

**UNIVERSITÉ DU QUÉBEC**

**MÉMOIRE PRÉSENTÉ À  
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES**

**COMME EXIGENCE PARTIELLE  
DE LA MAÎTRISE EN SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT**

**PAR  
EL AMINE FELLAHI**

**BIODÉGRATATION ET GESTION DES HUILES DE COUPES USÉES**

**23 janvier 1998**

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

## RÉSUMÉ

Les problèmes posés par les huiles usées en général et les huiles de coupe en particulier ouvrent la voie à la recherche de différents outils de gestion ou de valorisation peu coûteux. Des bactéries anaérobies provenant du digesteur de traitement des effluents de l'usine d'Agropur-du-Notre-Dame-de-Bon-Conseil (Québec, Canada), préalablement discriminées, ont été placées dans un réacteur en discontinu et en présence de l'huile de coupe usée. Le tout est incubé à des températures distinctes de 35°C, 25°C et 45°C sous agitation continue. Des échantillons de culture sont prélevés du réacteur à diverses périodes de temps. Les composés organiques (C<sub>10</sub> à C<sub>18</sub>) présents dans l'huile résiduelle sont extraits et analysés par chromatographie en phase gazeuse afin de déterminer leurs concentrations. Après 19 jours d'incubation à une température de 35°C; 100% de dégradation est enregistré pour les C<sub>10</sub>, C<sub>12</sub> et C<sub>14</sub> alors que les C<sub>16</sub> à C<sub>18</sub> sont complètement transformés après 26 jours. Le pourcentage de biodégradation de certains composés organiques présents dans l'huile de coupe usée (Pennex N43 Esso) obtenu à une température de 35°C est comparé à ceux trouvés à 25°C. Ainsi cette étude a prouvé que la biodégradation en mode anaérobie des molécules organiques

contenues dans l'huile de coupe est possible. Les résultats des paramètres cinétiques, basés sur le modèle simple de Michaelis-Menten ou Monod sont calculés. Ces données peuvent servir au design du bioréacteur approprié destiné au traitement biologique de l'huile de coupe usée .

## REMERCIEMENTS

Je dédie ce mémoire à mes parents, mes frères, mes soeurs, Annie, le reste de la famille, et à mes Amis (es) qui n'ont cessé de m'encourager et de me pousser pour finir ma maîtrise.

Je veux aussi témoigner ma reconnaissance à mon directeur de recherche, le docteur James.T.Agbébavi qui m'a soutenu pour la réalisation de ce projet. Qu'il me soit aussi permis de remercier Madame Louise Tremblay, professionnelle dans l'équipe de recherche et surtout le docteur Marc-André Poirier répondant de la compagnie Impériale Pétrolière Esso, pour les analyses et les conseils utiles prodigués.

Je me dois mentionner le soutien financier du Groupe **Impériale Pétrolière Esso**, grâce auquel ce projet a pu être réalisé.

Enfin je veux souligner l'aide de la compagnie Agropur-de-Notre-Dame-du Bon-Conseil (Québec, Canada) pour avoir fourni des échantillons de ses digesters.

| TABLES DES MATIERES  | PAGE      |
|--|-----------|
| RÉSUMÉ . . . . .   | ii        |
| REMERCIEMENTS . . . . .  | iv        |
| LISTES DES TABLEAUX . . . . .                                  | ix        |
| LISTES DES FIGURES . . . . .                                   | x         |
| LISTES DES ANNEXES . . . . .                                   | xii       |
| <b>CHAPITRES</b>   |           |
| <b>I INTRODUCTION, PROBLEMES, OBJECTIFS ET REVUES . .</b>      | <b>1</b>  |
| 1 Introduction . . . . .                                       | 1         |
| 2 Problématique de l'étude . . . . .                           | 4         |
| 3 But et objectifs de l'étude . . . . .                        | 5         |
| 4 Revue de la littérature . . . . .                            | 6         |
| 4.1 Définition et production des huiles usées . . . . .        | 6         |
| 4.2 Contaminations des huiles lubrifiantes . . . . .           | 6         |
| 4.3 Menaces des toxiques dans les huiles usées . . . . .       | 9         |
| 4.4 Historique de la biodégradation des hydrocarbures. . . . . | 11        |
| 4.4.1 Revue de la biodégradation . . . . .                     | 11        |
| 4.4.2 Processus microbiologique en anaérobie . . . . .         | 17        |
| <b>II MÉTHODOLOGIE DE RECHERCHE . . . . .</b>                  | <b>20</b> |
| 1 Matériels . . . . .  | 20        |

|   |    |
|---|----|
| 1.1 Huiles usées . . . . .  | 20 |
| 1.2 Culture bactérienne . . . . .                                   | 22 |
| 1.3 Micronutriments . . . . .                                       | 22 |
| 1.4 Montage du réacteur biologique . . . . .                        | 24 |
| 2 Méthodes expérimentales . . . . .                                 | 26 |
| 2.1 Méthodes microbiologiques . . . . .                             | 26 |
| 2.1.1 Identification du consortium bactérien . . . . .              | 26 |
| 2.1.2 Acclimatation bactérienne . . . . .                           | 26 |
| 2.1.3 Utilisations du consortium bactérien acclimaté . . . . .      | 27 |
| 2.1.3.1 Récupération du consortium bactérien . . . . .              | 28 |
| 2.1.3.2 Préparation du réacteur de nouveau . . . . .                | 29 |
| 2.1.4 Étude de l'influence de la température . . . . .              | 29 |
| 2.1.5 Prélèvement de la culture bactérienne et l'huile résiduelle . | 30 |
| 2.1.5.1 Décomptes bactériens. . . . .                               | 31 |
| 2.1.5.1.2 Ensemencement dans la gélose . . . . .                    | 32 |
| 2.1.5.2 2 Détermination de la biomasse . . . . .                    | 33 |
| 2.2 Méthodes analytiques . . . . .                                  | 34 |
| 2.2.1 Extraction de l'huile de coupe traitée . . . . .              | 34 |
| 2.2.2 Chromatographie en phase gazeuse . . . . .                    | 34 |
| 2.2.2.1 Méthode d'analyse de l'extrait de l'huile de coupe .        | 35 |

|  |           |
|--|-----------|
| 2.2.2.2 Analyse du méthane . . . . .                             | 36        |
| 2.2.2.3 Calibrage de l'appareil de CPG.. . . .                   | 37        |
| 2.3 Étude de la cinétique de biodégradation . . . . .            | 38        |
| 2.4 Synthèse . . . . .   | 43        |
| <b>III RÉSULTATS . . . . .</b>                                   | <b>44</b> |
| 1 Identification du consortium bactérien . . . . .               | 44        |
| 2 Résultats de la croissance bactérienne . . . . .               | 47        |
| 3 Résultats de la biodégradation de composés organiques. . . . . | 51        |
| 3.1 Biodégradation de composés organiques à 35C . . . . .        | 51        |
| 3.2 Biodégradation de composés organiques à 25C . . . . .        | 52        |
| 4 Résultats de la cinétique de biodégradation . . . . .          | 64        |
| 4.1 Cas de la cinétique de dégradation à 35°C . . . . .          | 64        |
| 4.2 Cas de la cinétique de dégradation à 25°C . . . . .          | 78        |
| 5 Synthèse. . . . .  | 82        |
| <b>IV DISCUSSIONS DES RÉSULTATS . . . . .</b>                    | <b>83</b> |
| 1 Identification bactérienne . . . . .                           | 83        |
| 2 Croissance bactérienne à des températures variées. . . . .     | 86        |
| 3 Biodégradation de composés organiques à 35°C . . . . .         | 90        |
| 4 Modèles cinétiques de dégradation à 35°C . . . . .             | 92        |
| 5 Biodégradation et modèles cinétiques à 25°C . . . . .          | 94        |



|   |            |
|---|------------|
| 6 Effet de la température . . . . .                       | 96         |
| 7 Synthèse . . . . .                                      | 102        |
| <b>V ÉTUDE TECHNICO-ÉCONOMIQUE . . . . .</b>              | <b>104</b> |
| 1 Introduction et objectifs . . . . .                     | 104        |
| 2 Collecte, transport des huiles usées . . . . .          | 104        |
| 3 Unité pilote . . . . .                                  | 107        |
| 3.1.Réservoir de stockage . . . . .                       | 110        |
| 3.2.Bioréacteur, fonctionnement et installation . . . . . | 110        |
| 3.3 Décanteur lamellaire . . . . .                        | 111        |
| 4.Coûts reliés aux traitements des huiles usées. . . . .  | 112        |
| 4.1 Détermination des paramètres cinétiques . . . . .     | 112        |
| 4.2 Calculs et coûts d'équipement . . . . .               | 112        |
| 4.3 Estimation des coûts . . . . .                        | 113        |
| 5 Synthèse. . . . .                                       | 114        |
| <b>VI CONCLUSIONS GÉNÉRALES . . . . .</b>                 | <b>115</b> |
| <b>VII RECOMMANDATIONS . . . . .</b>                      | <b>117</b> |
| <b>REFERENCES . . . . .</b>                               | <b>118</b> |
| <b>ANNEXES . . . . .</b>                                  | <b>126</b> |

## LISTE DES TABLEAUX

|   |     |
|---|-----|
| 1. Teneurs des huiles usées en éléments dangereux . . . . .                           | 8   |
| 2. Analyses des impuretés dans les huiles usées . . . . .                             | 21  |
| 3. Composantes minérales du milieu riche en oligolélément . . . . .                   | 23  |
| 4. Liste des bactéries identifiées et leurs productions . . . . .                     | 45  |
| 5. Liste des bactéries développées dans l'huile de coupe . . . . .                    | 46  |
| 6. Pourcentage estimé des bactéries formant le consortium bactérien. . . . .          | 46  |
| 7. Pourcentage de dégradation de chaque hydrocarbure par le consortium bactérien      | 60  |
| 8. Pourcentage de dégradation de chaque hydrocarbure à 25°C. . . . .                  | 62  |
| 9. Concentrations et vitesses de biodégradation de C12 . . . . .                      | 65  |
| 10. Paramètres cinétiques de la biodégradation à une température d'incubation de 35°C | 77  |
| 11. Vitesses maximales de la dégradation à une température d'incubation de 35°C       | 77  |
| 12. Concentrations et vitesses de biodégradation de C10 . . . . .                     | 79  |
| 13. Énergie d'activation des composés organiques . . . . .                            | 101 |
| 14. Composante de l'unité pilote et coûts reliés au traitement des huiles usées       | 113 |

## LISTE DES FIGURES

|  |    |
|--|----|
| 1. Réacteur biologique (Chemosat) . . . . .  | 25 |
| 2. Courbe de croissance semi-logarithmique d'une culture bactérienne incubée à 35°C    | 48 |
| 3. Courbe de croissance semi-logarithmique d'une culture bactérienne incubée à 25°C    | 49 |
| 4. Courbe de croissance semi-logarithmique d'une culture bactérienne incubée à 45°C    | 50 |
| 5. Courbe de disparition de composé organique C10 en fonction du temps. .              | 53 |
| 6. Courbe de Disparition de composé organique C12 en fonction du temps .               | 54 |
| 7. Courbe de disparition de composé organique C14 en fonction du temps. .              | 55 |
| 8. Courbe de disparition de composé organique C16 en fonction du temps. .              | 56 |
| 9. Courbe de disparition de composé organique C18 en fonction du temps. .              | 57 |
| 10. Courbe de disparition de composés organiques C26 à C28 en fonction du temps        | 58 |
| 11. Courbe de disparition et de réapparition de composé organique en fonction du temps | 59 |
| 12. Dégradation du composé organique C10 en fonction du temps . . . .                  | 61 |
| 13. Dégradation du composé organique C12 en fonction du temps . . . .                  | 62 |
| 14. Dégradation du composé organique C14 en fonction du temps . . . .                  | 63 |
| 15.Vitesse de biodégradation en fonction de la concentration de C10 . . .              | 66 |
| 16.Vitesse de biodégradation en fonction de la concentration de C12 . . .              | 67 |
| 17.Vitesse de biodégradation en fonction de la concentration de C14 . . .              | 68 |
| 18.Vitesse de biodégradation en fonction de la concentration de C16 . . .              | 69 |
| 19.Vitesse de biodégradation en fonction de la concentration de C18 . . .              | 70 |

|   |     |
|---|-----|
| 20. Vitesse de biodégradation en fonction de l'aire de [C26 à C28] . . . . .  | 71  |
| 21. Vitesse de biodégradation en fonction de la concentration de C10 consommé | 72  |
| 22. Vitesse de biodégradation en fonction de la concentration de C12 consommé | 73  |
| 23. Vitesse de biodégradation en fonction de la concentration de C14 consommé | 74  |
| 24. Vitesse de biodégradation en fonction de la concentration de C16 consommé | 75  |
| 25. Vitesse de biodégradation en fonction de la concentration de C18 consommé | 76  |
| 26. Courbe de la cinétique de disparition de C12 . . . . .                    | 80  |
| 27. Courbe de la cinétique de disparition de C14 . . . . .                    | 81  |
| 28. Production de méthane en fonction du temps . . . . .                      | 84  |
| 29. Influence de la température sur la vitesse maximale de dégradation de C10 | 98  |
| 30. Influence de la température sur la constante du substrat C12 . . . . .    | 99  |
| 31. Influence de la température sur la constante du substrat C14 . . . . .    | 100 |
| 32. Schéma descriptif d'algorithme des huiles usées . . . . .                 | 106 |
| 33. Unité pilote de traitement biologique en mode anaérobie des huiles usées  | 109 |

## LISTES DES ANNEXES

|   |     |
|---|-----|
| 1. Courbe de la détermination de la masse cellulaire par mesure de poids sec.               | 127 |
| 2. Méthode d'étalonnage pour l'huile de coupe usée . . . . .                                | 128 |
| 3. Étalonnage de la méthode d'analyse des huiles usées biotraitées . . . . .                | 130 |
| 4. Méthode détaillée d'analyse de C1-C5. . . . .  | 139 |
| 5. Replicats de la croissance bactérienne . . . . .   | 141 |
| 6. Concentrations de C10, C12, C14, C16 et C18. . . . .                                     | 142 |
| 7. Disparition de C10, C12 et C14 à 25°C . . . . .  | 143 |
| 8. Concentration de C10, C12, et C14 et vitesse de biodégradation à 25°C. . . . .           | 144 |
| 9. Concentration de C10, C12, C14, C16 et C18 et vitesse de biodégradation à 35°C . . . . . | 145 |
| 10. Disparition et réapparition de C10, C12 et C14 à 35°C . . . . .                         | 147 |
| 11. Calculs et coûts d'équipement de l'unité pilote . . . . .                               | 148 |

## CHAPITRE I

### INTRODUCTION, PROBLÉMATIQUE, OBJECTIFS ET REVUES

#### **1 Introduction**

Le problème des huiles usées peut être le résultat d'une mauvaise gestion reliée à des volumes importants produits par l'ensemble des utilisateurs d'huiles. Certains de problèmes majeurs surgissent à la suite des déversements accidentels qui ne cessent de se répéter et des mauvaises pratiques d'élimination. De ces situations découle en effet, la contamination des eaux de surfaces, des eaux souterraines et des sol. Ce qui a des répercussions néfastes sur l'environnement et la qualité de vie des personnes. Par conséquent, les solutions comme le recyclage et la dégradation des huiles usées par des procédés physico-chimiques et/ou biologiques restent les préoccupations des années 90, et deviendront sûrement des nécessités dès le début du deuxième millénaire.

Parmi les solutions présentées, les procédés biologiques reçoivent une attention particulière depuis plusieurs années comme outils efficaces et peu coûteux dans l'élimination des polluants <sup>(1,2,3,4)</sup>. Malheureusement, ces procédés sont peu explorés et les mécanismes de ceux qui le sont ne sont que partiellement compris, ce qui fait en sorte que la biodégradation est peu ou mal exploitée. Jusqu'à maintenant, les études ne touchent au mécanisme de biotransformation que de façon partielle et leurs

applications ne sont pas encore envisagées concrètement <sup>(5)</sup>. La plupart d'elles visent la dégradation d'un seul composé tandis que dans la réalité, la contamination par un mélange de produits chimiques est beaucoup plus fréquente que par un seul produit. Par contre des études et d'autres, montrent bien que les micro-organismes sont capables de dégrader des molécules toxiques et complexes comme des hydrocarbures<sup>(6)</sup>.

La biodégradation de nombreux composés organiques récalcitrants en condition anaérobie a été étudiée en laboratoire <sup>(4,7,8,9,10,11,12)</sup>. Nous citons, parmi ces composés, des hydrocarbures aromatiques <sup>(7,13,14)</sup>, les phénoliques <sup>(15)</sup>, des hydrocarbures aliphatiques et aromatiques halogénés<sup>(16)</sup>.

Le processus anaérobie de plus en plus étudié est la capacité qu'ont les bactéries méthanogènes de produire du méthane tout en dégradant des substances indésirables <sup>(13,14,16,17,18,19,20)</sup>. Ce processus peut être considéré dans un ensemble complexe de réactions biologiques. Trois groupes complexes de bactéries sont impliqués dans différentes réactions. Le premier groupe composé de bactéries fermentatives intervient dans la dégradation de plusieurs substrats notamment les polysaccharides, les protéines, les lipides en produits simples: les acides acétique et propionique, les acides gras volatils à longue chaîne, les alcools simples, le dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) ou l'hydrogène ( $\text{H}_2$ ). Le second groupe incluant les bactéries acétogènes productrices obligatoires d'hydrogène (APOH) intervient dans la dégradation de l'acide

propionique, des acides gras volatils à longue chaîne, des alcools et autres produits simples en acide acétique,  $\text{CO}_2$  et  $\text{H}_2$  <sup>(21)</sup>. Les bactéries méthanigènes constituant le troisième groupe utilisent l'hydrogène produit par les bactéries APOH pour réduire le dioxyde de carbone en méthane ( $\text{CH}_4$ ) (par les bactéries méthanigènes hydrogénotrophes) ou clivent l'acide acétique en  $\text{CO}_2$  et  $\text{CH}_4$  (par les bactéries méthanigènes acétoclastes).

Même si leurs voies métaboliques sont mal connues, l'utilisation de cultures mixtes est souvent nécessaire pour dégrader des mélanges de substances récalcitrantes <sup>(14,17)</sup>. Il y a création d'une synergie souvent rencontrée dans la nature et d'une diversité dans le choix des voies métaboliques dépendant des substrats présents. Les conditions environnementales doivent être étudiées et contrôlées pour assurer un rendement maximum. <sup>(18,22)</sup>.

Dans cette étude, l'attention se tourne vers les sous-produits pétroliers contenant des composés organiques de longues chaînes carbonées difficilement dégradables, afin de déterminer la croissance bactérienne, la cinétique de dégradation de certains composés organiques et l'influence de la température sur le comportement bactérien vis à vis de ces substrats.



## **2 Problématique de l'étude**

L'étude des huiles usées relève les problèmes suivants :

- Les huiles usées (sous produit pétrolier) constitue un mélange complexe de composés aliphatiques et aromatiques de poids moléculaires variant de faible à élevés.
- Jusqu'à présent les études réalisées se sont concentrées sur la dégradation en générale d'un à trois composés de poids moléculaire moyen, mais non sur un mélange de composés organiques comme le cas des huiles usées.
- Peu d'étude<sup>(23, 24)</sup>, se sont intéressées à la dégradation des composés organiques de longue chaîne en terme de carbone en mode anaérobie. Ces composés de poids moléculaire plus élevés sont plus persistants lorsqu'ils se trouvent dans l'environnement, car ils se combinent facilement sous condition idéale avec du chlore et d'autres halogènes pour former des molécules plus nuisibles comme le benzene, le vinyle et autres.
- Les Consortia bactériens utilisés dans ces procédés présentaient des difficultés quant à la dégradation de certains composés malgré une durée d'acclimatation longue<sup>(26)</sup>.
- Jusqu'à présent, à notre connaissance aucune étude ne s'est penchée sur les huiles de coupes usées.

### **3 But et objectifs de l'étude**

Face aux substances organiques de poids moléculaire variés, dont le nombre d'atomes de carbone varie de 10 à 36 dans ces huiles usées et qui peuvent constituer un danger majeur pour l'humain et son environnement et face à des problèmes de gestion des huiles usées, le but de l'étude est de trouver des bactéries capables de dégrader plusieurs produits récalcitrants des huiles de coupe usées, de vérifier cette dégradation par l'analyse chromatographique des huiles avant et après dégradation et d'implanter dans l'industrie pétrolière un système de biotransformation des déchets avec, si possible, production d'une source d'énergie utilisable immédiatement, le méthane.

Les objectifs dans cette étude seront les suivants:

- Utiliser un consortium bactérien capable de transformer en mode anaérobie les molécules organiques de poids moléculaire allant de faible à élevé en composés simples inoffensifs.
- Évaluer le taux de biodégradation des composés organiques dans l'huile de coupe usée .
- Évaluer l'influence de la température sur la cinétique de dégradation des composés organiques.
- Enfin, proposer la dégradation biologique comme outil de gestion et de valorisation des huiles usées qui pourrait déboucher sur des applications à l'échelle industrielle.

## **4 Revue de la littérature**

### **4.1 Définition et production des huiles usées**

Une huile usée désigne toutes les huiles d'origine industrielle ou non, qui est devenue impropre à l'usage initialement prévue à cause de la présence d'impuretés et/ou à la perte de ces propriétés initiales. Parmi les huiles usées on trouve:

- huiles lubrifiantes pour moteur, turbines ou engrenage;
- huiles hydrauliques comprenant des fluides de transmission;
- huiles pour le travail des métaux (huiles de coupes et d'usinage),
- liquides isolants pour les transformateurs.

Un rapport de Statistiques Canada <sup>(26)</sup> rapporte qu'environ 900 millions de litres d'huiles lubrifiantes ont été vendus annuellement au Canada entre 1981 et 1986. À partir de divers usages qui en sont faits, les huiles se contaminent pour devenir des déchets dangereux. On estime qu'environ 400 millions de litres soit 44% de ces huiles usées pourraient être récupérées et réutilisées. Cependant moins de la moitié de ce volume récupérable est régénéré ou utilisé comme combustible ou comme anti-poussière sur les routes; malheureusement le reste de ces huiles (environ 500 millions) est soit éliminé immédiatement à la source, soit se retrouve dans des sites d'enfouissement.

### **4.2 Contaminations des huiles lubrifiantes**

Les huiles usées diffèrent les unes des autres en raison de leurs propriétés à l'état d'origine et les composés qui les contaminent.

Durant leurs utilisations, les huiles lubrifiantes peuvent être contaminées par des particules métalliques provenant de l'usure des moteurs, par combustion incomplète de l'essence, par la saleté des composés de plomb et par de l'eau provenant de la vapeur dégagée à la suite de vidanges de moteur <sup>(27)</sup> . À ces contaminants s'ajoutent d'autres toxiques provenant de source environnementale; parmi ces éléments, figurent les composés chlorés et la matière organique difficilement biodégradable. Des études faites sur les d'huiles usées cité dans le tableau1 montrent les teneurs des produits potentiellement dangereux dans ces huiles.

Dans une étude tirée de Franklin associates Ltd.(28) sur des huiles usées différentes, on montre que les huiles provenant des moteurs sont plus contaminées que les huiles de travail des métaux, et que ces derniers sont un peu plus contaminées par rapport aux liquides hydrauliques. Les contaminants mentionnés dans le Tableau1 peuvent être classés dangereux et définis dans le règlement sur les produits contaminants l'environnement et sur le transport de marchandises dangereuses au Canada lorsqu'ils dépassent les normes fixées par le ministère de l'environnement cité ci-dessous:

#### Normes de transport des composés d'intérêt prioritaire

| Composés            | Normes (ppm)    |
|---------------------|-----------------|
| Métaux lourds       | Inférieur à 100 |
| Matières organiques | Inférieur à 100 |
| BPC                 | Inférieur à 50  |

Tableau1  
Teneurs des huiles usées en éléments dangereux <sup>(28)</sup> .

| Élément                             | Nombre<br>d'échantillons | % d'échantillon<br>contaminés | Concentration<br>mediane ppm |
|-------------------------------------|--------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| <b>Métaux</b>                       |                          |                               |                              |
| Chrome                              | 756                      | 78                            | 6.5                          |
| Arsenic                             | 537                      | 25                            | 5.0                          |
| Cadmium                             | 744                      | 36                            | 3.0                          |
| Plomb                               | 835                      | 91                            | 240                          |
| Zinc                                | 810                      | 98                            | 480                          |
| <b>Solvant chlorés</b>              |                          |                               |                              |
| CH <sub>3</sub> CCl <sub>3</sub>    | 616                      | 62                            | 200                          |
| Cl <sub>2</sub> =CHCl               | 608                      | 42                            | 100                          |
| Cl <sub>2</sub> C=C Cl <sub>2</sub> | 599                      | 58                            | 106                          |
| <b>Aromatiques</b>                  |                          |                               |                              |
| Benzène                             | 236                      | 50                            | 20                           |
| Toluène                             | 242                      | 81                            | 380                          |
| Xylènes                             | 235                      | 82                            | 550                          |
| Benzo(a) pyrene                     | 65                       | 58                            | 10                           |
| Benzo(a)anthracèn                   | 27                       | 74                            | 12                           |
| Naphtalène                          | 25                       | 100                           | 560                          |
| PCB                                 | 735                      | 19                            | 5                            |

#### **I.4.3 Menaces des toxiques dans les huiles usées sur l'environnement et la santé**

De nombreux produits chimiques toxiques présents dans ces huiles en grandes quantités n'ont pas de place aujourd'hui dans l'environnement en raison de leur singulière et dangereuse faculté de persistance et de bioaccumulation.

Une large quantité de composés organiques chlorés ou non que l'on trouve dans ces déchets est relativement persistante, présente un pouvoir lipophile très élevé, s'accumule très vite dans les graisses, les huiles et a une grande chance de s'accumuler dans la chaîne alimentaire.

Les études (29 et 30) réalisées sur les produits organiques chlorés ou non chlorés montrent que ces derniers sont très dangereux et menacent tout organisme vivant exposé de loin ou de près même à des concentrations infimes.

La pénétration des huiles usées ainsi que leur composantes dans l'environnement (eau, air, et sol) peut se faire par différent scénarios. La combustion des huiles usées donne des émissions de substances (exemples; métaux, des hydrocarbures aromatiques polycycliques, dioxines) s'adsorbant sur la matière particulaire déposés sur le sol et sur l'eau. le déversement dans les rivières entraînerait la formation d'un film à la surface de l'eau; il a pour conséquence, une augmentation de la demande biochimique en oxygène; de plus l'oxygène est plus soluble dans l'huile que dans l'eau, donc une faible disponibilité en oxygène pour les organismes, et le film

constitue une barrière physique à la diffusion de l'oxygène à l'interface air eau interférant ainsi dans le processus d'aération et de photosynthèse <sup>(31)</sup> .

Des changements physiques et chimiques survenus dans le film peuvent libérer des produits de dégradation. Le déversement sur le sol entraînerait une infiltration par gravité de la fraction hydrosoluble, ce qui provoquerait une contamination des eaux souterraines <sup>(60,61)</sup> .

Malgré de faibles concentrations d'hydrocarbures dans l'eau, elles peuvent causer des effets chroniques sur l'être humain.

De récentes études, réalisées par Dean, B.J <sup>(32)</sup> sur la toxicologie de certains composés organiques démontrent que le benzène, le toluène, le xylène et le phénol provoqueraient des effets cancérogènes à la suite d'une longue exposition .

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques constituant des produits pétroliers provoquent des effets cancérogènes et des effets mutagènes aux bactéries. Seize hydrocarbures aromatiques polycycliques causent le cancer et des effets mutagènes. Ils ont été listés comme polluants d'intérêt prioritaire par l'Agence de Protection de l'Environnement (EPA) aux Etats Unis d'Amérique <sup>(33)</sup>. Les mécanismes d'activation de produits cancérogènes ont été étudiés largement dans des études réalisées <sup>(34,35,36,37)</sup> par Copper, Miller et Heidelberg.

Dans le cas d'un empoisonnement chronique de l'humain divers symptômes apparaissent:

Des malaises nerveux et gastro-intestinaux, manque d'appétit, insomnie, essoufflement et douleur au coeur, il peut aussi y avoir une diminution de la teneur en hémoglobine du sang.

Alors que dans le cas d'un empoisonnement aigu dû aux vapeurs d'hydrocarbures, un effet narcotique apparaît sur le système nerveux central, une surexcitation mentale et selon la durée de la dépression, il peut en résulter de graves séquelles nerveuses.

Selon le Ministère de la Santé et du Bien-être Sociale <sup>(31)</sup>, certains pétroles sont susceptibles de causer des cancers de la peau.

#### **4.4 Historique de la biodégradation des hydrocarbures**

##### **4.4.1 Revue de la biodégradation**

Avant d'en connaître l'existence, l'homme a utilisé les micro-organismes pour tirer profit de leur services. Depuis longtemps, il exploite les microbes pour faire le pain, le fromage, les marinades, le vin ou la bière. Les mécanismes de la transformation de ces aliments sont restés cachés et au fur à mesure que l'on observe des nouveautés dans le monde de la microbiologie, elles sont transmises à la génération suivante. C'est alors que naît l'importance des procédés de transformations biologiques. La



technique faisant appel au vivant dont le but de rendre possible la transformation d'un produit donné, est devenue une alternative attrayante et compétitive aux procédés chimiques conventionnels. De nos jours la biotechnologie couvre plusieurs secteurs d'activités en plein expansion comme la protection de l'environnement, la production de l'énergie et la valorisation des déchets.

Les connaissances nouvellement acquises envisageaient l'application de cette technologie au traitement d'effluents liquides ou des sites contaminés par des produits jadis considérés toxiques ou non biodégradables. Cependant, les bactéries anaérobies auront un rôle primordiale dans la restauration de l'environnement.

Il est reconnu que l'écosystème naturel est responsable de la transformation de la matière organique et surtout des polluants en produits peu nocifs comme le méthane et le gaz carbonique. Selon leur appartenance, les bactéries anaérobies (bactéries dénitrifiantes, les réductrices de soufre, les méthanogènes et les fermentatives) possèdent des principes de transformation pourant utiliser des composés organiques et inorganiques autres que l'oxygène moléculaire comme accepteurs d'électrons.

Les données de la littérature scientifique <sup>(38,39,40,41,42)</sup> portant sur les bio-réactions de transformation concernaient les réactions aérobiques. Les études en mode anaérobie sont moins nombreuses car les difficultés expérimentales reposent sur la croissance lente des bactéries anaérobies et les composés organiques semblaient être très résistants à une attaque bactérienne en absence de l'oxygène. Les recherches

(5,8,12,14,21,23,24, 25) récentes montrent que les bactéries anaérobies sont très diversifiées quant à la nourriture et le métabolisme et sont capables de réaliser des réactions biochimiques qui ont un potentiel de restauration de l'environnement. En comparant le traitement anaérobie au traitement aérobie <sup>(43,44,45,46)</sup>, certaines réactions de biodégradation semblent plus rapides dans les conditions anaérobies avec des substrats comme le chloroforme, le trichloroéthylène et le bromodichlorométhane. Ces derniers ne peuvent être transformés dans les conditions aérobies.

Les métabolites obtenus lors de la biodégradation en mode anaérobie sont pour la plus part moins toxiques que ceux obtenus en mode aérobie comme par exemple le cas du trichloroéthylène qui conduit à la formation du chlorure de vinyle lors de la dégradation aérobie; alors que la dégradation incomplète en aérobiose de certains isomères des biphenyles polychlorés (BPC) conduit à l'obtention d'un composé cancérigène; l'acide chlorobenzoïque. Les oléfines sont considérées toxiques dans les conditions aérobies <sup>(47)</sup>.

Des essais ont montré que les BPC type Aroclor 1242 pouvaient être dégradés dans les conditions aérobies <sup>(48,49)</sup>, alors qu'en mode anaérobies, la déshalogénéation réductrice permet de réduire le nombre de chlore fortement lié au BPC (Aroclor 1254) <sup>(50)</sup>. Il faut noter que seule la déshalogénéation réductrice est spécifique aux systèmes anaérobies. Dans ce cas les halogènes sont remplacés par des atomes d'hydrogène.

De point de vue scientifique, des données très complètes existent sur la déchlorination réductrice du dichlorodiphényltrichloroethane (DDT) en dichlorodiphényldichloroéthylène (DDD ) <sup>(51)</sup>.

Une étude réalisée par Grbic Galic et Coll 1992 <sup>(52)</sup> a essayé de mettre en évidence une relation qui pourrait exister entre la biodégradation du benzène (B), du toluène (T), du xylène (X) et d'ethylbenzène (E) et la réduction de sulfate. Le toluène et les isomères de xylène sont complètement minéralisés en bioxyde de carbone sous condition strictement anaérobie par des micro-organismes dérivant de source sédimentaire contaminée d'essence (Seal Beach Coli).

Les observations préliminaires suggèrent que le sulfate pourrait être impliqué dans la transformation du toluène et du xylène et non le (B),(E) et(X). Un précipité noir de sulfure de fer (FeS) est formée dans le milieu actif et confirme la liaison de dégradation du Toluène, du Xylène et la réduction du sulfate (SO<sub>4</sub>). La dégradation de ces composés est inhibée par l'accumulation de sulfure de fer (FeS).

Le même auteur en 1994 <sup>(25)</sup> a pu maintenir des groupes de microcosmes contenant des cultures ( sédiment contaminé de créosote) avec le toluène et le xylène comme seule source de carbone et d'énergie.

Les périodes d'adaptation sont longues, 100 à 125 jours pour le toluène et 200 à 225 jours pour le O-xylène . La densité de cellules dans les cultures augmente

progressivement durant 2 à 3 ans et se stabilise à environ  $10^9$  cellules/ ml. La dégradation de toluène et xylène par les cultures mixtes est inhibée lorsque leurs concentrations sont supérieures ou égales à 700 micron molaire et 1800 micron molaire respectivement. Les cultures dégradant le toluène et le o-xylène ne peuvent dégrader le m-xylène le p-xylène, le benzène, l'ethylbenzène et le naphtalène. La dégradation du toluène et du o-xylène est inhibée par l'alternance d'accepteurs d'électron  $O_2$ ,  $NO_2$ ,  $SO_2$  et aussi par l'addition d'acétate, d'hydrogène, de propionate et de méthanol.

L.Y.Young et Grbic-Galic en, 1985 <sup>(9)</sup> ont utilisé un consortium bactérien de méthanogènes provenant des boues municipales. Ce consortium a été incubé sous conditions anaérobies avec de l'azote et du  $CO_2$  à une température de  $35^\circ C$  plus une source de carbone (Benzoate, Ferulate) en absence de la lumière . Il en est résulté une conversion de ces deux acides en  $CO_2$  et en  $CH_4$ . Le mécanisme de conversion a été examiné en détail pour déterminer les intermédiaires .

Fedorak,P.M., et D.W.S.Westake en, 1981 <sup>(24)</sup> ont étudié la dégradation microbiologique des composés organiques contenus dans du pétrole brut avec et sans la présence de source d'azote et de phosphore ( $NO_3^-$ ,  $NH_4^+$ ).

Après des périodes d'incubation diverses, les huiles résiduelles furent extraites et séparées en fractions saturées et aromatiques pour l'analyse par chromatographie en

phase gazeuse. En absence de supplément nutritif, les substances aromatiques furent attaquées plus facilement que les substances saturées. Des études périodiques, poursuivies sur des échantillons marins avec apport d'éléments nutritifs, ont démontré que les substances aromatiques simples comme le naphthalène et le 2-méthyl-naphthalène, étaient plus facilement dégradées que les n-paraffines. Cependant, une fois que la dégradation des composés saturés est amorcée, ces composés sont rapidement éliminés de l'huile. La dégradation aromatique progresse depuis les poids moléculaires faibles et les molécules moins complexes vers les molécules plus grosses et plus complexes.

En 1995, V.N.Ivanov, T.L.Kachur<sup>(53)</sup> ont évalué la dégradation microbiologique des hydrocarbures dans le sol et dans l'eau par une population bactérienne dénitrifiante thermophile. L'inoculation du sol contaminé par ce type de bactérie stimule énormément la dégradation de l'huile démontrée par les expériences au laboratoire (90% de l'huile initiale peut être dégradée). La cinétique de dégradation de l'huile présente une phase de croissance rapide et une terminaison lente.

Wernn, Suidan et col en, 1994<sup>(54)</sup> ont montré que l'usage de l'azote comme fertilisant pour la dégradation des huiles de pétrole par des cultures bactérienne peut avoir un plein pouvoir sur la capacité de biodégradation de ces dernières.

Les résultats d'utilisation de nitrate d'ammonium ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) comme source d'azote montre une diminution de pH. Mais l'usage récemment du nitrate de potassium ( $\text{KNO}_3$ ) permet une grande dégradation. L'ammoniaque et le nitrate présentent un avantage et un désavantage. Ceci incite à faire un meilleur choix du fertilisant afin d'augmenter la biodégradation des hydrocarbures présents dans les dérivés pétroliers au lieu d'inhiber leur biodégradation.

Les études réalisées jusqu'à présent sur les traitements anaérobies montrent une grande possibilité de dégradation des composés organiques présents dans les produits pétroliers. Mais il reste plus à faire quant à la détermination des mécanismes et les voies de dégradation.

Grbic Gallic et ses collaborateurs ont étudiés un nombre précis de composés organiques aromatiques comme le toluène, le xylène le benzène et d'autres composés de poids moléculaire (PM) moyen; il reste donc beaucoup à faire quant la dégradation des composés organiques de PM élevés.

#### **4.4.2 Processus microbiologique en anaérobie**

L'anaérobiose se produit toujours dans un habitat dans lequel la consommation de l'oxygène est faible; c'est le cas de l'environnement naturel, du milieu lagunaire, du

sédiment des lacs, des eaux souterraines, des sols contaminés et des eaux océaniques.

La digestion anaérobie des composés organiques complexes implique un large éventail de bactéries. Trois principaux groupes de bactéries sont en jeu, présentant chacun un rôle spécifique à jouer. Il y a les bactéries acidogènes responsable de l'hydrolyse (l'acidogénèse), les bactéries acétogènes impliquées dans l'acétogénèse et les bactéries méthanogènes responsable de la méthanogénèse. C'est ainsi que le procédé multi-stades impliquant quatre étapes biochimiques différentes dans la transformation des composés carbonés en biogaz comme le montre l'équation générale suivante:



Les mécanismes de transformation des bactéries aérobie et anaérobie varient d'une population à une autre.

Les bactéries méthanogènes sont des anaérobies strictes et demandent un potentiel d'oxydo-réduction inférieur à celui des autres bactéries anaérobies pour leur croissance. Une vingtaine de types différents de bactéries méthanogènes ont été isolées et identifiées. Les méthanogènes peuvent être regroupés en deux classes majeures:

- Les bactéries hydrogénotrophiques utilisant le bioxyde de carbone et l'hydrogène (Méthanobacterium, Méthanobrevibacter, Méthanosarcina et Méthanococcus),
- Les bactéries acétotrophiques transformant l'acétate (Méthanosarcina et Méthanothrix).<sup>(55)</sup>

Le traitement anaérobie consiste à convertir la matière organique en biogaz ( $\text{CH}_4$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{N}_2$  et  $\text{H}_2$ ) réutilisable, alors qu'un traitement en mode aérobie convertit la matière organique en matériel cellulaire. Selon les traitements des effluents de pâtes et papiers, les systèmes aérobies pourraient produire jusqu'à dix fois plus de biomasse ou boues secondaires que les systèmes anaérobies. La faible production de biomasse de la part des bactéries anaérobies reflète leur faible croissance. Comparativement à la technologie anaérobie, les principaux désavantages de la technologie aérobie sont les coûts de la gestion des boues produites. C'est l'un des avantages du traitement anaérobie sur celui en mode aérobie. Aussi les boues anaérobies peuvent être utilisées comme inoculant de nouveaux réacteurs anaérobies pour le traitement d'effluents riches en matière organique. De cela, les boues anaérobies peuvent fournir une source de revenu plutôt qu'un coût d'opération. La compagnie Agropur du Québec, Canada vend et exporte à l'extérieur du Québec des boues granulaires pour le démarrage et le réensemencement de traitement anaérobie .



## CHAPITRE II

### MÉTHODOLOGIE DE RECHERCHE

#### **1 Matériels**

##### **1.1 Huiles usées**

Parmi des entreprises régionales étudiées, trois ont été choisies pour la récupération de leur huiles usées en fonction de la provenance de l'huile, de son utilisation et de son temps d'utilisation. L'une est une huile de coupe de marque Blasocut 2000, fabriquée par Swissludé, est utilisée dans la machinerie de la compagnie Fabron de Trois-Rivières (Québec, Canada). La seconde huile sert à la lubrification des moteurs de voiture et a été fournie par la station service Esso du Cap-De-La- Madeleine, composée de façon majoritaire des huiles de marque Esso. La dernière huile de coupe Pennex N43 d'Esso provient de l'industrie de pâte et papier **Stone Consolited de Shawinigan** (Québec, Canada); elle est utilisée principalement dans le refroidissement de scies. Particulièrement l'huile PN43 à cause de sa grande viscosité et en sa teneur élevée en additifs, est utilisée pour des travaux de brochage, de filetage, de taraudage et autres travaux réalisés sur les métaux difficiles à usiner. Cette dernière fût utilisée pour l'acclimatation du consortium bactérien. Toutes ces huiles ont été testées par une firme indépendante afin de déterminer leur teneur en impuretés et leur concentration en hydrocarbures comme le montre le tableau 2,

Tableau 2

## Analyses des impuretés dans les huiles usées

| Analyses                                  | huile #1                 | huile#2             | huile#3         |
|---|--------------------------|---------------------|-----------------|
| Polychlorinated biphenyls (mg/l)          | < 1.0                    | < 1.0               | < 1.0           |
| Total organic halogens as chlorine (mg/l) | <100                     | <100                | <100            |
| Arsenic (mg/l)                            | <1.0                     | <1.0                | <1.0            |
| Cadminium (mg/l)                          | <1.0                     | 0.80                | 0.32            |
| Chromium (mg/l)                           | 6.05                     | 5.83                | 1.00            |
| lead (mg/l)                               | 138                      | 17.5                | 15.5            |
| Base sédiment + water (%)                 | 94%<br>(0.1% sed)        | 0.1%<br>(0.02% sed) | 0.06%           |
| hydrocarbure                              | 6 %                      | 99.9%               | 99.94%          |
| Type d'huile                              | lubrifiant<br>machinerie | automobile          | lubrifiant scie |

## **1.2 Culture bactérienne**

Les cultures bactériennes anaérobies ont été prélevées du digesteur de l'usine de fromagerie **Agropur De-Notre-Dame-Du-Bon-Conseil (Québec, Canada)**. Ces cultures bactériennes étaient utilisées dans le traitement des effluents de fromagerie afin de réduire la demande biochimique en oxygène. Elle a fait preuve de ces performances quant à la dégradation des composés organiques (acide gras, protéines et autres composés toxiques) en composés simples inoffensifs. Cette culture présente un mélange de bactéries, acidogènes et méthanogènes capables de transformer des composés organiques complexes en composés simples ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$ ). Ce biogaz est d'un intérêt important du fait qu'il est utilisé comme source d'énergie d'appoint dans l'usine de traitement des effluents de fromagerie.

L'identification précise des bactéries formant le consortium bactérien est inconnue d'Agropur. Seulement que le consortium bactérien contiendrait des méthanogènes, des acétogènes et probablement des bactéries fermentatives.

## **1.3 Micronutriments**

Le traitement anaérobie nécessite la présence de traces d'éléments nutritifs afin d'assurer une croissance optimale des bactéries anaérobies. Ils agissent en tant que régulateurs osmotiques lors des certaines réactions cellulaires <sup>(55)</sup>. Une série de micronutriments utilisés par Young et Healy en 1977 <sup>(19)</sup> lors de la dégradation du

catéchol et du phénol par une population de bactéries méthanogènes s'avèrent favorables au traitement anaérobie. Il s'agit du calcium, du magnésium, du manganèse, du fer, du zinc, du sodium, du potassium, du soufre, du cobalt, du bore et du molybdène. Ils sont toutefois utilisés à des concentrations très faibles de l'ordre de 0.002 à 2.6 mg/l tels qu'indiqué dans le tableau 3.

Tableau 3  
Composantes minérales du milieu riche en oligoélément <sup>(19)</sup> .

| Substances/ Composés                                | Concentration g/l |
|---|-------------------|
| $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$                       | 0.04              |
| $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$           | 0.25              |
| $\text{NH}_4\text{Cl}$                              | 0.2               |
| $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$           | 1.8               |
| $\text{KCl}$  | 1.3               |
| $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$           | 0.02              |
| $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$           | 0.03              |
| $\text{H}_3\text{BO}_3$                             | 0.0057            |
| $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 0.0025            |
| $\text{ZnCl}_2$                                     | 0.0021            |
| $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$           | 0.368             |
| $\text{NaHCO}_3$                                    | 2.64              |
| $\text{NaS} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$              | 0.5               |

#### **1.4 Montage du réacteur biologique (Chemosat)**

LE FERMENTEUR: Le fermenteur utilisé possède un senseur qui permet de contrôler la température à l'aide d'un système de refroidissement et d'un élément chauffant. Un thermomètre installé en permanence pour la lecture de la température. La vitesse d'agitation est contrôlable et l'agitateur présente des ouvertures à sa base pour maximiser l'incorporation des gaz dans le milieu. L'apport de ces gaz (70% N<sub>2</sub> et 30% CO<sub>2</sub>) est contrôlé par des débitmètres puis passent dans un filtre rejoignant le système d'agitation. Un condenseur a été ajouté pour empêcher l'évaporation et possède à sa sortie un filtre relié à un tube par lequel le biogaz est récupéré.

La culture bactérienne est incubée en mode anaérobie discontinu. Le milieu riche en micronutriments utilisé, est stérilisé dans l'autoclave à une température de 121°C avant la mise dans le réacteur. Environ un volume d'inoculant de cinq à dix pourcents du volume du fermenteur est ajouté. Au début, la solution nutritive stérilisée est inoculée dans le fermenteur d'une capacité de 2 litres avec des micro-organismes; l'incubation permet de procéder sous conditions physiologiques optimales à 35°C et à un pH variant de 6.8 à 7.2. Au cours de l'incubation aucun agent n'est additionné sauf l'azote, le Dioxyde de carbone et les micronutriments.

# CONVERTIBLE CULTURE APPARATUS

Model F-100  
Model F-200

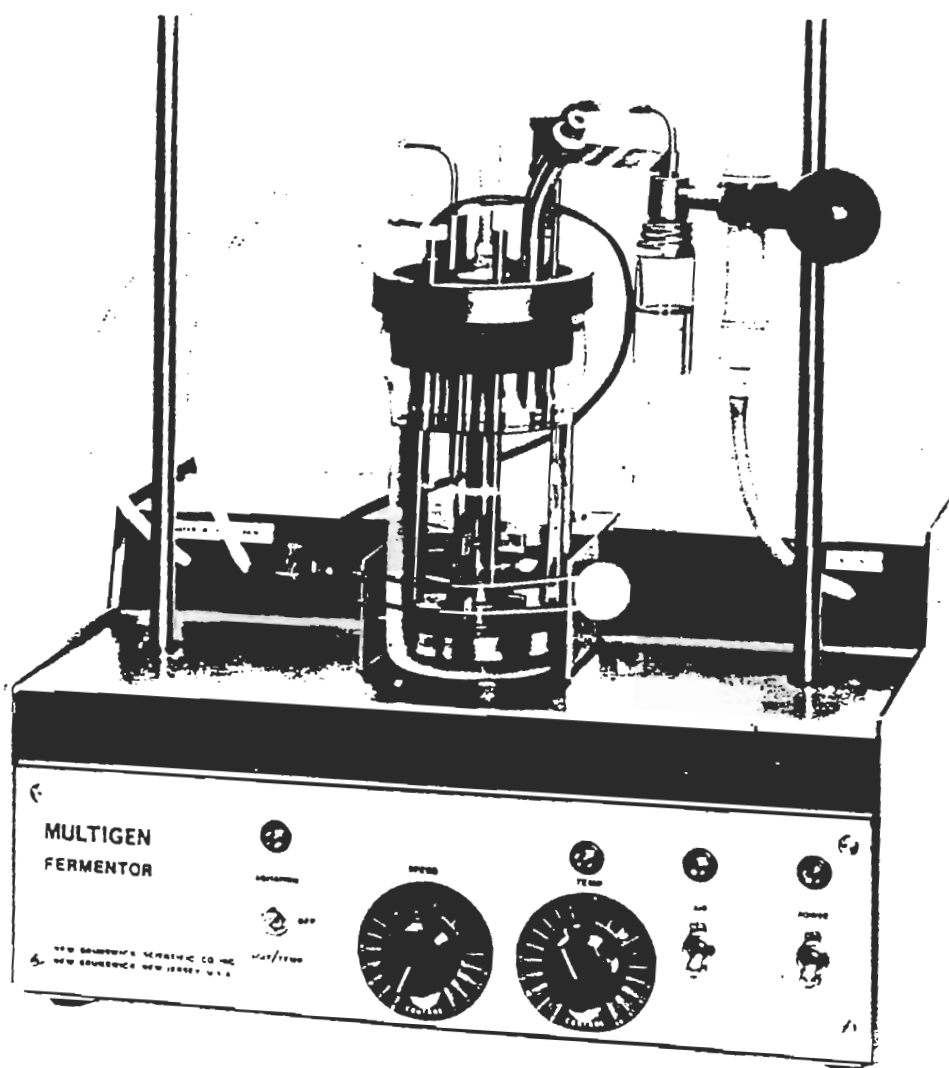


Figure 1: Réacteur biologique (Chemosat)

## **2 Méthodes expérimentales**

### **2.1 Méthodes microbiologiques**

#### **2.1.1 Identification du consortium bactérien**

À leur arrivée au laboratoire, les souches ont été isolées sur des géloses de sang, identifiées par leur gram et le système d'identification An-Ident spécifique pour les anaérobies. Le consortium a également été identifié suite à une acclimatation prolongée pour connaître les bactéries impliquées dans la dégradation de l'huile. Toutes les souches furent congelées dans un milieu 10% glycérol à (- 80 °C) dans l'azote liquide.

Le test AN-Ident consiste à tester une série de microcupules contenant des substances déshydratées. Les substrats sont additionnés à un mélange de suspension bactérienne dans l'eau distillé afin d'initier la réaction. Après 4 heures d'incubation en mode aérobie à 37C, les réactions sont contrôlées par des systèmes d'indicateur variés ou bien par l'addition des réactifs ainsi que les colorations apparues lors des réactions biochimiques. Les lectures sont faites en comparant les résultats avec l'index du profil analytique.

#### **2.1.2 Acclimatation bactérienne**

La dégradation de plusieurs composés organiques nécessite une période au cours de laquelle il n'y a pas de biotransformation. Cet intervalle de temps désigne la période d'acclimatation ou parfois une période d'adaptation .

Elle peut être définie par la durée entre l'entrée d'un composé chimique dans l'environnement et le début de réduction de ce produit. La période d'acclimatation

varie énormément. Elle peut être moins d'une heure ou de plusieurs mois dépendant du composé, sa concentration, les conditions environnementales, la température et d'autres facteurs indéfinis. La phase d'acclimatation s'arrête au début de détection de la biodégradation. Après cette période le taux du métabolisme peut être lent ou rapide.

Dans le réacteur biologique réalisé, une partie de la culture mixte préalablement réactivée est acclimatée graduellement à l'huile de coupe (Pennex N43, ESSO) additionnée à 600 ml de milieu riche en micronutriment à une température de 35°C sous agitation continue et sous une atmosphère composée de 70% d'azote et 30% de CO<sub>2</sub>. Le milieu nutritif (BBL.Gélose fluide au thioglycolate, USP) est considéré comme la seule source de carbone disponible aux groupes bactériens lors des premières journées d'acclimatation. Deux pourcent de milieu nutritif ont été ajoutés au milieu de culture bactérienne, par la suite 1% de la culture ont été remplacé par de l'huile. Cette faible quantité de l'huile a été additionnée à raison d'une fois par semaine jusqu'à ce que la culture bactérienne prolifère dans un pourcentage appréciable de l'huile de coupe.

### **2.1.3 Utilisation du consortium bactérien acclimaté**

Après une période de six mois d'acclimatation, il s'est formée une boue dans le bioréacteur. Pour cela il est important de mettre au point un nouveau réacteur qui va



être inoculé par cette même boue afin de faire les études à des températures distinctes. Une séparation des boues du milieu liquide est amorcé afin d'utiliser ces boues comme inoculant .

#### **2.1.3.1 Récupération du consortium bactérien du réacteur**

300 ml de boues sont enlevées du réacteur, à laquelle 600 ml de milieu contenant de l'eau et les micronutriments stérilisés sont ajoutés. Le mélange est agité pendant trois jours afin que les bactéries se retrouvent dans le milieu liquide. L'agitation est arrêtée pendant 24 heures pour que les deux phases eau et boue se séparent. Les boues sont récupérées et conservées à une température de 4°C. Les 800 ml de milieu liquide restant sont placés dans une bouteille d'un litre de verre teinté contenant deux pourcents d'huile de coupe (soit 16 ml ) (Pennex N43 Esso) comme substrat neuf et incubés à une température de 35°C sous agitation continue. Après une semaine d'incubation, dix pourcents du consortium est repiqué dans une nouvelle bouteille contenant 700 ml de milieu riche en micronutriments et 2% d'huile de coupe. À chaque semaine des décomptes sont réalisés afin de déterminer l'évolution bactérienne. Les bactéries de la deuxième bouteille, soit le repiquage, se multiplient convenablement et sont prêtes à réintégrer le réacteur.

#### **2.1.3.2 Préparation du réacteur de nouveau**

Après s'être rassuré de la viabilité de la croissance des bactéries, 100 ml de la culture bactérienne provenant de la bouteille du repiquage et 900 ml d'eau contenant des micronutriments et quatre pourcents d'huile de coupe sont introduits dans le réacteur fonctionnant sous agitation continue et une atmosphère de 30% de CO<sub>2</sub> et 70% d'azote à une température de 35°C. Après une disparition de l'huile de coupe usée et que les cellules bactériennes ont atteint leur stade de croissance maximale, un ajout de l'huile de coupe et du milieu riche en micronutriments est réalisé vers la fin de la croissance bactérienne pour s'assurer de la dégradation des composés organiques présent dans l'huile usée et la reproductibilité des résultats.

#### **2.1.4 Étude de l'influence de la température**

Une partie du même consortium bactérien qui a été réintroduit dans le réacteur a été utilisée pour l'étude de dégradation de l'huile de coupe (Pennex N43) à une température de 25 et 45°C. L'un des deux lots de trois bouteilles contenant la culture bactérienne et l'huile de coupe est placé à la température de la pièce (25°C) et l'autre à (45°C). Le réacteur est maintenu à une température de 35°C afin de pouvoir comparer ultérieurement les résultats de la croissance bactérienne et de la cinétique de dégradation avec les études effectuées à d'autres températures.

### **2.1.5 Prélèvement de la culture bactérienne et de l'huile résiduelle**

Trois bouteilles de 250 ml (contenant 96 pourcents du mélange de micronutriments et la culture bactérienne, et quatre pourcents d'huile) sont incubées à une température de 25°C. Un échantillon de 3 ml du mélange d'huile et culture bactérienne est prélevé des bouteilles chaque semaine. Après chaque prélèvement, une partie de la culture bactérienne présente dans les trois bouteilles déjà incubées pendant une semaine est repiquée dans des nouvelles bouteilles stériles riche en miccronutriments. Les huiles restantes issues des trois bouteilles sont prélevées par une pipette pasteur stérile et par la suite additionnée aux nouvelles bouteilles. Le même principe est réalisé pour les autres semaines suivantes jusqu'a la disparition complète de l'huile .

Un échantillon de 5 ml est prélevé du réacteur incubé à une température de 35°C à raison d'une semaine par aspiration sous vide d'un mélange d'huile et de culture bactérienne. Les échantillons sont recueillis chaque semaine jusqu'au prélèvement total de l'huile de coupe usée Pennex N43.

Ces échantillons serviront d'une part à des décomptes bactériens pour déterminer l'évolution de la croissance bactérienne, et d'autres part à des extractions chimiques d'huile biotraitée pour une analyse ultérieure par chromatographie en phase gazeuse.

### **2.1.5.1 Décomptes bactériens**

Chez les organismes pluricellulaires l'accroissement se traduit par une augmentation de la taille. Au contraire chez les bactéries, elle aboutit à une augmentation du nombre de cellules. Cet aspect quantitatif de la croissance présente un grand intérêt biologique.

Les techniques de mesure de la croissance sont nombreuses. Trois principes de base servent généralement de guide. Dans ce cas il est possible de mesurer soit le nombre de bactéries, soit leur masse, soit encore leur activité. La comparaison entre ces deux grandeurs (nombre et masse) est difficile. L'augmentation du nombre de bactéries est un phénomène discontinu, alors que l'accroissement de la masse est un processus continu en fonction du temps. Ceci est valable dans le cas de la croissance synchronisée, lorsque toutes les cellules de la population se divisent en même temps. Dans les conditions normales, les cycles de croissance pour chacune des cellules de la population se font au hasard et sont donc totalement asynchrones. Les deux valeurs progressant alors de façon parallèle peuvent être considérées comme statistiquement équivalentes.

L'énumération des bactéries viables est une méthode très utilisée en microbiologie. La plus couramment utilisée est celle du dénombrement par culture en boîte de Pétri.

#### **2.1.5.1.2 Ensemencement dans la gélose**

Environ 2 à 5 ml du consortium bactérien a été récupéré dans une petite bouteille. 1ml du consortium bactérien a été dilué successivement de 1/100 avec du milieu physiologique composé de chlorure de sodium. Il est impératif de bien agiter entre chaque dilution. 0.1 ml et 1 ml de chaque dilution sont déposés dans une boîte de Pétri pour obtenir des dilutions 1/10.

Cette méthode consiste à mélanger la suspension bactérienne préalablement diluée dans une solution saline (NaCl 0.85%) avec de la gélose nutritif ( BBL Nutrient Agar, base servant pour l'énumération bactérienne). On commence par la dilution la plus forte, et déposé dans chaque boîte de Pétri vide pour chaque dilution 0.1 ml et 1 ml. Ceci a pour effet d'obtenir deux dilutions d'un seul coup; 15 à 20 ml d'agar Columbia refroidi à une température de 45°C sont versés dans chaque boîte de Pétri et mélangés uniformément aux bactéries préalablement déposées par mouvement circulaire. Après solidification de l'agar, les boîtes de Pétri sont installées dans une jarre anaérobique. Cette jarre doit contenir des billes de palladium comme catalyseur dans son couvercle, une enveloppe de gaz pack produisant de l'hydrogène et du CO<sub>2</sub>, et un papier inhibé d'une solution indicatrice d'anaérobiose.

L'incubation dure environ 48 heures à une température de 37°C, puis on procède aux décomptes des colonies contenues à l'intérieur et à la surface de la gélose. Seules les

concentrations entre 30 et 300 unités formant des colonies (UFC) sont retenues comme comptes. Le résultat est la moyenne pondérée des différentes dilutions.

#### **2.1.5.2 Détermination de la biomasse**

La masse d'un échantillon inconnu est obtenue par la différence entre le poids du papier filtre avant et après filtration des micro-organismes. La masse de l'échantillon inconnu est déterminée en portant la valeur obtenue sur une courbe de référence préalablement construite avec des populations microbiennes de densité connue <sup>(56)</sup>.

Un portoir et le filtre de cellulose qu'il contenait sont pesés avant la filtration de 7ml du consortium bactérien. Le tout est séché à une température de 80°C pendant plusieurs heures et pesé régulièrement jusqu'à ce que le poids se stabilise indiquant un séchage complet.

Le poids sec total de l'échantillon est obtenu par la différence entre le poids du papier de filtre avant et après filtration des micro-organismes. Il suffit alors de porter cette valeur sur la courbe de référence à l'Annexe 1 pour connaître la masse de l'échantillon.

## **2.2 Méthodes analytiques**

### **2.2.1 Extraction de l'huile de coupe biotraitée**

Cette méthode a été modifiée à partir de celle utilisée par Fedorak et col en 1981 <sup>(24)</sup>. Après des périodes d'incubation variées, les cultures sont acidifiées avec 2 ml d'acide chlorhydrique concentré. Les contenus (3 à 5 ml ) prélevés des bouteilles et du réacteur biologique sont versés dans un bécher. On additionne au fur et à mesure 5 mg de sulfate de magnésium sous agitation continue jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. Le mélange est traité avec l'éther diéthylique (ED), ensuite filtré. Le mélange d'huile et ED est prélevé avec une pipette est stockée dans un vial jusqu'au passage dans une fiole et évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif(Rotavapor) à une température constante de 40°C pendant 20 minutes. Le contenu est concentré est mis dans une fiole en verre et stocké à une température entre 0-4°C en attendant d'être soumis à une analyse par chromatographie en phase gazeuse.

### **2.2.2 Chromatographie en phase gazeuse**

Elle permet d'identifier et de quantifier des constituants d'un mélange à partir d'une solution étalon. L'utilisation d'une solution étalon type pour chaque mélange (hydrocarbure ou autre) fait en sorte que bien qu'il soit aisé de doser un mélange pur, il s'avère hasardeux de doser un échantillon dégradé, à cause de la similarité relative de la solution étalon et de l'échantillon<sup>(57)</sup>.

Les composées organiques volatils sont extraits à partir de la partie gazeuse avant séparation par chromatographie en phase gazeuse. La détection est réalisée par un détecteur à ionisation de flamme (FID). Les composés sont quantifiés de façon individuelle à l'aide d'une solution étalon appropriées.

La caractérisation des produits pétroliers se fait par une identification du mélange et sa quantification à partir de pics sélectionnés pour chaque mélange d'hydrocarbures ainsi l'identification du profil chromatographique par un détecteur à ionisation de flamme (FID) et la sélection de pics spécifiques pour chaque mélange afin de déterminer le type de produits pétroliers et vérifier s'il s'agit d'une contamination non altérée, évaporée partiellement ou dégradée. La dégradation se remarque par une diminution ou une absence des pics principaux (paraffines  $C_{11}$  à  $C_{21}$ ) ainsi qu'une forte prédominance des pics secondaires.

Lorsque le profil chromatographique de l'échantillon s'apparente à celui d'une solution étalon, il suffit de procéder à l'identification du mélange et de le quantifier en utilisant l'aire sous les pics caractéristiques des alcanes propres de chaque solution étalon.

#### **2.2.2.1 Méthode d'analyse de l' extrait d'huile biodégradée**

Une analyse a été faite par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme GC-FID, en se servant de colonne capillaire



(Stabilwax-DB, Alumina plot/30m longueur, 0.32 mm de diamètre interne et d'épaisseur 0.5 micron) afin de permettre une meilleure séparation des hydrocarbures ( de 6 à 30 atomes de carbone) par rapport à des colonnes remplies. La méthode d'analyse utilise l'hélium comme gaz vecteur à une pression de 15 psi, le port d'injection et le détecteur à ionisation de flamme (FID) sont maintenus respectivement à 250 °C et 300 °C respectivement. La température du four est maintenue à 50°C pour 0.5 min, programmée à augmenter 4°C/ min jusqu'à atteindre 220°C, maintenue 10 min. Puis 0.2 ul d'huile de coupe extrait est injectée. Cette méthode d'analyse est bien détaillée dans l'Annexe 2.

#### **2.2.2.2 Analyse du méthane**

Il utilise le même détecteur pour l'analyse de l'huile de coupe. Mais une colonne capillaire (Stabilwax-DB, Alumina plot.Fused silica/30m longueur, 0.50 mm de diamètre interne et d'épaisseur 0.5 micron) nouvellement testée pour sa performance au laboratoire. L'hélium est utilisé comme gaz vecteur à une pression de 4 psi avec un débit de 3.0 ml/min à 25°C, le port d'injection et le détecteur à ionisation de flamme (FID) sont maintenus à 200°C. La température est programmée à augmenter 5 °C/ min jusqu'à atteindre 175°C. Cette méthode est détaillée dans l'Annexe 4.

### **2.2.2.3 Calibrage de l'appareil de chromatographique en phase gazeuse**

Le calibrage de la méthode d'analyse se fait selon la méthode d'étalon externe (External Standard method). L'aire du pic est déterminée en utilisant le facteur de réponse correspondant à l'étalon spécifique (Description: UST modified Diesel range organics Cat No: 4-8166 Lot No.: LA-51826 Supelco1995). La quantité du composé est calculée en valeur absolue. Une des précaution à prendre en considération , c'est que la taille de l'échantillon injectée doit être reproductible. Dans l'analyse d'étalon externe, l'aire du pic correspondant à un composé donnée (**A<sub>i</sub>**) est corrigée par le facteur de réponse (**f<sub>i</sub>**) et la quantité absolue du composé présent dans l'échantillon, la concentration d'un composé donné (**C<sub>i</sub>**), est exprimée par la relation suivante (1):

$$C_i = A_i / f_i$$

Dans ce type d'analyse la taille de l'échantillon injectée n'est pas pris en considération quand la quantité du composé est reproductible. Les différents étalons et analyses figurent dans l'Annexe 2.

### **2.3 Étude de la cinétique de biodégradation**

Les connaissances concernant la cinétique de la biodégradation jouent un rôle essentiel quant à l'évaluation de la persistance de polluants organiques et l'exposition à des êtres vivants. Une fois la dégradation d'un composé chimique commence, la quantité disparue pendant une période de temps et la forme de la courbe de disparition serait une fonction du composé en question: sa concentration, l'organisme responsable et le nombre de facteurs environnementaux. La cinétique de dégradation permet de prédire le niveau probable d'un polluant présent à un temps donné.

Les recherches <sup>(58)</sup> sur la cinétique ont été portées sur l'influence des facteurs abiotiques sur la quantité de composé transformée par unité de temps. À cet égard, beaucoup d'information est disponible quant à l'influence de la température, le pH, l'humidité et autres sources de carbone.

Les bactéries qui croissent énormément sur un substrat, doivent en trouver en quantité suffisante pour l'utiliser lors du dédoublement. Si la densité de la population bactérienne est relativement supérieure à la concentration du substrat offert, très peu ou presque pas d'augmentation du nombre de bactéries est notée. Dans de telles conditions la cinétique de dégradation ressemble à une réaction enzymatique à cause de la non implication de l'augmentation de la biomasse. La vitesse de réaction en fonction du substrat est souvent bien exprimée par l'équation de Michaelis-Menten<sup>(59)</sup> :

$$V = V_{\max} \cdot S / (K_m + S) \quad (2)$$

Où:

$V$  = Vitesse de la réaction enzymatique

$V_{\max}$  = Vitesse de réaction maximale

$K_m$  = constante d'affinité

Cette équation 2 est presque identique à l'équation établie par Monod :

$$\mu = \mu_{\max} \cdot X \cdot S / (K_s + S) \quad (2a)$$

mais en diffère seulement dans des paramètres cinétiques. En se référant aux deux graphiques des deux équations, on note la même allure hyperbolique. La différence essentielle entre les deux cinétiques est que la quantité du matériel enzymatique est constante pour le modèle de Michaelis-Menten, alors pour le modèle établi par Monod, le matériel cellulaire augmente lors de la phase de croissance. Pour cela l'équation de Michaelis-Menten peut être utile pour les bactéries sans croissance. À une concentration de substrat supérieur à la constante d'affinité ( $K_m$ ), le taux ne décroît pas appréciablement car les cellules transforment le substrat organique. En d'autres mots, le taux de croissance reste constant lorsque la concentration décroît d'un haut niveau à une concentration plus faible mais toutefois reste au dessus de  $K_s$ . Dans un modèle cinétique de prédilection, à une concentration de substrat en bas de  $K_s$ , le taux de destruction est du premier ordre et les cellules responsables de cette

destruction ne croissent pas à un degré significatif, ce qui pourrait correspondre à notre cas dans cette étude.

Dans différents environnements, les constantes du premier ordre et le nombre de cellules aptes à métaboliser le substrat varierait. Cependant, l'équation de prédilection de Monod peut être obtenue en divisant le taux constant de 1er ordre par le nombre de cellule présent dans l'environnement. L'équation de Monod <sup>(58)</sup> peut s'écrire comme suit:

$$-dS/dt = \mu_{\max} * X * S / Y(K_s + S) \quad (3)$$

$\mu_{\max}$  = taux de croissance maximale des bactéries

X = densité des bactéries UFC/ml

Y = coefficient de performance: bactérie (UFC/l)/ mg substrat/l

Mathématiquement, la relation stéréochimique entre le substrat consommé et la biomasse produite est exprimé par le coefficient de performance Y comme montré en dessous:

$$dx/dt = -Y * ds/dt \text{ avec } Y = -dx/ds \quad (4)$$

Cette équation (4) a été utilisée dans le but de déterminer le coefficient de performance. Ce coefficient de performance est fonction des espèces de micro-organismes, du type de substrat et les conditions environnementales.

Dans cette étude le calcul des paramètres est basé sur l'équation (5) obtenue à partir de l'équation (3) en substituant  $\mu_{\max} * X / Y$  par  $R_{\max}$ :

$$R_s = -dS/dt = R_{smax} * S / (K_s + S)$$

(5)

Où,  $K_s$  = l'affinité de l'enzyme produite vis à vis du substrat.

$[S]$  = concentration de substrat (carbohydrate).

$R_s$  = vitesse de biodégradation de l'hydrocarbure.

$R_{smax}$  = vitesse maximale de biodégradation de l'hydrocarbure

Cette equation (5) ressemble à celle établie par Michaelis-Menten. Elle peut s'écrire sous une autre forme tel qu'indiquée ci dessous:

$$R_x = (1/X)(-dS/dt) = R_{xmax} * S / (K_x + S)$$

(6)

Où:

$R_{xmax} = \mu_{max}/Y$

$K_x$  = constante de saturation.

$[S]$  = concentration de substrat (carbohydrate).

$R_x$  = vitesse de biodégradation de l'hydrocarbure par la culture bactérienne.

$R_{xmax}$  = vitesse maximale de biodégradation de carbohydrate par la biomasse en poids sec.

Les vitesses de biodégradation de chaque composé organique (hydrocarbure) sont obtenues en dérivant l'équation de la courbe de disparition du substrat en fonction du temps.

$$S=f(t) \quad (7)$$

Ou: S = concentration du substrat à un temps donnée

t= durée de disparition d'hydrocarbure.

En dérivant l'équation polynomiale (7) on obtient:

$$f'(t) = -dS/dt \quad (8)$$

Ou:  $f'(t)$  = la vitesse de biodégradation d'hydrocarbure

Les valeurs des vitesses de biodégradation correspondante à chaque type d'hydrocarbure sont calculées à partir de l'équation (8), et serviront à tracer la courbe de la vitesse  $R_s$  ou  $R_x$  en fonction de la concentration de chaque substrat. À l'aide du logiciel approprié (Curve Table, par exemple), les courbes des vitesses de biodégradations sont tracées en se servant des équations 5 et 6 afin d'avoir la bonne allure hyperbolique illustrant les modèles cinétiques de Monod ou de Michaelis-Menten. Par la suite elle seront utilisées pour calculer facilement les constantes cinétiques de dégradation de certains composés organiques présent dans l'huile de coupe usée (Pennex N43, ESSO).

#### **I.2.4 Synthèse**

- l'analyse microbiologique du consortium révèle l'apparition de *Clostridium* très résistant et d'autres bactéries productrices de méthane (Méthanogènes). L'acclimatation de ces dernières a duré six mois avant qu'elle ne se développent dans l'huile de coupe seule et le milieu riche en micronutriments.

- l'analyse des huiles usées s'avère l'étape finale et cruciale dans le développement de notre recherche. Elle a permis l'analyse de l'huile biotraitée et le gaz produit par les méthanogènes à l'aide de la chromatographie en phase gazeuse.

- l'étude de la cinétique de biodégradation de certains composés organiques par le consortium bactérien acclimaté suggère le modèle cinétique établi par Michaelis-Menten ou Monod.

- pour s'assurer de la reproductibilité des résultats, l'étude de la biodégradation à une température de 35°C, l'essai a été réalisé trois fois de suite dans le réacteur biologique. Lorsque les bactéries ont atteint leurs stades maximum de croissance le réacteur est vidé pour être inoculé par le même consortium qui a servi à l'ensemencement du réacteur précédent. Alors que l'étude de biodégradation à 25°C était réalisée dans trois bouteilles de 250 ml.



## CHAPITRE III

### RÉSULTATS

#### **1 Identification du consortium bactérien**

La liste des bactéries faisant partie du consortium bactérien utilisées par Agropur-De-Notre-Dame-Du-Bon conseil dans le traitement des effluents de fromagerie était méconnue. Le but de cette d'identification est d'avoir une idée sur les bactéries formant le consortium bactérien.

Le tableau 4 présente la liste des bactéries identifiées par le système AN-IDENT et retrouvées dans le consortium utilisé ainsi que leurs produits de dégradation avant l'acclimatation à l'huile de coupe.

Vers la fin de la phase de croissance exponentielle des cellules bactérienne, à une température de 35°C, une autre identification par le test An-Ident a été effectuée pour déterminer les bactéries qui ont pu se développer dans l'huile de coupe. Le tableau 5 présente la liste des bactéries développées dans l'huile de coupe ainsi que leur morphologie, leur réaction au gram, et les autres caractéristiques.

Le tableau 6. représente les résultats des pourcentages de bactéries présent dans le réacteur à la fin de l'étude de dégradation à 35°C.

Tableau 4

Liste des bactéries identifiées et leur productions

| Espèces   | Métabolites  |
|---|--|
| <u>Clostridium symbiosium</u>                             | propionic, acetic, formic, and succinic acids and CO <sub>2</sub> // acides propionique , acétique, formique,succinique et CO <sub>2</sub> |
| <u>Clostridium sporogenes</u>                             | propionic, acetic, formic and succinic acids and CO <sub>2</sub> // acides propionique, acétique, formique,succinique et CO <sub>2</sub>   |
| <u>Clostridium hastiforme</u>                             | propionic, acetic, formic and succinic acids and CO <sub>2</sub> // acides propionique, acétique , formique, succinique et CO <sub>2</sub> |
| <u>Clostridium clostridiiforme</u><br><u>ou butyricum</u> | propionic, acetic, formic and succinic acids and CO <sub>2</sub> // acides propionique, acétique, formique,succinique et CO <sub>2</sub>   |
| <u>Clostridium tetani</u>                                 | propionic, acetic, formic and succinic acids and CO <sub>2</sub> // acides propionique, acétique , formique,succinique et CO <sub>2</sub>  |
| <u>Lactobacillus fermentum</u>                            | lactic, acetic and formic acids, CO <sub>2</sub> and alcohol// acides lactique, acétique, formique, du CO <sub>2</sub> et de l'alcool      |
| <u>Bifidobacterium adolescentis</u>                       | lactic and acetic acids// acides acétique et lactique  |

Tableau 5

Liste des bactéries développées dans l'huile de coupe

| Genre                                     | Réaction<br>de Gram | forme<br>morphologique | Régime                   | Anaérobe |
|---|---------------------|------------------------|--------------------------|----------|
| Clostridium<br>hastiforme                 | +                   | bâtonnet               | mésophile                | stricte  |
| Clostridium<br>innoculum                  | +                   | bâtonnet               | mésophile                | stricte  |
| Méthanobactérium sp<br>ou Méthanobacillus | Non<br>détecté      | bâtonnet               | mésophile<br>thermophile | stricte  |
| Bactérie non<br>identifiée                | +                   | bâtonnet cours         | mésophile                | —        |

Tableau 6

Pourcentage estimé des bactéries formant le consortium bactérien

| Bactérie            | Pourcentage bactérien estimé à<br>l'aide de microscope optique |
|---------------------|--|
| Clostridium sp      | 25%  |
| Méthanobactérium sp | 60%  |
| Non identifiée      | 15%  |

## **2 Résultats de la croissance bactérienne**

La croissance des bactéries à des températures d'incubation de 25°C, 35°C et 45°C, est enregistrée sur les figures de croissance semi-logarithmique mettant sur l'axe des ordonnées le logarithme népérien des (UFC/ml) et sur l'axe des abscisses le nombre de jours d'incubation:

La figure 2 présente la croissance semi-logarithmique des bactéries incubées dans un réacteur en discontinu à une température de 35°C en fonction du temps d'incubation.

La figure 3 illustre les résultats de croissance semi-logarithmique des bactéries incubées dans les trois bouteilles de 250 ml bien fermées à une température de 25°C et en fonction du temps d'incubation.

La figure 4 illustre le résultat de croissance semi-logarithmique des bactéries incubées dans une bouteille de 250 ml bien fermée à une température de 45°C pendant un temps d'incubation de 60 jours.

Les données de chaque type de croissance ainsi que les replicats sont présentés dans l'Annexe 5. Ils montrent le nombre d'unité formant une colonie obtenue à des périodes de temps variées.

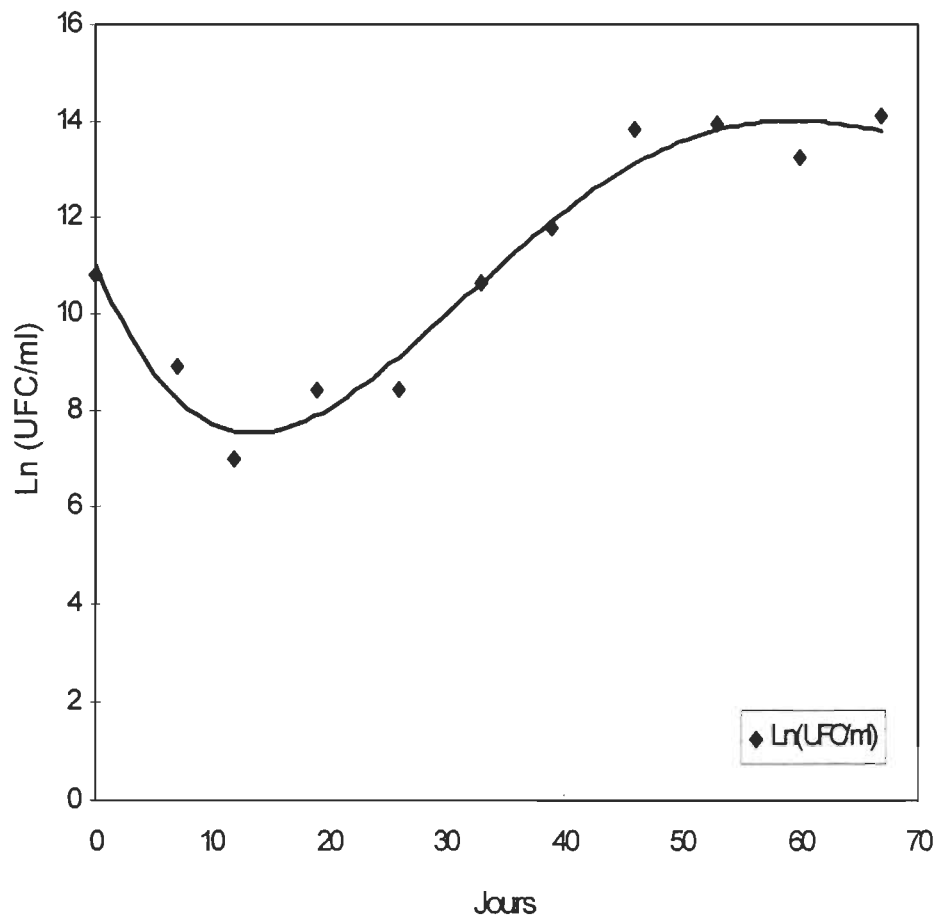


Figure 2. Courbe de croissance semi-logarithmique d'une culture bactérienne incubée à 35°C

Conditions expérimentales :

Milieu : réacteur discontinu

Température: 35°C

Substrat : huile de coupe (Pennex N43 Esso)

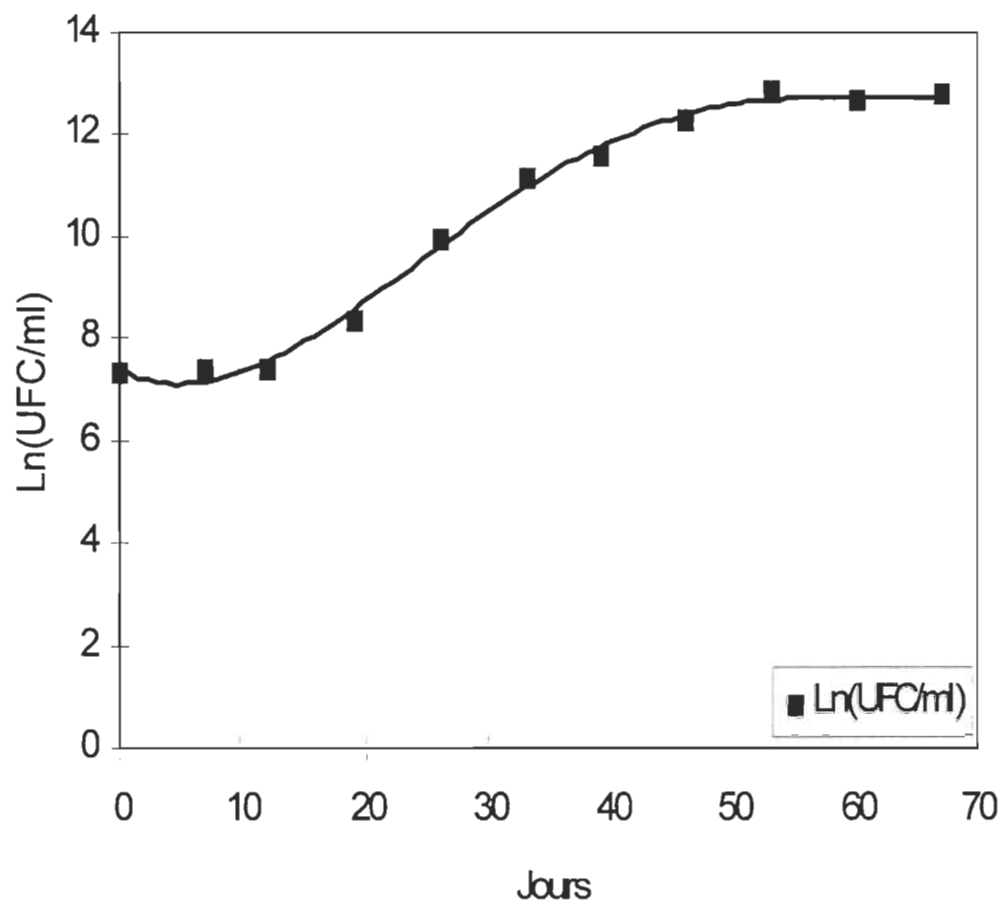


Figure 3. Courbe de croissance semi-logarithmique d'une culture bactérienne incubée à 25°C

Conditions expérimentales :

Milieu : bouteille de 250 ml

Température: 25°C

Substrat : huile de coupe (Pennex N43 Esso)

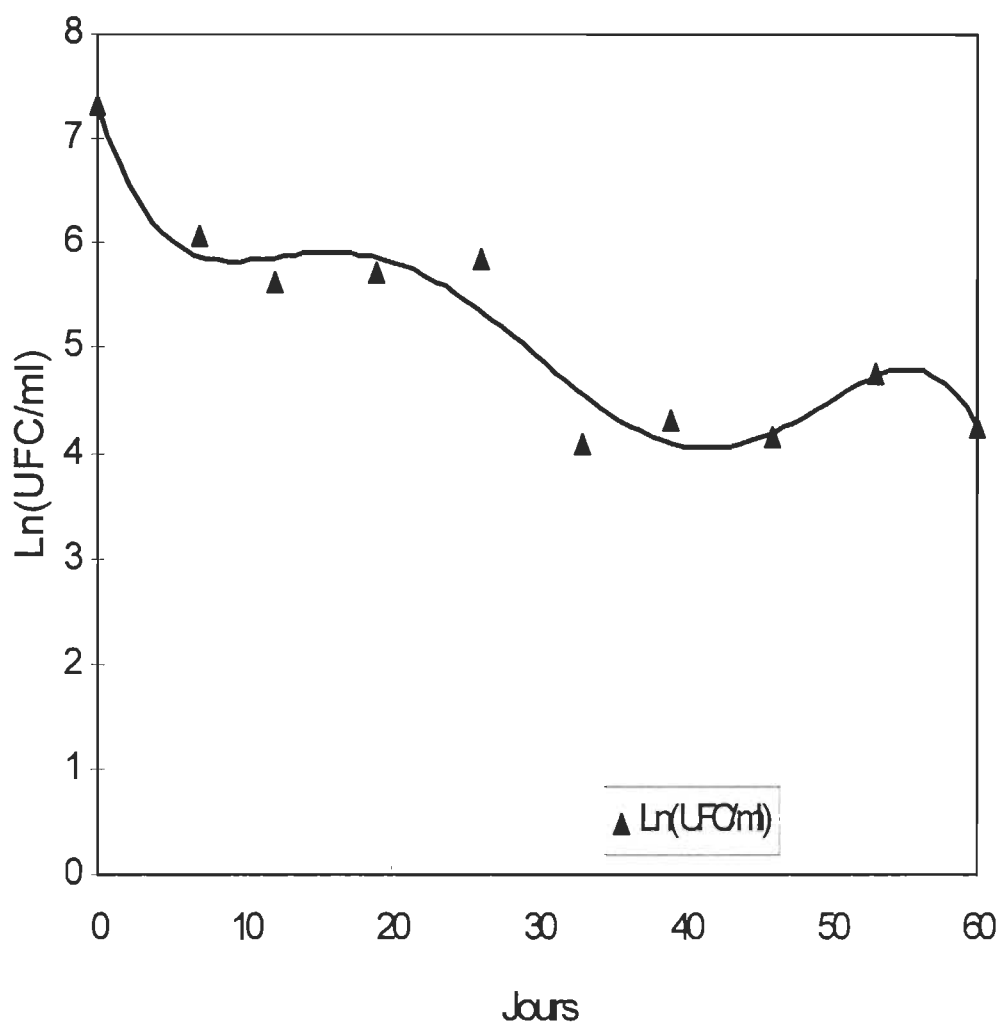


Figure 4. Courbe de croissance semi-logarithmique d'une culture bactérienne incubée à 45°C

Conditions expérimentales :

Milieu : bouteille de 250 ml

Température: 45°C

Substrat : huile de coupe (Pennex N43 Esso)

### **3 Résultats de la dégradation des composés organiques**

Les concentrations de chaque composé organique ont été obtenues par chromatographie en phase gazeuse en utilisant un détecteur à ionisation de flamme selon l'équation 1 dans le chapitre II, section 2.2.2.3. Les facteurs de réponse calculés à partir des étalons correspondant à certains composés organiques et l'aire des pics de ces derniers obtenue lors des injections des échantillons d'huile biotraitée, permet de calculer leurs concentrations  $C_i$  en divisant l'aire du pic par le facteur de réponse du composé organique. À partir de ces concentrations calculées, des courbes de disparition de l'hydrocarbure sont tracées en fonction de la durée d'incubation.

#### **3.1 Biodégradation à une température d'incubation de 35°C**

Les figures 5, 6, 7, 8, 9 et 10 présentent les résultats de l'évolution de la concentration de chaque hydrocarbure  $C_{10}$ ,  $C_{12}$ ,  $C_{14}$ ,  $C_{16}$ ,  $C_{18}$  et  $[C_{26}-C_{28}]$  en fonction du temps d'incubation des bactéries dans le réacteur.

La figure 11 illustre les concentrations de ( $C_{10}$ ,  $C_{12}$ , et  $C_{14}$ ,) réapparues et disparues en fonction du temps d'incubation.

Le Tableau 7 résume les résultats des pourcentages de dégradation de chaque hydrocarbure et la période de temps correspondante.



### **3.2 Biodégradation à une température d'incubation de 25°C**

Le but de cette étude était de connaître le comportement des bactéries vis à vis du substrat à une température de 25°C, et de pouvoir le comparer à la biodégradation à 35°C.

Les figures 12, 13, et 14 montrent les résultats de l'évolution de la concentration de chaque hydrocarbure ( $C_{10}$ ,  $C_{12}$ , et  $C_{14}$ ) en fonction du temps d'incubation des bactéries.

Le tableau 8 illustre le résultat des pourcentages de dégradation de chaque hydrocarbure ( $C_{10}$ ,  $C_{12}$ , et  $C_{14}$ ) et la période de temps correspondante.

Les données expérimentales de la biodégradation de chaque composé organique à des températures de 25 et 35°C sont représentées dans les tableaux dans l'Annexe 5.

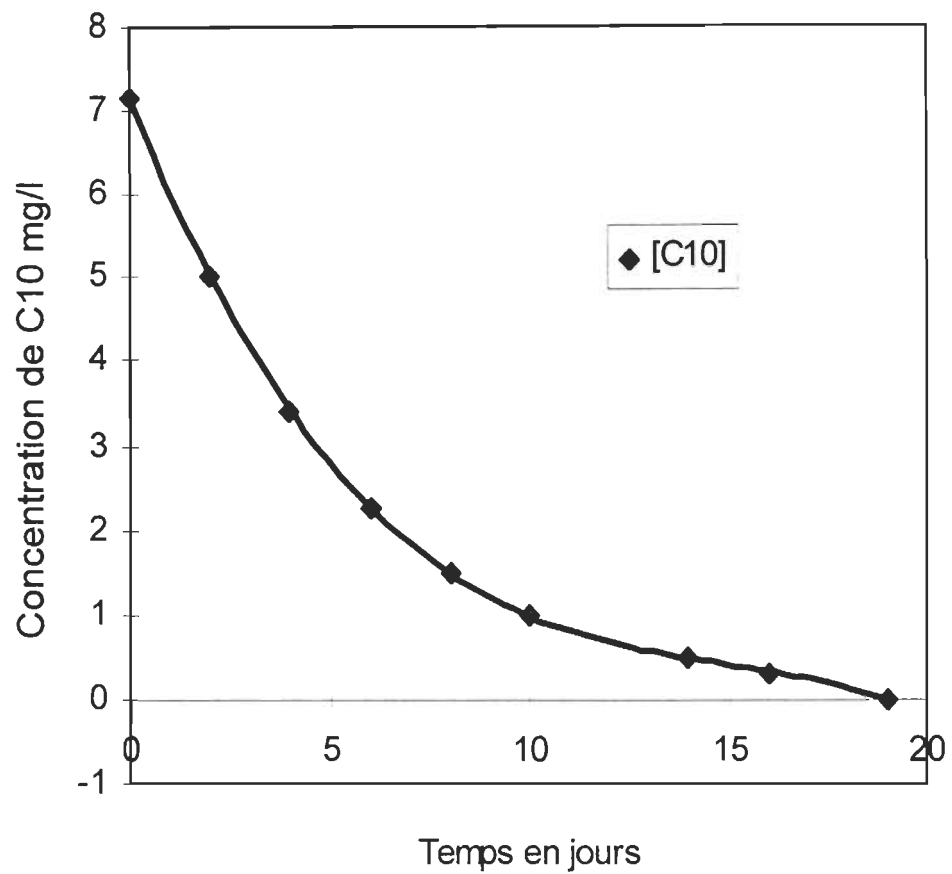


Figure 5. Courbe de disparition de composé organique C10 en fonction du temps

Conditions expérimentales :

Milieu : réacteur discontinu

Température: 35°C

Substrat : composé organique (C10) présent dans l'huile de coupe Pennex N43 Esso

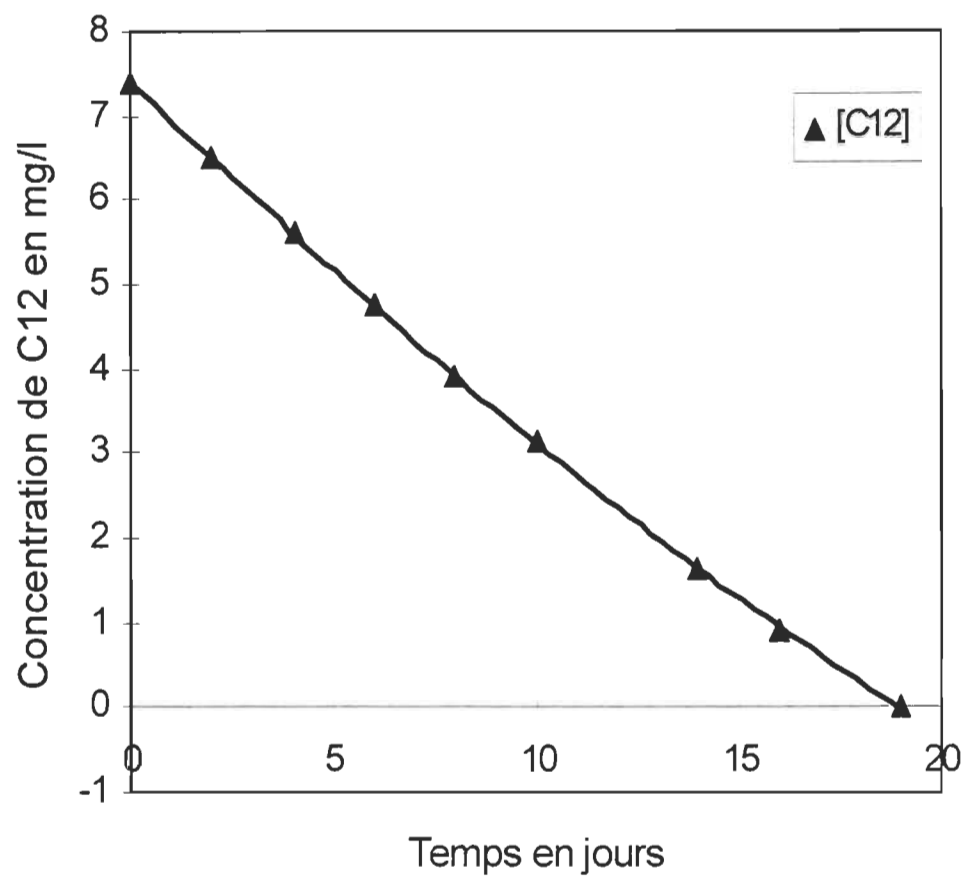


Figure 6. Courbe de disparition de composé organique C12 en fonction du temps

Conditions expérimentales :

Milieu : réacteur discontinu

Température: 35°C

Substrat : composé organique (C12) présent dans l'huile de coupe Pennex N43

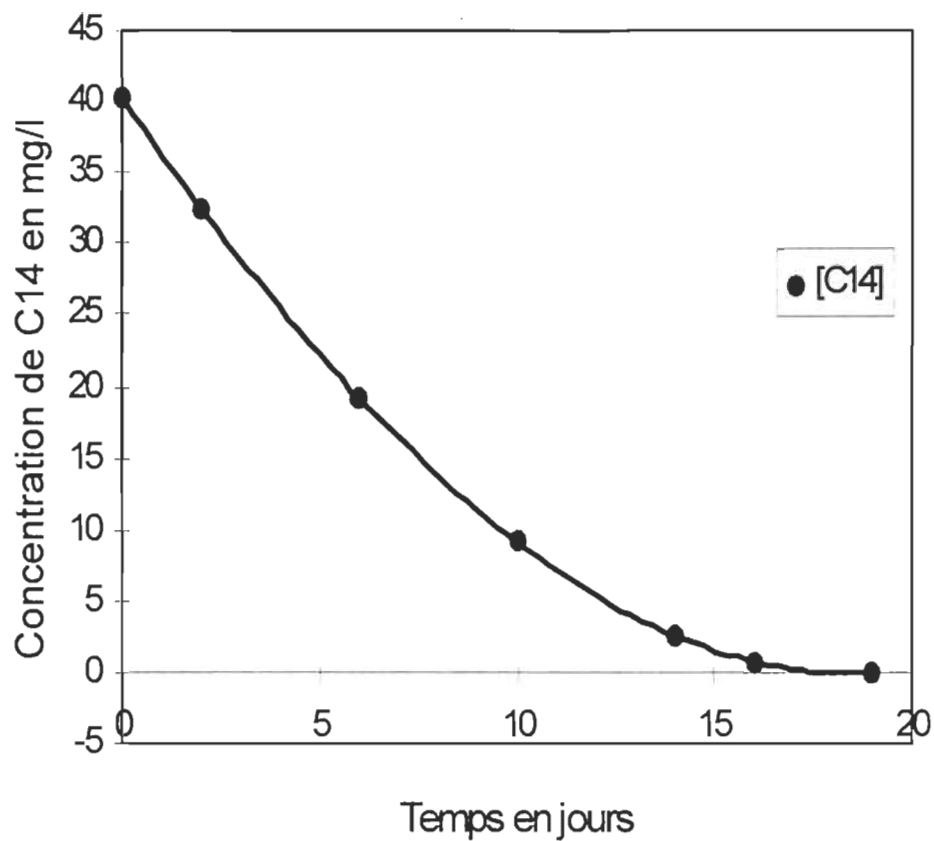


Figure 7. Courbe de disparition de composé organique C14 en fonction du temps

Conditions expérimentales :

Milieu : réacteur discontinu

Température: 35°C

Substrat : composé organique (C14) présent dans l'huile de coupe Pennex N43

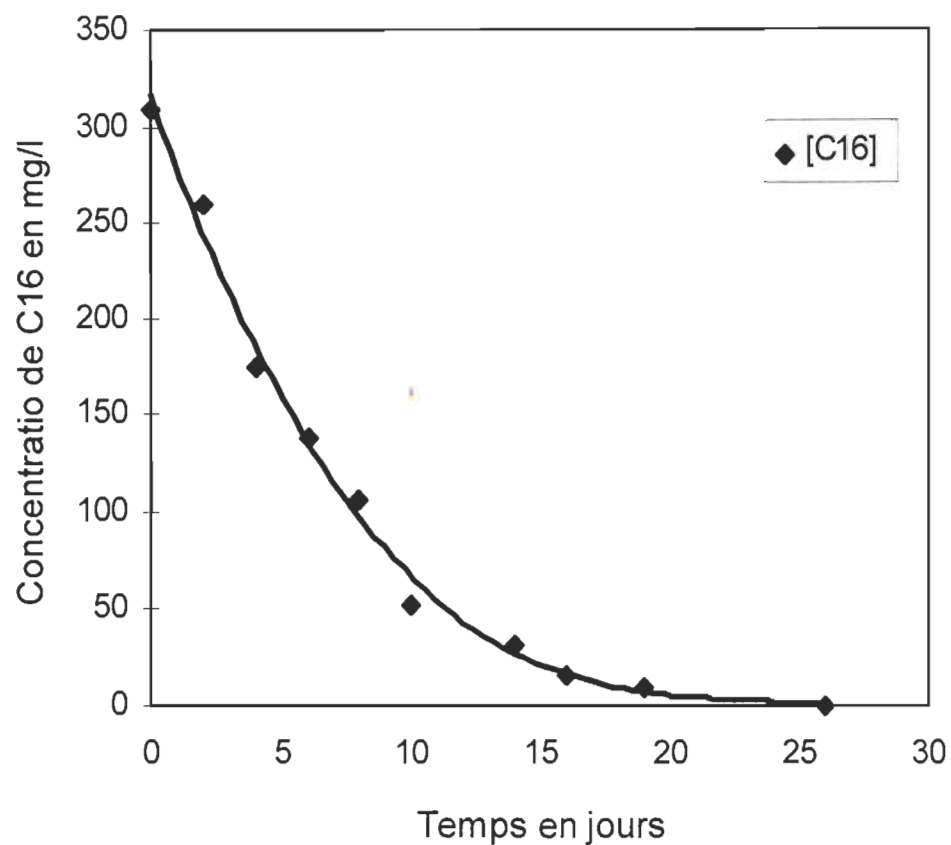


Figure 8. Courbe de disparition de composé organique C16 en fonction du temps

Conditions expérimentales :

Milieu : réacteur discontinu

Température: 35°C

Substrat : composé organique (C16) présent dans l'huile de coupe Pennex N43

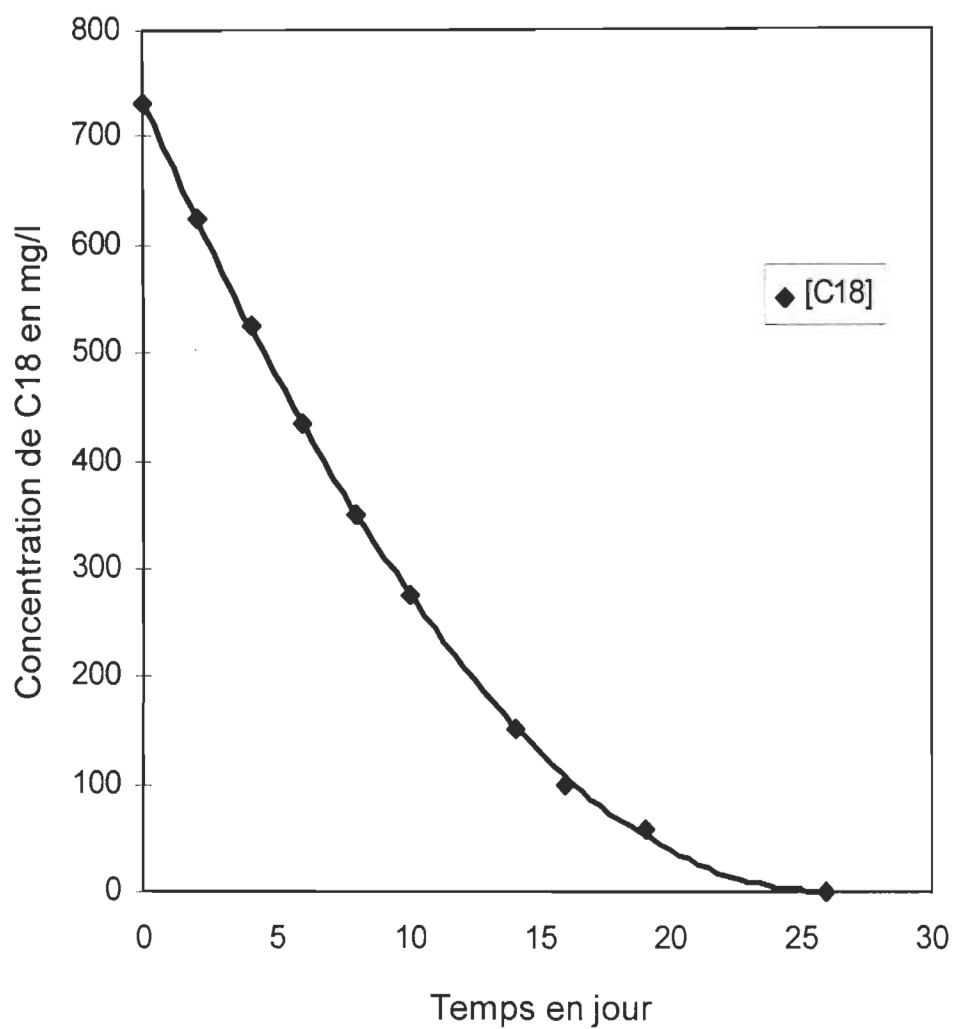


Figure 9. Courbe de disparition de composé organique C18 en fonction du temps

Conditions expérimentales :

Milieu : réacteur discontinu

Température: 35°C

Substrat : composé organique (C18) présent dans l'huile de coupe Pennex N43

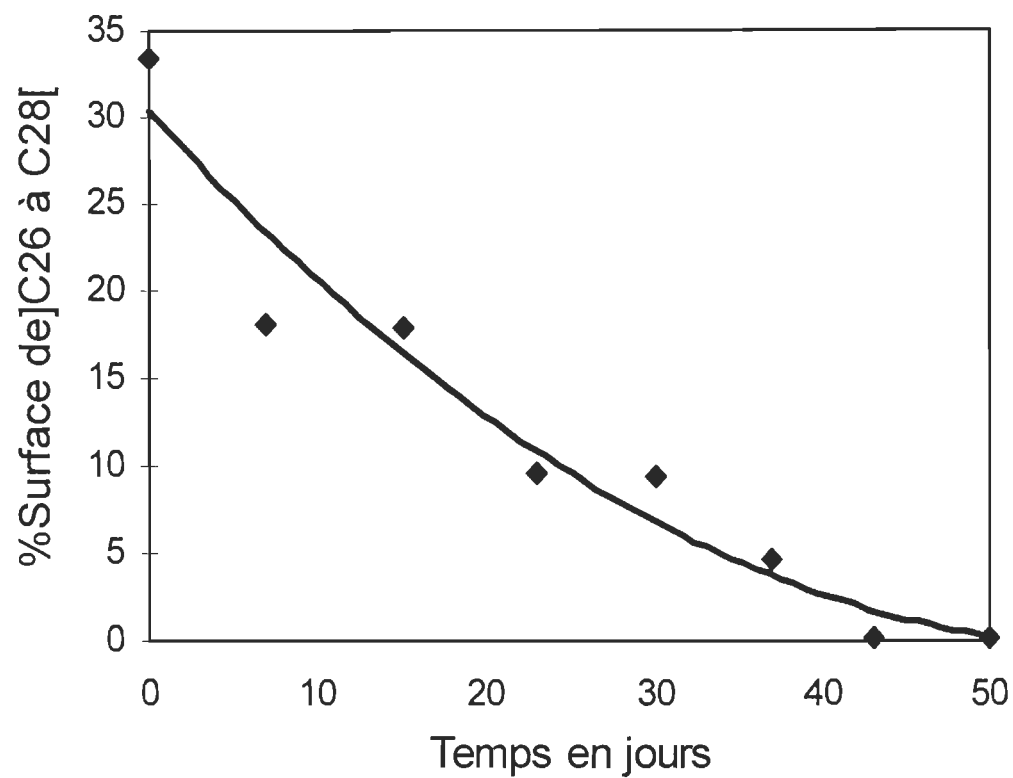


Figure 10. Courbe disparition de composés organiques de C26 à C28 en fonction du temps

#### Conditions expérimentales

Milieu : réacteur discontinu

Température: 35°C

Substrat :composés organiques (C26-C28) présent dans l'huile de coupe Pennex N43

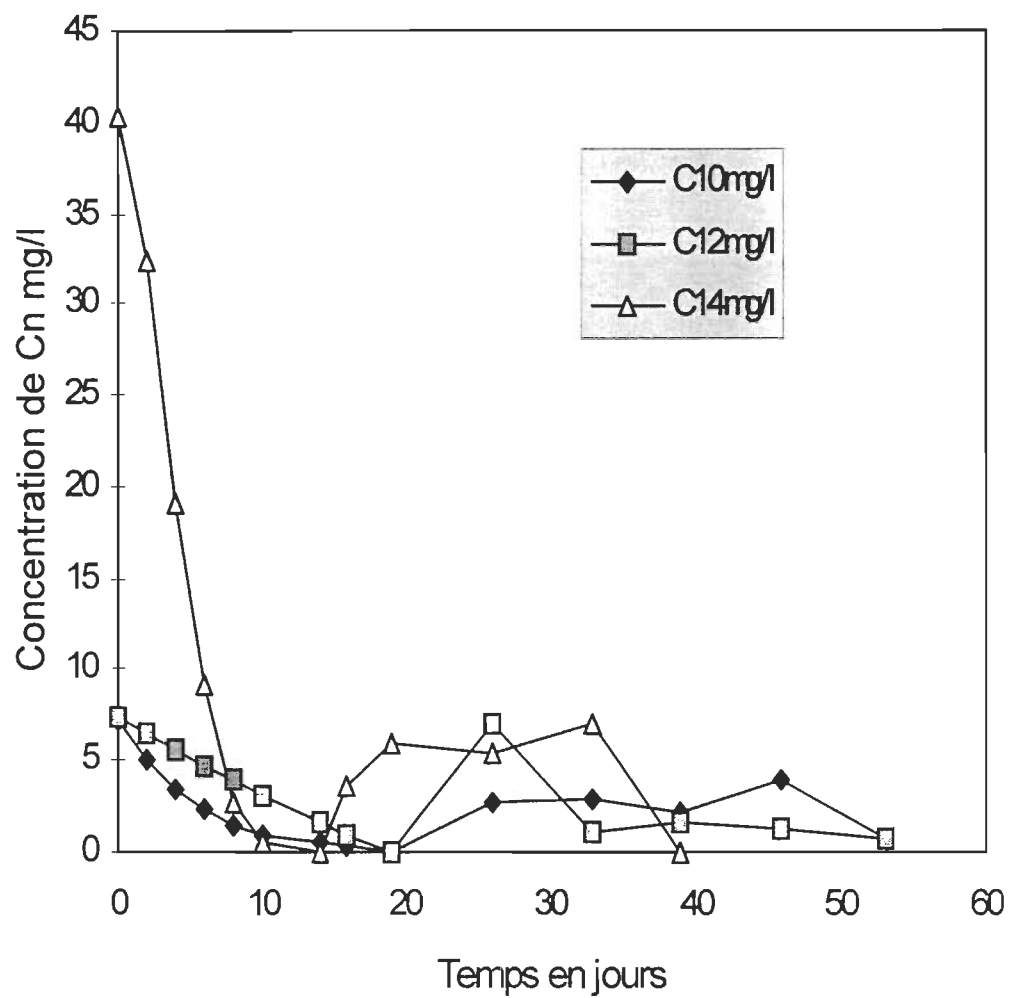


Figure 11. Courbe de disparition et de réapparition de C10, C12 et C14 en fonction du temps

#### Conditions expérimentales

Milieu : réacteur discontinu

Température: 35°C

Substrat: composé organique (C10,C12,C14) présent dans l'huile de coupe Pennex N43



Tableau 7

Pourcentage de dégradation de chaque hydrocarbure par le consortium bactérien

| Composés        | % substrat dégradé | Jours |
|-----------------|--------------------|-------|
| C <sub>10</sub> | 100%               | 19    |
| C <sub>12</sub> | 100%               | 19    |
| C <sub>14</sub> | 100%               | 19    |
| C <sub>16</sub> | 100%               | 26    |
| C <sub>18</sub> | 100%               | 26    |

Conditions expérimentales

Milieu : réacteur discontinu

Température : 35°C

Substrat : C<sub>10</sub>, C<sub>12</sub>, C<sub>14</sub>, C<sub>16</sub>, C<sub>18</sub>

Tableau 8

Pourcentage de dégradation de chaque hydrocarbure à 25 C

| Composés        | % substrat dégradé | jours |
|-----------------|--------------------|-------|
| C <sub>10</sub> | 81.59              | 19    |
| C <sub>12</sub> | 11.72              | 14    |
| C <sub>14</sub> | 11.33              | 19    |

Conditions expérimentales :

Milieu : bouteilles de 250 ml .

Substrat : C<sub>10</sub>, C<sub>12</sub>, C<sub>14</sub>

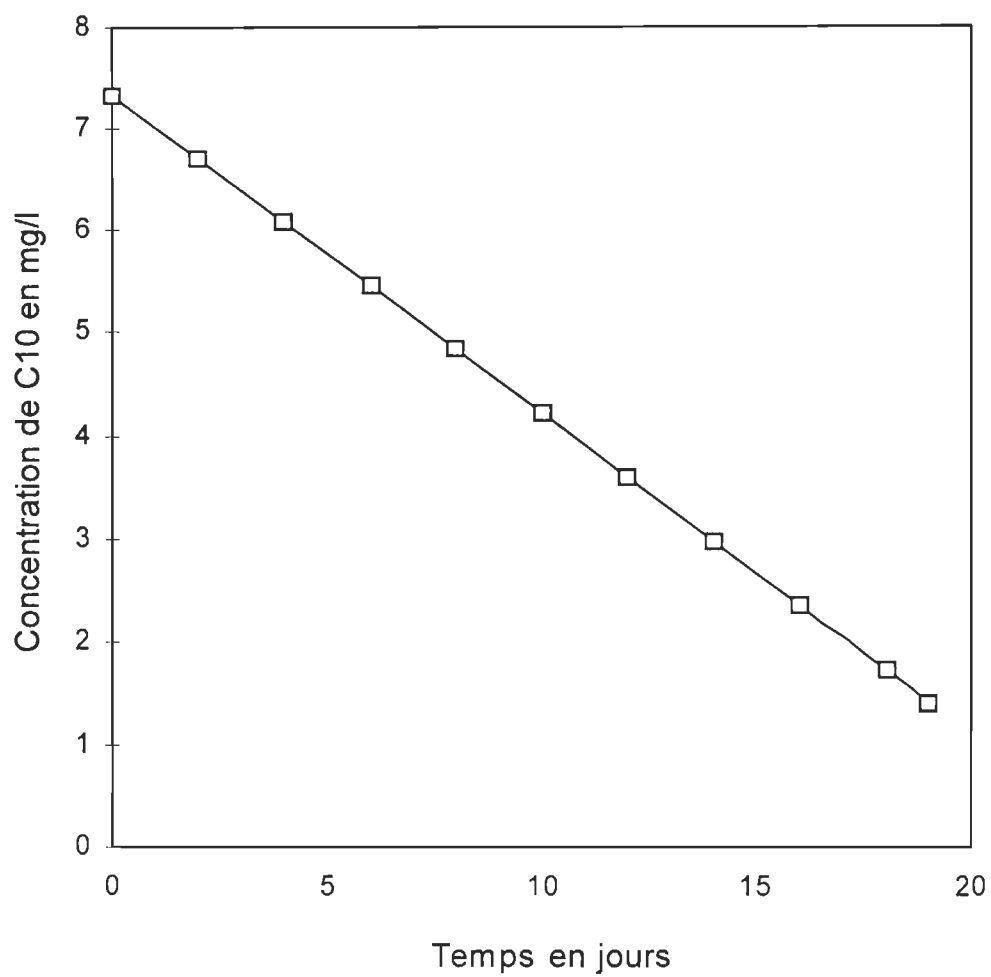


Figure 12. Courbe de dégradation du composé organique C10 en fonction du temps

Conditions expérimentales :

Milieu : bouteille de 250 ml

Température: 25°C

Substrat : composé organique (C10) présent dans l'huile de coupe Pennex N43

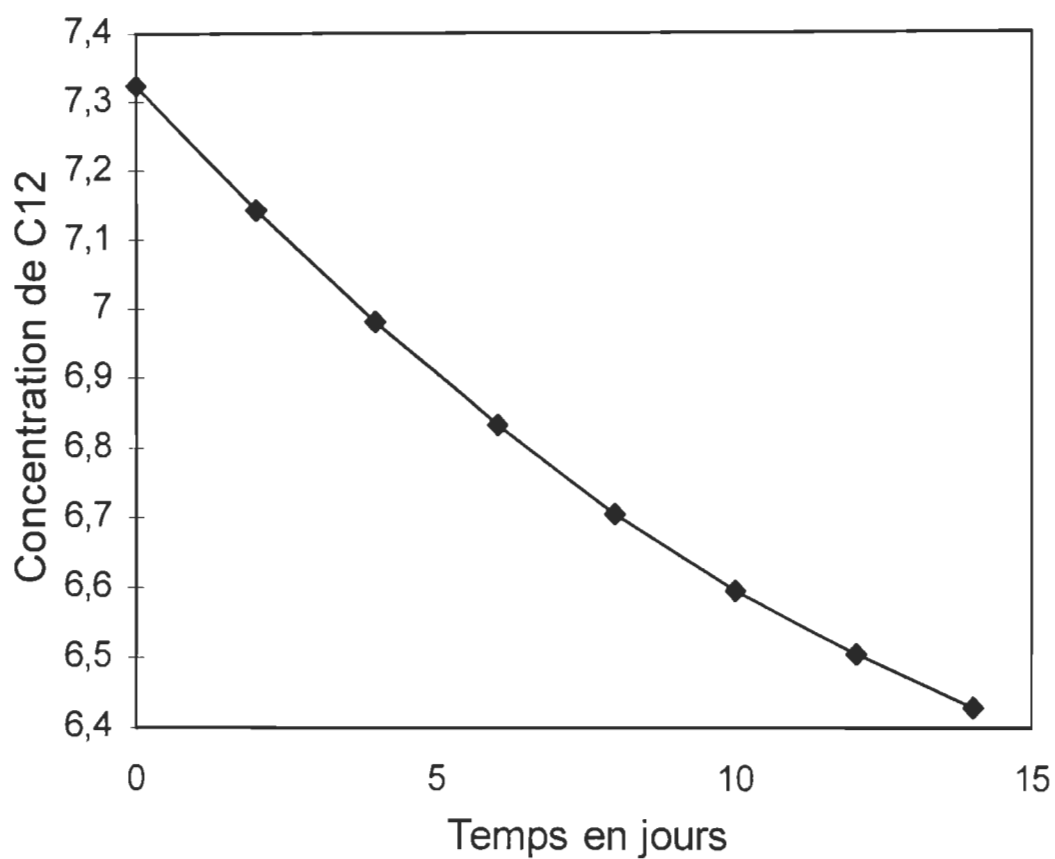


Figure 13 . Courbe de dégradation du composé organique C12 en fonction du temps

Conditions expérimentales :

Milieu :bouteille de 250 ml

Température: 25°C

Substrat : composé organique (C12) présent dans l'huile de coupe Pennex N43

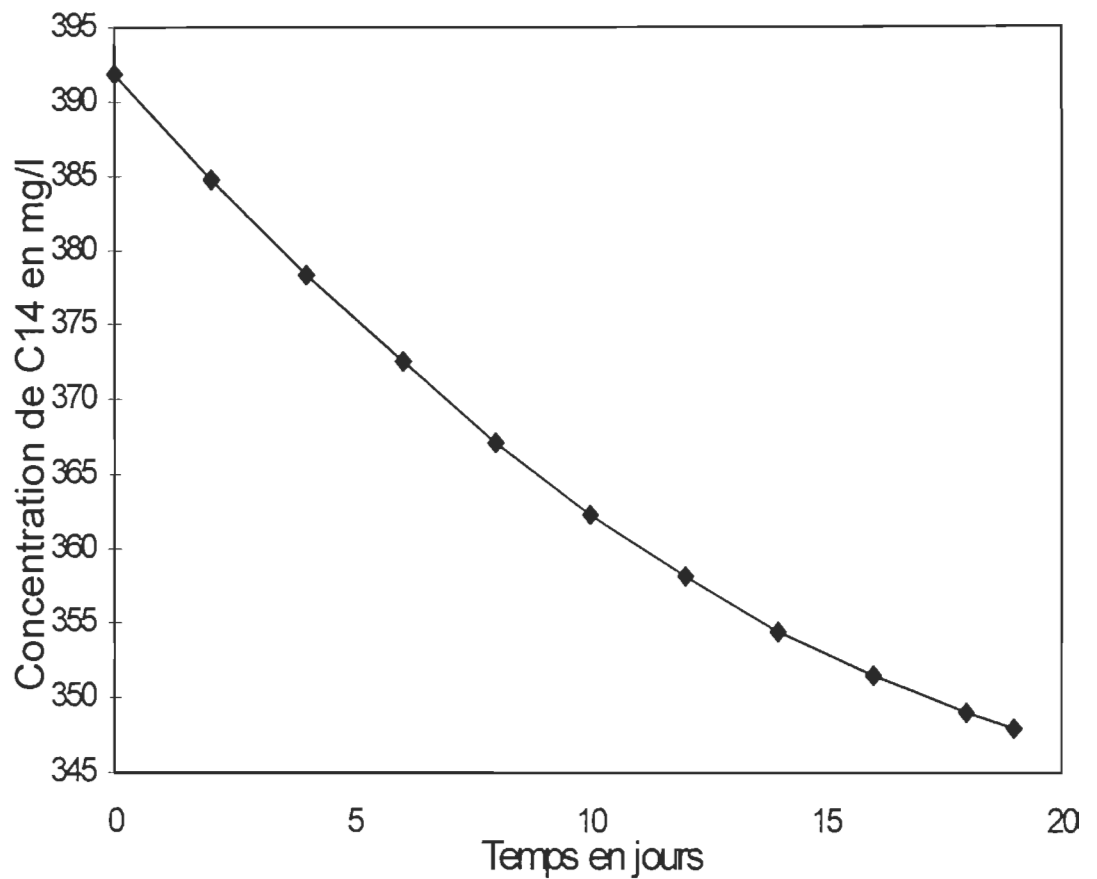


Figure14. Courbe de dégradation du composé organique C14 en fonction du temps

Conditions expérimentales :

Milieu : bouteille de 250 ml

Température: 25°C

Substrat : composé organique (C14) présent dans l'huile de coupe Pennex N43

#### **4 Résultats de la cinétique de biodégradation**

La cinétique de la biodégradation joue un rôle essentiel quant à l'évaluation de la persistance de  $C_{10}$ ,  $C_{12}$ ,  $C_{14}$ ,  $C_{16}$ , et  $C_{18}$  dans le réacteur et dans les bouteilles incubées. L'analyse de l'huile résiduelle extraite par chromatographie en phase gazeuse montre que la quantité de certains composés organiques diminue progressivement au cours du temps d'incubation. La courbe des cinétiques de biodégradation serait une fonction de la concentration du composé en question et de sa vitesse de dégradation. Les différentes vitesses ont été calculées selon les équations 5 et 6 développées antérieurement.

##### **4.1 Cas de la cinétique de dégradation à une température de 35°C**

Les figures 15, 16, 17, 18, 19, et 20 présentent la vitesse de dégradation ( $R_s$ ) de chaque hydrocarbure en fonction de la concentration de chaque hydrocarbure. L'allure de la cinétique de dégradation à une température de 35°C est une hyperbole.

Les figures 21, 22, 23, 24 et 25 illustrent l'évolution de la vitesse de disparition ( $R_s$ ) et du taux de production de la biomasse en fonction de la concentration de chaque hydrocarbure à une température d'incubation de 35°C. L'allure obtenue est une hyperbole comme celle obtenue par Michaelis-Menten ou Monod.

Les résultats des paramètres cinétiques de la dégradation à 35°C sont résumés dans les tableaux 9 et 10. Ils sont obtenus par les deux équations de  $R_s$  et  $R_{sx}$  et par un

logiciel (Curve Table) permettant le calcul facile de paramètres cinétiques déjà mentionné au chapitre II, section 2.3.

Le rapport entre la vitesse de croissance et la vitesse de dégradation détermine le coefficient de conversion de chaque hydrocarbure. C'est le résultat de la moyenne de tous ces coefficients obtenus pour des périodes de temps variées. Les résultats des vitesses de dégradation de C12 sont présentées dans le Tableau 9 ci-dessous, alors que les autres vitesses sont présentées à l'Annexe 8.

Tableau 9

Concentrations et vitesses de biodégradation de C12

| <b>Concentration<br/>mg/l</b> | <b>Vitesse Rs<br/>mg/l.j</b> | <b>Vitesse Rx<br/>mg C12/mg UFC.j</b> |
|-------------------------------|------------------------------|---------------------------------------|
| 7.39                          | 0.451                        | 0.94 E-03                             |
| 6.48                          | 0.437                        | 0.88 E-03                             |
| 5.60                          | 0.423                        | 0.84 E-03                             |
| 4.74                          | 0.400                        | 0.81 E-03                             |
| 3.92                          | 0.395                        | 0.78 E-03                             |
| 3.12                          | 0.381                        | 0.75 E-03                             |
| 1.62                          | 0.353                        | 0.70 E-03                             |
| 0.9                           | 0.339                        | 0.67 E-03                             |
| 0                             | 0                            | 0                                     |

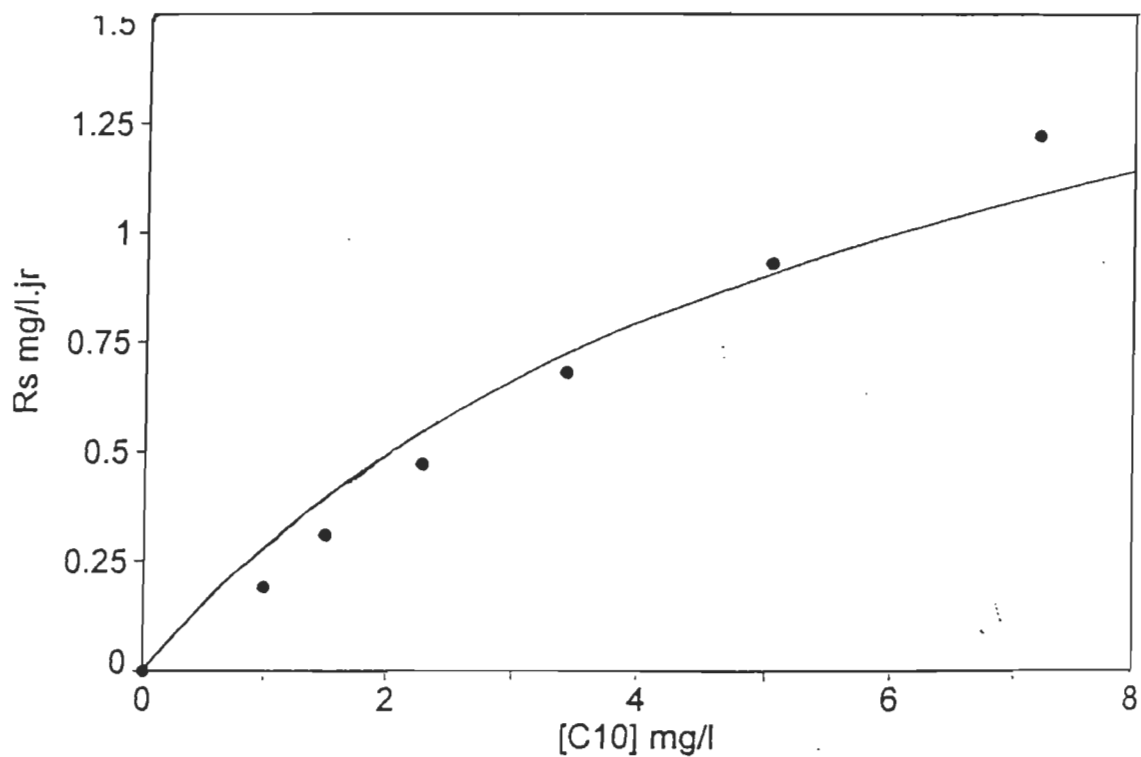


Figure 15. Vitesse de biodégradation en fonction de la concentration de C10

#### Conditions expérimentales

Milieu : réacteur discontinu

Température: 35°C

Substrat ( S ) : composé organique (C10) présent dans l'huile de coupe Pennex N43

Équation :  $R_s = -ds/dt = (1.79 \cdot S) / (5.06 + S)$  [mg/l. j]

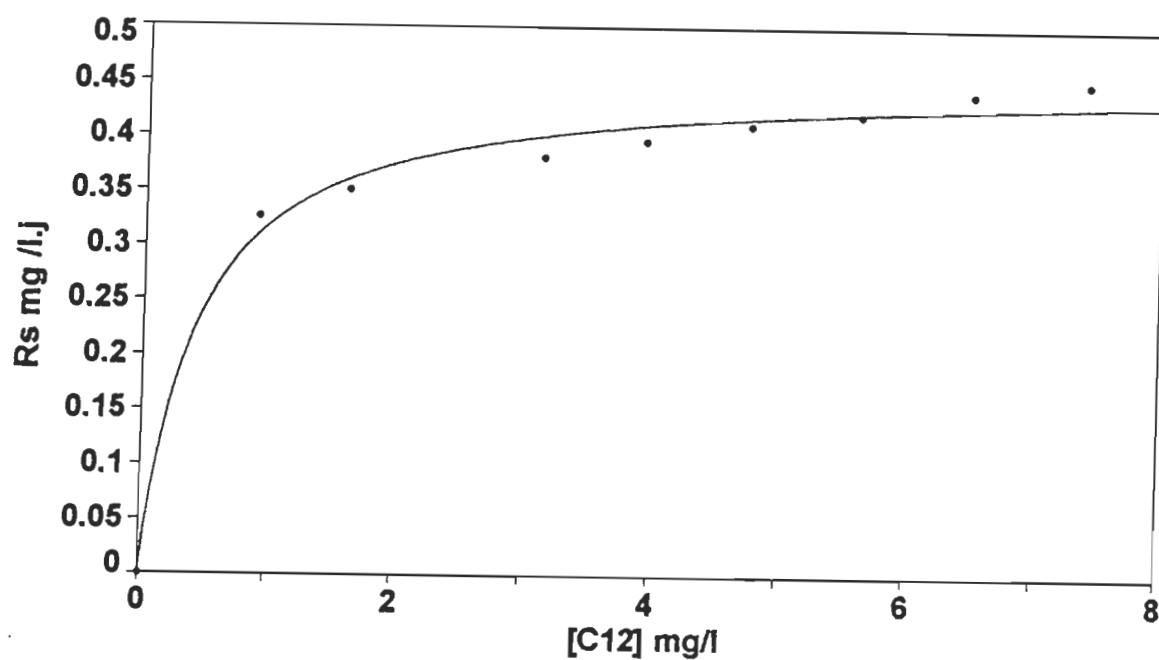


Figure 16. Vitesse de biodégradation en fonction de la concentration de C12

#### Conditions expérimentales

Milieu : réacteur discontinu

Température: 35°C

Substrat (S) : composé organique (C12) présent dans l'huile de coupe Pennex N43

Équation :  $R_s = -ds/dt = (0.44 \cdot S) / (0.35 + S)$  [mg/l. j]



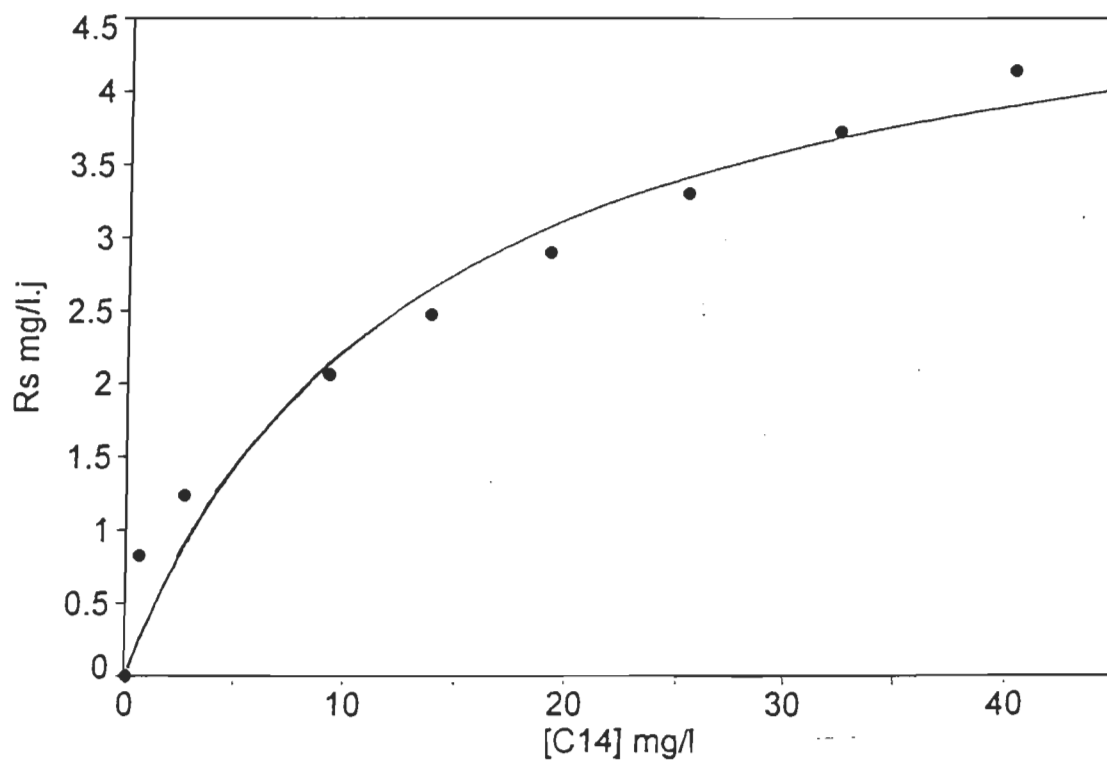


Figure 17. Vitesse de biodégradation en fonction de la concentration de C14

#### Conditions expérimentales

Milieu : réacteur discontinu

Température: 35°C

Substrat (S) : Composé organique (C14) présent dans l'huile de coupe Pennex N43

Équation :  $-ds/dt=Rs= (4.49*S)/(8.83+S)$  [mg/l. j]

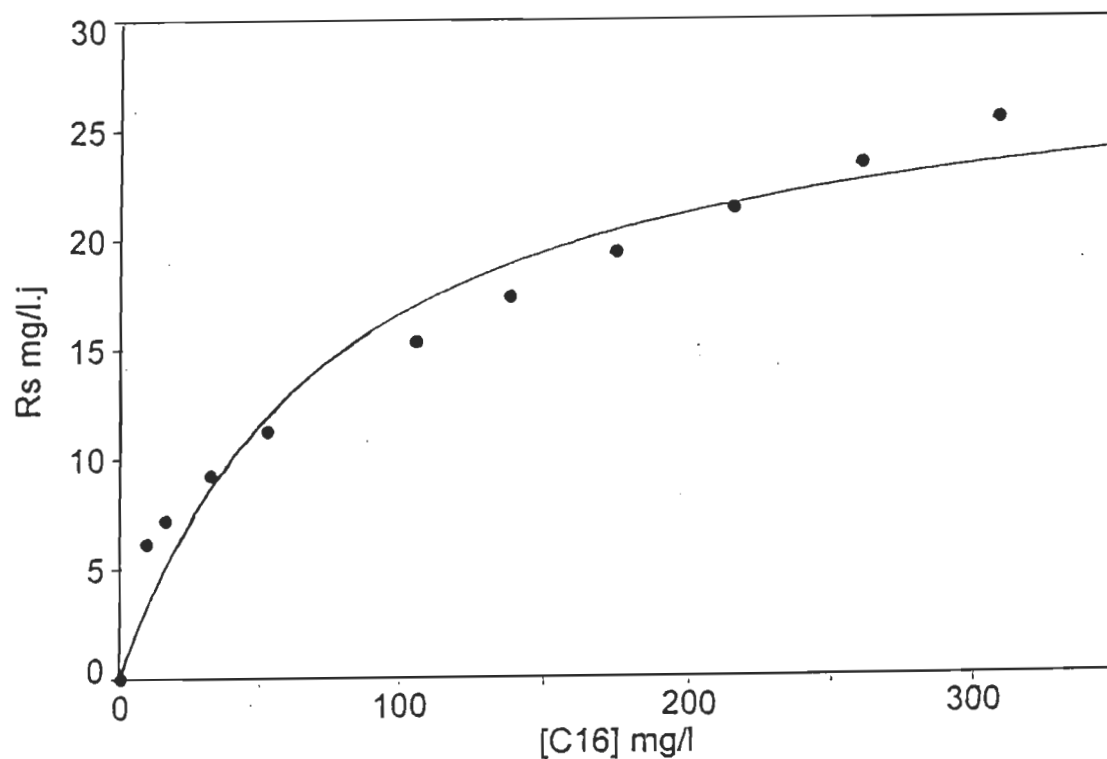


Figure 18. Vitesse de biodégradation en fonction de la concentration de C16

#### Conditions expérimentales

Milieu : réacteur discontinu

Température: 35°C

Substrat : composé organique (C16) présent dans l'huile de coupe Pennex N43 Esso

Équation :  $R_s = -ds/dt = (29.25 \cdot S) / (76.63 + S)$  [mg/l. j]

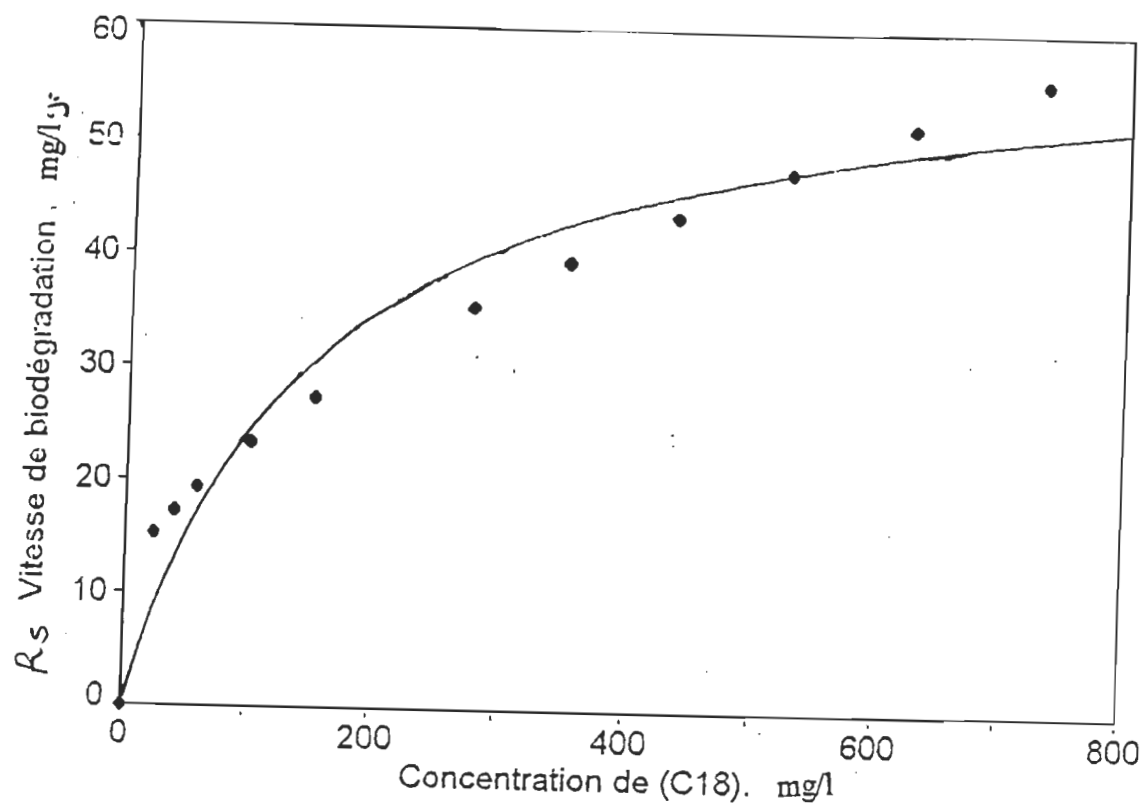


Figure 19. Vitesse de biodégradation en fonction de la concentration de C18

#### Conditions expérimentales

Milieu : réacteur discontinu

Température: 35°C

Substrat (S) : composé organique (C18) présent dans l'huile de coupe Pennex N43

Équation :  $R_s = -ds/dt = (61.17 \cdot S) / (151.59 + S)$  [mg/l. j]

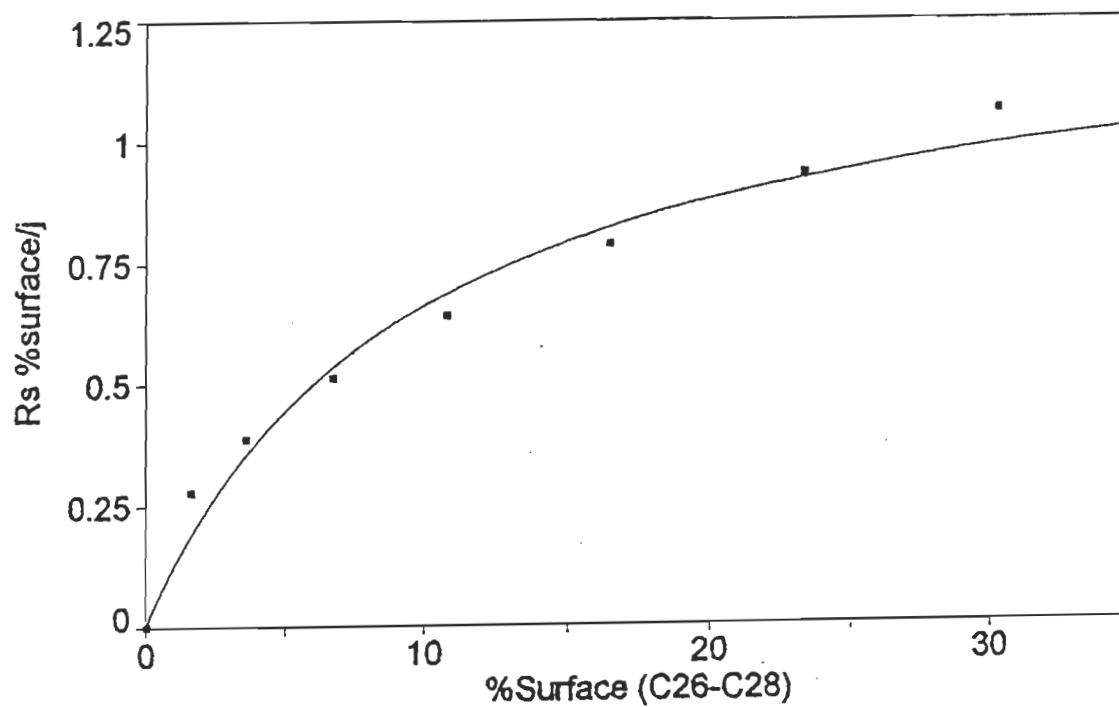


Figure20. Vitesse de biodégradation en fonction de l'aire de [ C26-C28]

#### Conditions expérimentales

Milieu : réacteur discontinu

Température: 35°C

Substrat : composé organique (C26-28) présent dans l'huile de coupe Pennex N43

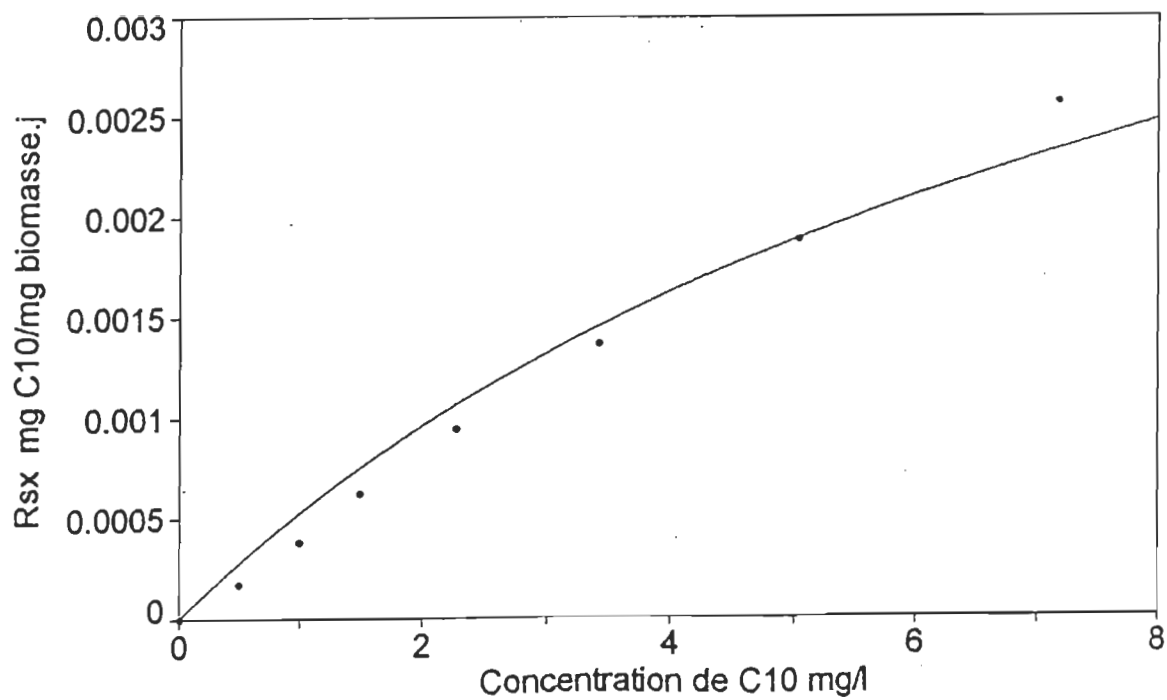


Figure 21. Vitesse de biodégradation en fonction de la concentration de C10 consommé

#### Conditions expérimentales

Milieu : réacteur discontinu

Température: 35°C

Substrat (S) : composé organique (C10) présent dans l'huile de coupe Pennex N43

Équation :  $R_x = (-ds/dt) * 1/X = (0.0053 * S) / (8.99 + S)$  [mg C10/ mg biomasse. j]

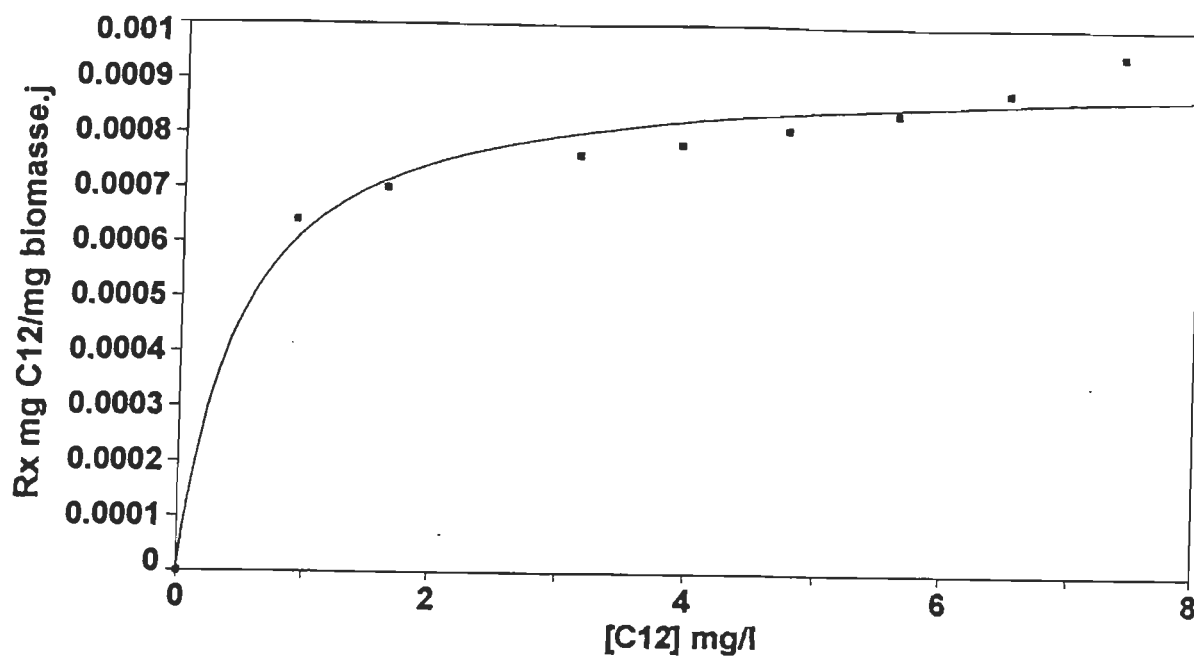


Figure 22. Vitesse de biodégradation en fonction de la concentration de C12 consommé

#### Conditions expérimentales

Milieu : réacteur discontinu

Température: 35°C

Substrat : composé organique (C12) présent dans l'huile de coupe Pennex N43 Esso

Équation :  $R_x = (-ds/dt) \cdot 1/X = (9E-04 \cdot S)/(0.4+S)$  [mg C10/ mg biomasse. j]

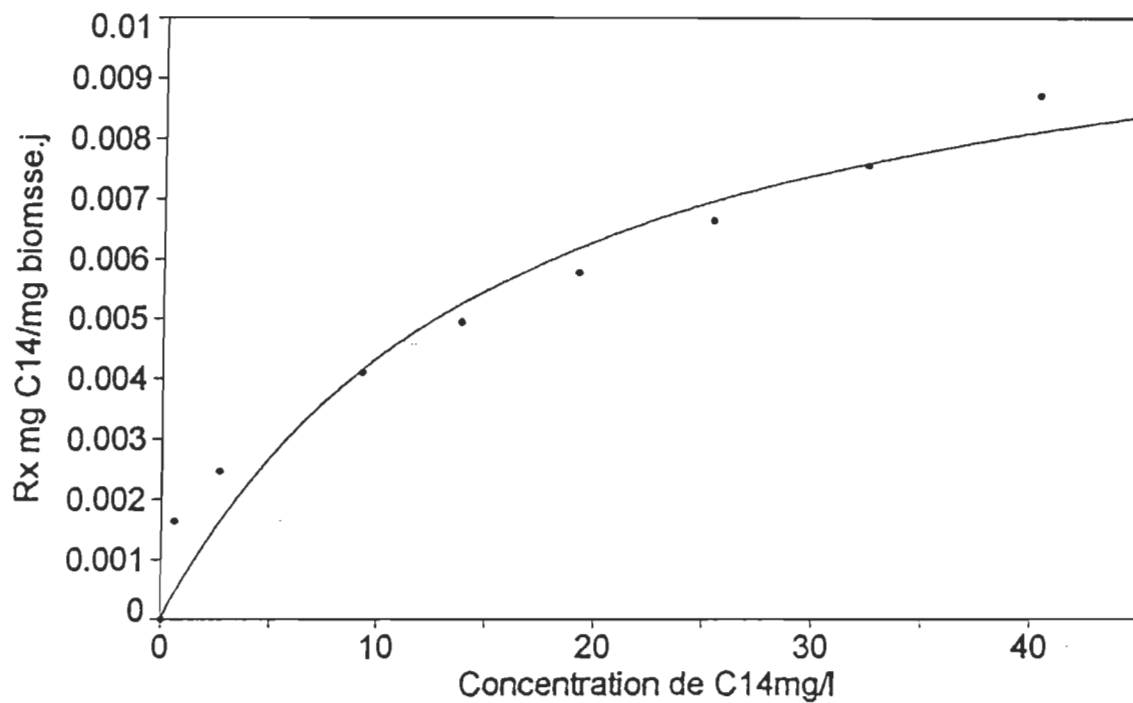


Figure 23. Vitesse de biodégradation en fonction de la concentration de C14 consommé

#### Conditions expérimentales

Milieu : réacteur discontinu

Température: 35°C

Substrat : composé organique (C14) présent dans l'huile de coupe Pennex N43 Esso

**Équation** :  $Rx = (-ds/dt) \cdot 1/X = (0.0113 \cdot S)/(16+S)$  [mg C10/ mg biomasse. j]

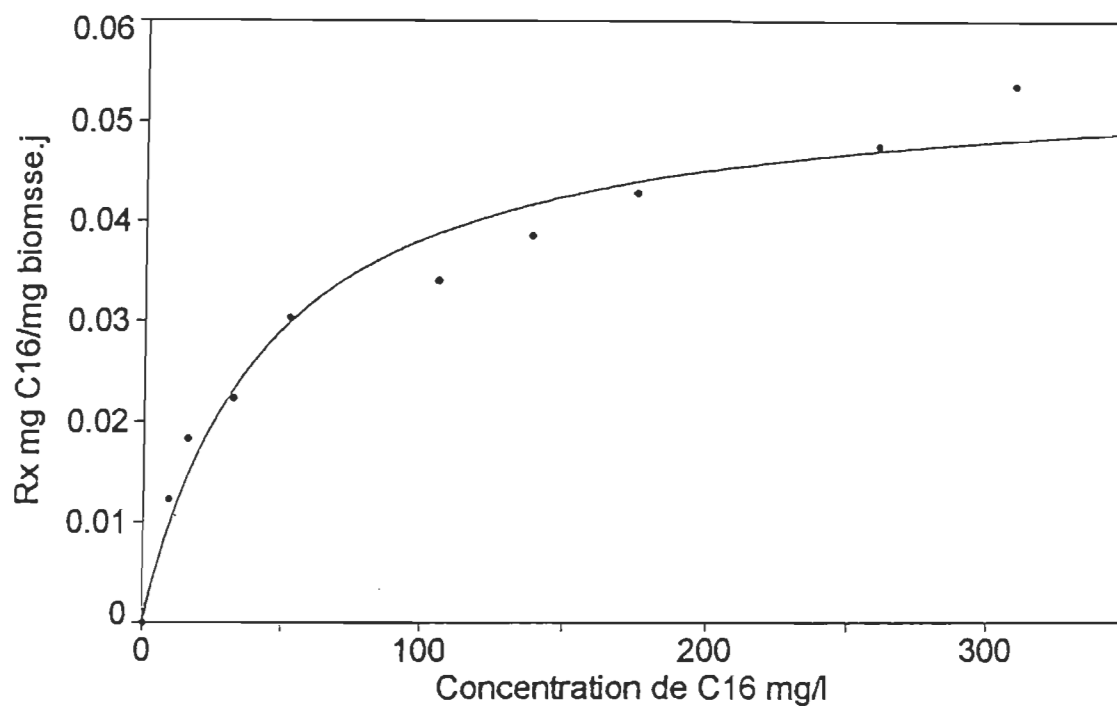


Figure 24. Vitesse de biodégradation en fonction de la concentration de C16 consommé

#### Conditions expérimentales

Milieu : réacteur discontinu

Température: 35°C

Substrat : composé organique (C16) présent dans l'huile de coupe Pennex N43 Esso

**Équation** :  $R_x = (-ds/dt) \cdot 1/X = (0.055 \cdot S)/(44.4 + S)$  [mg C10/ mg biomasse. j]



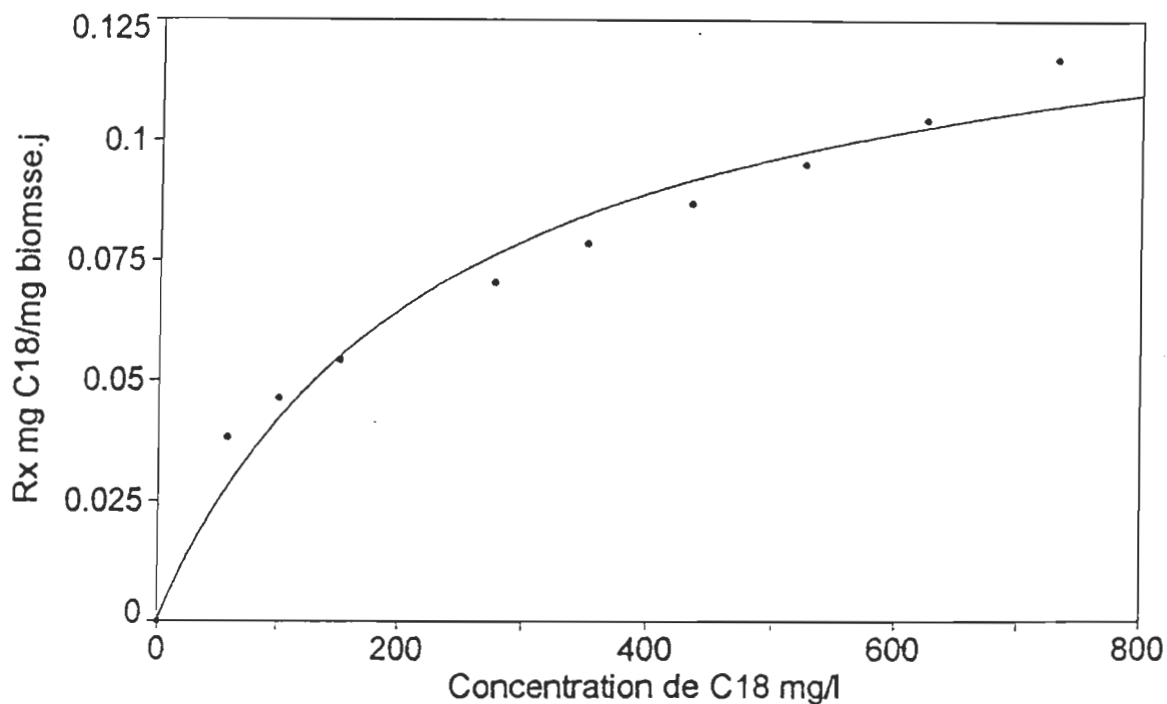


Figure 25. Vitesse de biodégradation en fonction de la concentration de C18 consommé

#### Conditions expérimentales

Milieu : réacteur discontinu

Température: 35°C

Substrat : composé organique (C18) présent dans l'huile de coupe Pennex N43 Esso

Équation :  $R_x = (-ds/dt) \cdot 1/X = (0.143S)/(241.7+S)$  [mg C10/ mg biomasse. j]

Tableau 10

Paramètres cinétiques de la biodégradation à une température d'incubation de 35°C

| Composés        | Ks<br>mg/l | Y <sub>sx</sub><br>mg biomasse / mg<br>substrat | K <sub>x</sub><br>mg/l |
|-----------------|------------|---|------------------------|
| C <sub>10</sub> | 5.06       | 2.41  | 8.99                   |
| C <sub>12</sub> | 0.35       | 5.32  | 0.4                    |
| C <sub>14</sub> | 8.83       | 0.608   | 16.1                   |
| C <sub>16</sub> | 76.63      | 0.0906  | 44.4                   |
| C <sub>18</sub> | 151.59     | 0.0404  | 241.7                  |

Tableau 11

Vitesses maximales de la dégradation à une température d'incubation de 35°C

| Composés        | R <sub>s</sub> max<br>mg/l.j | R <sub>x</sub> max<br>mg Cn/mg biomasse .j |
|-----------------|------------------------------|--|
| C <sub>10</sub> | 1.79                         | 0.0053                                     |
| C <sub>12</sub> | 0.44                         | 0.0009                                     |
| C <sub>14</sub> | 4.49                         | 0.0113                                     |
| C <sub>16</sub> | 29.25                        | 0.055                                      |
| C <sub>18</sub> | 61.17                        | 0.143                                      |

#### **4.2 Cas de la cinétique de dégradation à 25°C**

Les résultats obtenus lors de cette étude représentent la cinétique de dégradation de  $C_{10}$ ,  $C_{12}$ , et  $C_{14}$ . Les figures 26 et 27 illustrent les vitesses de dégradation de  $C_{12}$ , et  $C_{14}$  en fonction de leurs concentrations correspondantes.

Le modèle cinétique de dégradation de  $C_{10}$  est une équation d'ordre zéro, c'est à dire:

$$-dS/dt = \text{cte.}$$

Les figures 26 et 27 sont deux droites linéaires qui se traduisent par un modèle cinétique d'ordre 1 avec des équations différentes de celles retrouvées dans l'étude à une température de 35°C. Une comparaison des paramètres cinétiques pour les cas à 25 et 35°C s'avère délicate, du fait qu'à partir des équations du modèles cinétiques à 25°C, on ne peut pas déduire la vitesse de dégradation maximale de  $C_{10}$ ,  $C_{12}$ ,  $C_{14}$  et leurs constantes d'affinités  $K_s$  pour les comparer à celles calculées dans les équations des modèles cinétiques à 35°C. Ces résultats diffèrent des équations des modèles cinétiques de Michaelis-Menten ou de Monod suggérées dans le chapitre II, section 2.3. Les données expérimentales de la cinétique de dégradation de  $C_{10}$  à 25°C sont présentées dans le tableau 12 ci-dessous, alors que les autres données expérimentales des autres composés organiques  $C_{12}$  et  $C_{14}$  se trouvent dans l'Annexe 9.

Tableau 12

Concentration et vitesse de biodégradation de  $C_{10}$  à 25°C

| Concentration mg/l | Vitesse mg/l.j |
|--------------------|----------------|
| 7.3                | 0.311          |
| 3.5                | 0.311          |
| 1.4                | 0.311          |

Conditions expérimentales

Milieu : bouteille de 250 ml

Température: 25°C

Substrat : composé organique ( $C_{10}$ ) présent dans l'huile de coupe Pennex N43 Esso

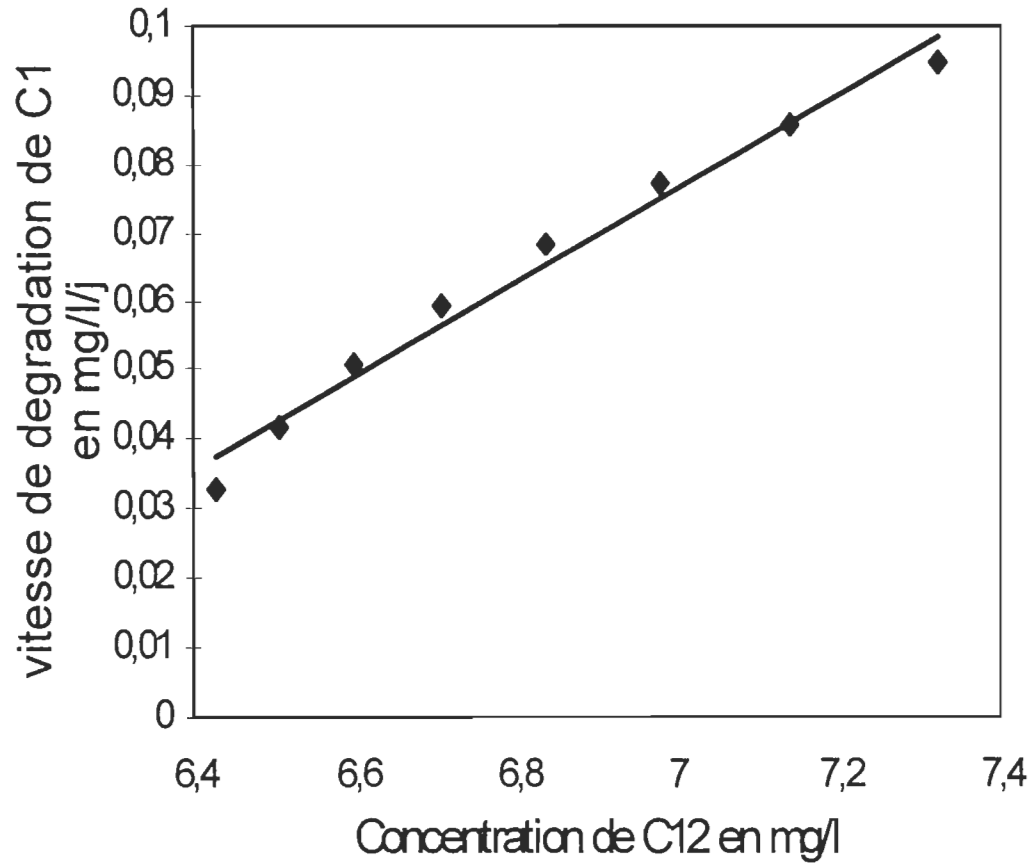


Figure 26. Courbe de la cinétique de disparition de  $C_{12}$ .

#### Conditions expérimentales

Milieu : bouteille de 250 ml

Température: 25°C

Substrat : composé organique ( $C_{12}$ ) présent dans l'huile de coupe Pennex N43 Esso

Équation :  $-dS/dt = K_1 * S$  mg/l/j

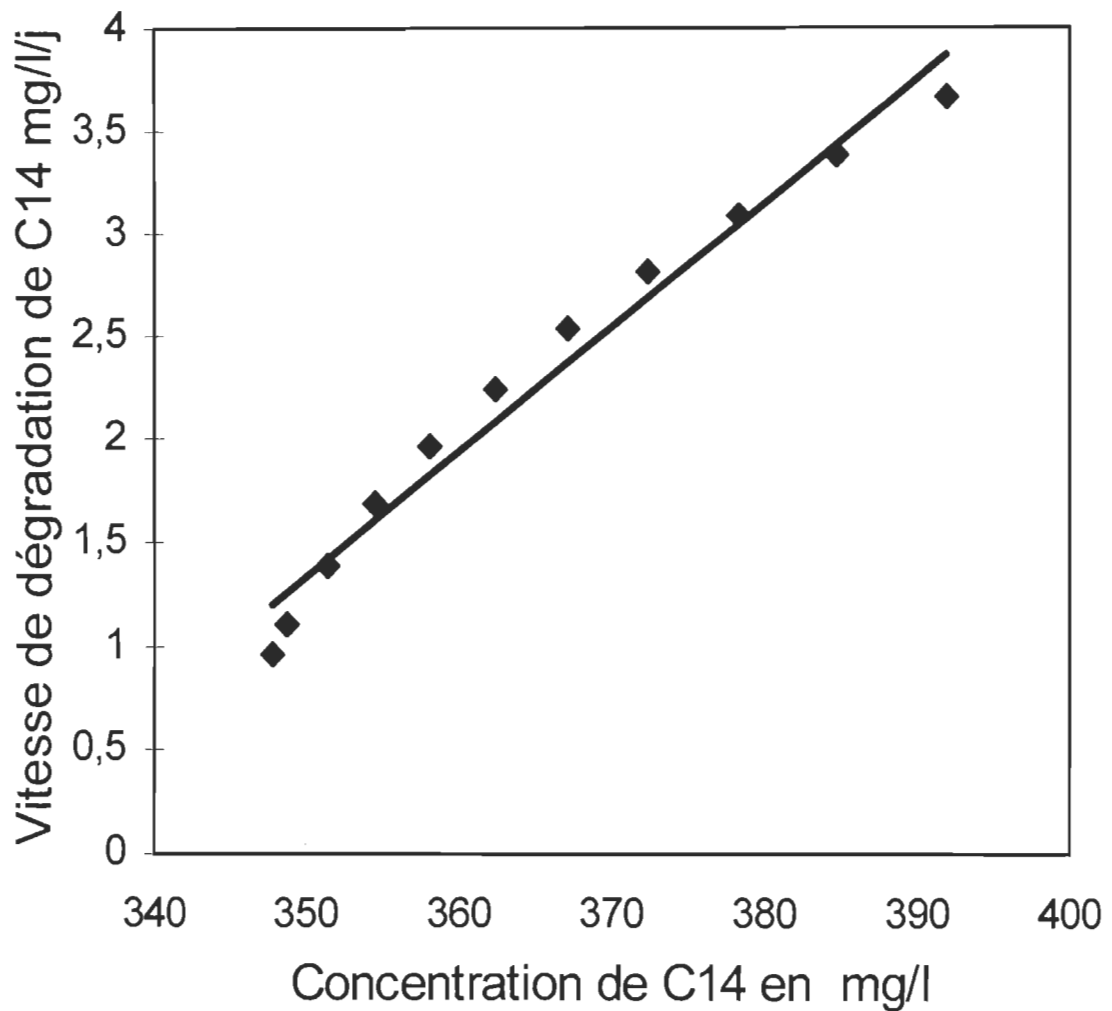


Figure 27. Courbe de la cinétique de disparition de C<sub>14</sub>.

#### Conditions expérimentales

Milieu : bouteille de 250 ml

Température: 25°C

Substrat : composé organique (C<sub>14</sub>) présent dans l'huile de coupe Pennex N43 Esso

Équation :  $-dS/dt = K_1 \cdot S$  [mg/l/j]

## **5 Synthèse**

- le consortium bactérien incubé à 25°C et 35°C se développe normalement. Alors qu'à une température de 45°C la croissance est inhibée.
- à une température de 35°C, le consortium bactérien acclimaté préalablement à l'huile de coupe dégrade certains composés organiques comme le C<sub>10</sub>, C<sub>12</sub>, C<sub>14</sub>, C<sub>16</sub> et C<sub>18</sub>, alors qu'à 25°C la dégradation de composé organique C<sub>10</sub> est suivi par celle du C<sub>12</sub> et du C<sub>14</sub>.
- l'allure des courbes des cinétiques de dégradation (à 35°C) est une hyperbole identique à celle établie par Mikaelis-Menten ou Monod. Les équations correspondantes à ce modèle cinétique sont celles suggérées au chapitre II, section 2.3. Alors qu'à 25°C, l'allure des courbes des cinétiques de dégradation de C<sub>12</sub> et C<sub>14</sub> est une droite linéaire. L'équation des courbes est de l'ordre 1 pour le C<sub>12</sub> et C<sub>14</sub>, et d'ordre zéro pour le C<sub>10</sub>.

## CHAPITRE IV

### DISCUSSIONS DES RÉSULTATS

#### 1 Identification du consortium bactérien

Le tableau 5 présente la liste des bactéries identifiées par le test AN-IDENT avant l'inoculation dans le réacteur et retrouvées dans le consortium utilisé ainsi que leurs produits de dégradation. Non identifiées par le système AN-IDENT mais fortement soupçonnées de faire partie du consortium de par leur gram et quelques autres propriétés, ce sont des Methanobactérium sp, Desulfomanac, Actinomyces sp, Propiobacterium sp, Streptococcus sp, Bacillus sp et Pseudomonas sp. Il s'agit ici du consortium de départ mais c'est le consortium final qui sera important pour la dégradation des huiles de coupe (Pennex N43 Esso).

Les tableaux 5 et 6 d'identification du consortium final comptent 25% de Clostridium, les Méthanobactérium comptaient pour 60 % tandis qu'une bactérie non identifiable par le test AN-IDENT complétait le tout avec 15%. Ces pourcentages sont pris pendant la phase stationnaire de croissance des bactéries quant à la plupart des substrats, ils sont métabolisés en partie par les Clostridium en d'autres substrats utilisables par la suite par les Méthanobactérium. Ces résultats montrent une grande activité des méthanogènes liés à une production de méthane assez élevée pendant la phase stationnaire de croissance bactérienne tel qu'illustré dans la figure 28.



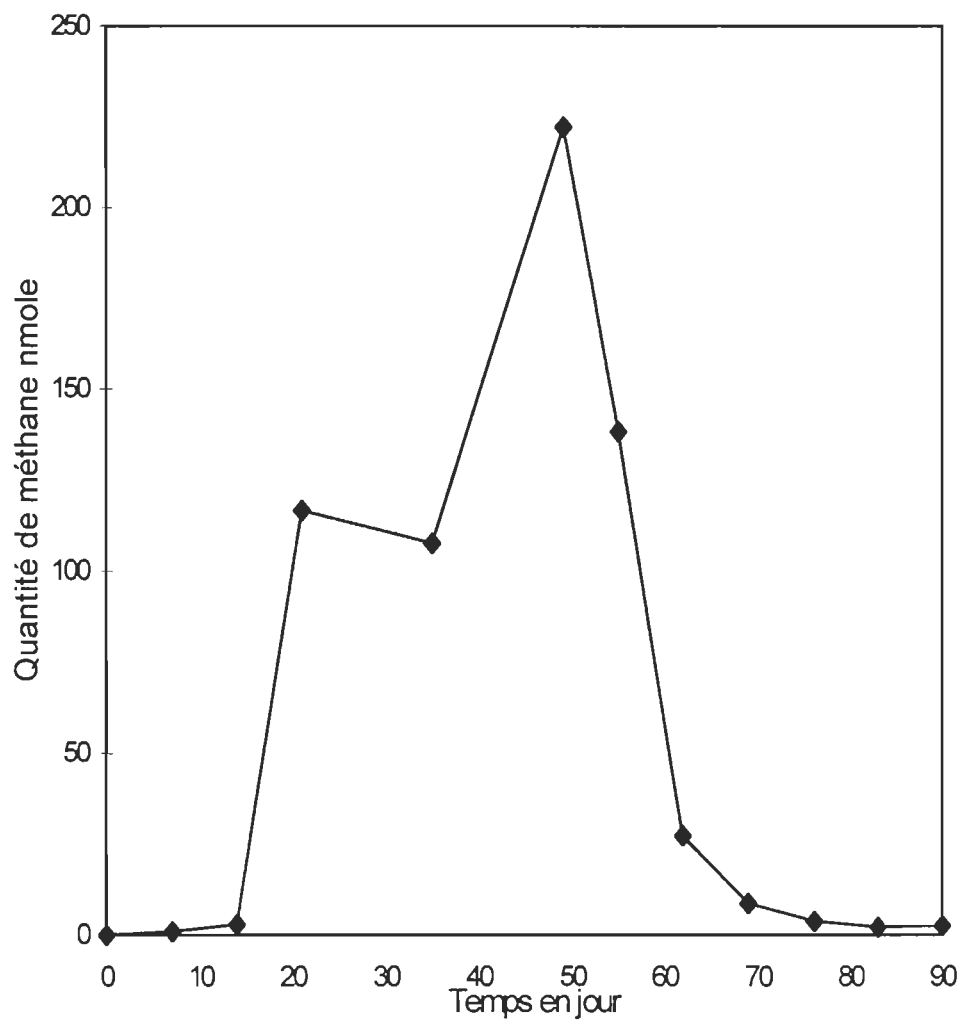


Figure 28. Production de méthane en fonction du temps

#### Conditions expérimentales

Milieu d'incubation: réacteur discontinu

Température : 35°C

Substrat : huile de coupe usée (Pennex N43. Esso)

Les Clostridium identifiés sont des anaérobies strictes et font partie des bactéries fermentatives. Le Méthanobactérium fait partie du groupe de bactéries méthanigènes, très sensibles et très difficiles à étudier <sup>(60)</sup>. Cette bactérie fait partie de la famille des Méthanobactériacées. Elle se distingue des procaryotes par l'absence de cytochromes, de flavines et de quinones, présente une paroi cellulaire, des ribosomes et des lipides de composition divers.

Diverses espèces de Clostridium possèdent un fonctionnement normal sous conditions anaérobies strictes. Leur aptitude de former des spores sous conditions extrêmes jouerait un rôle très important dans leur utilisation commerciale. Elles sont formées à l'intérieure de la cellule, d'où leur nom d'endospores. Les spores qui se sont formées pourraient résister plus à la chaleur, aux poisons chimiques, et aux radiations. Au retour à des conditions physico-chimiques favorables, les spores pourraient germer et acquérir un fonctionnement normal de la cellule. Cet état cellulaire est souvent appelé forme végétative. En présence de l'oxygène l'état végétatif des spores n'est pas affecté. L'une des propriétés essentielles des spores est leur thermorésistance. L'acquisition de cette résistance à la chaleur des endospores est reliée à la production d'un constituant chimique (Dipicolinate de calcium) conférant une imperméabilité et un état de déshydratation trop élevé à la cellule sporale <sup>(61)</sup>. Les germes de Clostridium sont des gram-positifs surtout au cours de la phase exponentielle de croissance, et se décolorent pour devenir gram-négatifs lors

lors de l'épuisement du milieu en substances nutritives. Ceci est confirmé par la coloration en Gram positif des *Clostridium* en période exponentielle de croissance dans cette étude.

En regardant les figures 2 et 3 de la croissance bactérienne, les bactéries formant le consortium semble bien se développer sous un régime mésophile. Les *Clostridium* sont bien développés dans l'huile de coupe après une période d'acclimatation qui a duré 6 mois. Ces bactéries jouent le rôle de bactéries fermentatives qui vont dégrader les composés organiques présents dans l'huile de coupe comme les  $C_{10}$ ,  $C_{12}$ ,  $C_{14}$ ,  $C_{16}$  et  $C_{18}$  en petites molécules qui seront utilisées par la suite par les *Méthanobactérium* pour former du méthane.

## **2 Croissance bactérienne à des températures variées**

Plusieurs phases de croissance bactérienne sont observées dans la figure 2 de croissance semi-logarithmique d'une culture bactérienne incubée à 35<sup>0</sup>C.

Immédiatement après l'inoculation bactérienne, la population a baissé suite à une légère perte cellulaire. La plupart des bactéries incapables de s'adapter au milieu sont mortes, seules les cellules résistantes y sont restées. Après cette phase, une accélération de la croissance s'amorce et continue jusqu'à la phase stationnaire. La phase de croissance apparaît comme une droite sur la courbe semi-logarithmique.

Suivant cette phase, il y a la phase stationnaire pendant laquelle le milieu devient de moins en moins favorable à la croissance.

Le nombre de cellules viables reste constant correspondant à un équilibre entre les cellules provenant de la multiplication et le nombre de cellules qui disparaissent. Cela se traduit par la persistance des cellules vivantes en absence de tout développement.

Pendant la première phase de croissance, la taille de l'inoculant qui a servi à l'ensemencement était très importante ce qui a provoqué une compétition vis à vis du substrat. Les cellules qui constituent l'inoculant dans le réacteur ont été prélevées lors de la phase stationnaire du réacteur précédent ce qui laisse supposé que l'âge de ces cellules a joué un rôle important dans la perte microbienne enregistrée au départ. La phase qui suivait, montre un démarrage de la croissance cellulaire pendant lequel la vitesse spécifique de croissance augmente et atteint son maximum. Dans ce cas-ci la vitesse de croissance augmente de façon proportionnelle à la densité de la population bactérienne ce qui se traduit par l'allure logarithmique du phénomène enregistré. Le point d'inflexion observé à la fin de la phase logarithmique peut s'expliquer par un ralentissement de la croissance qui est dû à l'enlèvement de plusieurs composés supportant la croissance, et aussi peut être due à une accumulation de produits issus de la biodégradation. Lorsque la taille maximale de cellule bactérienne est atteinte, les bactéries ne croissent plus mais conservent une

activité métabolique, ceci à cause de la disparition de l'huile de coupe usée dans le réacteur considérée comme source de carbone aux micro-organismes.

La courbe de croissance semi-logarithmique (figure 3) de la culture bactérienne incubée à 25<sup>0</sup>C dans le milieu contenant de l'huile de coupe (Pennex N43 ESSO), montre plusieurs phases de croissance.

Après repiquage du milieu avec une petite quantité de la culture bactérienne provenant du réacteur, on observe un développement immédiat. Ceci peut être dû au transfert de la population bactérienne dans un milieu neuf plusieurs fois de suite. De ce fait la grande majorité des bactéries se retrouvent rajeunies et s'y développent. Après cette phase, survient la phase de croissance qui se traduit par une droite: c'est la phase logarithmique où exponentielle ou le taux de croissance est à son maximum. Après cette phase, le nombre de cellules viables reste constant. Le milieu devient de moins en moins favorable à la croissance. Il peut y avoir un équilibre entre les cellules disparaissant et les cellules provenant de la multiplication ou persistance de bactéries en absence de tout développement. Ceci est dû à l'épuisement de certains composés organiques et l'accumulation d'autres composés organiques de petit poids moléculaire inhibiteur de croissance et qui sont issus de la biodégradation de grosses molécules issues.

Comme le montre la figure 4, la courbe de croissance semi-logarithmique d'une culture bactérienne dans un milieu contenant de l'huile de coupe, et incubé à une

température de 45°C ne présente pas des phases classiques de croissance bactérienne. Elle montre une phase stationnaire durant laquelle aucun développement n'est enregistré. Le taux de croissance est nul. Après cette période une perte majeure de cellules est survenue. La résistance des bactéries peut s'expliquer par le développement de spores qui lorsqu'on réalise le décompte bactérien et l'incubation à 35°C semble retourné à l'état physiologique normal.

En comparant les figures 2, 3 et 4 décrivant la croissance semi-logarithmique d'une culture bactérienne incubée à des températures de 25°C, 35°C et 45°C, la densité de la population bactérienne maximale est atteinte à la température de 35°C, ce qui n'est pas le cas pour la population bactérienne incubée à 45°C et dont la densité diminue aussitôt après l'ensemencement. La courbe de croissance des bactéries incubées à 45°C ne présente pas l'allure avec des phases de croissance enregistrées à des températures de 25°C et 35°C. La population bactérienne incubée à 25°C ne présente pas une perte de cellules après l'ensemencement, ce qui n'est pas le cas pour les cellules incubées à 35°C et 45°C. Le fait d'augmenter la température peut avoir un rôle influençant la croissance des cellules bactérienne. Une élévation de température peut provoquer une diminution ou une activation du système enzymatique de la bactérie .

L'augmentation de la température à 45°C cause une dénaturation des enzymes de biosynthèse, ce qui pourrait être la cause de la chute de la population bactérienne. Toutefois à partir de 45°C, la structure cellulaire ou certains constituants (enzymes, acides nucléiques) des micro-organismes formant le consortium bactérien subissent une altération. Dans ce cas ci, une perturbation de la croissance cellulaire, la destruction thermique l'emporte sur la croissance qui n'atteint pas sa valeur maximale.

### **3 Biodégradation des composés organiques à 35°C**

Les organismes utilisent naturellement beaucoup de composés organiques pendant la croissance. Les figures 5 à 9 représentent les courbes de dégradation de composés organiques présents dans l'huile de coupe usée (Pennex N43 ESSO). Une disparition entière de C<sub>10</sub>, C<sub>12</sub>, C<sub>14</sub>, C<sub>16</sub> et C<sub>18</sub> pendant des périodes de temps variées après l'addition de l'huile de coupe usée. 100% de la dégradation de (C<sub>10</sub>, C<sub>12</sub>, et C<sub>14</sub>) est enregistré à la fin de la troisième semaine, ce qui diffère des autres composés organiques (C<sub>16</sub> et C<sub>18</sub>) ou le 100% de dégradation n'est atteint qu'à la fin de la quatrième semaine (Tableau 5). La dégradation rapide des (C<sub>10</sub>, C<sub>12</sub> et C<sub>14</sub>) peut s'expliquer par le poids moléculaire faible de ces composés par rapport à C<sub>16</sub> et C<sub>18</sub>. Elles utilisent ces molécules comme source de carbone. Il peut être dû à la tendance de traverser rapidement la paroi cellulaire de la bactérie et d'entrer en contact avec

l'enzyme intracellulaire qui découpe la molécule organique ou bien d'entrer en contact avec les enzymes de la paroi extra-cellulaire (Ceci dépendra du mécanisme de dégradation de la bactérie).

Après la première période de dégradation qui a duré 19 jours pour le C<sub>10</sub>, C<sub>12</sub>, C<sub>14</sub> et 26 jours pour le C<sub>16</sub> et C<sub>18</sub>, une production de ces composés organiques est enregistrée au cours de la phase exponentielle de croissance des bactéries.

Un maximum de production de 4 mg/l pour le C<sub>10</sub> au 46<sup>ème</sup> jours d'incubation est atteint, il est de 6.96 mg/l pour le C<sub>12</sub> au 26<sup>ème</sup> jours d'incubation, de 7 mg/l pour le C<sub>14</sub> au 33<sup>ème</sup> jours d'incubation (Annexe 10). La réapparition de C<sub>10</sub>, C<sub>12</sub> et C<sub>14</sub> est due tout simplement à la présence de composés organiques de gros poids moléculaires qui ont été biodégradés par la culture bactérienne lors de la phase exponentielle de croissance. Ces mêmes substrats disparaissent pour former d'autres substrats utilisés par les Méthanobactérium lors de la phase stationnaire de croissance où le maximum de production de méthane est enregistrée.

Beaucoup de composés organiques peuvent être dégradés simultanément. D'autres peuvent être métabolisés seulement après la transformation des autres molécules. Cependant, le métabolisme simultané est présentement évident lors de la dégradation de l'huile étant donnée que la composition de l'huile est un mélange complexe de composés aliphatiques, aromatiques et hétérocycliques. Il est évident que beaucoup



d'alcanes sont détruits en même temps par des bactéries utilisant les hydrocarbures aliphatiques <sup>(24)</sup> .

La vitesse de dégradation des hydrocarbures pétroliers varie selon l'hydrocarbure considéré et les conditions environnementales dominantes. Selon Literathy et al.,1989 <sup>(62)</sup> la demi-vie des composés présents dans les huiles usées varie énormément suivant le nombre d'atome de carbone, 6 à 7 jours pour les paraffines comptant 24 atomes de carbone ou moins, 11 à 12 jours pour les paraffines comptant 25 à 29 atomes de carbones. En général la demi-vie des alcanes ( $C_{12}$ - $C_{26}$ ), est inférieure à 30 jours <sup>(63)</sup> ce qui diffère plus de la demi-vie déduite théoriquement de la moitié de la concentration de  $C_{10}$ ,  $C_{12}$ ,  $C_{14}$ ,  $C_{16}$ , et  $C_{18}$  extrapolée sur l'axe des abscisses. Elle est de moins de 10 jours. Ceci laisse dire que le consortium utilisé est plus performant quant à l'enlèvement des polluants organiques.

#### **4 Modèles cinétiques de biodégradation à 35°C**

Beaucoup de composés organiques présents dans l'huile de coupe usée (Pennex N43 Esso) ont été biodégradés par le consortium bactérien à une température d'incubation de 35°C. La vitesse de réaction, est illustrée pour différents composés organiques ( $C_{10}$ ,  $C_{12}$ ,  $C_{14}$ ,  $C_{16}$  et  $C_{18}$ ) dans les figures de 15 à 25. L'allure des courbes

obtenues est une hyperbole dont les équations 5 et 6 ont été suggérées dans le chapitre II, section 2.3.

L'évaluation des paramètres de base décrivant cette cinétique à partir des équations permet de déduire l'efficacité de l'enlèvement de  $C_{10}$ ,  $C_{12}$ ,  $C_{14}$ ,  $C_{16}$  et  $C_{18}$  dans le système de traitement biologique.

En comparant les constantes d'affinités obtenues selon l'ordre croissant, le classement est le suivant:  $KsC_{12} < KsC_{10} < KsC_{14} < KsC_{16} < KsC_{18}$ . Elle montre que l'activité catalytique semi-maximale pour le  $C_{12}$  présente une objection dans la progression normale, alors que pour les autres substrats la vitesse semi-maximale atteinte est inverse à l'ordre du nombre de carbone.

Plus la constante d'affinité du biocatalyseur vis à vis du substrat est faible plus ce dernier est rapidement dégradé comme le montre le cas de  $C_{12}$  avec un  $KsC_{12}$  de 0.35 mg/l. Cela veut dire que le consortium bactérien aurait une préférence pour les  $C_{12}$ , ce que devrait être confirmé ou infirmé par les études ultérieures.

En comparant les résultats des paramètres cinétiques illustrés dans le tableau 10, le meilleur coefficient de conversion est enregistré pour l'enlèvement de  $C_{12}$ . Il est d'environ deux fois celui de  $C_{10}$ , 9 fois celui de  $C_{14}$ , 58 fois celui de  $C_{16}$  et de 131 fois plus supérieur à celui de  $C_{18}$ .

La comparaison des modèles cinétiques obtenus lors de la dégradation de composés organiques ( $C_{10}$ ,  $C_{12}$ ,  $C_{14}$ ,  $C_{16}$  et  $C_{18}$ ) présents dans l'huile de coupe usée est difficile.

Un seul cas d'étude réalisée par Ivanov et coll,1995 <sup>(53)</sup>, sur la cinétique de dégradation d'hydrocarbures par des bactéries dénitrifiantes (Bacillus Stearthermophilus K12), montre une cinétique de premier ordre lors de la première phase de croissance bactérienne.

### **5 Biodégradations et modèles cinétiques à 25°C**

L'inoculation du consortium bactérien dans une bouteille contenant l'huile de coupe usée et incubée à 25°C stimule la dégradation des hydrocarbures présents dans ce sous-produit pétrolier. La dégradation de ces composés organiques n'atteint pas 100% du niveau initial de  $C_{10}$ ,  $C_{12}$  et  $C_{14}$  comme le montre le tableau 8. 81% du composé organique  $C_{10}$  est enlevé vers la fin du 19<sup>ème</sup> jours, alors que seulement 11% de  $C_{12}$  et  $C_{14}$  sont biodégradé à des périodes de temps qui varient entre 14 et 19 jours respectivement.

En comparant ces résultats, la concentration de  $C_{10}$  diminue plus rapidement, alors que la dégradation de  $C_{12}$  et  $C_{14}$  est plus lente et nécessite plus de temps. La demi-vie de  $C_{10}$  représente la moitié de la concentration de  $C_{10}$  disparue au cours de 11 à 12 jours.

Les figures 12, 13 et 14 illustrent une phase de dégradation des hydrocarbures présents dans l'huile de coupe. La figure 12, montre une dégradation linéaire de  $C_{10}$ ,

la vitesse de disparition de  $C_{10}$  disparue est constante. L'équation de dégradation est exprimée par l'équation ci-dessous:

$$S = S_0 - k \cdot t \quad (9)$$

L'équivalent à la concentration de  $C_{10}$ :

$$[C_{10}] = 7.311 - 0.311 \cdot t$$

La dérivée de cette équation (9) représente la vitesse de dégradation de  $C_{10}$  :

$$-ds/dt = k \quad (10)$$

Où  $K = \mu_{\max} \cdot X_0$

Cette vitesse de dégradation représente une cinétique d'ordre zéro avec une constante  $k$  égale à 0.311. Le taux spécifique de croissance peut être déduit facilement à partir de  $K/X_0$  égale à  $0.49 \text{ j}^{-1}$ .

Les figures 13 et 14 illustrent la dégradation très lente de  $C_{12}$  et  $C_{14}$ . La cinétique de dégradation de ces composés organiques  $C_{12}$  et  $C_{14}$  est exprimée par l'équation du 1er ordre comme le montre les figures 26 et 27. C'est une droite linéaire de forme différentielle suivante:

$$-dS/dt = k_1 \cdot S \quad (11)$$

En intégrant l'équation (11):

$$S = S_0 \exp(-k_1 t) \quad (12)$$

Où

$S_0$  = la concentration initial de  $C_{12}$  ou  $C_{14}$

S = la concentration au temps t

$k_1$  = constante du taux de premier ordre  $k_1 = \mu_{\max} (X_0 / k_s)$

L'étude réalisée par Ivanov et ces collaborateurs, en 1995.<sup>(53)</sup> montre une cinétique de premier ordre lors de la 1<sup>ère</sup> phase de dégradation de l'huile par une culture bactérienne pure (Bacillus Stearothermophilus K12) dans l'eau. Le taux de dégradation de l'huile était de 114 mg/l /j.

## **6 Effet de la température**

Toutes les bactéries arrêtent de croître à un certain degré de température.

L'activité microbienne nécessite au moins un minimum de température.

Arrhenius, a étudié la relation entre la température et le taux de la réaction chimique. Il a trouvé que le taux de réaction chimique est une fonction logarithmique de la température absolue<sup>(59)</sup> .

$$K = K^* \exp(-E_a / RT) \quad (13)$$

$$\text{ou } \ln K = - E_a / RT + \ln K^* \quad (13a)$$

$$R_{\max} = R_{\max}^* \exp(-E_a / RT) \quad (14)$$

$$\text{ou } \ln R_{\max} = - E_a / RT + \ln R_{\max}^* \quad (14a)$$

Où:

K = la constante de vitesse de réaction

$K^*$  = le facteur de fréquence

$R_{\text{max}}$  = Vitesse de biodégradation maximale

$T$  = la température absolue

$R$  = constante des gaz parfaits

$E_a$  = l'énergie d'activation de la réaction

Alors pour une réaction de biodégradation de composé organique présent dans l'huile de coupe usée, la courbe du logarithme soit de la constante de réaction ou la vitesse de réaction en fonction de l'inverse de température est une droite linéaire ayant pour pente ( $-E_a/R$ ).

L'énergie d'activation correspondante aux composés organiques  $C_{10}$ ,  $C_{12}$  et  $C_{14}$  est déduite à partir des équations des courbes illustrées dans les figures 29, 30 et 31.

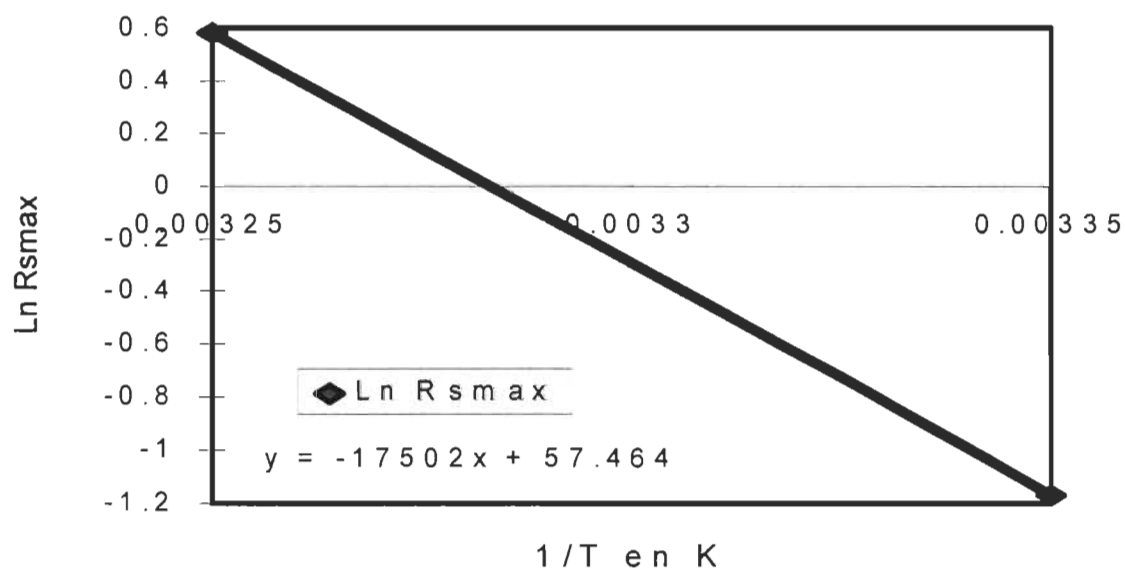


Figure 29. Influence de la température sur la vitesse de dégradation de  $C_{10}$

Condition expérimentale:

Température: 25°C et 35°C

Substrat : composé organique  $C_{10}$

Équation :  $\ln R_{smax} = -170502 \cdot 1/T + 57.46$

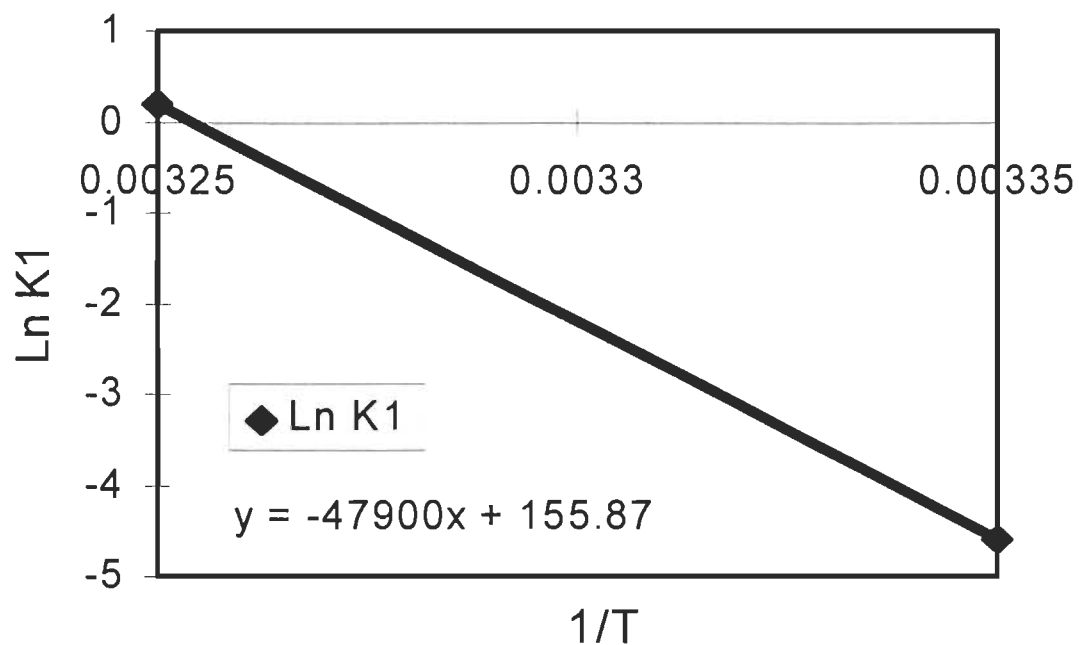


Figure 30. Influence de la température sur la constante du substrat  $C_{12}$

Condition expérimentale:

Température: 25°C et 35°C

Substrat : composé organique  $C_{12}$

Équation :  $\text{Ln } K1 = -47900 \cdot 1/T + 155.87$



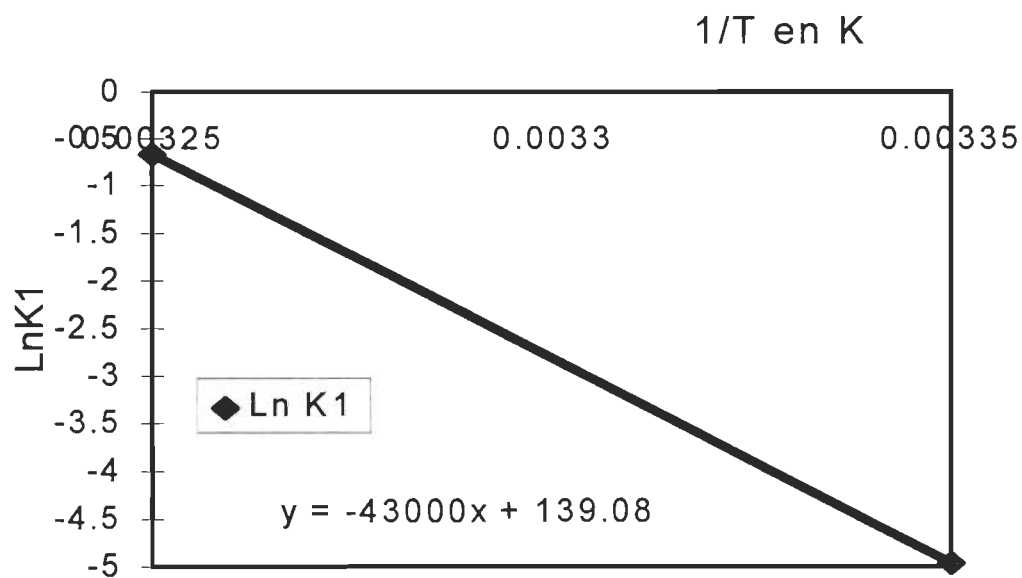


Figure 31. Influence de la température sur la constante du substrat  $C_{14}$

Condition expérimentale:

Température: 25°C et 35°C

Substrat : composé organique  $C_{14}$

Équation :  $\ln K_1 = -43000 \cdot 1/T + 139.08$

Le tableau 13 montre les énergies d'activations de  $C_{10}$ ,  $C_{12}$ , et  $C_{14}$ . Avec une faible énergie d'activation de  $C_{10}$  représente environ la moitié de celle utilisée pour l'activation de la biodégradation de  $C_{12}$  et  $C_{14}$

Tableau 13

Énergie d'activation des composés organiques

| Composés organiques | (Ea) j/mole |
|---------------------|-------------|
| $C_{10}$            | 2104        |
| $C_{12}$            | 5761        |
| $C_{14}$            | 5172        |

Ceci veut dire que le consortium bactérien nécessite moins d'énergie pour dégrader le  $C_{10}$  que les autres composés organiques  $C_{12}$  et  $C_{14}$  présents dans l'huile de coupe usée (Pennex N43 Esso)

## **7 Synthèse**

- L'âge des cellules bactérienne, leur états biochimiques et l'influence de l'augmentation de la température ont joué un rôle important sur la croissance bactérienne. À 25°C une croissance immédiate du consortium bactérien repiqué dans des bouteille de 250 ml est observée, alors qu'à 35°C une perte cellulaire est illustrée au départ de l'inoculation du consortium bactérien. À 45°C aucune croissance bactérienne n'est amorcée. Dans l'ensemble le consortium bactérien se développe très bien sous condition mésophile en mode anaérobie.
- L'augmentation de la température de 25°C à 35°C active la dégradation des composés organiques présents dans l'huile de coupe usée.
- À une température de 35°C, la disparition de composés organiques de poids moléculaires faibles est plus rapide de C<sub>10</sub>, C<sub>12</sub> et C<sub>14</sub> par rapport à ceux de C<sub>16</sub> et C<sub>18</sub>, et le consortium bactérien dégrade plus rapidement à cette température qu'à 25°C.
- Une augmentation de la température de 25°C à 35°C modifie les modèles cinétiques des composés organiques C<sub>10</sub>, C<sub>12</sub> et C<sub>14</sub>. À 25°C deux modèles cinétiques sont retrouvés, l'un de l'ordre zéro pour le C<sub>10</sub>, l'autre d'ordre 1 pour le C<sub>12</sub> et C<sub>14</sub>. Alors

qu'à 35°C seul le modèle de Monod ou Michaelis-Menten ont été retenus pour le C<sub>10</sub>, C<sub>12</sub>, C<sub>14</sub>, C<sub>16</sub> et C<sub>18</sub>.

Les énergies cinétiques (Ea/R) calculés à partir des constantes de réactions et des vitesses de biodégradations maximales obtenues à 25°C et 35°C donnent une idée sur les besoins énergétiques du consortium bactérien. Les deux températures de 25 et 35°C étudiées ne sont pas suffisantes pour comprendre l'influence de la température sur l'activité bactérienne.

Pour cela il faut étudier le comportement du consortium bactérien à d'autres températures bien sûr inférieures à 45°C, en évaluer les effets.

- La comparaison avec la littérature est difficile, car très peu d'étude se sont intéressés à la cinétique de dégradation des huiles usées.

## **CHAPITRE V**

### **ÉTUDE TECHNICO-ÉCONOMIQUE**

#### **1 Introduction et objectifs**

L'élimination des huiles usées pose des problèmes environnementaux majeurs aux responsables gouvernementaux. Elle représente une ressource non renouvelable et un potentiel énergétique qui peut être traité et valorisé. Cependant les traitements déjà utilisés pour résoudre les problèmes de la pollution par les hydrocarbures sont soit moins convaincants ou sont plus coûteux .

Le but de cette étude est de proposer un outil de gestion des huiles usées qui débouchera sur le plan industriel dans le futur. Les études réalisées au laboratoire montrent que le procédé de dégradation biologique sous conditions anaérobie semble une alternative attrayante pour la valorisation des huiles usées tout en préservant l'environnement.

#### **2 Collecte et transport des huiles usées**

Le procédé de gestion des huiles usées commence par la collecte, qui représente un moyen très important dans la protection de l'environnement et la conservation d'une ressource non renouvelable. Aussi, il rend la population plus sensible aux problèmes environnementaux. Comme le montre le schéma descriptif d'algorithme à

la figure 32, pour rendre facile la collecte des huiles usées, des stations de service présentent un réservoir d'entreposage d'une capacité de 2300 à 4500 litres mais le seul inconvénient dans cette collecte est la non séparation de ces huiles usées, ce qui n'est pas le cas dans le secteur industriel où les huiles de coupes et des machines sont séparées.

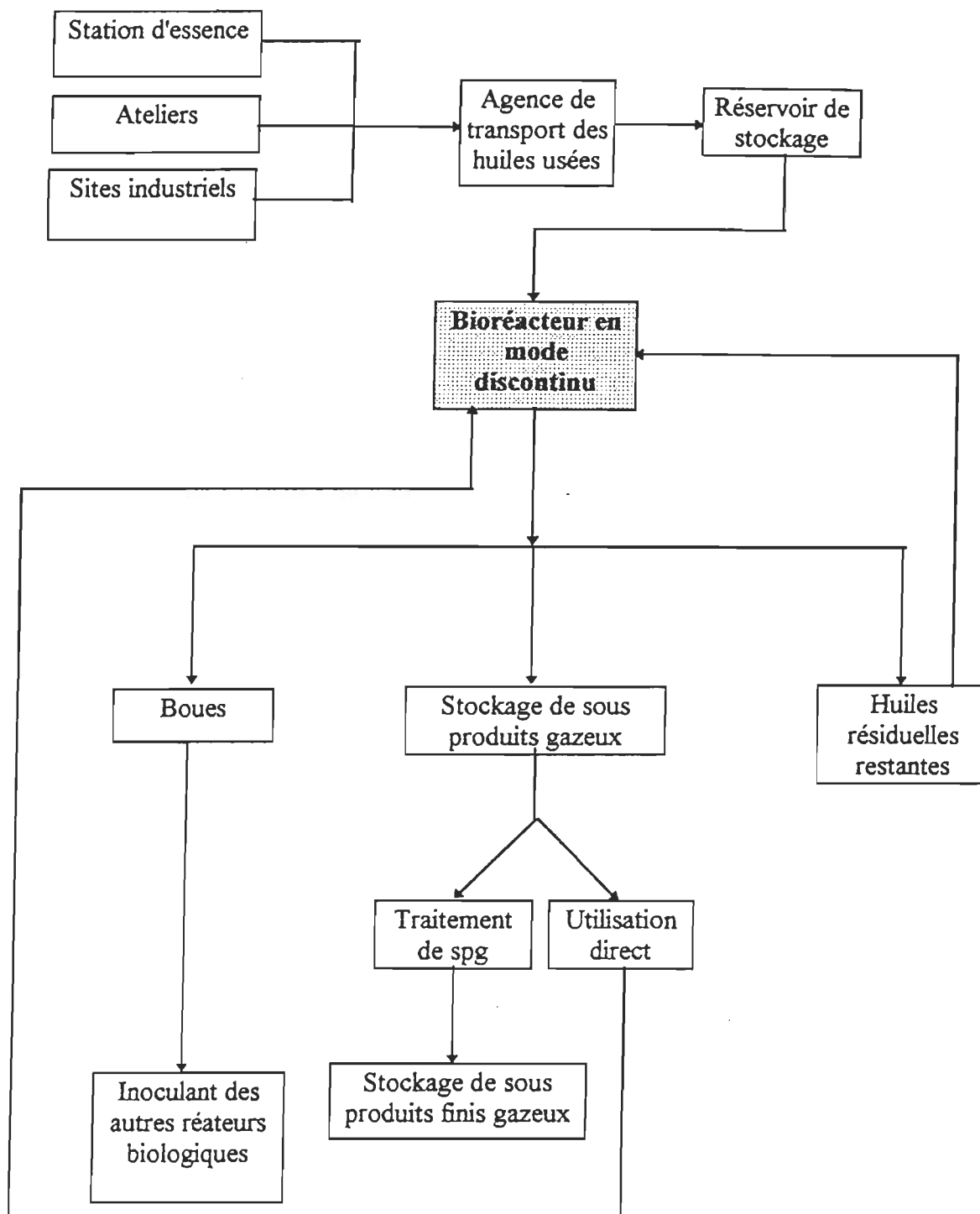


Figure 32. Schéma descriptif d'algorithme des huiles usées

Une fois que ces sous-produits pétroliers sont collectés, ils seront transportés vers le lieu de traitement biologique. Un réservoir de stockage est mis en disponibilité auprès du lieu de traitement biologique pour alimenter au besoin le bioréacteur.

Le transport des huiles usées est soumis à des lois de transport de matières dangereuses car elles sont classées parmi les substances dangereuses d'intérêt prioritaire selon le règlement provincial au termes de la Loi sur la protection de l'environnement. Plusieurs agences sont spécialisées et mandatées dans le transport des huiles usées effectuées le transport des huiles des stations d'essence et des industries.

### **3 Unité pilote**

Il sera question d'un traitement en absence de l'oxygène sous condition mésophile à une température de 35°C et un pH variant de 6.8 à 7.2. Ce procédé présente plus d'avantages que d'inconvénients.

Pour le réaliser, un réacteur biologique est nécessaire, il est monté en série avec d'autres unités formant l'usine pilote comme le montre la figure 33. C'est sur cette unité que repose en grande partie l'efficacité du procédé de traitement anaérobie. Un réservoir de stockage de l'huile usée est nécessaire pour alimenter au fur et à mesure le bioréacteur.



Un décanteur lamellaire à courants croisés sera utilisé pour la séparation des huiles restantes de l'eau formant le milieu pauvre. Il va permettre de combiner la séparation et la décantation dans le même équipement.

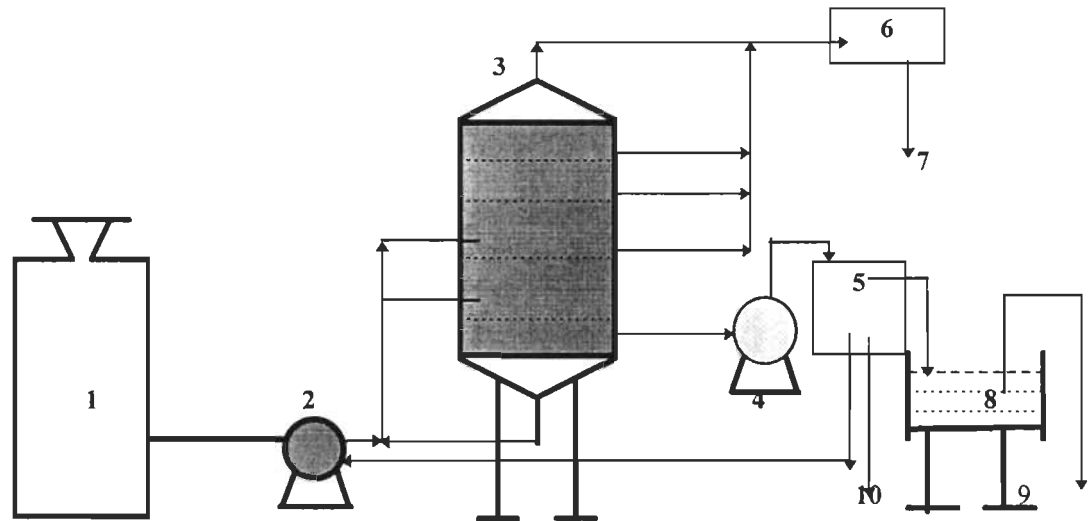


Figure 33 .Unité pilote de traitement biologique en mode anaérobie des huiles usées

1. Réservoir de stockage de l'huile usée
2. Pompe centrifuge
3. Réacteur à plateau
4. Pompe centrifuge
5. Décanteur lamellaire à courant croisé
6. Stockage de gaz en bâche souple
7. Sortie de gaz vers une utilisation directe
8. Bassin de vidange
9. Effluent d'eau
10. Boues secondaires

### **3.1 Réservoir de stockage**

Le réservoir présente une forme cylindrique, avec une surface latérale fabriquée à partir de l'acier inoxydable 316-L (1/4 ) et recouvert du côté intérieur d'époxy. L'acier renferme 17% de chrome est très résistant à la corrosion. Il représente une capacité de stockage d'environ 240 m<sup>3</sup> soit le volume de rétention à traiter.

### **3.2 Bioréacteur, fonctionnement et installation**

Le choix du réacteur s'est porté sur un réacteur à plateaux pour le traitement des effluents industriels chargés en matières organiques. Ce réacteur a été développé par la société de recherche SNC, une filiale du groupe SNC-Lavalin. Il a permis de traiter sous condition anaérobie à une température de 35°C, un volume de 1.2 m<sup>3</sup> et 450 m<sup>3</sup> des eaux usées de fromagerie.

Les huiles usées à traiter pénètrent dans le réacteur par des entrées parallèles. Le milieu pauvre est pompée vers le haut et traverse les différents niveaux avant d'être évacué. Lors du traitement, il se forme un biogaz traversant la biomasse contenue dans chaque compartiment et la forçant par se déplacer. Les particules gazeuses retenues par les plateaux se déplacent horizontalement et s'échappent par la sortie latérale du niveau où elles se trouvent. Les boues formées sont enlevées tous les deux mois .

La construction et l'installation du réacteur nécessitera environ cinq mois, et la mise en route environ trois semaines. L'exploitation du système automatisé sera effectuée par un technicien expérimenté.

### **3.3 Décanteur lamellaire à courants croisés**

C'est une nouvelle technologie fabriquée par la société Aquarius Services et Technologies inc.(AST). Il est formé d'une chambre de débouillage, d'un compartiment contenant les lamelles, d'un silo à boues et d'une chambre de stockage des huiles et graisses. L'exploitation nécessite de l'énergie seulement pour le pompage de l'effluent, et l'entretien se limite à une vérification mensuelle et au lavage de lamelles tous les six mois. Il est utilisé dans le but de séparer les huiles des solides présents dans l'effluent résiduaire. Il est basé sur le principe de flottaison des huiles et la décantation des matières en suspension plus denses que l'eau. Ce procédé s'applique aux eaux résiduaires des industries pétrochimiques, chimiques, mécaniques, agro-alimentaires et métallurgiques. Il peut s'appliquer aux eaux résiduaires générés par le bioréacteur à plateaux pour le traitement des huiles usées. Les huiles résiduaires restantes séparées des solides et de l'eau sont recyclées de nouveau dans le réacteur biologique, Les solides (boues) sont séchées, et l'eau extraite peut être rejetée dans le fleuve, si elle respecte les normes.

#### **4 Coûts reliés aux traitements**

Les coûts de traitement des huiles usées représentent la dernière étape de cette étude. La première étape fut la détermination des paramètres cinétiques de biodégradation de composés organiques présents dans l'huile de coupes usées dans un réacteur biologique au laboratoire. L'étape suivante fut le calcul des équipements que le système de traitement anaérobie nécessite. La dernière étape sera l'estimation des coûts. Les détails des calculs sont présentés à l'Annexe 11.

##### **4.1 Détermination des paramètres cinétiques**

Cette étape a été réalisée au laboratoire afin de déterminer les constantes d'affinités de certains composés organiques (tels le  $C_{10}$ ,  $C_{12}$ ,  $C_{14}$ ,  $C_{16}$  et  $C_{18}$ ) présents dans l'huile de coupe usée. Ainsi les vitesses de consommation de ces composés organiques par rapport à la quantité de biomasse utilisée ont été calculées. C'est à partir de ces paramètres qu'il a été possible de réaliser le calcul du volume du bioréacteur et la biomasse en poids sec des bactéries nécessaire pour traiter un volume donné de l'huile usée.

##### **4.2 Calcul et coûts d'équipements**

Une partie provient des fournisseurs d'équipements industriels, certains prix ont été trouvés dans la littérature. Le calcul du volume du bioréacteur nécessaire pour le

traitement de  $C_{10}$ ,  $C_{12}$ ,  $C_{14}$ ,  $C_{16}$  et  $C_{18}$  présent dans une tonne d'huile usée est spécifié dans les Annexes 11.

### 4.3 Estimations des coûts

Le temps de séjour de l'huile de coupe dans le réacteur est de 30 jours pour faire disparaître complètement les  $C_{10}$ ,  $C_{12}$ ,  $C_{14}$ ,  $C_{16}$  et  $C_{18}$ .

40 m<sup>3</sup> HC (36 tonnes) sont traités durant cette période de 30 jours (soit 432 tonnes d'huile de coupe/an). L'ensemble des coûts est résumé dans le tableau 14.

Tableau 14

Composante de l'unité pilote et coûts reliés au traitement des huiles usées.

| Composantes du traitement        | Estimation des coûts en \$ / an |
|----------------------------------|---------------------------------|
| Transport                        | 1900.8                          |
| Bioréacteur                      | 1 500 000                       |
| Produit chimiques                | 16 000                          |
| Réservoir de stockage            | 567772                          |
| Réservoir de vidange             | 335460                          |
| Décanteur lamellaire             | 11886.69 \$                     |
| 2 Pompes centrifuges             | 20113.56                        |
| Électricité                      | 5884.5                          |
| Mains d'oeuvres                  | 70000\$+45000=115000/an         |
| Coût de la première année (1997) | 2 574 000 \$\$                  |
| Coût en \$ / m <sup>3</sup> .an  | 289\$/ m <sup>3</sup> .an       |
| Coût en \$ / Kg.an               | 0.321\$/ Kg .an                 |

## 4 Synthèse

L'analyse technico-économique dégage:

- un coût moindre pour la gestion des boues du fait de leur faible production
- un espace requis restreint
- des exigences énergétiques faibles
- une production d'un combustible récupérable le méthane
- une source de revenu des boues anérobies en tant qu'inoculant pour d'autres systèmes de traitement biologique en mode anaérobie

## **VI CONCLUSIONS GÉNÉRALES**

Cette étude a montré la possibilité de traitement de l'huile de coupe usée (Pennex N43 Esso) par le consortium bactérien prélevé du digesteur anaérobie.

L'analyse microbiologique du consortium a révélé l'apparition de Clostridium très résistant et d'autres bactéries productrices de méthane (Méthanobactérium). L'acclimatation de ces dernières a duré six mois avant qu'elles ne se développent dans l'huile de coupe seule et le milieu riche en micronutriments.

L'efficacité d'enlèvement des composés organiques présents dans l'huile de coupe usée Pennex N43 est plus élevée à une température de 35°C qu'à 25°C. Des bactéries fermentatives identifiées par le test An-Ident ont dégradé les composés organiques présents dans l'huile de coupe notamment les C<sub>10</sub>, C<sub>12</sub>, C<sub>14</sub>, C<sub>16</sub>, C<sub>18</sub> et autres en des molécules organiques utilisables par les bactéries méthanigènes. Les molécules organiques de poids moléculaires faibles ont tendance à disparaître en premier, suivi par ceux de gros poids moléculaires.

Les modèles cinétiques de dégradation diffèrent avec les températures d'incubations étudiées. Ils sont similaires à ceux établis par Michaelis-Menten ou Monod à une



température de 35°C, mais ils sont d'ordre zéro ou d'ordre 1 à la température de 25°C.

Les paramètres cinétiques ont été calculés pour la première fois et seront disponibles pour les concepteurs du bioréacteurs utilisant des huiles usées.

Sur le plan environnemental, l'enlèvement des grosses molécules organiques présentes dans l'huile de coupe réduit les risques de se trouver dans l'environnement, par conséquent la possibilité de se lier aux halogènes, réduisant ainsi les nuisances à l'environnement et les dangers à la santé.

Sur le plan économique, l'utilisation de l'approche biologique en anaérobiose comme outil de gestion pour le traitement des huiles usées promet plus que d'autres procédés; il est moins coûteux que le traitement aérobie, l'enfouissement et l'incinération.

## **VII RECOMMANDATIONS**

Les informations disponibles donnent une idée sur le traitement des huiles usées, mais ne suffisent pas pour en arriver à une conclusion générale. Les recommandations suivantes en matière de recherche et développement sont donc à considérer. Il faudrait:

- Évaluer l'effet des différents métaux présents dans l'huile de coupe (Pennex N43 Esso) sur la cinétique et l'efficacité de la biodégradation.
- vérifier la toxicité des boues provenant du bioréacteur afin de savoir si elles rencontrent les normes du Québec pour être enfouies dans le sol.
- réaliser l'étude à d'autres températures pour mieux comprendre les besoins énergétiques du consortium bactérien pour transformer l'huile usée.
- isoler chacune des bactéries du consortium bactérien et déterminer quel type d'hydrocarbure est capable de dégrader, aussi les composés intermédiaires issus de cette dégradation, qu'ils soient liquides ou gazeux.
- reprendre en détails l'étude technico-économique à la lumière des nouveaux résultats obtenus et les comparer aux technologies utilisées de nos jours.

## REFERENCES

1. Fayard, N.M, Edera, RL. Effectiveness of a biomediation product in degradating the oil spilled in the 1991 Arabian Gulf War. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 1992,.49 (6) 787-96.
2. Fox, P., Suidan, M.T, and Pfeffer, J.T. Anaerobic treament of a biologically inhibitory waste water. Journal of Water Pollut. Control. Fed. 1988,60 : 86-92.
3. Maule, A., Plyte, S.,and Quirk, A.V. Dechlorination of organochlorine insecticides by mixted anaerobic microbial populations. Pesticide Biochemistry and Physiology. 27: 229-236. 1987.
4. Vargas,C., and Ahlert, R.C. Anaerobic degradation of chlorinated solvents. Journal WPCF, Volume 59, N 11. (1987).
5. Magot, M. and al. Desulfovibrio longus sp. nov. a sulfate-reducing bacterium isolated from an oil-producing well. Int. J. Syst. Bacteriol.1992, 42 (3) 398-403.
6. Heitkamp, M.A., Cerniglia, C.E. Mineralization of polycyclic aromatic hydrocarbons by a bacterium isolated from sediment below an oil field. Appl. Environ. Microb. 1988, 54(6) 161-4.
7. Berry, D.F.,Francis, A.J, Bollag, J.M. Microbial methabolism of hemocyclic and heterocyclic aromatic compounds under anaerobic conditions. Microbiological Review. March.1987, 43-59.

8. Grbic-Galic, D. and Young, L.Y. Methane fermentation of ferulate and benzoate : anaerobic degradation pathways. *Applied and Environ. Microb.* 1985, 50 (2) 292-297.
9. Bouwer, E.J., Rittmann, B.E, and McCarty, P.L. Anaerobic degradation of halogenated 1- and 2- carbon organic compounds. *Environmental Science & Technology*, Vol. 15, N 5, May 1981.
10. Fathepure, B.Z., Nengu, J.P., and Boyd, S.A. (1987). Anaerobic bacteria that dechlorinate perchloroethene. *Applied and Environmental Microbiology*, Nov. 1987, p. 2671-2674.
11. Stepp, T.D., Camper, N.D., and Paynter, M.J.B. Anaerobic microbial degradation of selected 3,4-dihalogenated aromatic compounds. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 23, 256-260 (1985).
12. Wagener, S, and Schink, B. Fermentative degradation of nonionic surfactants and polyethylene glycol by enrichment cultures and by pure cultures of homoacetogenic and propionate-forming bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, Feb. 1988, p. 561-565.
13. Balba, M.T., and Evans, W.C. The methanogenic fermentation of aromatic substrates. *Biochem. Soc. Trans.* 1977, 5, 302-304.
14. Grbic-Galic, D. and Vogel, T.M.. Transformation of toluene and benzene by mixed methanogenic culture. *Applied Environ. Microb.* 1987, 53: 254-260.

15. Knoll, G., and Winter, J. Anaerobic degradation of phenol in sewage sludge. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1987, 25:384-391.
16. Dolfing, J., and Tiedje, J.M.. Growth yield increase linked to reductive dechlorination in a defined 3-chlorobenzoate degrading methanogenic coculture. *Arch. Microbiol.* 1987 149:102-105.
17. Uemura, S. and Harada, H. Microbial characteristic of methanogenic sludge consortia developed in thermophilic UASB reactors. *J. Applied Microb. and Biotech.* 1993, 39 (4-5) 654-660.
18. Visser, A., Gaoy, Lettiga, G. Effect of pH on methanogenesis and sulfate reduction in thermophilic 55c UASB reactors. *J. Bioresour. Technol.* 1993, 44 (2) 113-121.
19. Healy, J.B. and Young, L.Y. Catechol and Phenol degradation by a methanogenic population of bacteria. *Appl. Environ. Microb.* 1978, 35 (1) 216-218.
20. Daniel, L. Biotechnological potential of methanogens. *Biochem. Soc. Symp.* 1992, 58: 181-93.
21. Mc Inerney and Bryan. *Synthrophomonas wolfei* gen nov. sp. nov. an anaerobic syntrophic fatty acid-oxidizing bacterium. *Appl. Environ. Microb.* 1981, 41: 1029-1039.

22. Pokwasili G., Cokorie, K.B. Influence of physico-chemical stress in biodegradability of an engine lubricating oil. *Int. Biodeterior.* 1991, 27 (3) 255-264.
23. Foght, H., Fedorak, P.M, and Westlake, D.W.S. Minéralisation of [ $^{14}\text{C}$ ] hexadecane and [ $^{14}\text{C}$ ] phenanthrene in crude oil: specificity among bacterial isolates. *Can.J.Microbiol.* 36:169-175. 1990.
24. Fedorak, P.M, and Westlake D.W.S..Microbiol degradation of aromatics and saturates in Prudhoe Bay crude oil as determined by glass chromatography. *Can.J.Microbiol.* 1981, 127:432-443
25. Elizabeth A.Edwards, and Grbic-G. Anaerobic Degradation of Toluene and o-xylene by a Methanogenic Cinsortium. *Appl.Environ.Microbiol.* 60:313-322. 1994
26. Proctor et Redfern Ltd. Data on Hazardous Wastes, Rubber Wastes and Oil Wastes in Canada-1983: Final and Appendices reports, préparé pour la Division de Gestion des Déchets, Environnement Canada, 1984.
27. Moneco Consultants Ltd. Rapport scientifique présenté à la Direction des programmes industriels, Protection de l'Environnement, Environnement Canada. Gestion des Huiles Usées au canada: Situation actuelle et différentes options. Rapport CCME-TS/WM-TRE007F. Août 1989.

28. Franklin Associates Ltd., Composition and Managment of used Oil generated in United States, Environemental Protection Agency, Washington, D.C,EPA. Report N EPA/530-SW-013, 1985.
29. Gibson.D.T,and V.Subramanion. Microbial degradation of hydrocarbons, in microbial degradation of organic compounds,Ed.D.A, Wolfe New york: Marcel Dekker.181-252. 1984.
30. Reineke,W.1994.Degradation of chlorinated aromatic compounds by bacteria: strain devlopment.In biological degradation and bioremediation of toxic chemicals.Ed.G.R.Chaudry.
31. Goyer, N. Huiles et graisses. Rapport sectoriel rédigé pour le bureau d'étude sur les substances toxiques .Environnement Québec.1980. p;41.
32. Dean,B.J. Recent findings on the genetic toxicology of benzene, toluene, xylenes and phenols.Mutat.Res. 145:153-181. 1985
33. Keith,L.H., and Tellard, W.A. Priority pollutants. I.A.Perspective View. Enviro.Sc.Technol. 1979, 13.416-423
34. Heidelberg.C. Chemical carcinogenesis.Annu. Rev.Bioch. 1975. 44:79-121
35. Miller, E.C, and Miller, JA. Biochemical mechanisms of Chemical carciogenesis.In Tee Molecular biology of cancer. Editor.H.Busch. New York: Academic Press 1974,377-403

36. Copper, CS, Vigny, P.M. Kinolts, Grover, P.L, and Sims, P. Metabolic Activation of 3-Methylcolanthrene in mouse skin: Fluorescence spectral evidence indicates the involvement diol epoxides ferrmed in the 7,8,9-10ring. Carcinogenesis. 1980:855-860.
- 37 Copper, CS, Grover,P.L, and Sims,P. The Metabolism and Activation of Benzo[a]pyrene. Prog. Drug Metabo. 1983. 7:295-396.
- 38.Dagley,S..Catabolism of aromatic compounds by microorganisms.Adv.Micrbiol.Physiol. 19716:1-46
39. Gibson, D.T. Microbial degradation of hydrocarbons. Toxicol. Environ. Chem, 5:273-250. 1982.
40. Gibson, D.T.Biodegradation of aromatic petroleum hydrocarbons.In Fate and effect of petroleum hydrocarbons in marine ecosystems and organisms.Ed.D.A. Wolfe.New York:Pergamon Press.1977, 36-46.
41. Dagley, S.The microbial metabolism of phenolic, p.287-317.Ind A.D McLaren and G.H.Peterson (ed), Soil biochemistry.Edward Arnold,London.. 1967.
42. Cerniglia, C.E, and Heitkamp, M.A. Microbiol degradation of polycyclic aromatic hydracarbons in aquatic environment.Ed.U.Varanasi.Boca.Raton,Fl:CRC Press.Inc. 1989, 41-68.



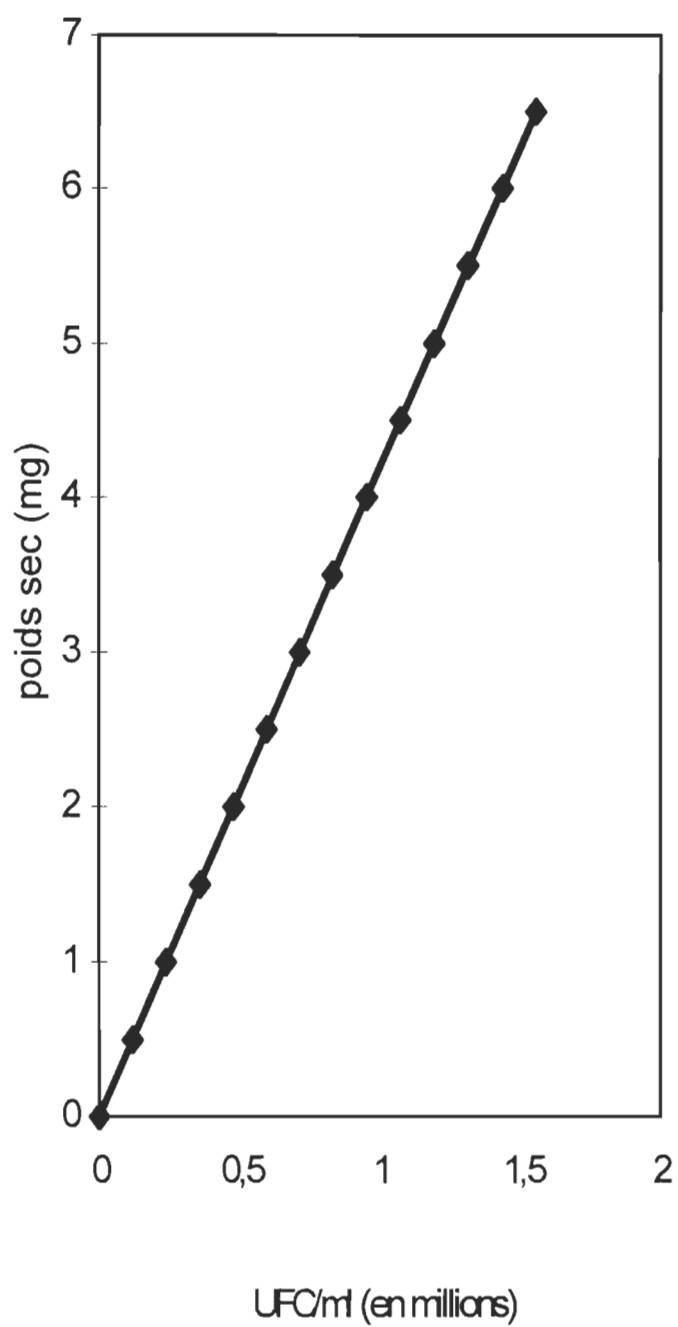
43. Bouwer, E.J; McCarty, P.L. Removal of trace chlorinated organic compounds by activated carbon and fixed-film bacteria, *Environ.Sci.Technol.*1982, 16
44. Bouwer, E.J; McCarty, P.L. Transformations of halogenated organic compounds under denitrification conditions, *Appl.Env.Microbiol.*1983,45, 1295-1299.
45. Bouwer, E.J; McCarty, P.L. Transformations of 1- and 2-carbon halogenated aliphatic organic compounds under methanogenic conditions, *Appl.Environ.Microbiol.*45:1286-1294. 1983
46. Bouwer, E.J; McCarty, P.L. Utilisations rates of trace halogenated organic compounds in acetate-grow biofilms, *Biotechnol. Bioeng.* 27,1564-1571. 1985.
47. Atlas,R.M. in *Biodgradation of hydrocarbons in the environment*; Omenn, G.S; Plenum Press, New York,1987;211-222.
- 48.Furakawa, K. In *Microbiol degradation of polychlorinated biphenyls*, Chakrabarty, A.M;CRC Press inc. Boca ration, Florida, 1983;59-84
49. Quensen, J.F. Tiedje, J.M; Boyd,S.A. Reductive dechlorination of polychlorinated biphenyls by anaerobic microorganisms from sediments, *science* .1988,242,752-754
50. Rhee, G.Y.;Bush, B.; Brown, M.P;Kane,M.; Shane,L.Anaerobic biodegradation and dredged sediments in clay encapsulation, *Water Res.*1989, 21, 957-964.

51. Ptil, K.C., Matsumura, F.; Boush, G.M. Metabolic transformation of DDT, Dieldrin, Aldrin, and Endrin by marine microorganisms, *Environ. Sci. Technol.* 1972, 6, 629-632.
52. Dunja Grbic-G., Beller, H.R., and Reinhard, M.. Microbial degradation of Toluene under Sulfate-Reducing conditions and the Influence of Iron on the Process. *Appl. Environ. Microbiol.* 58:786-793. 1992
53. Ivanov, V.N., Kachur, T.L., Dulgerov, A.N., Soljuk, A.I. Degradation of Oil Hydrocarbons by thermophilic Denitrifying Bacteria. *Microbiology*. 1995, 75(2): 85-94.
54. Suidan, M.T., Wernn, B.A., Kadkhodayan, M., Venosa, A.D., Haines, J. R. Effects of nitrogen source on crude oil biodegradation.. *Journal of Industrial Microbiology*, 13 (1994) 279-286. 1993
55. Paques. 1989. Paques information package. Paques basic technical and technological information manual. Vol. 1
56. Regnault, J.P. Microbiologie générale. Décarie Éditeur inc. Montréal. p362-363
57. Terrains Contaminés. Problématiques des sols et des eaux souterraines contaminés par des produits pétroliers: Sélection des paramètres analytiques, *Envirodoq* EN940209.

58. Martin Alexander. Biodegradation and Bioremediation. Academic Press Sandiego. p:71-98.1994.
59. Pauline M. Doran. Bioprocess Engineering Principles. Sandiego. Academic Press. p:268-283. 1995
60. Edeline, F. 1988. L'épuration biologique des eaux résiduaires, Théorie et technologie. Ed 3. Cebedoc, Liège. p:213-215
61. Leclerc, H. Microbiologie général. Ed doin. 1975. P83-87
62. Literathy, P, Haider, S, Samhan, O, and Morel, G. Experimental Studies on Biological And Chemical Oxidation of Dispersed Oil in Seawater. Wat. Sci.technol. 21:845-856. 1989
- 63 Loher, R.C, Martin J.H Jr, and Neuhaus, E.F. Land treatment of an Aged Oily Sludge- organic and Change in Soil Characteristics. Wat. Res. 1992, 26:805-815.
64. Perry and Green Chemical Engineers' Handbook Sixth Edition

## Annexe 1

Courbe de la détermination de la masse cellulaire par mesure de poids sec



## Annexe 2

### Méthode d'étalonnage pour l'huile de coupe usée

METHOD : STAB631.MTH GC Default Parameters

CREATED : 00:00:00 Wed Jan 01 1992

AUTHOR : ElAmine FELLAHI

LAST MODIFIED : 14:38:11 Wed Oct 23 1996

Instrument : AutoSystem GC Perkin Elmer

Column(s) : Capillary Stabilwax Carbowax-PEG for amines and  
basic compounds. 30m, 0.32mmID, 0.5um df.

Polymer stable to 220 C, Minimal Bleed at 220 C

Carrier Gas : Helium 15 psi, split 30ml/min at 30C

Detector(s) : Flame Ionisation Detector (FID)

Operating Conditions : Programed temperature

Calculation Type : External Standard Peak Data : Area

Calibration Sequence Number : 1

#### DATA COLLECTION

Start Time : 0.000 min  
End Time : 53.000 min  
Narrowest Peak : 1.4 - 3.2 s  
Peak Width : Fixed

#### PEAK INTEGRATION

Lockout Time : 0.000  
Baseline Treatment : V to V  
Area Sensitivity : 87  
Base Sensitivity : 4  
Skim Sensitivity : 0.00 %

#### QUANTITATION

RF of Unknowns : 1.00000e+0  
Peak Area Reject : 2.00000e+4  
Calibration Type : Single-Point  
Concn Units : nmole

#### PEAK IDENTIFICATION

Identification Type : Absolute  
Unretained Peak Time : 0.000 min  
Component % Tolerance : 0.50

#### REPORTING

Report Device : 24Pin #1  
Report Format : 0  
Special Report : None

Plot Device : 24Pin #1  
Applications : None  
Interface Ready : Immediate

#### COMPONENT IDENTIFICATION

| RT     | Component Name | Calib Amt  | Resp Fact  | Tol   | Ref | Grp |
|--------|----------------|------------|------------|-------|-----|-----|
| 3.188  | C10            | 1.40500e+0 | 2.18237e+7 | 0.200 |     |     |
| 7.115  | C12            | 1.17400e+0 | 2.94584e+7 | 0.200 |     |     |
| 13.107 | C14            | 1.00800e+0 | 2.52702e+7 | 0.200 |     |     |
| 19.417 | C16            | 8.83000e-1 | 1.87431e+7 | 0.200 |     |     |
| 25.362 | C18            | 7.85000e-1 | 1.45978e+7 | 0.200 |     |     |
| 30.857 | C20            | 7.07000e-1 | 1.28795e+7 | 0.200 |     |     |
| 35.928 | C22            | 6.43000e-1 | 1.22957e+7 | 0.200 |     |     |
| 40.623 | C24            | 5.90000e-1 | 1.19850e+7 | 0.200 |     |     |
| 45.258 | C26            | 5.45000e-1 | 1.32760e+7 | 0.200 |     |     |
| 52.042 | C28            | 5.06000e-1 | 1.50508e+7 | 0.200 |     |     |

#### PLOTTER

Plot Mode : Paged  
Num Pages : 1  
Baselines : Baselines

RT / Components : Both  
Timed Events : Yes  
Second Plot : None

Plot Scale : Full

\*\*\*\*\* G C C O N T R O L \*\*\*\*\*

Configuration Description : GC Plus Method

OVEN

Maximum Temp : 220 C  
Equil Time : 0.50 min  
Coolant : OFF

OVEN TEMPERATURE PROGRAM

|         | Temp(C) | Time  | Rate |
|---------|---------|-------|------|
| Step 1: | 50      | 0.50  | 4.0  |
| Step 2: | 220     | 10.00 | 0.0  |

INLETS

|         | Temperature | Pressure/Flow |
|---------|-------------|---------------|
| CAP 1:  | 250 C       | 15.0 psi      |
| NONE 2: | ---         | ---           |

DETECTORS

|        | Temperature | Mode | Time Constant |
|--------|-------------|------|---------------|
| FID 1: | 300 C       | -    | 200           |
| TCD 2: | 0 C         | -    | 200           |
| TCD :  | 0 C         |      |               |

VALVES

#1 Split #2 None #3 None #4 None #5 None #6 None  
On

SIGNAL SETTINGS

|        | Detector | Autozero | Auto Baseline |
|--------|----------|----------|---------------|
|        | Range    | Signal   | Correction    |
| FID 1: | 1        | On       | On            |
| TCD 2: | 0        | On       | Off           |

ANALOG OUTPUT SETTINGS

|               | Signal From | AZ Offset | Atten |
|---------------|-------------|-----------|-------|
| Integrator 1: | FID 1       | 5 mV      | 1     |
| Integrator 2: | TCD 2       | 5 mV      | 4     |

### Annexe 3

#### Étalonnage de la méthode d'analyse des huiles usées biotraitées

Description: UST modified Diesel range organics

Cat No: 4-8166 Lot No.: LA-51826 Solvent : Hexane

Méthode d'analyse : GC-FID , Colonne capillaire. Stab 631.MTH

| composés<br>Cn | Temps<br>de<br>retention | Conc<br>µg/ml | Masse<br>Molaire<br>g/mole | Masse<br>µg | Nbre de (n)<br>nmole | Facteur de<br>réponse FR e+7 |
|----------------|--------------------------|---------------|----------------------------|-------------|----------------------|------------------------------|
| C10            | 3.188                    | 1000.0        | 142.28                     | 0.2         | 1,405                | 2.18237                      |
| C12            | 7.115                    | 1000.0        | 170.34                     | 0.2         | 1,174                | 2.94584                      |
| C14            | 13.107                   | 1000.1        | 198.40                     | 0.2         | 1,008                | 2.52702                      |
| C16            | 19.417                   | 1000.0        | 226.45                     | 0.2         | 0,883                | 2.94584                      |
| C18            | 25.,362                  | 1000.0        | 254.51                     | 0.2         | 0,785                | 1.87431                      |
| C20            | 30.857                   | 1000.0        | 282.56                     | 0.2         | 0,707                | 1.45978                      |
| C22            | 35.928                   | 1000.1        | 310.61                     | 0.2         | 0,643                | 1.22957                      |
| C24            | 40.623                   | 1000.0        | 338.67                     | 0.2         | 0,590                | 1.19850                      |
| C26            | 45.258                   | 1000.1        | 366.72                     | 0.2         | 0,545                | 1.32760                      |
| C28            | 52.042                   | 1000.0        | 394.78                     | 0.2         | 0,506                | 1.50508                      |

#### Type de calcul de nombre de mole

**n-Decane C10 1000.0 µg/ml . (0.2 µl mélange est injecté)**

1000.0 µg C10 contenu dans 1 ml

m µg C10 contenu dans  $0.2 \cdot 10^{-3}$  ml

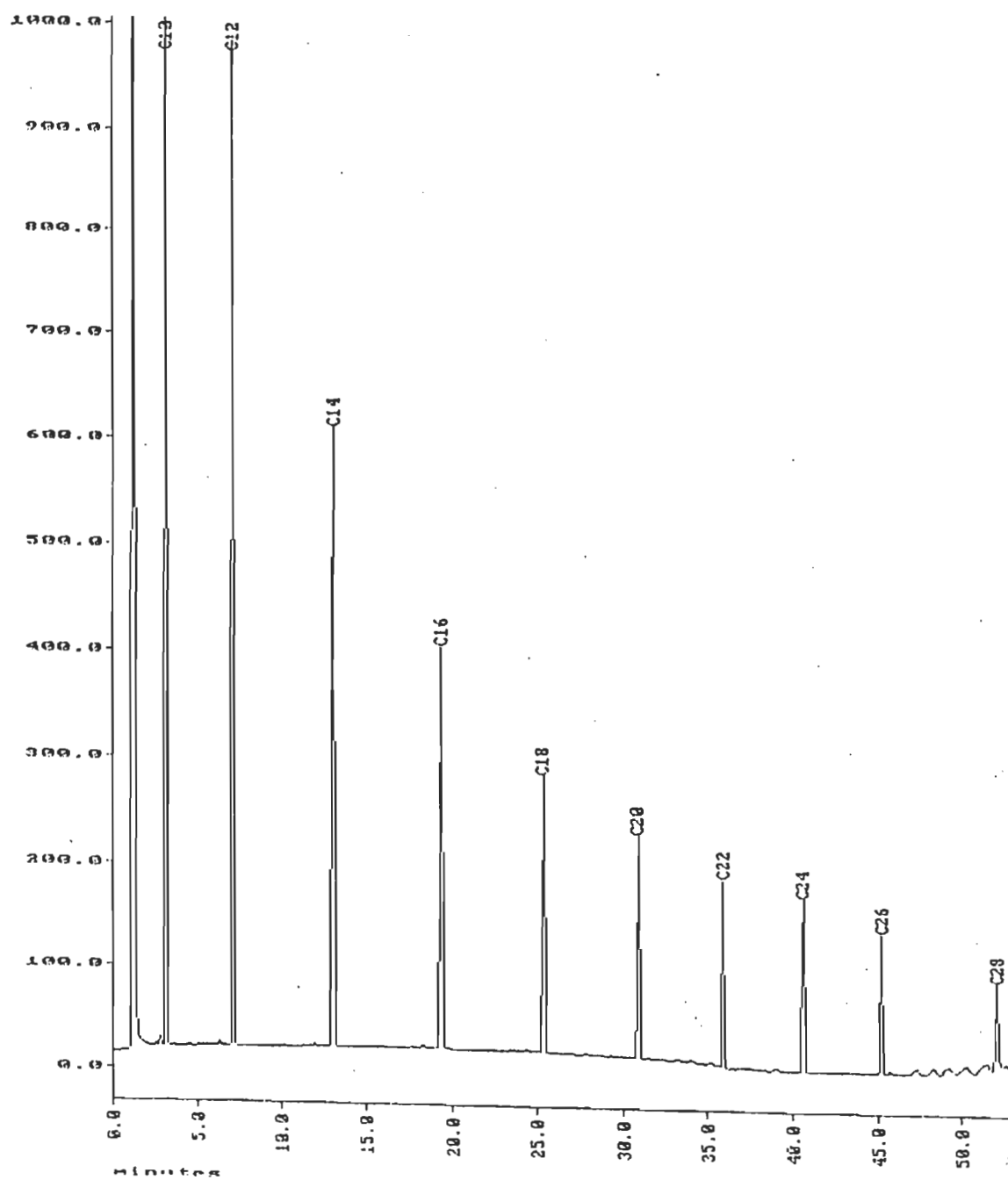
Masse =  $1000 \cdot 0.2 \cdot 10^{-3} / 1 = 0.2 \mu\text{g}$

Nombre Mole = Masse/MM

$n = 0.2 / 142.28 = 1,405 \cdot 10^{-9}$  mole

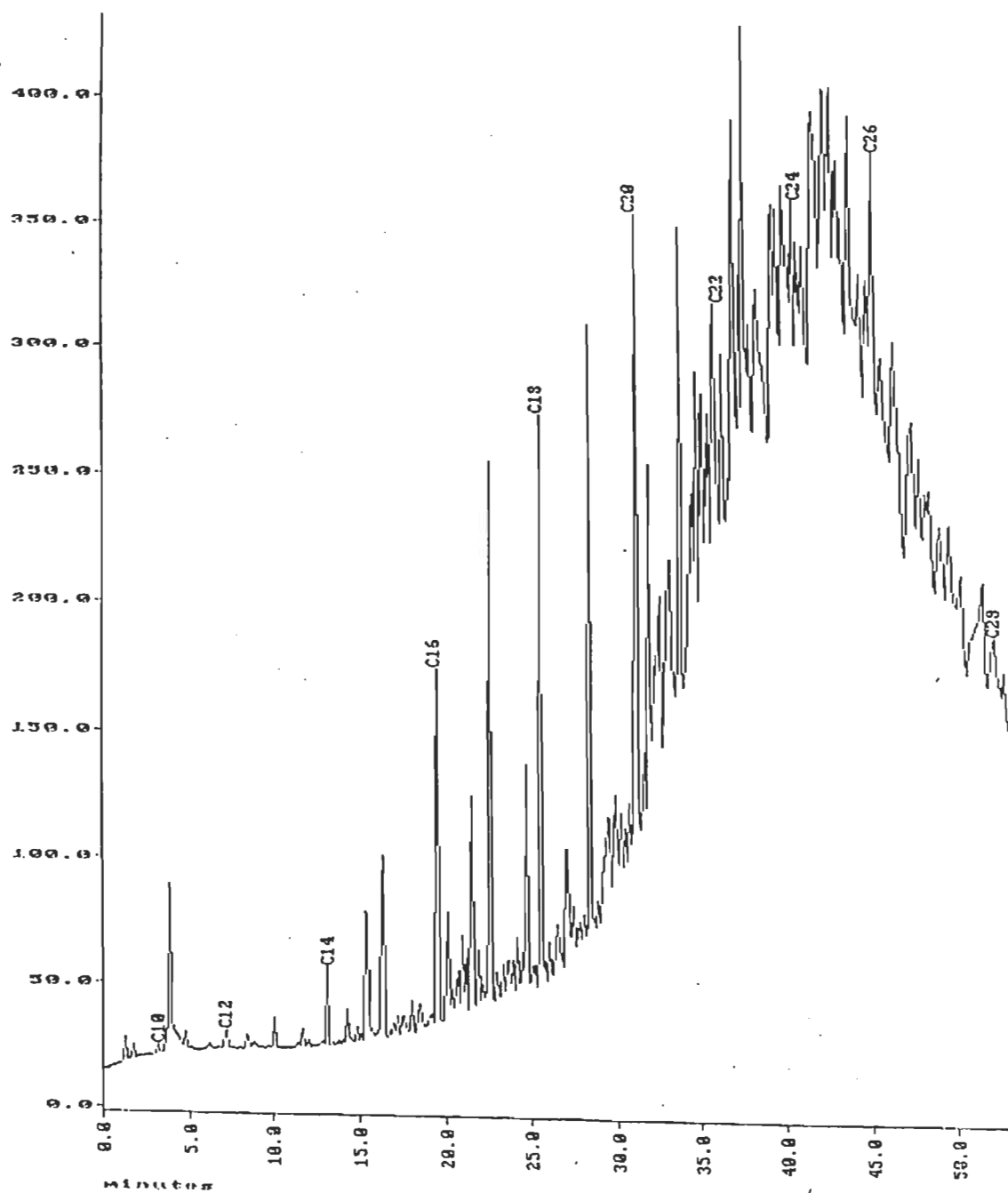
|                 |
|-----------------|
| n = 1,405 nmole |
|-----------------|

# Chromatogramme de composés modèles de calibrage

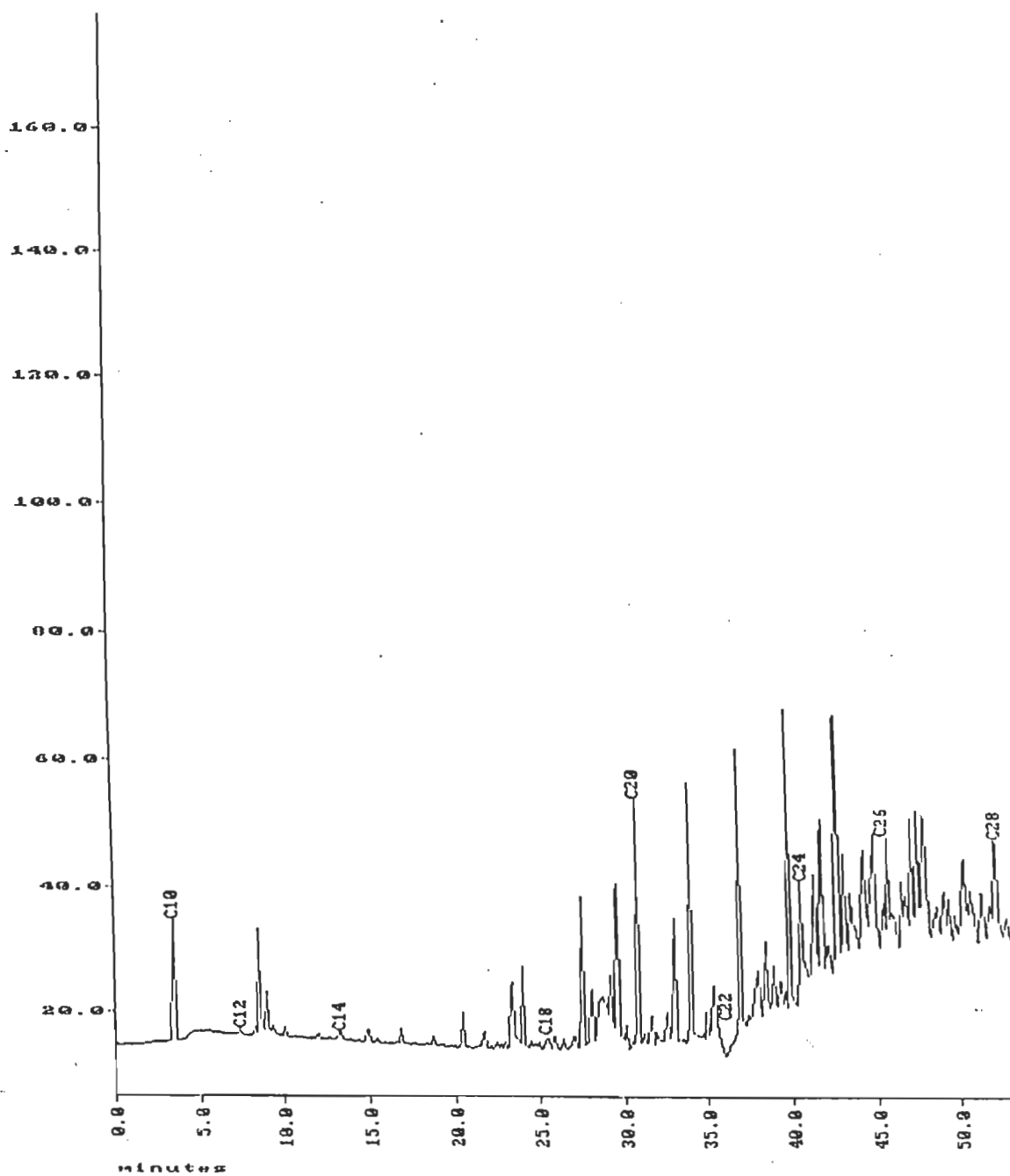




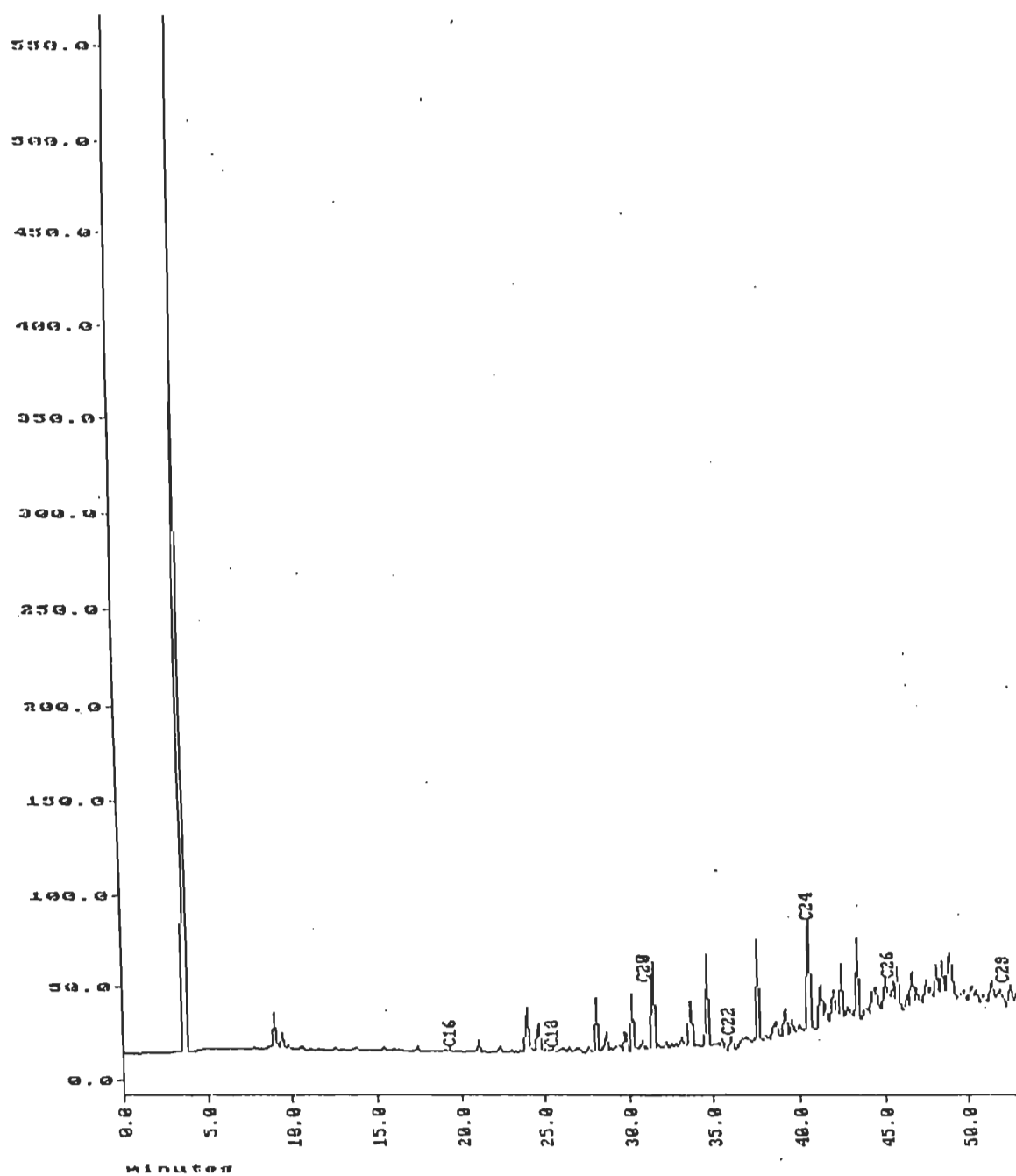
# Chromatogramme de l'huile de coupe usée non traitée



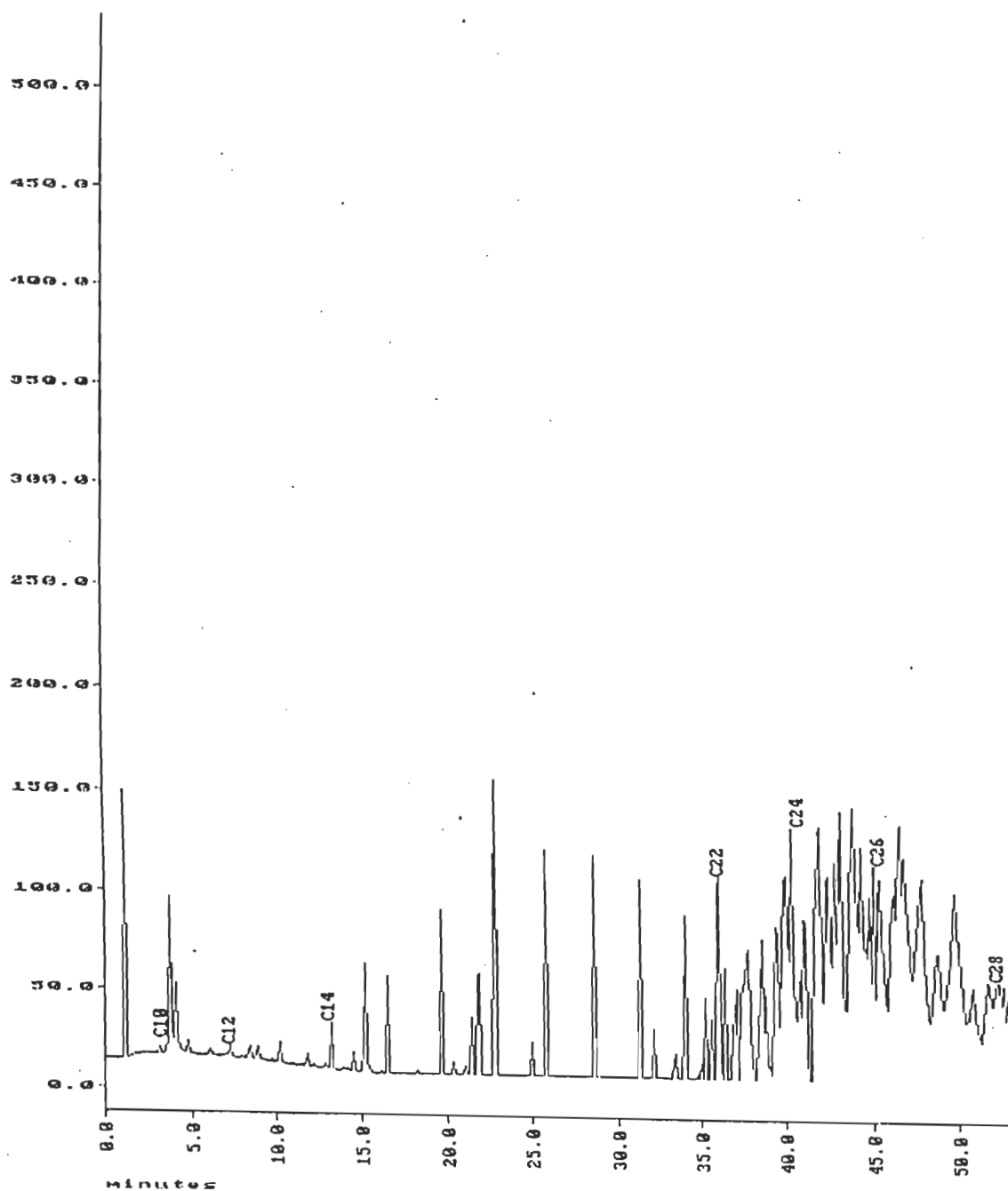
Chromatogramme de l'huile de coupe usée biotraitée par une culture bactérienne après 12 jours d'incubation



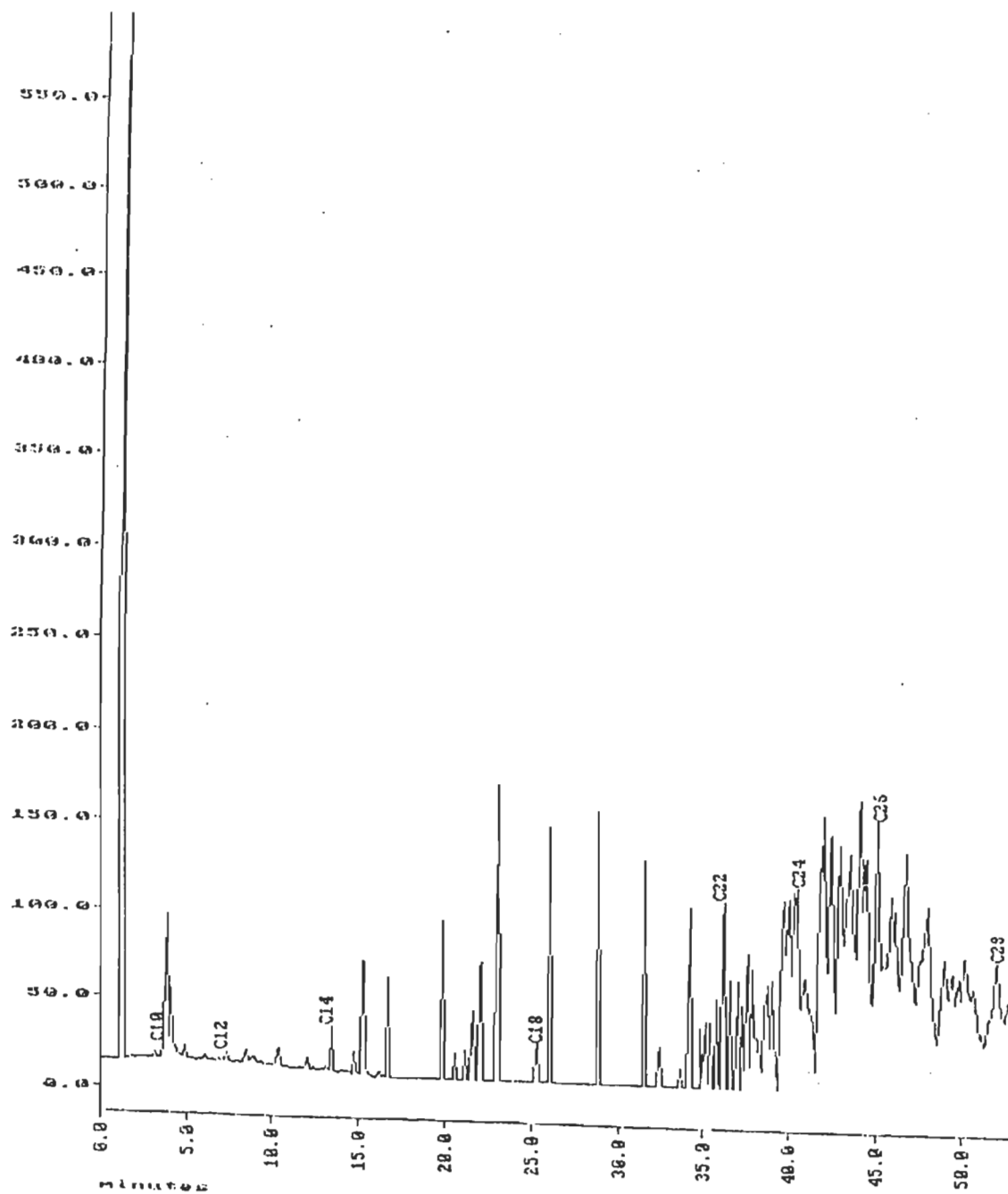
Chromatogramme de l'huile de coupe usée biotraitée par une culture bactérienne après 19 jours d'incubation



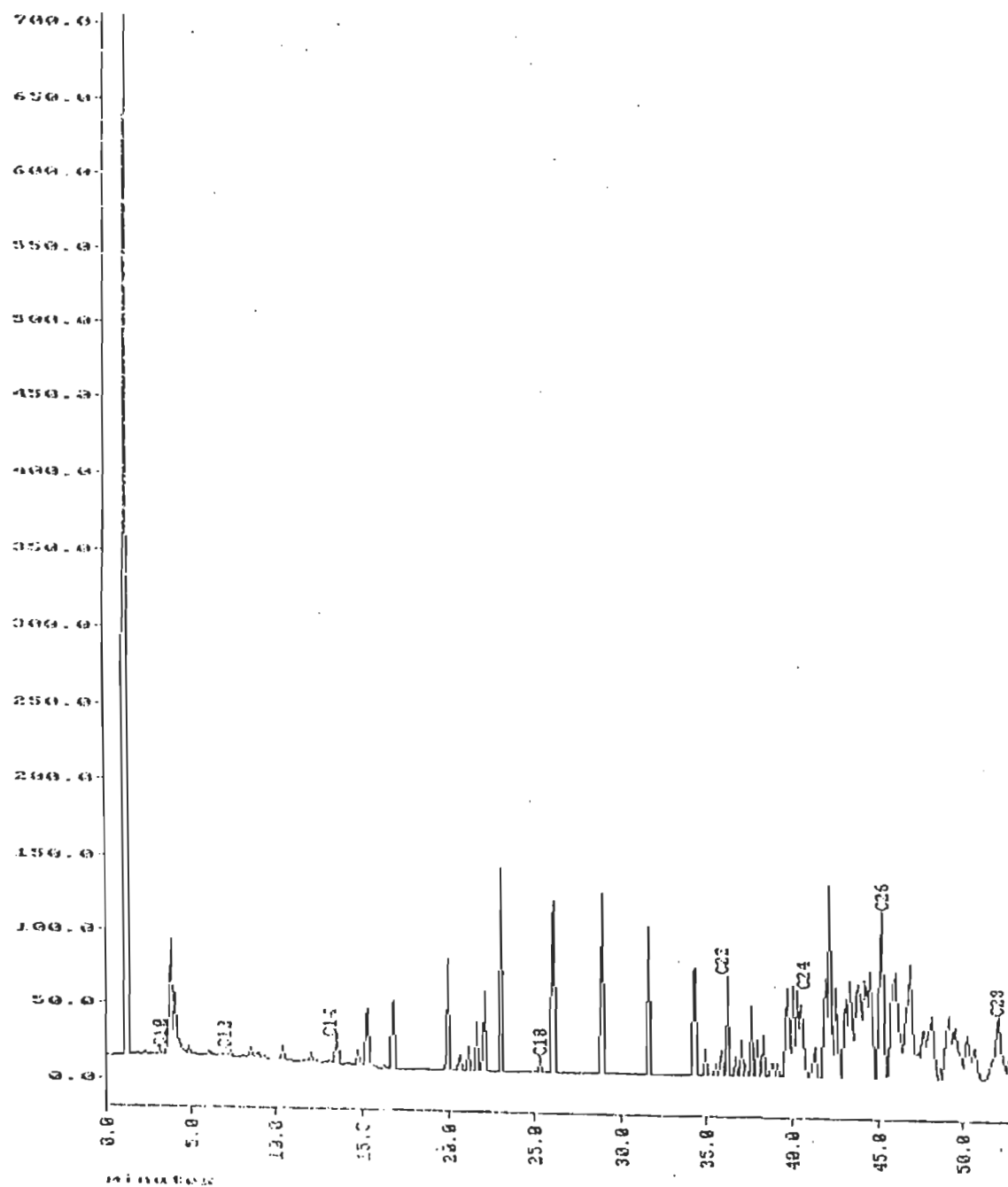
Chromatogramme de l'huile de coupe usée biotraitée par une culture bactérienne après 26 jours d'incubation



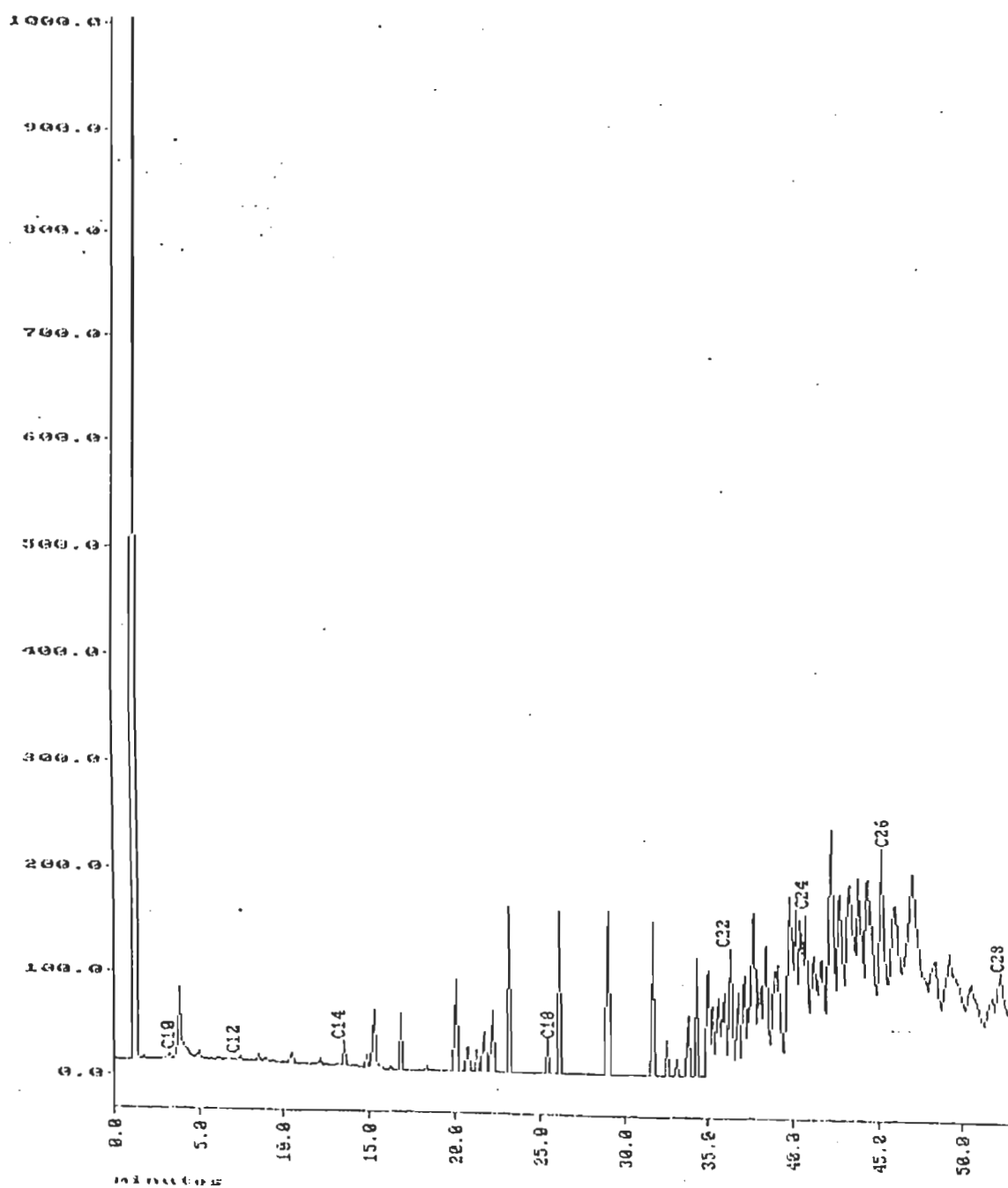
Chromatogramme de l'huile de coupe usée biotraitée par une culture bactérienne après 33 jours d'incubation



Chromatogramme de l'huile de coupe usée biotraitée par une culture bactérienne après 39 jours d'incubation



Chromatogramme de l'huile de coupe usée biotraitée par une culture bactérienne après 46 jours d'incubation



## Annexe 4

### Méthode détaillée d'analyse de C1-C5

METHOD : SPEL002.MTH C1-C5 Hydrocarbons

CREATED : 08:38:00 Wed Jan 31 1992

AUTHOR : ElMouine Fellahi

LAST MODIFIED : 21:51:57 Wed Nov 27 1996

Instrument : Autosystem GC Perkin Elmer  
 Column(s) : capillary,Alumina Plot,Fused Silica,38x.3.56mmID  
 Carrier Gas : Helium 4 psi, 3.0ml/min x250  
 Detector(s) : FID  
 Operating Conditions : Programmed temperature

Calculation Type : External Standard Peak Data : Area  
 Calibration Sequence Number : 5

#### DATA COLLECTION

#### PEAK INTEGRATION

Start Time : 0.000 min Lockout Time : 0.000  
 End Time : 27.500 min Baseline Treatment : V to V  
 Narrowest Peak : 1.4 - 3.2 s Area Sensitivity : 463  
 Peak Width : Fixed Base Sensitivity : 22  
 Skia Sensitivity : 0.20 %

#### QUANTITATION

#### PEAK IDENTIFICATION

RF of Unknowns : 1.00000e+0 Identification Type : Absolute  
 Peak Area Reject : 2.50000e+1 Retained Peak Time : 0.000 min  
 Calibration Type : Single-Point Component % Tolerance : 0.50  
 Concn Units : mole

#### REPORTING

Report Device : 24Pin #1 Plot Device : 24Pin #1  
 Report Format : 0 Applications : None  
 Special Report : None Interface Ready : Immediate

#### COMPONENT IDENTIFICATION

| RT     | Component Name | Calib Amt  | Resp Fact  | Tol   | Ref | Grp |
|--------|----------------|------------|------------|-------|-----|-----|
| 1.953  | Methane        | 1.31689e-1 | 1.24112e+6 | 1.200 |     |     |
| 2.273  | Ethane         | 8.98393e-2 | 3.19382e+6 | 1.200 |     |     |
| 4.022  | Propane        | 6.00998e-2 | 7.74713e+6 | 1.200 |     |     |
| 7.552  | N-Butane       | 4.75306e-2 | 1.16439e+7 | 1.200 |     |     |
| 16.068 | N-Pentane      | 3.98529e-2 | 1.14719e+7 | 1.200 |     |     |

#### PLOTTER

Plot Mode : Paged RT / Components : Both  
 Num Pages : 1 Titled Events : No  
 Baselines : Baselines Second Plot : None

#### MAIN PLOT

Plot Scale : Full

XXXXXXXXXXXX GC CONTROL XXXXXXXXXXXXXXX



oven

Maximum Temp : 280 C  
Equil Time : 0.50 min  
Coolant : OFF

#### OVEN TEMPERATURE PROGRAM

|         | Temp(C) | Time | Rate |
|---------|---------|------|------|
| Step 1: | 40      | 2.50 | 5.0  |
| Step 2: | 175     | 0.80 | 0.0  |

#### INLETS

|         | Temperature | Pressure/Flow |
|---------|-------------|---------------|
| CAP 1:  | 200 C       | 4.0 psi       |
| None 2: | ---         | ---           |

#### DETECTORS

|        | Temperature | Mode | Time Constant |
|--------|-------------|------|---------------|
| FID 1: | 280 C       | -    | 200           |
| TCD 2: | 0 C         | -    | 200           |
| TCD :  | 0 C         |      |               |

#### VALVES

#1 Split #2 None #3 None #4 None #5 None #6 None  
Off

#### SIGNAL SETTINGS

|        | Detector | Autozero | Auto Baseline |
|--------|----------|----------|---------------|
|        | Range    | Signal   | Correction    |
| FID 1: | 1        | On       | On            |
| TCD 2: | 0        | Off      | Off           |

#### ANALOG OUTPUT SETTINGS

|               | Signal From | AZ Offset | Atten |
|---------------|-------------|-----------|-------|
| Integrator 1: | FID 1       | 5 mV      | 1     |
| Integrator 2: | TCD 2       | 5 mV      | 4     |

## Annexe 5

### Replicats de la croissance bactérienne

| Date | D1       | D2       | D3       | Moy à 45C |
|------|----------|----------|----------|-----------|
| 0    | 1.50E+03 | 1.50E+03 | 1.50E+03 | 1.50E+03  |
| 7    | 5.20E+02 | 5.00E+02 | 3.00E+02 | 4.48E+02  |
| 12   | 3.00E+02 | 3.50E+02 | 1.90E+02 | 2.80E+02  |
| 19   | 3.50E+02 | 2.89E+02 | 2.61E+02 | 3.00E+02  |
| 26   | 3.70E+02 | 3.80E+02 | 3.00E+02 | 3.50E+02  |
| 33   | 7.50E+01 | 5.40E+01 | 5.10E+01 | 6.00E+01  |
| 39   | 8.20E+01 | 7.00E+01 | 6.70E+01 | 7.30E+01  |
| 46   | 7.20E+01 | 5.30E+01 | 6.40E+01 | 6.30E+01  |
| 53   | 1.00E+01 | 9.20E+00 | 1.38E+02 | 1.10E+02  |
| 60   | 6.60E+01 | 7.40E+01 | 6.90E+02 | 7.10E+01  |
| 67   | 3.50E+01 | 5.40E+01 | 4.00E+01 | 4.30E+01  |

### Replicat de la numération bactérienne à une température de 25 C

| Date | D1       | D2       | D3       | Moy à 25C |
|------|----------|----------|----------|-----------|
| 0    | 1.50E+03 | 1.50E+03 | 1.50E+03 | 1.50E+03  |
| 7    | 6.10E+03 | 5.30E+03 | 8.10E+03 | 6.50E+03  |
| 12   | 1.00E+03 | 2.00E+03 | 1.80E+03 | 1.60E+03  |
| 19   | 5.70E+03 | 4.00E+03 | 3.20E+03 | 4.30E+03  |
| 26   | 2.00E+04 | 1.80E+04 | 2.50E+04 | 2.10E+04  |
| 33   | 7.30E+04 | 6.00E+04 | 7.70E+04 | 7.00E+04  |
| 39   | 1.90E+04 | 2.30E+04 | 2.40E+04 | 2.20E+04  |
| 46   | 1.70E+05 | 2.00E+05 | 2.60E+05 | 2.10E+05  |
| 53   | 3.50E+05 | 4.50E+05 | 3.40E+05 | 3.80E+05  |
| 60   | 3.40E+05 | 3.20E+05 | 3.00E+05 | 3.20E+05  |
| 67   | 3.60E+05 | 3.10E+05 | 3.80E+05 | 3.50E+05  |

### Replicat de la numération bactérienne à une température de 35 C

| Date | D1       | D2       | D3       | Moy à 35C |
|------|----------|----------|----------|-----------|
| 0    | 3.20E+04 | 5.00E+04 | 6.20E+04 | 4.80E+04  |
| 7    | 9.80E+03 | 5.20E+03 | 6.60E+03 | 7.20E+03  |
| 12   | 9.30E+02 | 8.30E+02 | 1.50E+03 | 1.10E+03  |
| 19   | 4.20E+03 | 3.80E+03 | 5.20E+03 | 4.40E+03  |
| 26   | 2.85E+04 | 2.15E+04 | 4.00E+04 | 3.00E+04  |
| 33   | 4.30E+04 | 3.60E+04 | 4.40E+04 | 4.10E+04  |
| 39   | 1.60E+05 | 8.00E+04 | 1.50E+05 | 1.30E+05  |
| 46   | 9.80E+05 | 7.20E+05 | 1.30E+06 | 1.00E+06  |
| 53   | 1.25E+06 | 7.00E+05 | 1.35E+06 | 1.10E+06  |
| 60   | 6.10E+05 | 4.70E+05 | 6.30E+05 | 5.70E+05  |
| 67   | 1.32E+06 | 1.07E+06 | 1.51E+06 | 1.30E+06  |

## Annexe 6

### Concentration de C10, C12, C14, C16 et C18

| jours | C10mg/l  | C12mg/l  | C14mg/l |
|-------|----------|----------|---------|
| 0     | 7.17     | 7.39     | 40.235  |
| 2     | 5.026    | 6.48     | 32.375  |
| 4     | 3.42     | 5.6      | 19.144  |
| 6     | 2.27     | 4.74     | 9.232   |
| 8     | 1.49     | 3.92     | 2.638   |
| 10    | 0.99     | 3.12     | 0.585   |
| 14    | 0.49     | 1.62     | 0       |
| 16    | 0.31     | 0.9      | 3.6     |
| 19    | 0        | 0        | 6       |
| 26    | 2.736    | 6.966    | 5.4     |
| 33    | 2.88     | 1.032    | 7       |
| 39    | 2.088    | 1.548    | 0       |
| 46    | 4.032    | 1.204    |         |
| 53    | 0.72     | 0.688    |         |
|       |          | 1.634    |         |
|       |          |          |         |
| jours | C16 mg/l | C18 mg/l |         |
| 0     | 308.84   | 730.27   |         |
| 2     | 260.022  | 623.21   |         |
| 4     | 174.57   | 524.23   |         |
| 6     | 137.93   | 433.33   |         |
| 8     | 105.36   | 350.51   |         |
| 10    | 52.39    | 275.78   |         |
| 14    | 32       | 150.54   |         |
| 16    | 15.67    | 100.05   |         |
| 19    | 9.027    | 57.64    |         |
| 26    | 0        | 0        |         |

## Annexe 7

Disparition de C10, C12, C14 à 25°C

| jours | [C10] mg/l |
|-------|------------|
| 0     | 7.3155     |
| 2     | 6.6935     |
| 4     | 6.0715     |
| 6     | 5.4495     |
| 8     | 4.8275     |
| 10    | 4.2055     |
| 12    | 3.5835     |
| 14    | 2.9615     |
| 16    | 2.3395     |
| 18    | 1.7175     |
| 19    | 1.4065     |
| jours | [C12] mg/l |
| 0     | 7.3221     |
| 2     | 7.1417     |
| 4     | 6.9789     |
| 6     | 6.8337     |
| 8     | 6.7061     |
| 10    | 6.5961     |
| 12    | 6.5037     |
| 14    | 6.4289     |
| jours | [C14] mg/l |
| 0     | 391.87     |
| 2     | 384.8206   |
| 4     | 378.3392   |
| 6     | 372.4258   |
| 8     | 367.0804   |
| 10    | 362.303    |
| 12    | 358.0936   |
| 14    | 354.4522   |
| 16    | 351.3788   |
| 18    | 348.8734   |
| 19    | 347.8337   |

## Annexe 8

Concentration de C10, C12 et C14 et vitesse de biodégradation à 25°C

| <b>[C10] mg/l</b> | <b>rs mg/l.j</b> |
|-------------------|------------------|
| 7.3155            | 0.311            |
| 6.6935            | 0.311            |
| 6.0715            | 0.311            |
| 5.4495            | 0.311            |
| 4.8275            | 0.311            |
| 4.2055            | 0.311            |
| 3.5835            | 0.311            |
| 2.9615            | 0.311            |
| 2.3395            | 0.311            |
| 1.7175            | 0.311            |
| 1.4065            | 0.311            |
| <b>[C12] mg/l</b> | <b>rs mg/l.j</b> |
| 7.3221            | 0.0946           |
| 7.1417            | 0.0858           |
| 6.9789            | 0.077            |
| 6.8337            | 0.0682           |
| 6.7061            | 0.0594           |
| 6.5961            | 0.0506           |
| 6.5037            | 0.0418           |
| 6.4289            | 0.033            |
|                   |                  |
| <b>[C14] mg/l</b> | <b>rs mg/l/j</b> |
| 391.87            | 3.6667           |
| 384.8206          | 3.3827           |
| 378.3392          | 3.0987           |
| 372.4258          | 2.8147           |
| 367.0804          | 2.5307           |
| 362.303           | 2.2467           |
| 358.0936          | 1.9627           |
| 354.4522          | 1.6787           |
| 351.3788          | 1.3947           |
| 348.8734          | 1.1107           |
| 347.8337          | 0.9687           |

## Annexe 9

Concentrations de C10, C12, C14, C16 et C18 et vitesse de biodégradation à 35°C

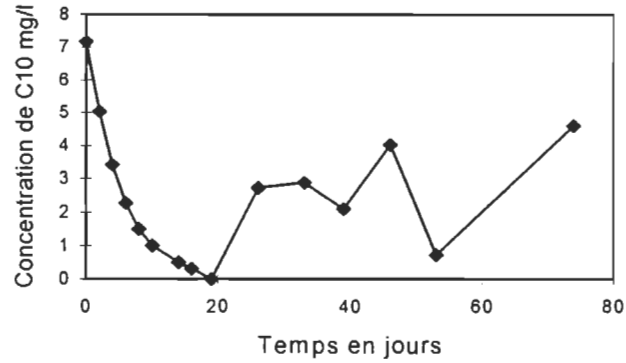
| <b>[C10] mg/l</b> | <b>Rs mg/l.j</b> | <b>Rx mgC10/mgUFC.j</b>  |
|-------------------|------------------|--------------------------|
| 7.17              | 1.22             | 0.00257                  |
| 5.026             | 0.93             | 0.00188                  |
| 3.42              | 0.68             | 0.00136                  |
| 2.27              | 0.47             | 0.00094                  |
| 1.49              | 0.313            | 0.00062                  |
| 0.99              | 0.149            | 0.00038                  |
| 0.49              | 0.0852           | 0.000169                 |
| 0.31              | 0.0956           | 0.00019                  |
| 0                 | 0                | 0                        |
| <b>[C12] mg/l</b> | <b>Rs mg/l.j</b> | <b>Rx mgC12/mg UFC.j</b> |
| 7.39              | 0.451            | 0.00094                  |
| 6.48              | 0.437            | 0.00088                  |
| 5.60              | 0.423            | 0.00084                  |
| 4.74              | 0.40             | 0.00081                  |
| 3.92              | 0.395            | 0.00078                  |
| 3.12              | 0.381            | 0.00075                  |
| 1.62              | 0.353            | 0.00070                  |
| 0.90              | 0.339            | 0.00067                  |
| 0                 | 0                | 0                        |
| <b>[C14] mg/l</b> | <b>Rs mg/l.j</b> | <b>Rx mgC14/mg UFC.j</b> |
| 40.235            | 4.137            | 0.00870                  |
| 32.375            | 3.725            | 0.00754                  |
| 25.345            | 3.307            | 0.00662                  |
| 19.144            | 2.892            | 0.00576                  |
| 13.773            | 2.478            | 0.00493                  |
| 9.232             | 2.063            | 0.00410                  |
| 2.638             | 1.233            | 0.00245                  |
| 0.585             | 0.818            | 0.00163                  |
| 0                 | 0                | 0                        |

| <b>[C16] mg/l</b> | <b>Rs mg/l.j</b> | <b>Rsx mgC16/mg UFC.j</b> |
|-------------------|------------------|---------------------------|
| 308.84            | 25.42            | 0.0535                    |
| 260.022           | 23.39            | 0.0474                    |
| 174.57            | 21.36            | 0.0427                    |
| 137.93            | 19.33            | 0.0385                    |
| 105.36            | 17.30            | 0.0344                    |
| 52.39             | 15.27            | 0.0303                    |
| 32.00             | 11.21            | 0.0222                    |
| 15.67             | 9.18             | 0.0182                    |
| 9.027             | 6.13             | 0.0122                    |
| 0                 | 0                | 0                         |
| <b>[C18] mg/l</b> | <b>Rs mg/l.j</b> | <b>Rsx mgC18/mg UFC.j</b> |
| 730.27            | 55.55            | 0.1169                    |
| 623.21            | 51.50            | 0.1043                    |
| 524.23            | 47.46            | 0.0950                    |
| 433.33            | 43.43            | 0.0866                    |
| 350.51            | 39.38            | 0.784                     |
| 275.78            | 35.34            | 0.0703                    |
| 150.54            | 27.26            | 0.0542                    |
| 100.05            | 23.23            | 0.0462                    |
| 57.64             | 19.18            | 0.0381                    |
| 0                 | 0                | 0                         |

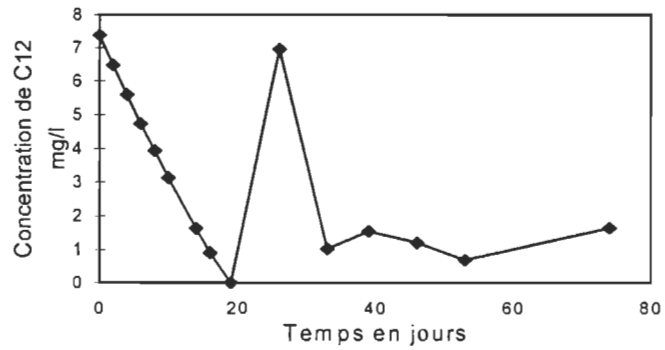
## Annexe 10

### Disparition et réapparition de C10, C12 et C14 à 35°C

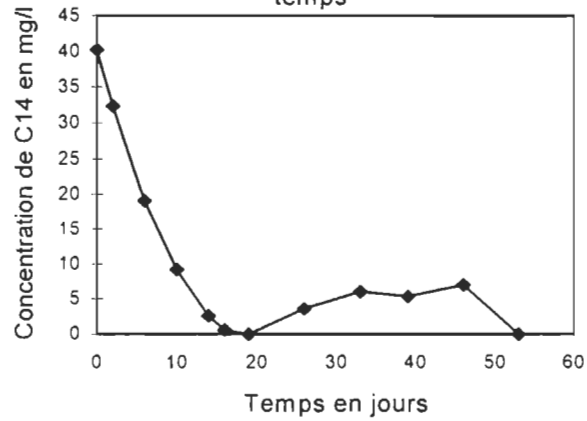
Disparition et réapparition de C10 en fonction du temps



Disparition et réapparition de C12 en fonction du temps



Disparition et réapparition de C14 en fonction du temps





## Annexe11

### Calculs et coûts d'équipement de l'unité pilote

#### Coût du réservoir

Un bassin de diamètre ( $d = 5\text{m}$ ) et de hauteur ( $H = 15\text{ m}$ )

Volume =  $3.14 (d^2/4) h$  soit un  $V=295\text{ m}^3$

a coûté en 1989 , 210 000\$ ( main d'oeuvre, installation et taxes incluses)

Tout en assumant une inflation de 15% pour ce type de matériaux, cette capacité du réservoir coûterait 1997:

$$F = P \cdot (1 + 0.15)^n$$

Où F: Prix du réservoir en 1997

P: Prix du réservoir en 1989

n: Nombre d'année

$$F = 210\,000\$ \cdot (1 + 0.15)^8 = 210\,000 \cdot 3.06$$

$$F = 642\,600 \$$$

À partir de ces données (prix du réservoir, le volume), le coût d'un autre réservoir sera estimé:

$$(\text{coût}_2 / \text{coût}_1) = (\text{capacité}_2 / \text{capacité}_1)^R$$

$$(C_2 / C_1) = (V_2 / V_1)^R \text{ ou } C_2 \text{ est l'inconnu et } R \text{ le facteur d'estimation des coûts}$$

spécifique pour une multitude d'équipement  $R = 0.60$

Pour un réservoir de stockage d'une capacité de  $500\text{ m}^3$  le coût sera de 881 921\$

Pour un réservoir de stockage d'une capacité de  $240\text{ m}^3$  le coût sera de 567772.37\$

Pour un réservoir de vidange d'une capacité de  $100 \text{ m}^3$  le coût sera de 335460.83\$

### **Coûts du bioréacteur**

Pour un volume d'une capacité de  $450 \text{ m}^3$  le coût s'élève à 1.5 millions de dollars canadien. Il permet le traitement d'environ 6 tonne DCO/j.

Le salaire du technicien est de 30,000 \$/an.

### **Pompe centrifuge:**

Le prix d'une pompe centrifuge en stainless-Steel fournissant un débit de  $100 \text{ m}^3/\text{j}$  (moteur 5 hp) = 5000\$ (taxes incluses) en 1992, soit 10 056.78\$  $(5000 * (1 + 0.15)^5)$  en 1997.

### **Décanteur lamellaire**

L'investissement nécessaire à la mise sur pied d'une unité de traitement varie entre 750\$ et 2500 le  $\text{m}^3$  d'eau à traiter.

Le traitement de  $100 \text{ m}^3$  d'eau serait calculé comme suit

Connaissant le coût pour  $1 \text{ m}^3$  et le volume à traiter et supposant un facteur d'estimation de  $(R=0.60)$ . Le coût pour le traitement de  $100 \text{ m}^3$  est de 11886.69 \$

### **Coût d'électricité**

#### **Pompes centrifuge**

Prix du moteur =  $5 \text{ hp} * 0.7457 \text{ kw/hp} * 720 \text{ h/30j année} * 0.07 \text{ \$/kw-h} = 187.9 \text{ \$/30 jours/année}$

pour 2 pompes le prix annuel d'électricité est de 375.8 \$

## Énergie de chauffage de l'eau

Pour cela il faut déterminer la quantité de chaleur fournie

$$Q = (m_{\text{eau}} \cdot C_{\text{peau}} + m_{\text{hu}} \cdot C_{\text{phu}})(T_{35} - T_m)$$

$C_{\text{phu}} = (1.685 + 0.0039 \cdot T) / S$  (Cette équation est valide entre 0 et 205°C et la précision varie entre 2 et 4%)

Q: quantité de chaleur (Kj)

S: densité relative à 15°C

$m_{\text{eau}}$ : masse de l'eau utilisée (kg)

$m_{\text{hu}}$ : masse de l'huile usée (kg)

$C_{\text{peau}}$ : chaleur spécifique de l'eau (Kj/kg.°C)

$C_{\text{phu}}$ : chaleur spécifique de l'huile usée (Kj/kg.°C)

$T_{35}$ : température à 35°C

$T_m$ : température moyenne quotidienne : 5°C

### Applications numériques:

$m_{\text{eau}}$ : 360 000 kg

$m_{\text{hu}}$ : 40 000 kg

$C_{\text{peau}}$ : 4.1784 Kj/kg.°C

$C_{\text{phu}}$ : 1.937 Kj/kg.°C

$T_{35}$ : 35°C

$T_m$ : 5°C

La masse de l'huile de coupe représente 10% de la masse du liquide dans le bioréacteur

$$Q=(360*4.1784+36*1.937)(35-5)*E+03$$

$$Q=47218680 \text{ Kj}$$

#### Conversion en Kwh:

$$1\text{Kwh}=3600 \text{ Kj}$$

$$W=13116.3 \text{ Kwh soit } 1.577 \text{ kwh/jour/tonne}$$

le coût d'électricité est de 0.11\$ /j/t(0.07\$\*1.577)

Coût annuel: 5508.72\$

#### **Coût du transport.**

Selon (**SANI MOBILE à Trois-Rivières**) le prix pour le transport de l'huile usée peut se chiffrer à 60\$/heure pour un volume transporté de 3300 gal et 80\$/heure pour un (maximum transporté 7500 gal). (1gallon égale à 4.546litres) (34095litres=34.059 m<sup>3</sup>.).

Tout en supposant que la durée du transport est de une heure 432 tonnes d'huile de coupe usées coûte raient 1900 dollars.

#### Calcul

#### Cas de composés organiques de 10 atomes de carbone

#### **Caracteristiques propres du réacteur**

Capacité du réacteur = Concentration du substrat / vitesse de disparition du substrat

Concentration de C10=7.17 mg/l ou 7.96 mg/kg huile (densité huile lubrifiant: 0.9kg/dm<sup>3</sup>)

vitesse de disparition C10=1.79 mg/l.j

Capacité du réacteur= 7.96/1.79 soit 4.5 L / kg HC = 4.5 m<sup>3</sup> / tonne HC

Il faut un volume de réacteur de 4.5 m<sup>3</sup> pour traiter 1tonne d'huile de coupe usée  
donc un volume de 100 tonne peut être traité dans un bioréacteur de 450 m<sup>3</sup>.

Tableau. Volume du réacteur nécessaire pour le traitement d'un composé organique donné.

| Composé organique | Volume réacteur m <sup>3</sup> | Concentration mg/kg | Vitesse de dégradation mg/l |
|-------------------|--------------------------------|---------------------|-----------------------------|
| C10               | 4.5                            | 7.96                | 1.79                        |
| C12               | 18.6                           | 8.2                 | 0.44                        |
| C14               | 9.9                            | 44.7                | 4.49                        |
| C16               | 11.73                          | 343.15              | 29.25                       |
| C18               | 13.26                          | 811.41              | 61.17                       |

Calcul de la biomasse PS de digestat nécessaire à la biodégradation de Composés organiques

Cas de C10:

Biomasse nécessaire pour enlever une concentration de C10 est:

Concentration de C10/ vitesse de transformation mg C10/mg biomasse.j

7.96 mg de C10/1kg HC/0.00526 mg C10/mg biomasse/j= 1.5 kg/ tonne HC

Tableau. Biomasse de digesteur nécessaire à l'enlèvement d'un composé organique donné.

| Composé organique | Vitesse de transformation<br>mg S /mg biomasse.j | Concentration<br>mg/kg | Biomasse de digesteur<br>PS kg/t |
|-------------------|--|------------------------|----------------------------------|
| C10               | 0.00526  | 7.96                   | 1.5 kg /t HC                     |
| C12               | 0.000906   | 8.2                    | 9 kg /t HC                       |
| C14               | 0.01134  | 44.7                   | 3.9 kg /t HC                     |
| C16               | 0.0549   | 343.15                 | 6.3 kg /t HC                     |
| C18               | 0.1426   | 811.41                 | 6.4 kg /t HC                     |

## Transport

Le transport de 15001.8 litre d'huile usée coûterait 60\$/heure

conversion en kg:

Densité huile lubrifiant:  $0.9\text{kg/dm}^3$  soit une masse de  $(0.9 \times 15001.8) = 13501.62\text{ kg}$

(60\$/h)

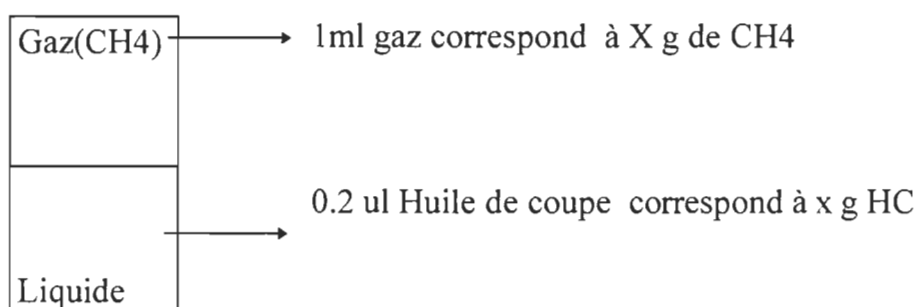
### Calcul de la concentration d'un composé organique donné

Densité huile lubrifiant:  $0.9 \text{ kg/dm}^3$

1 litre d'huile lubrifiant égal à 0.9 kg Huile lubrifiant

(C10)= 7.17 mg C10/litre HC alors dans 1kg huile il y a 7.96 mg C10

### Calcul de la production de méthane



$$\%CH_4 = X \text{ g}(CH_4) / x \text{ g} (HC) + y \text{ g} (gaz)$$

X (CH<sub>4</sub>)= 7.03 nmole/ jour=112.5 ng/jour

X (huile de coupe) est égale à la somme des composés présent dans l'huile de coupe.

| Composé | Nombre de mole nmole | Masse gramme E-08 |
|---------|----------------------|-------------------|
| C10     | 0.0101               | 0.105             |
| C12     | 0.0086               | 1.148             |
| C14     | 0.0397               | 7.9               |
| C16     | 0.25                 | 5.7               |
| C18     | 0.525                | 13.4              |
| C20     | 0.78                 | 2.4               |
| C22     | 0.0285               | 0.9               |
| C24     | 0.024                | 0.82              |

Masse (HC)=  $33.1 \times 10^{-8}$  g

Y gaz=  $N(\text{gaz}) \cdot M(\text{CO}_2) + N(\text{gaz}) \cdot M(\text{CH}_4)$  avec M: masse molaire

Nombre de mole de gaz:  $N(\text{gaz}) = \frac{P \cdot V}{R \cdot T}$

$N_{\text{gaz}} = 1 \text{ atm} \cdot 1 \times 10^{-3} \text{ l} / (0.08206 (\text{l} \cdot \text{atm} / \text{mol} \cdot \text{K}) \cdot 300 \text{ K})$

$N_{\text{gaz}} = 0.04 \times 10^{-3}$  mole

Y gaz=  $1.76 + 0.64 = 2.4$  mg

$\% \text{CH}_4 = (112.5 \text{ ng/j} / 2.4 \text{ mg}) \cdot 100 = 4680 \text{ ng/mg(HC)}$

$\% \text{CH}_4 = 4.68 \text{ kg CH}_4 / \text{tonne d'huile de coupe}$

$\% \text{CH}_4 = 2.02$  tonne annuellement

la combustion de 1 g de  $\text{CH}_4$  fourni 11.95 calorie

4.68 kg de  $\text{CH}_4$  fourni 55.9 kcalorie 0.065 kwh

2.02 t fourni 24139 kcalorie soit 28 kwh

Source d'information Pour le prix du bioréacteur à plateaux:

Katherine Mollegan

Société de recherche SNC inc

2, Place Félix-martin

Montréal, Québec, H2Z 1Z3

Téléphone : (514) 866-6635

Télécopieur: (514) 866-0600

Source d'information pour le décanteur lamellaire à courants croisés

M.Francois Séguin, directeur commercial

12260, rue Green lane

Montréal, Québec, H4K 2C3

Téléphone : (514) 745-9050

Télécopieur: (514) 745-9427