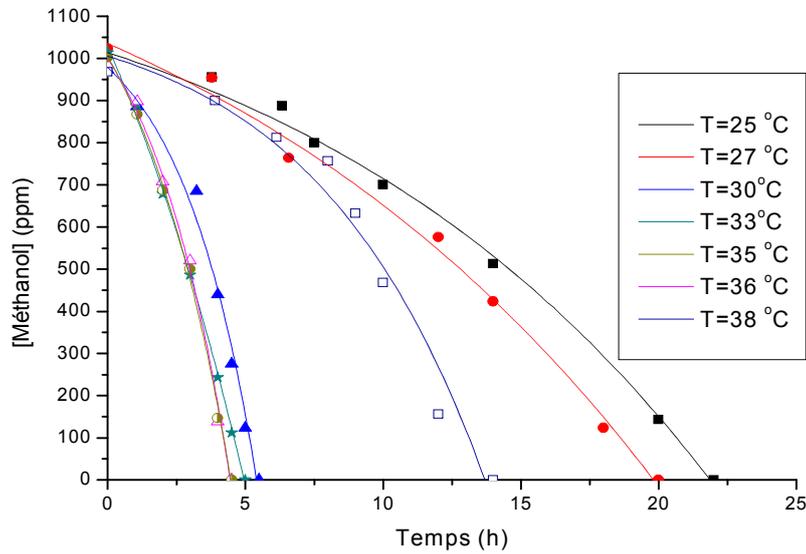


Figure 30. Evolution de la concentration en méthanol résiduel (1000 ppm) en fonction du temps (h) pour les différentes températures T ($^{\circ}\text{C}$).

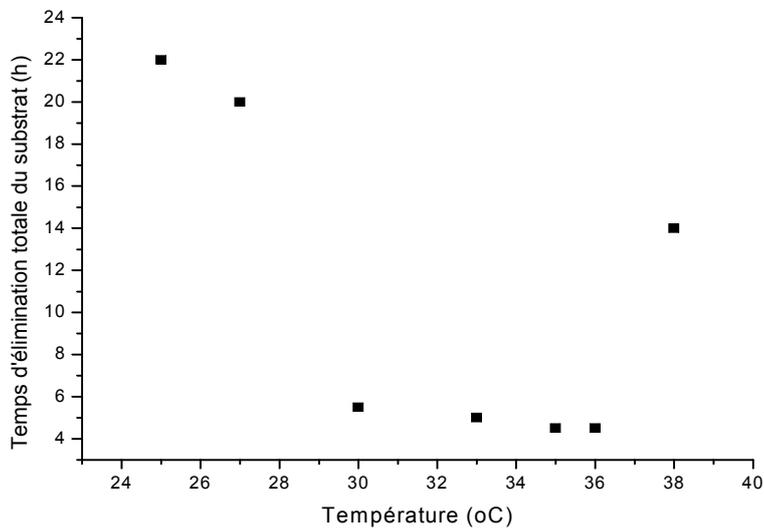


Figure 31. Temps d'élimination totale du substrat (h) en fonction de la température T ($^{\circ}\text{C}$).

A partir de la figures (31), les temps les plus courts d'éliminations totale du substrat (h) sont (5,5 h, 5 h, 4,5 h, 4,5h) et correspondent respectivement aux températures (30 °C, 33°C, 35 °C, 36 °C).

D'après ces résultats, la température optimale qui correspond au temps d'élimination le plus court et le taux spécifique le plus élevé pour dégrader le méthanol est entre la gamme de 33 °C -36 °C.

III.4. Influence de la présence du chloroforme (CHCl₃) sur la biodégradation du méthanol.

Le chloroforme (CHCl₃) s'évapore facilement en milieu aqueux ou à partir du sol (constante de la loi de Henry : 287-326 Pa.m³/mol). Il est soluble dans l'eau (8,2 g/l).

Le chloroforme est très mobile dans le sol et il a peu tendance à s'accumuler dans les couches supérieures du sol. Il peut atteindre l'eau souterraine par lixiviation.

III.4.1. Biodégradation

Le chloroforme (CHCl₃) n'est pas biodégradable en milieu aérobie (eaux de surface, sols) parce que le chlore (Cl₂) est un substituant gênant la biodégradation (Tableau 7). Les résultats disponibles en milieu aérobie sont :

- 0 % de dégradation après 14 jours [57].
- 0 % de dégradation après 175 jours (100 µg/L avec une boue de station d'épuration, à 20°C et dans l'obscurité) [58].
- En milieu anaérobie, des demi-vies de 10 à 14 jours ont été mesurées [59]. La dégradation en anaérobie est confirmée par les résultats suivants :
- 15 et 81 % de dégradation après 14 jours pour des concentrations de 16 et 34 µg.L⁻¹ (bactéries méthanogènes) [58].

- 89 % de dégradation après 30 jours pour des concentrations < 1,57 mg.L-1 (bactéries méthanogènes alimentées en continu) [60].

Dans l'air, le chloroforme peut se décomposer par réaction photochimique avec des radicaux OH et NO₃. Une demi-vie de 105 jours peut être estimée [61].

III.4.2. Présentation des résultats

Les expériences ont été réalisées en variant la concentration du chloroforme (CHCl₃) tout en gardant la concentration du méthanol constante à 1000 ppm. Différentes concentrations de CHCl₃ appliquées sont données dans le tableau suivant.

Tableau 24. Différentes concentrations de CHCl₃ appliquées.

Concentration du Méthanol	1000 ppm							
Recteurs batch	A	B	C	D	E	F	G	H
Concentration de CHCl ₃ appliquée ppm	100	250	500	750	1000	1500	2000	2500

Les courbes cinétiques obtenues sont présentées sur les figures (32, 33, 34, 35, 36, 37,38)

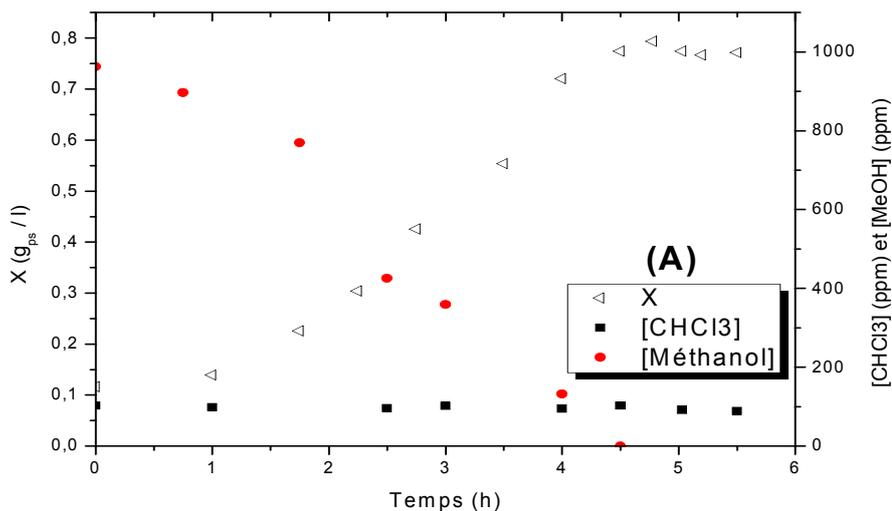


Figure 32. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{ps} / l) et de la concentration en méthanol résiduel (1000 ppm) en fonction du temps (h) à la présence de chloroforme (100 ppm).

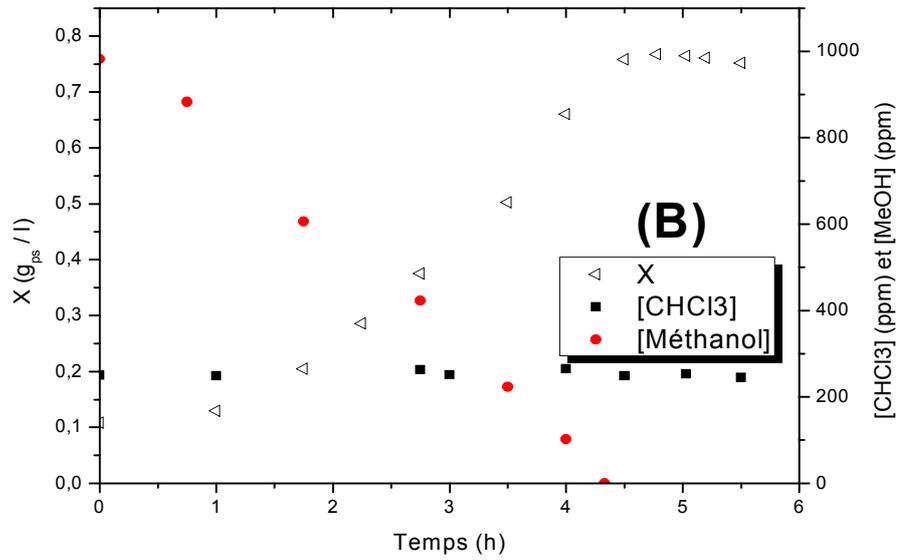


Figure 33. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{ps} / l) et de la concentration en méthanol résiduel (1000 ppm) en fonction du temps (h) à la présence de chloroforme (250ppm).

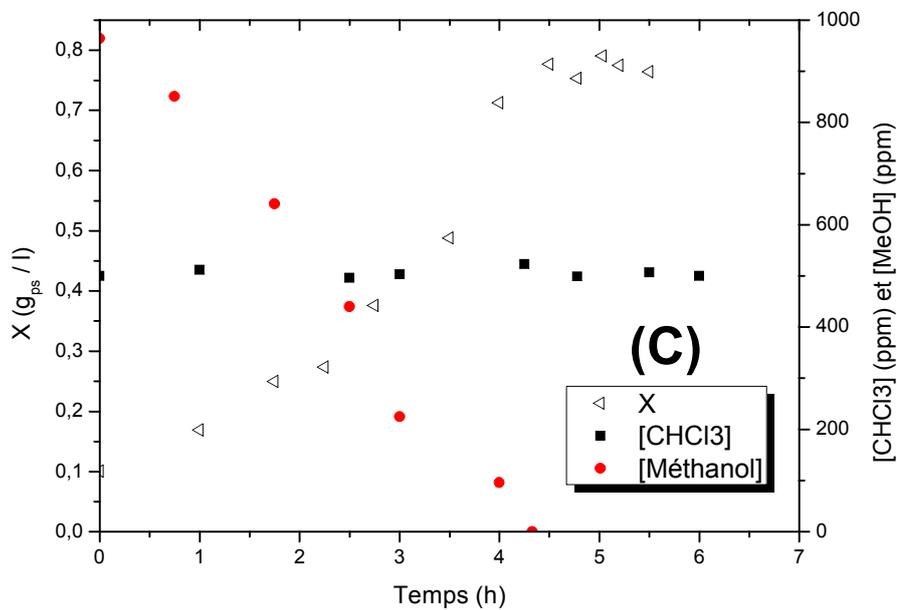


Figure 34. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{ps} / l) et de la concentration en méthanol résiduel (1000 ppm) en fonction du temps (h) à la présence de chloroforme (500 ppm).

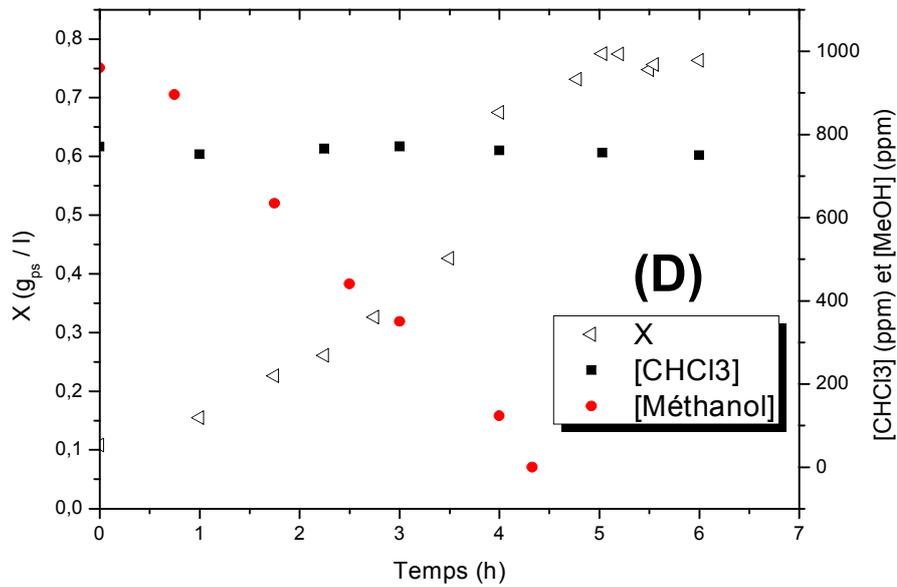


Figure 35. Evolution de la concentration en biomasse X ($\text{g}_{\text{ps}} / \text{l}$) et de la concentration en méthanol résiduel (1000 ppm) en fonction du temps (h) à la présence de chloroforme (750 ppm).

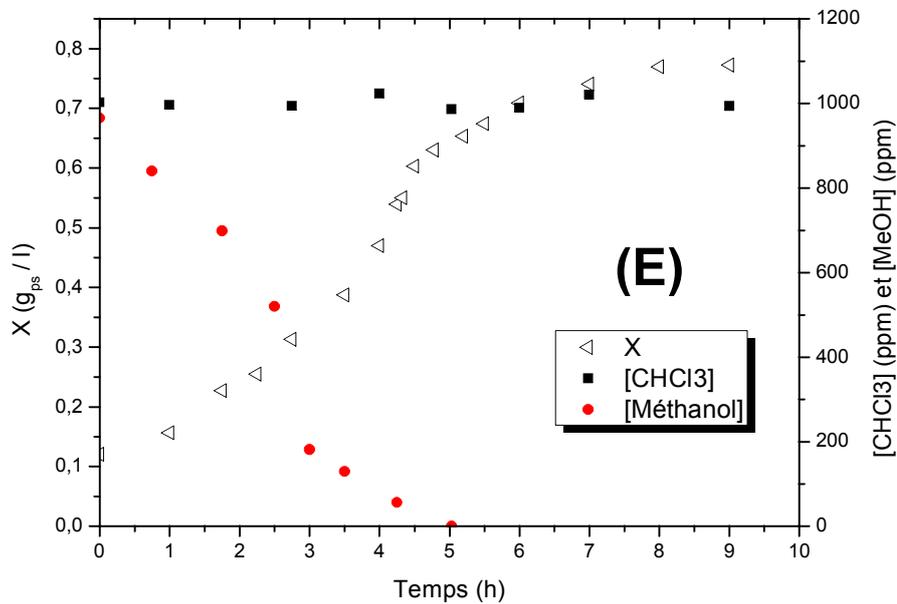


Figure 36. Evolution de la concentration en biomasse X ($\text{g}_{\text{ps}} / \text{l}$) et de la concentration en méthanol résiduel (1000 ppm) en fonction du temps (h) à la présence de chloroforme (1000 ppm).

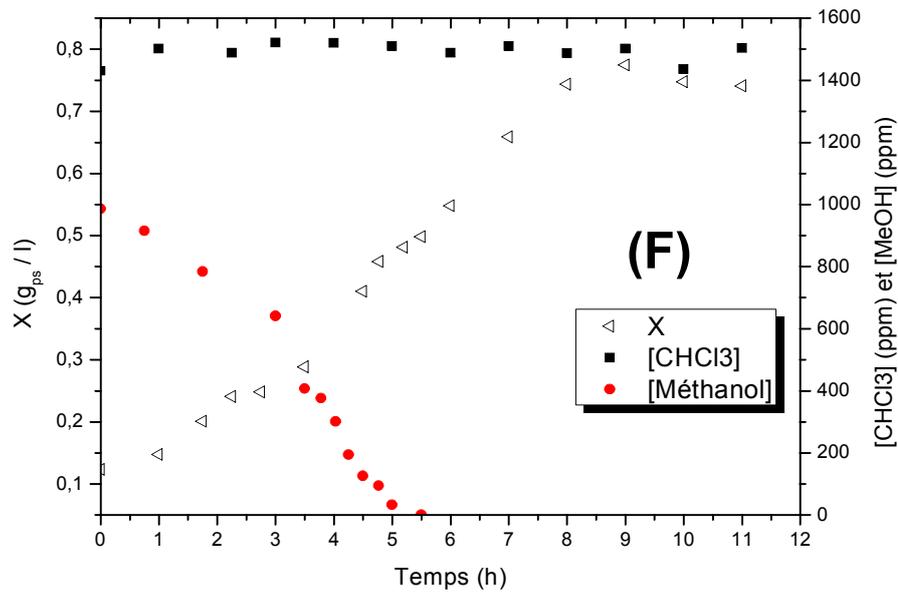


Figure 37. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{ps} / l) et de la concentration en méthanol résiduel (1000 ppm) en fonction du temps (h) à la présence de chloroforme (1500 ppm).

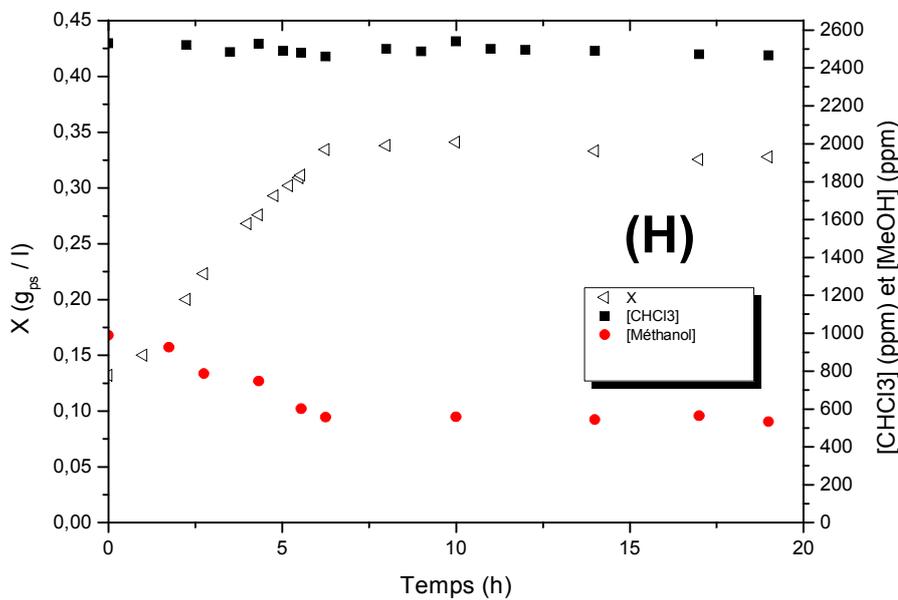


Figure 38. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{ps} / l) et de la concentration en méthanol résiduel (1000 ppm) en fonction du temps (h) à la présence de chloroforme (2500 ppm).

Le taux spécifique maximum μ_{\max} est calculé à partir de la partie linéaire de l'évolution du logarithme népérien de la concentration en biomasse (Figure 39) $\ln X$ en fonction du temps (h).

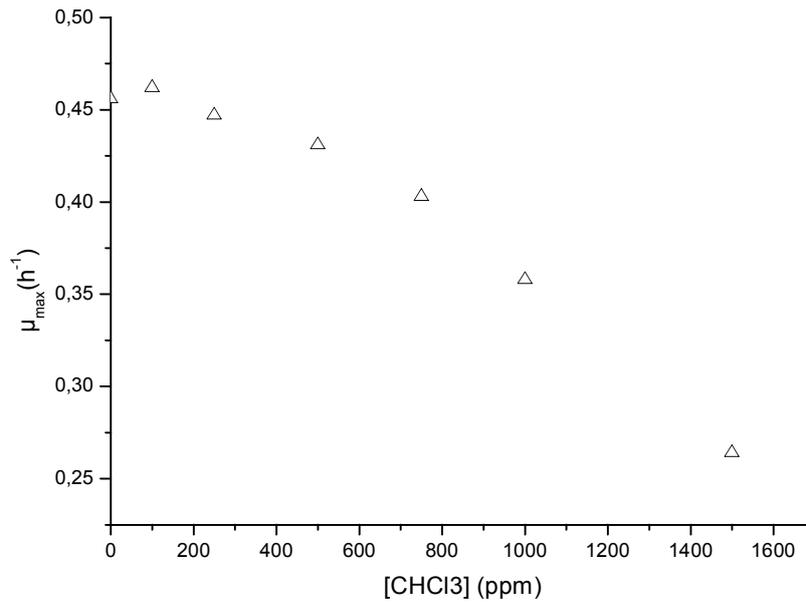


Figure 39. Evolution des taux spécifique de croissance μ (h^{-1}) en fonction des concentrations de chloroforme (ppm) appliquées.

Quand la concentration initiale en chloroforme augmente de 100 ppm à 2500 ppm, le taux de croissance spécifique μ_{\max} (h^{-1}) diminue de $0,456 h^{-1}$ à $0,264 h^{-1}$.

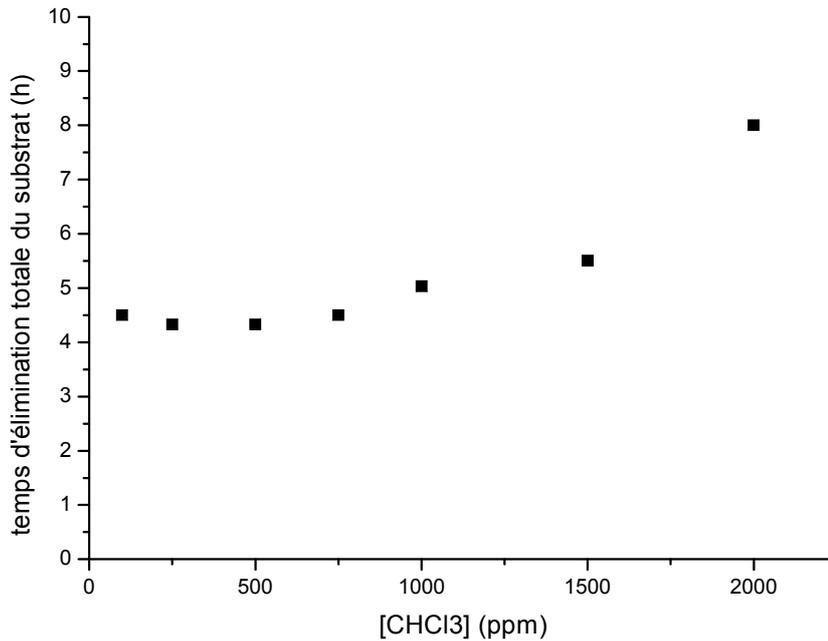


Figure 40. Evolution du temps d'élimination totale du méthanol (1000 ppm) (h) en fonction de la concentration initiale de chloroforme (ppm).

A partir de la figures 40 on remarque que, pour la gamme des concentrations en chloroforme 100 -750 ppm le temps d'élimination totale du méthanol varie entre 4.5 et 4,33 heures, à partir de la concentration 750 (ppm) le temps d'élimination totale du méthanol commence a augmente pour arrive a 8 h pour la concentration 2000 ppm de chloroforme.

Pour la concentration la plus élève en chloroforme (2500 ppm) la dégradation du méthanol n'est pas totale où en remarque la formation d'un palier à partir de 6 h de dégradation qui correspond 450 ppm de méthanol résiduelle.

La figure 46 montre une stabilisation de la concentration du méthanol résiduel à 450 ppm, pour expliquer ce phénomène un prélèvement de la phase liquide du réacteur **H**, est prise après stabilisation ce dernier est placé dans des conditions de culture, après 24 h aucune variation de la concentration cellulaire X_0 n'est observée, ce ci prouve que le chloroforme empoisonne les micro-organismes (le substituant gênant "Cl").

III.5.1. Influence de la présence de l'éthanol sur la biodégradation du méthanol

Dans tous les cas étudiés, la croissance a été associée à la biodégradation du substrat. Les courbes Typique de croissance et de la biodégradation sont données dans les graphes (41,42), pour le méthanol, l'éthanol et du mélange, avec une concentration initiale pour chaque type de substrat égale à 30 mMol /l

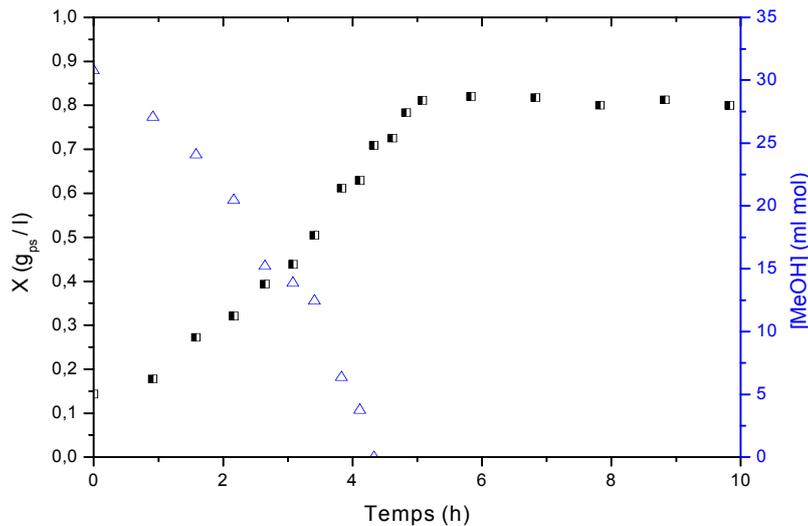


Figure 41. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{ps} / l) et de la concentration en méthanol résiduel, pour une concentration initiale (30mMol / l), en fonction du temps (h).

D'après la figure (41) on constate que la durée d'élimination totale du méthanol est de 4,36 h, la courbe de dégradation a une allure exponentielle. Toutefois, la concentration de la biomasse montre une augmentation exponentielle jusqu'à l'épuisement complet du méthanol ensuite une phase de décélération suivie de la formation d'un palier. Après un temps de 6 h on remarque une petite diminution de 5-10% de biomasse.

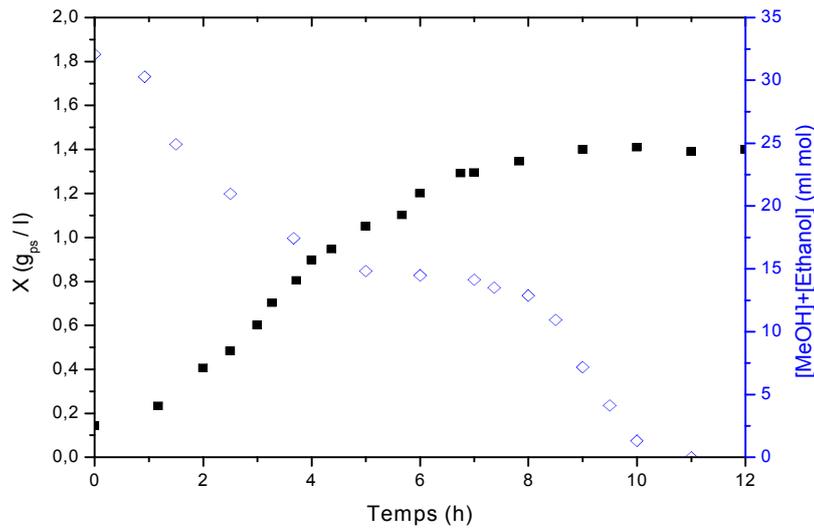


Figure 42. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{ps} / l) et de la concentration en mélange (15 mMol / l méthanol + 15mMol / l Ethanol) en fonction du temps (h).

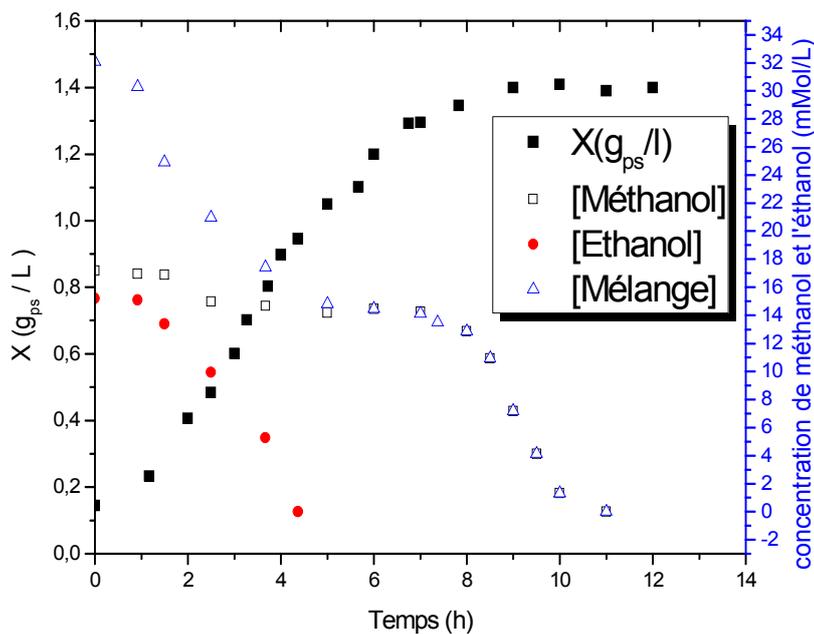


Figure 43. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{ps} / l) et de la concentration en mélange du substrat (30 mMol / l, 15 mMol / l méthanol + 15 mMol / l Ethanol) et méthanol (15 mMol / l), Ethanol (15 mMol / l) en fonction du temps (h).

Des figures (41), (42) et (43) on constate que la dégradation de l'éthanol n'est pas influencée pas la présence du méthanol et cela jusqu'à élimination totale du substrat, ce qui correspond à un temps de 4 heures et 37 minutes. Au-delà de cette période la formation d'un palier est observée à environ 4,5h et dure jusqu'à 8h. Ensuite le début de la dégradation du méthanol a lieu avec une cinétique inchangée puisque cette dernière dure 3h. Ce phénomène peut être expliqué par le fait que la biomasse préfère l'éthanol en tant que source du carbone car ce n'est que lorsque tout l'éthanol est consommé que la biomasse se retrouve contrainte d'utiliser le méthanol comme expédient.

Les résultats de la figure (42) et (43) montrent que l'ajout de l'éthanol inhibe la dégradation du méthanol au cours de laquelle le temps nécessaire, pour une concentration de 30 mMol / l, est de 4,33h, tandis que pour un mélange de 15 mMol / l de méthanol et de 15 mMol / l d'éthanol, il avoisine les 11h de dégradation.

III.6. Caractéristiques des taux spécifiques de croissance de la biodégradation

Les caractéristiques des taux spécifiques de croissance de la biodégradation ont été étudiées pour le méthanol et l'éthanol seul ainsi que le mélange des deux substrats. Les concentrations appliquées dans la phase liquide sont données dans le tableau (25).

Les différentes concentrations appliquées de méthanol et de l'éthanol sont choisies de façon à éviter la limitation par l'oxygène avec un volume de la phase liquide de 90ml.

Tableau 25. Les différentes concentrations appliquées de méthanol et d'éthanol unique et mixtes substrats.

Concentration totale de substrat	[Méthanol] (mg/l) seul	[Ethanol] (mg/l) seul	Mélange [Méthanol] + [Ethanol]	
			[Méthanol] (mg/l)	[Ethanol] (mg/l)
4 mMol	128	184	64	92
8 mMol	256	368	128	184
15 mMol	480	690	240	345
30 mMol	960	1380	480	690
60 mMol	1920	2760	960	1380

III.6.1. Le Taux de croissance Spécifique

Les taux spécifiques maximum μ_{\max} sont calculés à partir de la partie linéaire de l'évolution du logarithme népérien de la concentration en biomasse (Figure 18) $\ln X$ en fonction du temps (h).

La diminution des taux de croissance spécifique avec l'augmentation de la concentration en substrat résulte d'une self inhibition qui a eu lieu en raison de l'excès de concentration de substrat [50, 51].

Le comportement cinétique obtenu peut être modélisé en utilisant différents modèles cinétiques tels que Monod, Haldane, Han-Levenspiel [52, 53].

III.6.2. Modélisation du taux spécifique

III.6.2.1. Modèle de Monod

Le taux de croissance spécifique varie avec la concentration du substrat. Le rapport entre le taux de croissance spécifique et la concentration en substrat peut être déduit par une équation empirique proposée par Monod en 1942.

$$\mu = \mu_{\max} (S / (K_s + S)) \quad (16)$$

Le modèle de Monod décrit seulement la dépendance de la biodégradation sur le taux de concentration de la biomasse [48].

Quand une biodégradation du substrat montre une self inhibition, le modèle de Monod échoue. L'inhibition du substrat est considérée dans ces cas-ci, en incorporant ce phénomène dans le modèle de Monod. Parmi les divers modèles d'inhibition de substrat, le modèle de Haldane est employé couramment [54, 55].

III.6 .2.2. Modèle d'Haldane

Modèle de Haldane a été initialement proposé en 1968 pour l'inhibition de substrat Selon le modèle de Haldane, le taux de croissance spécifique peut être représenté par l'équation (17).

$$\mu = \mu_{\max} S / (k_s + S + (S^2/k_i)) \quad (17)$$

Le modèle de l'équation est non linéaire et il est résolu en utilisant la méthode de régression non linéaire.

III.6.3. Modélisation de taux spécifique pour le méthanol

Les taux spécifique pour les différentes concentrations initiales du méthanol seul, ont été déduits à partir de la courbe d'évolution de la concentration en biomasse en fonction du temps (Figure 44).

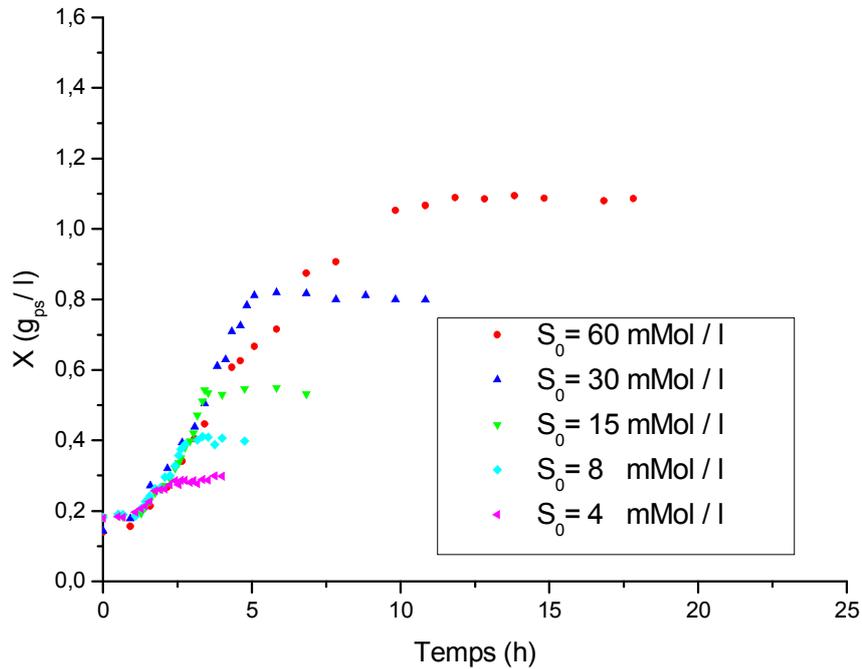


Figure 44. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{ps}/l) en fonction du temps (h) pour les différentes concentrations en méthanol S_0 .

D'après la figure (44), il est clair que le temps pris par le consortium pour dégrader le méthanol dépend de la concentration initiale. Si la concentration initiale augmente de 4 à 60 mMol/l méthanol, le temps de dégradation du substrat augmente de 2,5 à 8,5 heures. La concentration en méthanol diminue avec le temps ce qui montre que ce dernier est consommé par les microorganismes auxquels il sert de source de carbone [56].

La reconstitution des modèles Monod et Haldane pour le méthanol seul, sont présentés Dans la figure (45).

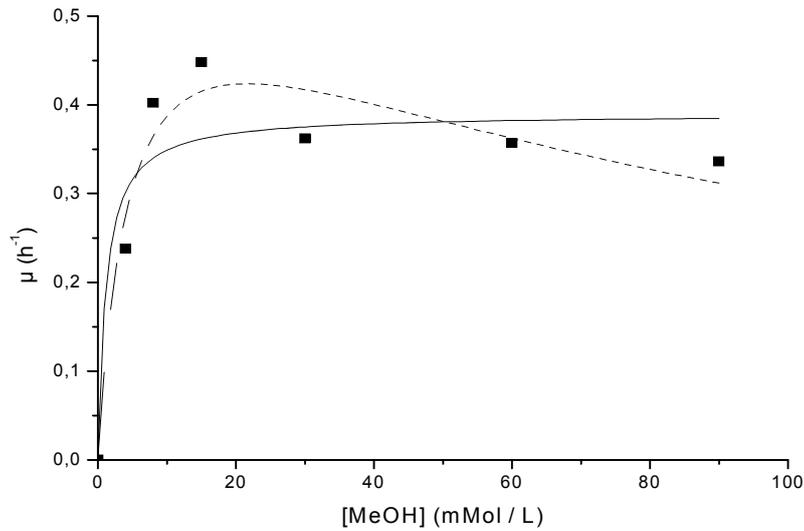


Figure 45. Taux de croissance spécifiques par rapport à la concentration initiale du Méthanol : (■) les valeurs expérimentales, la relation de Monod (la ligne continue) et Monod avec l'inhibition de substrat (la ligne discontinue).

La cinétique simple de Monod n'a pas montré un bon ajustement pour des données expérimentales.

Quand la concentration initiale du méthanol augmente de 4 à 15 mMol/l le taux croissance spécifique augmente de $0,238 \text{ h}^{-1}$ à $0,448 \text{ h}^{-1}$. Au-dessus de la valeur de 15 mMol/l, le taux de croissance spécifique commence à diminuer. Quand la concentration initiale en méthanol augmente de 15 à 60 mMol/l, le taux de croissance diminue de $0,448 \text{ h}^{-1}$ à $0,357 \text{ h}^{-1}$.

La diminution des taux de croissance spécifique avec l'augmentation de la concentration en substrat est le résultat d'une self inhibition qui a eu lieu en raison de l'excès de concentration en substrat [50, 51].

III.6.4. Modélisation de taux spécifique pour l'éthanol

Les taux spécifique pour les différentes concentrations initiales d'éthanol seul, ont été déduits à partir de la courbe d'évolution de la concentration en biomasse en fonction du temps (Figure 46).

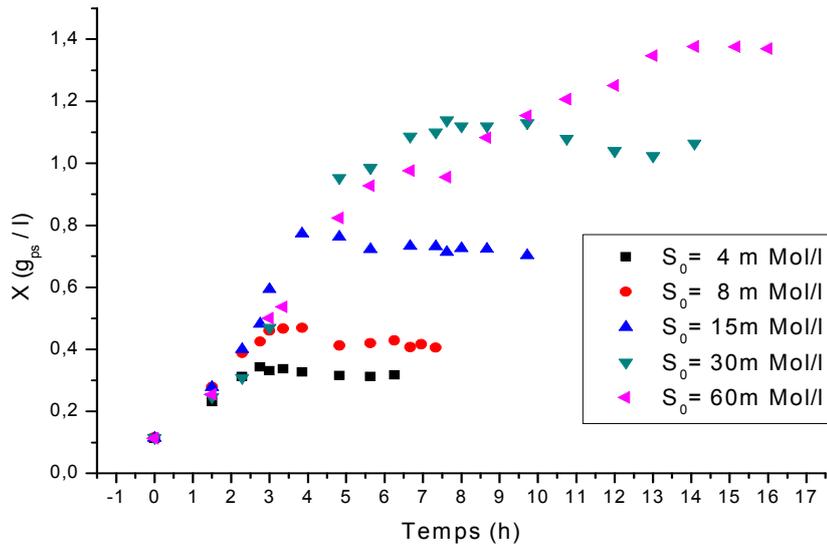


Figure 46. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{ps}/l) en fonction du temps (h) pour les différentes concentrations en éthanol S_0 .

La reconstitution des modèles Monod et Haldane pour l'éthanol seul, sont présentés Dans la figure (47).

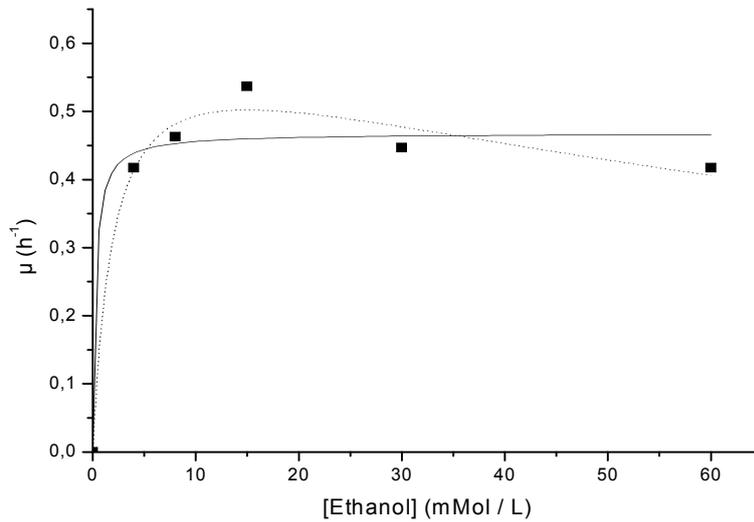


Figure 47. Taux de croissance spécifique par rapport à la concentration initiale d'éthanol : (■) les valeurs expérimentales, la relation de Monod (courbe continue) et Monod avec l'inhibition de substrat (courbe discontinue).

III.6.5. Modélisation de taux spécifique pour le mélange (MeOH + EtOH)

Les taux spécifique pour les différentes concentrations initiales de mélange, ont été déduits à partir de la courbe d'évolution de la concentration en biomasse en fonction du temps (Figure 48).

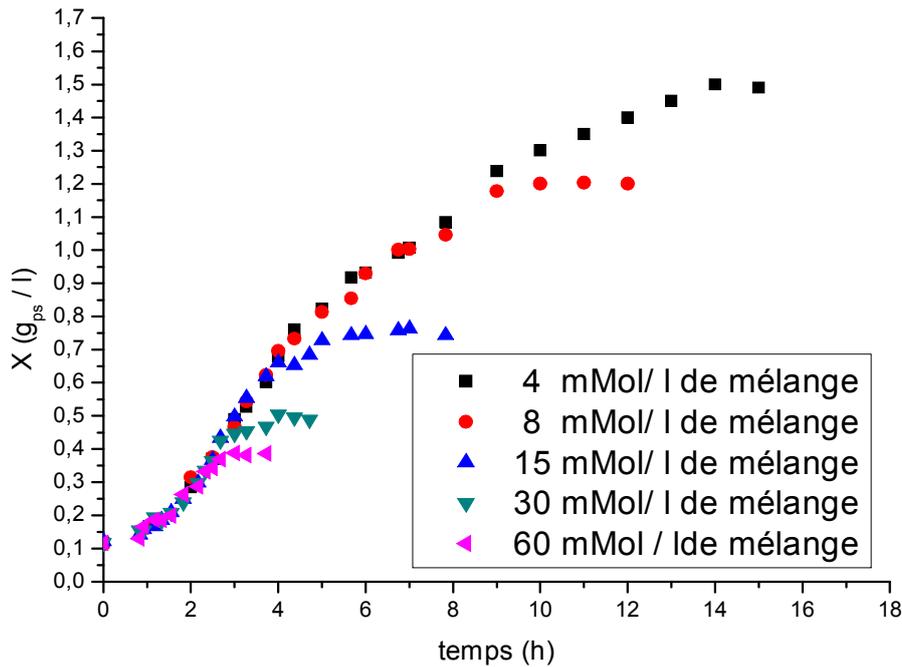


Figure 48. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{ps}/l) en fonction du temps (h) pour les différentes concentrations en mélange (méthanol + éthanol).

La reconstitution des modèles Monod et Haldane pour le mélange, est présentée sur la figure (49).

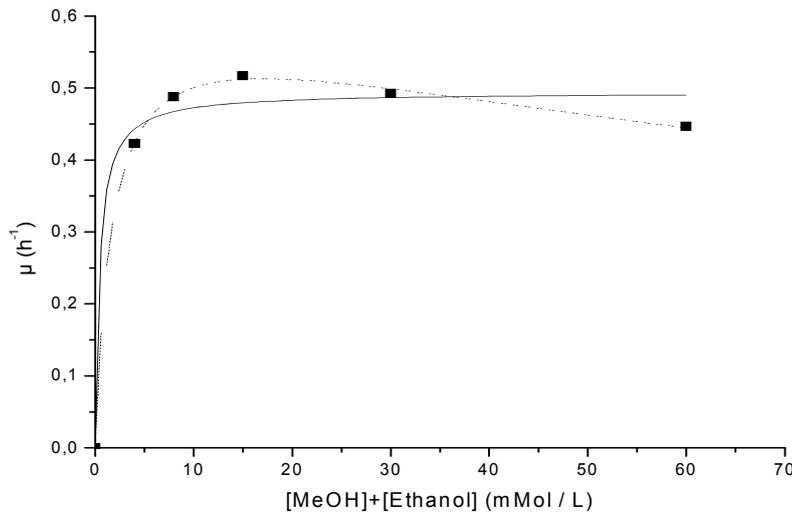


Figure 49. taux de croissance spécifique par rapport à la concentration initiale du mélange (méthanol + l'éthanol) : (■) les valeurs expérimentales, la relation de Monod (la ligne continue) et Monod avec l'inhibition de substrat (la ligne discontinue).

Les figures (45, 47, 49) montrent l'ajustement des modèles Monod et Haldane avec les résultats expérimentaux. Le modèle de Haldane représente mieux les données expérimentales avec des coefficients de corrélation R^2 meilleurs par rapport au modèle de Monod.

Les valeurs obtenues des paramètres importants du modèle de Monod et Haldane sont données dans le tableau (26).

Tableau 26. Les paramètres importants du modèle de Monod et Haldane.

		Méthanol	Ethanol	Mélange Méthanol+ Ethanol
Le Modèle de Monod	R^2	0,834	0,937	0,973
	μ_{\max} (h^{-1})	0,389	0,468	0,494
	K_S (mMol/l)	1,165	0,264	0,459
	K_S (mg/l)	37,28	12,144	17,90
Le Modèle d'Haldane	R^2	0,916	0,976	0,999
	μ_{\max} (h^{-1})	0,605	0,637	0,618
	K_S (mMol/l)	4,655	2,016	1,736
	K_S (mg/l)	148,96	92,736	67,704
	K_i (mMol ² /l ²)	100,88	112,326	166,618
	K_i (mg ² /l ²)	103301,112	237681,816	253425,978

Les valeurs obtenues pour le taux spécifique de croissance maximum, μ_m mentionnés dans le tableau 26, montrent que la croissance est plutôt favorable en présence du mélange que lorsque le méthanol est seul.

La valeur du taux spécifique (Méthanol/Ethanol) des deux modèles (Monod et Haldane) et toujours située entre la gamme μ_m du méthanol et μ_m de l'éthanol.

D'autre part les valeurs de μ_m pour l'éthanol et pour le mélanges (méthanol / l'éthanol) (Modèle d'Haldane) sont similaires et très proches dans le cas du modèle de Monod. Cependant de grandes différences pour les valeurs de K_s ont été observées. Ces valeurs observées de K_s sont plus hautes que celle pour la croissance bactérienne typique, laquelle rapportée dans la littérature se situe entre 0,1-10 mg/l. [62]

La valeur de K_i est de 100,88 mMol²l⁻² ou 494,226 mg² l⁻² pour le méthanol indique que l'inhibition significative de substrat se produira à des concentrations supérieures à 15 mMol l⁻¹ ou 10,33.10⁴ 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 le méthanol $\mu_m = 0,423 \text{ h}^{-1}$ à $S = 21,67 \text{ mMol L}^{-1}$, l'éthanol :

$\mu_m = 0,502 \text{ h}^{-1}$ à $S = 15,04 \text{ mMol l}^{-1}$ et pour le mélange: $\mu_m = 0,513 \text{ h}^{-1}$ à $S = 16 \text{ mMol l}^{-1}$.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

L'étude du comportement des COV dans un milieu naturel ou dans un environnement généré est possible grâce à un système de culture expérimentale adéquat (mode batch) et des conditions environnementales idéales. Le méthanol a fait l'objet d'expérimentation en milieu fermé sous différentes conditions.

L'effet de la concentration initiale du méthanol appliquée sur les cinétiques de croissance et de dégradation a été étudié. Une inhibition liée à cette concentration est observée. Elle est supposée être causée par le substrat lui-même ou par ses métabolites. La littérature rapporte que les acides, surtout l'acide acétique et d'autres acides carboxyliques avec de faibles poids moléculaires sont le résultat de ces oxydations et sont ultérieurement métabolisés ou catabolisés [52]. Il serait donc intéressant d'élargir la gamme des concentrations en méthanol et d'effectuer une caractérisation microbiologique du consortium afin de mettre en évidence les causes réelles de cette inhibition.

Des expériences ont été conduites avec un mélange de méthanol-éthanol (deux alcools) afin d'apprécier les différences apparaissant lorsque des polluants multiples sont présents. On a pu mettre en évidence l'effet antagoniste de l'éthanol sur la biodégradation du méthanol. Différents mélanges avec d'autres substrats seront donc étudiés afin de mettre en évidence leur effet sur la biodégradation du méthanol.

Au cours de notre travail l'étude de l'influence des paramètres a mené aux résultats suivants :

- La concentration initiale de biomasse X_0 adéquate est de 0,13 g/l.
- La température optimale pour une meilleure dégradation est située entre 33 et 36 °C.

- L'étude de l'influence du chloroforme montre que les bactéries sont après un temps relativement court empoisonnées et disparaissent totalement à partir des concentrations supérieures ou égales à 2500 ppm.
- L'ajout d'éthanol s'avère en faveur antagoniste puisque ce dernier inhibe énergiquement la biodégradation du méthanol. Cependant cet effet n'est pas observé dans le cas de l'ajout de méthanol au cours de la dégradation de l'éthanol.

La cinétique de Monod et Haldane pour les substrats et le mélange permet de modéliser la variation des taux spécifiques de croissance en fonction de la concentration initiale en méthanol, et indique l'inhibition des substrats sur la biodégradation.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

BIBLIOGRAPHIE

- [1] **Weissermel A;**(1997).Chimie Organique industrielle.Edition Deboeck Université.
- [2]**World Health Organisation (WHO);** (1997). Methanol. Environmental Health Criteria.196 ,180p.
- [3]**Howard P.H;**(1990). Handbook of environmental fate and exposure data for organic chemicals.Ed.Lewis Publishers,Chelsea.Michigan.
- [4]directive n° 1999/13/CE du Conseil européen du 11 mars 1999 relative à la réduction des émissions de composés organiques volatils dues à l'utilisation de solvants organiques dans certaines activités et installations.
- [5] décret 2006-623 du 29 mai 2006 relatif à la réduction des émissions de composés organiques volatils dues à l'utilisation de solvants organiques dans certains vernis et peintures et dans les produits de retouc
- [6] directive NEC (National Emission Ceilings) n° 2001/81/CE du Parlement européen et du Conseil du 23 octobre 2001 fixant des plafonds d'émission nationaux pour certains polluants atmosphériques
- [7 **Prévôt A. S. H., Dommen J., Baumle M ;**(2000).Influence of road traffic on volatile organic compound concentrations in and above a deep Alpine valley. Atmospheric Environment, Volume 34, Issue 27, 4719-4726 4719-4726.
- [8 **Vega E., Mugica V., Carmona R. and Valencia E;**(2000). Hydrocarbon source apportionment in Mexico City using the chemical mass balance receptor model. Atmospheric Environment

34, 4124129.

[9] **Clark A.G. and Ko Y.H;**(1996). The relative significance of vehicular emissions and other emissions of volatile organic compounds in the urban area of Leeds, UK. *The Science of Total Environment* 189/190 : 401–407.

[10] **Pfeffer H.U;**(1994). Ambient air concentrations of pollutants at traffic-related sites in urban areas of North Rhine-Westphalia, Germany, *The Science of Total Environment* 146/147 : 263- 273.

[11] **Schauer J.J., Kleeman M.J., Cass G.R. and Simoneit B.R.T;**(2002). Measurement of emissions from air pollution sources. 5. C1-C32 organic compounds from Gasoline-Powered Motor Vehicles. *Environmental Science and Technology* 36, 3806-3814.

[12] **Siegl W.O., Hammerle R.H., Herrmann H.M., Wenclawiak B.W. and Luers-Jongen B;**(1999). Organic emissions profile for a light-duty diesel vehicle *Atmospheric Environment*, Volume 33, Issue 5, 797-805.

[13] **Fontaine Hervé ;**(2000). Les composés organiques volatils dans les gaz d'échappement des automobiles: établissement de profils d'émission représentatifs de différentes conditions de conduite, Thèse de l'école des mines de Douai3

[14] **Scheff P.A and Wadden R.A;**(1993). Receptor modeling of volatile organic compounds : Emission inventory and validation. *Environmental Science and Technology* 27 4, 617–625.

[15] **Lehotey J. and Halmo F;**(1994). Determination of aliphatic aldehydes C1-C4 in waste gaz by HPLC. *Journal of liquid chromatography* 17 (4): 847-854.

- [16] **Morgan D. and Tyler R.C;**(1997). Microchemical method for the identification of volatile pheromones. *Journal of chromatography*, 134: 174-177.
- [17] **Nicholas H.J;**(1973). Miscellaneous volatile plant products. *Photochemistry*, 2, 381-399.
- [18] **Fehsenfeld F.C., Calvert J., Fall R., Goldan P., Guenther A., Hewitt C.N., Lamb B., Shaw L., Trainer M., Westberg H.H. and Zimmerman P;**(1992). Emissions of volatile organic compounds from vegetation and the implications for atmospheric chemistry. *Biogeochemical Cycles* 6, 389–430.
- [19] **Geron C., Harley P. and Guenther A;**(2001). Isoprene emission capacity for US tree species. *Atmospheric Environment* 35, 3341-3352.
- [20] **Takahashi, S. et al;**(2007). Prospective study of clinical symptoms and skin reactions in medical students exposed to formaldehyde gas. *J Dermatol.* n°5, pp 283-9
- [21] **Neubert, D. et al;** (2001). Multicenter field trial on possible health effects of toluene. II Cross-sectional evaluation of acute low-level exposure. *Toxicology.* n°2, pp 159-83.
- [22] **Cavalleri, A. et al;**(2000). Dose-related color vision impairment in toluene-exposed workers. *Arch Environ Health.* n°6, pp 399-404.
- [23] **Dales, R. & Raizenne, M;** (2004). Residential exposure to volatile organic compounds and asthma. *J Asthma.* n°3, pp 259-70.
- [24] **Inserm. Ethers de glycol** – Nouvelles données toxicologiques. Editions Inserm. 2006, 147 p.

[25] Administration de l'Environnement Division des Etablissements Classés
Conception du document: Mme Marianne MOUSEL, ingénieur

[26] **EUROFORUM** Traitement des effluents gazeux Journée du mercredi 23 janvier 2002 Réduire les émanations de COV dans l'atmosphère: Quelles solutions techniques ?

[27] **Pelmont, J** ;(1993). Bactéries et environnement- Adaptation physiologiques. Presses universitaire de Grenoble, 899 pages.

[28] **Atlas, R.M** ; (1988) .Principles of microbiology ,Ed, Mosby, 1994.

[29] **Bayard R** ;(1993). Evaluation de la biodégradation des déchets solidifiés. Mmoire de DEA: institut national des sciences appliquées de Lyon. 86p.

[30] **Gourdon, R; Bayard, R; Valla, G** ;(1996). Biodégradation microbienne des déchets : définition, principes et méthodes d'évaluation. Déchets, Sciences et Techniques n° 1, 1^{er} trimestre 1996, p. 13 à 21.

[31] **Alexander, M** ;(1997). Microbial Communities and Interactions. In Manual Environmental Microbiology. Hurst, C, J. et, al, Eds, ASM Press, 1997.

[32] **Alexander, M** ;(1994). Biodegradation-Bioremediation, Ed, Academic Press, 1994, 302p.

[33] **Gourdon, R** ;(2001). Traitement Biologique des déchets . Technique de l'Ingénieur, traité Environnement G2, 16p.

[34] **Gendebien, A. et al** ;(1992). Landfill Gas : from Environment to Energy. State of the Art in the European Community Context. In Proceedings of Sardinia 91, The Third International Landfill Symposium, 1991, Cagliari, Sardinia, Italy: Vol.1, p.69-75.

- [35] **Graindorge, P.** Contribution à l'étude du traitement des déchets urbains par fermentation méthanique : a) cinétiques de la fermentation et application au contrôle d'un réacteur ouvert ; b) modélisation de l'étape acétaste du processus biologique. Thèse Doct. Montpellier II , Univ. des Sciences et Techniques du Languedoc. 156p.
- [36] **O'Neil, M.J., Smith, A. et Heckelman, P.E;**(2001). The Merck index: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. 13th ed. Cambridge, MA: Cambridge Soft; Merck & CO. [RM-403001] (CD-ROM)
- [37] **Kroschwitz, J.I., Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology:** Membranes, Hollow-Fiber to Molecular Sieves. Vol. 16, 5th ed. Hoboken, N.J.: John Wiley & Sons. (2004-). [RT-423004]
- [38] **Handbook of organic industrial solvents.** 6ème. Chicago: Alliance of American Insurers. (1987). [RT-435005]
- [39] **Hansch, C., Leo, A. et Hoekman, D;** (1995). Exploring QSAR: hydrophobic, electronic and steric constants. Vol. 2. Washington (D.C.) : American Chemical Society.
- [40] **France. Institut national de recherche et de sécurité ;** (2003). Fiche toxicologique no 5 : Méthanol. Cahiers de notes documentaires. Paris : INRS. FT 5. [RE-005509]
- [41] **International Programme on Chemical Safety,** Methanol. Environmental health criteria, 196. Genève: World Health Organization. (1997). [MO-020303]
- [42] **Vincoli, J.W;** (1997). Risk management for hazardous chemicals: G-Z. Vol. 2. Boca Raton : Lewis Publishers. [RM-515112]

- [43] **Bohnet, M. et al;** (2003). Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. 7th. Wiley InterScience (John Wiley & Sons). (Ressource électronique))
- [44] **Bureau international du travail ;** (2000). Encyclopédie de sécurité et de santé au travail. 3ème édition. Genève : BIT. [RR-003001]
- [45] **Methanex Corporation** Le 13 octobre 2005 Fiche signalétique santé-sécurité.
- [46] **Hubbard C.E., Barker J.F. et Vandegriendt M;** (1994). Transport and fate of dissolved methanol, methyl-tertiary-butyl-ether and monoaromatic hydrocarbons in a shallow sand aquifer. Appendix H: Laboratory biotransformation studies. American Petroleum institute. Pub. No. 4601.
- [47] **Bazi, M. Et Manell, A;** (1990). Mathematical methods in microbial ecology, in Grigorova, R. and Norris, J.R. (ed.), in methods in microbiology, pp. 125-176, Academic Press.
- [48] **Schuler M.L. Kargi F ;** (1992). Bioprocess Engineering : Basic concepts . Edition Prentice Hall PTR.
- [49] **Agathos S ;** Génie biochimique et microbiologie . Notes de cours, to be obtained from : Université Catholique de Louvain, Faculté des Sciences Agronomique , Unité de Génie Biologique , Place Croix du Sude, 2/19, B-1348. Louvain-La-Neuve.
- [50] **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.

- [51] **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.
- [52] **Karin Kovačova-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), 646–666.
- [53] **Okpokwasili, G.C., Nweke, C.O;**(2005). Microbial growth and substrate utilization kinetics. *African J. Biotechnol.* 5, 305-317.
- [54] **Sokol, W.,** (1986). Oxidation of an inhibitory substrate by washed cells (oxidation of phenol by *Pseudomonas putida*). *Biotechnol. Bioengng.* 30, 921-927.
- [55] **Tang, W.T., Fan, L.S;**(1987). Steady state phenol degradation in a draft tube gas-liquidsolid fluidized bed bioreactor. *AIChE J.* 33, 239–249.
- [56] **Devanny, S.J., Deshusses, M.A., Webster, S.T;**(1999). *Biofiltration for Air Pollution Control*, First Edition, Lewis Publishers, New York.
- [57] **CITI ;**(1992) .Biodegradation and Bioaccumulation data of existing chemicals based on the
CSCL Chemicals Inspection and Testing Institute. Tokyo, Japan.October 1992, 430pp.
- [58] **Bouwer E.J., Rittman B.E. and McCarthy P.L;** (1981) . Anaerobic degradation of halogenated 1- and 2-Carbon organic compounds. *Environ Sci Technol*, **15**, 5, 596-599.

[59] **Van Beelen P. and Van Keulen F;**(1990) . The kinetics of the degradation of chloroform and benzene in anaerobic sediment from the river Rhine. *Hydrobiol Bull*, 24, 1, 13-21.

[60] **Rhee E. and Speece R.E;**(1992) . Microbial degradation - chloroform, trichloroethylene - maximal decomposition rates in anaerobic treatment. *Water Sci Technol*, **25**, 3, 121-130.

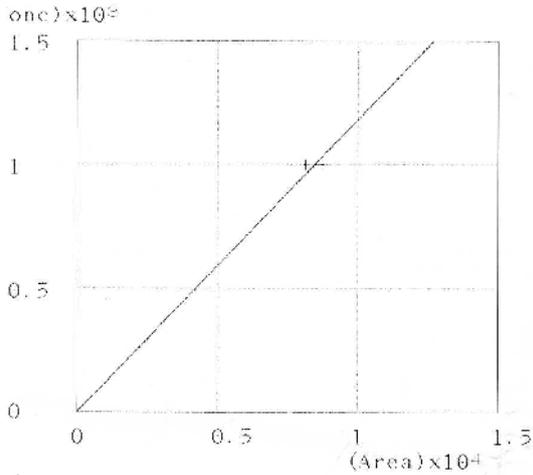
[61] **Atkinson R;**(1985) .Kinetics and mechanisms of the gas-phase reactions of the hydroxyl radical with organic compounds under atmospheric conditions. *Chem Rev*, 85, 89-91.

[62] **Cooney, C.L ;** (1981). Growth of microorganisms. In: *Biotechnology*, Rehm H. J. and Reed G. (Eds); VCH Verlagsgesellschaft Weinheim, Germany. 72-127.

ANNEXES

Annexe 1

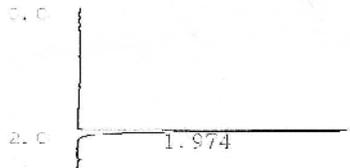
IDNO	Name	Time	Band	Conc	Factor (1)	Factor (2)
1	METHANCL	1.98		1000	0.118124	



IDNO: 1
NAME: METHANOL

Factor (1)	Factor (2)
0.118124	0

RSA CHROMATCPAC CH=1 DATA=1:@CHRM1.C00 ATTEN= 4 SPEED= 10.0

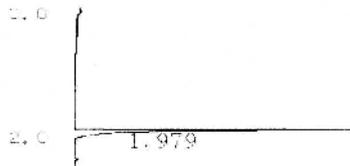


RSA CHROMATCPAC CH=1 Report No.=3 DATA=1:@CHRM1.C00 08/05/07 08:16:02

CALCULATION REPORT **

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1.974	10067	4436		1	1189.1514	METHANOL
TOTAL		10067	4436			1189.1514	

RSA CHROMATCPAC CH=1 DATA=1:@CHRM1.C00 ATTEN= 4 SPEED= 10.0



RSA CHROMATCPAC CH=1 Report No.=4 DATA=1:@CHRM1.C00 08/05/07 08:19:50

CALCULATION REPORT **

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1.979	9222	4531		1	1089.2896	METHANCL
TOTAL		9222	4531			1089.2896	

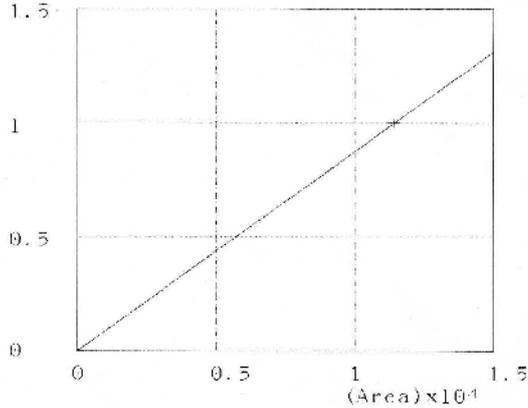
Exemples de courbe d'étalonnage du méthanol et de chromatogramme

Annexe 2

IDENTIFICATION TABLE

IDNO	Name	Time	Band	Conc	Factor (1)	Factor (2)
1	METHANOL	1.99		1000	0.0876063	
2	ETHANOL	2.06		1000	0.0534725	

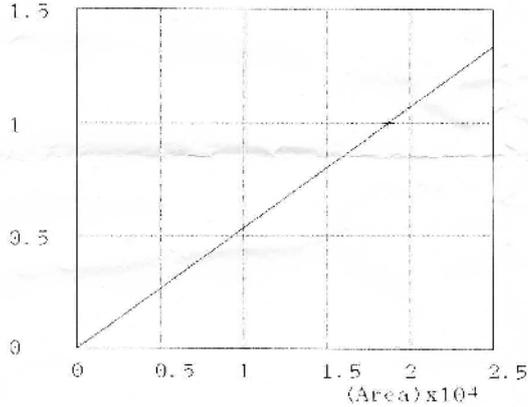
(Conc) x 10²



IDNO: 1
NAME: METHANOL

Factor (1) Factor (2)
0.0876063 0

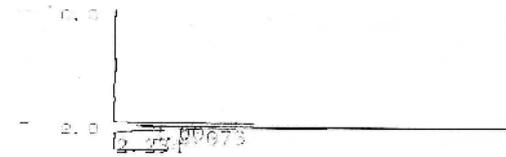
(Conc) x 10²



IDNO: 2
NAME: ETHANOL

Factor (1) Factor (2)
0.0534725 0

D-88A CHROMATOPAC CH=1 DATA=1:@CHRM1.C00 ATTEN= 4 SPEED= 10.0



D-88A CHROMATOPAC CH=1 Report No.=2 DATA=1:@CHRM1.C00 09/05/06 09:30:

** CALCULATION REPORT **

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	2.005	4062	2348		1	355.8393	METHANOL
	2	2.073	11123	6483	V	2	594.7691	ETHANOL
TOTAL			15185	8831			950.6084	

Exemples de courbe d'étalonnage d'un mélange de méthanol et d'éthanol et de chromatogramme

ILLUSTRATIONS

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Schéma général d'une bactérie.

Figure 2. Schéma de la structure filamenteuse des moisissures.

Figure 3. Schéma d'une cellule de levure, *Saccharomyces cerevisiae*.

Figure 4. Courbe de croissance d'une culture bactérienne.

Figure 5. Spectrophotomètre JENWAY de types 6300 spectrophotomètre.

Figure 6. La courbe d'étalonnage reliant la concentration en biomasse X à la densité optique D.O.

Figure 7. Schéma d'un appareil de CPG, muni d'un détecteur à ionisation de flamme.

Figure 8. Injecteur diviseur.

Figure 9. Représentation à la même échelle des deux colonnes (capillaire et remplie).

Figure 10. Détecteur à ionisation de flamme.

Figure 11. Chromatographe SCHIMADZU DE TYPE GC-17A combiné à une colonne capillaire de type DB-5 (0.25mm D.I×30 m) et un détecteur FID.

Figure 12. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{ps} / l) et de la concentration en méthanol résiduel (ppm) en fonction du temps (h) pour réacteur batch contenant 1000 ppm de méthanol avant la standardisation de l'inoculum.

Figure 13. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{ps}/l) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol , (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol.

Figure 14. Evolution de la concentration en méthanol résiduel (ppm) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol.

Figure 15. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{ps} / l) et de la concentration en méthanol résiduel (ppm) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol.

Figure 16. Evolution du taux spécifique de croissance théorique μ (h^{-1}) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol.

Figure 17. Evolution du taux spécifique de croissance expérimental μ (h^{-1}) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol.

Figure 18. Partie linéaire de l'évolution du logarithme népérien de la concentration en biomasse $\text{Ln}(X)$ en fonction du temps (h) pour les réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol, (C) 3000 ppm de méthanol.

Figure 19. Evolution du taux spécifique de croissance théorique μ (h^{-1}) en fonction de la concentration en méthanol résiduel (ppm) (valeurs obtenues après lissage) pour les réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol, (C) 3000 ppm de méthanol.

Figure 20. Evolution du taux spécifique de croissance expérimental μ (h^{-1}) en fonction de la concentration en méthanol résiduel (ppm) pour les réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol, (C) 3000 ppm de méthanol.

Figure 21. Evolution de la vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{x,\text{MET}(n+1)}$ théorique ($\text{g}_{\text{ps}}/\text{g}_{\text{MET}}\cdot\text{h}$) en fonction du temps (h) pour les réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol, (C) 3000 ppm de méthanol.

Figure 22. Evolution de la vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{x,\text{MET}(n+1)}$ expérimental ($\text{g}_{\text{ps}}/\text{g}_{\text{MET}}\cdot\text{h}$) en fonction du temps (h) pour les réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol, (C) 3000 ppm de méthanol.

Figure 23. Evolution de la vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{x,\text{MET}(n+1)}$ expérimental ($\text{g}_{\text{ps}}/\text{g}_{\text{MET}}\cdot\text{h}$) en fonction de la concentration en méthanol résiduel (ppm) pour les réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol, (C) 3000 ppm de méthanol.

Figure 24. Evolution de la vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{x,\text{MET}(n+1)}$ théorique ($\text{g}_{\text{ps}}/\text{g}_{\text{MET}}\cdot\text{h}$) en fonction de la concentration en méthanol résiduel (ppm) pour les réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol, (C) 3000 ppm de méthanol.

Figure 25. Evolution de la concentration en biomasse X ($\text{g}_{\text{ps}}/\text{l}$) en fonction du temps (h) pour les différentes concentrations en biomasse X_0 .

Figure 26. Temps d'élimination totale du substrat (h) en fonction de la concentration initial X_0 ($\text{g}_{\text{ps}}/\text{l}$) appliquée.

Figure 27. Evolution du taux spécifique de croissance μ_{max} (h^{-1}) en fonction de la concentration initiale en biomasse X_0 .

Figure 28. Evolution de la concentration en biomasse X ($\text{g}_{\text{ps}}/\text{l}$) en fonction du temps (h) pour les différentes températures T ($^{\circ}\text{C}$).

Figure 29. Evolution du taux spécifique de croissance μ_{\max} (h^{-1}) en fonction de la température T ($^{\circ}\text{C}$).

Figure 30. Evolution de la concentration en méthanol résiduel (1000 ppm) en fonction du temps (h) pour les différentes températures T ($^{\circ}\text{C}$).

Figure 31. Temps d'élimination totale du substrat (h) en fonction de la température T ($^{\circ}\text{C}$).

Figure 32. Evolution de la concentration en biomasse X ($\text{g}_{\text{ps}} / \text{l}$) et de la concentration en méthanol résiduel (1000 ppm) en fonction du temps (h) à la présence de chloroforme (100 ppm).

Figure 33. Evolution de la concentration en biomasse X ($\text{g}_{\text{ps}} / \text{l}$) et de la concentration en méthanol résiduel (1000 ppm) en fonction du temps (h) à la présence de chloroforme (250ppm).

Figure 34. Evolution de la concentration en biomasse X ($\text{g}_{\text{ps}} / \text{l}$) et de la concentration en méthanol résiduel (1000 ppm) en fonction du temps (h) à la présence de chloroforme (500 ppm).

Figure 35. Evolution de la concentration en biomasse X ($\text{g}_{\text{ps}} / \text{l}$) et de la concentration en méthanol résiduel (1000 ppm) en fonction du temps (h) à la présence de chloroforme (750 ppm).

Figure 36. Evolution de la concentration en biomasse X ($\text{g}_{\text{ps}} / \text{l}$) et de la concentration en méthanol résiduel (1000 ppm) en fonction du temps (h) à la présence de chloroforme (1000 ppm).

Figure 37. Evolution de la concentration en biomasse X ($\text{g}_{\text{ps}} / \text{l}$) et de la concentration en méthanol résiduel (1000 ppm) en fonction du temps (h) à la présence de chloroforme (1500 ppm).

Figure 38. Evolution de la concentration en biomasse X ($\text{g}_{\text{ps}} / \text{l}$) et de la concentration en méthanol résiduel (1000 ppm) en fonction du temps (h) à la présence de chloroforme (2500 ppm).

Figure 39. Evolution des taux spécifique de croissance μ (h^{-1}) en fonction des concentrations de chloroforme (ppm) appliquées.

Figure 40. Evolution du temps d'élimination totale du méthanol (1000 ppm) (h) en fonction de la concentration initiale de chloroforme (ppm).

Figure 41 Evolution de la concentration en biomasse X ($\text{g}_{\text{ps}} / \text{l}$) et de la concentration en méthanol résiduel (30mMol / l) en fonction du temps (h).

Figure 42. Evolution de la concentration en biomasse X ($\text{g}_{\text{ps}} / \text{l}$) et de la concentration en mélange (15 mMol / l méthanol + 15mMol / l Ethanol) en fonction du temps (h).

Figure 43. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{ps} / l) et de la concentration en mélange (30 mMol / l , 15 mMol / l méthanol + 15 mMol / l Ethanol) et méthanol (15 mMol / l), Ethanol(15 mMol / l) en fonction du temps (h).

Figure 44. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{ps}/l) en fonction du temps (h) pour les différentes concentrations en méthanol S_0 .

Figure45. Taux de croissance spécifiques par rapport à la concentration initiale du Méthanol : (■) les valeurs expérimentales, la relation de Monod (la ligne continue) et Monod avec l'inhibition de substrat (la ligne discontinue).

Figure 46. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{ps}/l) en fonction du temps (h) pour les différentes concentrations en éthanol S_0 .

Figure 47. Taux de croissance spécifiques par rapport à la concentration initiale d'éthanol :(■) les valeurs expérimentales, la relation de Monod (la ligne continue) et Monod avec l'inhibition de substrat (la ligne discontinue).

Figure 48. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{ps}/l) en fonction du temps (h) pour les différentes concentrations en mélange (méthanol + l'éthanol).

Figure49.taux de croissance spécifique par rapport à la concentration initiale du mélange (méthanol + l'éthanol) :(■) les valeurs expérimentales, la relation de Monod (la ligne continue) et Monod avec l'inhibition de substrat (la ligne discontinue).

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Constantes cinétiques de réactions avec le radical OH (k cm³molécules⁻¹s⁻¹; 22).

Tableau 2 : Temps de séjour de quelques composés organiques volatils.

Tableau 3 : Exemples d'indices de création d'ozone (en gramme d'ozone formé par gramme de COV émis).

Tableau 4. Les aliments constitutifs des micro-organismes.

Tableau 5. Principales interactions possibles entre différentes populations dans un système donné.

Tableau 6. Facteurs physico-chimiques de croissance des micro-organismes.

Tableau 7. Substituant influençant la biodégradabilité des substrats organiques.

Tableau 8 : Classification physiologique des bactéries en fonction de la température.

Tableau 9. Propriétés physiques du méthanol.

Tableau 10. Composition du milieu nutritif (Deseveaux, 1995).

Tableau 11. Composition du milieu nutritif (Vandermesse, 1996).

Tableau 12. Concentrations dans les différents réacteurs

Tableau 13. Valeurs des paramètres du modèle de l'équation (4) obtenues après son ajustement paramétrique sur celle de la courbe expérimentale de croissance.

Tableau 14. Valeurs des paramètres du modèle d l'équation 6 obtenues après son ajustement paramétrique sur celle de la courbe expérimentale de dégradation du méthanol.

Tableau 15. Valeur de taux spécifique de croissance maximum déterminées par quatre méthodes décrites par les équations 6,7, 10, 11.

Tableau 16. valeurs du rendement de conversion du méthanol en biomasse par le Consortium dans les réacteurs en batch contenant 1000,2000, 3000 ppm méthanol au départ.

Tableau 17. Valeur du taux spécifique de croissance maximum μ_{\max} expérimental et théorique aux temps et en concentration en méthanol correspondantes pour les différents réacteurs batch.

Tableau 18. Valeur de K_m des trois réacteurs batch.

Tableau 19. Valeurs expérimentales et théorique de la vitesse maximale de consommation du méthanol ($r_{x.MET}$)_{max} décrites dans les équations (12) et (14).

Tableau 20. Valeurs de $(r_{x.MET})_{max}$ et de μ_{max} expérimentales avec les temps auxquels ils sont atteints et les concentrations en méthanol correspondantes.

Tableau 21. Valeur du rendement de conversion du méthanol par des souches pures.

Tableau 22. Concentrations de biomasse utilisées dans les différents réacteurs.

Tableau 23. Comparaison de certains grandeurs de croissance et de dégradations pour les différentes concentrations initiales en biomasse X_0 et $S_0 = 1000$ ppm

Tableau 24. Les différentes concentrations de $CHCl_3$ appliquées.

Tableau 25. Les différentes concentrations appliquées de méthanol et d'éthanol unique et mixtes substrats.

Tableau 26. Les paramètres importants du modèle de Monod et Haldane.

ملخص:

إن المركبات العضوية المتطايرة من بين المركبات المسؤولة عن تلوث الهواء ، وازدياد قوة انبعاث هذه المركبات الضارة يؤدي إلى مخاطر كبيرة على صحة البشر ، حيث تتحلل في الغلاف الجوي و تخل بالتوازن الكيميائي ، وبالتالي تساهم في ظاهرة الاحتباس الحراري.

إن هذه الدراسة تهدف إلى فهم الظواهر البيولوجية التي تتحكم في تحلل المركبات العضوية المتطايرة في مجموعة من المحركات من نوع (Batch).

المركب المستعمل في هذا البحث في وسط مغلق يحتوي على مزيج من الكائنات الحية الدقيقة (Consortium) تم إحضاره من محطة تصفية المياه بالمنية (قسنطينة) هو الميثانول.

لقد قمنا في هذا العمل بدراسة تأثير بعض المعاملات :

- تأثير التركيز الأولي S_0 للميثانول.
 - تأثير التركيز الأولي للكتلة الحيوية X_0 و تحديد التركيز الابتدائي المناسب للتحلل البيولوجي الجيد.
 - تأثير درجة الحرارة على التحلل الحيوي وتحديد الدرجة المناسبة للتحلل.
 - تأثير وجود معيق حيوي الكلوروفورم ($CHCl_3$).
 - تأثير وجود الايثانول.
- وأخيرا دراسة خصائص محددة لمعدل النمو الحيوي للميثانول والخليط (الميثانول + الايثانول).

الكلمات المفتاحية

الميثانول ، الايثانول ، المركبات العضوية المتطايرة ، مزيج من الكائنات الحية الدقيقة ، معدل النمو الحيوي،الوسط الغدائي،الكلوروفورم .

Abstract

Among compounds responsible for air pollution, power is increasingly focused on volatile organic compounds (VOC). These compounds are harmful to humans since there are direct risks to health, and degrade in the atmosphere, they disturb the chemical equilibrium and thus constitute the main precursors of photochemical pollution in the troposphere also contributing to greenhouse effect.

This study contributes to the understanding of biological phenomena that control the degradation of volatile organic compounds in a series of batch reactors.

The lead compound which has been testing in batch reactor with a consortium from the treatment plant of El Menia is the methanol.

In this work we studied the influence of some parameters

- Influence of the initial concentration of methanol S_0 .
- Influence of the initial concentration of biomass and X_0 determining the initial concentration of biomass suitable for degradation.
- Influence of temperature on the biodegradation and the determination of the appropriate temperature.
- Influence of the presence of a substituent gênant biodegradation, chloroform ($CHCl_3$).
- Influence of the presence of ethanol.

Finally we studied the characteristics of the specific growth rate of biodegradation for methanol, ethanol and the mixture (methanol + ethanol).

Key words;

Methanol, ethanol, VOC, substrate, biodegradation, consortium, batch reactor, biomass, chloroform, specific growth, nutritive medium.

RESUME

Parmi les composés responsables de la pollution atmosphérique, la tension est de plus en plus focalisée sur les composés organiques volatils (COV). Ces composés sont néfastes pour l'homme car ils présentent des risques directs sur la santé et en se dégradant dans l'atmosphère, ils perturbent les équilibres chimiques et constituent ainsi les principaux précurseurs de la pollution photochimique de la troposphère en contribuant également à l'effet de serre.

La présente étude contribue à la compréhension des phénomènes biologiques qui contrôlent la dégradation des composés organiques volatiles dans une série de réacteurs batch.

Le composé principal ayant fait l'objet d'expérimentation en réacteur batch avec un consortium provenant de la station d'épuration d'El Ménia est le méthanol.

Dans ce travail nous avons étudié l'influence de quelques paramètres :

- Influence de la concentration initiale en méthanol S_0 .
- Influence de la concentration initiale de biomasse X_0 et la détermination de la concentration initiale de biomasse adéquate pour la dégradation.
- Influence de la température sur la biodégradation et la détermination de la température convenable.
- Influence de la présence d'un substituant gênant la biodégradation, le chlore provenant du chloroforme ($CHCl_3$).
- Influence de la présence de l'éthanol.

Enfin une étude des caractéristiques des taux spécifiques de croissance de la biodégradation pour le méthanol et pour le mélange (méthanol + éthanol).

Mots clés ;

Méthanol, éthanol, COV, substrat, biodégradation, consortium, réacteur batch, biomasse, chloroforme, milieu nutritif.