

8

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mentouri de Constantine
Faculté des Sciences
Département de Chimie

N° d'ordre :

Série :

BE L

4115

MEMOIRE

Présenté pour obtenir le diplôme de :

Magister en **PHARMACOCHEMIE**

Par **BELDJOUDI MONA-FERYALE**



Thème

**Biodégradation du méthanol en réacteur batch :
influence de la présence d'éthanol et des conditions de culture initiales**

Devant le jury :

Président :	Dr. DERRADJI A.	M.C., Université Mentouri de Constantine.
Encadreur :	Dr. ALI-KHODJA H.	M.C., Université Mentouri de Constantine.
Examineurs :	Dr. MOUATS C.	M.C., Université Mentouri de Constantine.
	Dr. LEGHOUCHI S.	M.C., Université de Jijel.

Soutenu le : 04 Juillet 2004

Remerciements

Je tiens à remercier :

Mon promoteur, *Dr H. ALI-KHODJA*, pour avoir assuré la responsabilité de mon encadrement ainsi que pour ses encouragements.

Mr le président du jury,
messieurs les membres du jury
d'avoir accepté de juger mon travail.

Nardjess, Lamine et tous ceux qui m'ont assisté lors de la réalisation de ce travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.

Melle BENHADJI pour son aide et son soutien.

Mr ELHADI pour ses conseils techniques lors de la manipulation de la CPG.

Nadia, Lila, Samira , à qui je voue la plus grande amitié, pour leur aide inestimable et leurs encouragements.

Mes camarades de promotion, le personnel du département de Chimie et autres pour leur aide et leur soutien.

Tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce projet.

Je dédie ce modeste travail

A mes chers parents qui m'ont accordé tout leur amour et leur soutien

Puissent-ils être fiers de moi.

A ma grande sœur et éternelle meilleure amie Nadia

A mes petites sœurs et cousines Mounira et Ilhem

A mon petit frère et cousin Zoheir

A ma très chère et tendre grand-mère maternelle MIMA

A tous mes oncles, tantes, cousins et cousines maternels et paternels

A tous mes amis (ies), en particulier Fouzia, Nor El Houda, Lamia, Amel,

Hassina, Lila, Samira., ..

A tous ceux qui m'aiment.



SOMMAIRE

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
 CHAPITRE 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
1.1. Composés organiques volatils (COV)	3
1.1.1. Définition des COV	3
1.1.2. Origine des COV	4
1.1.2.1. COV biogéniques	4
1.1.2.2. COV anthropogéniques	5
1.1.3. Impact sur l'environnement	5
1.1.4. Impact sur la santé publique	6
1.1.5. Traitement biologique des COV	8
1.1.6. Etude de la biodégradabilité des COV	9
1.1.7. Cinétiques de croissance microbienne et de biodégradation des COV.....	11
1.1.7.1. Modèle de croissance microbienne	11
1.1.7.2. Conditions de croissance microbienne	13
1.1.7.2.1. Besoins nutritifs	13
1.1.7.2.1.1. Macroéléments	13
1.1.7.2.1.2. Microéléments	15
1.1.7.2.2. Facteurs environnementaux	15
1.1.7.2.2.1. Température	15
1.1.7.2.2.2. pH	16
1.1.7.2.2.3. Oxygène dissous	16
1.1.7.3. Paramètres cinétiques de croissance microbienne et de dégradation du substrat	17
1.2. Etat de la question à propos du méthanol	19
1.2.1. Propriétés physico-chimiques du méthanol	19
1.2.2. Domaines d'utilisation du méthanol	20
1.2.3. Toxicité du méthanol vis à vis de l'homme	20
1.2.4. Effet des rejets du méthanol sur l'environnement	21
1.2.5. Métabolisme du méthanol	22

1.2.5.1. Métabolisme du méthanol chez l'homme et l'animal	22
1.2.5.2. Métabolisme végétal du méthanol	22
1.2.5.3. Métabolisme microbien du méthanol	23
1.2.6. Biodégradabilité du méthanol	24
1.2.7. Utilisation du méthanol comme biocarburant	25

CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES

2.1. Origine du consortium	26
2.2. Description du réacteur batch	26
2.3. Choix du milieu nutritif	26
2.4. Conditions opératoires de culture	26
2.5. Préparation de l'inoculum	28
2.6. Prélèvements	29
2.7. Analyse des prélèvements	29
2.7.1. Mesure de la concentration en substrat S	29
2.7.1.1. Principe de la chromatographie en phase gazeuse (CPG)	29
2.7.1.2. Conditions opératoires de mesure de la concentration en substrat S	31
2.7.2. Mesure de la concentration cellulaire X	32
2.8. Mesures physico-chimiques	32
2.8.1. pH	32

CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. Influence de la concentration initiale en biomasse X_0 sur la biodégradation du méthanol	33
3.1.1. Présentation des résultats	33
3.1.1.1. Calcul de la charge maximale de méthanol biodégradable dans un réacteur	33
3.1.1.2. Traitement des résultats	34
3.1.1.2.1. Introduction	34
3.1.1.2.2. Modélisation de la croissance	35
3.1.1.2.3. Modélisation de la consommation du méthanol	37
3.1.1.2.4. Taux de croissance spécifique μ	41

3.1.1.2.5. Vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{X/MET}$	49
3.1.1.2.6 Rendement de conversion du méthanol en biomasse $Y_{X/MET}$	54
3.1.2. Discussion des résultats	54
3.1.2.1. Croissance	54
3.1.2.1.1. Phase de latence	54
3.1.2.1.2. Croissance et dégradation	55
3.1.2.1.3. Taux spécifique de croissance μ	56
3.1.2.2. Dégradation	59
3.1.2.2.1. Vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{X/MET}$	59
3.1.2.3. Rendement de conversion du méthanol en biomasse $Y_{X/MET}$	60
3.1.3. Conclusion	60
3.1.4. Effet de la concentration initiale de biomasse X_0	61
3.2. Influence de la présence d'éthanol sur la dégradation du méthanol	63
3.2.1. Présentation des résultats	63
3.2.1.1. Traitement des résultats	63
3.2.1.1.1. Introduction	63
3.2.1.1.2. Modélisation de la croissance	64
3.2.1.1.3. Modélisation de la consommation du méthanol et de l'éthanol	66
3.2.1.1.4. Taux de croissance spécifique μ	67
3.2.1.1.5. Vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{X/MET}$ et de l'éthanol $r_{X/ET}$...	72
3.2.1.1.6. Rendement de conversion du substrat en biomasse $Y_{X/S}$	80
3.2.2. Discussion des résultats	87
3.2.2.1. Croissance	87
3.2.2.1.1. Phase de latence	87
3.2.2.1.2. Croissance et dégradation	87
3.2.2.1.3. Taux spécifique de croissance μ	88
3.2.2.2. Dégradation	90
3.2.2.2.1. Vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{X/MET}$	90
3.2.2.2.2. Vitesse spécifique de consommation de l'éthanol $r_{X/ET}$	91
3.2.3. Conclusion	92
3.2.4. Effet de la présence de l'éthanol	92

3.3. Influence des précultures sur la dégradation du méthanol en présence d'éthanol ...	94
3.3.1. Présentation des résultats	94
3.3.1.1. Traitement des résultats	94
3.3.1.1.1. Introduction	94
3.3.1.1.2. Modélisation de la croissance	95
3.3.1.1.3. Modélisation de la consommation du méthanol et de l'éthanol	97
3.3.1.1.4. Taux de croissance spécifique μ	98
3.3.1.2.5. Vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{X,MET}$ et de l'éthanol $r_{X,ET}$	109
3.3.1.2.6. Rendement de conversion du substrat en biomasse $Y_{X/S}$	114
3.3.2. Discussion des résultats	114
3.3.2.1. Croissance	114
3.3.2.1.1. Phase de latence	114
3.3.2.1.2. Croissance et dégradation	114
3.3.2.1.3. Taux spécifique de croissance μ	115
3.3.2.2. Dégradation	117
3.3.2.2.1. Vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{X,MET}$	117
3.3.2.2.2. Vitesse spécifique de consommation de l'éthanol $r_{X,ET}$	117
3.3.3. Conclusion	120
3.3.4. Influence des précultures	120
CONCLUSION	123
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	125
ANNEXES	
ANNOTATIONS	
ILLUSTRATIONS	

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Il ne fait plus de doute que l'industrialisation telle que vécue actuellement est la cause première des problèmes environnementaux croissants. Une contribution importante à cette pollution est l'émission de composés organiques volatils (COV) (Deseveaux, 1995). C'est ainsi que des réglementations de plus en plus restrictives sont apparues quant au rejet de polluants dans l'air, notamment en ce qui concerne l'émission des COV (Vandermesse, 1996). Nombreux sont les états ayant déjà affirmé une réelle volonté de réduction de la pollution atmosphérique par la signature de conventions et de protocoles, ainsi que par la création de projets de directive tel que le projet de directive Européenne sur la limitation des émissions de COV dues à l'utilisation de solvants organiques dans certains procédés et installations industrielles (Deseveaux, 1995).

Le méthanol est l'un des solvants organiques les plus importants sur le plan industriel. Il est considéré comme l'un des substrats de départ les plus employés de l'industrie avec les plus forts tonnages affichés dans tous les pays industrialisés et une demande croissante qui augmente de 6% par an (Weissermel, 2000). Il est donc rejeté dans l'environnement en quantités importantes durant sa production, son stockage, son transport ou son utilisation (W.H.O., 1997).

Les COV sont parmi les espèces chimiques responsables de la formation d'ozone dans la troposphère. L'ozone en question, par ailleurs, contribue à l'effet de serre (Vandermesse, 1996). Ils peuvent être aussi à l'origine de la formation de composés oxydés et nitrés dont les plus cancérigènes sont les peroxy-acyle-nitrates (PAN). Ils sont aussi impliqués dans les problèmes de pluies acides (Deseveaux, 1995). Les risques que peuvent représenter les COV pour la santé humaine sont les effets nocifs pouvant résulter de l'inhalation ou l'ingestion du polluant tels que la cancérigénicité, les effets sur le système nerveux, la croissance et la reproductibilité.

Une recherche permanente est devenue donc nécessaire pour la réduction, la valorisation et l'élimination des déchets ainsi que le traitement des effluents gazeux, liquides et solides par des voies physiques, chimiques, physico-chimiques, et biologiques (Scriban, 1993).

L'étude de la dégradabilité biologique des substances organiques est l'un des critères de base pour déterminer le comportement des COV dans un environnement naturel ou lors d'un traitement biologique des rejets (Pitter, 1976). Vu que les composés organiques volatils

sont des composés omniprésents dans l'industrie et dans l'environnement et du fait de leur grande utilisation il est de la plus grande importance de déterminer le comportement de ces composés dans la nature et rechercher les meilleurs paramètres environnementaux et les souches bactériennes les plus compétentes quant à leur élimination. Les travaux en cours visent à obtenir le maximum de données expérimentales concernant la croissance de micro-organismes et la dégradation concomitante de COV afin de prédire leur comportement dans le milieu naturel ou contrôlé tel que dans le cas de réacteurs continus intégrant les cultures faisant l'objet de recherche en mode batch.

Les objectifs de notre travail seront donc :

- L'étude des cinétiques de croissance d'un consortium bactérien en présence de méthanol et de sa biodégradation dans un réacteur en mode batch ;
- L'étude de l'influence de la concentration initiale en biomasse X_0 , de la présence de l'éthanol et de l'absence de précultures sur la biodégradation du méthanol par le consortium utilisé.



SYNTHESE

BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. Composés organiques volatils (COV)

1.1.1. Définition des COV

Les composés organiques sont présents dans l'environnement sous de multiples formes (Doussin, 1998). Le terme générique de « composés organiques volatils » ou « COV » regroupe les composés organiques dont la pression de vapeur est au minimum de 0,1 mbar à 20° C ou dont le point d'ébullition se situe au maximum à 240° C pour une pression de 1013,25 mbar (C.F.S., 2002) et qui participent aux réactions photochimiques qui forment l'ozone, à l'exception d'une liste de composés considérés par certaines organisations environnementales telles que l'USEPA comme présentant une réactivité atmosphérique négligeable dont font partie le chlorure de méthylène et l'acétone (M.D.E.Q., 1995).

D'autres termes peuvent être utilisés pour représenter les COV tels que : les hydrocarbures (HC), les gaz organiques réactifs (GOR) et les composés organiques non méthaniques (COVNM) (Mester et Harrison, 1995).

Les principales familles de solvants organiques entrent dans la définition des COV comme le confirme l'article 2(18) de la Directive 99/13/EC parue dans le Journal Officiel des Communautés Européennes, qui considère le solvant organique comme étant tout COV employé seul ou en mélange, sans altération de sa nature, comme agent de nettoyage, dissolvant, milieu de dispersion, ajusteur de viscosité, plastifiant ou conservateur (O.J.E.C., 1999). Selon la structure chimique, on distingue différents groupes de solvants organiques : les solvants hydrocarbonés renfermant les solvants aliphatiques tels que l'heptane et l'hexane ainsi que les solvants aromatiques tels que le benzène et le toluène, les solvants oxygénés renfermant les alcools tels que l'éthanol et le méthanol, les cétones telles que la méthyle éthyle cétone MEK et l'isobutyle méthyle cétone MIBK, les esters tels que l'acétate d'éthyle et l'acétate de butyle, les éthers tel que le tétrahydrofurane (THF) et les solvants chlorés tels que le perchloréthylène et le dichlorométhane (Bourinet et Venot, 1999).

Les COV sont considérés comme étant d'importants éléments traces des atmosphères naturelles, urbaines et industrielles. Leur concentration peut varier de quelques ng/m³ à plusieurs µg/m³ et même atteindre les mg/m³, selon les cas (Rosenberg *et al.*, 2001).

1.1.2. Origine des COV

L'exposition aux COV est due à une variété de sources et d'environnements (Fedoruk et Kerger, 2003). On distingue cependant les COV émis par les phénomènes naturels appelés composés biogéniques (biotiques) de ceux dont les émissions sont liées aux activités humaines qui sont dits anthropogéniques (anthropiques) (Doussin, 1998).

1.1.2.1. COV biogéniques

Les émissions naturelles de COV incluent ceux à partir des plantes, des arbres, des animaux, des feux de forêts naturels et des processus microbiens (Mester et Harrison, 1999).

Différentes plantes terrestres émettent principalement l'isoprène, les monoterpènes et les sesquiterpènes qui jouent un rôle important dans le développement régional des oxydants photochimiques et dans la formation d'aérosols organiques secondaires (Geiger *et al.*, 1998). Ces plantes émettent des COV pour des raisons physiologiques et écologiques, l'éthylène par exemple agit comme hormone de croissance alors que plusieurs monoterpènes servent de moyens de défense contre les herbivores. L'isoprène est le COV biogénique atmosphérique le plus étudié. Il a été suggéré que les plantes synthétisent l'isoprène pour leur protection thermique et qu'il capte les nutriments gazeux pour les transporter de l'air vers le sol des forêts et il a été récemment suggéré aussi que la production d'isoprène participe à la régulation du métabolisme des chloroplastes. Une large gamme de COV oxygénés tels que le méthanol et l'hexanal font aussi partie des COV émis par les plantes. Ces émissions à partir de la végétation sont considérées comme étant plusieurs fois supérieures aux émissions anthropogéniques (Rinne, 2001). Les COV biogéniques sont émis dans l'atmosphère comme des produits de processus naturels. Leur émission est donc fortement affectée par des facteurs dépendants de l'écosystème (Steiner *et al.*, 1999) tels que la température, l'intensité de la lumière, la concentration du CO₂ et l'humidité relative. Leurs effets ont été constatés principalement sur les émissions d'isoprène et de monoterpènes (Mester et Harrison, 1999).

Les COV présents dans la biosphère sont aussi pour une partie d'origine microbienne. Plusieurs études ont mis en évidence la consistance de la production de COV en réponse à des paramètres environnementaux tels que la disponibilité des nutriments et la température dont les variations peuvent provoquer des changements dans les types et les concentrations de COV produits. Leurs effets incluent la stimulation et l'inhibition de la croissance à 40 et 60%

respectivement et la production d'enzymes (Wheathey, 2002). L'étude de l'effet de l'humidité sur la production de COV par des cultures microbiennes mixtes ayant comme support les matériaux de construction s'est avérée conséquente. Cette même étude a permis de conclure que l'analyse de la production de COV peut être utilisée comme indicateur de référence de la contamination microbienne des bâtiments (Korpi *et al.*, 1998). Vu aussi la capacité des COV à être effectifs sous différentes conditions, ils sont les candidats idéaux pour jouer le rôle de médiateurs permettant ainsi des interactions bactériennes et fongiques (Wheathey, 2002).

Une estimation des émissions de COV dans les pays européens montre que l'URSS (partie européenne) est considérée comme le plus grand émetteur de COV (biogéniques : 2256000 tonnes/an et anthropogéniques : 9064000 tonnes/an), contrairement à l'Islande qui émet les quantités les plus faibles de COV (pas d'émissions biogéniques, anthropogéniques : 8000 tonnes /an) (Mester et Harrison, 1995).

1.1.2.2. COV anthropogéniques

Les principales sources d'émissions de COV anthropogéniques sont l'utilisation des solvants organiques, l'industrie chimique, l'industrie du pétrole, les sources de combustion et les véhicules à moteur.

La plus grande demande de solvants émane de l'industrie des peintures et des revêtements. Toutefois, les produits pharmaceutiques constituent un marché en expansion dont la demande de solvants est en augmentation constante en raison de leur contribution inestimable à la pureté des médicaments modernes.

Les émissions à partir des véhicules à moteur peuvent être divisées en émissions dues à la combustion incomplète du carburant (émissions d'échappement) et aux pertes de carburant avant la combustion (émissions évaporatives). Les émissions des sources stationnaires de combustion sont beaucoup moins significatives. Ces processus de combustion émettent principalement des hydrocarbures aliphatiques et aromatiques, ainsi que quelques espèces oxygénées (Mester et Harrison, 1995).

1.1.3. Impact sur l'environnement

Les COV figurent parmi les espèces chimiques responsables des phénomènes perturbateurs des équilibres de l'atmosphère (Deseveaux, 1995). Ces hydrocarbures réactifs participent dans la troposphère à des réactions photochimiques en présence d'oxydes d'azote

NO_x et de lumière. Ils permettent ainsi la formation d'ozone O₃ qui est corrélée à la température de l'air. Des principaux polluants de l'air, l'ozone reste le plus important, l'oxydant photochimique le plus répandu et un important composant du « Smog ». Il a un impact significatif sur la santé humaine et sur les écosystèmes. L'exposition à l'ozone induit des dommages aux récoltes agricoles et aux forêts, ainsi qu'à certains matériaux tels que les caoutchoucs et les peintures. Certains COV survivent à l'oxydation et aux processus de transformation, aboutissant ainsi à leur accumulation et leur persistance dans l'environnement (Mester et Harrison, 1995). Le temps de demi-vie des COV dans la troposphère varie, plus il est long, plus le transport de ces composés loin de leurs sources d'émissions est possible. Comparé à l'éthanol avec un temps de demi-vie T de 3,4 jours, le méthanol a un temps de demi-vie T assez long de 12,7 jours (Picquet *et al.*, 1998).

Les émissions biogéniques de COV affectent la formation d'ozone troposphérique. Leur importante influence sur la pollution photochimique a été sous estimée compte tenu du fait qu'elles ont toujours été considérées comme négligeables par rapport à celle des émissions anthropogéniques faute d'études approfondies sur le sujet. Les émissions de certains COV biogéniques même à de faibles concentrations peuvent avoir des effets significatifs sur la production et le transport de l'ozone, vu leur réactivité élevée (OTF2, 2000).

1.1.4. Impact sur la santé publique

Si les émissions de COV sont à l'origine de vives préoccupations environnementales, il en découle aussi des préoccupations d'ordre sanitaire. Dans tout environnement intérieur ou extérieur, il y a une variété de sources d'émissions des COV qui affectent le confort, la santé et la productivité humaine (Xu et Zhang, 2004). De nombreuses études ont montré que la majeure partie des effets néfastes observés sur la santé suite à une exposition aux COV surviennent dans un environnement clos. Cela est due au fait que les sources d'émissions des COV dans cet environnement sont multiples (Guo *et al.*, 2004).

Les COV peuvent être absorbés par inhalation, par ingestion ou par contact dermique (cutanée) (Churchill, 2001). Les effets sont très divers selon les COV, ils vont de la simple gêne olfactive à une irritation, à une diminution de la capacité respiratoire jusqu'à des risques d'effets mutagènes ou cancérogènes.

L'appareil respiratoire constitue une voie d'exposition privilégiée pour les COV, qui peuvent avoir des effets nocifs apparaissant à court ou à long terme. Une corrélation entre

l'exposition aux COV et les symptômes liés aux voies respiratoires chez l'enfant est démontré (Lehmann, 2002). L'asthme est l'affection pulmonaire la plus communément associée aux polluants présents dans un environnement clos. Une enquête sur les relations possibles entre l'asthme et les émissions des surfaces intérieures nouvellement peintes a été entreprise et l'information recueillie a été comparée aux résultats obtenus suite à l'exposition au formaldéhyde et à certains COV. Les résultats indiquent que l'exposition aux émissions chimiques de la peinture est liée à l'asthme, et qu'un certain nombre de COV émis peut causer des réactions inflammatoires dans les voies aériennes.

Une étude suggère que l'exposition de la femme enceinte aux COV peut avoir une influence sur le statut immunitaire du nouveau-né (Lehmann, 2002). La contamination hydrique par les COV contribue, en particulier chez la femme enceinte, à l'apparition de certains effets néfastes sur la santé du nouveau-né principalement en période de gestation tels que des malformations du système nerveux central, des malformations du tube neural, des malformations cardiaques, une masse pondérale à la naissance inférieure à la normale ainsi qu'une réelle implication dans l'apparition de la leucémie chez l'enfant (Churchill, 2001).

Vu l'utilisation massive de différents solvants organiques simultanément ou successivement dans les différents secteurs industriels, des problèmes de santé apparaissent chez les ouvriers fortement exposés. Des études épidémiologiques ont suggéré que l'exposition aux solvants peut être un facteur de risque d'atteinte par les maladies neurologiques telles que la maladie de Parkinson, les scléroses multiples et l'atteinte neuronale motrice. Les symptômes résumés dans des déficits visuels des couleurs jaune et bleue, de forts tremblements et plus précisément au niveau des jambes, des altérations cognitives, constituent un syndrome lié à l'exposition des peintres aux solvants (Dick *et al.*, 2000). Des problèmes cardiovasculaires dus à l'exposition professionnelle aux solvants organiques ont été démontrés. Des ouvriers exposés à des concentrations élevées de benzène et de xylène ont présenté une augmentation de l'hypertension artérielle et des changements pathologiques électrocardiographiques (Churchill, 2001). De sévères maux de tête ont aussi été associés à l'exposition professionnelle aux solvants « Stoddart » connus sous le nom d'« Esprit de sel » (Prince et Spengler, 2001). Certains COV présents dans l'atmosphère ambiante sont suspectés d'avoir le potentiel d'induire le cancer chez l'homme. Des plus importants COV appartenant à cette catégorie, on cite le formaldéhyde (méthanal) qui est un cancérigène nasal potentiel et les hydrocarbures aromatiques polynucléaires qui sont des agents inducteurs potentiels du cancer des poumons (Mester et Harrison, 1995).

L'association entre l'exposition aux COV et les effets spécifiques observés sur la santé s'est avérée difficile suite à la gêne occasionnée par deux facteurs biologiques importants : un court temps de demi-vie des COV dans le sang et une présence fréquente et naturelle des COV dans le sang chez la majorité des individus (à cause de leur omniprésence dans l'environnement) (Churchill, 2001).

1.1.5. Traitement biologique des COV

Une recherche permanente est devenue nécessaire pour la réduction, la valorisation et l'élimination des déchets ainsi que le traitement des effluents gazeux, liquides et solides par des voies physiques, chimiques, physico-chimiques et biologiques (Scriban, 1993). On distingue les techniques de récupération qui permettent de valoriser les solvants en tant que matière première et les techniques de destruction qui permettent parfois de valoriser les solvants sous forme énergétique. Les techniques de destruction sont utilisées généralement pour le traitement de mélanges de composés où la récupération serait complexe ou coûteuse. Les deux familles de techniques par destruction sont l'oxydation thermique et le traitement biologique (Bourinet et Venot, 1999).

En raison des implications économiques et environnementales significatives induites par l'utilisation et l'émission de COV lors des processus industriels, un intérêt grandissant est porté sur les techniques de traitement les plus rentables (Dunn *et al.*, 1996).

De part le monde, les systèmes microbiens sont utilisés pour traiter les sols, les eaux et l'air contaminés par les COV (Villaverde et Fernandez-Polanco, 1999). Dans l'état actuel des techniques de traitement, les procédés biologiques ont pour eux l'avantage des prix de revient les plus faibles (Roques, 1980) avec une capacité de dégrader un éventail de COV, sans produire de polluants secondaires (Biowise, 2000). Le traitement biologique se distingue aussi par son objectif qui n'est pas la maximalisation de la production de telle biomasse spécifique ou tels métabolites, mais plutôt de restituer, au milieu naturel le vecteur du substrat dépourvu de composantes polluantes (Scriban, 1993). La biotechnologie exploite donc la capacité des microorganismes et plus précisément des bactéries à oxyder aérobiquement les polluants (Deshusses, 1994). Ils sont utilisés comme source de carbone pour leur propre biosynthèse (Anabolisme) et comme source d'énergie indispensable à leur dégradation (catabolisme) (Le Cloirec *et al.*, 1991). Le résultat d'une attaque microbienne d'un substrat par une souche pure ou par une population mixte peut conduire à sa transformation en biomasse, sa minéralisation, sa polymérisation ou sa biotransformation (Scriban, 1993).

Les procédés actuels pour le biotraitement des effluents gazeux sont divisés en trois groupes en fonction de l'état de la flore microbienne : cellules en suspension ou immobilisées et de la phase aqueuse : mobile ou stationnaire (Tableau 1) (Vandermesse, 1996).

Tableau 1. Les différents procédés biologiques

Flore microbienne	Phase aqueuse	
	mobile	stationnaire
En suspension	Biolaveur	/
Immobilisée	biolaveur à cellules fixées (trickling filter)	biofiltre

L'étude des biofiltres montrent qu'ils excellent dans deux domaines majeurs : Le traitement des composés odorants et l'élimination des COV, en particulier les solvants, de l'air contaminé.

Une étude a permis de faire subir aux vapeurs de méthyle éthyle cétone (MEK) et d'isobutyle méthyle cétone (MIBK) une biodégradation aérobie par des cultures mixtes dans des biofiltres. Dans ce cas, la capacité maximale d'élimination du biofiltre a été de $120 \text{ g.m}^{-3}.\text{h}^{-1}$ pour MEK et de $30 \text{ g.m}^{-3}.\text{h}^{-1}$ pour MIBK, capacité réduite à respectivement 40 et $18 \text{ g.m}^{-3}.\text{h}^{-1}$ lors du traitement de mélanges de MEK et de MIBK à concentrations égales (Deshusses, 1994). Dans une autre étude, près de 46 Kg de méthanol ont pu être dégradés par mètre cube de DTB (Dry Tubular Bioreactor) et par jour et ce avec un rendement d'élimination proche de 100% (Vandermesse, 1996). L'efficacité de la biofiltration a aussi été testée pour le traitement de l'air contaminé par des vapeur d'éthanol, en utilisant différents matériaux de garnissage (remplissage). Le charbon actif granulaire (CAG) est le matériel le plus performant avec le taux d'élimination le plus élevé de 50 à $219 \text{ g.m}^{-3}.\text{h}^{-1}$ (Hodge et Devinny, 1994).

1.1.6. Etude de la biodégradabilité des COV

L'étude de la biodégradabilité des substances organiques est l'un des critères de base pour déterminer leur comportement dans un environnement naturel ou lors d'un traitement biologique des rejets.

Les facteurs affectant la biodégradabilité des composés organiques peuvent être divisés en trois groupes :

- **Les facteurs physico-chimiques** : la température, la solubilité, le degré de dispersion du composé dans le milieu, le pH et l'oxygène dissous.
- **Les facteurs biologiques** : l'historique de la culture microbienne, son âge, le mécanisme et le temps d'adaptation, la toxicité du composé et l'effet des autres substrats.
- **Les facteurs chimiques** : la taille de la molécule, la longueur de la chaîne, le type, le nombre et la position des substitués de la molécule, la stéréochimie (Pitter, 1976).

Les modifications et les synthèses de molécules sont à la base de toute industrie chimique qui cherche à développer de nouveaux solvants, de nouveaux médicaments, de nouveaux insecticides, bactéricides, fongicides, d'où la production de déchets toxiques que l'on peut retrouver sur le site de production ou disséminés (Scriban, 1993). Ces nouvelles molécules, étrangères au monde vivant (composés xénobiotiques) peuvent s'avérer difficilement biodégradables (composés récalcitrants), voire impossibles à dégrader par voie biologique (composés persistants).

Les COV biogéniques sont considérés comme étant des composés facilement biodégradables (Le Cloirec *et al.*, 1991). Les alcools tels que le méthanol et l'éthanol sont eux aussi considérés comme des substances qui se dégradent bien à l'exception de l'alcool butylique tertiaire, de l'alcool amylique et du pentaérythritol (Meinck *et al.*, 1970).

Mis dans des conditions où tous les composants nécessaires à la production d'énergie de transduction et à la formation des constituants cellulaires sont assurés, les microorganismes (les bactéries, en particulier) peuvent se développer et s'adapter au milieu ambiant (Koch, 1997). Les conditions optimales de biodégradation des COV lors d'un traitement biologique incluent :

- Température ambiante de 15 à 35°C.
- Humidité élevée et présence d'oxygène.
- Approvisionnement en éléments essentiels tels que l'azote, le phosphore et le fer.
- pH neutre
- Concentration ionique constante sans habillage des sels.
- Aucun inhibiteur toxique tels que les gaz acides et certains métaux lourds.

Si ces conditions sont mises à la disposition des microorganismes, ils peuvent dégrader un éventail de COV. Le Tableau 2 montre la biodégradabilité de quelques polluants communs traités biologiquement (Biowise, 2000).

Tableau 2. Biodégradabilité de certains polluants

Facilement dégradé	Modérément dégradé	Difficilement dégradé
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Essence ➤ Diesel ➤ Benzène ➤ Phénols ➤ Alcools, par exemple: le méthanol ➤ Cétones, par exemple: l'acétone ➤ Hydrocarbures ➤ Acrylonitrile ➤ Esters, par exemple: l'acétate d'éthyle ➤ Sulfure d'hydrogène ➤ Styrène 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pétrole brut ➤ Créosotes ➤ Pentachlorophénol (PCP) ➤ Hydrocarbures aliphatiques à longues chaînes ➤ Phtalates ➤ Trichloréthylène (TCE) ➤ Chlorure de vinyle ➤ Ethers ➤ Ammoniaque 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Perchloroéthylène (PCE) ➤ Tétrachlorure de carbone ➤ Diphényles polychlorés (PCBs) ➤ Pesticides chlorés, par exemple : le DDT et l'heptachlore.

La quantification de la biodégradabilité sous forme de paramètres cinétiques intrinsèques présente plusieurs avantages car ces valeurs peuvent être utilisées dans des modèles mathématiques pour estimer le comportement du composé organique étudié dans un environnement naturel ou généré (Grady *et al.*, 1989).

1.1.7. Cinétiques de croissance microbienne et de biodégradation des COV

1.1.7.1. Modèle de croissance microbienne

Les modèles publiés décrivant la croissance des microorganismes sont pour la plupart des modèles empiriques, c'est-à-dire qu'ils sont développés à partir d'observations de faits expérimentaux. Il existe également des modèles dits mécanistes qui sont construits à partir de théories sur le comportement des microorganismes ; ces modèles mécanistes sont basés sur les phénomènes biologiques et leur compréhension, et sont parfois appelés modèles phénoménologiques (Charles-Bajard, 1996). Le modèle empirique proposé par MONOD (1941) est le plus utilisé pour rendre compte de la croissance des microorganismes. Il s'agissait, à l'origine, de modéliser cette croissance dans un milieu non renouvelé, ce qui correspond à l'analyse des "cultures en batch" (Lobry, 1991).

Disposant de techniques d'évaluation qualitative et quantitative d'une population microbienne, il est possible de suivre et d'étudier le phénomène de croissance microbienne.

Le schéma classique de *la croissance d'une population bactérienne* en milieu non renouvelé est représenté par la Figure 1. Il décompose la cinétique de croissance en quatre phases distinctes :

- **Phase de latence** : Phase de transition entre un état physiologique initial et un état de croissance à proprement parler (phase d'adaptation au nouvel environnement).
- **Phase exponentielle** : Phase de multiplication rapide des cellules bactériennes.
- **Phase stationnaire** : Phase de diminution des cellules viables due à l'épuisement des nutriments.
- **Phase de déclin** : Phase qui apparaît lorsque le milieu devient fortement défavorable à la multiplication des cellules bactériennes (Charles-Bajard, 1996).

L'étude de la croissance microbienne en présence d'un mélange de substrats est un des domaines les plus fertiles de la biologie expérimentale. Ce phénomène présente aussi un grand intérêt écologique et technologique. Dans la nature ou dans plusieurs environnements engendrés par les activités humaines tels que les systèmes de traitement des eaux usées et les fermenteurs commerciaux, les microorganismes se développent en présence de divers mélanges de substrats (Narang *et al.*, 1997 *b*). Le terme *Diauxie* fait référence à ce phénomène observé lorsqu'en culture batch les bactéries sont mises en présence d'un mélange de deux substrats et qu'elles utilisent préférentiellement l'un des deux. Ce mode d'utilisation des substrats fait apparaître deux phases exponentielles successives dans la courbe de croissance et chacune d'elle correspond à la consommation massive de l'un des deux substrats (Narang *et al.*, 1997 *a*).

Les données expérimentales du suivi de la croissance microbienne en présence d'un mélange binaire de substrats peuvent être classées en trois catégories :

- **Modèle de croissance séquentielle indépendant des précultures**

L'un des deux substrats est consommé durant la première phase de croissance et on constate que l'ordre auquel les substrats sont consommés ne dépend pas des conditions de préculture.

- **Modèle de croissance simultanée indépendant des précultures**

Les deux substrats sont consommés durant la première phase de croissance. Le même taux spécifique de croissance et la même vitesse spécifique de consommation des substrats sont obtenus. Ces paramètres ne sont pas liés aux conditions de croissance de l'inoculum.

- **Modèle de croissance dépendant des précultures**

Le taux de croissance et le mode d'utilisation du substrat durant la première phase de croissance dépend des conditions de préculture de l'inoculum (Narang *et al.*, 1997 *b*).

La Figure 2 montre le schéma d'un modèle de croissance dans un environnement binaire de substrats. La consommation de S_1 a pour conséquence la production de plus de biomasse comparée à celle produite quand la même quantité de S_2 est consommée. La région I correspond à la croissance microbienne suite à une rapide consommation du substrat S_1 . Lorsqu'il est épuisé, les cellules règlent leurs mécanismes internes pour produire des enzymes afin de consommer l'autre substrat disponible, S_2 . Le temps pris lors du processus de normalisation est connu est appelée *phase de diauxie* (Monod, 1942) et est représenté par la Région II. La région III représente quant à elle la croissance des cellules suite à la consommation du substrat S_2 . Evidemment, la pente de la courbe de croissance dans la région III est plus petite comparée à celle obtenue dans la région I. Cela est prévue puisque est considérée comme étant le substrat préférentiel de ces cellules (Katare *et al.*, 2002).

1.1.7.2. Conditions de croissance microbienne

1.1.7.2.1. Besoins nutritifs

Les éléments requis par les cellules peuvent être classés en deux catégories : *les macroéléments et les microéléments*.

1.1.7.2.1.1. Macroéléments

Les besoins des microorganismes en macroéléments sont de concentrations supérieures à 10^{-4} M.

- Le carbone C est le constituant majeur de la cellule microbienne, représentant approximativement 50% du poids sec. Les hétérotrophes ont besoin du carbone sous forme de composés organiques réduits, relativement complexes comme le glucose.
- L'azote N constitue 10 à 14% du poids sec. Les sources d'azote les plus communément utilisées sont l'ammoniaque, les sels d'ammonium (NH_4Cl , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4NO_3), les protéines, les peptides et les aminoacides.

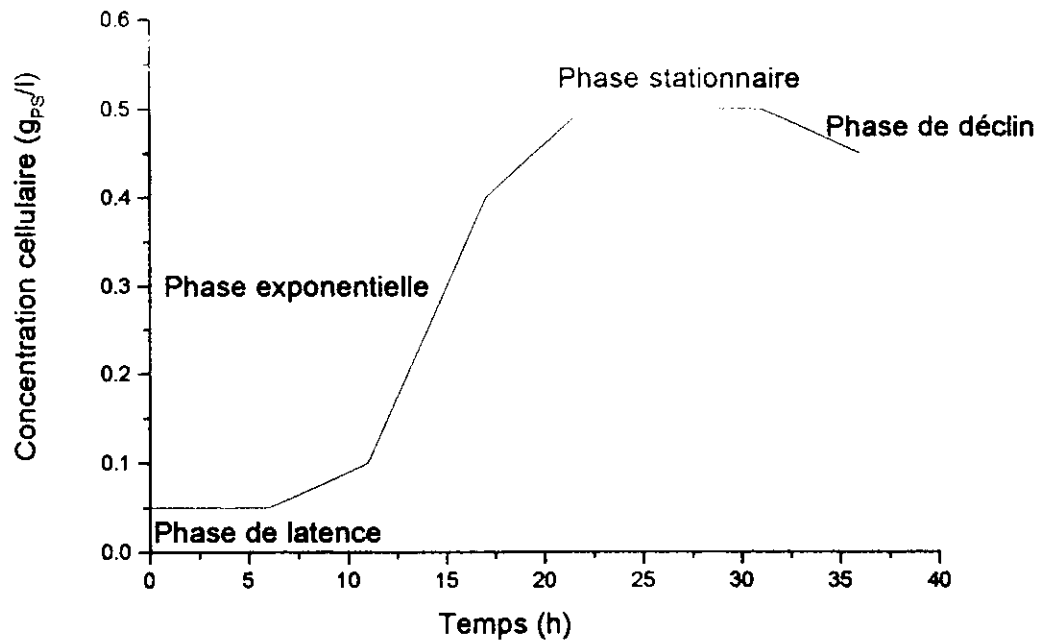


Figure 1. Schéma des différentes phases de la croissance bactérienne en milieu liquide

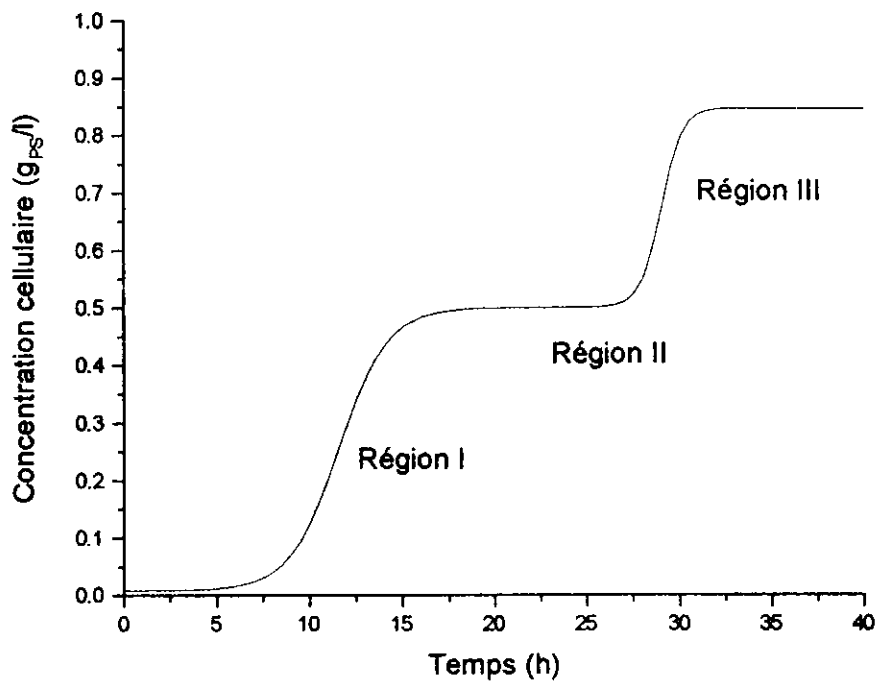


Figure 2. Schéma d'une croissance microbienne dans un environnement binaire de substrats

- Le phosphore P constitue 3% du poids sec. Les sels de potassium tels que KH_2PO_4 et K_2HPO_4 sont les plus utilisés comme source de phosphore.
- Le soufre constitue approximativement 1% du poids sec. Les sels de sulfate tels que $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, sont les principales sources de soufre.
- Le potassium K est le cofacteur de quelques enzymes et participe dans le métabolisme des hydrocarbures. Les cellules tendent activement à utiliser K^+ et Mg^{2+} et à exclure Na^+ et Ca^{2+} . Les sels de potassium les plus communément utilisés sont K_2HPO_4 , KH_2PO_4 et K_3PO_4 .
- Le magnésium est habituellement fourni sous forme de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ou MgCl_2 .

1.1.7.2.1.2. Microéléments

Les éléments-traces sont essentiels à la nutrition microbienne. Les plus utilisés sont le fer Fe, le zinc Zn et le manganèse Mn. Certains ions tels que Mg^{2+} , Fe^{3+} et PO_4^{3-} peuvent précipiter dans le milieu nutritif et devenir inutilisables par les cellules. Des agents chimiques permettent la formation des composés solubles avec les ions précipités. L'acide citrique, l'EDTA, les polyphosphates, l'histidine, la tyrosine et la cystéine sont les agents les plus utilisés (Shuler et Kargi, 1992). La croissance dépendra parfois de la présence dans le milieu de composés organiques dont la synthèse est impossible : il y a *auxotrophie* et les molécules incriminées telles que les vitamines, les acides aminés, les acides gras et les nucléotides sont appelées *facteurs de croissance* (Scriban, 1993).

1.1.7.2.2. Facteurs environnementaux

Outre les exigences nutritives, le développement microbien est sous la dépendance de conditions physico-chimiques dont les plus importantes sont :

1.1.7.2.2.1. Température

La température exerce une influence déterminante sur l'ensemble de l'activité cellulaire microbienne. Propriété commune à toutes les réactions chimiques, la croissance est accélérée par une augmentation de la température et on peut considérer globalement que la vitesse de croissance double lorsque la température s'élève de 10°C . Toutefois, à partir d'une certaine température, certains constituants (enzymes, acides nucléiques) ou structures

cellulaires (enveloppes) peuvent subir une altération ou dénaturation. La destruction thermique l'emportera donc sur la croissance cellulaire.

Selon la zone de température dans laquelle on observe une prolifération, on distingue trois catégories principales de micro-organismes : *les psychrophiles, les mésophiles et les thermophiles* (Scriban, 1993).

1.1.7.2.2.2. pH

Le pH mesure l'activité de l'ion d'hydrogène (H^+). Il est particulièrement important comme paramètre de la croissance microbienne puisqu'il affecte l'activité des enzymes microbiens, ainsi que l'ionisation des composés chimiques. Il joue aussi un rôle dans le transport des nutriments et des substances toxiques dans la cellule (Billon, 1994).

Les pH alcalins sont d'une façon générale préjudiciables aux microorganismes avec une limite de leur développement se situant pour des valeurs de l'ordre de 9 à 9,5. Pour les valeurs comprises entre 0 et 8, on observe différents types de comportement liés à leur aptitude à tolérer et (ou) métaboliser les acides organiques (minéraux) présents dans le milieu. Ainsi, les bactéries sont, en règle générale, *neutrophiles* et présentent une meilleure croissance pour les pH voisins de 7. Lorsque le pH tombe à 5, elles sont inhibées. Certaines d'entre elles à métabolisme acidogène sont cependant capables de se reproduire pour des valeurs inférieures (Scriban, 1993).

1.1.7.2.2.3. Oxygène dissous

Les microorganismes peuvent croître en présence ou en absence de l'oxygène. On peut distinguer trois classes : les aérobies stricts, les anaérobies facultatifs et les anaérobies stricts. Les microorganismes aérobies utilisent l'oxygène comme accepteur terminal d'électrons dans la respiration. Les anaérobies, en contre partie, utilisent d'autres accepteurs d'électrons tels que les sulfates, les nitrates ou le CO_2 . Outre sa fonction réductrice, l'oxygène permet la formation de produits toxiques tels que le superoxyde (O_2^-), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou les radicaux hydroxyles. Cependant, les cellules produisent des enzymes (catalase, peroxydase, superoxyde dismutase) pour les désactiver (Billon, 1994).

1.1.7.3. Paramètres cinétiques de croissance microbienne et de dégradation du substrat

Le choix du système de culture expérimentale et de sa nature (pure ou mixte) sont deux paramètres importants pour une étude adéquate de la cinétique de croissance de la biomasse et de la cinétique de dégradation des COV.

Une culture batch est considérée comme appropriée pour étudier les phénomènes cinétiques microbiens comme ils peuvent se produire dans l'environnement (Kovarova-Kovar et Egli, 1998). L'utilisation des cultures microbiennes mixtes non définies dans les processus de traitement des déchets est typique et inévitable (Schuler et Kargi, 1992). La sélection naturelle mène principalement à un enrichissement des cultures mixtes en bactéries aérobies et aérobies facultatifs. Mises en culture dans des conditions adéquates d'oxygène, de pH et de température, plusieurs espèces de microorganismes chimio-organohétérotrophes sont impliquées dans la biodégradation microbienne des polluants (Deshusses, 1994).

Les phénomènes de croissance et de biodégradation en culture batch peuvent être décrits de manière satisfaisante avec trois paramètres :

1. Deux paramètres cinétiques qui caractérisent la croissance microbienne dans certaines conditions, représentés par :

- Le taux de croissance maximum μ_{\max} en h^{-1} représenté par l'équation 1, reflète l'activité métabolique microbienne (Rosso *et al.*, 1995).

Le taux de croissance maximum μ_{\max} d'*Amocolatopsis methanolica*, une bactérie Gram +, utilisant le méthanol comme substrat dans des cultures batch est de $0,11 h^{-1}$ (Gerrit Euverink, 1995).

- Le coefficient de demi saturation K_s , en g_{ps}/l appelé aussi constante d'affinité qui correspond à la concentration en substrat au taux de croissance $\mu = 0,5 \cdot \mu_{\max}$ (Kovarova-Kovar et Egli, 1998).

Les vitesses de dégradation du substrat et de croissance peuvent être décrites de manière satisfaisante par l'équation 1 de MONOD :

$$\mu = \mu_{\max} \cdot (S / K_s + S) \quad (1)$$

Avec :

S : Concentration du substrat (g/l).

La Figure 3 représente les valeurs qui ont été publiées pour les paramètres μ_{\max} et K_s du modèle de Monod, toutes espèces et tous substrats limitants confondus. Les échelles pour les deux axes sont logarithmiques pour pouvoir représenter toutes les valeurs.

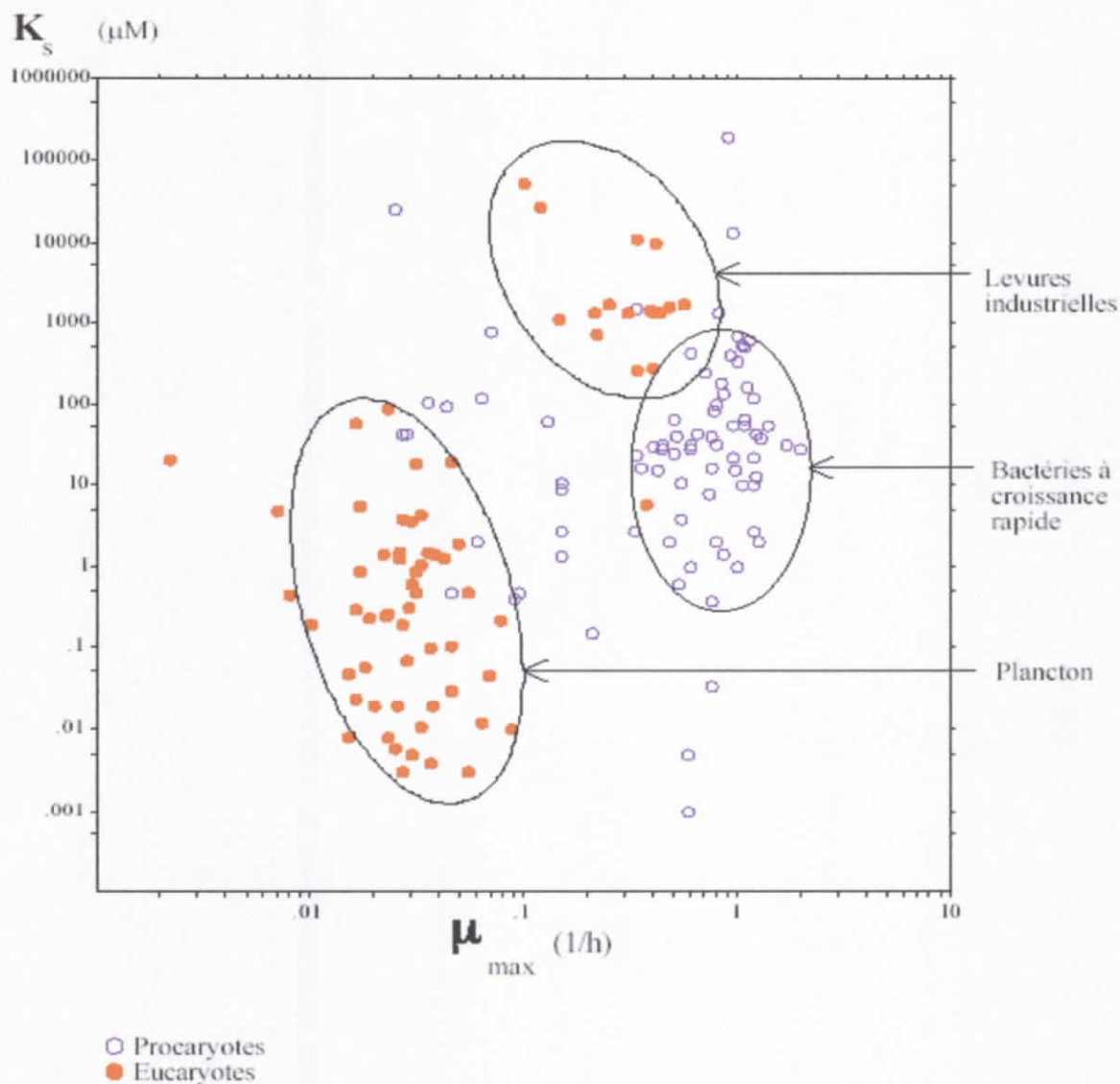


Figure 3. Les valeurs des paramètres μ_{\max} et K_s du modèle de Monod, toutes espèces et tous substrats limitants confondus

2. Un paramètre stœchiométrique $Y_{X/S}$ qui rend compte de la conversion du substrat en biomasse, exprimé en g_{ps} de biomasse par g de substrat consommé et représenté par l'équation 2 :

$$Y_{X/S} = dX/dS \quad (2)$$

Avec :

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

Le méthanol par exemple est converti en biomasse au cours de la croissance aérobie de *Klebsiella sp.* avec $Y_{X/S}$ égal à 0,38 g_{ps}/g, de *Methylomonas sp.* avec $Y_{X/S}$ égal à 0,48 g_{ps}/g et de *Pseudomonas sp.* avec $Y_{X/S}$ égal à 0,41 g_{ps}/g (Schuler et Kargi, 1992).

Le rendement de conversion du substrat en biomasse permet de lier la croissance à l'utilisation du substrat, auquel s'ajoute un paramètre $r_{X,S}$ qui correspond à la vitesse spécifique de consommation du substrat représenté par l'équation 3 :

$$r_{X,S} = (1/X) \cdot (dS/dt) \quad (3)$$

1.2. Etat de la question à propos du méthanol

1.2.1. Propriétés physico-chimiques du méthanol

Le méthanol est un alcool avec pour formule moléculaire brute CH_4O et pour formule structurale CH_3OH et un numéro d'identification CAS N° 67-56-1. C'est un liquide incolore, volatile et inflammable, avec une odeur agréable d'alcool, à l'état pur. Le méthanol est miscible à l'eau et à la plupart des solvants organiques. Il est légèrement soluble dans les graisses et les huiles (W.H.O, 1997). Les propriétés physiques les plus importantes du méthanol sont regroupées dans le Tableau 3 (USEPA, 1994).

Tableau 3. Propriétés physiques du méthanol

Propriétés	Valeurs
Poids moléculaire	32,04 g
Point de fusion	-97,8 °C
Point d'ébullition	64,7 °C à 760 mm Hg
Densité $D^{20/4}$	0,7915 g/ml
Densité de vapeur (air =1)	1,11
Pression de vapeur	126 mm Hg à 25 °C
Constante de la loi d'Henry	$4,55 \times 10^{-6}$ atm.m ³ /mole

Il existe un certain nombre de méthodes, principalement la chromatographie en phase gazeuse, pour la recherche et le dosage du méthanol dans divers échantillons prélevés dans l'environnement (air, eau, sol et sédiments) ou dans les produits alimentaires (W.H.O, 1997).

1.2.2. Domaines d'utilisation du méthanol

Le méthanol fait partie des alcools inférieurs les plus importants sur le plan industriel. Il est un des substrats de départ les plus employés de l'industrie avec les plus forts tonnages affichés dans tous les pays industrialisés et une demande croissante qui augmente de 6% par an. Au niveau mondial, environ 90% des quantités produites de méthanol sont utilisées dans l'industrie chimique, les 10% restants sont consacrées à la production d'énergie (Weissermel, 1997).

Il est le plus utilisé dans la production de MTBE. On le retrouve aussi dans la production de formaldéhyde, d'acide acétique, de chlorométhanes, de méthylméthacrylate, de méthylamines, de diméthylterephthalate (USEPA, 1994). Le méthanol entre aussi dans la composition de nombreux solvants du commerce et de divers produits comme les peintures, les laques, les vernis, les diluants pour peintures, les détachants, les antigels, les liquides pour pare-brise, les dégivrants, les produits pour la photocopie, les solutions destinées à la dénaturation de l'éthanol ainsi que différents types de colles (W.H.O, 1997).

1.2.3. Toxicité du méthanol vis à vis de l'homme

Plusieurs études ont été effectuées sur les effets potentiels du méthanol sur la santé humaine. La plupart des informations sur la toxicité du méthanol dérivent des observations cliniques menées sur les cas d'ingestion accidentelle ou intentionnelle de méthanol. Il peut être très toxique et causer des nausées, des vertiges, une acidose métabolique, une toxicité au niveau du système oculaire allant jusqu'à la cécité dans les cas les plus graves, des perturbations motrices et même le décès du patient.

L'absorption du méthanol est rapide, après ingestion orale, inhalation des vapeurs du méthanol ou contact dermique. Les symptômes et les signes d'empoisonnement par le méthanol chez l'homme n'apparaissent que 12 à 24 h après l'exposition. L'acidose métabolique est attribuée en grande partie à l'acide formique produit lorsque le méthanol est métabolisé (Tephly, 1991). Elle est accompagnée d'une respiration rapide et ample, son intensité est souvent importante, avec un pH artériel inférieur à 7, un taux de bicarbonates effondré et parfois une élévation des lactates (INRS, 1997). La concentration sanguine normale du méthanol chez l'homme provenant de sources endogènes est de moins 0,5 mg/l (0,02 mmole/l). D'une manière générale, des effets passagers apparaissent au niveau du système nerveux central (SNC) lorsque les concentrations sanguines de méthanol atteignent

200 mg/l (6 mmole/l) (Tephly, 1991) avec une atteinte spécifique des noyaux gris centraux et des syndromes Parkinsoniens séquellaires (Mégrarbane, 2000). Les symptômes oculaires apparaissent au dessus de 500 mg/l (16 mmole/l) (Tephly, 1991). L'atteinte ophtalmologique est secondaire aux lésions cellulaires neurosensorielles et rétinienne provoquées par les formiates (Mégrarbane, 2000). Le décès se produit dans le cas des patients non traités avec une concentration sanguine de méthanol dans la gamme de 1500 à 2000 mg/l (47-62 mmole/l) (Tephly, 1991).

L'intoxication par voie respiratoire est la plus fréquente dans l'industrie. On observe une irritation des muqueuses nasales et oculaires avec en cas d'exposition massive ou prolongée, une trachéite, une bronchite et une blépharospasme. La projection de liquide dans l'œil peut entraîner une conjonctivite, des lésions superficielles de la cornée et du chémosis.

En France, les valeurs limites d'exposition imposées par le Ministère du Travail sont une VLE (Valeur limite d'exposition) de 1000 ppm soit 1300 mg/m³ et une VME (Valeur limite de moyenne exposition) de 200 ppm soit 260 mg/m³ (INRS, 1997).

En cas d'empoisonnement par le méthanol, le fomépizole est choisi pour inhiber l'alcool déshydrogénase à la place de l'éthanol, comme substrat compétitif, qui s'est avéré non adéquat étant donné les problèmes issues de son utilisation (Jeffrey Brent *et al.*, 2001).

L'USEPA n'a pas établie de concentration maximale de méthanol dans l'eau potable, cependant, une dose référence DRf de 0,5 mg/kg/jour a été proposé. L'estimation de la valeur de la concentration maximale est dérivée à partir de la DRf en utilisant une formule qui prend en compte le poids moyen d'un adulte et la consommation journalière moyenne de l'eau potable (Pirnie, 1998).

1.2.4. Effet des rejets du méthanol sur l'environnement

Le méthanol peut être rejeté dans l'environnement en quantités importantes durant sa production, son stockage, son transport ou son utilisation. Il est rapidement dégradé par photo-oxydation et un temps de demi-vie de 7 à 18 jours est rapporté suite à l'étude des réactions atmosphériques du méthanol avec les radicaux hydroxyles.

Il sert normalement de substrat de nombreux microorganismes terricoles, qui sont capables de le dégrader complètement en dioxyde de carbone et en eau.

Le méthanol n'est que faiblement toxique pour les organismes terrestres et aquatiques et s'il n'est pas rejeter en grandes quantités, on observe aucun cas de persistance ou de bioaccumulation dans l'environnement (W.H.O., 1997).

1.2.5. Métabolisme du méthanol

1.2.5.1. Métabolisme du méthanol chez l'homme et l'animal

Chez l'homme comme chez l'animal de laboratoire, le méthanol peut être absorbée par ingestion, par inhalation ou par voie percutanée. La métabolisation du méthanol intervient principalement dans le foie. La première étape conduit à l'aldéhyde formique (formaldéhyde) sous l'action de l'alcool déshydrogénase (ADH), enzyme non spécifique qui a une grande affinité pour l'éthanol et le butanol. La deuxième étape est catalysée par la formaldéhyde déshydrogénase en acide formique (formiate). La troisième étape enfin, qui mène au CO₂ est contrôlée par la voie métabolique des composés à un atome de carbone C, c'est l'étape limitante de cette biotransformation. Ceci explique l'accumulation des formiates dans l'organisme en cas d'administration massive ou répétée de méthanol. L'élimination du méthanol et de ces métabolites se fait dans l'air expiré (méthanol et CO₂) et dans les urines (méthanol et formiates). En raison de sa grande réactivité chimique et de son oxydation rapide en acide formique, le formaldéhyde n'est jamais mis en évidence (INRS, 1997).

Plus de 400 types de solvants organiques sont communément utilisés dans l'industrie. Une étude a été menée sur l'exposition des rats aux mélanges de vapeurs de méthanol et de toluène et son effet sur leur santé et leur métabolisme. Un taux d'élimination de l'acide hippurique (métabolite du toluène) dans l'urine est beaucoup plus faible lors de l'exposition simultanée par rapport à celui d'une exposition au toluène seul. Le temps de demi-vie du méthanol dans le sang et la concentration de l'acide formique dans les urines ne subit pas de changements significatifs lors d'une exposition au méthanol seul (Hori *et al.*, 1999).

1.2.5.2. Métabolisme végétal du méthanol

La majorité des plantes produisent et émettent du méthanol, essentiellement lors des étapes d'expansion des feuilles, à cause de la déméthylation de la pectine. Les proportions de méthanol produites puis recyclées par les plantes ne sont pas définies, mais avec cependant la certitude que les tissus végétaux métabolisent le méthanol. En utilisant le RMN-C¹³, il a été démontré que l'atome de carbone C¹³ du méthanol mis à la disposition des cellules de plantes supérieures est incorporé dans le groupement méthyle de différentes molécules, incluant la méthionine et la phosphatidylcholine (Gout *et al.*, 2000).

1.2.5.3. Métabolisme microbien du méthanol

L'utilisation du méthanol comme substrat a fait l'objet d'une des premières études sur les mécanismes de méthanogénèse (Ferguson *et al.*, 1996). Cette conversion en méthane est observée chez les méthanogènes méthylotrophes (Zandvoort *et al.*, 2002) dont fait partie *Methanosarcina barkeri* qui considère le méthanol comme l'un de ces substrats cataboliques dont le groupement méthyle est converti essentiellement intact en méthane (Ferguson *et al.*, 1996).

Le méthanol peut également être converti en acétate par les acétogènes, couplé à la conversion de l'acétate en méthane par les méthanogènes acétoclastiques. Il est aussi possible de convertir le méthanol en H₂ et en CO₂, qui peuvent à leur tour être convertis en méthane par les méthanogènes autotrophes (Zandvoort *et al.*, 2002).

Le méthanol est un composé facilement synthétisé à partir des gaz naturels, il est considéré comme un matériel adéquat pour les industries microbiennes. Utilisant le méthanol comme source de carbone, les prix de revient de la production peuvent être considérablement réduits, la purification et les processus de traitement des déchets peuvent être aussi simplifiés. Les processus de production d'un certain nombre de composés importants tels que les aminoacides avec des méthylotrophes ont été étudiés. Lee *et al.* ont rapporté une production de 47 g/l de L- Lysine par le méthylotrophe Gram+ *Bacillus methanolicus* et Izumi *et al.* ont reporté une conversion massive de la Glycine en L-Sérine par un méthylotrophe Gram - *Hyphomicrobium methylovorum* (Motoyama, 2001). L'*Amycolatopsis methanolica* est l'une des rares bactéries Gram + connues utilisant le méthanol.

HPS (Hexulose-6-phosphate synthétase) et HPI (Hexulose-6-phosphate isomérase) sont deux enzymes spécifiques du métabolisme du méthanol avec une activité spécifique du HPS de 7,70 U/mg de protéines vis à vis du méthanol avec une concentration de 80 mM dans des conditions de culture en continu (chémostat) à D = 0,065 h⁻¹ et une activité spécifique du HPI de 3 U/mg de protéines dans les mêmes conditions (Gerrit Euverink, 1995).

Le métabolisme de certains substrats peut être influencé par la présence du méthanol. L'étude de deux bactéries méthanotrophiques *Methylobacter albus BG8* et *Methylosinus trichosporium OB3b*, oxydant le méthane atmosphérique durant leur croissance en culture batch en présence du méthanol a démontré que la consommation du méthane a été rapidement et substantiellement diminuée (95% sur 9 jours) lorsque les suspensions de cellules lavées ont été incubées sans méthanol en présence de méthane atmosphérique (1,7 ppm). La consommation du méthane est donc stimulée par l'addition du méthanol. Ces résultats

suggèrent que le méthanol et d'autres substrats non méthaniques peuvent activer l'oxydation atmosphérique du méthane *in situ* (Benstead *et al.*, 1997). Les effets de l'addition et de la consommation du méthanol sur le taux de dégradation du chloroforme et de la distribution des produits dans les cultures méthanogéniques d'enrichissement avec du méthanol et dans des cultures de *Methanosarcina barkeri* 227 ont été étudiés. La dégradation du chloroforme avec des concentrations initiales supérieures à 27,3 mmoles dans les cultures d'enrichissement et à 4,8 mmoles dans les cultures pures est stimulée par l'addition du méthanol. Il a également augmenté de manière significative le nombre de moles de dichlorométhane produit par mole de chloroforme consommé (Bagley, 1995). Il a aussi été constaté que la mise en culture de la bactérie méthanotrophique *Methylosinus trichosporium* OB3b avec le méthanol comme source de carbone et d'énergie est un système efficace pour la biodégradation des hydrocarbures chlorés et plus précisément de la TCE (Trichloréthylène) dans des conditions de limitation d'oxygène et de source de carbone puisqu'à de fortes concentrations le méthanol inhibe la dégradation de la TCE (Fitch *et al.*, 1996).

Pichia augusta (formellement nommée *Hansenula polymorpha*) est une levure méthylophile capable d'utiliser le méthanol comme seule source de carbone et d'énergie. Son métabolisme requiert des enzymes péroximales telles que le méthanol oxydase ou le dihydroxyacétone synthétase qui peuvent constituer plus de 60 à 80 % de la masse protéinique totale de la cellule (Blandin *et al.*, 2000).

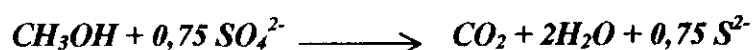
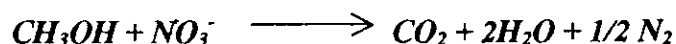
1.2.6. Biodégradabilité du méthanol

La biodégradation du méthanol a été étudiée sous une large variété de conditions et de milieux, y compris les eaux usées, les eaux de surface, les eaux souterraines, les dépôts et les microsomes du sol. Le méthanol est complètement dégradé et sa dégradation ne produit pas d'intermédiaires persistants (Howard, 1990). Des études plus approfondies ont montré qu'à des concentrations de méthanol inférieures à 3000 mg/l, le méthanol se dégrade facilement et rapidement dans différents environnements aquatiques. Il est dégradé par une large variété de bactéries aérobies et anaérobies.

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



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



Si la concentration en méthanol excède 8000 à 10.000 mg/l, on observe un effet inhibiteur significatif sur la population microbienne, qui est exprimée par une extension de la période d'acclimatation qui précède la biotransformation du méthanol, une réduction de la vitesse de dégradation du méthanol peut être observée.

Si les concentrations de méthanol dépassent 50.000 à 100.000 mg/l, la dégradation microbienne du méthanol ne sera pas possible et on peut obtenir la stérilisation du sol contaminé (Hubbard *et al.*, 1994).

1.2.7. Utilisation du méthanol comme biocarburant

Il est bien connu que les transports routiers engendrent la part la plus importante de la pollution urbaine. Alors que les impacts sur l'environnement sont en passe de jouer un rôle majeur dans le choix des filières technologiques, les biocarburants présentent des avantages en matière de protection de l'environnement. Ils ont déjà été sous les feux des projecteurs dans les années quatre vingt. L'utilisation de la biomasse, source d'énergie renouvelable, représentait alors une des voies énergétiques d'intérêt, pour les pays industrialisés, grands consommateurs d'énergie, comme pour les pays en voie de développement, souvent pauvres en énergie fossile.

Les caractéristiques physico-chimiques des alcools les désignent par nature comme carburants des cycles à allumage commandé (moteurs à essence) et non des cycles Diesel (Scheromm, 1993). Les carburants oxygénés tels que le méthanol et l'éthanol, avec une proportion élevée d'oxygène comparés à celle de l'essence et du Diesel conventionnels, sont utilisés dans certains pays pas seulement pour des raisons économiques mais aussi pour améliorer la qualité de l'air. Ces carburants alternatifs émettent de faibles taux de monoxyde et d'hydrocarbures et ils contribuent donc à la diminution de la production d'ozone (Gilka *et al.*, 2001).

MATERIEL
ET
METHODES

2.1. Origine du consortium

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

2.2. Description du réacteur batch

Des bouteilles en verre scellées d'un volume total de 1 L ont servi de réacteurs batch. Le bouchon muni d'un orifice protégé afin d'éviter tout échange avec le milieu extérieur, permet les prélèvements aqueux, prévus pour le suivi de la croissance, du substrat et du pH.

2.3. Choix du milieu nutritif

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

Un choix plus approprié du milieu nutritif s'est avéré essentiel vu que l'acidification provoqué par le milieu nutritif utilisé bloque la croissance bactérienne. Sachant que les ions NO_3^- éliminent radicalement le risque d'acidification du milieu, le sulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ est remplacé par le nitrate de potassium KNO_3 . Par contre, une légère basification du milieu peut être observée. La source de soufre S est représentée par le sulfate de sodium Na_2SO_4 . La nouvelle composition du milieu nutritif utilisé est reprise dans le Tableau 5 (Vandermesse, 1996).

2.4. Conditions opératoires de culture

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

Tableau 4. Composition du milieu nutritif (Deseveaux, 1995)

<i>Milieu nutritif</i>		<i>Concentrations</i>
<i>Tampon et macro-éléments</i>	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	3,00 g/l
	KH_2PO_4	1,09 g/l
	$\text{Na}_2\text{HPO}_4, 2 \text{H}_2\text{O}$	3,49 g/l
	$\text{MgSO}_4, 7 \text{H}_2\text{O}$	0,2 g/l
<i>Micro-éléments</i>	EDTA	10 mg/l
	$\text{FeSO}_4, 7 \text{H}_2\text{O}$	5 mg/l
	$\text{MnCl}_2, 4 \text{H}_2\text{O}$	1,22 mg/l
	$\text{ZnSO}_4, 7 \text{H}_2\text{O}$	0,25 mg/l
	$\text{CuSO}_4, 5 \text{H}_2\text{O}$	0,2 mg/l
	$\text{CaCl}_2, 2 \text{H}_2\text{O}$	1 mg/l
	$\text{Na}_2\text{MoO}_4, \text{H}_2\text{O}$	0,2 mg/l

Tableau 5. Composition du milieu nutritif (Vandermesse, 1996)

<i>Milieu nutritif</i>		<i>Concentrations</i>
<i>Tampon et macro-éléments</i>	KNO_3	13,76 g/l
	KH_2PO_4	1,78 g/l
	$\text{Na}_2\text{HPO}_4, 2 \text{H}_2\text{O}$	4,66 g/l
	Na_2SO_4	9,68 g/l
	$\text{MgSO}_4, 7 \text{H}_2\text{O}$	0,8 g/l
<i>Micro-éléments</i>	EDTA	10 mg/l
	$\text{FeSO}_4, 7 \text{H}_2\text{O}$	5 mg/l
	$\text{MnCl}_2, 4 \text{H}_2\text{O}$	1,22 mg/l
	$\text{ZnSO}_4, 7 \text{H}_2\text{O}$	0,25 mg/l
	$\text{CuSO}_4, 5 \text{H}_2\text{O}$	0,2 mg/l
	$\text{CaCl}_2, 2 \text{H}_2\text{O}$	1 mg/l
	$\text{Na}_2\text{MoO}_4, \text{H}_2\text{O}$	0,2 mg/l

L'objectif de ces expériences est de mettre en évidence l'influence de la concentration cellulaire initiale X_0 sur les paramètres cinétiques de biodégradation du méthanol, ainsi que l'influence de la présence de l'éthanol comme second substrat et finalement l'influence des précultures.

Le volume de la phase aqueuse a été calculé pour chacune des concentrations initiales de méthanol et d'éthanol (lorsqu'il est présent) étudiées afin d'éviter la limitation par l'oxygène. Le méthanol est l'unique source de carbone et d'énergie lorsque l'éthanol est absent.

Un pH de 7 (± 0.2) considéré adéquat pour la croissance du consortium bactérien, est maintenu constant grâce au choix du milieu nutritif (Tableau 5) (Vandermesse, 1996).

La taille de l'inoculum est fixée à 20%(v/v) de la phase liquide. Les réacteurs sont placés dans un bain-marie de type MEMMERT, avec agitation, à 35°C.

2.5. Préparation de l'inoculum

Pour réduire voire éliminer la phase de latence des expériences de cinétique, on utilise pour ensemercer les réacteurs des cellules se trouvant en phase de pleine croissance. Des précultures sont réalisées à cet effet. Pour standardiser ces précultures, on a défini des conditions opératoires pour chaque expérience. Chaque réacteur batch contient 90 ml de phase liquide avec une charge appliquée de méthanol de 900 ppm (w/v) (même concentration appliquée d'éthanol lorsque le consortium est en présence d'un mélange des deux).

Une centrifugation d'un volume de 18 ml (20% v/v) provenant de la station d'épuration d'El Méria est réalisé avec une centrifugeuse de type ROTOFIX 32 (Hettich Zentrifugen) à 300 g pendant 2 mn. Cette opération permet la sédimentation des particules volumineuses. Le surnageant sert d'inoculum à la première préculture (Deshusses, 1994). Après 24 h, on prélève 18 ml de la première préculture et on fait subir un lavage aux cellules, par centrifugation à 400 g pendant 20 mn, suivi d'une élimination du surnageant et donc du méthanol résiduel et de l'éthanol résiduel lorsqu'il est présent. L'aliquote est resuspendue dans un milieu nutritif neuf afin d'obtenir l'inoculum de la deuxième préculture. La troisième préculture est toujours lancée avec la concentration cellulaire initiale X_0 fixée.

A cet effet, pour chacune des expériences, une droite étalon est établie afin de relier la densité optique D.O à la concentration cellulaire X (Annexe 1).

2.6. Prélèvements

Les prélèvements horaires doivent se faire à partir de chacun des trois réacteurs batch. Ces prélèvements d'un volume de 2 ml sont répartis dans deux tubes :

- 1,5 ml du volume total permet la lecture de la D.O à l'aide d'un spectrophotomètre de type Jenway 6300 Spectrophotometer, suivie de la mesure du pH.
- Le volume restant (0,5 ml) est mis dans un tube, hermétiquement fermé, pour éviter les pertes de substrat, il subit alors une centrifugation à 400 g pendant 20 mn, afin d'obtenir un surnageant exempt de cellules microbiennes.

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

2.7. Analyse des prélèvements

2.7.1. Mesure de la concentration en substrat S

La chromatographie en phase gazeuse (CPG), combinée à l'utilisation d'une colonne capillaire à haute résolution, offre une excellente séparation des hydrocarbures. Le détecteur à ionisation de flamme (FID) est traditionnellement considéré comme étant un détecteur hautement non sélectif, avec un pouvoir de réponse à la majorité des COV (Mester et Harrison, 1995).

2.7.1.1. Principe de la chromatographie en phase gazeuse (CPG)

L'échantillon est vaporisé et injecté au sommet de la colonne. L'élution est assurée par un flux de gaz inerte qui sert de phase mobile. Contrairement à la plupart des autres types de chromatographie, il n'y a pas d'interaction entre les molécules d'analyte et la phase mobile ; cette dernière sert à transporter l'analyte dans la colonne.

Il existe deux types de chromatographie en phase gazeuse :

- La chromatographie gaz-solide utilise une phase stationnaire solide sur laquelle la rétention des analytes résulte d'une adsorption physique.
- La chromatographie gaz-liquide est basée sur le partage de l'analyte entre une phase gazeuse mobile et une phase liquide immobilisée sur la surface d'un support inerte.

Les composantes de base d'un appareil de chromatographie gazeuse sont décrites comme suit :

a. Alimentation en gaz vecteur

Les gaz vecteurs doivent être chimiquement inertes, comme c'est le cas pour l'hélium, l'argon, l'azote, le dioxyde de carbone et l'hydrogène. A l'alimentation en gaz sont associés des régulateurs de pression, des gauges et des débitmètres, et souvent un tamis moléculaire qui élimine l'eau et d'autres impuretés. Les pressions d'admission sont usuellement comprises entre 10 et 50 psi (au dessus de la pression ambiante), avec des débits de l'ordre de 25 à 150 ml/min pour les colonnes remplies et de 0,5 à 5 ml/min pour les colonnes capillaires.

b. Système d'injection de l'échantillon

La méthode la plus courante consiste à utiliser une microsiringue avec laquelle on injecte l'échantillon liquide ou gazeux à travers un diaphragme ou un septum en élastomère dans une chambre à vaporisation instantanée située au sommet de la colonne. La chambre d'injection est habituellement maintenu à environ 50°C au dessus du point d'ébullition du constituant le moins volatil de l'échantillon. Les volumes d'échantillon varient usuellement de quelques dixièmes de microlitre à 20 µl.

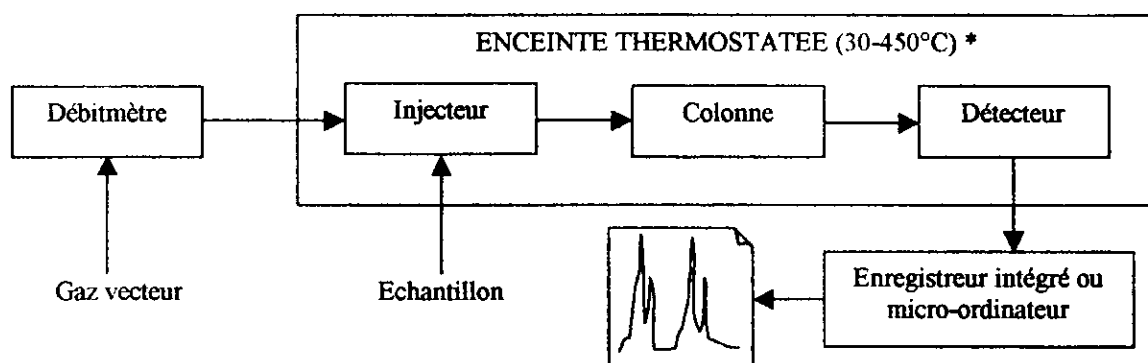
c. Configuration des colonnes et de leurs fours

Il existe deux types de colonnes en chromatographie gazeuse, les colonnes remplies et les colonnes tubulaires ouvertes, ou colonnes capillaires. Les colonnes chromatographiques ont des longueurs comprise entre 2 et 50 m ou plus. Elles sont en acier inoxydable, en verre, en silice fondue ou en téflon. Pour pouvoir s'emboîter dans un four thermostatique, elles sont usuellement formées d'enroulement de 10 à 30 cm de diamètre. La température optimale de la colonne dépend du point d'ébullition de l'échantillon et du degré de séparation requis. Pour des échantillons qui ont une gamme étendue de points d'ébullition, il est préférable d'employer une programmation de température telle que la température de la colonne augmente de manière continue ou discontinue au cours de la séparation.

d. Les détecteurs

Le détecteur à ionisation de flamme est le détecteur le plus utilisé. L'éluat de la colonne est mélangé avec de l'hydrogène et de l'air, et ce mélange est enflammé électriquement. La plupart des composés organiques sont pyrolysés à la température d'une flamme hydrogène - air en produisant des ions et des électrons capables de conduire l'électricité à travers la flamme. Le FID présente une sensibilité élevée ($= 10^{-13}$ g/s), un domaine étendu de réponse linéaire ($= 10^7$).

Une connexion adéquate entre ces différentes composantes permet au CPG d'être fonctionnel (Figure 4) (Rouessac, 1994) .



*ou avec dispositif cryogénique, à partir de -80°C

Figure 4. Schéma récapitulatif des différentes composantes du CPG.

2.7.1.2. Conditions opératoires de mesure de la concentration en substrat S

Un volume de $1\mu\text{l}$ d'échantillon est manuellement introduit avec une microsiringue SGE de $10\mu\text{l}$ dans un chromatographe SCHIMADZU de type GC-17A opérant isothermiquement à 130°C , combiné à une colonne capillaire de type DB-5 ($0,25\text{ mm D.I} \times 30\text{ m}$) et un détecteur FID. L'azote N_2 est utilisé comme gaz vecteur avec un débit entrant de 45 ml/mn . Un split ratio de 50 étant utilisé, il s'ensuit que le débit de l'azote N_2 traversant la colonne est de $0,9\text{ ml/mn}$. Les températures atteintes par le détecteur et l'injecteur sont de 200°C et de 250°C respectivement (Figure 5).

L'utilisation d'un standard externe avec une concentration de 1000 ppm de méthanol permet l'étalonnage de l'appareil. Dans le cas où on utilise un mélange de méthanol et d'éthanol, le standard externe est préparé avec 500 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol (Annexe 2).

Le temps de rétention du méthanol, dans ces conditions, est en moyenne de 2,1 mn. Celui de l'éthanol est de 2,2 mn (Annexe 3).

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

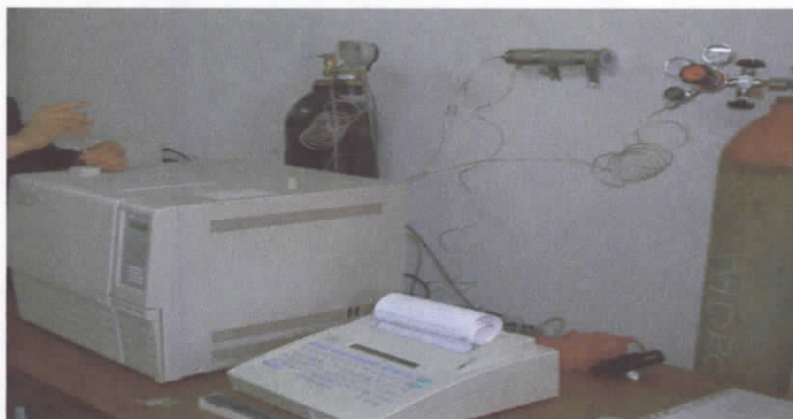


Figure 5. Un chromatographe SCHIMADZU de type GC-17A combiné à une colonne capillaire de type DB-5 (0,25 mm D.I x 30 m) et un détecteur FID.

2.7.2. Mesure de la concentration cellulaire X

Le suivi de la quantité de biomasse au cours du temps, se fait par lecture directe de la densité optique (D.O) de chaque échantillon à 546 nm avec un spectrophotomètre JENWAY de type 6300 spectrophotometer, en utilisant le milieu nutritif comme blanc.

Un étalonnage est réalisé afin de convertir la D.O en concentration cellulaire X, exprimée en $g_{p.s}/l$ (Annexe 1). Le principe de l'étalonnage consiste en la lecture de la D.O de suspensions homogènes à différentes concentrations à partir de la deuxième préculture arrivée en phase stationnaire de croissance et en la mesure du poids sec de ces étalons par perte au feu. Pour réaliser cette dernière étape, L'étalon mère subit une centrifugation à 400g pendant 20mn et l'aliquote est resuspendue dans de l'eau distillée afin d'éviter que les concentrations élevées des macro-éléments du milieu nutritif ne perturbe la mesure du poids sec réel de la biomasse. Les suspensions préparées à partir de l'étalon mère sont ensuite placées dans des creusets qui sont mis à l'étuve à 105°C pendant 5h. Après refroidissement dans un dessiccateur, les creusets pleins sont pesés. Finalement, on obtient le poids sec réel de la biomasse par soustraction du poids de chaque creuset vide de celui du même creuset mais plein.

2.8. Mesures physico-chimiques

2.8.1. pH

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

RESULTATS
ET
DISCUSSION

3.1. Influence de la concentration initiale en biomasse X_0 sur la biodégradation du méthanol

3.1.1. Présentation des résultats

Les résultats présentés dans cette section concernent l'expérience de dégradation du méthanol où la concentration initiale de biomasse a été ajustée à 0,25 g_{ps}/l. L'impact de ce paramètre sur la croissance microbienne et la dégradation du méthanol sera brièvement discuté à la fin de la section 3.1 en confrontant les résultats obtenus avec ceux d'une seconde expérience de dégradation du méthanol menée avec une concentration initiale de biomasse de 0,01 g_{ps}/l.

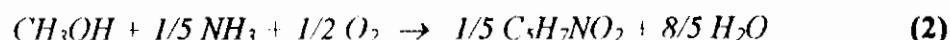
3.1.1.1. Calcul de la charge maximale de méthanol biodégradable dans un réacteur

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

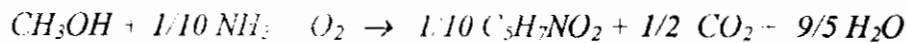
Cependant, il est évident qu'un minimum de phase liquide est nécessaire pour la croissance des microorganismes ainsi que pour suivre la densité optique (D.O) et la concentration résiduelle en méthanol au cours de l'expérience sans perturber la croissance microbienne. On a cherché un compromis et fixé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

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

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



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



Cette supposition semble être confirmée par des expériences préliminaires de croissance et de dégradation. En effet, lors de ces expériences où ont été suivies simultanément les concentrations en biomasse et en méthanol au cours du temps, on a observé que la formation de biomasse et la dégradation du méthanol étaient liées. Par cette équation, il est supposé que la formule pondérale stœchiométrique de la biomasse est $\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2$. Cette formule est généralement utilisée pour la plupart des bactéries (Agathos, 1995).

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

Par conséquent, si au départ on n'effectue aucun enrichissement en oxygène dans la phase gazeuse, la concentration maximale qui peut être dégradée dans un réacteur batch vaut donc 273 mg de méthanol ce qui, pour 90 ml de phase liquide, correspond à 3030 ppm (w/v). Suite à ces calculs, le choix des concentrations appliquées a donc été de : 1000, 2000 et 3000 ppm.

3.1.1.2. Traitement des résultats

3.1.1.2.1. Introduction

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

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

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

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

3.1.1.2.2. Modélisation de la croissance

Les résultats de l'évolution de la concentration en biomasse **X** des différents réacteurs sont représentés sous forme graphique dans les Figures 6 et 8. Une allure sigmoïdale est obtenue pour les différentes courbes.

Afin d'essayer de modéliser la croissance, on peut appliquer un modèle dont l'équation 4 (Equation de Boltzman) est reprise ci-dessous (Bazin et Menell, 1990):

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

Avec :

X : Concentration en biomasse au temps *t* (g_{PS}/l)

t : Temps (h)

P₁, P₂, P₃, P₄ : Paramètres

Les paramètres de cette équation sont ajustés par rapport aux mesures expérimentales par une méthode itérative. Les séries de paramètres obtenus pour chaque réacteur batch sont reprises au Tableau 6.

Une signification est donnée à chacun de ces paramètres :

P₁ : Différence, en valeur absolue, entre les concentrations en biomasse initiale et finale (g_{PS}/l). Par déduction, **P₁** est donc égal à $A_1 - A_2$, en valeur absolue.

P₂ : Etalement de la courbe le long de l'axe des abscisses (sans unité). Il est égal à x_0 / dx .

P₃ : Pente de la sigmoïde (h^{-1}). **P₃** est égal à $1/dx$.

P₄ : Concentration finale en biomasse (g_{PS}/l). **P₄** est représentée par A_2 .

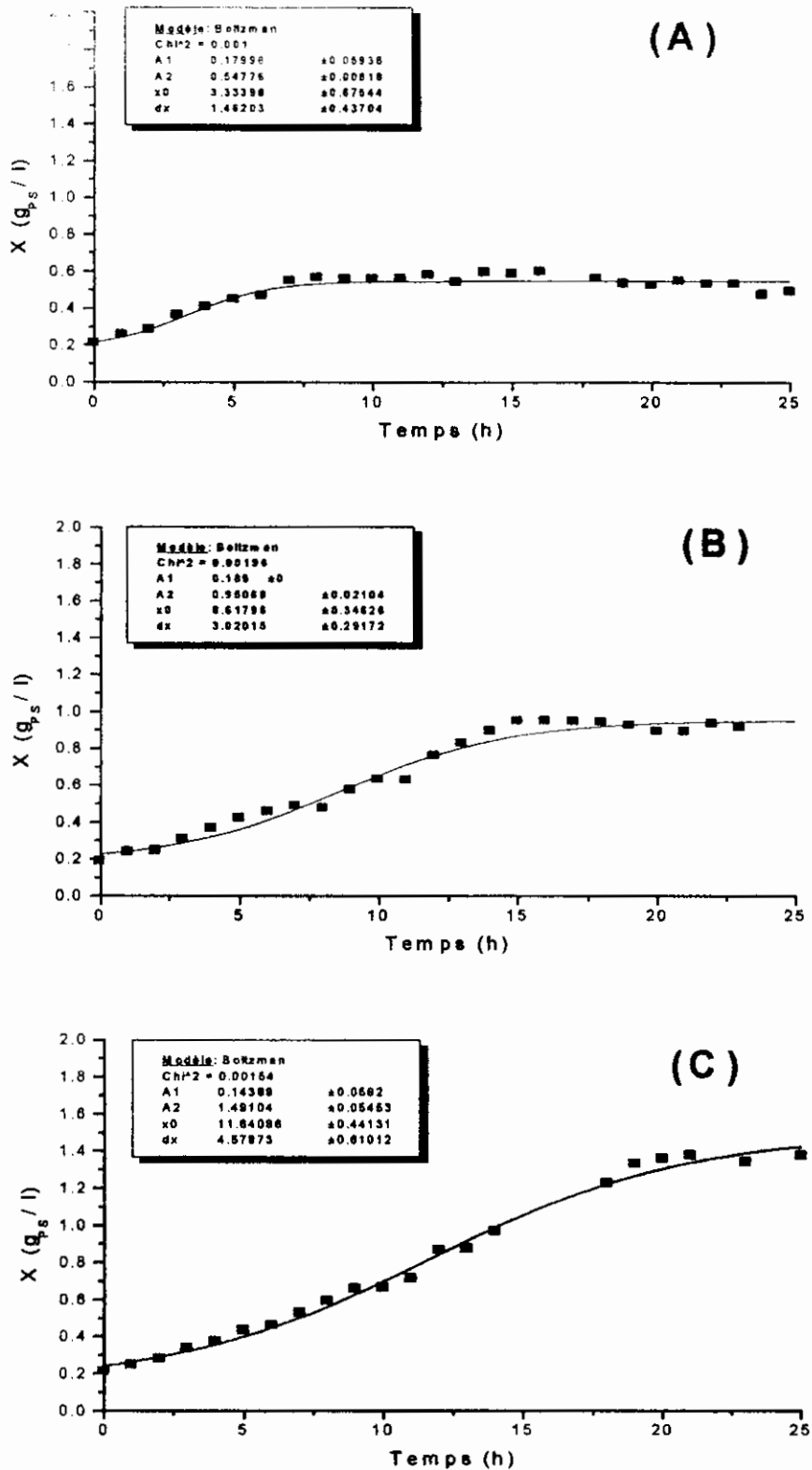


Figure 6. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{Ps}/l) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol. A_1 correspond à la concentration initiale en biomasse, A_2 à la concentration finale en biomasse, x_0 au centre de la sigmoïde et dx à la constante du temps.

Tableau 6. Valeurs des paramètres du modèle de l'équation 4 obtenues après son ajustement paramétrique sur celle de la courbe expérimentale de croissance.

Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm)			
Paramètres	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄
Valeurs	0,368	2,280	0,684	0,548

Réacteur batch	B ([MeOH]=2000 ppm)			
Paramètres	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄
Valeurs	0,766	2,853	0,331	0,950

Réacteur batch	C ([MeOH]=3000 ppm)			
Paramètres	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄
Valeurs	1,347	2,542	0,218	1,491

Le tracé des courbes théoriques obtenues par ajustement paramétrique du modèle choisi (Equation 4) sur les données expérimentales met en évidence l'allure sigmoïdale de l'évolution de la croissance (Figures 6 et 8).

On peut cependant remarquer que dans le cas du réacteur B, la courbe théorique ne passe pas par tous les points expérimentaux.

3.1.1.2.3. Modélisation de la consommation du méthanol

Les résultats de l'évolution de la concentration en méthanol des différents réacteurs sont représentés sous forme graphique dans les Figures 7 et 8.

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

Un tel modèle est décrit par l'équation 5 :

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

Avec :

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

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

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

μ_{\max} : Taux spécifique de croissance maximum (h^{-1}).

t : Temps (h).

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

$$S = p_1 + p_2 [1 - \exp(p_3.t)] \quad (6)$$

Avec :

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

t : Temps (h).

p_1 , p_2 , p_3 : Paramètres.

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

p_1 : Concentration initiale en substrat en phase liquide [ppm (w/v)].

p_2 : Quantité de substrat nécessaire à la création de la quantité de biomasse initiale X_0 [ppm (w/v)].

p_3 : Taux spécifique maximum de croissance μ_{\max} (h^{-1}).

Les valeurs des paramètres p_1 , p_2 et p_3 de chaque réacteur batch sont reprises dans le Tableau 7 suivant :

Tableau 7. Valeurs des paramètres du modèle de l'équation 6 obtenues après son ajustement paramétrique sur celle de la courbe expérimentale de dégradation du méthanol.

Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm)		
Paramètres	p_1	p_2	p_3
Valeurs	561,839	144,834	0,320

Réacteur batch	B ([MeOH]=2000 ppm)		
Paramètres	p_1	p_2	p_3
Valeurs	929,372	30,709	0,282

Réacteur batch	C ([MeOH]=3000 ppm)		
Paramètres	p_1	p_2	p_3
Valeurs	2248,224	552,920	0,120

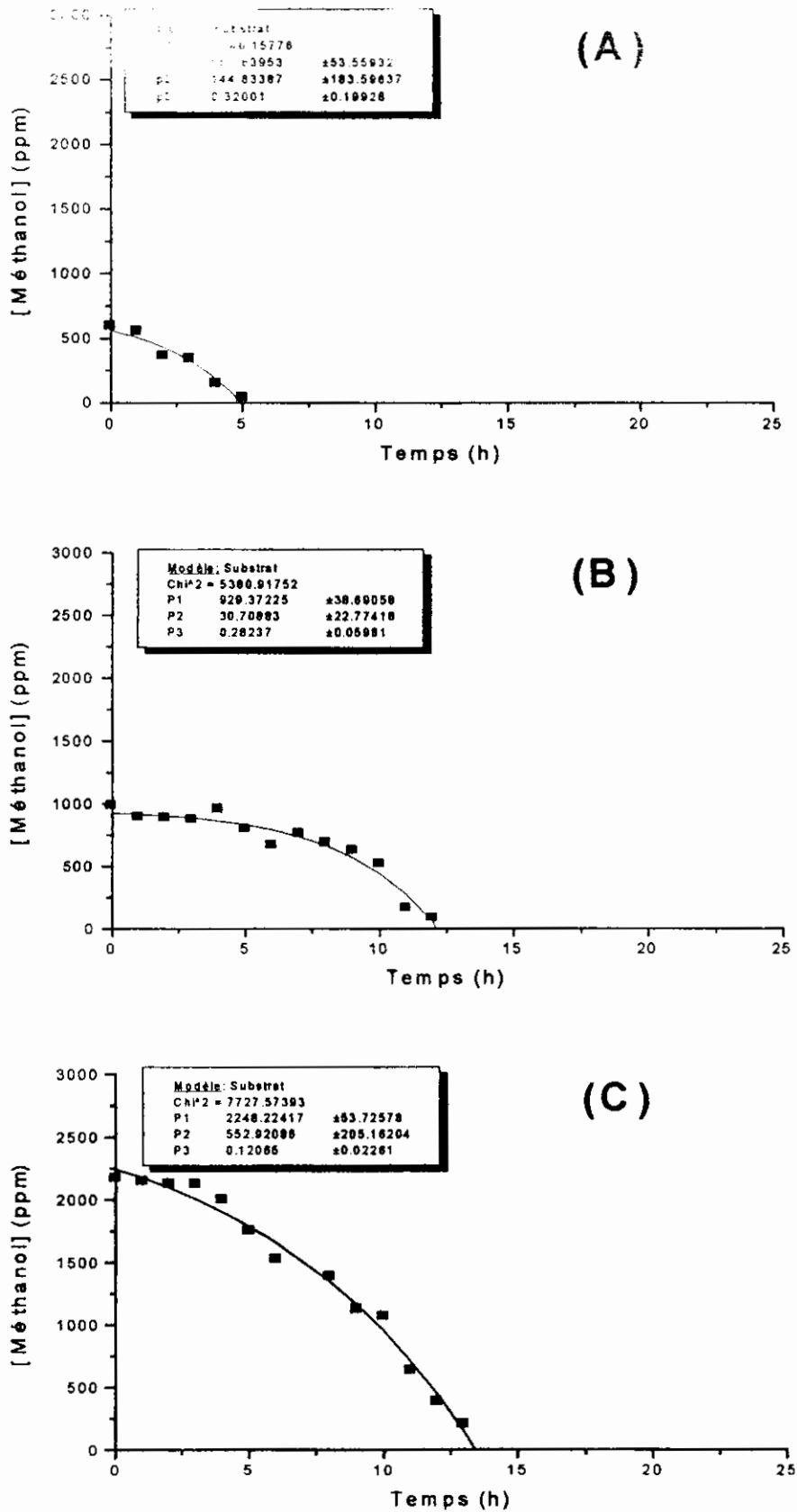


Figure 7. Evolution de la concentration en méthanol résiduel (ppm) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol.

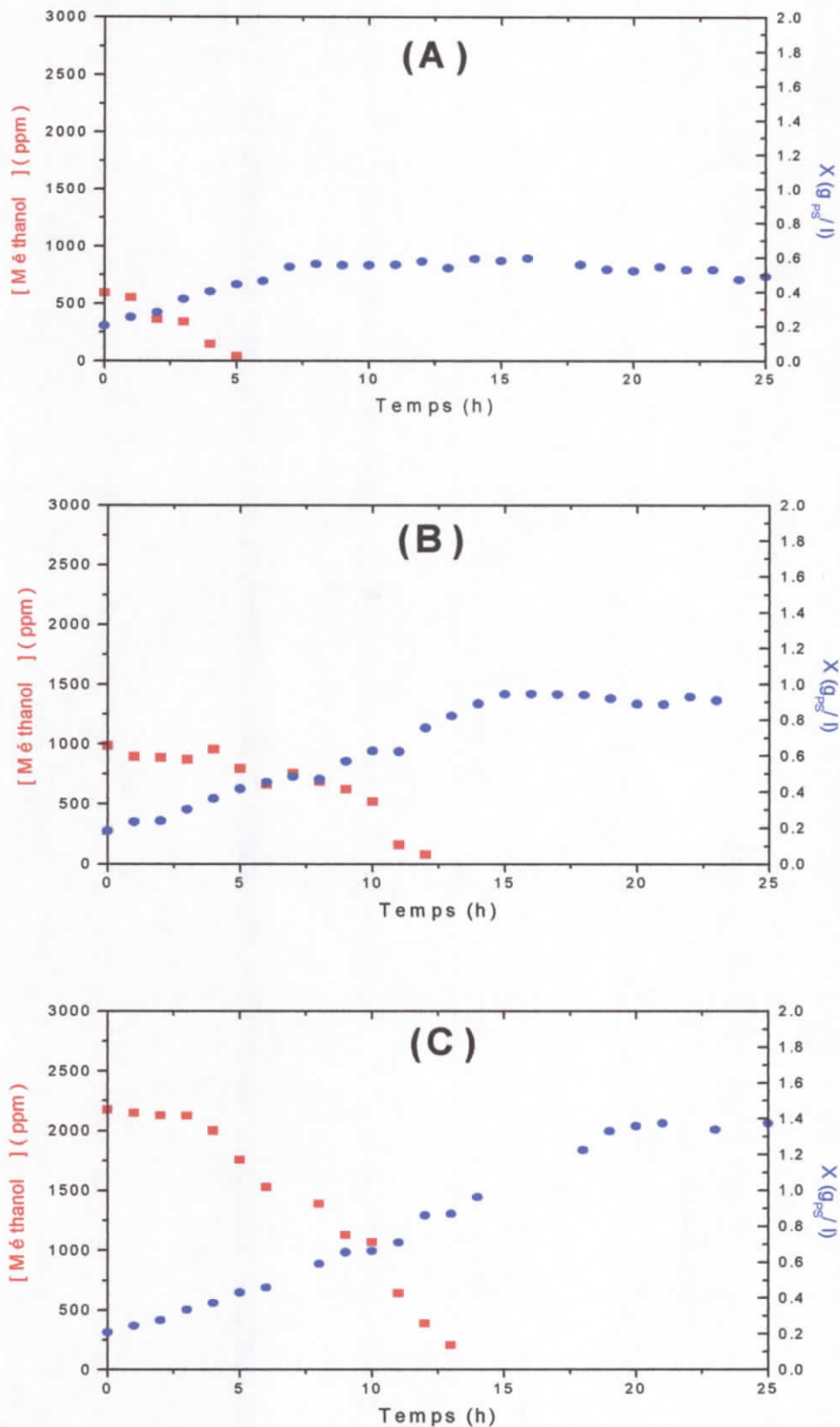


Figure 8. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{ps}/l) et de la concentration en méthanol résiduel (ppm) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol.

On remarque que p_1 correspond à la concentration initiale en méthanol, que p_3 a les mêmes unités que le taux spécifique de croissance μ et que ce dernier diminue au fur et à mesure que la charge appliquée en méthanol augmente. On remarque aussi que p_2 n'est pas constant alors que les différents réacteurs batch sont inoculés avec la même quantité de biomasse.

La consommation du méthanol n'est pas donc exactement décrite par le modèle proposé ci-dessus (Equation 5), néanmoins, il définit correctement l'allure logarithmique de la consommation du méthanol car les courbes théoriques passent au plus près de tous les points expérimentaux.

3.1.1.2.4. Taux de croissance spécifique μ

Le taux spécifique de croissance est défini selon Monod par l'équation 7 (Schuler et Kargi, 1992):

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

Avec :

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

X : Concentration en biomasse (g_{PS}/l).

t : Temps (h).

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

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

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

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

$$\mu = (\ln X_{t2} - \ln X_{t1}) / (t_2 - t_1) \quad (9)$$

Où μ est le taux de croissance spécifique (h^{-1}) et X_{t_2} , X_{t_1} les concentrations en biomasse (g_{PS}/l) respectivement aux temps t_2 et t_1 .

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

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

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

Les résultats sont représentés par la Figure 9.

Une partie linéaire est définie sur une période de croissance appréciable, sa représentation par une droite (Figure 9) permet d'estimer le taux spécifique de croissance maximum μ_{max} qui représente la pente de la droite obtenue. Si la valeur obtenue de μ_{max} est proche de sa valeur expérimentale, on peut dire qu'on est en présence d'une souche pure.

Afin de donner une valeur réelle du taux spécifique de croissance, on l'a estimé en chaque temps expérimental, à partir des mesures expérimentales non-lissées, grâce à l'équation 11:

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

Les résultats pour les différents réacteurs batch sont repris à la Figure 10. Ces graphiques montrent une évolution particulière de μ au cours de la croissance.

Pour chaque réacteur batch, le μ en chaque temps de la courbe théorique est calculé grâce à l'équation 7 (Figure 11).

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

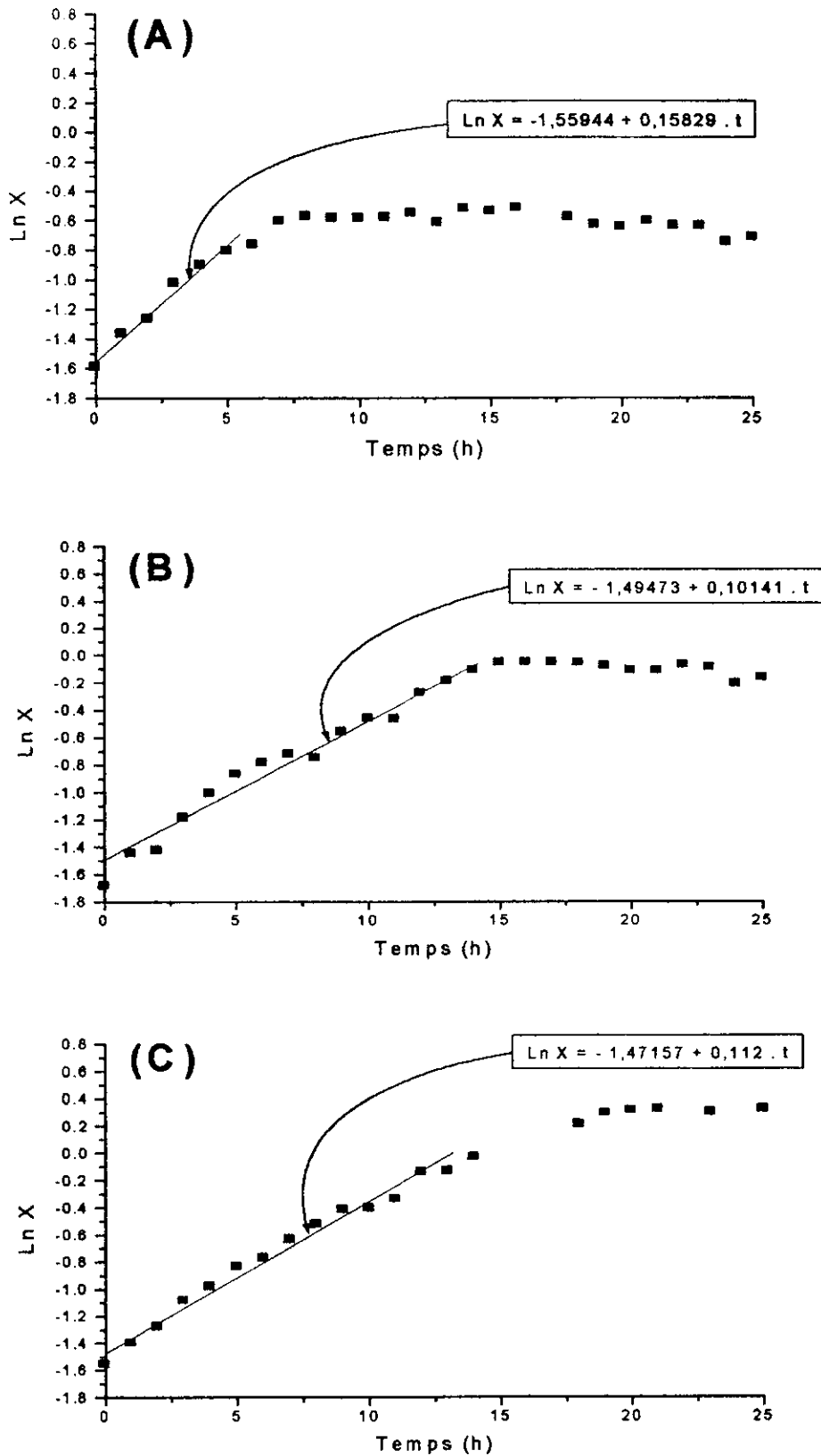


Figure 9. Partie linéaire de l'évolution du logarithme népérien de la concentration en biomasse Ln X en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol.

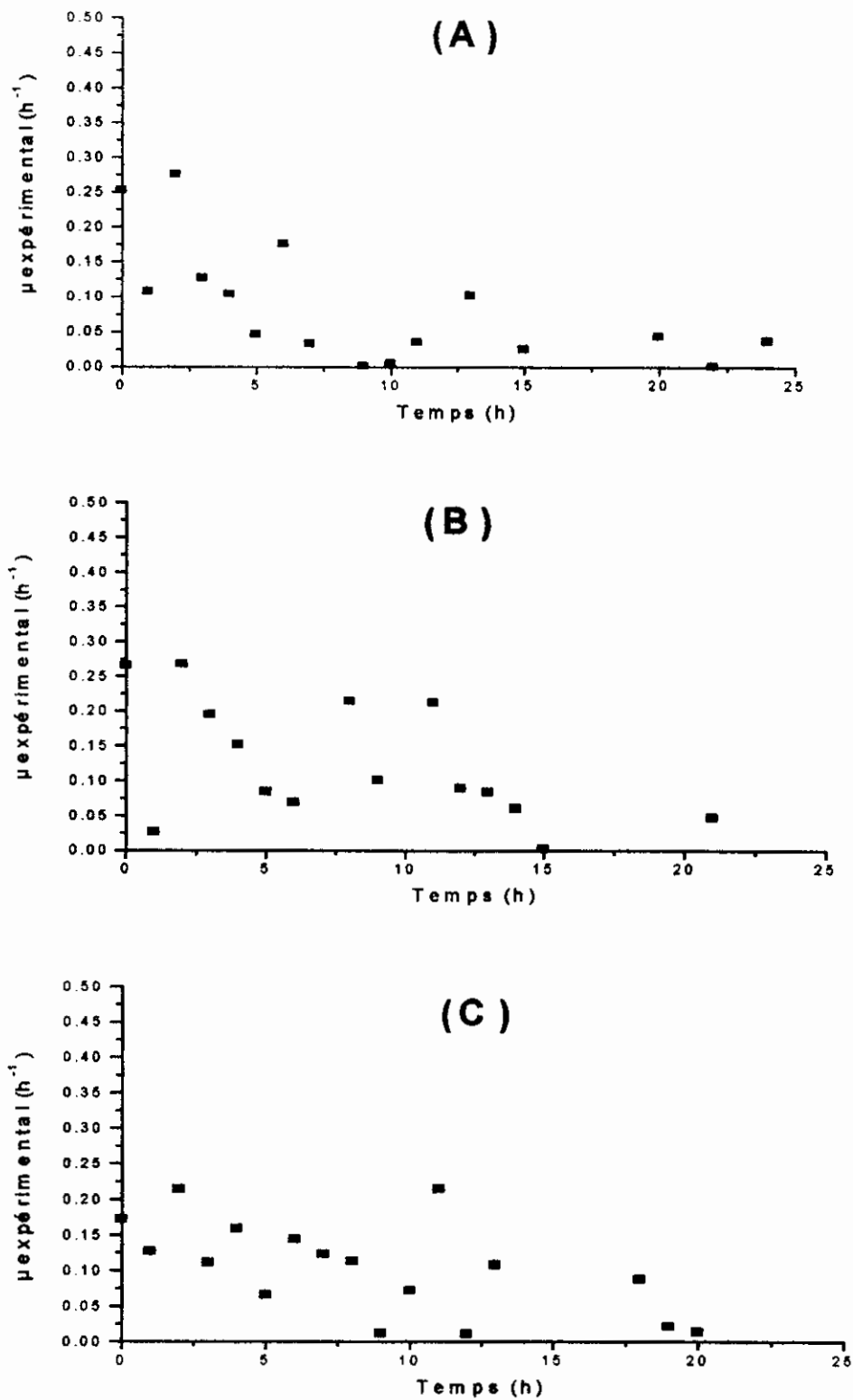


Figure 10. Evolution du taux spécifique de croissance expérimental $\mu_{n+1} \text{ (h}^{-1}\text{)}$ en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol.

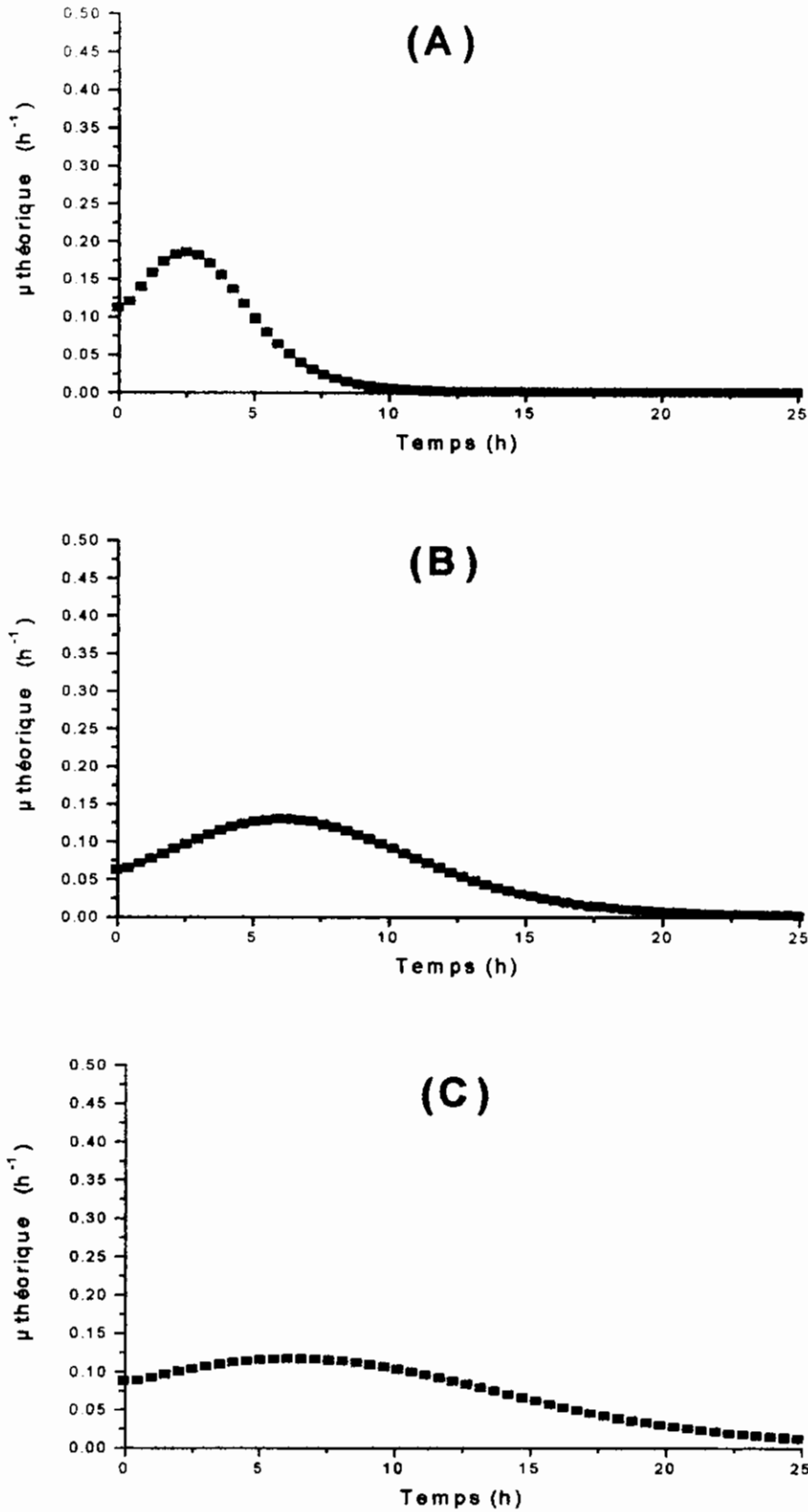


Figure 11. Evolution du taux spécifique de croissance théorique μ en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol.

Tableau 8. Valeurs du taux spécifique de croissance maximum μ_{\max} déterminées par quatre méthodes décrites par les équations 6, 7, 10 et 11.

Mesures expérimentales non-lissées			
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=2000 ppm)	C ([MeOH]=3000 ppm)
μ_{\max} (h ⁻¹)	0,274	0,213	0,214
Temps (h)	2	8	11
Courbe théorique de croissance			
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=2000 ppm)	C ([MeOH]=3000 ppm)
μ_{\max} (h ⁻¹)	0,184	0,128	0,115
Temps (h)	2,542	5,932	6,102
Equation de consommation du méthanol			
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=2000 ppm)	C ([MeOH]=3000 ppm)
μ_{\max} (h ⁻¹)	0,320	0,282	0,121
Partie linéaire de la phase exponentielle			
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=2000 ppm)	C ([MeOH]=3000 ppm)
μ_{\max} (h ⁻¹)	0,158	0,101	0,112

On remarque que les valeurs de μ_{\max} des réacteurs **B** et **C** déterminées par les quatre méthodes sont inférieures à la valeur de μ_{\max} du réacteur **A**. On remarque aussi que les valeurs de μ_{\max} obtenues à partir de la courbe théorique de croissance des trois réacteurs sont inférieures à celles obtenues directement à partir des mesures expérimentales.

Les profils d'évolution du taux spécifique de croissance μ , sans et avec lissage des mesures expérimentales en fonction de la concentration en méthanol résiduel en phase liquide sont présentés aux Figures 12 et 13.

Les graphiques représentant l'évolution de μ obtenu à partir des mesures expérimentales et du modèle sigmoïde de croissance (courbe théorique) (Figures 12 et 13) montrent que le consortium continue à croître alors que le méthanol dans la phase liquide est épuisé (lorsque $S = 0$, μ n'est pas nul pour les trois réacteurs).

En effet, la courbe décrivant l'évolution de la croissance et de la dégradation du méthanol pour chacun des trois réacteurs (Figure 8) montre que la phase stationnaire n'est pas encore atteinte au moment où la concentration en méthanol est nulle.

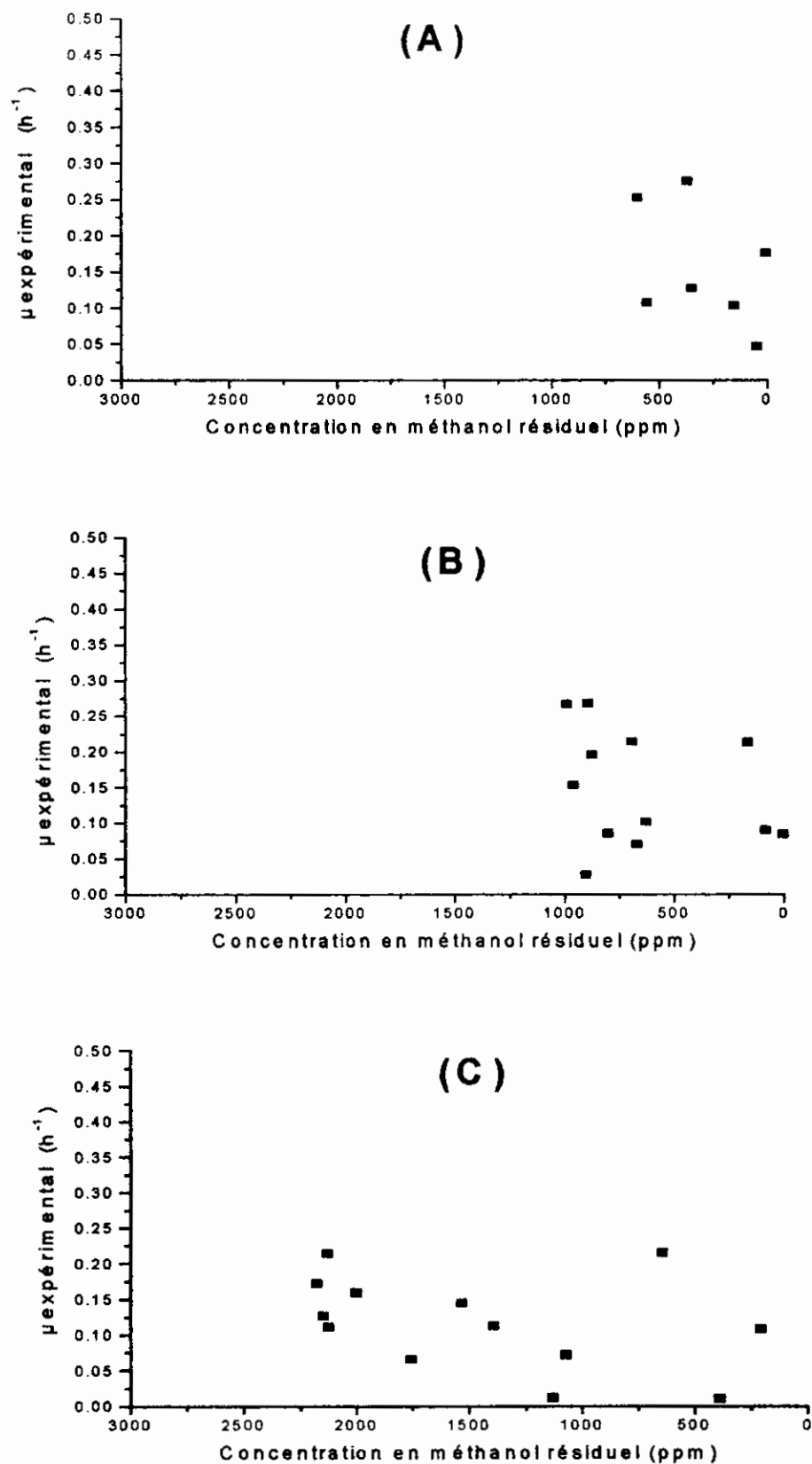


Figure 12. Evolution du taux spécifique de croissance expérimental μ_{n+1} (h^{-1}) en fonction de la concentration en méthanol résiduel (ppm) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol.

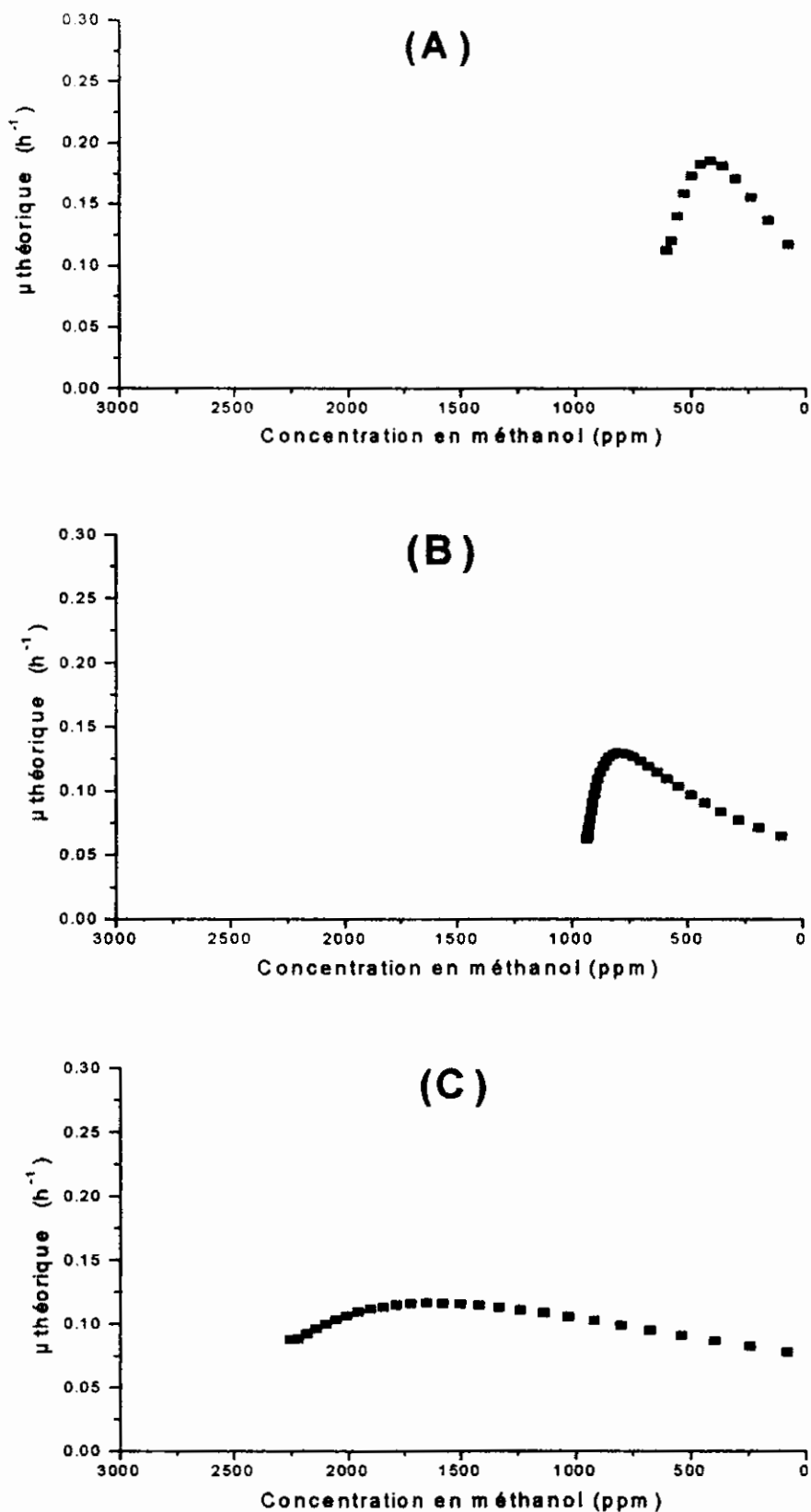


Figure 13. Evolution du taux spécifique de croissance théorique μ (h⁻¹) en fonction de la concentration en méthanol (ppm) (valeurs obtenues après lissage) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol.

3.1.1.2.5. Vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{X,MET}$

On entend par vitesse spécifique de la consommation du méthanol ($r_{X,MET}$), la quantité de méthanol consommée exprimée en g par g de poids sec de biomasse et par heure (h).

Cette vitesse peut être calculée directement à partir des données expérimentales non lissées grâce à l'équation 12 :

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

Avec :

n : Numéro d'ordre de la mesure de la concentration en méthanol .

$(r_{X,MET})_n$: Vitesse spécifique de consommation du méthanol au temps t_n ($g_{MET}/g_{PS} \cdot h$).

X_n : Concentration en biomasse au temps t_n (g_{PS}/l).

S_n : Concentration en méthanol résiduel en phase liquide au temps t_n (g_{MET}).

S_{n+1} : Concentration en méthanol résiduel en phase liquide au temps t_{n+1} (g_{MET}).

t_n : Temps lors de la $n^{ième}$ mesure de la concentration en méthanol résiduel (h).

t_{n+1} : Temps lors de la $(n^{ième}+1)$ mesure de la concentration en méthanol résiduel (h).

Les profils de la vitesse spécifique en fonction du temps obtenus par cette méthode sont représentés par la Figure 14.

En dérivant la courbe théorique obtenue par l'ajustement paramétrique du modèle de consommation du méthanol aux mesures expérimentales on obtient la vitesse de consommation volumique (Equation 13) :

$$r_{MET} = - dS/dt \quad (13)$$

Ensuite on divise r_{MET} par X au temps correspondant, on obtient la vitesse spécifique de consommation du méthanol ($r_{X,MET}$) théorique (Equation 14). Les résultats sont représentés par la Figure 15 :

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

Les profils de ($r_{X,MET}$) expérimentale et théorique en fonction de la concentration en méthanol résiduel sont représentés par les Figures 16 et 17.

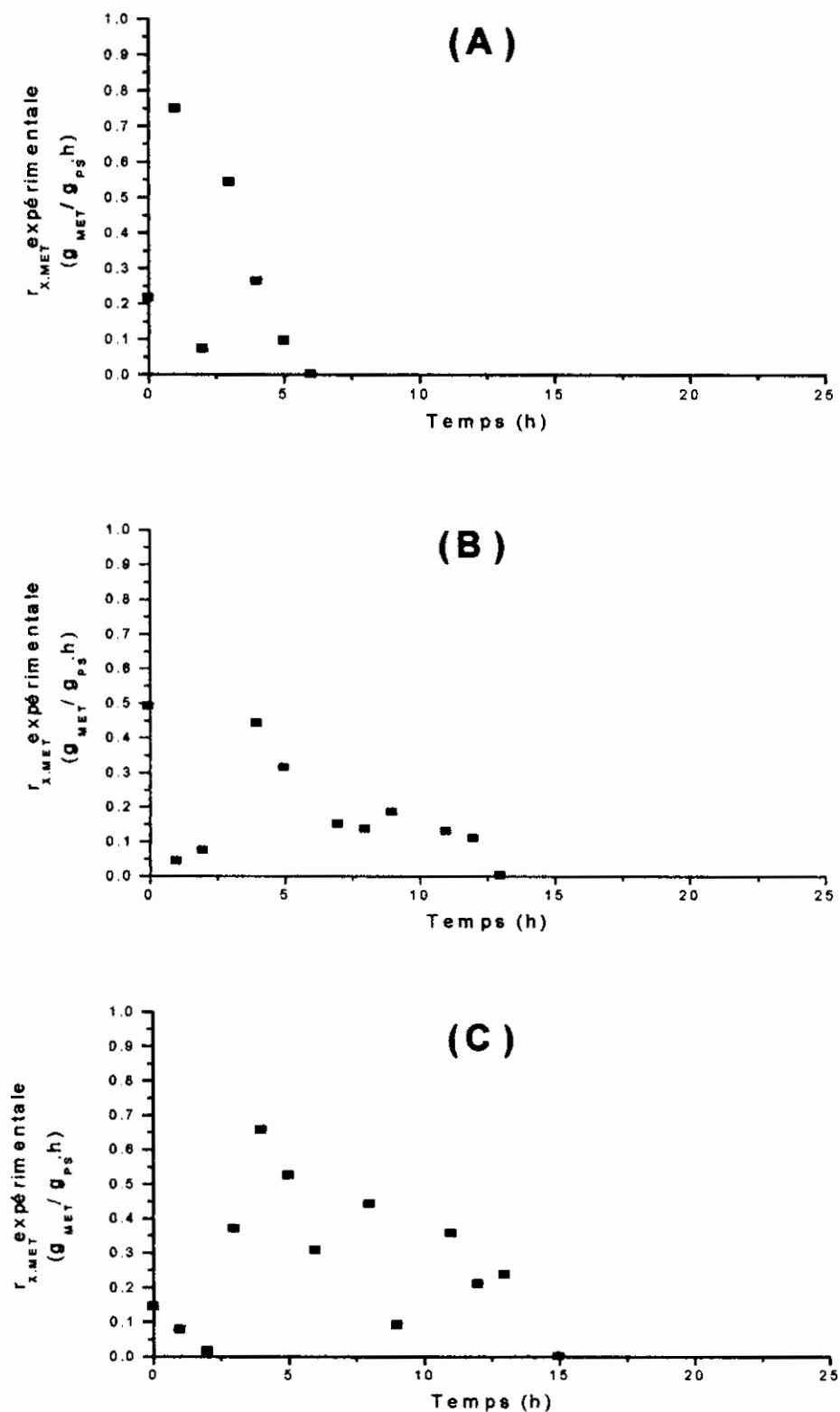


Figure 14. Evolution de la vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{X,MET}^{(n+1)}$ expérimentale ($g_{MET}/g_{PS}.h$) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol.

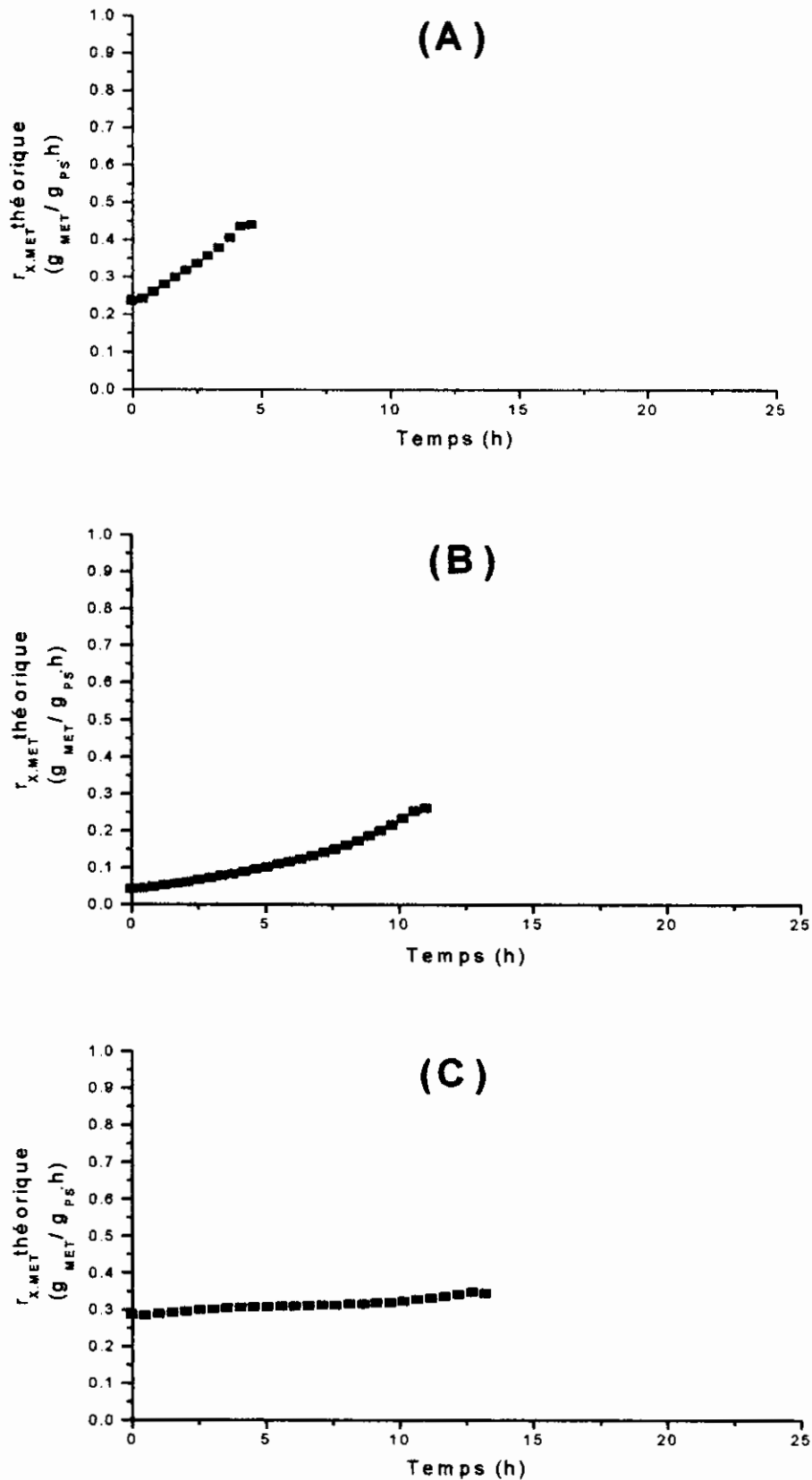


Figure 15. Evolution de la vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{X,MET}^{théorique}$ ($g_{MET} / g_{PS} \cdot h$) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol.

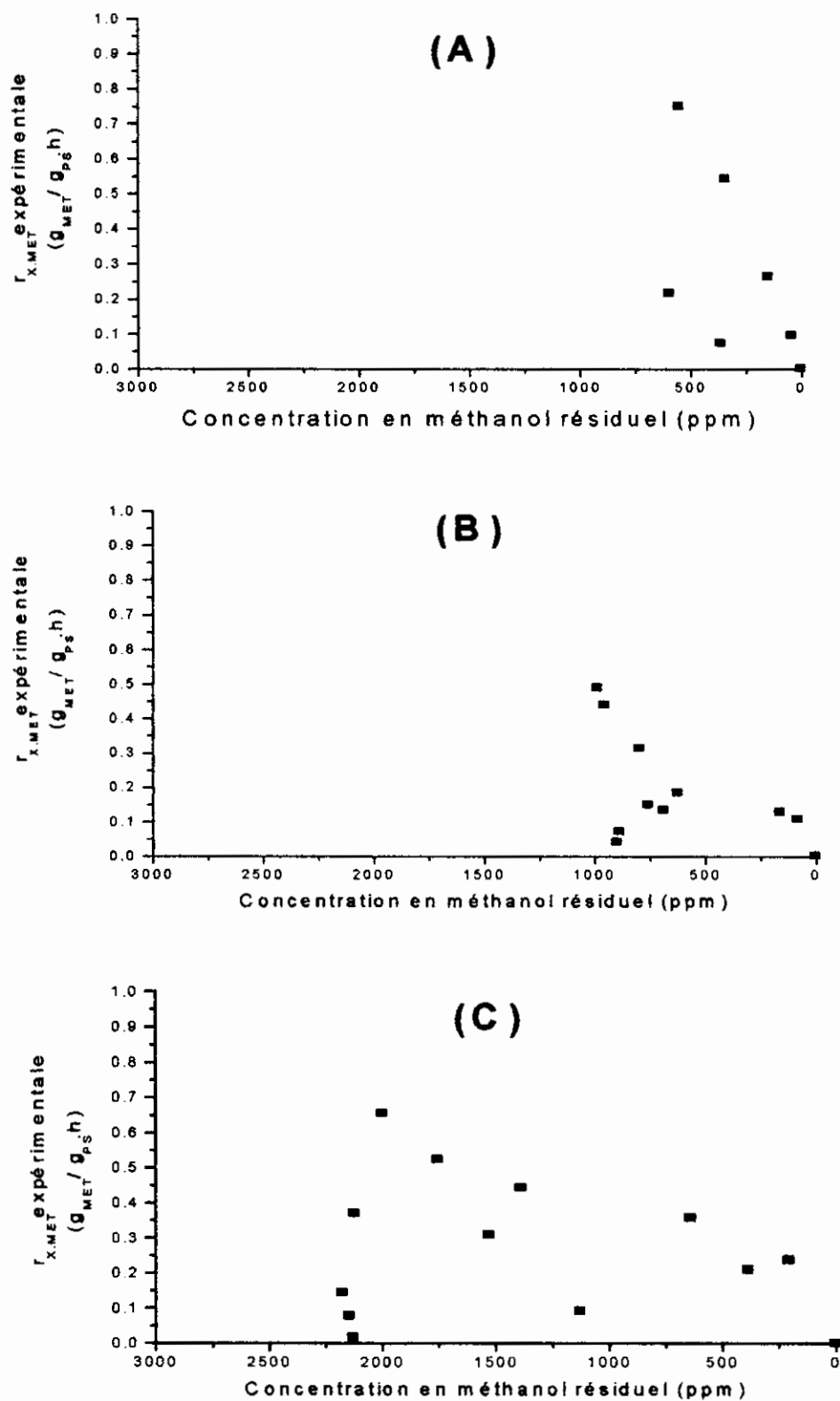


Figure 16. Evolution de la vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{X,MET}^{(n+1)}$ expérimentale ($g_{MET} / g_{PS} \cdot h$) en fonction de la concentration en méthanol résiduel (ppm) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol.

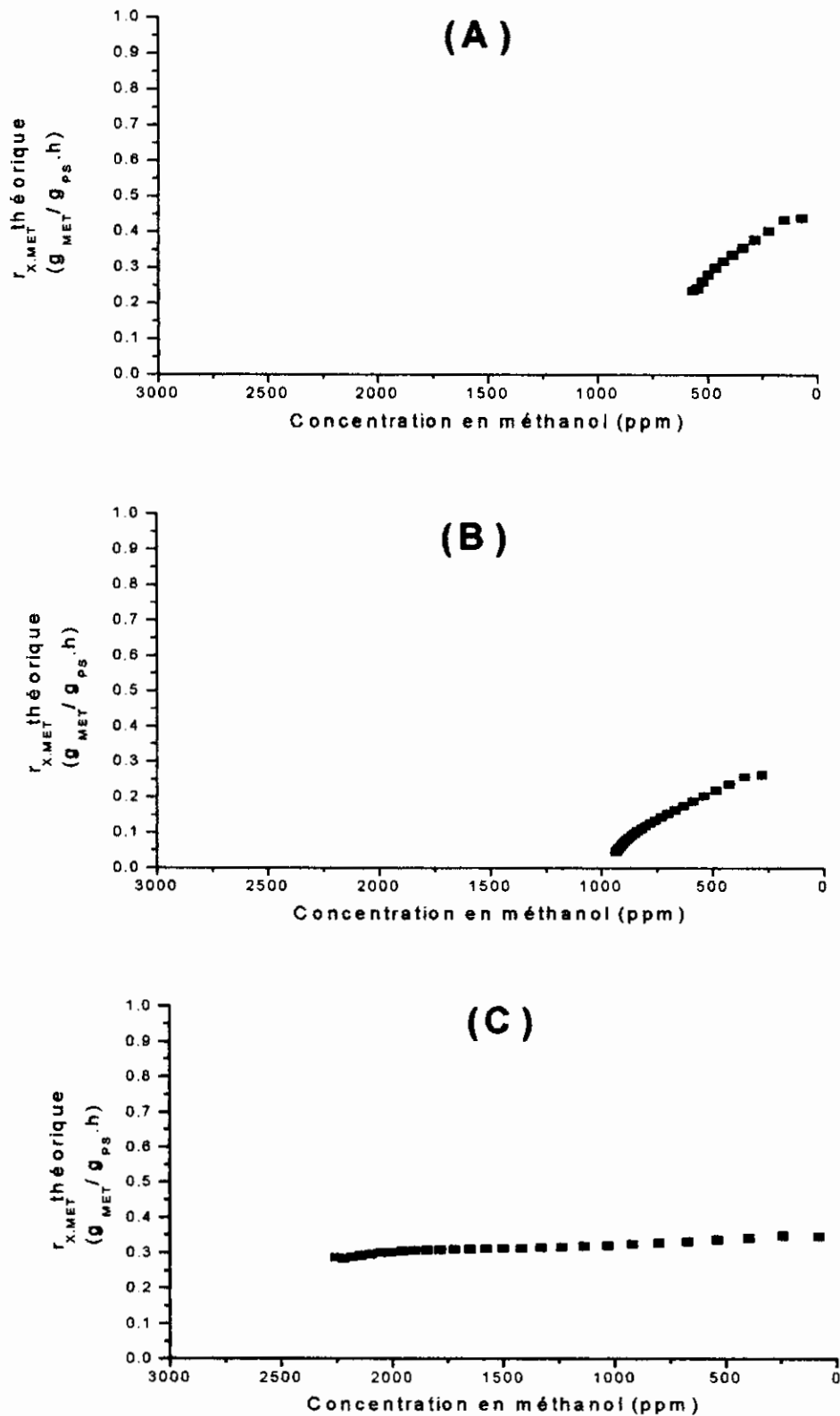


Figure 17. Evolution de la vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{X,MET}$ théorique ($\text{g}_{MET} / \text{g}_{PS} \cdot \text{h}$) en fonction de la concentration en méthanol (ppm) (valeurs obtenues après lissage) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol.

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

Le méthanol est transformé intégralement en biomasse et en CO_2 par les voies métaboliques classiques suivant les équations (1) et (2) décrites à la section 3.1.1.1.

Ces deux équations sont reliées par le rendement de conversion du méthanol en biomasse $Y_{X/MET}$. On peut calculer ce rendement à partir des graphiques de la Figure 6 reprenant l'évolution de la concentration en biomasse au cours du temps (Equation 15).

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

Avec :

ΔX : Variation de la concentration en biomasse entre le début et la fin de la croissance (g_{PS}/l).

ΔS : Charge de méthanol appliquée au réacteur et rapportée au volume de phase liquide initiale (g_{MET}/l) étant donné la consommation totale du méthanol par le consortium bactérien.

Les résultats pour les différents réacteurs sont repris au Tableau 9.

Tableau 9. Valeurs du rendement de conversion du méthanol en biomasse par le consortium bactérien $Y_{X/MET}$ dans les différents réacteurs batch.

	Réacteur batch			Unités
	A ([MeOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=2000 ppm)	C ([MeOH]=3000 ppm)	
ΔX	0,393	0,76	1,164	g_{PS}/l
ΔS	1	2	3	g_{MET}/l
$Y_{X/MET}$	0,393	0,38	0,388	g_{PS}/g_{MET}
$Y_{X/MET}$	0,1	0,107	0,109	$Mole_X/mole_{MET}$

La valeur moyenne de $Y_{X/MET}$ est égale à $0,387 g_{PS}/g_{MET}$.

A cette expression est préféré un rendement exprimé en mole de matière organique par mole de méthanol, dès lors, on obtient en divisant par les masses molaires correspondantes à la biomasse et au méthanol :

$$Y_{X/MET} = 0,105 \text{ mole de biomasse / mole de méthanol.}$$

Cette valeur est très proche de celle attendue (0,1 mole de biomasse/mole de méthanol). Pour convertir le poids sec de la biomasse en moles de biomasse, on considère que la biomasse sèche est composée de 90% de matière organique et de 10% de cendres (Agathos, 1995).

3.1.2. Discussion des résultats

3.1.2.1. Croissance

3.1.2.1.1. Phase de latence

La disparition de cette phase dans les graphiques des trois réacteurs (Figures 6 et 8) est due au fait que des précultures sont lancées préalablement afin d'adapter le consortium au méthanol et que les cellules prélevées pour l'ensemencement des réacteurs sont au point de « mi-croissance ».

On remarque cependant une légère phase d'accélération d'environ 2h pour les trois réacteurs due probablement à un stress causé par le lavage des cellules avant leur inoculation.

3.1.2.1.2. Croissance et dégradation

Les trois réacteurs batch sont lancés avec approximativement la même concentration initiale en biomasse X_0 (0,25 g_{PS}/l) mais avec des concentrations différentes de méthanol (A :1000 ppm, B :2000 ppm et C :3000 ppm). On remarque, d'après les graphiques de la Figure 8, que la différence D entre la concentration initiale en biomasse X_0 et la concentration finale X_f est proportionnelle à la concentration initiale de méthanol S_0 .

Calculé à partir des mesures expérimentales, ce rapport est égal à 2,148 si l'on passe du réacteur A au réacteur B et à 1,553 si l'on passe du réacteur B au réacteur C.

Si l'on se réfère à la valeur du paramètre P_1 (sa signification est donnée à la section 3.1.1.2.2.) obtenue grâce à l'application de l'équation de Boltzman afin de modéliser l'évolution de la croissance, le rapport est égal à 2,081 si l'on passe du réacteur A au réacteur B et à 1,759 si l'on passe du réacteur B au réacteur C. On a donc une faible augmentation de la biomasse du réacteur B au réacteur C alors que la concentration en méthanol appliquée au réacteur C est plus élevée.

La durée de la phase exponentielle (A :3h, B :11h et C :13h) s'avère proportionnelle à la concentration initiale en méthanol S_0 même si elle n'augmente que légèrement dans le cas du réacteur C.

La courbe théorique obtenue suite à l'application de l'équation de Boltzman (Figure 6), montre une réelle concordance avec l'allure de l'évolution des points expérimentaux. Cependant, dans le cas du réacteur B, on remarque que la courbe théorique ne

ne passe pas par tous les points expérimentaux. Cela peut être due au fait que les concentrations en biomasse sont surestimées dans les phases intermédiaires.

L'évolution de la croissance exprimée en $\ln X$ en fonction du temps t (Figure 9) s'avère dépourvue de la phase d'accélération pour les trois réacteurs.

D'après les graphiques de la Figure 8, on remarque que l'épuisement du méthanol ($S = 0$) coïncide avec le début de la phase de ralentissement de la croissance pour les trois réacteurs. La durée totale de consommation du méthanol est quant à elle proportionnelle à la concentration initiale en méthanol S_0 et elle dure environ 6, 13 et 14 h pour les réacteurs A, B et C respectivement.

Les valeurs expérimentales de S_0 des trois réacteurs (A : 595,3329 ppm, B : 985,479 ppm et C : 2175,7434 ppm) sont faibles par rapport aux concentrations appliquées (A : 1000 ppm, B : 2000 ppm et C : 3000 ppm). On suppose que cela est due au fait qu'au moment de l'injection des charges de méthanol, les conditions atmosphériques (température ambiante élevée) ont favorisé une évaporation massive du méthanol.

Les valeurs de p_1 obtenues suite à l'application du modèle de consommation du substrat représentée par l'équation 6 s'avèrent proches des valeurs expérimentales de S_0 . Cela est confirmée par le calcul du coefficient de variation qui est égal à 4%, 4,1% et 2,3% pour les réacteurs A, B et C respectivement.

3.1.2.1.3. Taux spécifique de croissance μ

Les profils d'évolution de μ expérimental pour chaque réacteur en fonction du temps sont repris à la Figure 10. Les graphiques des trois réacteurs montrent une augmentation rapide de μ jusqu'à atteindre une valeur maximale, 2h après incubation, présentée dans le Tableau 10.

Tableau 10. Valeurs observées de μ_{\max} expérimental aux temps correspondants pour les différents réacteurs batch.

Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=2000 ppm)	C ([MeOH]=3000 ppm)
μ_{\max} (h^{-1})	0,27402	0,26667	0,213
Temps (h)	2	2	2

Ces valeurs de μ ne peuvent être considérées comme étant μ_{\max} dans le cas des réacteurs B et C puisqu'on est toujours en phase d'accélération de la croissance. Un second

pic est atteint suite à une diminution progressive de μ dans le temps, avec des valeurs de μ_{\max} de 0,21277 et 0,21408 h^{-1} aux temps 8 et 10 h pour les réacteurs B et C respectivement. On remarque aussi que ces dernières valeurs sont proches, cela peut mettre en évidence une forme d'inhibition par un facteur non identifié. Cela veut dire que si l'on applique une concentration initiale en méthanol supérieure à 3000 ppm, la valeur de μ_{\max} sera de même ordre.

Le calcul de la constante de Michaelis K_m , qui rend compte de l'affinité du consortium pour le méthanol a donné les résultats suivants (Tableau 11) :

Tableau 11. Valeurs de K_m des trois réacteurs batch.

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

Plus K_m est faible plus l'affinité est grande. C'est le cas du réacteur A qui présente la valeur de K_m la plus faible. Cette inhibition est donc fonction de la concentration initiale en méthanol, elle est due soit au méthanol lui-même, soit aux métabolites produits. Cette dernière supposition est confirmée par le fait que les graphiques représentant l'évolution de μ obtenu à partir des mesures expérimentales et du modèle sigmoïde de croissance (courbe théorique) (Figures 12 et 13) montrent que le consortium continue à croître alors que le méthanol dans la phase liquide est épuisé (lorsque $S = 0$, μ n'est pas nul pour les trois réacteurs).

Les valeurs de μ_{\max} expérimental avec les temps auxquels elles sont atteintes et les concentrations en méthanol correspondantes des trois réacteurs sont reprises dans le Tableau 12.

L'équation 7 est utilisé pour calculer le μ théorique dont l'évolution en fonction du temps montre une allure hyperbolique avec une valeur maximale pour chaque réacteur qui est reportée dans le Tableau 12 avec le temps auquel elle est atteinte et la concentration en méthanol correspondante. Une diminution progressive de μ_{\max} théorique est également observée au fur et à mesure que la concentration initiale en méthanol augmente, ce qui confirme la présence d'une forme d'inhibition.

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

Tableau 12. Valeurs du taux spécifique de croissance maximum μ_{\max} expérimental et théorique aux temps et aux concentrations en méthanol correspondantes pour les différents réacteurs batch.

	Expérimentales			Théoriques		
μ_{\max} (h^{-1})	0,274	0,213	0,214	0,184	0,128	0,115
Temps (h)	2	8	11	2,542	5,932	6,102
S (ppm)	361,69	686,17	638,56	408,19	796,12	646,69
Réacteur batch	A	B	C	A	B	C

Un déphasage horaire de 0,54, 3,93 et 5,1 h est observé pour les réacteurs A, B et C respectivement.

Les valeurs de x_0 décrites précédemment (Voir section 3.1.2.1.2) coïncide avec les temps auxquels sont atteintes les valeurs de μ_{\max} expérimental pour les trois réacteurs, cela est conforme à la définition du point de « mi-croissance » qui correspond au temps où μ_{\max} est atteint. Leurs valeurs sont résumées dans le Tableau 13. Ces observations montrent que les valeurs de μ_{\max} expérimental sont valides.

Tableau 13. Valeurs de t correspondantes à μ_{\max} et de x_0 pour les différents réacteurs batch.

Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=2000 ppm)	C ([MeOH]=3000 ppm)
μ_{\max} (h^{-1})	0,27402	0,21277	0,21408
Temps (h)	2	8	11
x_0 (h)	3,33398	8,61796	11,64086

Les valeurs de μ_{\max} obtenues expérimentalement sont relativement élevées par rapport à celles qui sont rapportées dans la littérature. En effet, le taux de croissance maximum μ_{\max} d'*Amycolatopsis methanolica*, une bactérie Gram +, est de 0,11 h^{-1} (Gerrit Euverink, 1995) alors que μ_{\max} obtenue avec le consortium utilisé est en moyenne de 0,23 h^{-1} . Le rapport entre ces deux valeurs est de 2,12.

3.1.2.2. Dégradation

3.1.2.2.1. Vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{X,MET}$

Les valeurs de $(r_{X,MET})_{max}$ expérimentale et théorique des trois réacteurs et le temps auquel elles sont atteintes sont reprises dans le Tableau 14 suivant :

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

Mesures expérimentales non-lissées			
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=2000 ppm)	C ([MeOH]=3000 ppm)
$(r_{X,MET})_{max}$	0,75	0,44	0,65
Temps (h)	1	4	4
Courbe théorique de dégradation			
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=2000 ppm)	C ([MeOH]=3000 ppm)
$(r_{X,MET})_{max}$	0,44	0,26	0,35
Temps (h)	4,661	11,017	12,712

La comparaison entre les graphiques représentant l'évolution de $r_{X,MET}$ expérimentale et théorique au cours du temps de chaque réacteur batch montre qu'ils n'ont pas le même profil en fin d'expérience avec des valeurs de $(r_{X,MET})_{max}$ théorique inférieures à celles obtenues à partir des mesures expérimentales (Tableau 14).

Un déphasage horaire de 3,66 h ; de 7,01 h et de 8,71 h est observé pour les réacteurs A, B et C respectivement.

Lorsque la valeur de $(r_{X,MET})_{max}$ est atteinte, le pourcentage de consommation du méthanol est de 7,33% ; de 3,13% et de 8,12% pour les réacteurs A, B et C respectivement. On remarque aussi qu'on obtient la valeur de $(r_{X,MET})_{max}$ dès les premières heures (A : 1h, B : 4h et C : 4h) et qu'elle est atteinte avant celle de μ_{max} (Tableau 15).

Tableau 15. Valeurs de $(r_{X,MET})_{max}$ et de μ_{max} expérimentales avec les temps auxquels ils sont atteints et les concentrations en méthanol correspondantes.

Paramètres	Réacteur batch		
	A ([MeOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=2000 ppm)	C ([MeOH]=3000 ppm)
μ_{max}	0,274	0,213	0,214
Temps	2	8	11
S	361,68	686,16	638,56
$(r_{X,MET})_{max}$	0,75	0,44	0,65
Temps	1	4	4
S	551,68	954,55	1998,90
S_0	595,33	985,47	2175,74

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

La valeur moyenne obtenue de $Y_{X/MET}$ (0,387 g_{PS}/g_{MET}) est proche de la valeur de $Y_{X/MET}$ attendue (0,353 g_{PS}/g_{MET}) ainsi que de celles de certaines souches pures (Schuler et Kargi, 1992) dégradant le méthanol telles que :

Tableau 16. Valeurs du rendement de conversion du méthanol par des souches pures.

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

3.1.3. Conclusion

Une modélisation de l'évolution de la concentration en biomasse, et en méthanol au cours du temps a été réalisée. A partir de ces modèles et par traitement des données expérimentales, on a pu déterminer les paramètres cinétiques de croissance et de dégradation. Les valeurs de μ_{max} théoriques sont nettement plus faibles que les valeurs expérimentales. Cependant, elles présentent le même profil de variation que les valeurs expérimentales. Cette constatation s'applique également aux temps auxquels elles sont obtenues. En outre, les concentrations de substrat pour lesquelles les valeurs théoriques de μ_{max} sont obtenues,

présentent le même profil que les valeurs expérimentales. Globalement, le modèle de croissance utilisé ne permet pas d'aboutir à des grandeurs reflétant fidèlement les valeurs expérimentales. Cependant, il traduit de façon fiable l'allure de ces grandeurs. Les mêmes remarques s'appliquent aux valeurs de $(r_{X,MET})_{max}$ théoriques obtenues aux différentes concentrations de méthanol et les temps correspondants. Il est donc préférable, pour toutes interprétations, d'utiliser les valeurs expérimentales de μ_{max} et de $(r_{X,MET})_{max}$.

Les valeurs de μ_{max} et de $(r_{X,MET})_{max}$ expérimentaux des réacteurs batch B et C sont toujours inférieures à celles du réacteur batch A reflétant une inhibition dont le facteur reste à définir. Ce problème met en évidence les inconvénients de l'utilisation d'une culture mixte qui résident dans la difficulté de reproduire les résultats et dans l'apparition de différents problèmes dont les causes restent difficiles à déterminer (Schroeder, 1977). De plus amples investigations sur l'influence de différents facteurs tels que : la concentration initiale en méthanol, la nature des produits de dégradation et l'identité des souches microbiennes impliquées dans la dégradation du méthanol, s'avèrent nécessaires afin d'éliminer ce problème d'inhibition apparue lors de cette expérience.

3.1.4. Effet de la concentration initiale de biomasse X_0

Une première expérience a été réalisée avec une concentration initiale de biomasse X_0 égale à 0,01 g_{PS}/l alors que dans la deuxième expérience cette concentration était de 0,25 g_{PS}/l.

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

Les valeurs de la concentration finale de biomasse X_f , du taux spécifique maximum de croissance μ_{max} et du rendement de conversion du méthanol en biomasse $Y_{X/MET}$ sont reportées au Tableau 17 pour deux concentrations initiales de biomasse égales à 0,01 et 0,25 g_{PS}/l.

Tableau 17. Comparaison de certaines grandeurs de croissance et de dégradation pour deux valeurs différentes de la concentration initiale en biomasse X_0 .

Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm)		B ([MeOH]=2000 ppm)		C ([MeOH]=3000 ppm)	
X_0 (g _{PS} /l)	0,01	0,25	0,01	0,25	0,01	0,25
X_f (g _{PS} /l)	0,538	0,546	0,863	0,922	1,290	1,355
μ_{max} (h ⁻¹)	0,037	0,274	0,152	0,213	0,104	0,214
$Y_{X/MET}$ (g _{PS} /g _{MET})	0,532	0,393	0,431	0,38	0,44	0,388
Temps d'élimination totale du substrat (h)	45	5	45	12	28	13

D'après ces résultats, on peut noter une augmentation de μ_{max} quand la concentration initiale en biomasse augmente. La littérature rapporte que les expériences de cinétiques sont fortement influencées par le ratio S_0/X_0 . Il est recommandé d'utiliser de faibles ratios lorsqu'on veut déterminer les paramètres cinétiques d'une culture en batch, nécessaires à une modélisation mathématique des cinétiques de croissance et de dégradation (Kovarova-Kovar et Egli, 1998). Dans notre cas, l'expérience répondant à ce critère est la deuxième expérience avec une concentration initiale de biomasse de 0,25 g_{PS}/l. En effet, elle possède les valeurs les plus élevées de μ_{max} . L'augmentation de X_0 entraîne une diminution du rendement de conversion $Y_{X/MET}$ mais avec une réduction concomitante significative du temps nécessaire pour l'élimination totale du méthanol. Les gains sont de 40, 23 et 15 h pour les réacteurs batch A, B et C respectivement.

3.2. Influence de la présence d'éthanol sur la dégradation du méthanol

3.2.1. Présentation des résultats

Les résultats présentés dans ce rapport concernent l'expérience de dégradation du méthanol en présence d'éthanol. L'impact de ce paramètre sur la croissance microbienne et la dégradation du méthanol sera brièvement discuté à la fin de la section 3.2 en confrontant les résultats obtenus avec ceux de l'expérience menée en présence du méthanol seul (voir section 3.1.)

3.2.1.1. Traitement des résultats

3.2.1.1.1. Introduction

Les différentes concentrations appliquées de méthanol et d'éthanol sont choisies de façon à éviter la limitation par l'oxygène avec un volume de la phase liquide de 90 ml. Les réacteurs batch dans lesquels différentes concentrations de méthanol et d'éthanol ont été injectées sont nommés comme suit :

Dénomination des réacteurs batch	A	B	C
Concentration appliquée de méthanol (ppm)	1000	500	1000
Concentration appliquée d'éthanol (ppm)	1000	1000	500

Un réacteur témoin est également réalisé. Il s'agit d'un réacteur batch non inoculé et préparé dans les mêmes conditions que les réacteurs cités précédemment avec des concentrations de méthanol et d'éthanol égales à 1000 ppm (w/v). Aucune dégradation abiotique du méthanol et de l'éthanol n'a lieu.

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

3.2.1.1.2. Modélisation de la croissance

Les résultats de l'évolution de la concentration en biomasse X des différents réacteurs sont représentés sous forme graphique dans les Figures 18 et 21.

Afin d'essayer de modéliser la croissance, on peut appliquer un modèle dont l'équation générale est représentée par l'équation 4 reprise dans la section 3.1.1.2.2.

Les paramètres de l'équation 4 sont ajustés par rapport aux mesures expérimentales par une méthode itérative. Les séries de paramètres obtenus pour chaque réacteur sont reprises au Tableau 18.

Tableau 18. Valeurs des paramètres du modèle de l'équation 4 obtenues après son ajustement paramétrique sur celle de la courbe expérimentale de croissance.

Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)			
Paramètres	P_1	P_2	P_3	P_4
Valeurs	1,457	4,36	0,937	1,688

Réacteur batch	B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)			
Paramètres	P_1	P_2	P_3	P_4
Valeurs	1,345	2,417	0,612	1,433

Réacteur batch	C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)			
Paramètres	P_1	P_2	P_3	P_4
Valeurs	0,974	6,112	1,658	1,223

Le tracé des courbes théoriques obtenues par ajustement paramétrique du modèle choisi (Equation 4) sur les données expérimentales met en évidence l'allure sigmoïdale de l'évolution de la croissance (Figures 18 et 21).

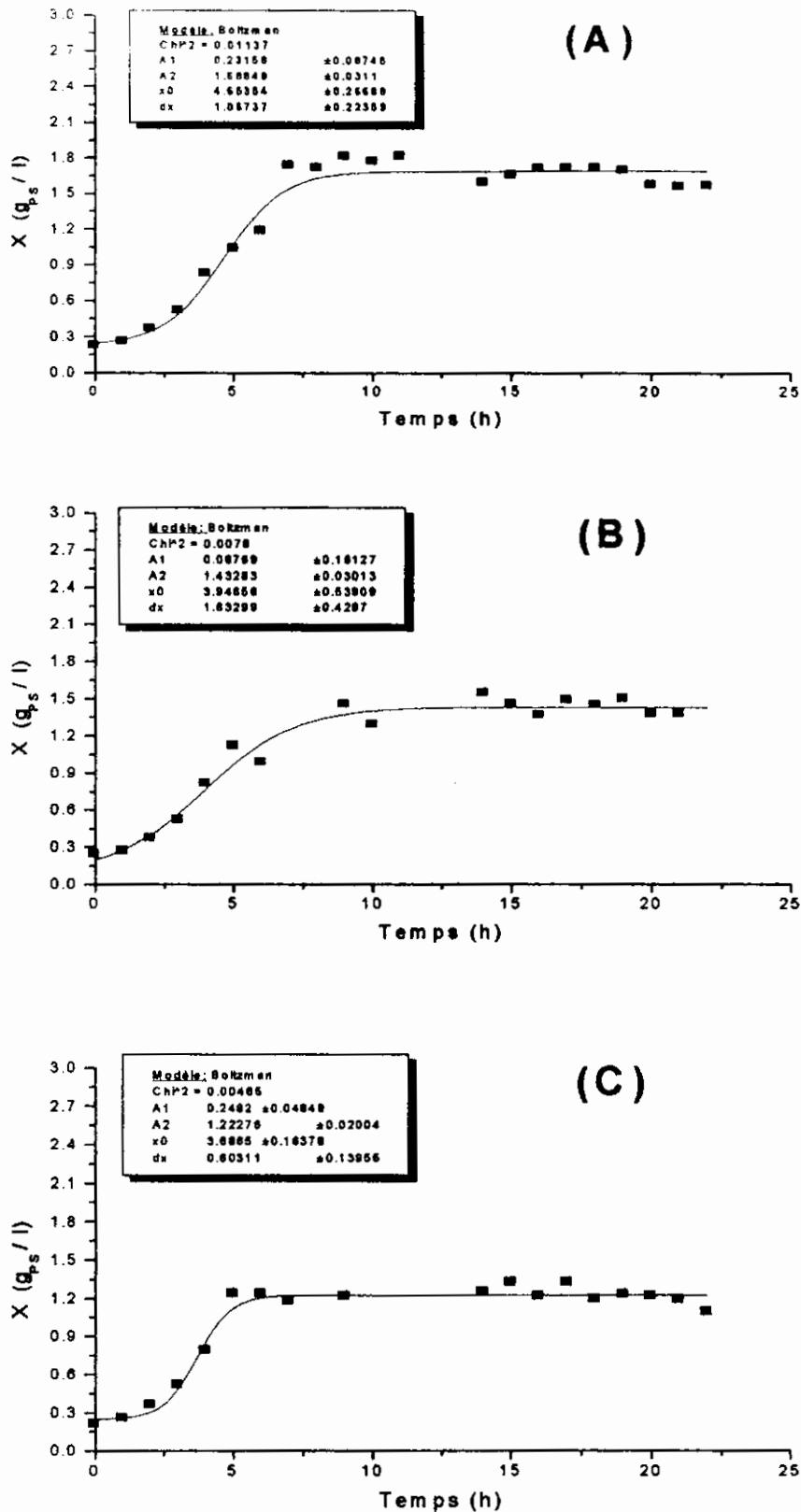


Figure 18. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{ps}/l) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

3.2.1.1.3. Modélisation de la consommation du méthanol et de l'éthanol

Les résultats de l'évolution de la concentration en méthanol ou en éthanol des différents réacteurs sont représentés sous forme graphique dans les Figures 19, 20 et 21.

L'évolution de la concentration en méthanol ou en éthanol est de type logarithmique. On peut donc essayer d'utiliser un modèle de consommation du substrat de type logarithmique. Un tel modèle est décrit par l'équation 5 (Voir section 3.1.1.2.3.).

Afin d'ajuster ce modèle à nos données expérimentales, on utilisera la forme générale de l'équation 5 , à savoir l'équation 6 (Voir section 3.1.1.2.3.).

Les valeurs des paramètres p_1 , p_2 et p_3 de chaque réacteur liées à la consommation du méthanol sont reprises dans le Tableau 19 suivant :

Tableau 19. Valeurs des paramètres de l'équation 6 obtenues après son ajustement paramétrique sur celle de la courbe expérimentale de dégradation du méthanol.

Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		
Paramètres	p_1	p_2	p_3
Valeurs	576,915	238,868	0,130

Réacteur batch	B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		
Paramètres	p_1	p_2	p_3
Valeurs	379,337	102,26	0,251

Réacteur batch	C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)		
Paramètres	p_1	p_2	p_3
Valeurs	583,824	40,447	0,436

On remarque que p_1 correspond à la concentration initiale en méthanol et que p_3 possède la valeur la plus faible lorsque les concentrations initiales en éthanol et en méthanol sont égales à 1000 ppm (réacteur A), contrairement au réacteur C où la valeur de p_3 est la plus élevée avec une concentration initiale en éthanol de 500 ppm et une concentration initiale en méthanol de 1000 ppm. On remarque aussi que p_2 n'est pas constant alors que les différents réacteurs sont inoculés avec la même quantité de biomasse. La consommation du méthanol n'est donc pas exactement décrite par le modèle proposé (Equation 5), néanmoins, il définit correctement l'allure logarithmique de la consommation du méthanol .

Les valeurs des paramètres p_1 , p_2 et p_3 de chaque réacteur liées à la consommation de l'éthanol sont reprises dans le Tableau 20 suivant :

Tableau 20. Valeurs des paramètres de l'équation 6 obtenues après son ajustement paramétrique sur celle de la courbe expérimentale de dégradation de l'éthanol.

Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		
Paramètres	p_1	p_2	p_3
Valeurs	763,659	575,013	0,14

Réacteur batch	B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		
Paramètres	p_1	p_2	p_3
Valeurs	883,016	777,257	0,129

Réacteur batch	C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)		
Paramètres	p_1	p_2	p_3
Valeurs	394,738	43,84	0,46

On remarque que p_1 correspond à la concentration initiale en éthanol et que p_3 possède la valeur plus élevée lorsque la concentration initiale en éthanol est de 500 ppm et la concentration initiale en méthanol est de 1000 ppm. On remarque aussi que p_2 n'est pas constant alors que les différents réacteurs sont inoculés avec la même quantité de biomasse. La consommation de l'éthanol n'est pas donc exactement décrite par le modèle proposé (Equation 5), néanmoins, il définit correctement l'allure logarithmique de la consommation de l'éthanol.

3.2.1.1.4. Taux de croissance spécifique μ

Dans notre cas, le taux de croissance spécifique défini par l'équation 7 (Voir section 3.1.1.2.4.) n'aura plus la signification d'un taux de multiplication d'une souche pure mais bien d'un taux d'augmentation global de la biomasse totale.

L'adaptation des microorganismes au méthanol et à l'éthanol permet une sélection naturelle qui peut aboutir à une souche dominante ou unique. Dès lors, le taux spécifique de croissance se détermine en portant le logarithme népérien de la concentration en biomasse

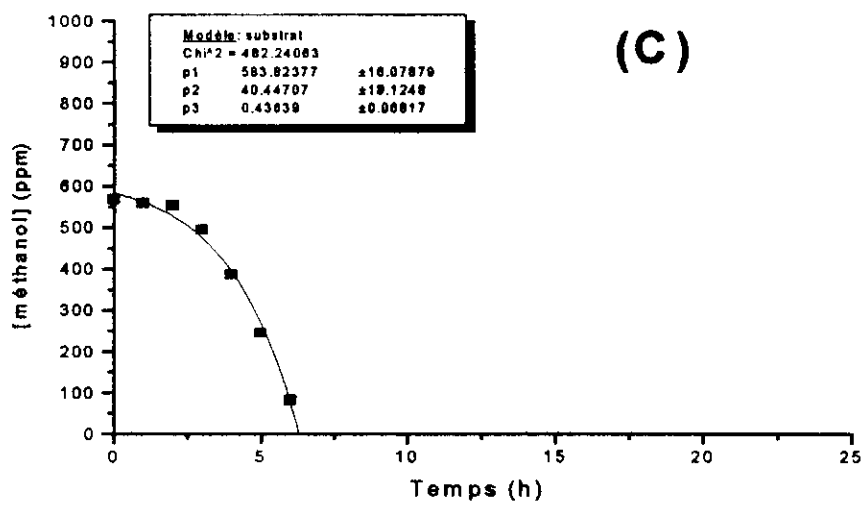
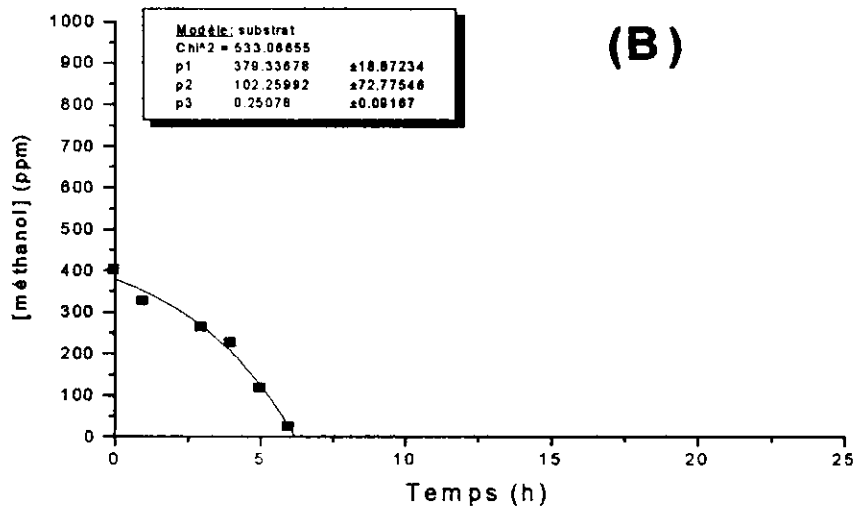
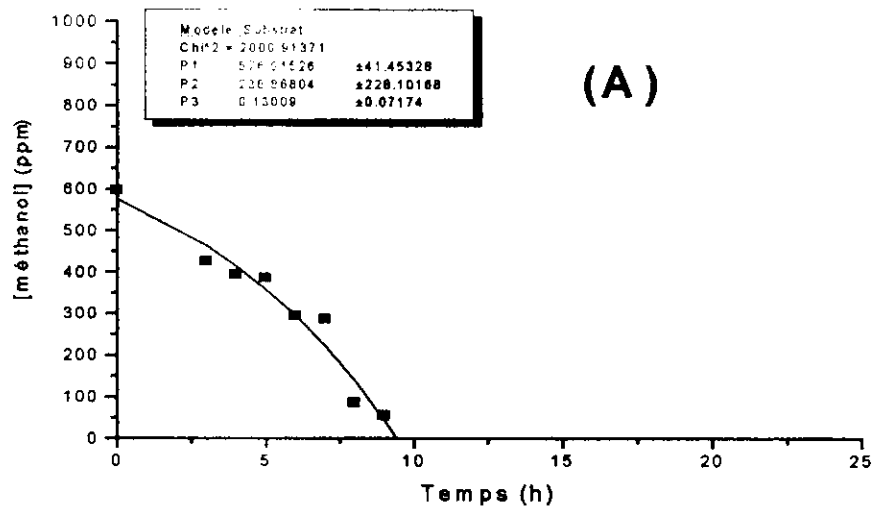


Figure 19. Evolution de la concentration en méthanol résiduel (ppm) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

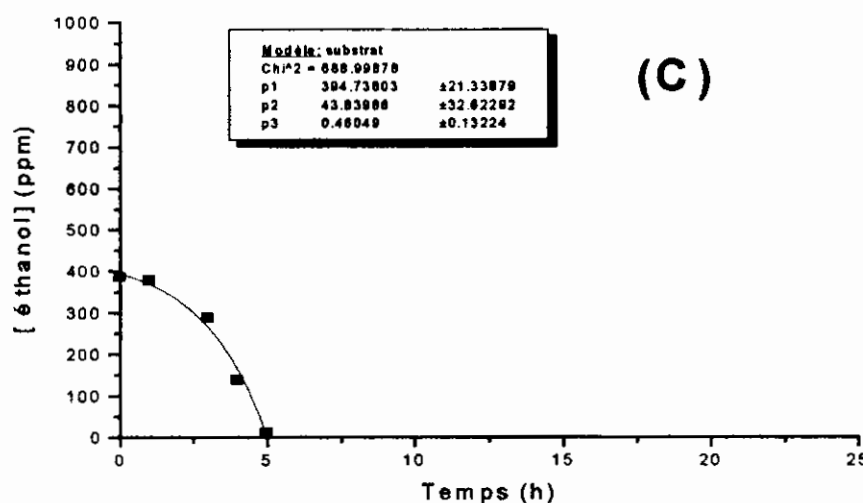
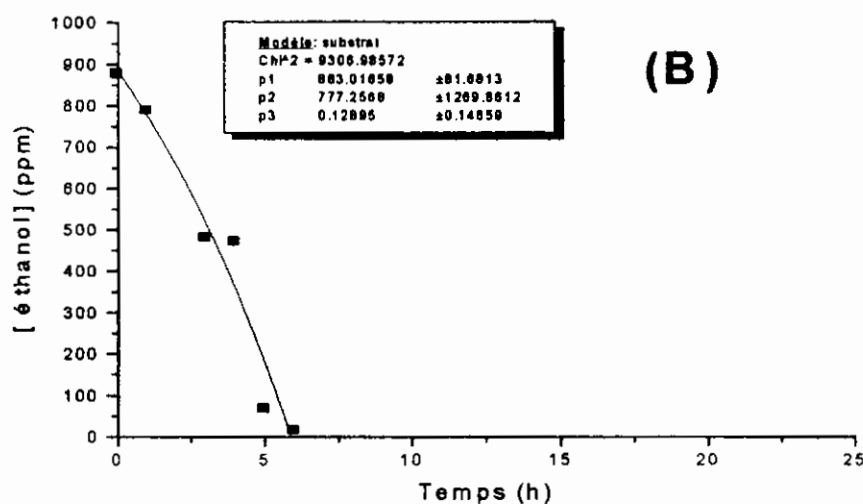
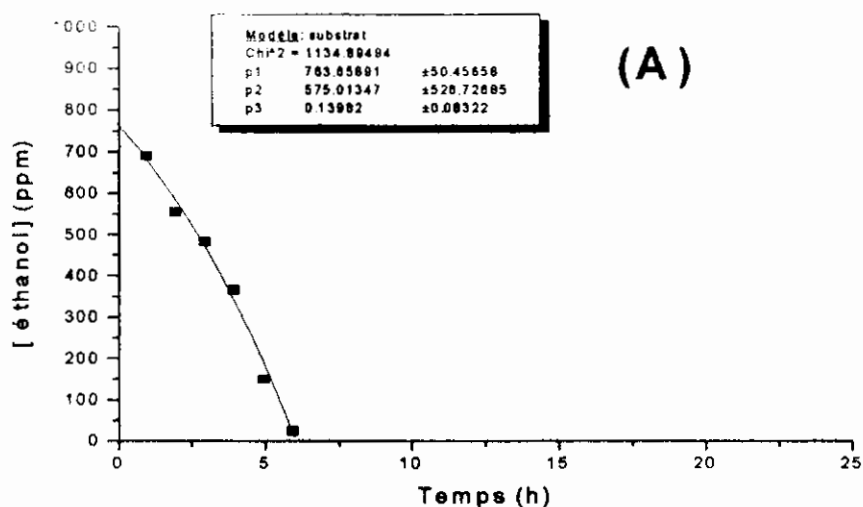


Figure 20. Evolution de la concentration en éthanol résiduel (ppm) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

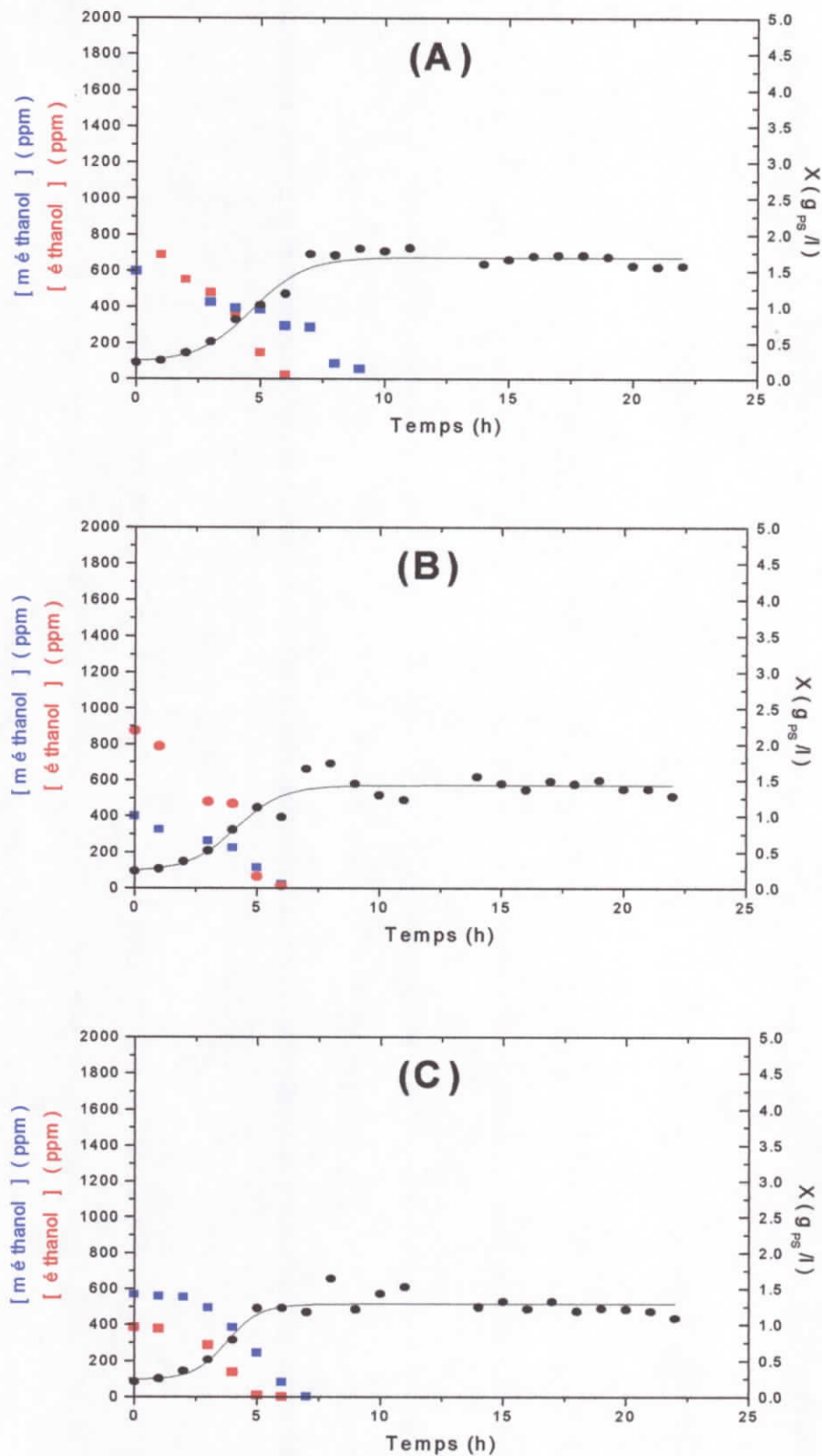


Figure 21. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{ps}/l) et de la concentration en méthanol résiduel (ppm) et en éthanol résiduel (ppm) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

mesurée expérimentalement en fonction du temps. Cette relation peut être exprimée par l'équation 10 (Voir section 3.1.1.2.4.). Une partie linéaire est définie sur une période de croissance appréciable, sa représentation par une droite permet d'estimer le taux spécifique de croissance maximum μ_{\max} qui représente la pente de la droite obtenue. Les résultats sont représentés par la Figure 22.

Afin de donner une valeur réelle du taux spécifique de croissance μ , on l'a estimé en chaque temps expérimental, à partir des mesures expérimentales non-lissées, par la formule représentée par l'équation 11 (Voir section 3.1.1.2.4.). Les résultats pour les différents réacteurs sont repris à la Figure 23. Ces graphiques montrent une évolution particulière de μ au cours de la croissance. Pour chaque réacteur, le μ en chaque temps de la courbe théorique est calculé (Figure 24). Les taux spécifiques de croissance maximum μ_{\max} des trois réacteurs, calculés par les quatre méthodes décrites par les équations 6, 7, 10 et 11, ainsi que les temps auxquels ils sont atteints, sont rassemblés dans le Tableau 21.

Tableau 21. Valeurs du taux spécifique de croissance maximum μ_{\max} déterminées par quatre méthodes décrites par les équations 6, 7, 10 et 11.

Valeurs expérimentales			
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)
μ_{\max} (h ⁻¹)	0,594	0,567	0,562
Temps (h)	3	3	4
Courbe théorique de croissance			
Réacteur batch	A	B	C
μ_{\max} (h ⁻¹)	0,427	0,369	0,606
Temps (h)	3,729	1,491	2,983
Equation de consommation du méthanol			
Réacteur batch	A	B	C
μ_{\max} (h ⁻¹)	0,130	0,251	0,436
Equation de consommation de l'éthanol			
Réacteur batch	A	B	C
μ_{\max} (h ⁻¹)	0,14	0,129	0,460
Partie linéaire de la phase exponentielle			
Réacteur batch	A	B	C
μ_{\max} (h ⁻¹)	0,362	0,367	0,396

Les profils d'évolution du taux spécifique de croissance μ , sans et avec lissage des mesures expérimentales en fonction de la concentration en méthanol résiduel en phase liquide sont présentés aux Figures 25 et 27.

Les profils d'évolution du taux spécifique de croissance μ , sans et avec lissage des mesures expérimentales en fonction de la concentration en éthanol résiduel en phase liquide sont présentés aux Figures 26 et 28.

3.2.1.1.5. Vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{X,MET}$ et de l'éthanol $r_{X,ET}$

On entend par vitesse spécifique de la consommation du méthanol ($r_{X,MET}$) ou d'éthanol ($r_{X,ET}$), la quantité de méthanol ou d'éthanol consommée exprimée en g par g de poids sec de biomasse et par heure (h).

$r_{X,MET}$ peut être calculée directement à partir des données expérimentales non lissées par la formule décrite par l'équation 13 (Voir section 3.1.1.2.4.).

$r_{X,ET}$ peut aussi être calculée directement à partir des données expérimentales non lissées grâce à l'équation 16:

$$(r_{X,ET})_n = -(1/X_n) \cdot ((S_{n+1} - S_n) / (t_{n+1} - t_n)) \quad (16)$$

Avec :

n : Numéro d'ordre de la mesure de la concentration en éthanol .

$(r_{X,ET})_n$: Vitesse spécifique de consommation du éthanol au temps t_n ($g_{ET}/g_{PS}.h$).

X_n : Concentration en biomasse au temps t_n (g_{PS}/l).

S_n : Concentration en éthanol résiduel en phase liquide au temps t_n (g_{ET}).

S_{n+1} : Concentration en éthanol résiduel en phase liquide au temps t_{n+1} (g_{ET}).

t_n : Temps lors de la $n^{ième}$ mesure de la concentration en éthanol résiduel (h).

t_{n+1} : Temps lors de la $(n^{ième}+1)$ mesure de la concentration en éthanol résiduel (h).

Les profils des vitesses spécifiques $r_{X,MET}$ et $r_{X,ET}$ en fonction du temps sont représentés par les Figures 29 et 30.

En dérivant la courbe théorique obtenue par l'ajustement paramétrique du modèle de consommation du méthanol aux mesures expérimentales on obtient la vitesse de consommation volumique r_{MET} , qui est ensuite divisée par X au temps correspondant et on obtient la vitesse spécifique de consommation du méthanol ($r_{X,MET}$) théorique (Figure 31).

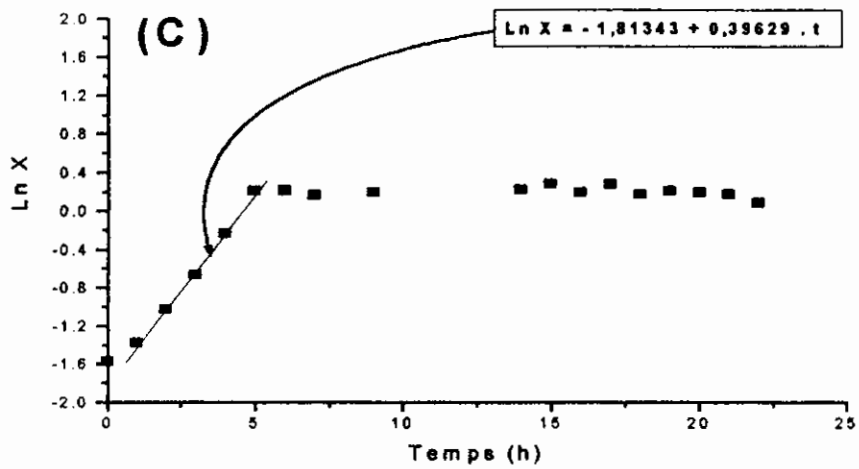
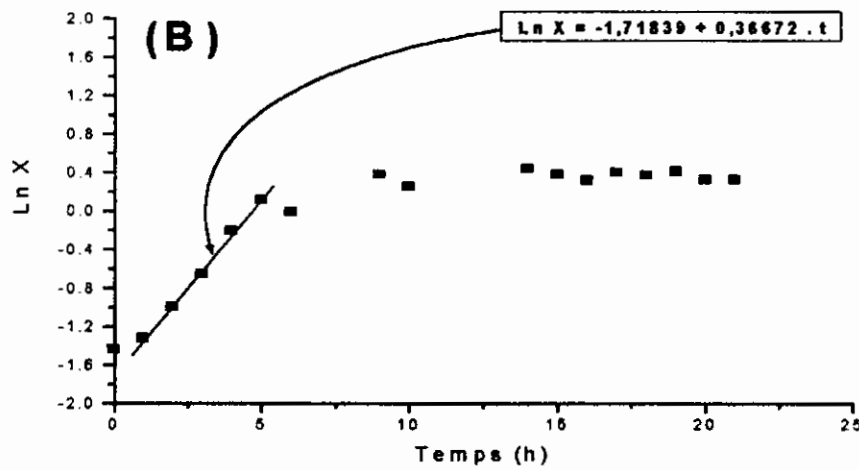
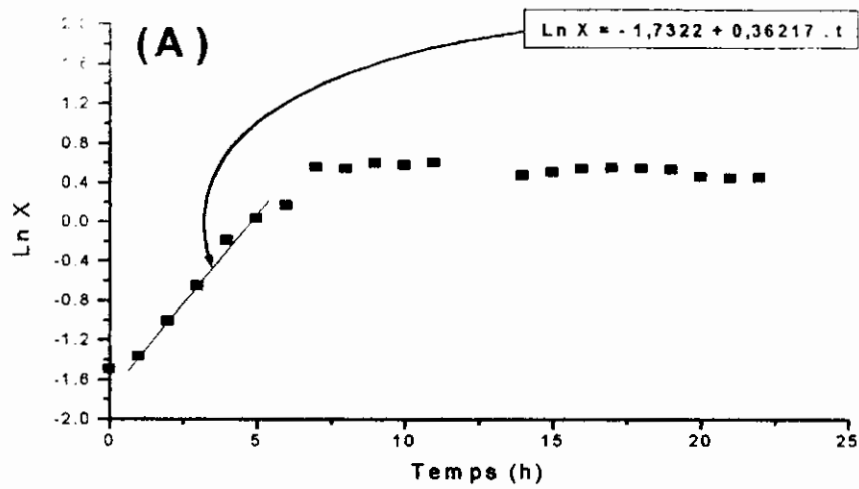


Figure 22. Partie linéaire de l'évolution du logarithme népérien de la concentration en biomasse Ln X en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

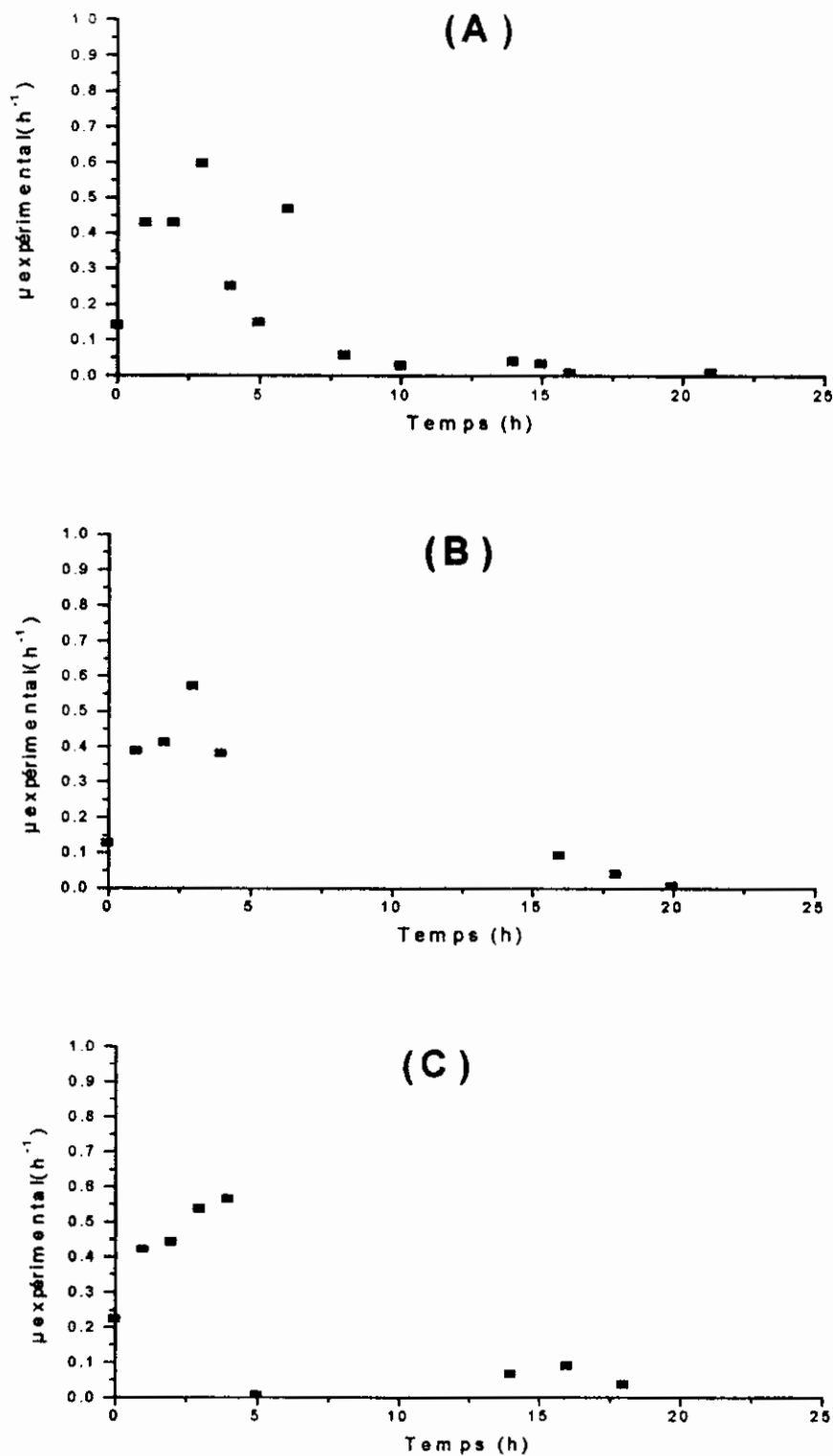


Figure 23. Evolution du taux spécifique de croissance expérimental $\mu_{n+1} (\text{h}^{-1})$ en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

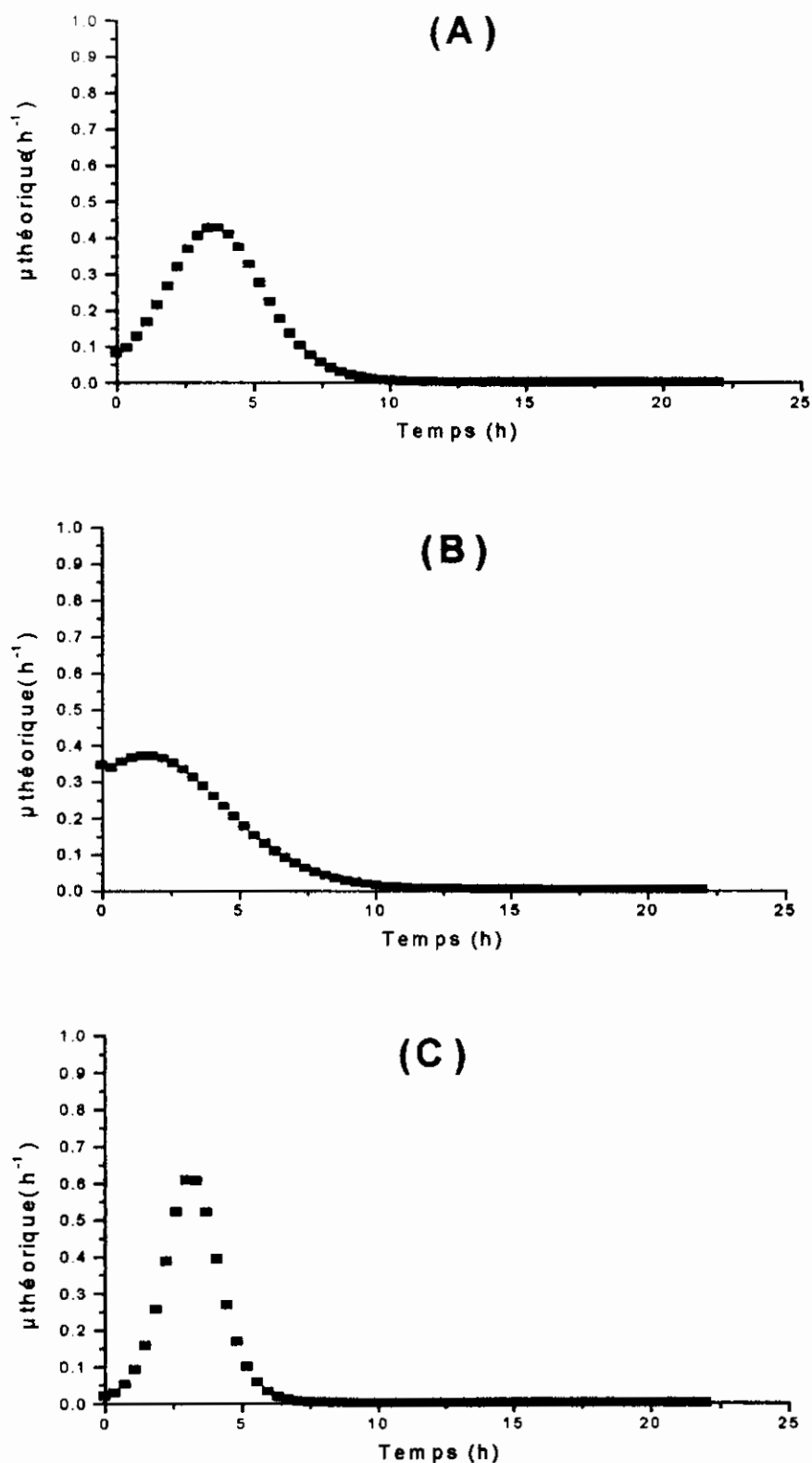


Figure 24. Evolution du taux spécifique de croissance théorique μ en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

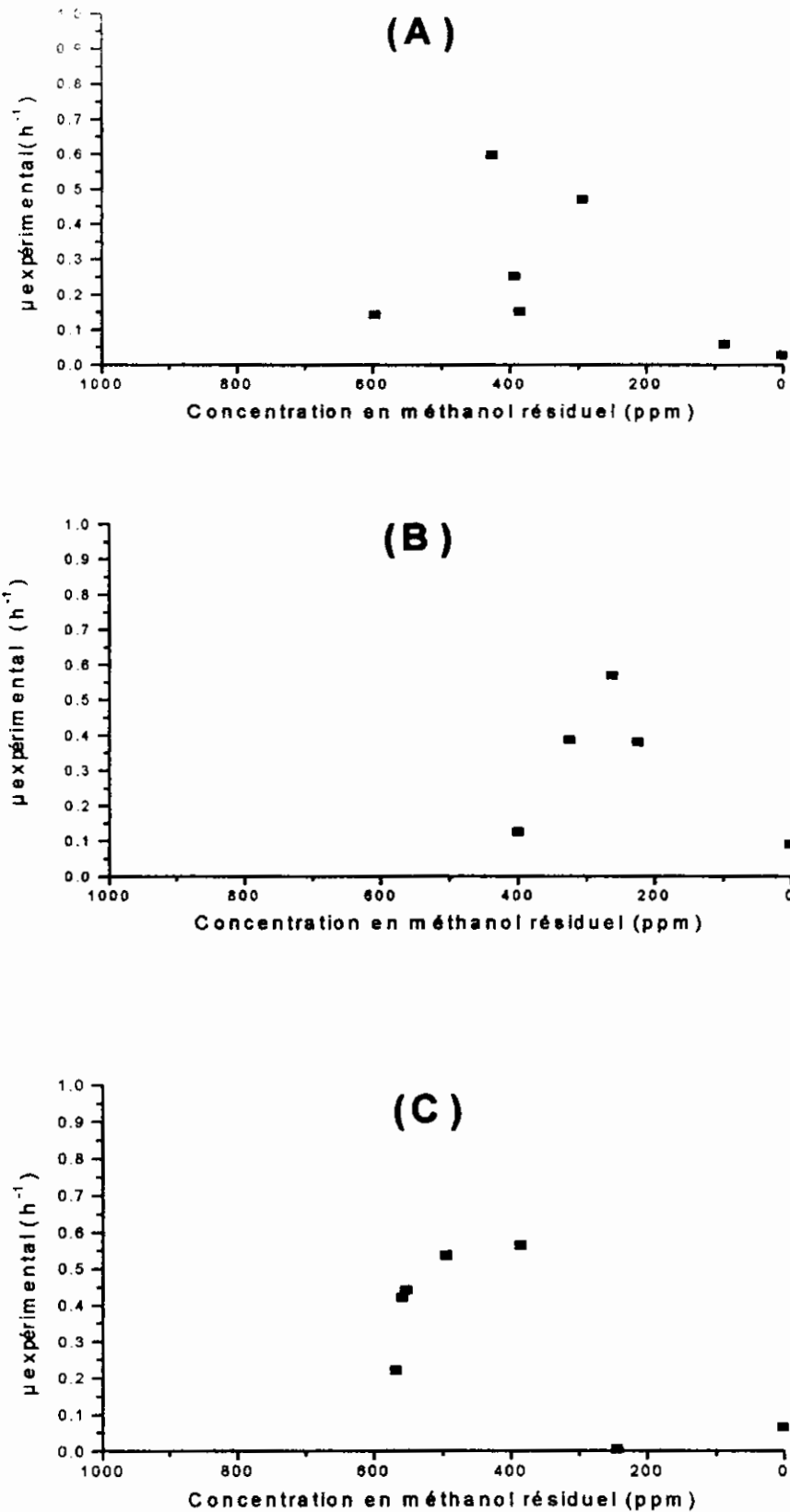


Figure 25. Evolution du taux spécifique de croissance expérimental μ_{n+1} (h⁻¹) en fonction de la concentration en méthanol résiduel (ppm) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

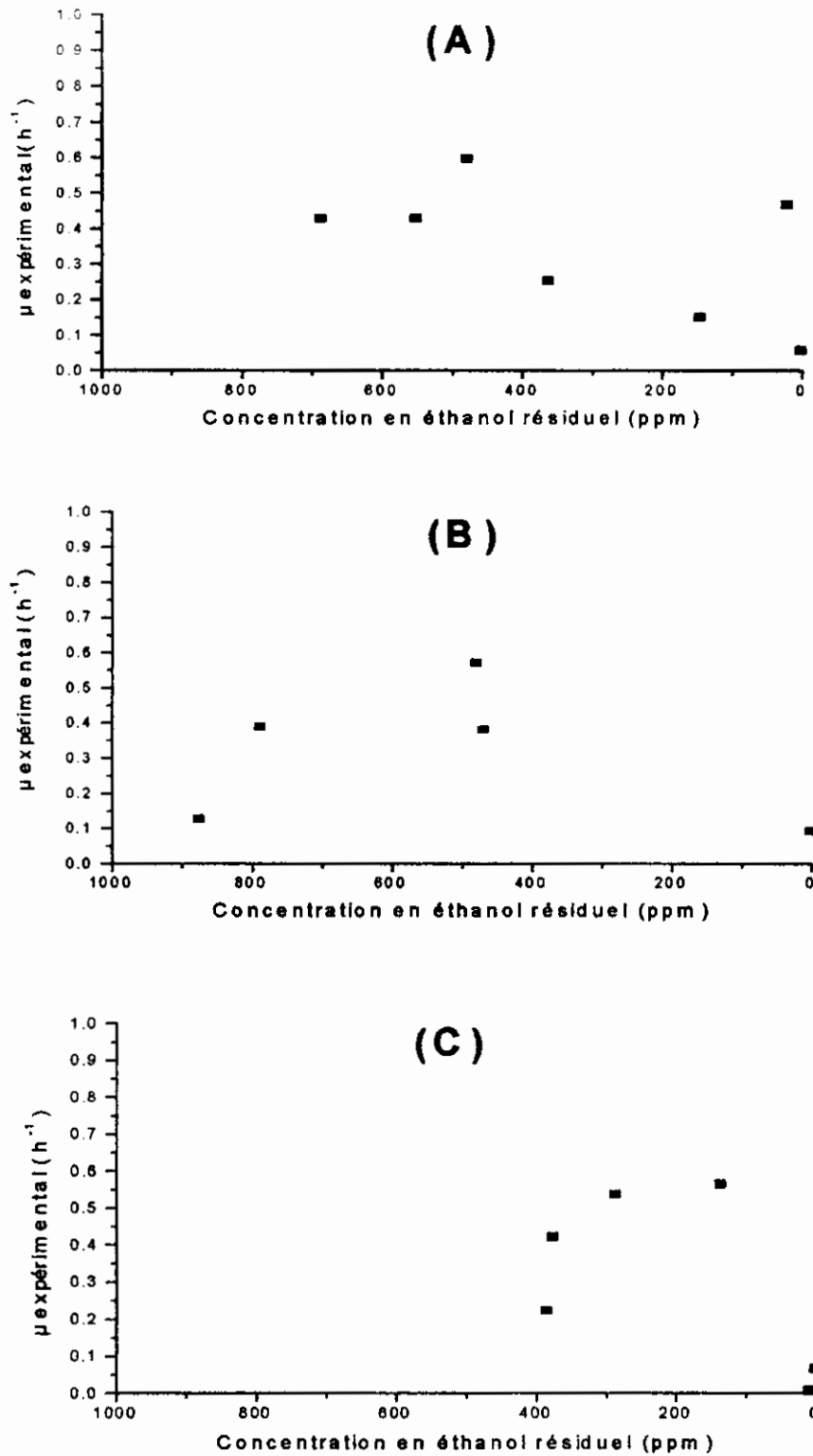


Figure 26. Evolution du taux spécifique de croissance expérimental $\mu_{n+1} (h^{-1})$ en fonction de la concentration en éthanol résiduel (ppm) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

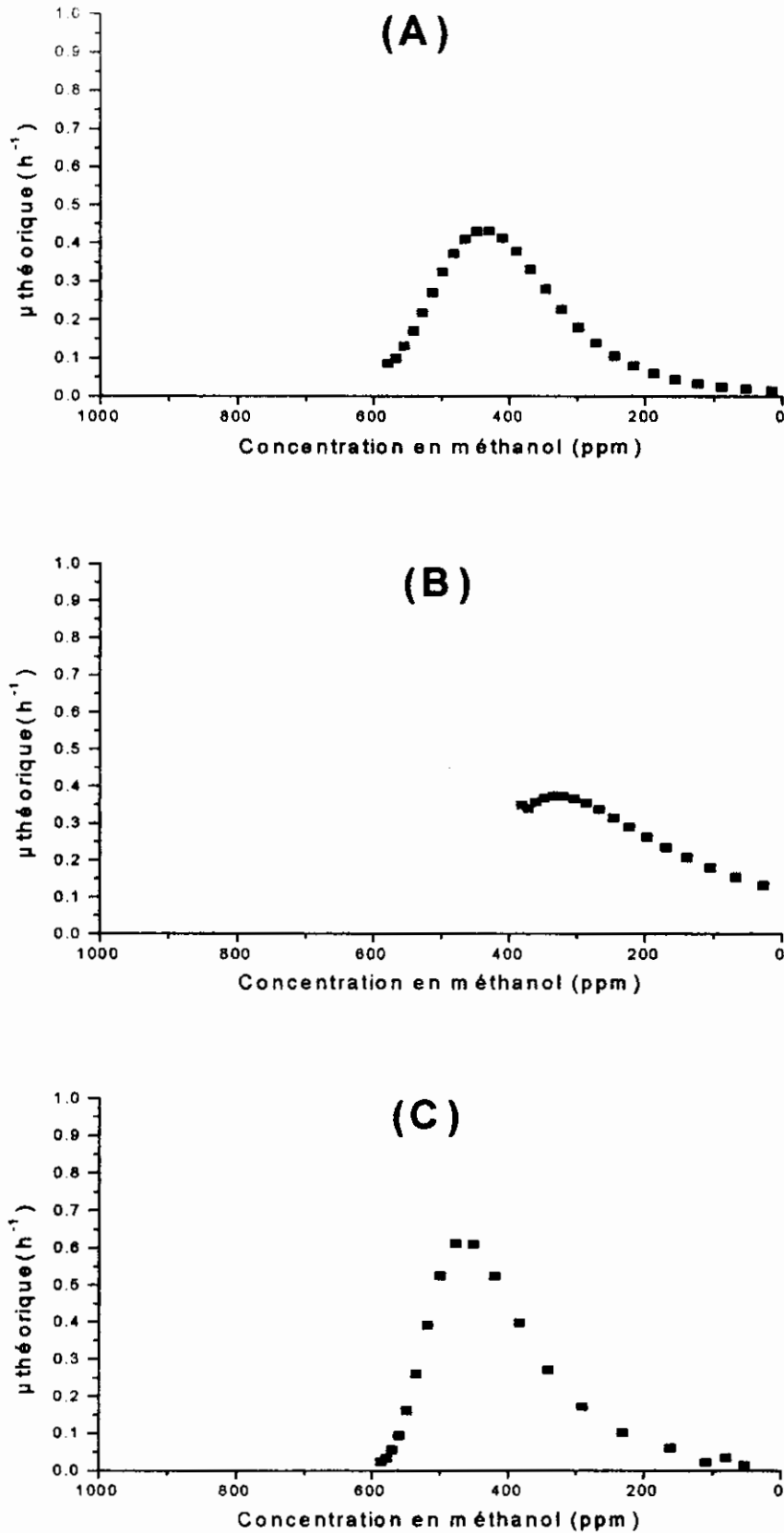


Figure 27. Évolution du taux spécifique de croissance théorique μ en fonction de la concentration en méthanol (ppm) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

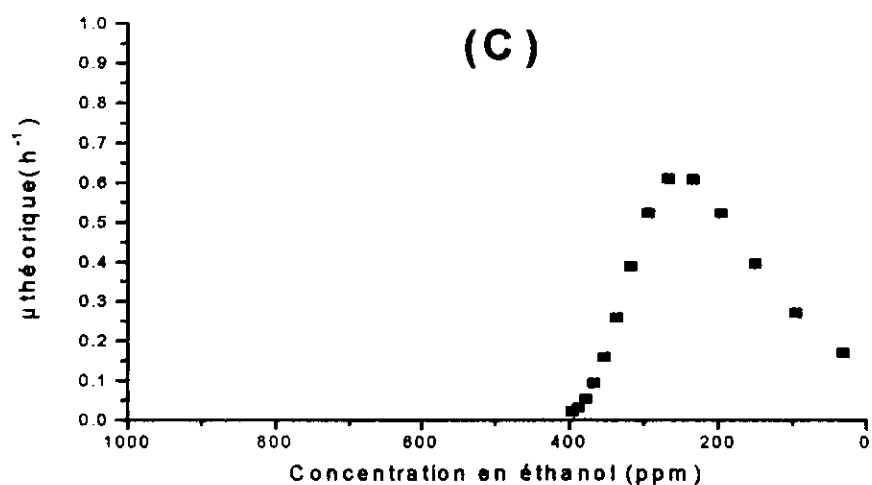
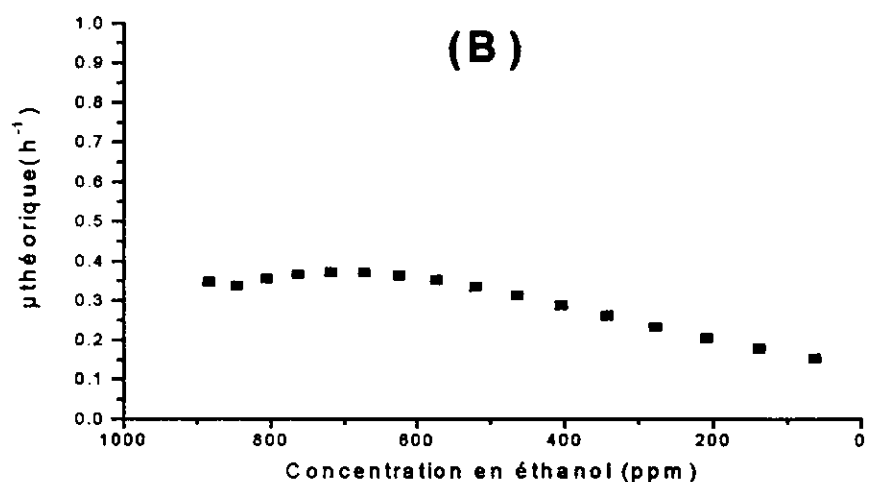
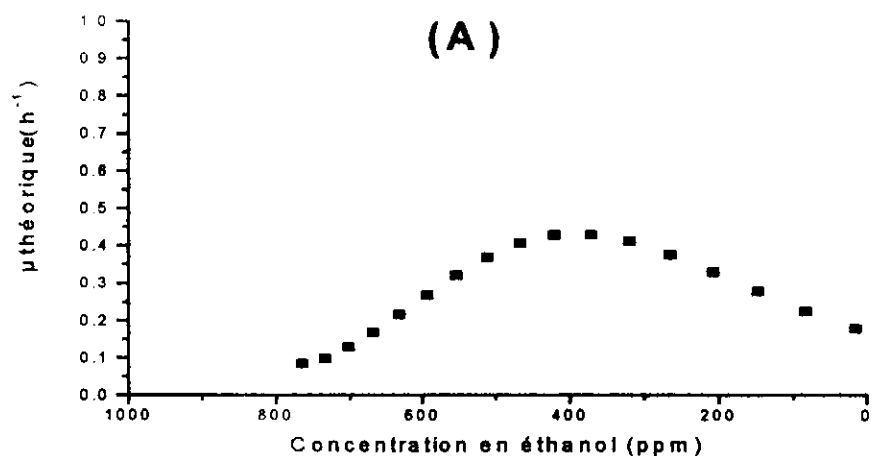


Figure 28. Evolution du taux spécifique de croissance théorique μ (h^{-1}) en fonction de la concentration en éthanol (ppm) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

En dérivant la courbe théorique obtenue par l'ajustement paramétrique du modèle de consommation de l'éthanol aux mesures expérimentales on obtient la vitesse de consommation volumique r_{ET} (Equation 17) :

$$r_{ET} = - dS/dt \quad (17)$$

r_{ET} est ensuite divisée par X au temps correspondant et on obtient la vitesse spécifique de consommation de l'éthanol ($r_{X,ET}$) théorique représentée par l'équation 18 (Figure 32) :

$$r_{X,ET} = - (1/X).(dS/dt) \quad (18)$$

Les profils de ($r_{X,MET}$) expérimentale en fonction de la concentration en méthanol résiduel sont représentés par la Figure 33 et les profils de ($r_{X,ET}$) expérimentale en fonction de la concentration en éthanol résiduel sont représentés par la Figure 34 .

3.2.1.1.6. Rendement de conversion du substrat en biomasse $Y_{X/S}$

On peut calculer ce rendement à partir des graphiques de la Figure 18 reprenant l'évolution de la concentration en biomasse au cours du temps. Les résultats pour les différents réacteurs batch sont repris au Tableau 22.

Tableau 22. Valeurs du rendement de conversion des substrats en biomasse par le consortium bactérien dans les différents réacteurs batch.

	Réacteur batch			Unités
	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)	
ΔX	1,433	1,205	1,022	g _{PS} /l
ΔS	2	1,5	1,5	g _S /l
$Y_{X/S}$	0,7165	0,803	0,681	g _{PS} / g _S

Le rendement le plus élevé est obtenu lorsque la concentration en éthanol est la plus élevée (réacteur B)..

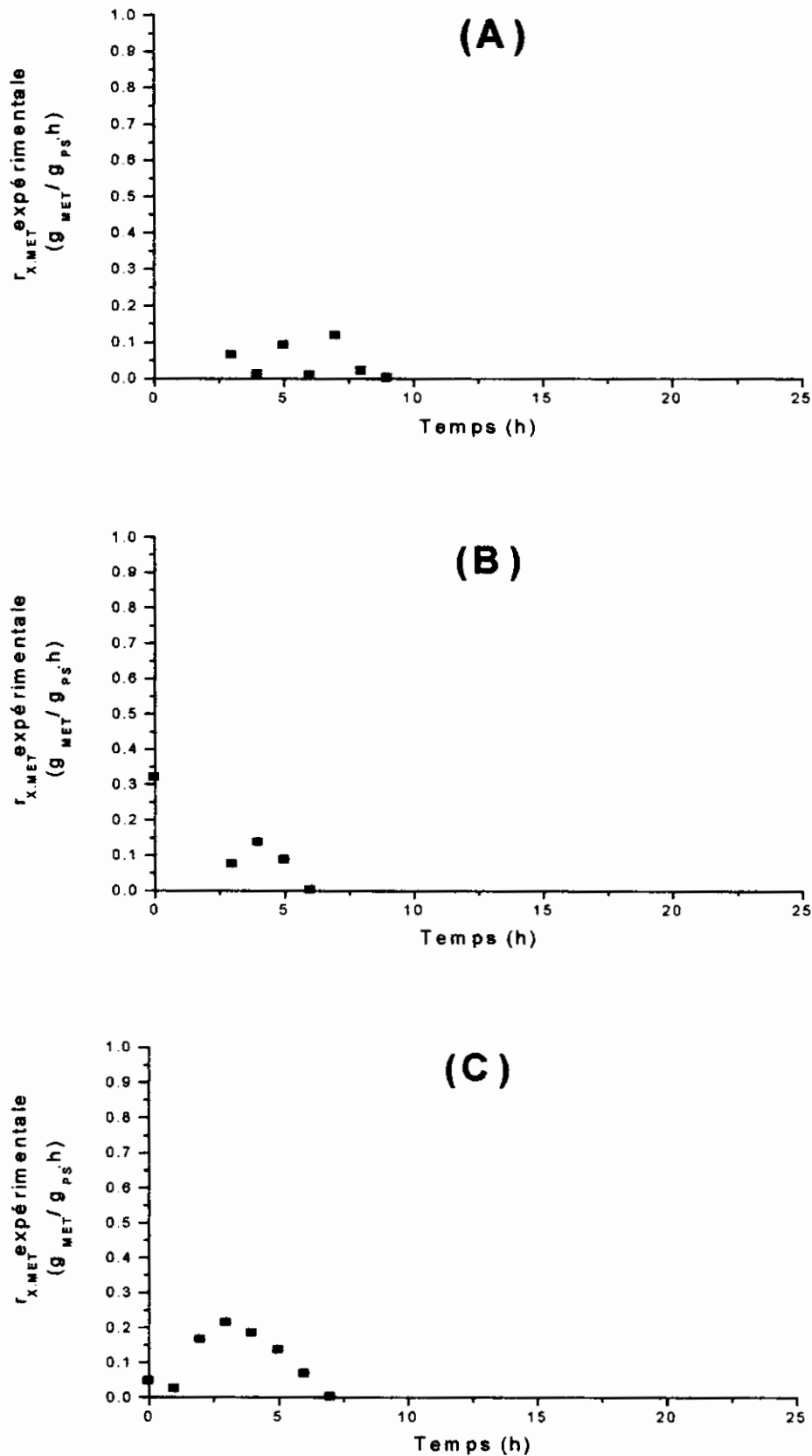


Figure 29. Evolution de la vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{X.MET}^{(n+1)}$ expérimentale (g_{MET} / g_{PS} . h) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

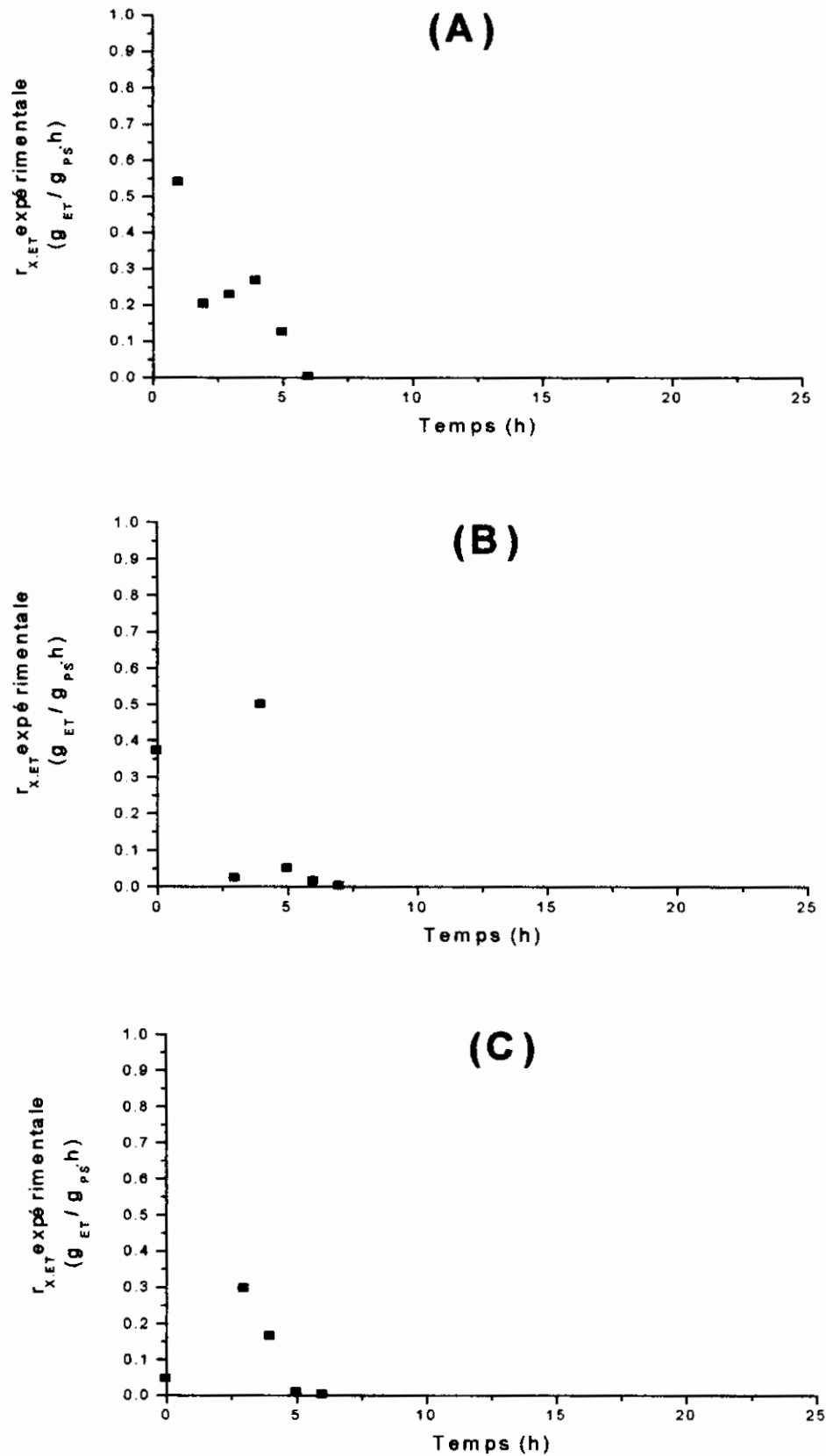


Figure 30. Evolution de la vitesse spécifique de consommation de l'éthanol $r_{X,ET}^{(n+1)}$ expérimentale ($g_{ET} / g_{PS}.h$) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

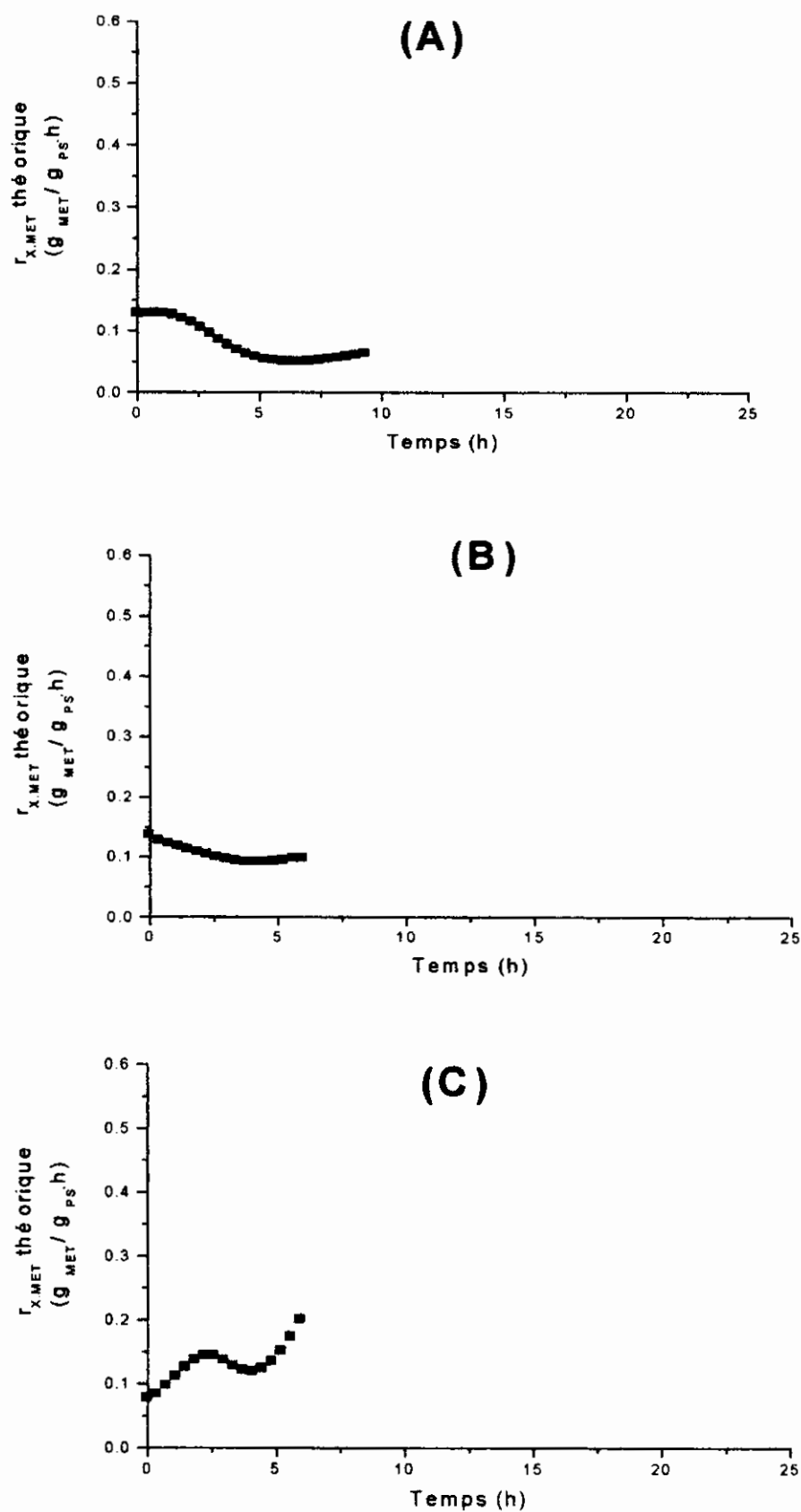


Figure 31. Evolution de la vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{X,MET}$ théorique ($g_{MET} / g_{PS}.h$) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

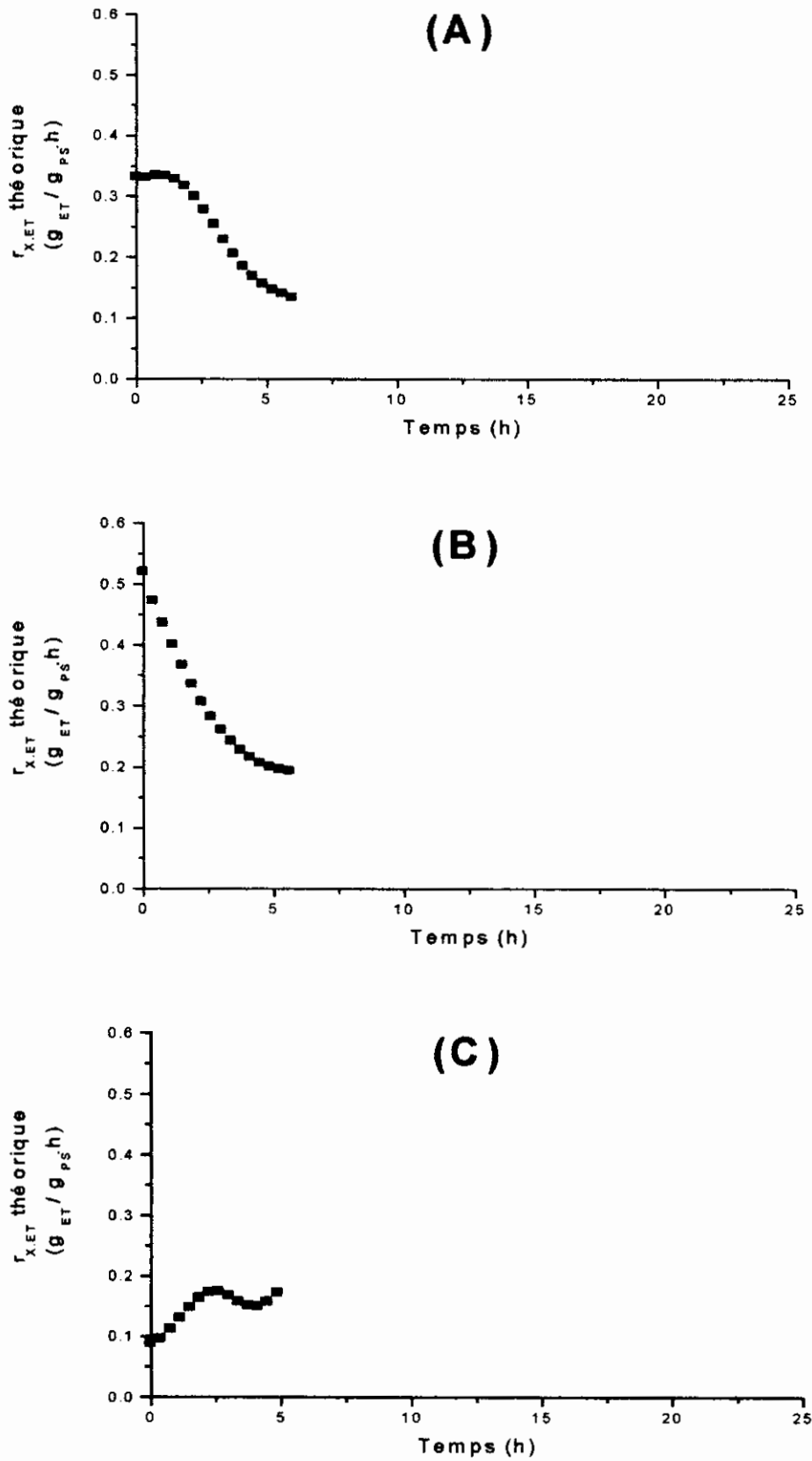


Figure 32. Evolution de la vitesse spécifique de consommation de l'éthanol $r_{X,ET}$ théorique (g_{ET} / g_{PS}.h) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

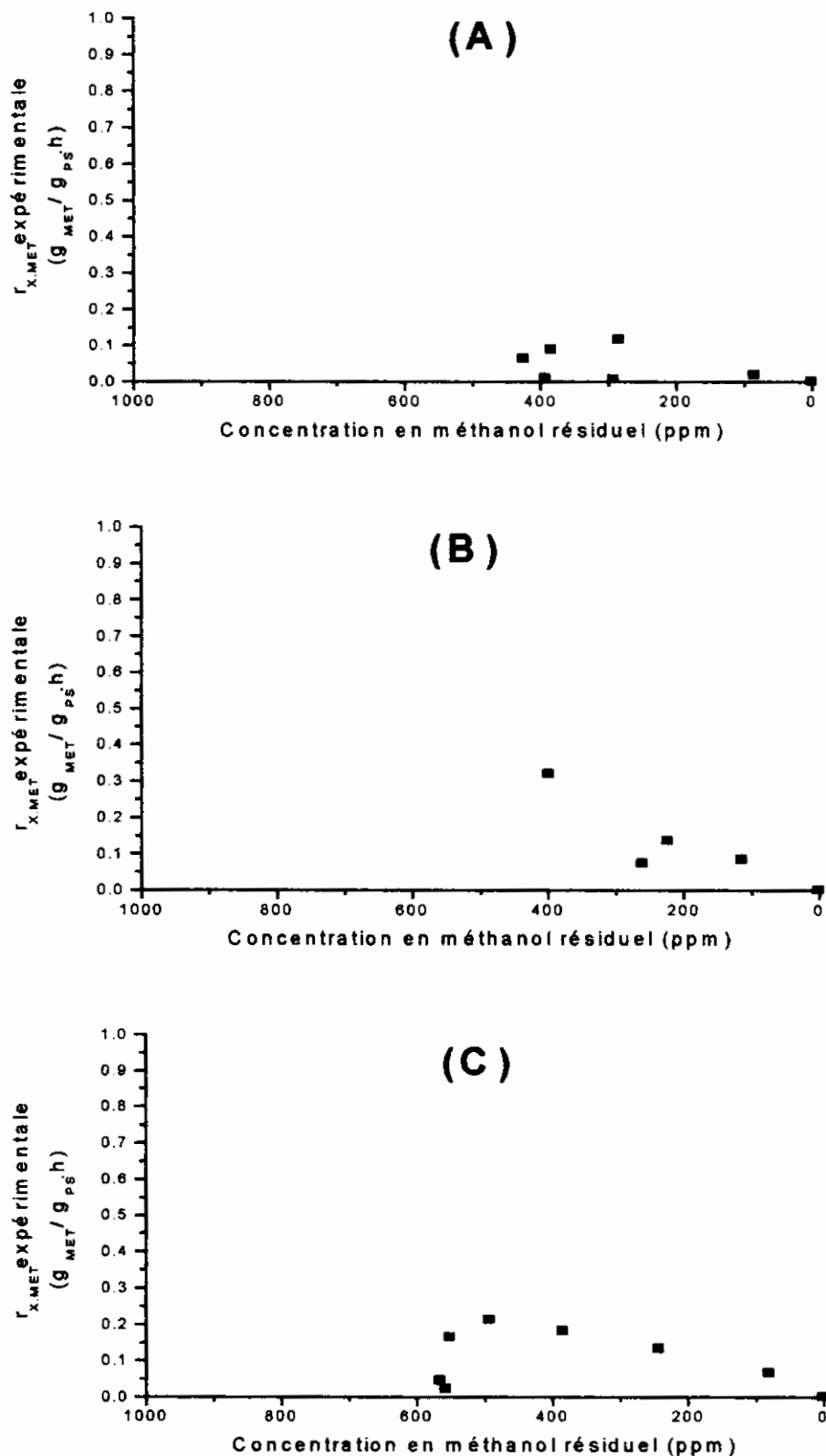


Figure 33. Evolution de la vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{X,MET}^{(n+1)}$ expérimentale ($\text{g}_{MET} / \text{g}_{PS} \cdot \text{h}$) en fonction de la concentration en méthanol résiduel (ppm) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol

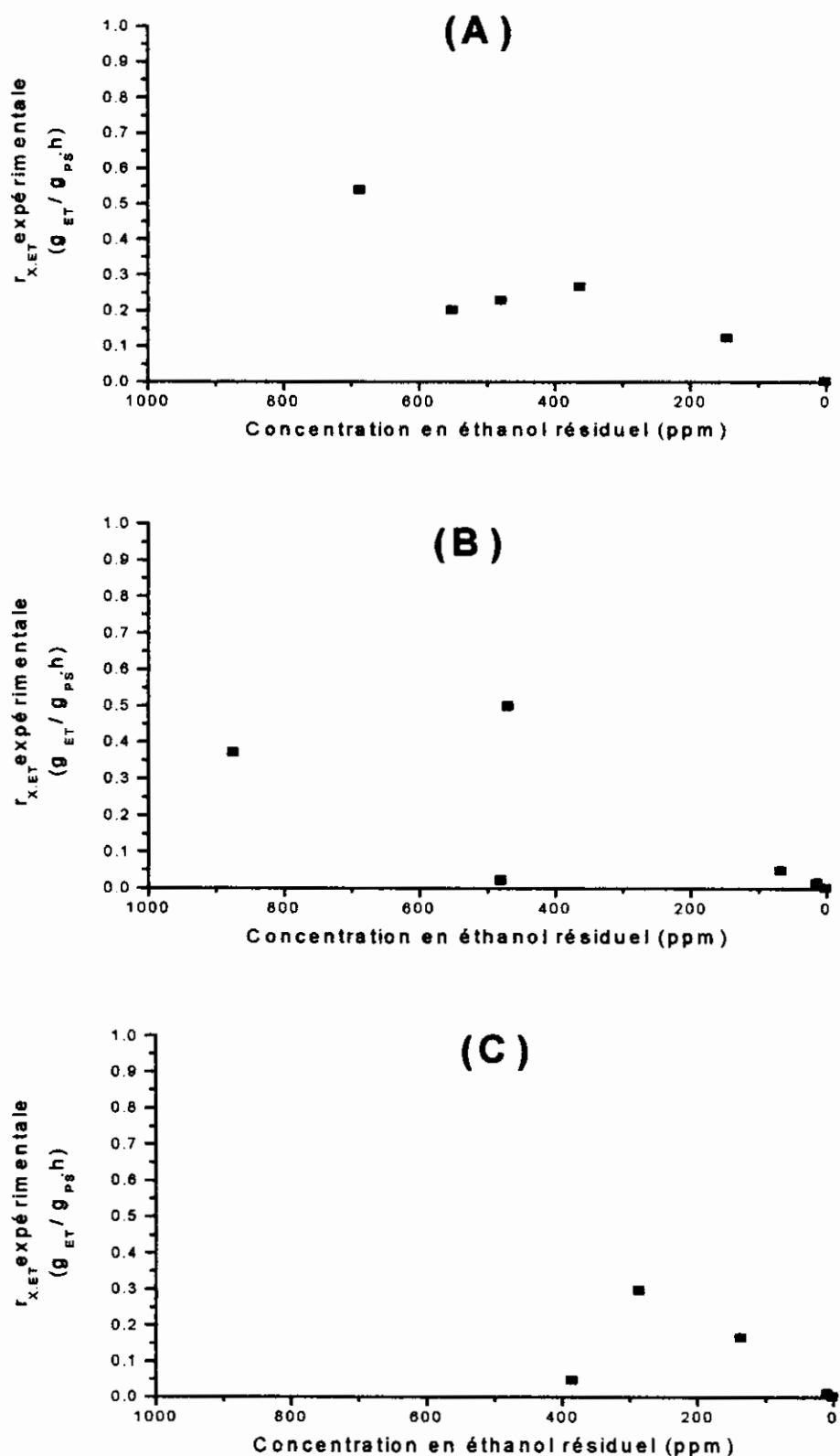


Figure 34. Evolution de la vitesse spécifique de consommation de l'éthanol $r_{X,ET}^{(n+1)}$ expérimentale ($\text{g}_{ET} / \text{g}_{PS} \cdot \text{h}$) en fonction de la concentration en éthanol résiduel (ppm) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

3.2.2. Discussion des résultats

3.2.2.1. Croissance

3.2.2.1.1. Phase de latence

Cette phase disparaît des courbes de croissance des trois réacteurs batch (Figures 18 et 21) en adaptant le consortium au mélange (méthanol et éthanol) par le biais de précultures et en prélevant les cellules pour l'ensemencement des réacteurs au point de « mi-croissance ».

Une légère phase d'accélération d'environ 2h pour les trois réacteurs est observée. Sa présence est due probablement à un stress occasionné par le lavage des cellules avant leur inoculation.

3.2.2.1.2. Croissance et dégradation

Les trois réacteurs sont lancés avec environ la même concentration initiale en biomasse X_0 (0,25 g_{PS}/l) mais avec des concentrations différentes de méthanol et d'éthanol (A : 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, B : 500 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol et C : 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol). On remarque, d'après les graphiques de la Figure 22, que la différence D entre la concentration initiale en biomasse X_0 et la concentration finale X_f diminue d'un réacteur à l'autre avec un rapport, calculé à partir des mesures expérimentales, égal à 0,84 si l'on passe du réacteur A au réacteur B et à 0,848 si l'on passe du réacteur B au réacteur C. Si l'on se réfère aux valeurs du paramètre P_1 (sa signification est donnée au point 3.1.1.2.2.) obtenues grâce à l'application de l'équation de Boltzman afin de modéliser l'évolution de la croissance, le rapport est égal à 0,923 si l'on passe du réacteur A au réacteur B et à 0,724 si l'on passe du réacteur B au réacteur C. On remarque aussi que D est proportionnelle à la somme des concentrations en méthanol et en éthanol pour chaque réacteur batch.

La durée de la phase exponentielle (A : 3h, B : 3h et C : 2h) est approximativement la même pour les trois réacteurs batch.

La courbe théorique obtenue suite à l'application de l'équation de Boltzman (Figure 18), montre une réelle concordance avec l'allure des points expérimentaux.

L'évolution de la croissance exprimée en $\ln X$ en fonction du temps t (Figure 22) est dépourvue de la phase d'accélération pour les trois réacteurs batch.

D'après les graphiques de la Figure 21, on remarque que l'épuisement du méthanol et de l'éthanol ($S = 0$) coïncide avec le début de la phase stationnaire de la croissance pour les trois réacteurs. La durée totale de consommation du méthanol est de 9, 6 et 7 h pour les réacteurs A, B et C respectivement. Elle est plus élevée lorsque la concentration initiale en méthanol est élevée (1000 ppm). La durée totale de consommation de l'éthanol est quant à elle stable (6 h). Elle n'est donc pas fonction de la concentration initiale en éthanol.

Les valeurs de p_1 obtenues suite à l'application du modèle de consommation du méthanol et de l'éthanol représentée par l'équation 6 s'avèrent proches des valeurs expérimentales de S_0 .

3.2.2.1.3. Taux spécifique de croissance μ

Les profils d'évolution de μ expérimental pour chaque réacteur en fonction du temps sont repris à la Figure 23. Les graphiques des trois réacteurs montrent une augmentation rapide de μ jusqu'à atteindre une valeur maximale de 0,59417 ; 0,56673 et 0,56178 h^{-1} aux temps 3, 3 et 4 h pour les réacteurs batch A, B et C respectivement. La valeur de μ_{max} est proportionnelle à la somme des concentrations initiales en méthanol et en éthanol. Les valeurs de μ_{max} expérimental, les temps auxquels elles sont atteintes et les concentrations en méthanol et éthanol correspondantes des trois réacteurs batch sont reprises dans le Tableau 23.

L'équation 7 est utilisée pour calculer la valeur de μ théorique dont l'allure est hyperbolique en fonction du temps (Figure 24). La valeur maximale de μ (μ_{max}) obtenue pour chaque réacteur, le temps auquel elle est atteinte et les concentrations en méthanol et éthanol correspondantes sont reportés au Tableau 23.

Tableau 23. Valeurs expérimentale et théorique du taux spécifique maximum de croissance μ_{max} , les temps auxquels elles sont atteintes et les concentrations en méthanol correspondantes pour les différents réacteurs batch.

Valeurs	Expérimentales			Théoriques		
μ_{max} (h^{-1})	0,594	0,567	0,562	0,423	0,369	0,606
Temps (h)	3	3	4	3,356	1,491	2,983
[Met] (ppm)	424,509	260,702	384,839	427,788	332,951	450,704
[Et] (ppm)	478,410	479,119	135,672	370,165	717,366	236,194
Réacteur batch	A	B	C	A	B	C

L'évolution de μ théorique en fonction des concentrations en méthanol et en éthanol suit le modèle hyperbolique proposé par Monod mais avec des valeurs de μ_{\max} qui ne correspondent pas aux valeurs expérimentales. Cependant, on remarque que les valeurs théoriques déterminées par les trois méthodes décrites par les équations 7, 10 et 11 (voir Tableau 21) montrent que la valeur maximale de μ_{\max} est atteinte lorsque la concentration initiale en méthanol est la plus élevée (réacteur batch C) alors que les valeurs expérimentales montrent qu'elle est atteinte lorsque les deux concentrations en méthanol et en éthanol sont égales à 1000 ppm (réacteur A). Cependant, si on se réfère à la somme des concentrations en méthanol et en éthanol et aux valeurs expérimentales de μ_{\max} , les résultats obtenus sont résumés dans le Tableau 24.

Tableau 24. Les valeurs de μ_{\max} en fonction de la somme des concentrations en méthanol et en éthanol.

Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)
[MET]+[ET] (ppm)	1282	1272	950
μ_{\max} (h^{-1})	0,594	0,567	0,562

On remarque que μ_{\max} est proportionnelle à la somme des concentrations en méthanol et en éthanol, ce qui confirme la nécessité d'utiliser les valeurs expérimentales de μ_{\max} pour l'interprétation des résultats.

La valeur de x_0 obtenue suite à l'application de l'équation de Boltzman et que l'on retrouve dans les graphiques des trois réacteurs de la Figure 18 coïncide avec les temps auxquels sont atteints μ_{\max} expérimental pour les trois réacteurs. Cela est conforme à la définition du point de « mi-croissance » qui correspond au temps où μ_{\max} est atteint. Leurs valeurs sont résumées dans le Tableau 25. Ces observations montrent que les valeurs de μ_{\max} expérimental sont valides.

Tableau 25. Valeurs de t correspondantes à μ_{\max} et de x_0 pour les différents réacteurs batch.

Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)
μ_{\max} (h^{-1})	0,594	0,567	0,562
Temps t (h) (expérimental)	3	3	4
x_0 (h) (théorique)	4,653	3,946	3,686

3.2.2.2. Dégradation

3.2.2.2.1. Vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{X,MET}$

Les valeurs de $(r_{X,MET})_{max}$ expérimentale et théorique des trois réacteurs batch et le temps auquel elles sont atteintes ainsi que la concentration en méthanol correspondante sont reprises dans le Tableau 26 suivant :

Tableau 26. Valeurs de la vitesse de consommation du méthanol maximum $(r_{X,MET})_{max}$ expérimentale et théorique, les temps auxquels elles sont atteintes et les concentrations en méthanol correspondantes pour les différents réacteurs batch.

Mesures expérimentales non-lissées			
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)
$(r_{X,MET})_{max}$	0,116	0,134	0,211
[MET] (ppm)	284,961	223,181	492,951
Temps (h)	7	4	3
Courbe théorique de dégradation			
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)
$(r_{X,MET})_{max}$	0,128	0,136	0,183
[MET] (ppm)	562,58	379,337	556,391
Temps (h)	0,746	0	1,864

Une réelle concordance entre les valeurs de $(r_{X,MET})_{max}$ expérimentale et théorique est observée pour chaque réacteur mais avec des temps différents et des concentrations en méthanol différentes. Dans ce cas, il est préférable d'interpréter uniquement les résultats expérimentaux.

Les valeurs de $(r_{X,MET})_{max}$ sont atteintes après une consommation de 59,91% ; de 41,17% et de 12,94% de la charge initiale en méthanol pour les réacteurs A, B et C respectivement. La valeur la plus élevée de $(r_{X,MET})_{max}$ expérimentale est obtenue lorsque la concentration initiale en méthanol (1000 ppm) est supérieure à la concentration initiale en éthanol (500 ppm) (Réacteur C). Lorsqu'on maintient la concentration initiale de l'éthanol à 1000 ppm (réacteurs A et B), on remarque que $(r_{X,MET})_{max}$ est légèrement plus élevée lorsque la concentration initiale en méthanol est la plus faible (réacteur B). $(r_{X,MET})_{max}$ est donc inversement proportionnelle à la concentration initiale en méthanol lorsque $[EtOH]_0$ est fixée.

3.2.2.2.2. Vitesse spécifique de consommation de l'éthanol $r_{X,ET}$

Les valeurs de $(r_{X,ET})_{max}$ expérimentale et théorique des trois réacteurs et les temps auxquels elles sont atteintes ainsi que la concentration en éthanol correspondante sont reprises dans le Tableau 27 suivant :

Tableau 27. Valeurs de la vitesse de consommation de l'éthanol maximale $(r_{X,ET})_{max}$ expérimentale et théorique aux temps et aux concentrations en éthanol correspondantes pour les différents réacteurs batch.

Mesures expérimentales non-lissées			
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et[EtOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=500 ppm et[EtOH]=1000 ppm)	C ([MeOH]=1000 ppm et[EtOH]=500 ppm)
$(r_{X,ET})_{max}$	0,264	0,497	0,294
[ET] (ppm)	361,904	468,375	286,006
Temps (h)	4	4	3
Courbe théorique de dégradation			
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et[EtOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=500 ppm et[EtOH]=1000 ppm)	C ([MeOH]=1000 ppm et[EtOH]=500 ppm)
$(r_{X,ET})_{max}$	0,332	0,518	0,205
[ET] (ppm)	666,304	883,016	365,196
Temps (h)	1,119	0	1,119

On remarque que les valeurs $(r_{X,ET})_{max}$ expérimentale et théorique pour chaque réacteur sont proches mais avec des temps différents et des concentrations en éthanol différentes. Dans ce cas, il est préférable d'interpréter uniquement les résultats expérimentaux.

Les valeurs de $(r_{X,MET})_{max}$ sont atteintes après une consommation de 51,75% ; de 46,43% et de 25,67% de la charge initiale en éthanol pour les réacteurs A, B et C respectivement. La valeur maximale $(r_{X,ET})_{max}$ est obtenue lorsque la concentration initiale en éthanol (1000 ppm) est supérieure à la concentration initiale en méthanol (500 ppm) (Réacteur B). On remarque que les valeurs maximales de $(r_{X,ET})_{max}$ et $(r_{X,MET})_{max}$ sont atteintes lorsque la concentration initiale en substrat correspondante est la plus élevée. Lorsqu'on maintient la concentration initiale de méthanol à 1000 ppm (réacteurs A et C), on remarque que $(r_{X,ET})_{max}$ est légèrement plus élevée lorsque la concentration initiale en éthanol est la plus faible (réacteur C). $(r_{X,ET})_{max}$ est donc inversement proportionnelle à la concentration initiale en éthanol lorsque $[MeOH]_0$ est fixée.

3.2.3. Conclusion

Une modélisation des cinétiques de croissance et de dégradation du méthanol et de l'éthanol au cours du temps a été réalisée. Les paramètres cinétiques correspondants ont pu être déterminés à partir de ces modèles et par traitement des données expérimentales.

Globalement, le modèle de croissance utilisé ne permet pas d'aboutir à des grandeurs de μ_{\max} reflétant fidèlement les valeurs expérimentales, ni ne traduit de façon fiable l'allure de ces grandeurs. Il est donc préférable d'utiliser les valeurs expérimentales de μ_{\max} . Les valeurs de $(r_{X,\text{MET}})_{\max}$ et de $(r_{X,\text{ET}})_{\max}$ théoriques sont proches des valeurs expérimentales. Cette constatation ne s'applique pas aux temps auxquels elles sont obtenues ainsi qu'aux concentrations en substrat correspondantes. Là aussi, il est préférable d'utiliser les valeurs expérimentales de $(r_{X,\text{MET}})_{\max}$ et de $(r_{X,\text{ET}})_{\max}$.

3.2.4. Effet de la présence de l'éthanol

Une première expérience est réalisée en présence du méthanol seul alors que la deuxième expérience est lancée avec un mélange de méthanol et d'éthanol.

Les résultats de la deuxième expérience ne peuvent être comparés qu'avec ceux du réacteur A de la première expérience à cause de l'inhibition observée avec les réacteurs B et C, d'une part, et surtout du fait que la concentration initiale maximale de 1000 ppm est la seule à être utilisée dans les deux expériences. Les résultats sont résumés dans le Tableau 28 :

Tableau 28. Comparaison entre les valeurs des paramètres cinétiques de croissance et de dégradation étudiées de la première et la deuxième expérience.

Expérience	1 (méthanol seul)		2 (méthanol et éthanol)	
	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)	
μ_{\max}	0,274	0,594	0,562	
$(r_{X,\text{MET}})_{\max}$	0,75	0,116	0,211	
$Y_{X/S}$	0,393	0,716	0,681	
Durée de consommation du méthanol (h)	6	9	7	

D'après ces résultats, on peut noter une réelle augmentation de μ_{\max} dans le cas de la deuxième expérience qui est attribuable à une quantité totale de substrats (somme des concentrations en méthanol et en éthanol) plus importante. On remarque que le rendement de

conversion du méthanol $Y_{X/MET}$ de la première expérience est inférieur à celui de la deuxième expérience si l'on prend en considération le fait que seul le méthanol est présent lors de la première expérience. Le contraire est à signaler pour le paramètre $(r_{X,MET})_{max}$. On constate aussi que la durée de consommation du méthanol est plus longue lorsque le consortium est mis en présence d'un mélange de méthanol et d'éthanol. Pour le réacteur A, le calcul du K_m de chaque substrat montre que le consortium a plus d'affinité pour l'éthanol ($K_m = 16,58$ ppm) que pour le méthanol ($K_m = 448,103$ ppm).

En conclusion, on peut dire que l'effet de la présence de l'éthanol sur la biodégradation du méthanol par le consortium utilisée est antagoniste.

3.3. Influence des précultures sur la dégradation du méthanol en présence d'éthanol

3.3.1. Présentation des résultats

Les résultats présentés dans ce chapitre concernent l'expérience de dégradation du méthanol en présence d'éthanol sans une adaptation aux substrats (méthanol et éthanol) possible grâce aux précultures. L'impact de ce paramètre sur les cinétiques de croissance et de dégradation du méthanol sera brièvement discuté à la fin de la section 3.3 en comparant les résultats obtenus avec ceux d'une autre expérience menée dans les mêmes conditions mais avec précultures et qui a été décrite à la section 3.2.

3.3.1.1. Traitement des résultats

3.3.1.1.1. Introduction

Les différentes concentrations appliquées de méthanol et d'éthanol sont choisies de façon à éviter la limitation par l'oxygène avec un volume de la phase liquide de 90 ml. Les réacteurs batch lancés avec différentes concentrations de méthanol et d'éthanol sont nommés comme suit :

Dénomination des réacteurs batch	A	B	C
Charge appliquée de méthanol (ppm)	1000	500	1000
Charge appliquée d'éthanol (ppm)	1000	1000	500

Un réacteur témoin est également réalisé. Il s'agit d'un réacteur batch non inoculé avec des concentrations égales de méthanol et d'éthanol de 1000 ppm (w/v). Aucune dégradation abiotique du méthanol et de l'éthanol n'a lieu.

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

3.3.1.1.2. Modélisation de la croissance

Les résultats de l'évolution de la concentration en biomasse X des différents réacteurs sont représentés sous forme graphique dans les Figures 35 et 38. Une allure particulière mettant en évidence le phénomène biologique défini par le terme de « Diauxie » est observée. Sa particularité réside dans la présence de deux phases exponentielles distinctes. Afin d'essayer de modéliser la croissance, on propose d'appliquer un modèle calqué sur celui des chapitres précédents mais comportant un deuxième terme identique au premier. Son équation est reprise ci-dessous:

$$X = P_1 / [1 + \exp(-P_2 + P_3 \cdot t)] + P_1' / [1 + \exp(-P_2' + P_3' \cdot t)] + P_4 \quad (19)$$

Avec :

X : Concentration en biomasse au temps t (gPS/l)

t : Temps (h)

$P_1, P_1', P_2, P_2', P_3, P_3', P_4$: Paramètres

Les paramètres de cette équation sont ajustés par rapport aux mesures expérimentales par une méthode itérative. Les séries de paramètres obtenus pour chaque réacteur batch sont reprises au Tableau 29.

Tableau 29. Valeurs des paramètres du modèle de l'équation 19 obtenues après son ajustement paramétrique sur celle de la courbe expérimentale de croissance .

Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)						
Paramètres	P_1	P_1'	P_2	P_2'	P_3	P_3'	P_4
Valeurs	0,895	0,198	8,846	1033,057	0,769	41,322	1,1
Réacteur batch	B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)						
Paramètres	P_1	P_1'	P_2	P_2'	P_3	P_3'	P_4
Valeurs	0,823	0,020	6,920	47,348	0,522	1,690	0,846
Réacteur batch	C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)						
Paramètres	P_1	P_1'	P_2	P_2'	P_3	P_3'	P_4
Valeurs	0,491	0,347	8,774	51,167	0,760	1,764	0,847

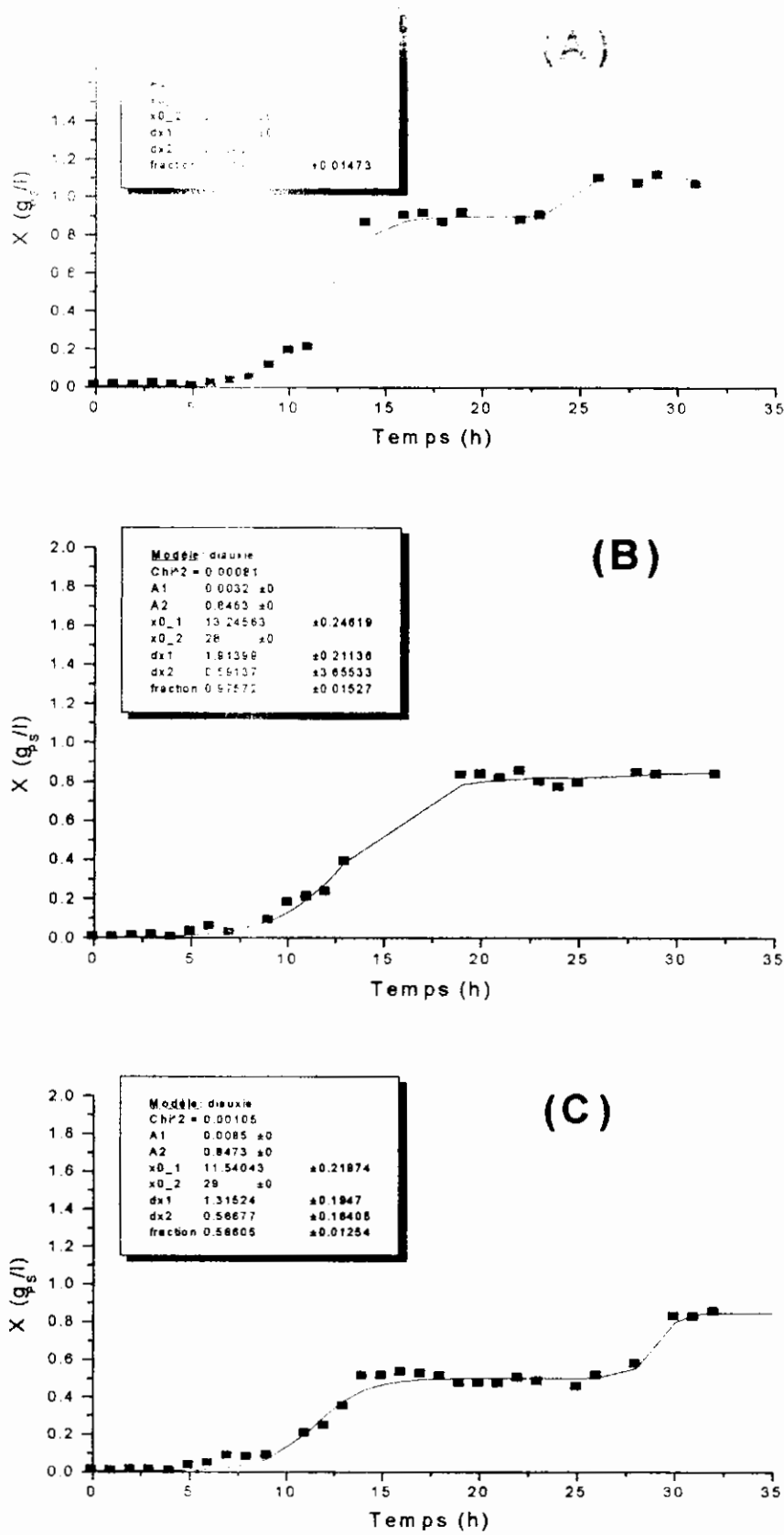


Figure 35. Evolution de la concentration en biomasse X (g_s/l) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

3.2.1.1.3. Modélisation de la consommation du méthanol et de l'éthanol

Les résultats de l'évolution de la concentration en méthanol et en éthanol des différents réacteurs sont représentés sous forme graphique dans les Figures 36, 37 et 38.

L'évolution de la concentration en méthanol ou en éthanol est de type logarithmique. On peut donc essayer d'utiliser un modèle de consommation du substrat de type logarithmique. Un tel modèle est décrit par l'équation 5 (Voir section 3.1.1.2.3.).

Afin d'ajuster ce modèle à nos données expérimentales, on utilisera la forme générale de l'équation 5, à savoir l'équation 6 (Voir section 3.1.1.2.3.).

Les valeurs des paramètres p_1 , p_2 et p_3 de chaque réacteur batch liées à la consommation du méthanol sont reprises dans le Tableau 30 suivant :

Tableau 30. Valeurs des paramètres du modèle de l'équation 6 obtenues après son ajustement paramétrique sur celle de la courbe expérimentale de dégradation du méthanol.

Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		
Paramètres	p_1	p_2	p_3
Valeurs	735,738	21,001	0,134

Réacteur batch	B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		
Paramètres	p_1	p_2	p_3
Valeurs	511,309	42,37	0,094

Réacteur batch	C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)		
Paramètres	p_1	p_2	p_3
Valeurs	860,332	34,488	0,127

On remarque que p_1 correspond à la concentration initiale en méthanol, que p_3 possède les valeurs les plus élevées lorsque la concentration initiale en méthanol est de 1000 ppm, contrairement au réacteur batch B où la valeur de p_3 est la plus faible avec une concentration initiale en méthanol de 500 ppm. On remarque aussi que p_2 n'est pas constant alors que les différents réacteurs batch sont inoculés avec la même quantité de biomasse.

La consommation du méthanol n'est pas donc exactement décrite par le modèle proposé (Equation 5), néanmoins, il définit correctement l'allure logarithmique de la consommation de l'éthanol.

Les valeurs des paramètres p_1 , p_2 et p_3 de chaque réacteur batch liées à la consommation de l'éthanol sont reprises dans le Tableau 31 suivant :

Tableau 31. Valeurs des paramètres du modèle de l'équation 6 obtenues après son ajustement paramétrique sur celle de la courbe expérimentale de dégradation de l'éthanol .

Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		
Paramètres	p_1	p_2	p_3
Valeurs	939,883	6,764	0,335

Réacteur batch	B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		
Paramètres	p_1	p_2	p_3
Valeurs	956,435	1,998	0,467

Réacteur batch	C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)		
Paramètres	p_1	p_2	p_3
Valeurs	425,144	4,173	0,312

On remarque que p_1 correspond à la concentration initiale en éthanol, que p_3 possède les valeurs les plus faibles lorsque la concentration initiale en méthanol est de 1000 ppm, contrairement au réacteur batch **B** où la valeur de p_3 est la plus élevée avec une concentration initiale en éthanol de 1000 ppm et une concentration initiale en méthanol de 500 ppm. On remarque aussi que p_2 n'est pas constant alors que les différents réacteurs batch sont inoculés avec la même quantité de biomasse. La consommation de l'éthanol n'est pas donc exactement décrite par le modèle proposé (Equation 5), néanmoins, il définit correctement l'allure logarithmique de la consommation de l'éthanol.

3.3.1.1.4. Taux de croissance spécifique μ

Dans notre cas, le taux de croissance spécifique défini par l'équation 7 (Voir section 3.1.1.2.4.) n'aura plus la signification d'un taux de multiplication d'une souche pure mais bien d'un taux d'augmentation global de la biomasse totale.

Afin de donner une valeur réelle du taux spécifique de croissance μ , on l'a estimé à chaque temps expérimental, à partir des mesures expérimentales non-lissées, par la formule représentée par l'équation 11 (Voir section 3.1.1.2.4.).

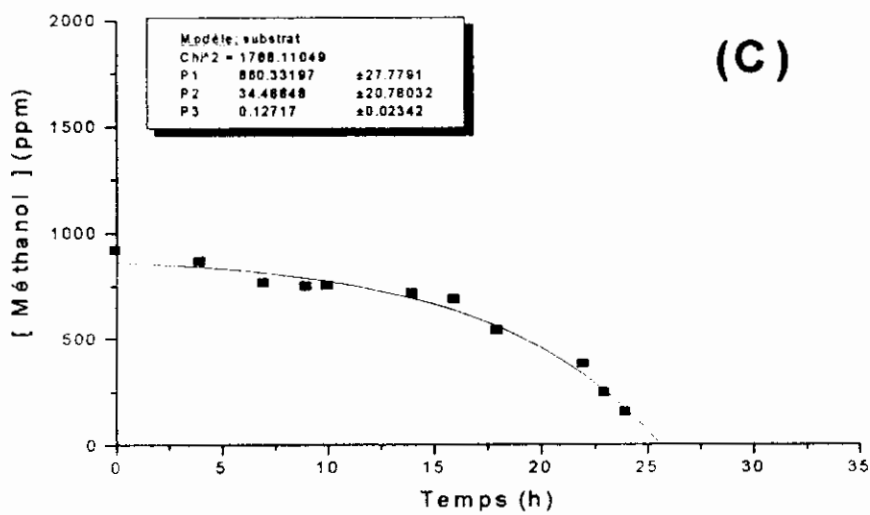
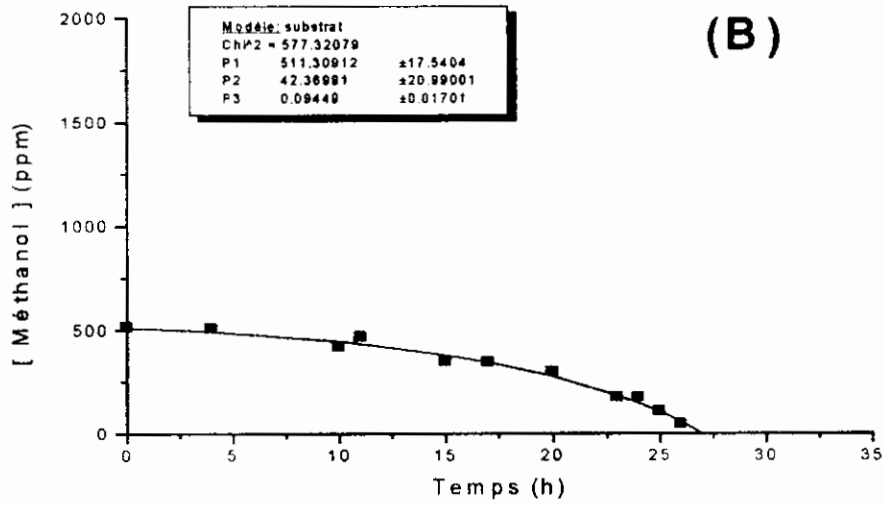
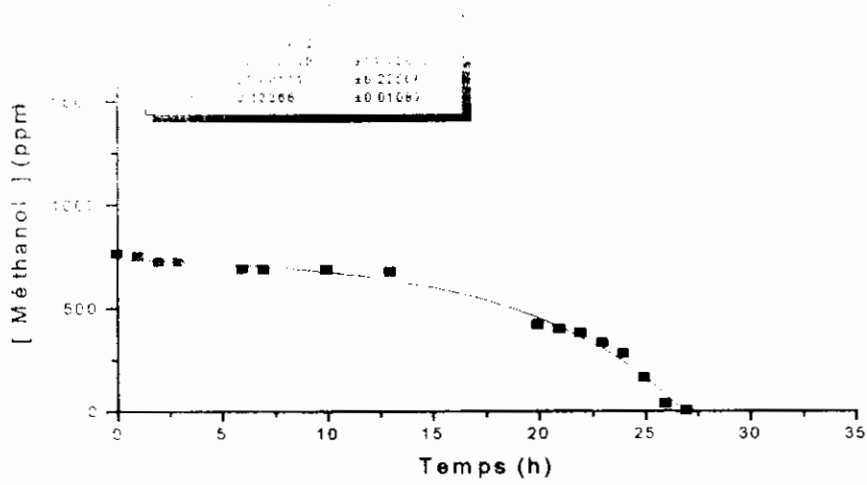


Figure 36. Evolution de la concentration en méthanol résiduel (ppm) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 500 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

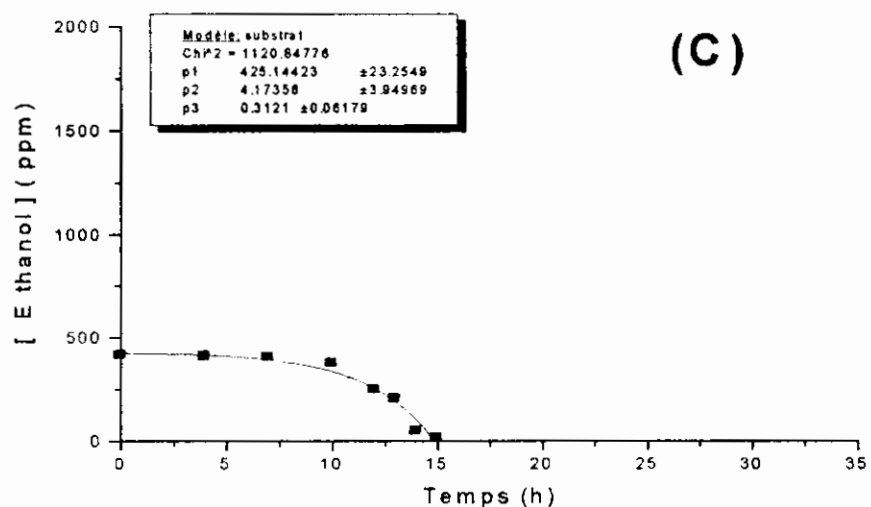
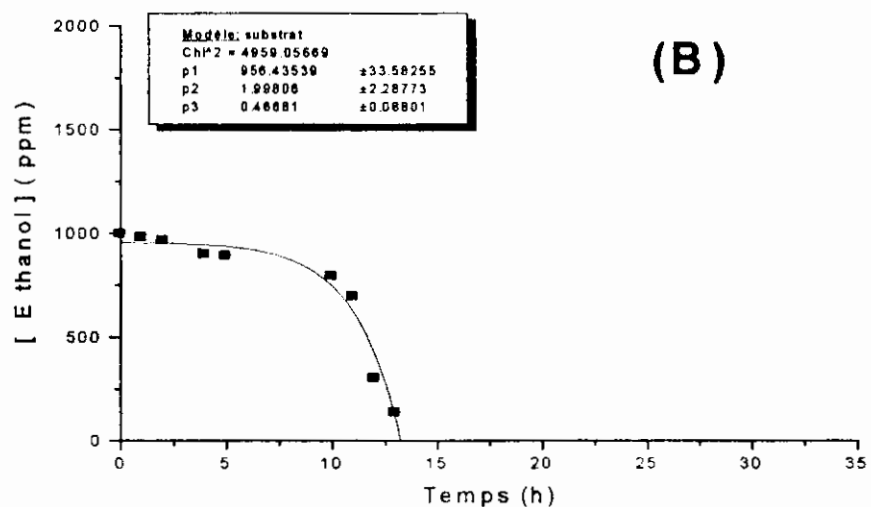
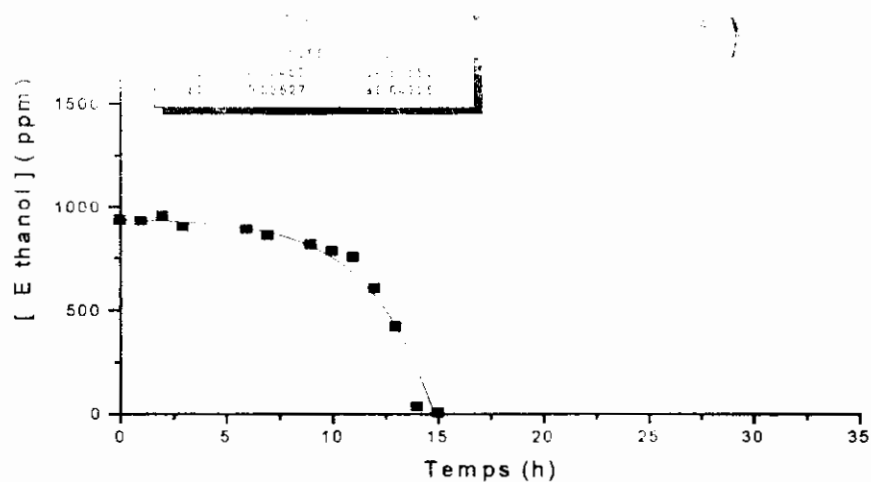


Figure 37. Evolution de la concentration en éthanol résiduel (ppm) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm d'éthanol et 1000 ppm de méthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 500 ppm d'éthanol et 1000 ppm de méthanol.

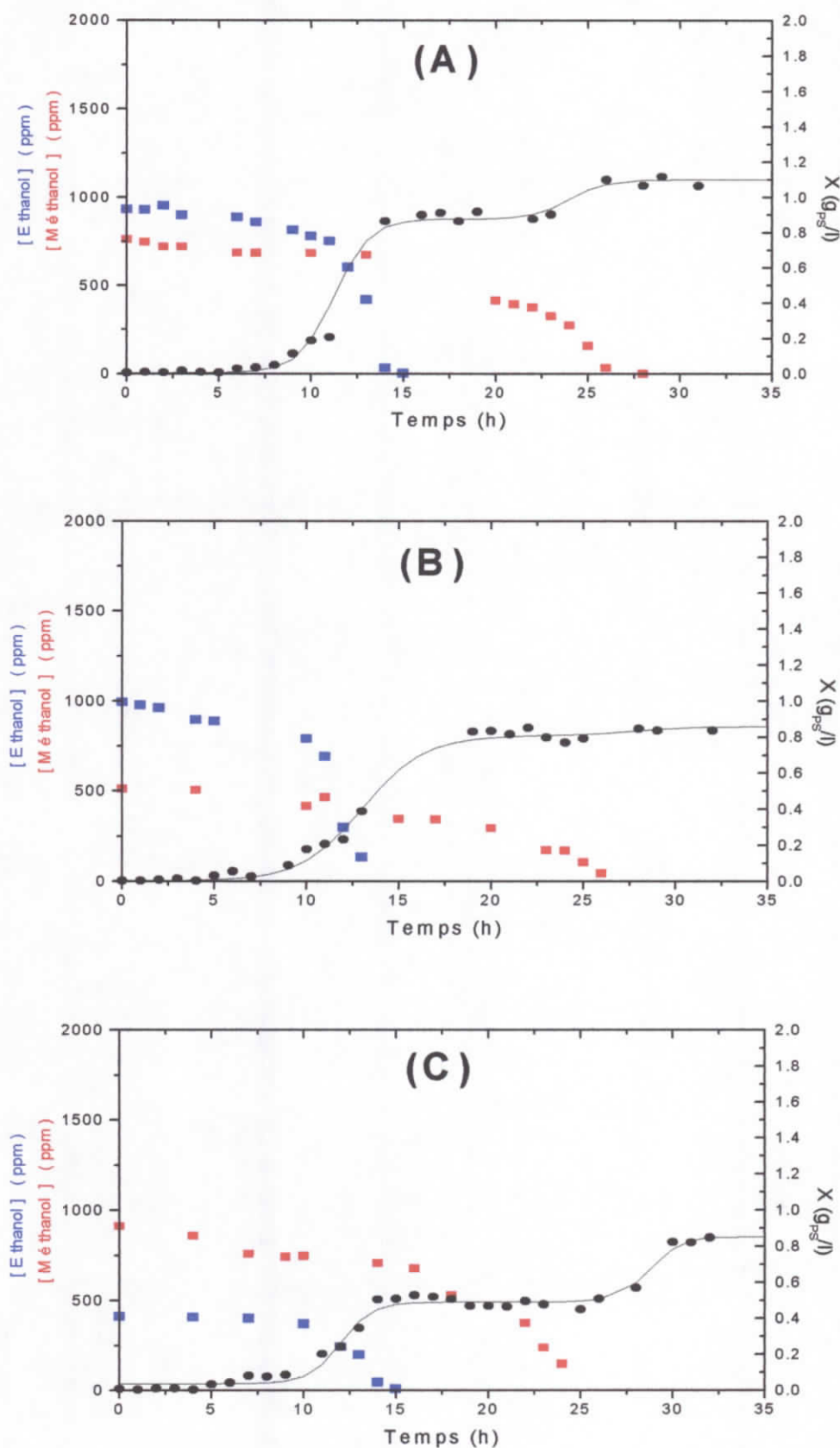


Figure 38. Evolution de la concentration en biomasse X et de la concentration en méthanol et en éthanol résiduel en fonction du temps t pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Les résultats pour les différents réacteurs sont repris à la Figure 39. Ces graphiques montrent une évolution particulière de μ au cours de la croissance.

Pour chaque réacteur, le μ à chaque temps de la courbe théorique est calculé (Figure 40).

Les taux spécifiques de croissance maximum μ_{\max} des trois réacteurs, calculés par les quatre méthodes décrites par les équations 6, 7 et 11, ainsi que le temps auquel ils sont atteints, sont repris dans le Tableau 32.

Tableau 32. Valeurs du taux spécifique de croissance maximum μ_{\max} déterminées par trois méthodes décrites par les équations 6, 7 et 11.

Valeurs expérimentales						
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)	
μ_{\max} (h ⁻¹)	0,705	0,219	0,731	0,044	0,879	0,130
Temps (h)	6	23	5	21	6	25
Courbe théorique de croissance						
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)	
μ_{\max} (h ⁻¹)	0,658	0,198	0,465	0,010	0,589	0,214
Temps (h)	8	25	8	28	9	29
Equation de consommation du méthanol						
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)	
μ_{\max} (h ⁻¹)	0,134		0,094		0,127	
Equation de consommation de l'éthanol						
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)	
μ_{\max} (h ⁻¹)	0,335		0,467		0,312	

Les profils d'évolution du taux spécifique de croissance μ , sans et avec lissage des mesures expérimentales en fonction de la concentration en méthanol résiduel en phase liquide sont présentés aux Figures 41 et 43.

Les profils d'évolution du taux spécifique de croissance μ , sans et avec lissage des mesures expérimentales en fonction de la concentration en éthanol résiduel en phase liquide sont présentés aux Figures 42 et 44.

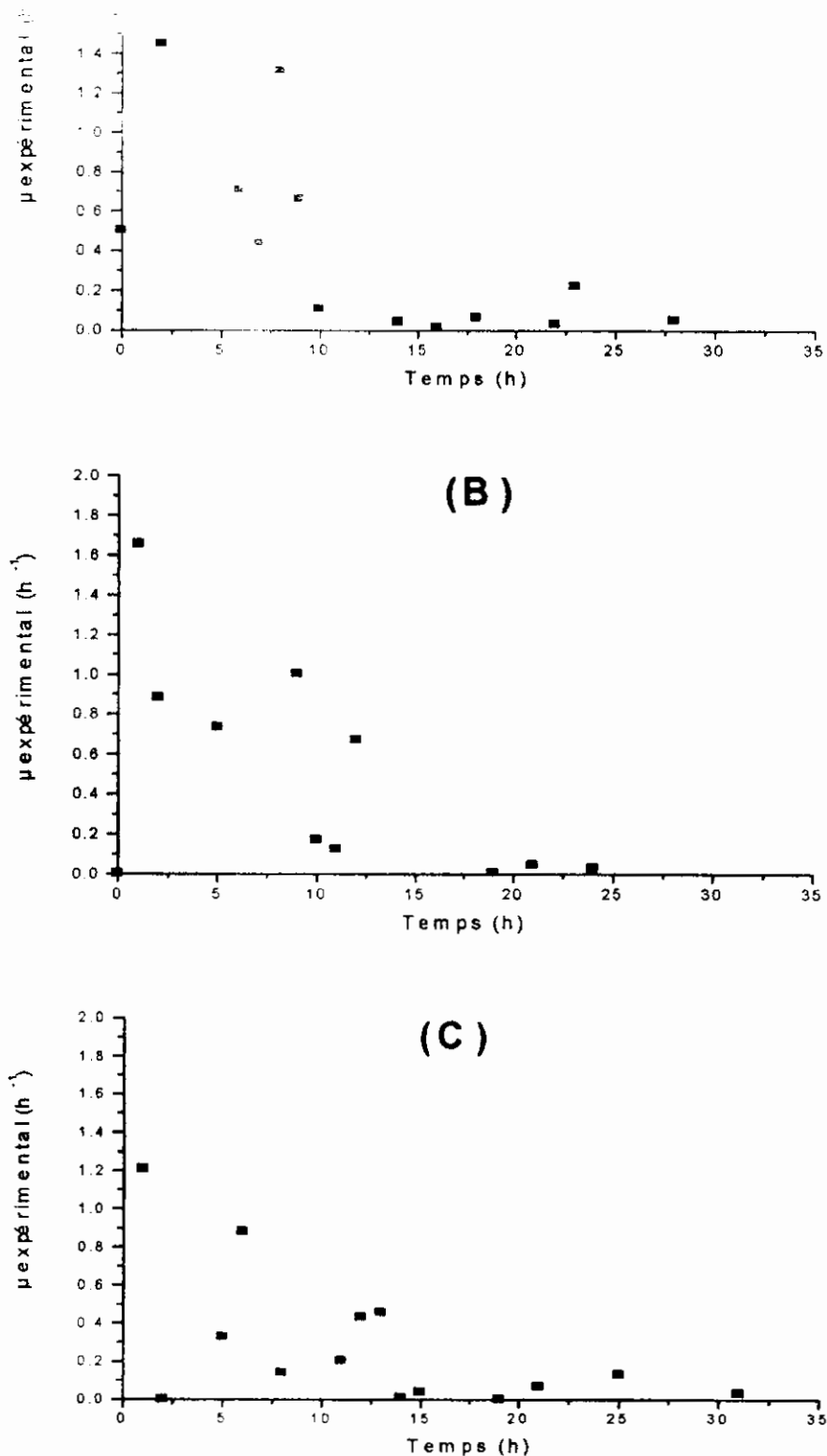


Figure 39. Evolution du taux spécifique de croissance expérimental μ_{n+1} (h^{-1}) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol

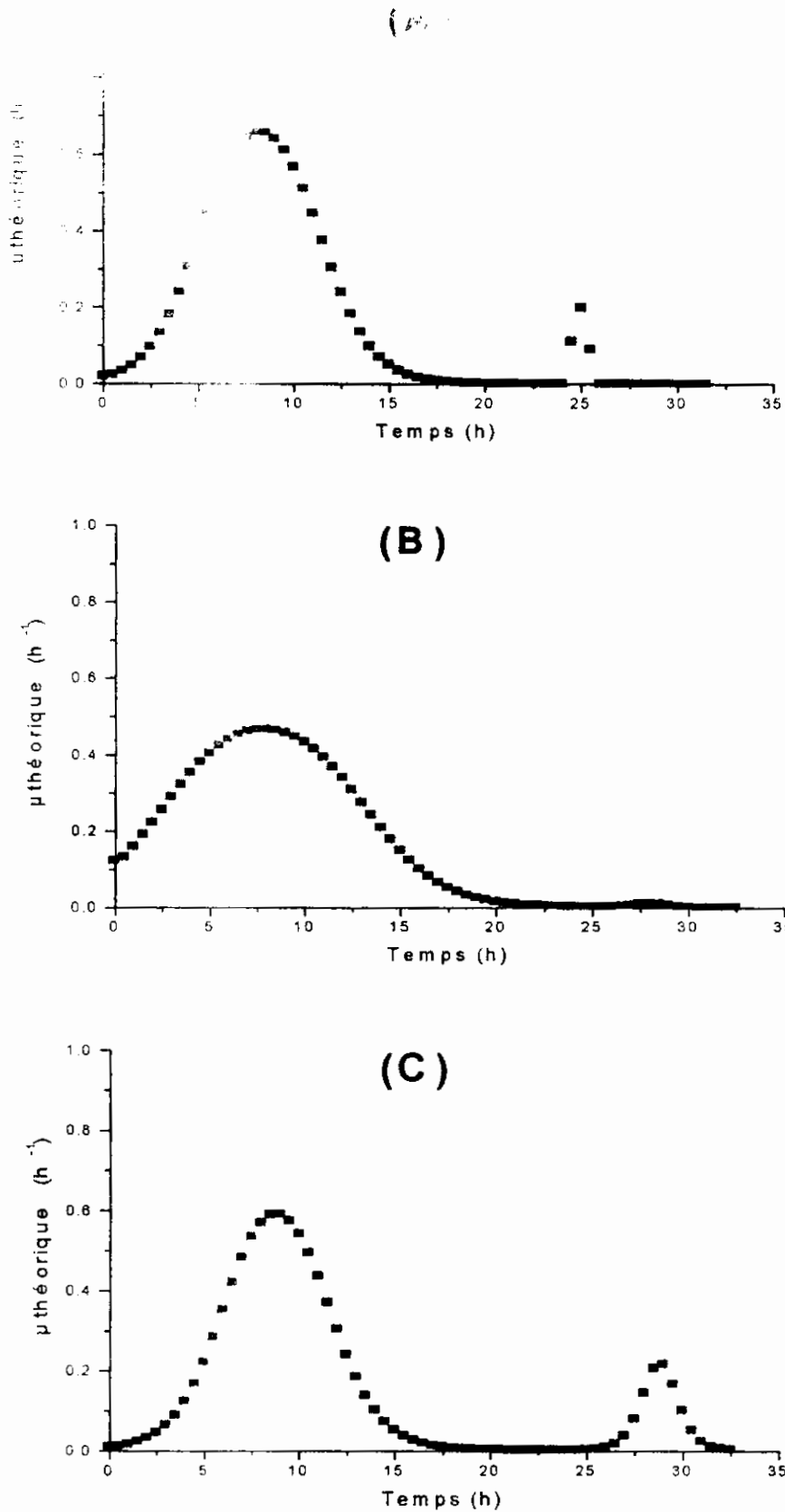


Figure 40. Evolution du taux spécifique de croissance théorique μ (h^{-1}) en fonction du temps (h) pour les différents reacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol. (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol. (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

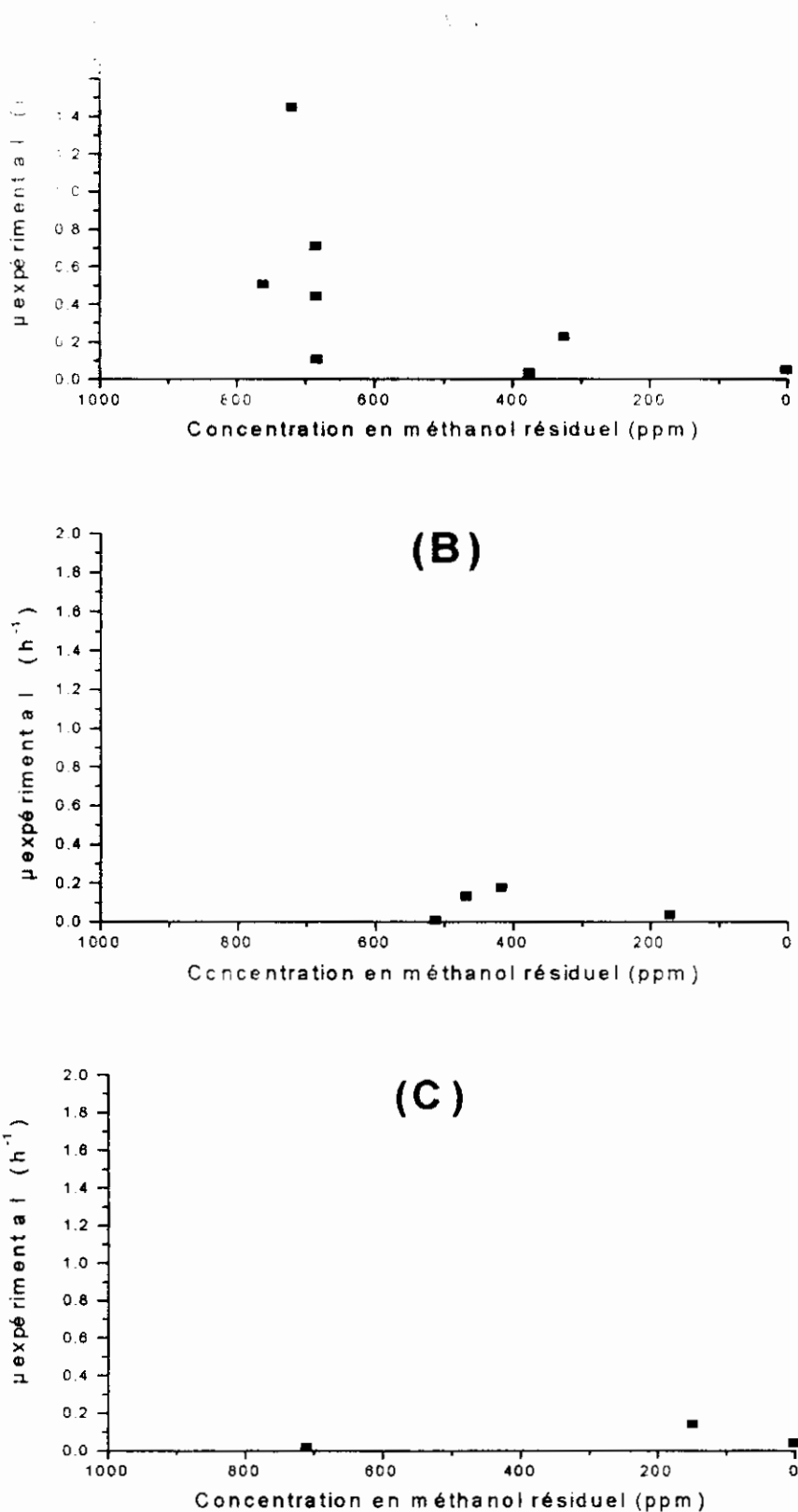


Figure 41. Evolution du taux spécifique de croissance expérimental $\mu_{n+1} (h^{-1})$ en fonction de la concentration en méthanol résiduel (ppm) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol. (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

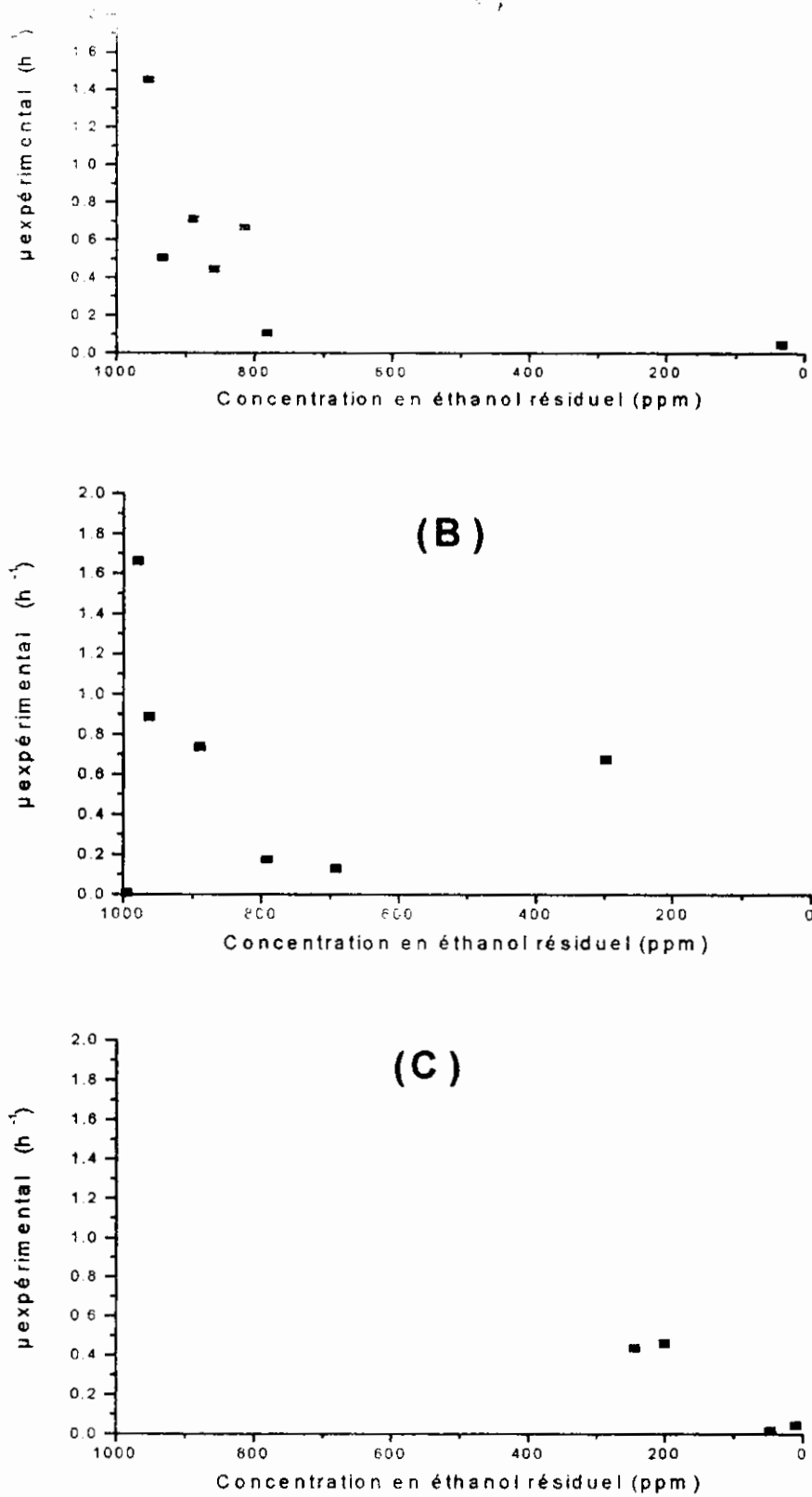


Figure 42. Evolution du taux spécifique de croissance expérimental μ_{n+1} (h^{-1}) en fonction de la concentration en éthanol résiduel (ppm) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm d'éthanol et 250 ppm de méthanol.

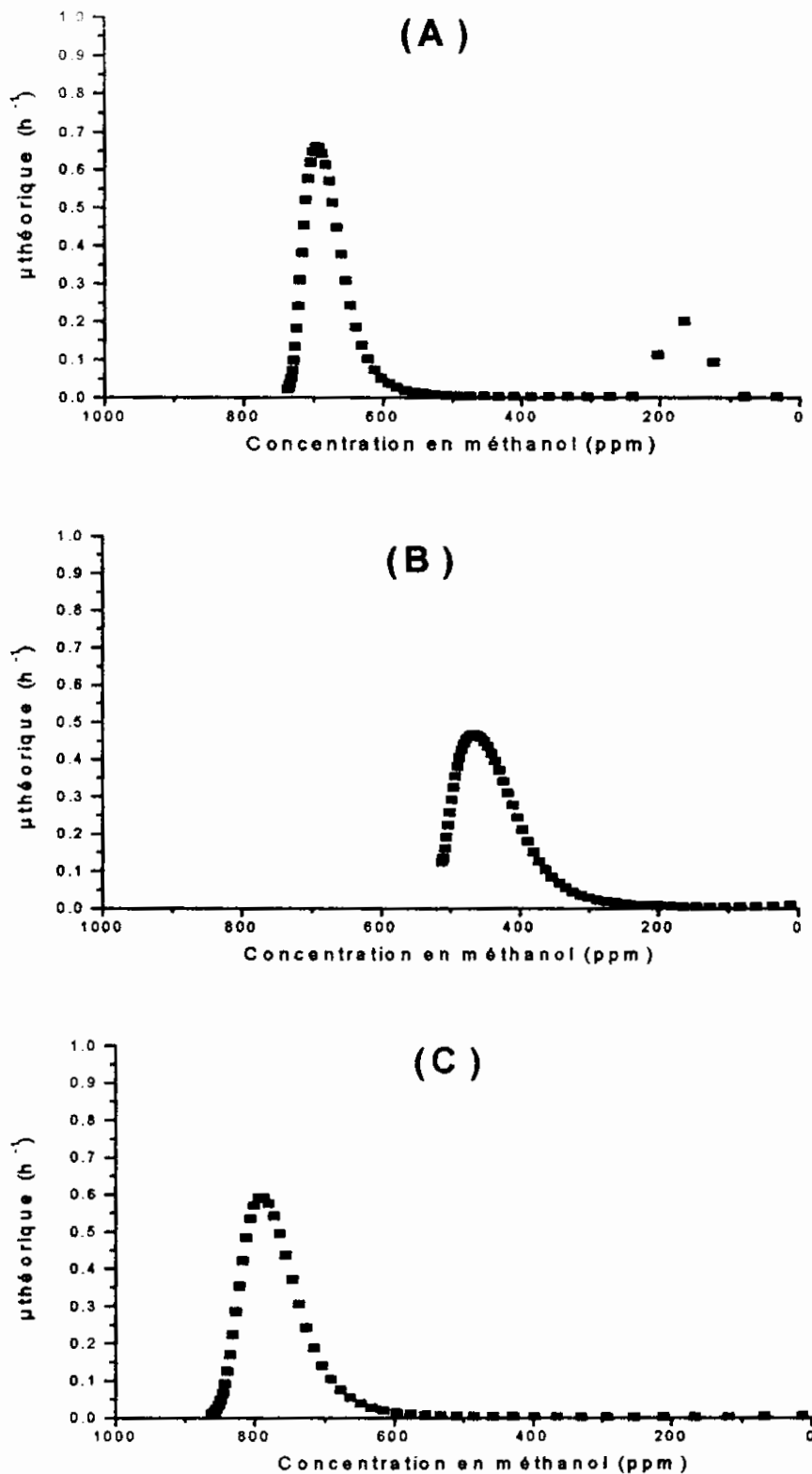


Figure 43. Evolution du taux spécifique de croissance théorique μ (h⁻¹) en fonction de la concentration en méthanol (ppm) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

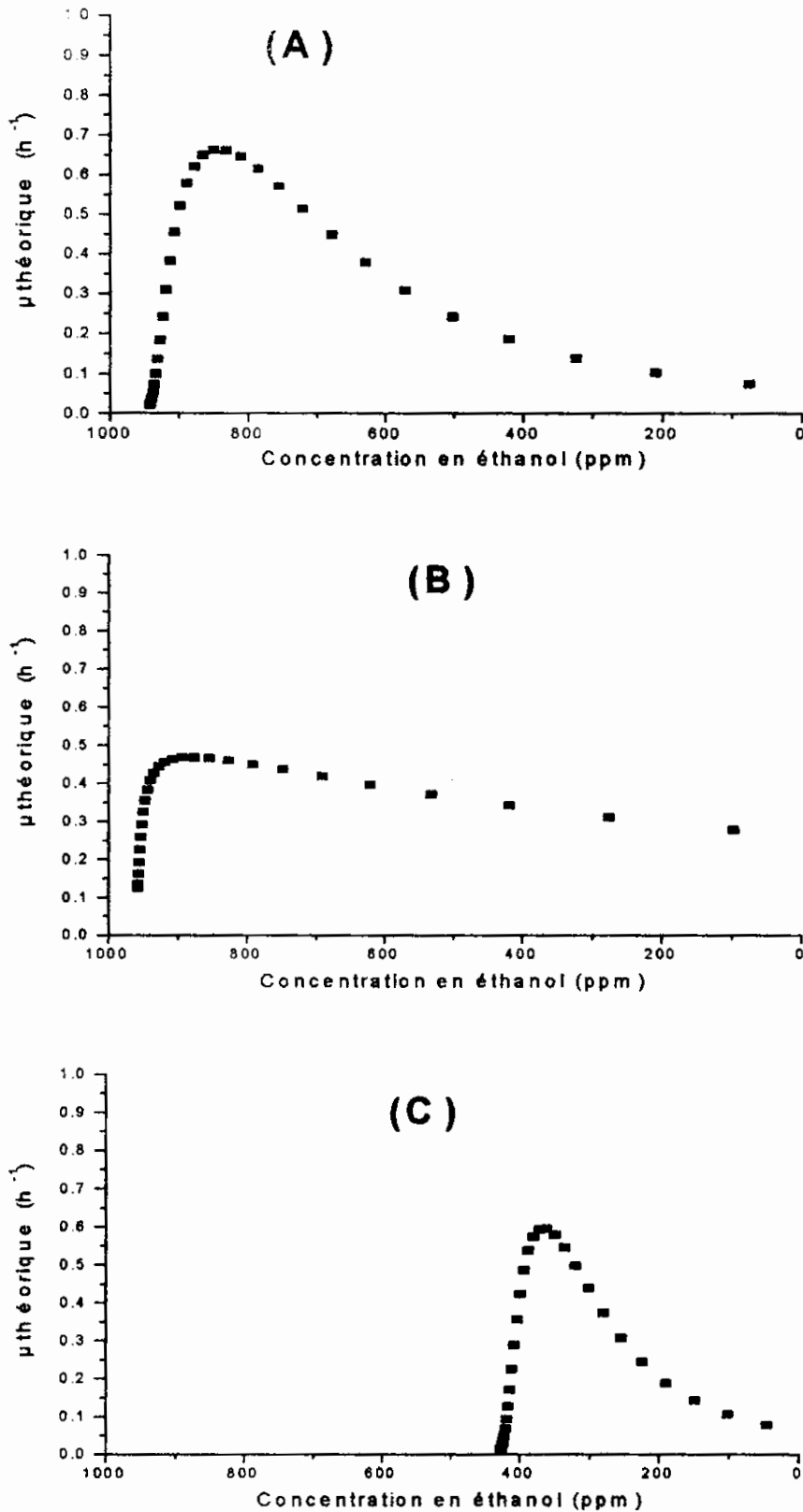


Figure 44. Evolution du taux spécifique de croissance théorique μ (h⁻¹) en fonction de la concentration en éthanol (ppm) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

3.3.1.2.5. Vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{X,MET}$ et de l'éthanol $r_{X,ET}$

On entend par vitesse spécifique de la consommation du méthanol ($r_{X,MET}$) ou de l'éthanol ($r_{X,ET}$), la quantité de méthanol ou d'éthanol consommée exprimée en g par g de poids sec de biomasse et par heure (h). $r_{X,MET}$ peut être calculée directement à partir des données expérimentales non lissées par la formule décrite par l'équation 12 (Voir section 3.1.1.2.4.) et $r_{X,ET}$ peut aussi être calculée directement à partir des données expérimentales non lissées par l'équation 14 (Voir section 3.2.1.1.5.). Les profils des vitesses spécifiques $r_{X,MET}$ et $r_{X,ET}$ en fonction du temps sont représentés par les Figures 45 et 46.

En dérivant la courbe théorique obtenue par l'ajustement paramétrique du modèle de consommation du méthanol aux mesures expérimentales on obtient la vitesse de consommation volumique r_{MET} , qui est ensuite divisée par X au temps correspondant et on obtient la vitesse spécifique de consommation du méthanol ($r_{X,MET}$) théorique (Figure 47). En dérivant la courbe théorique obtenue par l'ajustement paramétrique du modèle de consommation de l'éthanol aux mesures expérimentales on obtient la vitesse de consommation volumique r_{ET} représentée par l'équation 15 (Voir section 3.2.1.1.5.). r_{ET} est ensuite divisée par X au temps correspondant et on obtient la vitesse spécifique de consommation de l'éthanol ($r_{X,ET}$) théorique représentée par l'équation 16 (Voir section 3.2.1.1.5.) (Figure 48).

3.3.1.2.6. Rendement de conversion du substrat en biomasse $Y_{X/S}$

On peut calculer ce rendement à partir des graphiques de la Figure 35 reprenant l'évolution de la concentration en biomasse au cours du temps. Les résultats pour les différents réacteurs batch sont repris au Tableau 33.

Tableau 33. Valeurs du rendement de conversion des substrats en biomasse par le consortium bactérien dans les différents réacteurs batch.

	Réacteur batch			Unités
	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)	
ΔX	1,08	0,833	0,838	g _s /l
ΔS	2	1,5	1,5	g _s /l
$Y_{X/S}$	0,54	0,555	0,558	g _{ps} / g _s

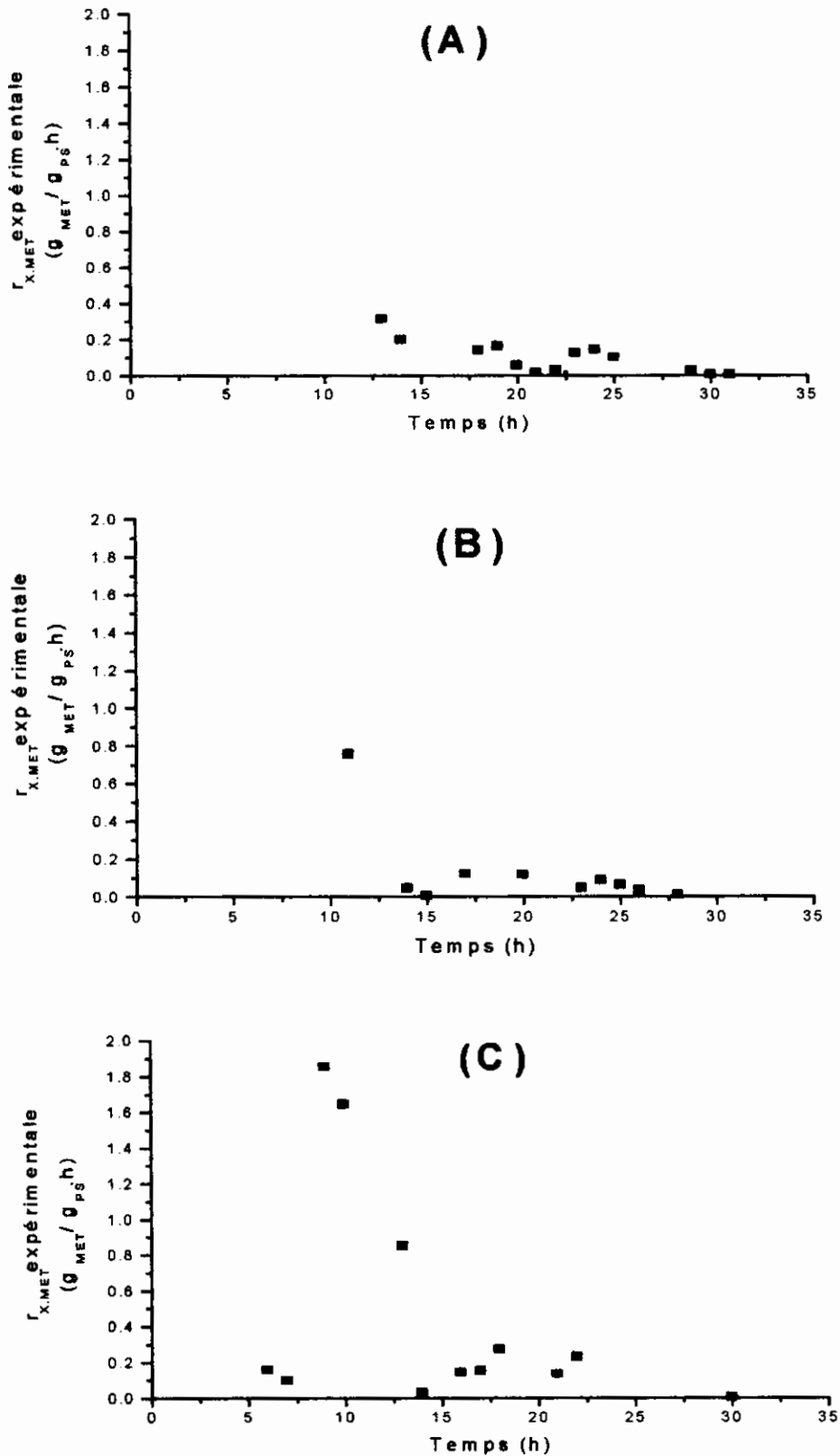


Figure 45. Evolution de la vitesse de consommation expérimentale du méthanol $(r_{X,MET})_{n+1}$ ($\text{g}_{MET} / \text{g}_{PS} \cdot \text{h}$) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

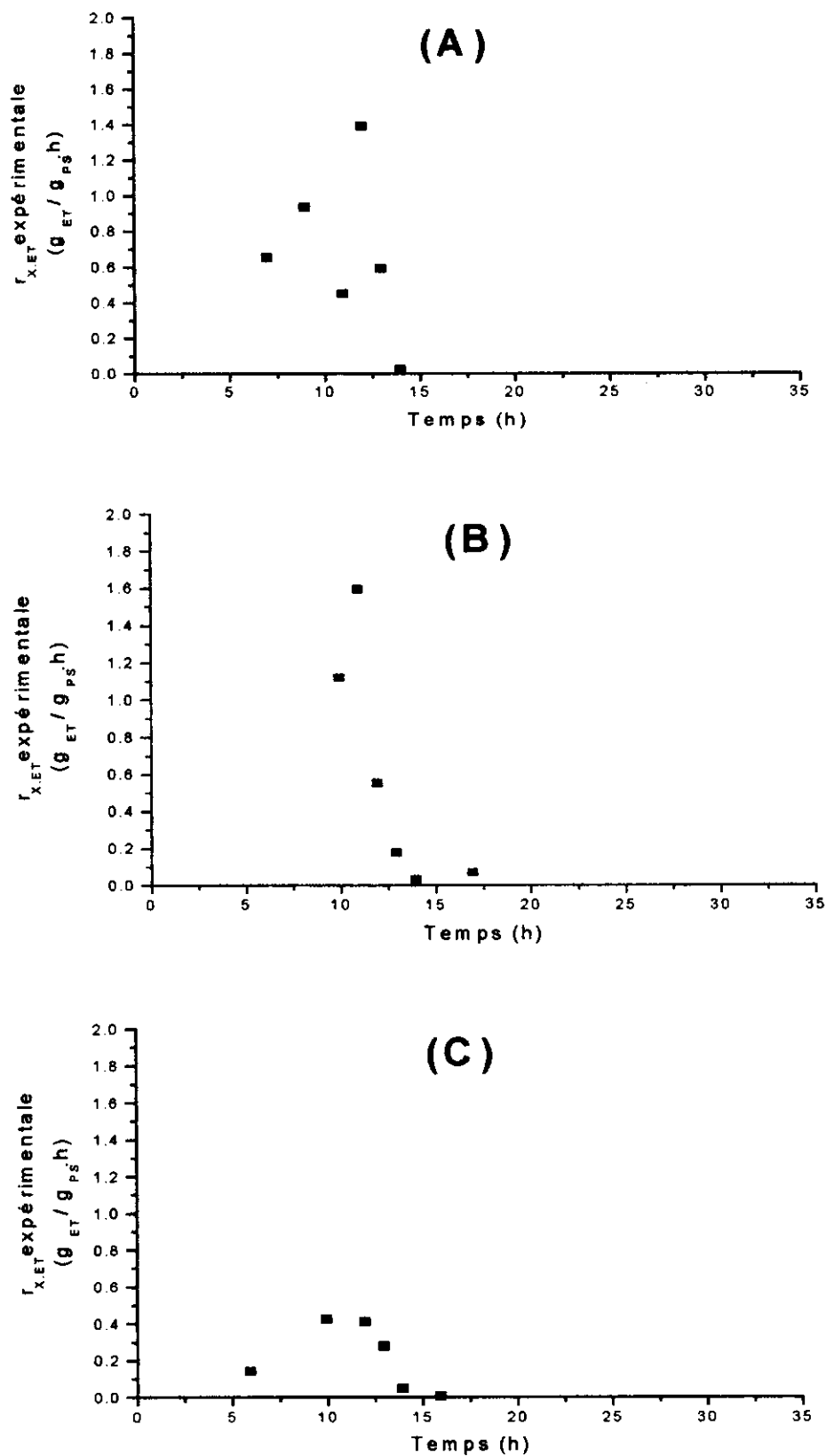


Figure 46. Evolution de la vitesse de consommation expérimentale de l'éthanol $(r_{X_{ET}})_{n+1}$ ($\text{g}_{ET} / \text{g}_{PS} \cdot \text{h}$) en fonction du temps pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

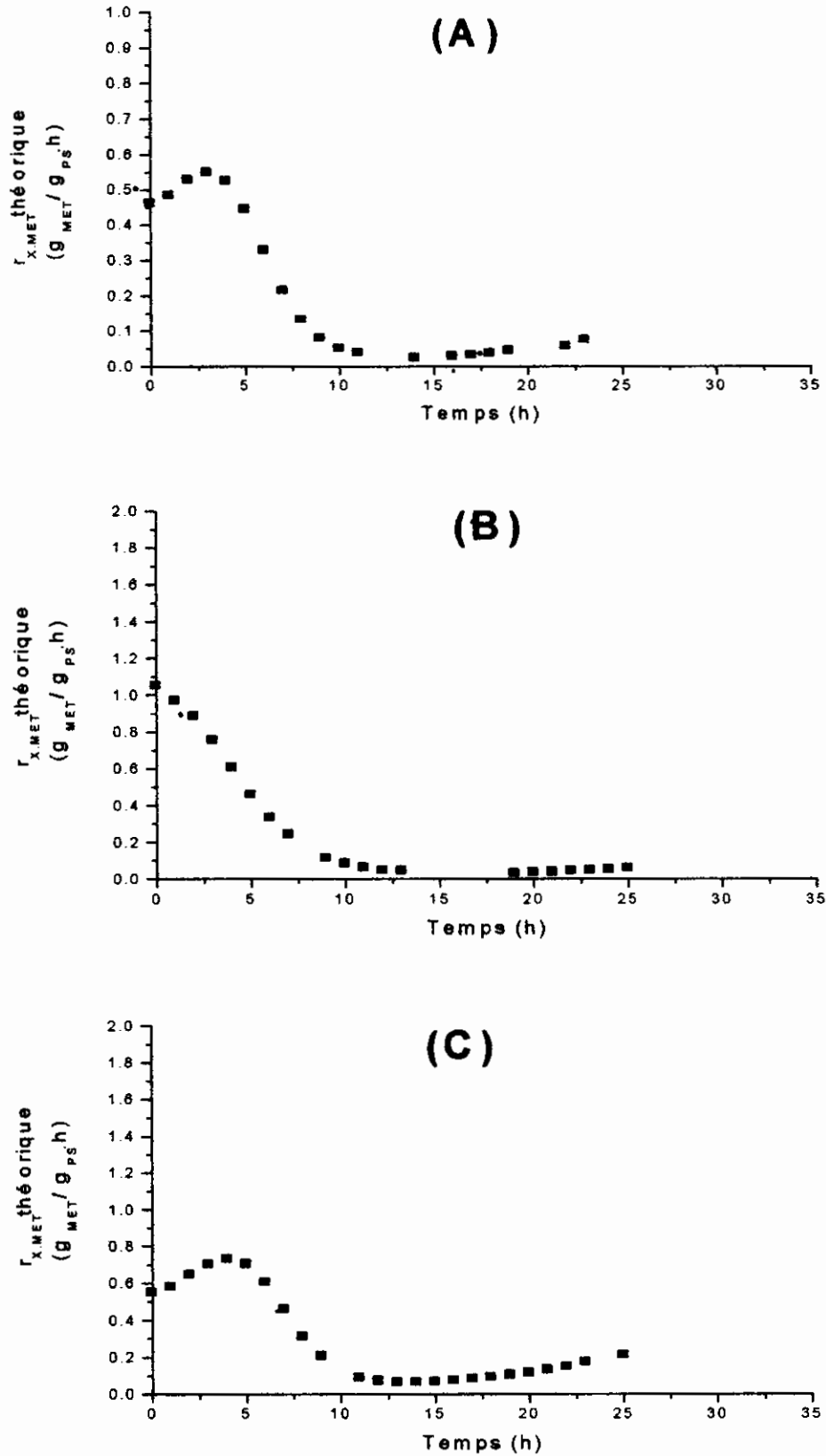


Figure 47. Evolution de la vitesse de consommation théorique du méthanol ($r_{X,MET}$) en fonction du temps pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

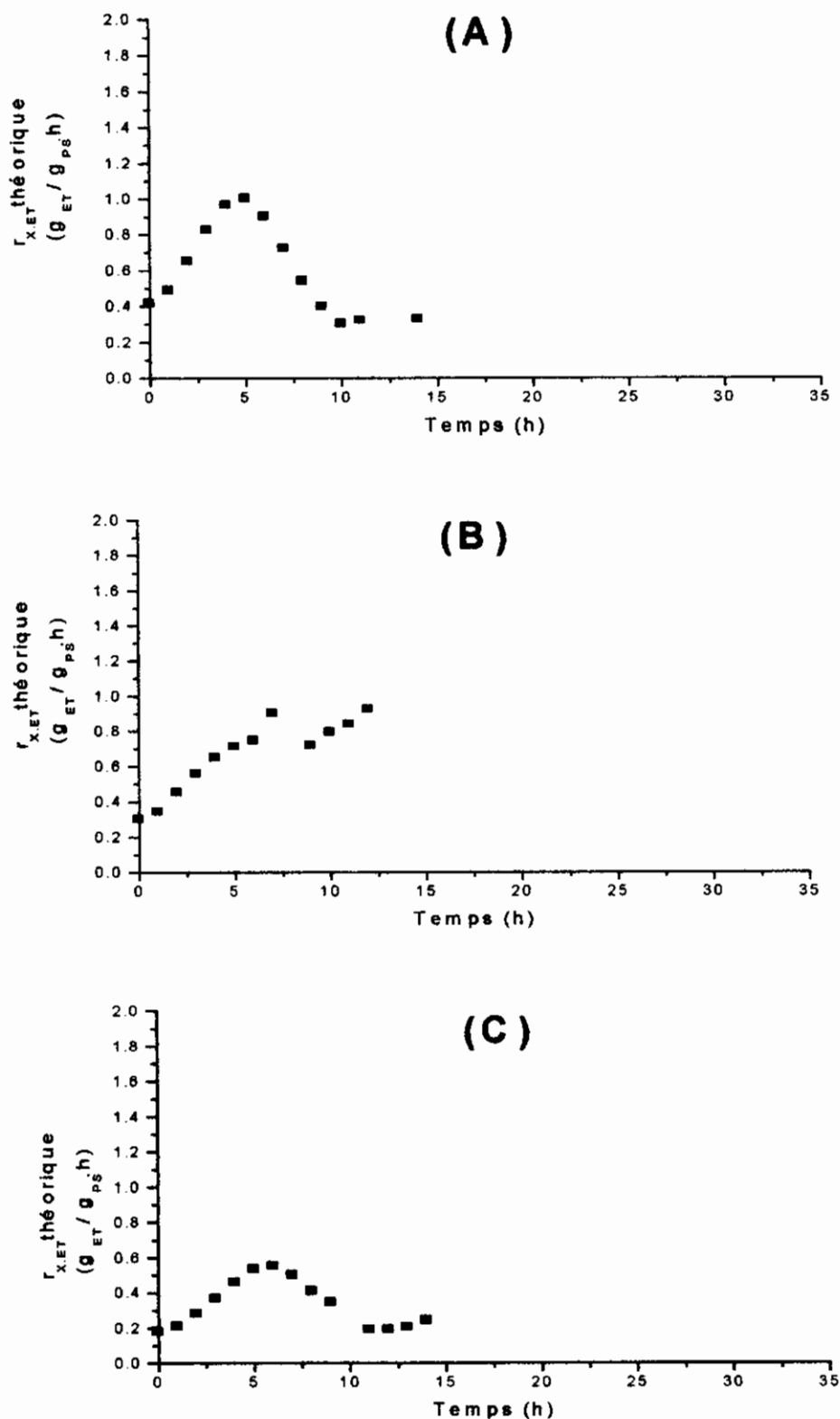


Figure 48. Evolution de la vitesse de consommation théorique de l'éthanol ($r_{X,ET}$) en fonction du temps pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

3.3.2. Discussion des résultats

3.3.2.1. Croissance

3.3.2.1.1. Phase de latence

La présence de cette phase est due à l'absence de précultures et à l'ensemencement des réacteurs batch avec un inoculum provenant directement de la station d'épuration d'El Méria. La phase de latence dure de 5 à 7 h pour les trois réacteurs batch. On remarque aussi que les charges en méthanol et en éthanol n'ont pas d'effet sur cette phase.

3.3.2.1.2. Croissance et dégradation

Les trois réacteurs batch sont lancés sans précultures avec des concentrations initiales en biomasse X_0 allant de 0,0032 à 0,0085 g_{PS}/l et avec des concentrations différentes de méthanol et d'éthanol (A : 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, B : 500 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol et C : 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol). Les graphiques de la Figure 39 mettent en évidence une croissance de type diauxie avec deux phases exponentielles distinctes pour les réacteurs batch A et C. Pour le réacteur batch B, la deuxième phase exponentielle n'est que légèrement visible. On remarque que l'évolution de la consommation de l'éthanol est liée à l'évolution de la concentration en biomasse de la première partie du graphique de chaque réacteur batch. En effet, la consommation totale de l'éthanol qui dure en moyenne 15 h coïncide avec le début de la première phase stationnaire. La deuxième partie du graphique de chaque réacteur reflète la consommation exclusive du méthanol restant puisque sa dégradation a démarré en même temps que celle de l'éthanol. Le méthanol est donc considéré dans la deuxième partie du graphique comme l'unique substrat disponible pour le consortium et dont la durée totale de consommation est en moyenne de 27 h.

Les valeurs de p_1 obtenues suite à l'application du modèle de consommation du méthanol et de l'éthanol représenté par l'équation 6 sont proches des valeurs expérimentales de S_0 si l'on se réfère au Tableau 36. On remarque aussi que les valeurs de S_0 sont plus proches des charges appliquées lorsqu'il n'y a pas de précultures. Cela est dû au fait que le méthanol et l'éthanol ne sont consommés que lorsque les systèmes enzymatiques des microorganismes spécifiques aux substrats sont activés.

Tableau 34. Comparaison entre les valeurs de S_0 , de p_1 et de la charge appliquée de méthanol ou d'éthanol.

	Réacteur batch			Substrat
	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)	
Charge appliquée	1000	500	1000	Méthanol
S_0	760,422	510,352	912,051	
p_1	735,738	511,309	860,332	
Charge appliquée	1000	1000	500	Ethanol
S_0	931,4686	992,9559	411,437	
p_1	939,883	956,435	425,144	

3.2.2.1.3. Taux spécifique de croissance μ

Les profils d'évolution de μ expérimental pour chaque réacteur batch en fonction du temps sont repris à la Figure 39. Les graphiques des trois réacteurs batch montrent une évolution particulière de μ .

Trois valeurs expérimentales de μ_{\max} sont obtenues pour chaque réacteur batch. La première coïncide avec la phase de latence et elle n'est donc pas prise en considération. La deuxième est obtenue lors de la première phase exponentielle et la troisième lors de la deuxième phase exponentielle. Les différentes valeurs expérimentales et théoriques de μ_{\max} sont résumés dans le Tableau 35.

Tableau 35. Comparaison entre les valeurs expérimentales et théoriques de μ_{\max} de chaque réacteur batch.

Valeurs expérimentales						
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)	
μ_{\max} (h^{-1})	0,705	0,219	0,731	0,044	0,879	0,130
Temps (h)	6	23	5	21	6	25
Courbe théorique de croissance						
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)	
μ_{\max} (h^{-1})	0,658	0,198	0,465	0,010	0,589	0,214
Temps (h)	8	25	8	28	9	29

On remarque que certaines valeurs théoriques de μ_{\max} sont proches de celles obtenues expérimentalement. Le modèle de croissance utilisé ne permet donc pas d'aboutir à des grandeurs de μ_{\max} reflétant fidèlement les valeurs expérimentales. Cependant, l'évolution de μ théorique en fonction du temps et de la concentration en méthanol ou en éthanol présente une allure hyperbolique proposée par Monod.

Si l'on compare les valeurs de μ_{\max} de la deuxième partie du graphique de chaque réacteur batch avec les valeurs de μ_{\max} obtenues suite à l'application de l'équation de consommation du méthanol, on constate qu'elles sont de même ordre (Tableau 36).

Tableau 36. Comparaison entre les valeurs expérimentales de μ_{\max} de la deuxième partie du graphique et celles de l'équation de consommation du méthanol des trois réacteurs batch.

Valeurs expérimentales de la deuxième partie du graphique			
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)
μ_{\max} (h ⁻¹)	0,219	0,044	0,130
Equation de consommation du méthanol			
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)
μ_{\max} (h ⁻¹)	0,134	0,094	0,127

Alors que les valeurs expérimentales de la première partie du graphique de chaque réacteur batch sont plus élevées que celles obtenues suite à l'application de l'équation de consommation de l'éthanol (Tableau 37). Ce qui confirme que la biomasse obtenue n'est pas due à la consommation de l'éthanol seul mais à celle du mélange (méthanol et éthanol).

Tableau 37. Comparaison entre les valeurs expérimentales de μ_{\max} de la première partie du graphique et celles de l'équation de consommation de l'éthanol des trois réacteurs batch.

Valeurs expérimentales de la première partie du graphique			
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)
μ_{\max} (h ⁻¹)	0,705	0,731	0,879
Equation de consommation de l'éthanol			
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)
μ_{\max} (h ⁻¹)	0,335	0,467	0,312

3.3.2.2. Dégradation

3.3.2.2.1. Vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{X,MET}$

Les valeurs de $(r_{X,MET})_{max}$ expérimentale et théorique des trois réacteurs batch et le temps auquel elles sont atteintes ainsi que la concentration en méthanol correspondante sont reprises dans le Tableau 38 suivant :

Tableau 38. Valeurs de la vitesse de consommation du méthanol maximum $(r_{X,MET})_{max}$ expérimentale et théorique aux temps et aux concentrations en méthanol correspondantes pour les différents réacteurs batch.

Mesures expérimentales non-lissées						
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)	
$(r_{X,MET})_{max}$	0,309	0,159	0,754	0,115	1,851	0,268
[MET] (ppm)	671,984	/	465,856	341,479	741,834	530,017
Temps (h)	13	19	11	17	9	18
Courbe théorique de dégradation						
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)	
$(r_{X,MET})_{max}$	0,547	0,073	1,047	0,054	0,725	0,205
[MET] (ppm)	724,514	281,384	510,352	103,911	837,463	66,105
Temps (h)	3	23	0	25	4	25

On remarque que certaines valeurs de $(r_{X,MET})_{max}$ expérimentale et théorique sont proches mais avec des temps différents et des concentrations en éthanol différentes surtout celles obtenues lors de la deuxième partie du graphique de chaque réacteur batch. Dans ce cas, il est préférable d'utiliser uniquement les résultats expérimentaux pour toute interprétation.

Les valeurs maximales de $(r_{X,MET})_{max}$ sont obtenues lorsque la concentration initiale en méthanol (1000 ppm) est supérieure à la concentration initiale en éthanol (500 ppm) (Réacteur C).

3.3.2.2.2. Vitesse spécifique de consommation de l'éthanol $r_{X,ET}$

Les valeurs de $(r_{X,ET})_{max}$ expérimentale et théorique des trois réacteurs batch et le temps auquel elles sont atteintes ainsi que la concentration en éthanol correspondante sont reprises dans le Tableau 39 suivant :

Tableau 39. Valeurs de la vitesse de consommation de l'éthanol maximale $(r_{X,ET})_{max}$ expérimentale et théorique aux temps et aux concentrations en éthanol correspondantes pour les différents réacteurs batch.

Mesures expérimentales non-lissées			
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)
$(r_{X,ET})_{max}$	1,386	1,587	0,419
[ET] (ppm)	602,701	690,244	370,308
Temps (h)	12	11	10
Courbe théorique de dégradation			
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)
$(r_{X,ET})_{max}$	0,997	0,912	0,549
[ET] (ppm)	908,15	434,013	401,293
Temps (h)	5	12	6

On remarque que valeurs de $(r_{X,ET})_{max}$ expérimentale et théorique sont globalement proches mais avec des temps différents pour la plupart et des concentrations en éthanol différentes. Dans ce cas, il est préférable d'utiliser uniquement les résultats expérimentaux pour toute interprétation.

La valeur maximale de $(r_{X,ET})_{max}$ est obtenue lorsque la concentration initiale en éthanol (1000 ppm) est supérieure à la concentration initiale en méthanol (500 ppm) (Réacteur batch B).

Afin de mettre en évidence l'ordre dans lequel le consortium utilise les substrats, des graphiques représentant les valeurs de $r_{X,MET}$ et de $r_{X,ET}$ de chaque réacteur batch en fonction du temps t sont repris dans la Figure 49. Pour chaque réacteur batch, on constate que la première valeur maximale de $r_{X,MET}$ coïncide avec la valeur maximale de $r_{X,ET}$, ce qui confirme le fait que lors de la première partie du graphique, le méthanol est également consommé.

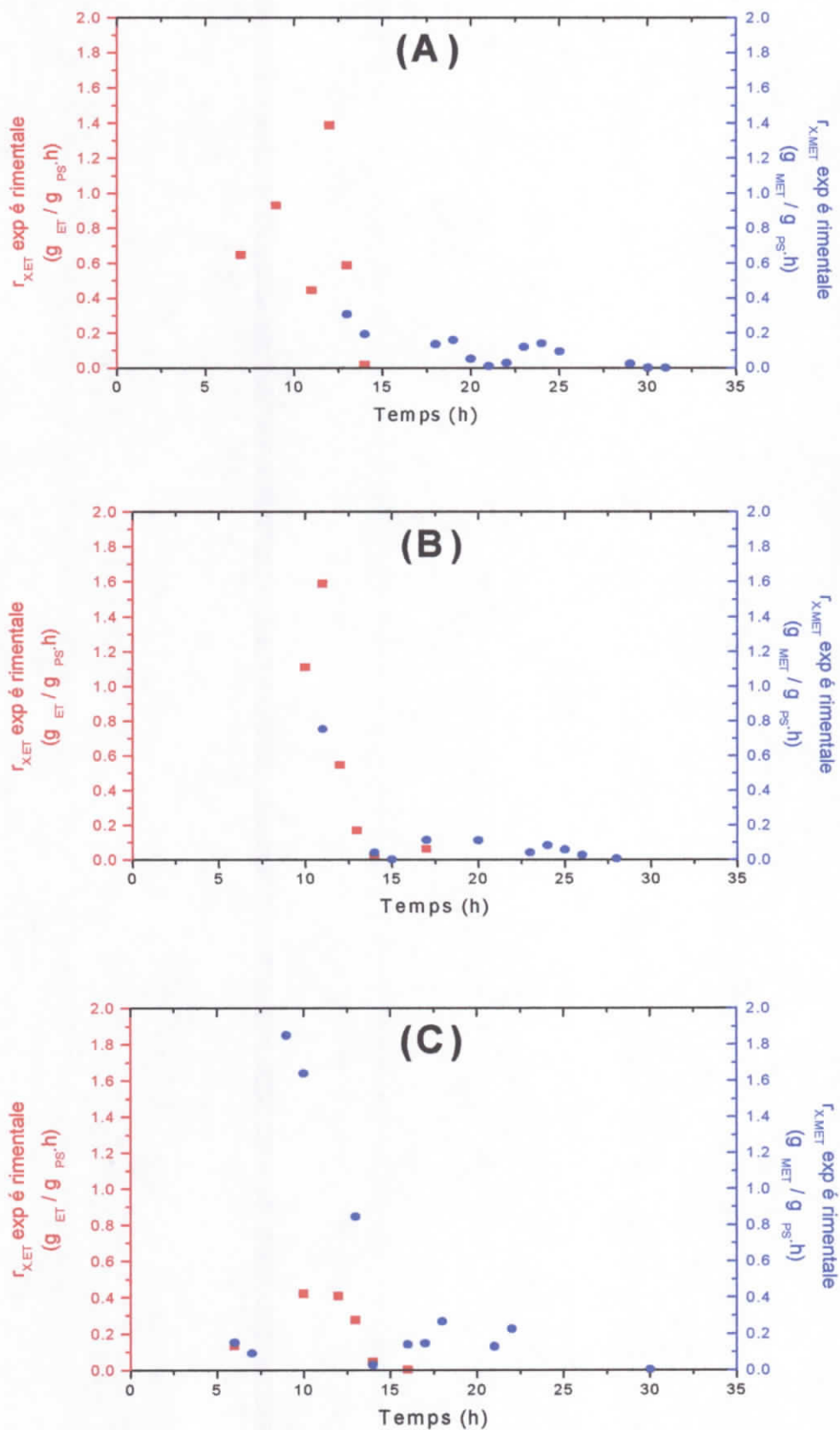


Figure 49. Evolution de $r_{X,MET}$ et de $r_{X,ET}$ en fonction du temps t pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

3.3.3. Conclusion

Une modélisation de la cinétique de croissance de type *Diauxie* observée lors de cette expérience est possible grâce au modèle proposé. Une modélisation de la dégradation du méthanol et de l'éthanol au cours du temps a également été réalisée. Les paramètres cinétiques correspondants ont pu être déterminés à partir de ces modèles et par traitement des données expérimentales.

Globalement, le modèle de croissance utilisé ne permet pas d'aboutir à des grandeurs de μ_{\max} reflétant fidèlement les valeurs expérimentales, ni ne traduit de façon fiable l'allure de ces grandeurs. Il est donc préférable, à des fins d'interprétations, d'utiliser les valeurs expérimentales de μ_{\max} . Les valeurs de $(r_{X.MET})_{\max}$ et de $(r_{X.ET})_{\max}$ théoriques sont proches des valeurs expérimentales. Cette constatation ne s'applique pas aux temps auxquels elles sont obtenues ainsi qu'aux concentrations en substrat correspondantes. A défaut de posséder d'autres modèles, il est préférable d'utiliser les valeurs expérimentales des paramètres cinétiques de croissance et de dégradation pour toute interprétation.

3.3.4. Influence des précultures

Une première expérience a été réalisée avec adaptation du consortium aux substrats (méthanol et éthanol) grâce aux précultures alors que la deuxième expérience est lancée sans précultures.

La comparaison entre les résultats des deux expériences met en évidence que l'absence des précultures fait apparaître une séquence d'affinités du consortium envers les substrats (méthanol et éthanol). Il consomme l'éthanol et le méthanol en première partie du graphique mais avec une préférence pour l'éthanol, alors que dans la deuxième partie, le restant de la charge globale du méthanol est consommé. On remarque aussi que les paramètres cinétiques de croissance et de dégradation font apparaître une consommation préférentielle du substrat le plus concentré.

Une comparaison entre les valeurs expérimentales de μ_{\max} des deux expériences est possible grâce au Tableau 40.

Tableau 40. Les valeurs expérimentales de μ_{\max} des deux expériences.

Première expérience						
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)	
μ_{\max} (h^{-1})	0,594		0,567		0,562	
Temps (h)	3		3		4	
Deuxième expérience						
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)	
μ_{\max} (h^{-1})	0,705	0,219	0,731	0,044	0,879	0,130
Temps (h)	6	23	5	21	6	25

On remarque que globalement, les valeurs de μ_{\max} de la première partie du graphique obtenues lors de la deuxième expérience sont supérieures à celles obtenues lors de la première expérience.

La même remarque sur les valeurs de $(r_{X,MET})_{\max}$ de la première partie du graphique obtenu lors de la deuxième expérience est possible si l'on se réfère au Tableau 41.

Tableau 41. Les valeurs expérimentales de $(r_{X,MET})_{\max}$ des deux expériences.

Première expérience						
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)	
$(r_{X,MET})_{\max}$	0,116		0,134		0,211	
Temps (h)	7		4		3	
Deuxième expérience						
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)		C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)	
$(r_{X,MET})_{\max}$	0,309	0,159	0,754	0,115	1,851	0,268
Temps (h)	13	19	11	17	9	18

Le Tableau 42 montre aussi que les valeurs de $(r_{X,ET})_{\max}$ de la deuxième expérience sont très élevées par rapport à ceux obtenue lors de la première expérience.

Tableau 42. Les valeurs expérimentales de $(r_{X,ET})_{max}$ des deux expériences.

Première expérience			
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)
$(r_{X,ET})_{max}$	0,264	0,497	0,294
Temps (h)	4	4	3
Deuxième expérience			
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)
$(r_{X,ET})_{max}$	1,386	1,587	0,419
Temps (h)	12	11	10

Le rendement $Y_{X/S}$ possède la valeur la plus élevée lorsque la concentration initiale en éthanol est plus élevée que celle du méthanol, suivi de celle du réacteur A avec des concentrations en méthanol et en éthanol de 1000 ppm. La plus faible valeur de $Y_{X/S}$ est obtenue lorsque le méthanol est plus concentré que l'éthanol (Tableau 43.). Cela met en évidence le fait que l'éthanol est un meilleur substrat pour le consortium utilisé. Cela est confirmé par le calcul de K_m de chaque substrat. Pour le réacteur batch A, on obtient un K_m de 25,027 ppm pour l'éthanol et un K_m de 583,512 ppm pour le méthanol.

Tableau 43. Les valeurs de $Y_{X/S}$ des deux expériences.

Première expérience			
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)
$Y_{X/S}$ (Mole _X /Mole _S)	0,716	0,803	0,681
Deuxième expérience			
Réacteur batch	A ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	B ([MeOH]=500 ppm et [EtOH]=1000 ppm)	C ([MeOH]=1000 ppm et [EtOH]=500 ppm)
$Y_{X/S}$ (Mole _X /Mole _S)	0,54	0,555	0,558

En moyenne, la valeur de $Y_{X/S}$ obtenue lors de l'expérience sans précultures est faible par rapport à celle obtenue lors de la première expérience.

En conclusion, on peut dire que l'absence de précultures favorise les cinétiques de croissance et de dégradation avec cependant une augmentation de la durée totale de consommation des substrats due à la phase de latence.

CONCLUSION

Conclusion


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

L'effet de la concentration initiale de méthanol appliquée sur les cinétiques de croissance et de dégradation a été étudié. Une inhibition liée à cette concentration est observée. Elle est supposée être causée par le substrat lui-même ou par ses métabolites. La littérature rapporte que les acides, surtout l'acide acétique et d'autres acides carboxyliques avec de faibles poids moléculaires sont le résultat de ces oxydations et sont ultérieurement métabolisés ou catabolisés (Deshusses, 1994). Il serait donc intéressant d'élargir la gamme des concentrations en méthanol et d'effectuer une caractérisation microbiologique du consortium afin de mettre en évidence les causes réelles de cette inhibition.

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

L'effet de la phase de latence a également été examiné en étudiant le comportement d'une biomasse n'ayant pas fait l'objet d'une adaptation au mélange méthanol-éthanol, d'une part, et celui d'une culture mixte ayant été acclimatée aux polluants à travers une série de précultures. Cette étude a permis de comparer les cinétiques afférentes aux deux situations et de les modéliser. Les résultats de la modélisation ont permis de conclure qu'en l'absence d'adaptation des microorganismes aux polluants, la phase de latence importante qui en résultait permettait d'obtenir un meilleur ajustement paramétrique des constantes cinétiques. L'utilisation de populations microbiennes adaptées permettait de supprimer la phase de latence et réduisait le nombre de données expérimentales qu'on pouvait accumuler en fin d'expérience. Cela se traduisait par un ajustement paramétrique moins précis.

La cinétique de Monod pour des substrats multiples a permis de modéliser la croissance dans le cas d'un mélange méthanol-éthanol mis en présence d'un consortium bien adapté aux substrats. Une croissance diauxique a pu être observée dans le cas d'un mélange méthanol-éthanol mis en présence d'un consortium non adapté. Des ajustements paramétriques faisant aux modèles de Monod appropriés ont pu être effectués. A défaut de posséder d'autres modèles de cinétiques de croissance ou de dégradation, il faut être prudent quant à l'interprétation des courbes théoriques obtenues par ajustement d'un modèle mathématique.



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

de la cinétique et de la biologie des micro-organismes obtenus à partir de cultures de *Methanohalobium salinarum*. Université de Louvain. Faculté des Sciences, Département de Génie Biologique, Boulevard du Sud, 2/19, B-1348, Louvain-la-Neuve.

Bagley D.M., (1995). Chloroform degradation in methanogenic methanol enrichment cultures and by *Methanohalobium barkeri* 227. *Applied and Environmental Microbiology*. **61**(9), 3195-3201.

Bazin, M. et Menell, A., (1990). Mathematical methods in microbial ecology, in Grigorova, R. and Norris, J.R. (éd.), *Methods in microbiology*, pp. 125-179, Academic Press.

Benstead J.; King G.M.; Williams H.G., (1998). Methanol promotes atmospheric methane oxidation by methanotrophic cultures and soils. *Applied and Environmental Microbiology*. **64**(3),1091-1098.

Billon G., (1994). *Wastewater microbiology*. Edition Wiley-Liss, Inc.

Biowise, (2000). VOC and odour abatement. A review of biological abatement technology. DTI (Department of Trade and Industry). England.

Blandin G.; Lorente B.; Malpertuy A.; Wincker P.; Artiquenave F.; Dujan B., (2000). Genomic exploration of the hemiascomycetous yeasts : 13. *Pichia angusta*. *FEBS Letters*. **24377** (487),76-81.

Bourinet C.; Venot S., (1999). Comment utiliser au mieux vos solvants ?. Réduire les émanations dans l'atmosphère : quelles solutions techniques. SOCREMATIC.

Charles-Bajard S., (1996). Modélisation à visée prévisionnelle de la cinétique de croissance d'une population de *Listeria monocytogenes*. Thèse de doctorat en Génétique et Biologie des Populations. Laboratoire de Biométrie. Université Claude Bernard LYON I.

Churchill J.E., (2001). Recent chemical exposures and blood volatile organic compound levels in a large population based sample. *Archives on Environmental Health*.

Clavel J.; Mandereau L., Conso F.; Limasset J.c. ; Pourmir I. ; Flandrin G. ; Hémon D.,(1998). Occupational exposure to solvents and hairy cell leukemia. **55**,59-64.

Deseveaux S.,(1995). Etude du comportement d'un biofilm et de sa capacité à biodégrader la methyl-ethyl-cetone dans un réacteur essentiellement à phase gazeuse. Mémoire d'ingénieur en chimie et en industrie agricole. Faculté des sciences agronomiques, Unité de génie biologique, Université catholique de louvain.

Deshusses M.A., (1994). Biodegradation of mixtures of ketone vapours in biofilters for the treatment of waste air. Thèse de doctorat en sciences techniques. Institut de technologie fédéral Suisse. Zurich.

- Geiger J. F.; Sempere J.; Ben R.; Santos J.,** (2000). Neurological deficits in solvent exposure: a study of the underlying impact of colour and olfactory deficits on motor and lesion of vibration sensation. *Gen. Med.* **93**,655-661.
- Doussin J.F.,** (1998). Etudes cinétiques et mécaniques des processus d'oxydation de composés organiques volatils d'importance troposphérique induits par le radical nitrate en atmosphère simulée. Thèse de doctorat en sciences.
- Dunn R.F. et El-Halwagi M.M.,** (1996). Design of cost-effective VOC-recovery systems. USA.
- Fedoruk M. J.; Kerger B. D.,** (2003). Measurement of volatile organic compounds inside automobiles. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology.* **13**, 31 – 41.
- Ferguson, Jr D.J.; Krzycki J.A.; Grahame D.A.,**(1995). Specific roles of methylcobamide: coenzyme M Methyltransferase isoenzymes in metabolism of methanol and methylamines in *Methanosarcina barkeri*. *The journal of Biological Chemistry.* **271**(9,1),5189-5194.
- Fitch M.W.; Speitel, Jr G.E.; Georgiou G.,** (1996). Degradation of trichloroethylene by methanol-grown cultures of *Methylosinus trichosporium* OB3b PP358. *Applied and Environmental Microbiology.* **62**(3), 1124-1128.
- Geiger J. ; Hoffmann T.; Kahl J.; Klockow D.; Korte E. H.; Schrader W.,** (1998). Using thermodesorption-GC/cryocondensation-FT-IR for the measurement of biogenic VOC emissions. *J. Anal. Chem.* **362**, 148–154.
- Gerrit Euverink,** (1995). Biosynthesis of phenylalanine and tyrosine in the methylotrophic actinomycetes *Amycolatopsis methanolica*. Thèse de p.H.D. Faculté de Groningen.
- Gilka Jorge Figaro Gattas; Lais de Almeida Cardoso ; Marcilia de Araujo Medrado-Faria; Pedro Henrique Saldanha,** (2001). Frequency of oral mucosa micronuclei in gas station operators after introducing methanol. *Occup. Med.* **51**(2),107-113.
- Grady, Jr C.P.L.; Dang J.S.; Harvey D.M.; Jobbagy A.; Wang X.L.,**(1989). Determination of biodegradation kinetics through use of electrolytic respirometry. *Wat. Sci. Tech.* **21**,957-968.
- Gout E.; Aubert S.; Bligny R.; Rébeillé F. ; Nonomura A.R. ; Benson A.A. ; Douce R.,**(2000). Metabolism of methanol in plant cells. Carbon-13 nuclear magnetic resonance studies. *Plant physiology.* **123**,287-296.
- Guo H.; Lee S.C.; Chan L.Y.; Li W.M.,** (2004). Risk assessment of exposure to volatile organic compounds in different indoor environments. *Environmental Research.* **94**.57–66

Hori H., Yamada T., Yamamoto H., Morimoto Y, Tanaka T. (1999) Effect of ammonia on the biodegradation of ethanol vapour on their metabolites. *J. Occup. Health*. **41**, 149-154.

Hodge D.S. et Devigny J.S., (1994). Biofilter treatment of ethanol vapors. *Environ. Prog.* **13**, 167-173.

Howard P.H., (1990). Handbook of environmental fate and exposure data for organic chemicals. Ed. Lewis Publishers, Chelsea, Michigan.

Hubbard C.E., Barker J.F. et Vandegriendt M., (1994). Transport and fate of dissolved methanol, methyl-tertiary-butyl-ether and monoaromatic hydrocarbons in a shallow sand aquifer. Appendix H: Laboratory biotransformation studies. American Petroleum Institute. Pub. No. 4601.

Institut National de Recherche Scientifique (INRS), (1997). Fiche toxicologique n°5: METHANOL.

Jeffrey Brent M.D. ; Mc Martin K. ; Phillips S.; Aaron C.; Kulig K., (2001). Fomepizole for the treatment of methanol poisoning. *N.Eng.J.Med.* **344**(6).

Katare S. et Venkatasubramanian V., (2001). An agent-based learning framework for modelling microbial growth. *Engineering Applications of Artificial Intelligence.* **14**, 715-726.

Koch A.L., (1997). Microbial physiology and ecology of slow growth. *Microbiology and Molecular Biology Reviews.* **61**(3), 305-318.

Korpi A. ; Pasanen A-L. et Pasanen P., (1998). Volatile compounds originating from mixed microbial cultures on building materials under humidity conditions. *Applied and Environmental Microbiology.* **64**(8), 2914-2919.

Kovarova-Kovar K. et Egli T., (1998). Growth kinetics of suspended microbial cells: from single-substrate-controlled growth to mixed-substrate kinetics. *Microbiology and Molecular Biology REVIEWS.* **62**(3), 646-666.

Le Cloirec P.; Fanlo J.L. ; Degroce-Dumas J.R.(1991). Traitement biologique des odeurs. Dans : rapport sur : Traitement des odeurs et désodorisation industrielle, 179-220, TechTendances, Etudes Technologiques, Ed. INNOVATION 128s.a., Centre de prospective et d'études, Ministère de la recherche et de la technologie, Paris.

Le Conseil fédéral suisse (C.F.S), (2002). Ordonnance sur la taxe d'incitation sur les composés organiques volatils (OCOV). Section 1, Art.1, 814.018.

- Lehmann I.; Thielke A.; Rehwagen M.; Rolle-Kampczyk U.; Schlink U.; Schultz R.; Borte M.; Diez U.; Herbarth O.,**(2002). The influence of maternal exposure to volatile organic compounds on the cytokine secretion profile of neonatal T cells. *Environmental toxicity*,17 (3),203-210.
- Lobry J.R.,** (1991). Ré-évaluation du modèle de croissance de MONOD. Effet des antibiotiques sur l'énergie de maintenance. Thèse de Doctorat. Université Claude Bernard, Lyon I.177 pp.
- Mégarbane B.,**(2000). Intoxication aiguë par le méthanol. Encyclopédie Orphanet.
- Meinck F.; Stooff H.; Kohlschutter H.,** (1970).Les eaux résiduaires industrielles. Ed. Masson et Cie.
- Mester R.E. ; Harrison R.M.,** (1995). Volatile organic compounds in the atmosphere. Ed. Royal Society of Chemistry.
- Michigan Department of Environmental Quality (M.D.E.Q); Air Quality Division,** (1995). Procedures for correlating Michigan's and U.S. Environmental Protection Agency's (U.S.E.P.A) definition of volatile organic compounds (VOC).Operational Memorandum N° 5.
- Motiyama H.; Yano H., Terasaki Y.; Anazawa H.,** (2001). Overproduction of L-Lysine from methanol by *Methylobacillus glycogenes* derivatives carrying a plasmid with a mutated *dapA* gene. *Applied and Environmental Microbiology*. 67(7),3064-3070.
- Narang A.; Konopka A.; Ramkrishna D.,** (1997 *a*). Dynamic analysis of the cybernetic model for diauxic growth. *Chemical Engineering Science*. 52(15), 2567-2578.
- Narang A.; Konopka A.; Ramkrishna D.,** (1997 *b*). The Dynamics of Microbial Growth on Mixtures of Substrates in Batch Reactors. *J. theor. Biol.*184,301-317.
- Office of pollution prevention and toxics (USEPA),** (1994). Chemical summary for methanol. U. S. Environmental Protection Agency. EPA 749-F-94-013a.
- The OTF2 Biogenics Work Group,** (2000). Biogenic sources. For: The Steering Committee For the Baton rouge Area Ozone. Technical Task Force. USA.
- Picquet B.;Heroux S.; Chebbi A. ;Doussin J.F. ;Durand-Jolibois R. ; Monod A. ;Loirat H. ;Carlier P.,** (1998). Kinetics of the reactions of OH radicals with some oxygenated volatile organic compounds under simulated atmospheric conditions. *International Journal of Chemical Kinetics*, 30 (11),839-847.
- Pirnie M.,** (1999). Evaluation of the fate and transport of methanol in the environment. American Methanol Institute. USA.
- Pitter P.,** (1976). Determination of biological degradability of organic substances. *Water Research*.10,231-235.

Prince T.S.; Spengler S.E.,(2001). Severe headache associated with occupational exposure to Stoddard solvent. *Occp Med.* **51**(2),136-138.

Rinne J., (2001). Application and development of surface layer flux techniques for measurements of volatile organic compound emissions from vegetation. Dissertation académique en météorologie, Helsinki.

Rosenberg E.; Rainer A.; Hallama R. A.; Grasserbauer M., (2001). Development and evaluation of a calibration gas generator or the analysis of volatile organic compounds in air based on the injection method. *J. Anal. Chem.* **371**, 798–805

Rosso L.; Lobry J. R.; Bajard S.; Flandrois J. P., (1995). Convenient Model To Describe the Combined Effects of Temperature and pH on Microbial Growth. *Applied and Environmental Microbiology.* **61**(2), 610–616 .

Roques H., (1980). Fondements théoriques du traitement biologique des eaux, Vol.2.

Rouessac F. et Rouessac A., (1994). Analyse chimique : méthodes et techniques instrumentales modernes. Enseignement de la chimie. Edition Masson.

Scheromm P., (1993). Biocarburants: à vos marques. *Biofutur* . N°127.

Schroeder E.D., (1997). Water and wastewater treatment. Edition Mc Graw-Hill.

Schuler M.L., Kargi F., (1992). Bioprocess Engineering: Basic concepts. Edition Prentice Hall PTR.

Scriban R., (1993). Biotechnologie (4^{ème} édition). Ed. Technique et documentation Lavoisier.

Steiner A.; Luo C.; Huang Y. et Chameides W.L., (1999). Past and present-day biogenic volatile organic compound emissions in East Asia. School of Earth and Atmospheric Sciences, Georgia and Institute of Technology, Atlanta. USA.

Tephly T.R., (1991). The toxicity of methanol. *Life sciences.* **48**,1031-1041.

Official Journal of the European Communities EN (O.J.E.C), (1999). Council Directive 1999/13/EC of 11 March 1999 on the limitation of emissions of volatile organic compounds due to the use of organic solvents in certain activities and installations. The Council of the European Union.

Vandermesse F., (1996). Capacité d'une communauté microbienne mixte à dégrader la MEK en réacteur batch en vue de l'optimisation d'un bioréacteur. Mémoire pour l'obtention du diplôme d'études en sciences naturelles appliquées. Option Biotechnologie industrielle. Université catholique de Louvain.

Villaverde S. et Fernandez-Polanco, (1999). Spatial distribution of respiratory activity in *Pseudomonas putida*54G biofilms degrading volatile organic compounds (VOC). *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **51**, 382-387.

Wheatley R.E.,(2002). The consequences of volatile organic compound mediated bacterial and fungal interactions. *Antonie Van Laewenhock*.**81**, 357-364.

Weissermel A., (1997). *Chimie Organique industrielle*. Edition Deboeck Université.

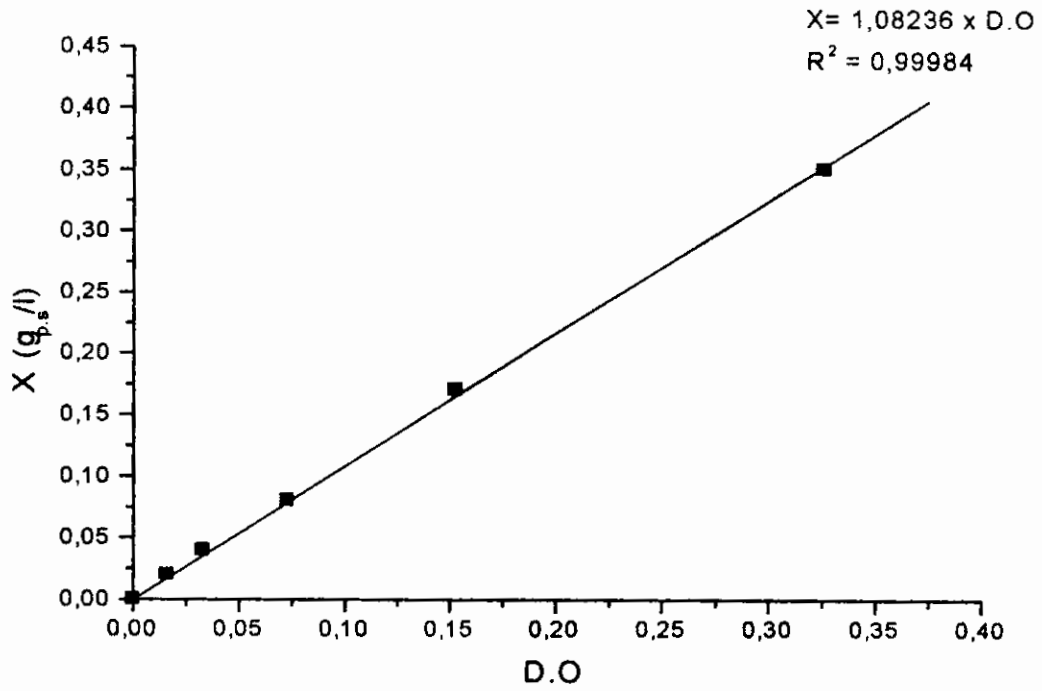
World Health Organisation (WHO), (1997). *Methanol*. *Environmental Health Criteria*.**196**,180p.

Xu Y. et Zhang Y., (2004). A general model for analyzing single surface VOC emission characteristics from building materials and its application. *Atmospheric Environment*. **38**, 113–119.

Zandvoort M.H.; Osuna M.B.; Geerts R.; Lettinga G. et Lens L.N., (2002). Effect of nickel deprivation on methanol degradation in a methanogenic granular sludge bioreactor. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*.**29**, 268 – 274.

ANNEXES

Annexe i

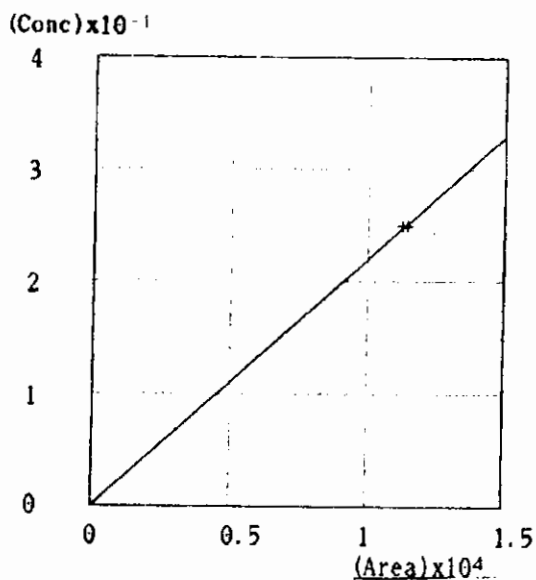


Exemple de courbe d'étalonnage reliant la concentration en biomasse X à la densité optique D.O

Annexe 2

IDENTIFICATION TABLE

IDNO	Name	Time	Band	Conc	Factor(1)	Factor
1	METHANOL	2.1		1000.45	2.20197E-5	1.49012E



IDNO: 1
NAME: METHANOL

Factor(1) Factor(2)
2.20197E-5 1.49012E-8

r = 1
r² = 1



C-R8A CHROMATOPAC CH=1 Report No.=13

DATA=1:@CHRM1.C08 03/04/25 11:39:32

** CALCULATION REPORT **

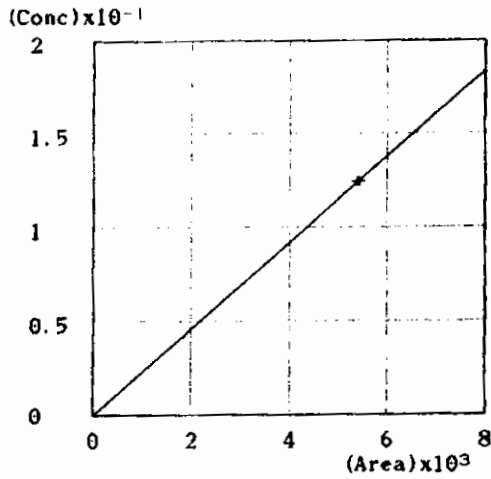
CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	2.151	10324	3283		1	1661.7158	METHANOL
TOTAL			10324	3283			1661.7158	

Exemples de courbe d'étalonnage du méthanol et de chromatogramme

Annexe 3

IDENTIFICATION TABLE

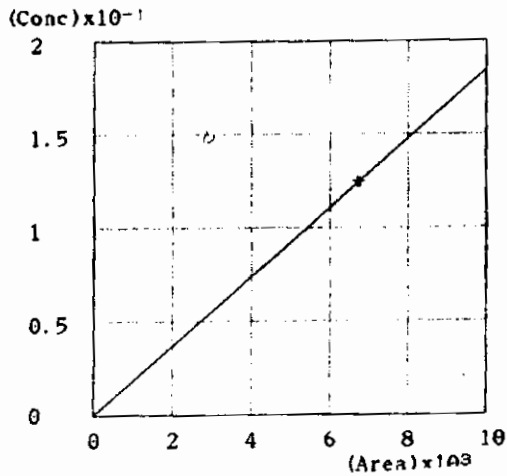
IDNO	Name	Time	Band	Conc	Factor(1)	Factor(2)
1	METHANOL	2.12		497.376	2.29459E-5	1.49012E-8
2	ETHANOL	2.2		498.648	1.84615E-5	



IDNO: 1
NAME: METHANOL

Factor(1) Factor(2)
2.29459E-5 1.49012E-8

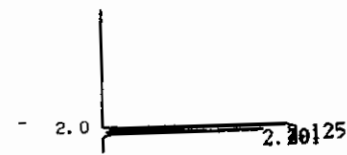
r = 1
r² = 1



IDNO: 2
NAME: ETHANOL

Factor(1) Factor(2)
1.84615E-5 0

r = 1
r² = 1



C-RSA CHROMATOPAC CH=1 Report No.=60

DATA=1:CHRM1.C00 03/09/28 12:42:04

** CALCULATION REPORT **

CH	PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	1	2.125	5242	3504		1	492.9515	METHANOL
	2	2.201	3775	3019	V	2	286.0057	ETHANOL
TOTAL			9017	6523			778.9572	

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

ANNOTATIONS

ABREVIATIONS

COV : Composés Organiques Volatils

EC : European Communities

MTBE : Methyl Ter Butyle Ether

USEPA : United States Environmental Protection Agency

SYMBOLES

X : Concentration en biomasse

S : Concentration du substrat

t : Temps

μ_{\max} : Taux spécifique de croissance maximum

$(r_{X,S})_{\max}$: Vitesse spécifique maximale de consommation du substrat

$Y_{X/S}$: Rendement de conversion du substrat en biomasse

K_s : Coefficient de demi-saturation

UNITES

mbar : milli-bar

° C : degré Celsius

ng/m³ : nanogramme par mètre-cube

µg/m³ : microgramme par mètre-cube

mg/m³ : milligramme par mètre-cube

g.m⁻³.h⁻¹ : gramme par mètre-cube et par heure

Kg : kilogramme

h⁻¹ : 1/heure

g_{ps}/l : gramme de poids sec par litre

mm Hg : millimètre de mercure

atm.m³/mole : atmosphère et mètre-cube par mole

h : heure

mg/l : milligramme par litre

mmole/l : millimole par litre

mg/kg/jour : milligramme par kilogramme et par jour

U/mg : unité par milligramme

ppm : parts per millions

g/l : gramme par litre

g/s : gramme par seconde

ml/mn : millilitre par minute

g_{ps}/g_s : gramme de poids sec par gramme de substrat

(g_{ps} / g_s. h) : gramme de poids sec par gramme de substrat et par heure

(w/v) : poids par volume

(v/v) : volume par volume



ILLUSTRATIONS

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Schéma des différentes phases de la croissance bactérienne en milieu liquide

Figure 2. Schéma d'une croissance microbienne dans un environnement binaire de substrats

Figure 3. Les valeurs des paramètres μ_{max} et K_s du modèle de Monod, toutes espèces et tous substrats limitants confondus.

Figure 4. Schéma récapitulatif des différentes composantes du CPG.

Figure 5. Un chromatographe SCHIMADZU de type GC-17A combiné à une colonne capillaire de type DB-5 (0,25 mm D.I x 30 m) et un détecteur FID.

Figure 6. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{PS}/l) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol. A_1 correspond à la concentration initiale en biomasse, A_2 à la concentration finale en biomasse, x_0 au centre de la sigmoïde et αx à la constante du temps.

Figure 7. Evolution de la concentration en méthanol résiduel (ppm) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol.

Figure 8. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{PS}/l) et de la concentration en méthanol résiduel (ppm) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol.

Figure 9. Partie linéaire de l'évolution du logarithme népérien de la concentration en biomasse $\ln X$ en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol.

Figure 10. Evolution du taux spécifique de croissance expérimental μ_{n+1} (h^{-1}) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol.

Figure 11. Evolution du taux spécifique de croissance théorique μ en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol.

Figure 12. Evolution du taux spécifique de croissance expérimental μ_{n+1} (h^{-1}) en fonction de la concentration en méthanol résiduel (ppm) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol.

Figure 13. Evolution du taux spécifique de croissance théorique μ (h^{-1}) en fonction de la concentration en méthanol (ppm) (valeurs obtenues après lissage) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol.

Figure 14. Evolution de la vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{X,MET}^{(n+1)}$ expérimentale ($g_{PS}/g_{MET}.h$) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol.

Figure 15. Evolution de la vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{X,MET}$ théorique ($g_{PS} / g_{MET} .h$) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol.

Figure 16. Evolution de la vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{X,MET}^{(n+1)}$ expérimentale ($g_{PS} / g_{MET} .h$) en fonction de la concentration en méthanol résiduel (ppm) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol.

Figure 17. Evolution de la vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{X, MET}$ théorique ($g_{PS} / g_{MET} \cdot h$) en fonction de la concentration en méthanol (ppm) (valeurs obtenues après lissage) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol, (B) 2000 ppm de méthanol et (C) 3000 ppm de méthanol.

Figure 18. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{PS}/l) en fonction du temps pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Figure 19. Evolution de la concentration en méthanol résiduel en fonction du temps pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Figure 20. Evolution de la concentration en éthanol résiduel en fonction du temps pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Figure 21. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{PS}/l) et de la concentration en méthanol résiduel (ppm) et en éthanol résiduel (ppm) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Figure 22. Partie linéaire de l'évolution du logarithme népérien de la concentration en biomasse $\ln X$ en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Figure 23. Evolution du taux spécifique de croissance expérimental μ_{n+1} (h^{-1}) en fonction du temps t (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Figure 24. Evolution du taux spécifique de croissance théorique μ en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Figure 25. Evolution du taux spécifique de croissance expérimental μ_{n+1} (h^{-1}) en fonction de la concentration en méthanol résiduel (ppm) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Figure 26. Evolution du taux spécifique de croissance expérimental μ_{n+1} (h^{-1}) en fonction de la concentration en éthanol résiduel (ppm) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Figure 27. Evolution du taux spécifique de croissance théorique μ en fonction de la concentration en méthanol (ppm) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Figure 28. Evolution du taux spécifique de croissance théorique μ (h^{-1}) en fonction de la concentration en éthanol (ppm) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Figure 29. Evolution de la vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{X,MET}^{(n+1)}$ expérimentale ($g_{PS} / g_{MET}.h$) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Figure 30. Evolution de la vitesse spécifique de consommation de l'éthanol $r_{X,ET}^{(n+1)}$ expérimentale ($g_{PS} / g_{ET}.h$) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Figure 31. Evolution de la vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{X,MET}$ théorique ($g_{PS} / g_{MET}.h$) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Figure 32. Evolution de la vitesse spécifique de consommation de l'éthanol $r_{X,ET}$ théorique ($g_{PS} / g_{ET}.h$) en fonction du temps (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Figure 33. Evolution de la vitesse spécifique de consommation du méthanol $r_{X,MET}^{(n+1)}$ expérimentale ($g_{PS} / g_{MET}.h$) en fonction de la concentration en méthanol résiduel (ppm) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol

Figure 34. Evolution de la vitesse spécifique de consommation de l'éthanol $r_{X,ET}^{(n+1)}$ expérimentale ($g_{PS} / g_{ET}.h$) en fonction de la concentration en éthanol résiduel (ppm) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Figure 35. Evolution de la concentration en biomasse X (g_{PS}/l) en fonction du temps t (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Figure 36. Evolution de la concentration en méthanol résiduel (ppm) en fonction du temps t (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 500 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Figure 37. Evolution de la concentration en éthanol résiduel (ppm) en fonction du temps t (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm d'éthanol et 1000 ppm de méthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 500 ppm d'éthanol et 1000 ppm de méthanol.

Figure 38. Evolution de la concentration en biomasse X et de la concentration en méthanol et en éthanol résiduel en fonction du temps t pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Figure 39. Evolution du taux spécifique de croissance expérimental μ_{n+1} (h^{-1}) en fonction du temps t (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Figure 40. Evolution du taux spécifique de croissance théorique μ (h^{-1}) en fonction du temps t (h) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Figure 41. Evolution du taux spécifique de croissance expérimental μ_{n+1} (h^{-1}) en fonction de la concentration en méthanol résiduel (ppm) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Figure 42. Evolution du taux spécifique de croissance expérimental μ_{n+1} (h) en fonction de la concentration en éthanol résiduel (ppm) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Figure 43. Evolution du taux spécifique de croissance théorique μ (h^{-1}) en fonction de la concentration en méthanol (ppm) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Figure 44. Evolution du taux spécifique de croissance théorique μ (h^{-1}) en fonction de la concentration en éthanol (ppm) pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Figure 45. Evolution de la vitesse de consommation expérimentale du méthanol $(r_{X,MET})_{n+1}$ ($g_{PS} / g_{MET} \cdot h$) en fonction du temps pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Figure 46. Evolution de la vitesse de consommation expérimentale de l'éthanol $(r_{X,ET})_{n+1}$ ($g_{PS} / g_{ET} \cdot h$) en fonction du temps pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Figure 47. Evolution de la vitesse de consommation théorique du méthanol $(r_{X,MET})$ en fonction du temps pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Figure 48. Evolution de la vitesse de consommation théorique de l'éthanol $(r_{X,ET})$ en fonction du temps pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

Figure 49. Evolution de $r_{X,MET}$ et de $r_{X,ET}$ en fonction du temps t pour les différents réacteurs batch contenant : (A) 1000 ppm de méthanol et 1000 ppm d'éthanol, (B) 1000 ppm d'éthanol et 500 ppm de méthanol, (C) 1000 ppm de méthanol et 500 ppm d'éthanol.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Les différents procédés biologiques

Tableau 2. Biodégradabilité de certains polluants.

Tableau 3. Propriétés physiques du méthanol

Tableau 4. Composition du milieu nutritif (Deseveaux, 1995)

Tableau 5. Composition du milieu nutritif (Vandermesse, 1996)

Tableau 6. Valeurs des paramètres du modèle de l'équation 4 obtenues après son ajustement paramétrique sur celle de la courbe expérimentale de croissance.

Tableau 7. Valeurs des paramètres du modèle de l'équation 6 obtenues après son ajustement paramétrique sur celle de la courbe expérimentale de dégradation du méthanol.

Tableau 8. Valeurs du taux spécifique de croissance maximum μ_{max} déterminées par quatre méthodes décrites par les équations 6, 7, 10 et 11.

Tableau 9. Valeurs du rendement de conversion du méthanol en biomasse par le consortium bactérien $Y_{X/MET}$ dans les différents réacteurs batch.

Tableau 10. Valeurs observées de μ_{max} expérimental aux temps correspondants pour les différents réacteurs batch.

Tableau 11. Valeurs de K_m des trois réacteurs batch.

Tableau 12. Valeurs du taux spécifique de croissance maximum μ_{max} expérimental et théorique aux temps et aux concentrations en méthanol correspondantes pour les différents réacteurs batch.

Tableau 13. Valeurs de t correspondantes à μ_{max} et de x_0 pour les différents réacteurs batch.

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

Tableau 15. Valeurs de $(r_{X,MET})_{max}$ et de μ_{max} expérimentales avec les temps auxquels ils sont atteints et les concentrations en méthanol correspondantes.

Tableau 16. Valeurs du rendement de conversion du méthanol par des souches pures

Tableau 17. Comparaison de certaines grandeurs de croissance et de dégradation pour deux valeurs différentes de la concentration initiale en biomasse X_0 .

Tableau 18. Valeurs des paramètres du modèle de l'équation 4 obtenues après son ajustement paramétrique sur celle de la courbe expérimentale de croissance.

Tableau 19. Valeurs des paramètres de l'équation 6 obtenues après son ajustement paramétrique sur celle de la courbe expérimentale de dégradation du méthanol.

Tableau 20. Valeurs des paramètres de l'équation 6 obtenues après son ajustement paramétrique sur celle de la courbe expérimentale de dégradation de l'éthanol.

Tableau 21. Valeurs du taux spécifique de croissance maximum μ_{max} déterminées par quatre méthodes décrites par les équations 6, 7, 10 et 11.

Tableau 22. Valeurs du rendement de conversion des substrats en biomasse par le consortium bactérien dans les différents réacteurs batch.

Tableau 23. Valeurs expérimentale et théorique du taux spécifique maximum de croissance μ_{max} , les temps auxquels elles sont atteintes et les concentrations en méthanol correspondantes pour les différents réacteurs batch.

Tableau 24. Les valeurs de μ_{max} en fonction de la somme des concentrations en méthanol et en éthanol.

Tableau 25. Valeurs de t correspondantes à μ_{max} et de x_0 pour les différents réacteurs batch.

Tableau 26. Valeurs de la vitesse de consommation du méthanol maximum $(r_{X,MET})_{max}$ expérimentale et théorique, les temps auxquels elles sont atteintes et les concentrations en méthanol correspondantes pour les différents réacteurs batch.

Tableau 27. Valeurs de la vitesse de consommation de l'éthanol maximale $(r_{X,ET})_{max}$ expérimentale et théorique aux temps et aux concentrations en éthanol correspondantes pour les différents réacteurs batch.

Tableau 28. Comparaison entre les valeurs des paramètres cinétiques de croissance et de dégradation étudiées de la première et la deuxième expérience.

Tableau 29. Valeurs des paramètres du modèle de l'équation 19 obtenues après son ajustement paramétrique sur celle de la courbe expérimentale de croissance .

Tableau 30. Valeurs des paramètres du modèle de l'équation 6 obtenues après son ajustement paramétrique sur celle de la courbe expérimentale de dégradation du méthanol.

Tableau 31. Valeurs des paramètres du modèle de l'équation 6 obtenues après son ajustement paramétrique sur celle de la courbe expérimentale de dégradation de l'éthanol .

Tableau 32. Valeurs du taux spécifique de croissance maximum μ_{max} déterminées par trois méthodes décrites par les équations 6, 7 et 11.

Tableau 33. Valeurs du rendement de conversion des substrats en biomasse par le consortium bactérien dans les différents réacteurs batch.

Tableau 34. Comparaison entre les valeurs de S_0 , de p_1 et de la charge appliquée de méthanol ou d'éthanol.

Tableau 35. Comparaison entre les valeurs expérimentales et théoriques de μ_{max} de chaque réacteur batch.

Tableau 36. Comparaison entre les valeurs expérimentales de μ_{max} de la deuxième partie du graphique et celles de l'équation de consommation du méthanol des trois réacteurs batch.

Tableau 37. Comparaison entre les valeurs expérimentales de μ_{max} de la première partie du graphique et celles de l'équation de consommation de l'éthanol des trois réacteurs batch.

Tableau 38. Valeurs de la vitesse de consommation du méthanol maximum $(r_{X,MET})_{max}$ expérimentale et théorique aux temps et aux concentrations en méthanol correspondantes pour les différents réacteurs batch.

Tableau 39. Valeurs de la vitesse de consommation de l'éthanol maximale $(r_{X,ET})_{max}$ expérimentale et théorique aux temps et aux concentrations en éthanol correspondantes pour les différents réacteurs batch.

Tableau 40. Les valeurs expérimentales de μ_{max} des deux expériences.

Tableau 41. Les valeurs expérimentales de $(r_{X,ET})_{max}$ des deux expériences.

Tableau 42. Les valeurs expérimentales de $(r_{X,MET})_{max}$ des deux expériences.

Tableau 43. Les valeurs expérimentales de $Y_{X/S}$ des deux expériences.

Title

Biodegradation of methanol in batch reactor: Influence of the presence of ethanol and of initial conditions of culture

Abstract

The present study contributes to the comprehension of the biological phenomena which control the degradation of the volatile organic compounds in a series of reactors in batch mode.

The principal compound having been the subject of experimentation in batch reactor with a consortium coming from the station of purification of El Méria is methanol.

Experiments utilizing a mixture of methanol and ethanol highlight the antagonist effect of ethanol on the biodegradation of methanol.

The effect of the initial concentration of biomass X_0 on the biodegradation of methanol by the consortium used allows a better kinetics of biomass growth and substrate degradation. Its increase induces a better yield of conversion of methanol into biomass and a significant concomitant reduction of time necessary for the complete abolition of methanol.

The study of the absence of adaptation of the microorganisms to the mixture of methanol and ethanol allows the obtainment of better values of the kinetics constants of biomass growth and substrate degradation with in against part a light increase of the duration of consumption of the substrates (methanol, ethanol) and of microbial growth.

Key words:

Methanol, ethanol, biodegradation, consortium, batch reactor, initial concentration of biomass, adaptation, kinetics constants.

العنوان:

التحلل الحيوي للميثانول في محرك " batch " :
تأثير وجود الإيثانول و الظروف الأولية للزراعة.

ملخص:

إن هذه الدراسة تهدف إلى فهم الظواهر البيولوجية التي تتحكم في تحلل المركبات العضوية الطائفة في مجموعة من المحركات من نوع " batch ".
المركب الأساسي المستعمل أثناء هذه التجربة في وسط مغلق محتوي على مزيج من الكائنات الحية الدقيقة (consortium) تم انتقاؤه من مركز تصفية المياه المتواجد بالمنية (قسنطينة) هو الميثانول.

التجارب المستعمل فيها مزيج من الميثانول و الإيثانول تثبت عدم تأزر الإيثانول على التحلل الحيوي للميثانول.

تأثير التركيز الأولي لكمية المادة الحية X_0 على التحلل الحيوي للميثانول بواسطة مزيج من الكائنات الحية الدقيقة (consortium) المستعمل يعتبر ايجابي عند دراسة حركيات نمو الكائنات الحية الدقيقة وتحلل الميثانول. ارتفاعه يؤدي إلى تحول أحسن للميثانول إلى مادة حية مع انخفاض معتبر للمدة اللازمة للاستهلاك الكلي للميثانول.

دراسة عدم ملائمة الكائنات الحية الدقيقة للمزيج (ميثانول، إيثانول) تنتج أحسن الثوابت الحركية مع زيادة في مدة استهلاك الميثانول و الإيثانول.

Nom : BELDJOUDI

Date de Soutenance

Prénom : MONA-FERYALE

04 Juillet 2004

Titre :

**Biodégradation du méthanol en réacteur batch :
Influence de la présence d'éthanol et des conditions de culture initiales**

Nature du Diplôme :

Magister en Pharmacochimie

Résumé :

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

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

Des expériences faisant intervenir un mélange de méthanol et d'éthanol mettent en évidence l'effet antagoniste de l'éthanol sur la dégradation du méthanol.

L'effet de la concentration initiale en biomasse X_0 sur la biodégradation du méthanol par le consortium utilisé s'avère favorable aux cinétiques de croissance et de dégradation du méthanol. Son augmentation induit un meilleur rendement de conversion du méthanol en biomasse et une réduction concomitante significative du temps nécessaire pour l'élimination totale du méthanol.

L'étude de l'absence d'adaptation des microorganismes au mélange de méthanol et d'éthanol permet d'obtenir des valeurs plus élevées des constantes cinétiques de croissance et de dégradation avec en contre partie une légère augmentation de la durée de consommation des substrats (méthanol, éthanol) et de la croissance microbienne.

Mots clés :

Méthanol, éthanol, biodégradation, consortium, réacteur batch, concentration initiale en biomasse, adaptation, constantes cinétiques.

Laboratoire de Recherche :

Laboratoire Pollution et Traitement des Eaux

Jury :

Dr. DERRADJI A.	Maitre de Conférence	Président
Dr. ALI-KHODJA H.	Maitre de Conférence	Encadreur
Dr. MOUATS C.	Maitre de Conférence	Examineur
Dr. LEGHOUCHI S.	Maitre de Conférence	Examineur