

Titre: Biofiltration en phase gazeuse du trichloroéthylène sous conditions méthanotropes
Title: methanotrophs

Auteur: Chantal Lafontaine
Author:

Date: 1998

Type: Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis

Référence: Lafontaine, C. (1998). Biofiltration en phase gazeuse du trichloroéthylène sous conditions méthanotropes [Mémoire de maîtrise, École Polytechnique de Montréal]. PolyPublie. <https://publications.polymtl.ca/6902/>
Citation:

Document en libre accès dans PolyPublie

Open Access document in PolyPublie

URL de PolyPublie: <https://publications.polymtl.ca/6902/>
PolyPublie URL:

Directeurs de recherche: Bruce A. Ramsay
Advisors:

Programme: Non spécifié
Program:

UML

This reproduction is the best copy available

NOTE TO USERS

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

BIOFILTRATION EN PHASE GAZEUSE DU TRICHLOROÉTHYLÈNE SOUS
CONDITIONS MÉTHANOTROPHES

CHANTAL LAFONTAINE

DÉPARTEMENT DE GÉNIE CHIMIQUE

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

MÉMOIRE PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLÔME DE MAÎTRISE ÈS SCIENCES APPLIQUÉES
(GÉNIE CHIMIQUE)

MAI 1998



National Library
of Canada

Acquisitions and
Bibliographic Services

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Bibliothèque nationale
du Canada

Acquisitions et
services bibliographiques

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file Votre référence

Our file Notre référence

The author has granted a non-exclusive licence allowing the National Library of Canada to reproduce, loan, distribute or sell copies of this thesis in microform, paper or electronic formats.

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque nationale du Canada de reproduire, prêter, distribuer ou vendre des copies de cette thèse sous la forme de microfiche/film, de reproduction sur papier ou sur format électronique.

The author retains ownership of the copyright in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur qui protège cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

0-612-38687-2

Canada

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Ce mémoire intitulé:

BIOFILTRATION EN PHASE GAZEUSE DU TRICHLOROÉTHYLÈNE SOUS
CONDITIONS MÉTHANOTROPHES

présenté par: LAFONTAINE Chantal

en vue de l'obtention du diplôme de: Maîtrise ès sciences appliquées

a été dûment accepté par le jury d'examen constitué de:

M. GUY Christophe, Ph.D., président

M. RAMSAY Bruce, Ph.D., membre et directeur de recherche

M. COMEAU Yves, Ph.D., membre

Remerciements

La réalisation de ce mémoire n'aurait pu être possible sans le soutien et la générosité de plusieurs personnes. Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur, M. Bruce Ramsay, pour sa grande disponibilité, pour la pertinence de ses conseils et pour la confiance qu'il a investie en moi au cours de ce projet. Je tiens aussi à exprimer ma gratitude envers Marie-Claire Aly-Hassan pour son support technique au laboratoire et pour ses encouragements qui m'ont permis de garder le moral. Je remercie M. Dimitar Karamanev pour son apport scientifique sur les réacteurs.

Je remercie particulièrement Yanick pour ses nombreux conseils judicieux et pour ses notions concernant la biofiltration. Je remercie Stéphane, qui a ouvert les portes sur le domaine des méthanolotrophes à Polytechnique, pour son soutien continu et pour ses encouragements. Je remercie aussi Alexandre et Andréas pour leur partage d'idées et pour leur support moral.

Je désire aussi remercier les techniciens Gino Robin et Jean Huard qui m'ont fourni l'équipement nécessaire à la réalisation de mon projet.

Je remercie également les partenaires de la Chaire industrielle CRSNG sur les bioprocédés d'assainissement des sites pour leur soutien financier grandement apprécié.

Finalement, je tiens à remercier ma famille qui m'a soutenue tout au long de ces deux années.

Résumé

Le trichloroéthylène (TCE) est fréquemment retrouvé dans les eaux souterraines contaminées aux hydrocarbures chlorés. L'enzyme méthane mono-oxygénase (MMO), produite par les méthanotrophes, sous sa forme soluble (MMOs) oxyde le méthane et une variété de substances organochlorées dont le TCE à des taux plus rapides que sous sa forme particulaire (MMOp). La biofiltration est de plus en plus employée pour traiter de grands volumes de gaz avec de faibles concentrations de contaminants. L'objectif principal de ce projet était de vérifier que la biofiltration méthanotrophe du TCE en phase gazeuse était faisable, de concevoir et de construire un biofiltre et d'étudier le comportement du biofiltre.

Des essais de minéralisation en microcosmes ont démontré que le consortium méthanotrophe provenant d'un sol indigène avait la capacité de dégrader le TCE en phase gazeuse à un taux initial de dégradation de $5 \text{ mg TCE (kg sol sec)}^{-1} \text{ d}^{-1}$ pour une concentration gazeuse de TCE de $2,44 \text{ mg L}^{-1}$ et une concentration de CH_4 de 50 % v/v. La biodégradation du TCE en phase gazeuse a été observée même sans l'ajout de CH_4 probablement due à l'utilisation du PHB comme source d'énergie ou à une dégradation sous conditions anaérobies dans les microcosmes.

L'enrichissement méthanotrophe, par une exposition au CH₄, du compost et de la tourbe préalablement inoculés avec un consortium méthanotrophe a démontré que l'enrichissement augmentait la capacité de biodégradation du TCE. Le compost enrichi a dégradé 90,5 % du TCE injecté à un taux initial de dégradation de 4,76 mg TCE (kg compost sec)⁻¹ d⁻¹. La tourbe enrichie ne dégradait pas le TCE de façon significative donc le compost a été choisi pour les travaux futurs. La minéralisation du TCE et le taux de dégradation du TCE ont diminué avec une hausse de la concentration initiale de CH₄. Le gaz naturel peut être un substitut adéquat pour le remplacement du CH₄ pur lors de l'enrichissement des méthanotrophes. L'utilisation d'un inoculum solide, plutôt qu'une suspension aqueuse de cellules, pour le démarrage d'un biofiltre a réduit le temps nécessaire pour atteindre le taux maximal de dégradation du TCE. Le CH₄ n'était pas adsorbé par le milieu filtrant. Pour des concentrations de TCE variant entre 1 et 30 mg L⁻¹, le TCE a été adsorbé sur le milieu filtrant avec un coefficient de 9,53 g TCE m³ air (g TCE m³ milieu filtrant)⁻¹. Des essais de minéralisation ont démontré que les cellules des bactéries méthanotrophes étaient endommagées suite à une exposition au TCE durant un mois.

Un biofiltre de 0,097 m de diamètre comportant trois sections de 0,5 m chacune a été utilisé pour les essais de biofiltration. Le milieu filtrant était composé de compost et de perlite (50 % v/v). Des essais de biofiltration ont démontré que la relation entre le taux de dégradation du TCE et la concentration de TCE à l'entrée du biofiltre était linéaire. La concentration de TCE variait entre 0,06 et 23 mg L⁻¹. La concentration de CH₄ à l'entrée

du biofiltre était maintenue relativement constante à 4 % v/v et le débit gazeux était de $2,3 \text{ L min}^{-1}$. Des taux de dégradation du TCE jusqu'à $233 \text{ g TCE m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ ont été atteints et des taux de consommation du CH_4 allant jusqu'à $1230 \text{ g CH}_4 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ ont été obtenus. Pour des concentrations initiales de CH_4 inférieures à 1,1 % v/v, le phénomène de compétition entre le CH_4 et le TCE était presqu'inexistant. La dégradation du TCE s'effectuait surtout dans les premiers 0,5 m du biofiltre malgré que les trois étages possédaient un potentiel microbiologique similaire pour la consommation du CH_4 et pour la dégradation du TCE. Le taux de dégradation du TCE en fonction de la concentration initiale de TCE a pu être approximé par une équation semblable au modèle de Monod où le taux global de dégradation du TCE maximal était de $0,65 \text{ mol TCE m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ et la constante de saturation était égale à $0,036 \text{ mmol TCE L}^{-1}$.

La biofiltration méthanotrophe est possible. Cependant, le comportement du biofiltre nécessite une caractérisation supplémentaire et une optimisation des paramètres (concentration de CH_4 à l'entrée du biofiltre, débit gazeux, hauteur du biofiltre) avant d'être utilisé à l'échelle pilote.

Abstract

Trichloroethylene (TCE) is frequently found in groundwater contaminated with chlorinated hydrocarbons. The enzyme methane monooxygenase, produced by methanotrophs, in its soluble form (sMMO) oxidizes methane and a wide variety of halogenated compounds such as TCE at a faster rate than its particulate form (pMMO). Biofiltration is now widely used to treat large volumes of gas with low contaminant concentrations. The main goal of this project was to verify that methanotrophic biofiltration of gaseous TCE is feasible, design and build a biofilter and to study its behavior.

Microcosms mineralization assays showed that the methanotrophic consortium in the indigenous soil could degrade TCE at an initial rate of $5 \text{ mg TCE (kg dry soil)}^{-1} \text{ d}^{-1}$ for a TCE concentration of $2,44 \text{ mg L}^{-1}$ and a CH_4 concentration of 50 % v/v. The biodegradation of gaseous TCE was observed even without the addition of CH_4 probably using PHB as the energy source or as a result of anaerobic degradation in the microcosms.

Methanotroph enrichment, by exposure to CH_4 , of compost and peat previously inoculated with a methanotrophic consortium, showed that enrichment increased TCE biodegradation capability. Enriched compost degraded 90,5 % of the TCE supplied at an intial rate of $4,76 \text{ mg TCE (kg dry compost)}^{-1} \text{ d}^{-1}$. Enriched inoculated peat did not degrade significant amounts of TCE so compost was chosen for further work. TCE

mineralization and TCE degradation rate were found to decrease with an increase of the initial CH₄ concentration. Natural gas proved to be a suitable replacement for pure CH₄ during methanotroph enrichment. The use of a solid-state inoculum as opposed to an aqueous suspension of cells to start-up a biofilter was shown to reduce the time required to reach the maximal degradation rate. CH₄ was not adsorbed by the biofilter bed. For TCE concentrations between 1 and 30 mg L⁻¹, TCE was adsorbed with a coefficient of 9,53 g TCE m³ air (g TCE m³ biofilter bed)⁻¹. Mineralization assays showed that methanotrophs cells were damaged after a one month exposure to TCE.

A biofilter with a diameter of 0,097 m and three sections, each of 0,5 m in height, was used for the biofiltration assays. The biofilter bed was composed of compost and perlite (50 % w/w). Biofiltration experiments showed that there was a linear relationship between TCE degradation rate and TCE concentration at the biofilter inlet. TCE inlet concentrations were varied from 0,06 and 23 mg L⁻¹. The inlet CH₄ concentration was relatively constant at 4 % v/v and the gaseous flow was 2,3 L min⁻¹. TCE degradation rates of up to 233 g TCE m⁻³ h⁻¹ and CH₄ consumption rates of up to 1230 g CH₄ m⁻³ h⁻¹ were obtained. At initial CH₄ concentrations lower than 1,1 % v/v, the competition between CH₄ and TCE was almost nonexistent. TCE degradation occurred mostly in the first 0,5 m of the biofilter although each of the three stages had a similar ability to degrade TCE and CH₄. The relationship between TCE degradation rate and TCE inlet concentration could be approximated by an equation similar to Monod's model with a

maximal degradation rate of $0,65 \text{ mol TCE m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ and a saturation constant equal to $0,036 \text{ mmol TCE L}^{-1}$.

Methanotrophic TCE biofiltration is feasible but the behavior of the biofilter requires further characterization and an optimization of the parameters (biofilter inlet CH_4 concentration, gaseous flow, biofilter height) before being used on a pilot scale.

Table des matières

| | |
|--|-------------|
| REMERCIEMENTS | IV |
| RÉSUMÉ | V |
| ABSTRACT..... | VIII |
| TABLE DES MATIÈRES..... | XI |
| LISTE DES TABLEAUX..... | XV |
| LISTE DES FIGURES..... | XVII |
| LISTE DES ANNEXES..... | XX |
| LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS..... | XXI |
| CHAPITRE 1 - INTRODUCTION..... | 1 |
| 1.1 PROBLÉMATIQUE | 1 |
| 1.2 HYPOTHÈSE DE RECHERCHE..... | 3 |
| 1.3 OBJECTIFS | 4 |
| CHAPITRE 2 - REVUE DE LITTÉRATURE | 5 |
| 2.1 LES SOLVANTS CHLORÉS..... | 5 |
| 2.1.1 <i>Le trichloroéthylène</i> | 7 |
| 2.1.1.1 Les propriétés physico-chimiques du TCE..... | 7 |
| 2.1.1.2 Toxicité du TCE | 9 |

| | |
|--|-----------|
| 2.1.1.3 Les normes pour le TCE | 10 |
| 2.2 LES MÉTHANOTROPHES | 12 |
| 2.2.1 <i>Oxydation du méthane par les méthanolotrophes.....</i> | 13 |
| 2.2.2 <i>La méthane mono-oxygénase</i> | 15 |
| 2.2.3 <i>Facteurs influençant la croissance des méthanolotrophes et l'activité de la MMOs.....</i> | 16 |
| 2.3 BIODÉGRADATION DU TCE..... | 18 |
| 2.3.1 <i>Mécanismes de biodégradation du TCE.....</i> | 21 |
| 2.4 BIOFILTRATION..... | 24 |
| 2.4.1 <i>Historique</i> | 26 |
| 2.4.2 <i>Principes généraux de la biofiltration</i> | 27 |
| 2.4.3 <i>Paramètres de conception et d'opération</i> | 31 |
| 2.4.3.1 Sélection du milieu filtrant | 31 |
| 2.4.3.2 Teneur en eau..... | 32 |
| 2.4.3.3 pH..... | 33 |
| 2.4.3.4 Température..... | 33 |
| 2.4.3.5 Nutriments | 34 |
| 2.4.3.6 Acclimatation | 34 |
| 2.4.3.7 Micro-organismes..... | 35 |
| 2.5 TRAITEMENT DU TCE GAZEUX | 36 |
| CHAPITRE 3 - MATÉRIEL ET MÉTHODES | 40 |
| 3.1 MATÉRIEL | 40 |
| 3.2 PRÉPARATION DE MILIEU | 41 |
| 3.2.1 <i>Milieu faible en sel de nitrate.....</i> | 41 |
| 3.2.2 <i>Milieu nutritif.....</i> | 41 |
| 3.3 ENRICHISSEMENT DES BACTÉRIES MÉTHANOTROPHES | 42 |

| | |
|--|-----------|
| 3.3.1 Enrichissement en milieu liquide | 42 |
| 3.3.2 Enrichissement en milieu solide..... | 42 |
| 3.4 BIOFILTRE | 45 |
| 3.4.1. Échantillonnage du CH ₄ et du TCE à l'entrée et à la sortie du biofiltre..... | 47 |
| 3.5 ESSAIS DE MINÉRALISATION..... | 47 |
| 3.5.1 Préparation des microcosmes..... | 47 |
| 3.5.2 Échantillonnage des microcosmes | 49 |
| 3.6 MÉTHODES ANALYTIQUES | 50 |
| 3.6.1 Analyse du CH ₄ | 50 |
| 3.6.2 Analyse du TCE..... | 51 |
| 3.7 SORPTION SUR LE MILIEU FILTRANT..... | 53 |
| 3.7.1 Sorption du TCE et du CH ₄ | 53 |
| CHAPITRE 4 - RÉSULTATS ET ANALYSE | 55 |
| 4.1 DÉGRADATION DU TCE EN PHASE GAZEUSE | 55 |
| 4.2 EFFET DE PARAMÈTRES CLÉS SUR LA DÉGRADATION DU TCE DANS UN SYSTÈME GAZ-SOLIDE MÉTHANOTROPHE | 59 |
| 4.2.1 Enrichissement des méthanotrophes | 59 |
| 4.2.2 Effet de la concentration du CH ₄ sur la dégradation du TCE..... | 62 |
| 4.2.3 Effet de la concentration initiale de TCE sur la dégradation du TCE | 64 |
| 4.2.4 Effet du remplacement du CH ₄ par du gaz naturel sur la dégradation du TCE..... | 66 |
| 4.2.5 Effet du temps d'enrichissement des méthanotrophes et de l'inoculum sur la dégradation du TCE | 69 |
| 4.3 CHOIX D'UN MILIEU FILTRANT | 72 |
| 4.4 ESSAIS DE BIOFILTRATION | 72 |
| 4.5 SORPTION..... | 75 |

| | |
|---|------------|
| 4.5.1 Sorption du CH ₄ | 75 |
| 4.5.2 Sorption du TCE..... | 75 |
| 4.6 EFFET DU TRICHLOROÉTHYLÈNE SUR LES CELLULES DES MÉTHANOTROPHES DANS LE BIOFILTRE | 76 |
| 4.7 EFFET DE LA VARIATION DE LA CONCENTRATION INITIALE DE CH ₄ ET DE TCE SUR LA DÉGRADATION DU TCE ET LA CONSOMMATION DU CH ₄ EN FONCTION DE LA HAUTEUR DU BIOFILTRE | 79 |
| 4.7.1 Variation de la concentration initiale de CH ₄ | 79 |
| 4.7.2 Variation de la concentration initiale de TCE | 90 |
| 4.7.3 Potentiel microbiologique de chaque étage du biofiltre pour la consommation de CH ₄ et pour la dégradation du TCE..... | 101 |
| 4.7.4 Principales observations et discussion des essais de variations de paramètres en fonction de la hauteur | 103 |
| 4.8 POSSIBILITÉ D'UTILISATION DU BIOFILTRE MÉTHANOTROPHE À L'ÉCHELLE PILOTE | 106 |
| CHAPITRE 5 - CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS | 111 |
| 5.1 CONCLUSIONS..... | 111 |
| 5.2 RECOMMANDATIONS | 114 |
| RÉFÉRENCES | 117 |
| ANNEXES | 134 |

Liste des tableaux

| | |
|---|-----|
| Tableau 2.1 : Principaux composés retrouvés dans les eaux souterraines contaminées de 479 sites de disposition de déchets..... | 6 |
| Tableau 2.2 : Propriétés physico-chimiques du TCE..... | 9 |
| Tableau 2.3 : Critères indicatifs pour le TCE selon la politique de réhabilitation des terrains contaminés..... | 11 |
| Tableau 4.1 : Dégradation du TCE en phase gazeuse par des sols indigènes contenant des méthanolotrophes..... | 56 |
| Tableau 4.2 : Effet de la concentration de CH ₄ sur la dégradation du TCE | 63 |
| Tableau 4.3 : Pourcentage maximal de dégradation et taux initial de dégradation du TCE en fonction de la concentration initiale de TCE dans les microcosmes | 65 |
| Tableau 4.4 : Résumé des conditions d'opération et des résultats obtenus lors des essais de biofiltration | 73 |
| Tableau 4.5 : Effet de la variation de la concentration initiale de CH ₄ sur des paramètres clés en fonction de la hauteur du biofiltre..... | 80 |
| Tableau 4.6 : Effet de la variation de la concentration initiale de TCE sur des paramètres clés en fonction de la hauteur du biofiltre..... | 91 |
| Tableau 4.7 : Résultats de consommation de CH ₄ et de dégradation du TCE pour les trois étages du biofiltre pris individuellement | 102 |
| Tableau E.1 : Masse pesée pour la préparation des étalons externes | 141 |
| Tableau E.2 : Temps de rétention des composants..... | 142 |

| | |
|--|-----|
| Tableau G.1 : Quantité d'O ₂ nécessaire pour effectuer la dégradation complète du CH ₄ et du TCE des microcosmes pour différentes concentrations de CH ₄ | 147 |
|--|-----|

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1.1 : Biorestauration des eaux contaminées au TCE, par les bactéries méthanolotrophes..... | 3 |
| Figure 2.1 : Structure chimique du TCE..... | 7 |
| Figure 2.2 : Étapes de l'oxydation du CH ₄ | 14 |
| Figure 2.3 : Différentes voies métaboliques pour la dégradation du TCE | 23 |
| Figure 2.4 : Mécanisme proposé pour la dégradation du TCE par les méthanolotrophes ... | 24 |
| Figure 2.5 : Modèle du biofilm pour la biofiltration | 29 |
| Figure 2.6 : Phénomènes rencontrés lors de la biofiltration | 30 |
| Figure 3.1 : Colonne d'enrichissement..... | 44 |
| Figure 3.2 : Procédé de biofiltration | 46 |
| Figure 3.3 : Représentation schématique d'un microcosme avec une matrice solide en contact avec du TCE en phase vapeur | 48 |
| Figure 4.1: Pourcentage de dégradation du TCE en phase gazeuse par les méthanolotrophes sans ajout de CH ₄ | 57 |
| Figure 4.2 : Pourcentage de dégradation du TCE en phase gazeuse par les méthanolotrophes avec un ajout de 50 % de CH ₄ dans les microcosmes | 58 |
| Figure 4.3 : Effet de l'enrichissement des méthanolotrophes sur la dégradation du TCE pour du compost et de la tourbe | 61 |
| Figure 4.4 : Effet de la concentration initiale de TCE sur le taux de dégradation du TCE en microcosmes..... | 66 |

| | |
|---|----|
| Figure 4.5 : Comparaison de l'effet du temps d'enrichissement au gaz naturel et du CH ₄ sur la dégradation du TCE en microcosmes | 69 |
| Figure 4.6 : Effet de l'inoculum et du temps d'enrichissement sur le taux de minéralisation initial du TCE en microcosme | 71 |
| Figure 4.7 : Taux d'enlèvement du TCE en fonction de la concentration de TCE à l'entrée du biofiltre de 1 m | 74 |
| Figure 4.8 : Isotherme d'adsorption du TCE par le milieu filtrant | 76 |
| Figure 4.9 : Comparaison du pourcentage global de dégradation du TCE pour différentes concentrations initiales de TCE pour des bactéries préalablement exposées au TCE et pour des bactéries non exposées | 77 |
| Figure 4.10 Comparaison du taux initial de dégradation du TCE pour différentes concentrations initiales de TCE pour des bactéries préalablement exposées au TCE et pour des bactéries non exposées | 78 |
| Figure 4.11 : Effet de la concentration initiale de CH ₄ sur le pourcentage de consommation de CH ₄ en fonction de la hauteur du biofiltre | 84 |
| Figure 4.12 : Effet de la concentration initiale de CH ₄ sur le taux global de consommation du CH ₄ | 86 |
| Figure 4.13 : Effet de la concentration initiale de CH ₄ sur le pourcentage de dégradation du TCE en fonction de la hauteur du biofiltre | 87 |
| Figure 4.14 : Effet de la concentration initiale de CH ₄ sur le taux global de dégradation du TCE | 88 |

| | |
|--|-----|
| Figure 4.15 : Effet de la concentration initiale de TCE sur le taux de dégradation du TCE lors de la variation de la concentration initiale de CH ₄ | 89 |
| Figure 4.16 : Effet de la variation de la concentration initiale de TCE sur le taux global de consommation du CH ₄ | 96 |
| Figure 4.17 : Effet de la concentration initiale de TCE sur le pourcentage de dégradation du TCE en fonction de la hauteur du biofiltre | 97 |
| Figure 4.18 : Taux de dégradation du TCE en fonction de la concentration de TCE à la sortie du biofiltre..... | 98 |
| Figure 4.19 : Traitement combiné bioréacteur et unité de biofiltration avec consortium méthananotrophe | 110 |
| Figure A.1 : Courbe de calibration du CH ₄ | 136 |
| Figure B.1 : Courbe de calibration du TCE..... | 136 |
| Figure E.1 : Courbe des étalons de PHB..... | 143 |
| Figure I.1 : Schéma représentatif des courants qui entrent et quittent chaque étage du biofiltre..... | 154 |

Liste des annexes

| | |
|---|------------|
| ANNEXE A ANALYSE DU CH₄ PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE | 135 |
| ANNEXE B ANALYSE DU TCE PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE | 137 |
| ANNEXE C TENEUR EN EAU D'UN SOL..... | 139 |
| ANNEXE D PH D'UN SOL OU DU MILIEU FILTRANT | 140 |
| ANNEXE E DÉTERMINATION DE LA QUANTITÉ DE PHB | 141 |
| ANNEXE F CALCUL DES INCERTITUDES..... | 145 |
| ANNEXE G CALCUL DE LA DEMANDE THÉORIQUE EN OXYGÈNE POUR LA CONSOMMATION DU CH₄ ET POUR LA DÉGRADATION DU TCE EN MICROCOsmES.... | 147 |
| ANNEXE H RÉSULTATS DES RÉGRESSIONS LINÉAIRES..... | 150 |
| ANNEXE I CALCUL DE LA QUANTITÉ D'OXYGÈNE À L'ENTRÉE ET À LA SORTIE DE CHACUN DES ÉTAGES DU BIOFILTRE | 154 |

Liste des sigles et abréviations

| | |
|------------------------|---|
| COV | Composé organique volatil |
| CPG | Chromatographe en phase gazeuse |
| C_{std} | Concentration du standard |
| 1,1-DCA | 1,1-dichloroéthane |
| 1,2-DCA | 1,2-dichloroéthane |
| 1,2-DCE | 1,2-dichloroéthène |
| dce | Détecteur de capture d'électrons |
| D.E. | Diamètre externe |
| D.I. | Diamètre interne |
| DIF | Détecteur d'ionisation de flamme |
| dpm | Désintégration par minute |
| m/m | Rapport massique |
| K_{oc} | Coefficient d'adsorption sur la matière organique |
| K_{ow} | Coefficient de partition octanol-eau |
| LNSM | “Low nitrate salt medium” |
| MMO | Méthane mono-oxygénase |
| MMOp | Méthane mono-oxygénase particulaire |
| MMOs | Méthane mono-oxygénase soluble |
| NADH | Nicotinamide adénine dinucléotide réduit |
| NaN₃ | Triazoture de sodium |

| | |
|-----------------------------|--|
| PCE | Tétrachloroéthène (perchloroéthène) |
| PHB | Polyhydroxybutyrate |
| rpm | Rotation par minute |
| q | débit gazeux (L min^{-1}) |
| r | Taux de dégradation ($\text{mol m}^{-3} \text{ h}^{-1}$) |
| τ_B | Temps de résidence dans le biofiltre |
| 1,1,1-TCA | 1,1,1-trichloroéthane |
| TCE | Trichloroéthène |
| $[\text{TCE}]_{\text{in}}$ | Concentration de TCE à l'entrée du biofiltre |
| $[\text{TCE}]_{\text{out}}$ | Concentration de TCE à la sortie du biofiltre |
| V_B | Volume du biofiltre (L) |
| v/v | Rapport volumique |

Chapitre 1 - Introduction

1.1 Problématique

Le trichloroéthylène (TCE), ainsi que plusieurs autres hydrocarbures chlorés aliphatiques sont fréquemment retrouvés dans les déchets industriels qui contaminent les sols et les eaux souterraines. Il est principalement utilisé comme dégraissant pour les pièces métalliques dans l'industrie des traitements de surface. Il se retrouve dans l'environnement à la suite de déversements accidentels ou de dispositions inadéquates. Le TCE menace la santé humaine et l'environnement car il est toxique et lui-même et ses sous-produits de dégradation sont potentiellement cancérigène. Un des grands problèmes reliés aux substances chlorées est leur récalcitrance à la dégradation aérobie. De plus, la dégradation anaérobiose de ces composés mène souvent à la production d'intermédiaires pouvant être plus toxiques et récalcitrants que le composé original (tel que le chlorure de vinyle; Oldenhuis et al., 1989). Une grande variété de technologies pour la destruction des solvants chlorés sont maintenant en développement (Aziz et al., 1995). Plusieurs solvants chlorés peuvent être dégradés cométaboliquement en produits non toxiques sous conditions aérobies par des micro-organismes qui utilisent le méthane, le propane, le toluène ou le phénol comme source de carbone et d'énergie (Chang et Alvarez-Cohen, 1995). Certains types de bactéries, comme les méthanotrophes, initie la réaction de dégradation du TCE. Grâce à une enzyme, la méthane mono-oxygénase (MMO), ces

bactéries oxydent le TCE, le rendant ainsi disponible à la minéralisation par d'autres organismes. Les micro-organismes méthanotrophes possédant l'enzyme MMOs offrent ainsi un potentiel très intéressant dans le domaine de la réhabilitation de sites contaminés.

Une des techniques utilisées pour traiter les eaux souterraines contaminées au TCE et qui possèdent une activité microbienne méthanotrophe, est l'injection de méthane et d'air dans des puits verticaux ou horizontaux (Brockman et al., 1995; Semprini et McCarty, 1991a) (Figure 1.1). Les bactéries méthanotrophes présentes dans la zone contaminée dégradent une partie du TCE. Les gaz qui s'échappent des puits d'extraction contiennent entre autres, du TCE, du CO₂ et du CH₄. Ces gaz ne peuvent pas être rejetés dans l'atmosphère sans traitement subséquent. Les procédés conventionnels de traitement des gaz tels que le stripage de l'air et l'adsorption sur charbon activé transfèrent les contaminants d'une phase à une autre sans les détruire (Chang et Alvarez-Cohen, 1995). Une alternative serait un traitement biologique des effluents gazeux par un biofiltre qui contient des micro-organismes spécifiques pour la dégradation du TCE.

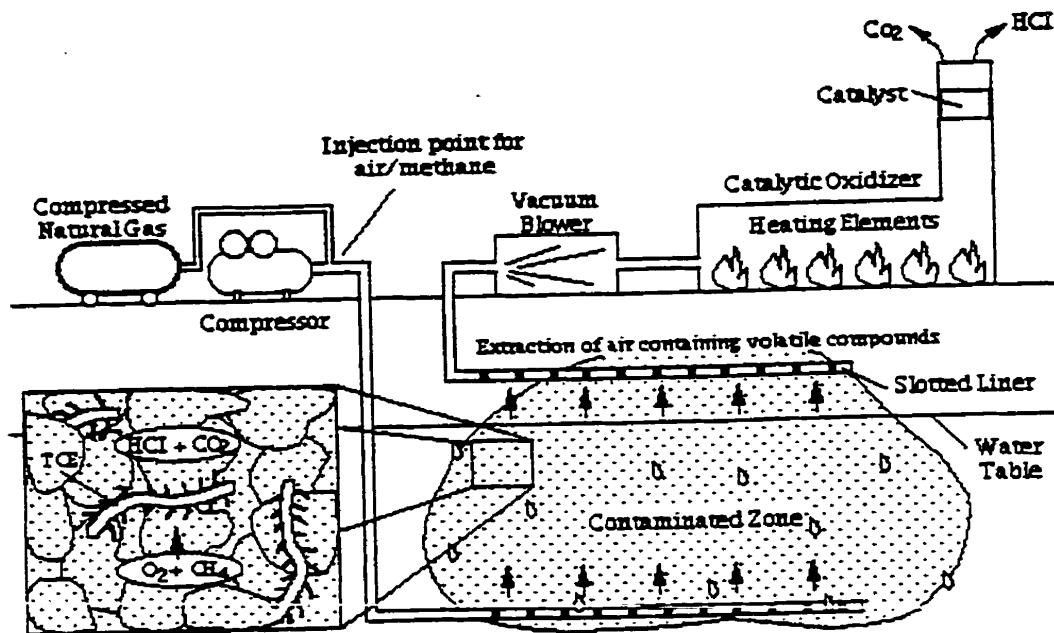


Figure 1.1 : Biorestauration des eaux contaminées au TCE, par les bactéries méthanotrophes (Technology Catalog Site Remediation Profiles, 1998)

1.2 Hypothèse de recherche

Un biofiltre contenant des bactéries méthanotrophes pourrait dégrader, par cométabolisme, le TCE gazeux qui est extrait des puits d'extraction.

1.3 Objectifs

L'objectif principal de ce projet était de vérifier que la biofiltration méthanotrophe du TCE en phase gazeuse était possible, de concevoir et de construire un biofiltre et d'étudier le comportement du biofiltre.

Le projet de recherche vise à :

- 1) Démontrer la capacité des bactéries méthanotrophes à dégrader le TCE dans un système gaz-solide;
- 2) Identifier un milieu filtrant efficace pour la biofiltration du TCE;
- 3) Étudier, en microcosmes, l'influence de paramètres importants : concentration de CH₄, concentration de TCE et enrichissement des méthanotrophes;
- 4) Vérifier l'effet de l'utilisation du gaz naturel au lieu du CH₄ pur sur la biofiltration du TCE à long terme;
- 5) Étudier le comportement du biofiltre : influence de la concentration du CH₄ et du TCE sur la cinétique de biodégradation du CH₄ et du TCE en fonction de la hauteur du biofiltre.

Chapitre 2 - Revue de littérature

2.1 Les solvants chlorés

À chaque année, aux États-Unis, près de 20 millions de tonnes d'hydrocarbures aliphatiques sont produits par les industries chimiques. On estime à 400 000 le nombre de sites avec un sol ou des eaux contaminés aux solvants chlorés ce qui correspond à environ 4,7 millions de tonnes d'hydrocarbures chlorés (Sutfin, 1996). Ces composés sont toxiques et ils possèdent un potentiel cancérogène (Ely et al., 1995). Le TCE, le PCE, le chloroforme, le chlorure de méthylène, le 1,1,1-TCA, le 1,2-DCA, le chlorure de vinyle, le chlorobenzène et le tétrachlorure de carbone sont les solvants chlorés les plus fréquemment retrouvés dans les eaux souterraines contaminées (Tableau 2.1). Les hydrocarbures aliphatiques chlorés résistent naturellement à la dégradation biotique (microbiologique) et abiotique (chimique) et ils sont donc des contaminants persistants dans l'environnement. La structure des hydrocarbures aliphatiques chlorés détermine leur persistance dans l'environnement. Les principaux facteurs qui augmentent la toxicité des hydrocarbures aliphatiques chlorés incluent le nombre d'halogènes dans la molécule, la taille des halogènes (numéro atomique et poids) et la facilité de briser la molécule (Barbee, 1994). La persistance de ces composés chlorés dans l'environnement, leur solubilité dans l'eau relativement élevée et leur mobilité dans le sol ont résulté en une contamination des sources d'eau potable (Murray et Richardson, 1993).

Tableau 2.1 : Principaux composés retrouvés dans les eaux souterraines contaminées de 479 sites de disposition de déchets (Traduit de Barbee et al., 1994)

| Composant | % - Sites |
|--------------------------|-----------|
| Dichlorométhane | 32,8 |
| Trichloroéthène | 27,6 |
| Perchloroéthène | 23,2 |
| trans-1,2-Dichloroéthène | 24,2 |
| Chloroforme | 18,6 |
| 1,1-Dichloroéthane | 22,5 |
| 1,1-Dichloroéthène | 15,7 |
| 1,1,1-Trichloroéthane | 21,1 |
| Toluène | 27,3 |
| 1,2-Dichloroéthane | 17,1 |

La deuxième colonne du tableau 2.1 représente le pourcentage de sites contaminés avec le composé.

2.1.1 Le trichloroéthylène

Le TCE a été synthétisé pour la première fois en 1864 et il a été vendu pour la première fois aux États-Unis en 1925 (ACGIH, 1991). Il est présent dans 246 des 1035 sites Superfund répertoriés (Aziz et al., 1995) et il est classé parmi les 129 polluants prioritaires de l'Agence de Protection Environnementale des Etats-Unis (USEPA) dans la catégorie des composés organiques volatils. Il est grandement utilisé en industrie grâce à ses propriétés de solvant. De plus, il a été utilisé dans l'industrie du nettoyage à sec (ACGIH, 1991).

2.1.1.1 Les propriétés physico-chimiques du TCE

Le TCE est un hydrocarbure aliphatique chloré qui possède trois atomes de chlore dans sa structure chimique (Figure 2.1). C'est un liquide incolore et ininflammable avec une odeur semblable à celle du chloroforme (ACGIH, 1991).

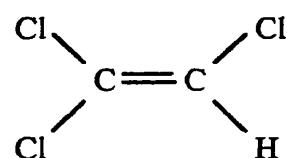


Figure 2.1 : Structure chimique du TCE

Le TCE est un liquide dense non aqueux (DNAPL : "Dense Non Aqueous Phase Liquid"). La densité du TCE, plus élevée que celle de l'eau, ainsi que son coefficient de partition octanol-eau (K_{ow}) relativement faible (qui indique une faible tendance à s'adsorber au sol) (Tableau 2.2) font que ce composé aura tendance à percoler à travers le sol, sous l'influence de la gravité, pour migrer dans l'eau jusqu'aux couches de fond. Due à sa solubilité moyenne dans l'eau et à sa constante de Henry plutôt élevée (pression de vapeur élevée), le TCE passera facilement de la phase aqueuse à la phase gazeuse. Le TCE situé en surface des sols est rapidement volatilisé et peut aussi être dégradé par photo-oxydation (Gouvernement du Canada, 1993). Le TCE se retrouve donc dans les matrices eau, air et sol. La combinaison entre la grande utilisation et la mauvaise disposition de ce produit a résulté en une contamination de plusieurs aquifères et de sol. Les sédiments sous quelques sites industriels contiennent des chlorocarbones en excès de 1000 mg kg^{-1} (Fliermans et al., 1988). La haute stabilité du TCE le rend difficilement dégradable et donc, ce composé peut demeurer intact dans l'environnement pendant des années (Barbee, 1994).

Tableau 2.2 : Propriétés physico-chimiques du TCE

| PROPRIÉTÉ | VALEUR |
|--|--------------------|
| Poids moléculaire (g mol^{-1}) | 131,40 |
| Point de fusion ($^{\circ}\text{C}$) | -84,8 |
| Point d'ébullition ($^{\circ}\text{C}$) | 86,7 |
| Pression de vapeur (mm Hg) à 30 $^{\circ}\text{C}$ | 95,5 |
| Constante de Henry (atm $\text{m}^3 \text{mol}^{-1}$) | $8,92 \times 10^3$ |
| Densité à 25 $^{\circ}\text{C}$ (g mL^{-1}) | 1,460 |
| Solubilité dans l'eau à 20 $^{\circ}\text{C}$ (mg L^{-1}) | 1×10^3 |
| K_{ow} (log) | 2,42 |
| K_{oc} (log) | 2,10 |

Sources : Merck Index, 1996 et Perry et al., 1997

2.1.1.2 Toxicité du TCE

Le TCE pénètre dans l'organisme par les voies respiratoires et digestives ainsi que par la peau. C'est un irritant pour la peau, les yeux, les voies respiratoires et digestives. Il cause une dépression du système nerveux central avec comme symptômes : de la fatigue, des nausées, des vomissements, de la confusion, de l'incoordination et éventuellement de l'inconscience (CSST, 1988). On peut le détecter de façon olfactive à des concentrations variant entre 1 et 28 mg m^{-3} . Les organes ou systèmes affectés par le TCE chez les humains et les animaux sont le système nerveux central (nausée, ataxie, maux de tête), le

foie (dégénérescence), les reins (dégénérescence), les poumons (oedème), le cœur (arythmie), la peau (irritation) et la paralysie des doigts lorsqu'ils sont immersés dans le TCE liquide (ACGIH, 1991). Pour les animaux, le TCE a une toxicité aiguë de faible à modérée avec une LD₅₀ de 6000 à 7000 mg (kg poids corporel)⁻¹ rapportée chez les rats, les chats et les lapins. Le TCE n'est pas embryotoxique ou tératogène chez les rats et les souris (ACGIH, 1991). Les solvants chlorés, en particulier le TCE, sont toxiques pour les micro-organismes à des concentrations supérieures à 6 mg L⁻¹ dans l'eau ou 2 mg L⁻¹ dans l'air (Broholm et al., 1990). Le TCE est un composé potentiellement cancérogène (ACGIH, 1991; Gouvernement du Canada, 1993).

2.1.1.3 Les normes pour le TCE

Au Québec, la politique de réhabilitation des terrains contaminés énoncent des concentrations maximales de TCE permises dans le sol et dans les eaux souterraines (Tableau 2.3). La politique contient une grille de critères indicatifs basés sur trois plages d'intervention. Le règlement 90 de la Communauté Urbaine de Montréal (C.U.M) indique que la concentration maximale de TCE permise dans l'air est de 1250 µg m⁻³ pour une période de 8 heures. En milieu de travail, la concentration moyenne permise dans l'air est de 535 mg m⁻³ (100 ppmv) et la concentration maximale permise dans l'air est de 800 mg m⁻³ (150 ppmv) (CSST, 1988). Aux États-Unis, la concentration maximale de TCE permise dans l'eau potable est de 5 µg L⁻¹ (Murray et Richardson, 1993). Selon l'Agence

de Protection Environnementale Américaine, la concentration de TCE permise dans l'air devrait être de $0,3 \mu\text{g m}^{-3}$ (Chemistry and related properties of trichloroethylene, 1998).

Tableau 2.3 : Critères indicatifs pour le TCE selon la politique de réhabilitation des terrains contaminés

| Milieu de contamination | Critère | | |
|--|---------|----|----|
| | A | B | C |
| Sol (mg (kg sol)^{-1}) | < 0,4 | 5 | 50 |
| Eaux souterraines ($\mu\text{g L}^{-1}$) | < 1 | 10 | 50 |

Source : Ministère de l'Environnement et de la Faune, 1995

Les critères d'usage pour l'eau potable et les eaux de surface sont respectivement $50 \mu\text{g L}^{-1}$ et de $8070 \mu\text{g L}^{-1}$. Les critères pour l'eau potable sont exprimés en concentrations maximales acceptables et s'appliquent à des échantillons non filtrés et sont tirés des Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada (1993). Les critères pour l'eau potable sont tirés de la liste des Critères de la qualité de l'eau (MEF, 1991) et représentent les concentrations totales pour des échantillons non filtrés.

2.2 Les méthanotrophes

Les bactéries méthanotrophes sont répandues dans les environnements qui contiennent de l'oxygène et du CH₄, comme, par exemple, dans les zones de transition anaérobie-aérobie dans le sol (Broholm et al., 1993). Elles peuvent aussi être isolées de divers habitats : sols, étangs, marécages, fossés, rizières, sédiments marins, déchets domestiques, boues d'égout et océans (Whittenbury et al., 1970; Strand et Lidstrom, 1984; Fennell et al., 1992; Holmes et al., 1995). Les méthanotrophes étant ubiquitaires dans la nature, elles sont ciblées lors de la restauration *in situ* des sites contaminés (Fogel et al., 1986; Tsien et al., 1989; Semprini et McCarty, 1991a).

Les méthanotrophes sont des bactéries qui oxydent le CH₄ et qui l'utilisent comme source de carbone et d'énergie. Elles jouent un rôle primordial dans la nature. Grâce à ces micro-organismes, le CH₄ produit par les écosystèmes anaérobies est efficacement oxydé diminuant ainsi son accumulation dans l'atmosphère ce qui contribue à la minimisation de l'effet de serre.

Les méthanotrophes ont été divisées en deux groupes selon la voie d'assimilation du carbone : le type I qui inclut les genres *Methylomonas* et *Methylobacter* et le type II qui inclut les genres *Methylosinus* et *Methylocystis*. Les méthanotrophes de type I utilisent la voie ribulose monophosphate pour l'assimilation du carbone alors que les méthanotrophes de type II utilisent la voie sérine. Un nouveau groupe, le type X, a été ajouté pour

classifier les méthanotrophes similaires à *Methylococcus capsulatus*, qui comme les méthanotrophes de type I utilisent la voie ribulose monophosphate comme voie primaire pour l'assimilation du formaldéhyde. Les méthanotrophes de type X ont été distinguées des méthanotrophes de type I car elles possèdent aussi des enzymes de la voie sérine. Elles croissent à des températures supérieures à celles des méthanotrophes types I et II (Hanson et Hanson, 1996).

2.2.1 Oxydation du méthane par les méthanotrophes

Les bactéries méthanotrophes obtiennent le carbone et l'énergie nécessaire à leur croissance en oxydant le CH₄ en conditions aérobie. Le CH₄ dissous sert de donneur d'électrons tandis que l'oxygène sert d'accepteur d'électrons (Semprini et McCarty, 1991a). L'oxydation du CH₄ jusqu'au CO₂ s'effectue en quatre étapes (Figure 2.2). Le CH₄ est oxydé en méthanol par une méthane mono-oxygénase, le méthanol est oxydé en formaldéhyde, qui peut être ensuite assimilé dans la biomasse, par une méthanol déhydrogénase, le formaldéhyde est oxydé en formate par une formaldéhyde déhydrogénase et finalement, le formate est oxydé en CO₂ par une formate déhydrogénase.

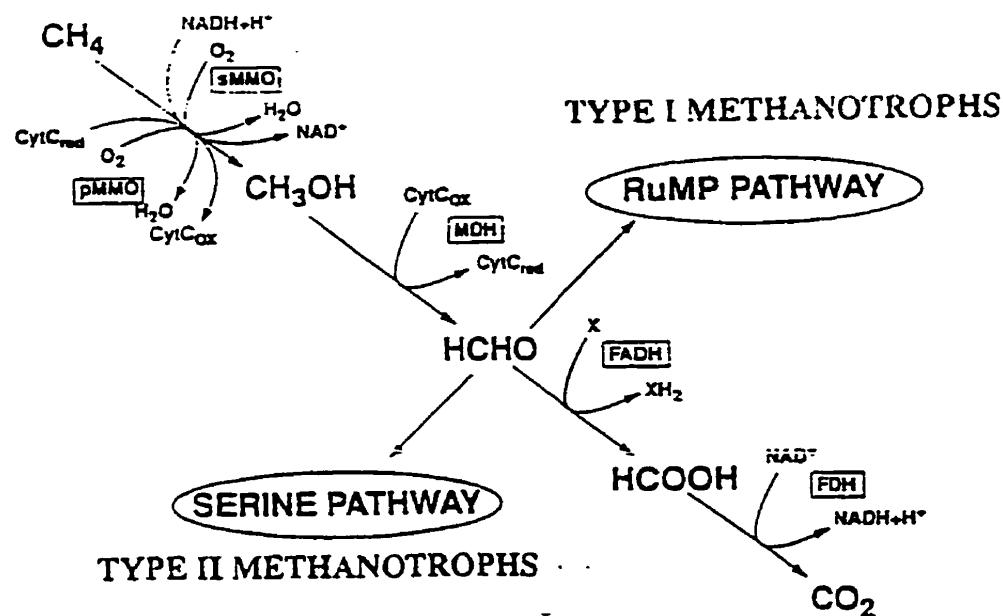


Figure 2.2 : Étapes de l'oxydation du CH_4 (Hanson et Hanson, 1996)

Au niveau énergétique, pour la MMOs, l'oxydation du CH_4 requiert un NADH_2 et l'oxydation du formaldéhyde et du formate fournit 2 molécules de NADH_2 , pour un gain net de 1 NADH_2 .

2.2.2 La méthane mono-oxygénase

Les bactéries méthanotrophes sont cultivées pour une enzyme-clé qu'elles produisent, appelée méthane mono-oxygénase (MMO). Elle peut être présente sous deux formes : sous forme soluble (MMOs) dans le cytoplasme, en conditions limitantes en cuivre, et sous forme particulaire (MMOp) au niveau de la membrane cellulaire, en conditions riches en cuivre (Davis et al., 1987). La forme particulaire est très spécifique au CH₄ et ne montre qu'une activité très limitée dans l'oxydation des polluants (Park et al., 1991). La MMOs est constituée de trois protéines, soit une hydroxylase, site actif de l'enzyme où l'oxygène et le substrat (le CH₄ pour les méthanotrophes) sont mis en contact, une réductase, ayant pour tâche de fournir les électrons qu'elle capte du NADH à la réaction et, finalement, un composant β qui assure la régulation du transfert d'électrons entre l'hydroxylase et la réductase (Lipscomb, 1994). Cette enzyme est peu spécifique et démontre une activité envers un grand nombre de composés qui ne sont pas utilisés comme substrat de croissance par les méthanotrophes. Ces composés incluent les alcanes, les alcènes, les composés aromatiques et cycliques, le monoxyde de carbone et l'ammoniaque (Alvarez-Cohen et McCarty, 1991a). Des recherches récentes ont démontré que les méthanotrophes peuvent aussi transformer les composés récalcitrants comme les mono- et di-chlorobiphényles et les sulfonates alkylbenzènes (Hrsak, 1996). Les méthanotrophes peuvent aussi cométaboliser le TCE et d'autres composés chlorés tels que le chloroéthène, les 1,1- et 1,2-DCA, le chloroforme, le dichlorométhane, le dichloroéthène et le 1,1,1-TCA (Wackett et Gibson, 1988; Fennell et al., 1992). Les deux MMO peuvent oxyder les hydrocarbures aliphatiques chlorés mais, comme la MMOs est moins spécifique, elle peut

dégrader les éthènes chlorés à des taux plus rapides que la MMOp (Oldenhuis et al., 1989). Le PCE et le tétrachlorure de carbone ne sont pas biodégradables par les méthanolotrophes (Speitel et Closmann, 1991). Les bactéries méthanolotrophes peuvent aussi dégrader le TCE sous des conditions psychrophiles (Moran et Hickey, 1997).

2.2.3 Facteurs influençant la croissance des méthanolotrophes et l'activité de la MMOs

Park et al. (1991) ont effectué une étude avec *Methylosinus trichosporium* OB3b pour vérifier les facteurs qui influençaient la croissance des méthanolotrophes et ceux qui maximisaient l'activité de la MMOs en vue de dégrader le TCE. Une température située entre 30 et 34 °C était optimale pour la croissance des méthanolotrophes (Park et al., 1991). L'activité de la MMOs était maximale à 30 °C (Brusseau et al., 1990). Une diminution de la température entraînait une période de latence plus longue. Dans la plage de pH située entre 6 et 7, le taux de croissance des méthanolotrophes demeurait constant. À un pH supérieur à 7,5, la période de latence augmentait et le taux de croissance diminuait avec une augmentation de pH.

La concentration de phosphate devait être entre 10 et 40 mM. À des concentrations supérieures, la croissance des cellules est inhibée. Les méthanolotrophes peuvent utiliser quelques sources d'azote pour leur croissance incluant l'ammoniaque, le nitrate, l'azote gazeux et l'azote organique (Whittenbury et al., 1970). Bien que l'ammoniaque soit une

source d'azote efficace, elle peut être oxydée par la MMO et agit donc comme un inhibiteur compétitif de l'oxydation du CH₄ (Whittenbury et al., 1970; Ferenci et al., 1975; Carlsen et al., 1991). À une concentration supérieure à 70 mg L⁻¹, l'ammoniaque inhibe la dégradation du CH₄ due à la formation de complexes cuivre-amine (Boiesen et al., 1993). L'inhibition n'est pas totale car la dégradation du CH₄ a encore lieu. Cependant, le temps de dégradation est plus long. Pour la croissance des méthanotrophes, la concentration de nitrate devait être supérieure à 1 mM et pour favoriser l'activité de la MMOs, une concentration supérieure à 2 mM serait privilégiée (Bowman et Sayler, 1994).

La disponibilité de cuivre était le facteur primordial pour l'activité de la MMOs (Odenhuis et al., 1989; Tsien et al., 1989). Le cuivre réprimait la synthèse de la MMOs et favorisait la synthèse de la MMOp. Pour *Methylosinus trichosporium* OB3b, la concentration de cuivre dans le milieu devrait être inférieure à 0,25 µM (Tsien et al., 1989) pour favoriser la production de la MMOs. Durant une limitation en cuivre, de faibles taux de dégradation du CH₄ (Jorgensen et Degn, 1983) ont été observés. Une concentration en cuivre supérieure à 300 µg L⁻¹ inhibait la dégradation du CH₄ (Boiesen et al., 1993).

Le fer est un élément déterminant pour l'activité de MMOs car il est un cofacteur. La quantité de fer suggérée était de 80 µM (Park et al., 1991) sinon, la synthèse de la MMOs était limitée.

L'injection des gaz air-CH₄ entraînait le stripage du CO₂ ce qui augmentait la période de latence. L'incorporation de CO₂ (10-20 % v/v) dans le courant gazeux dans le milieu de culture résout ce problème (Park et al., 1991).

Le CH₄ est requis pour le développement et le maintien de la biomasse active méthanolique comme substrat de croissance et comme inducteur de la MMO. Les méthanoliques sont des bactéries aérobies et elles requièrent de l'oxygène pour l'oxydation de la MMO. La quantité d'oxygène dissous devrait être maintenu entre 2 et 5 mg L⁻¹ où l'activité spécifique de la MMOs et le taux de croissance des méthanoliques sont maximaux (Bowman et Sayler, 1994).

2.3 Biodégradation du TCE

Les deux mécanismes possibles pour la biodégradation du TCE sont la déhalogénération réductive en anaérobiose et la co-oxydation aérobiose. La déhalogénération réductive consiste à enlever un atome de chlore et à le remplacer par un atome d'hydrogène. Le TCE est ainsi dégradé jusqu'à l'éthène qui peut ensuite être converti en CO₂ par d'autres micro-organismes sous conditions aérobies (Mohn et Tiedje, 1992). Les principaux sous-produits intermédiaires de la dégradation anaérobiose du TCE sont le 1,2-DCE et le chlorure de vinyle. Sous des conditions anaérobies, la dégradation du TCE, après la déchlororation

réductive, est relativement lente et résulte en une accumulation de chlorure de vinyle qui est encore plus toxique que le composé de départ (Parsons et al., 1984).

Plusieurs espèces de bactéries aérobies, incluant des souches des genres *Pseudomonas*, *Nitrosomonas*, *Alcaligenes*, *Methylomonas* et *Methylosinus* peuvent catalyser la réaction de dégradation du TCE (Oldenhuis et al., 1989). Les oxygénases d'une variété de micro-organismes sont induites par différentes sources de carbone et convertissent les alcènes en époxydes d'alcènes qui sont instables et qui se brisent en sous-produits facilement biodégradables par d'autres micro-organismes. Le TCE peut être dégradé de façon aérobie, par cométabolisme, par des bactéries utilisatrices de CH₄ (Strandberg et al., 1989; Fennell et al., 1993), de toluène, de phénol et de crésol (Wackett et Gibson, 1988; Folsom et al., 1991), de propane (Wackett et al., 1989; Sukesan et Watwood, 1997), de butane (Kim et al., 1997), d'éthylène (Henry et Grbic-Galic, 1991), d'ammoniaque (Rasche et al., 1991) et par les bactéries nitrifiantes (Chu et Alvarez-Cohen, 1996). Le cométabolisme est un processus selon lequel un micro-organisme qui croît sur un substrat primaire produit une enzyme qui transforme de façon fortuite un autre composé duquel il ne peut obtenir de l'énergie pour sa croissance (Brock et al., 1984). Les taux de dégradation du TCE obtenus étaient plus élevés avec les bactéries méthanolotrophes.

La transformation méthanotrophe du TCE a été démontrée dans des systèmes avec enzymes purifiées (Fox et al., 1990), cultures pures (Little et al., 1988; Brusseau et al., 1990; Henry et Grbic-Galic, 1991), cultures mixtes en suspension (Alvarez-Cohen et McCarty, 1991a; Broholm et al., 1990; Janssen et al., 1988), réacteur à film fixe (Phelps et al., 1991; Strandberg et al., 1989), réacteur à sol immobilisé (Pierre, 1997) et par restauration *in situ* des aquifères (Roberts et al., 1990; Semprini et al., 1990, Semprini et McCarty, 1991b).

Wilson et Wilson (1985) ont été les premiers à démontrer que le TCE était complètement oxydé en CO₂ dans un soi non saturé sous une atmosphère de gaz naturel (0,6 %). Fogel et al. (1986) ont utilisé des cultures mixtes de méthanolthropes de sédiments et ont trouvé que le TCE, le chlorure de vinyle, le chlorure de vinylidène, les cis- et trans-1,2-DCE étaient rapidement dégradés. Henson et al. (1988) ont trouvé que plusieurs composés halogénés à un et deux atomes de carbone pouvaient être dégradés par des cultures mixtes de méthanolthropes. Les taux de dégradation observés étaient plus rapides pour les molécules moins halogénées et lorsque les atomes d'halogènes étaient plus distribués sur la molécule. Dans les cultures pures, il peut avoir accumulation de produits de dégradation intermédiaires (Henry et Grbic-Galic, 1991; Little et al., 1988; Oldenhuis et al., 1989). En culture mixte, il y a coopération entre les bactéries oxydantes de TCE et les autres micro-organismes. Les produits terminaux de la dégradation hétérotrophe sont le CO₂, les ions chlorures et de l'eau (Fogel et al., 1986; Henson et al., 1988).

La biodégradation du TCE est inhibée par l'acétylène (Fogel et al., 1986; Chaudry et Chapalamadugu, 1991) qui inhibe l'oxydation du CH₄ donc de la MMO. Ce produit peut se retrouver dans le gaz naturel. La présence de 1,4 mg L⁻¹ ou plus de PCE dans le milieu inhibe la dégradation du TCE. Il est critique de contrôler la concentration de CH₄ dissous dans le milieu afin d'obtenir une dégradation optimale de TCE puisqu'une concentration trop élevée inhibe la MMO en devenant un substrat compétiteur (Broholm et al., 1990). L'inhibition de la transformation du TCE par le CH₄ a été observée dans plusieurs études (Brusseau et al., 1990; Henry et Grbic-Galic, 1991; Lanzarone et McCarty, 1990). Plus la concentration de CH₄ était élevée, plus la compétition était importante. Strand et Lidstrom (1984) ont démontré que la compétition inhibitrice était négligeable à des concentrations de CH₄ dans la phase gazeuse inférieure à 5 % (v/v).

2.3.1 Mécanismes de biodégradation du TCE

Plusieurs voies métaboliques sont possibles pour la dégradation du TCE (Figure 2.3) selon l'enzyme qui effectue ce travail. La transformation du TCE implique des processus abiotiques et biotiques. Un mécanisme proposé pour la dégradation du TCE par les méthanolotrophes est illustré à la figure 2.3.

La MMO initie la transformation du TCE en époxyde de TCE (95 %), en oxydant le TCE avec un atome d'oxygène et en incorporant l'autre atome d'oxygène dans une molécule d'eau, et en trichloroacétaldéhyde (chloral hydrate) (5 %). Par la suite, le trichloroacétaldéhyde est converti en trichloroacétate qui se transforme ensuite en CO₂, en oxalate et en ions chlorures. L'époxyde de TCE est transporté à l'extérieur de la cellule (Figure 2.4). L'époxyde de TCE est très instable (demi-vie de 12 secondes; Henry et Grbic-Galic, 1994) et se transforme spontanément, dans le milieu aqueux entourant la cellule, en CO (53 %), en formate (35 %), en dichloroacétate (5 %) et en glyoxylate (5 %). Le dichloroacétate est subséquemment transformé en glyoxylate et le formate est réduit en CO₂. Le ratio de produits formés est dépendant du pH du système. Le CO et le formate sont prédominants à pH neutre et basique. Les méthanolotrophes sont aussi capables de cométaboliser quelques-uns des intermédiaires. Toutes les méthanolotrophes oxydent le formate en CO₂, dérivant de l'énergie et regénérant ainsi la source de pouvoir réducteur (Henry et Grbic-Galic, 1994).

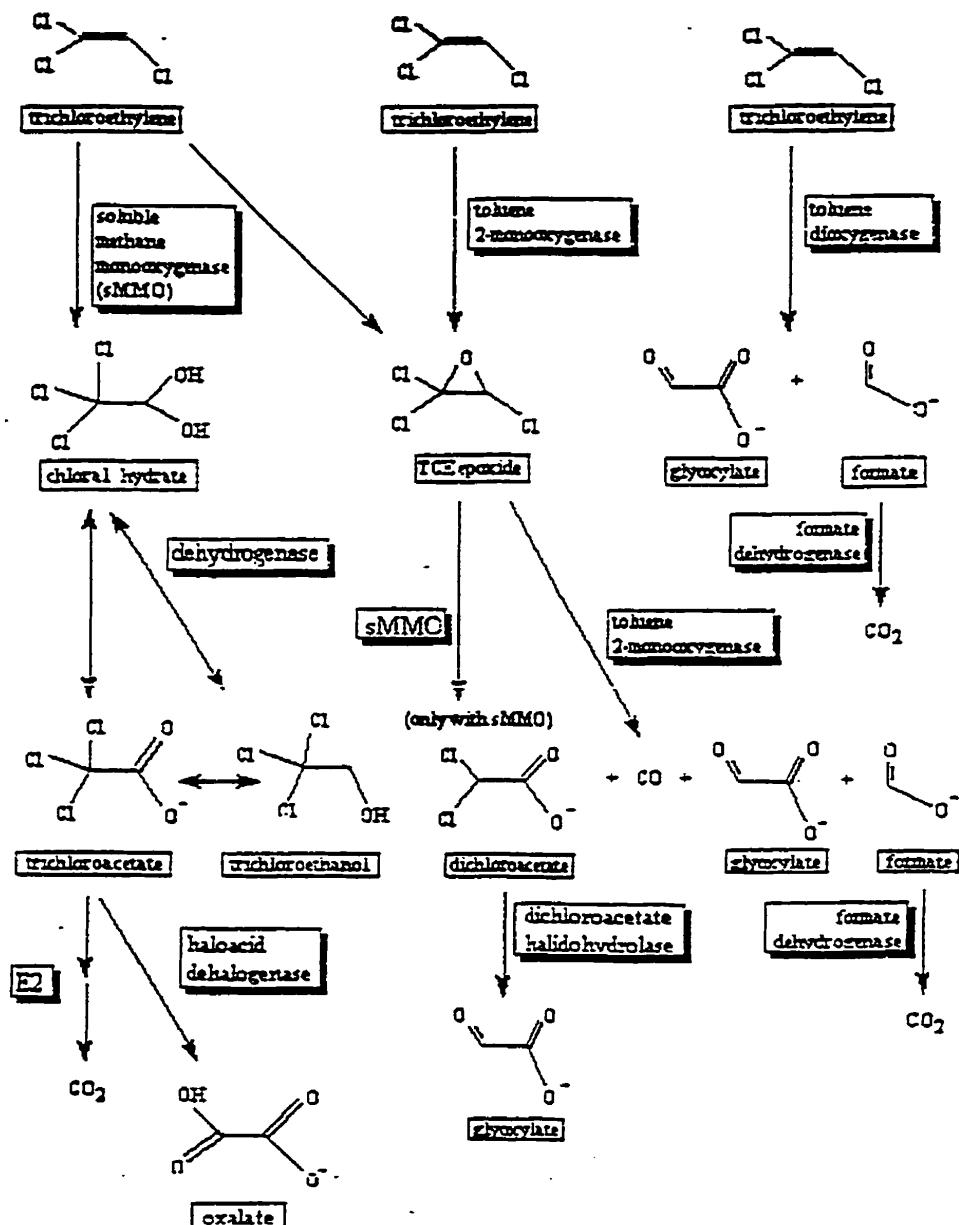


Figure 2.3 : Différentes voies métaboliques pour la dégradation du TCE (Young, 1997)

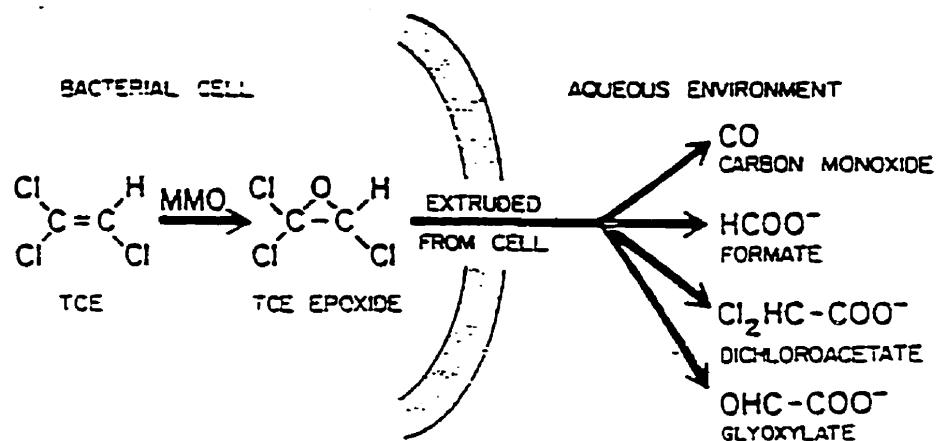


Figure 2.4 : Mécanisme proposé pour la dégradation du TCE par les méthanolotrophes (Henry et Grbic-Galic, 1994)

2.4 Biofiltration

La biofiltration est définie comme la dégradation biologique des composés organiques volatils (COV) (Bohn, 1992). C'est l'utilisation de micro-organismes qui croissent dans un lit filtrant pour détruire les composants des effluents gazeux. Cette technologie est efficace pour éliminer les odeurs et les COV de sources industrielles, commerciales et municipales telles que les usines chimiques et pétrochimiques, les abattoirs, les pâtisseries, les usines de peinture et de recouvrement, les usines de compostage et les systèmes pour

la restauration des eaux souterraines et du sol (Bohn, 1992; Leson et Winer, 1991; Ottengraf et al., 1984). Le gaz à traiter est forcé à travers le filtre. En passant à travers le lit, les contaminants du courant gazeux sont enlevés et métabolisés (Swanson et Loehr, 1997). La hauteur du lit filtrant varie généralement entre 0,5 et 1,5 m (Hodge et Devinny, 1995; Leson et Winner, 1991). La biofiltration peut enlever entre 80 % et 99 % des COV (Bohn, 1992).

Les principaux produits traités par biofiltration sont les COV (Van Groenestijn et Hesselink, 1993), les composés sulfurés (Bohn, 1992) ou azotés (ammoniaque; Kapahi et Gross, 1995) et les alcoolis (éthanol; Shim et al., 1995). Ils sont dégradés comme substrats primaires ou comme cométabolites. Des constituants plus complexes tels que les organiques chlorés (dichlorométhane, TCE, chlorobenzène) peuvent être dégradés mais les taux de dégradation sont lents et la dégradation peut requérir la présence de substrat (Swanson et Loehr, 1997). Les biofiltres peuvent aussi traiter des mélanges de produits chimiques. Cependant, la synergie entre les composants peut interférer dans le transfert de masse et dans les étapes de biofiltration (Swanson et Loehr, 1997).

Un des avantages de la biofiltration est le traitement de grands volumes de gaz avec de faibles concentrations de contaminants facilement biodégradables (Kapahi et Gross, 1995). De plus, les coûts d'investissement sont modérés, les coûts d'opération sont faibles, les COV sont entièrement détruits sans la formation de sous-produits nocifs et c'est une technologie bien acceptée par le public (Bohn, 1992). Le désavantage majeur de la

biofiltration est la nécessité d'un grand espace. Pour fournir un temps de résidence adéquat pour l'adsorption et la destruction des contaminants, un grand volume de milieu filtrant est requis. De plus, la biofiltration peut difficilement traiter les composants organiques qui ont un faible coefficient d'adsorption ou qui sont peu biodégradables (Swanson et Loehr, 1997). Les principaux problèmes rencontrés lors de la biofiltration sont la formation de chemins préférentiels qui diminuent la capacité d'enlèvement du milieu filtrant, la difficulté de maintenir le pourcentage d'humidité constant (possibilité de développer des zones anaérobies) et la production de métabolites acides qui diminuent le pH du milieu filtrant ce qui entraîne une diminution de l'activité biologique (Ottengraf et al., 1984).

2.4.1 Historique

La biofiltration s'inspire d'une vieille idée développée vraisemblablement par des agriculteurs; le sol était utilisé comme milieu filtrant pour absorber les odeurs générées par le stockage de fumier. En 1953, un système rudimentaire de filtration avec de la terre a été utilisé pour le traitement des odeurs nauséabondes qui s'échappaient des égouts de Long Beach en Californie (Swanson et Loehr, 1997). En Europe, les premiers essais de biofiltration des odeurs et du H₂S ont été réalisés au cours des années 60 (Bohn, 1992). Toutefois, ce n'est que vers la fin des années 70 que la biofiltration a été employée à des fins industrielles. Depuis ce temps, l'utilisation de cette technologie a progressé rapidement, principalement en Allemagne et aux Pays-Bas. Les Japonais et les Nord-

Américains ne se sont intéressés que très récemment à la biofiltration des émissions gazeuses. Au cours des dix dernières années, la biofiltration des émissions gazeuses a suscité beaucoup d'intérêt chez les industriels principalement parce qu'elle est efficace, peu coûteuse tant au niveau de l'entretien que de l'ingénierie des installations et facile de mise en oeuvre.

2.4.2 Principes généraux de la biofiltration

Le biofiltre sert à l'adsorption et à la biodégradation des polluants volatils. Le premier modèle de biofiltration a été proposé par Ottengraf et VanDerOever (1983). Ils présumaient que la dégradation des contaminants suivait une cinétique d'ordre zéro dans le biofilm. Les principes qui gouvernent la biofiltration sont divisés en 3 étapes (Figure 2.5). En premier lieu, le composé chimique de la phase gazeuse traverse l'interface entre les pores et le biofilm aqueux qui entoure les particules solides. Par la suite, le composé chimique diffuse à travers le biofilm vers un consortium de micro-organismes acclimatés. Finalement, les micro-organismes obtiennent leur énergie de l'oxydation du composé chimique comme substrat primaire ou ils cométabolisent le produit via des enzymes non spécifiques. Simultanément, il y a diffusion et consommation de nutriments comme l'azote et le phosphore et l'oxygène dans le biofilm. L'utilisation du produit chimique, des accepteurs d'électrons et des nutriments maintient continuellement les gradients de concentration qui assurent le transport par diffusion dans le biofilm (Swanson et Loehr, 1997). Un biofiltre fonctionnel convertit les composés chimiques des courants gazeux en

produits terminaux tels que le CO₂, H₂O, des sels inorganiques (NO₃⁻, SO₄²⁻) et de la biomasse (VanGroenestijn et Hesselink, 1993). La biofiltration combine les phénomènes de transport : l'advection, la dispersion et l'adsorption puis les réactions biologiques de dégradation (Hodge et Devinny, 1995) (Figure 2.6). Lors du démarrage, la capacité adsorbante du biofiltre est responsable de la majeure partie de l'enlèvement des contaminants. Lorsque le milieu filtrant est saturé de contaminants, les processus biologiques dominent l'enlèvement. Contrairement à Ottengraf et VanDerOever (1983), Hodge et Devinny (1995) ont posé comme hypothèse que la biodégradation du contaminant suivait une cinétique de premier ordre. Selon Bohn (1992), le régime permanent d'enlèvement des COV dans un biofiltre est approximativement de premier ordre en fonction de la concentration des COV. La réaction dépend de la concentration en oxygène, de la population microbienne et des nutriments qui sont généralement en excès.

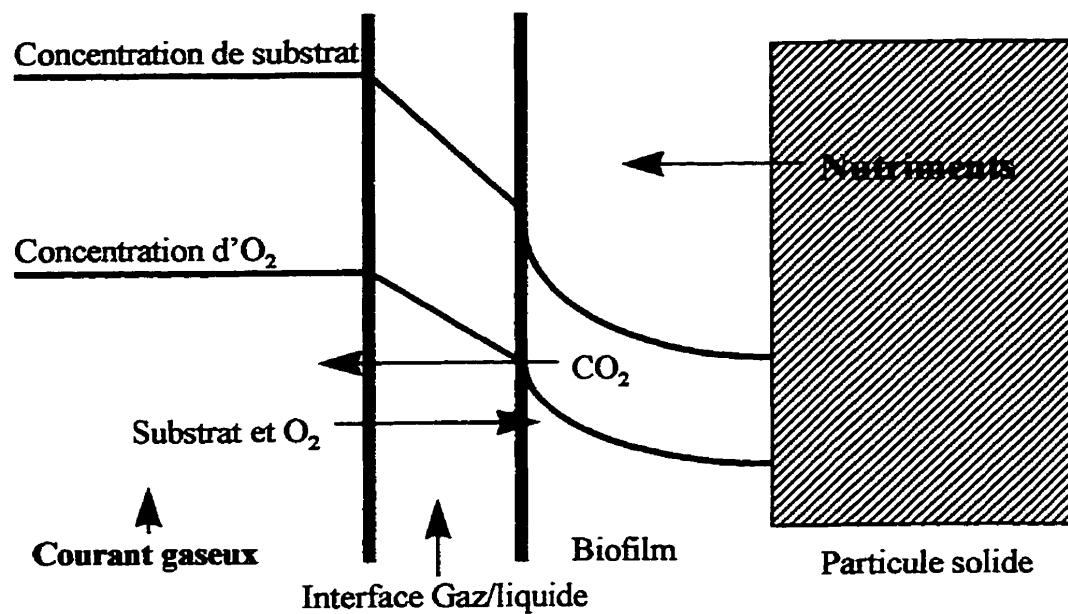


Figure 2.5 : Modèle du biofilm pour la biofiltration (Traduit de Swanson et Loehr, 1997)

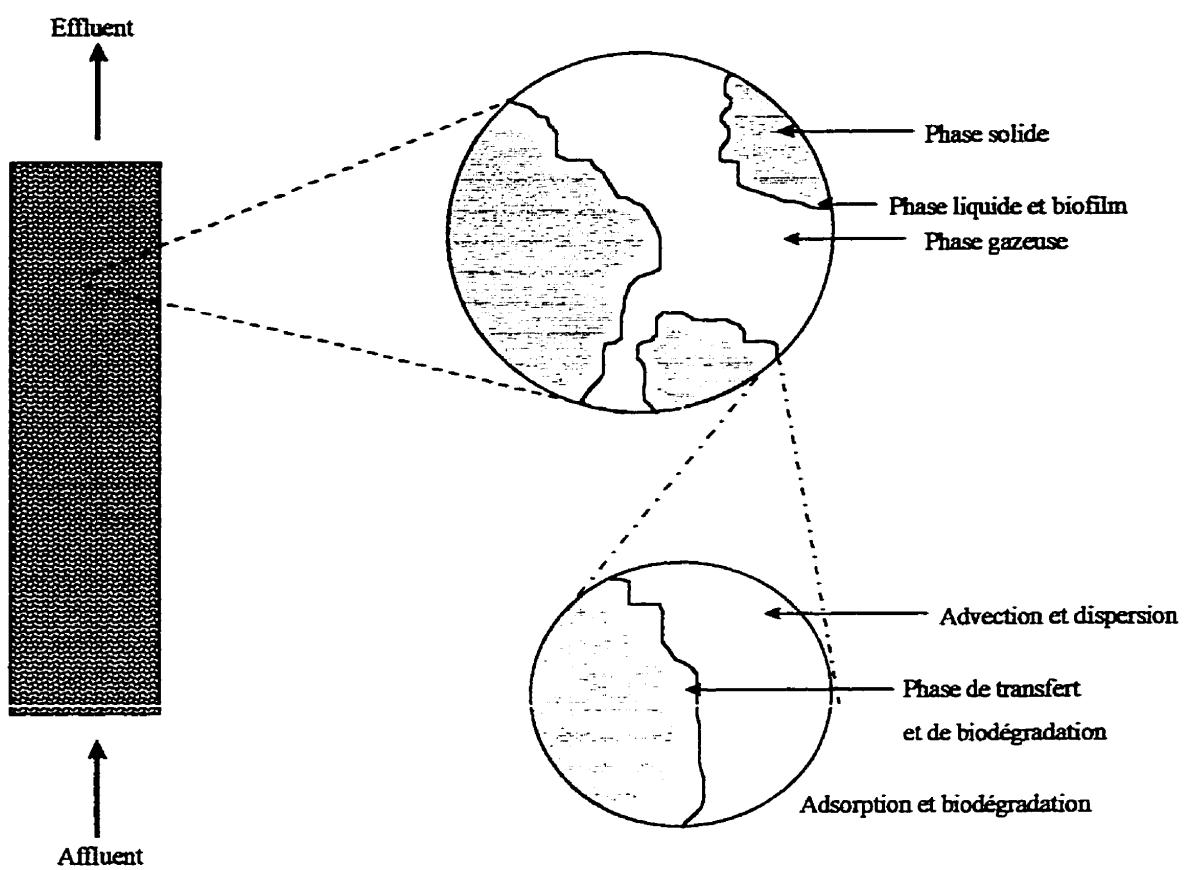


Figure 2.6 : Phénomènes rencontrés lors de la biofiltration (Adapté de : Hodge et Devinny, 1995)

2.4.3 Paramètres de conception et d'opération

2.4.3.1 Sélection du milieu filtrant

Le milieu filtrant doit posséder une surface d'échange élevée pour maximiser la surface d'attachement, la capacité d'adsorption et le nombre de sites de réaction par volume de milieu filtrant. De plus, une grande capacité de rétention d'eau est critique pour maintenir l'activité microbienne. La porosité du milieu doit être assez élevée pour offrir un bon temps de résidence dans le biofiltre et pour réduire les pertes de charge. Il doit être riche en nutriments et posséder un bon pouvoir tampon (Sukesan et Watwood, 1997).

Les types de milieu filtrant les plus utilisés sont le compost (Ergas et al., 1994), la tourbe (Shareefdeen et Baltzis, 1993), du sol (Terasawa et al., 1986) ou un mélange de ces composants. Un désavantage d'utiliser ces composants est la dégradation de leur partie organique ce qui détruit graduellement le lit filtrant. Ce phénomène de vieillissement entraîne la compaction et une réduction de la vie utile du biofiltre. Cependant, un mélange périodique du milieu filtrant augmente la porosité ce qui peut améliorer les performances (Swanson et Loehr, 1997). Du matériel inorganique comme les granules de charbon activé (Weber et Hartmans, 1995) ou de la terre de diatomées (Fayolle et al., 1997) a aussi été utilisé comme seul milieu filtrant. Cependant, l'utilisation de milieu inorganique comme milieu filtrant requiert l'ajout de nutriments et l'ensemencement de micro-organismes. Les amendements sont ajoutés dans le matériel de la matrice primaire. Des agents structurants légers tels que les copeaux de bois, la perlite, la vermiculite ou des

sphères de polystyrène peuvent être ajoutés pour réduire la compaction, améliorer la porosité, homogénéiser le débit gazeux, réduire la formation de chemins préférentiels et diminuer les pertes de charge. Le volume de la fraction des amendements est typiquement entre 40-60 % (Swanson et Loehr, 1997). Les amendements comme les granules de charbon activé peuvent aussi augmenter la capacité d'adsorption du biofiltre (Sukesan et Watwood, 1997). Le tamisage du milieu filtrant pour enlever les particules fines peut améliorer les propriétés du lit et diminuer la perte de charge. Pour réduire les pertes de charge, il est recommandé que 60 % massique du milieu filtrant soit composé de particules de diamètre supérieur à 4 mm (Corsi et Seed, 1994).

2.4.3.2 Teneur en eau

Le pourcentage d'humidité a été identifié comme le facteur le plus important. L'humidité du milieu doit être maintenue entre 40 et 60 % (Ottengraf et al., 1986). Un lit trop humide (> 70 %) cause une perte de charge élevée et un temps de rétention plus faible car les pores se remplissent d'eau. La création de zones anaérobies entraîne aussi la formation d'odeurs et de faibles taux de dégradation (Swanson et Loehr, 1997). Un biofiltre sec (< 40 %) diminue l'activité biologique et assèche le milieu filtrant (Van Groenestijn et Hesselink, 1993). Deux facteurs compliquent le maintien de la teneur en eau dans le biofiltre : la haute vitesse des gaz à l'entrée et les réactions exothermiques qui augmentent la température (Swanson et Loehr, 1997). Le maintien de l'humidité s'effectue de trois façons : l'humidification du gaz à l'entrée, l'addition directe de l'eau à la surface du milieu

filtrant ou une combinaison des deux dernières options (Van Groenestijn et Hesselink, 1993).

2.4.3.3 pH

Le pH a un effet sur les micro-organismes, en ce qui a trait à leur capacité d'effectuer des fonctions cellulaires et le transport transmembranaire de même que sur l'équilibre des réactions catalytiques. Le pH optimal pour un biofiltre est dans l'intervalle 7-8 (Leson et Winer, 1991). Le pH peut diminuer lors de la formation de H_2SO_4 due à la présence de H_2S dans le courant gazeux. Les composés qui contiennent de l'azote entraînent la formation d'ammoniaque. Les composés chlorés mènent à la formation de HCl. Si un biofiltre traite un de ces composés, il doit donc posséder un pouvoir tampon adéquat pour contrer les variations de pH. L'addition de chaux ou de coquilles d'huîtres broyées s'avère efficace (Ottengraf et VanDenOever., 1983).

2.4.3.4 Température

La biofiltration est recommandée pour les plages de températures mésophiles de 25-35 °C (Leson et Winer, 1991). En théorie, les taux de dégradation et de diffusion augmentent avec la température. Cependant, la solubilité des COV dans l'eau et la capacité d'adsorption du biofiltre diminuent (Leson et Winer, 1991; Bohn, 1992). La biofiltration peut aussi traiter des courants gazeux à haute température (50 °C) (Knauf et Zimmer, 1994; Matteau et Ramsay, 1997, 1998).

2.4.3.5 Nutriments

La présence de nutriments est une condition nécessaire à la biodégradation des hydrocarbures. L'azote et le phosphore sont les principaux éléments essentiels à la survie et à la croissance des micro-organismes. Les milieux organiques comme le compost fournissent généralement les nutriments en quantité suffisante. Si c'est nécessaire, les nutriments peuvent être ajoutés sous forme de NaNO_3 et de K_2HPO_4 (Swanson et Loehr, 1997).

2.4.3.6 Acclimatation

La période d'acclimatation dépend du substrat, de la concentration, du milieu et des conditions environnementales. La période d'adaptation est la période d'amorce durant laquelle l'efficacité d'enlèvement augmente jusqu'à ce qu'elle atteigne une valeur maximale. Ce phénomène arrive quand les micro-organismes adaptent leurs enzymes et les voies métaboliques pour métaboliser le substrat. Elle est souvent mesurée comme le temps nécessaire pour atteindre 95 % ou plus de la capacité maximale d'enlèvement (Swanson et Loehr, 1997). Si le milieu ne possède pas de micro-organismes indigènes en quantité suffisante, la période d'acclimatation est plus longue car les micro-organismes doivent se multiplier.

La période d'adaptation après un arrêt et un autre démarrage est plus rapide que la période d'acclimatation initiale à condition que le biofiltre ait été maintenu humide, en conditions aérobies et à une température optimale durant la période d'arrêt. Au démarrage, le biofiltre nécessite une période d'adaptation pour les micro-organismes pour s'adapter au courant de COV et pour atteindre le régime permanent. Après le démarrage, les milieux filtrants sont généralement résistants aux chocs de concentrations (Bohn, 1992).

2.4.3.7 Micro-organismes

Généralement, les micro-organismes prédominants dans les biofiltres qui traitent les COV sont hétérotrophes (Leson et Winer, 1991; Swanson et Loehr, 1997). La stratification selon le type et le nombre de micro-organismes s'effectue selon la hauteur du lit. Des populations denses se développent à l'entrée du courant gazeux où arrivent les substances à dégrader. Plus haut dans le lit, on retrouve des populations plus faibles de plusieurs organismes adaptés aux faibles concentrations de substrats plus complexes (Swanson et Loehr, 1997). L'ensemencement avec des souches microbiennes adaptées peut s'avérer nécessaire lorsque l'on traite des composés complexes comme des organiques halogénés pour assurer le dégradation (Ottengraf et al., 1986). Cependant, les micro-organismes ajoutés au milieu filtrant doivent compétitionner avec ceux déjà présents dans le milieu et sont normalement en désavantage (Bohn, 1992). La croissance et l'activité métabolique des micro-organismes du biofiltre dépend principalement de la présence d'oxygène dissous

dans le biofilm, l'absence de produits toxiques aux micro-organismes, la disponibilité des nutriments, une humidité suffisante et des intervalles de température et de pH acceptables (Swanson et Loehr, 1997).

2.5 Traitement du TCE gazeux

Les technologies couramment utilisées pour traiter les sites contaminés au TCE sont le stripage à l'air et l'extraction de vapeurs qui résultent en des concentrations gazeuses élevées de TCE. Le traitement de courants gazeux contaminés a été limité, jusqu'à dernièrement, à deux techniques : l'adsorption sur charbon activé et l'oxydation catalytique. Ces techniques ont quelques limitations. Contrairement à la biofiltration, l'adsorption sur charbon activé ne détruit pas les contaminants et la disposition ou la régénération du matériel adsorbant est très coûteuse. L'oxydation catalytique est dispendieuse. La biofiltration permettrait d'avoir des sous-produits non dangereux et elle est une technologie peu coûteuse (Fayolle et al., 1997).

La dégradation cométabolique du TCE gazeux par deux souches de *Pseudomonas* (*Ps. cepacia* et *Ps. mendocina* KR-1) qui métabolisent des composés aromatiques (phénol et toluène) a été évaluée dans un réacteur hydrosyphon (temps de résidence de 35 minutes). Ces micro-organismes pouvaient dégrader de 90 à 95 % du TCE dans l'air à des concentrations à l'entrée du réacteur de 300 à 4000 µg L⁻¹ (Ensley et Kurisko, 1994).

La biofiltration a été employée pour traiter un courant gazeux d'une usine de traitement d'eaux usées qui contenait du PCE (concentration moyenne à l'entrée : $61 \mu\text{g L}^{-1}$) et du TCE (concentration moyenne à l'entrée : $2,2 \mu\text{g L}^{-1}$). Après une période de 306 jours, dans un biofiltre de charbon activé, une période initiale d'adsorption a été suivie par un enlèvement biologique de 61 % pour le PCE et de 48 % pour le TCE. Dans un biofiltre au compost, l'enlèvement après la période initiale était de 40 % pour le PCE et de 49 % pour le TCE. Les biofiltres étaient généralement en conditions aérobies. Vu que la dégradation aérobie du PCE n'a pas encore été observée, la dégradation a eu lieu dans des zones anaérobies du biofiltre par déhalogénération réductive (Devinny et al., 1995).

La biodégradation du TCE gazeux a été observée dans un biofiltre de roche volcanique auquel de la biomasse était ajoutée (Fayolle et al., 1997). La souche utilisée pour l'inoculation était une bactérie méthanotrophe pure de souche C, isolée de la boue d'un étang. Avec un débit d'alimentation de TCE de $184 \mu\text{g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, une concentration en CH_4 de 230 mg L^{-1} a mené à la biodégradation de 71 % de la concentration de TCE à l'entrée. Le taux maximal de dégradation du TCE obtenu était de $623 \mu\text{g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Le biofiltre ne pouvait opérer sans ajout de biomasse car l'époxyde de TCE et les autres sous-produits de la dégradation du TCE inactivaient la MMO. Les souches pures de méthanotrophes ne possèdent pas la capacité de dégrader les sous-produits de la dégradation du TCE en CO_2 alors , ils s'accumulent dans le milieu et endommagent les cellules des méthanotrophes.

Un milieu filtrant composé de fumier de poulet composté et d'écorce de pin inoculé avec un consortium qui utilise le propane a dégradé le TCE (Lackey et Boles, 1997). Les expériences ont été menées en continu et avec des pulsations sur un cycle de 4 heures : ajout de TCE ($2,8 \text{ mg L}^{-1}$) pendant 2 heures, ajout d'air pendant 1 heure et ajout de 1,5 % (v/v) de propane pendant 1 heure. Trois semaines ont été nécessaires pour obtenir un régime permanent (consommation constante de propane). Les cycles de pulsation sont utilisés pour éliminer la compétition entre le TCE et le propane pour les sites de la MMO. L'ajout d'air permet aux hétérotrophes du milieu de croître tandis que l'ajout de propane permet la croissance des bactéries utilisatrices de propane qui dégradent le TCE. Par la suite, l'arrêt de l'alimentation en propane et le début de l'alimentation en TCE permet d'obtenir des taux de dégradation supérieurs. La dégradation du TCE augmentait avec une diminution de la concentration de propane. Le taux de dégradation du TCE augmentait avec un accroissement de la concentration de TCE dans le courant d'entrée. Pour l'expérience avec pulsation, un enlèvement du TCE de 80 % a été observé pendant 12 heures après avoir arrêté l'alimentation en propane. Un enlèvement du TCE de 99 % a été obtenu avec un temps de résidence de 15 minutes et une concentration de TCE à l'entrée de $0,28 \text{ mg L}^{-1}$. Une dégradation du TCE supérieure à 80 % a été obtenue avec des concentrations de TCE variant entre $0,28$ et $0,84 \text{ mg L}^{-1}$.

L'étude de Sukesan et Watwood (1997) a démontré qu'un biofiltre composé de compost de feuilles et stimulé par le propane pouvait dégrader le TCE gazeux à une efficacité

supérieure à 95 % pour des concentrations de TCE variant entre 17-47 µg L⁻¹. Si ce même biofiltre était amendé avec des granules de charbon activé, l'efficacité d'enlèvement du TCE dépassait 97 %. La réduction de la concentration de propane suite à l'introduction du TCE a été favorable pour la dégradation du TCE.

Chapitre 3 - Matériel et méthodes

3.1 Matériel

Le TCE (grade laboratoire), le chloroforme (grade laboratoire), le KOH de même que les produits utilisés pour la préparation du milieu faible en sel de nitrate (LNSM : Low Nitrate Salt Medium) provenaient de la compagnie Anachemia de Montréal. Pour les essais de minéralisation, du ^{14}C -TCE d'une pureté supérieure à 98 % avec une activité spécifique de 5,4 mCi (mM) $^{-1}$ a été utilisé (Sigma Chemicals, Saint-Louis, MI).

Le CH₄ (grade CP), l'hélium (grade HP+), l'air (grade zéro), l'hydrogène (grade HP+), l'azote (grade HP+) de même que le mélange air : CO₂ (20 % v/v) provenaient de cylindres de gaz comprimé de la compagnie Air Liquide Canada.

Les bactéries méthanotrophes utilisées au cours des expériences provenaient du réacteur à sol immobilisé en conditions méthanotrophes (Pierre, 1997). Initialement, les bactéries provenaient d'un sol possédant un potentiel indigène méthanotrophe prélevé au Lac des Atocats du Mont Saint-Bruno.

3.2 Préparation de milieu

3.2.1 Milieu faible en sel de nitrate

Le milieu utilisé pour la croissance des bactéries méthanotrophes était constitué de : 2 mM de NaNO₃, 2mM de tampon phosphate (3,9 mM de KH₂PO₄ et 6,0 mM de Na₂HPO₄), 50 µM de MgSO₄•7H₂O et 80 µM de FeSO₄•7H₂O (Pierre, 1997). Cette solution avait un pH de 6,88. Lors de la préparation du milieu solide, les mêmes ingrédients étaient utilisés avec un ajout de 1,5 % d'agar noble (Difco, Détroit, MI).

3.2.2 Milieu nutritif

Le milieu nutritif solide utilisé pour vérifier la présence de bactéries hétérotrophes était constitué de : 8 g L⁻¹ de bouillon nutritif (Becton Dickinson, Cokeysville, MD), 1 g L⁻¹ d'extrait de levure (Becton Dickinson), 10 g L⁻¹ de glucose (Anachemia) et de 15 g L⁻¹ d'agar granulé (Fisher Scientific, Montréal, Canada).

Les milieux ont été stérilisés à 121 °C, sous une pression de 1 atm, durant 20 minutes.

3.3 Enrichissement des bactéries méthanotrophes

3.3.1 Enrichissement en milieu liquide

Pour enrichir les bactéries indigènes du sol, 50 mL de solution de sol et 50 mL de milieu LNSM ont été versés dans un Erlenmeyer de 250 mL. L'Erlenmeyer a ensuite été déposé dans une jarre anaérobie dans un environnement gazeux CH₄ : air : CO₂ (5 : 4 : 1 v/v). Le mélange gazeux a été circulé à l'intérieur de la jarre. La pression à l'intérieur de la jarre a été ajustée à 1 bar. Par la suite, la jarre était placée sur un agitateur magnétique dans un incubateur à 30 °C pendant 5 jours. L'atmosphère de la jarre a été renouvelée quotidiennement. Pour vérifier la croissance des bactéries méthanotrophes dans la solution, 30 mL étaient déposés dans une bouteille sérologique (Fisher Scientific) de 120 mL scellée avec une valve Mininert (Supelco, Bellafonte, PA). Par la suite, la concentration initiale de CH₄ a été mesurée. La consommation de CH₄ indiquait la présence de bactéries méthanotrophes.

3.3.2 Enrichissement en milieu solide

L'enrichissement des méthanotrophes en milieu solide a été effectué dans des colonnes de Plexiglas de 2,4 L (10,1 cm de diamètre et de 30 cm de hauteur) (Figure 3.1). De l'air humide et du CH₄ (4 % v/v) étaient mélangés. Le mélange gazeux (1,5 L min⁻¹) entrait dans la colonne, l'endroit où le CH₄ était consommé. Le gaz à la sortie était dirigé vers une hotte. Lors de l'enrichissement des méthanotrophes au gaz naturel (4 % v/v de CH₄),

le gaz naturel contenant 95 % v/v de CH₄ provenait de Gaz Métropolitain (Montréal). Selon les expériences réalisées, l'inoculum était, soit 240 mL de liquide (1/10 du volume du réacteur) provenant d'un consortium de méthanotrophes d'un réacteur à sol immobilisé en fonctionnement (Pierre, 1997) ou 240 mL d'un ancien milieu filtrant. Du compost (Biosol, Fafard et Frères ltée, Saint-Guillaume, Québec) et de la mousse de tourbe de sphaigne (Les Tourbières Premier ltée, Rivière-du-Loup, Québec) ont été utilisés comme milieu filtrant. Le compost est un compost de mousse de tourbe, de végétaux et de fumure organique. Il contient plus de 50 % de matière organique et il a un pH équilibré.

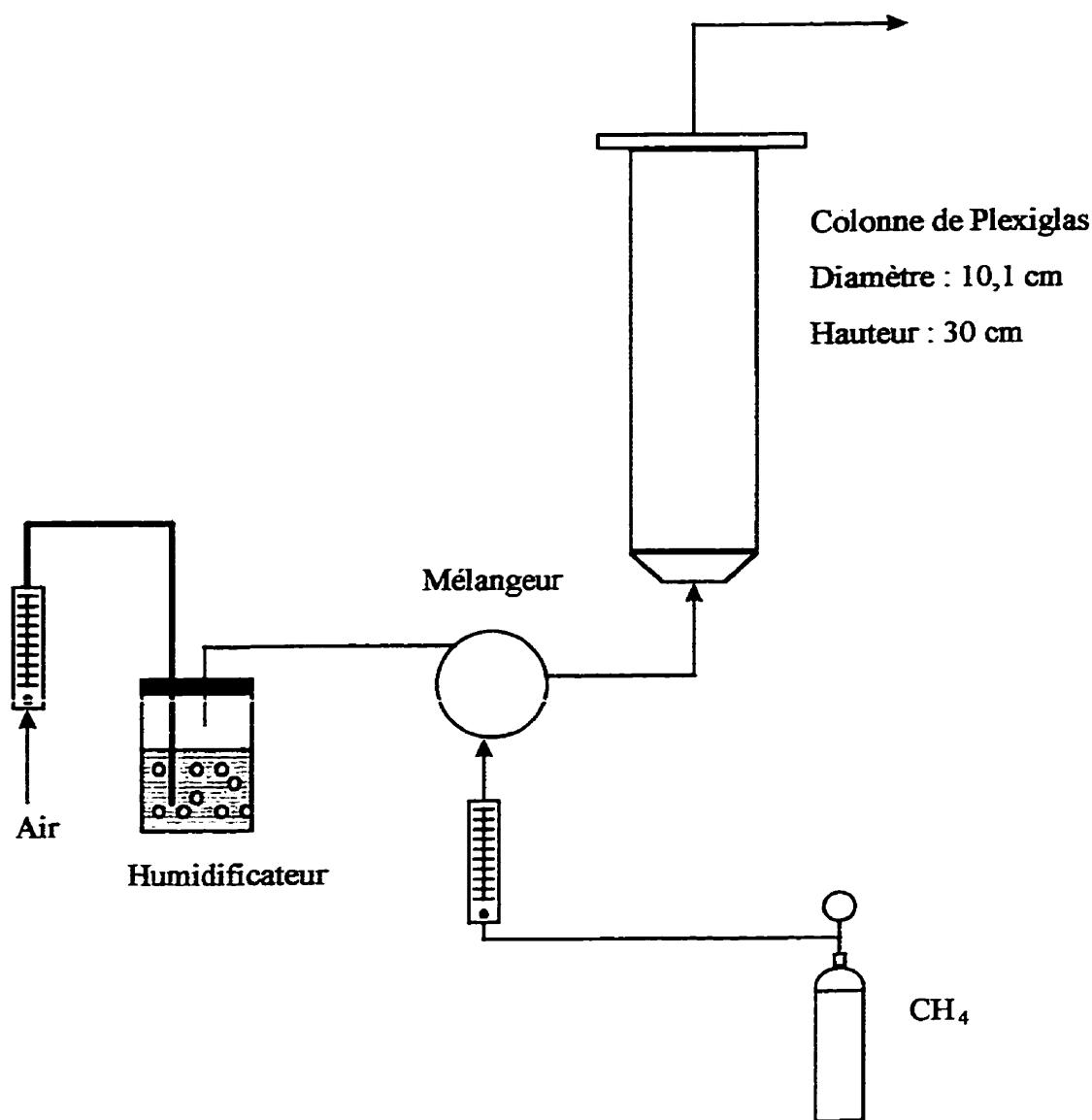


Figure 3.1 : Colonne d'enrichissement

3.4 Biofiltre

Le biofiltre (Figure 3.2) était composé de trois sections de 0,5 m chacune. Entre chaque section, il y avait une grille métallique et un joint d'étanchéité en Teflon. Le réacteur de diamètre interne de 9,7 cm était en acier inoxydable pour éviter l'adsorption du CH₄ et du TCE. Tous les tuyaux reliés au biofiltre étaient en Teflon (D.I. 0,3175 cm, D.E. 0,635 cm et D.I. 0,635 cm, D.E. 0,9525 cm, SE-200) pour éviter la diffusion du CH₄ à travers les parois des tuyaux et pour éviter l'adsorption du TCE. L'air venait de l'École et était contrôlé par un rotamètre. L'air a été humidifié, par barbotage dans un Erlenmeyer contenant de l'eau, avant son entrée dans un mélangeur (Erlenmeyer de 500 mL), où le TCE et le CH₄ étaient ajoutés. Le débit de CH₄ a été ajusté à l'aide d'un rotamètre pour obtenir la concentration voulue dans le courant gazeux. Le TCE gazeux a été généré par évaporation du TCE liquide. Les gaz de sortie ont été dirigés vers une hotte. L'inoculum liquide pour le milieu filtrant a été préparé par la méthode d'enrichissement en milieu liquide (3.3.1) à partir des sols indigènes. Avant l'inoculation du milieu solide, 100 µL du milieu liquide a été étalé sur des géloses solides de LNSM et de milieu nutritif. Les géloses ont été incubées, à 30 °C, dans une jarre anaérobie avec un environnement gazeux CH₄:air:CO₂ (5:4:1 v/v). Des géloses ont aussi été incubées sans CH₄ et CO₂. La croissance sur milieu LNSM dans un environnement avec CH₄ et une absence de croissance sur gélose LNSM dans un environnement d'air a confirmé la présence de méthanotrophes. Aucun décompte bactérien n'a été effectué.

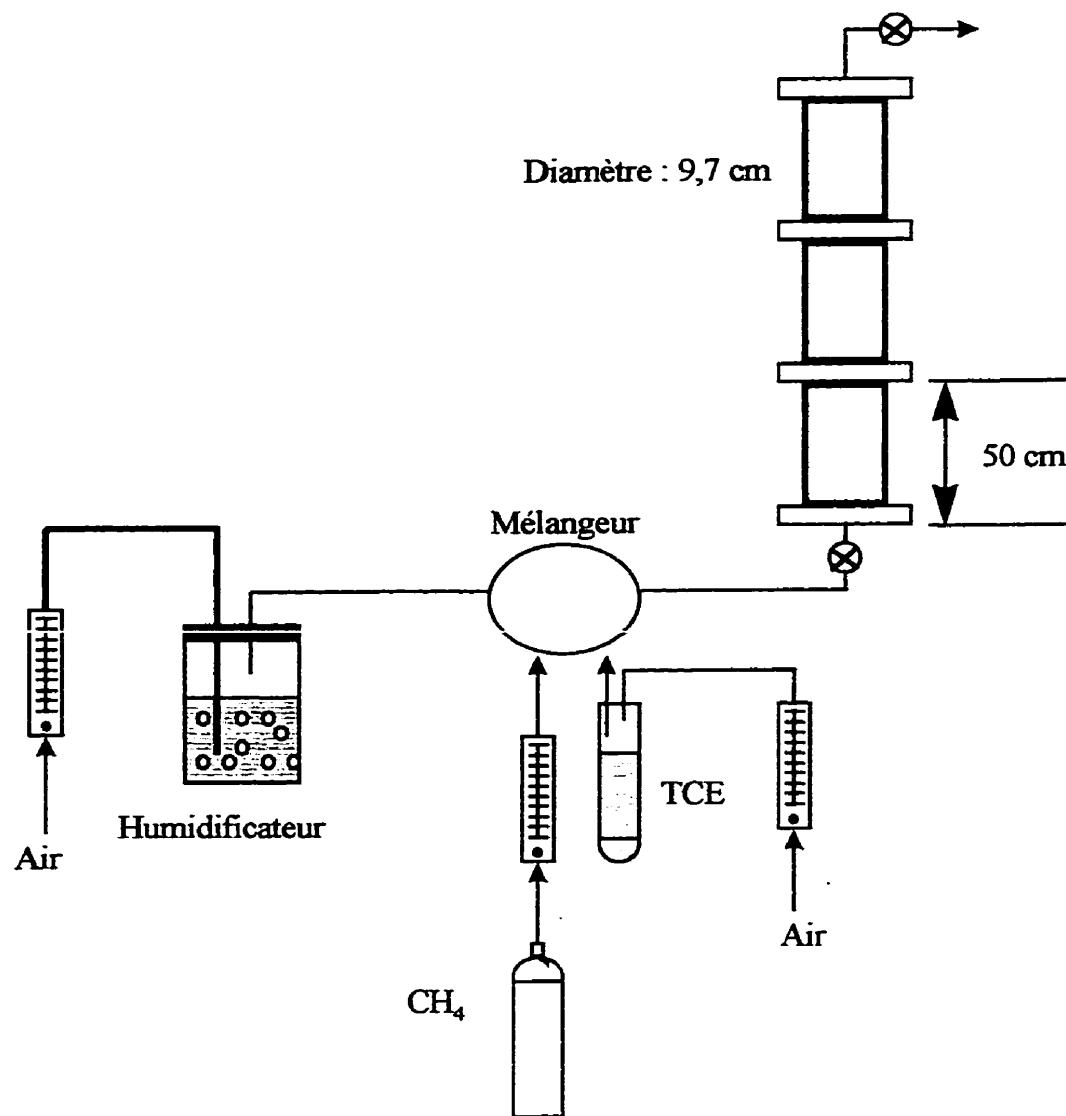


Figure 3.2 : Procédé de biofiltration : (⊗) points d'échantillonnage

3.4.1. Échantillonnage du CH₄ et du TCE à l'entrée et à la sortie du biofiltre

L'échantillonnage du CH₄ et du TCE a été effectué en prélevant respectivement 50 µL et 10 µL de la phase gazeuse à l'entrée et à la sortie du biofiltre (voir points d'échantillonnage sur la figure 3.2). Les échantillons d'air étaient injectés manuellement dans un chromatographe en phase gazeuse. Les injections étaient effectuées en triplicata. À partir de courbes standards tracées préalablement, la quantité de CH₄ et de TCE qui entrait et qui quittait le biofiltre pouvait être déterminée.

3.5 Essais de minéralisation

3.5.1 Préparation des microcosmes

Un poids de 10 g de matrice solide (sol, compost, tourbe ou milieu filtrant selon les expériences) a été déposée dans une bouteille sérologique de 120 mL. La solution de TCE marqué au carbone -14 (uniformément marqué) a été utilisée pour obtenir dans les microcosmes une activité totale de 100 000 dpm (désintégrations/minute). Le TCE radioactif a été ajouté à l'aide d'une seringue de verre de 1 µL (Hamilton, série 7000, Reno, NV) sur les parois du tube de verre pour permettre une vaporisation complète dans l'espace gazeux. Pour les concentrations de TCE plus élevées, du TCE non radioactif a également été ajouté dans les bouteilles. Chacun des microcosmes (Figure 3.3) était muni d'une trappe à CO₂ constituée de 1 mL de KOH (1 N) déposé dans un tube de verre de 5 mL de 10 mm de diamètre (Fisher Scientific) à l'intérieur de la bouteille. Les

microcosmes ont été scellés à l'aide de valves Mininert en Teflon et entreposés, sans agitation, à la noirceur et à la température mesurée dans la matrice au moment de l'échantillonnage. Les microcosmes ont été réalisés en triplicata. Afin de tenir compte des pertes abiotiques des composés radioactifs, des témoins contenant 0,02 % (m/m) d'azoture de sodium (NaN_3) (Anachemia) étaient préparés. Un contrôle d'adsorption a aussi été effectué pour vérifier le pourcentage de ^{14}TCE capté par la solution alcaline. Le pourcentage de ^{14}TCE capté par le KOH a été déterminé en injectant une quantité de TCE connue dans une bouteille sérologique sans sol.

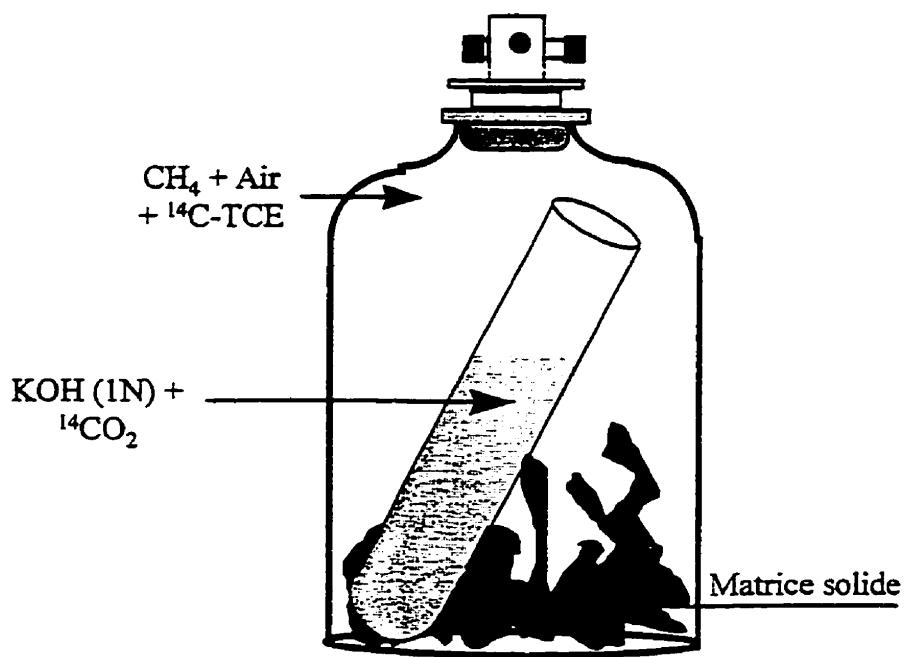


Figure 3.3 : Représentation schématique d'un microcosme avec une matrice solide en contact avec du TCE en phase vapeur

3.5.2 Échantillonnage des microcosmes

L'échantillonnage des microcosmes s'effectuait de façon périodique à intervalle de deux jours. Le KOH (1 mL) contenant le $^{14}\text{CO}_2$ a été échantillonné et déposé dans une fiole de 20 mL (Fisher Scientific). La trappe a été rincée une fois avec 1 mL de KOH puis a été remplie avec une solution fraîche de 1 mL de KOH. Aux 2 mL de KOH prélevés, 10 mL de cocktail à scintillation (OptiPhase Hisafe 3, Fisher Scientific) ont été ajoutés. Les fioles ont été mélangées. La radioactivité captée par la solution alcaline a été mesurée par un compteur à scintillation (LSC 1409, Wallac, Turku, Finlande). La minéralisation du polluant radiomarqué a ainsi été mesurée par la production de $^{14}\text{CO}_2$ (issue de la minéralisation du polluant) qui avait réagi avec la solution de KOH.

L'activité de minéralisation exprimée en dpm, a été convertie en masse de TCE minéralisé à partir de l'équation suivante :

$$M_{\text{TCE}} = \frac{\text{dpm}_{\text{cumulatif}}}{\text{dpm}_{\text{std}}} * V_{\text{TCE}} * \rho_{\text{TCE}} \quad (1)$$

où M_{TCE} correspond à la masse de TCE minéralisé, $\text{dpm}_{\text{cumulatif}}$ représente la quantité cumulative de radioactivité récupérée, dpm_{std} est la quantité de radioactivité ajoutée au départ et V_{TCE} et ρ_{TCE} représentent respectivement le volume de TCE injecté et la densité du TCE.

3.6 Méthodes analytiques

3.6.1 Analyse du CH₄

Le CH₄ a été analysé par chromatographie en phase gazeuse (CPG, HP 5890, Hewlett-Packard, Mississauga, Ontario). Le chromatographe était équipé d'une colonne HP-1 (crosslinked methyl silicone gum, 15 m x 0,53 mm x 0,15 µm d'épaisseur de film, Hewlett-Packard) et d'un détecteur d'ionisation de flamme (DIF). Le tout a été analysé par un intégrateur (HP-3396 A) couplé au CPG. Les concentrations en CH₄ dans les échantillons ont été interprétées à l'aide d'une courbe de calibration réalisée par la préparation de standards de CH₄. À tous les jours d'utilisation du CPG-DIF, 3 standards étaient injectés pour pouvoir analyser les concentrations inconnues. Entre chaque échantillon, un échantillon d'air environnant était injecté pour ne pas fausser les résultats suite à une adsorption de la seringue ou de ses composantes (valve, aiguille). L'écart entre deux injections d'une même concentration inférieure à 10 % était tolérable.

Le programme de température utilisé était le suivant : la température du four a été augmentée de 60 °C à 90 °C à un taux de 15 °C min⁻¹ et de 90 °C à 120 °C à un taux de 10 °C min⁻¹. L'injecteur et le détecteur ont été maintenus respectivement à 90 °C et 220 °C. La pression de la colonne a été maintenue à 3 psig. L'hélium a été utilisé comme gaz porteur (138 kPa).

Les standards de CH₄ (1, 5, 10, 15 et 25 % v/v) ont été préparés en injectant un volume connu de CH₄ dans des bouteilles sérologiques de 120 mL scellées avec des valves Mininert.

Les standards ont été injectés par ordre croissant de concentration en triplicata. Pour chaque standard, un volume de 50 µL a été injecté manuellement au CPG-DIF à l'aide d'une seringue étanche en verre de 250 µL équipée d'une valve en Teflon pour la préparation de la courbe standard (Annexe A).

3.6.2 Analyse du TCE

Le TCE a été analysé par chromatographie en phase gazeuse (CPG, HP-5890, Hewlett-Packard). Le chromatographe était équipé d'une colonne capillaire (HP-5, (réticulé 5 % Ph Me Silicone) 25 m x 0,2 mm x 0,33 µm d'épaisseur de film) et d'un détecteur de capture d'électrons (dce). Le tout a été analysé par un intégrateur (HP-3396 A) couplé au CPG. Les concentrations de TCE dans les échantillons ont été interprétées à l'aide d'une courbe de calibration réalisée par la préparation de standards de TCE. À tous les jours d'utilisation du CPG-dce, 3 standards étaient injectés pour pouvoir analyser les concentrations inconnues.

Le programme de température utilisé était le suivant : la température du four a été augmentée de 45 °C à 150 °C à un taux de 10 °C min⁻¹. L'injecteur (split/splitless) et le

détecteur (dce) ont été maintenus respectivement à 150 °C et 250 °C. L'hélium a été utilisé comme gaz porteur (138 kPa).

Les standards de TCE (2, 5, 10, 20 et 30 mg L⁻¹) ont été préparés en injectant un volume liquide connu de TCE dans des bouteilles sérologiques de 120 mL scellées avec des valves Mininert. La quantité de liquide était par la suite volatilisée.

Les standards ont été injectés par ordre croissant de concentration en triplicata. Pour chaque standard, un volume de 10 µL injecté manuellement au CPG-dce à l'aide d'une seringue étanche en verre de 50 µL équipée d'une valve en Teflon pour la préparation de la courbe standard (Annexe B).

Le taux de dégradation du TCE a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Taux} = \frac{[\text{TCE}]_{\text{in}} - [\text{TCE}]_{\text{out}}}{V_B} \cdot q \quad (2)$$

où q était le débit gazeux qui traverse le biofiltre (L min⁻¹) et V_B, le volume du biofiltre (L).

L'efficacité de dégradation du biofiltre a été calculée de la façon suivante :

$$\text{Efficacité} = \left(\frac{[\text{TCE}]_{\text{in}} - [\text{TCE}]_{\text{out}}}{[\text{TCE}]_{\text{in}}} \right) \times 100 \quad (3)$$

Les mêmes formules ont été employées pour calculer le taux de consommation et l'efficacité de consommation du CH₄.

3.7 Sorption sur le milieu filtrant

3.7.1 Sorption du TCE et du CH₄

L'adsorption du TCE a été mesurée sur des échantillons de milieu filtrant (compost + perlite) préalablement traités avec du triazoture de sodium (NaN₃ : 0,4 % m/m). En premier lieu, les échantillons de milieu filtrant ont été séchés durant 24 heures à la température de la pièce. Ensuite, l'eau évaporée a été remplacée par une quantité égale de la solution de triazoture de sodium. Environ 10 g humide de milieu filtrant traité, occupant un volume approximatif de 30 mL, a été ajouté dans des bouteilles sérologiques de 120 mL. Le TCE a été ajouté sous forme liquide à l'aide d'une seringue (Hamilton, série 7000) dans les bouteilles sérologiques scellées avec des valves Mininert (Supelco). La concentration gazeuse de TCE variait entre 1 et 30 mg L⁻¹. Pour chaque concentration, il y avait deux témoins qui ne contenaient aucun milieu filtrant. Les témoins indiquaient la concentration initiale de TCE ajouté au début de l'expérience. Un contrôle biotique fut réalisé par un essai de minéralisation avec du TCE radio-marqué. La même quantité de milieu filtrant traité au NaN₃ (10 g) a été ajoutée dans ce contrôle. Le

contrôle biotique a permis de quantifier la quantité de TCE volatilisé et de vérifier si tous les micro-organismes avaient été détruits par le traitement au triazoture de sodium. Six concentrations variant de 1 à 30 mg L⁻¹ ont été étudiées en triplicata. Toutes les bouteilles sérologiques ont été incubées à la température de la pièce (environ 22 °C) et à la noirceur durant une période de 96 heures. Après cette période d'incubation, la concentration résiduelle de TCE a été quantifiée par chromatographie en phase gazeuse (3.6.2). Un second échantillonnage a été effectué après 120 heures pour vérifier si la concentration résiduelle correspondait à la concentration à l'équilibre.

La même procédure a été employée pour quantifier la sorption du CH₄ sur le milieu filtrant. La seule différence est que l'ajout de CH₄ a été effectué sous forme gazeuse dans l'espace d'air libre dans les bouteilles sérologiques. Une quantité égale d'air doit être préalablement enlevé des bouteilles pour éviter une surpression. Une valve en Teflon installée après la seringue permet d'éviter une perte de gaz lors de l'ajout dans les bouteilles. Six concentrations variant entre 1 et 25 % (v/v) ont été étudiées en triplicata avec deux témoins. Les bouteilles ont été incubées à 22 °C et à la noirceur durant 96 heures. Après cette période d'incubation, la concentration résiduelle de CH₄ a été quantifiée par chromatographie en phase gazeuse (3.6.1). Un second échantillonnage a été effectué après 120 heures pour vérifier si la concentration résiduelle était la concentration à l'équilibre.

Chapitre 4 - Résultats et analyse

4.1 Dégradation du TCE en phase gazeuse

La dégradation du TCE dans un système gaz-solide a été démontrée par des essais de minéralisation, à partir de sols indigènes contenant des méthanolotrophes (Tableau 4.1). La biodégradation a été effectuée pour deux pourcentages de CH₄ : 0 et 50 %. Initialement, la teneur en eau (Annexe C) des sols était de 50 % avec un pH (Annexe D) de 6,5. La concentration de TCE ajoutée dans les micocosmes a été de 2,44 mg L⁻¹.

Même sans addition de CH₄, une dégradation significative du TCE a été observée (Figure 4.1). Pour expliquer cette dégradation, une hypothèse a été émise : les méthanolotrophes ont peut-être accumulé du polyhydroxybutyrate (PHB) (Annexe E) qui constitue une source d'énergie en réserve qu'elles pourraient utiliser en l'absence de CH₄. La présence de PHB a été détectée en faible quantité dans les deux échantillons de sols : 0,06 mg g⁻¹ pour le sol 1 et 0,08 mg g⁻¹ pour le sol 2. La dégradation du TCE par le sol 2 est supérieure à celle observée pour le sol 1 à cause de son contenu en PHB supérieur. La dégradation du TCE pourrait aussi être due à la présence de bactéries anaérobies qui dégradent le TCE lorsque tout l'O₂ présent dans le microcosme est consommé. Pour les micocosmes qui contenaient 50 % de CH₄, toutes les courbes (Figure 4.2) ont atteint un

plateau après environ 15 jours, ce qui indiquait une limitation par un facteur autre que le CH₄ où une inhibition par un produit de dégradation.

Des pourcentages de dégradation du TCE ont été obtenus pour les témoins abiotiques (sol avec NaN₃) : (12,8 ± 1,2) % pour les bouteilles qui contenaient 50 % de CH₄ et de (19,2 ± 3,1) % pour celles qui ne contenaient pas de CH₄. Cependant, ce pourcentage correspond à la quantité de TCE radio-marqué qui est capté par la solution alcaline de KOH (15,2 ± 1,2) % et non à une dégradation microbiologique.

Tableau 4.1 : Dégradation du TCE en phase gazeuse par des sols indigènes contenant des méthanotrophes

| Sols | 0 % CH ₄ | | 50 % CH ₄ | |
|------|-------------------------|--|-------------------------|--|
| | % dégradation du TCE | Taux initial (mg TCE (kg sol sec) ⁻¹ d ⁻¹) | % dégradation du TCE | Taux initial (mg TCE (kg sol sec) ⁻¹ d ⁻¹) |
| 1 | 44,0 ± 0,3 | 1,81 ± 0,07 | 42,1 ± 1,9 | 2,56 ± 0,05 |
| 2 | 54,0 ± 4,2 | 2,32 ± 0,10 | 54,2 ± 4,7 | 5,00 ± 0,12 |

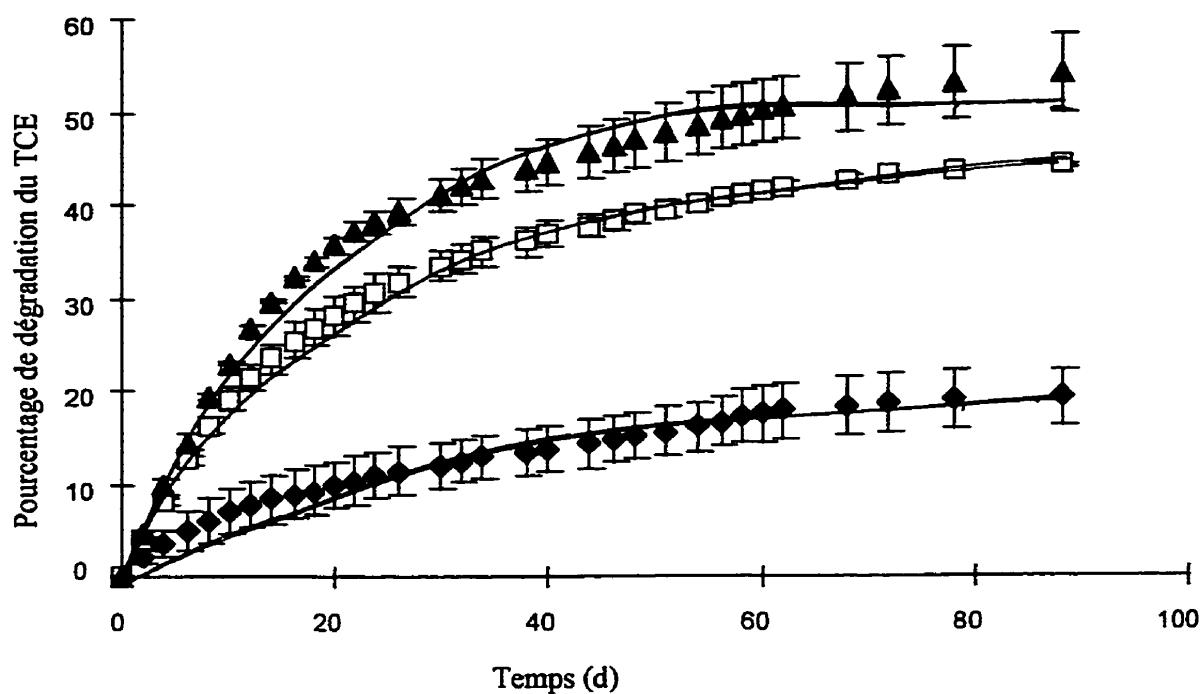


Figure 4.1: Pourcentage de dégradation du TCE en phase gazeuse par les méthanotrophes sans ajout de CH₄ (◆) Témoin abiotique (Sol + NaN₃); (□) Sol 1; (▲) Sol 2

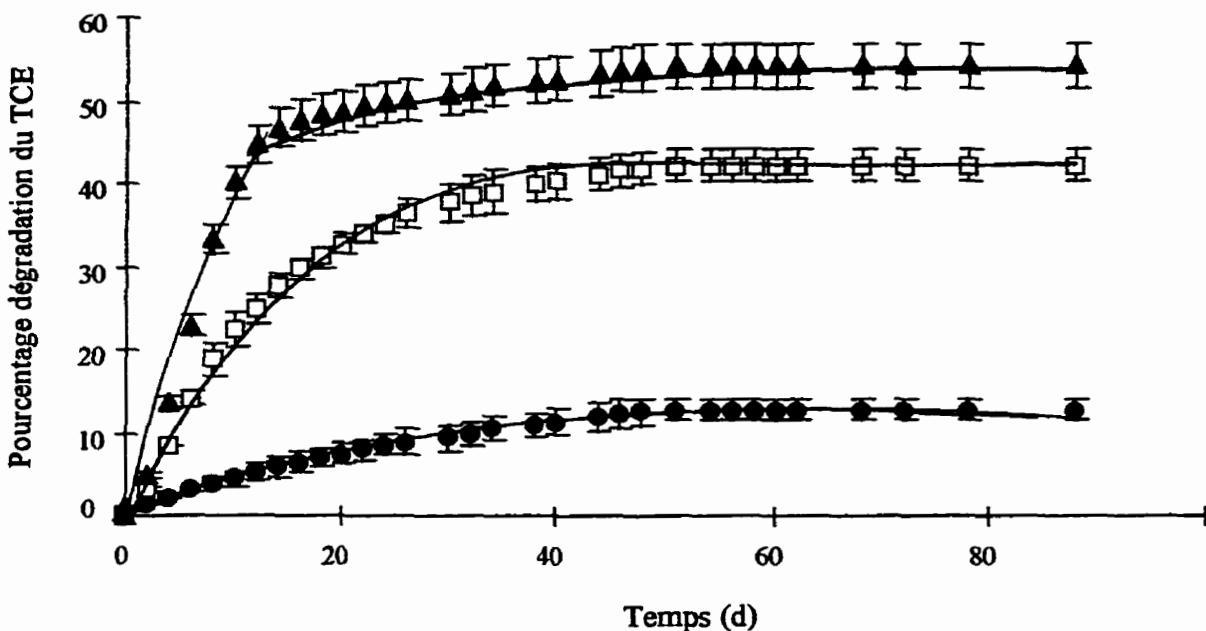


Figure 4.2 : Pourcentage de dégradation du TCE en phase gazeuse par les méthanolotrophes avec un ajout de 50 % de CH₄ dans les microcosmes (●) Témoin abiotique (Sol + NaN₃); (□) Sol 1; (▲) Sol 2

Pour les deux sols, les taux initiaux de dégradation obtenus ont été supérieurs avec addition de CH₄. Les pourcentages maximaux de dégradation atteints, après une période de 90 jours, étaient assez semblables. Cependant, en l'absence de CH₄, le temps nécessaire pour atteindre ce pourcentage de dégradation a été plus long. Le taux maximal de dégradation atteint a été de 5 mg TCE (kg sol sec)⁻¹ d⁻¹ avec un pourcentage de minéralisation de 54,2 % pour le sol 2, dans les microcosmes qui contenaient 50 % de CH₄.

4.2 Effet de paramètres clés sur la dégradation du TCE dans un système gaz-solide méthanotrophe

Les objectifs principaux de cette section étaient de déterminer l'effet de l'enrichissement des bactéries méthanotrophes, de la concentration de CH₄, de la concentration de TCE, du remplacement du CH₄ par le gaz naturel et du temps d'enrichissement sur la dégradation du TCE dans un système gaz-solide.

4.2.1 Enrichissement des méthanotrophes

L'objectif de l'expérience était de déterminer si l'enrichissement des méthanotrophes étaient nécessaires pour la dégradation du TCE en phase gazeuse en contact avec un milieu filtrant. La tourbe et le compost ont été choisis comme milieu filtrant parce qu'ils sont régulièrement utilisés pour la biofiltration car ils sont poreux et permettent aux bactéries de se fixer et de croître. Des essais de minéralisation (10 g de compost ou de tourbe, 4 % de CH₄ et 2,44 mg L⁻¹ TCE), réalisés en triplicata, ont été effectués avec de la tourbe et du compost auquel des bactéries méthanotrophes ont été ajoutées sans enrichissement préalable. Le pourcentage maximal de minéralisation atteint a été de (3,8 ± 1,4) % pour la tourbe et de (10,3 ± 3,0) % pour le compost. Suite au faible pourcentage de dégradation obtenu, deux colonnes de Plexiglas de 2,4 L (10,1 cm de diamètre et 30 cm de hauteur) ont été respectivement remplies de compost et de tourbe. Un inoculum liquide contenant des méthanotrophes (provenant d'un réacteur à sol immobilisé méthanotrophe en fonctionnement (Pierre, 1997)) a été ajouté dans ces colonnes (10 %

v/v). De l'air humide contenant 4 % de CH₄ a été injecté dans les colonnes durant un mois. Par la suite, des essais de minéralisation du TCE en microcosmes furent réalisés à partir de la tourbe enrichie et du compost enrichi.

Le pourcentage de TCE radio-marqué capté par la solution alcaline a été de 8,2 %. Le pourcentage de dégradation maximal atteint pour la tourbe enrichie était faible ((14,1 ± 0,4) %) car il est possible que la tourbe ne contienne pas les éléments nutritifs nécessaires pour assurer la croissance des micro-organismes. Pour le compost enrichi, le pourcentage de dégradation maximal obtenu est de (90,5 ± 1,0) % avec un taux initial de dégradation de ((4,76 ± 0,35) mg TCE (kg compost sec)⁻¹ d⁻¹) pour un pourcentage de CH₄ de 4 % (Figure 4.3). Le compost est donc un milieu propice à l'enrichissement des bactéries. De plus, l'enrichissement des bactéries méthanotrophes est nécessaire pour la biodégradation du TCE.

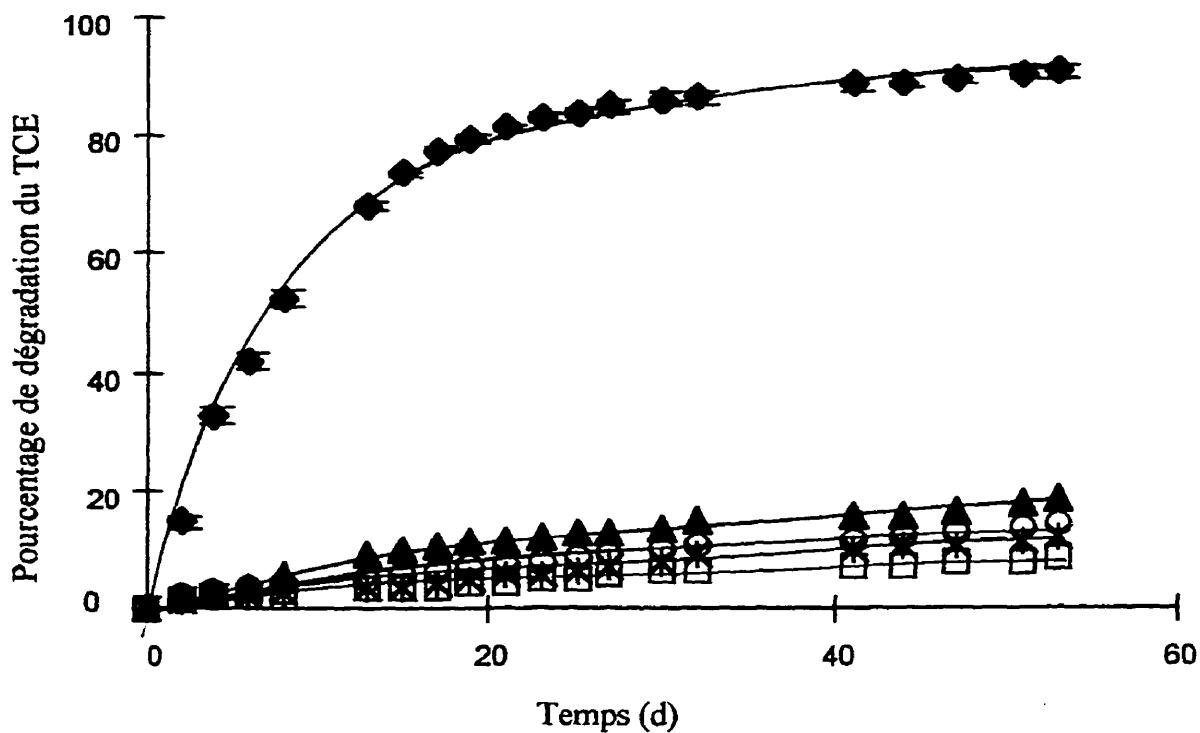


Figure 4.3 : Effet de l'enrichissement des méthanotrophes sur la dégradation du TCE pour du compost et de la tourbe (□) Témoin abiotique; (*) Tourbe + méthanolotrophes; (▲) Compost + méthanolotrophes; (◆) Compost enrichi; (○) Tourbe enrichie (Les incertitudes (Annexe F) sur les 4 premières courbes n'ont pas été ajoutées pour faciliter la lecture du graphique.)

4.2.2 Effet de la concentration du CH₄ sur la dégradation du TCE

À partir du compost enrichi de l'expérience précédente, des essais de minéralisation ont été réalisés en triplicata avec différentes concentrations initiales de CH₄ (de 0 à 90 % v/v) ajouté aux microcosmes. La concentration de TCE ajoutée dans chacun des microcosmes était de 2,44 mg L⁻¹.

En général, une augmentation de la concentration initiale de CH₄ ajouté aux microcosmes a entraîné une diminution du taux de dégradation du TCE (Tableau 4.2). L'explication probable est que le CH₄ et le TCE sont en compétition pour le site actif de la MMO. L'affinité de la MMO pour le CH₄ est plus élevée que celle pour le TCE (Park et al., 1991). Plus la quantité de CH₄ est élevée, plus les sites actifs de la MMO captent le CH₄. Il y a donc moins de TCE dégradé. Le taux initial de dégradation du TCE était maximal pour 4 % de CH₄. Par la suite, il demeurait assez constant.

Tableau 4.2 : Effet de la concentration de CH₄ sur la dégradation du TCE

| % initial de CH ₄ | % initial d'O ₂ | % dégradation du TCE | Taux initial de dégradation du TCE (mg TCE (kg sec compost) ⁻¹ d ⁻¹) |
|---------------------------------|-------------------------------|-------------------------|---|
| 0 | 21 | 85,9 ± 7,2 | 3,21 ± 0,46 |
| 4 | 20,6 | 90,5 ± 1,0 | 4,76 ± 0,35 |
| 10 | 18,9 | 20,9 ± 3,5 | 1,15 ± 0,48 |
| 15 | 17,85 | 16,1 ± 0,9 | 1,20 ± 0,23 |
| 30 | 14,7 | 13,5 ± 0,5 | 1,49 ± 0,11 |
| 40 | 12,6 | 13,0 ± 1,3 | 2,86 ± 0,47 |
| 50 | 10,5 | 12,5 ± 1,4 | 1,55 ± 0,81 |
| 60 | 8,4 | 11,8 ± 1,1 | 0,88 ± 0,13 |
| 75 | 5,25 | 13,9 ± 1,5 | 0,23 ± 0,09 |
| 90 | 2,1 | 12,3 ± 2,4 | 1,72 ± 0,26 |

Les microcosmes possèdent tous une quantité d'O₂ suffisante pour la minéralisation complète du TCE. Cependant, seul le microcosme avec 4 % de CH₄ possède une quantité d'O₂ suffisante pour minéraliser complètement le TCE et consommer en entier le CH₄ (Annexe G). À partir d'une concentration de 10 % de CH₄ ajoutée dans les microcosmes, il y a limitation en O₂ ce qui peut expliquer les plus faibles pourcentages de minéralisation du TCE.

4.2.3 Effet de la concentration initiale de TCE sur la dégradation du TCE

La cinétique de dégradation du TCE a été effectuée en microcosmes (triplicata) contenant 4 % de CH₄ et du compost enrichi (10 g). Les concentrations de TCE ont été variées entre 1,44 mg L⁻¹ et 30 mg L⁻¹. La durée de l'expérience a été de 33 jours.

Les concentrations de TCE jusqu'à 30 mg L⁻¹ ne sont pas inhibitrices pour les micro-organismes (Tableau 4.3). Les pourcentages maximaux (après 33 jours) de dégradation de TCE les plus élevés ont été atteints à des concentrations de 2,44 et 4 mg L⁻¹ de TCE mais le taux initial de dégradation a augmenté avec la concentration (Figure 4.4).

Tableau 4.3 : Pourcentage maximal de dégradation et taux initial de dégradation du TCE en fonction de la concentration initiale de TCE dans les microcosmes

| Concentration de TCE (mg L ⁻¹) | Pourcentage maximal de dégradation du TCE | Taux initial de dégradation (mg TCE (kg compost sec) ⁻¹ d ⁻¹) |
|---|--|---|
| 1,2 | 34 ± 6 | 1,8 ± 0,3 |
| 2,4 | 49 ± 11 | 4,4 ± 1,8 |
| 4,0 | 48 ± 3 | 7,5 ± 0,6 |
| 6,0 | 38 ± 0,5 | 9,1 ± 1,1 |
| 8,0 | 35 ± 3 | 9,9 ± 0,6 |
| 10,0 | 27 ± 5 | 11,0 ± 3,5 |
| 15,0 | 27 ± 3 | 14,7 ± 1,0 |
| 20,0 | 18 ± 0,5 | 18,3 ± 4,1 |
| 25,0 | 19 ± 0,8 | 26,0 ± 9,5 |
| 30,0 | 19 ± 0,6 | 38,5 ± 7,2 |

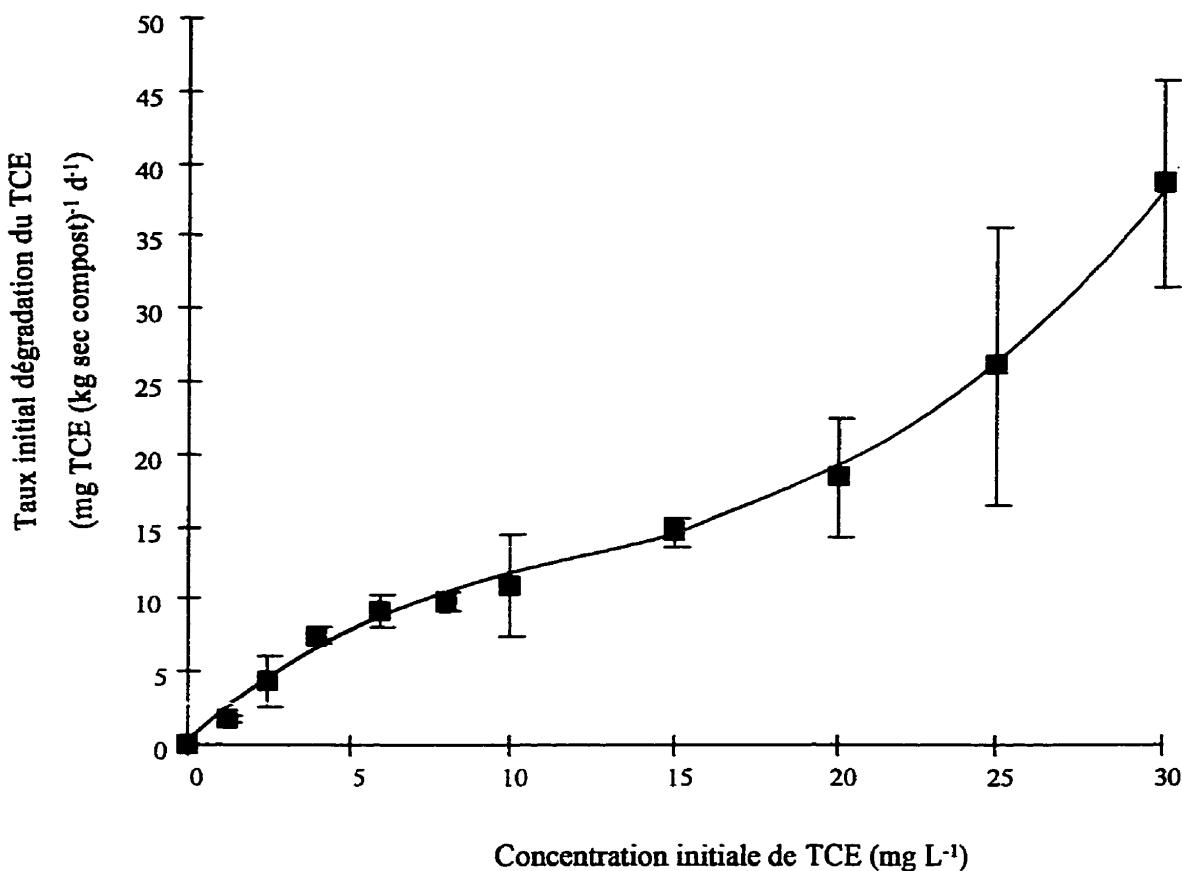


Figure 4.4 : Effet de la concentration initiale de TCE sur le taux de dégradation du TCE en microcosmes

4.2.4 Effet du remplacement du CH₄ par du gaz naturel sur la dégradation du TCE

Pour vérifier si le gaz naturel commercial (95 % de CH₄) pourrait être utilisé en remplacement au CH₄ pur lors de l'enrichissement du milieu filtrant, deux expériences ont été effectuées. Le gaz naturel contient, en plus du CH₄, de l'éthane et du diméthyl-mercaptan. Il peut même contenir de l'acéthylène qui est nocif aux méthanotrophes. Une concentration de TCE radio-marqué (2,44 mg L⁻¹) a été ajoutée au compost préalablement

enrichi (10 g) dans des bouteilles sérologiques. Une concentration de 4 % (v/v) de CH₄ ou de gaz naturel a été ajoutée dans les microcosmes. Les microcosmes ont été échantillonnés à tous les deux jours. Les taux initiaux de dégradation pour les deux séries de microcosmes (en triplicata) ont été calculés et comparés entre eux. La durée de l'expérience a été de 25 jours.

En microcosmes, le remplacement du CH₄ par le gaz naturel n'a eu aucun effet sur la dégradation du TCE. Un taux initial de dégradation de (8,78 ± 1,17) mg TCE (kg compost sec)⁻¹ d⁻¹ a été obtenu pour la série avec le CH₄ et un taux initial de dégradation de (7,61 ± 0,24) mg TCE (kg compost sec)⁻¹ d⁻¹ a été obtenu pour la série avec le gaz naturel. Le pourcentage maximal de dégradation obtenu pour la série de microcosmes avec le CH₄ a été de (66 ± 8) % et ce pourcentage a été de (61 ± 1) % pour la série avec le gaz naturel.

Deux colonnes de Plexiglas de 2,4 L (30 cm de hauteur et de 10,1 cm de diamètre) ont été montées en parallèle afin de vérifier l'effet du gaz naturel à long terme sur la dégradation du TCE (pour vérifier si les autres composants du gaz naturel affecte la dégradation du TCE). Une colonne était alimentée au CH₄ pur tandis que l'autre était alimentée au gaz naturel. Du compost frais a été ajouté aux deux colonnes de Plexiglas. L'inoculum liquide provenait d'un réacteur à sol immobilisé qui utilisait une culture mixte de méthanotrophes (Pierre, 1997). Un mélange d'air humide et de gaz naturel (4 % v/v de

CH_4) ou de CH_4 a été alimenté à la colonne à un débit de $1,5 \text{ L min}^{-1}$. Le mélange de la colonne a été échantillonné deux fois par semaine durant un mois. Lors de l'échantillonnage, un suivi du pH et de la teneur en eau de la colonne a été effectué. Ces deux paramètres sont demeurés constants respectivement à 64 % et 6,95. 40 g de compost de la colonne a été prélevé pour les essais de minéralisation afin de déterminer le taux de dégradation du TCE en fonction du temps. Du gaz naturel a été ajouté dans les microcosmes pour obtenir une concentration de CH_4 de 4 % (v/v). Les essais ont été réalisés en triplicata.

À partir de 7 jours d'enrichissement au gaz naturel, le taux initial de minéralisation du TCE a été constant à $(4,43 \pm 0,28) \text{ mg TCE (kg compost sec)}^{-1} \text{ d}^{-1}$ (Figure 4.5). Le taux initial de minéralisation de TCE était de $(3,31 \pm 0,57) \text{ mg TCE (kg compost sec)}^{-1} \text{ d}^{-1}$ lors de l'enrichissement au CH_4 . Les taux initiaux de dégradation du TCE pour le CH_4 et pour le gaz naturel étaient similaires en fonction du temps (Figure 4.5).

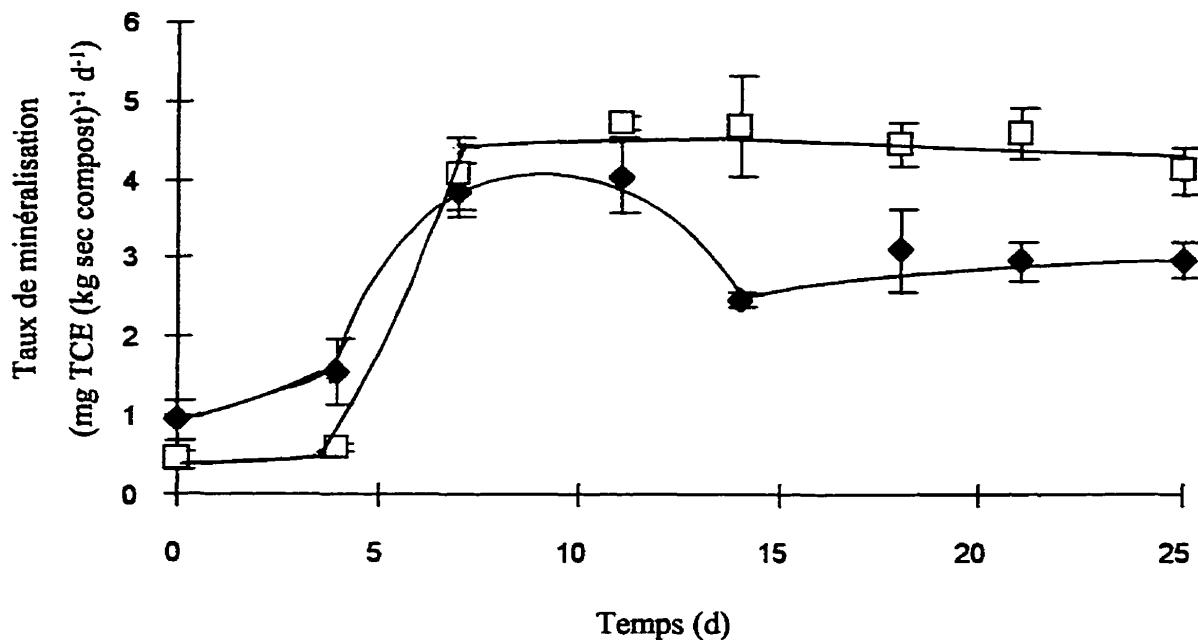


Figure 4.5 : Comparaison de l'effet du temps d'enrichissement au gaz naturel (\square) et du CH_4 (\blacklozenge) sur la dégradation du TCE en microcosmes

Le gaz naturel peut donc remplacer le CH_4 lors de l'enrichissement des bactéries méthanoliques et probablement pour la biofiltration méthanolique du TCE.

4.2.5 Effet du temps d'enrichissement des méthanoliques et de l'inoculum sur la dégradation du TCE

Le temps d'enrichissement des méthanoliques nécessaire pour atteindre le taux maximal de dégradation du TCE et l'inoculum favorable pour le départ d'un biofiltre ont été déterminés. Des bactéries libres (240 mL) d'un réacteur à sol immobilisé méthanolique (Pierre, 1997) ont été ajoutées comme inoculum dans une colonne de Plexiglas de 2,4 L (30 cm de hauteur et de 10,1 cm de diamètre) remplie de compost frais. Dans la seconde

colonne de Plexiglas, 240 mL de compost préalablement enrichi (section 3.3.2) a été mélangé avec du compost frais. Les deux colonnes ont ensuite été alimentées avec de l'air humide et du gaz naturel (4 % v/v de CH₄) à un débit de 1,5 L min⁻¹. Le mélange de chacune des colonnes a été échantillonné deux fois par semaine durant un mois. La teneur en eau est demeurée constante à 60 % et le pH a été constant à 7,30. De plus, 40 g de mélange a été prélevé pour faire des essais de minéralisation en microcosmes pour comparer la capacité de dégrader le TCE en fonction du temps.

La colonne inoculée avec les bactéries libres a nécessité 11 jours pour atteindre le taux initial maximal de dégradation du TCE (Figure 4.6). Par la suite, le taux initial de dégradation du TCE est demeuré constant à environ (4,5 ± 1,3) mg TCE (kg compost sec)⁻¹ d⁻¹. Pour la colonne avec le compost enrichi comme inoculum, 4 jours ont été nécessaires pour atteindre le taux initial maximal de dégradation. Ensuite, le taux est demeuré presque constant à (3,60 ± 0,3) mg TCE (kg compost sec)⁻¹ d⁻¹.

Le temps d'enrichissement nécessaire varie selon l'inoculum utilisé et selon le volume de milieu filtrant à enrichir. Deux semaines d'enrichissement semblent suffisantes pour enrichir le milieu filtrant d'une colonne de 2,4 L avec un inoculum liquide ou solide. Cependant, pour le départ d'un milieu filtrant dans un biofiltre, un inoculum solide est recommandé par rapport à un inoculum liquide car le taux maximal de dégradation est atteint plus rapidement.

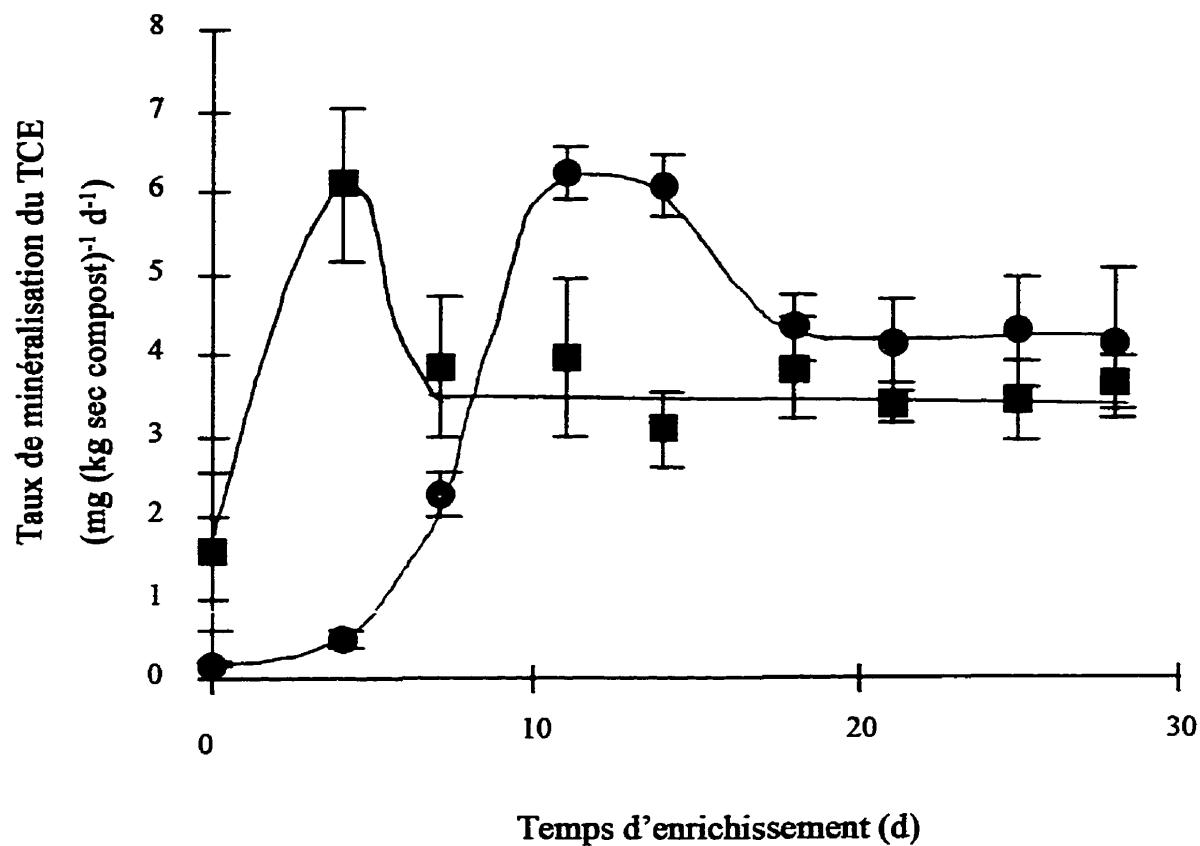


Figure 4.6 : Effet de l'inoculum et du temps d'enrichissement sur le taux de minéralisation initial du TCE en microcosme (■) Inoculum solide; (●) Inoculum liquide

4.3 Choix d'un milieu filtrant

Lors des essais d'enrichissement des méthanotrophes en colonne de Plexiglas, il a été observé que le compost se compactait après deux semaines de fonctionnement et que la partie inférieure du milieu filtrant s'asséchait. L'ajout d'agent structurant s'avérait donc nécessaire. La perlite (Les Tourbières Premier Itée, Rivière-du-Loup, Québec) (50 % v/v) a été choisie comme agent structurant. Ce milieu avait déjà été utilisé avec succès pour la dégradation du dichlorométhane (Ergas et al., 1994). La perlite est un matériel volcanique expansé utilisé pour augmenter la porosité du sol diminuant ainsi la perte de pression dans le lit filtrant.

4.4 Essais de biofiltration

La dégradation du TCE a été étudiée à trois hauteurs de biofiltre soient 0,5 m, 1 m et 1,5 m (Tableau 4.4). À chaque jour, les concentrations de TCE et de CH₄ à l'entrée et à la sortie du réacteur ont été mesurées par chromatographie en phase gazeuse. Chaque mesure a été répétée 3 fois. À partir de ces données, les taux de consommation de CH₄ et de dégradation du TCE ont été calculés.

Le débit gazeux a été maintenu constant à 2,3 L min⁻¹. La concentration de CH₄ à l'entrée a été maintenue constante à 4 % v/v. La concentration de TCE à l'entrée a été variée pour établir des cinétiques de dégradation. Les résultats présentés au tableau 4.4 proviennent

de trois essais indépendants de biofiltration après une période de stabilisation de 12 heures. Chaque essai a duré environ 1 mois.

Tableau 4.4 : Résumé des conditions d'opération et des résultats obtenus lors des essais de biofiltration

| Paramètres | Hauteur du biofiltre | | |
|---|-----------------------------|--------------|--------------|
| | 0,5 m | 1,0 m | 1,5 m |
| Volume biofiltre (L) | 3,7 | 7,4 | 11,08 |
| Débit gazeux moyen ($L \ min^{-1}$) | 2,3 | 2,3 | 2,3 |
| Temps de résidence (minutes) | 1,62 | 3,2 | 5,03 |
| Concentration initiale de TCE ($g \ m^{-3}$) | 1,21 à 9,2 | 0,22 à 23 | 0,06 à 21,1 |
| % moyen enlèvement TCE | 77 ± 10 | 82 ± 9 | 80 ± 10 |
| Taux de dégradation du TCE ($g \ TCE \ m^{-3} \ réacteur \ h^{-1}$) | 16 à 315 | 15 à 357 | 0,7 à 190 |
| % moyen enlèvement CH_4 | 41 ± 15 | 51 ± 9 | 48 ± 10 |
| Taux de consommation du CH_4 ($g \ CH_4 \ m^{-3} \ réacteur \ h^{-1}$) | 159 à 1230 | 88 à 326 | 48 à 363 |

Pour chaque essai de biofiltration, le taux de dégradation du TCE en fonction de la concentration initiale de TCE était linéaire (Figure 4.7). Pour les concentrations de TCE

étudiées, la cinétique de dégradation du TCE est probablement de premier ordre et ce pour les trois hauteurs. Une seule courbe a été représentée pour alléger la figure car les courbes pour les trois hauteurs étaient assez rapprochées.

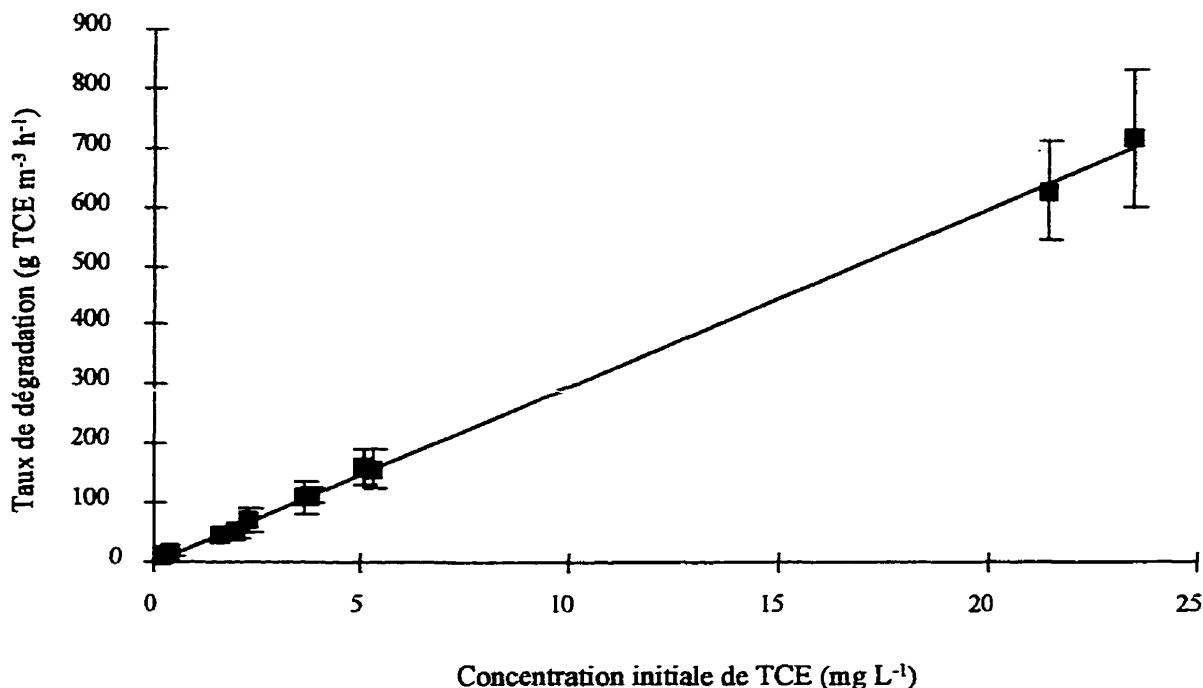


Figure 4.7 : Taux d'enlèvement du TCE en fonction de la concentration de TCE à l'entrée du biofiltre de 1 m

Les pourcentages moyen d'enlèvement du CH₄ et du TCE constants d'un essai à l'autre démontrent que la dégradation du TCE et la consommation du CH₄ s'effectuent dans les premiers 0,5 mètres ou moins. Ceci indique qu'il y a un facteur limitant pour la dégradation du TCE ou une inhibition.

4.5 Sorption

Le milieu filtrant a été analysé pour sa capacité à adsorber le CH₄ et le TCE à température de la pièce (section 3.7)

4.5.1 Sorption du CH₄

Pour les 6 concentrations de CH₄ étudiées variant entre 1 et 25 % v/v , aucune adsorption sur le milieu filtrant n'a été observée même après 120 heures.

4.5.2 Sorption du TCE

L'adsorption du TCE était linéaire pour les 6 concentrations étudiées (entre 1 et 30 mg L⁻¹) (Figure 4.8). La pente de la droite a permis de calculer le coefficient d'adsorption de (9,53 ± 1,75) g TCE m³ air (g TCE m³ compost)⁻¹. Le contrôle abiotique n'a montré aucune minéralisation après 1 mois d'incubation à la noirceur et à la température de la pièce. La diminution de la concentration de TCE dans la phase gazeuse est donc due à un phénomène d'adsorption.

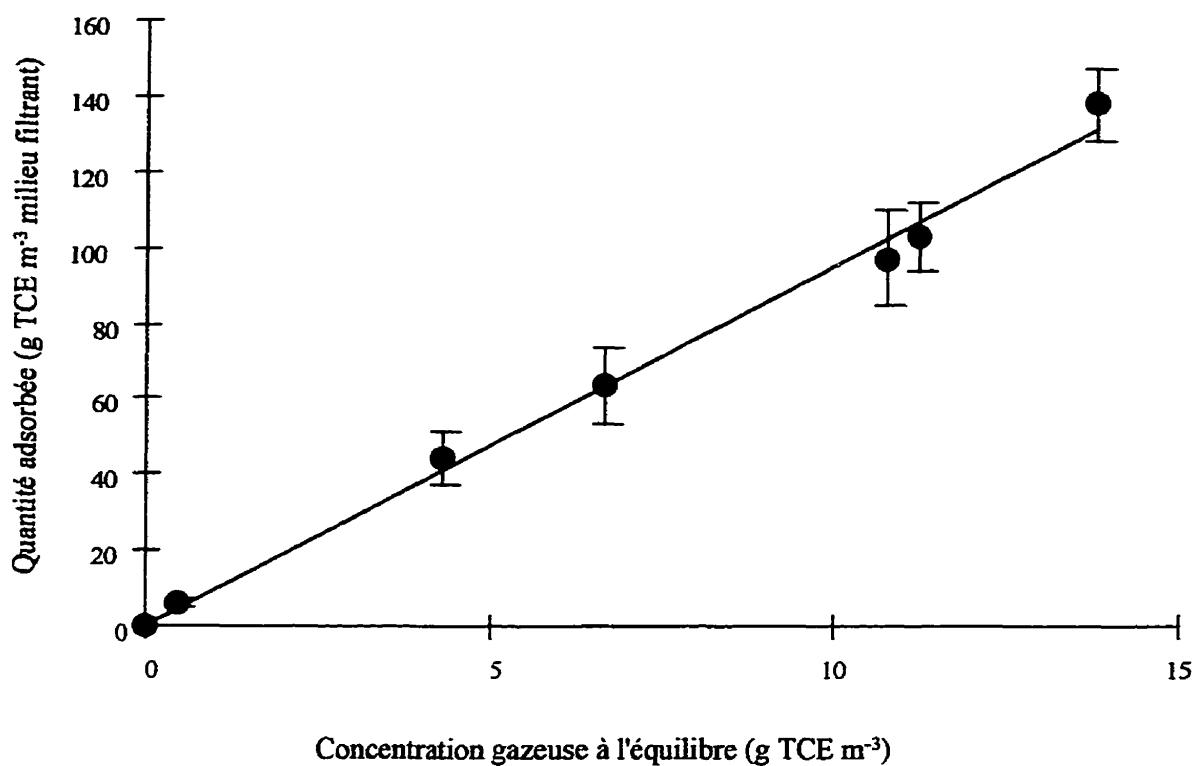


Figure 4.8 : Isotherme d'adsorption du TCE par le milieu filtrant

4.6 Effet du trichloroéthylène sur les cellules des méthanotrophes dans le biofiltre

Après une exposition des micro-organismes du milieu filtrant, pour une période d'environ 1 mois, à des concentrations de TCE variant entre 1 et 30 mg L⁻¹, les cellules des méthanotrophes ont été endommagées. En effet, suite à des essais de minéralisation, le taux initial de dégradation du TCE de même que le pourcentage maximal de dégradation du TCE étaient moins élevés pour les bactéries exposées au TCE pour toutes les concentrations de TCE sauf possiblement pour la concentration la plus faible de

$2,44 \text{ mg L}^{-1}$ (Figures 4.9 et 4.10). Le pourcentage de CH_4 utilisé pour la comparaison est de 4 % (v/v). Les bactéries exposées au TCE provenaient d'un milieu filtrant qui avait été préalablement exposé à des concentrations de TCE variant entre 1 et 41 mg L^{-1} durant 1 mois. Les bactéries non exposées provenaient d'un milieu filtrant enrichi au CH_4 seulement, durant 1 mois. Pour les bactéries non exposées au TCE, le taux initial de dégradation augmentait avec la concentration de TCE tandis qu'il demeurait constant pour les bactéries exposées au TCE. Le pourcentage maximal de dégradation après 23 jours était environ 40 % supérieur pour les bactéries non exposées au TCE.

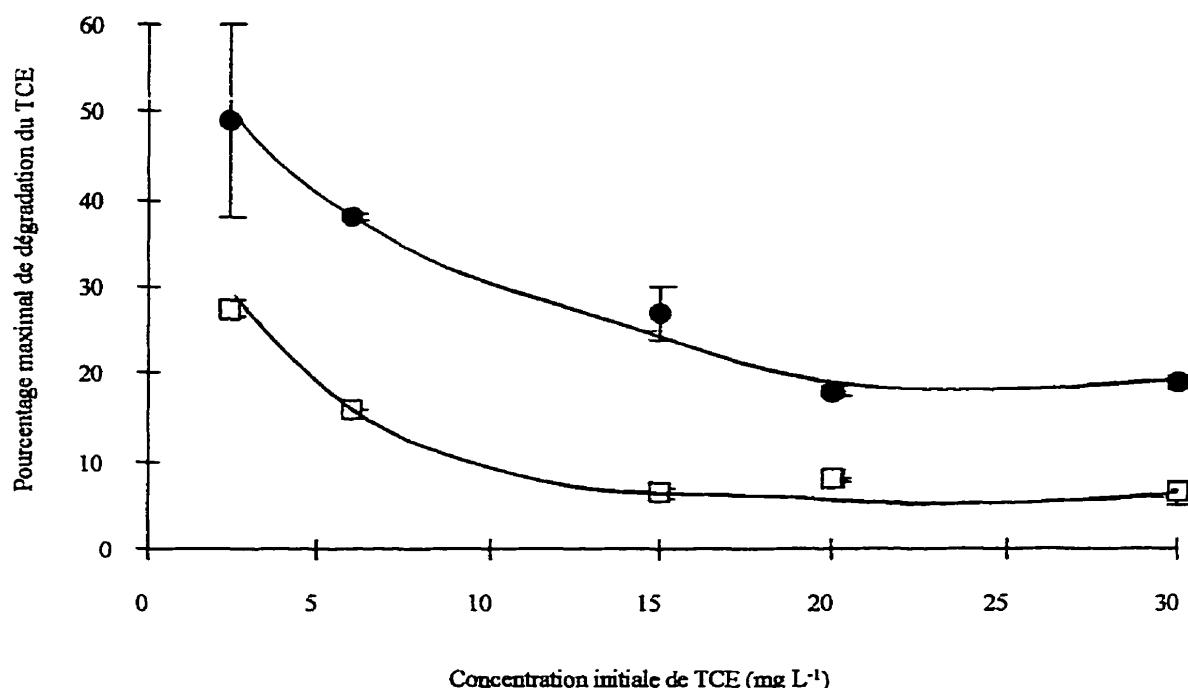


Figure 4.9 : Comparaison du pourcentage global de dégradation du TCE pour différentes concentrations initiales de TCE pour des bactéries préalablement exposées (□) au TCE et pour des bactéries non exposées (●)

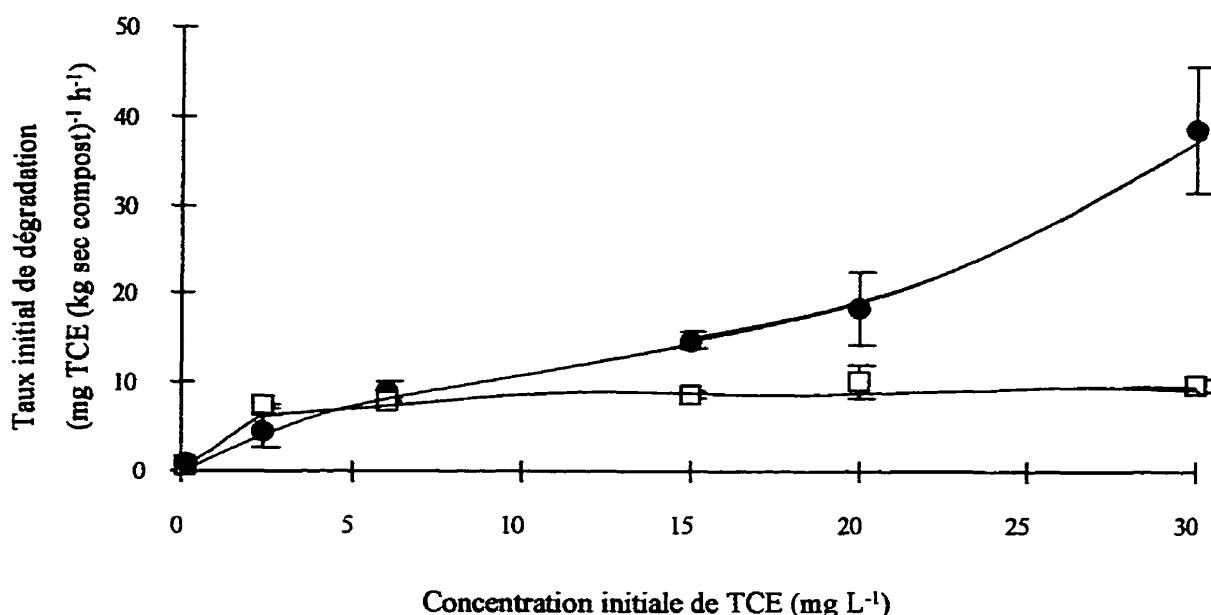


Figure 4.10 Comparaison du taux initial de dégradation du TCE pour différentes concentrations initiales de TCE pour des bactéries préalablement exposées (□) au TCE et pour des bactéries non exposées (●)

L'explication probable est que le TCE ou un de ces métabolites (époxyde de TCE) serait nocif aux bactéries en désactivant la MMO, l'enzyme responsable de la dégradation du TCE et du CH₄. Donc, pour maintenir un taux d'enlèvement du TCE constant, il est recommandé de remplacer à intervalle régulier le milieu filtrant en entier ou une portion de celui-ci.

4.7 Effet de la variation de la concentration initiale de CH₄ et de TCE sur la dégradation du TCE et la consommation du CH₄ en fonction de la hauteur du biofiltre

4.7.1 Variation de la concentration initiale de CH₄

La concentration de CH₄, à l'entrée du biofiltre, a été variée entre 0,076 et 2,150 mmol L⁻¹ (0,17 et 4,6 % (v/v)) (Tableau 4.5). La concentration de TCE à l'entrée était maintenue à $0,011 \pm 0,003$ mmol L⁻¹ (1,5 mg L⁻¹) et le débit de gaz restait constant à $2,26 \pm 0,23$ L min⁻¹ (temps de résidence de 5,32 minutes pour un biofiltre de 1,5 m). Dans le tableau 4.5, le taux global est le taux calculé entre la concentration à la sortie de l'étage du biofiltre et la concentration à l'entrée du biofiltre. Le taux unitaire a été calculé à partir de la concentration à la sortie de l'étage et celle à l'entrée de l'étage. Le paramètre qui a été varié est en caractère gras.

Tableau 4.5 : Effet de la variation de la concentration initiale de CH₄ sur des paramètres clés en fonction de la hauteur du biofiltre

Tableau 4.5.a : Effet d'une concentration initiale de CH₄ de 0,076 mmol L⁻¹ sur des paramètres clés en fonction de la hauteur du biofiltre

| | Entrée | Après 0,5 m | Après 1,0 m | Après 1,5 m |
|--|--------------|--------------|--------------|--------------|
| [CH ₄] (% v/v) | 0,170 | 0,135 | 0,127 | 0,123 |
| [CH₄] (mmol L⁻¹) | 0,076 | 0,060 | 0,057 | 0,055 |
| [TCE] (mg L ⁻¹) | 1,82 | 0,76 | 0,71 | 0,70 |
| [TCE] (mmol L ⁻¹) | 0,0140 | 0,0058 | 0,0054 | 0,0053 |
| C/C ₀ CH ₄ | 1 | 0,794 | 0,747 | 0,724 |
| C/C ₀ TCE | 1 | 0,418 | 0,390 | 0,385 |
| % consommation CH ₄ | | 20,59 | 25,29 | 27,65 |
| % dégradation du TCE | | 58,24 | 60,99 | 62,64 |
| Volume (L) | | 3,7 | 7,4 | 11,08 |
| Débit (L min ⁻¹) | | 2,529 | 2,227 | 2,171 |
| Temps de résidence (minutes) | | 1,463 | 3,322 | 5,104 |
| Taux global de consommation CH ₄ (mol CH ₄ m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | | 0,643 | 0,348 | 0,248 |
| Taux de consommation unitaire de CH ₄ (mol CH ₄ m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | | 0,643 | 0,108 | 0,070 |
| Taux global de dégradation TCE (mol TCE m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | | 0,331 | 0,153 | 0,102 |
| Taux de dégradation unitaire du TCE (mol TCE m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | | 0,331 | 0,014 | 0,004 |

Tableau 4.5.b : Effet d'une concentration initiale de CH₄ de 0,161 mmol L⁻¹ sur des paramètres clés en fonction de la hauteur du biofiltre

| | Entrée | Après 0,5 m | Après 1,0 m | Après 1,5 m |
|--|--------------|--------------|--------------|--------------|
| [CH ₄] (% v/v) | 0,360 | 0,310 | 0,300 | 0,290 |
| [CH₄] (mmol L⁻¹) | 0,161 | 0,139 | 0,134 | 0,130 |
| [TCE] (mg L ⁻¹) | 1,54 | 0,73 | 0,70 | 0,67 |
| [TCE] (mmol L ⁻¹) | 0,0117 | 0,0056 | 0,0053 | 0,0051 |
| C/C ₀ CH ₄ | 1 | 0,861 | 0,833 | 0,806 |
| C/C ₀ TCE | 1 | 0,474 | 0,455 | 0,435 |
| % consommation CH ₄ | | 13,89 | 16,67 | 19,44 |
| % dégradation du TCE | | 52,60 | 54,55 | 56,49 |
| Volume (L) | | 3,7 | 7,4 | 11,08 |
| Débit (L min ⁻¹) | | 2,393 | 2,046 | 2,037 |
| Temps de résidence (minutes) | | 1,546 | 3,617 | 5,441 |
| Taux global de consommation CH ₄ (mol CH ₄ m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | 0,872 | 0,448 | 0,347 | |
| Taux de consommation unitaire de CH ₄ (mol CH ₄ m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | 0,872 | 0,166 | 0,132 | |
| Taux global de dégradation TCE (mol TCE m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | 0,239 | 0,106 | 0,073 | |
| Taux de dégradation unitaire du TCE (mol TCE m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | 0,239 | 0,01 | 0,007 | |

Tableau 4.5.c : Effet d'une concentration initiale de CH₄ de 0,500 mmol L⁻¹ sur des paramètres clés en fonction de la hauteur du biofiltre

| | Entrée | Après 0,5 m | Après 1,0 m | Après 1,5 m |
|--|--------------|--------------|--------------|--------------|
| [CH ₄] (% v/v) | 1,10 | 1,00 | 0,99 | 0,98 |
| [CH₄] (mmol L⁻¹) | 0,500 | 0,450 | 0,446 | 0,442 |
| [TCE] (mg L ⁻¹) | 1,60 | 0,74 | 0,63 | 0,62 |
| [TCE] (mmol L ⁻¹) | 0,0122 | 0,0056 | 0,0048 | 0,0047 |
| C/C ₀ CH ₄ | 1 | 0,909 | 0,9 | 0,891 |
| C/C ₀ TCE | 1 | 0,463 | 0,394 | 0,388 |
| % consommation CH ₄ | | 9,09 | 10,00 | 10,90 |
| % dégradation du TCE | | 53,75 | 60,63 | 61,25 |
| Volume (L) | | 3,7 | 7,4 | 11,08 |
| Débit (L min ⁻¹) | | 2,578 | 2,026 | 1,901 |
| Temps de résidence (minutes) | | 1,435 | 3,652 | 5,826 |
| Taux consommation CH ₄ (mol CH ₄ m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | | 1,906 | 0,824 | 0,563 |
| Taux de consommation unitaire de CH ₄ (mol CH ₄ m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | | 1,906 | 0,131 | 0,123 |
| Taux global de dégradation TCE (mol TCE m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | | 0,273 | 0,122 | 0,077 |
| Taux de dégradation unitaire du TCE (mol TCE m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | | 0,273 | 0,026 | 0,003 |

Tableau 4.5.d : Effet d'une concentration initiale de CH_4 de $2,15 \text{ mmol L}^{-1}$ sur des paramètres clés en fonction de la hauteur du biofiltre

| | Entrée | Après 0,5 m | Après 1,0 m | Après 1,5 m |
|--|-------------|-------------|-------------|-------------|
| [CH_4] (% v/v) | 4,60 | 4,41 | 4,35 | 3,88 |
| [CH_4] (mmol L^{-1}) | 2,15 | 2,06 | 2,03 | 1,80 |
| [TCE] (mg L^{-1}) | 1,02 | 0,75 | 0,71 | 0,67 |
| [TCE] (mmol L^{-1}) | 0,0078 | 0,0057 | 0,0054 | 0,0051 |
| C/ C_0 CH_4 | 1 | 0,959 | 0,946 | 0,844 |
| C/ C_0 TCE | 1 | 0,735 | 0,696 | 0,657 |
| % consommation CH_4 | | 4,13 | 5,43 | 15,65 |
| % dégradation du TCE | | 26,47 | 30,39 | 34,31 |
| Volume (L) | | 3,7 | 7,4 | 11,08 |
| Débit (L min^{-1}) | | 2,505 | 2,419 | 2,255 |
| Temps de résidence (minutes) | | 1,477 | 3,059 | 4,914 |
| Taux consommation CH_4 (mol $\text{CH}_4 \text{ m}^{-3}$ réacteur h^{-1}) | | 3,78 | 2,40 | 4,28 |
| Taux de consommation unitaire de CH_4 (mol CH_4 m^{-3} réacteur h^{-1}) | | 3,78 | 1,177 | 8,41 |
| Taux global de dégradation TCE (mol TCE m^{-3} réacteur h^{-1}) | | 0,083 | 0,046 | 0,032 |
| Taux de dégradation unitaire du TCE (mol TCE m^{-3} réacteur h^{-1}) | | 0,083 | 0,012 | 0,011 |

Une augmentation de la concentration initiale de CH_4 a entraîné une diminution du pourcentage de consommation du CH_4 (Figure 4.11). Le dernier point pour la concentration initiale de CH_4 de $2,15 \text{ mmol L}^{-1}$ est probablement biaisé. D'après le tableau 4.5, la consommation unitaire du CH_4 est très élevée dans le dernier étage ce qui entraîne un pourcentage global de consommation du CH_4 élevé. Dans les autres essais, le taux global unitaire de consommation du CH_4 dans le dernier étage est toujours plus faible

que dans les deux premiers étages. De plus, contrairement aux essais précédents, la concentration à la sortie du biofiltre n'est pas similaire à celle des deux premiers étages comme pour les autres essais. Les pourcentages globaux de consommation du CH₄ ont varié entre 10,9 % (pour une concentration initiale de CH₄ de 0,50 mmol L⁻¹) et 27,65 % (pour une concentration initiale de CH₄ de 0,076 mmol L⁻¹).

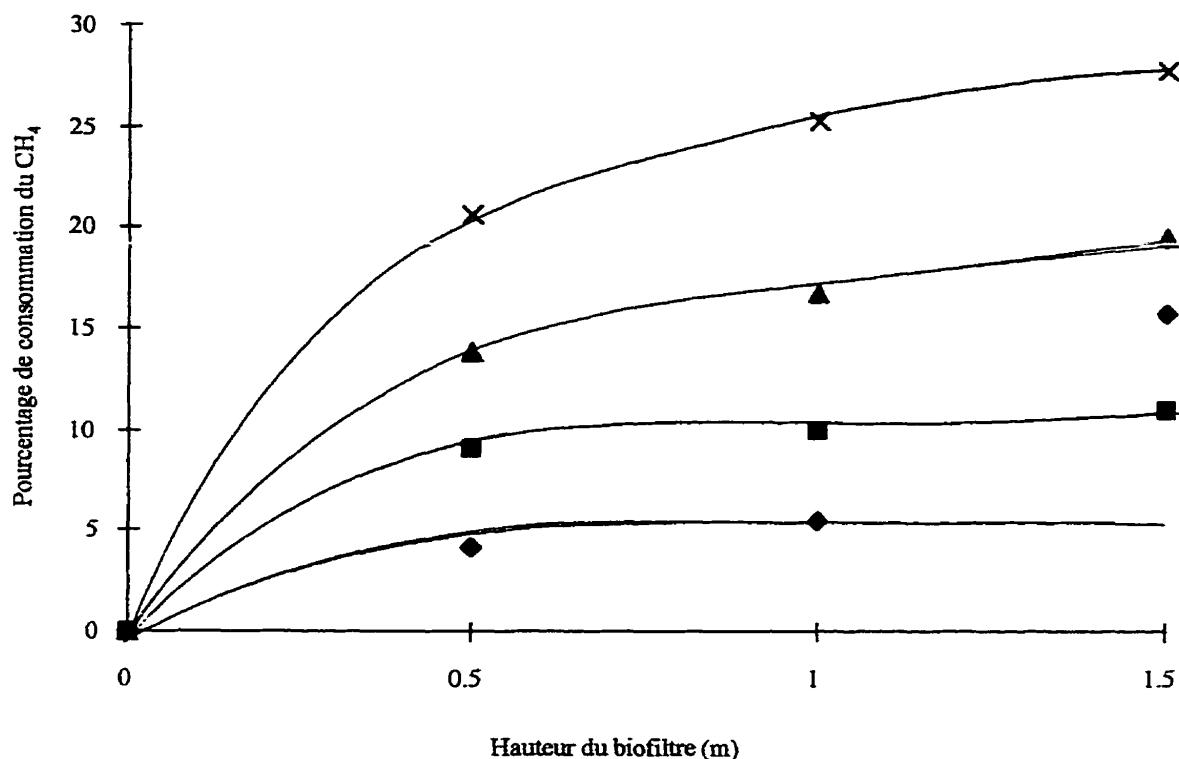


Figure 4.11 : Effet de la concentration initiale de CH₄ sur le pourcentage de consommation de CH₄ en fonction de la hauteur du biofiltre (X) 0,076 mmol L⁻¹ CH₄; (▲) 0,161 mmol L⁻¹ CH₄; (■) 0,50 mmol L⁻¹ CH₄; (◆) 2,15 mmol L⁻¹ CH₄

Une augmentation de la concentration initiale de CH₄ a entraîné une augmentation du taux global de consommation du CH₄ (Figure 4.12). Si on tient compte du dernier point (concentration initiale de CH₄ de 2,15 mmol L⁻¹), le taux global de consommation du CH₄ a augmenté linéairement avec la concentration initiale de CH₄ (coefficient de corrélation de 0,985). Si le point qui correspond à une concentration initiale de CH₄ de 2,15 mmol L⁻¹¹ est négligé, le taux global de consommation du CH₄ en fonction de la concentration initiale de CH₄ suit une courbe d'équation de type (coefficient de corrélation de 0,996) :

$$\text{Taux} = \frac{A * [\text{CH}_4]_{\text{in}}}{B + [\text{CH}_4]_{\text{in}}} \quad (4)$$

où A et B sont des constantes qui peuvent être déterminées par régression non linéaire. La constante A correspond au taux global de consommation de CH₄ maximal et est égale à (0,76 ± 0,07) mol CH₄ m⁻³ h⁻¹. La constante B est la concentration initiale de CH₄ qui correspond à la moitié du taux global de consommation maximal de CH₄ et est égale à (0,17 ± 0,04) mmol L⁻¹.

Pour les concentrations initiales de CH₄ situées entre 0,076 et 0,50 mmol L⁻¹ (0,17 % et 1,1 % v/v), les pourcentages de dégradation du TCE étaient similaires. Pour une concentration initiale de CH₄ de 2,15 mmol L⁻¹ (4,6 % v/v), le pourcentage de dégradation du TCE était plus faible (Figure 4.13). Donc, pour les concentrations initiales de CH₄ entre 0,76 et 0,50 mmol L⁻¹ (1,1 % v/v), la concentration de CH₄ n'influence pas de façon significative la dégradation du TCE alors, le phénomène de compétition est moins important. Les pourcentages globaux de dégradation du TCE ont varié entre 34,3 %

(pour une concentration initiale de CH_4 de $2,15 \text{ mmol}^{-1}$) et 62,6 % (pour une concentration initiale de CH_4 de $0,076 \text{ mmol L}^{-1}$).

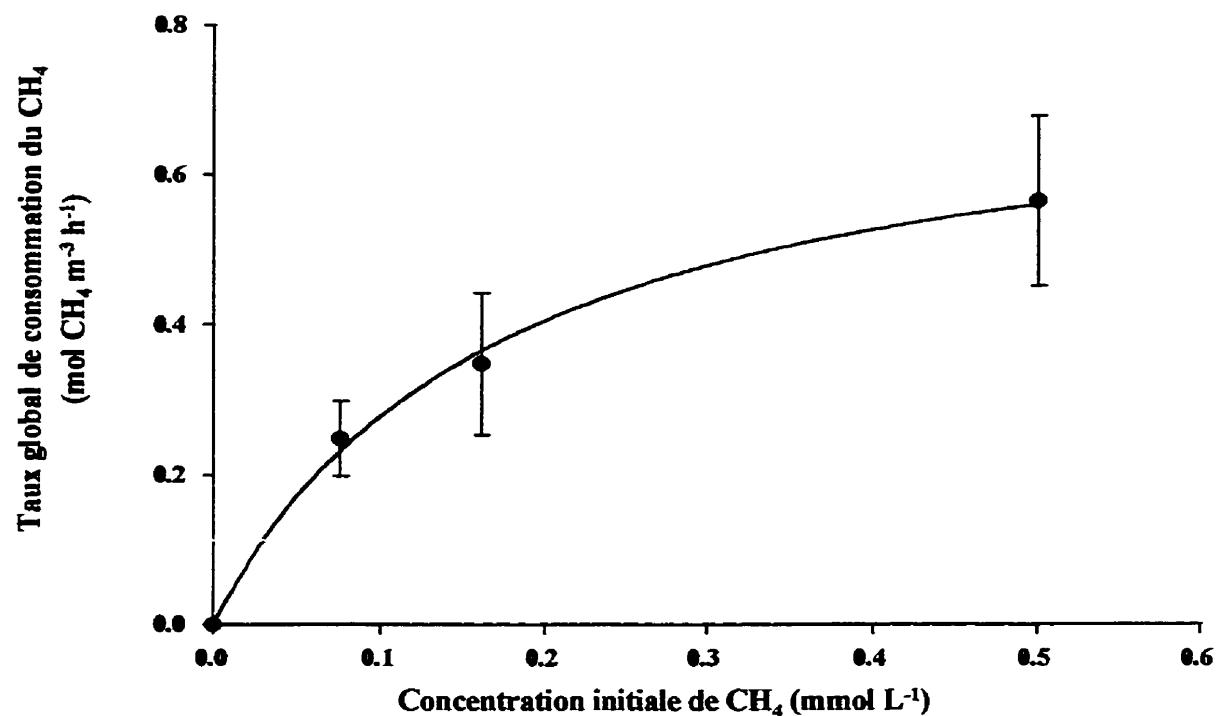


Figure 4.12 : Effet de la concentration initiale de CH_4 sur le taux global de consommation du CH_4

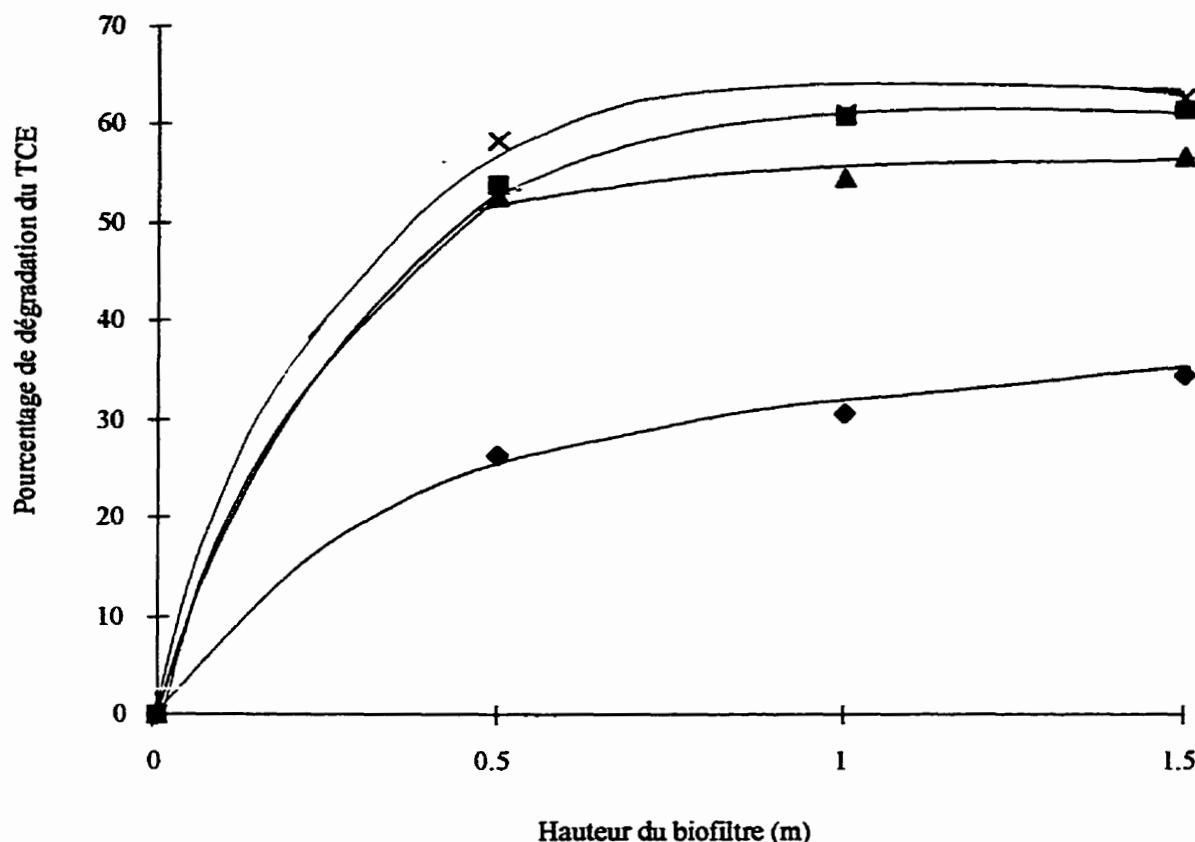


Figure 4.13 : Effet de la concentration initiale de CH_4 sur le pourcentage de dégradation du TCE en fonction de la hauteur du biofiltre (X) $0,076 \text{ mmol L}^{-1}$ CH_4 ; (▲) $0,161 \text{ mmol L}^{-1}$ CH_4 ; (■) $0,50 \text{ mmol L}^{-1}$ CH_4 ; (◆) $2,15 \text{ mmol L}^{-1}$ CH_4

Une augmentation de la concentration initiale de CH_4 a entraîné une diminution du taux global de dégradation du TCE (Figure 4.14). Plus la concentration de CH_4 est élevée plus le rapport molaire CH_4/TCE est élevé (il varie de 5,43 pour une concentration initiale de CH_4 de $0,076 \text{ mmol L}^{-1}$ à 275,6 pour une concentration initiale de CH_4 de $2,15 \text{ mmol L}^{-1}$). Les sites de la MMO occupés par les molécules de CH_4 seront plus nombreux que

ceux occupés par le TCE. Les méthanotrophes consommeront premièrement le CH₄ car l'affinité de la MMO pour le CH₄ est supérieure à celle pour le TCE et la quantité de CH₄ disponible est plus élevée que la quantité de TCE. Due à la compétition entre le TCE et le CH₄, si le taux de consommation de CH₄ augmente, le taux de dégradation du TCE doit diminuer.

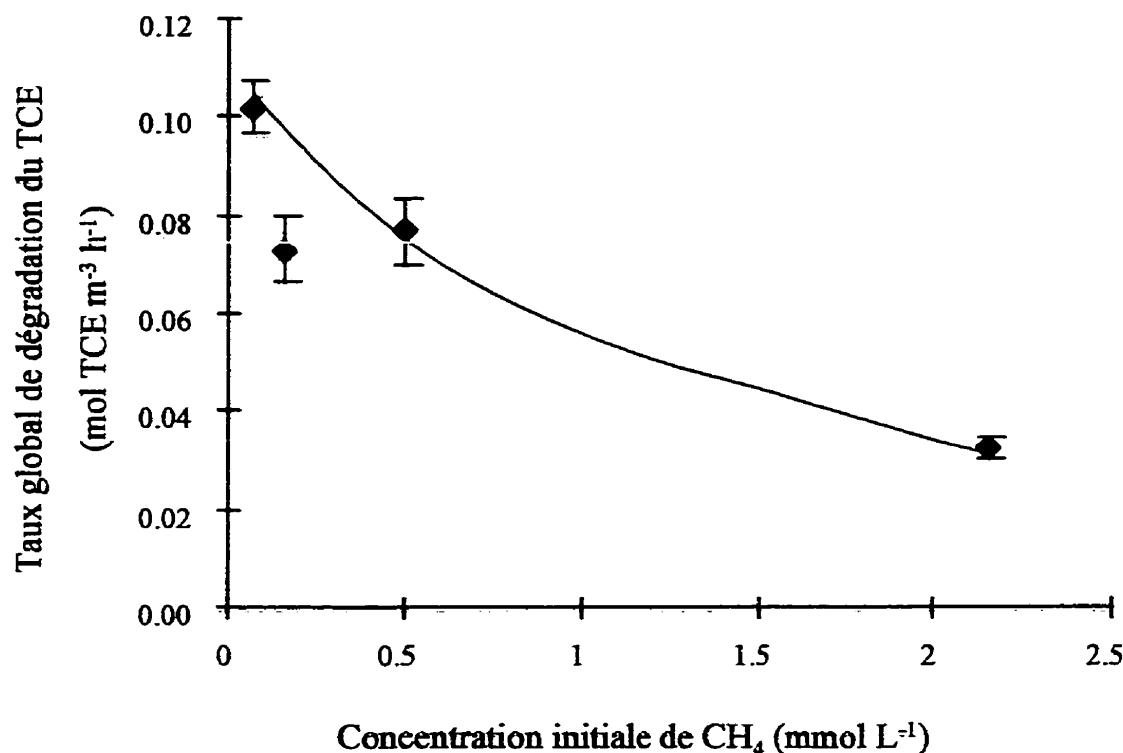


Figure 4.14 : Effet de la concentration initiale de CH₄ sur le taux global de dégradation du TCE

Le taux global de dégradation du TCE en fonction de la concentration initiale de TCE a augmenté de façon exponentielle (coefficient de corrélation de 0,99) (Figure 4.15)

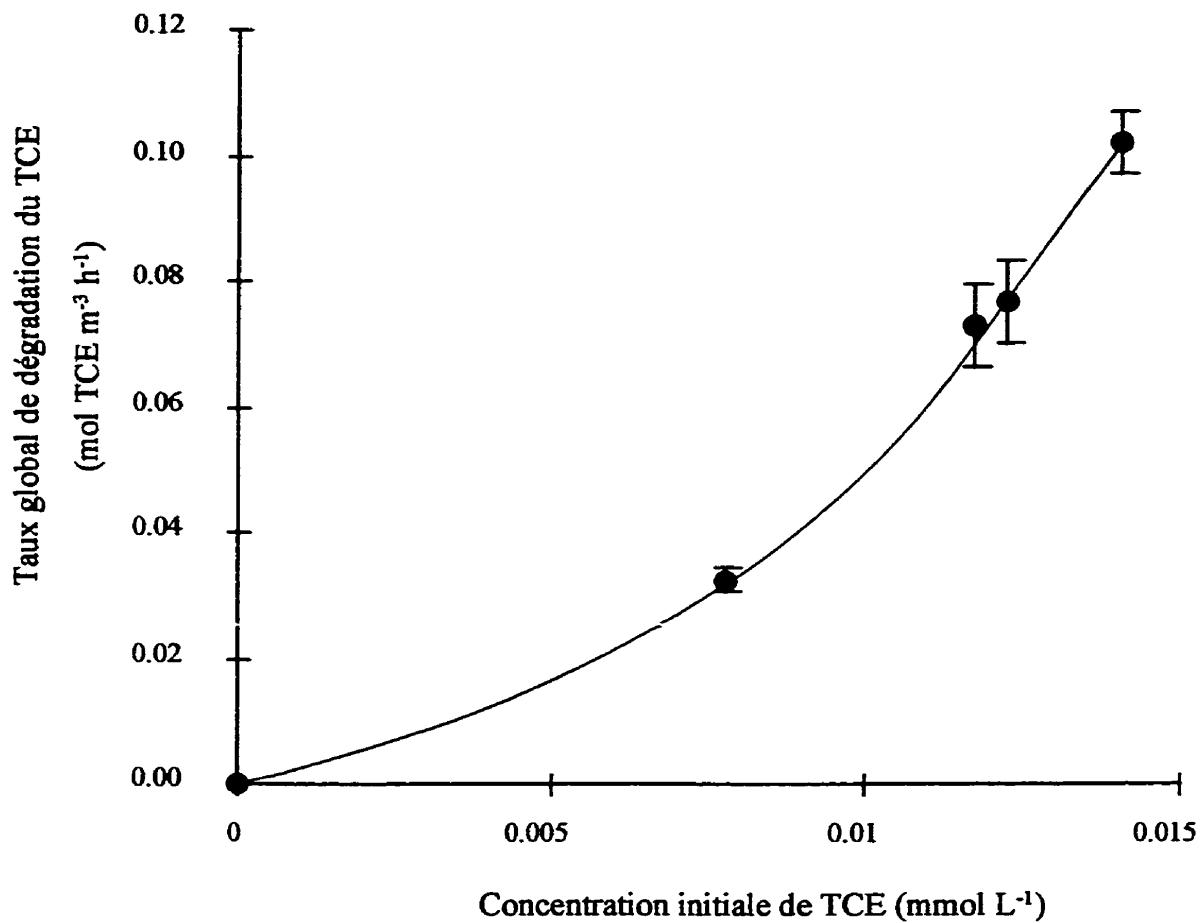


Figure 4.15 : Effet de la concentration initiale de TCE sur le taux de dégradation du TCE lors de la variation de la concentration initiale de CH₄

En fonction de la hauteur du biofiltre, le taux de consommation de CH₄ et le taux de dégradation du TCE ont diminué (Tableau 4.5). Les taux de consommation de CH₄ et de dégradation de TCE étaient plus élevés dans les premiers 0,5 m. Pour toutes les

concentrations initiales de CH₄, le taux molaire de consommation du CH₄ était supérieur au taux molaire de dégradation du TCE.

4.7.2 Variation de la concentration initiale de TCE

Lors de la variation de la concentration de TCE à l'entrée du biofiltre, la concentration initiale de CH₄ a été maintenue à $1,49 \pm 0,23 \text{ mmol L}^{-1}$ (3,2 % v/v) et le débit gazeux était constant à $2,27 \pm 0,14 \text{ L min}^{-1}$ (temps de résidence de 5,11 minutes pour un biofiltre de 1,5 m). La concentration initiale de TCE a été variée entre 0,01 et 0,31 mmol L⁻¹ (1,4 et 41 mg L⁻¹) (Tableau 4.6).

Tableau 4.6 : Effet de la variation de la concentration initiale de TCE sur des paramètres clés en fonction de la hauteur du biofiltre

Tableau 4.6.a : Effet d'une concentration initiale de TCE de 0,0104 mmol L⁻¹ sur des paramètres clés en fonction de la hauteur du biofiltre

| | Entrée | Après 0,5 m | Après 1,0 m | Après 1,5 m |
|--|---------------|---------------|---------------|---------------|
| [CH ₄] (% v/v) | 3,050 | 2,660 | 2,620 | 2,590 |
| [CH ₄] (mmol L ⁻¹) | 1,400 | 1,220 | 1,200 | 1,190 |
| [TCE] (mg L ⁻¹) | 1,37 | 0,51 | 0,47 | 0,41 |
| [TCE] (mmol L⁻¹) | 0,0104 | 0,0039 | 0,0036 | 0,0031 |
| C/C ₀ CH ₄ | 1 | 0,872 | 0,859 | 0,849 |
| C/C ₀ TCE | 1 | 0,372 | 0,343 | 0,299 |
| % consommation CH ₄ | | 12,79 | 14,10 | 15,08 |
| % dégradation du TCE | | 62,77 | 65,69 | 70,08 |
| Volume (L) | | 3,7 | 7,4 | 11,08 |
| Débit (L min ⁻¹) | | 2,288 | 2,271 | 2,120 |
| Temps de résidence (minutes) | | 1,617 | 3,259 | 5,226 |
| Taux consommation CH ₄ (mol CH ₄ m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | | 6,85 | 3,74 | 2,50 |
| Taux de consommation unitaire de CH ₄ (mol CH ₄ m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | | 6,85 | 0,74 | 0,34 |
| Taux global de dégradation TCE (mol TCE m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | | 0,243 | 0,126 | 0,084 |
| Taux de dégradation unitaire du TCE (mol TCE m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | | 0,243 | 0,011 | 0,017 |

Tableau 4.6.b : Effet d'une concentration initiale de TCE de 0,0240 mmol L⁻¹ sur des paramètres clés en fonction de la hauteur du biofiltre

| | Entrée | Après 0,5 m | Après 1,0 m | Après 1,5 m |
|--|---------------|---------------|---------------|---------------|
| [CH ₄] (% v/v) | 3,650 | 3,530 | 3,100 | 2,850 |
| [CH ₄] (mmol L ⁻¹) | 1,690 | 1,630 | 1,430 | 1,310 |
| [TCE] (mg L ⁻¹) | 3,15 | 2,47 | 2,3 | 2,21 |
| [TCE] (mmol L⁻¹) | 0,0240 | 0,0188 | 0,0175 | 0,0168 |
| C/C ₀ CH ₄ | 1 | 0,967 | 0,849 | 0,781 |
| C/C ₀ TCE | 1 | 0,784 | 0,730 | 0,702 |
| % consommation CH ₄ | | 3,29 | 15,07 | 21,92 |
| % dégradation du TCE | | 21,59 | 26,98 | 29,84 |
| Volume (L) | | 3,7 | 7,4 | 11,08 |
| Débit (L min ⁻¹) | | 2,404 | 2,176 | 2,071 |
| Temps de résidence (minutes) | | 1,539 | 3,401 | 5,351 |
| Taux consommation CH ₄ (mol CH ₄ m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | | 2,25 | 4,64 | 4,28 |
| Taux de consommation unitaire de CH ₄ (mol CH ₄ m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | | 2,25 | 7,06 | 4,03 |
| Taux global de dégradation TCE (mol TCE m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | | 0,202 | 0,114 | 0,080 |
| Taux de dégradation unitaire du TCE (mol TCE m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | | 0,202 | 0,046 | 0,024 |

Tableau 4.6.c : Effet d'une concentration initiale de TCE de 0,0445 mmol L⁻¹ sur des paramètres clés en fonction de la hauteur du biofiltre

| | Entrée | Après 0,5 m | Après 1,0 m | Après 1,5 m |
|--|---------------|---------------|---------------|---------------|
| [CH ₄] (% v/v) | 3,820 | 3,680 | 3,380 | 2,900 |
| [CH ₄] (mmol L ⁻¹) | 1,770 | 1,710 | 1,560 | 1,330 |
| [TCE] (mg L ⁻¹) | 5,85 | 2,96 | 2,87 | 2,6 |
| [TCE] (mmol L⁻¹) | 0,0445 | 0,0225 | 0,0218 | 0,0198 |
| C/C ₀ CH ₄ | 1 | 0,963 | 0,885 | 0,759 |
| C/C ₀ TCE | 1 | 0,506 | 0,491 | 0,444 |
| % consommation CH ₄ | | 3,66 | 11,52 | 24,08 |
| % dégradation du TCE | | 49,4 | 50,94 | 55,56 |
| Volume (L) | | 3,7 | 7,4 | 11,08 |
| Débit (L min ⁻¹) | | 2,248 | 2,185 | 2,119 |
| Temps de résidence (minutes) | | 1,646 | 3,387 | 5,228 |
| Taux consommation CH ₄ (mol CH ₄ m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | | 2,46 | 3,74 | 5,05 |
| Taux de consommation unitaire de CH ₄ (mol CH ₄ m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | | 2,46 | 5,31 | 7,90 |
| Taux global de dégradation TCE (mol TCE m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | | 0,80 | 0,40 | 0,28 |
| Taux de dégradation unitaire du TCE (mol TCE m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | | 0,80 | 0,025 | 0,069 |

Tableau 4.6.d : Effet d'une concentration initiale de TCE de 0,156 mmol L⁻¹ sur des paramètres clés en fonction de la hauteur du biofiltre

| | Entrée | Après 0,5 m | Après 1,0 m | Après 1,5 m |
|--|--------------|--------------|--------------|--------------|
| [CH ₄] (% v/v) | 2,740 | 2,500 | 2,340 | 2,270 |
| [CH ₄] (mmol L ⁻¹) | 1,260 | 1,140 | 1,070 | 1,040 |
| [TCE] (mg L ⁻¹) | 20,45 | 14,58 | 14,49 | 14,21 |
| [TCE] (mmol L⁻¹) | 0,156 | 0,111 | 0,110 | 0,108 |
| C/C ₀ CH ₄ | 1 | 0,912 | 0,854 | 0,829 |
| C/C ₀ TCE | 1 | 0,713 | 0,709 | 0,695 |
| % consommation CH ₄ | | 8,76 | 14,60 | 17,15 |
| % dégradation du TCE | | 28,7 | 29,14 | 30,51 |
| Volume (L) | | 3,7 | 7,4 | 11,08 |
| Débit (L min ⁻¹) | | 2,442 | 2,264 | 2,250 |
| Temps de résidence (minutes) | | 1,515 | 3,268 | 4,924 |
| Taux consommation CH ₄ (mol CH ₄ m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | | 13,70 | 6,47 | 4,51 |
| Taux de consommation unitaire de CH ₄ (mol CH ₄ m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | | 13,70 | 2,57 | 1,09 |
| Taux global de dégradation TCE (mol TCE m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | | 1,77 | 0,83 | 0,58 |
| Taux de dégradation unitaire du TCE (mol TCE m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | | 1,77 | 0,034 | 0,073 |

Tableau 4.6.e : Effet d'une concentration initiale de TCE de $0,312 \text{ mmol L}^{-1}$ sur des paramètres clés en fonction de la hauteur du biofiltre

| | Entrée | Après 0,5 m | Après 1,0 m | Après 1,5 m |
|--|--------------|--------------|--------------|--------------|
| [CH ₄] (% v/v) | 2,870 | 2,370 | 2,360 | 2,30 |
| [CH ₄] (mmol L ⁻¹) | 1,320 | 1,080 | 1,068 | 1,050 |
| [TCE] (mg L ⁻¹) | 41,06 | 37,42 | 35,85 | 35,69 |
| [TCE] (mmol L⁻¹) | 0,312 | 0,285 | 0,273 | 0,271 |
| C/C ₀ CH ₄ | 1 | 0,826 | 0,822 | 0,801 |
| C/C ₀ TCE | 1 | 0,911 | 0,873 | 0,869 |
| % consommation CH ₄ | | 17,42 | 17,77 | 19,86 |
| % dégradation du TCE | | 8,86 | 12,69 | 13,08 |
| Volume (L) | | 3,7 | 7,4 | 11,08 |
| Débit (L min ⁻¹) | | 2,583 | 2,387 | 2,293 |
| Temps de résidence (minutes) | | 1,432 | 3,100 | 4,831 |
| Taux consommation CH ₄ (mol CH ₄ m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | | 9,86 | 4,65 | 3,33 |
| Taux de consommation unitaire de CH ₄ (mol CH ₄ m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | | 9,86 | 0,46 | 0,29 |
| Taux global de dégradation TCE (mol TCE m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | | 1,16 | 0,77 | 0,51 |
| Taux de dégradation unitaire du TCE (mol TCE m ⁻³ réacteur h ⁻¹) | | 1,16 | 0,46 | 0,074 |

Une augmentation de la concentration de TCE à l'entrée du biofiltre n'a pas une influence majeure sur le pourcentage global de consommation du CH₄. Il a varié entre 15 et 24 % pour les cinq concentrations initiales de TCE (Tableau 4.6). Si on néglige le point à une concentration initiale de TCE de $0,0104 \text{ mmol L}^{-1}$, le taux global de consommation du CH₄ a diminué avec une hausse de la concentration initiale de TCE (Figure 4.16). Plus la concentration de TCE est faible, plus le rapport molaire CH₄/TCE est élevé (il varie de

134 pour une concentration initiale de TCE de $0,0104 \text{ mmol L}^{-1}$ à 4,23 pour une concentration initiale de TCE de $0,312 \text{ mmol L}^{-1}$). Les sites actifs de la MMO occupés par le CH_4 seront donc plus nombreux à de faibles concentrations de TCE. Le taux global de consommation du CH_4 aurait donc dû diminuer avec une hausse de la concentration initiale de TCE à cause de la compétition pour le site actif de la MMO. Pour les concentrations initiales de TCE de $0,0240$ et $0,0225 \text{ mmol L}^{-1}$, le taux de consommation du CH_4 a augmenté avec la hauteur ce qui est l'inverse de la tendance généralement observée pour toutes les autres expériences. La concentration de CH_4 dans le premier étage est supérieure donc le taux de consommation devrait y être supérieur.

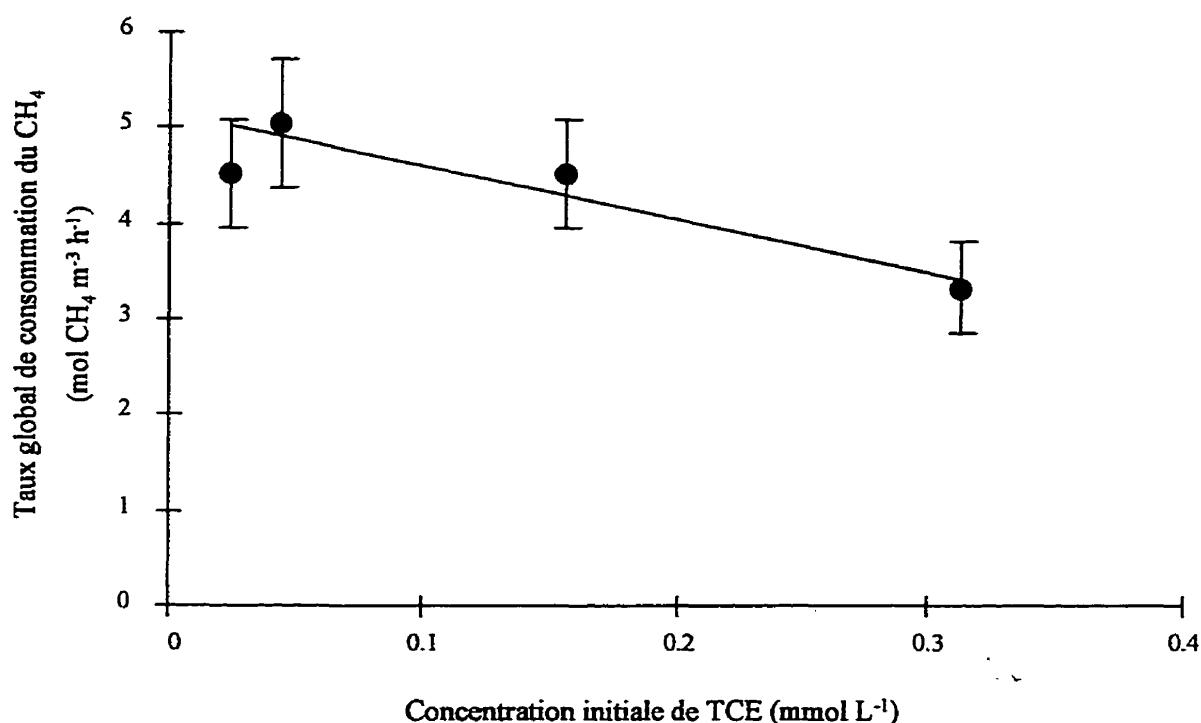


Figure 4.16 : Effet de la variation de la concentration initiale de TCE sur le taux global de consommation du CH_4

Une hausse de la concentration de TCE à l'entrée du biofiltre a entraîné une diminution du pourcentage de dégradation du TCE (Figure 4.17). Le pourcentage global d'enlèvement du TCE a varié entre 13,08 % (pour une concentration initiale de TCE de $0,312 \text{ mmol L}^{-1}$) et 70,08 % (pour une concentration initiale de TCE de $0,0104 \text{ mmol L}^{-1}$) (Tableau 4.6).

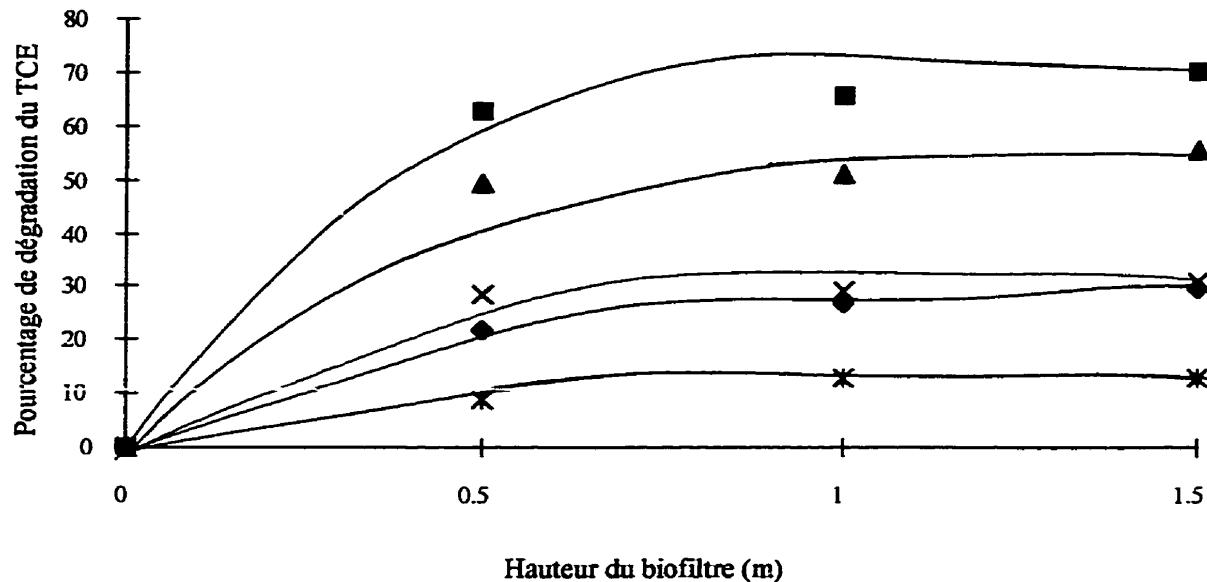


Figure 4.17 : Effet de la concentration initiale de TCE sur le pourcentage de dégradation du TCE en fonction de la hauteur du biofiltre (■) $0,0104 \text{ mmol L}^{-1}$ TCE; (◆) $0,024 \text{ mmol L}^{-1}$ TCE; (▲) $0,044 \text{ mmol L}^{-1}$ TCE; (×) $0,156 \text{ mmol L}^{-1}$ TCE; (*) $0,312 \text{ mmol L}^{-1}$ TCE

Une augmentation de la concentration initiale de TCE, jusqu'à $0,156 \text{ mmol L}^{-1}$, a entraîné une augmentation du taux global de dégradation du TCE (Figure 4.18). Ensuite, le taux global de dégradation du TCE demeure constant ou diminue légèrement en tenant compte des incertitudes sur les taux.

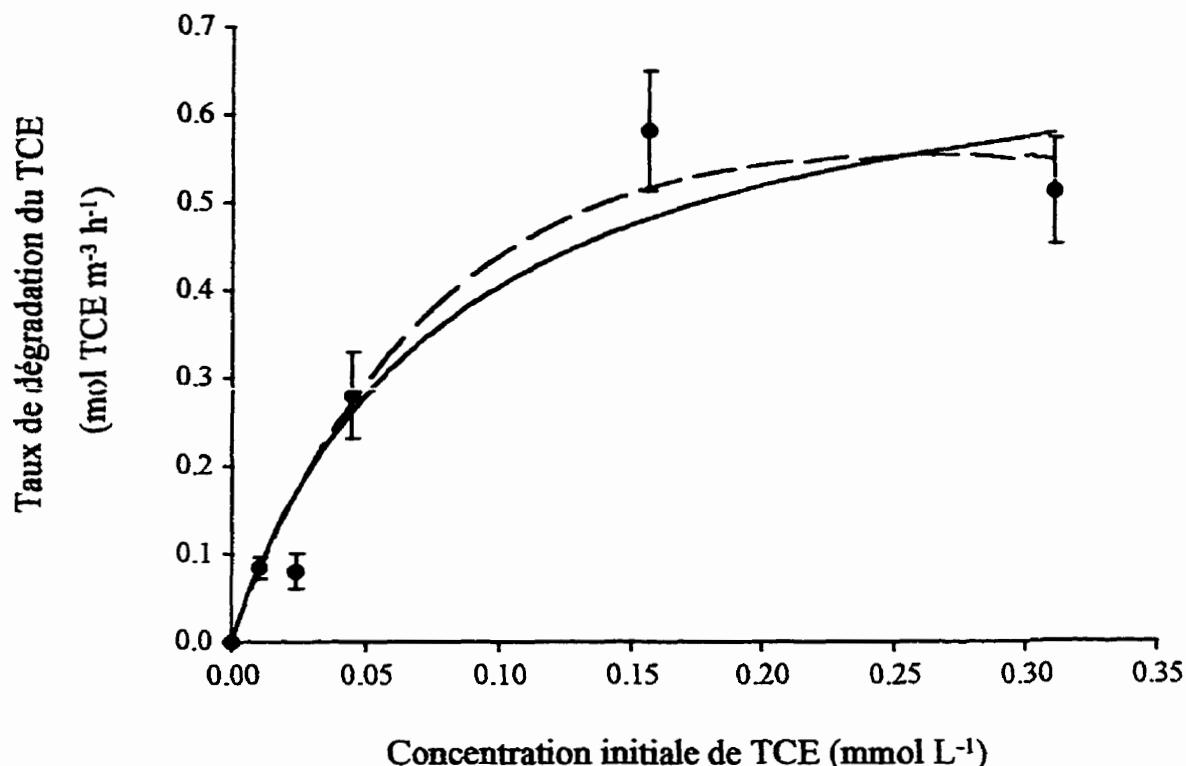


Figure 4.18 : Taux de dégradation du TCE en fonction de la concentration de TCE à la sortie du biofiltre (ligne pleine) Monod; (ligne pointillée) Haldane à une concentration de CH_4 de $1,49 \text{ mmol L}^{-1}$

Si le taux de dégradation demeure constant, la saturation de l'enzyme MMO, en présence de $1,49 \text{ mmol L}^{-1}$ de CH_4 , a donc été atteinte. La courbe peut être approximée par une équation semblable à l'équation de Monod (coefficient de corrélation de 0,92). L'équation est exprimée par la relation suivante :

$$\text{Taux} = \frac{A * [\text{TCE}]_{\text{in}}}{B + [\text{TCE}]_{\text{in}}} \quad (5)$$

où A est le taux global de dégradation du TCE maximal et B est la concentration initiale de TCE qui correspond à la moitié du taux global de dégradation du TCE maximal saturation. La constante A est égale à $(0,72 \pm 0,14) \text{ mol TCE m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ et la constante B est égale à $(0,079 \pm 0,042) \text{ mmol TCE L}^{-1}$.

Si le taux diminue avec une hausse de la concentration de TCE à l'entrée du biofiltre due à l'inhibition du TCE, l'équation de Haldane (Andrews, 1968) qui tient compte de l'inhibition pourrait être utilisée. Selon Haldane, on a que :

$$\text{Taux} = \frac{A * [\text{TCE}]_{\text{in}}}{(B + [\text{TCE}]_{\text{in}}) * (1 + \frac{[\text{TCE}]_{\text{in}}}{C})} \quad (6)$$

où A est le taux global de dégradation du TCE maximal, B est la concentration initiale de TCE qui correspond à la moitié du taux global de dégradation du TCE maximal saturation et C représente la constante d'inhibition. Par régression non linéaire (coefficient de corrélation de 0,95), on obtient que la constante A est égale à $2,18 \text{ mol TCE m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, la constante B est égale à $0,262 \text{ mmol TCE L}^{-1}$ et la constante C est égale à $0,269 \text{ mmol}$

TCE L⁻¹. Même si le coefficient de corrélation obtenu est élevé, les erreurs sur les valeurs sont de l'ordre de 55 000 % (Annexe H) ce qui indique que pour les données expérimentales obtenues, l'équation de Haldane n'est pas vraiment applicable. D'autres expériences devraient être effectuées à des concentrations initiales de TCE supérieures à 0,312 mmol L⁻¹ pour vérifier si le taux de dégradation diminue vraiment. De plus, la concentration de TCE à partir de laquelle le taux diminue de façon significative pourrait être déterminée puis le modèle de Haldane pourrait par la suite être appliqué. De plus, on observe sur la figure 4.18, que les deux graphiques sont assez semblables pour les données expérimentales obtenues.

Généralement, pour toutes les concentrations initiales de TCE, la consommation de CH₄ et la dégradation du TCE ont eu lieu dans les premiers 0,5 m du biofiltre puis sont demeurées relativement constantes. Les taux globaux de consommation du CH₄ et de dégradation du TCE ont diminué en fonction de la hauteur du biofiltre (Tableau 4.6) car les concentrations de TCE et de CH₄ à la sortie de chaque étage ont diminué. Pour toutes les concentrations initiales de TCE, les taux molaires de consommation du CH₄ ont été supérieurs aux taux molaires de dégradation du TCE car la concentration de CH₄ a été supérieure à celle de TCE.

4.7.3 Potentiel microbiologique de chaque étage du biofiltre pour la consommation de CH₄ et pour la dégradation du TCE

Lors des essais de biofiltration, la consommation du CH₄ et la dégradation du TCE ont eu lieu dans les premiers 0,5 m (Tableaux 4.4, 4.5 et 4.6). Chaque étage pris individuellement a été exposé à des concentrations initiales de CH₄ et de TCE respectives de (1,26 ± 0,06) mmol L⁻¹ et de (0,0103 ± 0,0008) mmol L⁻¹. Le débit gazeux était de (5,19 ± 0,17) L min⁻¹. Les concentrations de CH₄ et de TCE à l'entrée et à la sortie du biofiltre ont été mesurées par CPG. Le pourcentage et le taux de consommation du CH₄ de même que le pourcentage et le taux de dégradation du TCE ont été calculés. Chaque étage du biofiltre pris individuellement consommait le CH₄ et dégradait le TCE (Tableau 4.7).

Tableau 4.7 : Résultats de consommation de CH₄ et de dégradation du TCE pour les trois étages du biofiltre pris individuellement

| | Étage 1 | Étage 2 | Étage 3 |
|---|---------|---------|---------|
| % consommation CH ₄ | 8,03 | 5,74 | 8,35 |
| Taux de consommation du CH ₄ (mol CH ₄ m ⁻³ h ⁻¹) | 9,15 | 5,59 | 8,85 |
| Concentration initiale de CH ₄ (mmol L ⁻¹) | 1,330 | 1,205 | 1,236 |
| % dégradation TCE | 62,96 | 44,70 | 67,24 |
| Taux dégradation du TCE (mol TCE m ⁻³ h ⁻¹) | 0,52 | 0,40 | 0,58 |
| Concentration initiale de TCE (mmol L ⁻¹) | 0,0097 | 0,0112 | 0,0100 |
| Débit (L min ⁻¹) | 5,285 | 4,985 | 5,285 |

Le premier et le troisième étage possédaient une activité microbienne semblable. L'activité microbienne du second étage est plus faible que celle des deux autres. Les trois étages possèdent donc le potentiel microbiologique nécessaire pour la consommation du CH₄ et pour la dégradation du TCE.

4.7.4 Principales observations et discussion des essais de variations de paramètres en fonction de la hauteur

Lors de la variation de la concentration initiale de CH₄, la concentration de TCE et de CH₄ à la sortie de chaque étage étaient presque semblables. Les taux unitaires de consommation du CH₄ et de dégradation du TCE diminuaient à chaque étage (Tableau 4.5).

Pour 4 des 5 essais de variation de la concentration initiale de TCE, la concentration de CH₄ à la sortie a diminué avec une augmentation de la hauteur. La concentration de TCE à la sortie des étages est demeurée presque constante. Pour tous les essais sauf les concentrations initiales de TCE de 0,0240 et 0,0445 mmol L⁻¹, les taux unitaires de consommation de CH₄ et de dégradation de TCE ont diminué avec une hausse de la hauteur du biofiltre comme pour la variation de la concentration de CH₄ à l'entrée du biofiltre (Tableau 4.6).

Les pourcentages de dégradation du TCE et de consommation du CH₄ étaient plus élevés lors des premiers essais indépendants de biofiltration (Tableau 4.4). Les taux globaux de dégradation du TCE et de consommation du CH₄ étaient aussi supérieurs. Une similitude est que la dégradation du TCE et la consommation du CH₄ ont eu lieu dans les premiers 0,5 m du biofiltre (Tableaux 4.4, 4.5 et 4.6).

Certaines hypothèses ont été posées pour tenter d'expliquer l'absence de consommation de CH₄ et de dégradation du TCE dans les deux derniers étages. Les micro-organismes pourraient être morts. Cette hypothèse a été rejetée car les micro-organismes des deux derniers étages pris individuellement consommaient le CH₄ et dégradaient le TCE (Tableau 4.7).

La teneur en eau et le pH du lit filtrant ont été constants respectivement à 60,4 % et à 6,94 tout au cours de l'expérience. Les conditions physiques du système n'étaient donc pas la cause du phénomène observé.

Le système pourrait être limité dans la phase gazeuse par l'O₂, le CH₄ ou le TCE. Vu que le CH₄ n'est pas entièrement consommé et que le TCE n'est pas complètement dégradé, la seule limitation possible dans la phase gazeuse serait en O₂. Cependant, une hausse de la concentration de CH₄ à l'entrée du biofiltre a entraîné une hausse du taux global de consommation du CH₄ ce qui élimine la possibilité de limitation en O₂. De plus, la concentration d'oxygène à l'entrée du biofiltre est en quantité suffisante pour permettre la consommation complète du CH₄ et la dégradation complète du TCE (Annexe I).

Des sous-produits de la dégradation du TCE ou de la consommation du CH₄ pourraient contribuer à la perte d'activité biologique dans les deux derniers étages. Les sous-produits de la dégradation du TCE sont l'époxyde de TCE, le CO, le formate, le dichloroacétate et le glyoxylate (Young, 1997). La consommation de CH₄ entraîne la formation de CO₂.

L'époxyde de TCE a une demi-vie de 12 secondes (Henry et Grbic-Galic, 1994). Dès qu'il est transporté à l'extérieur de la cellule (Figure 2.4), il se transforme dans la phase aqueuse qui entoure la particule de milieu filtrant. La seule façon que l'époxyde de TCE pourrait être nocif est s'il traverse dans la phase gazeuse avant d'être transformé. Le temps de demi-vie de l'époxyde de TCE est trop faible pour qu'il puisse traverser le biofiltre en entier. Les autres sous-produits de la dégradation ne sont pas nocifs pour les cellules. Durant toutes les essais, aucun pic autre que ceux du CH₄ et du TCE n'a été détecté par chromatographie (DIF). Le CO₂ n'est probablement pas toxique car il est utilisé par les méthanotrophes lors de la croissance cellulaire pour diminuer la phase de latence. De plus, lors de l'augmentation de la concentration initiale de CH₄, il y a une augmentation du taux global de consommation du CH₄. Une hausse de la consommation du CH₄ entraîne une augmentation de la production de CO₂. Si le CO₂ était nocif, le taux global de consommation de CH₄ cesserait d'augmenter.

Aucun essai de biofiltration n'a été effectué en l'absence de TCE pour vérifier la consommation du CH₄ à chaque étage. Il est donc impossible de dire si l'absence de consommation du CH₄ et de dégradation du TCE est attribuable au CH₄, au TCE ou à une combinaison des deux substrats.

4.8 Possibilité d'utilisation du biofiltre méthanotrophe à l'échelle pilote

Les résultats obtenus lors des essais de biofiltration seront résumés. Par la suite, une discussion sera élaborée sur la possibilité d'utiliser la biofiltration méthanotrophe à l'échelle pilote.

Lors des essais de biofiltration, des concentrations de TCE à l'entrée du biofiltre variant entre 0,06 et 41 mg L⁻¹ ont été étudiées. Avec l'équipement à notre disposition, des concentrations inférieures à 60 µg L⁻¹ n'ont pu être obtenues. Durant les premiers essais de biofiltration méthanotrophe (Tableau 4.4), la consommation de CH₄ était constante à 47 % (concentration de CH₄ à l'entrée du biofiltre de 4 % v/v). Le taux global de consommation du CH₄ a varié entre 3 et 77 mol CH₄ m⁻³ h⁻¹. Le pourcentage de dégradation du TCE variait entre 60 et 92 % avec une moyenne de 80 %. Le taux global de dégradation du TCE a varié entre 0,0053 et 2,71 mol TCE m⁻³ h⁻¹ pour des concentrations de TCE situées entre 0,06 et 41 mg L⁻¹.

Lors de la variation de la concentration de CH₄ à l'entrée du biofiltre (Tableau 4.5), le pourcentage de consommation du CH₄ a varié entre 11 et 28 % avec un taux de consommation variant entre 0,248 et 4,28 mol CH₄ m⁻³ h⁻¹. Pour les concentrations initiales de CH₄ inférieures à 0,161 mmol L⁻¹, le taux de dégradation du TCE était constant à 60 % et diminuait à 34 % lorsque la concentration de CH₄ à l'entrée du biofiltre était de

2,15 mmol L⁻¹ du à l'effet de compétition entre le CH₄ et le TCE pour les sites actifs de la MMO. Le taux global de dégradation du TCE a varié entre 0,032 et 0,331 mol TCE m⁻³ h⁻¹.

Lors de la variation de la concentration de TCE à l'entrée du biofiltre (Tableau 4.6), le pourcentage de consommation du CH₄ était constant à 19,6 % avec un taux global de consommation qui variait entre 2,25 et 13,7 mol CH₄ m⁻³ h⁻¹. La consommation du TCE variait entre 13 et 70 % avec un taux global de dégradation situé entre 0,080 et 1,77 mol TCE m⁻³ h⁻¹.

Une concentration finale de 1,25 µg L⁻¹ doit être atteint pour respecter les normes de la C.U.M. tandis qu'une concentration de 0,0003 µg L⁻¹ (0,3 µg m⁻³) doit être atteinte pour respecter les normes de l'EPA. La concentration la plus faible de TCE obtenue à la sortie du biofiltre méthanotrophe a été de 3 µg L⁻¹ pour une concentration initiale de TCE de 55,4 µg L⁻¹. Un seul biofiltre méthanotrophe ne permet pas de respecter les normes de TCE dans l'air. Aussi, plus les concentrations de TCE à l'entrée du biofiltre sont élevées, plus le nombre de biofiltre en série nécessaire pour effectuer la dégradation du TCE sera élevé. La concentration de l'EPA est très faible et nécessitera des appareils d'une très grande précision pour la détection. La limite de détection du TCE dans l'air peut aller jusqu'à 0,1 µg m⁻³ avec un détecteur à capture d'électrons (Gouvernement du Canada, 1993).

Lors de la biorestauration *in situ* de sites contaminés au TCE, par des techniques d'injection d'air et d'extraction des vapeurs, les concentrations de TCE retrouvées dans le courant gazeux varient selon la contamination qui se retrouve dans l'eau. La concentration de TCE dans les eaux souterraines de ville Mercier variait entre 102 et 12 950 µg L⁻¹. Les eaux souterraines situées sous un site industriel de Vancouver avaient une concentration de TCE variant entre 59,5 et 21 900 µg L⁻¹ tandis que les eaux souterraines situées sous un site industriel du Manitoba possédaient une concentration de TCE pouvant atteindre 425 000 µg L⁻¹. Les concentrations de TCE retrouvées dans les eaux souterraines situées sous un site contaminé au TCE suite à des activités de dégraissage de pièces métalliques variaient entre 30 et 30 000 µg L⁻¹ et ont été traitées par injection de CH₄ et d'air dans des puits (Suftin, 1996).

Vu que le traitement du TCE en phase gazeuse est relativement nouveau, peu d'articles mentionnent des concentrations de TCE traitées sur le terrain. Wilson et al. (1996) ont trouvé des concentrations gazeuses de TCE de 4 200 µg L⁻¹ dans trois sites des États-Unis. Ils ont calculé que des concentrations de TCE gazeux allant jusqu'à 40 000 µg L⁻¹ pouvaient être atteintes si le TCE contenu dans les sols à traiter était entièrement volatilisé. Les auteurs mentionnés dans la revue de littérature ont travaillé avec des concentrations gazeuses de TCE situées entre 2,2 et 280 µg L⁻¹. De faibles concentrations gazeuses de TCE seraient obtenues lors de traitement d'eaux souterraines faiblement contaminées au TCE.

Les concentrations de TCE étudiées durant la maîtrise sont donc représentatives des eaux souterraines grandement contaminées au TCE. Cependant, un seul biofiltre ne permettrait pas l'atteinte de l'objectif de dégradation du TCE. Plusieurs biofiltres méthanotrophes devront donc être mis en série. Il faut s'assurer que la concentration de CH₄ et d'O₂ à l'entrée de chacun des biofiltres n'est pas limitante. Pour assurer une dégradation maximale du TCE, la compétition entre le CH₄ et le TCE devrait être éliminée. Une solution serait d'alimenter une concentration de CH₄ inférieure à 0,161 mmol L⁻¹ où la compétition était négligeable lors des essais de biofiltration. Une autre alternative serait d'avoir deux séries de biofiltres en parallèle. Une série de biofiltres serait alimentée en air et en CH₄ durant une période donnée pendant que l'autre traiterait le courant gazeux contenant le TCE. Après un certain temps, on inverserait les courants qui vont aux biofiltres. Ceci permettrait aux bactéries méthanotrophes de croître et d'être remplacées suite à l'endommagement subit par une exposition au TCE. Cette solution peut s'avérer coûteuse surtout si les biofiltres sont de grande dimension. Si deux séries ne peuvent opérer simultanément, l'ajout de biomasse méthanotrophe dans le biofiltre ou le remplacement du milieu filtrant permettrait de contrer la perte d'activité due à la toxicité du TCE sur les cellules des méthanotrophes. Si le nombre de biofiltres nécessaires pour atteindre le critère de décontamination est trop élevé, un filtre au charbon activé peut être ajouté à la fin. Vu que les concentrations de TCE seront plus faibles, la durée de vie du charbon actif sera plus longue.

Le biofiltre pourrait aussi être installé à la sortie d'un réacteur méthanotrophe qui traite le TCE sous forme liquide (Figure 4.19) pour traiter le TCE perdu par évaporation. Les concentrations de TCE à l'entrée du biofiltre seraient donc assez faibles si le réacteur fonctionne de façon optimale.

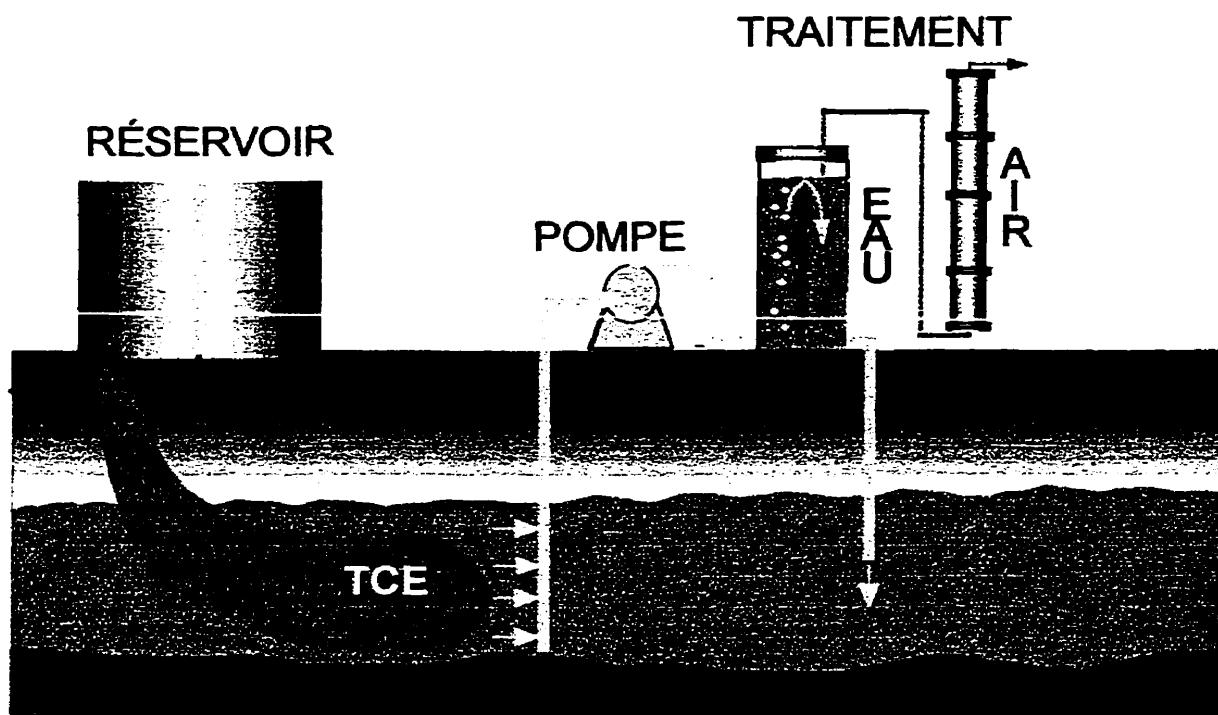


Figure 4.19 : Traitement combiné bioréacteur et unité de biofiltration avec consortium méthanotrophe (Pierre, 1997)

Chapitre 5 - Conclusions et recommandations

5.1 Conclusions

L'objectif principal du projet de recherche était de vérifier que la biofiltration méthanotrophe du TCE en phase gazeuse était faisable, de concevoir et construire un biofiltre et l'étudier le comportement du biofiltre.

À partir des résultats présentés, des conclusions ont pu être tirées.

- La biofiltration méthanotrophe du TCE en phase gazeuse est faisable;
- Un milieu filtrant composé de compost et de perlite (50 % v/v) est adéquat pour la biofiltration du TCE;
- La biofiltration méthanotrophe permet d'obtenir des taux de dégradation de 357 g TCE m⁻³ réacteur h⁻¹ pour une concentration initiale de TCE de 23,5 mg L⁻¹, une concentration initiale de CH₄ de 4 % (v/v) et pour un débit gazeux de 2,3 L min⁻¹;
- Pour les concentrations initiales de CH₄ inférieures à 0,50 mmol L⁻¹ (1,1 % v/v), le phénomène de compétition est presqu'inexistant;
- Le milieu filtrant adsorbait le TCE (9,53 g TCE m⁻³ air (g TCE m⁻³ compost)⁻¹) mais pas le CH₄;

- En général, la consommation de CH₄ et la dégradation du TCE ont eu lieu dans les premiers 0,5 m du biofiltre;
- Chaque étage du biofiltre possérait le potentiel microbiologique nécessaire pour la consommation de CH₄ et pour la dégradation du TCE;

Les essais en microcosmes ont permis de tirer les conclusions suivantes :

- Le TCE en phase gazeuse est dégradé en CO₂ et en H₂O par la microflore du sol indigène à température de la pièce;
- La dégradation du TCE en phase gazeuse par les méthanolotrophes est possible même sans ajout de CH₄;
- Un taux initial de dégradation, pour les sols possédant un potentiel méthanolotrophe, de 5 mg TCE (kg sol sec)⁻¹ d⁻¹ a été atteint avec 50 % de CH₄ et une concentration de TCE de 2,44 mg L⁻¹;
- L'enrichissement des méthanolotrophes est essentiel à la dégradation efficace du TCE. Un pourcentage de dégradation de 90,5 % a été atteint avec un taux initial de dégradation de 4,76 mg TCE (kg sec compost)⁻¹ d⁻¹ pour le compost enrichi avec un pourcentage de CH₄ de 4 % v/v et une concentration de TCE de 2,44 mg L⁻¹. La tourbe enrichie n'a pas dégradé significativement le TCE;
- Une augmentation du pourcentage de CH₄ dans les microcosmes a entraîné une diminution du pourcentage de dégradation du TCE pour une concentration initiale de TCE de 2,44 mg L⁻¹;

- À une concentration de TCE de 30 mg L^{-1} , il y a encore dégradation du TCE en microcosmes. Le taux initial de dégradation du TCE augmente avec une augmentation de la concentration initiale de TCE;
- Le gaz naturel peut remplacer le CH_4 pur pour l'enrichissement des méthanotrophes. Le taux initial de dégradation du TCE a été de $7,61 \text{ mg TCE (kg sec compost)}^{-1} \text{ d}^{-1}$ avec le gaz naturel par rapport à $8,78 \text{ mg TCE (kg sec compost)}^{-1} \text{ d}^{-1}$ pour le CH_4 pur avec une concentration initiale de TCE de $2,44 \text{ mg L}^{-1}$ et 4 % v/v de CH_4 ;
- Les méthanotrophes exposées au TCE durant un mois ont un taux initial de dégradation du TCE inférieur à celui des cellules non exposées au TCE. Le taux initial de dégradation du TCE, pour les bactéries exposées au TCE, demeure constant pour des concentrations de TCE variant entre $2,44$ et 30 mg L^{-1} .

5.2 Recommandations

- 1) Vérifier l'effet de la température sur la biofiltration du TCE : Effectuer des essais de biofiltration à une température plus près de celle de l'eau souterraine (10 - 12 °C) pour vérifier si la dégradation du TCE par les bactéries méthanotrophesbasse est encore possible et de déterminer l'efficacité et les taux de dégradation du TCE et de consommation du CH₄. Ces efficacités et ces taux pourront par la suite être comparés avec ceux obtenus à température de la pièce;
- 2) Refaire des essais de biofiltration avec des concentrations de TCE plus faibles (de l'ordre du µg L⁻¹) qui sont plus représentatives des concentrations gazeuses normalement traitées;
- 3) Caractériser la microflore bactérienne du biofiltre en fonction de la hauteur et en fonction du temps : effectuer des décomptes bactériens méthanoliques et hétérotrophes (par exemple les méthanogènes). Par la suite, le ratio de bactéries méthanoliques sur les bactéries hétérotrophes peut être calculé. On peut ensuite vérifier si ce ratio change avec la hauteur et suivre son évolution dans le temps (un échantillon par semaine);
- 4) Essais de biofiltration avec d'autres milieux filtrants : en premier lieu, le pourcentage de perlite de notre milieu filtrant peut être varié pour vérifier si la dégradation du TCE serait aussi efficace. Par la suite une combinaison de d'autres milieux organiques pourraient être testée pour la dégradation du TCE (par exemple, tourbe, fumier,

copeaux de bois, compost, sol). L'utilisation de milieu inorganique (roche volcanique, perlite seule, billes de polystyrène) pourrait aussi être testée pour la biodégradation du TCE;

- 5) Essais de biofiltration avec un mélange de polluants représentatifs d'une eau contaminée aux solvants chlorés pour étudier les interactions entre les composants et vérifier quel composant est dégradé en premier et ceux qui sont le plus résistants à la dégradation méthanotrophe;
- 6) Suivi en continu de la consommation d'oxygène et de la production de CO₂ à l'aide de sondes spécifiques. Le suivi de l'oxygène par spectromètre de masse est difficile surtout si le CH₄ est alimenté en même temps car les deux possèdent le même poids (le spectromètre de masse suit l'oxygène sous sa forme atomique). La variation de la concentration de TCE pourrait également être suivie dans le temps par spectromètre de masse;
- 7) Échantillonnage à des hauteurs inférieures à 0,5 m pour déterminer à partir de quelle hauteur la consommation du CH₄ et la consommation de TCE n'ont plus lieu (échantillonnage à tous les 0,1 m);
- 8) Étude de l'hydrodynamique du système de biofiltration pour vérifier si la dispersion est importante. L'hydrodynamique se fait par injection d'argon à l'entrée du biofiltre. La concentration d'argon à la sortie du biofiltre est suivie par spectromètre de masse où la concentration est enregistrée en fonction du temps. Par la suite, à partir de ces données, le nombre de Peclet puis le nombre de dispersion peuvent être déterminés;

- 9) Mettre plusieurs biofiltres de 0,5 m en série pour vérifier si le pourcentage de consommation du CH₄ et le pourcentage de dégradation du TCE augmenteraient après chaque biofiltre.
- 10) Modélisation du comportement du biofiltre : Avant de débuter la modélisation, la porosité de même que le diamètre moyen des particules du milieu filtrant doivent être déterminés. De plus, d'autres expériences de biofiltration doivent être effectuées en variant le débit gazeux à l'entrée du biofiltre (tout en maintenant constantes les concentrations de CH₄ et de TCE) pour vérifier si la consommation de CH₄ et la dégradation du TCE ont encore lieu dans les premiers 0,5 m. Le modèle devra tenir compte de la mortalité des cellules due à la toxicité du TCE et de la croissance des cellules dû à l'apport de CH₄. Il doit aussi tenir compte des phénomènes de transport tels que la dispersion, l'advection et le transfert de la phase gazeuse à la phase liquide. On doit aussi tenir compte de la consommation d'oxygène par les hétérotrophes, de la consommation de CH₄ et de TCE par les méthanotrophes. Le modèle pourrait permettre de prédire la hauteur de biofiltre nécessaire pour obtenir le pourcentage de dégradation visé si les concentrations de TCE et de CH₄ à l'entrée du biofiltre sont connues.

Références

ACGIH (AMERICAN CONFERENCE OF GOVERNMENTAL INDUSTRIAL HYGIENISTS). (1991). Documentation of the threshold limit values. 6^e édition. Cincinnati, Ohio.

ALVAREZ-COHEN, L. et McCARTY, P.L. (1991a). Effects of toxicity, aeration and reductant supply on trichloroethylene transformation by a mixed methanotrophic culture. Applied and Environmental Microbiology, 57(1) : 228-235.

ANDREWS, J.F. (1968). A mathematical model for the continuous culture of microorganisms utilizing inhibitory substrates. Biotechnology and Bioengineering, 10(3) : 707-723.

AZIZ, C.E., FITCH, M.W., LINQUIST, L.K., PRESSMAN, J.G., GEORGIOU, G. et SPEITEL, G.E. Jr. (1995). Methanotrophic biodegradation of trichloroethylene in a hollow fiber membrane bioreactor. Environmental Science & Technology, 29(10) : 2574-2583.

BARBEE, G.C. (1994). Fate of chlorinated aliphatic hydrocarbons in the vadose zone and ground water. Ground Water Monitoring and Remediation : 129-140.

BOHN, H. (1992). Consider biofiltration for decontaminating gases. Chemical Engineering Progress, 88(4) : 35-41.

BOIESEN, A., ARVIN, E. et BROHOLM, K. (1993). Effect of mineral nutrients on the kinetics of methane utilization by methanotrophs. Biodegradation, 4 : 163-170.

BOWMAN, J.P. et SAYLER, G.S. (1994). Optimization and maintenance of soluble methane monooxygenase activity in *Methylosinus trichosporium* OB3b. Biodegradation, 5 : 1-11.

BROCK, T.D., SMITH, D.W. et MADIGAN, M.T. (1984). Biology of microorganisms, 4th edition, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.

BROCKMAN, F.J., PAYNE, W., WORKMAN, D., SOONG, A., MANLEY, S., SUN, W. et OGRAM, A. (1995). Molecular-and cultural-based monitoring of bioremediation at a TCE-contaminated site. Bioremediation of Chlorinated Solvents, 3(4) : 99-109.

BROHOLM, K., JENSEN, B.K., CHRISTENSEN, T.H. et OLSEN, L. (1990). Toxicity of 1,1,1-trichloroethane and trichloroethene on a mixed culture of methane-oxidizing bacteria. Applied and Environmental Microbiology, 56(8) : 2488-2493.

BROHOLM, K., CHRISTENSEN, T.H. et JENSEN, B.K. (1993). Different abilities of eight mixed cultures of methane-oxidizing bacteria to degrade TCE. Water Research, 27(2) : 215-224.

BRUSSEAU, G.A., TSIEN, H.C., HANSON, R.S. et WACKETT, L.P. (1990). Optimization of trichloroethylene oxidation by methanotrophs and the use of a colorimetric assay to detect soluble methane monooxygenase activity. Biodegradation, 1 : 19-29.

CARLSEN, H.N., JORGENSEN, L. et DEGA, H. (1991). Inhibition by ammonia of methane utilization in *Methylococcus capsulatus* (Bath). Applied Microbiology and Biotechnology, 35 : 124-127.

CHANG, H.L. et ALVAREZ-COHEN, L. (1995). Transformation capacities of chlorinated organics by mixed cultures enriched on methane, propane, toluene, or phenol. Biotechnology and Bioengineering, 45(5) : 440-449.

CHAUDRY, R.G. et CHAPALAMADUGU, S. (1991). Biodegradation of halogenated organic compounds. Microbiological Reviews, 55(1) : 59-79.

CHEMISTRY AND RELATED PROPERTIES OF TRICHLOROETHYLENE. (1998).

[Http://burgundy.uwaterloo.ca/biol447new/97assignment2/MIKSCOT.HTM](http://burgundy.uwaterloo.ca/biol447new/97assignment2/MIKSCOT.HTM)

CHU, K.H. et ALVAREZ-COHEN, L. (1996). Trichloroethylene degradation by methane-oxidizing cultures grown with various nitrogen sources. Water Research, **68**(1) : 76-82.

COMMUNAUTÉ URBAINE DE MONTRÉAL (1986). Règlement sur les rejets atmosphériques (R90). 6 pages.

CORSI, R.L. et SEED, L.P. (1994). Biofiltration of BTEX-contaminated gas streams : laboratory studies. Proceedings, 87th Annual Meeting of the Air & Waste Management Association.

CSST (COMMISSION DE LA SANTÉ ET DE LA SÉCURITÉ DU TRAVAIL DU QUÉBEC). (1988). Renseignements sur les contaminants chimiques et biologiques réglementés. Montréal.

DAVIS, K.J., CORNISH, A. et HIGGINS, I.J. (1987). Regulation of the intracellular location of methane mono-oxygenase during growth of *Methylosinus trichosporium* OB3b on methanol. Journal of General Microbiology, **133** : 291-297.

DEVINNY, J.S., WEBSTER, T.S., TORRES, E. et BASRAI, S. (1995). Biofiltration for removal of PCE and TCE vapors from contaminated air. Hazardous Waste & Hazardous Materials, **12**(3) : 283-293.

ELY, R.L., WILLIAMSON, K.J., GUENTHER, R.B., HYMAN, M.R. et ARP, D.J. (1995). A cometabolic kinetics model incorporating enzyme inhibition, inactivation, and recovery : 1. Model development, analysis, and testing. Biotechnology and Bioengineering, **46**(3) : 218-231.

ENSLEY, B.D. et KURISKO, P.R. (1994). A gas lift bioreactor for removal of contaminants from the vapor phase. Applied and Environmental Microbiology, **60**(1) : 285-290.

ERGAS, S.J., KINNEY, K., FULLER, M.E. et SCOW, K.M. (1994). Characterization of a compost biofiltration system degrading dichloromethane. Biotechnology and Bioengineering, **44**(9) : 1048-1054.

FAYOLLE, F., MAHIEU, B., LE ROUX, F. et BALLERINI, D. (1997). Degradation of gaseous trichloroethylene by a methanotrophic strain in a biofilter. In Situ and On-Site Bioremediation, **5** : 213-218.

FENNELL, D.E., UNDERHILL, S.E. et JEWELL, W.J. (1992). Methanotrophic attached-film reactor development and biofilm characteristics. Biotechnology and Bioengineering, **40**(10) : 1218-1232.

FENNELL, D.E., NELSON, Y.M., UNDERHILL, S.E., WHITE, T.E. et JEWELL, W.J. (1993). TCE degradation in a methanotrophic attached-film bioreactor. Biotechnology and Bioengineering, **42**(7) : 859-872.

FERENCI, T., STROM, T. et QUAYLE, Jr. (1975). Oxidation of carbon monoxide and methane by *Pseudomonas methanica*. Journal of General Microbiology, **91** : 79-91.

FLIERMANS, C.B., PHELPS, T.J., RINGELBERG, D., MIKELL, A.T. et WHITE, D.C. (1988). Mineralization of trichloroethylene by heterotrophic enrichment cultures. Applied and Environmental Microbiology, **54**(7) : 1709-1714.

FOGEL, M.M., TADDEO, A.R. et FOGEL, S. (1986). Biodegradation of chlorinated ethenes by a methane-utilizing mixed culture. Applied and Environmental Microbiology, **51**(4) : 720-724.

FOLSOM, R., OEDZES, J.Y., WAARDE, J.J. et JANSSEN, D.B. (1991). Performance characterization of a model bioreactor for the biodegradation of trichloroethylene by *Pseudomonas G4*. Applied and Environmental Microbiology, **57**(2) : 1602-1608.

FOX, B.G., BOURNEMAN, J.G., WACKETT, L.P. et LIPSCOMB, J.D. (1990). Haloalkene oxidation by the soluble methane monooxygenase from *Methylosinus trichosporium* OB3b : mechanistic and environmental implications. Biochemistry, **29** : 6419-6427.

GOUVERNEMENT DU CANADA, Environnement Canada et Santé Canada. (1993). Trichloroéthylène. Loi canadienne sur la protection de l'environnement. 55 p.

HANSON, R.S. et HANSON, T.E. (1996). Methanotrophic Bacteria. Microbiological Reviews, **60**(2) : 439-471.

HENRY, S.M. et GRBIC-GALIC, D. (1991). Influence of endogenous and exogenous electron donors and trichloroethylene oxidation toxicity on trichloroethylene oxidation by methanotrophic cultures from a groundwater aquifer. Applied and Environmental Microbiology, **57**(1) : 236-244.

HENRY, S.M. et GRBIC-GALIC, D. (1994). Degradation of trichloroethylene in methanotrophic systems and implications for process applications. Biological degradation and bioremediation of toxic chemicals, chapitre 15, Dioscorides Press, Portland, Oregon.

HENSON, J.M., YATES, M.V., COCHRAN, J.W. et SHACKLEFORD, D.L. (1988).

Microbial removal of halogenated methanes, ethanes and ethylenes in an aerobic soil exposed to methane. FEMS Microbiology Ecology, **53** : 193-201.

HODGE, D.S. et DEVINNY, J. (1995). Modeling removal of air contamination by biofiltration. Journal of Environmental Engineering, **121**(1) : 21-33.

HOLMES, A.J.N., OWENS, J.P. et MURRELL, J.C. (1995). Strategies for the detection of novel methanotrophs using molecular ecology techniques. Microbiology, **41** : 1947-1955.

HRSAK, Dubravka. (1996). Cometabolic transformation of linear alkylbenzenesulphonates by methanotrophs. Water Research, **30**(12) : 3092-3098.

JANSSEN, D.B., GROBBEN, G., HOEKSTRA, R., OLDENHUIS, R. et WITHOLT, B. (1988). Degradation of trans-1,2-dichloroethylene by mixed and pure cultures of methanotrophic bacteria. Applied Microbiology and Biotechnology, **29** : 392-399.

JORGENSEN, L. et DEGN, H. (1983). Mass spectrometric measurements of methane and oxygen utilization by methanotrophic bacteria. Microbiology Letters, **20** : 331-335.

KAPAHI, R. et GROSS, M. (1995). Biofiltration for VOC and ammonia emissions control. Biocycle, **36**(2) : 87-90.

KIM, Y., SEMPRINI, L. et ARP, D.J. (1997). Aerobic cometabolism of chloroform, 1,1,1-trichloroethane, 1,1-dichloroethylene and other chlorinated aliphatic hydrocarbons by butane-utilizing microorganisms, 97th General Meeting ASM, Miami Beach, Florida, 473.

KNAUF, S. et ZIMMER, H. (1994). Biofiltration at a temperature above 40 °C - Comparison of the biofilter materials bark compost and wood chips. Staub Reinhalitung der Luft, **54**(2) : 41-44.

LACKEY, L. W. et BOLES, J.L. (1997). Biofiltration of trichloroethylene-contaminated air streams using a propane-oxidizing consortium. In Situ and On-Site Bioremediation, **5** : 189-194.

LANZARONE, N. A. et McCARTY, P.L. (1990). Column studies on methanotrophic degradation of trichloroethene and 1,2-dichloroethane. Ground Water, **28**(6) : 910-919.

LESON, G. et WINER, A.M. (1991). Biofiltration : An innovative air pollution control technology for VOC emissions. Journal of Air and Waste Management Association, **41**(8) : 1045-1053.

LIPSCOMB, J.D. (1994). Biochemistry of the soluble methane monooxygenase. Annual Review in Microbiology, **48** : 371-399.

LITTLE, C.D., PALUMBO, A.V., HERBES, S.E., LIDSTROM, M.E., TYNDALL, R.L. et GILMER, P.J. (1988). Trichloroethylene biodegradation by a methane-oxidizing bacterium. Applied and Environmental Microbiology, **54**(4) : 951-956.

MATTEAU, Y. et RAMSAY B. (1997). Active compost biofiltration of toluene contaminated air. Biodegradation, **8** : 135-141.

MATTEAU, Y. et RAMSAY, B. (1998). Thermophilic toluene biofiltration. Journal of Air and Waste Management Association. Accepté.

MEF (1995). Projet de protection des sols et de réhabilitation des terrains contaminés, Gouvernement du Québec.

MERCK INDEX. (1996). An encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals, 12^e édition, Whitehouse Station, New Jersey.

MOHN, W.W. et TIEDJE, J.M. (1992). Microbial Reductive Dehalogenation. Microbiological Reviews, **56** : 482-503.

MORAN, B.N. et HICKEY, W.J. (1997). Trichloroethylene biodegradation by mesophilic and psychrophilic ammonia oxidizers and methanotrophs in groundwater microcosms. Applied and Environmental Microbiology, **63**(10) : 3866-3871.

MURRAY, W.D. et RICHARDSON, M. (1993). Progress toward the biological treatment of C₁ and C₂ halogenated hydrocarbons. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, **23**(3) : 195-217.

OLDENHUIS, R., VINK, R.L.J.M., JANSSEN, D.B. et WITHOLT, B. (1989). Degradation of chlorinated aliphatic hydrocarbons by *Methylosinus trichosporium* OB3b expressing soluble methane monooxygenase. Applied and Environmental Microbiology, **55**(11) : 2819-2826.

OTTENGRAF, S.P.P., VAN DEN OEVER, A.H.C. et KEMPENAARS, F.J.C.M. (1984). Waste gas purification in a biological filter bed. Innovations in Biotechnology : 157-167.

OTTENGRAF, S.P.P. et VAN DEN OEVER, A.H.C. (1983). Kinetics of organic compound removal from waste gases with a biological filter. Biotechnology and Bioengineering, **25**(9) : 3089-3102.

OTTENGRAF, S.P.P., MEESTERS, J.J.P., VAN DEN OEVER, A.H.C., et ROZEMA, H.R. (1986). Biological elimination of volatile xenobiotic compounds in biofilters. Bioprocess Engineering, 1 : 61-69.

PARK, S., HANNA, L.M., TAYLOR, R.T. et DROEGE, M.W. (1991). Batch cultivation of *Methylosinus trichosporium* OB3b. I: Production of soluble methane monooxygenase. Biotechnology and Bioengineering, 38(4) : 423-433.

PARSONS, F., WOOD, P.R. et DeMARCO, J. (1984). Transformation of tetrachloroethylene and trichloroethylene in microcosms and groundwater. Journal of American Water Works Association, 76 : 56-59.

PERRY, R.H., GREEN, D.W. et MALONEY, J.O. (1997). Perry's Chemical Engineers Handbook, 7^e édition, McGraw-Hill.

PHELPS, T.J., NIEDZIELSKI, J.J., MALACHOWSKY, K.J., SCHRAM, R.M., HERBES, S.E. et WHITE, D.C. (1991). Biodegradation of mixed-organic wastes by microbial consortia in continuous-recycle expanded-bed bioreactors. Environmental Science and Technology, 25 :1461-1465.

PIERRE, Stéphane. (1997). Comportement d'un réacteur à sol immobilisé en conditions méthanotropes pour la biodégradation du trichloroéthylène. Mémoire de maîtrise. École Polytechnique de Montréal.

RASCHE, M.E., HYMAN, M.R. et ARP, D.J. (1991). Factors limiting aliphatic chlorocarbon degradation by *Nitrosomonas europaea*: cometabolic inactivation of ammonia monooxygenase and substrate specificity. Applied and Environmental Microbiology, 57(7) : 2986-2994.

RENNER, G., HAAGE, G. et BRAUNEGG, G. (1996). Production of short-side-chain-polyhydroxyalkanoates by various bacteria from the rRNA superfamily III. Applied Microbiology and Biotechnology, 46(3) : 268-272.

ROBERTS, P.V., HOPKINS, G.D., MACKAY, D.M. et McCarty, P. L. (1990). A field evaluation of *in situ* biodegradation of chlorinated ethenes : Part 1. Methodology and field site characterization. Ground Water, 28 : 591-604.

SEMPRINI, L. et McCARTY, P. L. (1991a). Comparison between model simulations and field results for *in-situ* biorestauration of chlorinated aliphatics : Part 3. Studies of competitive inhibition. Ground Water, **29**(2) : 239-250.

SEMPRINI, L. et McCARTY, P. L. (1991b). Comparison between model simulations and field results for *in-situ* biorestauration of chlorinated aliphatics : Part 1. Biostimulation of methanotrophic bacteria. Ground Water, **29**(3) : 365-374.

SEMPRINI, L., ROBERTS, P.V., HOPKINS, G.D. et McCARTY, P.L. (1990). A field evaluation of *in-situ* biodegradation of chlorinated ethenes : Part 2 : Results of biostimulation and biotransformation experiments. Ground Water, **28**(5) : 715-727.

SHAREEFDEEN, Z. et BALTZIS, B.C. (1993). Biofiltration of methanol vapor. Biotechnology and Bioengineering, **41**(3) : 512-524.

SHIM, J.S., JUNG, J.T., SOFER, S. et LAKHWALA, F. (1995). Oxidation of ethanol vapors in a spiral bioreactor. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, **64**(1) : 49-54.

SPEITEL, G.E. Jr. et CLOSMANN, F.B. (1991). Chlorinated solvent biodegradation by methanotrophs in unsaturated soils. Journal of Environmental Engineering, **117**(5) : 541-558.

STRAND, S.E. et LIDSTROM, M.E. (1984). Characterization of a new marine methylotroph. FEMS Microbiology Letters, **21** : 247-251.

STRANDBERG, G.W., DONALDSON, T.L. et FARR, L.L. (1989). Degradation of trichloroethylene and trans-1,2-dichloroethylene by a methanotrophic consortium in a fixed-film, packed-bed reactor. Environmental Science and Technology, **23** : 1422-1425.

SUKESAN, S. et WATWOOD, M.E. (1997). Continuous vapor-phase trichloroethylene biofiltration using hydrocarbon-enriched compost as filtration matrix. Applied Microbiology and Biotechnology, **48** : 671-676.

SUTFIN, J.A. (1996). How methane injection attacks chlorinated solvents?. International Ground Water Technology, **2(4)** : 7-9.

SWANSON, W.J. et LOEHR, R.C. (1997). Biofiltration : Fundamentals, Design and Operations Principles, and Applications. Journal of Environmental Engineering, **126(3)** : 538-546.

TECHNOLOGY CATALOG SITE REMEDIATION PROFILES. (1998).
http://www.cmst.org/OTD/tech_summs/Catalog/Tech_Cat_chap5_14.html.

TERASAWA, M., HIRAI, M. et KUBOTA, H. (1986). Soil deodorization systems.
Biocycle, 27(6) : 28-32.

TSIEN, H.C., BRUSSEAU, G.A., HANSON, R.S. et WACKETT, L.P. (1989). Biodegradation of trichloroethylene by *Methylosinus trichosporium* OB3b. Applied and Environmental Microbiology, 55(12) : 3155-3161.

VAN GROENESTIJN, J.W. et HESSELINK, P.G.M. (1993). Biotechniques for air pollution control. Biodegradation, 4: 283-301.

WACKETT, L.P., BRUSSEAU, G.A., HOUSEHOLDER, S.R. et HANSON, R.S. (1989). Survey of microbial oxygenases : trichloroethylene degradation by propane-oxidizing bacteria. Applied and Environmental Microbiology, 55(11) : 2960-2964.

WACKETT, L.P. et GIBSON, D.T. (1988). Degradation of trichloroethylene by toluene dioxygenase in whole-cell studies with *Pseudomonas putida* F1. Applied and Environmental Microbiology, 54(7) : 1703-1708.

WEBER, F.J. et HARTMANS, S. (1995). Use of activated carbon as a buffer in biofiltration of waste gases with fluctuating concentrations of toluene. Applied Microbiology and Biotechnology, 43(2) : 365-369.

WHITTENBURY, R., PHILLIPS, K.C. et WILKINSON, J.G. (1970). Enrichment, isolation and some properties of methane utilizing bacteria. Journal of General Microbiology, **61** : 205-218.

WILSON, J.T., KAMPBELL, D.H. et KERR, R.S. (1996). Bioventing of chlorinated solvents for ground-water cleanup through bioremediation. Handbook of bioremediation, section 6, 117-129.

WILSON, J.T. et WILSON, B.H. (1985). Biotransformation of trichloroethylene in soil. Applied and Environmental Microbiology, **49**(1) : 242-243.

YOUNG, E.C. (1997). http://www.labmed.umn.edu/umbfd/TCE/reac/tce_mechA1.gif.
Biocatalysis/Biodegradation Database, Université du Minnesota.

ANNEXES

ANNEXE A Analyse du CH₄ par chromatographie en phase gazeuse

Le CH₄ a été analysé à l'aide d'un DIF. Les concentrations de CH₄ à l'entrée et à la sortie du biofiltre ont été interprétées à l'aide d'une courbe de calibration réalisée par la préparation de standards. Cinq standards ont été préparés soient 1, 5, 10, 15 et 25 % v/v de CH₄ en injectant des volumes de CH₄ de 1,2, 4,8, 8,4, 12, 18 et 24 mL, à l'aide de seringues en verre (Hamilton Gastight, Luer Lok) et d'une aiguille en acier inoxydable (Luer Lok), dans des bouteilles sérologiques de 120 mL. La réponse du CPG-DIF était linéaire avec un coefficient de corrélation de 0.99 (Figure A.1). De nouveaux standards étaient préparés à chaque mois.

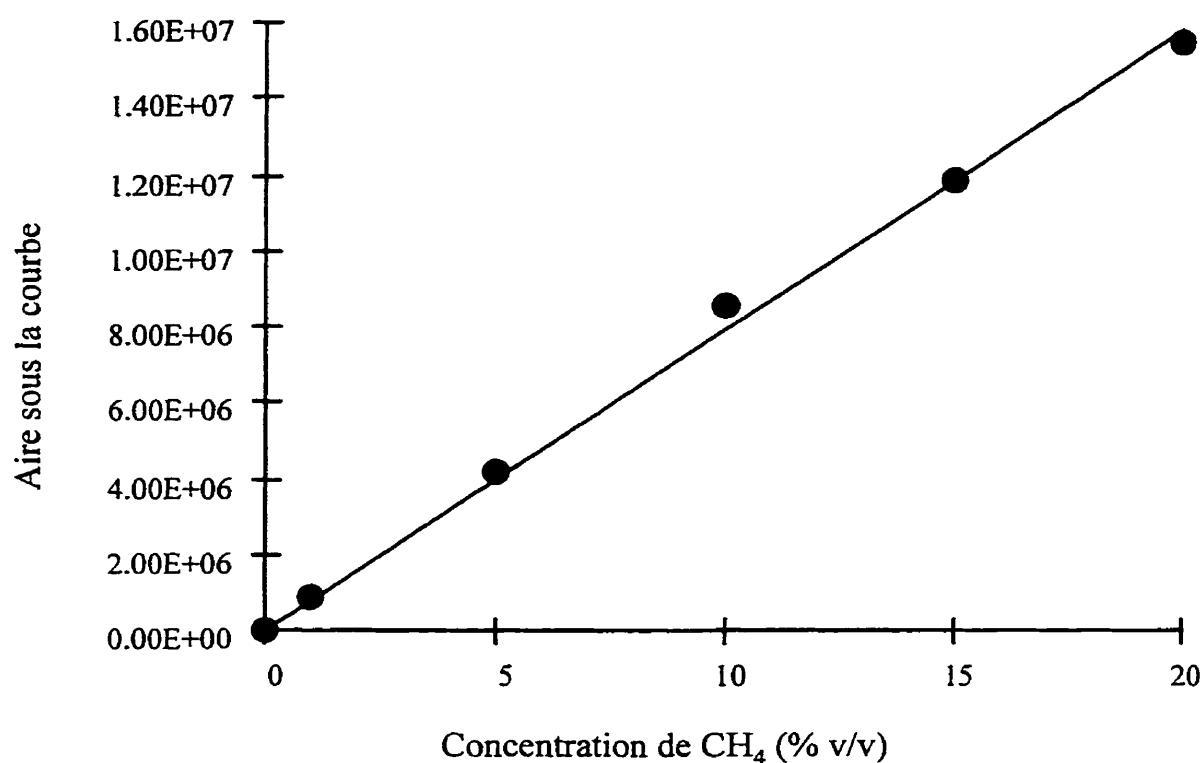


Figure A.1 : Courbe de calibration du CH_4

La concentration de CH_4 de l'échantillon a été calculée à partir de l'équation 7.

$$[\text{CH}_4]_g = \frac{\text{aire sous la courbe}}{\text{aire du standard}} \times C_{\text{std}} \quad (7)$$

où C_{std} est la concentration du standard.

ANNEXE B Analyse du TCE par chromatographie en phase gazeuse

Le TCE a été analysé à l'aide d'un dce. Les concentrations de TCE à l'entrée et à la sortie du biofiltre ont été interprétées à l'aide d'une courbe de calibration réalisée par la préparation de standards. Cinq standards ont été préparés soient 2,44, 5, 10, 20 et 30 mg L⁻¹ de TCE en injectant des volumes de TCE de 0,2 µL, 0,41 µL, 0,82 µL, 1,64 µL et 2,46 µL, à l'aide de seringues en verre (Hamilton Gastight), dans des bouteilles sérologiques de 120 mL. La réponse du CPG-dce était linéaire avec un coefficient de corrélation de 0,99 (Figure B.1). De nouveaux standards étaient préparés à chaque mois.

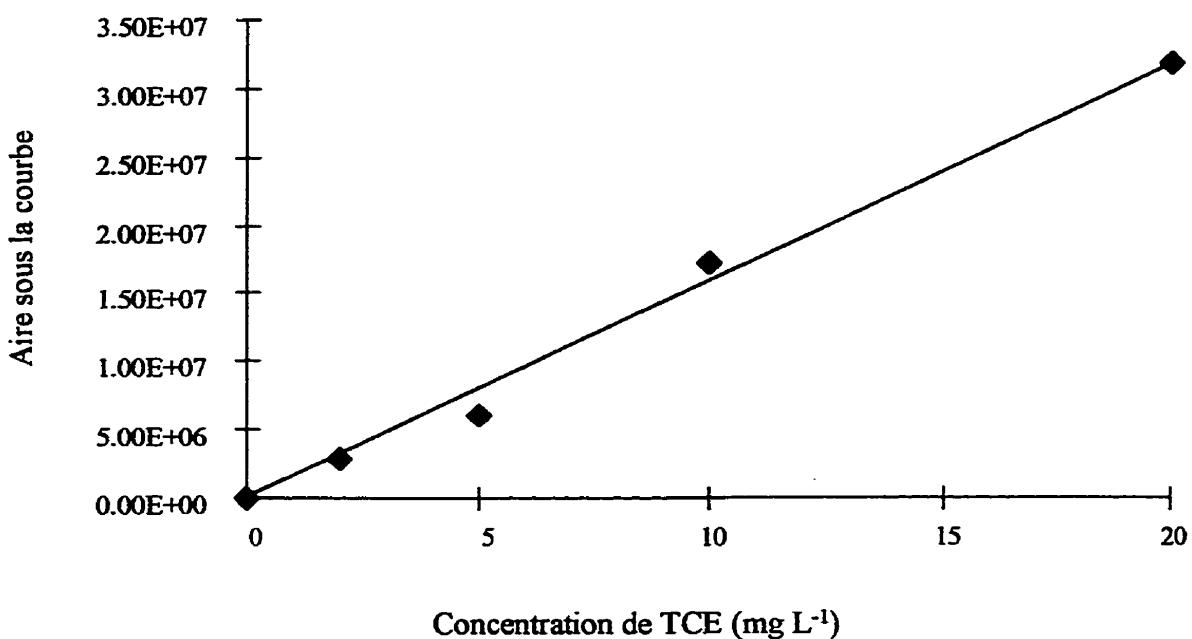


Figure B.1 : Courbe de calibration du TCE

La concentration de TCE de l'échantillon a été calculée à partir de l'équation 8.

$$[\text{TCE}]_s = \frac{\text{aire sous la courbe}}{\text{aire du standard}} \times C_{\text{std}} \quad (8)$$

où C_{std} est la concentration du standard.

ANNEXE C Teneur en eau d'un sol

Le poids d'une coupelle d'aluminium vide a été noté. Une quantité de sol a été pesé puis la masse a été notée. La masse humide était donc la masse de la coupelle et du sol humide moins la masse de la coupelle vide. Le sol a été séché au four à 105 °C pendant 24 heures puis le poids de la coupelle et du sol sec a été noté. Le poids sec correspondait donc à la masse de la coupelle et du sol sec duquel la masse de la coupelle vide était soustraite. La teneur en eau du sol a été calculée à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{Teneur en eau} = \left(\frac{(\text{Masse humide} - \text{Masse seche})}{\text{Masse humide}} \right) * 100 \quad (9)$$

ANNEXE D pH d'un sol ou du milieu filtrant

La méthode permettait d'évaluer le degré d'acidité ou d'alcalinité d'un sol en mesurant le pH d'une suspension aqueuse de ce sol, à l'aide d'un pH-mètre conventionnel (Accumet modèle 805 MP, Fisher Scientific). Une quantité de sol (minimale de 10 g pour chaque pH) a été séché à l'air libre pendant 12 heures. Par la suite, le sol a été tamisé à travers un tamis n° 10 (2,0 mm). 10 g de sol tamisé a été ajouté dans un tube de centrifugation de 50 mL avec 10 mL d'eau distillée. Le tube de centrifugation a été passé au vortex pendant une minute puis la solution a reposé pendant une heure. Le pH-mètre a été préalablement calibré avec des standards de pH 4 et 7. Le pH a été lu. Une vérification du pH de l'eau distillée était effectuée pour s'assurer qu'il n'y avait pas de problème d'acidité avec l'eau distillée employée. Si le pH était inférieur à 7, de l'air était bullé pendant quelques minutes dans l'eau distillée pour tenter d'éliminer le CO₂ et de ramener le pH à 7.

ANNEXE E Détermination de la quantité de PHB

La méthanolysé a été la méthode utilisée pour déterminer la quantité de PHB dans les échantillons de sols indigènes. Le standard interne était composé d'acide benzoïque (1 g L^{-1}) dans 5 % v/v d'acide sulfurique. Le standard externe était un copolymère 3HB-co-3HV (pureté de 97 %) de la compagnie BIOPOL. Plusieurs masses de copolymère ont été pesées en vue de tracer une courbe standard (Tableau E.1).

Tableau E.1 . Masse pesée pour la préparation des étalons externes

| Standards (mg) | Masse pesée (mg) |
|----------------|------------------|
| 0 | 0 |
| 1 | 0,9 |
| 5 | 5,1 |
| 10 | 10 |
| 20 | 20 |
| 30 | 30,1 |

Le protocole suivi pour la préparation des échantillons était le suivant :

- 1) Lyophiliser la biomasse à analyser;
- 2) Ajouter 2 mL de chloroforme et 2 mL de standard interne aux culots lyophilisés;

- 3) Vortexer durant 1 minute;
- 4) Chauffer au four à 105 °C pendant 3 heures. Après 30 minutes, vortexer puis remettre au four;
- 5) Refroidir les échantillons à la température de la pièce;
- 6) Centrifuger à 7 000 RPM pendant 10 minutes pour précipiter la biomasse restante puis filtrer le surnageant;
- 7) Ajouter 2 mL d'eau distillée au surnageant filtré pour effectuer la séparation;
- 8) Vortexer pendant 3 minutes;
- 9) Extraire la phase organique (phase de dessous). Si la phase est trouble, centrifuger avant l'extraction. Mettre la phase organique dans un vial de 2 mL puis sceller avec un bouchon en Teflon;
- 10) Analyser au CPG-DIF.

La température initiale du four, du détecteur et de l'injecteur étaient respectivement 90 °C, 220 °C et 180 °C. La pression de la colonne (colonне HP1) était de 1 psig. La pression de l'hydrogène était de 18 psig tandis que celle de l'air était de 48 psig. L'hélium était le gaz porteur à une pression de 40 psig. Le programme était constitué de trois rampes de températures et il avait une durée de 15 minutes. Le four passait de 90 °C à 60 °C avec un taux de $15^{\circ}\text{C min}^{-1}$. Par la suite, le four passait de 60 °C à 100 °C avec un taux de $8^{\circ}\text{C min}^{-1}$. Finalement, la température du four variait de 100 °C à 220 °C avec un taux de $30^{\circ}\text{C min}^{-1}$ (Renner et al., 1996).

À l'aide d'un injecteur automatique (Hewlett Packard 7673 GC/SFC), 1 µL était injecté dans le CPG-DIF. La séquence pour l'injection des échantillons était la suivante : rinçage de la seringue 4 fois avec de l'eau distillée, suivi d'un rinçage de la seringue 4 fois avec le chloroforme. Avant l'injection, la seringue était rincée 4 fois avec l'échantillon à analyser.

Chaque constituant avait un temps de rétention moyen spécifique (Tableau E.2).

Tableau E.2 : Temps de rétention des composants

| Composant | Temps de rétention (minutes) |
|------------------|------------------------------|
| Chloroforme | 1,44 |
| Eau | 1,48 |
| 3HB | 1,87 |
| 3HV | 2,44 |
| Standard interne | 4,18 |

Le calcul de la concentration de PHB dans l'échantillon s'effectuait en trois étapes :

1) Calcul de l'aire spécifique pour chaque échantillon et pour les standards

$$\text{Aire spécifique} = \frac{\text{aire sous le pic de 3HB}}{\text{aire sous le pic du standard interne}} \quad (10)$$

2) Traçage de la courbe standard

La courbe standard s'effectuait en traçant l'aire spécifique du standard externe en fonction de la masse pesée du standard externe. Par la suite, la pente de ce graphique était calculée.

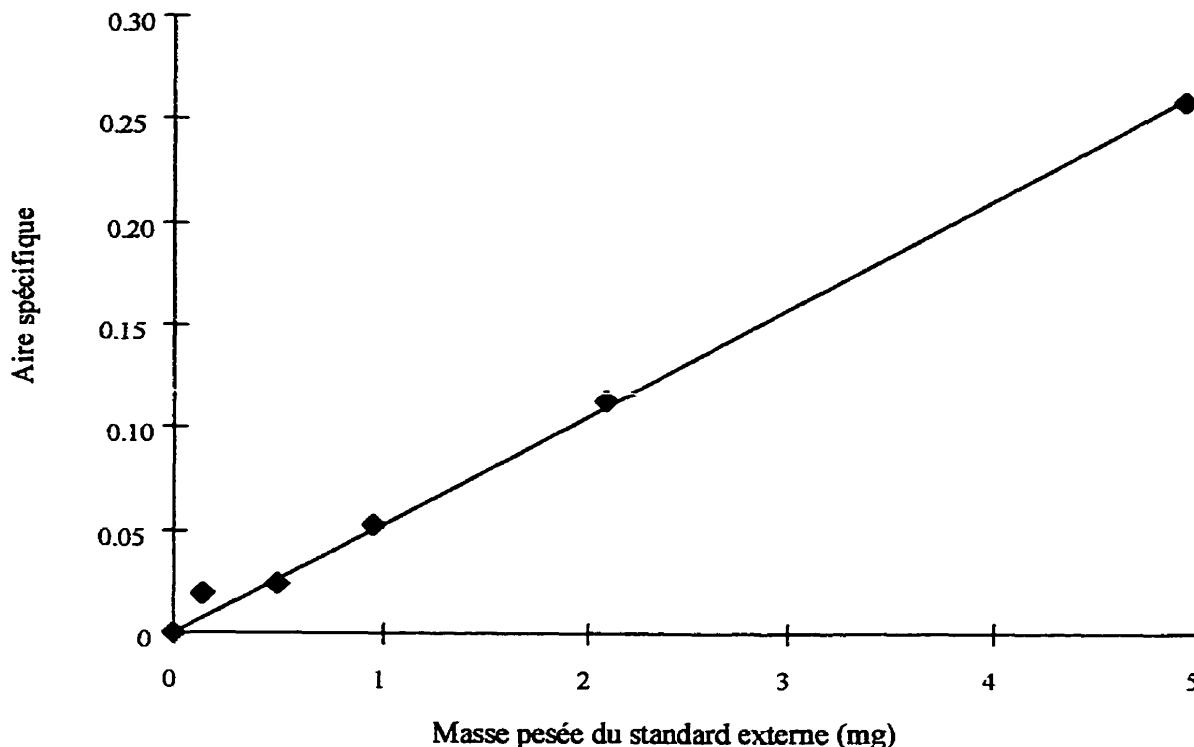


Figure E.1 : Courbe des étalons de PHB

3) Quantité de 3 HB dans l'échantillon

$$\text{masse 3HB (mg)} = \frac{\text{aire spécifique de l'échantillon}}{\text{pente de la courbe standard}} \quad (11)$$

ANNEXE F Calcul des incertitudes

Pour les analyses des concentrations de CH₄ et de TCE gazeux au CPG, l'écart-type a été employé comme incertitude. Les injections étaient en triplicata. L'écart-type a aussi été utilisé comme incertitude pour les essais de minéralisation. Toutes les autres incertitudes ont été calculées par le développement de Taylor.

1) Calcul du débit gazeux et de son incertitude :

V : Volume du débitmètre

t : temps

L'incertitude sur le temps a été calculée par l'écart-type.

$$q = \frac{V}{t} \quad (12)$$

$$\Delta q = \left| \frac{1}{t} \right| \Delta V + \left| -\frac{V}{t^2} \right| \Delta t \quad (13)$$

2) Calcul du temps de résidence et de son incertitude :

$$\tau = \frac{V}{q} \quad (14)$$

$$\Delta \tau = \left| \frac{1}{q} \right| \Delta V + \left| -\frac{V}{q^2} \right| \Delta q \quad (15)$$

3) Calcul du taux de biodégradation du TCE et de son incertitude

$$\text{Taux} = \frac{[\text{TCE}]_{\text{in}} - [\text{TCE}]_{\text{out}}}{V_B} q = \frac{[\text{TCE}]_{\text{in}} - [\text{TCE}]_{\text{out}}}{\tau_B} \quad (16)$$

$$\Delta \text{taux} = \left| \frac{1}{\tau_B} \right| \Delta [\text{TCE}]_{\text{in}} + \left| -\frac{1}{\tau_B} \right| \Delta [\text{TCE}]_{\text{out}} + \left| -\frac{[\text{TCE}]_{\text{in}} - [\text{TCE}]_{\text{out}}}{\tau_B^2} \right| \Delta \tau_B \quad (17)$$

4) Calcul de l'efficacité et de son incertitude :

$$\text{Efficacité} = \left(\frac{[\text{TCE}]_{\text{in}} - [\text{TCE}]_{\text{out}}}{[\text{TCE}]_{\text{in}}} \right) \times 100 \quad (18)$$

$$\Delta \text{Efficacité} = \left(\left| \frac{[\text{TCE}]_{\text{out}}}{[\text{TCE}]_{\text{in}}^2} \right| \Delta [\text{TCE}]_{\text{in}} + \left| -\frac{1}{[\text{TCE}]_{\text{in}}} \right| \Delta [\text{TCE}]_{\text{out}} \right) \times 100 \quad (19)$$

Les mêmes formules ont été utilisées pour les calculs d'incertitudes pour le méthane.

ANNEXE G Calcul de la demande théorique en oxygène pour la consommation du CH₄ et pour la dégradation du TCE en microcosmes

L'équation de la dégradation complète du CH₄ est la suivante :



64 mg d'O₂ sont donc nécessaires pour dégrader 16 mg de CH₄.

L'équation de la dégradation complète du TCE est la suivante :



288 mg d'O₂ sont donc nécessaires pour dégrader 526 mg de TCE.

Le volume d'air dans le microcosme est de 100 mL.

La quantité de TCE ajoutée dans les microcosmes est de 0,244 mg (2,44 mg L⁻¹ * 0,1 L).

La quantité d'O₂ nécessaire pour minéraliser complètement le TCE est de 0,134 mg O₂.

Les concentrations de CH₄ en pourcentage peuvent être converties en masse de CH₄ à partir de l'équation 22.

$$\text{masse de CH}_4 = \frac{\text{X mol CH}_4}{100 \text{ mol air}} * \frac{1 \text{ mol air}}{22,4 \text{ L}} * 0,1 \text{ L} * \frac{16 \text{ g CH}_4}{1 \text{ mol CH}_4} * \frac{1000 \text{ mg CH}_4}{1 \text{ g CH}_4} \quad (22)$$

Les concentrations d'O₂ en pourcentage peuvent être converties en masse d'O₂ à partir de l'équation 23.

$$\text{masse d'}\text{O}_2 = \frac{\text{X mol O}_2}{100 \text{ mol air}} * \frac{1 \text{ mol air}}{22,4 \text{ L}} * 0,1 \text{ L} * \frac{32 \text{ g O}_2}{1 \text{ mol O}_2} * \frac{1000 \text{ mg O}_2}{1 \text{ g O}_2} \quad (23)$$

La colonne en gras du tableau G.1 représente l'oxygène disponible dans les microcosmes.

Tableau G.1 : Quantité d'O₂ nécessaire pour effectuer la dégradation complète du CH₄ et du TCE des microcosmes pour différentes concentrations de CH₄

| [CH ₄] (%) | Masse CH ₄ (mg) | [O ₂] disponible (%) | Masse O ₂ (mg) | O ₂ nécessaire pour consommation du CH ₄ (mg) | O ₂ total |
|------------------------|----------------------------|----------------------------------|---------------------------|---|----------------------|
| 0 | 0 | 21 | 30,00 | 0 | 0,13 |
| 4 | 2,86 | 20,16 | 28,80 | 11,44 | 11,57 |
| 10 | 7,14 | 18,9 | 27,00 | 28,56 | 28,69 |
| 15 | 10,71 | 17,85 | 25,50 | 42,84 | 42,97 |
| 30 | 21,43 | 14,7 | 21,00 | 85,72 | 85,85 |
| 40 | 28,57 | 12,6 | 18,00 | 114,28 | 114,41 |
| 50 | 35,71 | 10,5 | 15,00 | 142,84 | 142,97 |
| 60 | 42,86 | 8,4 | 12,00 | 171,44 | 171,57 |
| 75 | 53,57 | 5,25 | 7,50 | 214,28 | 214,41 |
| 90 | 64,29 | 2,1 | 3,00 | 257,16 | 257,29 |

O₂ nécessaire pour la consommation du CH₄ :

$$\text{Masse O}_2 = \text{masse CH}_4 * \frac{64 \text{ mg O}_2}{16 \text{ mg CH}_4} = 4 * \text{masse CH}_4 \quad (24)$$

O₂ total = O₂ nécessaire pour la consommation du CH₄ + O₂ nécessaire pour la dégradation du TCE

ANNEXE H Résultats des régressions non linéaires

Voici maintenant les résultats des régressions non linéaires effectuées pour déterminer la cinétique de consommation du CH₄ en fonction de la concentration initiale de CH₄ et la cinétique de dégradation du TCE en fonction de la concentration initiale de TCE selon deux cas : pour une cinétique semblable à Monod et pour le modèle de Haldane. Les régressions non linéaires ont été réalisées à partir du logiciel Sigma Plot.

Nonlinear Regression

[Variables]
 $t = \text{col}(3)$
 $S = \text{col}(2)$
[Parameters]
 $K_s=2$
 $t_{max}=1$
[Equations]
 $\dot{t} = (t_{max} * S) / (S + K_s)$
fit \dot{t} to t
[Constraints]
 $K_s > 0$
 $t_{max} > 0$
[Options]
tolerance=0.000100
stepsize=100
iterations=100

CH₄ - Monod

R = 0.99821325 Rsqr = 0.99642970 Adj Rsqr = 0.99464454

Standard Error of Estimate = 0.0172

| | Coefficient | Std. Error | t | P |
|------------------|-------------|------------|---------|--------|
| K _s | 0.1691 | 0.0260 | 6.4945 | 0.0229 |
| t _{max} | 0.7472 | 0.0462 | 16.1767 | 0.0038 |

Analysis of Variance:

| | DF | SS | MS | F | P |
|------------|----|--------|--------|----------|--------|
| Regression | 1 | 0.1551 | 0.1551 | 558.1764 | 0.0018 |
| Residual | 2 | 0.0006 | 0.0003 | | |
| Total | 3 | 0.1657 | 0.0552 | | |

PRESS = 0.0188

Durbin-Watson Statistic = 3.1984

Normality Test: Passed (P = 0.5394)

Constant Variance Test: Failed (P = <0.0001)

Power of performed test with alpha = 0.0500: 0.9394

Regression Diagnostics:

| Row | Predicted | Residual | Std. Res. | Std. Res. | Std. Dev. Res. |
|-----|-----------|----------|-----------|-----------|----------------|
| 6 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 |
| 7 | 0.2317 | 0.0163 | 0.9475 | 1.4142 | 3991.0725 |
| 8 | 0.3645 | -0.0175 | -1.0148 | -1.4142 | -7754.5116 |
| 9 | 0.5584 | 0.0046 | 0.2692 | 1.4142 | >1e20 |

Influence Diagnostics:

| Row | Cook's Dist. | Leverage | DFFITS |
|-----|--------------|----------|------------|
| 6 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 |
| 7 | 1.2278 | 0.5511 | 4422.3400 |
| 8 | 0.9421 | 0.4851 | -7526.8026 |
| 9 | 26.6035 | 0.9638 | >1e20 |

95% Confidence

| Row | Predicted | Regression 5% | Regression 95% | Population 5% | Population 95% |
|-----|-----------|---------------|----------------|---------------|----------------|
| 6 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | -0.0740 | 0.0740 |
| 7 | 0.2317 | 0.1768 | 0.2866 | 0.1396 | 0.3239 |
| 8 | 0.3645 | 0.3129 | 0.4160 | 0.2743 | 0.4546 |
| 9 | 0.5584 | 0.4857 | 0.6310 | 0.4547 | 0.6621 |

Nonlinear Regression

[Variables]
 $t = \text{col}(Z)$
 $S = \text{col}(I)$
[Parameters]
 $K_s=2$
 $t_{max}=1$
[Equations]
 $tt=(t_{max}^*S)/(S+K_s)$
fit tt to t
[Constraints]
 $K_s > 0$
 $t_{max} > 0$
[Options]
tolerance=0.000100
stepsize=100
iterations=100

TCE - Monod

R = 0.95845507 R² = 0.91863612 Adj R² = 0.89829515

Standard Error of Estimate = 0.0752

| | Coefficient | Std. Error | t | P |
|------------------|-------------|------------|--------|--------|
| K _s | 0.0785 | 0.0419 | 1.8728 | 0.1344 |
| t _{max} | 0.7217 | 0.1417 | 5.0950 | 0.0070 |

Analysis of Variance:

| | DF | SS | MS | F | P |
|------------|----|--------|--------|---------|--------|
| Regression | 1 | 0.2551 | 0.2551 | 45.1619 | 0.0026 |
| Residual | 4 | 0.0226 | 0.0056 | | |
| Total | 5 | 0.2777 | 0.0555 | | |

PRESS = 0.1117

Durbin-Watson Statistic = 2.3691

Normality Test: Passed (P = 0.5406)

Constant Variance Test: Passed (P = 0.0600)

Power of performed test with alpha = 0.0500: 0.9157

Regression Diagnostics:

| Row | Predicted | Residual | Std. Res. | Std. Res. | Stud. Det. Res. |
|-----|-----------|----------|-----------|-----------|-----------------|
| 6 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 |
| 7 | 0.0844 | -0.0004 | -0.0051 | -0.0055 | -0.0048 |
| 8 | 0.1689 | -0.0889 | -1.1830 | -1.4449 | -1.8097 |
| 9 | 0.2610 | 0.0190 | 0.2527 | 0.3398 | 0.2986 |
| 10 | 0.4800 | 0.1000 | 1.3303 | 1.6466 | 2.5125 |
| 11 | 0.5758 | -0.0658 | -0.8757 | -1.7527 | -3.1511 |

Influence Diagnostics:

| Row | Cook's Dist. | Leverage | DFITS |
|-----|--------------|----------|---------|
| 6 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 |
| 7 | 0.0000 | 0.1257 | -0.0018 |
| 8 | 0.5132 | 0.3296 | -1.2689 |
| 9 | 0.0467 | 0.4471 | 0.2685 |
| 10 | 0.7215 | 0.3473 | 1.8330 |
| 11 | 4.6163 | 0.7503 | -5.4629 |

95% Confidence

| Row | Predicted | Regression 5% | Regression 95% | Population 5% | Population 95% |
|-----|-----------|---------------|----------------|---------------|----------------|
| 6 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | -0.2087 | 0.2087 |
| 7 | 0.0844 | 0.0104 | 0.1584 | -0.1370 | 0.3058 |
| 8 | 0.1689 | 0.0491 | 0.2887 | -0.0717 | 0.4095 |
| 9 | 0.2610 | 0.1215 | 0.4005 | 0.0100 | 0.5120 |
| 10 | 0.4800 | 0.3570 | 0.6030 | 0.2378 | 0.7222 |
| 11 | 0.5758 | 0.3951 | 0.7566 | 0.2998 | 0.8519 |

Nonlinear Regression

[Variables]
 $t = \text{col}(2)$
 $S = \text{col}(1)$
[Parameters]
 $K_s=0.05$
 $t_{max}=0.8$
 $w=0.25$
[Equations]
 $t_t=(t_{max}^*S)/((S+K_s)*(1+(S/w)))$
fit t to t
[Constraints]
 $K_s > 0$
 $t_{max} > 0$
 $w > 0$
[Options]
tolerance=0.000100
stepsize=100
iterations=100

TCE - Haldane

R = 0.97463330 R_{sqr} = 0.94991007 Adj R_{sqr} = 0.91651678

Standard Error of Estimate = 0.0672

| | Coefficient | Std. Error | t | P |
|------------------|-------------|------------|--------|--------|
| K _s | 0.2620 | 146.3052 | 0.0018 | 0.9987 |
| t _{max} | 2.1797 | 1213.9140 | 0.0018 | 0.9987 |
| w | 0.2690 | 144.9346 | 0.0019 | 0.9986 |

Analysis of Variance:

| | DF | SS | MS | F | P |
|------------|----|--------|--------|---------|--------|
| Regression | 2 | 0.2573 | 0.1286 | 22.4461 | 0.0112 |
| Residual | 3 | 0.0136 | 0.0045 | | |
| Total | 5 | 0.2708 | 0.0542 | | |

PRESS = 47.5055

Durbin-Watson Statistic = 2.3406

Normality Test: Passed (P = 0.3725)

Constant Variance Test: Passed (P = 0.0600)

Power of performed test with alpha = 0.0500: 0.9650

Regression Diagnostics:

| Row | Predicted | Residual | Std. Res. | Std. Res. | Stand. Det. Res. |
|-----|-----------|----------|-----------|-----------|------------------|
| 6 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 |
| 7 | 0.0801 | 0.0039 | 0.0578 | 0.0631 | 0.0515 |
| 8 | 0.1679 | -0.0879 | -1.3074 | -1.6808 | -5.6823 |
| 9 | 0.2715 | 0.0085 | 0.1261 | 0.1779 | 0.1461 |
| 10 | 0.5149 | 0.0651 | 0.9686 | 4.4506 | >1e20 |
| 11 | 0.5488 | -0.0388 | -0.5774 | -7.6145 | >1e20 |

Influence Diagnostics:

| Row | Cook's Dist. | Leverage | DFFITS |
|-----|--------------|----------|---------|
| 6 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 |
| 7 | 0.0003 | 0.1599 | 0.0225 |
| 8 | 0.6148 | 0.3950 | -4.5912 |
| 9 | 0.0105 | 0.4982 | 0.1455 |
| 10 | 132.8085 | 0.9526 | >1e20 |
| 11 | 3341.5046 | 0.9942 | >1e20 |

95% Confidence

| Row | Predicted | Regression 5% | Regression 95% | Population 5% | Population 95% |
|-----|-----------|---------------|----------------|---------------|----------------|
| 6 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | -0.2140 | 0.2140 |
| 7 | 0.0801 | -0.0055 | 0.1657 | -0.1504 | 0.3106 |
| 8 | 0.1679 | 0.0334 | 0.3024 | -0.0848 | 0.4207 |
| 9 | 0.2715 | 0.1205 | 0.4226 | 0.0096 | 0.5335 |
| 10 | 0.5149 | 0.3060 | 0.7237 | 0.2158 | 0.8139 |
| 11 | 0.5488 | 0.3354 | 0.7622 | 0.2466 | 0.8510 |

ANNEXE I Calcul de la quantité d'oxygène à l'entrée et à la sortie de chacun des étages du biofiltre

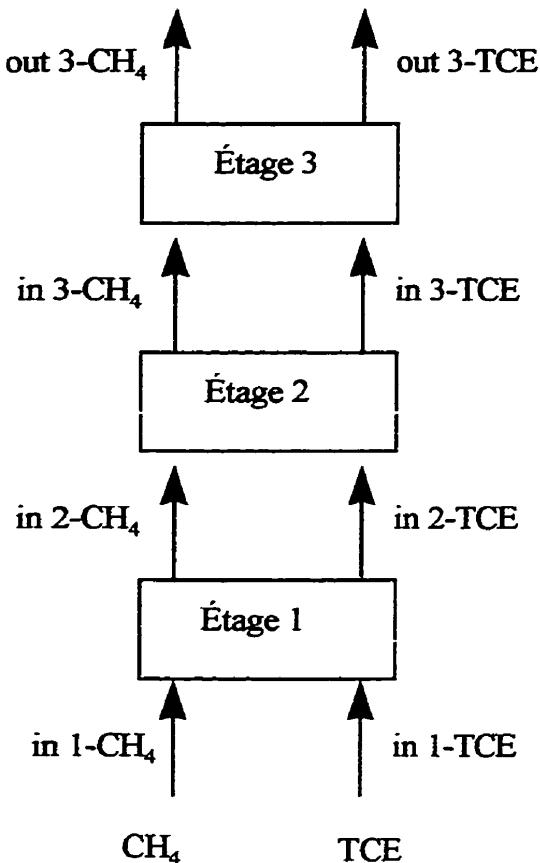


Figure I.1 : Schéma représentatif des courants qui entrent et quittent chaque étage du biofiltre

L'équation de la dégradation complète du CH₄ est la suivante :



64 mg d'O₂ sont donc nécessaires pour dégrader 16 mg de CH₄.

L'équation de la dégradation complète du TCE est la suivante :



288 mg d'O₂ sont donc nécessaires pour dégrader 526 mg de TCE.

Les concentrations de CH₄ en pourcentage peuvent être converties en masse de CH₄ par unité de volume à partir de l'équation 27.

$$\text{masse de CH}_4 = \frac{\text{X mol CH}_4}{100 \text{ mol air}} * \frac{1 \text{ mol air}}{22,4 \text{ L}} * \frac{16 \text{ g CH}_4}{1 \text{ mol CH}_4} * \frac{1000 \text{ mg CH}_4}{1 \text{ g CH}_4} \quad (27)$$

En divisant la masse obtenue par la masse molaire, on obtient la concentration (en mmol L⁻¹) de CH₄ dans le courant.

La concentration de TCE en mg L⁻¹ peut être convertie sous forme molaire en divisant par la masse molaire du TCE. On peut aussi déterminer le nombre de moles de TCE dans le courant gazeux donc le pourcentage (en divisant le nombre de moles de TCE par 100).

On obtient le nombre de moles de TCE par l'équation suivante :

$$\text{Moles de TCE} = \frac{\text{masse de TCE} * 100 \text{ mol air} * 22,4 \text{ L} * 1 \text{ mol TCE} * 1 \text{ g TCE}}{1 \text{ mol air} * 131,5 \text{ g TCE} * 1000 \text{ mg TCE}}$$

(28)

Le pourcentage d'O₂ contenu dans le courant gazeux est donc égal à 0,21 * (100 - pourcentage de CH₄ - pourcentage de TCE).

Le pourcentage d'O₂ peut être converti en masse d'O₂ à partir de l'équation 29.

$$\text{masse d'}\text{O}_2 = \frac{\text{X mol O}_2}{100 \text{ mol air}} * \frac{1 \text{ mol air}}{22,4 \text{ L}} * 0,1 \text{ L} * \frac{32 \text{ g O}_2}{1 \text{ mol O}_2} * \frac{1000 \text{ mg O}_2}{1 \text{ g O}_2} \quad (29)$$

1. Consommation du CH₄ :

Étage 1 : (in2_CH₄ - in1_CH₄)

Étage 2 : (in3_CH₄ - in2_CH₄)

Étage 3 : (out3_CH₄ - in3_CH₄)

La quantité d'O₂ nécessaire pour la consommation du CH₄ dans chacun des étages est égale à 4 fois la quantité de CH₄ consommé dans l'étage (éq. 25).

2. Dégénération du TCE :

Étage 1 : (in2_TCE - in1_TCE)

Étage 2 : (in3_TCE - in2_TCE)

Étage 3 : (out3_TCE - in3_TCE)

La quantité d' O_2 nécessaire pour la dégradation du TCE dans chacun des étages est égale à (288/526) fois la quantité de TCE dégradé dans l'étage (éq. 26).

La consommation d' O_2 pour chaque étage est égale à la somme de la consommation d' O_2 nécessaire pour la consommation du CH_4 et la dégradation du TCE. La quantité d' O_2 disponible après chaque étage correspond à la quantité d' O_2 qui entre dans l'étage auquelle on soustrait la quantité d' O_2 utilisé pour la consommation du CH_4 et la dégradation du TCE dans l'étage. La demande théorique en O_2 est la quantité d' O_2 nécessaire pour effectuer la dégradation complète du CH_4 et du TCE qui entre dans le biofiltre.

Les résultats qui suivent sont les calculs qui ont permis de déterminer qu'aucun des essais de biofiltration n'était limité en O_2 . Ce sont les calculs pour les essais des tableaux 4.5 et 4.6.

4.5 a)

| Étages | (% v/v CH ₄) | CH ₄ (mg L ⁻¹) | CH ₄ (mmol L ⁻¹) | TCE (mg L ⁻¹) | TCE (% v/v) | TCE (mmol L ⁻¹) | % O ₂ | O ₂ (mg L ⁻¹) |
|-------------------------------------|--------------------------|---------------------------------------|---|---------------------------|---|-----------------------------|------------------|--------------------------------------|
| in1 | 0.17 | 1.214 | 0.076 | 1.82 | 0.0310 | 0.0138 | 20.958 | 299.40 |
| in2 | 0.135 | 0.964 | 0.060 | 0.76 | 0.0129 | 0.0058 | 20.969 | |
| in3 | 0.127 | 0.907 | 0.057 | 0.71 | 0.0121 | 0.0054 | 20.971 | |
| out3 | 0.123 | 0.879 | 0.055 | 0.7 | 0.0119 | 0.0053 | 20.972 | |
| Consommation CH ₄ | | (mg L ⁻¹) | | | O ₂ nécessaire (mg L ⁻¹) | | | |
| Étage 1 | | 0.250 | | | 1.00 | | | |
| Étage 2 | | 0.057 | | | 0.229 | | | |
| Étage 3 | | 0.029 | | | 0.114 | | | |
| Dégénération TCE | | (mg L ⁻¹) | | | O ₂ nécessaire (mg L ⁻¹) | | | |
| Étage 1 | | 1.06 | | | 0.580 | | | |
| Étage 2 | | 0.05 | | | 0.027 | | | |
| Étage 3 | | 0.01 | | | 0.005 | | | |
| Consommation O ₂ | | (mg L ⁻¹) | | | | | | |
| Étage 1 | | 1.580 | | | | | | |
| Étage 2 | | 0.256 | | | | | | |
| Étage 3 | | 0.120 | | | | | | |
| O ₂ disponible après | | (mg L ⁻¹) | | | (% v/v) | | | |
| Étage 1 | | 297.82 | | | 20.847 | | | |
| Étage 2 | | 297.56 | | | 20.829 | | | |
| Étage 3 | | 297.44 | | | 20.821 | | | |
| Demande théorique en O ₂ | | (mg L ⁻¹) | | | | | | |
| CH ₄ | | 4.857 | | | | | | |
| TCE | | 0.997 | | | | | | |
| | | 5.854 | | | | | | |

4.5 b)

| Étages | (% v/v CH ₄) | CH ₄ (mg L ⁻¹) | CH ₄ (mmol L ⁻¹) | TCE (mg L ⁻¹) | TCE (% v/v) | TCE (mmol L ⁻¹) | % O ₂ | O ₂ (mg L ⁻¹) |
|-------------------------------------|--------------------------|---------------------------------------|---|---|-------------|-----------------------------|------------------|--------------------------------------|
| in1 | 0.36 | 2.571 | 0.161 | 1.54 | 0.0262 | 0.0117 | 20.919 | 298.84 |
| in2 | 0.31 | 2.214 | 0.138 | 0.73 | 0.0124 | 0.0056 | 20.932 | |
| in3 | 0.30 | 2.143 | 0.134 | 0.70 | 0.0119 | 0.0053 | 20.934 | |
| out3 | 0.29 | 2.071 | 0.129 | 0.67 | 0.0114 | 0.0051 | 20.937 | |
| | | | | | | | | |
| Consommation CH ₄ | | (mg L ⁻¹) | | O ₂ nécessaire (mg L ⁻¹) | | | | |
| Étage 1 | | 0.357 | | 1.429 | | | | |
| Étage 2 | | 0.071 | | 0.286 | | | | |
| Étage 3 | | 0.071 | | 0.286 | | | | |
| | | | | | | | | |
| Dégénération TCE | | (mg L ⁻¹) | | O ₂ nécessaire (mg L ⁻¹) | | | | |
| Étage 1 | | 0.810 | | 0.443 | | | | |
| Étage 2 | | 0.030 | | 0.016 | | | | |
| Étage 3 | | 0.030 | | 0.016 | | | | |
| | | | | | | | | |
| Consommation O ₂ | | (mg L ⁻¹) | | | | | | |
| Étage 1 | | 1.872 | | | | | | |
| Étage 2 | | 0.302 | | | | | | |
| Étage 3 | | 0.302 | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| O ₂ disponible après | | (mg L ⁻¹) | | (% v/v) | | | | |
| Étage 1 | | 296.97 | | 20.788 | | | | |
| Étage 2 | | 296.67 | | 20.767 | | | | |
| Étage 3 | | 296.36 | | 20.746 | | | | |
| | | | | | | | | |
| Demande théorique en O ₂ | | (mg L ⁻¹) | | | | | | |
| CH ₄ | | 10.286 | | | | | | |
| TCE | | 0.843 | | | | | | |
| | | 11.129 | | | | | | |

4.5 c)

| Étages | (% v/v CH ₄) | CH ₄ (mg L ⁻¹) | CH ₄ (mmol L ⁻¹) | TCE (mg L ⁻¹) | TCE (% v/v) | TCE (mmol L ⁻¹) | % O ₂ | O ₂ (mg L ⁻¹) |
|--------|--------------------------|---------------------------------------|---|---------------------------|-------------|-----------------------------|------------------|--------------------------------------|
| in1 | 1.1 | 7.857 | 0.491 | 1.60 | 0.0273 | 0.0122 | 20.763 | 296.62 |
| in2 | 1.0 | 7.143 | 0.446 | 0.74 | 0.0126 | 0.0056 | 20.787 | |
| in3 | 0.99 | 7.071 | 0.442 | 0.63 | 0.0107 | 0.0048 | 20.790 | |
| out3 | 0.98 | 7.00 | 0.438 | 0.62 | 0.0106 | 0.0047 | 20.792 | |

| | | |
|------------------------------|-----------------------|---|
| Consommation CH ₄ | (mg L ⁻¹) | O ₂ nécessaire (mg L ⁻¹) |
| Étage 1 | 0.714 | 2.857 |
| Étage 2 | 0.071 | 0.286 |
| Étage 3 | 0.071 | 0.286 |

| | | |
|------------------|-----------------------|---|
| Dégénération TCE | (mg L ⁻¹) | O ₂ nécessaire (mg L ⁻¹) |
| Étage 1 | 0.860 | 0.471 |
| Étage 2 | 0.110 | 0.060 |
| Étage 3 | 0.010 | 0.005 |

| | |
|-----------------------------|-----------------------|
| Consommation O ₂ | (mg L ⁻¹) |
| Étage 1 | 3.328 |
| Étage 2 | 0.346 |
| Étage 3 | 0.291 |

| | | |
|---------------------------------|-----------------------|---------|
| O ₂ disponible après | (mg L ⁻¹) | (% v/v) |
| Étage i | 293.29 | 20.530 |
| Étage 2 | 292.94 | 20.506 |
| Étage 3 | 292.65 | 20.486 |

| | |
|-------------------------------------|-----------------------|
| Demande théorique en O ₂ | (mg L ⁻¹) |
| CH ₄ | 31.429 |
| TCE | 0.876 |
| | 32.305 |

4.5 d)

| Étages | (% v/v CH ₄) | CH ₄ (mg L ⁻¹) | CH ₄ (mmol L ⁻¹) | TCE (mg L ⁻¹) | TCE (% v/v) | TCE (mmol L ⁻¹) | % O ₂ | O ₂ (mg L ⁻¹) |
|-------------------------------------|--------------------------|---------------------------------------|---|---------------------------|-------------|-----------------------------|------------------|--------------------------------------|
| in1 | 4.60 | 32.857 | 2.054 | 1.02 | 0.0174 | 0.0078 | 20.030 | 286.15 |
| in2 | 4.41 | 31.500 | 1.969 | 0.75 | 0.0128 | 0.0057 | 20.071 | |
| in3 | 4.35 | 31.071 | 1.942 | 0.71 | 0.0121 | 0.0054 | 20.084 | |
| out3 | 3.88 | 27.714 | 1.732 | 0.67 | 0.0114 | 0.0051 | 20.183 | |
| Consommation CH ₄ | | (mg L ⁻¹) | O ₂ nécessaire (mg L ⁻¹) | | | | | |
| Étage 1 | | 1.357 | 5.429 | | | | | |
| Étage 2 | | 0.429 | 1.714 | | | | | |
| Étage 3 | | 3.357 | 13.429 | | | | | |
| Dégénération TCE | | (mg L ⁻¹) | O ₂ nécessaire (mg L ⁻¹) | | | | | |
| Étage 1 | | 0.27 | 0.148 | | | | | |
| Étage 2 | | 0.04 | 0.022 | | | | | |
| Étage 3 | | 0.04 | 0.022 | | | | | |
| Consommation O ₂ | | (mg L ⁻¹) | | | | | | |
| Étage 1 | | 5.576 | | | | | | |
| Étage 2 | | 1.736 | | | | | | |
| Étage 3 | | 13.450 | | | | | | |
| O ₂ disponible après | | (mg L ⁻¹) | (% v/v) | | | | | |
| Étage 1 | | 280.57 | 19.640 | | | | | |
| Étage 2 | | 278.84 | 19.518 | | | | | |
| Étage 3 | | 265.38 | 18.577 | | | | | |
| Demande théorique en O ₂ | | (mg L ⁻¹) | | | | | | |
| CH ₄ | | 131.429 | | | | | | |
| TCE | | 0.558 | | | | | | |
| | | 131.987 | | | | | | |

4.6 a)

| Étages | (% v/v CH ₄) | CH ₄ (mg L ⁻¹) | CH ₄ (mmol L ⁻¹) | TCE (mg L ⁻¹) | TCE (% v/v) | TCE (mmol L ⁻¹) | % O ₂ | O ₂ (mg L ⁻¹) |
|-------------------------------------|--------------------------|---------------------------------------|---|---------------------------|---|-----------------------------|------------------|--------------------------------------|
| in1 | 3.05 | 21.786 | 1.362 | 2.37 | 0.0404 | 0.0180 | 20.351 | 290.73 |
| in2 | 2.66 | 19.000 | 1.188 | 0.51 | 0.0087 | 0.0039 | 20.440 | |
| in3 | 2.62 | 18.714 | 1.170 | 0.47 | 0.0080 | 0.0036 | 20.448 | |
| out3 | 2.59 | 18.500 | 1.156 | 0.41 | 0.0070 | 0.0031 | 20.455 | |
| Consommation CH ₄ | | (mg L ⁻¹) | | | O ₂ nécessaire (mg L ⁻¹) | | | |
| | Étape 1 | 2.786 | | | 11.143 | | | |
| | Étape 2 | 0.286 | | | 1.143 | | | |
| | Étape 3 | 0.214 | | | 0.857 | | | |
| Dégénération TCE | | (mg L ⁻¹) | | | O ₂ nécessaire (mg L ⁻¹) | | | |
| | Étape 1 | 1.86 | | | 1.018 | | | |
| | Étape 2 | 0.04 | | | 0.022 | | | |
| | Étape 3 | 0.06 | | | 0.033 | | | |
| Consommation O ₂ | | (mg L ⁻¹) | | | | | | |
| | Étape 1 | 12.161 | | | | | | |
| | Étape 2 | 1.165 | | | | | | |
| | Étape 3 | 0.890 | | | | | | |
| O ₂ disponible après | | (mg L ⁻¹) | | | (% v/v) | | | |
| | Étape 1 | 278.57 | | | 19.500 | | | |
| | Étape 2 | 277.40 | | | 19.418 | | | |
| | Étape 3 | 275.51 | | | 19.356 | | | |
| Demande théorique en O ₂ | | (mg L ⁻¹) | | | | | | |
| | CH ₄ | 87.143 | | | | | | |
| | TCE | 1.298 | | | | | | |
| | | 88.440 | | | | | | |

4.6 b)

| Étages | (% v/v CH ₄) | CH ₄ (mg L ⁻¹) | CH ₄ (mmol L ⁻¹) | TCE (mg L ⁻¹) | TCE (% v/v) | TCE (mmol L ⁻¹) | % O ₂ | O ₂ (mg L ⁻¹) |
|-------------------------------------|--------------------------|---------------------------------------|---|---|-------------|-----------------------------|------------------|--------------------------------------|
| in1 | 3.65 | 26.071 | 1.629 | 3.15 | 0.0537 | 0.0240 | 20.222 | 288.89 |
| in2 | 3.53 | 25.214 | 1.576 | 2.47 | 0.0421 | 0.0188 | 20.250 | |
| in3 | 3.10 | 22.143 | 1.384 | 2.30 | 0.0392 | 0.0175 | 20.341 | |
| out3 | 2.85 | 20.357 | 1.272 | 2.21 | 0.0376 | 0.0168 | 20.394 | |
| | | | | | | | | |
| Consommation CH ₄ | | (mg L ⁻¹) | | O ₂ nécessaire (mg L ⁻¹) | | | | |
| Étage 1 | | 0.857 | | 3.429 | | | | |
| Étage 2 | | 3.071 | | 12.286 | | | | |
| Étage 3 | | 1.786 | | 7.143 | | | | |
| Dégénération TCE | | (mg L ⁻¹) | | O ₂ nécessaire (mg L ⁻¹) | | | | |
| Étage 1 | | 0.68 | | 0.372 | | | | |
| Étage 2 | | 0.17 | | 0.093 | | | | |
| Étage 3 | | 0.09 | | 0.049 | | | | |
| Consommation O ₂ | | (mg L ⁻¹) | | | | | | |
| Étage 1 | | 3.801 | | | | | | |
| Étage 2 | | 12.379 | | | | | | |
| Étage 3 | | 7.192 | | | | | | |
| O ₂ disponible après | | (mg L ⁻¹) | | (% v/v) | | | | |
| Étage 1 | | 285.09 | | 19.956 | | | | |
| Étage 2 | | 272.71 | | 19.090 | | | | |
| Étage 3 | | 265.52 | | 18.586 | | | | |
| Demande théorique en O ₂ | | (mg L ⁻¹) | | | | | | |
| CH ₄ | | 104.286 | | | | | | |
| TCE | | 1.725 | | | | | | |
| | | 106.010 | | | | | | |

4.6 c)

| Étages | (% v/v CH ₄) | CH ₄ (mg L ⁻¹) | CH ₄ (mmol L ⁻¹) | TCE (mg L ⁻¹) | TCE (% v/v) | TCE (mmol L ⁻¹) | % O ₂ | O ₂ (mg L ⁻¹) |
|---|--------------------------|---------------------------------------|---|---|-------------|-----------------------------|------------------|--------------------------------------|
| in1 | 3.82 | 27.286 | 1.705 | 5.85 | 0.100 | 0.044 | 20.177 | 288.24 |
| in2 | 3.68 | 26.286 | 1.643 | 2.96 | 0.050 | 0.023 | 20.217 | |
| in3 | 3.38 | 24.143 | 1.509 | 2.87 | 0.049 | 0.022 | 20.280 | |
| out3 | 2.9 | 20.714 | 1.295 | 2.60 | 0.044 | 0.020 | 20.382 | |
| Consommation CH₄ | | | (mg L ⁻¹) | O₂ nécessaire (mg L⁻¹) | | | | |
| Étage 1 | | | 1.000 | | 4.000 | | | |
| Étage 2 | | | 2.143 | | 8.571 | | | |
| Étage 3 | | | 3.429 | | 13.714 | | | |
| Dégénération TCE | | | (mg L ⁻¹) | O₂ nécessaire (mg L⁻¹) | | | | |
| Étage 1 | | | 2.89 | | 1.582 | | | |
| Étage 2 | | | 0.09 | | 0.049 | | | |
| Étage 3 | | | 0.27 | | 0.148 | | | |
| Consommation O₂ | | | (mg L ⁻¹) | | | | | |
| Étage 1 | | | 5.582 | | | | | |
| Étage 2 | | | 8.621 | | | | | |
| Étage 3 | | | 13.862 | | | | | |
| O₂ disponible après | | | (mg L ⁻¹) | (% v/v) | | | | |
| Étage 1 | | | 282.66 | | 19.786 | | | |
| Étage 2 | | | 274.04 | | 19.183 | | | |
| Étage 3 | | | 260.18 | | 18.212 | | | |
| Demande théorique en O₂ | | | (mg L ⁻¹) | | | | | |
| CH ₄ | | | 109.143 | | | | | |
| TCE | | | 3.203 | | | | | |
| | | | 112.346 | | | | | |

4.6 d)

| Étages | (% v/v CH ₄) | CH ₄ (mg L ⁻¹) | CH ₄ (mmol L ⁻¹) | TCE (mg L ⁻¹) | TCE (% v/v) | TCE (mmol L ⁻¹) | % O ₂ | O ₂ (mg L ⁻¹) |
|-------------------------------------|--------------------------|---------------------------------------|---|---------------------------|---|-----------------------------|------------------|--------------------------------------|
| in1 | 2.74 | 19.571 | 1.223 | 20.45 | 0.348 | 0.156 | 20.351 | 290.73 |
| in2 | 2.50 | 17.857 | 1.116 | 14.58 | 0.248 | 0.111 | 20.423 | |
| in3 | 2.34 | 16.714 | 1.045 | 14.49 | 0.247 | 0.110 | 20.457 | |
| out3 | 2.27 | 16.214 | 1.013 | 14.21 | 0.242 | 0.108 | 20.472 | |
| Consommation CH ₄ | | (mg L ⁻¹) | | | O ₂ nécessaire (mg L ⁻¹) | | | |
| | Étage 1 | 1.714 | | | 6.857 | | | |
| | Étage 2 | 1.143 | | | 4.571 | | | |
| | Étage 3 | 0.500 | | | 2.000 | | | |
| Dégénération TCE | | (mg L ⁻¹) | | | O ₂ nécessaire (mg L ⁻¹) | | | |
| | Étage 1 | 5.87 | | | 3.214 | | | |
| | Étage 2 | 0.09 | | | 0.049 | | | |
| | Étage 3 | 0.28 | | | 0.153 | | | |
| Consommation O ₂ | | (mg L ⁻¹) | | | | | | |
| | Étage 1 | 10.071 | | | | | | |
| | Étage 2 | 4.621 | | | | | | |
| | Étage 3 | 2.153 | | | | | | |
| O ₂ disponible après | | (mg L ⁻¹) | | | (% v/v) | | | |
| | Étage 1 | 280.66 | | | 19.646 | | | |
| | Étage 2 | 276.04 | | | 19.323 | | | |
| | Étage 3 | 273.89 | | | 19.172 | | | |
| Demande théorique en O ₂ | | (mg L ⁻¹) | | | | | | |
| | CH ₄ | 78.286 | | | | | | |
| | TCE | 11.197 | | | | | | |
| | | 89.483 | | | | | | |

4.6 e)

| Étages | (% v/v CH ₄) | CH ₄ (mg L ⁻¹) | CH ₄ (mmol L ⁻¹) | TCE (mg L ⁻¹) | TCE (% v/v) | TCE (mmol L ⁻¹) | % O ₂ | O ₂ (mg L ⁻¹) |
|---|--------------------------|---------------------------------------|---|---|-------------|-----------------------------|------------------|--------------------------------------|
| in1 | 2.87 | 20.500 | 1.281 | 41.06 | 0.699 | 0.312 | 20.250 | 289.29 |
| in2 | 2.37 | 16.929 | 1.058 | 37.42 | 0.637 | 0.285 | 20.368 | |
| in3 | 2.36 | 16.857 | 1.054 | 35.85 | 0.611 | 0.273 | 20.376 | |
| out3 | 2.30 | 16.429 | 1.027 | 35.69 | 0.608 | 0.271 | 20.389 | |
| Consommation CH₄ | | | (mg L ⁻¹) | O₂ nécessaire (mg L⁻¹) | | | | |
| Étage 1 | | | 3.571 | | 14.286 | | | |
| Étage 2 | | | 0.071 | | 0.286 | | | |
| Étage 3 | | | 0.429 | | 1.714 | | | |
| Dégénération TCE | | | (mg L ⁻¹) | O₂ nécessaire (mg L⁻¹) | | | | |
| Étage 1 | | | 3.64 | | 1.993 | | | |
| Étage 2 | | | 1.57 | | 0.860 | | | |
| Étage 3 | | | 0.16 | | 0.088 | | | |
| Consommation O₂ | | | (mg L ⁻¹) | | | | | |
| Étage 1 | | | 16.279 | | | | | |
| Étage 2 | | | 1.145 | | | | | |
| Étage 3 | | | 1.802 | | | | | |
| O₂ disponible après | | | (mg L ⁻¹) | (% v/v) | | | | |
| Etage 1 | | | 273.01 | | 19.111 | | | |
| Étage 2 | | | 271.87 | | 19.031 | | | |
| Etage 3 | | | 270.07 | | 18.905 | | | |
| Demande théorique en O₂ | | | (mg L ⁻¹) | | | | | |
| CH ₄ | | | 82.000 | | | | | |
| TCE | | | 22.482 | | | | | |
| | | | 104.482 | | | | | |