



République Algérienne Démocratique Et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche  
Scientifique



Ecole Nationale Polytechnique  
Département de Génie de l'Environnement  
Laboratoire des Sciences et Techniques de l'Environnement

# Mémoire de Magister en Sciences et Techniques de l'Environnement

Présenté par :

**Lazli Wassila épouse Hezil**

Ingénieur d'état en Génie de l'Environnement de l'ENP

**Intitulé**

## **Biodégradation du phénol par bactéries fixées sur support combiné**

Soutenu publiquement le **28/06/2012** devant le jury composé de :

<b>Président :</b>	KERBACHI Rabah	Professeur	ENP
<b>Rapporteur :</b>	HELLAL Amina	Professeur	ENP
<b>Examineurs :</b>	HARIK Djamila	Professeur	ENP
	ZBOUDJ Saliha	Maitre de conférences A	ENP

**ENP 2012**

---

Laboratoire Ecole Nationale Polytechnique (ENP)

10, Avenue des Frères Oudek, Hassen Badi, BP. 182, 16200, El-Harrach, Alger, Algérie

[www.enp.edu.dz](http://www.enp.edu.dz)

## ملخص:

الهدف من دراستنا هذه هو التخلص من الفنول عن طريق بكتيريا مثبتة على قاعدة مركبة. ان تثبيت الفحم المنشط و بكتيريا بسودوموناس ايروجينوزا بتقنية الاحتواء على دعامة من جينات الكالسيوم تسمح بالجمع بين الامتزاز و التحلل لبيولوجي لمادة الفينول.

أظهرت دراسة امتزاز الفينول عن طريق البلورات المكونة من جينات +فحم منشط وازالته بواسطة البلورات المكونة من جينات +فحم منشط +بكتيريا وذلك بتطبيق المخطط التجريبي، طبيعة تأثير العوامل المتخذة و المتمثلة في تركيز الفينول، كمية الفحم المنشط و حجم البلورات، على سعة الامتزاز و على الوقت المستغرق للتحلل الكلي للفنول على الترتيب. كما أمكن المخطط التجريبي من ايجاد نماذج رياضية مطابقة للنتائج التجريبية.

**كلمات مفاتيح:** فنول، امتزاز، تحلل بيولوجي، تثبيت، جينات الكالسيوم، مخطط تجريبي

## Résumé :

Le but de notre travail est l'étude de l'élimination du phénol par bactéries fixées sur support combiné. L'immobilisation par inclusion du charbon actif en poudre et des bactéries *Pseudomonas aeruginosa* dans de l'alginate de calcium permet d'associer l'adsorption et la biodégradation du phénol dans un même système.

L'étude de l'élimination du phénol par les billes (alginate –charbon actif) et (alginate – charbon actif- bactéries), par la méthode des plans d'expériences, a permis de montrer l'influence et l'effet des paramètres considérés (concentration initiale en phénol, masse de charbon actif et diamètre des billes) sur la capacité d'adsorption et sur le temps d'élimination du phénol respectivement. Cette méthode a permis aussi d'aboutir à une modélisation des résultats expérimentaux.

**Mots clés :** phénol, adsorption, biodégradation, immobilisation, Alginate de calcium, plan d'expériences.

## Abstract :

The purpose of our work is the study of the phenol elimination by immobilized cells on a combined support. The immobilization by inclusion of the powder activated carbon and *Pseudomonas aeruginosa* in calcium alginate beads allows associating the adsorption and the biodegradation of phenol in the same system.

The study of the phenol elimination by alginate - activated carbon beads and alginate – activated carbon-bacteria beads, using the method of design of experiments, allowed to show the influence and the effect of the considered parameters (initial concentration of phenol, mass of activated carbon and diameter of beads on the adsorption's capacity and on the time of phenol elimination . This method also allowed to end in a modelling of the experimental results.

**Keywords:** phenol, adsorption, biodegradation, immobilization, calcium alginate, design of experiments.

## *Remerciements*

*Tout d'abord, Je tiens à exprimer ma profonde gratitude et mon profond respect à ma promotrice M<sup>me</sup> A. Hellel, Professeur à l'Ecole Nationale Polytechnique, pour son encadrement, sa disponibilité, son dévouement et ses conseils tout au long de ce travail.*

*Ma gratitude s'adresse également au Professeur R. Kerbachi de l'Ecole Nationale Polytechnique, de me faire l'honneur de présider le jury.*

*Je tiens à remercier les autres membres du jury: M<sup>me</sup> D. Harik, Professeur à l'Ecole Nationale Polytechnique, et M<sup>me</sup> S. Zeboudj, maitre de conférences à l'Ecole Nationale Polytechnique, de me faire l'honneur de juger ce travail.*

*Je remercie chaleureusement toute l'équipe du laboratoire, Linda, Dalila, Assira, Hassiba, Ratiba, et en particulier, Oumessaad, pour leur accueil, leur aide et leur bonne humeur .Ainsi que mes camarades de la promotion et mes amies, Soumia, Yasmine et Imene.*

*Enfin, je remercie mes parents, mon époux et toute ma famille pour leur amour et leur soutien tout au long de ces années.*

## *Dédicaces*

*Avec toute ma gratitude et ma reconnaissance à mon défunt grand père : « tu étais et tu resteras à jamais un exemple pour moi »*

*A mon adorable mère qui m'a tant aidée, soutenue et encouragée*

*A mon époux, je voudrais rappeler ma reconnaissance pour sa compréhension et sa présence affectueuse à mes côtés*

*A notre fils adoré SID AHMED*

*A mon père et mes frères pour leur soutien et complicité*

*A ma belle maman pour sa présence et ses encouragements*

*A mes belles sœurs*

*A ma cousine Nassiba*

*A mon amie Imene*

## NOMENCLATURE

**ACCA** Alginate de calcium contenant charbon actif  
**APE** American Protection Agency  
**CA** Charbon actif  
**D** Fonction désirabilité  
**DO** Densité Optique  
**EPS** Exopolysaccharide  
**ppm** Partie par million  
**Prob** Probabilité  
**UV** Ultra violet

### Alphabets

**a<sub>i</sub>** Effet du facteur i  
**a<sub>ij</sub>** Interaction entre les facteurs i et j  
**a<sub>ijm</sub>** Interaction entre les facteurs i, j et m  
**C** Concentration en phénol ( $\text{mol.L}^{-1}$  ou  $\text{g.L}^{-1}$ )  
**C<sub>0</sub>** Concentration initiale en phénol ( $\text{mol.L}^{-1}$  ou  $\text{g.L}^{-1}$ )  
**C<sub>eq</sub>** Concentration en phénol à l'équilibre ( $\text{mol.L}^{-1}$  ou  $\text{g.L}^{-1}$ )  
**d** Diamètre des billes (mm)  
**f** Fonction réponse  
**F** Valeur d'un Fisher-Snedecor  
**H<sub>0</sub>** Hypothèse nulle  
**H<sub>1</sub>** Hypothèse alternative  
**K<sub>d</sub>** Coefficient de distribution ( $\text{L.g}^{-1}$ )  
**K<sub>F</sub>** Constante de Freundlich ( $\text{mg.g}^{-1} \cdot (\text{L.mg}^{-1})^{1/n}$ )  
**K<sub>L</sub>** constante de Langmuir ( $\text{m}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ )  
**n** Constante adimensionnelle de Freundlich  
**N** Nombre d'expériences  
**m<sub>CA</sub>** Masse de charbon actif (g)  
**t** Temps (h)  
**t** Valeur d'un Student  
**t<sub>crit</sub>** Valeur critique d'un Student  
**t<sub>f</sub>** Temps d'élimination totale du phénol (h)  
**R** Rendement d'adsorption (%)  
**R<sup>2</sup>** Coefficient de détermination  
**R<sub>a</sub><sup>2</sup>** Coefficient de détermination ajusté  
**V** Volume (L)  
**q<sub>e</sub>** Capacité d'adsorption à l'équilibre ( $\text{mol.g}^{-1}$  ou  $\text{g.g}^{-1}$ )  
**q<sub>m</sub>** Capacité d'adsorption maximale ( $\text{mol.g}^{-1}$  ou  $\text{g.g}^{-1}$ )  
**x<sub>0</sub>** Valeur centrale en unités courantes  
**x<sub>+1</sub>** Variable réelle au niveau haut  
**x<sub>-1</sub>** Variable réelle au niveau bas  
**y** Réponse considérée

### Symboles grecques

**α** Seuil du test  
**Δx** le pas

## LISTE DES FIGURES

Titre	Page
Figure I-1 : Structure du phénol.....	3
Figure I-2 : Représentation des différentes étapes de la cinétique d'adsorption.....	8
Figure I-3 : Représentation de la structure poreuse de charbon actif.....	11
Figure I-4 : Influence des groupements fonctionnels présents en surface du charbon sur sa charge électrique.....	12
Figure I-5 : Classification des isothermes d'équilibre d'adsorption selon leur allure.....	14
Figure I-6 : Classification des techniques d'immobilisation.....	16
Figure I-7 : Représentation du domaine d'étude.....	24
Figure I-8 : Disposition des points expérimentaux d'un plan $2^3$ .....	25
Figure II-1 : Dispositif expérimental.....	28
Figure II-2 : Schéma synoptique résumant les étapes de fabrication des billes ACCA-bactéries par la méthode d'extrusion.....	30
Figure III-1 : Cinétiques d'adsorption du phénol par les billes ACCA et par le CA libre.....	32
Figure III-2 : Cinétique d'adsorption du phénol par les billes AC vierges.....	33
Figure III-3 : Isotherme d'adsorption du phénol par les billes ACCA.....	34
Figure III-4 : Forme linéarisée du modèle de Langmuir pour l'isotherme d'adsorption du phénol par les billes ACCA.....	35
Figure III-5 : Forme linéarisée du modèle de Freundlich pour l'isotherme d'adsorption	

du phénol par les billes ACCA.....	36
Figure III-6 : Isotherme d'adsorption du phénol par les billes ACCA (modèle de Langmuir).....	37
Figure III-7 : Isotherme d'adsorption du phénol par les billes ACCA (modèle de Freundlich).....	37
Figure III-8 : Capacité d'adsorption en fonction de la masse de CA immobilisée dans les billes ACCA.....	38
Figure III-9 : Capacité d'adsorption des billes ACCA de différents diamètres.....	40
Figure III-10 : les cinétiques d'adsorption obtenue pour les essais du plan factoriel complet.....	44
Figure III-11 : Effet de la concentration en phénol sur la quantité adsorbée.....	46
Figure III-12 : Effet de la masse du CA sur la quantité adsorbée.....	47
Figure III-13 : Effet de la taille des billes sur la quantité adsorbée.....	47
Figure III-14 : Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues.....	52
Figure III-15 : Profil d'interaction.....	53
Figure III-16 : Profileur de prévision .....	54
Figure III-17 : Valeur de la quantité adsorbée aux sommets du domaine d'étude.....	55
Figure III-18 : les cinétiques d'élimination du phénol par les billes ACCA-bactéries.....	58
Figure III-19 : effet de la concentration initiale en phénol sur le temps de son élimination par les billes ACCA-bactéries.....	60

Figure III-20 : effet de la concentration en charbon actif sur le temps d'élimination du phénol par les billes ACCA-bactéries.....	61
Figure III-21 : effet du diamètre des billes sur le temps d'élimination du phénol par les billes ACCA-bactéries.....	62
Figure III-22 : Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues.....	67
Figure III-23 : Profil d'interaction.....	68
Figure III-24 : Profileur de prévision.....	70
Figure III-25 : Valeur de la quantité adsorbée aux sommets du domaine d'étude.....	71



## LISTE DES TABLEAUX

Titre	Page
Tableau I-1 : Principales propriétés physico-chimiques du phénol .....	3
Tableau I-2 : Quelques exemples de supports utilisés dans l'immobilisation.....	19
Tableau I-3 : Principaux avantages et inconvénients de l'immobilisation.....	20
Tableau I-4 : Matrice d'expérience d'un plan $2^3$ .....	25
Tableau III-1 : Paramètres des modèles de Freundlich et Langmuir.....	36
Tableau III-2 : Capacité d'adsorption des différentes billes ACCA en fonction de la quantité de charbon actif immobilisé.....	39
Tableau III-3 : Capacité d'adsorption des billes ACCA.....	41
Tableau III-4 : Facteurs et domaine d'étude.....	41
Tableau III-5 : la quantité adsorbée obtenue pour chaque essai du plan établi.....	42
Tableau III-6 : Rendements d'adsorption calculés à partir des cinétiques d'adsorption.....	45
Tableau III-7 : Importance des coefficients du modèle.....	50
Tableau III-8 : Importance des coefficients du modèle après ajustement .....	50
Tableau III-9 : Analyse de la variance par JMP.....	51
Tableau III-10 : le temps final de l'élimination du phénol obtenue pour chaque essai du plan établi.....	56
Tableau III-11 : comparaison entre la quantité de phénol adsorbée par les billes ACCA et les billes ACCA-bactéries.....	59
Tableau III-12 : Importance des coefficients du modèle.....	65
Tableau III-13 : Importance des coefficients du modèle après ajustement.....	66
Tableau III-14 : Analyse de la variance par JMP.....	66

# SOMMAIRE

<b>Liste des abréviations</b>	I
<b>Liste des figures</b>	II
<b>Liste des tableaux</b>	III
<b>INTRODUCTION GENERALE.....</b>	1
<b>CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....</b>	3
I-1 Généralités sur le phénol.....	3
I- 1.1 Définition et caractérisation.....	3
I-1.2 Production et utilisations.....	4
I-1.3 Les rejets phénoliques dans l'environnement.....	5
I-1.4 Toxicité du phénol.....	5
I-1.5 Traitement des effluents phénoliques.....	6
I-1.6 La biodégradation du phénol.....	6
I-1.6.1 La biodégradation aérobie.....	6
I-1.6.2 La biodégradation anaérobie.....	7
I- 2. Adsorption.....	7
I-2.1 Définition.....	7
I-2.2 Charbon actif : l'adsorbant par excellence.....	9
I-2.2.1 Origine et fabrication du charbon actif.....	9
I-2.2.2 Caractéristiques physicochimiques.....	10
I-2.3 Les équilibres d'adsorption.....	12
I-2.3.1 Les différents types d'isothermes.....	13
I-2.3.2 Modélisation des isothermes d'adsorption.....	14
I-3. Technologie des cellules immobilisées.....	16
I-3.1 Définition.....	16
I-3.2 Techniques et procédures d'immobilisation.....	16
I-3.2.1 Immobilisation par inclusion.....	17
I-3.2.2 Immobilisation par adsorption.....	17
I-3.2.3 Immobilisation par liaison covalente.....	17
I-3.2.4 Immobilisation par encapsulation.....	18
I-3.2.5 Immobilisation par confinement.....	18
I-3.2.6 Immobilisation par floculation.....	18

I-3.3 Choix du support.....	18
I-3.4 Avantages et inconvénients.....	19
I-3.5 Immobilisation par inclusion des cellules dans l'alginate de calcium.....	20
I-3.5.1 Présentation de l'alginate.....	21
I-3.5.2 Influence de différents paramètres sur la technique d'inclusion.....	21
I-3.5.3 Effets physiologiques et morphologiques de l'immobilisation.....	21
I-4. Plan d'expériences.....	22
I-4.1 Définition.....	22
I-4.2 Principe de la méthode et terminologie.....	22
I-4.2.1 Réponses, facteurs, niveaux.....	22
I-4.2.2 Coordonnées centrées réduites.....	23
I-4.2.3 Domaine expérimental et domaine d'étude.....	23
I-4.3 Plan factoriel complet à deux niveaux $2^k$ .....	24
I-4.3.1 Points expérimentaux et matrice d'expérience.....	25
I-4.3.2 Modèle mathématique.....	26
<b>Chapitre 2 : MATERIEL ET METHODES.....</b>	<b>27</b>
II-1. Matériel.....	27
II-1.1 Matériel biologique.....	27
II-1.2 Produits et réactifs.....	27
II-1.2.2 Dosage du phénol.....	27
II-1.2.3 Fabrication des billes combinées.....	27
II-1.3 Appareils.....	27
II-1.4 Dispositif expérimental.....	27
II-2. Méthodes.....	29
II-2.1 Préparation de l'inoculum.....	29
II-2.2 Méthodes d'analyse.....	31
II-2.2.1 Dosage du phénol.....	31
II-2.2.2 Analyse statistique.....	31
<b>Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSION.....</b>	<b>32</b>
III-1. Etude comparative de l'adsorption du phénol par le charbon libre, les billes AC vierges et les billes ACCA.....	32
III-2. Isotherme d'adsorption du phénol par les billes ACCA.....	33
III-2.1 Modélisation de l'isotherme d'adsorption.....	34

III-2.1.1 Modèle de Langmuir.....	34
III-2.1.2 Modèle de Freundlich .....	35
III-3. Etude de l'influence de quelques paramètres sur la capacité d'adsorption des billes ACCA.....	38
III-3.1 Influence de la masse de CA immobilisé.....	38
III-3.2 Influence de la taille des billes.....	39
III-4. Application du plan d'expériences à l'adsorption du phénol par les billes ACCA...	41
III-4.1 Analyse classique.....	45
III-4.2 Analyse statistique.....	48
III-4.2.1 Modélisation mathématique .....	48
III-4.2.2 Analyse par le logiciel de statistique JMP.....	49
III-5. Application du plan d'expériences à l'élimination (adsorption+biodégradation) du phénol par les billes ACCA-bactéries.....	56
III-5.1 Analyse classique.....	58
III-5.2 Analyse statistique.....	63
III-5.2.1 Modélisation mathématique.....	63
III-5.2.2 Analyse par le logiciel de statistique JMP.....	64
<b>CONCLUSION GENERALE.....</b>	<b>72</b>
Références bibliographiques.....	75
Annexes.....	80

## INTRODUCTION GENERALE

L'eau n'est pas seulement une ressource, elle est un enjeu de civilisation. La demande en eau n'a jamais été aussi forte en raison de la croissance démographique, de l'évolution des modes de consommation alimentaire ou encore des besoins accrus en énergie. Apporter de l'eau potable à l'ensemble des êtres vivants et assurer sa distribution régulière est un pari audacieux du fait de la distribution variable de la ressource d'une part, et la dégradation de sa qualité causée principalement par les activités industrielles d'autre part. Le fossé que l'ère industrielle a creusé avec cet élément vital doit être comblé d'urgence.

Les phénols figurent parmi les rejets industriels les plus toxiques et les plus fréquents, ils sont utilisés dans diverses industries, où ils constituent la matière première, comme dans la fabrication des résines phénoliques, du nylon, de dissolvants, de laques et peintures... [1,2]

Le traitement des eaux polluées s'impose afin de préserver la vie aquatique et de permettre l'usage de l'eau en aval. Deux types de traitements sont distingués : les traitements physicochimiques et les traitements biologiques. Les traitements physicochimiques comme l'adsorption ont l'avantage de traiter la pollution rapidement mais ils sont onéreux et ne font que déplacer la pollution en la concentrant. Les traitements biologiques quant à eux, sont peu coûteux et permettent, par l'action des microorganismes, une minéralisation totale des matières organiques causant la pollution des eaux [3].

En biotechnologie, une technique relativement récente a été mise au point. Il s'agit de l'immobilisation des bactéries sur ou dans des supports spécifiques. C'est une technique très prometteuse car elle présente de nombreux avantages comparée à l'utilisation des cellules libres. Elle permet d'obtenir de hautes densités cellulaires ce qui augmente la productivité et elle limite les phénomènes d'inhibition. De ce fait, le recours à la technique d'immobilisation tend à être généralisé [4].

Dans notre étude, nous avons voulu associer deux techniques de traitement du phénol : l'adsorption et la biodégradation ceci par immobilisation du charbon actif en poudre et de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* dans des billes d'alginate de calcium. Notre étude est scindée en deux parties : la première concerne l'adsorption du phénol par les billes alginate-

## INTRODUCTION GENERALE

---

charbon actif et la deuxième porte sur l'adsorption et la biodégradation du phénol par les billes alginate-charbon actif-bactéries.

## Chapitre1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

### 1. GENERALITES SUR LE PHENOL

#### 1.1 Définition et caractérisation

Le phénol, aussi appelé hydroxybenzène, acide phénique, ou encore acide carbolique, est un composé organique de formule générale  $C_6H_5OH$ , constitué d'un cycle aromatique benzénique et d'une fonction hydroxyle. C'est la plus simple molécule de la famille des phénols [5].

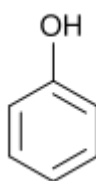


Figure I-1 : Structure du phénol [5]

Les cristaux du phénol purifié sont incolores et en forme d'aiguilles. Lorsqu'ils sont stockés, ils prennent une couleur rose puis brun-rouge. A température ambiante, le phénol est soluble dans l'eau et très soluble dans les solvants organiques. Le point de fusion du phénol est cité différemment dans la littérature, il est compris entre 40 - 43 °C. Le point d'ébullition est de 182 °C [6].

Le tableau I.1 résume les principales propriétés physiques et chimiques du phénol.

Tableau I.1 : Principales propriétés physico-chimiques du phénol

Paramètre	Valeur	Etendue	Référence
<b>Facteur de conversion</b> (dans l'air à 20 °C)	1 ppm = 3,91 mg.m <sup>-3</sup> 1 mg.m <sup>-3</sup> = 0,26 ppm		[7]
<b>Masse molaire</b> (g.mol <sup>-1</sup> )	94,11	94,11 - 94,144	[7]
<b>Densité/eau</b>	1.071		[8]
<b>Point de fusion(°C)</b>	41	40 - 43	[8]
<b>Point d'ébullition</b> (°C)	181,8	181,75 - 182	[7]
<b>Pression de vapeur</b> (Pa)	28,7 à 20 °C	20 - 47,6	[7]
	54,4 à 25 °C	46,8 - 69,9	

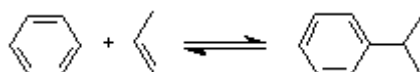
<b>Solubilité dans l'eau (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	83 500 à 20 °C 85 700 à 25 °C	82 000 - 84 000 70 000 - 93 000	[7]
<b><u>Température d'auto-inflammation</u>(°C)</b>	715 °C		[8]
<b>Point d'éclair(°C)</b>	79 °C		[8]
<b>Constante de Henry(Pa.m<sup>3</sup>.mol<sup>-1</sup>)</b>	4,56.10 <sup>-2</sup> à 20 °C 4,02.10 <sup>-2</sup> à 25 °C		[7]
<b>Coefficient de diffusion dans l'air (cm<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>)</b>	8,2.10 <sup>-2</sup>		[7]
<b>Coefficient de diffusion dans l'eau (cm<sup>2</sup>.s<sup>-1</sup>)</b>	8,8.10 <sup>-6</sup>	8,5.10 <sup>-6</sup> - 9,1.10 <sup>-6</sup>	[7]

## 1.2 Production et utilisations

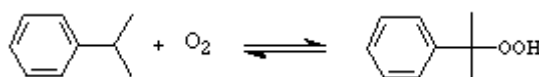
Le phénol est essentiellement produit par synthèse et le procédé utilisant le cumène comme intermédiaire est employé à plus de 85%. Ce procédé fut découvert en 1944 par Hock et Lang et il est exploité depuis les années 50 [9].

La méthode de Hock comprend trois phases :

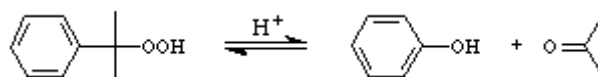
- Alkylation du benzène avec le propylène pour former de l'isopropylbenzène (cumène)



- Oxydation du cumène par l'oxygène de l'air aboutissant à du tert-hydroperoxyde



- Séparation en phénol et acétone.



En 2005, le phénol a été produit à hauteur de 8 800 000 T dans le monde dont 26% aux USA . Le principal producteur est INEOS-Phenol avec une capacité de production estimée à plus de 2,3 millions de tonnes à l'horizon 2013 [10].

Le phénol est un composé d'une grande importance en chimie organique industrielle. Il constitue la matière première dans la fabrication des résines phénoliques, du nylon,



d'alkylphénols, de chlorophénols et d'autres substances chimiques, telle que l'acide adipique, la phénolphtaléine et l'acide picrique [7].

Il est également utilisé pour la désinfection, dans la fabrication de laques, peinture et vernis, de caoutchouc, dans l'industrie du plastique et dans l'industrie pharmaceutique [7].

### **1.3 Les rejets phénoliques dans l'environnement**

La présence du phénol dans le milieu aquatique provient principalement des eaux résiduaires de certaines industries déjà citées. Ces rejets forment des solutions toxiques et cela même à de faibles concentrations. Le phénol est plus lourd que l'eau, il se dissout lentement et devient complètement miscible à l'eau au-dessus de 68,4°C [7].

Dans l'atmosphère, en raison de sa volatilité, le phénol existe principalement en phase gazeuse. Sa durée de vie est généralement courte, elle dépend des conditions atmosphériques. La photo-oxydation, la photolyse et le dépôt sec et humide sont les principales voies de son élimination de l'atmosphère [11].

Dans les sols, les propriétés physico-chimiques qui influent sur le devenir et le comportement du phénol sont le pH, la capacité d'échange, la teneur en matière organique et la teneur en argile. Le phénol présente une forte affinité avec l'oxyde d'aluminium, par conséquent, son accumulation est fonction de la présence de minéraux argileux. Le phénol peut être éliminé par la biodégradation, l'adsorption et la désorption, la volatilisation et l'oxydation [11].

### **1.4 Toxicité du phénol**

Les phénols de synthèse sont plus toxiques et moins dégradables que les phénols existant à l'état naturel. Plus ils contiennent d'atomes de chlore ou d'azote, plus leur toxicité est forte. Il convient donc de surveiller et de réglementer les rejets de composés phénoliques [12].

Le phénol apparaît dans la liste des polluants prioritaires établie par l'agence américaine de la protection de l'environnement APE en raison de sa toxicité et de son accumulation dans l'environnement [13].

Il figure aussi dans la catégorie 2 de risque WGK (Wassergefährdungsklassen : catégorie de risque de pollution de l'eau) en Allemagne, il est classé donc comme polluant de l'eau [7].

Le phénol est un produit caustique dangereux, il peut pénétrer dans l'organisme par voie cutanée, par inhalation ou accidentellement par ingestion, il exerce à la fois une action locale sur la peau et les muqueuses et une action générale sur l'organisme [8].

Il est recommandé que l'exposition journalière au phénol n'excède pas 20 mg. Pour les poissons, la concentration létale est de 5-25 ppm. En plus, il a été rapporté qu'une concentration inférieure à 0,1 ppm pouvait affecter le goût du poisson [14].

### 1.5 Traitement des effluents phénoliques

On s'attend à ce que la biodégradation dans l'eau et le sol soit la principale voie de disparition du phénol, mais ce dernier, même dilué forme des solutions toxiques qui peuvent inhiber sa biodégradation. De plus, contrairement aux phénols naturels, la biodégradabilité des phénols synthétiques est faible car nombre d'entre eux ont une action bactéricide [11].

Différents procédés de traitements ont été mis en œuvre pour dépolluer les effluents phénoliques. On distingue deux classes de procédés : les procédés de traitement physico-chimique et les procédés de traitement biologique. Dans les traitements physico-chimiques figurent des procédés de récupération, qui n'éliminent pas la pollution mais la déplacent en la concentrant, comme l'adsorption, l'osmose et l'extraction de solvants, et des procédés de destruction qui éliminent la pollution dont les principaux sont l'oxydation par le peroxyde d'hydrogène, l'oxyde de manganèse et l'ozone [15]. Ces procédés dits conventionnels, sont onéreux et ne permettent pas tous une dépollution totale d'où la grande importance des traitements biologiques qui aboutissent à une dégradation complète du composé et ceci à moindre coût.

### 1.6 La biodégradation du phénol

La biodégradation est la transformation d'un composé organique en différents sous-produits ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{Cl}^-$ , acides organiques simples...) par l'action des microorganismes[16,17].

Le phénol est un hydrocarbure que beaucoup de microorganismes, essentiellement les bactéries aérobies, peuvent utiliser comme source unique de carbone et d'énergie. Et les principales bactéries pouvant dégrader le phénol sont : les *Pseudomonas*, les *Vibrions*, les *Enterobacteries*, les *Alcaligenes*, les *Azotobacter*, les *Rhodococcus*, les *Phanerochaete* et les *Cryptococcus*[18,19].

#### 1.6.1 La biodégradation aérobie

Les différentes études menées sur la biodégradation du phénol ont permis de bien établir les voies de la dégradation aérobie du phénol. Cette dégradation est possible grâce à l'enzyme hydroxylase qui permet l'oxygénation du phénol pour former le catéchol qui suit un enchaînement de réactions aboutissant à du dioxyde de carbone et de l'eau [20].

### 1.6.2 La biodégradation anaérobie

La croissance anaérobie sur le phénol a été observée chez diverses bactéries; dans tous les cas étudiés, le phénol semble être carboxylé en 4-hydroxybenzoate et la croissance sur celui-ci dépend de la présence de CO<sub>2</sub>[16].

## 2. ADSORPTION

Les procédés d'adsorption demeurent parmi les meilleurs choix de traitement des eaux polluées ceci pour plusieurs raisons. D'abord, l'adsorption permet l'élimination de différentes molécules quelle que soit leur concentration. En plus elle est peu onéreuse comparée aux autres traitements physicochimiques [21,22].

### 2.1 Définition

L'adsorption est un phénomène de surface par lequel des molécules de gaz ou de liquide se fixent sur les surfaces solides des adsorbants selon divers processus plus ou moins intenses. L'adsorption résulte des forces d'attraction intermoléculaires, de nature et d'intensité variées, qui sont responsables de la cohésion des phases condensées, liquides ou solides. Une molécule attirée inégalement par les autres molécules de deux phases trouvera une position énergétiquement favorable à la surface de la phase qui l'attire le plus ; celle-ci sera appelée l'adsorbant, les molécules ainsi adsorbées constituant l'adsorbat[23].

Ces interactions adsorbant-adsorbat peuvent donner lieu préférentiellement à deux types d'adsorption[21] :

- L'adsorption physique met en jeu des énergies de liaison relativement faibles de type Van der Waals (10 à 100 kJ.mol<sup>-1</sup>). Le procédé est donc généralement réversible. Elle se caractérise par son caractère exothermique et par un équilibre atteint assez rapidement ;
- La chimisorption a lieu sur des sites spécifiques de l'adsorbant et les molécules chimiquement adsorbées sont liées sur la surface réactive de l'adsorbant. Les énergies de liaison sont généralement élevées et similaires à celles des réactions chimiques (100 à 1000 kJ.mol<sup>-1</sup>).

Les quatre étapes limitantes de la cinétique d'adsorption dans des particules poreuses sont les suivantes[21] (Figure I.2) :

- diffusion des molécules de la solution vers la couche limite externe aux particules : toutefois, en présence d'une agitation forte cette étape n'est pas limitante ;
- transfert de soluté du film vers la surface de l'adsorbant : cette étape est nommée diffusion de film ou transport externe (diffusion extra-particulaire) ;
- diffusion du soluté de la surface des particules vers l'intérieur des pores : il s'agit de la diffusion intra-particulaire, comprenant à la fois le transport de la molécule de soluté dans le pore et la diffusion de ce soluté à la surface du pore ;
- la fixation du soluté sur les sites adsorbants : cette étape, qui constitue l'adsorption, est une phase quasi instantanée en système isotherme et ne limite donc pas la cinétique globale de fixation.

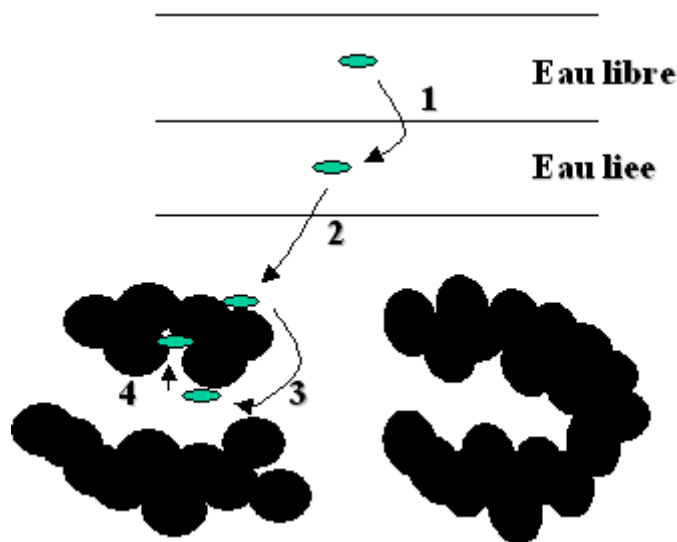


Figure I.2 : Représentation des différentes étapes de la cinétique d'adsorption [24]

Au sein d'un réacteur parfaitement agité et à température constante, les étapes contrôlant la vitesse globale d'adsorption sont, par conséquent, les étapes de diffusion extra- et intraparticulaire.

L'importance relative de ces étapes dépend de la structure de l'adsorbant (diamètre des particules, diamètre et longueur des pores), des propriétés de la solution (diffusivité des solutés) et de l'hydrodynamique au voisinage de l'adsorbant[21].

## 2.2 Charbon actif : l'adsorbant par excellence

Au sens strict, tous les solides sont des adsorbants. Cependant, seuls les adsorbants ayant une surface spécifique suffisante (surface par unité de masse) peuvent avoir des intérêts pratiques [21].

Un adsorbant peut être un matériau d'origine minérale, organique ou biologique (l'alumine ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), le charbon actif, les zéolites, les argiles, les perles de silice...), un sous-produit industriel ou un déchet agricole revalorisé en un adsorbant peu coûteux ou bien un polymère (les résines polymères organiques, les polymères macroporeux hyper réticulés...) [25].

Les adsorbants industriels ont généralement des surfaces spécifiques au-delà de  $100 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ , atteignant même quelques milliers de  $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ . Les adsorbants industriels les plus courants sont les suivants : les charbons actifs, les zéolites, les gels de silice, les aluminés et les argiles activées. Il se fabrique environ  $150\,000 \text{ t} \cdot \text{an}^{-1}$  de zéolithes destinés à l'adsorption,  $400\,000 \text{ t} \cdot \text{an}^{-1}$  de charbons actifs,  $75\,000 \text{ t} \cdot \text{an}^{-1}$  d'aluminés activés,  $400\,000 \text{ t} \cdot \text{an}^{-1}$  d'argiles et  $25\,000 \text{ t} \cdot \text{an}^{-1}$  de gels de silice [23].

Le charbon actif est l'adsorbant le plus utilisé dans le traitement des eaux, son efficacité est due essentiellement à sa grande affinité pour un grand nombre de composés chimiques et à sa grande surface spécifique [26,27].

### 2.2.1 Origine et fabrication du charbon actif

Les charbons actifs constituent une famille de matériaux d'origine carbonée qui peuvent être de nature minérale (houille, coke,...), végétale (bois, noix de coco, tourbe,...) ou synthétique. Ces matériaux sont traités par des procédés physiques ou chimiques pour accroître leurs propriétés d'adsorption liées à leurs porosités très importantes [28,29].

L'activation physique est une activation thermique et la fabrication du charbon actif dans ce cas comprend trois étapes principales [29] :

- Séchage des matières premières à  $170 \text{ }^\circ\text{C}$  ;
- Carbonisation lente entre  $170 \text{ }^\circ\text{C}$  et  $600 \text{ }^\circ\text{C}$  en absence d'oxygène, suivie d'une élimination des produits de carbonisation par de la vapeur à  $750\text{-}900 \text{ }^\circ\text{C}$  ;
- Activation par application en continu de vapeur à  $950 \text{ }^\circ\text{C}$  ; développement de la structure complexe du charbon.

L'activation chimique quant à elle consiste à mélanger les matières carbonées brutes avec des produits chimiques tels que la chaux, l'acide sulfurique, le chlorure de calcium, le chlorure de zinc, le chlorure de magnésium, l'acide phosphorique, les sulfures et les thiosulfates. Après

carbonisation, le charbon est séparé de la substance inorganique activante par dissolution de cette dernière par un lavage approprié [29].

### 2.2.2 Caractéristiques physicochimiques

#### a- Structure

Il a été démontré que la structure du charbon actif ressemble à celle du graphite, elle est comme composée de couches de plans hexagonaux constitués de carbone [29]. C'est comme un assemblage aléatoire de feuillets plans constitués par des polycycles aromatiques. L'espace libre entre ces feuillets constitue la porosité du charbon [27].

#### b- Texture

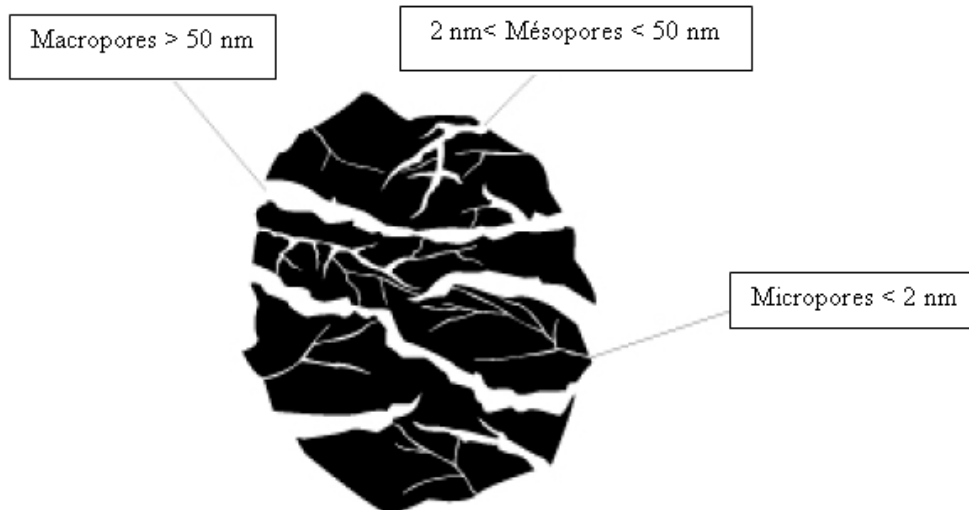
Les caractéristiques texturales du charbon actif (porosité, aire spécifique) jouent un rôle important au niveau des capacités et des cinétiques d'adsorption.

- La structure poreuse : elle peut être caractérisée par des grandeurs telles que la surface totale, le volume total des pores et la répartition de la dimension de ces pores. Le volume poreux est uniquement caractéristique de la porosité ouverte c'est-à-dire les pores ouverts qui débouchent à la surface et qui sont ainsi accessibles aux molécules. Il est habituellement exprimé en centimètres cube par gramme d'adsorbant [30]. Les pores sont généralement classés suivant leur taille en trois catégories [22, 31]:

i) les macropores de diamètre moyen supérieur à 50 nm qui peut atteindre 2 000 nm. Leur volume varie de 0,2 à 0,8 ml.g<sup>-1</sup> et leur faible aire massique (0,5 à 2 m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup>) indique qu'ils ne jouent pas un rôle important sur les capacités d'adsorption ;

ii) les mésopores avec un diamètre compris entre 2 et 50 nm, un volume mésoporeux de l'ordre de 0,02 à 0,10 ml.g<sup>-1</sup> et une aire massique qui représente environ 5 % de l'aire massique totale du charbon (soit 25 à 75 m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup>). De ce fait, les phénomènes de condensation capillaire ne peuvent se dérouler qu'à l'intérieur de ces mésopores ;

iii) les micropores constituent généralement 95 % de l'aire massique totale. Leur rayon inférieur à 2 nm correspond à la taille de molécules simples. Le volume microporeux est compris entre 0,15 et 0,50 ml.g<sup>-1</sup>.



**Figure I.3 : Représentation de la structure poreuse de charbon actif [30]**

Chaque type de pore joue un rôle particulier dans les phénomènes d'adsorption. Les macropores permettent au fluide d'accéder à la surface interne du charbon actif. Les mésopores favorisent le transport de ce fluide et les micropores sont les sites de l'adsorption. Les micropores déterminent pratiquement à eux seuls la capacité d'adsorption d'un charbon actif : ils représentent presque la totalité de la surface offerte à l'adsorption[23]. En effet, la surface externe, qui comprend les parois des mésopores et des macropores, ainsi que la surface des feuillets aromatiques, varie entre 10 et 200  $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  environ[22].

- La surface spécifique : Par définition, elle représente l'aire disponible pour adsorber une monocouche de molécules par unité de masse de charbon, généralement exprimée en  $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ . Pour un charbon actif, cette aire spécifique est comprise entre 500 et 1500  $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ . Plus la surface d'adsorption est grande, plus la quantité de matière adsorbée est importante [30].

c- les propriétés chimiques :

La pureté du carbone composant le charbon actif est de 80 à 95%, le reste est constitué essentiellement par de l'oxygène et de l'hydrogène qui se retrouvent sous la forme de radicaux carboxyliques ou de radicaux hydroxyles, nommés « fonctions oxygénées de surface ». Aussi, des impuretés métalliques peuvent être rencontrées. La quantité et la forme

chimique de ces hétéroatomes dépendent de l'origine du carbone ainsi que la technique d'activation employée [29, 32].

Les fonctions oxygénées de surface confèrent au charbon actif son caractère acido-basique et déterminent, selon l'environnement (pH de la solution), sa charge électrique. On associe le caractère acide d'un charbon actif à la présence de groupements carboxyliques (Ar-COOH), phénoliques (Ar-OH), laconiques et anhydrides. Ces fonctions (en particulier les groupements carboxyliques) rendent la surface du charbon plus polaire et augmentent son affinité pour l'eau par formation de liaisons hydrogène. La basicité du charbon actif également associée à des groupements oxygènes de surface (certains éthers et carbonyles, tels que pyrone et chromène) [27].

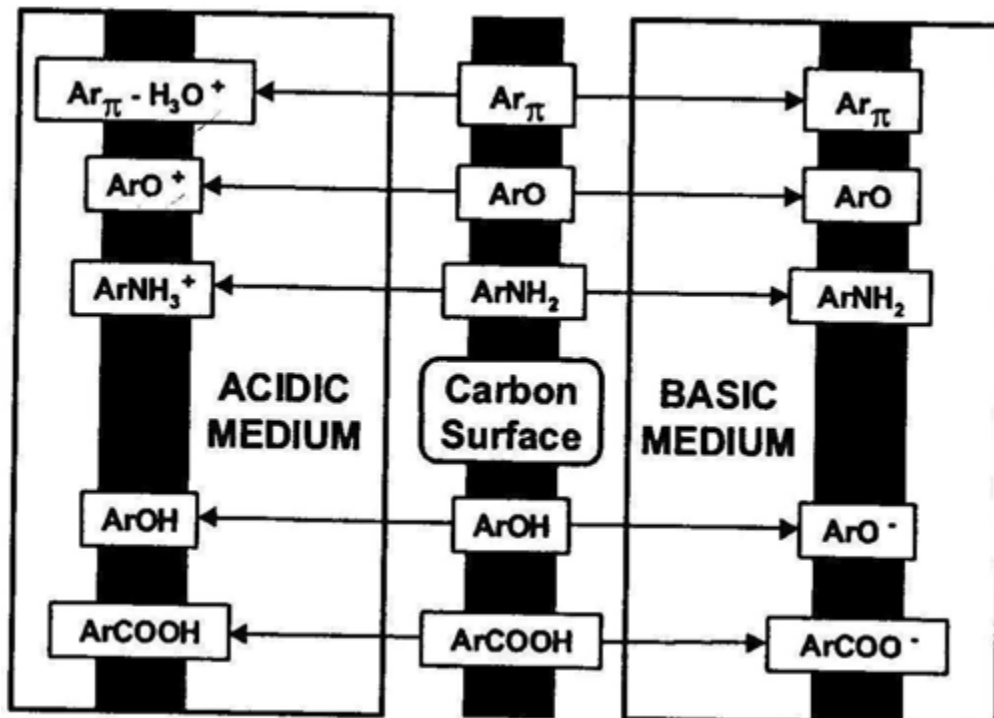


Figure I.4 : Influence des groupements fonctionnels présents en surface du charbon sur sa charge électrique [27]

### 2.3 Les équilibres d'adsorption

Il est essentiel de bien connaître les propriétés d'équilibre adsorbant - adsorbé pour pouvoir concevoir et dimensionner correctement les procédés d'adsorption. En effet quand une



solution est mise en contact prolongé avec du charbon actif, on atteint un équilibre thermodynamique entre les molécules adsorbées et celles présentes en phase liquide [23].

Les quantités adsorbées à l'équilibre pour un système adsorbant - adsorbé sont généralement caractérisées par des isothermes d'adsorption déterminées à une température donnée.

Pour une espèce donnée, l'isotherme d'adsorption exprime la quantité adsorbée par unité de masse du charbon actif ( $q_e$ ) en fonction de la concentration dans la phase fluide à l'équilibre ( $C_e$ ). Ainsi chaque point d'une isotherme est obtenu par le biais de l'équation (I.1) ci-dessous [21, 23] :

$$q_e = \frac{(C_0 - C_e) V}{m_{CA}} \quad (\text{I.1})$$

Où :  $q_e$  est la quantité adsorbée sur le charbon actif par g de charbon actif ( $\text{mol.g}^{-1}$  ou  $\text{g.g}^{-1}$  de CA) ;

$C_e$  est la concentration de l'espèce qui s'adsorbe à l'équilibre ( $\text{mol.L}^{-1}$  ou  $\text{g.L}^{-1}$ ) ;

$C_0$  est la concentration initiale de l'espèce ( $\text{mol.L}^{-1}$  ou  $\text{g.L}^{-1}$ ) ;

V est le volume de solution introduit au départ (L) ;

$m_{CA}$  est la masse de charbon actif (g).

### 2.3.1 Les différents types d'isothermes

Plusieurs auteurs ont proposé une classification des isothermes de sorption basées sur leur forme et sur leur pente initiale. La figure I.5 représente les quatre formes d'isothermes distinguées [22].

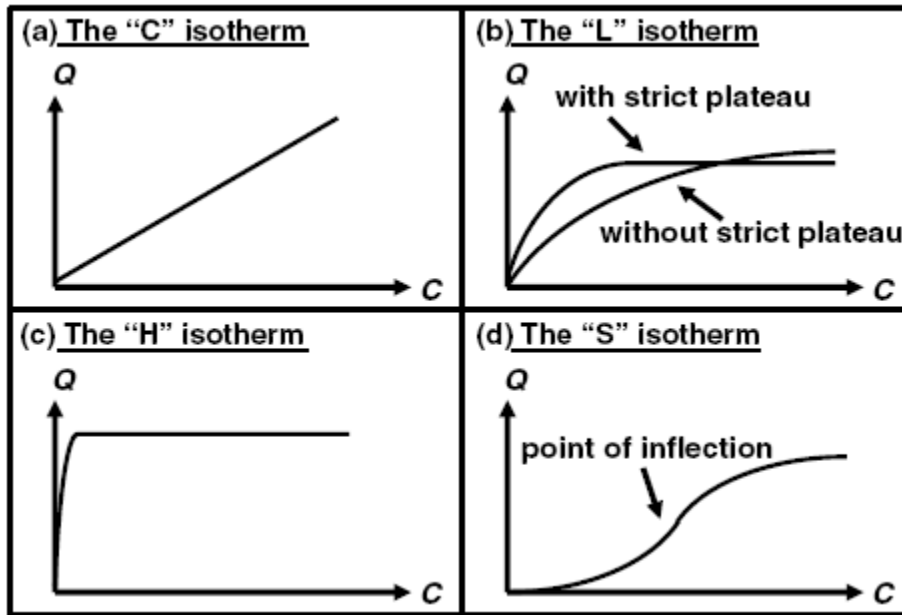


Figure I.5 : Classification des isothermes d'équilibre d'adsorption selon leur allure [22]

- La forme « L » : dite de « Langmuir », correspondrait plutôt aux faibles concentrations en soluté dans l'eau. L'isotherme est de forme convexe, ce qui suggère une saturation progressive du solide. Quand  $C_e$  tend vers zéro, la pente de l'isotherme est constante.
- La forme « H » : dite de « haute affinité », est un cas particulier de la forme « L », où la pente initiale est très élevée. C'est le cas quand le soluté exhibe une forte affinité pour le solide.
- La forme « S » : dite « sigmoïdale », présente un point d'inflexion révélateur d'au moins deux mécanismes d'adsorption. C'est le cas, par exemple, quand une première couche de soluté est d'abord adsorbée puis quand l'adsorption d'une ou plusieurs couches supplémentaires devient favorisée.
- La forme « C » : dite de « partition constante », est une droite passant par zéro ce qui signifie que le rapport  $q_e/C_e$  (appelé coefficient de distribution  $K_d$ ) est constant. C'est souvent le cas de l'adsorption sur les argiles.

### 2.3.2 Modélisation des isothermes d'adsorption

Les isothermes les plus communes sont les isothermes de type L et H. Elles sont souvent modélisées par les modèles de Langmuir et Freundlich [23].

a) Modèle de Langmuir

Une isotherme de type Langmuir est caractéristique d'un adsorbant dont le volume microporeux est particulièrement élevé. Cette forme d'isotherme est à rapprocher du modèle de Langmuir dont les hypothèses initiales sont que le solide adsorbant présente une capacité d'adsorption limitée ( $q_m$ ), que tous les sites actifs sont énergiquement équivalents, qu'ils ne peuvent complexer qu'une seule molécule de soluté (adsorption monocouche) et qu'il n'y a pas d'interactions entre les molécules adsorbées [22, 23]. L'isotherme peut être modélisée par l'Equation (I.2):

$$q_e = \frac{q_{\max} \cdot K_L \cdot C_e}{1 + K_L \cdot C_e} \quad (I.2)$$

Avec :

- $q_e$  est la quantité adsorbée par masse d'adsorbant en ( $\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \text{CA}$ )
- $C_e$  est la concentration à l'équilibre dans la phase fluide en ( $\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$ )
- $K_L$  est une constante qui décrit l'énergie d'adsorption, c'est la constante de Langmuir ( $\text{m}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ ). Elle dépend de la température et donne une indication sur l'affinité de l'adsorbant pour l'adsorbant : plus elle est élevée et plus l'affinité est forte.
- $q_{\max}$  est la quantité maximale pouvant être adsorbée sur une masse donnée de solide et signifie une occupation totale des sites d'adsorption ( $\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \text{CA}$ ).

b) Modèle de Freundlich

Le modèle simple et empirique de Freundlich est le plus communément utilisé. On considère qu'il s'applique dans le cas où l'adsorption se fait d'abord en monocouche puis en multicouche. Cela en présence d'un adsorbant ayant un volume macroporeux ou mésoporeux important et une surface hétérogène avec possibles interactions entre les molécules adsorbées. Le modèle de Freundlich est exprimé par l'équation (I.3) [22,23].

$$q_e = K_F \cdot C_e^{1/n} \quad (I.3)$$

Où  $K_F$  et  $n$  sont des constantes à déterminer pour chaque couple adsorbant/adsorbant à chaque température.

La constante  $n$  (adimensionnelle) donne une indication sur l'intensité de l'adsorption. Il est généralement admis que des faibles valeurs de  $n$  ( $0,1 < n < 0,5$ ) sont caractéristiques d'une bonne adsorption, alors que des valeurs plus élevées révèlent une adsorption modérée ( $0,5 < n < 1$ ) ou faible ( $n > 1$ ) [22].

### 3. TECHNOLOGIE DES CELLULES IMMOBILISÉES

#### 3.1 Définition

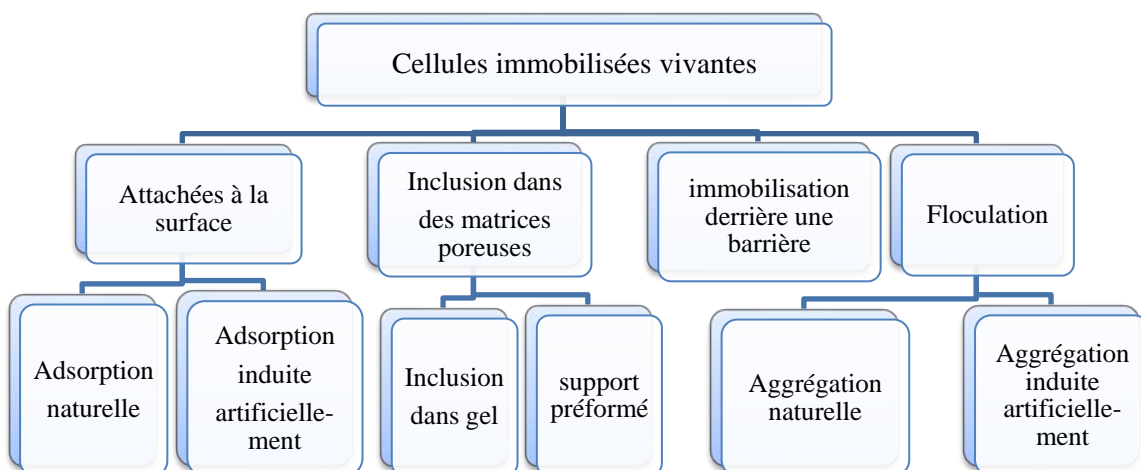
La technologie des cellules immobilisées n'est pas récente. Dès les années 1960 l'idée de fixer les « catalyseurs biologiques » c'est-à-dire les enzymes d'abord, puis les micro-organismes a assez rapidement débouché sur des applications industrielles comme les électrodes à enzymes fixées, les bactéries adsorbées en vinaigrerie, ou encore les lits bactériens en dépollution [33].

Une cellule immobilisée est définie comme une cellule vivante qui, par des moyens naturels ou artificiels, est fixée soit à des surfaces soit incluse dans une matrice empêchant ainsi son libre déplacement [34].

#### 3.2 Techniques et procédures d'immobilisation

Les cellules peuvent être immobilisées par adhésion à des surfaces, inclusion dans des matrices poreuses, rétention derrière des barrières ou par floculation [35].

La figure I.6 représente une classification des techniques d'immobilisation.



**Figure I.6: Classification des techniques d'immobilisation [35]**

Ces techniques d'immobilisation : adsorption, inclusion, encapsulation, liaison covalente, confinement, floculation peuvent être classées autrement selon le critère considéré :

- La nature physique ou chimique du procédé : l'immobilisation chimique regroupe les techniques d'inclusion, d'encapsulation de liaison (covalente, adsorption..). La floculation et le confinement sont des techniques d'immobilisation physique [36].
- Immobilisation spontanée ou induite : il est question d'immobilisation passive lorsque les microorganismes ont une tendance naturelle à s'attacher à des surfaces et proliférer (adsorption). L'immobilisation active quant à elle fait intervenir des agents de floculation des matériaux d'enrobement et des agents de liaisons chimiques [37].

### *3.2.1 Immobilisation par inclusion*

Cette méthode est la plus utilisée actuellement. Le principe de l'inclusion est de retenir le microorganisme prisonnier dans la matrice d'un polymère ou dans une microcapsule [38]. Les polymères utilisés peuvent être naturels comme l'alginate, le gel d'amidon, ou bien synthétique (acrylamide, résines photoréticulants, polyuréthanes, polyacrylamide...) [37].

### *3.2.2 Immobilisation par adsorption*

La technique d'adsorption demeure la méthode la plus simple et la plus rentable. Différents supports, tels que la silice, les billes de verre poreux, la céramique, le plastique, l'alumine, la célite et le charbon actif ont déjà été exploités pour l'immobilisation [4]. Différents types de liaisons interviennent dans les réactions d'adsorption à savoir l'échange d'ions, les interactions de Van Der Waals et la liaison hydrogène [38].

### *3.2.3 Immobilisation par liaison covalente*

L'immobilisation par liaison covalente a été développée surtout dans le souci d'obtenir des liaisons enzymes-support très solides. Pour la réalisation de la liaison covalente il faut une activation préalable du support principalement car l'activation des groupes fonctionnels de l'enzyme ou de la surface des cellules est délicate et peut conduire à la dénaturation de l'enzyme ou de la cellule [38]. En général, les groupements fonctionnels du support sont les groupes amino, carboxyles, hydroxyles et phénols de protéines [32, 38].

### *3.2.4 Immobilisation par encapsulation*

La technique d'encapsulation inclut les cellules dans une membrane mince semi-perméable. À l'intérieur de la capsule, les cellules sont libres de se déplacer dans le cœur liquide, mais limitées dans l'espace par la membrane extérieure. Les grandes protéines et les cellules ne peuvent pas passer à travers la membrane, mais les substances nutritives et les molécules passent facilement. L'absence d'un gel à l'intérieur de la capsule associée à la faible épaisseur de la membrane favorise le transfert de matière. De plus, des concentrations élevées en cellules peuvent être obtenues à l'intérieur des capsules [39].

### *3.2.5 Immobilisation par confinement*

Le confinement vise à retenir les micro-organismes, dont la concentration peut être très élevée, dans une partie du réacteur grâce à une barrière physique comme une membrane de microfiltration ou une fibre creuse [33].

### *3.2.6 Immobilisation par floculation*

Bien qu'il ne s'agisse pas à proprement parler d'une immobilisation, on peut rapprocher la floculation à une technique d'immobilisation. Ici les cellules microbiennes se lient entre elles par des ponts ioniques établis entre des sites des parois cellulaires et les cations présents dans le milieu. Dans certains cas, en particulier chez les levures, il peut se former de véritables ponts mycéliens entre les cellules [33].

## **3.3 Choix du support**

Les supports utilisés dans l'immobilisation des cellules peuvent être inorganiques ou organiques d'origine naturelle ou de synthèse [40]. Ils doivent présenter des propriétés physiques et chimiques favorisant l'immobilisation. Un support préformé est caractérisé par sa densité, sa taille et sa forme, sa résistance à la friction, sa capacité de rétention des cellules (diamètre des pores et porosité) et sa charge de surface. De plus, il doit être stérilisable. Pour l'application dans l'industrie agroalimentaire, il existe des exigences concernant la nature du support. Premièrement, il ne doit pas être toxique, ni pour l'homme ni pour les bactéries, et son utilisation dans le domaine alimentaire doit être autorisée [35].

Le tableau I.2 donne des exemples de supports de différentes natures

**Tableau I.2 Quelques exemples de supports utilisés dans l'immobilisation [41].**

Inorganique	Organique de synthèse	biologique
Aluminium	Oxyde de Polyéthylène	Cellulose
Oxyde de Nickel	Polystyrène	Agarose
Verre poreux	Polyacrylate	Alginate
Charbon actif	Nylon	Chitine
Oxyde de fer	Polyacrylamide	Chitosane
Oxyde de Titane	Polyméthacrylate	Gel de collagène
Oxyde de Zirconium	Polyaniline	Liposome
Oxyde de Vanadium	Polyester	
	Polyvinyle alcool	

### 3.4 Avantages et inconvénients

L'immobilisation permet de retenir les cellules microbiennes dans un système de fermentation et d'obtenir des hautes densités de biomasse. Cette technique comporte de nombreux avantages, mais aussi des inconvénients, comparée à des procédés utilisant des cellules libres. La haute densité cellulaire et un micro-environnement différent des conditions dans le milieu de culture résultent souvent en un changement morphologique et physiologique de la culture. Ceci peut représenter un avantage, par exemple en augmentant la tolérance de la souche envers des substances inhibitrices ou en découplant la croissance bactérienne de la production de métabolites, ou un désavantage car le métabolisme pourrait être modifié de façon non voulue[35].

Le tableau I.3 représente les principaux avantages et inconvénients de l'immobilisation des microorganismes.

**Tableau I.3 : Principaux avantages et inconvénients de l'immobilisation [4, 35, 42]**

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Productivité augmentée à cause d'une densité de biomasse plus élevée</li> <li>• Lavage de la biomasse du réacteur empêché pendant la fermentation continue, même avec un taux de dilution élevé</li> <li>• Stabilité biologique et physique des cellules plus élevée en raison de la protection par le support</li> <li>• Découplage de la croissance et de la production de métabolites</li> <li>• Coût réduit pour le traitement en aval du milieu</li> <li>• Rendements plus élevés pour la production de métabolites secondaires</li> <li>• Rétention élevée des plasmides chez les cellules qui en possèdent</li> <li>• Protection contre certains effets inhibiteurs dans le milieu</li> <li>• Susceptibilité diminuée contre l'attaque des phages et des contaminants</li> <li>• Orientation possible du métabolisme</li> </ul> <p>Métabolisme</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Possibilité de détachement des cellules du support et engendrant la contamination du produit</li> <li>• Stabilité mécanique et chimique de certains supports peut être insuffisante (cisaillement, dissolution, décomposition par le produit)</li> <li>• Prolifération cellulaire peut détruire la matrice du support et les cellules se libèrent par la suite</li> <li>• Limitations de diffusion peuvent restreindre la bioconversion</li> <li>• Coût élevé pour une utilisation à grande échelle</li> <li>• Modification possible du métabolisme</li> <li>• Nécessité d'ajouter une étape de production des cultures immobilisées au procédé</li> <li>• Nécessité d'entreposer les cellules ou de prévenir leur mortalité lors de périodes d'arrêt de production</li> <li>• Complexité de l'assainissement du bioréacteur si des contaminations se produisent</li> </ul>

### 3.5 Immobilisation par inclusion des cellules dans l'alginate de calcium

L'inclusion des cellules dans une matrice demeure la technique la plus étudiée et la plus utilisée et le choix de l'alginate de sodium comme matrice d'inclusion reste le plus fréquent en raison notamment de son absence de toxicité, et de sa dispersion aisée dans l'eau en formant une solution visqueuse [38,43]. Cette méthode d'immobilisation permet de maintenir une concentration élevée en biomasse cellulaire et d'améliorer les taux de production tout en réduisant les besoins complexes en nutriments des bactéries au niveau du milieu de culture et les inhibitions rencontrées lors de la fermentation. Un autre avantage est que l'activité est conservée pendant plusieurs semaines et après plusieurs cultures répétées. Le problème



majeur retrouvé au niveau de la méthode est que l'inclusion à partir d'une matrice d'alginate est chimiquement instable en contact avec divers agents chélatants de cations tels que le phosphate, le citrate et le lactate lesquels peuvent causer une rupture ou une dissolution des billes formées[44].

### 3.5.1 Présentation de l'alginate

L'alginate est un polysaccharide abondamment produit par les algues brunes ou *Phaeophyceae*, et certaines espèces bactériennes de la famille des *Pseudomonas*[45]. L'alginate se présente sous forme d'un mélange de sel (sodium, potassium, calcium, magnésium) et d'acide alginique[38]. L'alginate est un polysaccharide constitué d'enchaînements de résidus d'acides  $\beta$ -D-mannuronique (M) et d'acides  $\alpha$ -L-gulonique (G) liés en 1-4 selon des propriétés et des arrangements variables. Des séquences homopolymériques de résidus D-mannuroniques (blocs M-M) et des séquences similaires de résidus gluroniques (blocs G-G), sont séparées par des séquences mixtes (blocs M-G) [43].

L'alginate est un polysaccharide chargé négativement, il gélifie en présence d'ions divalents tels que le  $\text{Ca}^{2+}$  et le  $\text{Ba}^{2+}$ . La gélification de l'alginate de sodium se fait en présence d'ions divalents. Généralement, le sel de cation divalent le plus souvent utilisé pour la gélification de l'alginate est le chlorure de calcium qui est très soluble dans l'eau et qui offre une bonne disponibilité des ions calcium. Il a été montré que 90 % des ions sodium contenus dans une solution d'alginate de sodium peuvent être facilement déplacés par des ions calciques. L'alginate de sodium se transforme alors en alginate de calcium [43].

### 3.5.2 Influence de différents paramètres sur la technique d'inclusion

Les propriétés des sphères d'alginate dépendent de l'alginate employé à savoir de sa composition chimique, de sa masse moléculaire et de sa concentration ; du type d'ion divalent ; du diamètre des billes réalisées ; de la biomasse immobilisée ainsi que les paramètres du milieu [43,44].

### 3.5.3 Effets physiologiques et morphologiques de l'immobilisation

L'immobilisation cellulaire résulte pour les bactéries immobilisées des conditions environnementales différentes de celles des cellules planctoniques. Une limitation du transfert de masse crée un microenvironnement autour des cellules affectant la diffusion

denutriments vers la cellule. Les propriétés du support, les conditions hydrodynamiques dans le fermenteur, mais aussi la production et l'excrétion de substances extracellulaires, en particulier des EPS, sont des facteurs qui affectent la résistance à la diffusion. L'accumulation des produits métaboliques peut diminuer le taux de croissance et changer la physiologie et la morphologie des bactéries immobilisées[35].

### 4. PLAN D'EXPERIENCES

#### 4.1 Définition

La méthode des plans d'expériences est un modèle statistique permettant d'organiser au mieux les essais qui accompagnent une expérimentation et d'obtenir le maximum de renseignements avec le minimum d'expériences[47]. Ainsi, il est possible de déterminer une réponse pour un grand nombre de facteurs étudiés.

#### 4.2 Principe de la méthode et terminologie

Avant d'aborder le principe de la méthode des plans d'expériences, il convient de préciser le vocabulaire que nous allons utiliser.

##### 4.2.1 Réponses, facteurs, niveaux

Un phénomène étudié peut toujours être modélisé sous la forme mathématique :

$$Y = f(x_1, x_2, \dots, x_n).$$

$Y$  étant la grandeur ou *réponse* à laquelle l'expérimentateur s'intéresse,  $f$  la fonction mathématique exprimant le mieux les variations de la réponse selon les différentes valeurs des facteurs (ou variables appelées  $x_i$ ).

On appelle *facteur* l'une des causes pouvant influencer le résultat. Ces facteurs peuvent être des variables continues lorsqu'elles sont quantitatives et qu'elles peuvent prendre n'importe quelle valeur (éventuellement entre des limites inférieure et supérieure). Exemples : Température, pression, concentration... Ou bien des variables discrètes lorsqu'elles ne peuvent pas prendre des valeurs numériques mais d'autres valeurs bien spécifiques. Exemples : couleur, nature de solvant...

La valeur donnée à un facteur pour réaliser un essai est appelée *niveau*. Lorsqu'on étudie l'influence d'un facteur, en général, on limite ses variations entre deux bornes. La borne inférieure est le niveau bas, noté -1. La borne supérieure est le niveau haut, noté +1[47].

##### 4.2.2 Coordonnées centrées réduites

L'utilisation des variables centrées réduites présente l'intérêt de pouvoir généraliser la théorie des plans d'expériences quels que soient les facteurs ou les domaines d'études retenus. Remplacer les variables naturelles par les variables codées va permettre d'avoir pour chaque facteur le même domaine de variation (entre -1 et +1) et de pouvoir ainsi comparer entre eux l'effet des facteurs [48].

Les formules qui permettent le passage des variables courantes aux variables centrées réduites sont les suivantes :

$$X = \left( \frac{x - x_0}{\Delta x} \right) \quad (\text{I-4})$$

$$x_0 = \left( \frac{x_{+1} + x_{-1}}{2} \right) \quad (\text{I-5})$$

$$\Delta x = \left( \frac{x_{+1} - x_{-1}}{2} \right) \quad (\text{I-6})$$

$x_0$  : valeur centrale en unités courantes,

$\Delta x$  : le pas,

$x_{+1}$  et  $x_{-1}$  : les variables réelles aux niveaux haut et bas respectivement.

#### 4.2.3 *Domaine expérimental et domaine d'étude*

Un facteur peut être représenté par un axe gradué et orienté. Lorsqu'on étudie l'influence d'un facteur, en général, on limite ses variations entre deux bornes : le niveau bas et le niveau haut.

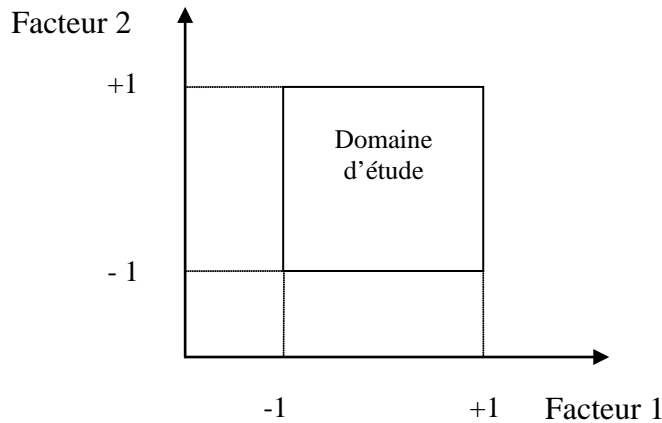
L'ensemble de toutes les valeurs que peut prendre le facteur entre le niveau bas et le niveau haut, s'appelle le domaine de variation du facteur ou plus simplement le domaine du facteur.

S'il y a un second facteur, il est représenté, lui aussi, par un axe gradué et orienté. Ce second axe est disposé orthogonalement au premier. On obtient ainsi un repère cartésien qui définit un espace euclidien à deux dimensions. Cet espace est appelé l'espace expérimental ou le *domaine expérimental* [47].

S'il y a un troisième facteur, son axe est disposé orthogonalement aux deux premiers.

Au-delà de trois facteurs, la représentation graphique n'est plus possible et on a recourt dans ce cas aux tableaux [47].

Le regroupement des domaines des facteurs définit le *domaine d'étude*. Ce domaine d'étude est la zone de l'espace expérimental choisie par l'expérimentateur pour faire ses essais [47]. La figure I.10 représente le domaine d'étude.



**Figure I.7 : Représentation du domaine d'étude**

Le principe de la méthode des plans d'expérience consiste en une variation raisonnée des niveaux de tous les facteurs en même temps pour chaque essai. Les plans d'expérience vont ainsi permettre d'étudier l'influence simultanée d'un grand nombre de facteurs, de leurs interactions, pour conduire à une optimisation[44].

#### 4.3 Plan factoriel complet à deux niveaux $2^k$

Les plans factoriels à deux niveaux sont les plus simples. Le nombre de niveaux pour chaque facteur est limité à deux. Toutes les combinaisons de niveaux sont effectuées au cours de l'expérimentation. Ces plans peuvent être utilisés indistinctement pour les variables continues et pour les variables discrètes[47,48].

La notation  $2^k$  a la signification suivante :

Le  $k$  en exposant indique le nombre de facteurs ; Le 2 indique le nombre de niveaux pris par chaque facteur.

Le nombre d'expériences à réaliser se calcule par : Nombre d'expérience =  $2^k$

Prenons pour ce qui va suivre le cas d'un Plan factoriel complet à 3 facteurs  $2^3$

4.3.1 Points expérimentaux et matrice d'expérience

Pour trois facteurs l'espace expérimental est un cube à 8 sommets et 6 faces. Les points expérimentaux aux sommets du cube (figure I.11) et la matrice d'expérience sera un tableau traduisant l'emplacement de ces points en indiquant les trois coordonnées en variables centrées réduites (tableau I.4)[49].

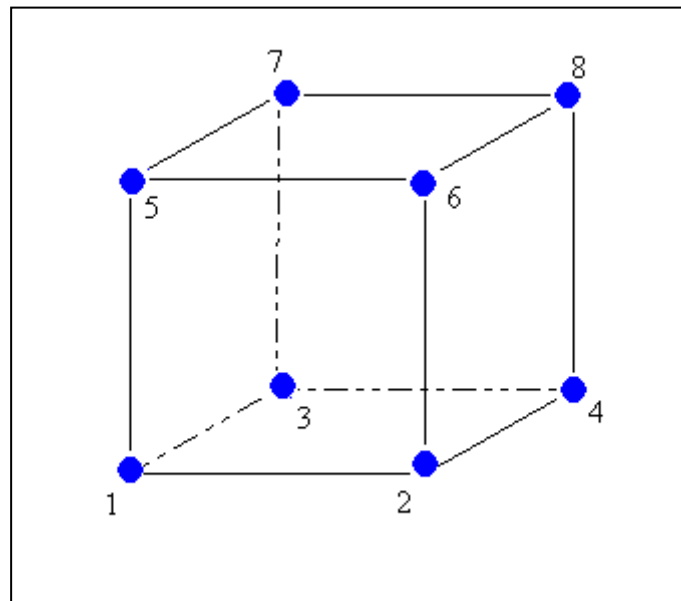


Figure I.8 : Disposition des points expérimentaux d'un plan  $2^3$

Les points expérimentaux sont arrangés de telle manière que la matrice d'expérience se présente selon une disposition particulière appelée « disposition classique » comme c'est indiqué dans le tableau I.4[49].

Tableau I.4 : Matrice d'expérience d'un plan  $2^3$

N° de l'essai	Facteur 1	Facteur 2	Facteur 3
1	-	-	-
2	+	-	-
3	-	+	-
4	+	+	-
5	-	-	+
6	+	-	+
7	-	+	+
8	+	+	+

#### 4.3.2 Modèle mathématique

Le modèle mathématique associé aux plans factoriels complet est un polynôme du premier degré par rapport à chaque variable. Il est supposé que les effets des facteurs sont additifs et qu'il y a possibilité d'interactions entre les facteurs [49].

Pour un plan à trois facteurs, le modèle est le suivant :

$$y = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 + a_{12}x_1x_2 + a_{13}x_1x_3 + a_{23}x_2x_3 + a_{123}x_1x_2x_3 \quad (\text{I-7})$$

Où:

$a_0$  : Le coefficient constant du modèle. C'est la valeur de la réponse au point central du domaine expérimental ;

$a_i$  : L'effet du facteur i ;

$a_{ij}$  : L'interaction entre les facteurs i et j ;

$a_{ijm}$  : L'interaction entre les facteurs i, j et m ;

$X_i$  : niveau du facteur i.

$$a_0 = \frac{1}{8} \sum_{i=1}^8 y_i \quad (\text{I-8})$$

$$a_i = \frac{1}{8} \sum_{i=1}^8 X_i y_i \quad (\text{I-9})$$

$$a_{ij} = \frac{1}{8} \sum_{i=1}^8 \sum_{j=1}^m X_i X_j y_i \quad (\text{I-10})$$

#### 4.3.3 Effet d'un facteur

On appelle effet d'un facteur le résultat qui est produit isolément par chaque facteur. Il est calculé par rapport à la moyenne générale qui correspond au centre du domaine d'étude [48].

#### 4.3.4 Interaction entre facteurs

C'est l'action combinée de deux ou plusieurs variables qui s'additionne à l'effet principal. Il s'agit de l'effet produit par la variation simultanée de deux ou plusieurs facteurs [48].

## Chapitre 2 : MATERIEL ET METHODES

### 1. MATERIEL

#### 1.1 Matériel biologique

La souche bactérienne utilisée afin de dégrader le phénol est *Pseudomonas aeruginosa*, fournie par l'Institut Pasteur d'Alger et conservée dans des tubes de gélose inclinée à une température de 4°C.

#### 1.2 Produits et réactifs

*1.2.1 Milieux de culture* : les différents milieux utilisés sont les suivants :

- Milieu minéral : c'est le milieu réactionnel, il contient le phénol comme seule source de carbone.
- Milieu de pré-culture : c'est le milieu de revivification des bactéries. Il permet de récupérer, après 24h d'incubation, une population considérable de bactéries.
- Gélose nutritive : elle est coulée dans les boîtes de Pétri ou bien dans des tubes de conservation. Elle est utilisée pour la conservation et l'observation des colonies bactériennes.

*1.2.2 Dosage du phénol*

Les réactifs utilisés pour le dosage du phénol sont une solution de 4 amino-antipyrine, une solution de ferricyanure de potassium et une solution tampon à pH basique.

*1.2.3 Fabrication des billes combinées*

Pour la fabrication des billes d'alginate, il faut préparer les solutions suivantes :

- Une solution d'alginate de sodium [44,50];
- Une solution de chlorure de calcium  $\text{CaCl}_2$

#### 1.3 Appareils

Les différents appareils et le matériel utilisés sont résumés en annexe 1.

#### 1.4 Dispositif expérimental

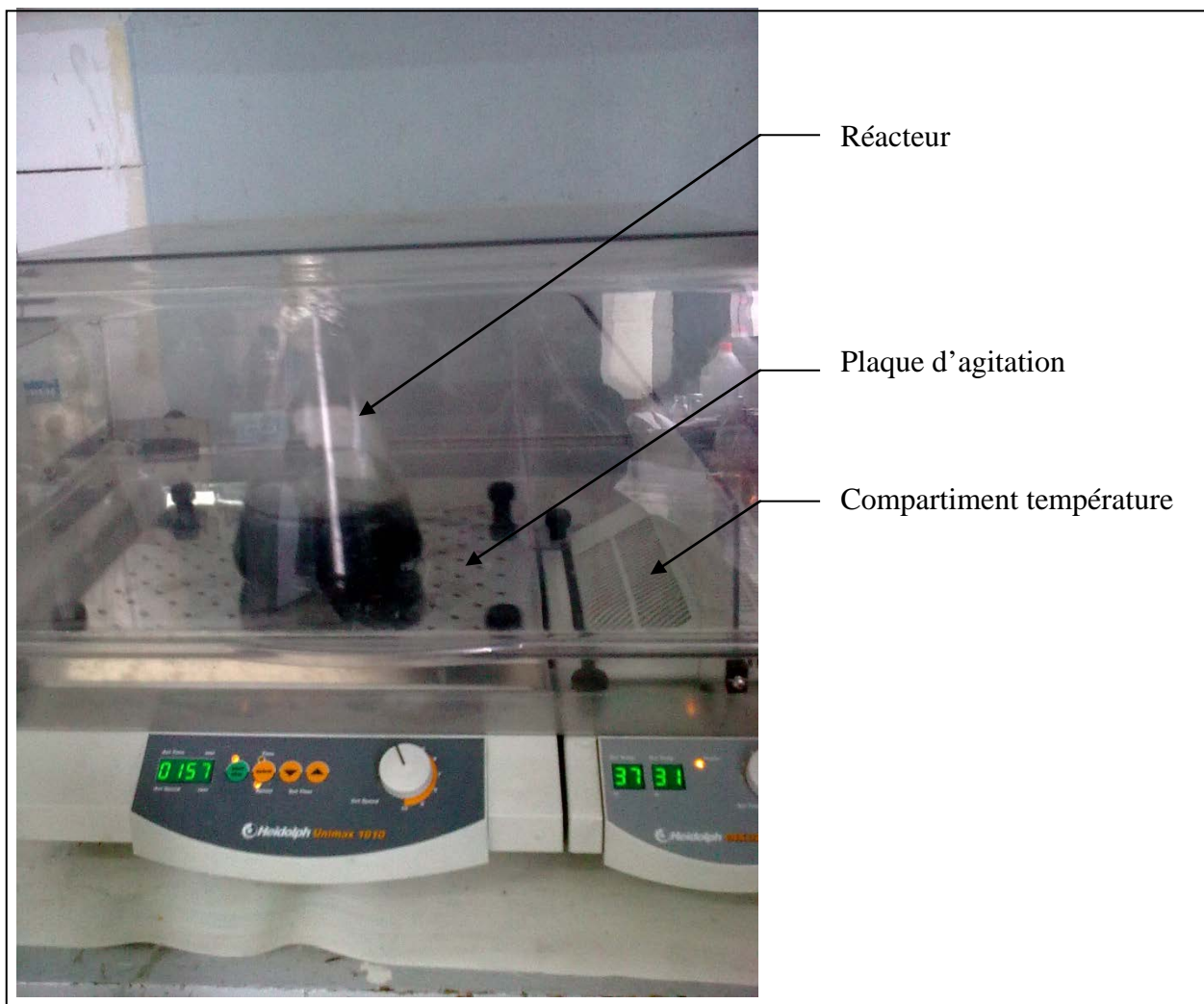
Dans notre étude, il a été question d'étudier l'adsorption du phénol par les billes ACCA. Puis l'adsorption et la biodégradation du phénol par les billes ACCA-bactéries. Pour cela, le réacteur utilisé est un erlenmeyer de 1L muni d'une sortie de prélèvement. Le volume

réactionnel est de 500 mL. Le réacteur est mis dans un incubateur qui permet un réglage précis de la température et de l'agitation.

Concernant l'étude de l'adsorption du phénol par les billes ACCA, les conditions opératoires sont les suivantes :

- Température ambiante ;
- Une agitation de 660 tr/mn qui permet aux billes de rester en suspension ;
- pH neutre.

La figure II.1 montre le dispositif expérimental utilisé



**Figure II.1: Dispositif expérimental**



## **2. Méthodes**

Une quantité déterminée de charbon actif est ajoutée à la solution d'alginate. Le mélange doit être bien homogénéisé. Cette suspension est ensuite introduite dans une burette et un goutte à goutte est effectué dans une solution de chlorure de calcium maintenue sous agitation à température ambiante. Les billes ACCA-bactéries sont préparées de la même manière.

### **2.1 Préparation de l'inoculum**

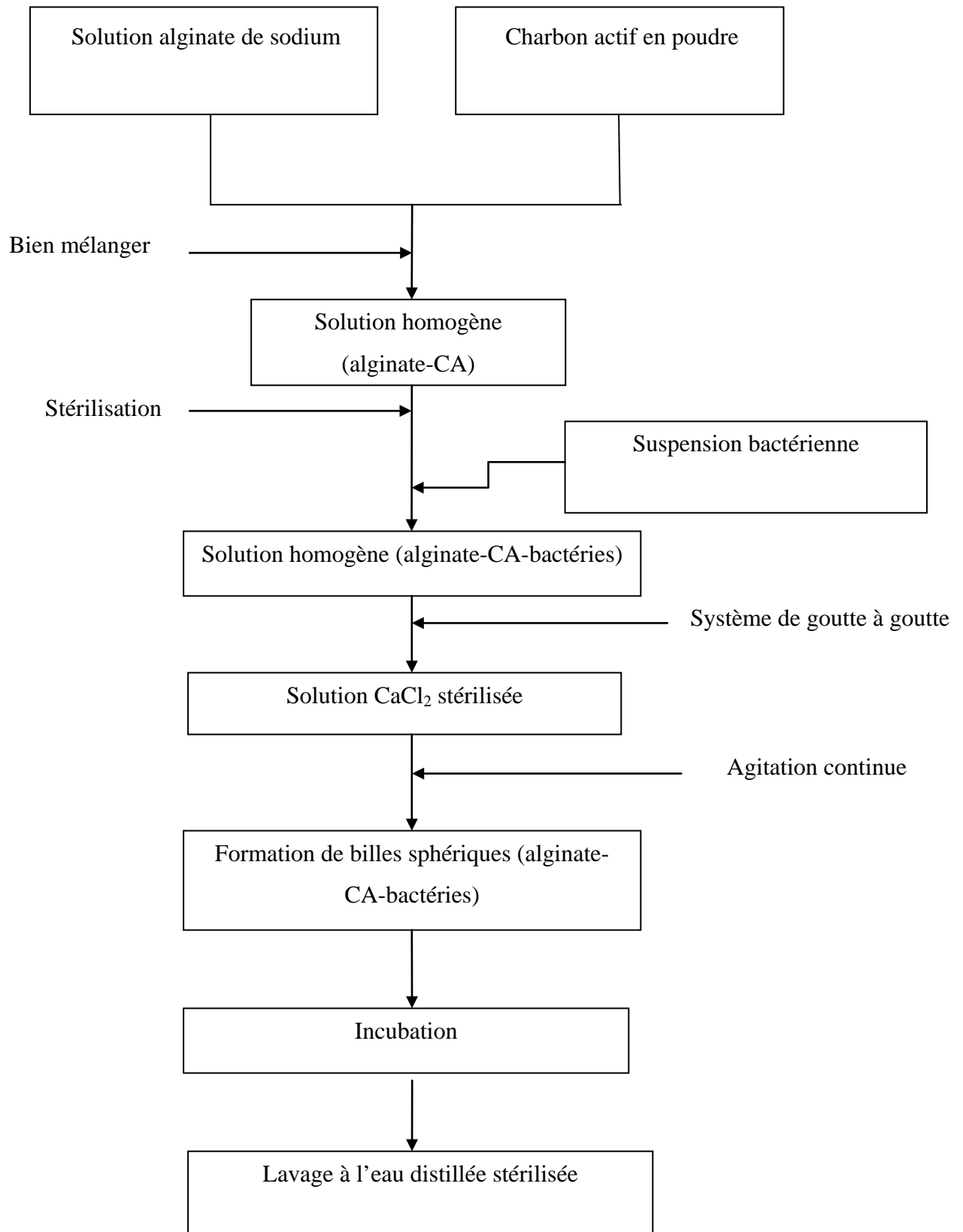
L'inoculum que nous ajoutons à la suspension stérile alg-CA est obtenu comme suit :

Des colonies de *Pseudomonas aeruginosa* sont prélevées d'un tube de conservation à l'aide d'une pipette Pasteur stérile etensemencées dans un flacon qui contient le milieu de préculture. Après incubation, un trouble témoigne de la bonne croissance bactérienne.

Les bactéries sont récupérées après centrifugation. Le surnageant est supprimé et le culot est mis en suspension dans l'eau physiologique stérile.

C'est cette suspension bactérienne qui est ajoutée au mélange alg-CA préalablement stérilisé avant de procéder à la fabrication des billes.

Les étapes de réalisation de la technique d'immobilisation par extrusion sont résumées par le schéma synoptique de la figure II.2.



**Figure II.2 : Schéma synoptique résumant les étapes de fabrication des billes ACCA-bactéries parla méthode d'extrusion**

Les billes ACCA-bactéries ont été réalisées dans un périmètre stérilisé afin d'éviter tout risque de contamination.

### 2.2 Méthodes d'analyse

#### 2.2.1 Dosage du phénol

Le phénol a été mesuré par méthode colorimétrique après réaction avec la 4-amino antipyrine. Il s'agit de la condensation en milieu basique de l'ion phérate sur la 4-amino antipyrine en présence d'un oxydant, l'hexacyanoferrate(III) de potassium (ferricyanure de potassium).

Le complexe ainsi formé est de couleur rouge dont l'intensité dépend de la concentration en phénol. Cette méthode a une limite de détection de  $5 \text{ mg.L}^{-1}$  d'où la nécessité de faire des dilutions lorsqu'on travaille à des concentrations élevées [20].

La concentration en phénol résiduel est déterminée par le biais d'une courbe d'étalonnage présentée en annexe 2. La DO à 510 nm est mesurée au spectrophotomètre UV/visible et la concentration en phénol est calculée à partir de l'équation suivante :

$$[\text{phénol}] (\text{mg.L}^{-1}) = 0.115^{-1} \cdot \text{DO} (\text{à } 510 \text{ nm}) \quad (\text{II.1})$$

#### 2.2.2 Analyse statistique

Le logiciel JMP<sup>®</sup> a été utilisé pour réaliser l'analyse statistique des résultats expérimentaux obtenus.

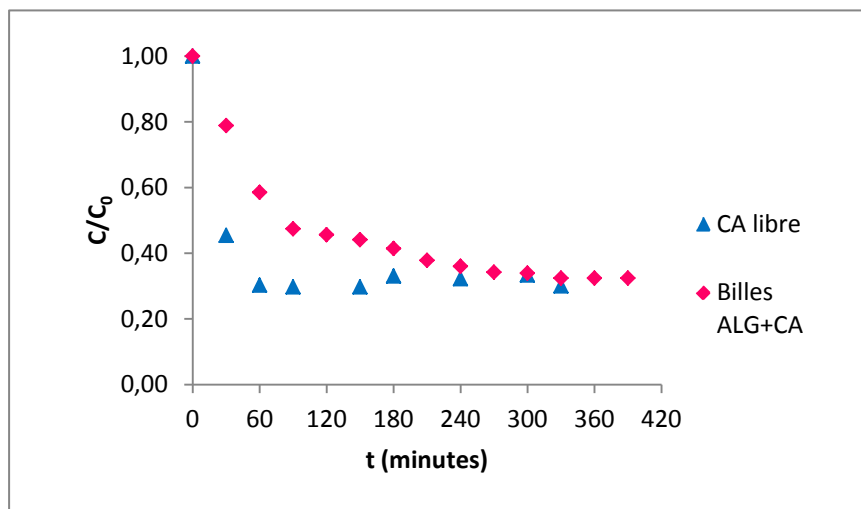
JMP est un logiciel d'analyse statistique doté de puissantes fonctions graphiques permettant d'explorer et d'interpréter les données en toute simplicité. JMP offre des fonctionnalités de pointe pour la création de plans d'expériences optimaux. Il inclut en outre des fonctions d'analyse faciles à utiliser, ainsi que de nombreuses méthodes de modélisation[51].

### Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Dans le présent travail, il a été question d'associer l'adsorption et la biodégradation en réalisant des billes combinées (alginate-charbon actif- bactéries) et donc nous avons estimé qu'il était judicieux d'étudier d'abord le système (alginate-charbon actif : ACCA) en étudiant l'influence de quelques paramètres sur l'adsorption tels que la concentration initiale en phénol, la quantité de charbon actif et le diamètre des billes, ceci par la méthode intuitive puis par la méthode des plans d'expériences. Et par la suite, étudier le système (alginate-charbon actif- bactéries) par la méthode des plans d'expériences.

#### 1. Etude comparative de l'adsorption du phénol par le charbon libre, les billes AC vierges et les billes ACCA

Les cinétiques d'adsorption du phénol sur trois supports différents : CA libre, billes ACCA et les billes AC vierges, dans les mêmes conditions opératoires ( $C_0=100\text{mg.L}^{-1}$ ,  $m_{ca}= 1 \text{ g}$ ,  $d=3\text{mm}$ , Agitation=  $660 \text{ tr.min}^{-1}$ , température ambiante) sont représentées sur les figures III.1 et III.2

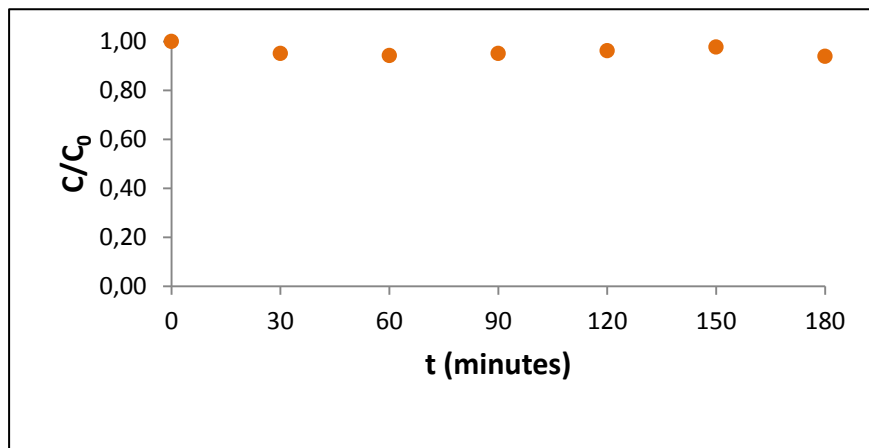


**Figure III.1: Cinétiques d'adsorption du phénol par les billes ACCA et par le CA libre**

Pour les deux charbons actifs, La concentration en phénol  $C$  décroît au cours du temps jusqu'à atteindre une valeur constante, caractéristique de l'équilibre entre le charbon actif et le phénol présent dans la solution aqueuse. La comparaison montre que la vitesse d'adsorption est nettement plus rapide pour le charbon actif libre. En effet, pour ce dernier, l'équilibre est atteint au bout de 60 min tandis que pour le CA immobilisé le palier n'est

obtenu qu'après 300 min de cinétique. Par contre, la concentration à l'équilibre est identique pour les deux charbons actifs : libre et immobilisé. Ceci suggère que l'alginate ne produit pas d'obstruction de pores significativement mais ralentit les phénomènes de transfert mis en jeu au cours de l'adsorption.

La figure III.2 représente la cinétique d'adsorption du phénol par les billes d'alginate vierges, la concentration en phénol n'évolue pas au cours du temps ce qui nous permet de conclure que les billes d'alginate vierges n'adsorbent pas le phénol.



**Figure III.2: Cinétique d'adsorption du phénol par les billes AC vierges**

Les travaux de Kim et al.,(2008) [52], effectués sur l'adsorption du phénol et de l'ion Cu<sup>2+</sup> sur les trois adsorbants : CA libre, billes ACCA et les billes AC vierges ont conclu que l'adsorption du phénol sur CA libre et sur les billes ACCA est similaire, tandis que l'adsorption sur les billes AC vierges, est quasi nulle.

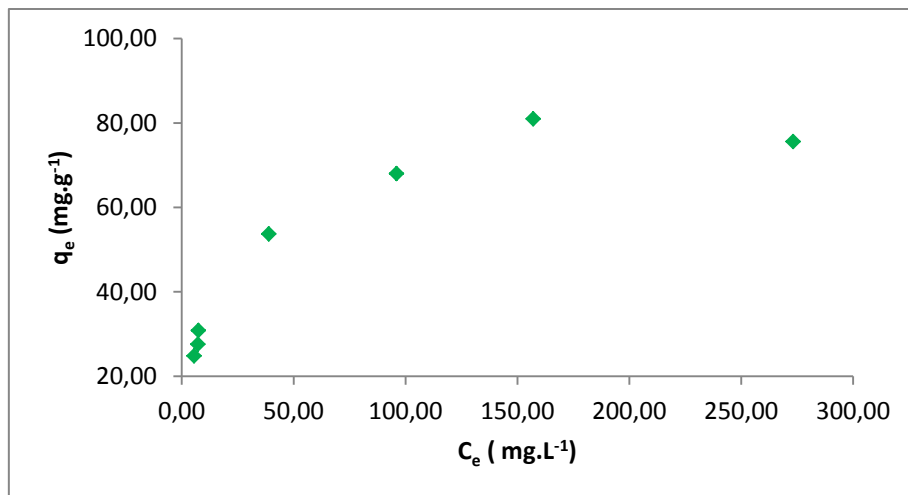
## 2. Isotherme d'adsorption du phénol par les billes ACCA

Elle exprime la quantité de phénol adsorbée par unité de masse du charbon actif ( $q_e$ ) en fonction de la concentration dans la phase fluide à l'équilibre ( $C_{eq}$ ). L'isotherme est obtenue en réalisant plusieurs équilibres d'adsorption, ceci en mettant en contact prolongé (le temps d'atteindre l'équilibre), une quantité fixe bien déterminée d'adsorbant ACCA avec une solution de phénol dont la concentration varie à chaque essai. Une fois l'équilibre atteint, le phénol non adsorbé en solution ( $C_{eq}$ ) est analysé. Ainsi chaque point de l'isotherme est obtenu par l'équation :

$$q_{eq} = \frac{(C_0 - C_{eq}) V}{m_{CA}} \quad (III-1)$$

- La quantité de charbon actif immobilisée est de 3g ;
- Le volume de la solution  $V= 1L$ , avec un rapport volumique billes ACCA/Solution égal à 1/10 ;
- La concentration initiale en phénol varie entre 20 et 500  $mg.L^{-1}$ .

L'isotherme obtenue est représentée sur la figure III.3



**Figure III.3 : Isotherme d'adsorption du phénol par les billes ACCA**

La quantité de phénol adsorbée à l'équilibre augmente en fonction de la concentration initiale en phénol jusqu'à atteindre une valeur constante. Pour les faibles valeurs de  $C_e$ , la pente de la courbe est constant et elle va en s'atténuant jusqu'à obtention d'un palier. Il s'agit d'une isotherme de type L.

## 2.1 Modélisation de l'isotherme d'adsorption

Ce type d'isotherme est bien représenté par les modèles de Langmuir et Freundlich.

### 2.1.1 Modèle de Langmuir :

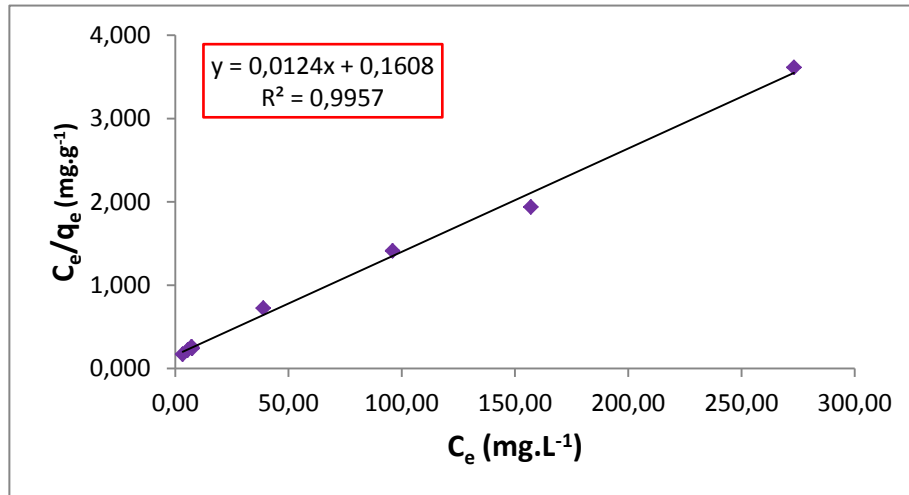
Le modèle de Langmuir est exprimé par l'équation suivante :

$$q_e = \frac{q_{\max} \cdot K_L \cdot C_e}{1 + K_L \cdot C_e} \quad (\text{III-2})$$

Les paramètres  $q_{\max}$  et  $K_L$  sont déterminés à partir de la forme linéaire de l'équation de Langmuir en traçant  $\frac{C_e}{q_e}$  en fonction de  $C_e$  (figure III.4).

La linéarisation de l'équation de Langmuir donne la formule suivante :

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{q_{max}} \cdot C_e + \frac{1}{q_{max} \cdot K_L} \quad (III-3)$$



**Figure III.4 :Forme linéarisée du modèle de Langmuir pour l'isotherme d'adsorption du phénol par les billes ACCA**

### 2.1.2 Modèle de Freundlich :

La relation qui définit le modèle de Freundlich est la suivante :

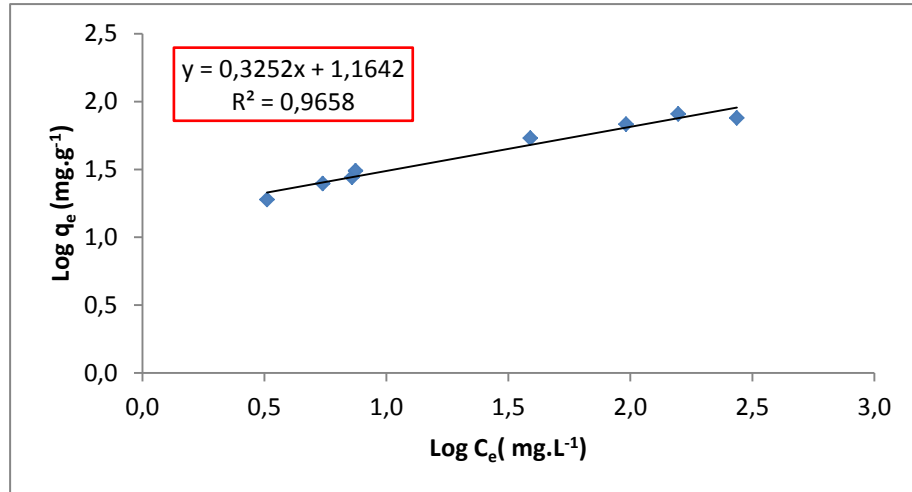
$$q_e = K_F \cdot C_e^{1/n} \quad (III-4)$$

Les paramètres  $K_F$  et  $n$  sont aussi déterminés à partir de la forme linéaire de l'équation de Freundlich en traçant  $\text{Log } q_e$  en fonction de  $\text{Log } C_e$  (figure III.5)

La linéarisation de l'équation de Freundlich donne la formule suivante :

$$\text{Log } q_e = \text{Log } K_F + 1/n \text{ Log } C_e \quad (III-$$

5)



**Figure III.5 : Forme linéarisée du modèle de Freundlich pour l'isotherme d'adsorption du phénol par les billes ACCA**

La moyenne du pourcentage d'erreur est prise pour tester et comparer les deux corrélations. La déviation moyenne, en pourcentage, entre les valeurs expérimentales et les valeurs prédites par le modèle est obtenue par l'équation (III-6)[52].

$$erreur(\%) = \frac{100}{N} \sum_{k=1}^N \left[ \left| \frac{q_{exp,k} - q_{mod,k}}{q_{exp,k}} \right| \right] \quad (III-6)$$

$q_{mod,k}$  est la valeur de  $q$  prédite par le modèle considéré, et  $q_{exp,k}$  et la valeur de  $q$  mesurée expérimentalement.

Les paramètres des modèles ainsi que l'erreur moyenne sont résumés dans le tableau III.1.

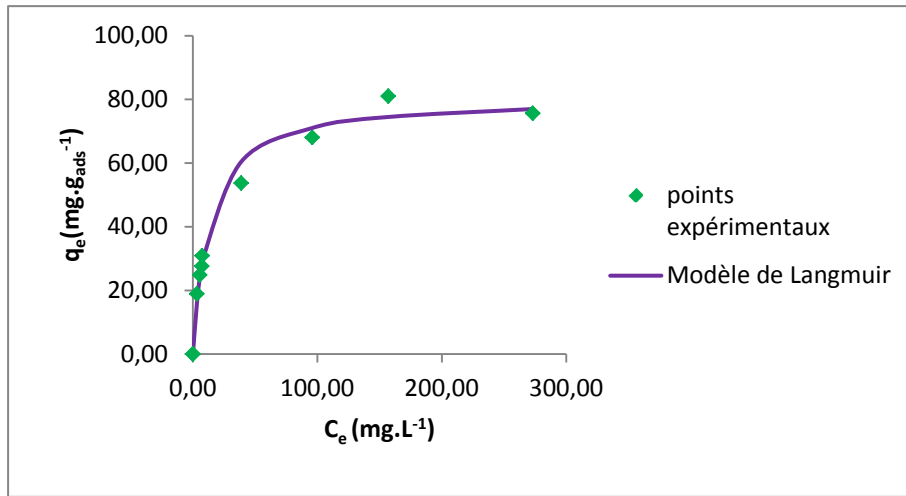
**Tableau III.1 : Paramètres des modèles de Freundlich et Langmuir**

<i>Modèle Freundlich</i>			<i>Modèle Langmuir</i>		
$K_F$ $(mg.g^{-1}) \cdot (L.mg^{-1})^{1/n}$	$1/n$	$R^2$	$q_{max}$ $(mg.g^{-1})$	$K_L$ $(L.mg^{-1})$	$R^2$
14.594	0,3252	0,9658	80,645	0,077	0,9957



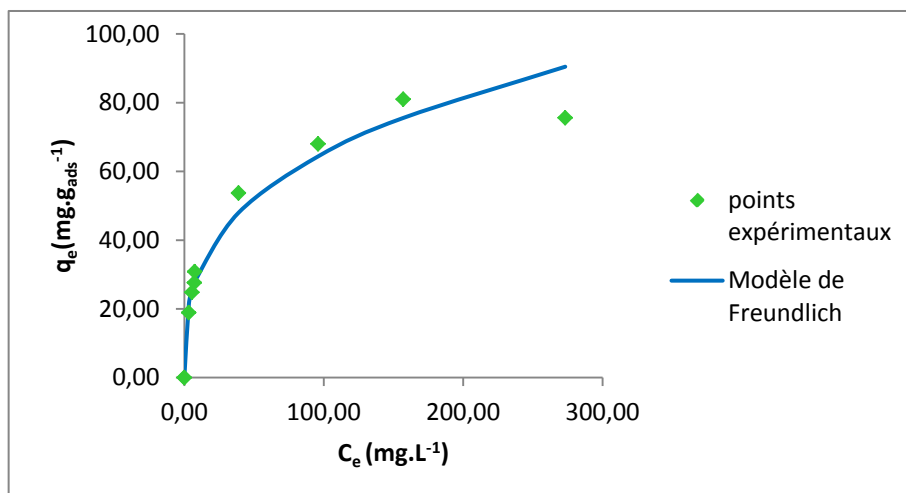
Erreur (%)	6.012	4.385
------------	-------	-------

Les figures III.6 et III.7 représentent  $q_e$  calculée par les modèles de Langmuir et



Freundlich respectivement en fonction de  $C_e$ .

**Figure III.6 : Isotherme d'adsorption du phénol par les billes ACCA(modèle de Langmuir)**



**Figure III.7 : Isotherme d'adsorption du phénol par les billes ACCA (modèle de Freundlich)**

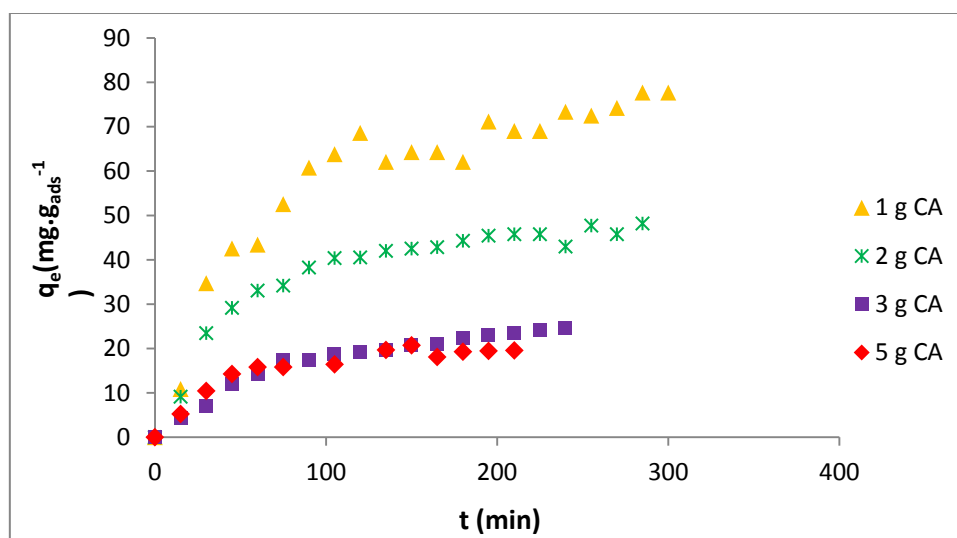
Les courbes obtenues par le modèle de Langmuir et Freundlich (figure III.6 et III.7) sont très proches de la courbe expérimentale ce qui suggère que ces deux modèles décrivent bien le phénomène d'adsorption du phénol par les billes ACCA. Ceci est confirmé par les valeurs calculées des paramètres des modèles regroupées dans le tableau III.1 qui sont :

- La valeur du paramètre de Langmuir  $q_{max}$  est proche de celle déterminée expérimentalement, et son coefficient de corrélation  $R^2 > 0,99$ .
- La valeur  $1/n$  obtenue est inférieure à 1 ( $1/n = 0.3252$ ), témoigne de la grande affinité de l'adsorbant pour le phénol.
- La déviation moyenne entre les valeurs expérimentales et les valeurs prédites par le modèle de Langmuir est inférieure à celle obtenue pour le modèle de Freundlich. Par conséquent, c'est l'isotherme de Langmuir qui décrit le mieux l'adsorption du phénol par les billes ACCA. Cette même déduction a été faite par Özkaya(2006)[53], lors de l'étude réalisée sur l'adsorption et la désorption du phénol sur charbon actif où il a classé quatre modèles d'isotherme d'adsorption du plus au moins représentatif dans l'ordre suivant : Langmuir > Toth > Redlich–Peterson > Freundlich.

### **3. Etude de l'influence de quelques paramètres sur la capacité d'adsorption des billes ACCA**

#### **3.1 Influence de la masse de CA immobilisé**

Des billes ACCA contenant des masses de CA différentes ont été réalisées Afin d'évaluer l'influence de la concentration en charbon actif sur l'adsorption du phénol dans les mêmes conditions que précédemment ( $C_0 = 100 \text{ mg.L}^{-1}$ ;  $d = 3 \text{ mm}$ ; Agitation=  $660 \text{ tr.min}^{-1}$ ), les cinétiques d'adsorption obtenues sont regroupées dans la figure III.8.



**Figure III.8 : Capacité d'adsorption en fonction de la masse de CA immobilisée dans les billes ACCA**

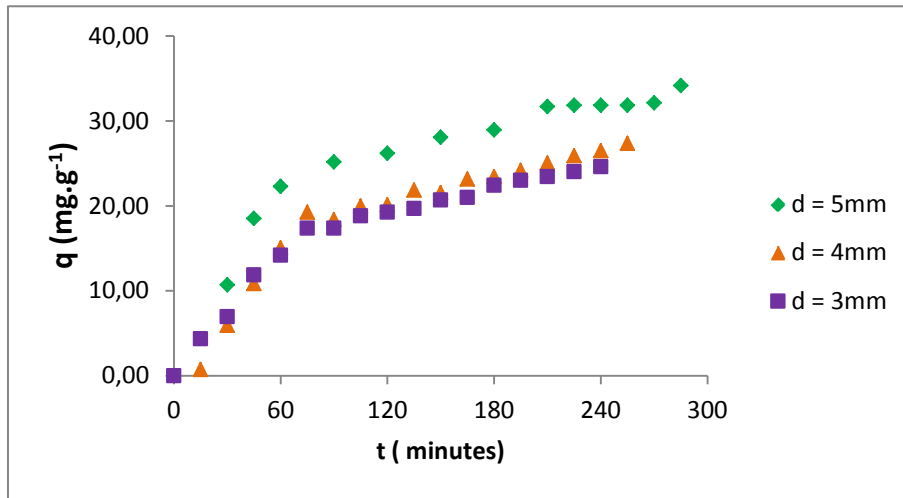
La figure III.8 montre que la capacité d'adsorption du phénol par les billes ACCA est inversement proportionnelle à la masse de charbon actif immobilisé. La capacité d'adsorption pour les billes contenant 1g de CA, est presque égale au double de celle obtenue pour les billes qui en contiennent 2g, qui est elle aussi, presque égale au double de la capacité enregistrée par 3g de CA immobilisé. Par contre, cette constatation n'est plus valable pour les billes contenant 5g de CA. En effet, nous avons obtenu presque la même valeur que pour 3g.

Cela peut être expliqué par l'agrégation des particules de CA. C'est-à-dire, pour un volume de billes donné, lorsque la quantité de CA immobilisé augmente et atteint une certaine valeur (3g dans notre cas), les particules vont s'agréger ce qui leur fait perdre une partie de leur surface spécifique et par conséquent, diminuer la quantité de phénol adsorbé.

Ainsi nous pouvons déduire que la quantité de CA immobilisé dans les billes d'alginate influe, de manière significative, sur la capacité d'adsorption du phénol et cela tant que la quantité immobilisée ne dépasse pas une certaine valeur qui entraîne l'agrégation des particules et au-delà de laquelle cette influence devient faible. Devesa-Rey et al., (2011) [54] sont arrivés à la conclusion que la concentration en charbon actif est le facteur le plus influent sur l'adsorption des composés colorés sur charbon actif et que la plus grande concentration prise dans l'intervalle considéré (0.5- 2%) permet d'avoir le meilleur taux d'élimination.

Le tableau III-2 résume les quantités adsorbées par les billes ACCA de la même taille contenant des masses de charbon actif différentes.

**Tableau III-2 :Capacité d’adsorption des différentes billes ACCAen fonctionde la quantité de charbon actif immobilisé**



### 3.2Influence de la taille des billes

Afin d’étudier l’évolution de l’adsorption du phénol en fonction du diamètre des billes, des billes de différents diamètres ont été réalisées en faisant varier le diamètre de l’orifice de la burette. Les essais sont réalisés dans les mêmes conditions opératoires :  $C_0 = 100 \text{ mg.L}^{-1}$  ;  $m_{ca} = 3 \text{ g}$  ; Agitation=  $660 \text{ tr.min}^{-1}$ . Les résultats obtenus sont représentés sur la figure III.9.

$m_{ca}(g)$	$q_e(mg.g_{ads}^{-1})$
1	77,69
2	48,51
3	24.59
5	20.66

**Figure III.9 :Capacité d’adsorption des billes ACCA de différents diamètres**

La figure III.9 montre que les capacités d’adsorption des billes de diamètre égale à 3mm et 4 mm se superposent. Les valeurs atteintes à l’équilibre sont : 24 te  $27 \text{ mg.g}^{-1}$  respectivement. Quant aux billes de 5 mm de diamètre, la courbe est légèrement au-dessus des deux autres et la capacité d’adsorption à l’équilibre est légèrement supérieure :  $34 \text{ mg.g}^{-1}$ . Donc, une

différence de seulement  $10 \text{ mg.g}^{-1}$  est notée entre la plus grande et la plus petite valeur de la capacité d'adsorption. Cette légère différence

$d \text{ (mm)}$	$q_e \text{ (mg.g}^{-1}\text{)}$
3	24,59
4	27,34
5	34,14

peut être expliquée par le fait qu'en augmentant le volume de la bille, nous augmentons le volume offert aux particules de charbon actif et nous limitons ainsi le phénomène d'agrégation qui engendre une

perte des sites d'adsorption et une diminution relative de la surface spécifique.

Apriori, pour une quantité de CA immobilisée donnée et dans l'intervalle de diamètre considéré, la taille des billes n'a pas d'influence significative sur l'adsorption du phénol par les billes ACCA.

Le tableau III-3 résume les quantités adsorbées par les billes de différents diamètres.

**Tableau III-3 : Capacité d'adsorption des billes ACCA**

#### **4. Application du plan d'expériences à l'adsorption du phénol par les billes ACCA**

Afin d'optimiser le procédé étudié et pour mieux étudier l'influence des facteurs cités et leur éventuelles interactions, nous avons eu recours à l'application d'un plan factoriel complet à deux niveaux.

Les trois facteurs de notre étude sont des facteurs quantitatifs, nous attribuons à chacun d'eux deux niveaux dont les valeurs sont citées dans le tableau III.4.

**Tableau III.4 : Facteurs et domaine d'étude**

<i>Facteurs</i>	<i>Niveau bas (-)</i>	<i>Niveau haut (+)</i>
$X_1$ : Concentration du phénol( $C_{\text{phénol}}$ ) [ $\text{mg.L}^{-1}$ ]	100	500
$X_2$ : Masse du CAP ( $m_{\text{ca}}$ ) [g]	1	5
$X_3$ : Diamètre des billes (d)[mm]	3	5

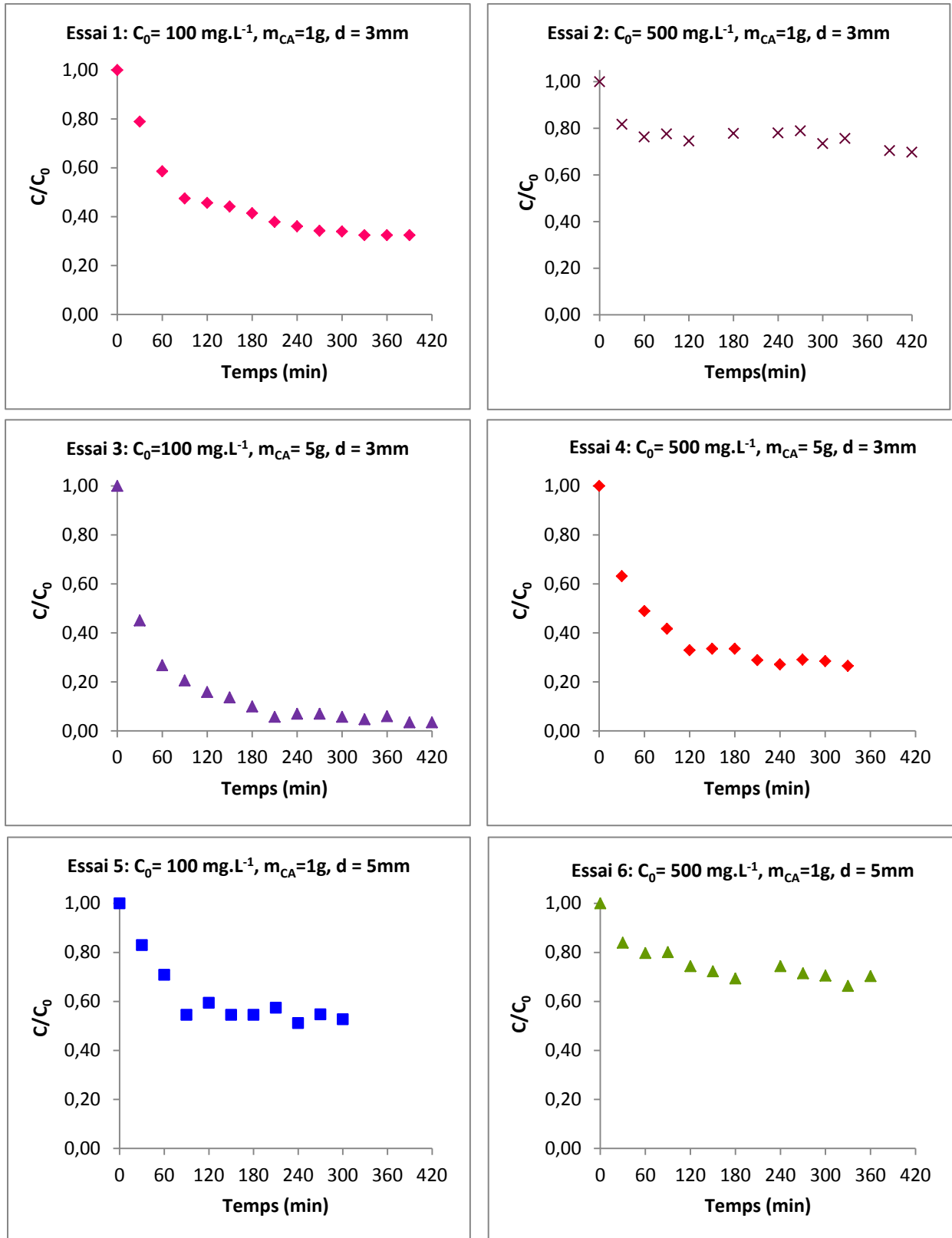
Le plan appliqué est un plan factoriel complet à deux niveaux où trois facteurs sont considérés, donc le nombre d'expériences à réaliser est égal à  $2^3$  donc huit expériences. Des essais au centre ont été réalisés pour plus de précision.

Le tableau III.5 regroupe les essais planifiés par le plan factoriel complet  $2^3$  et la valeur de la réponse  $y$  (ici  $q_e$ ) pour chaque essai.

**Tableau III.5 : la quantité adsorbée obtenue pour chaque essai du plan établi**

Essai n°	Coordonnées centrées réduites			$q$ ( $\text{mg.g}^{-1}$ )
	$X_1$	$X_2$	$X_3$	
1	-1	-1	-1	36,65
2	+1	-1	-1	69,29
3	-1	+1	-1	9,72
4	+1	+1	-1	37,98
5	-1	-1	+1	25,17
6	+1	-1	+1	77,26
7	-1	+1	+1	9,22
8	+1	+1	+1	35,09
9	0	0	0	34,89
10	0	0	0	39,38
11	0	0	0	34,89

La figure III.10 regroupe les cinétiques d'adsorption obtenue pour chaque essai du plan.



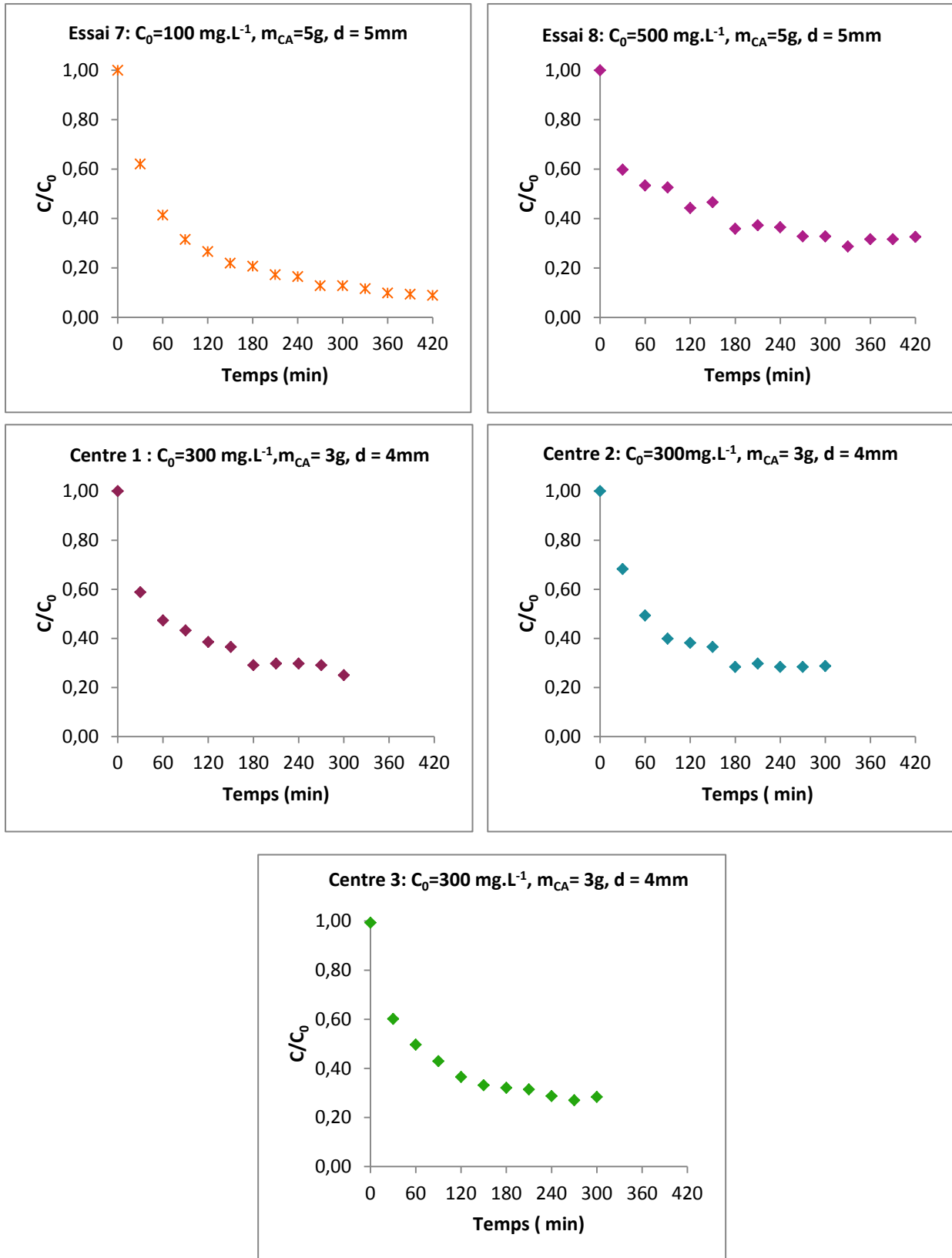


Figure III.10 : Cinétiques d'adsorption obtenue pour les essais du plan factoriel complet



#### 4.1 Analyse classique

Toutes les cinétiques obtenues présentent une diminution de la concentration en phénol jusqu'à atteindre une concentration constante caractéristique de l'équilibre d'adsorption. La saturation des sites d'adsorption explique le palier observé. La concentration à l'équilibre varie avec la variation des facteurs considérés ce qui mène à des rendements d'adsorption différents. Le rendement se calcule par la relation suivante :

$$R\% = \frac{C_0 - C}{C_0} \times 100 \quad (\text{III-7})$$

Le tableau III-6 donne le rendement d'adsorption obtenu pour chaque essai réalisé

**Tableau III-6 : Rendements d'adsorption calculés à partir des cinétiques d'adsorption**

Essai N°	Conditions ([phénol] (mg.L <sup>-1</sup> ) ; m <sub>CA</sub> (g) ; d (mm))	C / C <sub>0</sub>	R%
1	100 ; 1 ; 3	0,32	68
2	500 ; 1 ; 3	0,70	30
3	100 ; 5 ; 3	0,03	97
4	500 ; 5 ; 3	0,27	73
5	100 ; 1 ; 5	0,53	47
6	500 ; 1 ; 5	0,70	30
7	100 ; 5 ; 5	0,09	91
8	500 ; 5 ; 5	0,24	76

Les meilleurs rendements, R>70%, sont obtenus lorsque la masse de charbon actif utilisée est la plus grande (5g) ce qui est prévisible. Un rendement de 94% a été obtenu par Özkaya, (2006)[53], en employant 5g de charbonactif libre pour l'adsorption de 100 mg.L<sup>-1</sup>de phénol. Mais dans la pratique, il n'est pas intéressant de travailler avec des masses élevées de charbon actif car c'est un adsorbant onéreux, d'où l'intérêt de combiner, dans la partie suivante, l'adsorption avec la biodégradation qui a la particularité de dégrader complètement le phénol et d'arriver ainsi à un rendement d'élimination de 100%.

Pour mieux visualiser l'influence des paramètres étudiés, des histogrammes ont été réalisés en fixant un facteur et en variant les deux autres. Nous obtenons les histogrammes représentés dans les figures III.11, III.12, III.13.

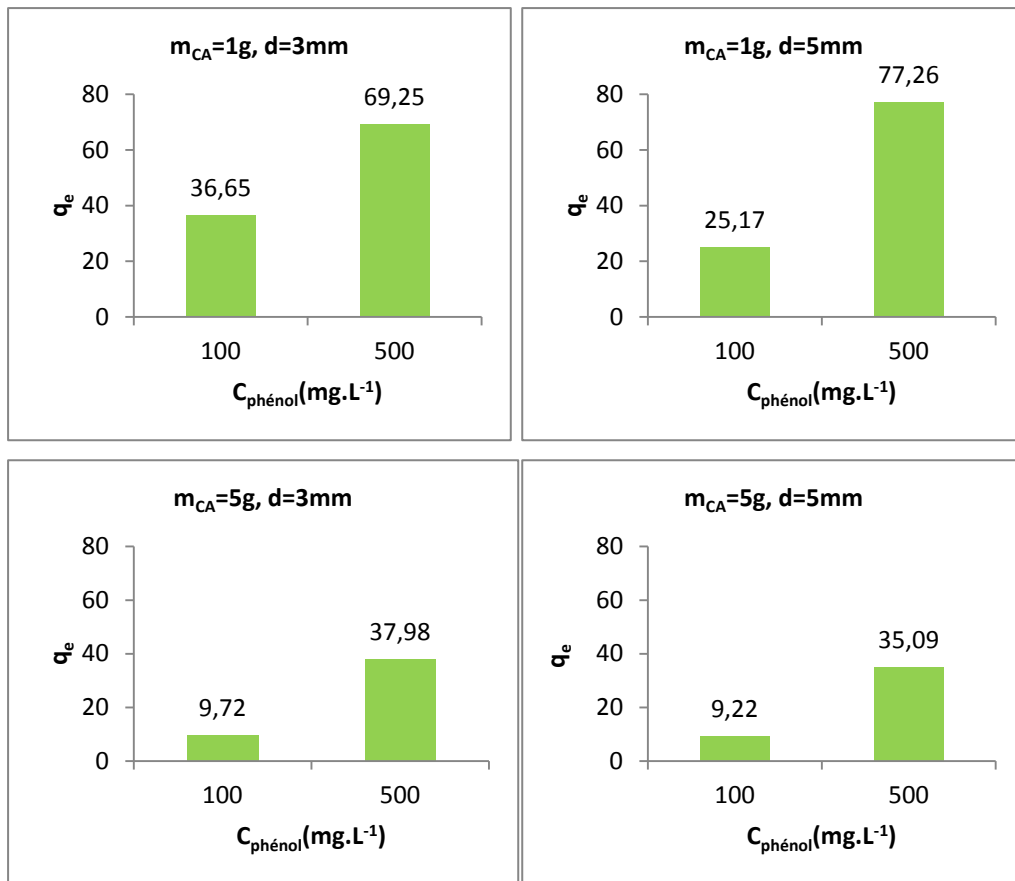


Figure III.11: Effet de la concentration en phénol sur la quantité adsorbée

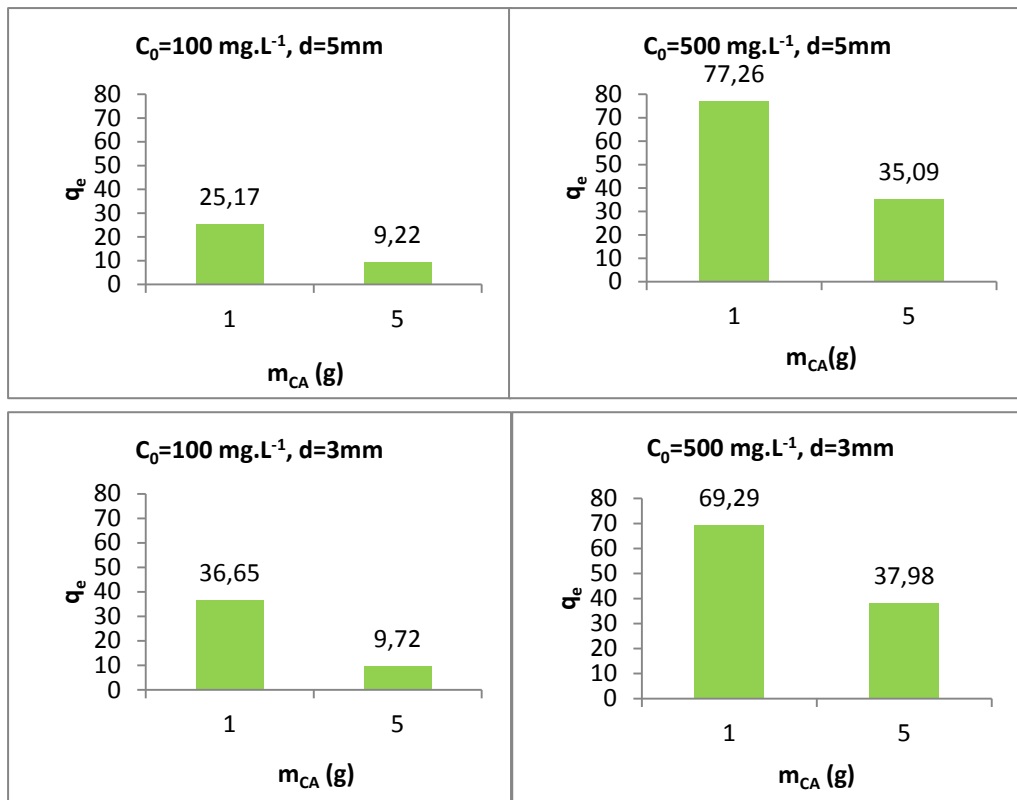


Figure III.12 : Effet de la masse du CA sur la quantité adsorbée

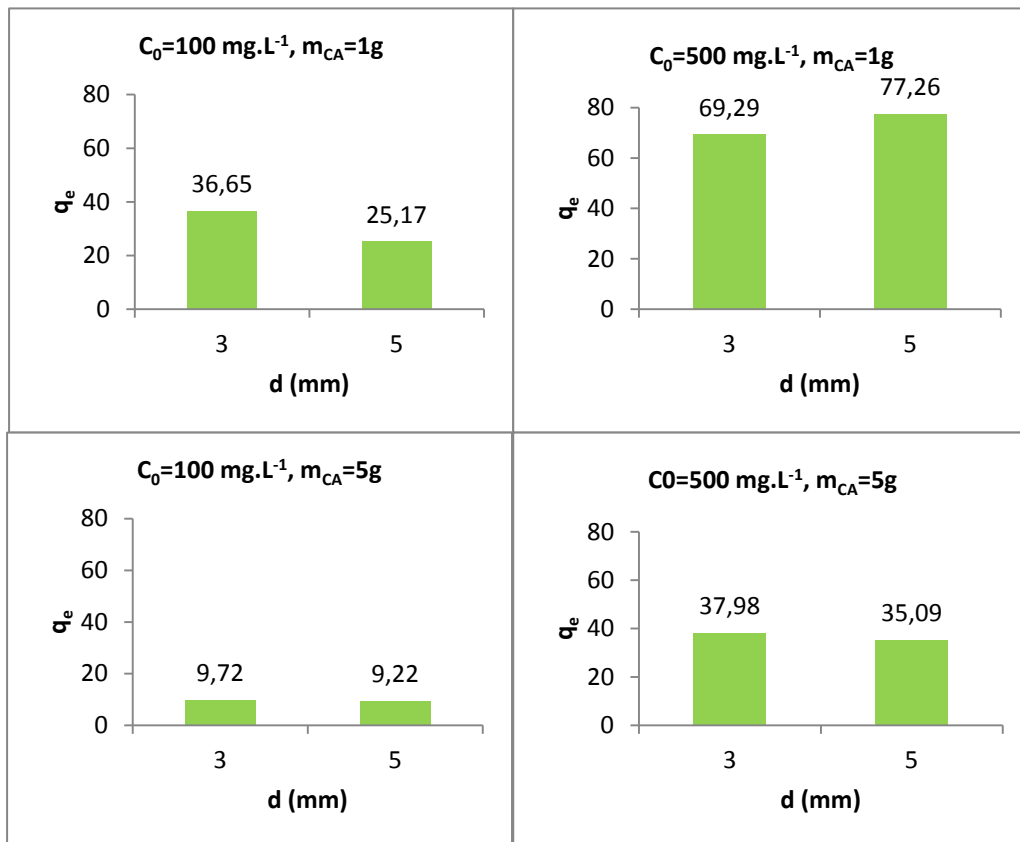


Figure III.13 : Effet de la taille des billes sur la quantité adsorbée

Nous constatons d'après les figures ci-dessus que :

- La concentration en phénol a un effet positif significatif sur l'adsorption. En effet, la capacité d'adsorption augmente considérablement lorsque la concentration en phénol passe du niveau bas au niveau haut et cela quelque soit la masse de CA et le diamètre des billes (figure III-11) ;
- La masse de charbon actif présente un effet négatif significatif. La capacité d'adsorption diminue considérablement lorsque le facteur masse de CA passe du niveau bas au niveau haut dans tous les cas de figure (figure III-12) ;
- La taille des billes n'a pas d'effet significatif sur la quantité adsorbée. La capacité d'adsorption n'évolue que faiblement lorsque le diamètre des billes passe du niveau bas au niveau haut dans tous les cas considérés (figure III-13).

Il ressort de cette première analyse des cinétiques d'adsorption obtenues pour tous les essais du plan que les facteurs concentration en phénol et masse de charbon actif, ont une influence sur la capacité d'adsorption du phénol contrairement au troisième facteur (diamètre des billes) qui n'aurait pas d'influence significative sur la capacité d'adsorption.

## 4.2 Analyse statistique

Une analyse statistique rigoureuse des résultats obtenus, par le logiciel JMP, va nous permettre de vérifier les déductions faites précédemment en ce qui concerne les effets des facteurs. De plus elle nous renseigne sur les éventuelles interactions entre les facteurs et permet aussi une modélisation et une optimisation du système étudié.

### 4.2.1 Modélisation mathématique

Les plans factoriels complets conduisent à une modélisation simple. Il s'agit d'un modèle du premier degré par rapport à chaque facteur :

$$y = a_0 + \sum_{i=1}^n a_i X_i + \sum_{i=1}^n a_{ij} X_i X_j + \sum_{i=1}^n a_{ijm} X_i X_j X_m + \dots + \sum_{i=1}^n a_{ij\dots p} X_i X_j \dots X_p \quad (\text{III-7})$$

Les coefficients  $a_i$  sont obtenus comme suit :

$$a_0 = \frac{1}{11} \sum_{i=1}^{11} y_i = 37,2309 \quad (\text{III-8})$$

$$a_1 = \frac{1}{8} \sum_{i=1}^8 X_{1i} y_i = 17,3575 \quad (\text{III-9})$$

$$a_2 = \frac{1}{8} \sum_{i=1}^8 X_{2i} Y_i = -14,545 \quad (\text{III-10})$$

$$a_3 = \frac{1}{8} \sum_{i=1}^8 X_{3i} Y_i = -0,8625 \quad (\text{III-11})$$

$$a_{12} = \frac{1}{8} \sum_{i=1}^8 X_{1i} X_{2i} Y_i = -3,825 \quad (\text{III-12})$$

$$a_{13} = \frac{1}{8} \sum_{i=1}^8 X_{1i} X_{3i} Y_i = -2,1325 \quad (\text{III-13})$$

$$a_{23} = \frac{1}{8} \sum_{i=1}^8 X_{2i} X_{3i} Y_i = 0,015 \quad (\text{III-14})$$

$$a_{123} = \frac{1}{8} \sum_{i=1}^8 X_{1i} X_{2i} X_{3i} Y_i = -2,73 \quad (\text{III-15})$$

Ces résultats nous permettent d'écrire le modèle en unités codées donnant la quantité adsorbée en fonction des niveaux des trois facteurs.

$$y \text{ (quantité adsorbée)} = 37,23 + 17,357X_1 - 14,545X_2 - 0,862X_3 - 3,825X_1X_2 + 2,132X_1X_3 + 0,015 X_2X_3 - 2,73X_1X_2X_3$$

#### 4.2.2 Analyse par le logiciel de statistique JMP

##### a) Modélisation et tests statistiques

En choisissant le plan factoriel complet et en faisant entrer toutes les données obtenues à l'issue de nos manipulations, le logiciel va calculer les différentes valeurs des coefficients et effectuer des tests statistiques qui comparent deux hypothèses  $H_0$  et  $H_1$ . A noter aussi que la limite supérieure du risque de première espèce  $\alpha$ , est prise égale à 0.05.

Les sorties du logiciel donnent un tableau qui comporte pour chaque paramètre (8 lignes) 4 colonnes. La première colonne contient les estimations des paramètres, la seconde les écarts-types estimés des paramètres. Dans la troisième colonne (t de student) figure la valeur observée de la statistique de test d'hypothèse  $H_0 : a_i = 0$  contre  $H_1 : a_i \neq 0$ . La quatrième colonne ( $\Pr(>|t|)$ ) contient la probabilité critique (ou « p-value ») qui est la probabilité, pour la statistique de test sous  $H_0$ , de dépasser la valeur estimée. Cette valeur est comparée au seuil  $\alpha$ .

La table de Student donne pour un risque  $\alpha = 5\%$  et  $n - p = 3$ ,  $t_{crit} (0.025 ; 3) = 3,182$ . Un effet sera donc significatif au risque de 5% si son  $t_i$  (en valeur absolue) est supérieur à 3,182.

Le tableau III-7 nous informe sur la signification des coefficients du modèle obtenu.

Un astérisque est placé à côté des valeurs qui répondent à des tests significatifs.

**Tableau III-7:Importance des coefficients du modèle**

Coefficient	valeur	Écart-type	t de Student	p-value
<b>a<sub>0</sub></b>	37,2309	0,704534	52,84	<,0001*
<b>a<sub>1</sub></b>	17,3575	0,826139	21,01	0,0002*
<b>a<sub>2</sub></b>	-14,545	0,826139	-17,61	0,0004*
<b>a<sub>3</sub></b>	-0,8625	0,826139	-1,04	0,3732
<b>a<sub>12</sub></b>	-3,825	0,826139	-4,63	0,0190*
<b>a<sub>13</sub></b>	2,1325	0,826139	2,58	0,0817
<b>a<sub>23</sub></b>	0,015	0,826139	0,02	0,9867
<b>a<sub>123</sub></b>	-2,73	0,826139	-3,30	0,0456*

La comparaison du  $t_i$  de chaque coefficient estimé à la valeur 3.182 ( $t_{crit}$ ). Ou bien la comparaison de p-value au seuil  $\alpha$ , permet d'éliminer trois coefficients non-significatifs:  $a_3$ ,  $a_{13}$  et  $a_{23}$ .

Le nouveau modèle est :

$$y \text{ (quantité adsorbée)} = 37,23 + 17,357X_1 + 14,545X_2 - 3,825X_1X_2 - 2,73X_1X_2X_3$$

Effectuons une nouvelle analyse avec un modèle linéaire ne contenant que les coefficients significatifs (tableau III-8)

**Tableau III-8:Importance des coefficients du modèle après ajustement**

Coefficient	valeur	Écart-type	t de Student	p-value
<b>a<sub>0</sub></b>	37,2309	0,943186	39,47	<,0001*
<b>a<sub>1</sub></b>	17,3575	1,105984	15,69	<,0001*
<b>a<sub>2</sub></b>	-14,545	1,105984	-13,15	<,0001*
<b>a<sub>12</sub></b>	-3,825	1,105984	-3,46	0,0135*

<b>a<sub>123</sub></b>	-2,73	1,105984	-2,47	0,0486*
------------------------	-------	----------	-------	---------

Les valeurs  $t_i$  ainsi que les valeurs de p-value répondent toutes à des tests significatifs. Donc tous les coefficients :  $a_0, a_1, a_2, a_{12}, a_{123}$ , sont significatifs.

Le Test de Fisher, qui consiste en l'analyse de la variance, permet lui aussi d'évaluer l'importance d'un coefficient, si ce dernier est significatif ou non.

Les résultats de l'analyse de la variance obtenus par le logiciel sont regroupés dans le tableau III-9.

**Tableau III-9:Analyse de la variance par JMP**

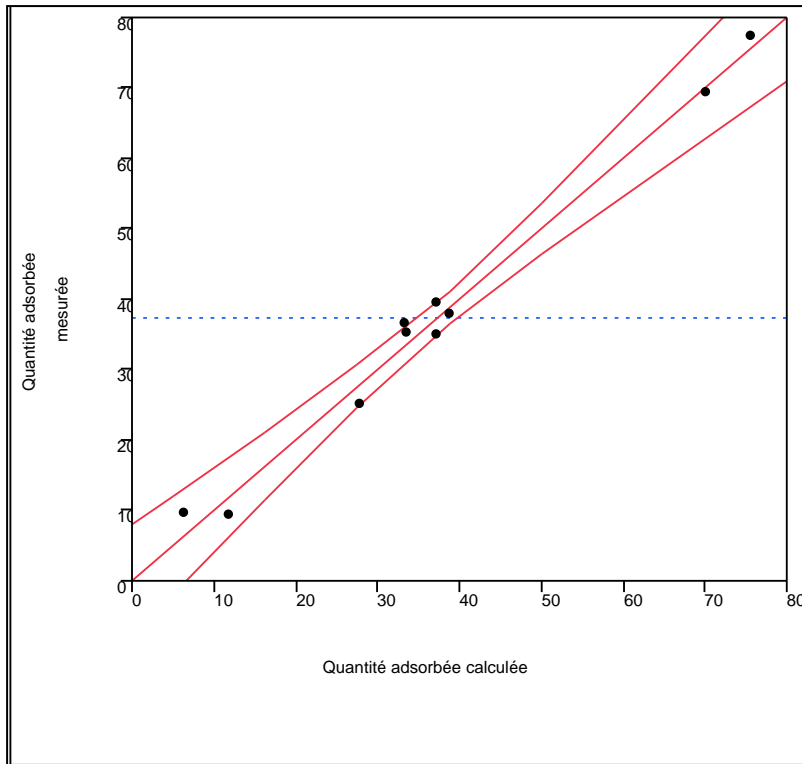
Source de variations	Degré de liberté	Somme des carrés (variation)	Carré moyen	Fisher
Modèle corrigé de la moyenne	4	4321,7204	1069,85	109,3286
Résidus	6	58,7136	9,79	<b>Prob F=&lt;,0001*</b>
Total	10	4338,1005		

Lors de ce test, l'hypothèse  $H_0$  est rejetée lorsque la valeur de F obtenue ( $F=109.3286$ ) est supérieure à celle déduite de la table de Fisher-Snedecor qui donne  $F(6,4) = 4,53$ .

effectivement  $F > F_\alpha$ , et  $\text{prob } F < 0,05$ , l'hypothèse  $H_0$  est donc rejetée. Cela signifie que les variations des réponses mesurées sont dues aux variations des facteurs ; ce qui permet de valider le modèle.

En ce qui concerne la qualité de l'ajustement des estimations de l'équation de régression, elle est faite par le biais du coefficient de détermination  $R^2$  et du coefficient de détermination ajusté  $R_a^2$ . Ces deux paramètres étant égaux à 0,986 et 0,977, respectivement, qui sont des valeurs très proches de 1, nous pouvons déduire que le modèle mathématique est satisfaisant.

Afin  
qualité du  
mesurés),  
de tracer les  
mesurées  
valeurs  
Comme il  
incertitude  
un  
confiance  
tracé (à  
III-14)



d'examiner la  
modèle et des  
observations (y  
il est évident  
valeurs  
en fonction des  
calculées.  
existe une  
dans  
les estimations,  
intervalle de  
de la droite est  
95%).(figure



**Figure III.14:Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues**

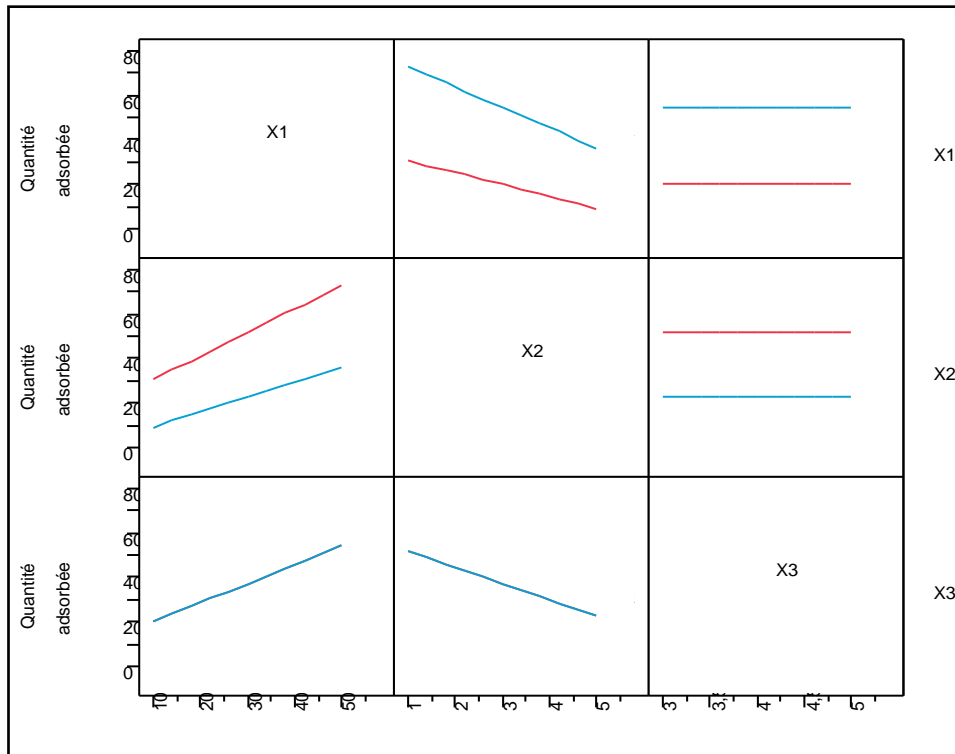
La figure ci-dessus montre que tous les points sont situés à l'intérieur de l'intervalle de confiance et se placent presque sur la première bissectrice. Ce qui implique que le modèle mathématique considéré est satisfaisant.

$$y \text{ (quantité adsorbée)} = 37,23 + 17,357X_1 + 14,545X_2 - 3,825X_1X_2 - 2,73X_1X_2X_3$$

En observant les coefficients du modèle, nous pouvons constater que

- Le facteur 1, concentration en phénol, influe sur la quantité de phénol adsorbée, et son effet est positif car la quantité adsorbée augmente lorsque le facteur 1 passe de son niveau bas à son niveau haut. Ceci est dû à l'effet de solvant ; l'eau est aussi adsorbée, ce qui génère une compétition entre les molécules d'eau et celles du phénol. En augmentant la concentration en phénol, cette compétition est réduite et par conséquent la quantité de phénol adsorbé est plus importante.
- Le facteur 2, masse de charbon actif, influe sur la quantité de phénol adsorbée et possède un effet négatif. En effet, la quantité adsorbée diminue lorsque le facteur 2 passe de son niveau bas à son niveau haut. Ceci est dû à la perte d'une partie des sites d'adsorption (surface spécifique) à cause du phénomène d'agrégation des particules, observé lorsque la quantité de CA dans la bille augmente.
- Le facteur 3, taille des billes, n'a pas d'influence significative, mais combiné avec les autres facteurs, il le devient, par l'intermédiaire de ces interactions.

Le profil des interactions représenté dans la figure III-15 illustre l'effet de chaque facteur pour le niveau haut et bas d'un autre facteur. Si les droites des effets ne sont pas parallèles, il y a une interaction significative. L'interaction est d'autant plus forte que les pentes des droites sont différentes.



**Figure III.15:Profil d'interaction**

Les niveaux haut et bas des facteurs sont représentés par les droites bleue et rouge respectivement.

En ce qui concerne l'interaction entre la concentration en phénol et la masse de CA, le diagramme montre que les deux droites présentent deux pentes différentes importantes, donc l'interaction est significative.

Pour la taille des billes, leur interaction avec la masse de CA ainsi qu'avec la concentration en phénol est inexistante vue que les deux droites des effets dans les deux cas sont parallèles comme le montre le diagramme ci-dessus.

Le diagramme permet aussi de visualiser l'effet de chaque facteur sur la quantité adsorbée (y) au niveau bas et au niveau haut des autres facteurs. Ainsi :

- L'effet de la concentration en phénol est positif et il est plus élevé lorsque la masse de CA diminue (la pente de la droite rouge est plus accentuée que celle de la droite bleue)
- L'effet de la masse de CA est négatif et il est plus élevé lorsque la concentration en phénol augmente (la pente de la droite bleue est plus accentuée que celle de la droite rouge).

b) Optimisation et fonction désirabilité

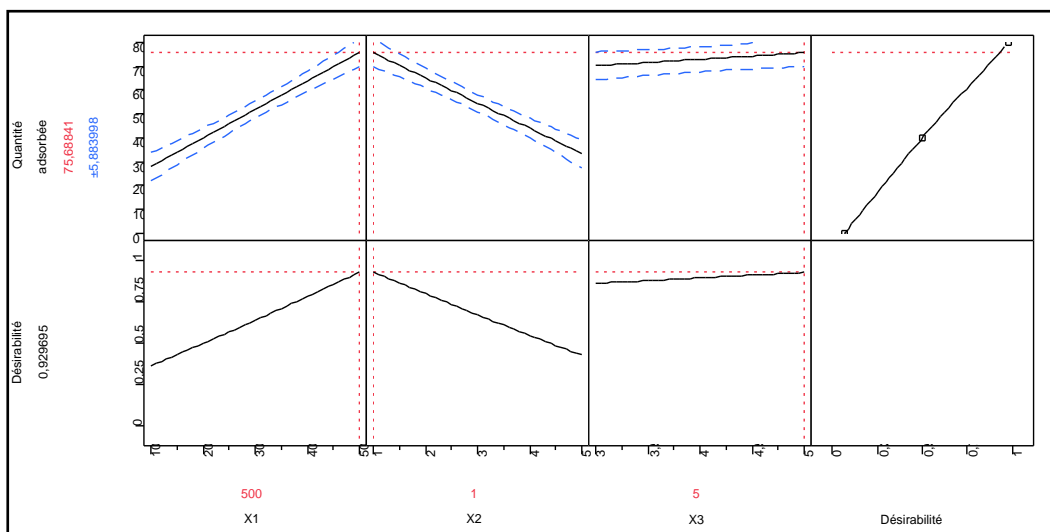
La fonction désirabilité (D) permet d'optimiser la réponse elle est définie par :

$$D = \begin{cases} 0, & y_i \leq y_{i \min} \\ \left| \frac{y_i - y_{i \min}}{y_{i \max} - y_{i \min}} \right|, & y_{i \min} < y_i < y_{i \max} \\ 1, & y_i \geq y_{i \max} \end{cases} \quad (\text{III-16})$$

Les valeurs de cette fonction sont comprises entre 0 et 1. La valeur de 0 est attribuée lorsque les facteurs conduisent à une réponse inacceptable et celle de 1 lorsque la réponse représente la performance maximale désirée pour les facteurs considérés.

Elle permet de trouver les conditions opératoires optimales (figure III-16).

**Figure III.1**  
**6: Profil de prévision**



D'après le profil de prévision établi par le logiciel, la quantité adsorbée maximale est égale à  $75,68 \pm 5,88 \text{ mg.g}^{-1}$  avec une désirabilité correspondante  $D = 0,92$ .

Ce maximum est obtenu pour les valeurs suivantes :

- Une concentration en phénol de 500 mg.L<sup>-1</sup>. Car en augmentant la concentration en phénol, la compétition eau-phénol diminue et par conséquent, la quantité adsorbée augmente aussi ;
- Une masse de charbon actif de 1g. Le fait d'élever la masse de CA au sein de la bille, il y a agrégation des particules et donc perte en surface spécifique ;
- Un diamètre des billes de 5mm. Quoiqu'il en soit la variation de la quantité adsorbée en fonction du diamètre des billes est très faible.

Les valeurs de la quantité adsorbée calculée aux sommets du domaine d'étude, sont représentées sur la figure III-17.

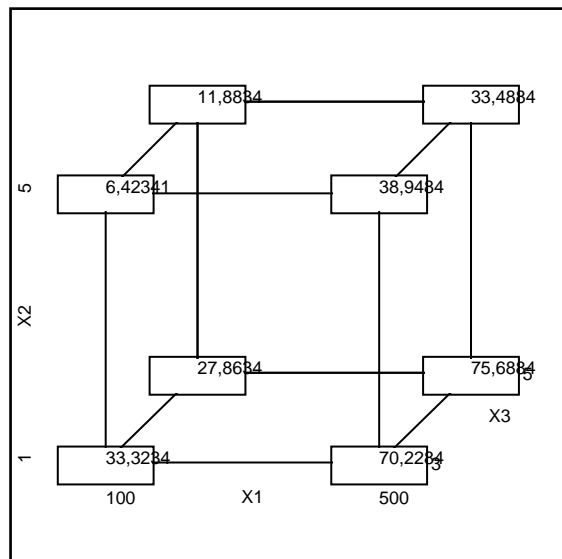


Figure III.17: Valeurs de la quantité adsorbée aux sommets du domaine d'étude

c) Expression du modèle en unités réelles

L'expression du modèle mathématique après ajustement et en unités réelles devient :

$$y = 37,230 + 17,3575 \left( \frac{X_1 - 300}{200} \right) - 14,545 \left( \frac{X_2 - 3}{2} \right) - 3,825 \left( \frac{X_1 - 300}{200} \right) \left( \frac{X_2 - 3}{2} \right) - 2,73 \left( \frac{X_1 - 300}{200} \right) \left( \frac{X_2 - 3}{2} \right) (X_3 - 4)$$

### 5. Application du plan d'expériences à l'élimination (adsorption+biodégradation) du phénol par les billes ACCA-bactéries

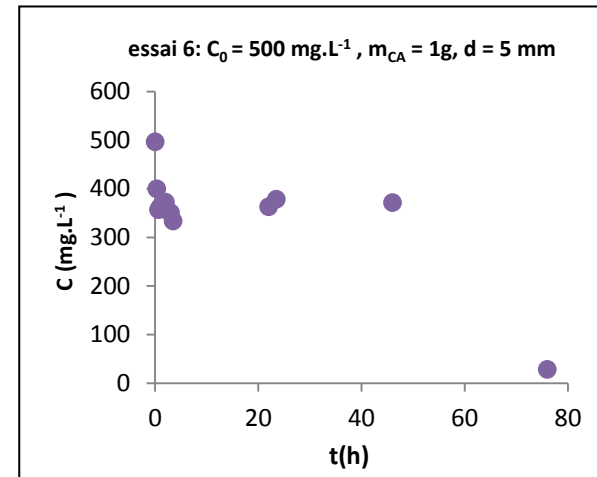
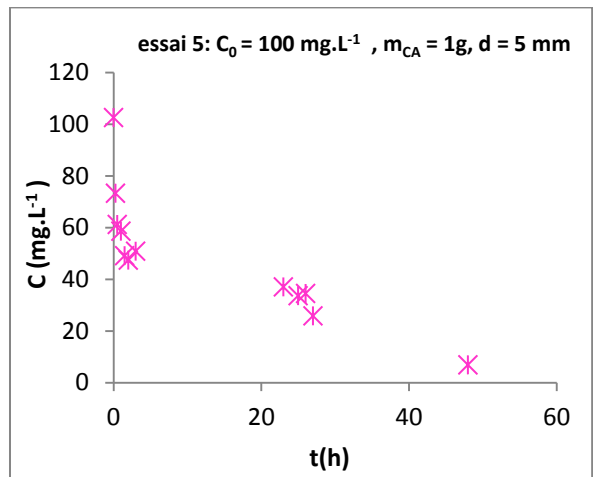
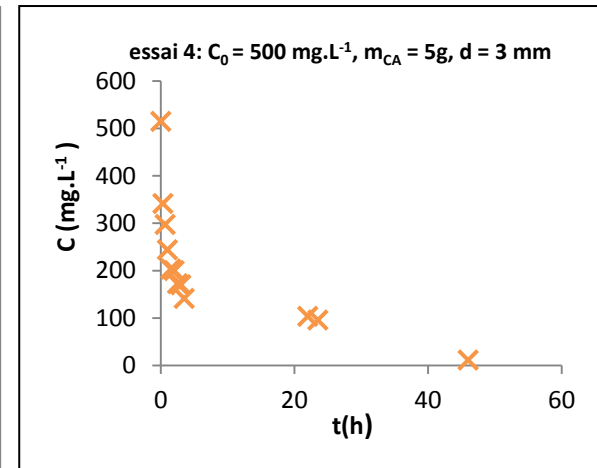
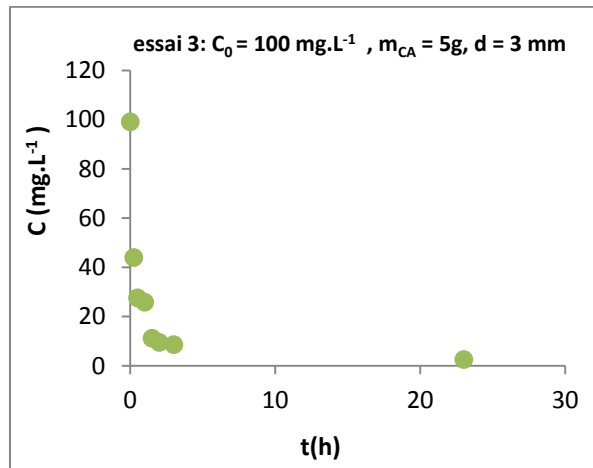
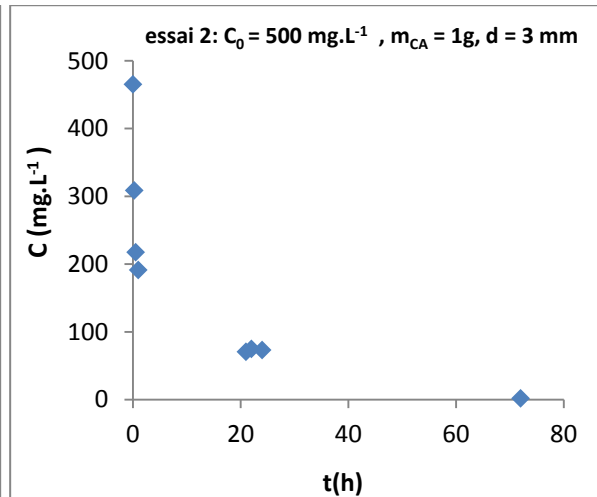
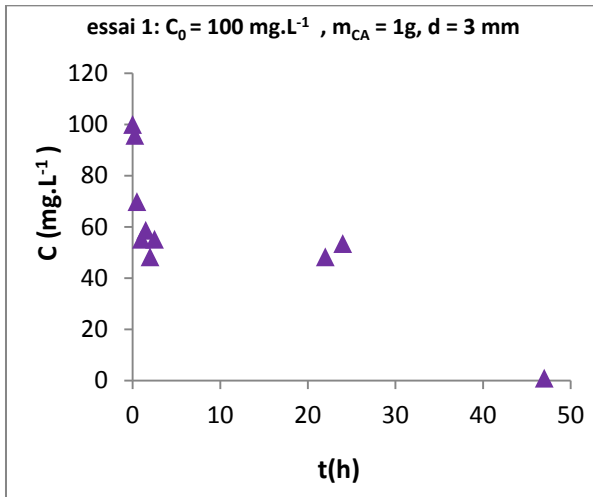
Le plan choisi est encore une fois, un plan factoriel complet à deux niveaux  $2^3$ . Donc huit expériences à réaliser plus deux essais au centre. Il s'agit toujours des mêmes facteurs : concentration en phénol, masse de CA et diamètre des billes. Mais puisqu'il s'agit de l'adsorption et de la biodégradation du phénol, la réponse n'est autre que le temps d'élimination complète du phénol de la solution  $t_f$ .

Le tableau III.10 regroupe les essais planifiés par le plan factoriel complet  $2^3$  et la valeur de la réponse  $y$  (ici  $t_f$ ) pour chaque essai.

**Tableau III.10 : Temps final de l'élimination du phénol obtenue pour chaque essai du plan établi**

Essai n°	Coordonnées centrées réduites			$t_f$ (h)
	$X_1$	$X_2$	$X_3$	
1	-1	-1	-1	47
2	+1	-1	-1	72
3	-1	+1	-1	23
4	+1	+1	-1	46
5	-1	-1	+1	48
6	+1	-1	+1	76
7	-1	+1	+1	22
8	+1	+1	+1	46
9	0	0	0	51
10	0	0	0	50

La figure III.18 regroupe les cinétiques d'élimination du phénol par les billes ACCA-bactéries



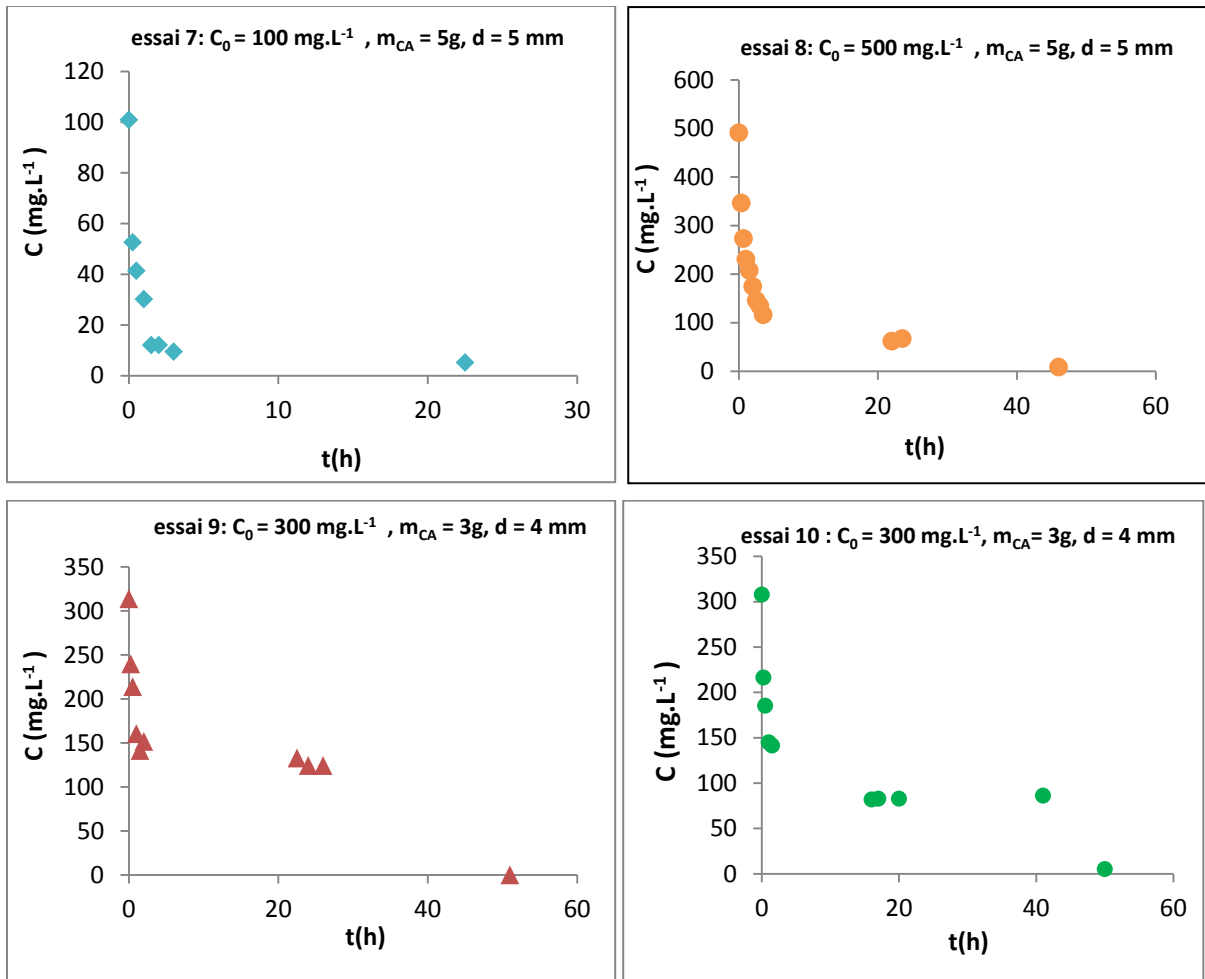


Figure III.18 : Cinétiques d'élimination du phénol par les billes ACCA-bactéries

### 5.1 Analyse classique

Toutes les cinétiques obtenues présentent une diminution rapide de la concentration résiduelle en phénol jusqu'à atteindre une concentration constante où un palier est obtenu après plus ou moins deux heures de cinétique. Ce palier est observé durant un temps prolongé (quelques dizaines d'heures) qui varie d'un essai à l'autre. Puis, à nouveau, une diminution de la concentration en phénol est constatée jusqu'à son élimination de la solution.

Ainsi, toutes les cinétiques présentent trois zones distinctes :

- Une diminution rapide de la concentration en phénol ;
- Un palier prolongé où la concentration reste constante ;
- Une chute de la concentration jusqu'à la valeur zéro.

La première diminution, qui est très rapide, ne peut être due qu'au phénomène d'adsorption sur le charbon actif présent dans les billes puisqu'il a été prouvé que l'alginate n'adsorbe pas le phénol.

Le palier observé résulte de la saturation des sites d'adsorption et correspond en même temps à la phase d'adaptation des bactéries au phénol et dont la durée est proportionnelle à sa concentration.Álvaro et al., (2000)[36] ont prouvé lors de l'étude de la biodégradation du phénol par *Pseudomonas putida*, que la durée de la phase d'adaptation varie linéairement en fonction de la concentration initiale en phénol quand celle-ci varie entre 5 et 100 mg.L<sup>-1</sup>. Dapaals et al., (1992)[55],ont trouvé que la phase d'adaptation varie exponentiellement avec la concentration initiale en phénol lorsque celle-ci est comprise entre 60 et 600 mg.L<sup>-1</sup>.

La biodégradation entre en jeu tardivement mais la chute de la concentration en phénol jusqu'à son élimination totale de la solution est très rapide.

Une comparaison entre les billes ACCA et les billes ACCA-bactéries montre que la part du phénol adsorbée est semblable et cela pour les neuf essais réalisés.

Le tableau III.11 comporte la concentration résiduelle en phénol à l'équilibre suite à l'adsorption sur le charbon actif présent dans les billes ACCA et les billes ACCA-bactéries.

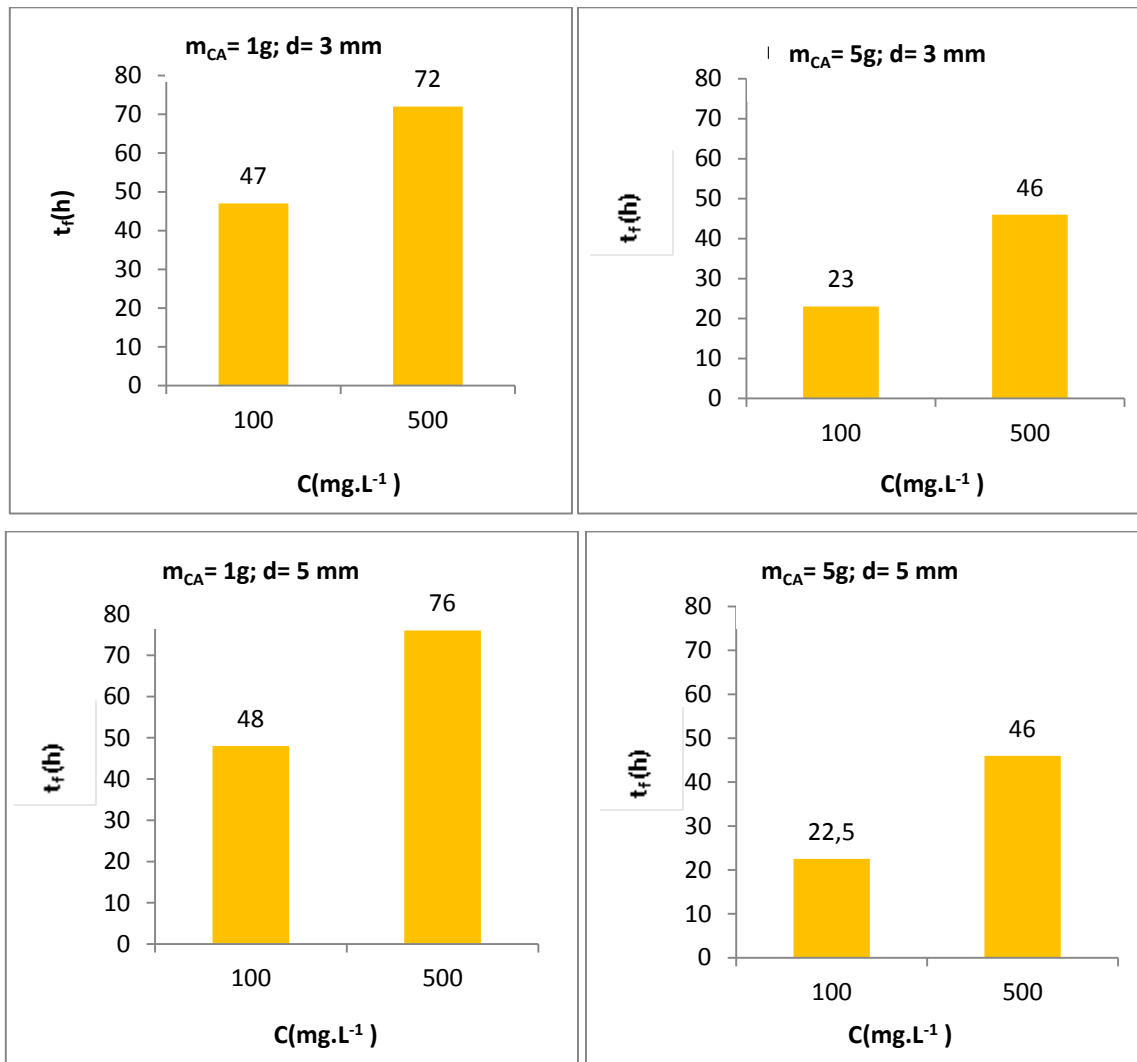
**Tableau III.11 : Comparaison entre la quantité de phénol adsorbée par les billes ACCA et les billes ACCA-bactéries**

Essai N°	Conditions ([phénol] (mg.L <sup>-1</sup> ) ; m <sub>CA</sub> (g) ; d (mm))	C <sub>e</sub> /C <sub>0</sub>	
		Billes ACCA	Billes ACCA-bactéries
1	100 ; 1 ; 3	0.44	0.48
2	500 ; 1 ; 3	0.70	0.68
3	100 ; 5 ; 3	0.10	0.11
4	500 ; 5 ; 3	0.27	0.27
5	100 ; 1 ; 5	0.51	0.50
6	500 ; 1 ; 5	0.70	0.67
7	100 ; 5 ; 5	0.13	0.12
8	500 ; 5 ; 5	0.29	0.27
9	300 ; 3 ; 4	0.30	0.40



Les résultats du tableau III.11 permettent de dire que la surface des sites d'adsorption est quasiment la même pour les deux types de billes.

Quant aux facteurs concentration en phénol, masse de charbon actif et taille des billes, les histogrammes des figures III.19, III.20, III.21 vont permettre de mettre en avant leur influence sur le temps final d'élimination du phénol de la solution.



**Figure III.19 : Effet de la concentration initiale en phénol sur le temps de son élimination par les billes ACCA-bactéries**

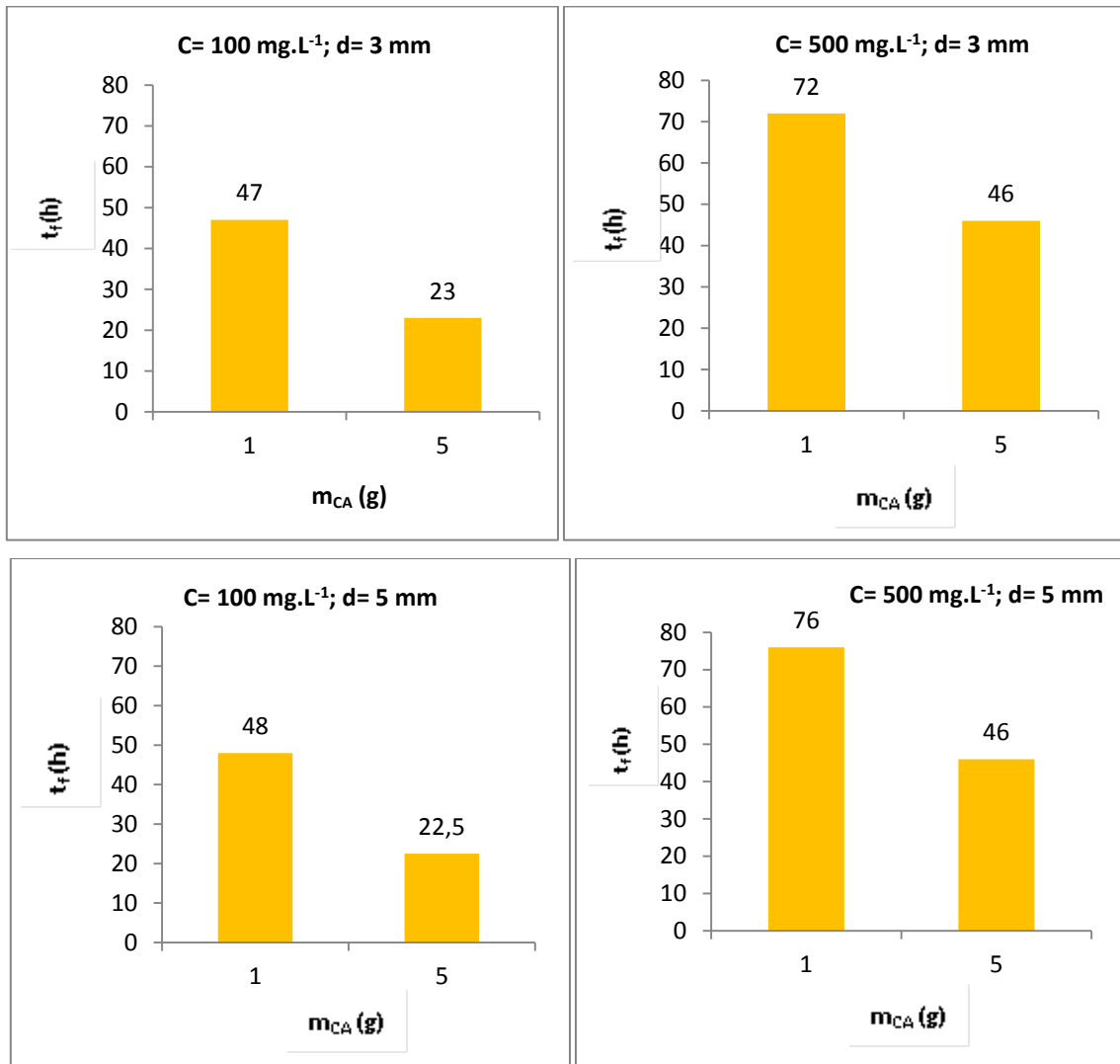
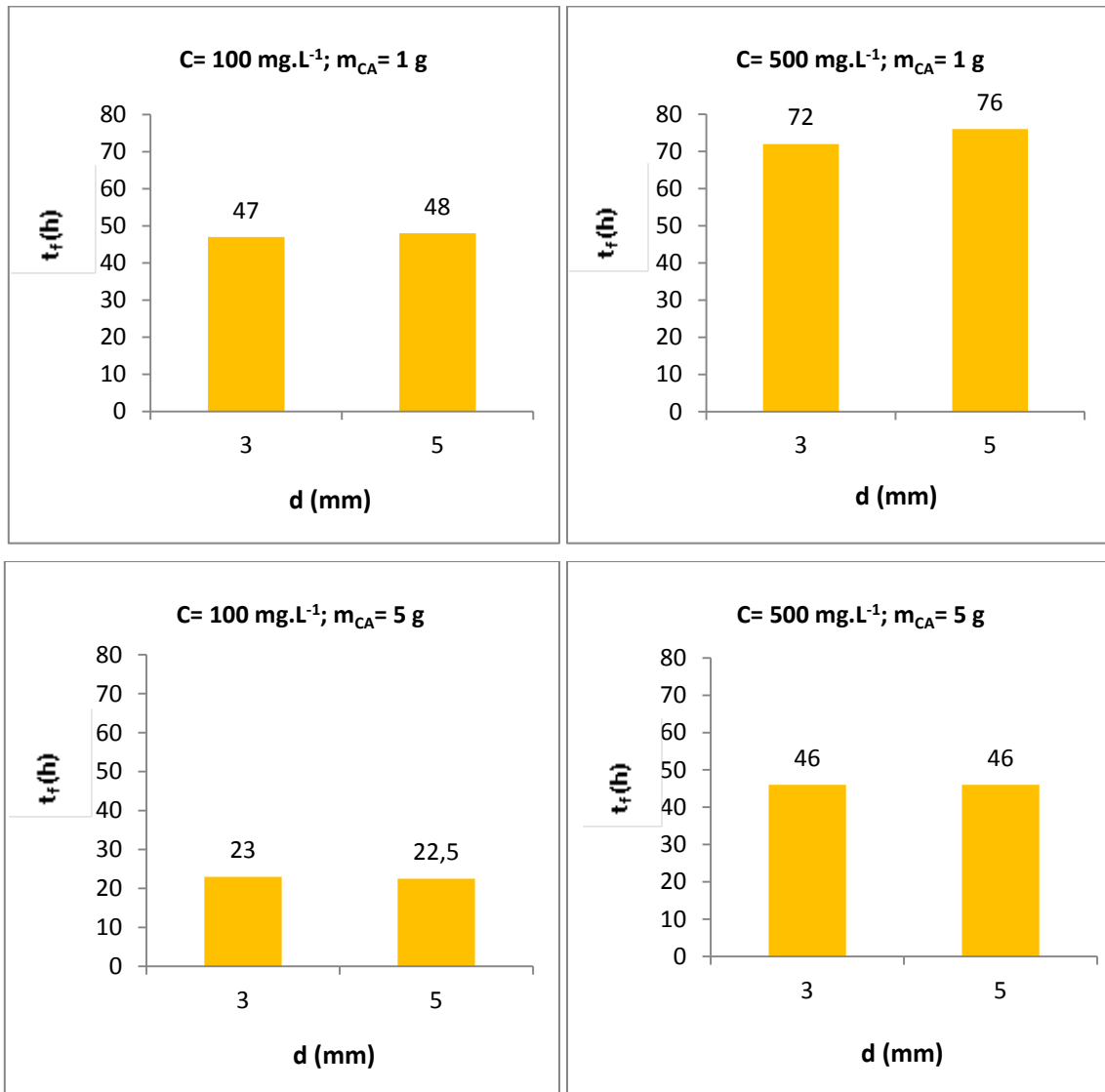


Figure III.20 : Effet de la concentration en charbon actif sur le temps d'élimination du phénol par les billes ACCA-bactéries



**Figure III.21 : Effet du diamètre des billes sur le temps d'élimination du phénol par les billes ACCA-bactéries**

Nous constatons d'après les figures ci-dessus que :

- La concentration en phénol a un effet positif significatif : le temps d'élimination totale du phénol,  $t_f$ , augmente considérablement lorsque la concentration en phénol passe du niveau bas au niveau haut et cela quelque soit la masse de CA et le diamètre des billes (figure III-19). En effet, lorsque la concentration est élevée, les bactéries auront plus de molécules de phénol à dégrader et mettront ainsi plus de temps ;
- La masse de charbon actif présente un effet négatif significatif : Le temps  $t_f$  diminue considérablement lorsque le facteur masse de CA passe du niveau bas au niveau haut

dans tous les cas de figure (figure III-20). En effet, pour une concentration donnée, la quantité de phénol adsorbée est proportionnelle à la masse de CA utilisée. Par conséquent, la quantité de phénol en solution (non adsorbée) diminue lorsque la masse de CA augmente. De ce fait, les bactéries auront moins de molécules de phénol à dégrader et mettront ainsi moins de temps ;

- La taille des billes, dans l'intervalle considéré (3-5 mm), n'a pas d'effet significatif sur l'adsorption et la biodégradation du phénol par les billes ACCA-bactéries. Le temps  $t_f$  n'évolue que faiblement lorsque le diamètre des billes passe du niveau bas au niveau haut dans tous les cas considérés (figure III-21). Arzu et al., (2005)[56] ont considéré l'effet du transfert de masse interne sur la biodégradation du phénol par *Ralstonia eutrophaimmobilisé* dans de l'alginate de calcium, où des billes de trois diamètres différents ont été réalisées : 2, 3, et 4 mm. Le plus petit diamètre (2 mm) a donné le meilleur taux d'élimination et il a été constaté qu'une augmentation de la taille des billes résulte en une diminution du taux d'élimination du phénol même si les taux observés pour les billes de 3 et 4 mm de diamètre sont très proches.

Ainsi, nous pouvons dire que la présence des bactéries dans les billes n'affecte pas le phénomène d'adsorption puisque la part adsorbée par les billes ACCA est pratiquement égale à celle adsorbée par les billes ACCA-bactéries et que les bactéries, elles non plus, ne sont pas affectées par le charbon actif en poudre car l'élimination totale du phénol est obtenues dans tous les essais réalisés.

## 5.2 Analyse statistique

Une analyse statistique rigoureuse des résultats obtenus, par le logiciel JMP, va nous permettre de vérifier les déductions faites précédemment en ce qui concerne les effets des facteurs. De plus elle nous renseigne sur les éventuelles interactions entre les facteurs et permet aussi une modélisation et une optimisation du système étudié.

### 5.2.1 Modélisation mathématique

Le plan factoriel employé permet d'aboutir à un modèle du premierdegré par rapport à chaque facteur :

$$y = a_0 + \sum_{i=1}^n a_i X_i + \sum_{i=1}^n a_{ij} X_i X_j + \sum_{i=1}^n a_{ijm} X_i X_j X_m + \dots + \sum_{i=1}^n a_{ij\dots p} X_i X_j \dots X_p \quad (\text{III-7})$$

Le calcul des coefficients  $a_i$  se fait, comme pour le cas de l'adsorption, par le biais des formules suivantes :

$$a_0 = \frac{1}{11} \sum_{i=1}^{11} y_i = 47.8889 \quad (\text{III-8})$$

$$a_1 = \frac{1}{8} \sum_{i=1}^8 X_{1i} y_i = 12.5 \quad (\text{III-9})$$

$$a_2 = \frac{1}{8} \sum_{i=1}^8 X_{2i} y_i = -13.25 \quad (\text{III-10})$$

$$a_3 = \frac{1}{8} \sum_{i=1}^8 X_{3i} y_i = 0.5 \quad (\text{III-11})$$

$$a_{12} = \frac{1}{8} \sum_{i=1}^8 X_{1i} X_{2i} y_i = -0.75 \quad (\text{III-12})$$

$$a_{13} = \frac{1}{8} \sum_{i=1}^8 X_{1i} X_{3i} y_i = 0.5 \quad (\text{III-13})$$

$$a_{23} = \frac{1}{8} \sum_{i=1}^8 X_{2i} X_{3i} y_i = -0.75 \quad (\text{III-14})$$

$$a_{123} = \frac{1}{8} \sum_{i=1}^8 X_{1i} X_{2i} X_{3i} y_i = -0.25 \quad (\text{III-15})$$

Ces résultats nous permettent d'écrire le modèle en unités codées donnant le temps de l'élimination du phénol en fonction des niveaux des trois facteurs.

$$y \text{ (temps d'élimination)} = 47.89 + 12.5X_1 - 13.25X_2 + 0.5X_3 - 0.75X_1X_2 + 0.5X_1X_3 - 0.75X_2X_3 - 0.25X_1X_2X_3$$

### 5.2.2 Analyse par le logiciel de statistique JMP

#### a) Modélisation et tests statistiques

Comme pour le cas de l'adsorption, le plan d'expériences sélectionné est le plan factoriel complet. Les résultats obtenus lors de nos expériences sont introduites dans le logiciel. Ce dernier, va calculer les différentes valeurs des coefficients et effectuer des tests statistiques

qui comparent deux hypothèses  $H_0$  et  $H_1$ . A noter aussi que la limite supérieure du risque de première espèce  $\alpha$ , est encore une fois, prise égale à 0.05.

Les sorties du logiciel donnent le même tableau que celui obtenu pour le cas de l'adsorption : c'est à dire un tableau à 8 lignes (8 paramètres) et 4 colonnes. Une première colonne pour les estimations des paramètres, une seconde pour les écarts-types estimés des paramètres, une troisième colonne regroupe les valeurs  $t$  de Student (les valeurs observées de la statistique de test d'hypothèse  $H_0 : a_i = 0$  contre  $H_1 : a_i \neq 0$ ). La quatrième colonne ( $\Pr(>|t|)$ ) contient la probabilité critique (ou « p-value ») qui est la probabilité, pour la statistique de test sous  $H_0$ , de dépasser la valeur estimée. Cette valeur est comparée au seuil  $\alpha$ .

Comme il a été mentionné, la table de Student donne pour un risque  $\alpha = 5\%$  et  $n - p = 3$ ,  $t_{crit}(0.025 ; 3) = 3,182$ . Un effet sera donc significatif au risque de 5% si son  $t_i$  (en valeur absolue) est supérieur à 3,182.

Le tableau III-12 nous informe sur la signification des coefficients du modèle obtenu.

Un astérisque est placé à côté des valeurs qui répondent à des tests significatifs.

**Tableau III-12:Importance des coefficients du modèle**

Coefficient	valeur	Écart-type	t de Student	p-value
$a_0$	50.5	0.5	101.00	0.0063*
$a_1$	15.5	0.612372	25.31	0,0251*
$a_2$	-10.25	0.612372	-16.74	0,0380*
$a_3$	3.5	0.612372	5.72	0.1103
$a_{12}$	2.25	0.612372	3.67	0.1692
$a_{13}$	3.5	0.612372	5.72	0.1103
$a_{23}$	2.25	0.612372	3.67	0.1692
$a_{123}$	2.75	0.612372	4.49	0.1395

La comparaison du  $t_i$  de chaque coefficient estimé à la valeur 3.182 ( $t_{crit}$ ). Ou bien la comparaison de p-value au seuil  $\alpha$ , permet d'éliminer cinq coefficients non-significatifs:  $a_3$ ,  $a_{12}$ ,  $a_{13}$ ,  $a_{23}$  et  $a_{123}$ .

Le nouveau modèle est :

$$y \text{ (temps d'élimination)} = 50.5 + 15.5X_1 - 10.25X_2$$

Effectuons une nouvelle analyse avec un modèle linéaire ne contenant que les coefficients significatifs (tableau III-13)

**Tableau III-13:Importance des coefficients du modèle après ajustement**

Coefficient	valeur	Écart-type	t de Student	p-value
<b>a<sub>0</sub></b>	48.307692	0.701594	68.85	<,0001*
<b>a<sub>1</sub></b>	12.759615	0.797372	16.00	<,0001*
<b>a<sub>2</sub></b>	-12.99038	0.797372	-16.29	<,0001*

Les valeurs  $t_i$  ainsi que les valeurs de p-value répondent toutes à des tests significatifs. Donc seulement les coefficients :  $a_0$ ,  $a_1$  et  $a_2$ , sont significatifs.

Le Test de Fisher, qui consiste en l'analyse de la variance, permet lui aussi d'évaluer l'importance d'un coefficient, si ce dernier est significatif ou non. (tableau III-13).

Les résultats de l'analyse de la variance obtenus par le logiciel sont regroupés dans le tableau III-14.

**Tableau III-14:Analyse de la variance par JMP**

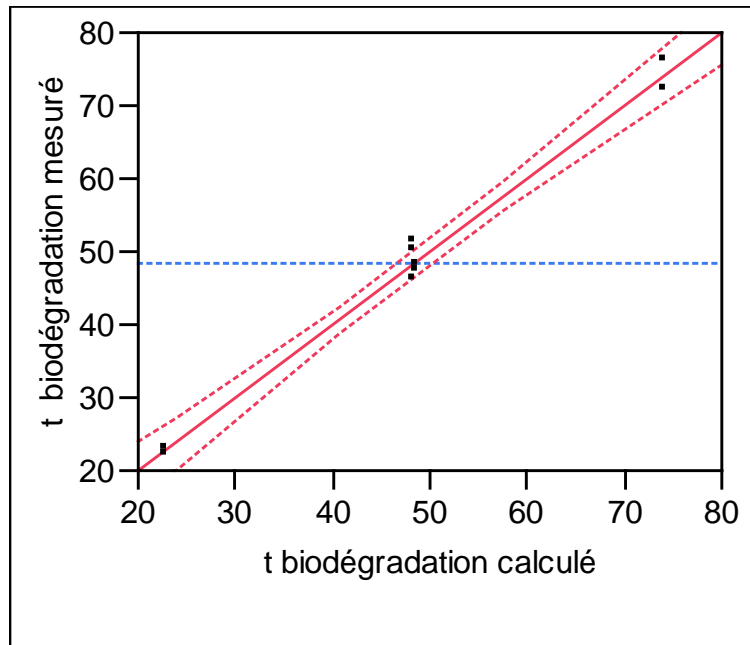
Source de variations	Degré de liberté	Somme des carrés (variation)	Carré moyen	Fisher
Modèle corrigé de la moyenne	2	2652.4038	1326.20	310.8753
Résidus	6	25.5962	4.27	<b>Prob&gt;F &lt;,0001*</b>
Total	8	2678.0000		

Lors de ce test, l'hypothèse  $H_0$  est rejetée lorsque la valeur de F obtenue ( $F=310.8753$ ) est supérieure à celle déduite de la table de Fisher-Snedecor qui donne  $F(6,2) = 5.14$ .

effectivement  $F > F_\alpha$ , et  $\text{prob } F < 0,05$ , l'hypothèse  $H_0$  est donc rejetée. Cela signifie que les variations des réponses mesurées sont dues aux variations des facteurs ; ce qui permet de valider le modèle.

En ce qui concerne la qualité de l'ajustement des estimations de l'équation de régression, elle est faite par le biais du coefficient de détermination  $R^2$  et du coefficient de détermination ajusté  $R_a^2$ . Ces deux paramètres étant égaux à 0,990442 et 0,987256, respectivement, qui sont des valeurs très proches de 1, nous pouvons déduire que le modèle mathématique est satisfaisant.

Afin d'examiner la qualité du modèle et des observations (y mesurés), il est évident de tracer les valeurs mesurées en fonction des valeurs calculées. Comme il existe une incertitude dans les estimations, un intervalle de confiance de la droite est tracé (à 95%).(figure III-22)



**Figure III.22: Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues**

La figure ci-dessus montre que tous les points sont situés à l'intérieur de l'intervalle de confiance et se placent presque sur la première bissectrice. Ce qui implique que le modèle mathématique considéré est satisfaisant.

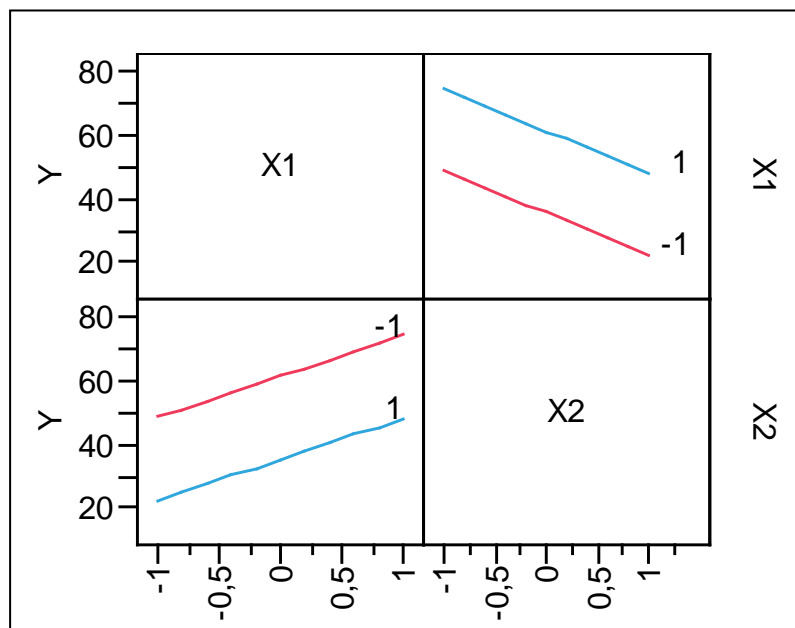
$$y \text{ (temps d'élimination)} = 48.31 + 12.76X_1 - 12.99X_2$$

En observant les coefficients du modèle, nous pouvons constater que



- Le facteur 1, concentration en phénol, influe sur le temps d'élimination du phénol, et son effet est positif car le temps  $t_f$  augmente lorsque le facteur 1 passe de son niveau bas à son niveau haut. Plus il y a de substrat (phénol) plus grand sera le temps que mettent les bactéries à le dégrader. Le phénomène d'inhibition aux fortes concentrations en phénol n'est pas observé grâce à la technique d'immobilisation dont un de ses avantages est justement de pallier aux phénomènes d'inhibition par excès de substrat.
- Le facteur 2, masse de charbon actif, influe sur le temps d'élimination du phénol et possède un effet négatif : Le temps  $t_f$  diminue lorsque le facteur 2 passe de son niveau bas à son niveau haut. En effet, pour une concentration en phénol donnée, la quantité de phénol en solution (non adsorbée) est inversement proportionnelle à la quantité de charbon actif employée. Donc la quantité de phénol à éliminer est plus importante lorsque la masse de CA utilisée est petite et nécessitera un temps de biodégradation plus long.
- Le facteur 3, taille des billes, n'a pas d'influence significative sur le temps d'élimination du phénol.

Le profil des interactions représenté dans la figure III-23 illustre l'effet de chaque facteur pour les niveaux haut et bas d'un autre facteur. Si les droites des effets ne sont pas parallèles, il y a une interaction significative. L'interaction est d'autant plus forte que les pentes des droites sont différentes.



**Figure III.23:Profil d'interaction**

Les niveaux haut et bas des facteurs sont représentés par les droites bleue et rouge respectivement.

Le diagramme permet de visualiser l'effet de chaque facteur sur le temps d'élimination (y) au niveau bas et au niveau haut des autres facteurs. Ainsi :

- L'effet de la concentration en phénol est positif. y augmente lorsque le facteur 1 passe du niveau bas au niveau haut.
- L'effet de la masse de CA est négatif. y diminue lorsque le facteur 2 passe du niveau bas au niveau haut.

Pour ce qui est des interactions, le diagramme ne présente que des droites parallèles, ce qui signifie qu'il n'y a pas d'interactions entre les facteurs.

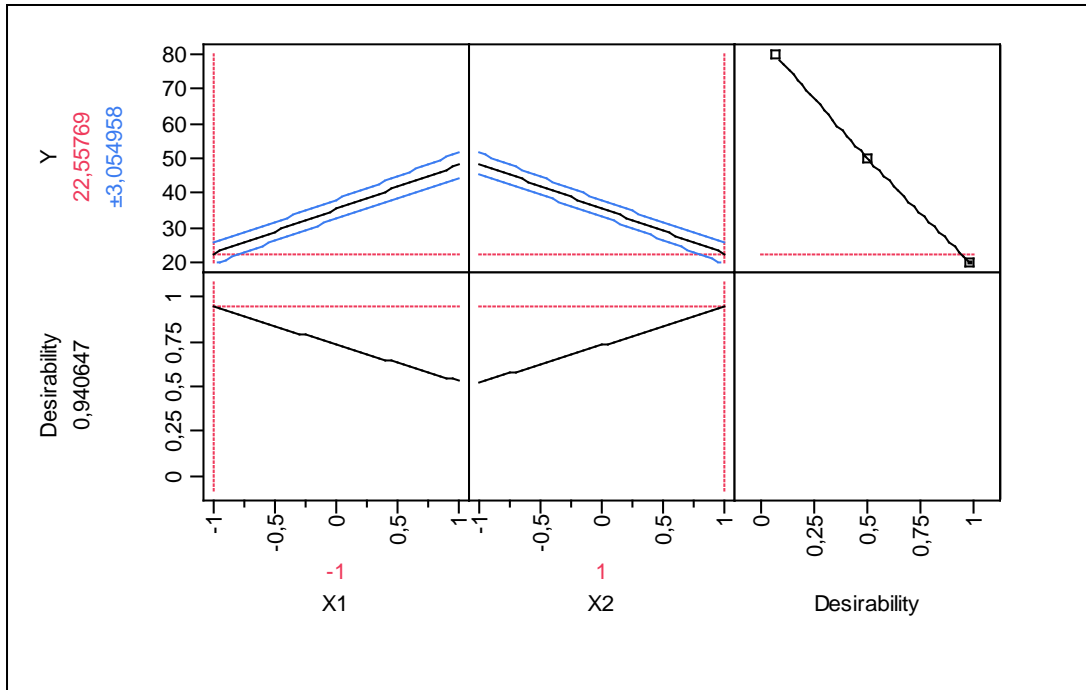
b) Optimisation et fonction désirabilité

La fonction désirabilité (D) permet d'optimiser la réponse elle est définie par :

$$D = \begin{cases} 0, & y_i \leq y_{i \min} \\ \left| \frac{y_i - y_{i \min}}{y_{i \max} - y_{i \min}} \right|, & y_{i \min} < y_i < y_{i \max} \\ 1, & y_i \geq y_{i \max} \end{cases} \quad \text{(III-16)}$$

Les valeurs de cette fonction sont comprises entre 0 et 1. La valeur de 0 est attribuée lorsque les facteurs conduisent à une réponse inacceptable et celle de 1 lorsque la réponse représente la performance maximale désirée pour les facteurs considérés.

Elle permet de trouver les conditions opératoires optimales (figure III-24).



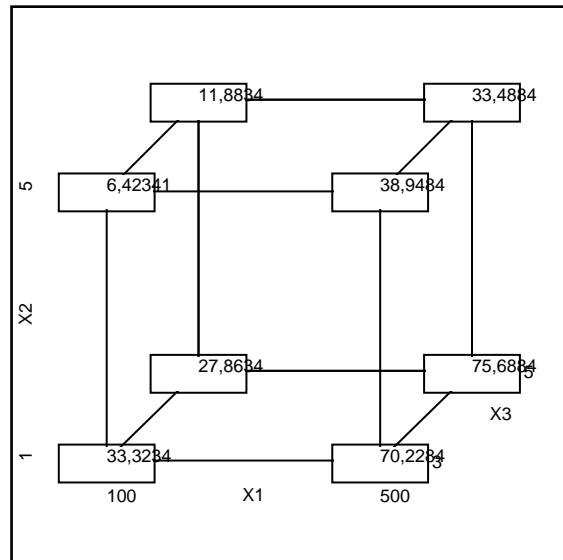
**Figure III.24:Profil de prévision**

D'après le profil de prévision établi par le logiciel, le temps d'élimination minimal est égal à  $22.56 \pm 3.05$ h avec une desirabilité correspondante  $D = 0,94$ .

Ce minimum est obtenu pour les valeurs suivantes :

- Une concentration en phénol de  $100 \text{ mg.L}^{-1}$ . Car en augmentant la concentration en phénol, les bactéries mettent plus de temps à le dégrader ;
- Une masse de charbon actif de 5g. le fait d'élever la masse de CA immobilisé, il y a plus de phénol adsorbé sur le CA et de ce fait moins de phénol à dégrader (en solution);

Les valeurs de la quantité adsorbée calculée aux sommets du domaine d'étude, sont représentées sur la figure III-25.



**Figure III.25: Valeurs de la quantité adsorbée aux sommets du domaine d'étude**

c) Expression du modèle en unités réelles

L'expression du modèle mathématique après ajustement et en unités réelles devient :

$$y = 48.31 + 12.76\left(\frac{X_1 - 300}{200}\right) - 12.99\left(\frac{X_2 - 3}{2}\right)$$

## CONCLUSION GENERALE

L'objectif de ce travail est d'étudier l'élimination simultanée du phénol par adsorption et biodégradation en utilisant un support combiné constitué de billes ACCA-bactéries.

Les billes ACCA-bactéries ont été obtenues par inclusion du charbon actif en poudre et des bactéries dans le gel d'alginate de sodium et cela par la technique d'extrusion.

L'immobilisation du charbon actif en poudre n'améliore pas l'adsorption mais elle permet de pallier au problème de sa dispersion et de faciliter ainsi sa récupération.

L'immobilisation des bactéries permet de maintenir une concentration élevée en biomasse cellulaire, de limiter les inhibitions et les contaminations rencontrées lors de la fermentation.

Dans un premier temps, nous avons étudié l'adsorption du phénol par les billes ACCA en étudiant l'influence des facteurs concentration en phénol, concentration de charbon actif et le diamètre des billes sur la capacité d'adsorption du phénol et cela par la méthode intuitive et la méthode des plans d'expériences qui apporte beaucoup d'avantages

Ensuite, nous avons étudié par la méthode des plans d'expériences l'influence des mêmes facteurs sur l'élimination du phénol par adsorption et biodégradation par les billes combinées ACCA-bactéries.

Le procédé d'adsorption du phénol par les billes ACCA ne permet pas son élimination totale, et les meilleurs rendements sont obtenus lorsque le charbon actif est employé en quantité importante (5g), ce qui rend le procédé coûteux. Le couplage adsorption-biodégradation, au moyen de billes ACCA-bactéries, permet de réunir les avantages des deux techniques, à savoir la rapidité du phénomène d'adsorption qui permet une diminution considérable de la concentration en phénol et l'efficacité des bactéries à dégrader complètement le phénol. Lors de certaines manipulations, nous sommes parvenus à une élimination totale du phénol en un temps très intéressant (22 h).

Les résultats du plan d'expérience ont permis de déterminer les effets des facteurs considérés sur la réponse ainsi que leurs éventuelles interactions. Concernant les billes ACCA, les effets principaux des facteurs sur la capacité d'adsorption sont les suivants : la concentration initiale en phénol présente un effet positif significatif, la masse de charbon actif a un effet négatif significatif. Quant à la taille des billes, elle ne présente aucun effet notable. Ces

mêmes effets ont été constatés sur le temps d'élimination du phénol par les billes ACCA-bactéries.

Concernant l'interaction entre les facteurs, les résultats montrent que pour le procédé d'adsorption par les billes ACCA, il y a une interaction significative entre la concentration en phénol et la masse de CA. La taille des billes ne présente aucune interaction avec aucun des deux autres facteurs. Pour ce qui est de l'adsorption/biodégradation du phénol par les billes ACCA-bactéries, le plan d'expériences n'a montré aucune interaction entre les facteurs considérés.

Le plan d'expériences nous a permis de modéliser les résultats obtenus. Ainsi :

- le modèle obtenu pour l'adsorption du phénol par les billes ACCA est le suivant :

$$y = 37,230 + 17,3575\left(\frac{X_1-300}{200}\right) - 14,545\left(\frac{X_2-3}{2}\right) - 3,825\left(\frac{X_1-300}{200}\right)\left(\frac{X_2-3}{2}\right) - 2,73\left(\frac{X_1-300}{200}\right)\left(\frac{X_2-3}{2}\right)(X_3 - 4)$$

y étant la quantité adsorbée.

- le modèle obtenu pour l'adsorption/biodégradation du phénol par les billes ACCA-bactéries est comme suit :

$$y = 48.31 + 12.76\left(\frac{X_1-300}{200}\right) - 12.99\left(\frac{X_2-3}{2}\right)$$

y étant le temps de biodégradation totale.

Le plan d'expériences a fait ressortir un optimum pour les deux procédés :

- pour l'adsorption du phénol par les billes ACCA, les conditions optimales sont :
  - Une concentration en phénol de 500 mg.L<sup>-1</sup> ;
  - Une masse de charbon actif de 1g ;
  - Un diamètre des billes de 5mm.
- Pour l'adsorption/biodégradation du phénol par les billes ACCA-bactéries, les conditions optimales sont :
  - Une concentration en phénol de 100 mg.L<sup>-1</sup> ;
  - Une masse de charbon actif de 5g.

Dans la perspective de compléter et d'enrichir cette étude, il serait intéressant de prévoir :

- Une étude en système continu ;
- Application d'un plan d'expériences autre que le plan factoriel complet qui peut apporter d'autres informations ;
- Améliorer le procédé d'élaboration des billes d'alginate de calcium pour assurer un gain de temps considérable.

## Références bibliographiques

- [1] K. Arinjay, K. Shashi, K.Surendra (2005), Biodegradation kinetics of phenol and catechol using *Pseudomonas putida* MTCC 1194, *Biochemical Engineering Journal*. 22 151-159.
- [2] A. Pichard (2005), Phénol. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. INERIS-Drc-01-25590-01DR021.N°2.
- [3] J-H. Kim, K-K. Oh, S-T. Lee, S-W. Kim, S-I. Hong (2002), Biodegradation of phenol and chlorophenols with defined mixed culture in shake-flasks and a packed bed reactor, *Process Biochemistry* 37 1367–1373.
- [4] Q. Lin, W. Donghui, W. Jianlong (2010), Biodegradation of pyridine by *Paracoccus* sp. KT-5 immobilized on bamboo-based activated carbon, *Bioresource Technology* 101 5229–5234.
- [5] C.Ouahes (2003), Chimie organique, Office des publications universitaires 293-304.
- [6] "phénol" Encyclopédie Microsoft Encarta en ligne (2007). <http://fr.encarta.msn.com>
- [7] M. Mortier, P. Vansina, B. Gielens (2004), Phénol. Check-list, SPF Emploi, Travail et Concertation Sociale, Contrôle du Bien-être au Travail, Division du contrôle des risques chimiques. CRC/CL/0011-F version 1.0. SPF Emploi, [crc@meta.fgov.be](mailto:crc@meta.fgov.be).
- [8] INRS (1997), phenol, fiche toxicologique N°15, Paris.
- [9] CUMENE, PHENOL. <http://www.sfc.fr/donnees/orga/cumene/textcum.htm>
- [10] INEOS Phenol, <http://www.ineosphenol.com/news/INEOS%20and%20Sinopec%20negotiate%20JV%20in%20Jiangsu.htm>
- [11] Liste des substances d'intérêt prioritaire (1999) - Rapport d'évaluation pour le phénol, Loi canadienne sur la protection de l'environnement, page5.
- [12] H.A. Sharma, J.T. Barber, H.E. Ensley, M.A. Polito (1997), A comparison of the toxicity and metabolism of phenol and chlorinated phenols by *Lemna gibba*, with special reference to 2,4,5-trichlorophenol, *Environmental Toxicology and Chemistry* 16 346–350.
- [13] H. Uzun, E. Yildiz, A. Nuhoglu (2010), Phenol biodegradation in a batch jet loop bioreactor (JLB): Kinetics study and pH variation, *Bioresource Technology* 101 2965–2971.
- [14] M. Mollaeia, S. Abdollahpoura, S. Atashgahi, H. Abbasi, F. Masoomi, I. Rad, A-S. Lotfi, H.S. Zahiri, H. Vali, K. A.Noghabi (2010), Enhanced phenol degradation by *Pseudomonas* sp. SA01: Gaining insight into the novel single and hybrid immobilizations, *Journal of Hazardous Materials* 175 284–292.



- [15] [A.E. Navarro](#), [J.C. Lazo](#), [N.A. Cuizano](#), [M.R. Sun-Kou](#), [B.P. Llanos](#) (2009), Insights into Removal of Phenol from Aqueous Solutions by Low Cost Adsorbents: Clays Versus Algae, *Separation Science and Technology* [44](#) 2491-2509.
- [16] O. Ali (2005), Etude de l'influence des paramètres opératoires sur la dégradation du phénol par *Pseudomonas aeruginosa* en fermenteur, Magister, ENP. Algerie.
- [17] C. Nowak, J.R. Mossmann, A. Saada (2003), Etat des connaissances sur l'atténuation naturelle : mécanismes et mise en œuvre, Rapport final. [www.brgm.fr/Rapport?code=RP-51960-FR.pdf](http://www.brgm.fr/Rapport?code=RP-51960-FR.pdf)
- [18] A.M.G Álvaro Monteiro<sup>1</sup>, Rui A.R. Boaventura, Al'irio E. Rodrigues (2000), Phenol biodegradation by *Pseudomonas putida* DSM 548 in a batch reactor, *Biochemical Engineering Journal* **6** 45–49.
- [19] J-H. Kim, K-K. Oh, S-T. Lee, S-W. Kim, S-I. Hong (2002), Biodegradation of phenol and chlorophenols with defined mixed culture in shake-flasks and a packed bed reactor, *Process Biochemistry* [37](#) 1367–1373.
- [20] A. Benahmed Djilali (2006), Biodégradation du phénol par *Pseudomonas aeruginosa* immobilisé dans l'alginate de calcium, Magister, ENP. Algerie
- [21] N. Lesage (2005), Etude d'un procédé hybride Adsorption/Bioréacteur à membranes pour le traitement des effluents industriels, Thèse de doctorat, INSA. Toulouse, France.
- [22] F. AL MARDINI (2008), Etude de l'adsorption du pesticide Bromacil sur charbon actif en poudre en milieu aqueux Effet compétiteur des matières organiques naturelles, Thèse de doctorat, Université de Poitiers, France.
- [23] N.J. Krou (2010), Etude expérimentale et modélisation d'un procédé séquentiel AD-OX d'élimination de polluants organiques, Thèse de doctorat, Université de Toulouse, France.
- [24] Lenntech. Water treatment solutions. Adsorption / Charbon actif  
<http://www.lenntech.fr/bibliotheque/adsorption/adsorption.htm>
- [25] M. Kedou (2008). Elaboration, caractérisation et application de membranes polymères à base de chitosane, Magister, Université de Boumerdes, Algérie.
- [26] [K.A. Halhouli](#), [N. Darwish](#), [Y.Y. Al-Jahmany](#) (2006), Effects of Temperature and Inorganic Salts on the Adsorption of Phenol from Multicomponent Systems onto a Decolorizing Carbon, *Separation Science and Technology* [32](#) 3027-3036.
- [27] C.AYRAL (2009), Elimination de polluants aromatiques par oxydation catalytique sur charbon actif, Thèse de doctorat, Université de Toulouse, France.

- [28] [S. Jain](#), [R. V. Jayaram](#) (2007). Adsorption of Phenol and Substituted Chlorophenols from Aqueous Solution by Activated Carbon Prepared from Jackfruit (*artocarpus heterophyllus*) Peel-Kinetics and Equilibrium Studies. *Separation Science and Technology* [42](#) 2019-2032.
- [29] D.M. Alfonso (1997), Contribution à l'étude de l'adsorption et de la biodegradation de composés organiques sur charbon actif: cas du phénol et de dérivés phénoliques, Thèse de doctorat, Université de Rennes 1, France.
- [30] LeCarbon.com. Tout connaître ou presque sur le carbone... [http://lecarbone.com/article.php3?id\\_article=13](http://lecarbone.com/article.php3?id_article=13)
- [31] G. Hermosilla-Lara (2007), Stockage de l'hydrogène par adsorption sur charbon actif : Etude des effets thermiques lors de la charge dynamique d'un réservoir à lit fixe adsorbant, Thèse de doctorat, Université Grenoble 1, France.
- [32] T. Vasiljevića, J. Spasojevića, M. Bačića, A. Onjiab, M. Lauševića (2011), Adsorption of Phenol and 2,4-Dinitrophenol on Activated Carbon Cloth: The Influence of Sorbent Surface Acidity and pH, *Separation Science and Technology* 41 1061-1075.
- [33] P. Strehaiano, F. Centeno (2008), Les levures immobilisées : une réalité œnologique, Rencontre technique «Micro-organismes et Gestion thermique», Toulouse. [http://www.vignevin-sudouest.com/publications/itv-colloque/documents/COLLOQUE\\_levures-immobilisees.pdf](http://www.vignevin-sudouest.com/publications/itv-colloque/documents/COLLOQUE_levures-immobilisees.pdf)
- [34] L.E. de-Bashan, Y. Bashan (2010), Immobilized microalgae for removing pollutants: Review of practical aspects, *Bioresource Technology* 101 1611–1627.
- [35] D. Dergmaier (2002), Production d'exopolysaccharides par fermentation avec des cellules immobilisées de *lb. rhamnosus* rw-9595m d'un milieu à base de perméat de lactosérum, Thèse de doctorat, Université Laval, Québec.
- [36] F. Amrouche (2008), Biodégradation du phénol par immobilisation des bactéries, Magister, ENP. Algerie.
- [37] I. Moreno-Garrido (2008), Microalgae immobilization: Current techniques and uses. *Bioresource Technology* 99 3949–3964.
- [38] A.W.A. Mireille (2008), Formulation et immobilisation de la lipase de *Yarrowia lipolytica*, Thèse de Doctorat, Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux, Belgique.
- [39] P. Ylivero, C.J. Franzén, M.J. Taherzadeh (2011), Ethanol production at elevated temperatures using encapsulation of yeast, *Journal of Biotechnology* 156 22– 29.
- [40] Immobilization of biocatalysts. <http://sy.zlgc.edu.cn/Upload/20080530001844328.pdf>

- [41] N.Y. Osee Muyima, T.E. Cloete (1995), Immobilisation of *Acinobacter johnsonii* cells within alginate beads, *Water SA* 21 239.
- [42] N. Massalha, A. Shaviv, I. Sabbah (2010), Modeling the effect of immobilization of microorganisms on the rate of biodegradation of phenol under inhibitory conditions, *water research* 44 5252-5259.
- [43] T.M. Moustafa (2007), Microencapsulation de cellules chromaffines bovines dans le traitement des douleurs chroniques rebelles : Etude de faisabilité *in vitro* et *in vivo*, Thèse de doctorat, université de Toulouse, France.
- [44] S. Givry (2006), Optimisation de procédés de fermentation lactique sur sirop de son de blé et Purification et caractérisation d'une arabinose isomérase de *Lactobacillus bifementans*, Thèse de doctorat, Université de Reims Champagne-Ardenne, France.
- [45] A. Morea, K. Mathee, M.J. Franklin, A. Giacomini, M. O'Regan, D.E. Ohman, Characterization of algG encoding C5-epimerase in the alginate biosynthetic gene cluster of *Pseudomonas fluorescens*, *Gene* 278 (2001) 107–114.
- [46] J. Goupy (2006), Les plans d'expériences, *Revue Modulad*, Numéro 34.
- [47] F. Gillon (1997), Modélisation et optimisation par plans d'expériences d'un moteur à commutations électroniques, Thèse de doctorat, Université de Lille, France.
- [48] J.Goupy (1990), Etude comparative de divers plans d'expériences, *Revue de statistique appliquée* 38 5-44.
- [49] T.Y. Kim, H.J. Jin, S.Y. Cho, K.H. Park, S. Ju, J.H. Kim, S.J. Kim (2007), Adsorption Equilibrium Characteristics of Copper Ions and Phenol Binary System Using Composite Alginate Beads, *Theories and Applications of Chemical Engineering* 13 281-284.
- [50] SAS Institute Inc. (2012) <http://www.jmp.com/fr/software/jmp10/design-of-experiments.shtml>
- [51] T.Y. Kim, H.J. Jin, S.S. Park, S.J. Kim, S.Y. Cho (2008), Adsorption equilibrium of copper ion and phenol by powdered activated carbon, alginate bead and alginate-activated carbon bead, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 14 714–719.
- [52] B. Özkaya (2006), Adsorption and desorption of phenol on activated carbon and a comparison of isotherm models, *Journal of Hazardous Materials B*129 158–163.
- [53] R. Devesa-Rey, G. Bustos, J.M. Cruz, A.B. Moldes (2011), Optimisation of entrapped activated carbon conditions to remove coloured compounds from winery wastewaters, *Bioresource Technology* 102 6437–6442.
- [54] S.Y. Dapaals, G.A. Hill (1992), Biodegradation of chlorophenol mixtures by *Pseudomonas putida*, *Biotechnology and Bioengineering* 40 1353–1358.

[55] A.Y. Dursun , O. Tepe (2005), Internal mass transfer effect on biodegradation of phenol by Ca-alginate immobilized *Ralstonia eutropha*, Journal of Hazardous Materials B126 105–111.

## **Annexes**

### **Annexe 1 : matériel et appareils utilisés**

- Autoclave de marque CERTOCLAV
- Etuve de marque MEMMERT
- Spectrophotomètre UV/visible de marque SHIMADZU
- pH-mètre de marque HANNA
- Centrifugeuse de marque HATTICK
- Plaque chauffante munie d'un agitateur de marque STUART
- Incubateur de marque HEIDOLPH INCUBATOR 1000 / HEIDOLPH UNIMAX 1010
- Balance de précision de marque KERN
- Bec bunsen
- Micro filtres 0.45 µm
- Erlenmeyers de 1L
- Verrerie courante de laboratoire

**Annexe 2 : courbe d'étalonnage de la concentration en phénol**

