

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

المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات  
BIBLIOTHEQUE — المكتبة  
Ecole Nationale Polytechnique



P0002/05B

Ecole Nationale Polytechnique d'Alger  
Département Génie de l'Environnement

Projet de fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état

Sujet :

**Procédé de Dégradation Microbienne du Phénol :  
Comparaison de trois techniques**

**Présenté par : Melle KAMEL Nedjma**

Composition du jury :

Président :	Melle J. ARRAR	(ENP)
Rapporteurs :	Mme A. HELLAL	(ENP)
	Mr A. NAMANE	(ENP)
Examineurs :	Melle Y. DJEMAI-ZOGHLECHE	(ENP)
	Mme F. ZERROUK	(INA)

**Année Universitaire : 2004/2005**

**Remerciements :**

Mes remerciements vont tout d'abord à mademoiselle Djamai-Zoghleche, mademoiselle Arrar et plus particulièrement à madame Zerrouk pour avoir aimablement accepté de faire partie des membres du jury.

Je remercie également mes enseignants et encadreurs madame Hellal et monsieur Namane, pour la qualité de leur encadrement ainsi que celle de leur enseignement.

Je remercie toutes les étudiantes en magistère du laboratoires génie de l'environnement, pour l'aide et la gentillesse qu'elles m'ont donné tout au long de mon séjour au laboratoire , et plus particulièrement : Oum-Essaad, Dalila, Rachida, Hamida, Adiba, Imen et Lila.

Pour finir, toute ma gratitude va à ceux et à celles qui tout au long de ma vie ont été présents et m'ont toujours pousser et encourager à aller de l'avant : mes parents, mes amis et ma famille.



***Dédicace :***

A celle qui m'a toujours poussé à tout donner pour réussir et qui aurait, sans aucun doute, été fière de me voir arriver jusque là, à la regrettée madame Loudmia Sria une femme qui par son courage, son sens des responsabilités ainsi son amour du métier, restera à jamais dans la mémoire de ceux qui l'ont côtoyé.

## Sommaire :



<b>Introduction</b> .....	1
<b>Etude théorique</b> .....	3
Chapitre 1 : généralités sur le phénol.....	4
1. Définition.....	4
2. Propriétés physiques.....	4
3. Utilisation.....	4
4. Origine des rejets.....	5
5. Toxicité.....	5
6. Normes.....	5
Chapitre 2 : traitement physicochimique.....	6
1. Généralités.....	6
2. Adsorption sur charbon actif.....	6
2.1. Charbon actif.....	6
2.2. Phénomènes d'adsorption.....	7
2.3. Types d'adsorptions.....	7
2.4. Isothermes d'adsorption.....	7
2.5. Représentation mathématique des isothermes d'adsorption.....	8
a. Equation de Freundlich.....	8
b. Equation de Langmuir.....	9
c. Equation de B.E.T.....	9
Chapitre 3 : traitement biologique.....	10
1. Biodégradation et biodégradabilité.....	10
1.1. Définition.....	10
1.2. Détermination de la biodégradation.....	10
2. Culture bactérienne.....	11
2.1. Généralités.....	11
2.2. Métabolisme bactérien.....	11
2.3. Croissance en milieu non renouvelé.....	12
2.4. Courbe de croissance.....	13
2.5. Modélisation de la courbe de croissance.....	15
3. Procédés d'épuration biologiques.....	16
3.1. Réacteurs biologiques.....	16
3.2. Procédé par boues activées.....	16

3.3. Procédé par lits bactériens.....	17
3.4. Procédé par filtres biologiques.....	17
3.5. Procédé par combinaison adsorption biodégradation.....	17
3.6. Procédé par bactéries immobilisées.....	18
<b>Etude expérimentale</b> .....	19
1. Matériel et méthodes.....	20
1.1. Stérilisation.....	20
1.2. Souche bactérienne utilisée.....	20
1.3. Milieu de culture.....	20
1.4. Préculture.....	20
1.5. Expérimentation.....	21
1.6. Méthodes analytiques.....	22
a. Détermination de la concentration en biomasse.....	22
b. Dosage du phénol.....	22
1.7. Models mathématiques utilisés.....	22
a. Détermination du taux de croissance bactérienne.....	22
b. Détermination de la constante de la cinétique de la dégradation.....	22
c. Détermination de la quantité de phénol biodégradé lors de la bioadsorption.....	23
d. Détermination du taux de dégradation du phénol.....	23
2. Résultats et discussion.....	24
2.1. Biodégradation du phénol par bactéries libres.....	24
2.2. Dégradation du phénol par adsorption et bioadsorption.....	25
A/ Ajout de 5g de charbon actif.....	26
B/ Ajout de 2g de charbon actif.....	27
C/ Ajout de 1g de charbon actif.....	27
2.3. Biodégradation du phénol par bactéries immobilisées.....	28
3. Paramètres cinétiques de biodégradation et de croissance bactérienne.....	30
<b>Conclusion</b> .....	36
<b>Références bibliographiques</b> .....	37
<b>Annexes</b> .....	40
<b>Annexe 1</b> .....	41
<b>Annexe 2</b> .....	44
<b>Annexe 3</b> .....	49

المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات  
BIBLIOTHEQUE — المكتبة  
Ecole Nationale Polytechnique

# Introduction

## Introduction :



L'augmentation et la diversité des déchets rejetés dans les cours d'eau sont le résultat direct de la croissance démographique et industrielle dans le monde.

L'Organisation des Nations Unies (ONU) a déclaré les années de 1981 à 1990 la « décennie internationale de l'eau potable et de l'assainissement », visant par cela l'approvisionnement en eau potable pour tous les individus de la planète en 1990. L'Organisation Mondiale de la Santé estime que 80% des maladies dans le monde sont d'origine hydrique : 200 millions de cas de bilharziose, 160 millions de paludisme, 300 millions d'onchocercose sont en permanence relevés. Il est par ailleurs estimé que 50% des cas de mortalité infantile sont dus à la pollution des eaux (Desjardins, 1997).

Le phénol et ses dérivés font partie des polluants les plus fréquemment rencontrés dans les eaux résiduaires. Ce sont des produits dangereux et très toxiques pour la plupart des fonctions biochimiques, d'où la nécessité de traiter les eaux qui en sont polluées. A cet effet différentes méthodes physicochimiques ont été utilisées. Elles restent cependant pour le moins assez coûteuses et le résultat n'est pas toujours une élimination totale de la pollution. D'où l'intérêt d'avoir recours aux méthodes biologiques. Les raisons qui justifient l'utilisation de telles méthodes sont leur moindre coût, la simplicité des installations ainsi que le fait qu'elles évitent la possibilité d'apparition de sous produits.

Les bactéries sont des êtres vivants microscopiques qui se trouvent dans tout l'environnement, dans le sol, l'air et l'eau. Elles sont considérées plus actives que les êtres vivants supérieurs. Leur grande surface par rapport au volume cellulaire, leur forte activité métabolique et leur multiplication énorme et rapide, leur donne de l'importance dans le domaine de l'épuration des eaux résiduaires (Fresenius, 1990). Les bactéries les plus couramment utilisées sont habituellement aérobies, car elles sont plus aptes à dégrader les composés toxiques ainsi qu'à minéraliser complètement la matière organique. Parmi ces bactéries nous avons : *Pseudomonas* sp. , *Alcaligenes* sp. , *Azotobacter* sp. , *Rhodococcus* sp. , *Phanerochaete* sp. , et *Cryptococcus* sp. (Kim et al, 2002 ; Ruiz-Ordaz et al, 2001). Spécifiquement pour le phénol nous retrouvons : *Alcaligenes eutrophus*, *Bacillus stearothermophilus*, *Burkholderia cepacia* G4, *Nocardia* sp., *Nocardioides* sp., *Pseudomonas pickettii*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas resinovorans*, *Ralstonia entrophae*, *Rhodococcus* sp. (Shalaby, 2003), *Acinetobacter* (Beshay et al, 2002 ; Hao et al, 2002), *Candida tropicalis* (Ruiz-Ordaz et al, 2001),

*Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa* (Ojumu et al, 2005)... et c'est cette dernière souche qui a été utilisée lors de nos expérimentations. Le but de notre travail étant de comparer la performance de trois différentes méthodes de biodégradation du phénol en batch par : bactéries libres, bactéries fixées sur charbon actif et bactéries immobilisées dans des billes d'alginate de calcium.

# **Etude théorique**

## Chapitre 1 : Généralités sur le phénol

### 1. Définition :

Le terme phénols désigne l'ensemble des composés organiques comportant un ou plusieurs groupes hydroxyles liés à un groupe aromatique, le plus simple étant le dérivé mono hydroxylé du benzène de formule générale  $\text{Ar} - \text{OH}$  (Ouahes, 1988).

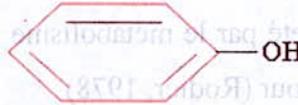


Figure 1 : structure du phénol

### 2. Propriétés physiques :

Les phénols sont peu solubles dans l'eau mais très solubles dans les solvants organiques (Ouahes, 1988). Le phénol devient complètement miscible dans l'eau au-delà de 68,4°C (Pichard, 2003).

Le phénol est aussi caractérisé par (Risk Assessment, 2002) :

- un poids moléculaire de 94,11 g/mole ;
- un point d'ébullition de 181,8°C à 1013 hPa ;
- une densité de 1,132 g/cm<sup>3</sup> à 25 °C et de 1,05 g/cm<sup>3</sup> à 50 °C ;
- une solubilité dans l'eau de 84 g/l à 20 °C ;
- une constante de dissociation  $\text{pK}_a = 9,89$  à 20 °C ;
- une pression de vapeur de 0,2 hPa à 20 °C.

### 3. Utilisation :

Le phénol est principalement utilisé en synthèse organique. Il constitue la matière première pour la production de bisphénol utilisé dans la fabrication de résines phénoliques, de caprolactame utilisé dans la fabrication du nylon, d'alkyl phénol, de chlorophénols et beaucoup d'autre produits chimiques.... (Pichard, 2003). Les phénols sont aussi utilisés dans la préparation d'antiseptiques ainsi que dans la fabrication de caoutchouc, de durcisseurs, de matériaux isolants, de dissolvants, de vernis, de teintures, de laques, d'adhésifs, de produits antirouille, d'encre, de résines synthétiques, de biocides... (Kim et al, 2002 ; Sà et Boaventura, 2001)

#### 4. Origine des rejets :

La présence du phénol et de ses dérivés dans l'environnement provient des eaux usées rejetées par divers industries telles que les raffineries d'huiles et de pétrole (T.V. Ojumu et al, 2005), les usines chimiques, les manufactures d'explosifs, de production de résines phénoliques, les usines de cokéfaction, les usines à gaz, les distilleries de goudrons, les centrales thermiques... (Abd-el-Haleem et al, 2003; Gonzalez et al, 2001; Meink, 1977; Sà et Boaventura, 2001).

Le phénol est aussi rejeté par le métabolisme humain, la quantité rejetée est estimée entre 200 et 300 mg/l par jour (Rodier, 1978).

#### 5. Toxicité :

Les phénols sont rejetés dans l'environnement aquatique malgré leur toxicité pour beaucoup de fonctions biochimiques et ce même à des concentrations très faibles de l'ordre de 5mg/l (Mordocco et al, 1999; Sà et Boaventura, 2001; Tay et al, 2004).

- **Devenir dans l'organisme :**

Le phénol est rapidement absorbé par toutes les voies d'exposition, chez l'homme ainsi que chez l'animal. Selon une expérience pratiquée sur des volontaires sains, exposés à des vapeurs de phénol à des concentrations comprises entre 6 et 20 mg/m<sup>3</sup>, l'absorption est estimée entre 70 et 80% en 6 heures. Le phénol se distribue ensuite rapidement dans les tissus, essentiellement dans le cerveau et les reins.

- **Toxicologie chronique :**

Plusieurs études réalisées en milieu professionnel rapportent des cas d'intoxication chronique au phénol connu sous le nom de marasme phénique (Pichard, 2003).

#### 6. Normes :

Selon les normes américaines, la législation française, et le comité des experts de l'OMS la concentration limite du phénol dans l'eau potable est de 1µg/l (Rodier, 1978). Elle est de l'ordre de 1mg/l pour les eaux de rejets (US Environmental Protection Agency, 2000).

La combinaison du phénol avec du chlore même à des teneurs extrêmement faibles dans l'eau conduit à l'apparition de chlorophénols qui provoquent des odeurs et des goûts désagréables (Dégrémont, 1989 ; Fresenius, 1990 ; Meink, 1977).

## Chapitre 2 : Traitements physicochimiques

### 1. Généralités :

Différentes technologies sont utilisées dans le domaine de l'épuration des eaux polluées. Ces technologies peuvent être regroupées selon le principe en trois différentes méthodes (Lecomte, 1998) :

- **Les méthodes physiques par évacuation de la pollution** : le principe est d'extraire par voie physique la pollution du milieu où elle se trouve.
- **Les méthodes physiques par piégeage de la pollution** : le principe est d'immobiliser la pollution sur place d'une manière physique, soit en la confinant soit en la stabilisant.
- **Les méthodes chimiques ou électrochimiques** : le principe est de mettre en jeu des réactions qui éliminent ou transforment la pollution.

Le phénol peut être dégradé par certaines variantes de ces techniques tel que l'extraction, l'irradiation (Beshay et al, 2002), l'oxydation, l'ozonation, ou encore l'adsorption sur charbon actif.

### 2. Adsorption sur charbon actif :

#### 2.1. Charbon actif :

Le charbon actif est une substance produite à partir d'une matière première organique par déshydrogénation, carbonisation et activation à haute température (Fresenius, 1990). Durant l'activation, il se forme des vides et des canaux fins dans les grains qui confèrent au charbon actif une très grande porosité et une importante surface spécifique de l'ordre de 500 à 1500 m<sup>2</sup> par gramme de charbon (Cardot, 1999).

Le charbon actif est très utilisé comme adsorbant pour l'élimination de nombreux polluants. Cela est dû à son haut pouvoir adsorbant ainsi qu'à sa capacité d'être régénéré après saturation (Jung et al, 2001). Il peut être utilisé sous ses deux formes : en grain ou en poudre. Dans le cas de l'utilisation du charbon actif en poudre, la teneur en phénols ne

disparaît pas complètement ; elle est juste diminuée. L'utilisation du charbon actif en grain permet en revanche une élimination totale des phénols (Dégremont, 1978).

## 2.2. Phénomène d'adsorption :

L'adsorption est l'un des procédés physicochimiques de traitement des eaux. Elle définit la propriété de certains matériaux appelés adsorbants, tel que le charbon actif, à fixer des molécules (gaz, ions métalliques, molécules organiques...) à leur surface (Dégremont, 1989).

Les phénomènes d'adsorption se déroulent en plusieurs étapes (Bouchtaoui, 2003) :

- **étape 1** : transfert externe de la matière de la phase liquide vers l'adsorbant ;
- **étape 2** : transfert à travers le film entourant la surface externe de l'adsorbant ;
- **étape 3** : adsorption proprement dite.

## 2.3. Types d'adsorption :

Selon le caractère des liaisons entre l'adsorbant et l'adsorbé l'adsorption se divise en deux types (Cardot, 1999):

- **Adsorption physique** : Ce type d'adsorption non spécifique met en jeu des forces d'attraction physique de type VAN DER WAALS. L'énergie de ces liaisons est faible : elle est de l'ordre de 5 kcal/mole. L'identité chimique de l'adsorbant restant inchangée au cours de l'adsorption, ce phénomène est réversible et de ce fait une régénération de l'adsorbant au vu de sa réutilisation est rendue possible.

- **Adsorption chimique** : Lors de l'adsorption chimique, il y a formation de liaisons chimiques de fortes énergies entre 25 et 400 kcal/mole. Ce phénomène est spécifique et reste irréversible.

## 2.4. Isothermes d'adsorption :

Une isotherme d'adsorption est une courbe qui représente la relation entre la quantité d'impuretés adsorbées par unité de masse de charbon et la concentration d'impuretés en solution à une température donnée (Desjardins, 1997). Elles sont classées en cinq catégories (Bouchtaoui, 2003) :

- **Isotherme de type I :** elle représente la formation d'une couche monomoléculaire adsorbée à la surface de solides à micropores inférieurs à 25Å°.
- **Isotherme de type II :** lors de ce type d'isotherme, il y a formation d'une polycouche après saturation de la surface d'une couche monomoléculaire. Ceci se produit pour des solides dont les dimensions des pores sont supérieures à 500Å°.
- **Isotherme de type III :** l'existence de sites énergétiques préférentiels induit à la formation de polycouches dès le début de l'adsorption avant même la saturation de la première couche.
- **Isotherme de type IV et V :** elles sont similaires respectivement aux isothermes de type II et III et s'obtiennent pour des solides poreux (diamètres entre 15 et 500Å°). Lors de la formation des couches polymoléculaires à l'intérieur des pores, il y a rencontre des épaisseurs de la couche adsorbée pour former un ménisque. Au moment de la désorption, pour une même valeur de la pression, la quantité de liquide évaporée est supérieure à celle adsorbée. C'est ce qui est appelé phénomène d'hystérésis que l'on observe aux pressions élevées.

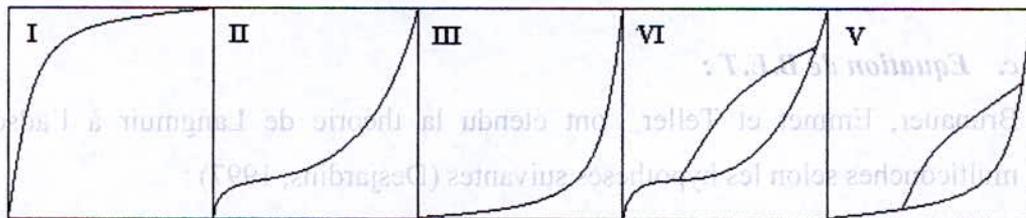


Figure 2 : représentation graphique des isothermes de type I, II, III, VI et V (S. Bouchtaoui, 2003)

## 2.5. Représentation mathématique des isothermes d'adsorption :

### a. Equation de Freundlich :

Selon Freundlich,

$$x/m = k P^n$$

x : quantité d'adsorbat adsorbé ;

m : quantité du solide adsorbant ;

P : pression à l'équilibre ;

k et n : constantes expérimentales positives, fonctions de la température, de la nature de l'adsorbat et de l'adsorbant.

L'équation représente une adsorption en monocouches localisées sans interactions (Desjardins, 1997).

**b. Equation de Langmuir :**

Selon Langmuir,

$$V = (V_m \cdot a \cdot P) / (1 + a \cdot P)$$

Cette équation peut être mise sous une autre forme (Desjardins, 1997) :

$$P/V = (P/V_m) + (1/(a \cdot V_m))$$

V : volume adsorbé à la pression P

V<sub>m</sub> : volume pour lequel tous les sites sont occupés

a : constante de Langmuir

L'équation de Langmuir est établie selon les hypothèses suivantes :

- existence de plusieurs sites d'adsorption à la surface du charbon actif ;
- l'affinité pour le soluté est la même pour tous les sites ;
- l'activité à un site n'affecte pas celle aux sites adjacents ;
- un site ne peut adsorbé qu'une seule molécule.

**c. Equation de B.E.T :**

Brunauer, Emmet et Teller ont étendu la théorie de Langmuir à l'adsorption en multicouches selon les hypothèses suivantes (Desjardins, 1997) :

- les sites d'adsorption sont identiques ;
- la coexistence de diverses couches de différentes épaisseurs est possible ;
- les sites sont indépendants les uns des autres ;
- la première couche de molécule est retenue par l'énergie d'adsorption, alors que les autres couches sont, elles, retenues par l'énergie de condensation.

L'équation de B.E.T s'écrit :

$$P / (V (P_0 - P)) = (1/V_m \cdot C) + [(C-1) / (V_m \cdot C)] (P/P_0)$$

P<sub>0</sub> : pression de saturation et C une constante.

## Chapitre 3 : Traitement biologique

### 1. Biodégradation et biodégradabilité :

#### 1.1. Définition :

La biodégradation est un processus naturel de détérioration des substances. Une matière est dite biodégradable, si elle est apte à être éliminée par des microorganismes, le résultat final étant la formation de  $H_2O$ ,  $CO_2$  ou  $CH_4$ .

La biodégradabilité est un paramètre qui caractérise l'impact d'un produit ou d'une substance sur l'environnement. Elle est directement liée à son aptitude et à sa vitesse de disparition en milieu biologique naturel. Plusieurs facteurs peuvent influencer la biodégradabilité, parmi lesquels le temps, la température, le pH...

#### 1.2. Détermination de la biodégradabilité :

Pour la détermination de la biodégradabilité deux paramètres sont à prendre en considération (Berne, 1999 ; Dégremont, 1989 ; Fresenius, 1990) :

- **la demande biologique en oxygène ( $DBO_5$ )** : elle représente la quantité d'oxygène consommée par les microorganismes pendant cinq jours, lors de l'oxydation de la matière organique. La mesure s'effectue à  $20^\circ C$  à l'obscurité ;
- **la demande chimique en oxygène ( $DCO$ )** : elle représente la consommation en oxygène lors d'une oxydation chimique, elle enveloppe tout ce qui est susceptible de demander de l'oxygène (sels minéraux oxydables, composés organiques...). La mesure s'effectue par la méthode de dichromate de potassium, à chaud en deux heures.

Le rapport entre ces deux paramètres  $DCO/DBO_5$  représente la fraction de matière qui est biodégradable (Cardot, 1999). En d'autres termes :

- pour un rapport  $DCO/DBO_5$  de 1,5 la charge polluante est spontanément biodégradable ;
- pour un rapport  $DCO/DBO_5$  entre 2 et 3 la pollution est biodégradable à condition de mettre au point un traitement adéquat ;
- pour un rapport  $DCO/DBO_5$  supérieur à 5 la pollution est non biodégradable, il faut avoir recours dans ce cas à un traitement physico-chimique.

En ce qui concerne le phénol, le rapport DCO/DBO<sub>5</sub> est de 2,3/1,8 soit 1,3 (Berne, 1991).

## 2. Culture des microorganismes :

### 2.1. Généralités :

La dégradation biologique est un phénomène assez complexe, elle est la source de vie des microorganismes et de ses manifestations (reproduction, croissance, déplacement...). L'action des bactéries se fait à l'aide de molécules protéiniques appelées enzymes qui jouent le rôle de catalyseurs organiques au cours des réactions biologiques. La caractéristique première des enzymes est leur spécificité ainsi que leurs actions multiples (Gomella, 1983).

### 2.2. Métabolisme bactérien :

Le métabolisme de la matière organique dans un procédé biologique aérobie peut être décrit comme suit :

- Matière organique + O<sub>2</sub> + N + P → microorganismes + CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O + résidu soluble non dégradé.
- Microorganismes + O<sub>2</sub> → CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O + N + P + résidu cellulaire non dégradé (Ecknfelder, 1982).

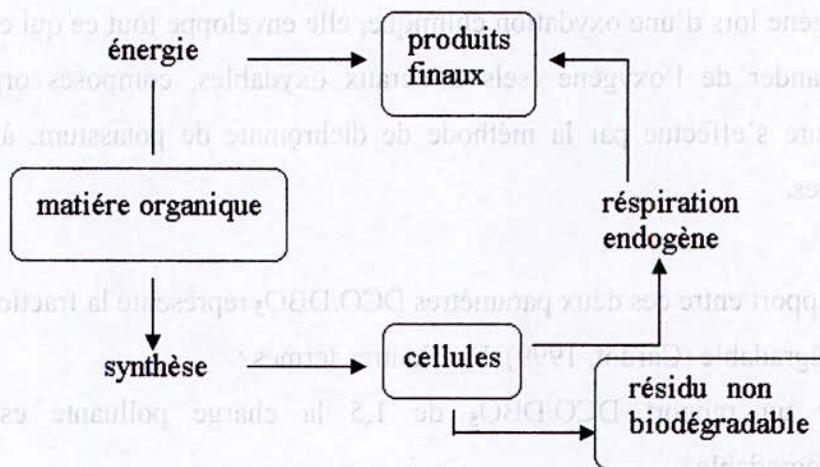


Figure 3 : mécanisme du métabolisme aérobie (Ecknfelder, 1982)

La nutrition des microorganismes peut se décomposer en quatre phases (Edeline, 1980) :

- **transport** des aliments depuis le liquide jusqu'à la surface de la bactérie ;
- **adsorption** des aliments sur la membrane cellulaire (pour les organismes incapables de se mouvoir pour prendre leur nourriture) ;
- **prédigestion** par des exoenzymes ou des enzymes de surface, pour réduire les dimensions des molécules ;
- **perméation** ou franchissement de la membrane cellulaire ; métabolismes avec ses deux aspects : anabolisme et catabolisme.

Le milieu de culture, où évoluent les microorganismes, doit par sa composition satisfaire deux fonctions (Roques, 1980) :

- mettre à la disposition des microorganismes un composé facilement dégradable dont l'énergie de dégradation pourra être récupérée par eux pour l'édification de nouvelles cellules ;
- mettre à la disposition des microorganismes les éléments indispensables à l'édification de ces nouvelles cellules : eau, carbone surtout mais aussi azote, phosphore, soufre, potassium, sodium, magnésium, etc....

La présence d'un de ces éléments en quantité insuffisante induit à une carence dans le milieu de culture. Un élément est dit limitant dans le cas où son épuisement après consommation par les microorganismes provoque un arrêt de la croissance, c'est donc cet élément qui règle la croissance.

### 2.3. Croissance en milieu non renouvelé :

La croissance bactérienne en milieu non renouvelé est définie à l'aide de deux paramètres (Cardot, 1999) qui sont :

- **le temps de génération  $G$  [h]** : définie comme étant le temps nécessaire au dédoublement de génération ;
- **la vitesse spécifique de croissance  $\mu$  [ $h^{-1}$ ]** : plus souvent appelée taux de croissance, elle représente l'accroissement de biomasse par unité de temps ramené à l'unité de biomasse.

La croissance d'une biomasse peut se quantifier par l'expression :

$$N = N_0 2^n \quad (1)$$

$N_0$  : nombre de bactéries au temps  $t = 0$  ;

$N$  : nombre de bactéries au temps  $t$  quelconque ;

$n$  : nombre de divisions.

La concentration en substrat consommé, quant à elle, peut être représentée par l'équation suivante :

$$dS/dt = - k S \quad (2)$$

$dS/dt$  : variation de la concentration du substrat en fonction du temps ;

$S$  : concentration en substrat à un temps  $t$  ;

$k$  : constante de la cinétique de dégradation ;

Le signe moins représente la disparition du substrat.

#### 2.4. Courbe de croissance :

La croissance bactérienne en milieu non renouvelé se déroule en quatre phases (figure 4):

##### **Phase I : Phase de latence ou d'adaptation**

Pendant cette phase les microorganismes synthétisent les enzymes qui leurs sont nécessaires pour métaboliser le substrat. Aucune croissance n'y est perceptible (Scriban, 1999). La durée de cette phase dépend :

- de l'espèce étudiée : certaines bactéries s'adaptent plus vite que d'autres ;
- de l'inoculum : plus le nombre de cellule est élevé plus la période d'adaptation est courte ;
- de l'âge de la bactérie, qui correspond à la phase initiale de prélèvement : plus la bactérie est jeune plus la phase de latence est courte ;
- de la composition du milieu : si l'inoculum est prélevé en phase exponentielle d'un milieu et est introduit dans un milieu neuf de composition identique la phase de latence sera plus courte que si la composition des deux milieux est différente.

Du point de vue pratique, il est important de réduire cette période au maximum (Roques, 1980). Cela peut être réalisé :

- en inoculant une quantité importante de germes ;
- en travaillant à une température proche de la température optimale de croissance ;

- en utilisant un milieu de culture bien équilibré ;
- mais surtout et essentiellement, en prélevant l'inoculum sur une colonie vivante au stade de la phase exponentielle.

**Phase II : Phase de croissance exponentielle**

Lors de cette phase il y a un accroissement des microorganismes jusqu'à l'atteinte d'un taux de croissance maximum, ce qui présuppose un milieu riche en éléments nutritifs. La vitesse de croissance augmente proportionnellement à la concentration microbienne, d'où l'allure exponentielle du phénomène (figure 4). Le taux de croissance bactérienne est quant à lui constant et maximal (Scriban, 1999) :

$$(1/x) (dx/dt) = \mu_{max} \quad (3)$$

x : concentration en biomasse à n'importe quelle phase de croissance ;

dx/dt : variation de la biomasse en fonction du temps.

$\mu_{max}$  : taux de croissance maximal

**Phase III : Phase stationnaire**

Pendant la phase exponentielle les microorganismes consomment le substrat S jusqu'à épuisement ; le milieu devient alors de moins en moins favorable à la croissance. La disparition du substrat S induit donc un ralentissement de la croissance qui tend vers une limite : l'arrêt de la multiplication des microorganismes (Scriban, 1999).

**Phase IV : Phase de déclin**

C'est une phase de respiration endogène ou d'autolyse au cours de laquelle le nombre de bactéries décroît (Cardot, 1999 ; Gomella, 1983 ; Roques, 1980)

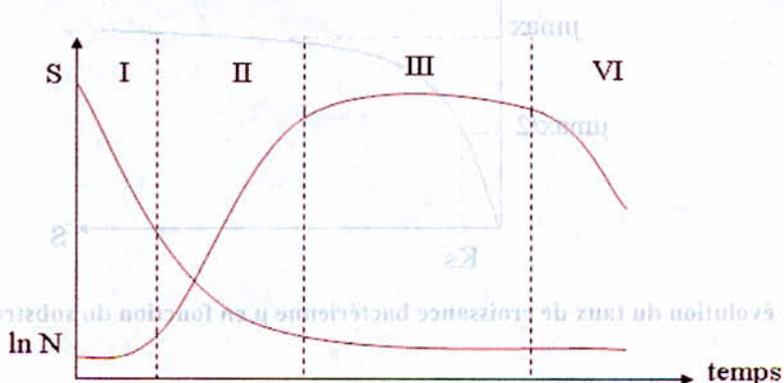


Figure 4 : courbe de croissance microbienne et de consommation du substrat (Scriban, 1999)

### 2.5. Modélisation de la courbe de croissance :

La modélisation de la courbe de croissance microbienne consiste à traduire sous forme mathématique la courbe de croissance ainsi que l'influence de différents paramètres sur la forme de la courbe. Il existe de nombreux modèles qui traduisent la croissance des microorganismes tel que les modèles de Teisser, de Moser, de Powell, de Herbert, de Monod... Parmi tous ces modèles, celui de MONOD qui s'inspire des lois de la cinétique enzymatique, est l'un des plus anciens, des plus connus et des plus utilisés (Hao et al, 2001 ; Roques, 1980).

Cette équation qui représente le taux de croissance bactérienne en fonction de la concentration en substrat est utilisée pour décrire l'élimination d'un substrat unique (Reardon et al, 2002 ; Scriban, 1999 ; Swisher, 1987). Nous avons donc :

$$\mu = (1/x) (dx/dt) = \mu_{\max} S / (K_s + S) \quad (4)$$

S : concentration en substrat principal ;

$\mu$  : taux de croissance ;

$\mu_{\max}$  : taux de croissance maximal ;

$K_s$  : constante de MONOD qui représente la concentration seuil au-dessous de laquelle le taux de croissance devient dépendant de la concentration en substrat principal.

Pour une valeur de S qui tend vers  $K_s$ ,  $\mu = \mu_{\max}/2$  ;

x : concentration en biomasse à n'importe quelle phase de croissance ;

dx/dt : variation de la biomasse en fonction du temps.

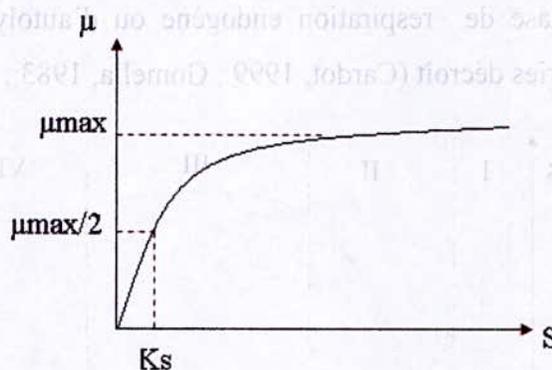


Figure 5 : évolution du taux de croissance bactérienne  $\mu$  en fonction du substrat S (Scriban, 1999)

### 3. Procédés d'épuration biologique aérobie :

Différentes techniques sont utilisées en épuration biologique aérobie, les plus classiques restent les boues activées, les lits bactériens et les filtres biologiques. D'autres techniques ont aussi été étudiées telles que l'utilisation de bactéries immobilisées ainsi que la combinaison adsorption biodégradation.

#### 3.1. Réacteurs biologiques :

Le traitement de l'eau dans un réacteur biologique met en jeu des bactéries qui peuvent être de deux types selon le mode respiratoire :

- **aérobies** : qui croissent en présence d'oxygène. Les procédés aérobie sont plus utilisés pour le traitement biologique des effluents ;
- **anaérobies** : qui se développent en absence d'oxygène. Les procédés anaérobies quant à eux, sont généralement utilisés pour le traitement des boues (Gomella, 1983).

Les réacteurs biologiques peuvent être classés en deux catégories :

- **réacteur continu** : la culture des microorganismes se fait dans ce cas en milieu renouvelé, le réacteur est dit ouvert, il y a apport continu de substrat ;
- **réacteur discontinu** : la culture dans ce cas se fait en milieu non renouvelé, le réacteur est dit fermé.

Le rôle d'un réacteur biologique est de réaliser (Roques, 1980) :

- une isolation parfaite vis-à-vis du milieu extérieur afin d'éviter toutes contaminations par des germes étrangers ;
- une régulation de la température à une valeur proche de l'optimum ;
- une agitation convenable pour homogénéiser le milieu réactionnel ;
- une oxygénation suffisante dans le cas de culture aérobie ;
- et une régulation du pH.

#### 3.2. Procédé par boues activées :

Le procédé par boues activées, appelé également procédé par bactéries libres, est la technique la plus utilisée dans l'épuration des eaux résiduaires. Le principe est des plus simples : des cultures libres en suspension dans un bassin sont mises en contact avec la pollution et la dégradent en présence d'oxygène. L'oxygénation est assurée par le couple aération-brassage (Cardot, 1999). Ce type de procédé est suivi d'un décanteur qui a pour

fonction de clarifier l'eau traitée et de concentrer les boues activées qui seront utilisées pour le recyclage en continu du bassin en amont. Le recyclage en question est nécessaire pour réensemencer l'eau afin d'éviter un appauvrissement en microorganismes (Berne, 1991).

### **3.3. Procédé par lits bactériens :**

Le principe consiste à faire ruisseler l'eau en continu dans des tours où un contre courant d'air circule par tirage naturel (Berne, 1991). Les tours sont constituées de supports inertes sur lesquels sont fixés les microorganismes pour former un biofilm (Edeline, 1980). La fixation des microorganismes est possible grâce à une matière gélatineuse produite par les microorganismes à l'intérieur de laquelle ces derniers ont une certaine mobilité (Dégrémont, 1989). Les supports inertes peuvent être de différentes natures, pouzzolane, coke, garnissages plastiques...

### **3.4. Procédé par filtres biologiques :**

Ce procédé est également appelé procédé par cultures fixées sur lit granulaire. Les masses de contact sont constituées de grains de quelques millimètres (sables, anthracite ou laitier). Ce type de technique est mis en place dans des enceintes de faible diamètre et sur des planchers-supports équipés d'un système de lavage par contre courant d'eau et d'air (Berne, 1991).

### **3.5. Procédé par combinaison adsorption biodégradation (bioadsorption) :**

La combinaison adsorption sur charbon actif biodégradation est un procédé semblable à celui des lits bactériens. La différence est dans la nature du support qui n'est plus inerte mais met en jeu des phénomènes d'adsorption.

L'utilisation de colonnes de charbon actif seul présente l'inconvénient de se saturer au bout d'un certain temps d'utilisation, ce qui conduit à un arrêt du processus afin de régénérer le charbon. D'un autre côté l'utilisation de cultures bactériennes libres présente aussi un inconvénient qui est la limitation du contact entre le polluant et les bactéries. La combinaison adsorption sur charbon actif biodégradation, peut palier à ces problèmes. Les bactéries présentes dans les pores du charbon jouent deux rôles, celui de minéralisateur de la matière organique ainsi que de régénérateur in situ du charbon. Le charbon actif quant à lui, grâce à son haut pouvoir adsorbant et à sa grande surface spécifique, offre aux bactéries des fissures où elles peuvent loger et y avoir un meilleur

contact avec la pollution à dégrader (Abu-Salah et *al*, 1996; Walker et Weatherley, 1997).

### **3.6. Procédé par bactéries immobilisées :**

De nombreux travaux se sont intéressés à l'épuration des eaux à l'aide de bactéries immobilisées (Abd-El-Haleem et *al*, 2003; Beshay et *al*, 2002; Gonzalez et *al*, 2001 ; Mordocco et *al*, 1999 ; Sà et Boaventura, 2001...). La technique consiste à immobiliser une culture bactérienne dans des billes d'alginate de calcium.

L'immobilisation de cellules entières présente de nombreux avantages parmi lesquels:

- la séparation facile du produit du catalyseur ;
- la possibilité de régénérer le biocatalyseur pour un nouvel emploi ;
- une moins grande susceptibilité aux contaminations ;
- la non nécessité de procéder à une purification, comparée à l'immobilisation d'enzymes (Boyaval et *al*, 1985) ;
- la résistance aux solvants organiques (Beshay et *al*, 2002) ;
- la concentration en biomasse plus élevée ;
- l'utilisation de taux de dilution élevés lors d'une culture en continu, sans pour autant affecter le nombre de bactéries ;
- la résistance à l'inhibition (Sà et Boaventura, 2001).

# **Etude expérimentale**

## 1. Matériel et méthodes :

### 1.1. Stérilisation :

Tout le matériel ainsi que les milieux de culture ont été stérilisés à l'autoclave et à une température de 120°C pendant 20mn.

### 1.2. Souche bactérienne utilisée :

La souche bactérienne utilisée lors des expérimentations est une souche pure de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 2785, qui peut être définie comme suit : *Bactérium aeruginosium* décrit par SHROTER (1872) et MIGULA (1900). Elle se cultive facilement sur milieu ordinaire à pH 6,6 à 7 et à une température variant entre 10 et 40°C. Gram négatif, Chimioorganotrophes et oxydase plus, elle est aérobie stricte, jamais fermentatif et possède un métabolisme respiratoire avec gélatinase, caséase et nitrate réductase très actives ; elle est aussi utilisée pour la récupération de métaux lourds en milieu hydrique (Bugnicourt, 1995 ; Pelczar.Jr, 1982).

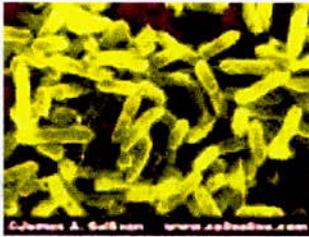


Figure 11 : *Pseudomonas aeruginosa*



Figure 12 : colonies de *Pseudomonas aeruginosa*

### 1.3. Milieu de culture :

Dans le but de satisfaire les besoins nutritif de notre souche, la composition du milieu de culture fut la suivante (mg/l) :  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 150 ;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 50 ; NaCl, 50 ;  $\text{MgSO}_4$ , 50 ;  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , 300 ;  $\text{CaCl}_2$ , 20 ;  $\text{FeSO}_4$ , 20 ; ainsi que 200 mg de phénol (Sheega et Murugesan, 2002).

Tous les éléments minéraux ont été mis dans le milieu avant stérilisation à l'exception du  $\text{CaCl}_2$ , du  $\text{FeSO}_4$  et du phénol qui ont été ajoutés après la stérilisation en utilisant une stérilisation par filtration.

### 1.4. Préculture :

Dans le but d'adapter notre souche au phénol et de minimiser sa phase de latence, nous avons procédé à une préculture : 100 ml du milieu de cultureensemencés par la

souche bactérienne ont été incubés à la température de 37°C pendant 48h. 2g/l d'extrait de levure ont été ajoutés au milieu pour accélérer la croissance bactérienne.

L'ensemencement du milieu s'est fait par frottement d'une pipette pasteur dans un tube de conservation contenant la souche puis introduction de la pipette dans le milieu de préculture.

### **1.5. Expérimentation :**

Un Erlenmeyer de 2 litres contenant 1 litre de milieu de culture et posé sur un agitateur magnétique chauffant a servi de réacteur lors de nos expérimentations.

La souche adaptée au milieu de culture a été récupérée, centrifugée pendant 30 minutes à la vitesse de 6000 trs/min et doublement lavée à l'eau distillée stérile. Le culot obtenu a ensuite été mélangé à 10 ml d'eau physiologique stérile et introduit dans le réacteur.

Toutes les expérimentations se sont déroulées à la température de 30°C, avec une agitation modérée qui a permis l'aération du réacteur ainsi qu'un meilleur transfert de matières entre le milieu et les bactéries.

L'élimination du phénol a été suivie selon trois techniques différentes:

- ***bactéries libres*** : la méthode a consisté tout simplement à mettre notre souche en suspension dans notre milieu réactionnel en présence du phénol ;
- ***bactéries fixées sur charbon actif en grain*** : le charbon ainsi que la souche ont été mis en suspension dans le réacteur. Différentes concentrations de charbon actif ont été utilisées : 5, 2, 1 (g/l). Une adsorption, qui a servi de référence, a été réalisée en parallèle pour les mêmes concentrations en charbon actif ;
- ***bactéries immobilisées dans des billes d'alginate de calcium*** : après mélange du culot bactérien dans 100ml d'une solution d'alginate de sodium 3% (p/v), des billes ont été formées par introduction du mélange dans 100ml d'une solution de CaCl<sub>2</sub> à 3% (p/v) par un système de gouttes à gouttes. Les billes ont ensuite été mises à l'étuve pendant deux heures dans le but de compléter l'échange d'ions Calcium-Sodium, avant d'être introduites dans le réacteur (Mordocco et al, 1999).

Pour suivre l'évolution des différentes concentrations en phénol et en biomasse, des prélèvements de 10 ml ont été effectués à des intervalles de temps réguliers et analysés.

### 1.6. Méthode analytique :

#### a. Détermination de la concentration en biomasse:

Après prélèvement de l'échantillon, une lecture directe de la densité optique (DO) au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 600 nm a été faite.

#### b. Dosage du phénol :

Le dosage du phénol s'est fait par deux méthodes :

- **méthode directe** : dans le cas de l'adsorption simple, par lecture directe de la DO du phénol sur un spectrophotomètre UV-visible «SHIMADZU» à la longueur d'onde de 270 nm, qui a été déterminée après un balayage du spectre.
- **méthode indirecte** : par dosage à l' amino 4 antipyrine et lecture de la DO au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 510 nm (annexe n°1). Cette méthode a été utilisée lors de la biodégradation en raison de la présence de produits secondaires qui en sont issus et qui absorbent dans le voisinage immédiat de la longueur d'onde du phénol (Rodier, 1989).

Pour les trois méthodes, les différentes concentrations ont été obtenues grâce à des courbes d'étalonnage faites au préalable (annexes n°1).

### 1.7. Modèles mathématiques utilisés :

#### a. Détermination du taux de croissance bactérienne :

Pour la détermination du taux de croissance bactérienne  $\mu$  nous avons utilisé la forme linéarisée de l'équation (1) (Cardot, 1999) et en posant  $n = \mu t$ , ce qui nous donne :

$$\ln N = \mu t \ln 2 + \ln N_0 \quad (5)$$

$\ln N_0$  : logarithme de la biomasse au temps  $t = 0$  ;

$\ln N$  : logarithme de la biomasse à un temps  $t$  quelconque ;

$\mu$  : taux de croissance ou vitesse spécifique de croissance bactérienne;

$n$  : nombre de divisions.

#### b. Détermination de la constante de la cinétique de dégradation :

La constante de la cinétique de dégradation  $k$  est déterminée après intégration de l'équation (2) (Cardot, 1999). Nous obtenons donc :

$$\ln S = -k t + \ln S_0 \quad (6)$$

$\ln S_0$  : logarithme de la concentration en substrat au temps  $t = 0$  ;

$\ln S$  : logarithme de la concentration en substrat à un temps  $t$  quelconque ;

$k$  : constante de la cinétique de dégradation.

#### Remarque :

Les valeurs de  $k$  et de  $\mu$  sont données respectivement par les pentes des courbes  $\ln S$  et  $\ln N$  en fonction du temps (annexe n°3).

#### c. Détermination de la quantité de phénol biodégradé lors de la bioadsorption :

Lors de l'utilisation de la bioadsorption nous avons une quantité de phénol éliminée qui est la somme de deux mécanismes. Nous avons, d'une part, une partie adsorbée dans les pores du charbon actif sans être attaquée par les bactéries et, d'autre part, une partie qui est consommée par les bactéries. La détermination de cette dernière peut se faire à l'aide de la relation suivante (Walker et Weatherley, 1996) :

$$S_{\text{bio}} = S_{\text{bioads}} - S_{\text{ads}} \quad (7)$$

$S_{\text{bio}}$  : concentration en phénol biodégradé ;

$S_{\text{bioads}}$  : concentration en phénol dégradé lors des essais en bioadsorption ;

$S_{\text{ads}}$  : concentration en phénol dégradé lors des essais en adsorption sous les mêmes conditions.

#### d. Détermination du taux de dégradation du phénol :

Le taux de dégradation du phénol est calculé comme suit :

$$\text{Taux de dégradation \%} = 100 \cdot (S_0 - S_f) / S_0 \quad (8)$$

$S_0$  : concentration initiale en phénol ;

$S_f$  : concentration finale en phénol.

**2. Résultats et discussion :**

**2.1. Biodégradation du phénol par bactéries libres :**

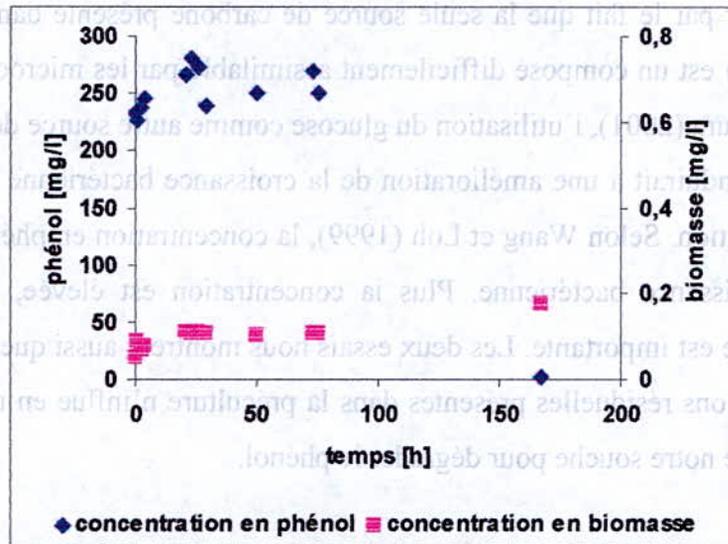


Figure 13 : biodégradation du phénol par bactéries libres à 30 °C (essai n° 1)

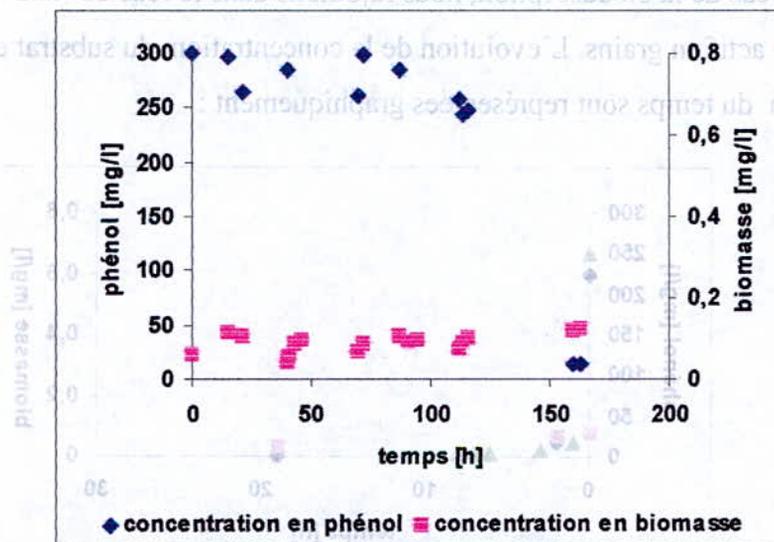


Figure 14 : biodégradation du phénol par bactéries libres à 30°C (essai n°2)

L'essai n°1 (figure 13) est effectué en introduisant directement la préculture dans le réacteur sans centrifugation ni lavage préalables, contrairement à l'essai n°2 (figure 14) où la préculture est centrifugée ; le culot obtenu, doublement lavé avec une eau stérile, est remis en suspension dans 10ml d'eau physiologique stérile avant d'être introduit dans le réacteur. Cette méthodologie vise à éliminer la quantité résiduelle de nutriments présente dans la préculture. Lors des deux essais, notre souche a mis environ 160h pour dégrader la quasi-totalité du phénol mis en solution. Nous remarquons, selon les figures

13 et 14, que les bactéries prennent beaucoup de temps (entre 75h et 112h) avant de commencer à dégrader le phénol. La concentration en biomasse, quant à elle, est relativement faible et ne dépasse pas les 0.2 mg/l à la fin de la biodégradation. Ceci peut s'expliquer par le fait que la seule source de carbone présente dans notre milieu est le phénol, qui est un composé difficilement assimilable par les microorganismes. Selon Sà et Boaventura (2001), l'utilisation du glucose comme autre source de carbone, en plus du phénol, conduirait à une amélioration de la croissance bactérienne et du phénomène de biodégradation. Selon Wang et Loh (1999), la concentration en phénol influe, elle aussi, sur la croissance bactérienne. Plus la concentration est élevée, moins la croissance bactérienne est importante. Les deux essais nous montrent aussi que le fait d'éliminer les concentrations résiduelles présentes dans la préculture n'influe en rien sur le temps que peut mettre notre souche pour dégrader le phénol.

**2.2. Dégradation du phénol par adsorption et bioadsorption :**

Dans le cas de la bioadsorption, nous rajoutons dans le réacteur une quantité connue de charbon actif en grains. L'évolution de la concentration du substrat et de la biomasse en fonction du temps sont représentées graphiquement :

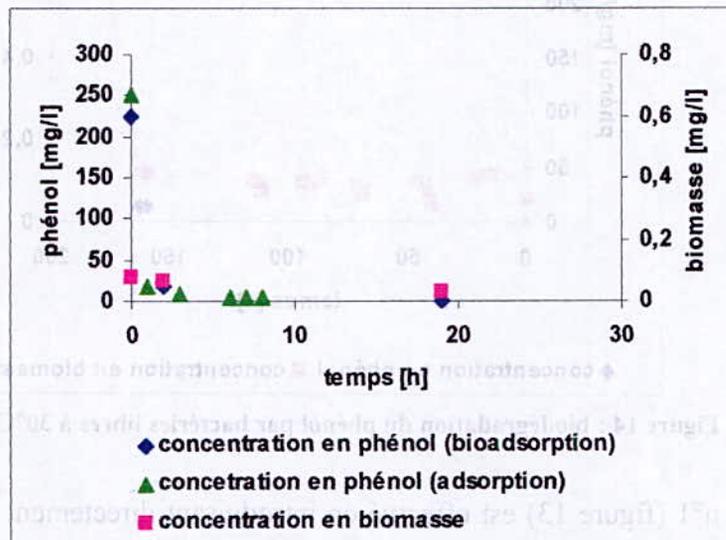


Figure 15 : adsorption et bioadsorption du phénol sur 5g de charbon actif en grain à 30 °C

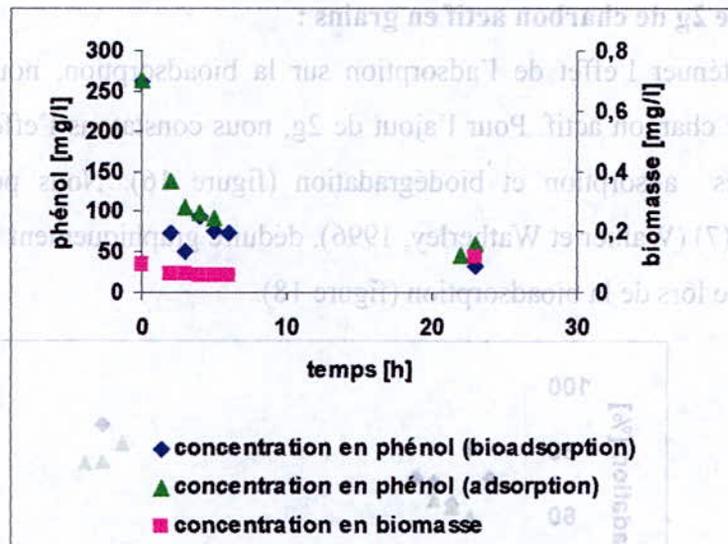


Figure 16 : adsorption et bioadsorption du phénol sur 2g de charbon actif en grain à 30 °C

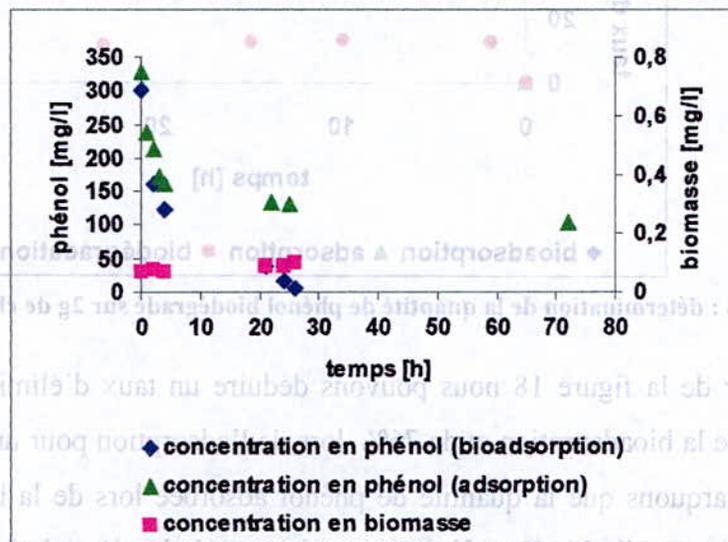


Figure 17 : adsorption et bioadsorption du phénol sur 1g de charbon actif en grain à 30 °C

**A/ Ajout de 5g de charbon actif en grains :**

Comme nous pouvons le constater sur la figure 15, les courbes adsorption et bioadsorption se confondent dans le cas d'ajout d'une grande quantité d'adsorbant, toute la matière dissoute et une partie de la matière en suspension (bactéries) sont adsorbées, le déficit du milieu en nutriments entraîne une mortalité des microorganismes restés en suspensions. On suppose que la partie microbienne adsorbée continue à croître en utilisant les nutriments adsorbés : ce qui entraîne une régénération in situ de notre adsorbant . Des travaux effectués par Abu-Salah et al (1996) montrent que pour des concentrations comprises entre 300 et 600mg/l, la dégradation du phénol par bioadsorption sur charbon actif en poudre s'effectue immédiatement dès le début de la réaction sans passer par un palier.

**B/ Ajout de 2g de charbon actif en grains :**

Pour atténuer l'effet de l'adsorption sur la bioadsorption, nous avons diminué la quantité de charbon actif. Pour l'ajout de 2g, nous constatons l'effet combiné des deux mécanismes adsorption et biodégradation (figure 16). Nous pouvons, à l'aide de l'équation (7) (Walker et Watherley, 1996), déduire graphiquement la quantité de phénol biodégradée lors de la bioadsorption (figure 18).

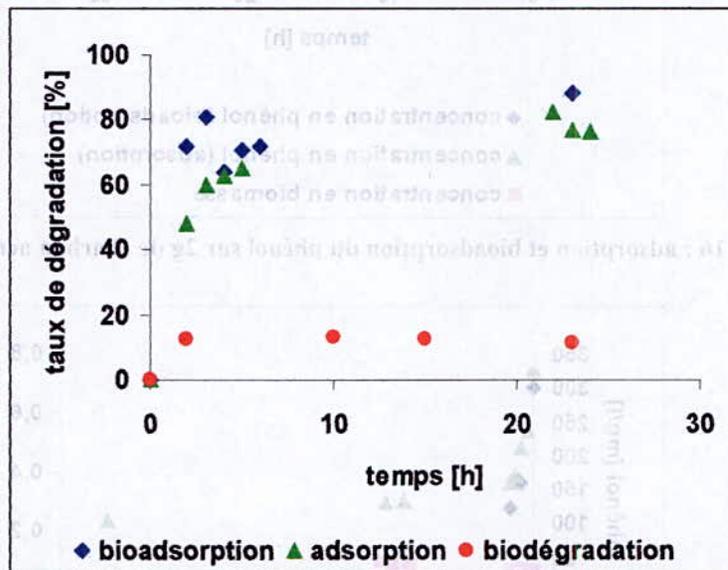


Figure 18 : détermination de la quantité de phénol biodégradé sur 2g de charbon actif en grain

A partir de la figure 18 nous pouvons déduire un taux d'élimination du phénol de 88% lors de la bioadsorption et de 76% lors de l'adsorption pour un même temps (23h). Nous remarquons que la quantité de phénol adsorbée lors de la bioadsorption est plus importante que celle biodégradée, puisque le taux de biodégradation obtenu ne dépasse pas les 11%.

**C/ Ajout de 1g de charbon actif en grains :**

Lors de cette expérience, nous constatons qu'en diminuant la quantité de charbon actif en grains, nous améliorons la bioadsorption, puisque nous obtenons un taux de dégradation du phénol de 98% en 26h, alors que le taux de dégradation du phénol lors de l'adsorption n'atteint que 68.5% en 71h. De plus, nous remarquons que la biomasse en suspension augmente avec la diminution de la quantité en charbon actif (figure 17). De la même manière que dans le cas d'ajout de 2g de charbon actif en grain nous pouvons déterminer la quantité de phénol biodégradé (figure 19).

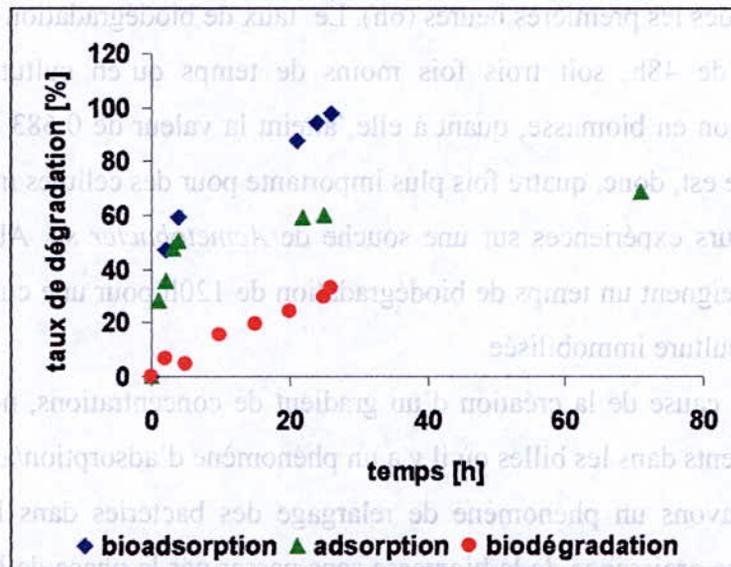


Figure 19 : détermination de la quantité de phénol biodégradé sur 1g de charbon actif en grain

La diminution de la quantité de charbon actif ajouté favorise le phénomène de biodégradation. Nous obtenons dans ce cas un taux de biodégradation de 33.5%. Cela étant le phénomène d'adsorption lors de la bioadsorption reste prépondérant par rapport au phénomène de biodégradation.

**2.3. Biodégradation du phénol par bactéries immobilisées :**

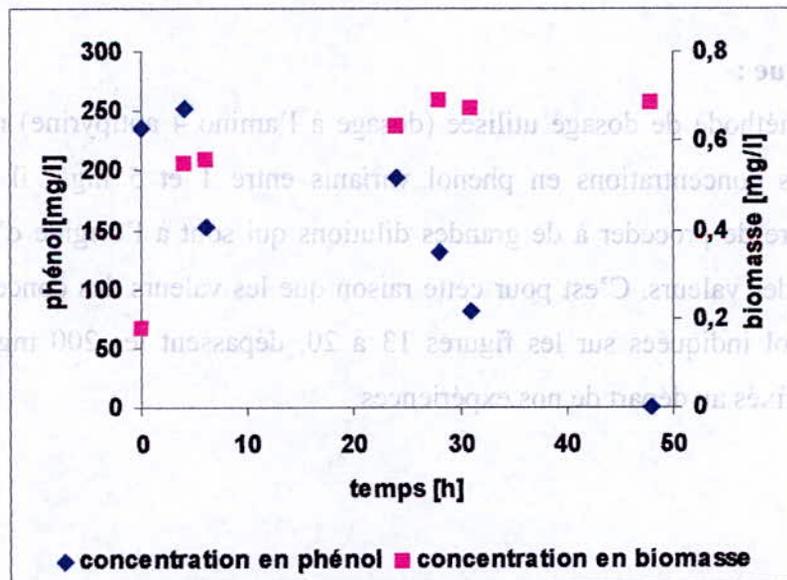


Figure 20 : biodégradation du phénol par bactéries immobilisées à 30 °C

Dans cet essai, contrairement au charbon actif en grains, nos bactéries sont immobilisées dans des billes d'alginate de calcium. Elles ne sont pas adsorbées mais font partie de la masse des billes. Selon la figure 20, l'action des bactéries sur le phénol

est visible dès les premières heures (6h). Le taux de biodégradation obtenu est de 100% en moins de 48h, soit trois fois moins de temps qu'en culture libre (160h). La concentration en biomasse, quant à elle, atteint la valeur de 0.683 mg/l. La croissance bactérienne est, donc, quatre fois plus importante pour des cellules immobilisées.

Lors de leurs expériences sur une souche de *Acinetobacter sp*, Abd-El-Haleem et al. (2003) atteignent un temps de biodégradation de 120h pour une culture libre et de 24h pour une culture immobilisée.

A priori, à cause de la création d'un gradient de concentrations, nous avons diffusion des nutriments dans les billes où il y a un phénomène d'adsorption/absorption. Il s'avère que nous avons un phénomène de relargage des bactéries dans la phase liquide où apparaît une croissance de la biomasse sans passer par la phase de latence, comme cela a été montré lors des travaux de Sheeja et Murugesan (2002). D'autres travaux (Gonzalez et al., 2001) se sont intéressés à la biodégradation du phénol par une souche de *Pseudomonas putida* immobilisée dans des billes d'alginate de calcium, et ont obtenu une dégradation de 1000 mg/l de phénol en 350h. Il a aussi été remarqué lors de ces travaux, que lorsque deux précultures étaient effectuées, le temps de biodégradation du phénol diminuait, et que, sans préculture, aucune biodégradation ne pouvait être observée.

#### Remarque :

La méthode de dosage utilisée (dosage à l'antino 4 antipyrine) n'est valable que pour des concentrations en phénol variant entre 1 et 5 mg/l, il nous a été donc nécessaire de procéder à de grandes dilutions qui sont à l'origine d'erreurs lors de la mesure des valeurs. C'est pour cette raison que les valeurs des concentrations initiales en phénol indiquées sur les figures 13 à 20, dépassent les 200 mg/l que nous nous sommes fixés au départ de nos expériences.

**3. Paramètres cinétiques de biodégradation et de croissance bactérienne :**

Afin de pouvoir comparer entre les cinétiques des différents procédés utilisés nous avons déterminé graphiquement les constantes k de cinétiques de la biodégradation à l'aide de l'équation (7) :  $\ln S = -k t + \ln S_0$

où  $S_0$  représente la concentration initiale en substrat en mg/l ;

S représente la concentration en substrat en mg/l à un temps quelconque ;

k est la constante de cinétique de la dégradation du substrat en  $h^{-1}$  et qui indique la vitesse à laquelle le substrat se dégrade.

Les taux de croissance bactérienne  $\mu$  ont, eux aussi, été déterminés graphiquement à l'aide de l'équation (6) :  $\ln N = \mu t + \ln N_0$

où  $N_0$  représente la concentration initiale en biomasse (l'inoculum) en mg/l ;

N représente la concentration en biomasse en mg/l à un temps t quelconque ;

$\mu$  représente la vitesse spécifique de la croissance bactérienne en  $h^{-1}$ . Il traduit donc, la vitesse à laquelle se développent les bactéries.

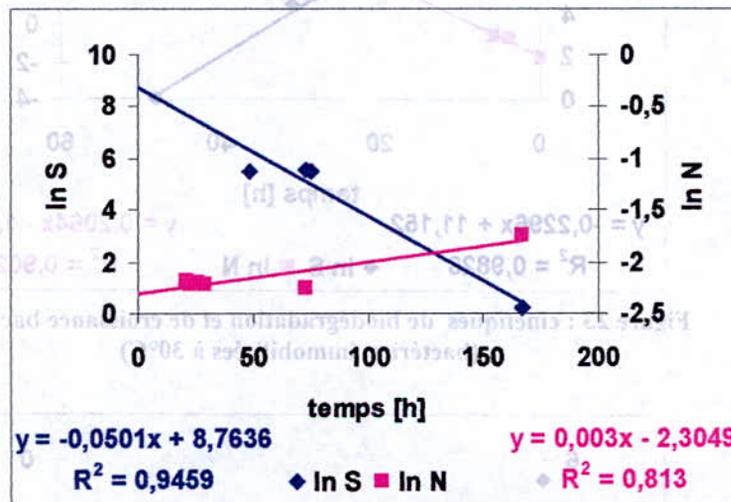


Figure 21 : cinétiques de biodégradation et de croissance bactérienne (bactéries libre à 30°C, essai n°1)

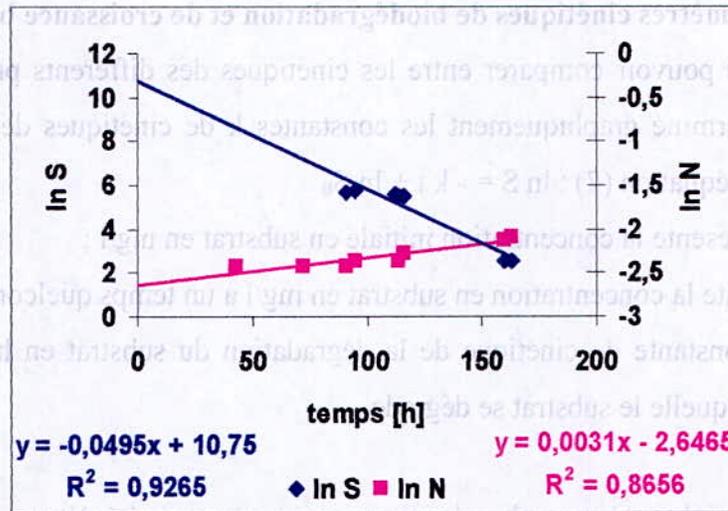


Figure 22 : cinétiques de biodégradation et de croissance bactérienne (bactéries libre à 30°C, essai n°2)

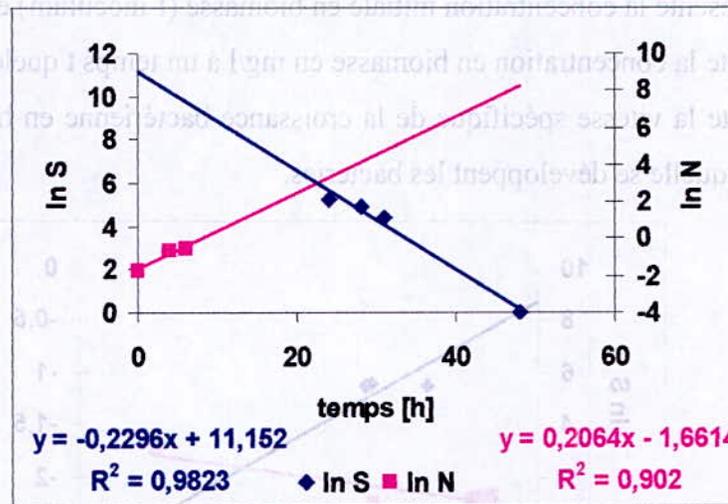


Figure 23 : cinétiques de biodégradation et de croissance bactérienne (bactéries immobilisées à 30°C)

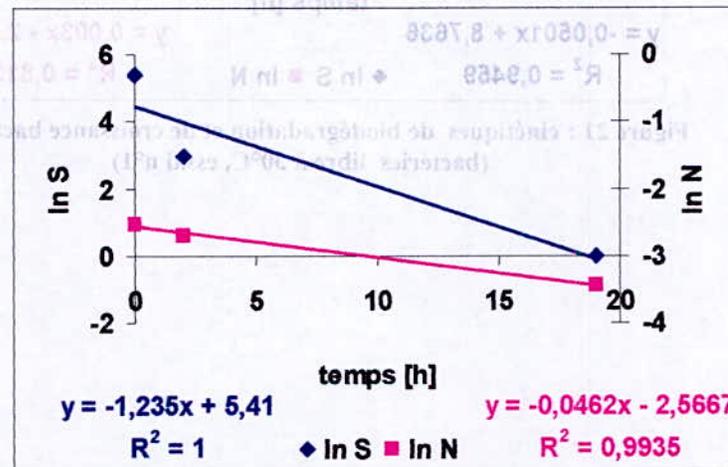


Figure 24 : cinétiques de biodégradation et de croissance bactérienne (bioadsorption sur 5g de charbon actif à 30°C)

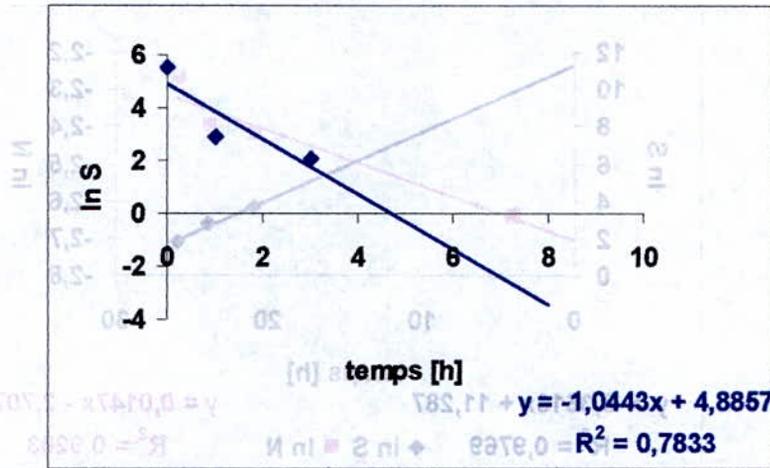


Figure 25 : cinétiques de biodégradation et de croissance bactérienne (adsorption sur 5g de charbon actif)

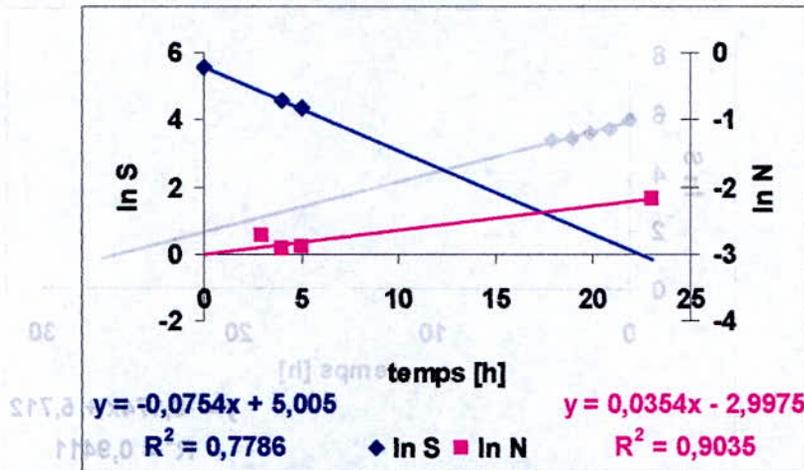


Figure 26 : cinétiques de biodégradation et de croissance bactérienne (bioadsorption sur 2g de charbon actif à 30°C)

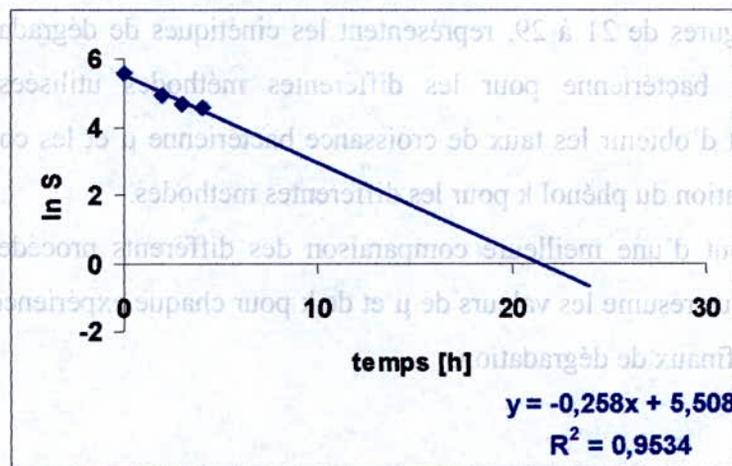


Figure 27 : cinétiques de biodégradation et de croissance bactérienne (adsorption sur 1g de charbon actif)

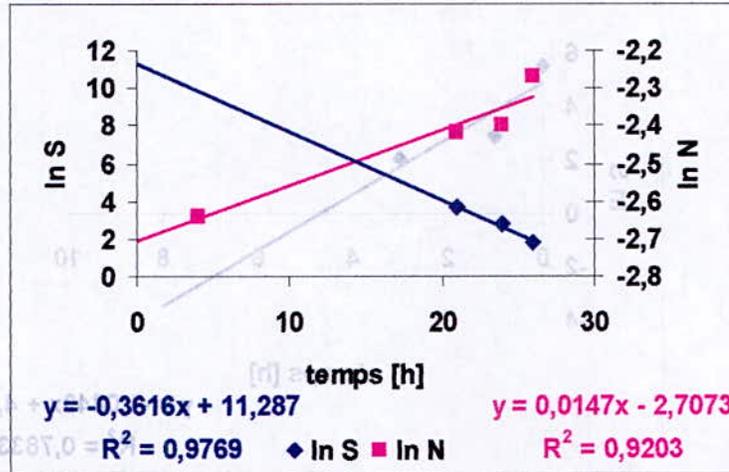


Figure 28 : cinétiques de biodégradation et de croissance bactérienne (bioadsorption sur 1g de charbon actif à 30°C)

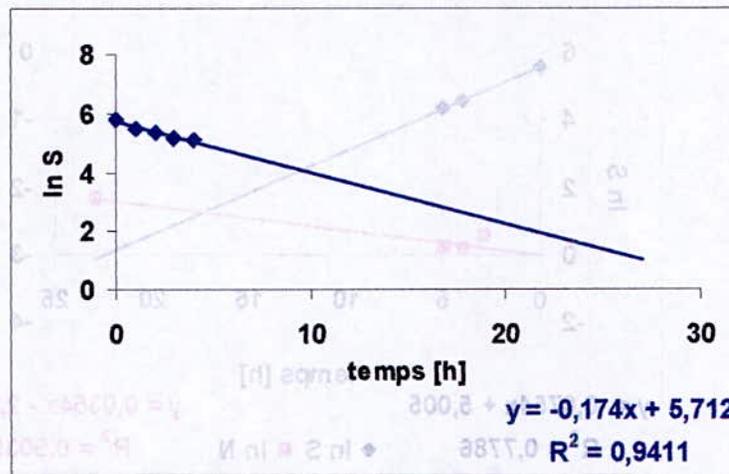


Figure 29 : cinétiques de biodégradation et de croissance bactérienne (adsorption sur 1g de charbon actif)

Les figures de 21 à 29, représentent les cinétiques de dégradation du phénol et de croissance bactérienne pour les différentes méthodes utilisées. Ces figures nous permettent d'obtenir les taux de croissance bactérienne  $\mu$  et les constantes de cinétique de dégradation du phénol  $k$  pour les différentes méthodes.

Dans le but d'une meilleure comparaison des différents procédés étudiés, le tableau suivant nous résume les valeurs de  $\mu$  et de  $k$  pour chaque expérience ainsi que les taux et les temps finaux de dégradation.

Tableau 1 : valeurs de  $\mu$ , de  $k$  et du taux de dégradation pour les différentes expériences

Expérimentation	$\mu$ [ $h^{-1}$ ]	$k$ [ $h^{-1}$ ]	Taux de dégradation [%]	Temps final [h]
Bactéries libres (essai n°1)	0.004	0.057	99.5	167
Bactéries libres (essai n°2)	0.004	0.049	95.5	160
Bactéries immobilisées	0.297	0.229	100	48
Bioadsorption sur 5g de CAG	- 0.066	1.235	100	19
Bioadsorption sur 2g de CAG	0.051	0.075	88	23
Bioadsorption sur 1g de CAG	0.021	0.361	98	26
Adsorption sur 5g de CAG	/	1.044	98.5	6
Adsorption sur 2g de CAG	/	0.258	76	24
Adsorption sur 1g de CAG	/	0.174	68.5	71

Selon les valeurs de  $k$  et de  $\mu$  obtenues, nous pouvons déduire que l'immobilisation des bactéries donne un meilleur taux de croissance bactérienne comparée aux bactéries libres ainsi qu'une meilleure cinétique de biodégradation puisque nous obtenons des valeurs de  $\mu$  et de  $k$  respectivement de  $0.004h^{-1}$  et  $0.05h^{-1}$  pour les bactéries libres et de  $0.297h^{-1}$  et  $0.229h^{-1}$  pour celles immobilisées. Le fait d'immobiliser les bactéries conduit donc, à augmenter de quatre fois leur taux de croissance ainsi que de huit fois leur cinétique de biodégradation.

D'un autre coté, nous pouvons dire que l'augmentation de la quantité de charbon actif lors de l'adsorption améliore la cinétique de dégradation. Ce qui n'est pas le cas lors de la bioadsorption où nous observons que la valeur de  $k$  diminue pour une quantité de 2g de charbon actif ajouté et augmente pour une quantité de 1g. la croissance bactérienne, dans ce cas, suit le chemin inverse puisqu'elle augmente pour 2g de charbon actif et diminue pour une quantité de 1g (figure 30). Ceci peut s'expliquer par le fait que nous avons une combinaison des deux phénomènes d'adsorption et de biodégradation à l'intérieur du charbon actif, et c'est, donc, selon la quantité de charbon ajouté que l'un des deux phénomènes prend le dessus sur l'autre. Selon nos résultats nous pouvons dire

que 1g de charbon actif en grains ajouté est une quantité optimale pour la dégradation du phénol en bioadsorption. Cela étant la dégradation pour d'autres quantités de charbon actif reste à étudier pour pouvoir définir avec exactitude l'optimum. La croissance bactérienne mesurée dans le cas de la bioadsorption, n'est pas très représentative puisque nous ne possédons aucune information quant aux microorganismes qui se développent à l'intérieur du charbon actif. Nous pouvons cependant émettre l'hypothèse d'une régénération in situ du charbon actif par les bactéries.

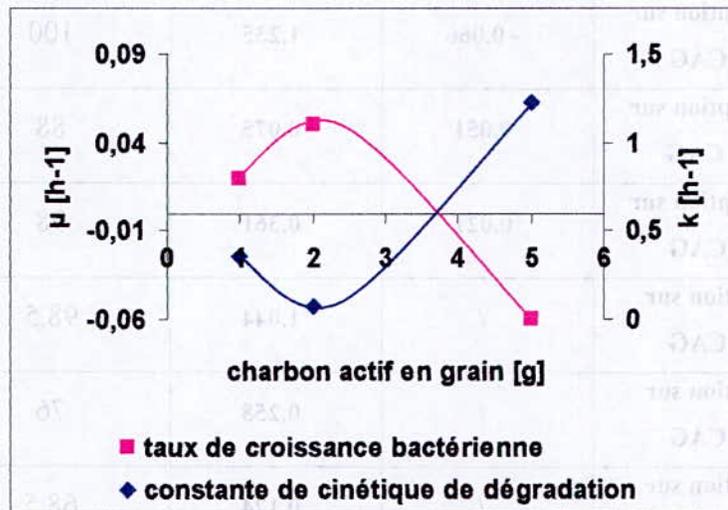


Figure 30 : variation du taux de croissance bactérienne et de la constante de cinétique de la biodégradation du phénol en fonction de la quantité de charbon actif ajouté lors de la bioadsorption

# **Conclusion générale**

### **Conclusion :**

L'eau étant la source de toute vie sur terre, sa contamination pose un grand problème à l'échelle planétaire, d'où l'intérêt de l'élaboration de différentes techniques physico-chimiques et biologique de traitement des eaux. Quelques soient les contraintes, la biodégradation reste préférable car elle conduit à une élimination totale de la pollution.

A l'issu de ce travail, différents résultats peuvent êtres tirés, à savoir :

- l'addition de charbon actif améliore le procédé de dégradation du phénol par *Pseudomonas aeruginosa* en culture batch ;
- l'utilisation de charbon actif seul donne les meilleurs résultats quant à la cinétique d'élimination du phénol par adsorption, cependant cette technique contrairement à l'immobilisation ne conduit qu'à un déplacement de la pollution et non pas à son élimination totale ;
- du point de vue biodégradation, l'immobilisation donne de meilleurs résultats que la bioadsorption.

L'étude de l'élimination du phénol a montré que l'immobilisation des bactéries est le procédé le plus efficace qui permet une dégradation totale du polluant organique. Cependant cette technique reste perfectible. Il faudrait pour cela étudier d'autres conditions opératoires telles que le diamètre des billes, la concentration du polluant dans le milieu à traiter ainsi que la composition de ce dernier, la température...

# **Références bibliographiques**

**References bibliographiques:**

- D. Abd-El-Haleem, U. Beshay, A.O. Abdelhamid, H. Moawad, S. Zaki. Effect of mixed nitrogen sources on biodegradation of phenol by immobilized *Acinetobacter* sp. Strain W-17. African Journal of Biotechnology (2) 2003; 8-12.  
<http://www.academicjournals.org/AJB>
- K. Abu-Saleh, G. Shelef, D. Levanon, R. Armon, C.G. Dosoretz. Microbial degradation of aromatic and polyaromatic toxic compounds adsorbed on powdered activated carbon. Journal of Biotechnology (51) 1996 ; 265-272 .
- F. Berne, J. Cordonnier. Traitement des eaux. Edition Technip 1991, Paris ; 18-21, 115-124 .
- U. Beshay, D. Abd-El-Haleem, H. Moawad, S. Zaki. Phenol biodegradation by free and immobilized *acinetobacter*. Biotechnology Letters (24) 2002; 1295-1297.
- S. Bouchetaoui. Cours chimie physique troisième année génie de l'environnement. Ecole Nationale Polytechnique d'Alger 2002/2003 ; 41-62 .
- P. Boyaval, A. Lebrun, J. Goulet. Etude de l'immobilisation de *Lactobacillus helveticus* dans des billes d'alginate de calcium. Le Lait (65) 1985 ; 185-199 .
- M. Bugnicourt. Dictionnaire de microbiologie générale. Ellipses 1995, France ; 829-830 .
- C. Cardot. Les traitements de l'eau Procédés physico-chimiques et biologiques Cours et problèmes résolus. Ellipses 1999, Paris ; 62, 99-110, 185-194 .
- Dégrémont. Mémento technique de l'eau. Huitième édition 1978, France ; 97-106, 646-647 .
- Dégrémont. Mémento technique de l'eau. Editions du cinquantenaire 1989, France ; 40-41, 291-315 .
- R. Desjardins. Le traitement des eaux. Edition de l'Ecole Polytechnique de Montréal 1997, Canada ; 1-3, 184-190 .
- W. W. Eckenfelder. Gestion des eaux usées urbaines et industrielles. Lavoisier 1982, Paris ; 193-202 .
- F. Edeline. L'épuration biologique des eaux résiduaires Théorie et technologie. Cebedoc 1980, Belgique ; 27-32, 89-126 .
- W. Fresenius, W. Schneider. Technologie des eaux résiduaires. Production, collecte, traitement et analyse des eaux résiduaires. Springer-Verlag 1990, Paris ; 750-755 .

- C. Gomella, H. Guerre. Les eaux usées dans les agglomérations urbaines ou rurales. Eyrolles 1983, Paris ; 58-67, 187-191.
- G. Gonzalez, G. Herrera, M. T. Garcia, M. Pena. Biodegradation of phenolic industrial wastewater in a fluidized bed bioreactor with immobilized cells of *Pseudomonas putida*. Bioresource Technology (80) 2001 ; 137-142.
- O. J. Hao, M. H. Kim, E. A. Seagren, H. Kim. Kinetics of phenol and chlorophénols utilization by *Acinetobacter* species. Chemosphere (46) 2002 ; 797-807.
- M-W. Jung, K-H. Ahn, Y. Lee, K-P. Kim, J-S. Rhee, J. T. Park, K-J. Paeng. Adsorption characteristics of phenol and chlorophenols on granular activated carbons GAC. Microchemical Journal (70) 2001 ; 123-131.
- J-H. Kim, K-K. Oh, S-T. Lee, S-W. Kim, S-I. Hong. Biodegradation of phenol and chlorophénols with defined mixed culture in shake-flasks and packed bed reactor. Process biochemistry (000) 2002 ; 000-000.
- P. Lecomte. Les sites pollués traitement des sols et des eaux souterraines. Lavoisier 1998, France ; 75.
- F. Meink, H. Stoof, H. Kohl Schutter. Les eaux résiduaires industrielles. Masson 1977, Paris ; 509-510.
- A. Mordocco C. Kuek, R. Jenkins. Continuous degradation of phenol at low concentration using immobilized *Pseudomonas putida*. Enzyme and Microbial Technology (25) 1999 ; 530-536.
- T. V. Ojumu, O. O. Bello, J. A. Sonibre, B. O. Solomon. Evaluation of microbial systems for bioremediation of petroleum refinery effluents in Nigeria. African Journal of Biotechnology (4) 2005 ; 31-35. <http://www.academicjournals.org/AJB>
- C. Ouahes. Chimie organique. OPU 1988, Alger ; 293-304.
- M. J. Pelczar. Jr. Eléments de microbiologie. Editions hrwitée 1982, Montréal ; 470.
- Pichart. Fiche de données toxicologique et environnementales des substances chimiques. INERIS 2003, France; 1-40. <http://www.ineris.fr/recherches/download/phenol.pdf>
- N. Ruiz-Ordaz, J. C. R-Langunez, J. H. C-Gonzalez, E. H-Manzano, E. C-Urbina, J. G-Mayer. Phenol biodegradation using a repeated batch culture of *Candida tropicalis* in multistage bubble column. Revista Latinoamericana de Microbiologia (43) 2001 ; 19-25.
- K. F. Reardom, D. C. Mosteller, J. Bull Rogers, N. M. Duteau, K-H. Kim. Biodegradation kinetics of aromatic hydrocarbon mixtures by pure and mixed bacterial culture. Environmental Health Perspectives (110) 2002 ; 1005-1011.

- Risk Assessment. Phenol. CAS-No: 108-95-2, EINECS-No : 203-632-7, Draft of 12.11.2002.  
[http://ecb.jrc.it/documents/existing-chemicals/risk\\_assessment/draft/R060\\_0211\\_env.pdf](http://ecb.jrc.it/documents/existing-chemicals/risk_assessment/draft/R060_0211_env.pdf)
- J. Rodier. L'analyse de l'eau. Dunod 1989, Paris ; 418-426, 900.
- H. Roques. Fondement théorique du traitement biologique des eaux. Technique et Documentation (1) 1980, Paris ; 174-189.
- C. S. A. Sà, R. A. R. Boaventura. Biodegradation of phenol by *Pseudomonas putida* DSM 548 in a trickling bed reactor. Biochemical Engineering Journal (9) 2001 ; 211-219.
- R. Scriban. Biotechnologie. Tec & Doc 1999, France ; 193-228.
- M. E. S. A. E. H. Shalaby. Biological degradation of substrate mixtures composed of phenol, benzoate and acetate by *Bulkholderia cepacia* G4. Von der Gemeinsamen Naturwissenschaftlichen Fakultät der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors des Naturwissenschaften 2003 ; 1-151.
- R. Y. Sheeja, T. Murugesan. Mass transfert studies on biodegradation of phénols in up-flow packed bed reactors. Journal of Hazardous Materials (89) 2002 ; 287-301.
- R. D. Swisher. Surfactant biodegradation. Marcel Dekker inc (18) 1987, New York ;
- J. H. Tay, H. L. Jiang, S. T-L. Tay. Aerobically grown microbial granules for phenol biodegradation. Civil Engineering Research 2004 ; 54-55.
- US Environmental Protection Agency, Toxicological Review 2000. No. 108-95-02.  
<http://www.epa.gov/epaoswer/general/risk/emrad.htm>
- G. M. Walker, L. R. Weatherley. A simplified predictive model for biologically activated carbon fixed beds. Process biochemistry (32) 1997 ; 327-335.
- S-J. Wang, K-C. Loh. Modeling the role of metabolic intermediates in kinetics of phenol biodegradation. Enzyme and microbial technology (25) 1999 ; 177-184.

# **Annexes**

## Annexe n°1

### 1. Dosage du phénol à l' amino 4 antipyrine :

#### Principe de la méthode :

L' amino 4 antipyrine complexe le phénol et donne en présence de ferricyanure de potassium à pH 9.5 une coloration rouge (Rodier, 1989).

#### Réactifs :

- Eau distillée.
- Solution tampon à pH 9.5 :  
Chlorure d' ammonium 34g  
Tartrate double de sodium et de potassium 200g  
Hydroxyde d' ammonium 15ml  
Eau distillée 1000ml

- Solution d' amino 4 antipyrine :  
Amino 4 antipyrine 20g  
Eau distillée 1000ml
- Solution de ferricyanure de potassium :  
Ferricyanure de potassium 2g  
Eau distillée 100

	DO	Phénol (mg/l)
Solution d' amino 4 antipyrine :		
Amino 4 antipyrine 20g	0.025	1.125
Eau distillée 1000ml	0.040	0.25
Solution de ferricyanure de potassium :		
Ferricyanure de potassium 2g	0.182	1.25
Eau distillée 100	0.383	50
	0.750	100

#### Mode opératoire :

10 ml du milieu réactionnel sont prélevés et centrifugés pendant 30 min à la vitesse de 6000 trs/min. 2 ml du surnageant sont ensuite récupérés et complétés à 100 ml avec de l' eau distillée. Sont ajoutés aux 100 ml, 5 ml de solution tampon, 1 ml d' amino 4 antipyrine et 2 ml de ferricyanure de potassium. Après 5 min, la lecture est effectuée au spectrophotomètre à la longueur d' onde de 510 nm.

#### Remarques :

- La limite de détection de cette méthode est de 0.025 mg /l ;
- Le pH élevé de la solution tampon permet d' éviter une coloration parasite développée à pH 8.

## 2. Etalonnage du phénol :

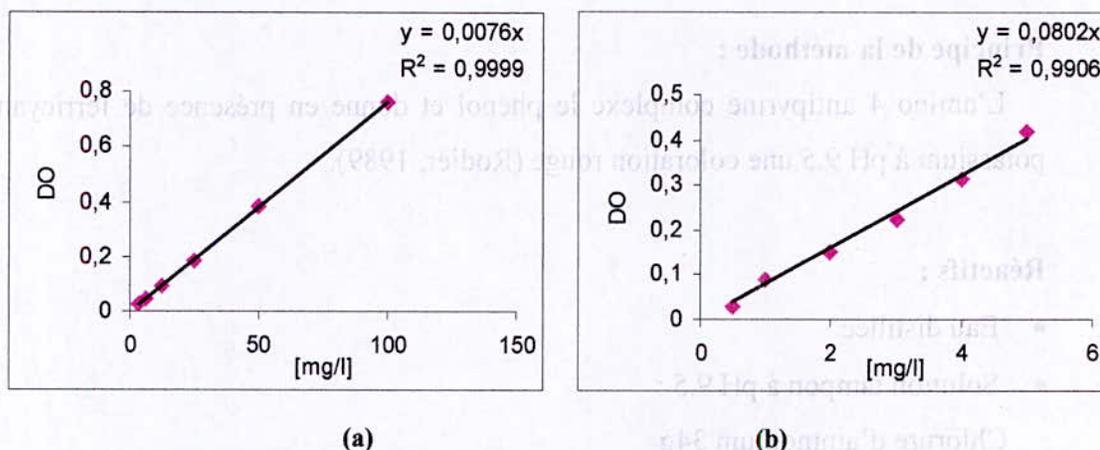


Figure 31 : courbes d'étalonnage du : (a) phénol à 270 nm ; (b) phénol à 510 nm.

Tableau 2 : courbe d'étalonnage du phénol à 270nm et 510nm

270 nm		510 nm	
Phénol [mg/l]	DO	Phénol [mg/l]	DO
3,125	0,026	0,5	0,03
6,25	0,046	1	0,088
12,5	0,094	2	0,149
25	0,185	3	0,223
50	0,383	4	0,315
100	0,759	5	0,42

## 3. Etalonnage de la biomasse :

La détermination de la concentration en biomasse s'est faite par la méthode de la détermination de la masse sèche cellulaire. La méthode consiste à récupérer la biomasse microbienne, la centrifuger et la laver afin d'éliminer le milieu de culture retenu entre les cellules, et enfin la sécher à 105°C (Scriban, 1999).

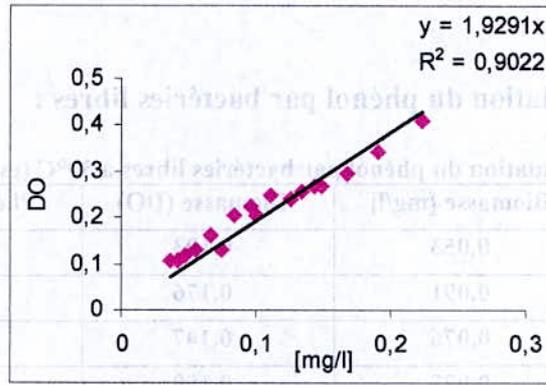


Figure 32 : courbes d'étalonnage de la biomasse à 600 nm

Tableau 3 : courbe d'étalonnage de la biomasse à 600nm

Biomasse [mg/l]	DO
0,0371	0,107
0,0417	0,105
0,0477	0,12
0,0556	0,129
0,0668	0,163
0,0742	0,129
0,0835	0,205
0,0954	0,224
0,1002	0,206
0,1113	0,25
0,1252	0,24
0,1336	0,254
0,1431	0,266
0,1484	0,267
0,167	0,294
0,1908	0,343
0,2226	0,41

## Annexe n°2

## 1. Biodégradation du phénol par bactéries libres :

Tableau 4 : biodégradation du phénol par bactéries libres à 30°C (essai n°1)

Temps [h]	Biomasse [mg/l]	Biomasse (DO)	Phénol [mg/l]	Phénol (DO)
0	0,053	0,103	232	0,558
1	0,091	0,176	227	0,546
2	0,076	0,147	237	0,569
4	0,077	0,150	246	0,592
21	0,112	0,216	266	0,641
23	0,109	0,210	280	0,674
26	0,11	0,213	273	0,571
29	0,109	0,211	239	0,576
50	0,104	0,202	250	0,601
73	0,105	0,203	270	0,650
75	0,105	0,204	251	0,604
167	0,174	0,337	1.2	0,003

Tableau 5 : biodégradation du phénol par bactéries libres (essai n°2)

Temps [h]	Biomasse [mg/l]	Biomasse (DO)	Phénol [mg/l]	Phénol (DO)
0	0,057	0,110	301	0,483
15	0,115	0,223	296	0,475
21	0,104	0,201	265	0,426
40	0,039	0,076	284	0,455
43	0,087	0,169	317	0,509
46	0,095	0,184	340	0,545
70	0,068	0,132	260	0,417
72	0,088	0,170	298	0,478
87	0,103	0,199	284	0,455
91	0,089	0,173	301	0,483
95	0,094	0,183	318	0,510
112	0,071	0,137	258	0,414
114	0,093	0,180	243	0,389
116	0,101	0,196	247	0,397
160	0,119	0,230	13	0,021
163	0,123	0,238	13	0,022

## 2. Adsorption et bioadsorption du phénol :

### A/ Ajout de 5g de charbon actif en grain :

**Tableau 6 : bioadsorption du phénol sur 5g de charbon actif en grain**

Temps [h]	Biomasse [mg/l]	Biomasse (DO)	Phénol [mg/l]	Phénol (DO)
0	0,079	0,153	225	0,361
2	0,067	0,130	19	0,030
19	0,032	0,063	0	0,000

**Tableau 7 : adsorption du phénol sur 5 g de charbon actif en grain**

Temps [h]	Phénol (DO)	Phénol [mg/l]
0	1,9	250
1	0,14	18
3	0,06	8
6	0,03	4
8	0,03	4

### B/ Ajout de 2g de charbon actif en grain :

**Tableau 8 : bioadsorption du phénol sur 2g de charbon actif en grain**

Temps [h]	Biomasse [mg/l]	Biomasse (DO)	Phénol [mg/l]	Phénol (DO)
0	0,089	0,172	262	0,420
2	0,061	0,091	74	0,118
3	0,064	0,125	50	0,080
4	0,053	0,103	94	0,150
5	0,054	0,105	76	0,122
6	0,053	0,103	74	0,118
23	0,114	0,221	31	0,050

**Tableau 9 : adsorption du phénol sur 2g de charbon actif en grain**

Temps [h]	Phénol (DO)	Phénol [mg/l]
0	2	263
2	1,04	137
3	0,80	105
4	0,75	98
5	0,70	92
22	0,35	46
23	0,46	60
24	0,48	63

Tableau 10 : quantité de phénol adsorbé sur 2g de charbon actif en grain

Temps [h]	Quantité de phénol adsorbée [mg/l]	Taux de dégradation [%]
0	0	0
2	126	47,9
3	158	60
4	165	62,7
5	171	65
22	217	82,5
23	203	77
24	200	76

Tableau 11 : quantité de phénol bioadsorbé sur 2g de charbon actif en grain

Temps [h]	Quantité de phénol bioadsorbée [mg/l]	Taux de dégradation [%]
0	0	0
2	188	71,7
3	212	80,9
4	168	64,1
5	186	70,9
6	188	71,7
23	231	88,1

Tableau 12 : quantité de phénol biodégradé sur 2g de charbon actif en grain

Temps [h]	Quantité de phénol biodégradée [mg/l]	Taux de dégradation [%]
0	0	0
2	32	12,2
10	34	12,9
15	32	12,2
23	30	11,4

### C/ Ajout de 1g de charbon actif en grain :

Tableau 13 : bioadsorption du phénol sur 1g de charbon actif en grain

Temps [h]	Biomasse [mg/l]	Biomasse (DO)	Phénol [mg/l]	Phénol (DO)
0	0,067	0,13	304	0,488
2	0,075	0,145	160	0,257
4	0,071	0,138	123	0,197
21	0,089	0,172	38	0,062
24	0,09	0,174	16	0,026
26	0,103	0,199	6	0,01

Tableau 14 : adsorption du phénol sur 1g de charbon actif en grain

Temps [h]	Phénol (DO)	Phénol [mg/l]
0	2,5	329
1	1,8	237
2	1,61	212
3	1,3	171
4	1,23	162
22	1,02	134
25	1	131
71	0,79	103

Tableau 15 : quantité de phénol adsorbé 1g de charbon actif en grain

Temps [h]	Quantité de phénol adsorbée [mg/l]	Taux de dégradation [%]
0	0	0
1	92	28
2	117	35,5
3	158	48
4	167	50,7
22	195	59,2
25	198	60,1
71	226	68,6

Tableau 16 : quantité de phénol bioadsorbé sur 1g de charbon actif en grain

Temps [h]	Quantité de phénol bioadsorbée [mg/l]	Taux de dégradation [%]
0	0	0
2	144	47,3
4	181	59,5
21	266	87,5
24	288	94,7
26	298	98

Tableau 17 : quantité de phénol biodégradé sur 1g de charbon actif en grain

Temps [h]	Quantité de phénol biodégradée [mg/l]	Taux de dégradation [%]
0	0	0
2	20	6,5
5	14	4,6
10	48	15,7
15	60	19,7
20	75	24,6
25	90	29,6
26	100	32,8

3. Biodégradation du phénol par bactéries immobilisées :

Tableau 18 : biodégradation du phénol par bactéries immobilisées

Temps [h]	Biomasse [mg/l]	Biomasse (DO)	Phénol [mg/l]	Phénol (DO)
0	0,175	0,338	236	0,378
4	0,548	1,058	252	0,405
6	0,558	1,078	152	0,244
24	0,633	1,222	194	0,312
28	0,689	1,33	131	0,21
31	0,673	1,299	82	0,131
48	0,683	1,318	0	0

Tableau 15 : quantité de phénol absorbé par le charbon actif en grain

Temps [h]	Quantité de phénol absorbée [mg/l]	Taux de dégradation [%]
0	0	0
1	92	38,98
2	117	50,00
3	128	54,24
4	167	70,76
12	192	81,35
22	198	84,32
31	220	93,22

Tableau 16 : quantité de phénol biodégradé sur le charbon actif en grain

Temps [h]	Quantité de phénol biodégradé [mg/l]	Taux de dégradation [%]
0	0	0
2	124	52,54
4	181	76,70
11	200	84,74
24	228	96,57
30	232	98,30

Tableau 17 : quantité de phénol biodégradé sur le charbon actif en grain

Temps [h]	Quantité de phénol biodégradé [mg/l]	Taux de dégradation [%]
0	0	0
2	20	8,47
3	14	5,93
10	48	20,34
12	60	25,42
19	72	30,51
22	90	38,14
22	100	42,80

## Annexe n°3

## Paramètres des cinétiques de dégradation et de croissance bactérienne :

## 1. Biodégradation du phénol par bactéries libres :

Tableau 19 : détermination de k et  $\mu$  (bactéries libres, essai n°1)

Temps [h]	ln S	ln N
0	5,44	-2,93
1	5,42	-2,39
2	5,46	-2,57
4	5,5	-2,56
21	5,58	-2,19
23	5,63	-2,21
26	5,6	-2,2
29	5,47	-2,21
50	5,52	-2,26
73	5,59	-2,25
75	5,52	-2,25
167	0,182	-1,74

Tableau 20 : détermination de k et  $\mu$  (bactéries libres, essai n°2)

Temps [h]	ln S	ln N
0	5,7	-2,86
15	5,69	-2,16
21	5,57	-2,26
40	5,64	-3,24
43	5,75	-2,44
46	5,82	-2,35
70	5,56	-2,68
72	5,69	-2,43
87	5,64	-2,27
91	5,7	-2,42
95	5,76	-2,36
112	5,55	-2,64
114	5,49	-2,37
116	5,5	-2,29
160	2,56	-2,13
163	2,56	-2,09

## 2. Adsorption et bioadsorption du phénol sur charbon actif en grain :

### A/ Ajout de 5g de charbon actif en grain :

Tableau 21 : détermination de k et  $\mu$  (bioadsorption sur 5g de charbon actif en grain)

Temps [h]	ln S	ln N
0	5,41	-2,53
2	2,94	-2,7
19	0	-3,44

Tableau 22 : détermination de k et  $\mu$  (adsorption sur 5g de charbon actif en grain)

Temps [h]	ln S
0	5,52
1	2,89
3	2,07
6	1,38
7	1,38
8	1,38

### B/ Ajout de 2g de charbon actif en grain :

Tableau 23 : détermination de k et  $\mu$  (bioadsorption du phénol sur 2g de charbon actif en grain)

Temps [h]	ln S	ln N
0	5,56	-2,42
2	4,3	-2,79
3	3,91	-2,74
4	4,54	-2,93
5	4,33	-2,91
6	4,3	-2,93
23	3,43	-2,17

Tableau 24 : détermination de k et  $\mu$  (adsorption sur 2g de charbon actif en grain)

Temps [h]	ln S
0	5,57
2	4,91
3	4,65
4	4,58
5	4,52
22	3,82
23	4,09
24	4,14

## C/ Ajout de 1g de charbon actif en grain :

Tableau 25 : détermination de k et  $\mu$  (bioadsorption sur 1g de charbon actif en grain)

Temps [h]	ln S	ln N
0	5,71	-2,7
2	5,07	-2,59
4	4,81	-2,64
21	3,63	-2,42
24	2,77	-2,4
26	1,79	-2,27

Tableau 25 : détermination de k et  $\mu$  (adsorption sur 1g de charbon actif en grain)

Temps [h]	ln S
0	5,79
1	5,46
2	5,35
3	5,14
4	5,08
22	4,89
25	4,87
27	4,63

## 3. Biodégradation du phénol par bactéries immobilisées :

Tableau 26 : détermination de k et  $\mu$  (bactéries immobilisées)

Temps [h]	ln S	ln N
0	5,46	-1,74
4	5,52	-0,6
6	5,02	-0,58
24	5,26	-0,45
28	4,87	-0,37
31	4,4	-0,39
48	0	-0,38

**Résumé :**

Le phénol et ses dérivés font partie des polluants les plus fréquemment rencontrés dans les eaux résiduaires de nombreuses industries. A cause de leur toxicité pour la plupart des fonctions biochimiques, il est nécessaire de les éliminer. La présente étude consiste à comparer entre trois différentes techniques de dégradation du phénol par une souche pure de *Pseudomonas aeruginosa* en batch. Une biodégradation par des bactéries libres, des bactéries fixées sur charbon actif en grains et des bactéries immobilisées dans des billes d'alginate de calcium a été effectuée. Le but étant de déterminer le support le plus adapté pour optimiser la cinétique de dégradation du phénol. Les résultats obtenus montrent que l'immobilisation sur alginate de calcium est la technique qui donne le meilleur rendement ainsi qu'une très bonne cinétique de biodégradation.

**Mots clés :** biodégradation, phénol, *Pseudomonas aeruginosa*, immobilisation, bioadsorption.

**Abstract :**

Phenol and its derivatives are present in the wastewater of many industries. Because of their high toxicity to many biochemical functions, it is necessary to remove them. The present study consists of comparing different methods of phenol degradation by pure stump of *Pseudomonas aeruginosa* in batch. Biodegradation by free cells, microbial degradation on granule activated carbon and biodegradation with immobilized cells in calcium alginate gel beads were done in order to establish the right support for a good kinetic of degradation. The results obtained show that immobilized cells in calcium alginate gives the best biodegradation rate and also a good kinetic of degradation.

**Key words :** biodegradation, phenol, *Pseudomonas aeruginosa*, immobilization, bioadsorption.

1

**المخلص :**

البيّنول و مشتقاته من الملوثات الأكثر تواجدا في المياه المرسبة الصادرة عن مختلف المصانع. وبما أن البيّنول مركب سام و خطير للعديد من الأعمال البيوكيماوية و جب القضاء عليه. تتمثل الدراسة التالية في المقارنة بين ثلاث تقنيات مختلفة لخلع البيّنول عن طريق استخدام بكتيريا من الصنف بسيدوموناس أيوروجينوزة. لهذا الغرض، تم استعمال بكتيريا حرة، بكتيريا مثبتة على فحم منشط، و بكتيريا مجمدة في كريات من الجينات الكالسيوم. الهدف من هذا العمل هو التوصل إلى استنتاج الطريقة المثلى والأسرع للقضاء نهائيا على البيّنول. ونتيجة هذه الدراسة هي أن استخدام البكتيريا المجمدة هي الطريقة الأنسب للقضاء على البيّنول بصفة نهائية.

**الكلمات المفتاحية :** القضاء البيولوجي، بسيدوموناس أيوروجينوزة، تجميد، امتزاز بيولوجي.