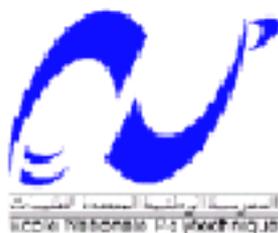


REPUBLIQUE ALGERINNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE
Département de Génie de l'Environnement
Laboratoire des Sciences et Techniques de l'Environnement

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

Présenté par :
KACI ASMA

Pour l'obtention du diplôme
d'Ingénieur en Génie de l'Environnement

Thème :

***Etude de l'évolution du biofilm lors de la dégradation du
phénol par Pseudomonas aeruginosa***

Soutenu le 01juillet 2010 devant le jury composé de :

Présidente :	M ^{me} A. HELLAL	Professeur	ENP
Promoteur :	M ^r A.NAMANE	Maître de conférences	ENP
Examineur :	M ^{me} S. ZEBOUDJ	Maître de conférences	ENP

ENP, Avenue Hassan Badi, El-Harrach, Alger

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A

Maman et papa

*en témoignage de ma reconnaissance envers le soutien, les sacrifices et
tous les efforts que vous avez fait pour mon éducation ainsi que ma
formation*

Mes deux chers frères

Oussama et Hichem

Mes deux adorables grand-mères

Que dieu vous protège

Tous mes amis

Nesrine et Nassima

Pour votre affection, compréhension et patience

ASMA

Remerciements

Ce travail a été réalisé au laboratoire des sciences et techniques de l'environnement du département de Génie de l'environnement de L'ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUES d'Alger.

Je tiens à exprimer tout d'abord ma très vive reconnaissance envers mon promoteur Monsieur A.NAMANE, pour ses conseils, son aide, sa générosité et sa disponibilité tout au long de ce travail.

J'adresse mes remerciements les plus chaleureux aux membres du jury, qui m'ont fait l'honneur d'accepté d'évaluer mon travail :
À M^{me} A.HELLAL, professeur à l'ENP, pour avoir accepté de présider le jury ;
À Mme S. ZEBOU DJ, maître de conférences à l'ENP, pour avoir accepté de juger mon travail.

Je remercie aussi tous les membres de mon laboratoire pour leurs conseils et leur soutien en particulier Dalila et Oumessaad.

Je remercie aussi Melle HANK Dalila pour tout le soutien qu'elle m'a apportée lors de ce travail.

Ma profonde gratitude à toutes les personnes ayant contribué à ma formation.

Liste des abréviations

C_{eq} : La concentration de l'adsorbat à l'équilibre (mg.L^{-1}).

C₀ : La concentration initiale de substrat (mg.L^{-1}).

q_m : Capacité d'adsorption ultime (mg.g^{-1}).

b : Constante de Langmuir.

q : Quantité de soluté adsorbée par unité de masse d'adsorbant à l'équilibre (mg.g^{-1}).

a : Facteur de séparation.

S : Concentration résiduelle de substrat (mg.L^{-1}).

B/L : La concentration de la biomasse dans la phase liquide (mg.L^{-1}).

B/S : La concentration de la biomasse dans la phase solide (mg.L^{-1}).

B_T : La biomasse totale (mg.L^{-1}).

K : Constantes de Freundlich (dépendent respectivement de la nature de l'adsorbat et de l'adsorbant).

n : constantes de Freundlich (dépendent respectivement de la nature de l'adsorbat et de l'adsorbant)

m : La masse de l'adsorbant (g).

T : La température ambiante ($^{\circ}\text{C}$).

M1 : Premier milieu minéral.

M2 : Deuxième milieu minéral.

S1, B/L1, B/S1, B_{T1} : La concentration de substrat résiduel, la biomasse dans la phase liquide, dans la phase solide et la biomasse totale lorsque on utilise une solution de phénol de concentration initial 100mg.L^{-1} (mg.L^{-1}).

S2, B/L2, B/S2, B_{T2} : La concentration de substrat résiduel, la biomasse dans la phase liquide, dans la phase solide et la biomasse totale lorsque on utilise une solution de phénol de concentration initial 180mg.L^{-1} (mg.L^{-1}).

S3, B/L3, B/S3, B_{T3} : La concentration de substrat résiduel, la biomasse dans la phase liquide, dans la phase solide et la biomasse totale lorsque on utilise une solution de phénol de concentration initial 250mg.L^{-1} (mg.L^{-1}).

Y : Le coefficient de conversion.

Y_{B/L}, Y_{B/S}, Y_{BT} : Coefficient de conversion de la biomasse dans la phase liquide, solide et de la biomasse totale respectivement.

R² : Coefficients de corrélation des régressions linéaires.

CAG : charbon actif en grain.

μ : Taux de croissance (h⁻¹).

μ_{max} : Taux de croissance exponentielle (h⁻¹).

Liste des Tableaux

Tableau I-1 : Principales propriétés physico-chimique du phénol	4
Tableau I.2 : Rejets industriels de phénol et de composés phénoliques totaux	6
Tableau II-1 : Propriétés physico-chimiques du charbon actif utilisé	30
Tableau II-2 : le protocole utilisé pour l'analyse des échantillons	32
Tableau III-1 : Les différents paramètres des modèles de Langmuir et Freundlich	38

Liste des figures

Figure I-1 : structure du phénol	3
Figure I-2 : Mécanisme de la biodégradation aérobie des phénols	9
Figure I-3 : Evolution de la croissance bactérienne en milieu non renouvelé	11
Figure I-4 : Profile d'un <i>Pseudomonas</i> : Gram ⁻ , mobile par flagelles polaires	15
Figure I-5 : Représentation schématique du phénomène d'adsorption sur charbon actif en grain	18
Figure I-6-1 : Structure poreuse du charbon actif	20
Figure I-6-2 : Schématisation de la structure du charbon actif	21
Figure I-7-1 : Biofilm de cellules indigènes sur une surface d'acier	24
Figure I-7-2 : Représentation schématique des différentes étapes de formation d'un biofilm	25
Figure II-1 : La condensation du phénol avec la 4-amino antipyrine	31
Figure III -1-1 : Isotherme d'adsorption de phénol ($C_0=100\text{mg.L}^{-1}$)	34
Figure III -1-2 : Isotherme d'adsorption du phénol sur charbon actif selon le modèle de Langmuir	35
Figure III -1-3 : Isotherme d'adsorption du phénol sur charbon actif selon le modèle de Freundlich	36
Figure III -2 : Evolution de [S], [B/S], [B/L], [B _T] en fonction du temps	37
Figure III-3-1 : Evolution de [S], [B/S], [B/L], [B _T] en fonction de la masse de L'adsorbant	38
Figure III-3-2 : Evolution de [S], [B/S], [B/L], [B _T] pour une concentration de phénol 180 mg.L^{-1}	39
Figure III-4 : la croissance bactérienne et la dégradation du phénol dans deux milieux minéraux	40
Figure III-5 : Evolution de la [S], [B/S], [B/L], [B _T] pour des différentes concentrations de phénol	42
Figure III-6 : Evolution du coefficient de conversion pour des différentes concentrations de phénol	43

Sommaire

Dédicace	
Remerciements	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des Tableaux	

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

Chapitre I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I-1 Généralités sur le phénol

I-1-1 Définition du phénol	3
I-1-2 Caractéristiques de phénol	3
I-1-3 Principe de production du phénol	5
I-1-4 Utilisation de phénol	5
I-1-5 Principales sources des rejets de phénol	6
I-1-6 Comportement du phénol dans l'environnement	7
I-1-7 Pathologie et toxicologie	7

I-2 Biodégradation du phénol

I-2-1 Métabolisme microbien	8
I-2-2 Mécanisme de dégradation des phénols	9
I-2-3 Les principales bactéries pouvant dégrader le phénol	10

I-3 Croissance bactérienne

I-3-1 Le courbe de croissance	10
I-3-2 Paramètres de croissance	12
I-3-3 Modélisation des courbes de croissance	13

I-4 Généralités sur le genre *Pseudomonas*

I-4-1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15
I-4-2 Pathogénicité et toxicité	16
I-4-3 Traitement des infections par <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16

I-5 Généralités sur l'adsorption :

I-5-1 Définition	17
I-5-2 Type d'adsorption	17
I-5-3 Description du mécanisme d'adsorption	17
I-5-4 Généralités sur les isothermes d'adsorption	18
I-5-5 les différentes sortes d'adsorbants	20

I-6 Le charbon actif

I-6-1 Structure du charbon actif	21
I-6-2 Les types de charbons actifs	21
I-6-3 Les domaines d'application du charbon actif	22

I-7 La biosorption

I-7-1 La biosorption et ses domaines d'application	22
I-7-2 Définition d'un biofilm.....	23
I-7-2 Formation des biofilms	24
I-7-3 Aspects négatifs/positifs des biofilms	27
I-7-4 Formation d'un biofilm par les <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27

Chapitre II : MATERIEL ET METHODES

II-1 Matériels	29
II-1-1 Matériel biologique	29
II-1-2 Milieu de culture	29
II-1-3 Produits et matériels utilisés	29
II-1-4 Les caractéristiques de charbon actif utilisé.....	29
II-2 Méthodes d'analyse	30
II-2-1 Mesure de la croissance bactérienne.....	30
II-2-2 Dosage du phénol	31
II-3 Méthodologie.....	31

Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

III-1 adsorption : les isothermes d'adsorption	34
III-1-1 Nature des isothermes.....	34
III-1-2 Modélisation des isothermes	35
III-2 Evolution de la croissance bactérienne dans la phase liquide, solide et totale lors de la dégradation du phénol.....	37
III-3 Evolution des paramètres [S], [B/S], [B/L], [BT] en fonction de la masse de l'adsorbant	38
III-4 Evolution des paramètres [S], [B/S], [B/L], [BT] en fonction de la nature du milieu minéral	39
III-5 Evolution des paramètres d'évaluation en fonction de la concentration du phénol	42
III-6 Evolution du coefficient de conversion avec la concentration du phénol	44
Conclusion générale	47
Références bibliographiques	
Annexes	

Introduction générale

Introduction générale

Malgré toute l'importance que nous reconnaissons à l'eau pour notre santé et pour celle de l'environnement, de la faune et de la flore, nous contribuons, par toutes les activités de notre société industrielle, à la polluer et à en dégrader la qualité.

Aucun aspect de notre vie moderne n'y échappe : la fabrication des produits de consommation, l'agriculture, l'enfouissement des déchets.....ont des impacts négatifs importants sur l'eau, l'environnement et notre santé [1].

Une eau est polluée lorsqu'il y a une altération de sa qualité qui est induite par l'activité de l'homme, et se rendant compte de cette pollution que se sentant lui-même menacé. Ne voyant pas détruire l'environnement le menaçant un peu plus chaque jour de la vie sur terre. Ne pouvant pas ou très difficilement être entravée cette pollution est menaçante, et continue à croître et à entraîner des conséquences parfois irréversibles [2].

Des milliers de produits chimiques sont utilisés dans la fabrication des biens de consommation courants. Bien souvent, ces produits chimiques se retrouvent dans l'eau, puis rejetés dans l'environnement après que les eaux aient été traitées. C'est le cas de plusieurs usines manufacturières, métallurgiques et de fabriques de papiers et aussi les usines de plastique et de peinture qui provoquent une pollution organique dans l'eau.

Ces rejets, donc, doivent être traités avant leur déversement dans le milieu récepteur. Le traitement des eaux usées, qu'elles soient d'origine domestique ou industrielle, s'impose afin de protéger la vie aquatique, et de permettre l'usage de l'eau en aval, ceci éviterait l'usage abusif de cette ressource si précieuse.

Dans les effluents industriels, parmi les rejets organiques les plus toxiques et les plus fréquents, on trouve les phénols. Ces composés aromatiques utilisés dans diverses industries, ont un effet préjudiciable sur la vie aquatique, les plantes et sur l'environnement en général [3].

Il existe plusieurs méthodes d'élimination du phénol présent dans l'eau on cite les procédés physico-chimiques classiques de traitement, tels que l'ozonation, le traitement par les radiations U.V et par l'ozone couplé à UV (Procédés d'oxydation avancée) et l'adsorption sur le charbon actif qui donne de bons résultats mais les problèmes qui se posent sont le prix élevé des matériaux adsorbants et aussi la pollution n'est pas éliminée, elle est juste transférée de la phase liquide (eau) à la phase solide (charbon actif).

Les traitements biologiques des eaux usées s'avèrent être les plus efficaces surtout qu'ils ne sont pas coûteux, et qu'ils permettent une minéralisation totale des composés phénoliques et la souche bactérienne *pseudomonas* est efficace pour dégrader le phénol présent dans l'eau.

La biosorption par l'utilisation des *Pseudomonas aeruginosa* fixées sur charbon actif est accompagnée de formation d'une couche de biomasse bactérienne qui porte le nom de « biofilm ».

Dans le présent travail nous nous intéresserons à l'évolution du biofilm lors de l'adsorption couplée à la biodégradation du phénol par l'utilisation du charbon actif en tant qu'adsorbant et support de bactéries.

Introduction générale

La première partie présente une synthèse de données bibliographiques sur la structure, et caractéristique du phénol et ses différents traitements, les caractéristiques de la bactérie *pseudomonas aeruginosa* ainsi qu'une étude bibliographique sur l'adsorption et la biosorption avec ses mécanismes.

La seconde partie recense les produits, matériels, méthodes et techniques d'analyses utilisés au cours de l'étude de l'adsorption et la biosorption.

Les résultats expérimentaux ainsi que leur discussion sont présentés dans la troisième partie. Elle expose les résultats des isothermes d'adsorption qui ont été classées et ajustées, et l'évolution de la concentration de phénol, biomasse en phase liquide, solide et le biofilm formé en fonction de la masse de charbon actif, la nature du milieu minéral, le temps et de la concentration initiale de phénol.

Chapitre I :
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I-1 Généralités sur le phénol

I-1-1 Définition du phénol

Le phénol est une unité structurale de base pour une variété de composés organiques de synthèse. Le phénol (C_6H_5OH) est un alcool aromatique, appelé aussi hydroxybenzène, acide phénique, ou encore acide carbolique [4].

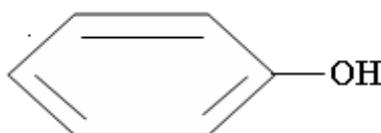


Figure I-1 : structure du phénol

I-1-2 Caractéristiques de phénol

I-1-2-1 Caractéristiques physiques :

Dans les conditions normales de température et de pression, le phénol est un solide qui se présente sous la forme d'une masse cristalline, hygroscopique et d'odeur caractéristique à la fois âcre et douceâtre. En présence d'impuretés, d'eau ou de lumière, le phénol se teint en rose ou rouge.

A 25°C, il est modérément soluble dans l'eau (environ $80g.L^{-1}$), est en toute proportion à partir de 65°C. Il est également très soluble dans de nombreux solvants organiques usuels tels l'acétone, l'éthanol, l'oxyde de diéthyle... [5].

I-1-2-2 Caractéristiques chimiques :

Le phénol peut réagir vivement avec les oxydants puissants. La réaction entre le phénol et de nombreuses substances (formaldéhyde, chlorure d'aluminium, nitrobenzène, nitrate de sodium, 1,3- butadiène....) peut être violente. A chaud le phénol liquide attaque certains plastiques, notamment le polyéthylène [5].

Le tableau I-1 résume les principales propriétés physique et chimique du phénol

Tableau I-1 : principales propriétés physico-chimique du phénol

Paramètre	Valeur	Etendue	Référence
Facteur de conversion	1 ppm = 3,91 mg.m ⁻³		[6]
Masse molaire (g.mol⁻¹)	94,11(1)	94,11 - 94,144	[6]
Densité/eau	1.071		[5]
Point de fusion (°C)	41	40 - 43	[5]
Point d'ébullition (°C)	181,8(1)	181,75 - 182	[6]
Solubilité dans l'eau (g.L⁻¹)	84 à 20 °C(2) 86 à 25 °C(2)	82 - 84 70 - 93	[6]
Pression de vapeur (Pa)	28,7 à 20 °C(2) 54,4 à 25 °C(2)	20 - 47,6 46,8 - 69,9	[6]
Point d'éclair (°C)	79 °C		[5]
Constante de Henry (Pa.m³.mol⁻¹)	4,56.10 ⁻² à 20 °C 4,02.10 ⁻² à 25 °C		[6]
Température d'auto inflammation (°C)	715 °C		[5]
Coefficient de diffusion dans l'air (cm².s⁻¹)	8,2.10 ⁻²		[6]
Coefficient de diffusion dans l'eau (cm².s⁻¹)	8,8.10 ⁻⁶ (2)	8,5.10 ⁻⁶ - 9,1.10 ⁻⁶	[6]
Constante de dissociation (pKa)	9,89 à 20 °C		[5]
Limites d'explosivité dans l'air	1.8%	1,7% - 8,6%	[5]

(1) Valeur la plus fréquemment citée.

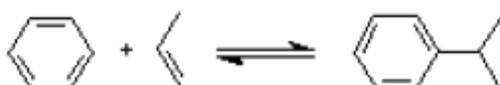
(2) Moyenne arithmétique de plusieurs valeurs.

I-1-3 Principe de production du phénol

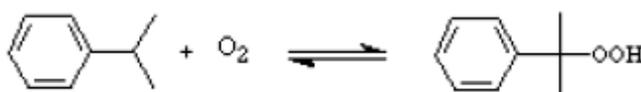
Il existe plusieurs méthodes de production du phénol, mais seules deux d'entre elles sont mises en œuvre industriellement [6].

1- La méthode de Hock qui comporte trois phases :

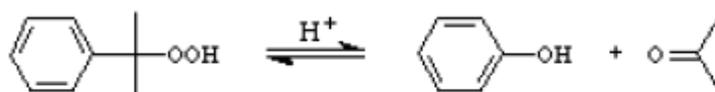
- Alkylation du benzène avec le propylène pour former de l'isopropylbenzène (cumène)



- Oxydation du cumène donnant naissance à du tert-hydroperoxyde



- Séparation en phénol et acétone



2- La méthode Dow qui consiste à oxyder du toluène pour former de l'oxyde benzoïque puis à procéder à une décarboxylation oxydante permettant d'obtenir du phénol.

La méthode de Hock représentait, en 1989, 93 % de la production de phénol d'Europe de l'ouest.

I-1-4 Utilisation de phénol

Environ huit millions de tonnes de phénol sont utilisées dans le monde annuellement comme matière première de base pour la production de nombreux dérivés : les résines phénoliques, bisphénol, caprolactame, nonylphénol, dodecylphénol, acide adipique, acide salicylique [6].

Il est aussi utilisé dans de nombreuses applications :

Etude bibliographique

- Plastifiants (esters ignifuges, tels que diphényle crésyl, triphényle, phényle dibutyle et de diphényle phosphates octyle).
- Crésols et xylénols synthétiques (crésol et 2, 6-xylénol, qui sont utilisés pour plastiques et résines).
- Herbicides (acide 2,4-dichlorophénoxyacétique).
- Préservation du bois (pentachlorophénol).
- L'aniline.
- Les produits pharmaceutiques.
- Colorants.

I-1-5 Principales sources des rejets de phénol

Le phénol et les autres composés phénoliques susceptibles de se rencontrer dans les eaux sont généralement d'origine industrielle [7]. Nous pouvons citer les industries pétrochimiques, les usines de cokéfaction, de la combustion du bois et du tabac [4, 6].

Tableau I.2 : Rejets industriels de phénol et de composés phénoliques totaux [1996] [7].

SECTEUR INDUSTRIEL	REJETS (TONNES)			
	Atmosphère	Eau	Autres milieux/	Rejets totaux
Pates, papiers et bois	205.6	44.3	6.5	256.4
Minéraux (non métalliques)	62.7	0.0	1.3	64.0
Chimie	22.9	0.0	15.4	38.3
Acier et métaux	23.3	9.2	2.0	34.5
Raffinage du pétrole	1.8	5.0	6.5	13.3
Autres ²	5.5	0.0	2.7	8.2
Total	321.8	58.5	34.4	414.7

(1) Les effluents industriels envoyés dans les stations municipales de traitement des eaux usées, en décharge, en injection en puits profonds et à l'épandage sur les terres agricoles.

(2) Le secteur du textile, des équipements de transport, de la machinerie et de l'équipement industriel

I-1-6 Comportement du phénol dans l'environnement

I-1-6-1 Milieu aquatique :

Le phénol est plus lourd que l'eau et tend à se déposer. Il se dissout lentement et, même dilué, continue de former des solutions toxiques. Au dessus de 68,4°C, il devient complètement miscible à l'eau. En raison de sa forte toxicité, le phénol est considéré comme un polluant [8].

I-1-6-2 Atmosphère :

Les vapeurs de phénol sont plus lourdes que l'air et forment des mélanges explosifs sous l'effet de la chaleur. Le phénol s'oxyde à l'air, et ce processus d'oxydation est accéléré par la lumière ou par des impuretés à effet catalytique [8].

I-1-6-3 Sols :

Les propriétés physico-chimiques du sol qui influent sur le devenir et le comportement du phénol sont le pH, la capacité d'échange, la teneur en matière organique et la texture du sol. Le phénol est susceptible d'être éliminé, notamment par l'adsorption, la désorption, la volatilisation et l'oxydation. La dégradation microbienne aérobie ou anaérobie limite l'effet de son accumulation [8, 6].

I-1-6-4 Dégradation, produits de décomposition :

La biodégradation des phénols naturels est en général très bonne, de sorte qu'une accumulation dans la flore ou la faune est peu probable. Dans le sol, une condensation avec formation d'acide humique peut se produire. En revanche, la biodégradabilité des phénols synthétiques est plus faible, car nombre d'entre eux ont une action bactéricide. Les métabolites des phénols peuvent également être très toxiques: la combustion incomplète du 2, 4,5-trichlorophénol peut donner naissance à la dioxine TCDD (2, 3, 7,8- tétrachlorodibenzo-para-dioxine).

En règle générale, la dégradation biologique entraîne d'abord la formation de pyrocatechine, d'o-quinone et d'acide dicarboxylique, puis d'acide acétique et de CO₂ [8].

I-1-7 Pathologie et toxicologie :

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. Ainsi, le "pentachlorophénol" est le plus toxique des chlorophénols, et le trinitrophénol (acide picrique) le plus toxique des nitrophénols. Il convient donc de surveiller et de réglementer ces rejets de composés synthétiques [8].

I-1-7-1 Chez l'animal :

Le phénol est absorbé par voies gastro-intestinale, respiratoire et cutanée.

Une exposition prolongée au phénol induit des effets d'intensité variable selon l'espèce, en particulier sur le système nerveux central, le cœur, le foie et les reins. La létalité induite par le phénol est variable selon l'espèce et la voie d'administration. Une exposition au phénol provoque des effets sur le système nerveux central ou périphérique des animaux. Il en résulte des tremblements musculaires, des mouvements incoordonnés transitoires, déséquilibre, hypothermie, diminution spontanée de l'activité et paralysie des membres antérieurs [8].

I-1-7-2 Chez l'homme :

Le phénol est rapidement absorbé par toutes les voies d'exposition. Il est rapidement distribué dans tous les tissus mais les organes cibles sont le cerveau et les reins.

Les principaux symptômes d'une intoxication par ingestion de phénol sont des diarrhées, des inflammations, des brûlures buccales ainsi que la présence d'urines colorées en noire. Dans l'organisme humain, le phénol est éliminé par une voie urinaire après oxydation ou liaison conjuguée avec l'acide sulfurique ou l'acide gluconique [8,9].

I-1-7-2 Chez les Végétaux:

Perturbation de la perméabilité passive et inhibition de la croissance [9].

I-2 Biodégradation du phénol

La biodégradation est la décomposition de la matière organique par des micro-organismes comme les bactéries, les champignons ou les algues.

I-2-1 Métabolisme microbien

Le métabolisme microbien est un processus de conversion d'énergie, de nombreux micro-organismes sont connus pour être capable de métaboliser plusieurs polluants et autres produits organiques. Ces processus sont régis par l'action des enzymes qui sont spécifiques pour chaque type de réaction, ainsi dans des conditions aérobies et/ou anaérobies, les espèces

de *pseudomonas* ont démontré la capacité de métaboliser ou de minéraliser complètement le phénol et ses dérivés [10].

I-2-2 Mécanisme de dégradation des phénols

La présence ou l'absence de l'oxygène moléculaire joue un rôle prépondérant puisqu'il détermine les mécanismes de la biodégradation des composés aromatiques. Généralement le phénol peut être transformé dans des conditions aérobie et anaérobie.

I-2-2-1 Biodégradation aérobie du phénol

Les différentes études menées sur la biodégradation du phénol ont permis l'isolation de beaucoup de bactéries aérobies pouvant métaboliser ce composé et d'établir les mécanismes de biodégradation [11].

Le mécanisme de la biodégradation du phénol est représenté dans la figure suivante, la première étape consiste en l'oxygénation du phénol par une enzyme : l'hydroxylase pour former le catéchol :

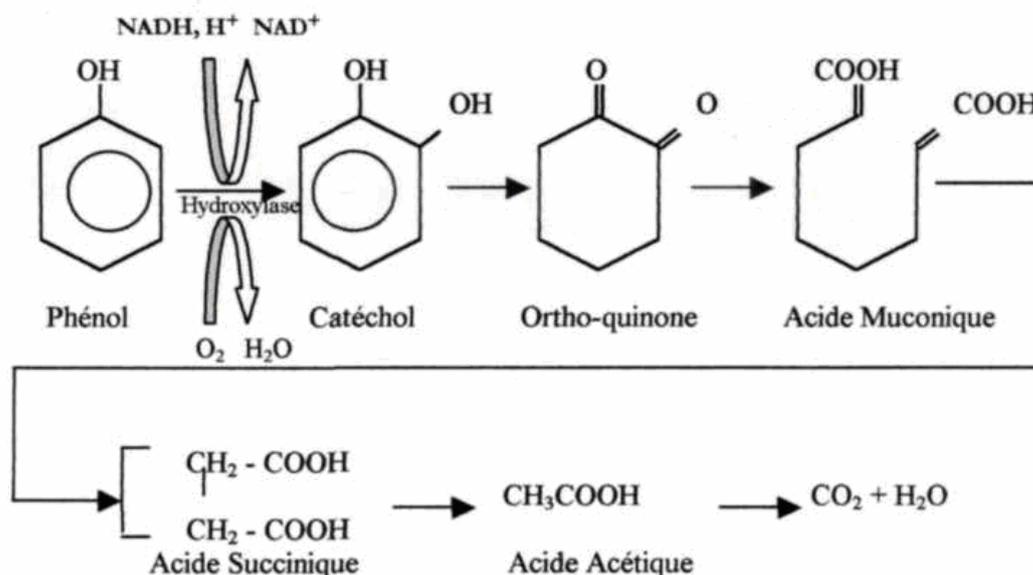


Figure I-2 Mécanisme de la biodégradation aérobie des phénols [11].

I-2-2-2 Biodégradation anaérobie du phénol

Les méthodes de culture anaérobie nécessitent une longue phase d'adaptation contrairement aux conditions aérobies [12].

I-2-3 Les principales bactéries pouvant dégrader le phénol:

Un grand nombre de microorganismes, essentiellement les bactéries aérobies peuvent utiliser le phénol comme seule source de carbone et d'énergie, parmi les genres concernés on cite :

les *Pseudomonas*, les *Vibrions*, *Achromobacterae* et *Mycobacterium*, les *Enterobacteries*, les *Alcaligenes*, les *Azotobacter*, les *Rhodococcus*, les *Phanerochaete* et les *Cryptococcus* [12].

Les *Pseudomonas* étant le groupe le plus important et plus précocement l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* par sa capacité d'oxyder le catéchol issu de l'oxydation du phénol [12].

I-3 Croissance bactérienne

La croissance peut être définie comme une augmentation des constituants cellulaires, elle aboutit à un accroissement du nombre de cellules quand les micro-organismes se multiplient. Dans ce cas, les cellules s'élargissent et se divisent pour donner deux cellules filles de taille plus ou moins égale [12].

I-3-1 La courbe de croissance

On étudie la croissance d'une population en analysant la courbe de croissance d'une culture microbienne. Lorsque des micro-organismes sont cultivés en milieu liquide [12].

La croissance bactérienne est un phénomène dynamique qui comporte six phases représentées schématiquement dans la figure suivante

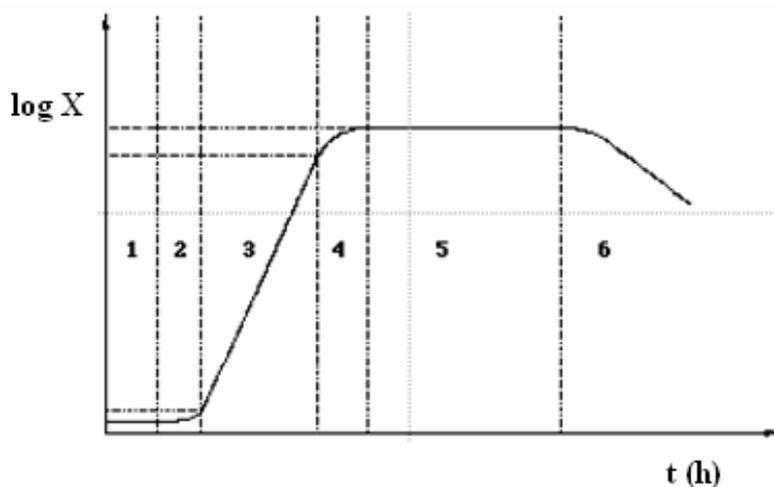


Figure I-3. Evolution de la croissance bactérienne en milieu non renouvelé [13].

Lorsque les conditions du milieu sont favorables (présence de nutriments, température et pH favorables, absence d'antiseptiques ou d'antibiotiques...), la croissance microbienne suit la courbe de la figure I-3 où on distingue six phases [12,13] :

1. **phase de latence** : quand les microorganismes sont introduits dans un milieu de culture frais, il n'y a pas d'augmentation immédiate du nombre ou de la masse cellulaire, bien qu'il n'y ait pas de division cellulaire, ni d'augmentation de la masse, de nouveaux composants cellulaires commencent d'être synthétisés.
2. **phase d'accélération** : phase de démarrage de la croissance avec augmentation de la vitesse de celle-ci.
3. **phase de croissance exponentielle** : c'est la phase physiologique par excellence : les bactéries se multiplient sans entrave. Le taux de croissance est maximal et constant, ce qui revient à dire que le temps de génération est minimal.
4. **phase de ralentissement** : la vitesse de croissance diminue, il y a épuisement des nutriments du milieu de culture et accumulation des déchets.
5. **phase stationnaire** : lorsque le milieu devient de moins en moins favorable à la croissance. Le nombre de cellules viables reste constant. Il peut correspondre à un équilibre entre le nombre de cellules provenant de la multiplication et le nombre de

cellules qui disparaissent par autolyse. il peut aussi traduire la persistance des bactéries vivantes en absence de tout développement.

- 6. **phase de déclin** : au cours de cette dernière phase, les bactéries ne se divisent plus. les ressources sont épuisées et le nombre de bactéries diminue, on assiste à une lyse cellulaire.

I-3-2 Paramètres de croissance

La croissance exponentielle peut être décrite par l'un des deux paramètres suivants : le temps de génération (tg) ou le taux de croissance exponentielle (μ).

I-3-2-1 Le temps de génération

Le temps de génération (tg) est le temps de doublement de la population, autrement dit, c'est l'intervalle de temps qui sépare deux divisions successives [14,15].

Si n : le nombre de divisions et t : le temps de deux divisions

Alors $tg = t / n$ (I)

I-3-2-2 Le taux de croissance

Pendant la phase de croissance exponentielle, le logarithme de la concentration en biomasse (ln X) varie linéairement en fonction du temps (figure I-3).

Si l'on note X₀ la concentration en biomasse au temps t₀, on aura :

$$\ln X - \ln X_0 = \mu (t - t_0) \dots\dots\dots (II)$$

La constante μ apparaît comme le taux de croissance maximum qu'on note μ_{max} (h⁻¹).

Durant cette phase, l'accroissement du nombre des cellules suit une progression géométrique d'ordre 2 [15,16].

$$X = 2^n X_0 \quad \text{comme} \quad n = t / tg = \mu t \quad \Leftrightarrow \quad X = 2^{\mu t} X_0$$

La linéarisation donne : $\ln X = \mu t \ln 2 + \ln X_0 \dots\dots\dots (III)$

Ainsi le taux de croissance exponentielle μ_{max} peut être déduit à partir des courbes de croissance en traçant ln X en fonction du temps. La pente de la droite étant égale à μ ln2.

$$D'où \mu = \text{la pente} / \ln 2.$$

Si on reprend l'expression (II)

$$\text{Pour } X = 2 X_0 \Rightarrow (t - t_0) = tg$$

L'équation devient :

$$\ln (X/X_0) = \mu_{max} tg \Rightarrow \ln 2 = \mu_{max} tg$$
$$D'où tg = 0,69 / \mu_{max}$$

I-3-3 Modélisation des courbes de croissance

Les phases de la croissance bactérienne sont caractérisées par certaines valeurs ou variations de la vitesse de multiplication cellulaire. Les cinétiques de croissance observées en pratique sont loin de correspondre au schéma simple et classique de la Figure I-3 et présentent une grande variabilité. La complexité du phénomène biologique nécessite l'utilisation de modèles non linéaires pour identifier les paramètres de croissance. Ces cinétiques de croissance sont le plus souvent représentées en coordonnées semi-logarithmiques, et la méthode classique la plus évidente d'estimation du taux de croissance maximum est donc une analyse par régression linéaire dans la partie linéaire de la courbe correspondant à la phase de croissance exponentielle (phase 3) [15].

I-3-3-1 Modèle de Monod

Le modèle de croissance de Monod donne une relation entre le taux de croissance d'une population de micro-organismes μ et la concentration S en substrat limitant,

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_S + S}$$
 Où μ_{\max} représente le taux de croissance maximum, K_S la concentration en substrat telle que le taux de croissance soit demi-maximal ($\mu = \mu_{\max}/2$) et S est la concentration du substrat (mg.L^{-1}) [16].

I-3-3-2 Modèle de Haldane

Ce modèle est utilisé lorsque on a affaire à un phénomène de d'inhibition par excès de substrat. A forte concentration, certaines substances ou substrats deviennent des inhibiteurs de croissance [11].

L'équation de cinétique de croissance de Haldane est donnée par l'expression suivante :

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_S + S + (S^2/K_i)}$$
 K_i représente la constante d'inhibition.

I-3-3-3 La cinétique de biodégradation du phénol :

Les cinétiques de consommation du substrat peuvent être décrites par diverses expressions mathématiques de complexité croissante. Au fur et à mesure de l'intégration des nombreuses variables intervenant dans le mécanisme de disparition de la matière organique, une grande variété d'expressions mathématiques en résulte. L'interaction entre la concentration

Etude bibliographique

en substrat S et la densité de biomasse B fait que la cinétique de biodégradation peut être décrite par différents modèles.

Une relation entre la croissance bactérienne et la consommation du substrat peut être décrite par la relation de Monod [17]

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{\mu_{max}}{Y} B \left(\frac{S}{K_S + S} \right) \quad \text{Et} \quad \frac{dB}{dt} = \mu_{max} B \left(\frac{S}{K_S + S} \right)$$

Le coefficient de conversion Y correspond à l'augmentation de la biomasse par rapport à la consommation du substrat, et il est donné par :

$$Y_{B/S} = \frac{B_f - B_0}{S_0 - S_f}$$

Dans la formulation de Monod, la vitesse de transformation augmente avec la concentration en substrat et à la limite (pour des concentrations élevées), la vitesse asymptotiquement s'approche de sa valeur maximale qui dans ce cas est donnée par $(\mu_{max}/Y)B$.

La vitesse maximale dépend simultanément de la concentration de la biomasse, et du coefficient de conversion, mais l'approche asymptotique quant à elle dépend de la concentration de la biomasse et de la concentration seuil.

Remplaçons $(\mu_{max}/Y)B = v_{max}$, vitesse d'utilisation du substrat, l'équation précédente devient

$$\frac{dS}{dt} = -v_{max} \left(\frac{S}{K_S + S} \right)$$

• Si $S \ll K_S \Rightarrow \frac{dS}{dt} = -\frac{v_{max}}{K_S} S = k S$ La cinétique de Monod devient une cinétique de premier ordre

• Si $S \gg K_S \Rightarrow \frac{dS}{dt} = -v_{max}$ La cinétique de Monod devient une cinétique d'ordre 0.

Dans les deux cas la représentation graphique de $\ln(S) = f(t)$ permet la détermination des constantes de dégradation. Le choix de la cinétique de dégradation du substrat est imposé par le mécanisme de son élimination [17].

I-4 Généralités sur le genre *Pseudomonas*

Les *Pseudomonas* sont aérobies stricts, gram négatif, mobiles, produisant souvent des pigments diffusibles et naturellement résistants à de très nombreux antibiotiques. Saprophytes, on les trouve essentiellement dans l'eau. Ils peuvent contaminer des solutés pour perfusion, des solutions antiseptiques, des préparations médicamenteuses liquides [23].

La plupart des *Pseudomonas* sont ubiquistes et sont souvent isolés du sol, de l'eau, des poussières en suspension dans l'air mais aussi sur les coquilles d'œufs et même dans les œufs où ils sont cités comme l'un des agents responsables de la pourriture. De nombreuses souches sont également psychrotrophes et peuvent altérer les denrées alimentaires conservées au froid [18].

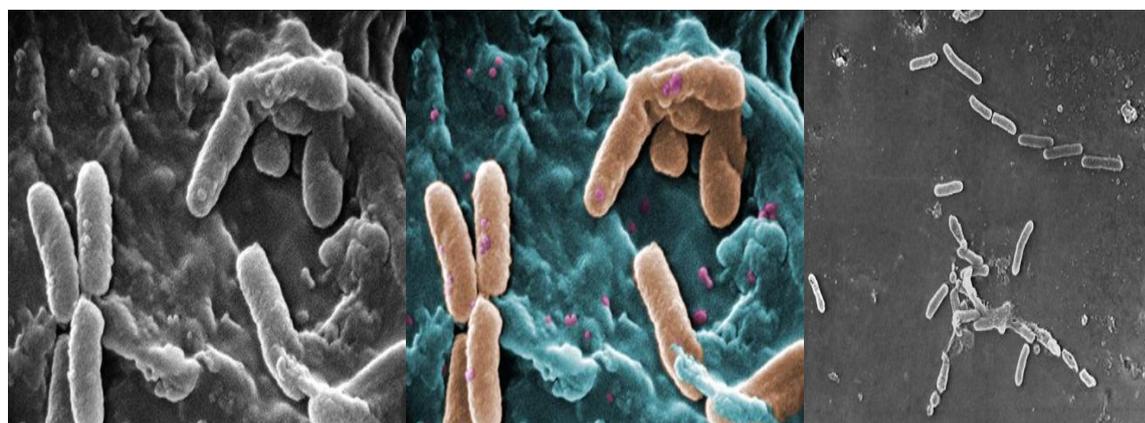


Figure I-4 Profile d'un *Pseudomonas*: Gram⁻, mobile par flagelles polaires [18]

I-4-1 *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa est un bacille d'environ 1,5 μm , a Gram négatif, largement répandue dans notre environnement. Dans le langage médical, il est appelé << bacille pyocyanique >> dus à la pyocyanine, un pigment de couleur bleue aux propriétés antibiotiques.

La température optimum de croissance de cette bactérie est de 37°C mais elle est aussi capable de croître entre 30°C et 42°C. Elle est capable de métaboliser plus de 50 composés organiques et inorganiques.

L'ensemble de ces propriétés lui confère une extrême tolérance face à son environnement.

P. aeruginosa peut ainsi vivre à l'état de saprophyte dans l'eau, le sol, les végétaux, les solutions antiseptiques et sur des surfaces inorganiques. Elle vit également dans le tube

digestif et sur la peau des mammifères. C'est un pathogène opportuniste qui peut infecter un large spectre d'hôtes : humain, souris, insectes, nématodes, plantes, et amibes [19].

I-4-2 Pathogénicité et toxicité :

I-4-2-1 Facteurs de virulence :

Les facteurs de virulence peuvent être, soit des composants intrinsèques de la surface cellulaire, soit des produits extra-cellulaires. La production simultanée de certains d'entre eux est indispensable pour permettre à une souche de *P. aeruginosa* de coloniser l'homme et de développer un pouvoir infectieux à son encontre. Ainsi, seuls 1 à 2 % des souches de *P. aeruginosa* représenteraient en réalité un danger potentiel pour l'homme. L'action cumulée de ces facteurs peut conduire à une inhibition de la synthèse protéique, à une lyse des tissus, à des lésions nécrotiques et hémorragiques ou encore à une diminution des globules blancs [18].

I-4-2-2 Mécanisme d'infection :

Le processus d'infection commence par des altérations des défenses de l'hôte. La pathogénicité des infections à *P. aeruginosa*, est multifactorielle. La plupart des infections sont en même temps invasives et toxicogéniques [19].

I-4-3 Traitement des infections par *Pseudomonas* :

I-4-1-3-1 Résistance aux antibiotiques :

P. aeruginosa est naturellement peu sensible aux antibiotiques. En effet, sa perméabilité aux agents anti-bactériens est médiocre, et la bactérie sécrète des enzymes capables de lyser les molécules antibiotiques (céphalosporine) [19].

I-4-1-3-2 Traitement :

Le traitement des infections pseudomonas s'effectue par la combinaison de deux agents anti-microbiens : un anti-pseudomonal beta-lactam et un aminoglycoside. Cependant selon le type d'infections et les organes touchés il existe des traitements appropriés [19].

I-5 Généralités sur l'adsorption :

I-5-1 Définition :

L'adsorption est un processus complexe par lequel les molécules attachent à la surface d'un solide poreux. Les forces mises en jeu lors de l'adsorption sont des interactions de natures physiques ou chimiques selon la nature de l'adsorbant et de l'adsorbat [20].

I-5-2 Type d'adsorption :

Il existe deux types d'adsorption qui se différencient complètement par les énergies mises en jeu et par leur nature.

I-5-2 -1 L'adsorption physique

Les forces mises en jeu pour attirer l'adsorbable sont des forces de VAN DER WAALS, de même type que celles qui assurent la cohésion des liquides c'est un phénomène exothermique réversible suivant la pression de l'adsorbat, il y a formation d'une monocouche suivie d'une multicouche avec augmentation de la pression au niveau des micropores [21].

I-5-2 -2 L'adsorption chimique

Résulte d'une interaction chimique qui se traduit par un transfert d'électrons entre le solide et l'adsorbat. Il y a alors formation d'un composé chimique à la surface de l'adsorbant. [22].

I-5-3 Description du mécanisme d'adsorption :

Le mécanisme d'adsorption peut être décomposé en plusieurs étapes [22] :

1. Diffusion de l'adsorbât à travers le film liquide entourant les particules de l'adsorbant.
2. Diffusion à l'intérieur de l'adsorbant (diffusion interne).
3. Fixation sur des sites particuliers appelés sites actifs.

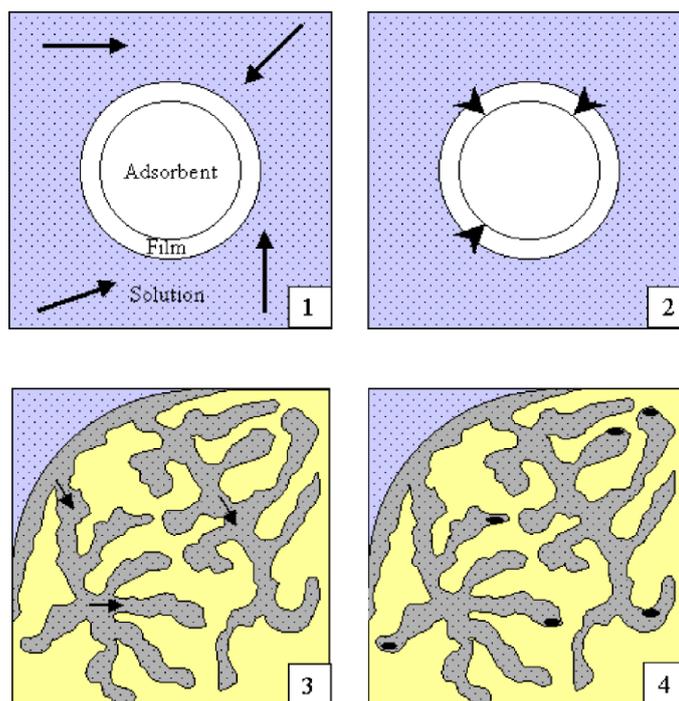


Figure I-5 : Représentation schématique du phénomène d'adsorption sur charbon actif en grain [22].

I-5-4 Généralités sur les isothermes d'adsorption :

Une isotherme est donc une courbe qui représente la variation de la quantité de soluté adsorbée par unité de masse d'adsorbant en fonction de la concentration à l'équilibre.

Il est nécessaire de connaître le modèle d'adsorption pour pouvoir lui appliquer les relations thermodynamiques [21].

Parmi les plus connus celle : de Langmuir, de Freundlich et de Brunauer-Emmett-Teller (BET).

I-5-4-1 Isotherme d'adsorption de Langmuir :

L'établissement de cette loi est fait à partir de certaines hypothèses [22] :

-Le nombre de sites d'adsorption à la surface du solide est fixe et le recouvrement de cette du solide s'effectue en couche mono moléculaire.

Etude bibliographique

- L'enthalpie d'adsorption est identique pour chaque site d'adsorption.
- Il n'y a pas de gênes stériques des molécules adsorbées sur deux sites voisins.
- A l'équilibre, la vitesse d'adsorption est égale à la vitesse de désorption.

La relation s'exprime par [22] :

$$q = \frac{x}{m} = q_m \cdot \frac{b \cdot C_e}{1 + b \cdot C_e}$$

Où :

q : quantité de soluté adsorbée par unité de masse d'adsorbant à l'équilibre ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$).

q_m : capacité d'adsorption ultime ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$).

C_e : concentration du soluté dans la phase liquide à l'équilibre ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$).

b : constante de Langmuir.

K_d : constante de dissociation, ($K_d = 1/b$).

I-5-4-2 Isotherme de Freundlich :

Dans de nombreux cas il est possible de représenté se type de courbe à l'aide de la formule empirique suivante [22]:

$$q = K \cdot C_e^{1/n}$$

K , n : constantes expérimentales qui dépendent respectivement de la nature de l'adsorbât et de l'adsorbant.

I-5-4-3 Isotherme de B.E.T:

Elle est relative à une adsorption par couches multiples de différentes épaisseurs (monocouche, bicouche,). La polycouche sera d'autant plus épaisse que l'affinité adsorbât-adsorbant est importante.

Après le développement de la théorie de Langmuir permettant son application dans les cas d'adsorption polymoléculaire. Une des hypothèses supplémentaires fut la possibilité de coexistence de couches superposées de différentes épaisseurs [21].

L'équation de l'isotherme d'adsorption de B.E.T est la suivante :

$$q = \frac{A.C_e.Q_m}{(C_s - C_e) \cdot [1 + (A-1).C_e / C_s]}$$

Où :

C_s : concentration de l'état de saturation (mg/l).

A : constante liée à l'énergie d'interaction avec la surface.

I-5-5 les différentes sortes d'adsorbants :

- Les adsorbants à faible capacité : scories, cendres, etc., non régénérables [23].
- Adsorbants à haute capacité : différentes marques de charbon actif, gel de silice, résines synthétiques macroporeuses, etc., régénérables [23].

I-6 Le charbon actif :

Le charbon actif est l'adsorbant le plus fabriqué et le plus utilisé industriellement. Il est produit par la pyrolyse et l'activation thermique de précurseurs de charbon comme le bois, la tourbe ou des coques ou noix de fruits. Les solides adsorbants qui ont un intérêt pratique sont ceux qui ont une surface spécifique (surface par unité de masse) importante [24].

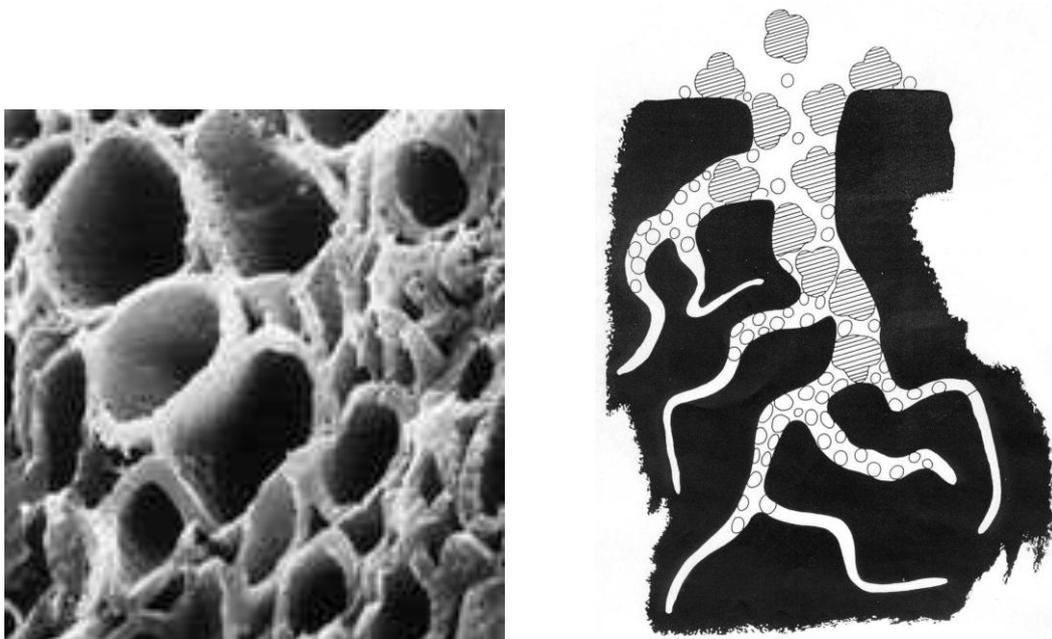


Figure I-6-1 Structure poreuse du charbon actif [24].

I-6-1 Structure du charbon actif :

Micropores < 2nm ; 2 nm < Macropores < 50 nm ; mésopores > 50 nm [25].

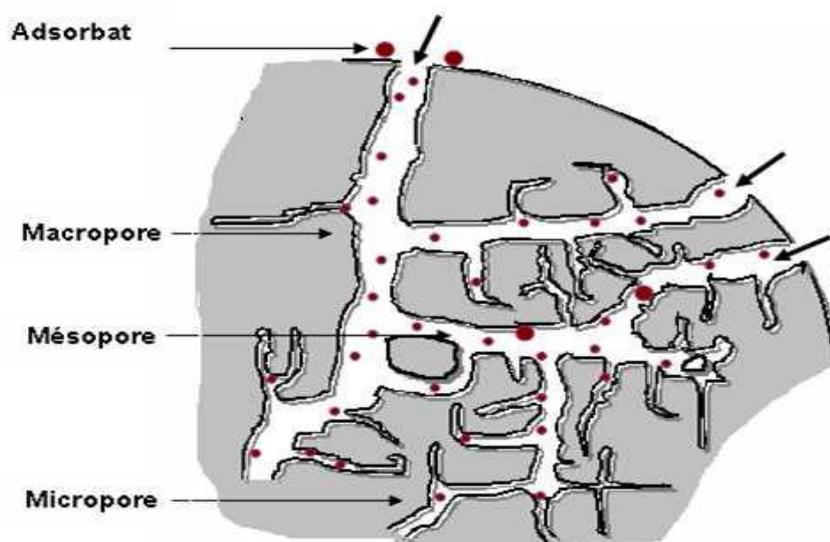


Figure I-6-2 Schématisation de la structure du charbon actif [25].

I-6-2 Les types de charbons actifs :

- **Charbon actif en poudre CAP :** et il est généralement utilisé en combinaison avec un traitement clarificateur. Le CAP est ajouté continuellement avec l'eau à traiter avec des agents flocculant. Il est 2 à 3 fois moins cher que le charbon en grains. L'adsorption est rapide dans la mesure où une grande partie de la surface de contact est directement disponible. La détection des pointes de pollution est problématique et la concentration applicable est limitée à 80 mg.L^{-1} [24].
- **Charbon actif en grain CAG :** L'élimination des micropolluants organiques et de la matière organique les pesticides et les composés sapides sont l'enjeu majeur de l'emploi du CAG. L'élimination de la matière organique sous forme de carbone organique dissous biodégradable fait appel aux phénomènes d'adsorption et de biodégradation. La nitrification de l'ammonium, la réduction des oxydants chlorés résiduels et une très faible élimination de certains sous-produits de désinfection tels que les bromates et les chlorates, sont les autres potentialités du charbon actifs en grains [24].

I-6-3 Les domaines d'application du charbon actif :

L'utilisation du charbon actif est répartie comme suit [27] :

Purification des gaz :

- Traitement des fumées : dans la réduction et l'élimination des dioxines, furanes et métaux lourds.
- Traitement des gaz et biogaz : l'élimination de H₂S et les COV (aromatiques, hydrocarbures, halogènes, alcanes, alcènes, alcools, siloxanes, amines.....).
- Traitement des odeurs : dans l'élimination des odeurs de sulfures ; Composés soufrés tels que les mercaptans, indoles...; Ammoniac et les Amines.

Purifications des liquides :

- Traitement de l'eau potable : dans l'élimination du mauvais goût provenant de la décomposition de matériel organique et du développement bactérien ; des molécules organiques tels que les résidus de pesticides, trihalométhanes...et aussi l'élimination des colorations provenant des acides humiques et fulviques,

I-7 La biosorption :

La biosorption est une propriété de certains types de biomasses microbiennes, vivantes inactives ou mortes.

C'est un phénomène mixte d'adsorption et/ ou de biodégradation. La biosorption a fait l'objet de plusieurs travaux de recherche au cours des dernières années et représente une alternative intéressante pour le traitement de divers types d'effluents industriels aqueux.

Le développement actuel de cette technique vise à réaliser simultanément, dans le même ouvrage, le processus biologique de dégradation par la biomasse épuratrice et la filtration par adsorption de l'effluent à traiter [28].

I-7-1 La biosorption et ses domaines d'application :

Il existe des quantités importantes de biomasses qui n'ont pas trouvé jusqu'à présent de valorisation intéressante et qui sont capables d'adsorber naturellement certains éléments

toxiques. Il s'agit de résidus de fermentation industrielle constitués principalement de boues de mycélium de divers champignons cultivés pour produire des enzymes, des acides organiques, ou des antibiotiques. Ces biosorbants pouvant être régénérés, s'avèrent sélectifs, performants et très économiques. Leurs utilisations semblent particulièrement intéressantes dans les domaines d'applications suivants : [28]

- Purification des eaux riches en métaux,
- Décontamination des eaux usées radioactives,
- Récupération de métaux précieux en solution très diluée,
- Récupération de métaux dans les solutions de traitement des minerais.

La plupart des micro-organismes favorise un mode de vie où la population bactérienne se fixe sur un support plutôt que de rester libre et isolée dans le milieu environnemental. L'attachement sur une surface est une stratégie de survie qui permet à la bactérie de s'installer et de coloniser un environnement. Après attachement, les bactéries vont mettre en place et développer une communauté organisée à laquelle on donne le nom de « biofilm ».

I-7-2 Définition d'un biofilm

Le biofilm est une pellicule visqueuse qui adhère aux parois. Il se compose de bactéries et de polymères organiques, polysaccharides et glycoprotéines, produits par ces microorganismes et qui favorisent leur adhésion sur les surfaces et rend leur élimination difficile. Il représente un réservoir de micro-organismes qui les protège des agressions extérieures [29].

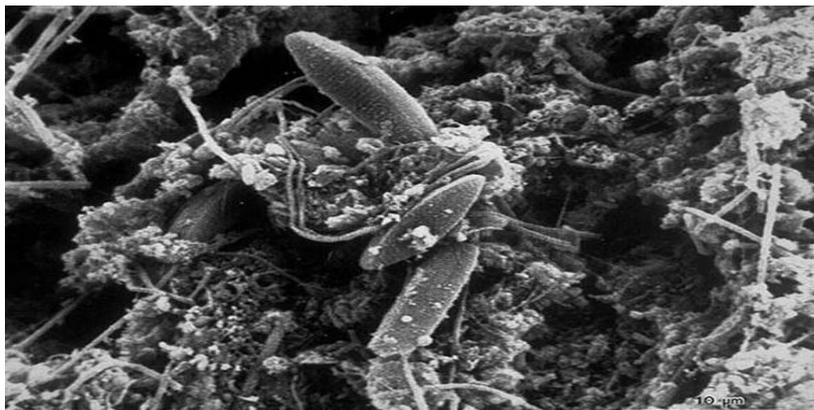


Figure I-7-1. Biofilm de cellules indigènes sur une surface d'acier.

La vue au microscope électronique à balayage d'un développement bactérien sur une surface d'un système d'eau industrielle (8 semaines)

I-7-2 Formation des biofilms :

La formation d'un biofilm bactérien sur une surface solide est un phénomène complexe dans lequel des processus physiques, chimiques et biologiques sont impliqués [30]. La constitution d'un biofilm mature nécessite plusieurs étapes (Figure I.5.) :

- attachement réversible des bactéries,
- adhésion irréversible et production d'EPS (extrapolymeric substances),
- formation des micro-colonies,
- maturation du biofilm et mise en place de la structure tridimensionnelle du biofilm,
- détachement du biofilm.

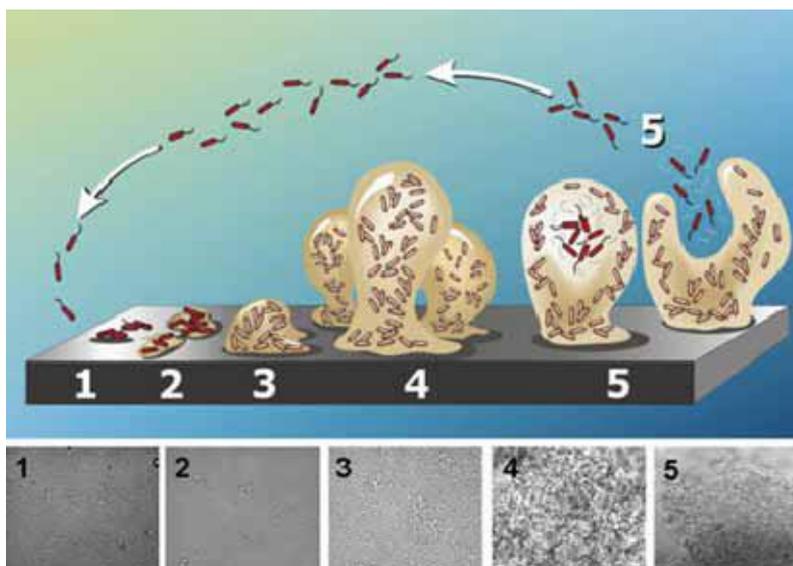


Figure I-7-2. Représentation schématique des différentes étapes de formation d'un biofilm [30].

I-7-2-1 Conditionnement de la surface par le milieu :

La nature du milieu, du matériau, ainsi que les caractéristiques de surface de ce dernier, sont des paramètres essentiels lors de la première étape qui est la précolonisation. En effet, la surface est le siège d'une adsorption irréversible de macromolécules telles que des acides humiques, des polysaccharides ou des protéines, conduisant à la formation d'un film conditionnant. Ce film est qualifié de conditionnant car il peut modifier les propriétés de surface initiales du matériau ce qui a pour conséquence soit de prévenir l'approche des bactéries soit au contraire de créer un micro-environnement favorable à l'adhésion stable des bactéries [30].

I-7-2-2 Adhésion des bactéries : la colonisation

L'approche des bactéries de la surface dépend des propriétés dynamiques du milieu (vitesse d'écoulement du fluide) et des propriétés physico chimiques de la surface. L'adhésion bactérienne implique le déplacement de la cellule vers le lieu de son adhésion. Cette approche nécessite différents appendices bactériens, tels que les flagelles et les cils qui permettent également à la bactérie de se déplacer sur la surface. D'autres appendices, les pilis sont pour leur part impliqués dans l'attachement initial à la surface. Dans un premier temps l'adhésion est due à des interactions faibles entre la surface et les bactéries. A ce stade, la

bactérie peut désorber de la surface et retrouver son état planctonique, l'adhésion est donc réversible.

Dans un deuxième temps, l'adhésion devient irréversible grâce à la sécrétion d'exopolymères par les bactéries permettant de consolider leur fixation. Dans ce cas, des interactions fortes s'établissent entre la bactérie et la surface avec des liaisons de type hydrophobe. La synthèse des EPS, qui débute dès les premières étapes d'adhésion, se poursuit pendant la maturation du biofilm et la matrice peut alors occuper jusqu'à 75-95 % du volume d'un biofilm mature [30].

I-7-2-3 Croissance du biofilm :

Une fois que la bactérie est irréversiblement adhérente à la surface, sa multiplication conduit à la formation de colonies qui vont recouvrir toute ou une partie de la surface selon les propriétés de surface des bactéries et des matériaux. La structure du biofilm dépend des conditions environnementales telles que la source de carbone ou le régime hydrodynamique. Par la suite le biofilm a une croissance exponentielle se traduisant par une augmentation importante de son épaisseur jusqu'à former un film hétérogène tridimensionnel. Dans cette structure tridimensionnelle se forment des canaux permettant la circulation de nutriments, d'oxygène et l'évacuation des produits issus du métabolisme bactérien. Finalement l'épaisseur du biofilm se stabilise lorsque les phénomènes d'arrachement du biofilm compensent sa croissance [31].

I-7-2-4 Dispersion du biofilm :

Le détachement de cellules du biofilm intervient lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables : limitation de la disponibilité en oxygène dans des biofilms épais, apparition de forces de cisaillement dues aux conditions hydrodynamiques, diminution de la concentration ou modification de la nature des nutriments disponibles. Les bactéries peuvent alors migrer afin de trouver un environnement plus favorable à leur développement, c'est le phénomène de relargage. Ce phénomène n'est pas restreint au dernier stade du développement du biofilm mais peut avoir lieu, soit par lyse cellulaire soit par le départ de cellules viables, tout au long de la formation du biofilm et en réponse à un changement d'environnement [32].

I-7-3 Aspects négatifs/positifs des biofilms :

I-7-3-1 Aspects négatifs :

Les biofilms sont souvent dénoncés aux vues des conséquences qu'ils engendrent. Lutter contre le développement biofilms est, par exemple dans le domaine médical, un enjeu important. Les biofilms sont responsables de certains problèmes de santé publique. En effet, 65% des infections bactériennes chez l'homme impliquent des biofilms. Les biofilms peuvent se former au niveau de cathéters ou d'implants et attaquer des tissus corporels comme les dents, les yeux, les poumons, les oreilles ou le tractus urogénital. Ces infections dans les hôpitaux sont connues sous le terme d'infections nosocomiales. Le biofouling (bio-infection), la biocorrosion, l'endommagement des matériaux ainsi que la contamination lors de la fabrication de produits alimentaires sont des problèmes industriels récurrents et coûteux, les biofilms peuvent dégrader les propriétés organoleptiques de produits alimentaires. De plus, en se développant dans les circuits de refroidissement ils peuvent engendrer une diminution des capacités d'échange thermique. Les activités marines et portuaires font face à de graves problèmes liés aux biofilms marins. La corrosion induite par les micro-organismes ou biocorrosion est estimée chaque année à 5 milliards d'euros en France et a fait l'objet de nombreuses études [28].

I-7-3-2 Aspects positifs :

Dans les eaux, sur et sous terre, les biofilms sont des composants essentiels des environnements naturels. Les micro-organismes constituent la majeure partie de la biomasse vivante terrestre et en tant que tel ont un rôle majeur dans le recyclage des éléments essentiels à la vie. Les bactéries ont été associées à la formation de plusieurs types de rocs sédimentaires et de minéraux. D'autre part, les biofilms ont été utilisés depuis des siècles avec succès dans le traitement des eaux et des eaux usées [28].

I-7-4 Formation d'un biofilm par les *Pseudomonas aeruginosa* :

Pseudomonas aeruginosa possède un génome complexe et de nombreux systèmes de régulation, ce sont ces caractères qui lui confèrent une facilité d'adaptation selon l'environnement et ainsi une grande pathogénicité. Les bactéries planctoniques ont un phénotype différent des bactéries sous forme de biofilms mais leur génotype reste le même. La différence entre les deux formes résulte de l'expression différentielle de gènes. Cette

Etude bibliographique

expression différente explique les étapes de formation et de maturation d'un biofilm, et pourrait être la cause de la résistance du biofilm aux antibiotiques [29].

Chapitre II :
MATERIEL ET METHODES

Chapitre II : MATERIEL ET METHODES

II-1 Matériels :

II-1-1 Matériel biologique :

La souche bactérienne utilisée est *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 fournie par l'Institut PASTEUR d'Alger, elle est conservée au réfrigérateur à une température de 4°C sur milieu gélosé incliné de conservation.

II-1-2 Milieu de culture:

- Le milieu de culture utilisé est un milieu minéral liquide contenant le phénol comme unique source de carbone et d'énergie, et des éléments minéraux indispensables à la croissance de la bactérie. Voir la composition du milieu en annexe N°1.
- Un autre du milieu minéral a été utilisée pour étudier l'effet de la composition du milieu sur l'évolution du biofilm [33]. La composition de ce milieu est citée en annexe N°2.
- La composition du bouillon nutritif est indiquée dans l'annexe N°3. Servant de préculture pour obtenir une concentration bactérienne suffisante.

II-1-3 Produits et matériels utilisés :

- **Les Réactifs de dosage du phénol :** Les réactifs utilisés pour le dosage du phénol sont cités en annexe N°4.
- **Matériels et appareils utilisés :** Les différents matériels utilisés sont résumés en annexe N°5.

II-1-4 Les caractéristiques de charbon actif utilisé :

Avant utilisation, Le charbon est bouilli dans l'eau distillée, séché en étuve à 105°C, il est stocké par la suite dans des bouteilles en verres. Le tableau ci-dessous récapitule l'ensemble des caractéristiques de l'adsorbant :

Tableau II-1 Propriétés physico-chimiques du charbon actif utilisé

Caractéristique	Résultat
Humidité(%)	4,21
% de cendre	5,25
% de porosité	27,0
Indice d'iode (mg. g ⁻¹)	1441
Densité réelle (g.cm ⁻³)	1,59
Densité apparente (g.cm ⁻³)	0,50
V.P.T (cm ³ .g ⁻¹)	1,83
Surface spécifique (m ² .g ⁻¹)	1183

II-2 Méthodes d'analyse:

II-2-1 Mesure de la croissance bactérienne

Après avoir épuisé le temps de l'expérimentation, les deux phases sont séparées et la croissance bactérienne de chaque phase est déterminée.

➤ Du milieu liquide :

La densité de biomasse a été déterminée au moyen d'un spectrophotomètre UV-visible en mesurant l'absorbance à une longueur d'onde de 600 nm, en se référant à un blanc ne contenant que le milieu de culture.

La valeur de la DO est ensuite convertie en poids cellulaire sec par le biais d'une courbe d'étalonnage présentée en annexe N°6 dont l'allure est une droite d'équation [34] :

$$X \text{ (mg.L}^{-1}\text{)} = 434,8 \cdot \text{DO}$$

➤ Du milieu solide :

Le procédé de récupération de la biomasse fixée adopté est le suivant : 20 mL d'eau distillée sont ajoutés au culot et agités énergiquement pour décoller le biofilm fixé. Le liquide est récupéré et sa biomasse déterminée comme précédemment. L'opération est répétée trois fois (La densité optique lue est pratiquement négligeable).

La biomasse fixée est la somme des trois biomasses déterminées.

II-2-2 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 phénate sur la 4-amino antipyrine en présence d'un oxydant, l'hexacyanoferrate(III) de potassium (ferricyanure de potassium).

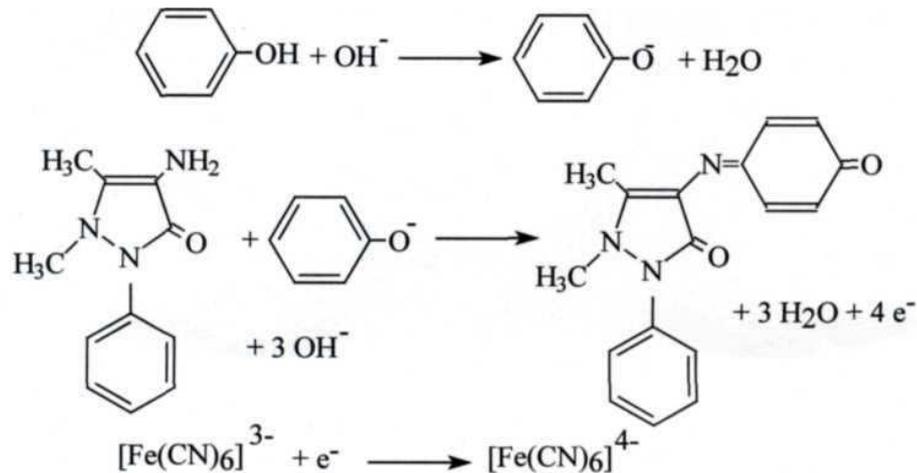


Figure II-1 la condensation du phénol avec la 4-amino antipyrine.

Le complexe ainsi formé est de couleur rouge dont l'intensité dépend de la concentration en phénol. Cette méthode est valable pour des concentrations de 0.05 à 1mg/l d'où la nécessité de faire des dilutions quand on travaille à des concentrations élevées.

La concentration inconnue en phénol est déterminée en mesurant la DO à 510 nm au spectrophotomètre UV/visible et en utilisant la courbe d'étalonnage présentée en annexe N°7.

La concentration est déduite de l'équation de la droite suivante :

$$[\text{Phénol}] (\text{mg.L}^{-1}) = 0,13 \cdot \text{DO}$$

II-3 Méthodologie:

➤ Préparation de l'inoculum (suspension bactérienne) :

A partir d'un tube de conservation de *P. aeruginosa*, un ensemencement de quelques colonies est réalisé à l'aide d'une pipette Pasteur stérile dans un tube de bouillon nutritif de 15mL (10 mL constituant l'inoculum de la culture et les 5 ml restant servent à estimer le trouble de la préculture par la lecture de la DO à 600 nm).

Après 48 heures d'incubation à 37 °C, la présence du trouble notable dans le bouillon indique une croissance bactérienne.

Evaluation de la croissance bactérienne en fonction de la masse de charbon actif

Différentes masses de charbon qui varient de 0 g à 1,5 g sont introduites dans des flacons contenant 100 mL de solution minérale. Fermés, ils sont stérilisés à 120°C durant 20 mn à l'autoclave. Après la stérilisation et dans la zone d'un bec bunsen à chaque flacon est ajoutée :

- On ajoute une masse de phénol appropriée à la concentration voulue.
- 5ml d'un inoculum.

Après 48h à 37°C et dans les conditions d'asepsie on mesure la concentration résiduelle en phénol, la biomasse dans la phase liquide et dans la phase solide, selon le protocole expérimental suivant :

Dosage du phénol	<ul style="list-style-type: none"> • Prélever un petit volume du surnageant et on filtre, on fait une dilution de 1 ml de dans une fiole de 100 ml avec de l'eau distillée. • Verser dans un erlen meyer, ajouter 2ml de la solution tampon et agiter. • Ajouter 2 ml de la solution de 4-amino- antipyrine et agiter. • Ajouter 2 ml de la solution de ferricyanure de potassium et agiter. • Laisser la coloration se développer pendant 15 mn et lire la DO à 510 nm au spectrophotomètre.
Mesure de la biomasse dans la phase liquide	<ul style="list-style-type: none"> • Déterminer la DO à 600 nm par le spectrophotomètre
Mesure de la biomasse dans la phase solide	<ul style="list-style-type: none"> • Ajouter 20ml d'eau distillé sont ajouté au culot est agité énergiquement pour décoller le biofilm fixé. • Récupérer le liquide et déterminer la biomasse par la lecture de la DO à 600 nm. • Répéter l'opération trois fois.

Evaluation de la croissance bactérienne en fonction de la nature de milieu minéral

Le même procédé est répété pour une concentration initiale de phénol égale à 250 mg.L⁻¹, on réalise cette expérience pour deux milieux minéraux de composition différente. Après 48h à 37°C et dans les conditions d'asepsie on mesure la concentration résiduelle en phénol, la biomasse dans la phase liquide et dans la phase solide et on compare les résultats obtenus.

Evaluation de la croissance bactérienne en fonction de la concentration initiale de phénol

On suit les mêmes étapes on variant la concentration initiale de phénol pour 100,180 et 250mg.L⁻¹ et on mesure la concentration résiduelle en phénol, la biomasse dans la phase liquide et dans la phase solide et on compare les résultats obtenus.

Isotherme d'adsorption

Sa détermination s'est faite en faisant varier la masse de l'adsorbant de 0,1 g à 1,5 g en maintenant la concentration constante. Deux concentrations de phénol ont été utilisées 100 et 250 mg.L⁻¹.

Après 24h, un dosage du phénol est réalisé par la mesure de DO à 510 nm.

Cinétique de croissance bactérienne.

20 flacons contenant 100mL du milieu minéral, après stérilisation on ajoute une masse 250 mg de phénol par 1L du milieu minéral, 5ml de l'inoculum et 1g de charbon Sont mis dans une étuve à 37°C. Toutes les heures, la concentration en phénol, la biomasse dans la phase liquide et solide d'un flacon sont déterminées.

Chapitre III :
RESULTATS ET DISCUSSIONS

Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

III-1 adsorption : les isothermes d'adsorption

III-1-1 Nature des isothermes :

L'isotherme présentée sur la figure III -1 est obtenue en faisant varier les quantités de charbon actif avec une concentration de phénol fixe. On utilise une concentration de 100 mg.L^{-1} .

Les résultats obtenus sont représentés graphiquement :

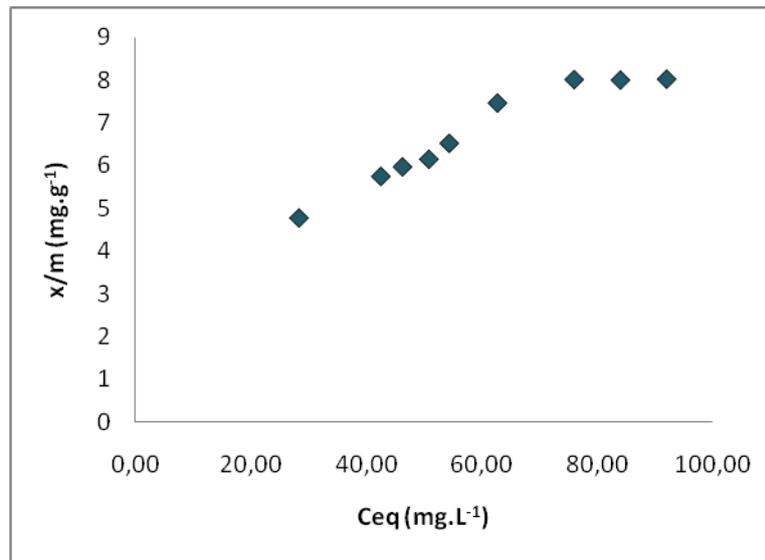


Figure III -1-1 Isotherme d'adsorption de phénol ($C_0=100\text{mg.L}^{-1}$)

X/m est en mg.g^{-1}

L'isotherme est de type 1 : les molécules adsorbées sont en présence d'un adsorbant possédant des pores de diamètre équivalent aux dimensions de la molécule du phénol et donc l'adsorption privilégie la monocouche en premier lieu.

III-1-2 Modélisation de l'isotherme :

La distribution de la concentration de phénol entre la phase liquide en équilibre et la phase solide (le charbon actif) est d'une importance capitale pour la détermination des capacités maximales d'adsorption. La modélisation des résultats s'est faite en utilisant :

Modèle de Langmuir :

La forme linéaire du modèle de Langmuir est :

$$\frac{C_{eq}}{\left(\frac{x}{m}\right)} = \frac{C_{eq}}{q_m} + \frac{1}{q_m \cdot b}$$

Le modèle de Langmuir admet que les énergies d'adsorption sont uniformes sur la surface, qu'il n'y a aucune transmigration des molécules adsorbées et aussi une approche asymptotique de la capacité maximale d'adsorption en monocouche (q_m).

La représentation graphique de la forme linéarisée pour les deux systèmes est donnée par :

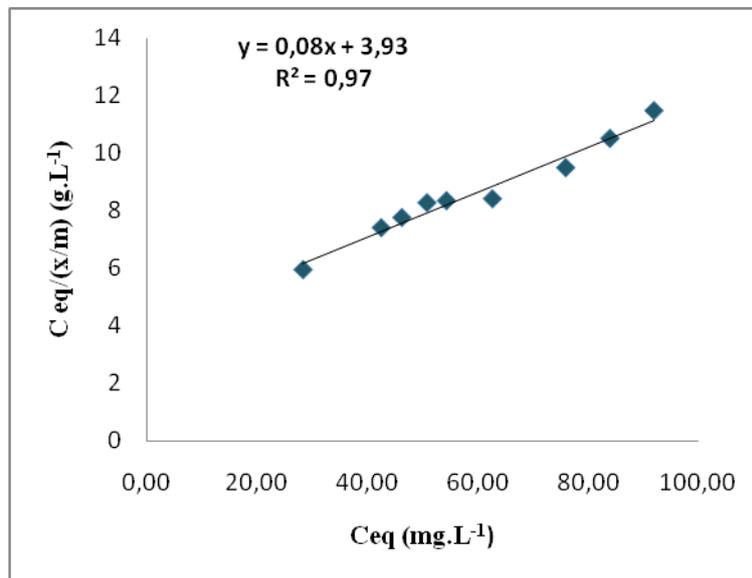


Figure III -1-2 Isotherme d'adsorption du phénol sur charbon actif selon le modèle de Langmuir ($C_0=100 \text{ mg.L}^{-1}$)

Modèle de Freundlich :

La relation de Freundlich a été largement utilisée pour les systèmes hétérogènes, en particulier pour décrire les phénomènes d'adsorption des composés organiques sur le charbon actif, elle est caractérisée par le facteur d'hétérogénéité $1/n$.

Ce modèle décrit une adsorption réversible et non restreinte à une formation de monocouche de la formule linéaire :

$$\ln\left(\frac{x}{m}\right) = \ln k + \frac{1}{n} \ln C_e$$

La figure suivante : représentent le tracé de courbe $\ln(x/m)$ en fonction de $\ln(C_{eq})$.

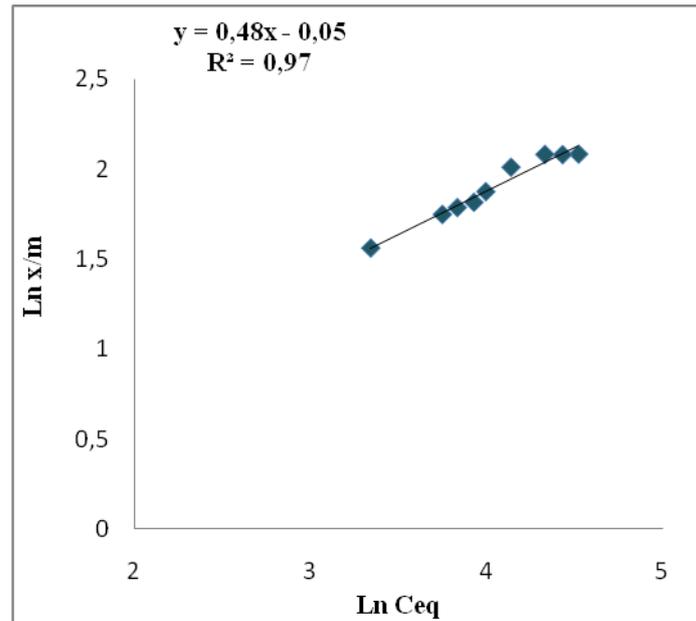


Figure III -1-3 Isotherme d’adsorption du phénol sur charbon actif selon le modèle de Freundlich ($C_0=100 \text{ mg.L}^{-1}$)

Les différents paramètres des modèles utilisés sont regroupés dans le tableau III-1

Paramètres des modèles de Langmuir et Freundlich.

Modèles	Langmuir				Freundlich		
	R ²	qm (mg.g ⁻¹)	b (L.mg ⁻¹)	a	R ²	1/n	K (mg.g ⁻¹)
C ₀ (100mg.L ⁻¹)	0,97	12,72	0,02	0,33	0,97	0,48	0,95

* Les valeurs des coefficients de corrélation (R²) trouvées sont supérieures ou égales à 0,96 ; ce qui indique que les deux modèles ajustent bien les résultats expérimentaux.

* Une valeur appréciable de qm ont été obtenues cela signifie que le charbon utilisé possède une bonne capacité d’adsorption pour le phénol.

* A partir du modèle de Langmuir, on définit un paramètre qui est le facteur de séparation ou paramètre d’équilibre (a). L’affinité est d’autant meilleure que ce paramètre est faible (sa valeur est comprise entre 0 et 1)

$$a = \frac{1}{(1+b.C_0)}$$

* La valeur de la constante (K) et la quantité maximale adsorbée varient avec la concentration.

* Des valeurs faibles de $1/n$ dans l'équation de Freundlich sont synonymes de meilleures propriétés d'adsorption.

III-2 Evolution de la croissance bactérienne dans la phase liquide, solide et totale lors de la dégradation du phénol.

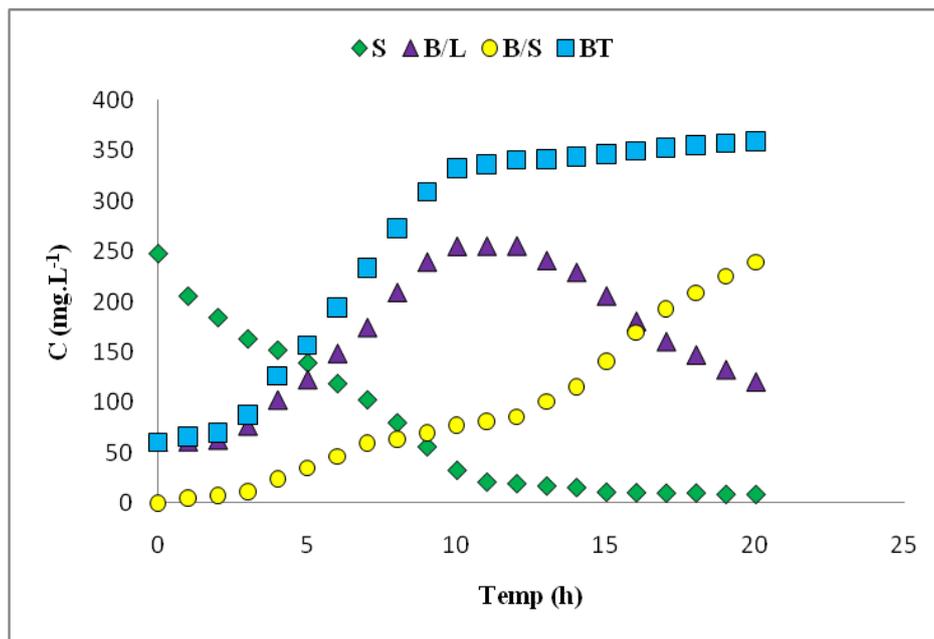


Figure III -2 Evolution de [S], [B/S], [B/L], [B_T] en fonction du temps.

$$C_0 = 250\text{mg.L}^{-1}, \text{ temp} = 48 \text{ h.}$$

La figure III -2 illustre la croissance bactérienne dans les phases liquide et solide.

Une première étape où on a fixation des bactéries sur le support solide, entraînant une stagnation du nombre des bactéries dans la phase liquide et son augmentation dans la phase solide. Ce mécanisme dure approximativement 5 heures. Près cela, la consommation du substrat qui n'a pas cessé, induit un accroissement de la masse bactérienne dans les deux phases, étape qui dure encore 5 heures. Entre 10 et 15 heures, le milieu liquide s'appauvrit en substrat et nutriments et on il y'a une stagnation de la croissance bactérienne dans la phase liquide dus à l'adsorption des bactéries libres par le charbon actif. Par contre la croissance bactérienne sur le support continue profitant de la quantité de substrat adsorbé.

Au-delà de 15 heures, nous avons une adsorption des bactéries par le charbon actif alors que les bactéries fixées continuent de bénéficier de ce qui a été adsorbé.

La biomasse totale qu'est la somme de biomasse dans les deux phases devient plus important en fonction du temps cela est du à la croissance bactérienne dans les deux phases, mais lorsque le substrat fait défaut, la biomasse totale engendrée devient constante pendant un certain temps avant de commencer à décliner elle aussi.

III-3 Evolution des paramètres [S], [B/S], [B/L], [BT] en fonction de la masse de l'adsorbant.

$$A/ C_0 = 100\text{mg.L}^{-1}$$

Les évolutions de la concentration résiduelle du phénol et de la biomasse dans les deux phases en fonction de la masse de l'adsorbant ont été représentées graphiquement :

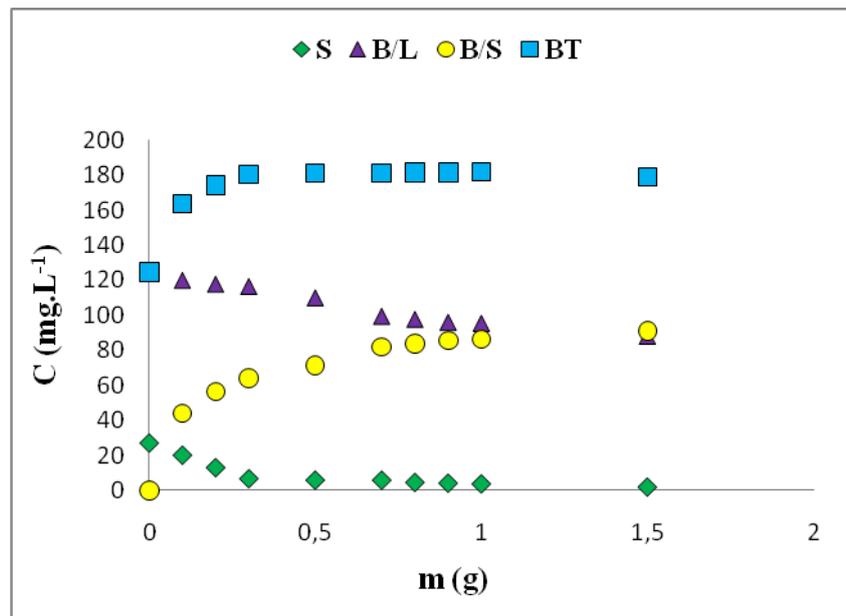


Figure III-3-1 : Evolution de [S], [B/S], [B/L], [B_T] en fonction de la masse de l'adsorbant ; C₀ = 100 mg.L⁻¹ ; T = 37°C, temp = 48 h.

Comme prévue la quantité du phénol restante est tributaire de la quantité d'adsorbant ajoutée et elle est inversement proportionnelle à cette dernière.

0,3 g de charbon biologique (biosorbant) sont suffisants pour traiter les 100 mg.L⁻¹ de phénol.

La biomasse totale produite par l'assimilation du substrat est pratiquement indépendante de la quantité ajoutée de charbon actif. Elle est en réalité la somme de deux biomasses : celle fixée sur le charbon actif et celle de la phase liquide.

C'est deux biomasses évoluent en sens inverse, la biomasse solide est d'autant plus importante que la masse du support est grande. La biomasse liquide l'est d'autant moindre.

$$B/ C_0 = 180\text{mg.L}^{-1}$$

La même expérience a été refaite mais en changeant la concentration du phénol.

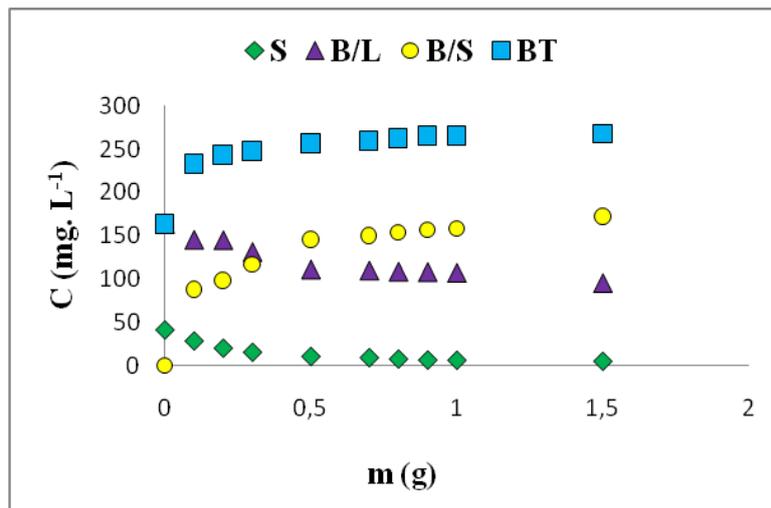


Figure III-3-2 Evolution de l'élimination du phénol, la croissance dans la phase liquide, solide et la biomasse total formé pour une concentration de phénol 180 mg.L⁻¹

La masse de 0,5g du charbon biologique est suffisante pour traiter les 180 mg.L⁻¹ (précédemment 0,3g d'adsorbant pour 100mg de phénol). Les évolutions des différents paramètres d'évaluation sont identiques.

III- 4 Evolution des paramètres [S], [B/S], [B/L], [B_T] en fonction de la nature du milieu minéral

Les oligo-éléments tels que les métaux sont indispensables à la croissance des bactéries, soit pour la synthèse des métabolites ou bien pour celle de pigments. Nous avons utilisé deux milieux minéraux (M1 et M2) dont la composition est présentée en annexe N°2, avec la même concentration du phénol 250 mg.L⁻¹.

Les évolutions de la croissance bactérienne dans les deux phases ainsi que la dégradation du phénol sont représentées sur la Figure III-4.

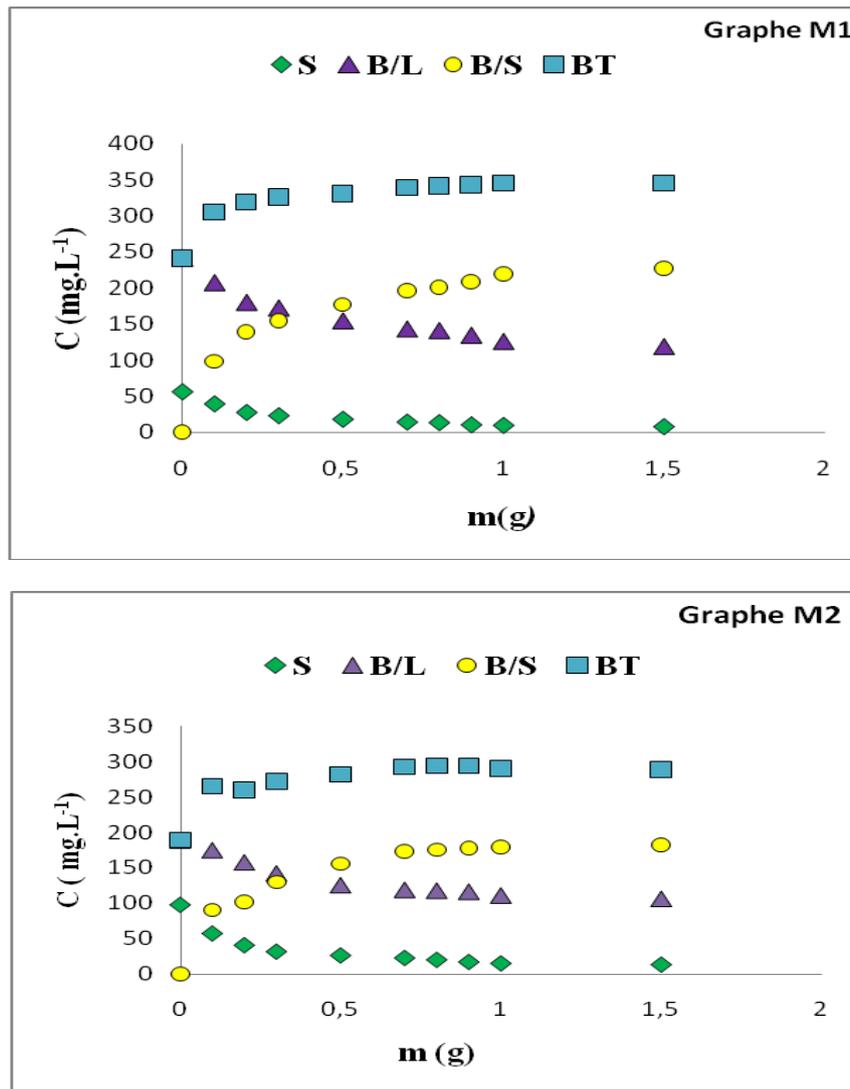


Figure III-4 Comparaison de la croissance bactérienne et la dégradation du phénol dans deux milieux minérales M1 et M2

Le milieu le plus adéquat est le premier milieu minéral utilisé, ou la biodégradation du phénol est meilleure et la croissance bactérienne plus importante, par conséquent la composition joue un rôle prépondérant. Les différents éléments le composant le milieu ont chacun leur apport spécifique :

- **FeSO₄, FeCl₃ et CaCl₂**

A forte concentration ces métaux peuvent inhiber la croissance cellulaire et deviennent toxiques pour certaines cellules.

La teneur du milieu M1 en FeSO₄ et CaCl₂ est de 0,01 g.L⁻¹ alors que dans le milieu M2 elle est de 0,06 g.L⁻¹ de FeCl₃ et de CaCl₂ ce qui probablement inhibe l'activité des bactéries par l'excès des métaux dans le deuxième milieu.

- **NH₄ NO₃**

Dans le milieu M1 on a utilisé 1g.L⁻¹ alors qu'il est absent dans le deuxième milieu M2, alors que c'est une source d'azote favorisant la croissance.

- **Mg SO₄**

On voit la différence entre la composition du milieu M1 et milieu M2, le milieu M1 en contient 0,5g.L⁻¹ ce qui permet à la bactérie d'avoir une bonne source de Magnésium et aussi une bonne source de Soufre. Alors que dans le deuxième milieu M2 on a une très faible concentration de MgSO₄ qui est de 0,06 g.L⁻¹ d'où le déficit en un élément indispensable à la croissance bactérienne.

- **NaCl**

Les éléments minéraux sont des substances indispensables à la croissance bactérienne éléments indispensable à l'équilibre physico-chimique de la cellule. La concentration de 0,5 g.L⁻¹ dans le milieu M1 a été suffisant pour avoir une bonne croissance bactérienne alors celle de 0,06 g.L⁻¹ ne l'était pas dans le deuxième milieu M2

- **Solutions Tampons : (K₂HPO₄ et KH₂PO₄)**

Ils sont inclus dans les milieux de culture bactériologiques afin d'éviter les brusques variations de pH dues aux modifications chimiques qui résultent de la dégradation du substrat. Les solutions tampons (K₂HPO₄ et KH₂PO₄) sont les plus utilisés parce qu'ils permettent de garder le pH dans une large zone autour de 7, ils ne sont pas toxiques et représentent une source de phosphore. Dans le milieu M2 des faibles concentrations de ces éléments ont été utilisés ce qui traduit la faible croissance bactérienne dans ce milieu.

Néanmoins, dans le cas d'une utilisation en dynamique (colonne), le deuxième milieu assurant une croissance bactérienne bien plus importante et bien que moins performant est à préconiser (cela retarde les phénomènes de colmatage).

Par conséquent pour la suite des expériences, c'est le milieu 1 qui sera utilisé.

III-5 Evolution des paramètres d'évaluation en fonction de la concentration du phénol

Les différents résultats sont représentés graphiquement.

III-5-1. Evolution de S

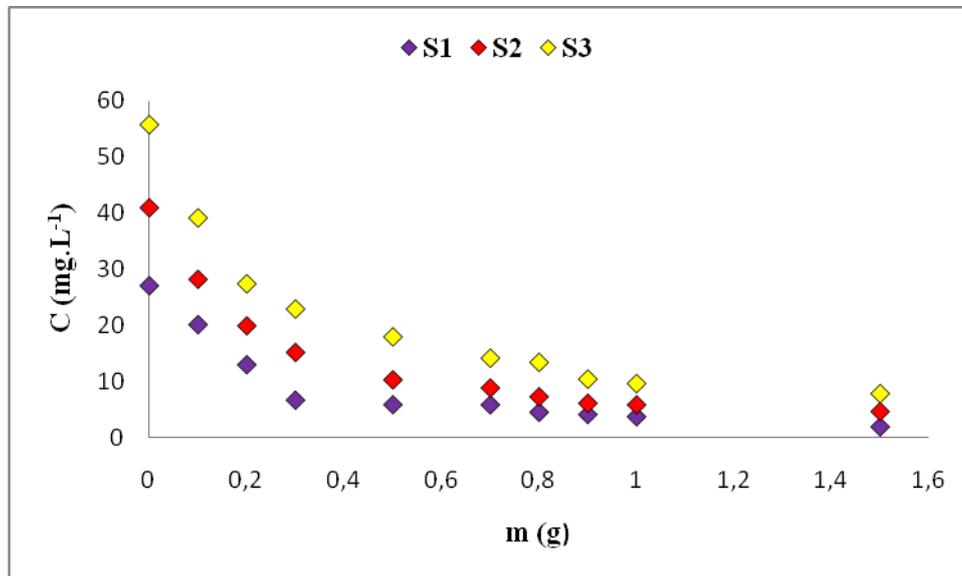


Figure III-5-1 Evolution de la concentration résiduelle du phénol pour des différentes concentrations initiales.

La concentration résiduelle de phénol diminue avec l'augmentation de la masse de charbon et augmente avec la concentration initiale du phénol.

III-5-2. Evolution de B/L

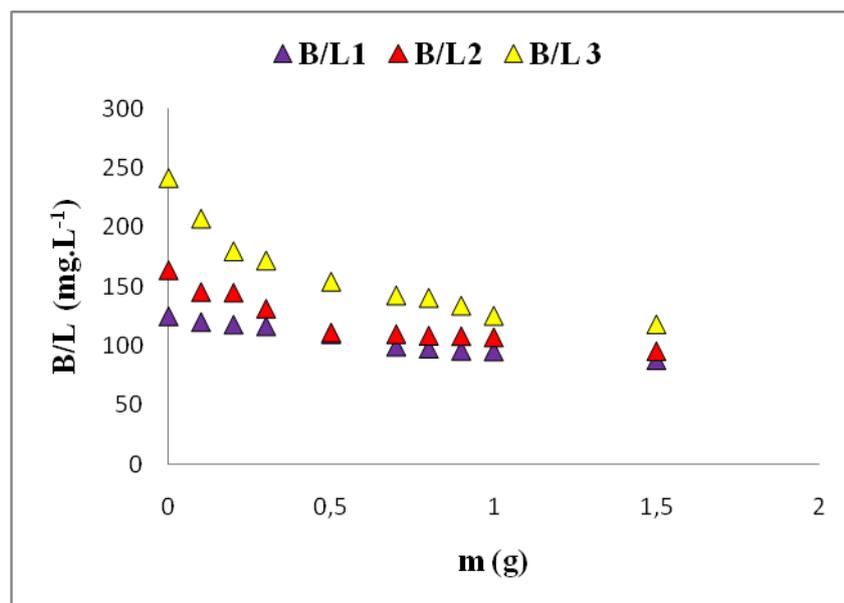


Figure III-5-2 Evolution de la masse bacterienne dans la phase liquide pour des différentes concentrations initiales de phénol.

Plus importante est la concentration en substrat et plus importante est la masse bactérienne. La concentration de la biomasse dans la phase liquide par contre, diminue avec l'augmentation de la masse d'adsorbant.

III-5-3. Evolution de B/S

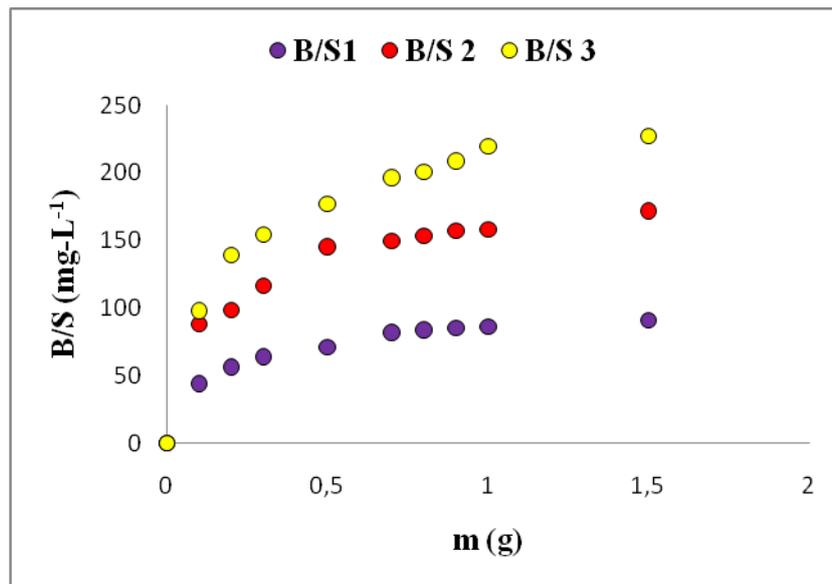


Figure III-5-3 Evolution de la croissance dans la phase solide pour des différentes concentrations de phénol.

La concentration de la biomasse dans la phase solide augmente avec l'augmentation de la masse d'adsorbant. Mais cette croissance n'est pas proportionnelle et tend vers une limite ce qui était prévisible, le nombre de sites actifs évoluant similairement avec la masse de l'adsorbant. Et évolue de la même manière avec l'augmentation de la concentration initiale du phénol.

III-5-4. Evolution de BT

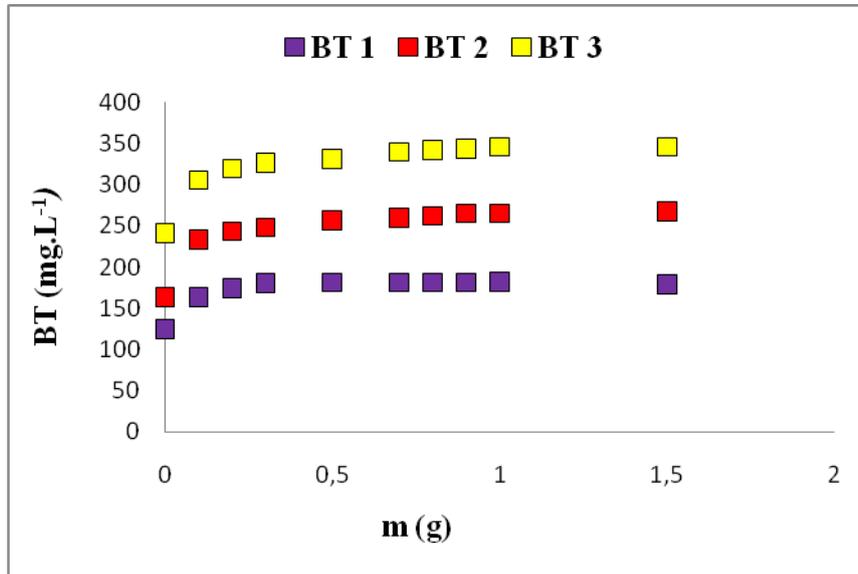


Figure III-5-4 Evolution de la biomasse total pour des différentes concentrations de phénol.

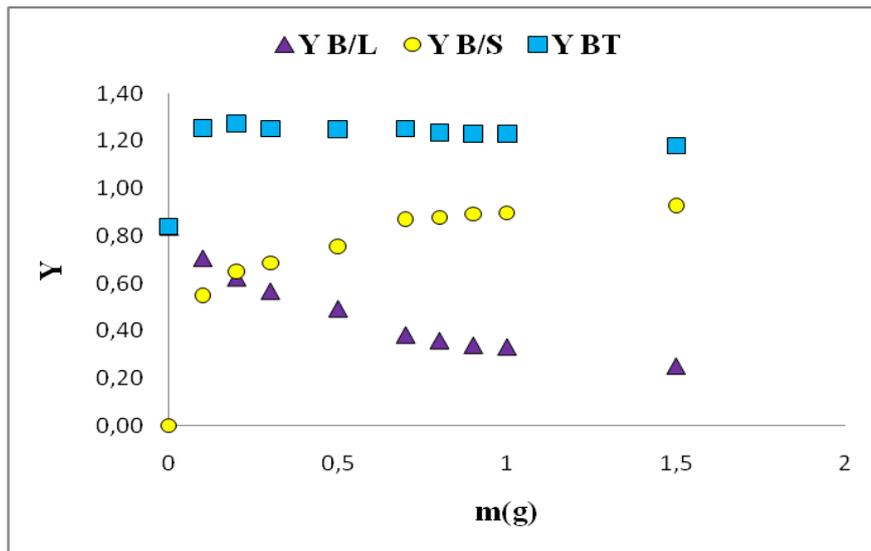
Le biofilm formé est d'autant plus important que la concentration initiale du phénol l'est. Donc plus la concentration en substrat est grande plus, la biomasse est importante.

La biomasse totale évolue dans le même sens que celle de la masse d'adsorbant et de la concentration du phénol initial.

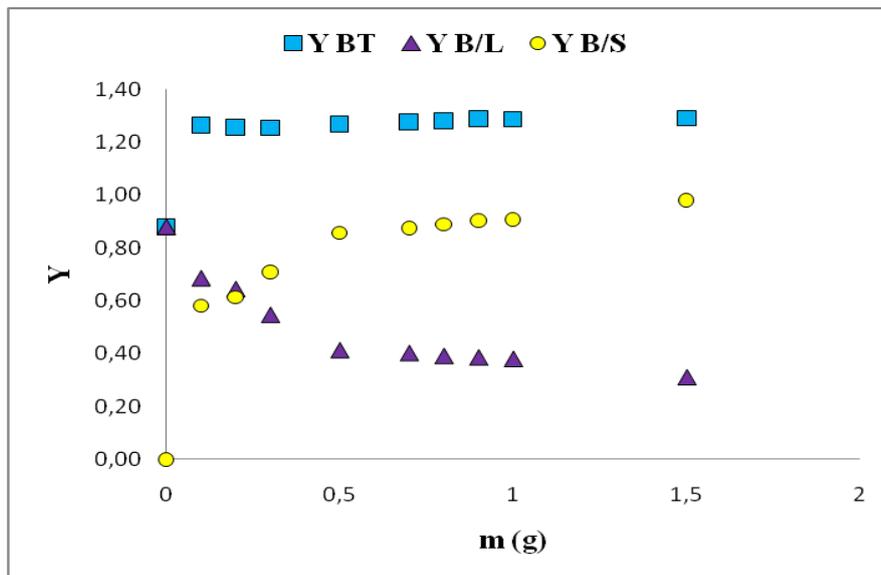
III-6 Evolution du coefficient de conversion avec la concentration du phénol

Suite à l'étude de la biomasse un coefficient de conversion a été étudié dans le but de déterminer si le milieu minéral est bien adapté à la bactérie et de quantifier l'évolution de la croissance bactérienne. Trois concentrations ont été étudiées :

$A/C_0 = 100\text{mg.L}^{-1}$



$B/C_0 = 180\text{mg.L}^{-1}$



$$C/C_0 = 250 \text{mg.L}^{-1}$$

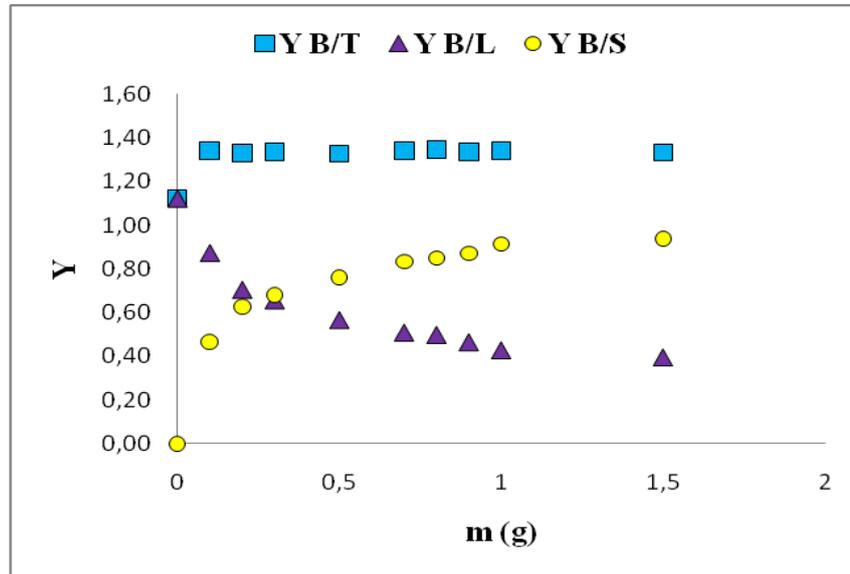


Figure III-6 Evolution du coefficient de conversion pour des différentes concentrations de phénol.

D'après cette figure on remarque que le coefficient de conversion évolue de la même manière que celle de la biomasse en fonction de la masse de l'adsorbant.

Les résultats les plus importants de cette étude est que le coefficient de conversion :

- Évolue très peu avec la concentration.

- Sa valeur ne dépassant pas 1,5 ; impliquant une croissance bactérienne pas très importante vis-à-vis de l'assimilation du substrat, cette valeur pouvant dépasser 20 dans certains cas. Ceci fait du milieu minéral et de la bactérie un système adéquat pour la bio dégradation du phénol en dynamique.

Le $Y_{B/L}$ évolue au sens inverse avec la masse d'adsorbant cela s'explique par la diminution de la concentration de la biomasse en fonction de la masse d'adsorbant.

$Y_{B/S}$ augmente avec l'augmentation de la masse de charbon actif cela est du à la croissance de la biomasse en phase solide car les bactéries ont tendance à se fixer sur le charbon d'où l'augmentation de la biomasse donc une croissance pour le coefficient de conversion en phase solide.

Y_{BT} reste pratiquement constant pour tous les masse de charbon actif, il correspond à la transformation du substrat en biomasse

Conclusion générale

Conclusion générale

Les traitements biologiques utilisant des microorganismes capables de métaboliser le phénol sont considérés comme un moyen efficace pour pallier à la pollution des eaux par ce composé toxique. C'est aussi une alternative intéressante aux traitements physico-chimiques qui sont onéreux et générateurs de sous produits.

Les résultats obtenus lors des essais des isothermes ont montré que :

L'isotherme du système étudié est de premier type qui indique que l'adsorption se fait dans la monocouche.

L'application des modèles de Langmuir et de Freundlich a permis de déduire à partir des coefficients de corrélation que ces modèles ajustent bien les essais de l'adsorption sur charbon actif dans les deux cas à concentration 100 et 250 mg.L⁻¹ de phénol.

L'étude de la croissance bactérienne pendant 20h a montré que cette croissance passe par quatre phases : dans la première phase il y'a une fixation des bactéries sur le charbon ce qui entraîne une stagnation ou diminution du nombre de bactéries dans la phase liquide.

Dans la deuxième phase : par dégradation de substrat on a un accroissement de nombre de bactéries dans les deux phases solides et liquide. Après cela on a une phase de stabilisation de nombre de bactéries dans la phase liquide dû à l'épuisement de substrat mais les bactéries dans la phase solide continuent à se multiplier profitant de la quantité de substrat adsorbé.

Dans la dernière phase nous avons une mortalité des bactéries par déficience de substrat alors que les bactéries fixées continuent de bénéficier de ce qui a été adsorbé.

La croissance bactérienne dans la phase solide devient plus importante lorsque on utilise une grande masse de charbon actif alors que ca diminue dans la phase liquide par épuisement de substrat et le biofilm est pratiquement indépendant de la masse d'adsorbant utilisé.

La croissance bactérienne en utilisant deux milieux minéraux, montre que le premier milieu permet d'avoir une quantité importante de biomasse avec une bonne dégradation de phénol, alors que dans le deuxième elle est moindre ce qui donne l'avantage d'utiliser le deuxième milieu en dynamique (colonne) pour éviter le phénomène de colmatage.

Conclusion générale

La croissance bactérienne est d'autant plus importante que la concentration initiale de phénol est grande

Le coefficient de conversion Y montre que la bactérie transforme beaucoup le substrat en énergie plutôt qu'en masse.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- [1] F. Anctil. L'eau et ses enjeux. De Boeck, Belgique, pp : 4-5, (2008).
- [2] P. Merot. Qualité de l'eau en milieu rurale. Inra, France, pp : 6-8, (2006).
- [3] Marc Laimé. L'eau. Pénurie, pollution et corruption. Ed du Seuil, France, pp : 12-13, (2003).
- [4] C.Ouahes. Chimie organique. Office des publications universitaires. Alger, pp : 293-304, (2003).
- [5] D.Jargot, D. Lafon, N. Bonnard, M.-T. Brondeau, O. Schneider et S. Miraval. Fiche toxicologique. INRS (2006).
- [6] A. Pichard. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques: phénol. INERIS (2005).
- [7] C. Bazin, H. Champsaur, J.-P. Broutin, L.Rodier et P.Chambon. L'analyse de l'eau, Paris. pp421-426 ; pp :1125-1165, (2005).
- [8] INRS, phénol, fiche toxicologique No15, Paris (2008).
- [9] A.-O. Durojaiye, B.-O. Solomon and S.-E. Agarry. Microbial degradation of phenols, Negeria, Vol 32, pp:19-20, (2008).
- [10] K.Arinjay, K.Shashi and K.Surendra. Biodegradation kinetics of phenol and catechol using Pseudomonas putida. , Vol.22, pp:151-159, (2005).
- [11] Donald-A. Klein John-P.Harley et Lansing-M.Prescott. Microbiologie, 2^e édition française, pp :539-542, (2003).
- [12] H. Marchandin. Physiologie bactérienne, Nîmes, pp2-3, (2007).
- [13] H.Roques. Fondements théoriques du traitement biologique des eaux. TEC et DOC, Vol.1, (1979).
- [14] M. Sanaa. Microbiologie prévisionnelle : principaux modèles de croissance utilisés en appréciation quantitative des risques, pp : 169-177, (2002).
- [15] S. Charles-Bajard. Modélisation à visée prévisionnelle de la cinétique de croissance d'une population de Listeria monocytogenes. Thèse de doctorat, Université Claude Bernard Lyon I, France, (1996).
- [16] Jean-R. Lobry. Re-évaluation du modèle de croissance de Monod. Thèse de doctorat, Université Claude Bernard Lyon I, Villeurbanne, France, (1991).
- [17] : R. Scriban. Biotechnologie, Ed. Technique et documentation, Lavoisier. 2^{eme} édition, Paris, (1984).

- [18] Aurélie Monpezat, Crédic Dupuis, Florian Besse et M. Jean Lesne. Evaluation et gestion des risques liés à *Pseudomonas aeruginosa* dans les établissements de thermalisme, école nationale de la santé publique, (2003-2004).
- [19] B. Iglewski et C. Van Helden. Cell-to-cell signaling and *Pseudomonas aeruginosa* infections. Vol.4, pp : 550-560, (1998).
- [20] Sarah Khirani. Procédés hybrides associant la filtration membranaire et l'adsorption/échange ionique pour le traitement des eaux usées en vue de leur réutilisation. Thèse de doctorat, l'institut national des sciences appliquées, Toulouse, (2007).
- [21] Semche Eddine Chitour. Chimie physique des phénomènes de surface. Office des publications universitaires. Alger, pp : 76-34, (1979).
- [22] A.Jelli, J Chaussidon et J Freipiat. Chimie-physique des phénomènes de surface. Paris, (1971).
- [23] M.-S. Ouali. Cours de procédés unitaires biologiques et traitement des eaux. Collection cours universitaires, pp : 120-121, (2001).
- [24] Hélène LE Pape. Etude des propriétés germicides de fibres de carbone activé. Thèse de doctorat, l'université de Limoges, (2003).
- [25] C. Cardot. Les traitements de l'eau : procédés physico-chimiques et biologiques. Edition ellipses, pp : 89-95, (1999).
- [26] Catherine Ayrat. Elimination de polluants aromatiques par oxydation catalytique sur charbon actif. Thèse de doctorat, l'université de Toulouse, (2009).
- [27] Jose Givron. Utilisation du charbon actif dans la problématique environnementale. Belgique, (2007).
- [28] J-M Ghigo. Etude de la formation de biofilms chez les bactéries. Institut Pasteur, rapport d'activité de l'unité Génétique des biofilms pour l'année 2002, pp : 1-3, (2004).
- [29] Rodney-M. Donlan. Perspective of biofilms: microbial life on surfaces. Vol. 8, pp : 881-883, (2002).
- [30] Sandrine Parot. Biofilms électroactifs : formation, caractérisation et mécanismes. Thèse de doctorat, l'institut national polytechnique de Toulouse, pp8-10, (2009).
- [31] Claire Dumas. Catalyse électro-microbienne dans les piles à combustible. Thèse de doctorat l'institut national polytechnique de Toulouse, (2008).
- [32] Anne Goarin et Emilie Dufour. Mécanismes de résistance des biofilms aux antibiotiques. Institut Pasteur Paris, (2007).
- [33] Angela Morodocco, Clem kuek and Roger Jenkins. Continuous degradation of using immobilized *Pseudomonas aeruginosa*. The University of Western Sydney, Australia, (1999)

[34] Ali O. Etude de l'influence des paramètres opératoires sur la dégradation du phénol par *Pseudomonas aeruginosa* en fermenteur. Magister, ENP, (2005).

Annexes

Annexes

Annexe N°1: Composition du premier milieu minéral dans 1L :

- KH_2PO_4 : 0,5 g; K_2HPO_4 : 1,5 g; NaCl : 0,5 g; Mg SO_4 : 0,5 g; NH_4NO_3 : 1 g;
 $\text{FeSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$: 0,01g; $\text{CaCl}_2, 2\text{H}_2\text{O}$: 0,01g; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$: 0,5g.

Annexe N°2: Composition du deuxième milieu minéral dans 1L [42] :

KH_2PO_4 : 0,84 g; K_2HPO_4 : 0,75 g; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$: 0,488 g; NaCl : 0,06 g;
 $\text{CaCl}_2, 2\text{H}_2\text{O}$: 0.06 g; Mg SO_4 : 0, 06 g; Fe cl_3 : 0, 06 g.

Annexe N°3 Préparation du bouillon nutritif dans 1L :

- 8.6g de peptone de viande.
- 6.4g de Nacl.

Autoclaver pendant 20min.

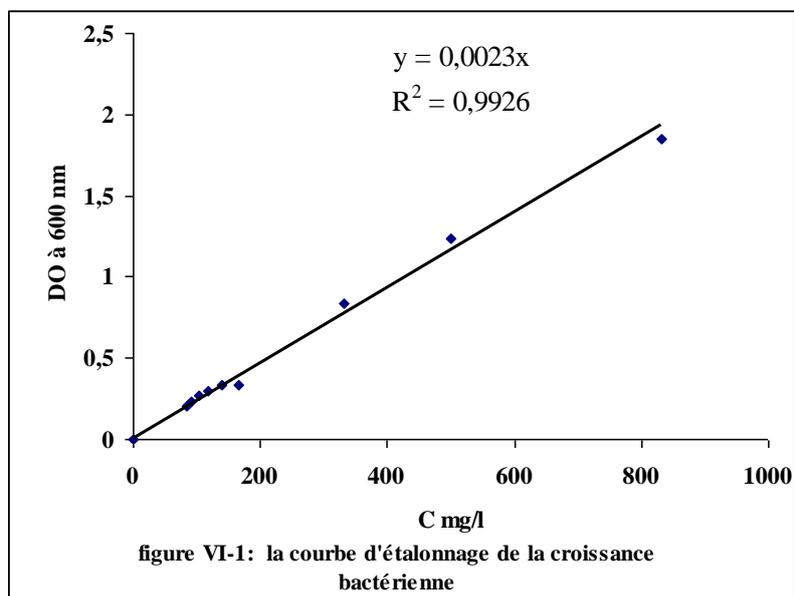
Annexe N°4 Réactifs de dosage du phénol

1- Solution d' amino-4-antipyrine à 2%
2- Solution de ferricyanure de potassium à 8%
3- Solution tampon à pH = 10
(Dissoudre 6.76g de NH_4Cl dans 57.2ml de NH_4OH , et compléter à 100ml avec de l'eau distillée).

Annexe N°5 Matériels utilisés

- Autoclave de marque CERTOCLAV.
- Etuve de marque MEMMERT.
- Spectrophotomètre UV/visible de marque SHIMADZU.
- Agitateur vortex de marque FISHER bioblock scientific.
- Bec bunsen.
- papier filtre.
- Verrerie courante de laboratoire.

Annexe N°6 Courbe d'étalonnage de la croissance bactérienne



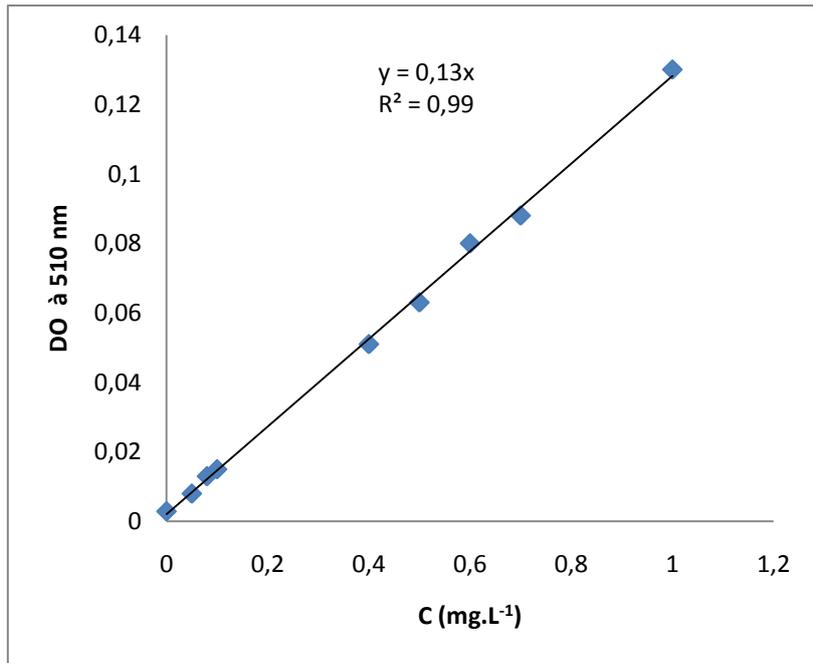
Annexe N°7 Courbe d'étalonnage du phénol

On analyse des solutions préalablement préparées, à différentes concentrations connues en phénol.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

DO	0.002	0.008	0.013	0.015	0.05	0.06	0.08	0.088	0.13
[Phénol] (mg.L ⁻¹)	0	0.05	0.08	0.1	0.4	0.5	0.6	0.7	1

On obtient la courbe d'étalonnage suivante :



الملخص

تعتبر المعالجة البيولوجية للمياه الملوثة بالفينول طريقة فعالة للتخلص من هذه المادة السامة. والهدف من هذا العمل هو دراسة تطور بيوفيلم خلال بيوامتصاص الفينول من طرف بكتيريا بسودوموناس اريوجينوز.

بسودوموناس اريوجينوز ا تثبتت على الكربون المنشط و تحلل الفينول الموجود في الماء هذا التحلل يضمن تحقيق نمو بكتيري يترافق مع تشكيل بيوفيلم سمك هذا البيوفيلم يعتمد أساسا على التركيز الأولي للفينول، وطبيعة الوسط المعدني ، في حين أنها مستقلة عن كتلة من الفحم

الكلمات المفتاحية بيو امتصاص ،امتصاص ، الفينول ، بسودوموناس اريوجينوز ، حبيبات الكربون المنشط حركية التحلل البيولوجي ، بيوفيلم، الأيزوثرم

Résumé

Le traitement biologique des eaux contaminées par le phénol, s'avère être très efficaces. L'objectif de ce travail est d'étudier l'évolution du biofilm lors de la biosorption du phénol par pseudomonas aeruginosa.

La souche pseudomonas aeruginosa se fixe sur le charbon actif et dégrade le phénol présent dans l'eau, cette dégradation lui assure une bonne croissance qui s'accompagne avec une formation d'un biofilm.

L'épaisseur de ce biofilm dépend de la concentration initiale de phénol, de la nature de milieu minéral, alors qu'elle est indépendante de la masse de charbon actif.

Mots clés : Biosorption, adsorption, phénol, pseudomonas aeruginosa, charbon actif en grain, biofilm, cinétique de biodégradation, isotherme.

Abstract

The biological treatment of contaminated waters by phenol turns out to be very effective. The objective of this work is to study the evolution of the biofilm during the biosorption of phenol by pseudomonas aeruginosa.

The pseudomonas aeruginosa binds to the activated carbon and degrade the phenol present in water this degradation provide a good growth to the bacteria with formation of a biofilm.

The thickness of the biofilm depends on the initial concentration of phenol, the nature of the mineral meduim, whereas it is independent of the quantity of the activated carbon.

Key words: Biosorption, adsorption, phenol, pseudomonas aeruginosa, granular activated carbon, biofilm, biodegradation kinetic, isotherm.