

ELIMINATION DE MELANGE DE DEUX COMPOSES "PHENOL" POTENTIELLEMENT BIODEGRADABLES EN FILTRATION BIOLOGIQUE LENTE SUR SABLE ET SUR POLYSTYRENE

M.M. Malam Alma*, G. Matejka**, P. Chazal**.

* *Université de Niamey, Faculté des Sciences, Département de Chimie,
BP 10662 Niamey/Niger*

** *Laboratoire de Génie Chimique - Traitement des eaux et des Déchets
123, Avenue Albert Thomas, 87000 Limoges/France.*

Reçu le 27 Janvier 1999 - Révisé le 23 avril 1999

Summary : The experiments were carried out to remove biodegradable molecules from mixing. Two columns of filtration having 120 cm height were used. One was filled with sand (down flow filtration) and the other contained polystyren beads (up flow filtration). The choice of this filtration model is according to the density of sand and polystyren. The height of these filters was 70 cm. The filtration velocity was 230 ml.H⁻¹. The seeding was done with a wastewater from the treatment plant of Limoges city. The bacterial growth and maintenance on the support (sand, polystyren) were performed using a glucose - ammonium - salts medium (CaCl₂, MgSO₄, NH₄Cl, KH₂PO₄, FeCl₃, CaCO₃). The organic pollutants studied were : phenol and orthochlorophenol (OCP). The principle consisted to use one of phenol compounds as principal carbon source for bacteria (3 mg.L⁻¹) and to add progressively small concentrations of the second phenol compound from an initial level of 10 mg.L⁻¹. The addition of the second phenol compound was stopped when the elimination of one of phenol compound at least was not any more carried out. Samples were taken from the top and exit of filters and were analysed using HPLC at 270 nm.

From this study, it can be established that whichever the mixture phenol was eliminated preferentially by bacterium.

Key - words : phenol compounds, biological filtration, preferential elimination

INTRODUCTION

L'élimination des composés d'origine industrielle comme le phénol et l'orthochlorophénol pose aujourd'hui des sérieux problèmes dans la lutte contre la pollution, qu'il s'agisse de l'eau en particulier ou de l'environnement en général. Depuis de nombreuses années la filtration lente est utilisée pour éliminer les polluants organiques. Le principe de la filtration lente est d'utiliser des micro-organismes fixés sur un matériau filtrant pour l'élimination de la pollution organique et minérale grâce à la présence des bactéries hétérotrophes et/ou autotrophes [1-6]. Lorsque l'eau percole sur une couche de matériau à une vitesse de 2 à 5 m.j⁻¹, il se développe à la surface du filtre une biocénose composée de bactéries, de zooplancton, d'algues, qui vont vivre à la fois en symbiose et en prédateurs les uns des autres [5, 7]. Les autres avantages de la filtration lente sont multiples.

* Elimination biologique des micropolluants minéraux par oxydation, c'est le cas de Fe, Mn, ou par coprécipitation, c'est le cas de Pb, Cd, Zn [8].

* Oxydation de l'ion ammoniacal en ion nitrite [9-11].

De nombreux travaux ont montré que les filtres biologiques sont capables d'éliminer au moins 80% du carbone organique biodégradable [12-18].

Dans cette étude le principe de la filtration biologique lente a été retenu en vue d'éliminer les mélanges de molécules potentiellement biodégradables.

MATERIELS ET METHODES

Les composés choisis dans cette étude sont le phénol et l'orthochlorophénol (OCP). Le principe de la manipulation consiste à utiliser un composé de type phénol comme source principale de carbone pour les bactéries (3 mg.L⁻¹) et d'ajouter toutes les 24 heures à des petites quantités un autre composé de type phénol (à partir de 10 mg.L⁻¹), afin

d'étudier l'importance de l'utilisation secondaire des composés organiques par les bactéries et d'autre part les effets inhibiteurs de certains composés sur d'autres. L'addition du deuxième composé phénol est arrêtée lorsque l'élimination de l'un des composés au moins n'est plus assurée. Les prélèvements ont été effectués en entrée et en sortie des filtres. Les expériences ont été réalisées après que la biodégradabilité du phénol et de l'orthochlorophénol seuls eut été vérifiée auparavant sur les filtres.

Le dispositif de filtration utilisé dans cette étude est représenté à la

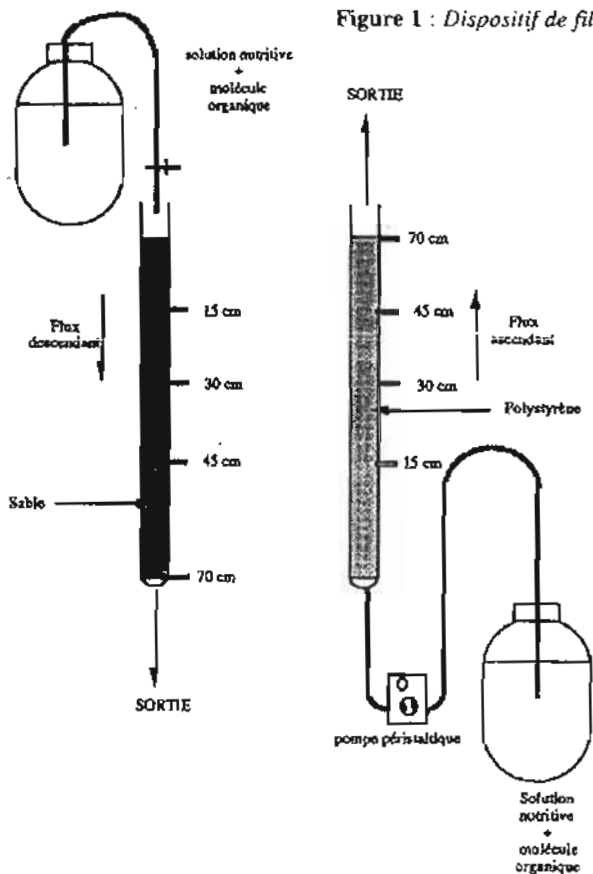


figure 1.

Deux colonnes de filtration de 120 cm de hauteur et de 5 cm de diamètre intérieur ont été utilisées. L'une contient comme matériau filtrant le sable et le mode de filtration utilisé est descendant ("down flow") ; l'autre contient du polystyrène non expansé et la filtration est ascendante ("up flow"). Le choix du mode de filtration est effectué en fonction de la densité du matériau. Les expériences ont été réalisées en régime dynamique.

La hauteur des lits filtrants est de 70 cm ; les colonnes sont ensencées à partir de l'eau de sortie de la station d'épuration de la ville de Limoges dans un premier temps. Après 48 heures, l'ensemencement a été arrêté et la multiplication de biomasse fixée sur les supports (sable, polystyrène) a été assurée à partir d'une préparation contenant du glucose et de la solution nutritive pendant un mois. Le glucose a été choisi parce qu'il fait partie des composés facilement assimilables par les bactéries. Des ajouts croissants des concentrations en glucose

(de 0,5 à 4 mg C de glucose) mélangé avec la solution nutritive ont donc été effectués toutes les 24 heures pour permettre une bonne croissance de la microflore bactérienne dans les filtres. L'apport en oxygène est assuré par bullage dans la solution d'alimentation des filtres. Un débit de 230 ml.H⁻¹ ; est assuré par une pompe péristaltique.

Les caractéristiques des réacteurs sont données au tableau 1.

Tableau 1 : Caractéristiques des filtres

Paramètres	Sable	Polystyrène
Volume du réacteur	1113 cm ³	1113 cm ³
Porosité ϵ	0,25	0,4
Volume de vide (cm ³)	278	445
Diamètre du matériau dp (cm)	0,04	0,25
Débit de filtration Q (cm ³ .H ⁻¹)	230	230
Temps de rétention dans les pores Vv/Q (min)	72,5	116
Vitesse du fluide dans les pores v (cm.Jour ⁻¹)	1390	869
Densité du matériau	2,5	0,8
Surface spécifique du matériau(m ² .m ⁻³)	15000	2400
Coefficient d'uniformité du matériau	2,3	-
Température (°C)	25 ± 2	25 ± 2

Les colonnes sont alimentées en continu par percolation par une solution nutritive et par les molécules à éliminer. La composition de cette solution est donnée au tableau 2.

Tableau 2 : Composition de la solution complément nutritive

Nutriments	Concentration (g.L ⁻¹)
Na ₂ HPO ₂ . 12H ₂ O	17
KH ₂ PO ₄	2,8
MgSO ₄ . 7H ₂ O	2
CaCl ₂ . 6H ₂ O	2,5
NH ₄ Cl	0,2
FeCl ₃	1,5
Na ₂ CO ₃	1

La préparation de la solution nutritive respecte les conditions de la norme afnor NF. T90 - 103, le pH est de $7 \pm 0,2$. Cette solution nutritive est utilisée dans le dosage relatif à la détermination de la demande biochimique en oxygène (DBO₅).

Les prélèvements sont effectués toutes les 24 heures en entrée et en sortie des filtres, puis analysés.

- Teneur en composés "phénol".

L'analyse des échantillons bruts a été réalisée en chromatographie liquide haute performance à détection UV (Merk) à 270 nm munie d'une colonne RP 18 de 25 cm de longueur protégée par un préfiltre. Le débit est de 0,5 ml.min⁻¹ et le volume d'échantillon injecté est de 20 µl. La phase mobile est composée d'un mélange méthanol - eau dans un rapport de 80/20.

RESULTATS

* **Bioélimination du mélange Phénol (3 mg.L⁻¹) + Orthochlorophénol (OCP) (à partir de 10 mg.L⁻¹).**

Les résultats obtenus présentés aux figures 2-a et 2-b montrent que le phénol et l'OCP sont éliminés ensemble jusqu'à une concentration

en OCP égale à $0,4 \text{ mg.L}^{-1}$. A partir de $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ en OCP aussi bien sur sable que sur polystyrène, l'abattement de ce composé diminue et devient pratiquement nul lorsque cette concentration est maintenue, alors que le phénol continue à être éliminé.

*** Bioélimination du mélange Orthochlorophénol (3 mg.L^{-1}) + Phénol (à partir de 10 mg.L^{-1})**

Il y a élimination des 2 molécules pour des concentrations en phénol atteignant 1 mg.L^{-1} en filtration sur sable (figure 3-a), et $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ en filtration sur polystyrène (figure 3-b). Pour des concentrations respectives supérieures, le rendement d'élimination en OCP diminue et devient nul alors que l'abattement en phénol n'est pas modifié.

DISCUSSION GENERALE

*** Bioélimination phénol + orthochlorophénol (figures 2-a et 2-b).**

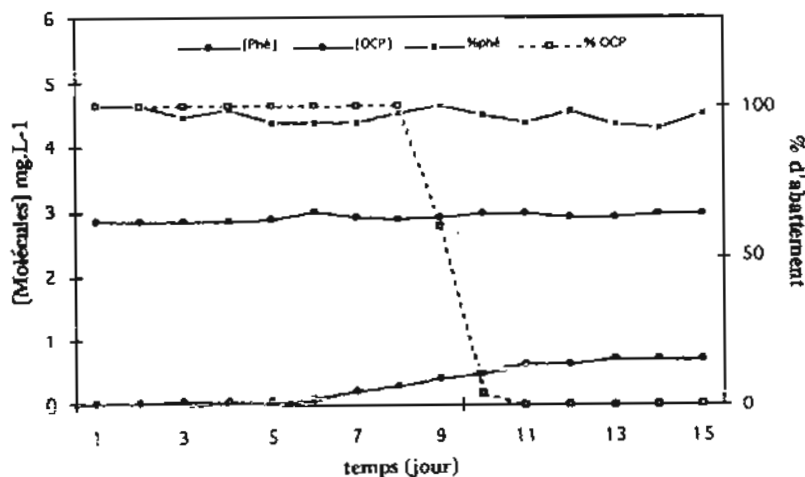
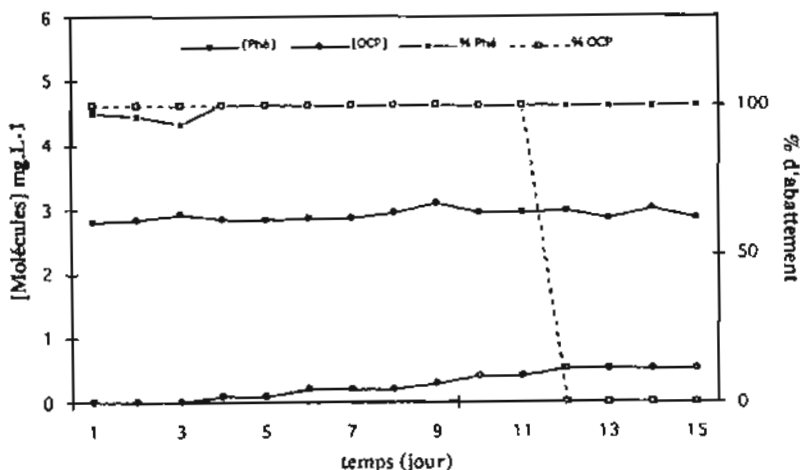


Figure 2 a : Bioélimination du mélange phénol + OCP en filtration sur sable

Figure 2 b : Bioélimination du mélange phénol + OCP en filtration sur polystyrène*



Rappelons que ces deux composés organiques peuvent être utilisés chacun comme seul substrat par les bactéries pour leur énergie et pour leur croissance puisque des expériences de biodégradabilité de ces composés seuls ont été auparavant effectuées.

Les résultats obtenus dans les figures 2-a et 2-b semblent indiquer que les enzymes qui interviennent dans la biodégradation du phénol ne seraient pas les mêmes que celles qui catalysent l'élimination de l'OCP. Donc en mélangeant les 2 molécules, le phénol étant le substrat principal, les bactéries utiliseraient préférentiellement ce composé parce qu'elles synthétiseraient plus facilement les enzymes spécifiques. Dans le même temps et jusqu'à une certaine concentration (0,4 mg.L⁻¹) l'OCP sera éliminé :

- soit par le phénomène de bioadsorption pour les faibles concentrations,

- soit par le biais du métabolisme "gratuit" ; en effet en présence d'une source de carbone assimilable, les bactéries sont capables d'initier des transformations d'autres molécules qui n'apportent aux cellules aucune énergie, les produits de transformation étant évacués dans le milieu [9, 19].

Cependant lorsque la concentration de l'OCP commence à devenir importante ($0,5 \text{ mg.L}^{-1}$) il y aurait préférence pour le phénol par les bactéries par rapport à l'OCP.

- Soit parce que les différentes étapes de biodégradation complète du phénol sont moins nombreuses que celles de l'OCP, ce qui signifie que les bactéries tireraient plus facilement de l'énergie en biodégradant le phénol. En effet, de nombreux travaux ont montré que la biodégradation des composés aromatiques halogénés comme c'est le cas de l'OCP se fait par une déshalogénéation des molécules par les bactéries suivie de la biodégradation de la nouvelle molécule non halogénée obtenue [20-22].

- Soit parce que les produits du métabolisme de l'OCP commencent à devenir toxiques, ce qui conduit les bactéries à ne plus utiliser les enzymes qui permettent la dégradation de l'OCP.

- Dans ce cas, ce dernier ne pourrait être transformé convenablement et son rendement d'élimination baisserait. Il s'agirait de l'inhibition de la synthèse enzymatique liée à un excès de substrat [9].

* Bioélimination du mélange Orthochlorophénol + phénol

(figures 3-a et 3-b).

Figure 3 a . Bioélimination du mélange phénol + OCP en filtration sur sable

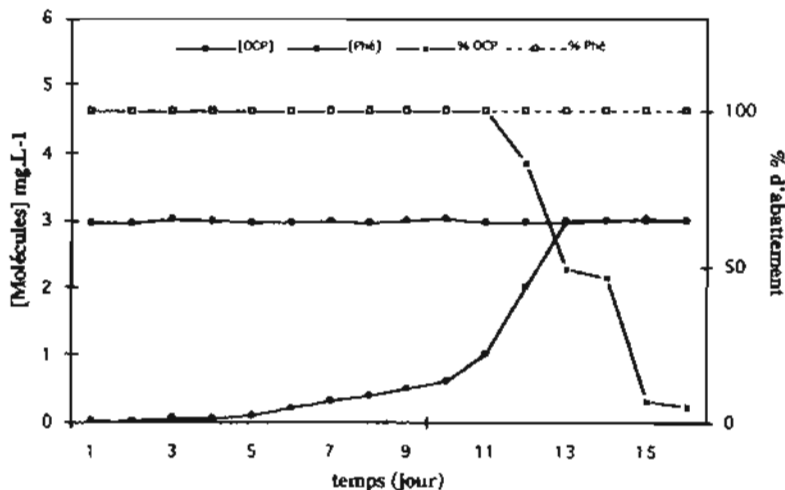
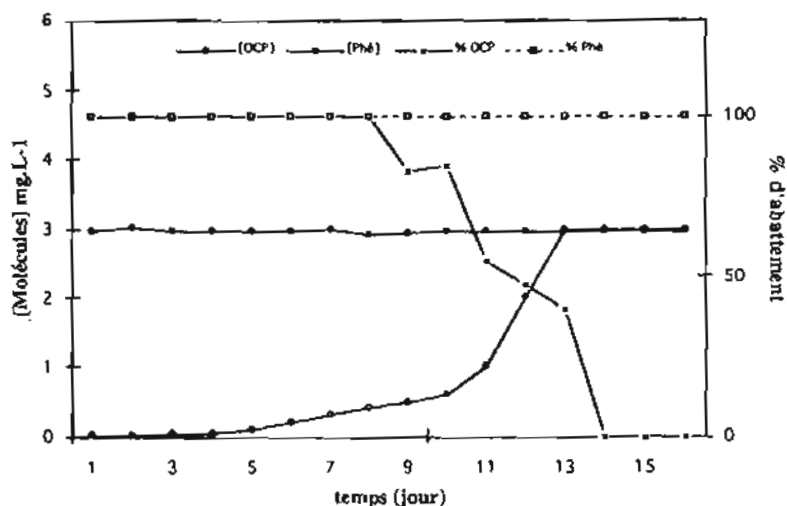


Figure 3 b : Bioélimination du mélange phénol + OCP en filtration sur polystyrène



Puisque dans cette expérience l'OCP est le composé principal, les bactéries l'éliminent en premier car elles ont synthétisé les enzymes spécifiques. Pour des petites concentrations le phénol est aussi éliminé, soit dans le cadre de la bioadsorption, soit dans le cadre de métabolisme gratuit. Lorsque la concentration en phénol commence à devenir élevée

(1,5 mg.L⁻¹ pour la filtration sur sable, et 1 mg.L⁻¹ pour celle sur polystyrène), le rendement d'élimination de l'OCP commence à diminuer alors que le phénol continue à être éliminé. Ceci s'explique :

- Soit parce que les enzymes de dégradation du phénol sont continuellement synthétisées par les bactéries car elles seraient constitutives, (le fait que le rendement d'élimination en OCP diminue considérablement avec l'augmentation de la concentration en phénol semble confirmer cette hypothèse).

- Soit parce que le phénol diffuse plus facilement dans le biofilm que l'OCP et donc déclenche plus facilement la synthèse des enzymes qui

interviennent dans sa biodégradation. Ainsi, les bactéries trouveraient facilement leur énergie dans la molécule de phénol et il y aurait un mécanisme de régulation enzymatique qui conduirait à l'arrêt de synthèse des enzymes responsables de la biodégradation de l'OCP lorsque la quantité de phénol devient suffisante pour assurer la maintenance et la croissance des micro-organismes. Le rôle de la diffusion dans les mécanismes de biodégradation dans les filtres biologiques a été mis en évidence par des nombreux travaux qui ont montré que les réactions qui se déroulent dans les filtres biologiques intègrent dans un même ensemble, les processus d'utilisation de substrat, de diffusion moléculaire et de masse de substrat transporté dans une couche de biofilm [23-26]. Du fait de la présence de chlore dans le noyau aromatique de l'OCP, la diffusion de ce composé dans les sites catalytiques des enzymes spécifiques sera faible par rapport à la diffusion du phénol. En effet, le coefficient de diffusion du phénol est de $0,28 \text{ cm.jour}^{-1}$, celui de l'OCP est de $0,25 \text{ cm.jour}^{-1}$, ce qui semble indiquer effectivement que le phénol diffusera plus facilement dans le biofilm que l'OCP et donc pourrait être plus facilement éliminé.

CONCLUSION

Ces travaux ont montré qu'en présence de 2 composés potentiellement biodégradables, le phénol et l'OCP, c'est toujours le phénol qui est utilisé en premier, ce qui signifie que ce composé est plus facilement assimilable par les bactéries que l'OCP. Cette utilisation préférentielle peut entraîner la persistance de l'OCP dans un effluent alors que cette molécule est biodégradable. L'ensemble des résultats obtenus montrent les limites que peut présenter la filtration biologique si ce système est utilisé comme seul moyen de traitement d'eau, car les bactéries peuvent s'avérer incapables d'éliminer toutes les molécules présentes dans un effluent, ou encore elles peuvent transformer des composés toxiques en d'autres plus toxiques que ceux de départ. Dans tous les cas il y a risque de contamination du milieu environnant.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] - Decker K.C., *Journal AWWA*, (1992), 119 - 128.
- [2] - Visscher J.T., *Journal AWWA*, (1990), 82, 6, 67 - 71.
- [3] - Rittmann B. E., *Journal AWWA*, (1990), 82,12, 62.
- [4] - Rittmann B. E. et Huck P. M., *Crit. Rev. Env. Contr.*,(1989), 19, 119.
- [5] - Montiel A., Welte B., Barbier J. M., *Tribune de l'eau*, (1989), 42, 537, 16 - 20.
- [6] - Rittmann B. E. and Snoeying V. L., *Journal AWWA*, (1984), 76, 10,106.
- [7] - Manem J. A., *Doctoral dissertation*, (1988), *Dept. of civil engr. of Illinois at Urbana - Champaign*,
- [8] - Montiel A., Houel N. Dufils J., J. I. E., *Conférence N°11 : eaux potables*, (1990), 1 - 16.
- [9] - Pelmont J., *Bactéries et Environnement, adaptations physiologiques*, Edit. Presses Universitaires, (1993), Grenoble.
- [10] - Manem J. A. and Rittmann B. E., *Journal AWWA*, (1992), 147 - 151.
- [11] - Hayi H., Elmaleh A. G. S., Faup G.M., *Environ. Technol. Lett.*, (1982), 3, 281 - 288.
- [12] - Lechevalier M. W., Becker W. C., Schor P., and Lee R. G., *Journal AWWA*, (1992), 136 - 146.
- [13] - Hijnen W. A. M., Van Der KOOIJ D., *Wat. Res.*, (1992), 26, 7, 963 - 972.
- [14] - Collins M. R., Eighmy T.T., Feutermacher Jr. J. M. and Spanos S. K., *Journal AWWA*, (1992), 80 -90.
- [15] - Bonnet M. MC., Welte B., Montiel A., Doré M., *Environ. Technol.*, (1991), 12, 3, 217 - 229.
- [16] - Seelaus T. J., Hendricks D. W., Jananis B.A., *Journal AWWA*, (1986), 35 - 41.

- [17] - Bellamy W. D., Hendricks D. W., LOGSDON G.S. *Journal AWWA*, (1985), 82, 12, 62.
- [18] - Bellamy W. D., Silverman G. P., Hendricks D. W., *Environ. Eng.*, (1984), 5847 - 58884.
- [19] - Block J. C., Ferard J. F., Flambeau J. P., Kumannene P., Thouand G., Vasseur P., Aspects microbiologiques de la dégradation, Edit. SEFA, (1990), Paris.
- [20] - Markus A., Krekel D., Lingens F., *J. Biol. Chem.*, (1986), 261, 128883 - 128888.
- [21] - Knackmuss H. J., *Degradation of halogenated and sulfonated hydrocarbons. Microbial Degradation of xenobiotics and recalcitrant compounds*, 189 - 212, T. Leisinger, R. Hütter, A. M. Cook and J. Nüesch Edit., (1981), New York..
- [22] - Sufita J. M., Robinson J. A. and Tiedje J. M., *Appl. Environ. Microbiol.*, (1983), 45, 1466 - 1473.
- [23] - Williamson K. and Mc Carty P. L., *Res. J. Water Pollut. Control. Fed.*, (1976), 48, 281.
- [24] - Williamson K. and Mc Carty P. L., *Res. J. Water Pollut. Control. Fed.*, (1976), 48, 9.
- [25] - Atkinson B. and Daoud I.S. *T.I.Chem. EN.*, (1968), 46, 19.
- [26] - Harremoës P., *Water Pollution Microbiology*, Edit. John Wiley and Sons Inc., (1978), New York.