

Communauté française de Belgique

**FACULTE UNIVERSITAIRE DES SCIENCES
AGRONOMIQUES DE GEMBLoux**

**Centre Wallon de Biologie Industrielle
Unité de Bio-Industries**

**Evaluation de l'impact des propriétés tensioactives et
d'hydrophobicité de surface sur le transfert gaz-liquide au sein
d'un système biphasique et son extrapolation.**

Travail de fin d'études

Année académique 2007-2008

**Promoteurs : Professeur P. Thonart
Ingénieur J-M Aldric**

Présenté par : Sébastien Gillet

En vue de l'obtention du grade d'Ingénieur chimiste et des bio-industries

© *Toute reproduction du présent document, par quelque procédé que ce soit, ne peut être réalisée qu'avec l'autorisation de l'auteur et de l'autorité académique⁴ de la Faculté universitaire des sciences agronomiques de Gembloux.*

Le présent document n'engage que son auteur.

⁴ Dans ce cas, l'autorité académique est représentée par le(s) promoteur(s) membre(s) du personnel enseignant de la FUSAGx.

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier chaleureusement le Professeur Philippe THONART, promoteur de ce travail de fin d'étude, pour m'avoir accueilli au sein de l'unité de Bio-Industries.

Je saisis également ici, l'occasion d'exprimer toute ma gratitude, à l'Ingénieur Jean-Marc ALDRIC, qui supervisa ce TFE avec discernement. Je le remercie très sincèrement pour sa rigueur, sa disponibilité, ses conseils ainsi que ses chaleureux encouragements.

Je formule un remerciement tout particulier au Docteur Frank DELVIGNE pour son aide et ses précieux conseils, lors de l'utilisation du logiciel MATLAB.

Je tiens à remercier le Professeur Jean-Paul WATHELET de l'unité de Chimie Générale et Organique pour m'avoir permis d'effectuer certaines manipulations dans son service. Merci également à Dany TRISMAN et Vincent HOTTE pour leur assistance.

Mes plus vifs remerciements iront également au Professeur Marie-France DESTAIN, au Docteur Frédéric LEBEAU ainsi qu'à Rudy SCHWARTZ de l'unité de Mécanique et Construction, pour avoir mis à ma disposition leur matériel et leurs précieuses connaissances.

Que le Professeur Claude DEROANNE, le Docteur Christophe BLECKER et l'Ingénieur Pascal BODSON de l'unité de Technologie des Industries Agro-Alimentaires trouvent ici l'expression de toute ma reconnaissance, pour m'avoir permis de réaliser certaines mesures au sein de leur unité et avoir répondu efficacement à mes questions.

Je me dois également de remercier le Professeur Georges LOGNAY de l'unité de Chimie Analytique pour les conseils qu'il m'a prodigués.

Un grand merci aux Docteurs Jaqueline DESTAIN et Marc ONGÉNA ainsi qu'à tout le personnel du C.W.B.I. pour toutes leurs remarques constructives et leurs encouragements.

Mes derniers remerciements iront à mes proches et amis avec qui j'ai eu la chance de passer cinq années d'études formidables et de partager tant de moments mémorables...

RÉSUMÉ

La présente étude se situe dans le contexte général du traitement biologique des effluents gazeux et en particulier dans l'utilisation, à cette fin, de réacteurs biphasiques (TPPB).

Les précédentes études réalisées sur ce sujet ont permis de caractériser les potentialités, notamment en termes de biodégradabilité, d'un tel système. Ces réacteurs, développés à l'échelle du laboratoire, semblent présenter un grand intérêt, notamment dans le cas de traitement de volumes d'air fortement concentrés en polluants (~ 6 g/l).

Il semble toutefois utile de prouver que l'application du même procédé à une échelle supérieure n'engendre pas de complications, en matière d'homogénéisation des deux phases. Sachant que l'étape limitante de tels procédés est le transfert de masse du polluant ou de l'oxygène, et que les mécanismes régissant ces types de transferts en systèmes binaires (voire ternaires) sont mal connus, il s'avère utile d'essayer de mieux les comprendre afin de garantir au réacteur un fonctionnement optimum.

L'objectif de ce mémoire était donc d'une part d'évaluer la faisabilité d'une extrapolation du système et d'autre part de mieux comprendre l'impact des constituants de ce système biphasique sur le transfert de masse gaz-liquide.

En proposant une méthode d'estimation en continu de la stabilité de l'émulsion biphasique, ce travail permet de conclure à la possibilité d'un passage à une échelle plus grande.

Pour mieux comprendre l'impact de la biomasse et du surfactant sur les mécanismes impliqués dans le transfert, une approche basée sur trois types de mesures est proposée. Cette approche, simple dans sa mise en œuvre, présente l'avantage de se baser sur des mesures réelles, permettant de prendre en compte certains facteurs ignorés par les modèles mathématiques fournis dans la littérature. Le travail met en évidence une diminution du « k_{La} » au cours de la « vie » d'un réacteur biphasique. De plus, les mécanismes responsables de cette diminution ont également pu être identifiés.

En outre, ce travail permet de confirmer ou d'infirmer certaines hypothèses et théories émanant de la littérature scientifique.

ABSTRACT

The present study is in the general context of the biological treatment of gas effluents and especially in the use of two-phase partitioning bioreactors (TPPB).

The previous studies carried out on this subject made it possible to characterise the potentialities, in particular in terms of biodegradation, of such a system. These reactors, developed at the lab scale, seem to be of great interest, especially in the case of treatment of highly concentrated gas effluents (~ 6 g/l).

It seems, however, useful to prove that the application of the same process to a large scale does not generate complications, as regards the homogenisation of the two phases.

Knowing that the limiting step of such processes is the oxygen and IPB mass transfer, that little is known about the mechanisms governing these types of transfer in two-phase systems, it may prove useful to try and better understand them in order to allow optimum operation of the reactors.

The aim of this study was thus, on the one hand to evaluate the feasibility of a scale-up of the system and, on the other hand, to better understand the impact of both biomass and surfactant on G-L oxygen mass transfer in TPPB.

A new continuous process method has been proposed to evaluate the stability of a two phase medium in the agitated TPPB, that allows to demonstrate the scale-up of the process.

In order to better understand the impact of the system's components on the mechanisms implied in the transfer, an approach based on three types of measurements was proposed. This approach, simple in its implementation, has been developed on real measurements, allowing to take into account some factors currently ignored by the classical models provided by the literature. The paper highlights a reduction in the « $k_L a$ » during the "life" of a TPPB. Besides, the mechanisms responsible for this reduction could also be identified.

Lastly, this study confirms or invalidates some assumptions and theories which emanate from the scientific literature.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

% sat	Pourcentage de saturation en O ₂
η m	Nanomètre
δ	Epaisseur du film
σ	Tension interfaciale
μ g	Microgramme
μ l	Microlitre
μ m	Micromètre
μ s	Microseconde
a	Aire interfaciale spécifique
atm	Atmosphère
BSA	Sérum albumine bovine
BTEX	Benzène, Toluène, Ethylbenzène, Xylène
CE	Communauté Européenne
Cfu	Colonie formant unité
C _i	Concentration en oxygène dans la phase liquide (Withman)
C _L	Concentration de l'élément dissous dans la phase liquide
C _L ^o	Concentration de l'élément dissous à saturation
CCM	Chromatographie sur couche mince
CMC	Concentration micellaire critique
COV	Composés organiques Volatils
cm	Centimètre
C _R	Contenance du réacteur
°C	Degré Celsius
cSt	Centistokes
C.W.B.I	Centre Wallon de Biologie Industrielle
d	Diamètre du mobile d'agitation
d _B	Diamètre des bulles
d _{Moy B}	Diamètre moyen des bulles
d _C	Diamètre du capillaire
d _p	Diamètre des particules
D	Diamètre de la section droite du réacteur
DO	Densité optique
dC _L / dt	Taux volumique de transfert d'élément
F.I.D	Détecteur chromatographique d'ionisation de flamme
G	Accélération gravitationnelle (9,81 m/s ²)
g	Gramme
GC	Chromatographie en phase gazeuse
h	Heure
H ₀	Hauteur initiale du liquide
H	Hauteur de liquide
He	Constante de Henry
Hg	Mercure
IPB	Isopropylbenzène
k	Kilo (1000)
K _L	Coefficient de transfert de masse dans le film liquide
K _L a	Coefficient global (volumétrique) de transfert de masse
Km	Kilomètre
L	Longueur
l	Litre
ln	Logarithme népérien

m	Mètre
M284	Milieu minimum (284)
min.	Minute
mm	millimètre
mg	milligramme
ml	millilitre
m ³	mètre cube
MATLAB	MATrix LABoratory ; Mathwork 1984-1991
MTBE	Méthylterbutylether
MS	Spectrométrie de masse
N _{Moy B}	Nombre moyen de bulles
P _i	Pression partielle d'oxygène dans la phase gazeuse ((Withman)
PCA	Milieu de culture Plate Count Agar
ppm	Partie par million
Pa	Pascal
pO ₂	Pression en oxygène dissous
pH	Potentiel d'hydrogène
Q _C	Débit de circulation
Rét _{Gaz}	Rétention gazeuse
rpm	Rotations par minute (vitesse d'agitation)
s	Secondes
S	Coefficient d'étalement
S _B	Surface des bulles
S _{Moy B}	Surface moyenne des bulles
S _T	Surface totale de l'ensemble des bulles du réacteur
TD4	Turbine à 4 pales droites
TPPB	Two-phase partitioning bioreactor
TVT	Tensiomètre à goutte tombante
VVM	Volume par volume et par minute
V	Volume
V _B	Volume des bulles
V _{Moy B}	Volume moyen des bulles

LISTE DES FIGURES

Figure 1	Mécanismes physico-chimiques et biologiques impliqués dans les TPPB. (A) Dissolution des composés hydrophobes/toxiques dans la phase non aqueuse. (B) Transfert des molécules dans la phase aqueuse et absorption par les microorganismes en suspension. (C) Absorption du substrat à l'interface par les microorganismes y adhérant. (D) production de tensioactifs [DÉZIEL <i>et al.</i> , 1999].	Page 7
Figure 2	Représentation schématique du modèle de WHITEMAN [THONART, 2006].	Page 11
Figure 3	Représentation schématique de l'interface selon le modèle de WHITEMAN [THONART, 2006].	Page 11
Figure 4	Représentation du transfert de masse en série : (A) modèle pseudo-homogène ; (B) modèle hétérogène [DUMONT et DELMAS, 2003].	Page 14
Figure 5	Descriptions schématiques des flux estimés des substrats hydrophobes (COV) et de l'oxygène dans (A) un système conventionnel sans phase organique et (B) dans un TPPB [MUÑOZ <i>et al.</i> , 2007].	Page 15
Figure 6	L'effet du recouvrement de bulles [DUMONT et DELMAS, 2003].	Page 15
Figure 7	Représentation schématique (A) du transfert de masse en série d'un gaz à un liquide puis à un solide, ainsi que (B) du transfert en parallèle du gaz au liquide et du gaz aux particules solides adsorbées [RUTHIYA <i>et al.</i> , 2003].	Page 19
Figure 8	Biodégradation d'un composé aromatique.	Page 24
Figure 9	Système de deux bouteilles en série, développé lors du travail.	Page 31
Figure 10	Organigramme de la méthode utilisée.	Page 35
Figure 11	Dimensionnement standard du réacteur dans le cas de deux modules d'agitation au sein du réacteur	Page 36
Figure 12	(A) Exemple d'évolution de la pO_2 en fonction de temps - cas du milieu 284 ; (B) Détermination du « k_{La} » par linéarisation logarithmique – cas de l'eau de distribution.	Page 37
Figure 13	Suivi de production ; (A) Ensemencement par une préculture ; (B) Ensemencement par pied de cuve.	Page 41
Figure 14	Visualisation du caractère inhomogène d'un milieu biphasique sous agitation modérée – en ordonnée les gradients de vitesses se rapportant à la partie droite de la figure. Avec l'autorisation de F. DELVIGNE	Page 44
Figure 15	Dispositif « scale-down » élaboré lors de l'étude.	Page 45
Figure 16	Photographie de la fenêtre d'observation utilisée lors des expérimentations (format horizontal) : (A) cas du milieu biphasique sans colorant contenant 2 g/l de biomasse ; (B) cas du milieu coloré « blanco » ; (C) cas du milieu coloré contenant 2 g/l de biomasse.	Page 46
Figure 17	Fenêtre affichée à la fin du programme 1 - cas de 2g/l de biomasse	Page 47
Figure 18	Profil d'intensité d'une photographie - cas de 2 g/l de biomasse – en abscisse la longueur du profil d'observation (pixel) et en ordonnée l'intensité lumineuse du canal rouge.	Page 47
Figure 19	Fenêtre affichée à la fin du programme 2 - cas de 0,05 g/l de surfactant - en abscisse la longueur du profil d'observation (pixel) et en ordonnée l'intensité lumineuse du canal rouge.	Page 48
Figure 20	Fenêtre affichée à la fin du programme 3 - cas de 0,05 g/l de surfactant – en abscisse la longueur en du profil d'observation (pixel x 10^4) et en ordonnée le temps (s).	Page 48

Figure 21	Evolution de la vitesse de décantation en fonction de la concentration en surfactant dans le TPPB, pour trois débits de circulation.	Page 50
Figure 22	Evolution de la vitesse de décantation en fonction de la concentration en biomasse dans le TPPB, pour trois débits de circulation.	Page 50
Figure 23	Rapport des intensités de rouge des phases décantées et non-décantées en fonction de la concentration en surfactant dans le TPPB, pour trois débits de circulation.	Page 50
Figure 24	Rapport des intensités de rouge des phases décantées et non-décantées en fonction de la concentration en biomasse dans le TPPB, pour trois débits de circulation.	Page 51
Figure 25	Valeurs de vitesse de décantation obtenues pour différentes compositions de milieu – S étant le surfactant et B, la biomasse.	Page 52
Figure 26	Mesure des temps de réponse de la sonde dans différents milieux – les barres d’erreur représentent l’écart type autour de la moyenne (n = 5).	Page 53
Figure 27	Evolution du « k_La » et de la rétention gazeuse pour des concentrations croissantes en surfactant – les barres d’erreur représentent l’écart type autour de la moyenne (n = 5).	Page 55
Figure 28	Evolution du « k_La » et de la rétention gazeuse pour des concentrations croissantes en biomasse – les barres d’erreur représentent l’écart type autour de la moyenne (n = 5).	Page 55
Figure 29	Valeur de « k_La » dans différents milieux, avec S : Surfactant ; B : Biomasse ; MB : Milieu biphasique – les barres d’erreur représentent l’écart type autour de la moyenne (n = 5).	Page 56
Figure 30	Valeur de rétention gazeuse dans différents milieux, avec S : Surfactant ; B : Biomasse ; MB : Milieu biphasique.	Page 56
Figure 31	Représentation schématique du capillaire à tubulure utilisé lors des mesures (adapté de BARIGOU et GREAVES [1990]).	Page 59
Figure 32	Dispositif mis au point lors du travail pour mesurer le diamètre des bulles.	Page 60
Figure 33	Une image extraite d’un film – cas du blanco biphasique.	Page 60
Figure 34	Images sélectionnées et mises « bout à bout ».	Page 61
Figure 35	Profil d’intensité lumineuse moyen de six images - en abscisse la longueur en pixels, en ordonnée l’intensité lumineuse moyenne du canal rouge.	Page 61
Figure 36	Profil binaire d’une image (en abscisses la longueur en pixels).	Page 62
Figure 37	Signal binaire d’une « photographie reconstituée » (en abscisse la longueur en 10^5 x pixels).	Page 63
Figure 38	Matrice contenant la longueur de chaque bulle analysée en pixel.	Page 63
Figure 39	Formules permettant de déterminer le diamètre, la surface et le volume des bulles dans le réacteur à partir de la longueur occupée dans le capillaire.	Page 63
Figure 40	Formules utilisées pour la séparation du « k_La » en ses deux composantes.	Page 64
Figure 41	Distributions de la taille des bulles dans le réacteur en fonction de la concentration en surfactant – (A) 0 g/l ; (B) 0,1 g/l ; (C) 0,2 g/l ; (D) 0,5 g/l ; (E) 0,7 g/l ; (F) 1 g/l ; (G) 1,5 g/l ; (H) 2 g/l.	Page 66
Figure 42	Distributions de la taille des bulles dans le réacteur en fonction de la concentration en biomasse – (A) 0 g/l ; (B) 0,5 g/l ; (C) 1 g/l ; (D) 2 g/l ; (E) 4 g/l ; (F) 8 g/l.	Page 67
Figure 43	Evolution du diamètre moyen des bulles en fonction de la concentration en surfactant.	Page 68

Figure 44	Evolution du diamètre moyen des bulles en fonction de la concentration en biomasse.	Page 68
Figure 45	Evolution de l'aire interfaciale et du « $k_L a$ » en fonction de la concentration en surfactant.	Page 68
Figure 46	Evolution de l'aire interfaciale et du « $k_L a$ » en fonction de la concentration en biomasse.	Page 68
Figure 47	Evolution du coefficient de transfert de masse et du « $k_L a$ » en fonction de la concentration en surfactant.	Page 68
Figure 48	Evolution du coefficient de transfert de masse et du « $k_L a$ » en fonction de la concentration en biomasse.	Page 68

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	Potentialités des TPPB [DAUGULIS, 2001].	Page 8
Tableau 2	Composition du milieu 284 liquide.	Page 28
Tableau 3	Composition du milieu PCA liquide.	Page 28
Tableau 4	Composition de l'eau peptonnée.	Page 29
Tableau 5	Rendement en biomasse et en surfactant de dix productions.	Page 41
Tableau 6	Composition du surfactant selon ses différents constituants.	Page 43
Tableau 7	Tensions interfaciales obtenues au TVT lauda : (A) entre de l'eau milliQ et de l'huile de silicone ; (B) entre de l'eau milliQ et de l'huile de silicone contenant du rouge soudan (0,8 g/l).	Page 46
Tableau 8	Valeur de la vitesse de décantation de l'huile dans la zone où cette vitesse est stabilisée.	Page 51
Tableau 9	Composition des quatre solutions mixtes utilisées lors des expérimentations.	Page 54
Tableau 10	Diamètre moyen des bulles pour deux milieux.	Page 64
Tableau 11	Valeurs de « k_L » et de « a » pour deux milieux	Page 65

TABLE DES MATIÈRES

I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.....	1
I.1. INTRODUCTION.....	1
I.1.1. CONTEXTE GÉNÉRAL.....	1
I.1.2. LA POLLUTION ATMOSPHÉRIQUE.....	1
I.1.3. LES COMPOSÉS ORGANIQUES VOLATILS (COV).....	1
I.1.4. PROBLÉMATIQUE DES COV.....	2
I.2. LES TECHNIQUES DE TRAITEMENT EXISTANTES.....	2
I.2.1. LES TECHNIQUES DE RÉCUPÉRATION.....	2
I.2.1.1. LA CONDENSATION.....	2
I.2.1.2. L'ADSORPTION.....	3
I.2.1.3. L'ABSORPTION.....	3
I.2.2. LES TECHNIQUES DE DESTRUCTION.....	3
I.2.2.1. L'OXYDATION THERMIQUE.....	3
I.2.2.2. LE TRAITEMENT BIOLOGIQUE.....	4
I.2.2.2.1. LES BIO-FILTRES.....	4
I.2.2.2.2. LES FILTRES PERCOLATEURS.....	5
I.2.2.2.3. LES BIOLAVEUR.....	5
I.3. LES RÉACTEURS BIPHASIQUES.....	6
I.3.1. UNE ALTERNATIVE AUX AUTRES TRAITEMENTS.....	6
I.3.2. DESCRIPTION DES RÉACTEURS BIPHASIQUES.....	7
I.3.3. PERFORMANCE ET EFFICACITÉ DES RÉACTEURS BIPHASIQUES.....	8
I.3.4. L'HUILE DE SILICONE EN TANT QUE SECONDE PHASE.....	9
I.4. LE TRANSFERT DE MASSE GAZ/LIQUIDE ET LA DISPERSION DES PHASES.....	10
I.4.1. INTRODUCTION.....	10
I.4.2. IMPORTANCE DE L'OXYGÈNE EN CULTURE AÉROBIE.....	10
I.4.3. LE TRANSFERT DE MASSE EN MILIEU MONOPHASIQUE.....	10
I.4.4. LE TRANSFERT D'OXYGÈNE EN MILIEU BIPHASIQUE.....	12
I.4.4.1. CAS ABIOTIQUE.....	12
I.4.4.1.1. INTRODUCTION.....	12
I.4.4.1.2. MODÈLES EXISTANTS.....	13
I.4.4.1.2.1. IMPORTANCE DES PROPRIÉTÉS INTERFACIALES.....	13
I.4.4.1.2.2. TRANSFERT EN SÉRIE.....	14
I.4.4.1.2.3. TRANSFERT EN PARALLÈLE.....	15
I.4.4.1.3. EFFET DE L'HUILE SUR LE $k_L a$	16
I.4.4.2. CAS BIOTIQUE.....	17
I.4.5. PARAMÈTRES INFLUENÇANT LE TRANSFERT ET LA DISPERSION.....	18
I.4.5.1. INTRODUCTION.....	18
I.4.5.2. VISCOSITÉ DU MILIEU ET AGITATION.....	18
I.4.5.3. LES SELS.....	18
I.4.5.4. LES COMPOSÉS ORGANIQUES SOLUBLES.....	19
I.4.5.5. LES PARTICULES SOLIDES.....	19
I.4.5.6. LES MOLÉCULES TENSIOACTIVES.....	21
I.5. RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS, OUTIL DE BIODÉGRADATION.....	22
I.5.1. DESCRIPTION.....	22
I.5.2. LA DÉGRADATION DES COV PAR RHODOCOCCUS SP.....	23
I.5.2.1. INTRODUCTION.....	23
I.5.2.2. LA BIODÉGRADATION AÉROBIE DES COMPOSÉS AROMATIQUES.....	23

I.5.3. LA PRODUCTION DE SURFACTANT PAR <i>RHODOCOCCUS SP</i>	25
I.5.4. LES PROPRIÉTÉS DE SURFACE.....	26
II. OBJECTIFS DE L'ÉTUDE.....	27
III. MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	28
III.1. LES MILIEUX DE CULTURE UTILISÉS.....	28
III.1.1. LE MILIEU MINIMUM (284).....	28
III.1.2. LE MILIEU PCA.....	28
III.1.3. L'EAU PEPTONÉE.....	29
III.1.4. LE LIQUIDE PHYSIOLOGIQUE.....	29
III.1.5. LE MILIEU RICHE (863).....	29
III.2. LA SOUCHE BACTÉRIENNE.....	29
III.2.1. LA SOUCHE SÉLECTIONNÉE.....	29
III.2.2. LA CONSERVATION DES SOUCHES.....	29
III.2.3. LA MISE EN CULTURE DES BACTÉRIES ET LE SUIVI DE CROISSANCE.....	30
III.2.3.1. LE POLLUANT.....	30
III.2.3.2. LA CULTURE.....	30
III.2.3.3. LE CONTRÔLE DES CULTURES.....	32
III.2.3.4. LE DÉNOMBREMENT BACTÉRIEN.....	32
III.2.3.5. LA DÉTERMINATION DE LA BIOMASSE PAR MATIÈRE SÈCHE.....	32
III.2.3.6. LA MESURE DE DENSITÉ OPTIQUE.....	32
III.2.3.7. LA CORRÉLATION BIOMASSE-DO ET CFU-DO.....	32
III.2.3.8. LE SUIVI DE FERMENTATION.....	33
III.3. LA RÉCOLTE DE LA BIOMASSE ET DU SURFACTANT.....	33
III.3.1. LA RÉCOLTE DE LA BIOMASSE.....	33
III.3.2. LA RÉCOLTE ET LA CARACTÉRISATION DU SURFACTANT.....	33
III.3.2.1. LA RÉCOLTE.....	33
III.3.2.2. LA CARACTÉRISATION DES TENSIOACTIFS.....	34
III.4. LES MESURES DE « $k_L a$ ».....	35
III.4.1. LA DESCRIPTION DU RÉACTEUR.....	35
III.4.2. PRINCIPE.....	36
III.4.3. LE FONCTIONNEMENT DE LA SONDE.....	37
III.4.4. LA MÉTHODE DU GASSING IN / GASSING OUT.....	37
III.4.5. LE TEMPS DE RÉPONSE DE LA SONDE.....	38
III.5. LA RÉTENTION GAZEUSE.....	38
III.6. L'ANALYSE D'IMAGE POUR LE SYSTÈME SCALE DOWN.....	39
III.7. L'ANALYSE D'IMAGE POUR LA DÉTERMINATION DE LA TAILLE DES BULLES D'AIR.....	39
IV. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS.....	40
IV.1. SURFACTANT ET BIOMASSE.....	40
IV.1.1. INTRODUCTION.....	40
IV.1.2. SUIVI DE PRODUCTION.....	40
IV.1.3. RENDEMENT DE PRODUCTION.....	41
IV.1.4. CARACTÉRISATION GRAVIMÉTRIQUE DU SURFACTANT.....	42
IV.2. EXTRAPOLATION DU SYSTÈME : APPROCHE ORIGINALE.....	44
IV.2.1. INTRODUCTION.....	44

IV.2.2. DESCRIPTION DU SYSTÈME MIS AU POINT.....	45
IV.2.3. PRINCIPE.....	45
IV.2.4. ANALYSE DES DONNÉES PAR MATLAB.....	47
IV.2.4.1. VITESSE DE DÉCANTATION.....	47
IV.2.4.2. CORRECTION DE LA VARIATION DE VOLUME.....	48
IV.2.5. EXPÉRIMENTATIONS.....	49
IV.2.6. RÉSULTATS.....	50
IV.3. LE TRANSFERT DE MASSE (G-L) EN SYSTÈME BIPHASIQUE.....	52
IV.3.1. INTRODUCTION.....	52
IV.3.2. LA DÉTERMINATION DU k_La (SECTION III.4.).....	53
IV.3.3. LE TEMPS DE RÉPONSE DE LA SONDE.....	53
IV.3.4. DÉTERMINATION DU TAUX DE RÉTENTION GAZEUSE.....	54
IV.3.5. EXPÉRIMENTATIONS.....	54
IV.3.6. RÉSULTATS.....	54
IV.4. L'ANALYSE D'IMAGE POUR LA DÉTERMINATION DE LA TAILLE DES BULLES D'AIR.....	59
IV.4.1. INTRODUCTION.....	59
IV.4.2. PRINCIPE.....	59
IV.4.3. DESCRIPTION DU SYSTÈME.....	59
IV.4.4. RÉCOLTE DES DONNÉES.....	60
IV.4.5. ANALYSE DES DONNÉES PAR MATLAB.....	61
IV.4.5.1. RECONSTITUTION D'UN « FILM CONTINU ».....	61
IV.4.5.2. RECONSTITUTION D'UN SIGNAL BINAIRE.....	62
IV.4.5.3. CONSTITUTION D'UN SIGNAL BINAIRE GLOBAL.....	62
IV.4.6. EXPÉRIMENTATIONS ET TRAITEMENT DES DONNÉES « MATLAB ».....	63
IV.4.7. UTILISATION DES RÉSULTATS OBTENUS POUR LA DISTINCTION DU « k_La » EN « k_L » ET « a ».....	64
IV.4.8. RÉSULTATS.....	64
IV.4.8.1. L'INFLUENCE DE L'HUILE DE SILICONE.....	64
IV.4.8.2. LES DISTRIBUTIONS DE TAILLES DE BULLES.....	66
IV.4.8.3. LA DISSOCIATION DU « k_La ».....	67
V. DISCUSSION GÉNÉRALE.....	72
V.1. EXTRAPOLATION DU SYSTÈME.....	72
V.2. TRANSFERT DE MASSE.....	73
VI. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.....	76
VII. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	78
VIII. ANNEXES.....	86

I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. INTRODUCTION

I.1.1. CONTEXTE GÉNÉRAL

Ces dernières années, la pollution de l'air est devenue une préoccupation pour ses impacts environnementaux et sur la santé. Les réglementations contrôlant les émissions d'air pollué se sont multipliées. Récemment, les techniques biologiques de traitement de l'air pollué ont pris de l'ampleur car elles solutionnent bon nombre d'inconvénients des techniques physico-chimiques classiques. Les différents types de déchets gazeux nécessitent des techniques de traitement adéquates et ce, pour une purification optimale et durable. Dans ce contexte, d'après VAN GROENESTIJN *et al.*, [2005], les traitements biologiques constituent une solution de choix car ils offrent un grand nombre de possibilités de traitement économique et respectueux de l'environnement.

I.1.2. LA POLLUTION ATMOSPHERIQUE

Selon la directive européenne 96/92/CE, un polluant est défini comme toute substance introduite directement ou indirectement dans l'air ambiant et susceptible d'avoir des effets nocifs, soit sur la santé humaine soit sur l'environnement dans son ensemble.

La pollution de l'atmosphère est la résultante de divers phénomènes d'échange entre l'atmosphère et les autres compartiments de l'environnement. [DGRNE, 1998 cité par Kone, 2006].

I.1.3. LES COMPOSÉS ORGANIQUES VOLATILS (COV)

Un COV est défini comme un composé contenant des atomes de carbone et d'hydrogène (auxquels se substituent partiellement ou totalement des atomes d'halogènes, d'oxygène, de soufre, de phosphore ou d'azote) et se trouvant à l'état de vapeur dans les conditions de fonctionnement de l'installation [MANÉRO, 2003]. Cette définition est rendue plus rigoureuse par la directive européenne 1999/13/CE du 11/03/99. Cette dernière définit un COV comme un composé organique dont la tension de vapeur saturante à 20°C est supérieure ou égale à 0,01 kPa, (à l'exclusion du méthane) ou ayant une volatilité correspondante dans des conditions d'utilisation.

Parmi les composés aromatiques volatiles, on retrouve les BTEX (Benzène, Toluène Ethylbenzène, Xylène). Ce sont des hydrocarbures aromatiques monocycliques composés uniquement de carbone et d'hydrogène. Ils sont d'une grande stabilité grâce à leur résonance moléculaire. De plus, ce sont des composés très faiblement solubles dans l'eau du fait de leur caractère apolaire [MOMAS, 1998].

L'ensemble des BTEX ont des caractéristiques similaires. Le benzène (C₆H₆) est le plus simple des hydrocarbures aromatiques.

Les concentrations en benzène dans l'air ambiant sont de l'ordre de 1µg/m³ dans les zones rurales et de 5 à 20 µg/m³ dans les zones urbaines [MOUMOU, 2004].

I.1.4. PROBLÉMATIQUE DES COV

Divers processus industriels sont générateurs d'effluents gazeux contenant des composés organiques volatils [HSIEH, 2000 ; MOE et QI, 2004]. Ces polluants émis par les activités humaines sont persistants dans l'environnement. La cause en est leur faible solubilité dans l'eau et leur grande concentration [ALDRIC, 2007]. On retrouve également des COV, en faible concentration, dans les « airs intérieurs » ; un environnement qui devient au centre des préoccupations [GUIEYSSE *et al.*, 2008].

La problématique liée aux émissions de COV réside dans le fait qu'ils sont impliqués dans les réactions photochimiques à l'origine de la formation d'ozone au niveau terrestre (ozone troposphérique), on parle de « smog urbain », et qui constituent des menaces environnementales telles que le réchauffement terrestre et les pluies acides [HEYMES *et al.*, 2006]. Les COV contribuent à la diminution de l'ozone stratosphérique. De plus, certains COV et leurs produits de dégradation seraient à l'origine de cancers et de nuisances respiratoires.

Il est donc nécessaire de réduire et de traiter les émissions gazeuses, dans une optique de protection de l'environnement en vue d'un développement durable [KONE, 2006].

I.2. LES TECHNIQUES DE TRAITEMENT EXISTANTES

Les procédés communément utilisés pour le traitement des COV peuvent se résumer en deux catégories. La première consiste à traiter les émissions à la source par substitution de produits, réduction ou par le recyclage mais ces mécanismes de réduction peuvent altérer et réduire la qualité du produit. La seconde consiste à traiter le gaz après qu'il ait été produit [ALDRIC, 2001].

Le choix d'une technologie est souvent lié à des contraintes économiques et écologiques. De telles contraintes résultent de la nature du composé à traiter, de la concentration, du débit, et du mode de l'émission du rejet gazeux [DEVINNY *et al.*, 1999].

I.2.1. LES TECHNIQUES DE RÉCUPÉRATION

On distingue principalement trois techniques de récupération : la condensation, l'adsorption et l'absorption

I.2.1.1. LA CONDENSATION

Elle est appliquée pour la récupération de solvants dans de faibles débits et à forte concentration. La condensation est soit mécanique, utilisant des compresseurs et des

températures de l'ordre de -40°C à -50°C , soit cryogénique où la température peut descendre en dessous des -170°C . L'utilisation de l'azote liquide est alors requise [ALDRIC, 2001].

I.2.1.2. L'ADSORPTION

L'adsorption est un phénomène physique par lequel un solide fixe les molécules d'un corps sur sa surface sous l'action des forces de Van-der-Waals. Le principe consiste à faire passer le rejet gazeux à traiter à travers la charge de la substance adsorbante. La substance adsorbante utilisée peut être, dans le cas de traitement des COV : du charbon actif, des gels de silice, des noix de coco, des zéolithes et autres argiles particulières, des résines etc. [MUNDELA, 2005]

I.2.1.3. L'ABSORPTION

L'absorption est une technique peu répandue pour le traitement des COV. Elle consiste à mettre en contact le gaz polluant avec un liquide dans lequel il est soluble. L'absorption par l'eau permet rarement d'abattre suffisamment de COV pour respecter la législation, et ceci d'autant plus que le composé à abattre est peu soluble dans l'eau. L'absorption par l'huile, quant à elle, implique une séparation secondaire complexe limitant la vulgarisation de cette technique [DEVINNY *et al.*, 1999].

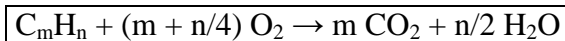
I.2.2. LES TECHNIQUES DE DESTRUCTION

Les techniques de destruction sont couramment utilisées pour traiter les effluents comportant un mélange de composés organiques volatils.

I.2.2.1. L'OXYDATION THERMIQUE

La grande technique de destruction non biologique est l'oxydation thermique. Cette technique consiste à transformer les molécules jusqu'à l'état de CO_2 . L'oxydation nécessite une grande quantité d'oxygène et d'énergie.

D'une manière générale, la réaction chimique de base de la destruction des composés est la suivante :



Les conditions indispensables à la réaction d'oxydation sont :

- la température supérieure à 750°C
- Le mélange entre le composant à oxyder et l'oxygène doit être le plus homogène possible.
- Le temps de séjour suffisant (0,5 à 1,5 secondes)

Les systèmes d'oxydation thermique sont constitués habituellement d'une chambre de combustion munie d'un brûleur éventuellement alimenté par un gaz naturel et d'un échangeur

pour préchauffer le gaz à traiter. Parfois, un échangeur secondaire permet d'améliorer le rendement de l'installation [ALDRIC, 2001].

Les différentes techniques de destruction thermiques sont :

- La destruction thermique récupérative (adaptée aux concentrations élevées : 5 à 20 g/m³)
- La destruction thermique récupérative catalytique. La présence d'un catalyseur permet de diminuer la température de réaction à environ 500°C
- La destruction thermique régénérative. Son principe consiste à inverser régulièrement le sens du débit afin de décharger ou de charger la chaleur sur le ou les lits d'échange. L'efficacité de ce procédé est beaucoup plus grande mais n'est applicable que pour des concentrations faibles.

L'ensemble de ces techniques permet d'atteindre à la sortie, des concentrations inférieures à 20 mg/m³, ce qui correspond à la limite légale européenne.

I.2.2.2. LE TRAITEMENT BIOLOGIQUE

Une alternative aux traitements de destruction thermiques sont les traitements biologiques. Ils consistent à utiliser des systèmes biotiques où des bactéries constituent le moyen de dégrader les COV. En d'autres termes, la bactérie réalise l'oxydation biologique du composé polluant en l'utilisant comme source de carbone. Cette oxydation donnera des composés intégrables au cycle de Krebs du procaryote.

Les organes de traitement peuvent alors être appelés bioréacteurs [FANLO, 1998]. D'une manière générale, ceux-ci peuvent être classés en trois catégories bien distinctes :

- Les filtres percolateurs
- Les bio-laveurs
- Les bio-filtres

I.2.2.2.1. LES BIO-FILTRES

Le bio-filtre est constitué d'un matériau sur lequel les microorganismes sont fixés et se développent en biofilm. Le support est généralement de nature organique, constitué d'un mélange de tourbes, d'écorces et de matériaux naturels qui apportent une surface spécifique importante, des éléments nutritifs mais aussi leurs propres microorganismes.

La hauteur du lit fixe ne dépasse pas 0,5 à 1m, les pertes de charge occasionnées par celle-ci étant un des facteurs limitants.

L'humidification et l'apport des nutriments sont réalisés par aspersion, en général à contre-courant [MOUMOU, 2004].

Il peut s'agir également d'un « bio-filtre ouvert » : c'est-à-dire un lit à ciel ouvert, de grande surface mais de hauteur réduite. Dans ce cas, il est plus difficile de maîtriser l'humidité du lit puisque celui-ci est soumis aux intempéries.

Il est important que le lit soit le plus homogène et aéré possible afin d'éviter les passages préférentiels, le tassement et donc les zones dépourvues d'oxygène.

Les bio-filtres de traitement des effluents gazeux sont utilisables pour des débits gazeux compris entre 1000 et 50 000 m³/h et pour des concentration en dessous de 1g/m³ [DEVINNY *et al.*, 1999]

I.2.2.2. LES FILTRES PERCOLATEURS

Dans cette configuration, le système d'arrosage est continu : un film liquide est alors créé autour des éléments de garnissage et du bio-film s'y étant développé. Les filtres percolateurs sont analogues aux bio-filtres mais le support est un matériau inerte.

La phase liquide permet un contrôle plus aisé du pH, de la teneur en nutriment et de la température.

Les boues pouvant se former sont entraînées avec la phase liquide circulante. Elles sont ensuite éliminée par simple décantation.

La limitation de cette technique se situe au niveau de la solubilité des éléments à traiter. De ce fait, cette technique n'est pas adaptée aux polluants faiblement solubles dans l'eau. Par contre, l'encombrement est moindre par rapport à un bio-filtre [MOUMOU, 2004].

I.2.2.3. LES BIOLAVEURS

Le procédé de traitement des effluents gazeux par la technique des biolaveurs comporte deux étapes. Une première étape d'absorption « liquide-gaz » dans un laveur et une seconde étape de biodégradation des polluants transférés qui, contrairement au système précédent, se produit dans un bassin annexe contenant de la biomasse en suspension dite « boue activée ». Un décanteur permet ensuite de séparer la biomasse de l'effluent liquide.

Comme précédemment, l'encombrement est moindre par rapport à un bio-filtre et son exploitation est plus souple. Cependant, là encore, son utilisation est réservée aux polluants solubles dans l'eau et pour des débits faibles et constants [MOUMOU, 2004].

* * *

Les procédés biologiques permettent d'atteindre des rendements de l'ordre de 90%, pour des concentrations maximales de l'ordre de 1 g/m³.

Le coût dépend essentiellement du débit à traiter, de la biodégradabilité et de la concentration des polluants.

Malheureusement, ces systèmes biologiques comportent certaines limites. En effet, la conception même de ces infrastructures, ne permet pas toujours d'éviter les passages préférentiels, le tassement et la dégradation du support ainsi que les pertes de charges induites par le développement de la biomasse et donc, du biofilm [DAUGULIS et BOUDREAU, 2003].

D'autre part, la faible solubilité des composés organiques volatils limite l'efficacité de plusieurs méthodes de traitement biologique telle que la technique de traitement par l'utilisation des biofiltres [DAUGULIS et BOUDREAU, 2003]. MUNOZ *et al.*, [2006] présentent également les techniques biologiques comme étant souvent limitées par le faible transfert en polluant et en oxygène, de la phase gazeuse aux microorganismes.

De plus, ces systèmes sont incapables de préserver les microorganismes de pics (ou, dans une moindre mesure, de variations) de concentration en polluant qui peuvent se révéler, selon la nature de ces molécules, particulièrement destructeurs. En effet, si les microorganismes doivent être alimentés constamment en substrat, on constate cependant une inhibition de l'activité microbienne voire une mortalité cellulaire lorsque ces concentrations en polluant deviennent trop élevées. Par contre, lorsque les concentrations sont trop faibles, les microorganismes manquent de nutriment et deviennent alors moins efficaces [DAUGULIS, 2001]. Ces techniques ne sont donc efficaces que pour de faibles et constantes concentrations en COV.

I.3. LES RÉACTEURS BIPHASIQUES

I.3.1. UNE ALTERNATIVE AUX AUTRES TRAITEMENTS

Les réacteurs biphasiques font partie des procédés de traitement biologique en développement. Le traitement ou la destruction des COV (des BTEX en particulier) par des méthodes chimiques comme l'oxydation thermique et l'incinération est souvent onéreux quand il s'applique à de grands volumes en faible concentration [DESHUSSES *et al.*, 1999 ; DAUGULIS et BOUDREAU, 2003 ; SUSAN *et al.*, 2000].

Pour répondre à cet inconvénient, différentes solutions biologiques ont été mises au point, au cours de la dernière décennie. Elles comportent cependant certaines limites qui ont été développées à la section I.2.2.2.

Les différents problèmes des techniques biologiques précédentes peuvent être résolus dans les réacteurs biphasiques (Two-Phase Partitioning Bioreactors : TPPBs). En effet, dans ces installations constituées d'un mélange de deux phases immiscibles, la solubilisation des composés hydrophobes, tel que les COV, est possible car la présence d'une seconde phase organique améliore leur solubilité [DAVIDSON et DAUGULIS, 2003]. De plus, malgré les grandes concentrations en polluants qui peuvent être mises en jeu, les microorganismes localisés dans la phase aqueuse n'en perçoivent que des quantités non inhibitrices [DAUGULIS, 1997 ; DAUGULIS, 2001 ; PUDGE *et al.*, 2003]. DUMONT *et al.* [2006], rapportent également que l'ajout d'une phase organique permet d'augmenter le transfert d'oxygène, de la phase

gazeuse aux microorganismes, et ainsi améliorer la dégradation du polluant (décrit plus précisément à la section I.4.).

I.3.2. DESCRIPTION DES RÉACTEURS BIPHASIQUES

COLLINS et DAUGULIS [1999] décrivent un réacteur biphasique de traitement des BTEX comme étant une cuve contenant une phase aqueuse constituée par un milieu de culture et une phase organique immiscible et biocompatible avec la première, intimement mise en contact par l'agitation et l'aération. Les microorganismes se développant dans le milieu de culture permettent la dégradation des BTEX contenus dans l'effluent gazeux qui est injecté avec de l'air dans le réacteur (figure 1). Ce système de traitement consiste à transférer, dans la phase liquide, les molécules polluantes de l'effluent gazeux qui seront utilisées comme source de carbone pour les microorganismes présents dans le TPPB [YEOM *et al.*, 2000]. Le bon déroulement du procédé est caractérisé par un transfert optimal du polluant, d'une part de la phase gazeuse à la phase liquide, et d'autre part vers son site de dégradation au niveau de la cellule microbienne.

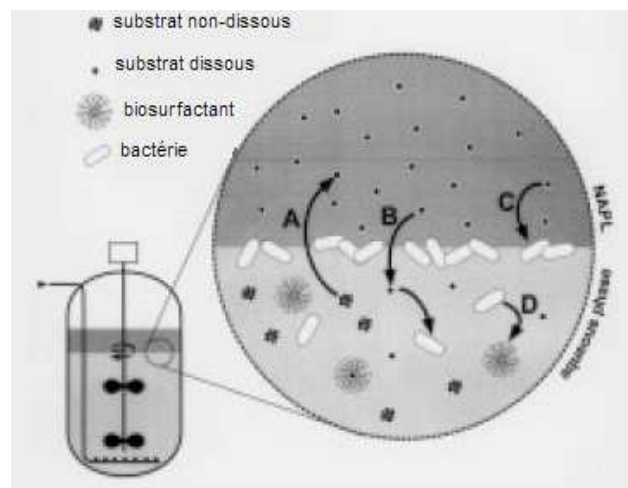


Figure 1 : Mécanismes physico-chimiques et biologiques impliqués dans les TPPB. (A) Dissolution des composés hydrophobes/toxiques dans la phase non aqueuse. (B) Transfert des molécules dans la phase aqueuse et absorption par les microorganismes en suspension. (C) Absorption du substrat à l'interface par les microorganismes y adhérant. (D) production de tensioactifs [DÉZIEL *et al.*, 1999].

L'utilisation d'un solvant organique non miscible avec le milieu aqueux permet d'améliorer le transfert du polluant à la phase liquide où il sera dégradé par des microorganismes.

Le solvant utilisé dépend des caractéristiques du polluant cible et des microorganismes impliqués dans le processus de biodégradation [DEZIEL *et al.*, 1999].

DAUGULIS [2001] rapporte (tableau 1) différents substrats qui peuvent être traités grâce à un TPPB ainsi que les microorganismes utilisés et la phase organique mise en mélange avec le milieu de culture au sein du bioréacteur.

Tableau 1 : Potentialités des TPPB [DAUGULIS, 2001].

SUBSTRAT XENOBIOTIQUE	MICROORGANISME	PHASE ORGANIQUE
STYRENE	CULTURE MIXTE	HUILE DE SILICONE
PHENATHRENE (PHA)	<i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i>	2,2,4,4,6,8,8 – HEPTAMETHYLNONANE
NAPHTALENE (PHA)	<i>CORYNEBACTERIUM SP.</i>	DECANE, DODECANE, HEXADECANE
DIVERS PHA	CULTURE MIXTE	HUILE DE SILICONE, 2,2,4,4,6,8,8 –
2,4,6	– <i>PSEUDOMONAS SP.</i>	HEPTAMETHYLNONANE
TRICHLOROPHENOL	CULTURE MIXTE	HUILE DE SILICONE
DIOXINE	<i>ARTHROBACTER SP.</i>	DECANE
PENTACHLOROPHENOL	<i>PSEUDOMONAS PUTIDA</i>	DIETHYL SEBACATE
PHENOL	<i>PSEUDOMONAS SP.</i>	2 – UNDECANONE
PHENANTHRENE	<i>PSEUDOMONAS SP.</i>	HUILE DE SILICONE
BENZENE, TOLUENE	<i>PSEUDOMONAS SP.</i>	OLEYL ALCOOL
TOLUENE, XYLENE	<i>PSEUDOMONAS SP.</i>	OLEYL ALCOOL
BTX	<i>ALCALIGENES XYLOSOXIDANS,</i>	OLEYL ALCOOL
BENZENE	<i>KLEBSIELLA SP.</i>	HÉXADÉCANE, 1 – OCTADÉCANE

1.3.3. PERFORMANCE ET EFFICACITÉ DES RÉACTEURS BIPHASIQUES

Les réacteurs biphasiques ont été utilisés pour le traitement des eaux usées et des odeurs il y a environ 50 ans. Mais c'est seulement depuis les années 80 que les études sur l'utilisation de cette technique pour le traitement des composés organiques volatils des effluents industriels ont commencé à voir le jour [SCROEDER, 2002]. Parmi les procédés biologiques du traitement des effluents gazeux, le biofiltre peut être considéré comme le plus utilisé [HODGE et DEVINNY, 1995 ; YEOM et DAUGULIS, 2000], et ce, malgré les limites du système. Les TPPB présentent cependant une bonne flexibilité par rapport au biofiltre notamment vis-à-vis du débit de l'effluent et du temps de séjour au sein du réacteur [YEOM et DAUGULIS, 2000].

Selon les mêmes auteurs, l'efficacité de l'élimination peut être augmentée par une biomasse abondante, cette augmentation exige aussi un accroissement de l'aération et du taux d'agitation.

L'utilisation d'une fraction organique permet l'amélioration du rendement d'élimination des polluants. Dans leur étude sur la performance de réacteurs biphasiques pour le traitement des effluents gazeux chargés en benzène, DAVIDSON et DAUGULIS [2003] concluent que ce système constitue une bonne alternative au biofiltre. En effet, à l'échelle du laboratoire, ils montrent que la capacité d'élimination du benzène par le TPPB est 3 à 13 fois supérieure à celle du biofiltre.

Selon DAUGULIS et BOUDREAU [2003] la performance des TPPBs est due principalement à trois facteurs :

- La grande solubilité due à une bonne affinité entre le solvant et le polluant à éliminer.
- L'effet « tampon » de la phase organique qui permet une meilleure adaptation du système aux changements de concentrations des COV grâce à un coefficient de répartition élevé : [Concentration en phase organique / Concentration en phase aqueuse].
- Le système est complètement agité ce qui permet l'optimisation de la biomasse existante par l'homogénéisation des concentrations des COV dans le réacteur.

1.3.4. L'HUILE DE SILICONE EN TANT QUE SECONDE PHASE

Dans le cadre de ce travail de fin d'étude, la phase organique utilisée dans le réacteur biphasique est de l'huile de silicone.

L'huile de silicone est un polymère chimique de polydiméthylsiloxane. Les polymères de l'huile de silicone, en terme générique, se différencient par leur viscosité due à la taille de leurs chaînes carbonées. En effet, la viscosité d'une huile de silicone est tributaire du nombre de monomères, elle varie de 5 cSt à plus de 100 000 cSt [ALDRIC, 2001]. Elle est constituée du monomère suivant :



La structure chimique des huiles de silicone est caractérisée par deux liaisons importantes : silicone – oxygène et silicone – carbone. La seconde liaison est particulièrement stable à la chaleur.

Elles se présentent sous la forme d'un liquide cristallin clair. La densité des huiles de silicone varie entre 0,96 pour les moins visqueuses (50 cSt) à 1,4 pour les plus visqueuses (100 000 cSt). Elles sont hautement solubles dans les solvants aromatiques, aliphatiques ou chlorés [MOUMOU, 2004]. L'intérêt de l'utilisation de l'huile de silicone dans les techniques de traitement des effluents gazeux, et dans les réacteurs biphasiques en particulier, peut être expliqué par :

- Leur faible réactivité ;
- Leur excellente biocompatibilité ;
- Leur bon pouvoir dispersif ;
- Leur faible odeur ;
- Leur faible pression de vapeur ;
- Leur très faible solubilité en milieu aqueux (de l'ordre du ppm) ;
- Leur caractéristique « apolaire ».

L'efficacité de ce composé a déjà été démontrée dans plusieurs études. Ainsi, il a été prouvé que l'adjonction de l'huile de silicone à raison de 10% a un effet bénéfique sur le transfert de l'oxygène ainsi que sur la rétention gazeuse [ALDRIC, 2001]. D'autre part, dans leur étude sur la modélisation de la biodégradation dans un réacteur biphasique en utilisant l'huile de silicone, TURTOI *et al.*, [2000] ont conclu que l'addition de l'huile de silicone lors de la phase linéaire de la croissance des microorganismes en milieu pauvre (alimentés en éthylène) conduit à une augmentation significative du taux de multiplication.

LABRECQUE [2003] revoit d'autres études concernant l'utilisation de l'huile de silicone pour le traitement des effluents pollués. La technique se révèle efficace pour différents composés aussi bien chlorés que non-chlorés.

I.4. LE TRANSFERT DE MASSE GAZ/LIQUIDE ET LA DISPERSION DES PHASES

I.4.1 INTRODUCTION

Le transfert d'oxygène de l'air jusqu'aux sites respiratoires des microorganismes a une importance capitale sur l'activité métabolique et l'efficacité d'un procédé de traitement. Il en va de même pour le transfert de l'isopropylbenzène (IPB) qui est utilisé, dans le cadre de ce travail de fin d'étude, comme seule source de carbone par les microorganismes mis en culture. L'efficacité du transfert conditionne donc en partie les performances de ce procédé de traitement.

Les caractéristiques de la dispersion liquide-liquide influent étroitement sur le transfert de masse. Une dispersion homogène des phases garantira un transfert optimum. Ce paramètre revêt donc également une importance capitale dans l'efficacité du TPPB.

I.4.2 IMPORTANCE DE L'OXYGÈNE EN CULTURE AÉROBIE

L'oxygène est un facteur limitant. En effet, à saturation, la quantité d'O₂ dissous dans le milieu est excessivement faible par rapport à la quantité dont a besoin la cellule pour produire de la biomasse. Le milieu de culture doit donc être continuellement approvisionné en O₂. Non seulement, l'oxygène est indispensable à la production de biomasse mais il est également nécessaire en phase stationnaire de croissance car il est indispensable à la biodégradation des COV. En effet, la biodégradation n'est rien de plus qu'une oxydation biologique. L'oxygène a également la propriété d'entraîner d'autres produits du métabolisme, tel que le CO₂ et permet de les éliminer [THONART, 2006]. Etudier le transfert d'oxygène équivaut à caractériser la capacité d'oxygénation du bioréacteur afin de répondre aux besoins du système microbien.

I.4.3 LE TRANSFERT DE MASSE EN MILIEU MONOPHASIQUE

Le transfert d'oxygène, en milieu monophasique, présenté dans cette section est le cas « modèle » utilisé pour expliquer le transfert de masse en général ; aussi bien celui de l'oxygène, lui-même, que celui d'un composé apolaire tel que l'isopropylbenzène. En effet, HSIEH *et al.*, [2000] rapportent que le coefficient de transfert des composés aromatiques fortement volatils peut être estimé sur base du coefficient de transfert de l'oxygène dans les mêmes conditions (relation de proportionnalité). Il en ira de même pour les modèles de transfert de masse en milieu biphasique (développés à la section I.4.4.).

Plusieurs modèles existent pour caractériser le transfert dans les systèmes de type « fermentation ». Le modèle de WHITMAN (théorie du double film) en fait partie et est couramment employé (figure 2). Il postule que le transfert d'oxygène de la bulle gazeuse vers

les sites de son utilisation dans les cellules comporte plusieurs étapes dont chacune présente une certaine résistance. Il est considéré que l'interface gaz-liquide, côté bulle, est doublé d'un film gazeux et du côté liquide, d'un film liquide, ce dernier exerçant une grande résistance sur le transfert. L'oxygène dissous est ensuite répandu dans le milieu par diffusion et par convection et atteint un nouveau film liquide au contact des cellules. Enfin, il pénètre dans la cellule.

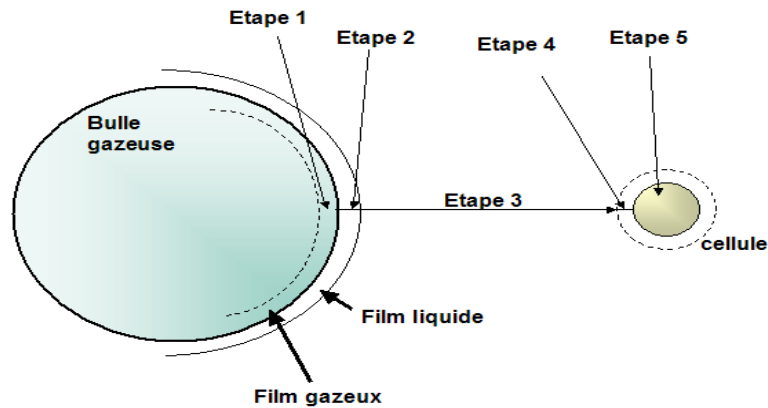


Figure 2 : Représentation schématique du modèle de WHITEMAN [THONART, 2006].

Selon ce modèle, les films existant de chaque côté de l'interface sont en écoulement laminaire parallèles à l'interface au travers desquels le transfert d'oxygène ne peut se faire que par diffusion moléculaire. Les gradients de concentration, forces motrices du transfert, sont entièrement situés dans ces films, car la turbulence au sein de la bulle et dans la masse liquide est telle qu'elle efface toute différence de concentration en dehors du film. En outre, la capacité des films est tellement faible que des profils de concentration stationnaires s'y établissent instantanément. En ce qui concerne l'interface elle-même (figure3), elle ne crée pas de résistances au transfert d'oxygène, ce qui n'est pas le cas du film liquide [THONART, 2006]. A l'interface des deux phases, la pression partielle d'oxygène dans la phase gazeuse (P_i) et la concentration d'oxygène dans la phase liquide (C_i) sont en équilibre.

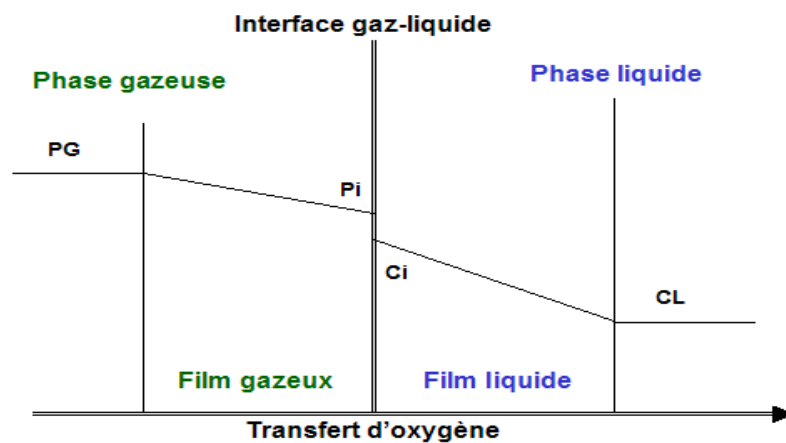


Figure 3 : Représentation schématique de l'interface selon le modèle de WHITEMAN [THONART, 2006].

Cet équilibre à l'interface est caractérisé par la relation de Henry :

$$P_i = H_e . C_i$$

Avec :

- **H_e**, la constante de Henry (atm.m³/kmole).

Le transfert est donc limité par l'étape la plus lente parmi toutes les résistances (résistance du film liquide entourant l'interface). Les résistances les plus faibles seront donc négligées pour l'établissement de l'équation du transfert de masse. Le taux de transfert de la phase gazeuse vers la phase liquide peut donc être quantifié par l'équation suivante :

$$\frac{dC_L}{dt} = k_L a . (C_L^0 - C_L)$$

Avec :

- **dC_L/dt** : taux volumique de transfert d'élément (mole.l⁻¹.s⁻¹),
- **C_L** : concentration de l'élément dissous dans la phase liquide (mole.l⁻¹),
- **C_L⁰** : concentration de l'élément dissous à la saturation (mole.l⁻¹),
- **k_La** : coefficient volumétrique du transfert de masse (s⁻¹). Rappelons que « **k_L** » est le coefficient de transfert de masse de la matière dans le film liquide et « **a** », l'aire interfaciale spécifique.

Il est donc possible d'agir sur deux facteurs pour augmenter la vitesse de transfert d'oxygène des bulles gazeuses vers le microorganisme : « **k_La** » et « **(C_L⁰-C_L)** ». [THONART, 2006].

Un des buts d'une opération de mélange (non-stressante pour les microorganismes) est donc de réaliser un transfert gaz-liquide optimal, en provoquant, d'une part, une turbulence élevée dans la phase liquide, ce qui augmente en principe « **k_L** » et, d'autre part, un effet de cisaillement des bulles gazeuses ce qui augmente le « **a** ».

1.4.4. TRANSFERT D'OXYGÈNE EN MILIEU BIPHASIQUE

1.4.4.1. CAS ABIOTIQUE

1.4.4.1.1. INTRODUCTION

Comme il a déjà été expliqué précédemment, pour se soustraire aux limitations dues au faible transfert de substrat gazeux hydrophobe (et d'oxygène) dans la phase aqueuse, il est possible d'ajouter au système une phase non-aqueuse possédant une grande affinité pour ces molécules. De nombreux auteurs ont ainsi pu révéler une amélioration du transfert d'oxygène [BRUINING *et al.*, 1986 ; JUNKER *et al.*, 1990 ; CESÁRIO *et al.*, 1992].

Dans la suite de ce chapitre, le terme « huile » ou « phase organique » sera utilisé pour désigner toute phase non aqueuse et ce, dans l'unique but de simplifier le document.

Il existe certaines approches assez simplistes du système. L'une d'elles est proposée dans la littérature par ZHAO *et al.*, [1999] ainsi que NIELSEN *et al.*, [2005]. Admettant le fait que le transfert de masse de l'O₂ dissous entre les deux phases liquides est suffisamment rapide pour considérer le système comme étant à l'équilibre, ils postulent que le milieu biphasique peut être représenté par un simple liquide homogène possédant des propriétés uniformes.

D'autres approches plus élaborées se retrouvent dans la littérature. Elles seront détaillées dans la section suivante.

I.4.4.1.2. MODÈLES EXISTANTS

Bon nombre d'articles traitent de l'influence d'une seconde phase sur le « $k_L a$ ». Malheureusement, les résultats obtenus sont assez contradictoires. Ils montrent que la valeur du « $k_L a$ » peut diminuer, rester constante, ou augmenter lors de l'addition d'une seconde phase possédant une plus grande affinité pour le composé devant être transféré. Il faut donc rester prudent dans l'interprétation des résultats issus de la littérature, tant les paramètres de travail peuvent varier (nature de la seconde phase, viscosité et densité de l'huile, type d'agitation, etc.)

I.4.4.1.2.1. IMPORTANCE DES PROPRIÉTÉS INTERFACIALES

Certains auteurs ont attaché une grande importance aux propriétés interfaciales des systèmes eau-huile, qui, exprimées à travers la notion de coefficient d'étalement, pourraient avoir une forte influence sur les caractéristiques du transfert de masse (bien que cela soit contesté).

Le coefficient d'étalement, qui permet de quantifier la capacité d'une huile à former des gouttelettes au sein d'une phase aqueuse ou au contraire de former un film, est défini de la manière suivante :

$$S = \sigma_{AW} - \sigma_{OW} - \sigma_{OA}$$

Avec :

- **S** : le coefficient d'étalement (Spreading),
- **σ** : la tension interfaciale,
- **AW**, **OW** et **OA** : les indices se rapportent respectivement aux interfaces air-eau, huile-eau et huile-air.

Une valeur positive de « S » correspondrait à un étalement des gouttelettes d'huile sur les bulles de gaz. A contrario, une valeur négative correspondrait à une huile qui reste sous forme de gouttelettes et n'a pas de contact avec les bulles de gaz (dodécane, hexadécane,...) [DUMONT *et al.*, 2006].

Selon une autre étude de DUMONT *et al.*, [2006], pour les huiles de silicone, « S » est au départ positif, la phase « huile » est donc capable de s'étaler sur la surface des bulles de gaz.

Mais, lorsque les phases aqueuses et « huile » sont saturées mutuellement, « S » devient négatif et l'huile reforme des gouttelettes.

Selon la valeur prise par le coefficient d'étalement, deux voies possibles de transfert existent :

- Le transfert en parallèle, dont l'influence serait négligeable, pour les huiles à « S » > 0 ;
- Le transfert en série qui est la voie la plus probable, pour les huiles à « S » < 0 .

I.4.4.1.2.2. TRANSFERT EN SÉRIE

Pour les coefficients d'étalement négatifs, c'est-à-dire, pour les huiles ayant tendance à former des gouttelettes, le transfert se réaliserait en série. Ce type de transfert propose un transfert de masse entre le gaz et l'eau (mais surtout entre le gaz et la phase aqueuse suivi du transfert à la phase organique) et pas de contact direct entre le gaz et l'huile

Les modèles caractérisant le transfert en série sont classés en modèles (pseudo)homogènes et modèles hétérogènes (figure 4).

- i. Le modèle (pseudo)homogène, relativement simple, ignore les effets géométriques et les gradients de concentration au sein de la phase dispersée. Il considère la fraction de phase dispersée comme uniforme à l'interface gaz-liquide et au sein du volume de liquide. Dans ce cas, le transfert est caractérisé par un effet « navette » de la phase organique : le soluté absorbé par les gouttelettes d'huile près de l'interface gaz-eau est libéré dans la phase aqueuse en dehors de la couche limite (pas de contact direct gaz-liquide).
- ii. Le modèle hétérogène prend en compte la géométrie locale à l'interface. Le soluté est absorbé soit par la phase continue seulement, soit par la phase continue suivie par la phase dispersée (« huile »). Dans ce dernier cas, le transfert entre les gouttelettes et la phase aqueuse prend place en dehors de la couche limite [DUMONT *et al.*, 2003].

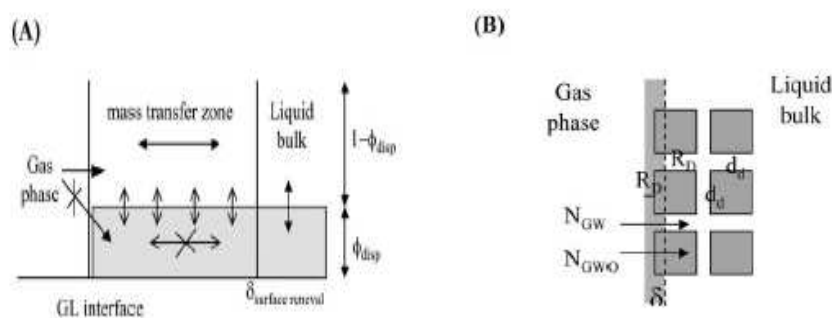


Figure 4 : Représentation du transfert de masse en série : (A) modèle pseudo-homogène ; (B) modèle hétérogène [DUMONT et DELMAS, 2003].

Dans le modèle en série, le transfert se déroulerait par le mécanisme d'effet navette. Ce dernier implique la prise d'un soluté gazeux par les gouttelettes de phase organique dans le film de diffusion et la circulation de ces gouttelettes chargées au travers du volume liquide

déficient en soluté gazeux. L'hypothèse principale de ce mécanisme est que les gouttelettes d'huile soient plus petites que l'épaisseur du film liquide (couche limite). Elles seraient donc capables de pénétrer dans cette couche hautement concentrée et fourniraient une grande aire interfaciale. En créant des turbulences à l'interface, les gouttelettes d'huile sont également susceptibles d'augmenter le transfert par effets hydrodynamiques.

I.4.4.1.2.3. TRANSFERT EN PARALLÈLE

Il s'agit du mode de transfert proposé pour les huiles à coefficient d'étalement positif (qui ont tendance à l'étalement). Selon MUÑOZ *et al.*, [2007], lorsque le transfert du substrat hydrophobe se réalise en parallèle, cela signifie que deux voies sont possibles : de la phase gazeuse à la phase « huile » (principalement) et de la phase gazeuse à la phase aqueuse directement (figure 5).

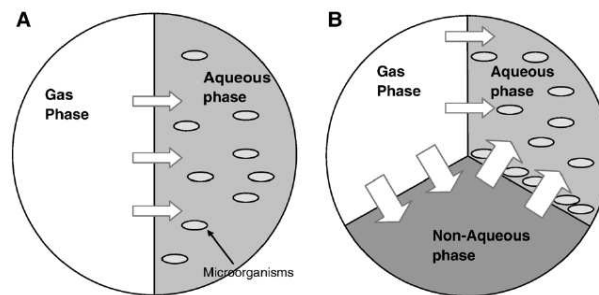


Figure 5 : Descriptions schématiques des flux estimés des substrats hydrophobes (COV) et de l'oxygène dans (A) un système conventionnel sans phase organique et (B) dans un TPPB [MUÑOZ *et al.*, 2007].

Dans ce cas de figure, le transfert serait expliqué par le mécanisme de recouvrement de bulle (figure 6). Il postule la formation d'un film d'huile peu épais à l'interface gaz-liquide. Ce mécanisme requiert la coalescence des gouttelettes d'huile avec les bulles de gaz (première étape) suivie par une coalescence des gouttelettes d'huile avec le film (deuxième étape). Le phénomène de coalescence pourrait résulter de la présence d'instabilités hydrodynamiques causée par les collisions bulles-gouttelettes, ce qui crée de grandes agitations dans la couche limite de liquide. Le principe de ce modèle est donc que lorsqu'une bulle est immergée dans l'émulsion, la phase huileuse recouvre la surface de la bulle et le film formé est chargé en oxygène pendant la durée de vie de la bulle.

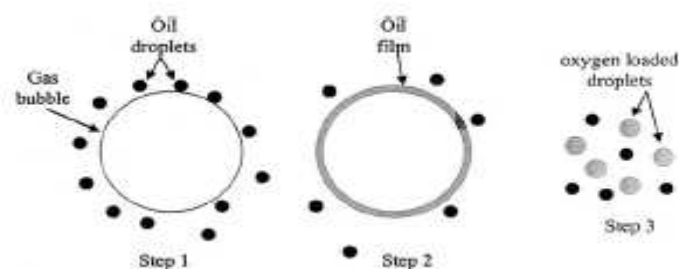


Figure 6 : L'effet du recouvrement de bulles [DUMONT et DELMAS, 2003].

Il faut cependant rester prudent quant à l'exactitude de ces modèles tant la littérature foisonne d'informations divergentes. Ainsi LINEK et al [1976] affirment que le transfert de masse se produit en série, même pour des coefficients d'étalement « S » positifs.

I.4.4.1.3. EFFET DE L'ADDITION D'HUILE SUR LE « $k_L a$ ».

i. EFFET SUR L' AIRE INTERFACIALE « a »

On constate deux effets opposés sur l'aire interfaciale. D'une part, l'huile de silicone abaisse la tension interfaciale entre gaz et liquide, ce qui diminue le diamètre des bulles et par conséquent augmente le « a ». De nombreux auteurs assimilent ainsi l'impact de la phase organique à celle d'un surfactant [DUMONT *et al.*, 2006]. D'autre part, l'huile de silicone a tendance à promouvoir la coalescence et donc diminuer le « a » [DUMONT *et al.*, 2006]. Il est supposé que ces deux effets opposés ont tendance à s'effacer mutuellement [MORAO *et al.*, 1999].

ii. EFFET SUR LE COEFFICIENT DE TRANSFERT DE MASSE « k_L »

Certains auteurs affirment que les gouttelettes d'huile peuvent interagir dynamiquement avec la couche limite de concentration et, de ce fait augmentent le coefficient de transfert massique « k_L » en causant une plus grande turbulence au sein de la couche limite [DUMONT et DELMAS, 2003]. D'autres auteurs présentent l'effet de petites quantités de gouttelettes comme diminuant la mobilité à l'interface et produisant une diminution du coefficient de transfert de masse « k_L » en interférant avec l'hydrodynamique du système [SHARMA *et al.*, 1968]. Ces effets hydrodynamiques sont cependant difficiles à prouver et on admet généralement que l'adjonction d'une phase organique a pour effet une diminution du « k_L » car elle induit une résistance supplémentaire au transfert. Il faut cependant rester prudent tant, là encore, la littérature présente des informations parfois contradictoires.

iii. EFFET SUR LE « $k_L a$ »

Selon MORAO *et al.* [1999] les variations observées sur les mesures de « $k_L a$ » (O_2) lors de l'addition d'huile peuvent être expliquées par trois effets : (1) une diminution de la mobilité en surface des bulles, (2) une augmentation de la coalescence et (3) une diminution de la tension de surface. Les deux premiers effets ont tendance à diminuer le « $k_L a$ » tandis que le troisième l'augmente. Il y aurait donc une concentration d'huile pour laquelle le transfert gaz-liquide serait minimum.

Les dernières études réalisées montrent de manière évidente une diminution du « $k_L a$ », lors de l'adjonction d'huile, par rapport à sa valeur dans de l'eau. Il semble évident que la présence d'une phase "huile" diminue légèrement le coefficient de transfert global de par sa résistance supplémentaire au transfert. Cette diminution de « $k_L a$ » peut être compensée par

une augmentation de potentiel de transfert « $(C_L^O - C_L)$ » en relation avec la quantité d'huile ajoutée ainsi que son affinité pour l'oxygène ou le polluant [DUMONT, *et al.*, 2006]. Au final, le transfert de masse est donc amélioré (car les gradients de concentrations sont augmentés). Par conséquent, les performances de biodégradation du système sont également améliorées. [DAVIDSON et DAUGULIS, 2003]. Une autre étude tend cependant à prouver que l'adjonction de l'huile de silicone à raison de 10% a un effet bénéfique sur le coefficient de transfert global de l'oxygène ainsi que sur la rétention gazeuse [ALDRIC, 2001].

Dans le cas de l'absorption de polluants tels que le styrène dans un réacteur, il a été démontré que le « k_{La} » était relativement constant, quel que soit le pourcentage d'huile mis en jeu dans une gamme comprise entre 0 et 10% d'huile [DUMONT *et al.*, 2006].

I.4.4.2. CAS BIOTIQUE

Peu de modèles de transfert en milieu biphasique prennent en compte la présence de microorganismes dans le réacteur. MUÑOZ *et al.*, [2007] en proposent un uniquement basé sur le transfert en parallèle. D'après lui, la grande affinité des substrats hydrophobes pour la phase huile ainsi que la faible concentration en substrat dans cette phase (et dans la phase aqueuse), due à la consommation microbienne génère un transfert gaz-huile élevé. Le grand flux de substrat entrant dans la phase "huile" est ensuite facilement transféré à la phase aqueuse car le coefficient de transfert global gaz-huile est normalement plus bas que le coefficient de transfert huile-liquide [CESARIO *et al.*, 1997 ; ZHAO *et al.*, 1999 ; MUÑOZ *et al.*, 2007].

Il faut cependant rester prudent, ce mécanisme de transfert est basé sur l'hypothèse que la prise de substrat n'a lieu que dans la phase aqueuse ; pourtant certains auteurs ont observé une adhésion bactérienne à l'interface huile-aqueux (parfois même une présence en phase huile : voir section I.4.6.5) et pensent que la consommation directe de polluant dans la phase organique améliorerait l'efficacité globale du procédé [MUÑOZ *et al.*, 2006 ; DEZIEL *et al.*, 1999].

L'explication de ce modèle réside donc dans l'augmentation de potentiel « $(C_L^O - C_L)$ » générée par la consommation microbienne. Aucune information n'est donnée quant à l'impact de la biomasse (ou d'un éventuel surfactant) sur le coefficient global de transfert de masse uniquement.

De plus, et au vu de la complexité du sujet, la grande majorité des modèles de transfert proposés dans la littérature se limitent souvent à expliquer le transfert de masse pour des systèmes biphasiques sans prendre en considération la présence de biomasse ou de surfactants en leur sein. L'intérêt d'évaluer l'influence de ces paramètres sur le transfert en milieu biphasique et sur la dispersion huile-eau est donc bien réel.

I.4.5. PARAMÈTRES INFLUENÇANT LE TRANSFERT ET LA DISPERSION

I.4.5.1. INTRODUCTION

En milieu monophasique, beaucoup de facteurs sont connus pour affecter l'efficacité d'aération (« $k_L a$ »). On retrouve parmi ceux-ci : l'agitation, le débit d'air, la pression de l'air, la température, la géométrie du réacteur, les caractéristiques du liquide (densité, viscosité, surface tension, etc.), la présence éventuelle d'agents d'anti-mousse, la concentration et les propriétés physiques des particules présentes (densité, dimension particulaire, etc.), etc. [ÖZBEK *et al.*, 2000]. L'impact de ces facteurs est relativement bien connu en milieu monophasique, ce qui n'est malheureusement pas le cas en milieu biphasique. Les paramètres qui sont les plus intéressants dans le cadre de ce travail de fin d'étude sont détaillés ci-dessous de manière plus précise.

I.4.5.2. LA VISCOSITÉ DU MILIEU ET L'AGITATION

Au sein d'un réacteur, les mobiles d'agitation produisent des effets de cisaillement suffisants et une dispersion homogène des bulles gazeuses grâce à une circulation intense. Deux principaux phénomènes peuvent être observés au niveau des mobiles d'agitation : le cisaillement et le pompage. La vitesse d'agitation a une influence directe sur la taille des bulles gazeuses. Plus elles sont petites, plus l'aire interfaciale est grande et le temps de séjour long ; le transfert sera donc amélioré [PARAKULSUKSATID, 2000]. Le temps de séjour des bulles gazeuses dans le réacteur augmente avec la viscosité du milieu. Cependant, elle a un effet négatif sur le cisaillement et la dispersion. Au final, l'augmentation de la viscosité aurait un effet néfaste sur le « $k_L a$ » [GARCIA *et al.*, 2000 ; BAKRI *et al.*, 2001].

I.4.5.3. LES SELS

La présence de sels modifie, non seulement la valeur de la concentration d'oxygène dissous dans la phase aqueuse, mais également les caractéristiques de la dispersion, si le gaz est dispersé sous forme de bulles. De nombreux auteurs ont observé que l'addition de substances ioniques, à la phase liquide, augmente considérablement l'aire interfaciale spécifique « a ». En effet, la présence de sels limite fortement le phénomène de coalescence [THONART, 2006]. Quant à l'influence des sels sur le coefficient de transfert de matière dans la phase liquide « k_L », il a été observé qu'ils entraînent une diminution de « k_L » et que cet effet augmente avec la concentration d'électrolyte en solution. Pour d'autres auteurs, c'est le contraire. L'influence des sels sur le « k_L » est donc très variable [THONART, 2006]. D'après ROUSTAN [2003], le produit « $k_L a$ » augmente généralement : le rapport « $k_L a$ » (sel)/ « $k_L a$ » (eau) peut atteindre la valeur 10 suivant les conditions de fonctionnement.

I.4.5.4. LES COMPOSÉS ORGANIQUES SOLUBLES

L'addition de faibles quantités de composés organiques miscibles (de faible poids moléculaire) dans le milieu agité peut provoquer une forte diminution de la vitesse de coalescence des bulles et, dès lors, une augmentation très appréciable de l'aire interfaciale. Ceci est dû à une diminution de la tension superficielle de la solution liquide [THONART, 2006]. Une étude menée par JAJUEE *et al.* [2006] montre que des hydrocarbures semblables à l'IPB et partiellement solubles dans les systèmes aqueux peuvent faire varier de manière significative le transfert de masse dans les systèmes gaz-liquide. Ces hydrocarbures diminuent la tension interfaciale.

I.4.5.5. LES PARTICULES SOLIDES

Les particules solides modifient le transfert de masse. Certains auteurs remarquent une augmentation de « $k_L a$ » tandis que d'autres constatent une diminution. LITTLEJOHNS et DAUGULIS [2007] montrent que des particules de nylon et de verre (2,6 et 6 mm de diamètre) peuvent augmenter de manière significative le transfert d'O₂, ce qui n'est pas le cas de particules de gomme de silicone (2,5 mm de diamètre). Il a également été montré que la présence de billes de copolymère de styrène-butadiène (3,6 mm de diamètre) dans un TPPB solide-liquide pouvait réduire les limitations en oxygène par rapport à un système sans seconde phase solide [BOUDREAU *et al.*, 2006].

Une autre étude démontre qu'une augmentation de transfert peut se produire dans des systèmes constitués de particules inertes, c'est-à-dire, ne possédant pas de propriétés d'absorption. Cela indique qu'il y a plusieurs mécanismes possibles qui influent sur le transfert de masse [KLUYTMANS *et al.*, 2003]. En réalité, l'effet sur le transfert de masse gaz-liquide serait dû principalement aux interactions (adhésion) entre ces particules et l'interface tel que représenté schématiquement à la figure 7 [RUTHIYA *et al.*, 2003]. Cet effet des particules sur le système est fonction des propriétés des particules (diffusivité de l'oxygène dans les particules, densité, taille, hydrophobicité et concentration), des propriétés du liquide (tension de surface, viscosité, densité, etc.) ainsi que des dimensions du système et des conditions opératoires [GOGOI *et al.*, 1996].

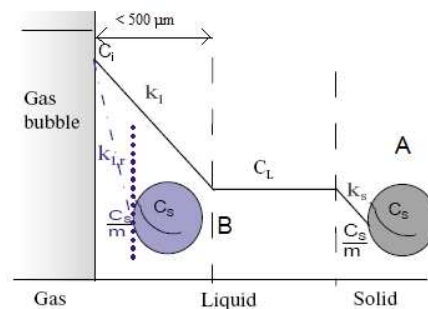


Figure 7 : Représentation schématique (A) du transfert de masse en série d'un gaz à un liquide puis à un solide, ainsi que (B) du transfert en parallèle du gaz au liquide et du gaz aux particules solides adsorbées [RUTHIYA *et al.*, 2003].

L'augmentation de « $k_L a$ » constatée dans certaines conditions pourrait s'expliquer par différents effets :

I L'EFFET NAVETTE (section I.4.4.1.2.2) :

Des particules absorbantes entrent dans la couche limite (200 à 500 μm selon ROUSTAN [2003]) entourant les bulles gazeuses, absorbent le gaz dissous et le relaxent dans la phase liquide. L'effet navette est prédominant dans le cas de particules solides de même taille (ou plus petites) que la couche limite gaz-liquide [RUTHIYA *et al.*, 2003].

ii LES TURBULENCES DANS LA COUCHE LIMITE :

L'épaisseur effective de la couche limite G-L est réduite par les collisions entre les particules de grande tailles (tailles supérieures à l'épaisseur du film liquide : $d_p \geq \delta_1$) et la couche limite. Ces turbulences générées au sein de la couche limite et par conséquent, la diminution de cette dernière, induisent une augmentation de « k_L ». Cependant, ces grandes particules peuvent également amortir les turbulences à l'interface, ce qui mène à une diminution de « k_L ». De petites particules ($d_p \leq \delta_1$) peuvent également diminuer le « k_L » car elles induisent une diminution du volume de fraction liquide disponible, à l'interface, pour la diffusion gazeuse [RUTHIYA *et al.*, 2003].

iii L'INHIBITION DE LA COALESCENCE :

Les particules présentes aux interfaces, peuvent inhiber la coalescence et par conséquent augmentent le « a » [RUTHIYA *et al.*, 2003].

Iv LES REACTIONS DE COUCHE LIMITES OU EFFET DE « GRIGNOTAGE » :

Lorsque de petites particules catalysent une réaction chimique à l'interface gaz liquide, une conversion significative se produit dans la couche de diffusion autour des bulles de gaz, augmentant de ce fait le taux de transfert de masse [RUTHIYA *et al.*, 2003].

Les microorganismes, pouvant être assimilés à des particules, sont susceptibles de modifier le transfert de masse ainsi que la dispersion du système, de part leur présence physique et leurs propriétés de surface.

La bactérie qui sera utilisée pour les expérimentations est *Rhodococcus erythropolis* (section I.5.). Sa dimension est de l'ordre du micromètre [CULL *et al.*, 2002].

Certains travaux mettent en évidence et/ou tentent de démontrer l'effet « négatif » de la biomasse sur le « $k_L a$ » mais dans aucun cas, on ne peut affirmer que la biomasse utilisée

possède la même dimension, les mêmes propriétés de surface et caractéristiques que celle utilisée dans le cadre de ce travail de fin d'étude. Ainsi, GALACTION *et al.* [2004] rapportent que le transfert de masse en milieu monophasique dans une solution contenant de la biomasse est toujours inférieur à celui d'une solution sans biomasse mais possédant la même viscosité apparente. La cause serait le blocage de la surface des bulles par l'adsorption cellulaire. D'autres auteurs sont plus nuancés : la phase biotique localisée à l'interface gaz-liquide a pour effet d'une part la réduction du transfert d'oxygène (en cause la perméabilité plus basse des cellules au transfert l'O₂ en comparaison à la phase abiotique) et d'autre part, et de manière contradictoire, une augmentation du « k_L » par effets hydrodynamiques de turbulence créés au sein de la couche limite [FYFERLING *et al.*, 2008]. Cet effet de turbulences apparaît comme étant un peu contradictoire avec les observations de RUTHIYA *et al.* [2003] (ci-dessus) car les microorganismes utilisés dans ce TFE ont une taille très nettement inférieure (1 micromètre [CULL *et al.*, 2002]) à l'épaisseur du film (200 à 500 micromètres [ROUSTAN, 2003]). Cela étant dit, il est important de signaler que le comportement de la biomasse en milieu biphasique pourrait être sensiblement différent de celui en milieu monophasique.

Les particules solides sont connues pour stabiliser les émulsions. De nombreux exemples de molécules hydrophobes ou colloïdales pouvant stabiliser des mélanges d'eau et d'huile sont repris dans la littérature [LEAL-CALDERON *et al.*, 2007]. Lors d'une fermentation, la stabilisation de la dispersion d'un mélange d'eau et d'huile est souvent attribué aux surfactants produits durant la culture, mais des bactéries intactes et lavées peuvent jouer le même rôle, sans modification de la tension interfaciale, en inhibant la coalescence de la même manière que des particules solides de silice [DOROBANTU *et al.*, 2004], c'est-à-dire, en s'adsorbant aux interfaces. Cette propriété est expliquée par les interactions hydrophobes qui existent entre les bactéries et la phase dispersée [KANG *et al.*, 2008]. En plus de l'adhésion forte à l'interface, les bactéries hydrophobes possèdent une affinité entre elles, ce qui mène à un auto-assemblage de bactéries à l'interface eau-huile, qui résiste à la coalescence et la déformation [DOROBANTU *et al.*, 2004]. Des bactéries telles que les *Mycobacterium* ou les *Rhodococcus* s'inscrivent dans ce contexte. Elles possèdent une grande hydrophobicité et une haute affinité pour la phase organique [MacLeod *et al.*, 2005]. Certains auteurs ont même rapporté qu'une souche de *Rhodococcus erythropolis* avait une affinité tellement grande pour la phase organique qu'on constatait la migration d'un bon nombre de cellules dans cette phase, avec pour conséquence la diminution de stabilité de l'émulsion [WATKINSON *et al.*, 1990].

I.4.5.6. LES MOLÉCULES TENSIOACTIVES

Les agents tensioactifs ou agents de surface ont la propriété d'abaisser la tension superficielle des liquides auxquels ils sont ajoutés par suite d'une adsorption plus importante de leurs molécules à la surface du liquide ou à l'interface de deux liquides.

En système monophasique, la présence de substances tensioactives dans la phase liquide entraîne une diminution très importante du diamètre des bulles. La dispersion gaz-liquide est beaucoup plus stable. En faible concentration, les surfactants ont donc un effet positif sur le « $k_L a$ ». En outre, le diamètre moyen des bulles diminuerait lorsque la concentration en surfactants augmente [THONART, 2006].

Par contre, comme les agents tensioactifs ont la propriété d'adhérer à l'interface gaz-liquide et de former une espèce de pellicule relativement rigide autour des bulles gazeuses, ils diminuent la turbulence à l'interface. Dès lors, le coefficient de transfert de matière « k_L » dans la phase liquide diminue [PAINMANAKUL *et al.*, 2005]. Par conséquent, lors de l'ajout de fortes concentrations croissantes de surfactant, le produit « $k_L a$ » diminue très rapidement puis se stabilise, malgré l'augmentation d'aire interfaciale « a ». Ceci serait dû à l'augmentation de la résistance au transfert de matière en phase liquide, suite à l'accumulation des tensioactifs aux interfaces gaz-liquide. Cependant, si on augmente encore la concentration en agents tensioactifs, la valeur du « $k_L a$ » se relève quelque peu (diminution du diamètre des bulles gazeuses), sans toutefois jamais atteindre celle qui est observée dans la phase liquide pure [THONART, 2006].

En milieu biphasique, l'effet des surfactants sur le transfert de masse est différent. Plusieurs auteurs ont rapporté que la présence de surfactants dans des systèmes ternaires diminuait le transfert de masse. Le surfactant a l'effet d'une résistance mécanique (effet barrière). La présence de surfactant est donc considérée comme désavantageuse dans la plupart des études de transfert de masse [BLOKKER *et al.*, 1957]. Cela étant dit, une étude menée par AGBLE *et al.* [1999] tend à prouver le contraire.

En milieu biphasique, les surfactants ont une grande influence sur la dispersion du système et la stabilité de cette « émulsion ». Lorsque le tensioactif se trouve dans l'eau sous forme monomoléculaire (solution vraie), la solubilité des composés hydrophobes (phase organique) n'est pas influencée. Par contre, une fois dépassée la concentration micellaire critique (CMC), le pouvoir solubilisant de la solution est considérable. Il est évident que l'augmentation de la solubilité résulte d'une association de la phase organique avec les micelles, dans la partie lipophile interne de ceux-ci [SINDIC, 2006].

I.5. RHODOCOCCLUS ERYTHROPOLIS, OUTIL DE BIODÉGRADATION

I.5.1. DESCRIPTION

Les bactéries du genre *Rhodococcus* ont révélé leurs aptitudes à la biodégradation. De nombreux travaux mettent en évidence cette propriété [ALDRIC, 2001]. Selon toute logique, et dans un souci de continuité, c'est donc une souche de ce genre (espèce *erythropolis*) qui sera utilisée tout au long de ce travail. De plus, cette bactérie présente l'avantage de posséder des

propriétés de surfaces intéressantes ainsi que de synthétiser des molécules aux propriétés tensioactives (sections I.5.3 et I.5.4).

Les *Rhodococcus* appartiennent à la classe des Actinobactéria (Gram positive), ordre des Actinomycétales, sous-ordre des Corynebactérieae, famille des Nocardiaceae [Larpent, 2000]. En général, ce sont des souches aérobies, mésophiles, dont la température optimale de croissance se situe vers les 35°C. Les bactéries se présentent sous la forme de filaments formant un mycélium. Différentes souches du sous-ordre des Corynebacterinae ont la capacité de métaboliser différents hydrocarbures [LEVEAU, 1993]. Les *Rhodococcus* sont morphologiquement assez variables. Certaines souches se présentent sous la forme de bâtonnets ou de coques de l'ordre du micromètre, d'autres par contre, se développent en un mycélium extensif se désagrégant en petits bâtonnets ou coques à la fin de la croissance [STANIER, 1987]. Le genre *Rhodococcus* est couramment cité dans la bibliographie pour la dégradation de composés aromatiques polycycliques tels que le naphthalène, le phénanthrène, etc. [CERNIGLIA *et al.*, 1992]. En outre, les *Rhodococcus* sont également cités pour d'autres applications environnementales telles que la biodégradation de composés halogénés comme les pentachlorophénols [FINNERTY, 1992]. Au CWBI, la souche de *Rhodococcus* T 902 a été isolée et a montré une bonne croissance sur l'isopropyl-benzène (IPB) grâce à son plasmide.

I.5.2. LA DÉGRADATION DES COV PAR RHODOCOCCLUS SP.

I.5.2.1. INTRODUCTION

La dégradation de composés par voie microbiologique peut se faire dans les conditions d'anaérobiose ou d'aérobiose. La voie la plus commune, exploitable industriellement, est l'aérobiose étant donné que la vitesse de dégradation y est élevée. Le principe de la biodégradation aérobie est basé sur la dégradation via des microorganismes (bactéries, champignons,..) de composés organiques appelés, dans ce cas, le substrat. Ces réactions d'oxydation s'effectuent en principe en milieu aqueux dans lequel se trouvent le microorganisme ou le consortium microbien.

La matière organique (MO), présente dans l'air, est le substrat principal qui, en présence d'oxygène, d'une source d'azote (N) et de phosphore (P), d'oligoéléments et de l'eau est dégradé et oxydé en dioxyde de carbone, en eau et en sous produits (métabolites). Ces réactions apportent d'une part de l'énergie aux microorganismes et permettent d'autre part une multiplication des bactéries dans le milieu aqueux [PRÉ *et al.*, 2004].

I.5.2.2. LA BIODEGRADATION AEROBIE DES COMPOSES AROMATIQUES

En milieu biphasique, il existe trois manières d'ingérer le substrat pour un microorganisme : la prise de substrat dissous dans la phase aqueuse, la production de biosurfactants pour augmenter la prise de substrat hydrophobe, et la prise de substrat par

contact direct avec la phase organique [MACLEOD *et al.*, 2004]. Il a même été montré que la présence d'une phase non-aqueuse favorisait la sélection de microorganismes capables de se nourrir aux interfaces [MUÑOZ *et al.*, 2007]. La biodégradation aérobie est caractérisée par des oxydations successives du composé aromatique donnant lieu à un intermédiaire clé appelé catéchol (figure 8). Il a été démontré que la transformation du noyau aromatique en catéchol était l'étape limitante de la dégradation. La même étude menée par MUÑOZ *et al.* [2007] a en outre mis en évidence l'effet inhibiteur du catéchol sur la conversion du benzène et la propre transformation de cet intermédiaire.

Les oxydations du composé aromatique sont précédées de plusieurs hydroxylations qui peuvent se produire de différentes manières [KONE, 2006]. Chez les procaryotes, c'est des dioxygénases qui introduisent deux groupes hydroxyles. Dans ce cas les deux atomes d'oxygène sont introduits dans le noyau, ce qui conduit à la formation de dihydrodiols [DE WEVER, 1995]. Suite à la formation de catéchol, le noyau aromatique est ensuite ouvert par l'action complémentaire d'une dioxygénase agissant par *meta*-fission. Cette dernière oxydation donne lieu à des composés intégrables au cycle de Krebs [BOUWER *et al.*, 1993]. Ces composés finaux sont l'acétaldéhyde et le pyruvate.

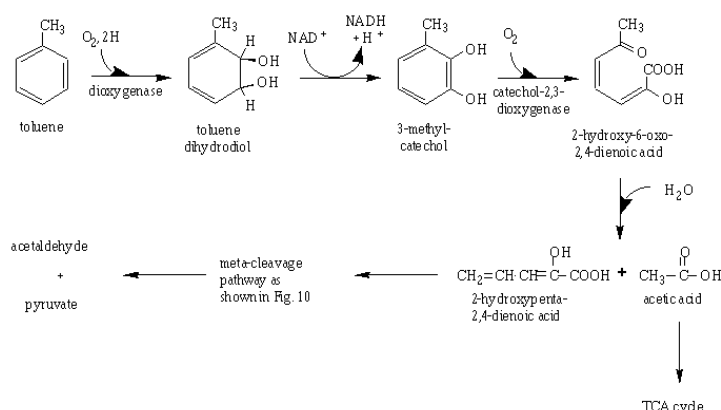


Figure 8 : Biodégradation d'un composé aromatique.

Le lecteur intéressé trouvera dans les ouvrages d'ALDRIC [2001], de KONE [2006], de MOUMOU [2004] et de MBUYI MUNDELA [2005] de plus amples informations à ce sujet.

Plus particulièrement, DABROCK *et al.* [1994] ont montré qu'une souche de *Rhodococcus erythropolis* est capable d'utiliser exclusivement l'isopropylbenzène comme source de carbone et comme source d'énergie. Elle dégrade l'isopropylbenzène pour donner deux produits : le 3-isopropylcatéchol et le 2-hydroxy-6-oxo-7-méthyl-octa-2,4-dienoate. Cette dégradation se fait grâce à un plasmide linéaire et est initiée par une enzyme qui est l'isopropylbenzène dioxygénase. Cette dégradation va jusqu'à la formation de CO₂ et d'H₂O.

Si le microorganisme est capable de métaboliser des composés aromatiques, il n'en demeure pas moins influencé par son environnement. En effet, *Rhodococcus* mis en culture en l'absence et en présence de benzène voit le rapport d'acides gras saturés/insaturés de sa

membrane augmenter de manière significative. GUTIÉRREZ *et al.* [1999] pensent qu'il s'agit là d'un moyen de défense qui permet de diminuer la fluidité de la membrane, donc l'incorporation de composés toxiques en son sein, et par conséquent d'augmenter la tolérance au benzène. Le microorganisme semble donc influencé par son milieu.

I.5.3. LA PRODUCTION DE SURFACTANT PAR RHODOCOCCUS SP.

Outre sa capacité de dégradation de certains polluants, *Rhodococcus erythropolis* est également connu pour produire des surfactants. Les surfactants produits vont avoir une très grande influence sur le transfert de masse et la dispersion du système (voir section I.4.5.6.).

L'intérêt pour un microorganisme tel que *Rhodococcus* de produire un surfactant résulte du fait que ce dernier facilite la prise de substrat c'est-à-dire, la biodisponibilité du polluant [RAPP *et al.*, 1979]. Les bactéries poussant sur des hydrocarbures produisent des composés tensio-actifs qui induisent la formation de petites (moins de 1µm) gouttelettes (émulsification) ou micelles (pseudosolubilisation) qui sont directement assimilées [DÉZIEL *et al.*, 1999].

Les molécules actives aux interfaces que l'on retrouve dans un jus de culture de *Rhodococcus* sont assez variées. KUYUKINA *et al.* [2001] rapportent que le complexe de surfactants isolés à partir d'une culture de *Rhodococcus erythropolis*, alimentés en *n*-Hexadecane, est constitué majoritairement de lipides polaires et non-polaires (48%) ainsi que de *n*-Hexadecane résiduel. On retrouve également en plus faible quantité des protéines et des hexoses extractibles. La fraction possédant l'activité de surface maximale est celle des lipides polaires, dont la proportion avoisine les 10% et constitués majoritairement de glycolipides. Une autre étude menée par KRETSCHMER *et al.* [1982] confirme cette tendance et démontre que l'activité interfaciale du surfactant (mesuré par la technique de l'anneau de Nuoy) produit par *Rhodococcus*, en culture sur *n*-Alkane, est dominée par les α,α -trehalose-6,6'-dicorynomycolates qui réduisent la tension interfaciale d'une solution d'électrolytes de 44 à 18 mN/m. Les phosphatidylethanolamines sont également présentes et réduisent la tension interfaciale en dessous de 1mN/m.

Toujours selon cette étude, un des intérêts des trehalose corynomycolates, par rapport aux autres surfactants commerciaux tels que les glycolipides, est qu'ils possèdent une concentration micellaire critique (CMC) extrêmement basse en solution très salée (entre 0,02 et 0,17 g/l dans de l'eau distillée selon MARTIN *et al.*, [1991]) et ses propriétés sont stables sur une très large gamme de pH, de température et de force ionique.

Il est également important de savoir que sur une période de culture de 80 heures, la plupart des surfactants produits (lipides associés au tréhalose) sont associés principalement avec la paroi cellulaire (seulement 10% sont extracellulaires). Passé ce délai, la tendance s'inverse et les surfactants sont en grande majorité excrétés dans le milieu [MARTIN *et al.*, 1991].

Au vue des études de RAPP *et al.* [1979], de GUTIÉRREZ *et al.* [1999] et de KITAMOTO *et al.* [2002], il est envisageable de penser que la composition de ce surfactant soit également influencée par les conditions de culture.

I.5.4. LES PROPRIÉTÉS DE SURFACE

L'impact des microorganismes sur le transfert et la dispersion d'un système biphasique a déjà été détaillé à la section I.3.6.5. Cet effet est dû à la présence physique des bactéries en tant que particules ainsi qu'à leurs propriétés de surfaces. Les propriétés de surfaces, des *Rhodococcus* sont notamment déterminées par leur caractère hydrophobe. Dans les systèmes biologiques, les interactions hydrophobes sont parmi les plus fortes interactions non-covalentes. L'affinité d'un microorganisme hydrophobe pour une surface ou un milieu hydrophobe s'explique par le fait que la tension interfaciale entre ces deux surfaces est plus faible que la tension interfaciale avec le milieu de dispersion.

Les protéines, les lipides ainsi que les polysaccharides de la couche externe de la paroi des bactéries Gram-positives sont capables de présenter des domaines hydrophobes en adoptant des conformations particulières qui les orientent à la surface cellulaire [AHIMOU, 2000]. Cette conformation peut s'expliquer par les interactions (répulsion) électriques qui existent entre la couche dense de peptidoglycane fortement chargée de la paroi bactérienne et les molécules responsables de l'hydrophobicité (HANCOCK [1991] cité par AHIMOU [2000]).

Il est également connu que l'adhésion des cellules aux surfaces (et donc leur hydrophobicité) peut varier en fonction des changements dans le milieu de culture, des conditions de culture et de l'activité physiologique des cellules [ASCON-CABRERA *et al.*, 1995]. La même étude met en évidence que la plus grande hydrophobicité de cellules cultivées en système biphasique, par rapport au système monophasique, serait le résultat d'une induction d'hydrophobicité cellulaire par le solvant organique. Il a par ailleurs été démontré que des cellules cultivées sur hydrocarbures ou huile étaient plus hydrophobes que celles cultivées sur substrat soluble [FAVRE-BULLE *et al.*, 1992 ; GUTIERREZ *et al.*, 1999 ; PREUSTING *et al.*, 1991].

Il peut arriver que les biosurfactants produits par les bactéries s'orientent de telle sorte que leur partie hydrophobe soit en contact avec la couche externe de la paroi bactérienne. Dans ce cas, l'hydrophobicité de la paroi bactérienne diminue et la bactérie peut alors interagir avec des surfaces plus hydrophiles [AHIMOU, 2000 ; MUÑOZ *et al.*, 2007]. Cette propriété a été mise en évidence chez les bactéries du genre *Mycobacterium*. Il arrive également que ce soit l'inverse qui se produise, et que la partie hydrophile du surfactant se lie à la paroi bactérienne lui conférant une plus grande hydrophobicité. BENDINGER *et al.* [1993] ont mis en évidence la propriété chez les bactéries appartenant aux genres *Corynebacterium*, *Mycobacterium* et *Nocardia*. En réalité, l'orientation prise par le biosurfactant dépend des propriétés de surface du microorganisme, ces dernières étant dépendantes de l'environnement [ASCON-CABRERA *et al.*, 1995]. Il est fort probable que cette propriété se retrouve également chez les bactéries du genre *Rhodococcus*. En effet, déjà fin des années septante, RAPP *et al.* [1979] décrivaient les surfactants produit par les *Rhodococcus* (cultivés dans des conditions sans restrictions) comme étant en grande majorité des téhalose mycolates associés aux cellules.

II. OBJECTIFS DE L'ÉTUDE

La présente étude se situe dans le contexte général du traitement biologique des effluents gazeux et en particulier dans l'utilisation, à cette fin, de réacteurs biphasiques (TPPB).

Les précédentes études réalisées sur ce sujet ont permis de caractériser les potentialités, notamment en terme de biodégradabilité, d'un tel système. Ces réacteurs, développés à l'échelle du laboratoire, semblent présenter un grand intérêt, notamment dans le cas de traitement de volumes d'air fortement concentrés en polluants (~ 6 g/l).

Il semble toutefois utile de prouver que l'application du même procédé à une échelle supérieure n'engendre pas de complications, en matière d'homogénéisation des deux phases.

Sachant que l'étape limitante de tels procédés est le transfert de masse ; qu'il s'agisse de celui du polluant ou de celui de l'oxygène, et que les mécanismes régissant ces types de transfert en systèmes binaires (voire ternaires) sont mal connus, il s'avère utile d'essayer de mieux les comprendre afin de garantir au réacteur un fonctionnement optimal.

L'objectif de ce mémoire sera donc double :

- D'une part, par une approche de « scale-down », tenter de comprendre l'influence de la biomasse « *Rhodococcus E.* », des surfactants produits par cette souche, ou de l'action combinée des deux, sur les conditions hydrodynamiques du dans l'optique d'une extrapolation à une échelle plus grande.
- D'autre part, mieux comprendre l'impact des paramètres précités sur le transfert gazeux de l'oxygène ou du polluant (IPB). Pour ce faire, une approche basée sur trois types de mesure est proposée : la rétention gazeuse, le « $k_L a$ » et la détermination du diamètre des bulles d'air dans le réacteur. En outre la méthode utilisée permettra également d'aboutir à certaines conclusions quant aux mécanismes influençant le transfert, et de comparer les résultats obtenus à une littérature foisonnant d'informations divergentes.

III. MATÉRIEL ET MÉTHODES

III.1. LES MILIEUX DE CULTURE UTILISÉS

Les différents milieux de culture utilisés dans le cadre de ce travail de fin d'étude sont détaillés ci-après.

III.1.1. LE MILIEU MINIMUM (284)

Le milieu 284 est utilisé comme phase aqueuse dans le réacteur biphasique et, complété d'agar (14 g/l), comme milieu solide pour conserver la souche en boîte de pétri. En ajoutant dans le couvercle de la boîte un filtre imbibé de 100 µl de IPB et de 100 µl d'éthanol, le milieu solide devient sélectif pour la souche utilisée (section III.2.2.).

La composition de ce milieu (11) est donnée dans le tableau 2.

Tableau 2: Composition du milieu 284 liquide.

Composants	Concentration
NaCl	4,68 g/l
KNO ₃	1 g/l
(NH ₄) ₂ SO ₄	2 g/l
MgCl ₂ .6H ₂ O	0,2 g/l
CaCl ₂ .2H ₂ O	0,03 g/l
NaH ₂ PO ₄	15 g/l
Fe(III)NH ₄ citrate	0,0048 g/l
Solution 7*	1 ml/l

*La solution 7 contient, en traces, les oligo-éléments essentiels à la croissance du microorganisme : NiCl₂, CoCl₂, H₃BO₂, Na₂Mo₄.H₂O, CuCl₂, HCl, ZnSO₄, MnCl₂.4H₂O.

Le pH du milieu de culture est ajusté à 7 à l'aide de soude concentrée.

III.1.2. LE MILIEU PCA

Ce milieu est utilisé lors des dénombrements (section III.2.3.4.). Sa composition est donnée dans le tableau 3.

Tableau 3: Composition du milieu PCA liquide.

Composant	Quantité (g/l)
Peptone	5
Extrait de levure	2,5
Glucose	1
Agar	11,5

III.1.3. L'EAU PEPTONÉE

L'eau peptonée est utilisée lors des dénombrements (section III.2.3.4.). Elle permet de réaliser les dilutions successives. Sa composition est donnée dans le tableau 4.

Tableau 4: Composition de l'eau peptonée.

Composants	Quantités
NaCl	5 g/l
Peptone	1 g/l
Tween 80	2 ml/l

A l'aide d'une dispensette, 9 ml de cette eau sont placés dans des tubes en verre fermés hermétiquement puis stérilisés.

III.1.4. LE LIQUIDE PHYSIOLOGIQUE

Le liquide physiologique est utilisé pour laver la biomasse récoltée après centrifugation ainsi que pour resuspendre et conserver cette biomasse (section III.3.1.). Le liquide physiologique est une solution aqueuse de NaCl à 9g/l.

III.1.5. LE MILIEU RICHE (863)

Le milieu riche n'a pas été utilisé mais il en est fait référence dans la présente étude. Ce milieu non sélectif est composé de 20 g/l de glucose et de 20 g/l de peptone.

III.2. LA SOUCHE BACTÉRIENNE

III.2.1. LA SOUCHE SÉLECTIONNÉE

La souche utilisée dans ce travail de fin d'étude est *Rhodococcus erythropolis* T902.1. Elle est le fruit de la conjugaison plasmidique entre la souche *Rhodococcus erythropolis* BD₂ [DABROCK *et al.*, 1994] et la souche *Rhodococcus erythropolis* T902 [WEEKERS *et al.*, 1994]; la première citée possède un plasmide qui lui permet de dégrader les polluants aromatiques et chlorés, tandis que la seconde, qui a été isolée d'un sol pollué dans le cadre d'une recherche menée au CWBI, possède la propriété de bien résister au séchage.

III.2.2. LA CONSERVATION DES SOUCHES

La souche de *Rhodococcus erythropolis* utilisée dans ce travail est conservée adsorbée sur des microbilles à - 80°C au sein de la collection du C.W.B.I.

Cela étant dit, durant la période d'étude, les souches ont été conservées en les maintenant en culture sur des milieux sélectifs (section III.1.1.). Il est indispensable de procéder de la sorte

de manière à maintenir la pression de sélection pour le composé aromatique utilisé comme source de carbone lors de ce travail et éviter la perte du plasmide pBD₂. Les boîtes sont ensuite scellées par du Parafilm® et déposées à l'étuve à 30°C.

Toutes les semaines, les souches sont repiquées sur de nouvelles boîtes de pétri.

III.2.3. LA MISE EN CULTURE DES BACTÉRIES ET LE SUIVI DE CROISSANCE

III.2.3.1. LE POLLUANT

La souche sélectionnée possède la propriété de dégrader les polluants aromatiques. Dans le cadre de ce travail de fin d'étude, le polluant qui sera utilisé comme source de carbone par les bactéries est l'isopropylbenzène (IPB). L'IPB est l'un des dérivés benzéniques les moins toxiques. C'est pour cette raison qu'il sera préféré à un autre polluant pour les manipulations. Un effluent gazeux sera généré à partir d'IPB liquide et servira à alimenter le réacteur (section III.2.3.2./ii)

III.2.3.2. LA CULTURE

i. L'ÉTAPE DE PRÉCULTURE

Les bactéries (section III.2.2.) sont prélevées au moyen d'une ose de platine à partir des cultures sur milieu sélectif gélosé afin d'inoculer stérilement des fioles de préculture de 100 ml de milieu 284 liquide (section III.1.1.) auquel on a ajouté comme source de carbone 100 µl de IPB ainsi que 100 µl d'éthanol, tel que préconisé par Aldric [2003].

Ces fioles de préculture sont maintenues sous agitation à 30°C pendant 40 h afin d'obtenir une concentration cellulaire de l'ordre de 10⁶ CFU/ml (section III.2.3.4.).

ii. LA CULTURE

Préalablement à la culture, les fioles de la section III.2.3.2./i sont soumises à un « barbotage ». Cela signifie qu'elles sont alimentées en carbone par un effluent gazeux (IPB) généré en conditions contrôlées. Ces fioles qui ont « barboté » durant quelques jours, servent d'inoculum à la culture proprement dite.

Les bactéries « barbotées » sont ensuite mises en culture dans le système constitué d'une bouteille agitée et aérée. Pour augmenter les quantités de biomasse et de surfactant produits, un système de deux « réacteurs » en série a été mis au point en cours d'étude (figure 9). Ces « réacteurs », remplis de milieu 284 (section III.1.1.), sont alimentés en oxygène et en carbone par un effluent gazeux généré par le passage d'air à travers le verre « fritté » d'un récipient contenant de l'isopropylbenzène. Cet effluent est injecté dans le réacteur au débit de 1 vvm et sous une agitation de 300 rpm. Ce système ne correspond pas exactement à celui d'un système biphasique, même si les conditions de culture se voulaient les plus proches possibles

du TPPB, mais il permet à contrario une récupération relativement aisée de la biomasse et du surfactant (section III.3.).

Le système est constitué :

- (1) d'un rothamètre (débitmètre), alimenté en air comprimé (1 bar), qui permet d'obtenir le débit gazeux désiré ;
- (2) d'un flacon d'un litre de volume contenant de l'IPB liquide à raison de 10% en volume, placé après le régulateur de débit. Ce flacon, muni d'un verre fritté dans sa partie basale et est alimenté par de l'air, permettant ainsi de générer de l'effluent gazeux pollué par entraînement (section III.2.3.1.) ;
- (3) de deux bouteilles de milieu 284 (section III.1.1.) placées sur un système d'agitation magnétique (4) et alimentées en effluent par un système de diffusion (5). Ces bouteilles dans lesquelles les microorganismes sont mis en culture sont le siège de la biodégradation du polluant gazeux (IPB) et de la croissance des microorganismes;
- (6) d'un dispositif de récupération des mousses entraînées par le débit d'air sortant du système ;
- (7) de canalisations constituées de tuyaux flexibles en silicone de 8 mm de diamètre.

La durée du temps de fermentation varie entre treize et seize jours pour fournir, en fin de processus, un jus de culture de densité optique comprise entre 8 et 10 unités d'absorbance (section III.2.3.6.).

Pour augmenter le rendement de production, une méthode différente a été mise au point en cours d'étude. L'approche de « préculture » a été abandonnée au profit d'un ensemencement par « pied de cuve ». Ce système, qui consiste à réensemencer la culture suivante par une fraction de la culture précédente, permet de réduire le temps de fermentation à une durée de huit ou neuf jours, et ce, pour des densités optiques finales identiques

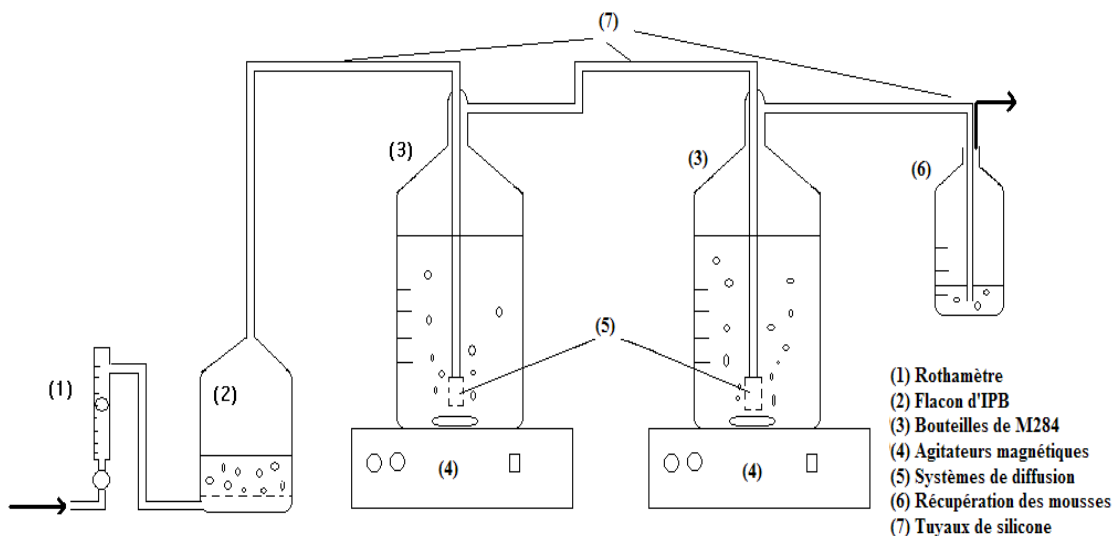


Figure 9 : Système de deux bouteilles en série, développé lors du travail.

III.2.3.3. LE CONTRÔLE DES CULTURES

Un contrôle est effectué sur toutes les précultures (section III.2.3.2./i) ainsi que régulièrement au cours de la culture (section III.2.3.2./ii). Ce contrôle réalisé au microscope permet de repérer les éventuelles contaminations en se basant sur les phénotypes bactériens.

III.2.3.4. LE DÉNOMBREMENT BACTÉRIEN

La détermination de la concentration en micro-organismes dans l'inoculum, ainsi qu'au sein du réacteur, est déterminée par la méthode des dilutions successives. Un ml du jus de culture (section III.2.3.2./ii) est prélevé et dilué dans 10 ml d'eau peptonée (section III.1.3.). Cette étape est répétée plusieurs fois de suite pour atteindre des dilutions de 10^{-7} à 10^{-11} suivant les cas. Ensuite 100 μ l des trois dilutions finales sont déposés sur des boîtes de Pétri de milieu PCA (section III.1.3.), en trois répétitions, afin d'estimer la concentration cellulaire (CFU).

III.2.3.5. LA DÉTERMINATION DE LA BIOMASSE PAR MATIÈRE SÈCHE

La détermination de la biomasse au cours de la culture est réalisée par filtration. Dix millilitres de jus de culture (section III.2.3.2./ii) sont filtrés sous vide au travers un filtre de porosité 0,20 μ m. Le filtre est ensuite rincé à l'eau distillée puis déposé dans une barquette en aluminium qui est ensuite placée à l'étuve une nuit à 105°C. La masse de matière sèche est ensuite pesée et rapportée au volume de liquide utilisé lors de la filtration. La barquette et le filtre ayant été tarés préalablement.

III.2.3.6. LA MESURE DE DENSITE OPTIQUE

Il est possible de suivre l'évolution de la concentration microbienne par mesure de densité optique. Pour ce faire, un échantillon de jus de culture (section III.2.3.2./ii) est prélevé dans le réacteur, placé dans une cuvette photospectrométrique et lu à une longueur d'onde de 600 nm. Pour rester dans la gamme de linéarité, il faut que la valeur lue soit comprise entre 0,2 et 0,8 unités d'absorbance. Si cette valeur est supérieure, il est nécessaire de réaliser une dilution avant la mesure.

III.2.3.7. LA CORRELATION BIOMASSE-DO ET CFU-DO

Il est possible de faire correspondre à une mesure de DO son équivalent en CFU ou en biomasse. Pour ce faire, Ces trois types de mesures sont réalisés conjointement sur un même échantillon pour une large gamme de densité optique et les valeurs obtenues sont reportées dans un graphiques et corrélées. Après cette étape, toutes les mesures seront réalisées par densité optique car cette technique est la plus rapide.

III.2.3.8. LE SUIVI DE FERMENTATION

Chaque culture est suivie au cours du temps. Tout au long de la fermentation, des échantillons sont prélevés dans le réacteur et leur densité optique est mesurée (section III.2.3.6.). Ces données, rapportées au temps dans un graphique renseignent sur l'état et l'évolution de la culture.

III.3. LA RÉCOLTE DE LA BIOMASSE ET DU SURFACTANT

Cette étape va permettre d'obtenir, d'une part, du surfactant et d'autre part, de la biomasse produite en milieu pauvre et en conditions les plus proches possibles du TPPB (section III.2.3.2./ii), qui pourront être utilisés pour les expérimentations. Cette approche se base sur les résultats obtenus par MARTIN *et al.*, [1991] qui démontrent, que passé un délai de 80 heures, la majorité du surfactant n'est plus associé aux cellules et se retrouve dans le milieu de culture. Un organigramme de la méthode utilisée et détaillée ci-dessous est présenté à la figure 10.

III.3.1. LA RÉCOLTE DE LA BIOMASSE

Une fois la culture arrivée à une densité optique d'environ 10 unités d'absorbance, qui correspond à la fin de la phase exponentielle de croissance (section IV.1.2.), la récolte peut avoir lieu. Le jus de culture est centrifugé à 11.000 G durant quarante minutes. Le surnageant est récolté et la biomasse est lavée au liquide physiologique (section III.1.4.) et centrifugée à nouveau. Cette étape est répétée trois fois. La biomasse est ensuite récupérée, suspendue dans du liquide physiologique (section III.1.4.) pour arriver à un volume de 200 ml et stockée en chambre froide à 4°C jusqu'à utilisation de la biomasse. Une matière sèche est réalisée sur cette biomasse (section III.2.3.5.).

III.3.2. LA RÉCOLTE ET LA CARACTÉRISATION DU SURFACTANT

III.3.2.1. LA RÉCOLTE

Après l'étape de centrifugation, où le surnageant et le culot bactérien sont séparés et stockés séparément, le surfactant peut être extrait du surnageant en utilisant la méthode proposée par KUYUKINA *et al.*, [2001]. Cette méthode consiste en une extraction liquide-liquide du surnageant à l'aide de méthylterbutyléther (MTBE). Le surnageant et le MTBE sont placés dans des bouteilles à extraire en proportion 2:1 et agitées durant trois heures à puissance maximale, à l'extracteur rotatif. Ensuite, les deux phases sont séparées dans une ampoule à décanter. L'interface entre les deux phases ainsi que la phase organique sont récupérés et le solvant est évaporé sous vide dans un évaporateur rotatif. La phase aqueuse résiduelle est réextraite au MTBE puis éliminée. L'extrait est ensuite lyophilisé et la poudre obtenue conservée sous azote à -20°C.

III.3.2.2. LA CARACTÉRISATION DES TENSIOACTIFS

Les constituants (voire partie bibliographique) des tensioactifs synthétisés par *Rhodococcus erythropolis* cultivés en milieu pauvre/IPB sont fractionnés puis pesés selon une adaptation de la méthode de KRETSCHMER *et al.*, [1982].

i. SÉPARATION

Préalablement à l'étape de « séparation » proprement dite, le surfactant a subi une chromatographie sur couche mince. L'éluant utilisé était constitué d'un mélange d'éther de pétrole et d'éther diéthylique en proportion 60/40 ainsi que de 1,5 ml d'acide formique. Des témoins alcanes, mono-di-triglycérides, lipides polaires, etc. ont été utilisés. Le but de cette étape était d'avoir une idée des différentes fractions en présence afin d'adapter la méthode de KRETSCHMER *et al* [1982].

La séparation des « lipides » est ensuite réalisée sur des colonnes de silice (Agilent 1g) au travers desquelles on fait passer 10 ml des différents solvants de polarité croissante :

- n-Hexane ;
- n-Hexane-chloroforme (3:1) ;
- chloroforme ;
- chloroforme-méthanol (5:2) ;
- méthanol.

Les différentes fractions sont récupérées et séchées sous flux d'azote. Une matière sèche est réalisée sur le résidu non-extrait.

ii. DOSAGE DES PROTÉINES

Le dosage des protéines (voir annexe 1) est réalisé par la méthode colorimétrique de BRADFORD [1976]. Le réactif utilisé est une solution éthanolique de bleu de Coomassie dans de l'acide phosphorique. Ce colorant, sous sa forme anionique bleue, se fixe sur les protéines grâce à des interactions électrostatiques avec les groupements cationiques protéiques (particulièrement les groupements basiques et/ou aromatiques). Après réaction, la lecture spectrophotométrique est effectuée à la longueur d'onde de 595 nm. La sérum albumine bovine (BSA) est utilisée comme standard.

iii. DOSAGE DES HEXOSES

Le dosage des hexoses (voir annexe 2) est réalisé par la méthode colorimétrique de DUBOIS [1956]. Le réactif utilisé est l'association phénol-acide sulphurique et la lecture spectrophotométrique est effectuée à la longueur d'onde de 490 nm. Le standard utilisé est le thréalose.

iv. CARACTÉRISATION

Les différentes fractions de la section III.3.2.2./i et le résidu après extraction, une fois séchés, sont pesés et rapportés à la masse de surfactant brut sec mise en jeu lors de l'extraction. La quantité d'hexose et de protéines est également exprimée en pourcentage. En outre, une chromatographie sur couche mince ou un profil chromatographique a été réalisé sur chacune de ces fractions afin d'en identifier les principaux éléments ou principales familles.

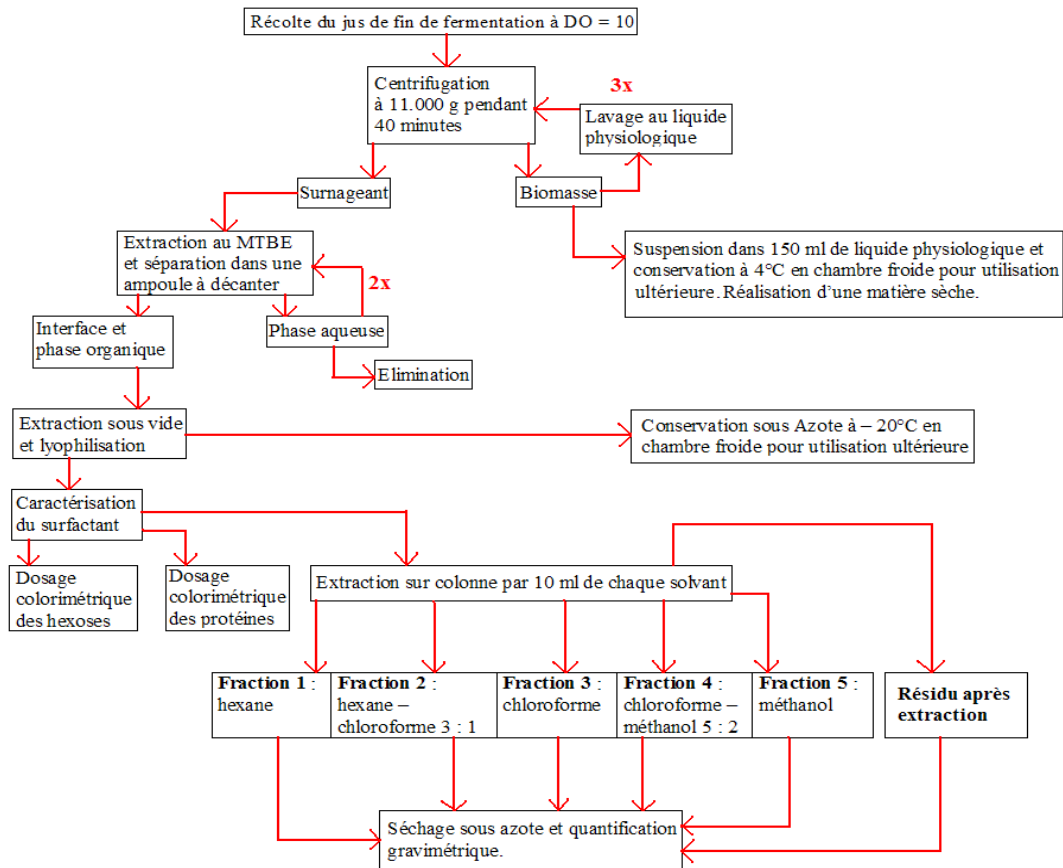


Figure 10 : Organigramme de la méthode utilisée.

III.4. LES MESURES DE « $k_L a$ ».

III.4.1. LA DESCRIPTION DU RÉACTEUR

Le réacteur Biolafitte 06.1 (figure 11) qui sera utilisé dans le cadre de ce travail comme réacteur biphasique (TPPB) est composé d'une cuve en plexyglass munie d'un axe central avec deux modules d'agitation et quatre contre pales (3) permettant d'éviter la formation de vortex. Les dimensions de la cuve sont 320 x 160 mm.

Les deux modules d'agitation peuvent être décrits comme suit :

- dans la partie inférieure : une turbine à quatre pales droites (TD4) appelée aussi module de cisaillement (5) permettant d'obtenir d'une part une turbulence et des effets de cisaillement suffisants ; dans la partie supérieure du réacteur :
- une hélice marine à 4 pales appelée module de pompage (4) induit une action de pompage permettant une bonne homogénéisation du milieu ainsi qu'un temps de séjour important des bulles d'air.

Un système cuve-agitateur est considéré comme standard si, quelle que soit sa taille, ses grandeurs géométriques sont dans un rapport bien défini et constant.

Les grandeurs d'un réacteur muni d'une turbine TD4 sont les suivantes :

- H (hauteur du liquide) = $2D$ (diamètre de la cuve).
- d (diamètre du module d'agitation) = $1/3 D$.
- distance entre le fond de la cuve et le premier module = d .
- distance entre les modules d'agitation = $2d$.

La figure 11 ci-dessous représente les différentes grandeurs caractéristiques du réacteur.

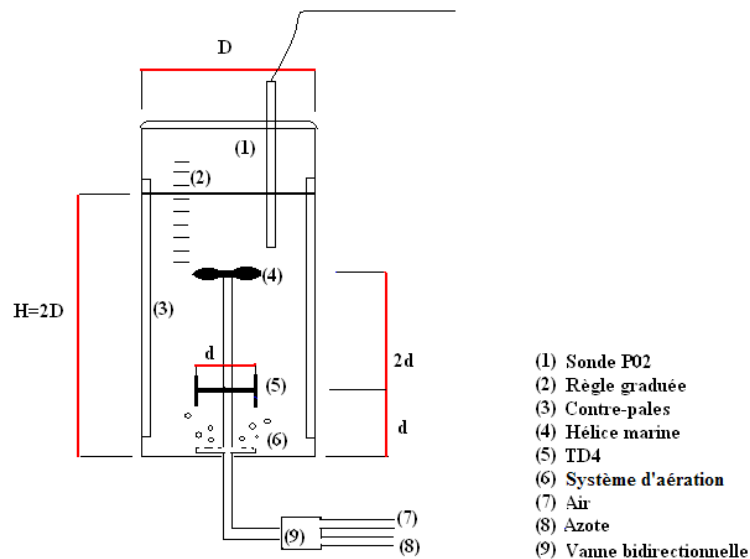


Figure 11 : Dimensionnement standard du réacteur dans le cas de deux modules d'agitation au sein du réacteur.

III.4.2. PRINCIPE

Le « $k_L a$ » est le coefficient global de transfert de masse dans le milieu. Il a été déterminé pour l'oxygène dans le réacteur biphasique (section III.4.1.) par la méthode gassing in / gassing out (section III.4.4.). Des mesures de « $k_L a$ » ont été réalisées sur du milieu biphasique contenant différentes concentrations de biomasse et de surfactant, afin d'évaluer leur impact sur le transfert.

La biomasse et le surfactant utilisés pour ces expériences (sections III.3.1. et III.3.2.1.) ont été stockés respectivement à 4°C et -20°C . La biomasse a été aérée une nuit dans le milieu biphasique, préalablement à chaque mesure, afin de la carencer et donc, de rendre négligeable

sa consommation en oxygène lors des mesures (pas de modification de « C_L » dû aux microorganismes).

III.4.3. LE FONCTIONNEMENT DE LA SONDE

L'oxymètre utilisé est du type Knick (STRATOS®) muni d'une sonde à oxygène dissous METLER-TOLEDO. Elle permet de mesurer la pression partielle en oxygène dissous (pO_2) dans le milieu. Elle se compose principalement d'une cathode (de platine) et d'une anode (d'argent) reliées électriquement par un électrolyte. Une membrane perméable aux gaz sépare la paire d'électrodes du milieu biphasique. L'oxygène pénétrant la sonde est réduit à la cathode. Le courant résultant est directement proportionnel à la pO_2 du milieu biphasique. La sonde donne des valeurs exprimées en % de saturation en oxygène. Un calibrage est donc nécessaire préalablement à toute mesure.

Cette sonde pO_2 a été placée dans le réacteur et permet de suivre la concentration en oxygène dissous. Cette sonde est reliée à une interface graphique YOKOGAWA.

III.4.4. LA METHODE DU GASSING IN / GASSING OUT

La méthode de gassing in / gassing out [BANDYOPOUDHYAY *et al.*, 1967] consiste à désaérer le milieu par un flux d'azote jusqu'à ce que la saturation en oxygène soit proche de 0. Ensuite, le milieu est aéré avec un débit et une vitesse d'agitation donnés (respectivement 1 vvm et 600 rpm) pour rétablir les conditions de départ. Les valeurs de concentration partielle en oxygène dissous sont enregistrées par l'écran et le transmetteur toutes les deux secondes, jusqu'à ce que la valeur en oxygène soit proche de la saturation (figure 12 (A)).

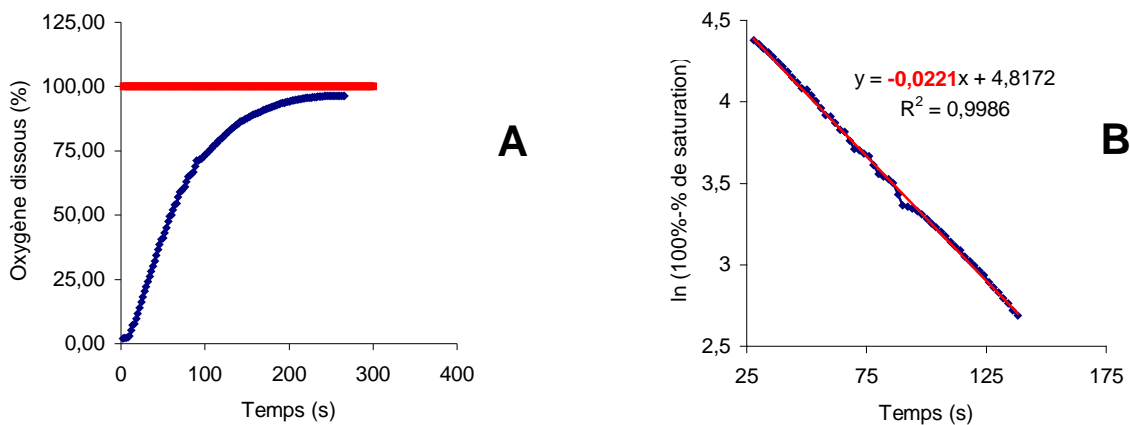


Figure 12 : (A) Exemple d'évolution de la pO_2 en fonction de temps - cas du milieu 284 ; (B) Détermination du « k_La » par linéarisation logarithmique – cas de l'eau de distribution.

L'équation générale de transfert de l'oxygène est l'équation (A). En l'intégrant, on obtient l'équation (B). Pratiquement, le « k_{La} » peut donc être déterminé en estimant, entre 20% et 85% de saturation en O₂, la pente de la droite (C) (figure 12 (B)).

(A) $\frac{dC_L}{dt} = k_{La} \times (C_L^0 - C_L)$	(B) $\ln \left[\frac{(C_L^0 - C_L)}{C_L^0} \right] = -k_{La} \times t$	(C) $\ln(100\% - \% \text{ sat}) = -k_{La} \times t$
---	---	--

Avec :

- dC_L/dt : le taux volumique de transfert de l'oxygène (mole / l.h),
- k_{La} : le coefficient global de transfert de masse de l'oxygène dans le film liquide (h⁻¹),
- C_L^0 : la concentration de saturation en oxygène dans le milieu étudié (100 % de saturation),
- C_L : la concentration en oxygène dissous au temps t,
- $\% \text{ sat}$: le pourcentage de saturation en O₂.

III.4.5. LE TEMPS DE REPONSE DE LA SONDE

La principale limite de cette méthode de détermination du « k_{La} » réside dans le temps de réponse de l'électrode par rapport aux variations de concentration en oxygène dans le milieu [MONTES et al., 1999].

Le temps de réponse est défini comme étant le temps nécessaire à l'électrode pour mesurer 63% de la valeur globale d'un changement de concentration en oxygène. Il est fonction de la diffusion de l'oxygène à travers la membrane de l'électrode.

Pour que la mesure soit acceptable, il faut que la valeur du temps de réponse soit plus petite ou égale à 1/ k_{La} .

Pour mesurer le temps de réponse, la sonde est placée dans une solution de sulfite de sodium (agent réducteur) dans laquelle la concentration en oxygène dissous est nulle. Lorsque la sonde indique la valeur « zéro », elle est placée instantanément dans une solution saturée en oxygène et le temps de réponse est mesuré par le temps nécessaire pour atteindre 63% de saturation.

III.5. LA RETENTION GAZEUSE

La rétention gazeuse au niveau du bioréacteur est estimée en mesurant la différence de hauteur de liquide, sur la règle graduée, avec et en absence d'aération (figure 11).

Si H_0 est la hauteur initiale du liquide en absence de l'aération et H la hauteur correspondant à la hauteur au cours de l'aération, le pourcentage de rétention gazeuse peut être estimé comme suit :

$$\text{Pourcentage de rétention gazeuse} = 100 \times \frac{H - H_0}{H_0}$$

III.6. L'ANALYSE D'IMAGE POUR LE SYSTEME SCALE DOWN.

Afin de pouvoir envisager le passage du réacteur étudié à une échelle supérieure, une approche développée par DELVIGNE [2006] a été adaptée au milieu biphasique. L'approche consiste à assimiler les conditions hydrodynamiques d'un système « scale-down » à celles d'un réacteur agité d'une plus grande taille.

Le système « scale-down » est constitué de deux modules :

- Un module « parfaitement agité » constitué du réacteur Biolafitte de 4,5 l de volume utile (figure 11) tournant à 900 rpm (section III.4.1.).
- Un module de « séparation » de l'huile de silicone constitué d'une colonne en verre non agitée (section IV.2.2.).

Une pompe péristaltique assure un débit de circulation fixé entre les deux modules afin de rendre similaire le système à un réacteur agité d'un plus grand volume.

Des données concernant la « décantation » de l'huile dans le module de « séparation » sont enregistrées par une caméra numérique (Fujifilm Digital Camera A 345 ; 4,1 Megapixel ; 15 images/s) et traitées à l'aide d'un programme développé lors de ce travail sur le logiciel MATLAB (MATrix LABoratory ; Mathwork 1984-1991).

L'analyse d'image a requis la coloration de la phase organique au moyen du colorant rouge soudan (section IV.2.3.). Il était donc nécessaire de s'assurer que l'utilisation du colorant n'induirait pas de modification des propriétés interfaciales. Pour se faire, une série de mesure sur du milieu biphasique avec et sans colorant ont été réalisées au TVT Lauda (mode dynamique).

III.7. L'ANALYSE D'IMAGE POUR LA DÉTERMINATION DE LA TAILLE DES BULLES D'AIR.

Une méthode a été mise au point dans le cadre de ce travail dans le but de pouvoir déterminer la taille des bulles d'air, en temps réel, dans un réacteur biphasique (section IV.4.). Un capillaire à tubulure est plongé dans un réacteur biphasique agité à la vitesse de 600 rpm et aéré à 1 vvm. La tubulure du capillaire est placée 5 cm sous la surface du réacteur et à 2 cm du bord. Le milieu biphasique aéré est aspiré à l'aide d'une pompe péristaltique WATSON MARLOW tournant à 200 rpm et le passage des bulles est enregistré à l'aide d'une caméra ultra rapide X-streamTM XS-3 IDT (Capture de 5000 images ; Fréquence de 1000 Hertz ; Temps d'exposition de 9 μ s). Les données sont ensuite traitées à l'aide d'un programme développé lors de ce travail sur le logiciel MATLAB (MATrix LABoratory ; Mathwork 1984-1991).

IV. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

Pour répondre aux objectifs fixés, il a fallu mettre au point une méthode de culture des microorganismes simple et efficace. La méthode devait également permettre une récupération aisée de la biomasse et du surfactant (sections III.2 et III.3). L'avantage de la culture sur IPB en bouteille est qu'elle produit des microorganismes relativement similaires à ceux retrouvés en réacteur biphasique, car développant une hydrophobicité de surface plus importante que lors de la culture sur milieu riche [MANIGAT 2008].

Suivre la production et déterminer ses rendements en biomasse et surfactant s'avérait donc être une nécessité afin d'établir une gamme de travail pour les expériences ultérieures.

Partant de ces informations et de ces matières premières, il fut possible d'étudier séparément leur impact sur la stabilisation d'une émulsion (en vue d'extrapoler le système) ainsi que leur influence sur le transfert de masse (l'étape limitante du procédé). Pour y parvenir, deux approches ont été développées et mises au point lors de ce travail de fin d'études.

IV.1. SURFACTANT ET BIOMASSE

IV.1.1. INTRODUCTION

Le présent chapitre sera consacré à la comparaison (durée) de deux types de culture utilisés lors de travail. Les rendements en biomasse et surfactant ainsi que les informations émanant de la littérature permettront d'établir les gammes de concentration à étudier lors des expérimentations. En outre une caractérisation gravimétrique de l'extrait surfactant, basée sur une méthode établie (section III.3.2), donnera la possibilité de tirer certaines conclusion quant à l'influence des conditions de culture sur la composition de ce surfactant.

IV.1.2. SUIVI DE PRODUCTION

Les expériences menées tout au long de ce travail ont requis l'utilisation de biomasse et de surfactant. Il fallait donc, au préalable, choisir une unité de mesure qui permettait une quantification de ces matières et qui resterait d'application pour toutes les expériences mises en œuvre.

Il a été décidé de travailler en grammes par litres (g/l). Une corrélation entre une méthode de mesure rapide (densité optique) et la mesure de biomasse (g/l) à donc été réalisée telle que décrite à la section III.2.3.7. De cette manière, il fut possible de connaître à tout moment la concentration en biomasse (ou en CFU) à partir d'une mesure rapide de DO. Les droites de corrélations établies se trouvent en annexes 3 et 4.

La biomasse et le surfactant requis pour la suite de ce travail ont été produits dans des dispositifs tels que décrits à la section III.2.3.

En cours de travail, face à la lenteur de la fermentationensemencée par préculture mise au point par FRANCOIS [2007] (section III.2.3.2./ii), une autre approche a été utilisée et mise au point : celle de la cultureensemencée par pied de cuve (section III.2.3.2./ii) qui consiste à réensemencer la culture suivante par 5 à 10% de la culture précédente. Des suivis de culture donc ont été réalisés (section III.2.3.8.) sur une culture inoculée par « préculture » ainsi que sur une culture inoculée par « pied de cuve ». Ils sont présentés à la figure 13.

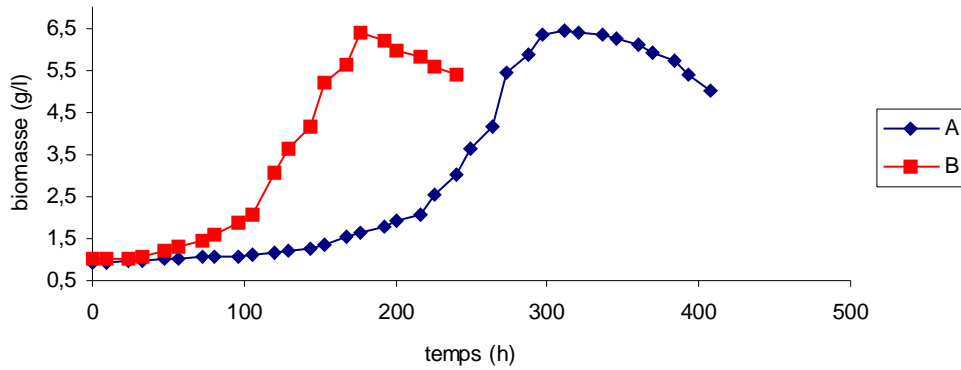


Figure 13 : Suivi de production ; (A) Ensemencement par une préculture ; (B) Ensemencement par pied de cuve.

La culture par « pied de cuve » se révèle beaucoup plus efficace que la précédente. Elle permet de faire passer la durée de fermentation de 15 à 8 jours et ce, pour des densités optiques finales identiques (DO = 10) et donc, pour des quantités de biomasses identiques.

KRETSCHMER *et al.* [1982], rapportent des temps de culture sur n-alcanes de 24 à 48 h pour arriver en fin de phase exponentielle de croissance. Ces temps de culture plus courts résultent de la plus grande facilité d’assimilation et de biodégradation des n-alcanes.

IV.1.3. RENDEMENTS DE PRODUCTION

En fin de fermentation, la biomasse et le surfactant sont récoltés (section III.3.). Le tableau 5 ci-dessous présente les quantités de biomasse et de surfactant retirées de 10 fermentations ayant été suivies.

Tableau 5 : Rendement en biomasse et en surfactant de dix productions.

production	volume (l)	biomasse produite (g/l)	surfactant produit (g/l)
1	5,00	0,82	0,06
2	5,00	1,72	0,05
3	5,00	1,12	0,42
4	10,00	1,02	0,56
5	5,00	3,36	0,96
6	10,00	1,17	/
7	5,00	6,43	/
8	10,00	4,00	0,97
9	10,00	6,37	1,04
10	5,00	5,26	1,21

Ce tableau montre que, bien que les rendements soient fort variables, le dispositif mis en place permet d'atteindre, dans certains cas, des concentrations en biomasse et en surfactant respectivement de l'ordre de 6 à 7 g/l et de 0,5 à 1 g/l.

En outre il a été montré lors de précédents travaux qu'en système biphasique (huile de silicone), il était possible d'atteindre des concentrations en biomasse de l'ordre de 12 g/l [ALDRIC, 2003]. En revanche, aucune information, dans la littérature, ne donne une valeur de la quantité de surfactant qui peut être produite dans de tels systèmes. Par contre, en culture sur n-alcanes en milieu très alcalin, LANG et PHILP [1998] rapportent des rendement en surfactant de 2 g/l. Ces valeurs sont cependant à prendre avec prudence car la valeur du pH induit des changements de productivité (KITAMOTO *et al.*, [2002]), de plus le substrat est très différent. En se basant sur les articles de RAPP *et al.* [1979] et de DEZIEL *et al.* [1999] (section I.5.3), il est permis de penser que les quantités de surfactants produites en milieu monophasique et biphasiques sont similaires (voire plus importantes en milieu monophasique car la micellisation du polluant est indispensable à son assimilation, ce qui n'est pas le cas en milieu biphasique).

En tenant compte de ces résultats et de ces informations, des gammes de concentration en biomasse et en surfactant dans lesquelles les expériences ultérieures seront réalisées ont été établies. Elles iront respectivement de 0 à 12 g/l et de 0 à 2 g/l ; les maxima correspondant aux concentrations vraisemblablement retrouvées dans un TPPB en fonctionnement.

L'intérêt de réaliser les expériences des chapitre suivants séparément sur de la biomasse et du surfactant, et non sur du milieu complexe directement, résidera donc dans le fait de se soustraire à la variabilité de composition du milieu complexe (tableau 5). De plus, il sera également possible de comparer les résultats obtenus à la littérature, où les expériences sont menées soit sur du surfactant, soit sur de la biomasse. Bien entendu, l'action conjointe de la biomasse et du surfactant sera aussi évaluée afin de se rapprocher le plus possible des conditions d'utilisation d'un TPPB.

IV.1.4. CARACTERISATION GRAVIMETRIQUE DU SURFACTANT

Le surfactant extrait à été caractérisé succinctement tel que décrit à la section III.3.2. Il est d'ores et déjà important de préciser que l'on entend ici par surfactant, un ensemble de composés différents que l'on retrouve à l'interface entre une phase polaire et apolaire, et non une molécule unique possédant des propriétés tensioactives aux interfaces.

L'étude de Schmid *et al.* [1998] décrivait l'extrait surfactant d'une culture de *Pseudomonas oleovorans* comme étant constitué d'un mixte d'excrétions cellulaires de surfactants spécifiques et de lysats cellulaires causés par l'effet toxique des solvants organique.

Le tableau 6 donne les proportions des différentes fractions identifiées à partir de l'extrait surfactant brut d'une culture de *Rhodococcus erythropolis*.

Tableau 6: Composition du surfactant selon ses différents constituants.

	Surfactant brut	Résidus après extraction	Fraction 1*	Fraction 2*	Fraction 3*	Fraction 4*	Fraction 5*	Hexoses	Protéines	Total
Production 1	100%	64,71%	0,52%	1,00%	0,92%	2,36%	25,71%	0,64%	1,01%	96,87%
Production 2	100%	56,83%	1,04%	1,70%	1,04%	2,26%	26,48%	0,63%	1,00%	90,98%
Production 3	100%	55,69%	0,65%	0,44%	0,58%	3,05%	25,02%	0,62%	1,02%	87,07%
Production 4	100%	63,36%	0,83%	0,97%	0,80%	2,92%	24,34%	0,71%	0,95%	94,88%
Production 5	100%	58,34%	0,98%	0,58%	0,71%	2,25%	28,66%	0,66%	0,91%	93,09%
Moyenne	100,00%	59,79%	0,80%	0,94%	0,81%	2,57%	26,04%	0,65%	0,98%	92,58%
Ecart-type	0,00%	4,02%	0,22%	0,49%	0,18%	0,39%	1,67%	0,04%	0,05%	3,77%

*Les fractions 1 à 5 ont été obtenues en éluant du surfactant brut par des solvants de polarité croissante sur une colonne en silice (section III.3.2.2.).

Ce tableau montre que l'on retrouve trois fractions de manière prédominantes :

- Les résidus après extraction, autrement dit ce qu'il reste en tête de colonne (section III.3.2.2./i) après élution des différents solvants et soustraction des quantités de protéines et d'hexoses qui y étaient également situées. Ces résidus sont vraisemblablement constitués de débris cellulaires.
- Les fraction 4 et 5, constituées de lipides polaires (Alcools gras, Posphatidyléthanolamine, Acides phosphatidiques,...).

Les autres fractions se retrouvent en quantité beaucoup moins importante. La fraction 1 est composée d'alcane (C15 à C25), la fraction 2 d'alcènes (C9 à C44) et d'intermédiaires de dégradation de l'IPB, la fraction 3, quant à elle, est composée de mono, di et triglycérides constitués d'acides gras de C14 à C18 (saturés et insaturés). Ces molécules ont pu être identifiées par des techniques chromatographiques (GC-FID, GC-MS, CCM).

Les protéines et les hexoses (tréhalose) sont également présent en plus faible quantité. Les droites de calibration obtenues pour le dosage colorimétrique des hexoses et des protéines sont disponibles en annexes 1 et 2.

Ces résultats semblent confirmer ceux présentés par KUYUMINA [2001], du moins qualitativement. Par contre, si l'on s'attarde aux proportions relatives des différents constituants, on remarquera que la quantité de lipides polaires (fractions 4 et 5) est beaucoup plus importante lors de la culture sur IPB que sur n-hexadécane tandis que la tendance inverse est constatée pour la fraction 3 constituée de lipides non-polaires (section I.5.3). Cela est probablement dû à la solubilité extrêmement faible de l'IPB qui nécessite de ce fait, une production accrue de tensioactifs pour que la bactérie puisse le solubiliser et l'assimiler sous forme de micelles.

Ces quelques informations permettent d'étayer la thèse selon laquelle la composition du surfactant varie en fonction des conditions de culture [RAPP *et al.*, 1979 ; GUTIÉRREZ *et al.*, 1999 ; KITAMOTO *et al.*, 2002].

IV.2. EXTRAPOLATION DU SYSTÈME : APPROCHE ORIGINALE

IV.2.1. INTRODUCTION

Le réacteur biphasique (milieu 284 – huile de silicone 10%) développé au sein du laboratoire a montré un réel intérêt au cours des expérimentations réalisées dans des travaux antérieurs. Toutefois, il est utile de prouver que l'application du même procédé à une échelle supérieure n'engendre pas de complications.

La problématique susceptible d'être rencontrée à grande échelle est la mauvaise homogénéisation entre la phase aqueuse et la phase « huile de silicone » (colorée en rouge), ce qui aurait un impact direct sur le transfert de masse de l'oxygène et du polluant. En effet, en milieu biphasique simple (eau + huile), l'huile de silicone se sépare (« décante ») relativement facilement dès que l'agitation est arrêtée ou modérée (figure 14). Par contre, une évolution positive de l'homogénéité du réacteur a pu être observée empiriquement au cours de l'évolution du système.

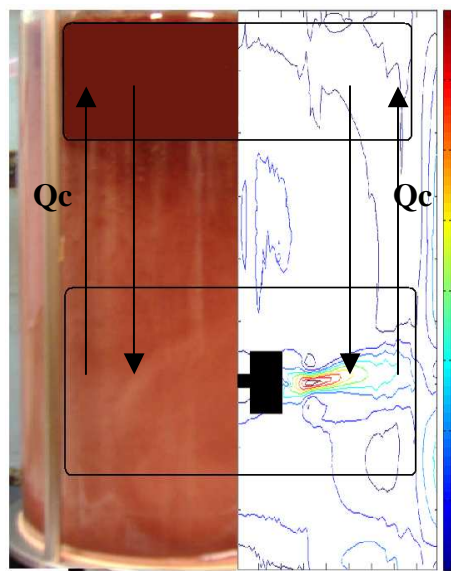


Figure 14 : Visualisation du caractère inhomogène d'un milieu biphasique sous agitation modérée – en ordonnée : les gradients de vitesses se rapportant à la partie droite de la figure. Avec l'autorisation de F. DELVIGNE.

Dans un réacteur de plus grand volume, des gradients de cisaillement peuvent être observés (figure 14). Cela peut entraîner une remontée de la phase huile tel que décrit ci-dessus.

La viabilité d'un tel système à grande échelle se base donc sur l'hypothèse selon laquelle la présence de biomasse et de surfactant permettrait aux propriétés interfaciales du système d'évoluer suffisamment pour que le passage à une échelle supérieure soit envisageable dans des conditions hydrodynamiques acceptables, notamment en terme de coût d'exploitation.

Dans l'optique de vérifier cette hypothèse, une approche développée par Delvigne (2006) a été adaptée au procédé biphasique étudié.

IV.2.2. DESCRIPTION DU SYSTEME MIS AU POINT

L'approche consiste à assimiler les conditions hydrodynamiques d'un système « scale-down » (figure 15) à celles d'un réacteur agité d'une plus grande taille.

Le système « scale-down » est constitué de deux modules :

- Un module « parfaitement agité » (1) constitué du réacteur Biolafitte de 4,5 l de volume utile (section III.4.1) agité à 900 rpm.
- Un module de « séparation » de l'huile de silicone (2) constitué d'une colonne en verre non agitée.

Une pompe péristaltique (3) assure un débit de circulation fixé (Q_c) entre les deux modules afin de rendre le système similaire à un réacteur agité d'un plus grand volume. Le milieu biphasique est repompé 15 cm sous la surface dans module de « séparation » et renvoyé dans le module « parfaitement agité » pour fermer le circuit. La « décantation » de l'huile dans le module de « séparation » est enregistrée à l'aide d'une caméra numérique (4).

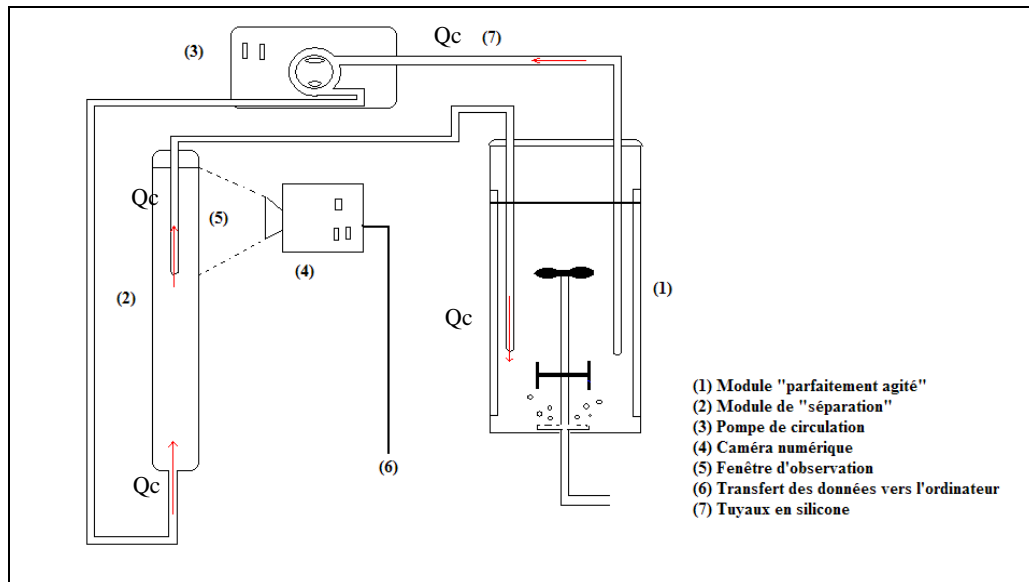


Figure 15 : Dispositif « scale-down » élaboré lors de l'étude.

La méthodologie mise au point devrait permettre d'évaluer l'influence de trois facteurs sur les conditions hydrodynamiques du système en vue d'évaluer la faisabilité d'une extrapolation à une échelle plus grande. Ces trois facteurs sont les suivants :

- La concentration en biomasse (*Rhodococcus erythropolis*)
- La concentration en surfactant produit par *Rhodococcus erythropolis*
- L'action conjointe du surfactant et de la biomasse

IV.2.3. PRINCIPE

Pour évaluer l'impact des facteurs précités sur les conditions hydrodynamiques d'un système de plus grande taille (et donc sur la stabilité de l'émulsion qui le constitue), une

grandeur sera étudiée, il s'agit de la vitesse de « décantation » de l'huile dans le module de « séparation » ; autrement dit, l'évolution du front de décantation au sein de la fenêtre d'observation choisie, au cours du temps. Plus l'huile « décantera » rapidement et moins le système sera intéressant, car il sera hétérogène ce qui a pour conséquence d'affecter le transfert de masse (l'étape limitante de ce type de procédés). A l'inverse, un système dans lequel la vitesse de « décantation » est faible est un système dans lequel il n'y aura qu'une séparation des phases limitées, garantissant son homogénéité et un fonctionnement optimum.

Afin de répondre à cet objectif, l'huile de silicone utilisée lors des expériences sera colorée en rouge (0,4 g de rouge Soudan dans 500 ml d'huile). L'intérêt de ce colorant réside dans le fait qu'il se solubilise entièrement en phase apolaire et pas du tout en phase aqueuse. De plus, il n'induit pas de modification des propriétés interfaciales de l'huile (annexes 5) comme peut l'attester le tableau 7.

Tableau 7 : Tensions interfaciales obtenues au TVT lauda : (A) entre de l'eau milliQ et de l'huile de silicone ; (B) entre de l'eau milliQ et de l'huile de silicone contenant du rouge soudan (0,8 g/l).

	A	B
Tension interfaciale (σ)	38,08 \pm 0,01 mN/m	38,09 \pm 0,01 mN/m

Le dispositif décrit à la figure 15 est rempli avec 5 l de milieu biphasique (huile colorée). Ensuite, le module « parfaitement agité » constitué du réacteur biolafite de 4,5 l est agité à une vitesse de 900 rpm et aéré jusqu'à saturation en O₂. L'aération sera ensuite arrêtée et la pompe péristaltique enclenchée, ce qui permettra de faire entrer de la solution émulsionnée dans le module de « séparation ». La décantation de l'huile de silicone dans la fenêtre d'observation choisie sera filmée par une caméra numérique permettant de prendre quinze images à la seconde. Les données numériques récoltées seront analysées à l'aide du logiciel MATLAB (MATrix LABoratory ; mathwork 1984-1991)

Il est possible de s'interroger quant à l'intérêt de l'analyse d'image pour étudier une simple décantation. La figure 16 permet d'apporter quelques éléments de réponse. Tout d'abord, sans coloration de l'huile, il est impossible de distinguer le front de séparation (A). Ensuite, si la séparation semble nette pour le milieu biphasique coloré sans ajout de biomasse ou de surfactant (B), ce n'est plus le cas lors de l'ajout d'un de ces deux composants, comme peut l'attester la fenêtre (C).

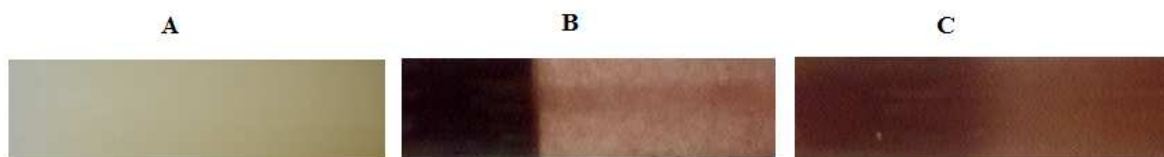


Figure 16 : Photographie de la fenêtre d'observation (format horizontal) utilisée lors des expérimentations : (A) cas du milieu biphasique sans colorant contenant 2 g/l de biomasse ; (B) cas du milieu coloré « blanc » ; (C) cas du milieu coloré contenant 2 g/l de biomasse.

L'analyse d'image, en repérant chacun des pixels de couleur rouge, se révèle donc être un outil de choix (et beaucoup plus objectif que ne pourrait l'être l'opérateur) pour évaluer l'évolution d'un front de séparation.

IV.2.4. ANALYSE DES DONNEES PAR MATLAB

Chacun des films réalisés sera exporté vers le logiciel MATLAB où des feuilles de programmations mises au point lors de ce travail de fin d'étude vont permettre de traiter et d'analyser les résultats. Ces feuilles (annexes 6.1), vont représenter la vitesse de décantation dans la fenêtre d'observation (grandeur étudiée) sous forme d'une droite, dont la pente servira de base de comparaison entre les différentes expériences.

IV.2.4.1. VITESSE DE DÉCANTATION

Le premier programme va permettre d'extraire vingt photographies à partir du film. Pour ce faire, une zone d'entrée de paramètres va permettre à l'utilisateur de sélectionner un intervalle d'analyse ainsi qu'une fréquence d'extraction des images. L'intérêt de pouvoir choisir un intervalle d'analyse est d'éviter la sélection de photographies du début (huile résiduelles dans les tuyaux) et de la fin (zone de pompage) du film (figure 17). Dans ces zones, la vitesse de décantation n'est pas linéaire.

A la fin du lancement de ce PROGRAMME 1, une fenêtre va s'ouvrir et afficher une image sur deux parmi celles qui ont été sélectionnées (figure 17).

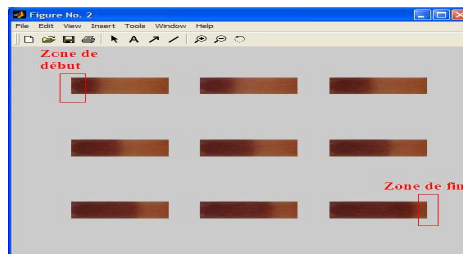


Figure 17 : Fenêtre affichée à la fin du programme 1 - cas de 2g/l de biomasse.

Le PROGRAMME 2 va permettre de donner un profil d'intensité des pixels (moyenne sur la largeur) sur toute la longueur des images sélectionnées et corrigées (figure 17). Afin de faire correspondre la surface sous la courbe obtenue avec la fraction « huile de silicone », les intensités de couleurs ont été inversées pour chacune des images analysées (figure 18).

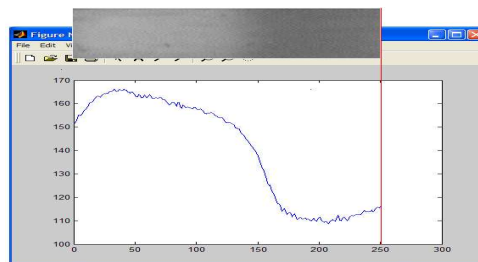


Figure 18 : Profil d'intensité d'une photographie - cas de 2 g/l de biomasse – en abscisse la longueur du profil d'observation (pixel) et en ordonnée l'intensité lumineuse du canal rouge.

Lorsque le PROGRAMME 2 est lancé, une fenêtre va apparaître. Elle représentera sur un même graphique les profils des 20 photographies servant de base à l'analyse d'image (figure 19). L'intégration de chacune des courbe (aire) représente la quantité d'huile « décantée ».

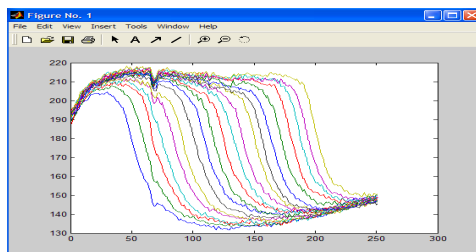


Figure 19 : Fenêtre affichée à la fin du programme 2 - cas de 0,05 g/l de surfactant - en abscisse la longueur du profil d'observation (pixel) et en ordonnée l'intensité lumineuse du canal rouge.

La troisième feuille de programmation va permettre d'intégrer l'aire sous chaque profil et représenter chacune des aires dans un graphique aire sous la courbe (pixels x 10^4) – temps (s) (figure 20).

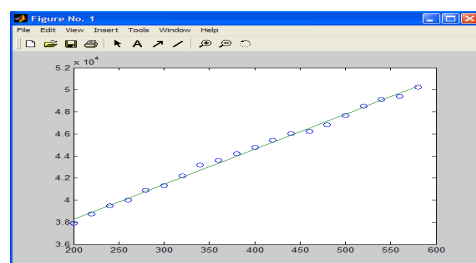


Figure 20 : Fenêtre affichée à la fin du programme 3 - cas de 0,05 g/l de surfactant – en abscisse la longueur en du profil d'observation (pixel x 10^4) et en ordonnée le temps (s).

Une droite de régression est établie sur les vingt points. La pente de cette droite va apparaître sur l'interface MATLAB. C'est ce paramètre qui rendra compte de la vitesse de « décantation » de l'huile et qui servira de base de comparaison entre les différents films réalisés.

IV.2.4.2. CORRECTION DE LA VARIATION DE VOLUME

Il a été constaté qu'aussi bien la biomasse que le surfactant permettait à une partie de la phase aqueuse de rester prisonnière de la phase organique décantée (modification des propriétés interfaciales). De plus, il est également possible qu'une partie du surfactant ou de la biomasse se retrouve dans la phase organique décantée (section I.4.5.5., [WATKINSON *et al.*, 1990]).

La conséquence de cela est une augmentation apparente du volume de phase apolaire, modifiant, de ce fait, la vitesse de séparation des deux phases.

Pour remédier à cela et éviter les erreurs dans l'interprétation des résultats, un autre programme a été mis au point dans le but d'évaluer l'impact des facteurs précités sur les intensités de couleur des phases décantées et non-décantées (émulsionnées). Partant du

principe que la phase « décantée » est « rouge », le programme va déterminer l'intensité de cette couleur dans les phases séparées et émulsionnées, repérant ainsi toute modification de volume de la phase « décantée » par une modification d'intensité de couleur (figure 16).

Pour chaque phase, trois fenêtres d'observation sont sélectionnées et une moyenne des intensités de rouge est réalisée. Le rapport des valeurs obtenues pour les deux phases servira de base de comparaison entre les différentes concentrations testées.

IV.2.5. EXPERIMENTATIONS

Les impacts de la biomasse, du surfactant, et de l'action conjointe des deux sur la dispersion du système ont été évalués par les méthodes décrites dans ce chapitre. Pour chaque concentration étudiée les expériences ont été réalisées à trois débits de circulation différents (Q_C), réglés sur la pompe péristaltique (respectivement 7,0 ; 4,2 et 1,3 volume du réacteur/heure : C_R/h). Ces débits, du plus rapide au moins rapide, vont offrir à chaque fraction d'émulsion entrant dans le module de « séparation » un temps de décantation inversement proportionnel au débit. Ainsi, au débit de circulation le plus faible, le temps octroyé à la décantation d'une fraction entrante sera le plus grand, simulant de ce fait un bioréacteur de plus grande taille. L'influence des paramètres précités sur les conditions hydrodynamiques de trois bioréacteurs, du plus petit au plus grand, pourra de cette manière être évaluée.

Il subsiste cependant une dernière erreur. Les différents débits de circulation, simulant des tailles de réacteurs différentes, induisent des quantités d'intrant différentes. En effet, la quantité de phase émulsionnée entrant, au cours de la mesure, dans le module de « séparation » (et donc soumise à la décantation) sera plus importante dans le cas du débit 7,0 C_R/h que dans celui du débit 4,2 C_R/h ou 1,3 C_R/h .

Pour pallier ce phénomène, chaque pente de droite obtenue sera multipliée par un facteur correctif déterminé par le rapport : « Q_C 7,0 C_R/h » / « Q_C de la mesure ». De cette manière chaque temps de décantation obtenu pourra être comparé aux autres, sur une même base d'intrants.

Les gammes de concentration en biomasse et en surfactant qui seront testées ont été choisies en fonction des résultats obtenus à la section IV.1.3 ; respectivement de 0 à 12 g/l et de 0 à 2 g/l. Dans le but d'évaluer l'action conjointe de la biomasse et du surfactant sur la dispersion du système, deux solutions mixtes ont été préparées. La première contenant 0,5 g/l de biomasse et 0,7 g/l de surfactant, correspond aux concentrations optimales en terme de « k_{La} » (section I.V.3.). La deuxième étant constituée de 12 g/l de biomasse et de 2 g/l de surfactant, simule un réacteur biphasique en conditions supposées de fonctionnement (section I.V.1.3.).

IV.2.6. RESULTATS

Les résultats des différentes expérimentations, obtenus par la méthode développée lors de ce travail (section IV.2.4.), sont fournis de manière synthétique dans les figures 21 à 24 ci-dessous.

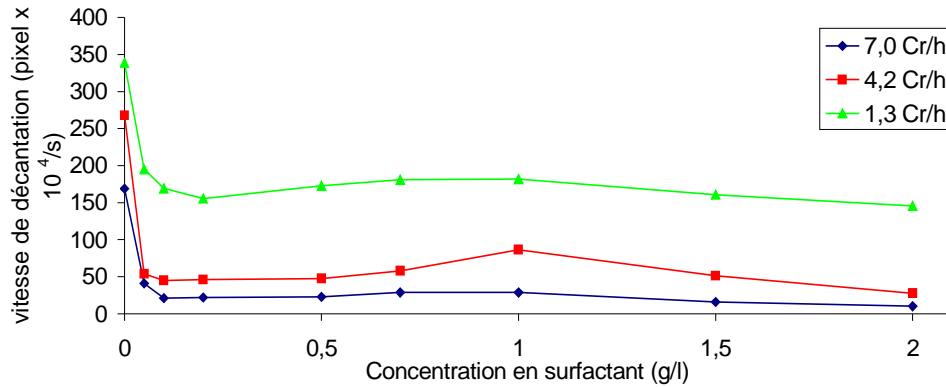


Figure 21 : Evolution de la vitesse de décantation en fonction de la concentration en surfactant dans le TPPB, pour trois débits de circulation.

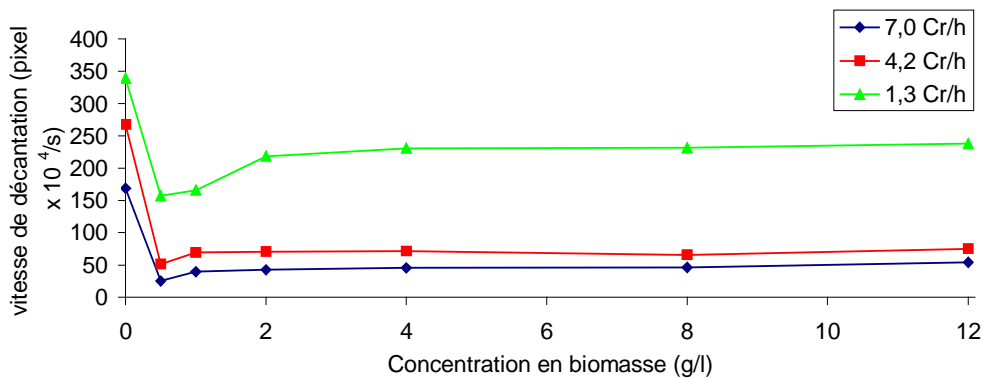


Figure 22 : Evolution de la vitesse de décantation en fonction de la concentration en biomasse dans le TPPB, pour trois débits de circulation.

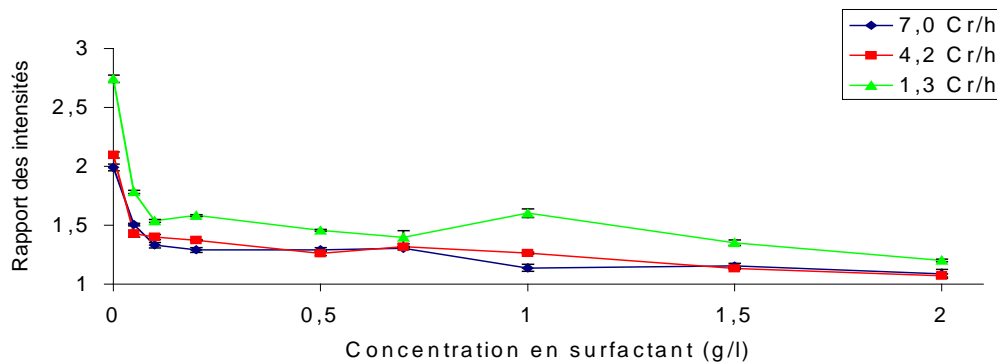


Figure 23* : Rapport des intensités de rouge des phases décantées et non-décantées en fonction de la concentration en surfactant dans le TPPB, pour trois débits de circulation.

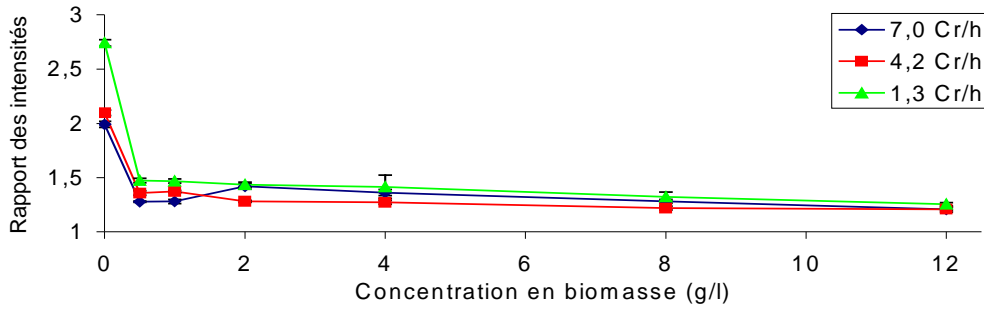


Figure 24* : Rapport des intensités de rouge des phases décantées et non-décantées en fonction de la concentration en biomasse dans le TPPB, pour trois débits de circulation.

*Les graphiques ayant permis l'obtention des figures 23 et 24 sont présentés en annexes 7.

Ces quatre figures permettent de tirer quelques enseignements. Tout d'abord l'hypothèse de départ est, selon toute vraisemblance, vérifiée. Il semble évident que la présence de biomasse et de surfactant permet aux propriétés interfaciales du système d'évoluer suffisamment pour induire une stabilisation de l'émulsion. Cela étant dit, le surfactant se révèle être plus efficace que la biomasse pour chaque débit de circulation testé, comme le met en évidence le tableau 8.

Tableau 8 : Valeur de la vitesse de décantation de l'huile dans la zone où cette vitesse est stabilisée.

Débit de circulation	Vitesse de décantation (pixel x 10 ⁴ /s) dans la zone stable	
	Surfactant	biomasse
7,0 C _R /h	~ 25	~ 50
4,2 C _R /h	~ 50	~ 75
1,3 C _R /h	~ 100	~ 220

On remarque également que, passé les concentrations de 0,2 g/l de surfactant et de 2 g/l de biomasse, un ajout additionnel de ces éléments n'induit plus de grande variation de la stabilisation (donc de la vitesse). Il faut cependant rester prudent quant à l'interprétation des figures 21 et 22. En effet, les figures 23 et 24 indiquent clairement que des concentrations croissantes en biomasse ou en surfactant induisent une meilleure dispersion de l'huile en phase aqueuse, mais surtout une incorporation de milieu 284 et de biomasse aux phases décantées, confirmant les études menées par MANIGAT [2008], WATKINSON *et al.* [1990] et MACLEOD *et al.* [2005] (section I.4.5.5), et générant de ce fait une variation de volume (section IV.2.4.2.). La stabilisation observée est donc sous-évaluée (la valeur de la pente de la droite diminue encore). En réalité l'ajout de concentrations plus importantes de l'un de ces deux composés permettra une stabilisation accrue du milieu mais dans des proportions moindres que celle constatée lors de l'adjonction de plus faibles quantités.

En s'attardant un peu plus à la figure 22, on remarque que les courbes qui y sont représentées (contrairement à la figure 21), présentent un minimum à la concentration en biomasse de 0,5 g/l, traduisant une stabilisation maximale en ce point. Pour les valeurs supérieures, la légère

diminution de la stabilité du mélange pourrait s'expliquer par une coalescence plus importante des gouttelettes d'huile induite par la présence de biomasse en phase organique (WATKINSON *et al.* [1990] ; section I.4.5.5.).

Les valeurs de vitesse de décantation des suspensions mixtes en surfactant et biomasse sont indiquées à la figure 25. Les solutions simples de même concentration y sont également présentées pour permettre une comparaison plus aisée.

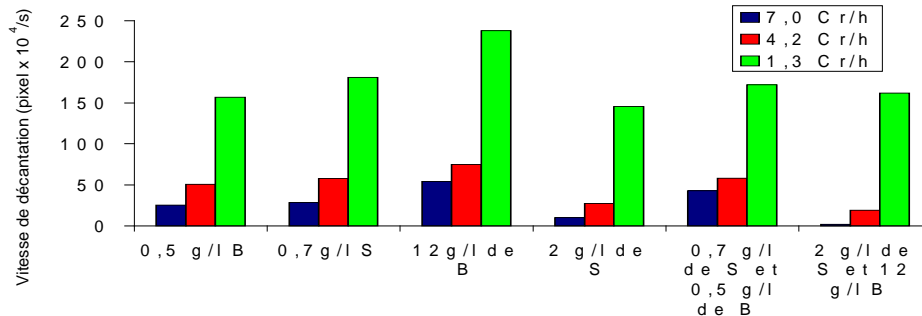


Figure 25: Valeurs de vitesse de décantation obtenues pour différentes compositions de milieu – S étant le surfactant et B, la biomasse.

A la lumière des figures 21 et 22, on remarque que les différents cas présentés à la figure 25 se situent tous dans la même gamme de vitesse de décantation (de stabilisation). Le milieu mixte n'induit donc pas de très grand changement de stabilité de l'émulsion. Il existe cependant certaines différences entre les suspensions simples et mixtes.

Ainsi, l'action combinée de 12 g/l de biomasse et de 2 g/l de surfactant induit une stabilité d'émulsion plus importante que celle générée par une suspension contenant 12 g/l de biomasse seule. Cela met de nouveau en évidence une plus grande influence du surfactant sur la stabilité de l'émulsion d'un milieu mixte.

La solution mixte à 0,7 g/l de surfactant et 0,5 g/l de biomasse présente quant à elle un profil similaire à celui des solutions simples dont elle est issue.

IV.3. LE TRANSFERT DE MASSE (G-L) EN SYSTÈME BIPHASIQUE

IV.3.1. INTRODUCTION

Dans le cadre du traitement d'effluents gazeux, le transfert de masse pourrait être l'étape limitante de ce procédé de traitement. Il est donc d'une importance capitale de comprendre les mécanismes qui le régissent. HSIEH *et al.*, [2000] rapportent que le coefficient de transfert des composés aromatiques fortement volatils peut être estimé sur base du coefficient de transfert de l'oxygène dans les mêmes conditions (relation de proportionnalité). Cette relation a été vérifiée pour l'IPB [ALDRIC *et al.*, 2008]. Par conséquent, le transfert de masse de l'oxygène sera pris comme modèle dans ce travail. Cela étant dit, les enseignements qui en seront tirés pourront se généraliser au transfert de masse du polluant.

Il n'existe que très peu de bibliographie sur le transfert en milieu biphasique. Généralement, la littérature est limitée aux systèmes biphasique soustraits à toute présence de biomasse et de surfactant. De plus, aucune approche satisfaisante permettant d'évaluer l'impact de des microorganismes et des surfactants sur les composantes du « k_{La} » en milieu biphasique n'est référencée dans la littérature. L'objectif des deux chapitres suivants sera donc de proposer cette approche afin de comprendre au mieux les mécanismes impliqués dans le transfert, de situer les résultats obtenus dans une littérature fournie en éléments contradictoires et d'identifier les mécanismes impliqués dans le transfert en milieu monophasique qui pourraient l'être également en systèmes biphasiques.

Dans le présent chapitre, afin de déterminer l'impact de la concentration en biomasse et surfactant sur le transfert de masse, des mesures de « k_{La} » et de rétention gazeuse seront réalisées en milieu biphasique, pour des concentrations croissantes en biomasse ou en surfactant ainsi que pour des mélanges mixtes de biomasse et de surfactant.

IV.3.2. LA DETERMINATION DU « k_{La} » (SECTION III.4.)

Les mesures ont été réalisées en utilisant la méthode du gazing in – gazing out [BANDYOPOUDHYAY *et al.*, 1967] tel que décrit à la section III.4.4. Le « k_{La} » se détermine à partir de la formule suivante :

$$\frac{dC_L}{dt} = k_{La} \times (C_L^0 - C_L)$$

IV.3.3. LE TEMPS DE REPONSE DE LA SONDE A PO_2

Préalablement à toute mesure de « k_{La} », il est nécessaire de vérifier le temps de réponse de la sonde. Le temps de réponse est défini comme étant le temps nécessaire à l'électrode pour mesurer 63% de la valeur globale d'un changement de concentration en oxygène. Il est fonction de la diffusion de l'oxygène à travers la membrane de l'électrode. Pour que la mesure soit acceptable, il faut que la valeur du temps de réponse soit plus petite ou égale à $1/k_{La}$. Les temps de réponses de la sonde sont mesurés pour les différents milieux étudiés, comme décrit à la section III.4.5. Les résultats obtenus sont présentés à la figure 26.

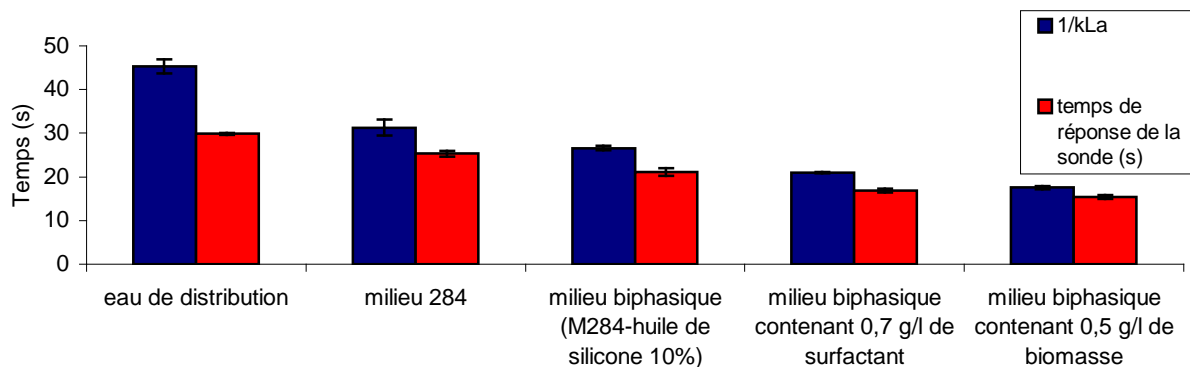


Figure 26 : Mesure des temps de réponse de la sonde dans différents milieux – les barres d'erreur représentent l'écart type autour de la moyenne (n = 5).

On remarque que le temps de réponse de la sonde est toujours inférieur à $1/k_L a$. Cette technique de travail consistant à utiliser une sonde est donc tout à fait appropriée aux mesures qui seront réalisées dans la suite de ce travail.

IV.3.4. DETERMINATION DU TAUX DE RETENTION GAZEUSE

La rétention gazeuse est définie comme étant le volume de phase gazeuse retenu par unité de volume de phase liquide. Cette mesure est intéressante car ce paramètre, lié à l'aire interfaciale (section IV.4), influence la valeur prise par le « $k_L a$ ».

La rétention gazeuse au niveau du bioréacteur est estimée en mesurant la différence de hauteur de liquide avec et en l'absence d'aération (section III.5.)

IV.3.5. EXPERIMENTATIONS

Des mesures de « $k_L a$ » et de rétentions gazeuses ont été réalisées sur du milieu biphasique contenant des concentrations croissantes en biomasse ou en surfactant ; respectivement de 0 à 12 g/l et de 0 à 2 g/l (voir section IV.1.3.). Ces mêmes mesures seront également effectuées sur des suspensions mixtes contenant du surfactant ainsi que de la biomasse. Elles permettront d'estimer les interactions existant entre biomasse et surfactant ainsi que leur impact sur la rétention gazeuse et le transfert de masse. Dans ce but, quatre solutions mixtes ont été préparées. Leurs compositions sont données dans le tableau 9.

Tableau 9 : Composition des quatre solutions mixtes utilisées lors des expérimentations.

		surfactant	
		0,7 g/l	2 g/l
biomasse	0,5 g/l	solution 1	solution 3
	12 g/l	solution 2	solution 4

La solution 1 est une combinaison des concentrations optimales de surfactant et de biomasse en terme de transfert de masse et de rétention gazeuse (section IV.3.6.). La solution 4 représente la composition d'un réacteur biphasique en conditions supposées de fonctionnement (section IV.1.2.). Les solutions 2 et 3, quant à elles, sont des mélanges intermédiaires entre les solutions « extrêmes ». Elles ont été choisies pour des raisons évidentes de facilités.

IV.3.6. RESULTATS

Les courbes de réponse de « $k_L a$ » et de rétention gazeuse à l'adjonction de concentrations croissantes en surfactant et biomasse sont présentées dans les deux figures ci-dessous.

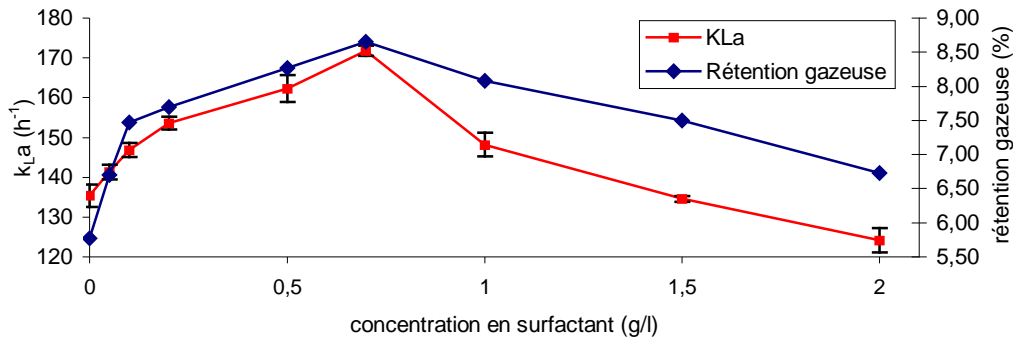


Figure 27 : Evolution du « k_{La} » et de la rétention gazeuse pour des concentrations croissantes en surfactant – les barres d'erreur représentent l'écart type autour de la moyenne (n = 5).

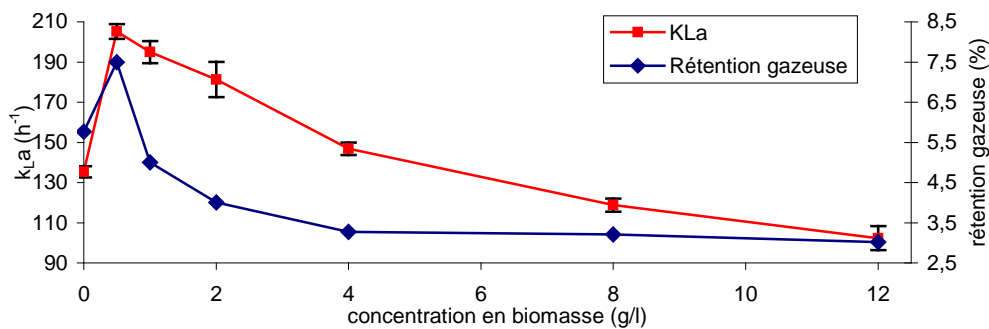


Figure 28 : Evolution du « k_{La} » et de la rétention gazeuse pour des concentrations croissantes en biomasse – les barres d'erreur représentent l'écart type autour de la moyenne (n = 5).

Les figures 27 et 28 mettent en évidence des similitudes de morphologie entre les courbes de « k_{La} » et de rétention gazeuse.

Dans la figure 27, relative au surfactant, les optimums des deux courbes se situent à 0,7 g/l tandis que les minima sont localisés à des concentrations différentes ; à 0 g/l pour la rétention gazeuse et à 2 g/l pour le « k_{La} ». Le coefficient volumétrique de transfert de masse, en présence de surfactant, présente un comportement similaire (augmentation pour les faibles concentrations puis diminution) en milieu biphasique à celui décrit en milieu monophasique par PAINMANAKUL *et al.* [2005] (section I.4.5.6.). La figure 28, liée à la biomasse, révèle quant à elle, pour les deux courbes, des optimums à 0,5 g/l et des minima à 12 g/l, traduisant un effet positif de la biomasse en faible concentration sur le « k_{La} ».

Sur les courbes relatives au « k_{La} », les minimums situés à 12 g/l de biomasse et 2 g/l de surfactant traduisent un impact négatif des fortes concentrations (dans la gamme testée) sur le transfert de masse. La généralisation de ces observations au cas d'un réacteur biphasique réel passe par une mesure de « k_{La} » dans des solutions mixtes (voir ci-après).

Les deux courbes représentées sur chaque graphique, présentent néanmoins des différences. La rétention gazeuse et le « k_{La} » n'évoluent pas dans les mêmes proportions dans la gamme de concentration en surfactant allant de 0,7 g/l à 2 g/l pour la figure 27 et dans la gamme de

0,5 g/l à 6 g/l de biomasse pour la figure 28. L'aire interfaciale étant liée, entre autres, à la rétention gazeuse, la différence observée entre les deux courbes pourrait peut-être s'expliquer par une variation du « k_L » [FYFERLING *et al.*, 2008].

Ces éléments de discussion, bien que forts intéressants, ne permettent pas d'aboutir à des conclusions quant aux mécanismes influençant le transfert de masse. La récolte d'informations supplémentaires se révèle donc être une nécessité (voir section IV.4.).

Les valeurs de « $k_L a$ » et de rétention gazeuse obtenues dans différents milieux sont présentées en synthèse dans les deux histogrammes ci-dessous.

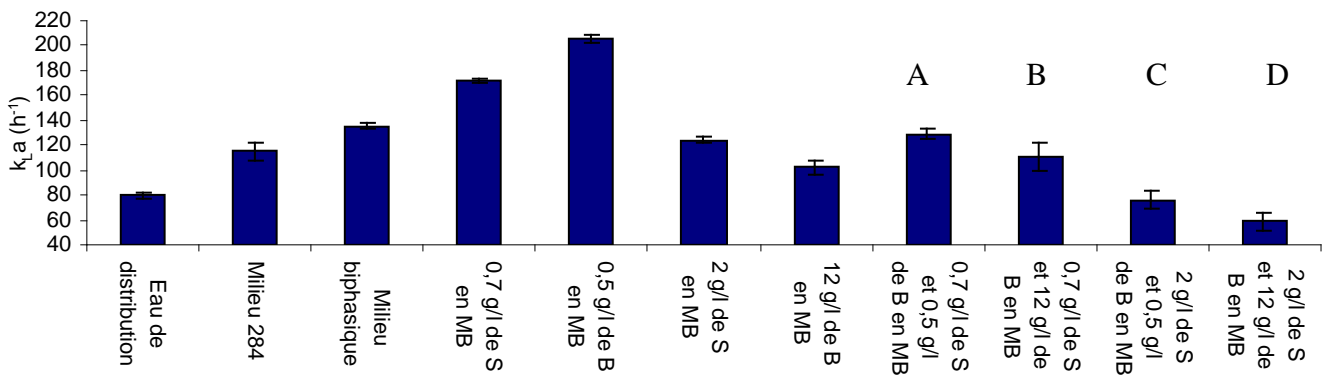


Figure 29 : Valeur de « $k_L a$ » dans différents milieux, avec S : Surfactant ; B : Biomasse ; MB : Milieu biphasique – les barres d'erreur représentent l'écart type autour de la moyenne (n = 5).

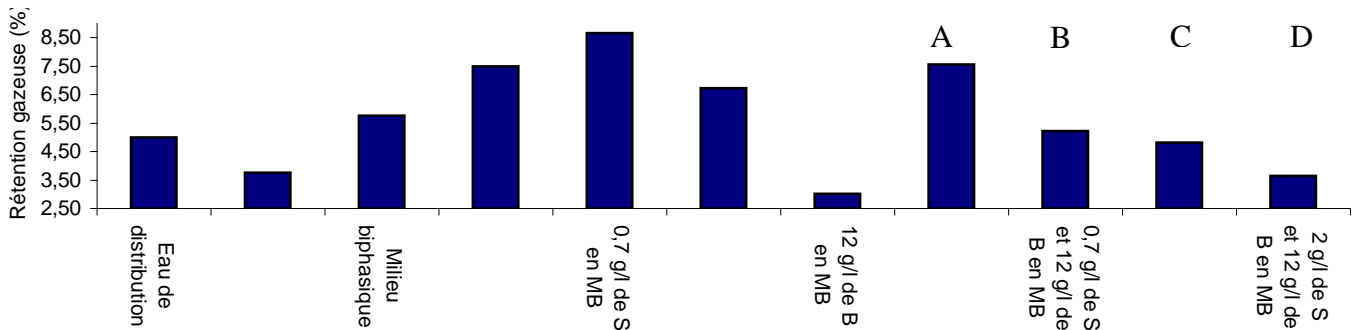


Figure 30 : Valeur de rétention gazeuse dans différents milieux, avec S : Surfactant ; B : Biomasse ; MB : Milieu biphasique.

La combinaison des figures 29 et 30 apporte d'autres éléments de discussion. Tout d'abord, par rapport à l'eau de distribution, la présence massive de sel (Milieu 284) induit une augmentation du « $k_L a$ » mais une diminution de la rétention gazeuse. L'impact du sel dans ces proportions se situerait donc, non pas au niveau de l'aire interfaciale, mais plutôt sur le « k_L », tel que relaté par THONART [2006] (section I.4.5.3.).

On constate également que l'adjonction d'huile de silicone à raison de 10% a un effet positif sur le coefficient global de transfert de masse. Cela est en contradiction avec l'étude de

DUMONT *et al.* [2006] (section I.4.4.1.3.) mais confirme les observations d'ALDRIC [2001]. Cet effet positif pourrait être dû à une action dynamique des gouttelettes d'huile à l'interface, créant des turbulences, et augmentant de ce fait le « k_L » [DUMONT et DELMAS, 2003]. L'effet navette pourrait aussi être impliqué (section I.4.4.1.2.2.).

On peut remarquer aussi qu'à certaines concentrations, la biomasse (0,5 g/l) et le surfactant (0,7 g/l) ont un effet positif sur le « k_{La} ». En milieu monophasique contenant de la biomasse, GALACTION *et al.* [2004] mettaient en évidence la tendance inverse, rapportant un effet toujours négatif de la biomasse sur le transfert de masse (I.4.5.5.). Le surfactant lui est généralement considéré dans la littérature, comme une barrière supplémentaire au transfert en milieu biphasique et désavantageux en tout point [BLOKKER *et al.*, 1957 ; Davies *et al.*, 1960 ; MUDGE *et al.*, 1970] (section I.4.5.6.). Les résultats obtenus ici, montrent qu'il n'en est rien pour certaines concentrations.

En observant ces deux même graphiques, il semble évident que l'action combinée de la biomasse et du surfactant (histogrammes A à D) ne permet jamais d'atteindre des « k_{La} » optimaux. AHIMOU [2000] et MUÑOZ *et al.* [2007] décrivaient certaines bactéries hydrophobes comme étant capable d'interagir avec la partie apolaire d'un surfactant pour développer une hydrophobicité de surface moindre (section I.5.4.). Cette propriété a été démontrée chez *Rhodococcus Erythropolis* (cultivée dans les mêmes conditions que lors de ce travail) par les résultats obtenus par MANIGAT [2008] ; la bactérie montre une diminution d'hydrophobicité à partir de l'ajout de 0,05 g de surfactant/g de biomasse. Il semble, ici, que ce soit à ce genre d'interaction que l'on ait affaire.

Au vu des résultats obtenus et des informations fournies par la littérature, il est possible d'émettre certaines hypothèses quant aux mécanismes impliqués dans le transfert dans de tels milieux. En supposant, dans les quatre mélanges mixtes, que la totalité du surfactant ne s'adsorbe pas à la biomasse (plausible vu les concentrations mises en jeu), que les effets supposés de turbulences générés par la biomasse sont limités aux concentration fort élevées, telle 12 g/l (confer sections I.4.5.5. et IV.4.), et que l'ajout de concentrations croissantes de surfactant induit une augmentation de l'aire interfaciale (sections I.4.5.6. et IV.4.), il est possible de fournir une explication aux histogrammes A à D :

- (A) Par rapport au cas de 0,7 g/l de surfactant seul, ici, une partie du surfactant s'adsorbe aux microorganismes réduisant leur hydrophobicité et donc leur capacité à stabiliser l'interface air/milieu et à interagir dynamiquement avec celui-ci. De plus la quantité résiduelle de surfactant (n'ayant pas été adsorbé) génère une aire interfaciale légèrement moindre que celle retrouvée à 0,7 g/l. Ces deux effets ont pour conséquence une diminution appréciable du « k_{La} ».

- (B) Par rapport au cas de 12 g/l de biomasse seule, la présence de surfactant résiduel augmente le « a ». Vu la faible concentration de surfactant mise en jeu, cela n'induit pas de diminution conséquente du « k_L » et le « $k_L a$ » s'en trouvera légèrement augmenté.
- (C) Par rapport au cas de 2 g/l de surfactant seul, on remarquera ici une inhibition de l'activité interfaciale des bactéries par adsorption d'une partie du surfactant. Le surfactant résiduel réduit la valeur de « a » (par rapport à une solution 2 g/l de surfactant), ce qui génère une réduction du « $k_L a$ ».
- (D) Par rapport au cas de 12 g/l de biomasse seule, le surfactant résiduel augmente le « a » mais, au vu des concentrations mises en jeu, ce surfactant pourrait également générer une barrière supplémentaire au transfert (en plus de celle de la biomasse). La conséquence étant une diminution de « $k_L a$ », confirmant, en outre, que le transfert de masse s'effectuera moins efficacement dans un réacteur en conditions supposées de fonctionnement.

Cela étant dit, ces explications ne sont basées que sur des hypothèses. La séparation du « $k_L a$ » en ses composantes principales « k_L » et « a » permettrait d'étayer ces suppositions. Une telle séparation passe par la mesure du diamètre des bulles.

A la lumière de la figure 29, il apparaît également qu'en conditions réelles, la croissance bactérienne et la production de surfactant qui l'accompagne ont un impact négatif sur le « $k_L a$ » à moyen terme. Au cours de la culture, le coefficient global de transfert de masse va donc surpasser celui du milieu biphasique seul, passer par un maximum qui est néanmoins inférieur à ceux présentés par les solutions simples en biomasse et surfactant, puis connaître une diminution qui lui fera prendre des valeurs très inférieures à celle du milieu biphasique seul et même à celles de l'eau de distribution. La diminution constatée est due à l'impact négatif des surfactants sur l'hydrophobicité de surface des microorganismes et l'augmentation de la résistance au transfert dû à l'accumulation de surfactants à l'interface. Cela confirme en outre les suppositions émises en regard des figures 27 et 28.

Le coefficient global de transfert de masse dans un réacteur biphasique en conditions supposées de fonctionnement ne semble donc pas très favorable. Il faut cependant rester prudent quant à cette interprétation. En effet si le « $k_L a$ » présente de faibles valeurs, le fait même d'ajouter une phase huile de silicone permet d'augmenter le potentiel de transfert « $(C_L^0 - C_L)$ » considérablement en augmentant le « C_L^0 ». Les transferts de masse de l'oxygène et du polluant (principalement) sont donc tout de même plus intéressants dans ce type de milieu que dans un réacteur monophasique.

De plus, en conditions réelles, la consommation microbienne d' O_2 permet de générer une différence de potentiel « $(C_L^0 - C_L)$ » plus importante au cours du temps en réduisant le « C_L », ce qui a pour effet d'augmenter le transfert. Cette consommation n'a pas lieu lors des mesures de « $k_L a$ », car la biomasse a été carencée (section III.4.2.).

IV.4. L'ANALYSE D'IMAGE POUR LA DÉTERMINATION DE LA TAILLE DES BULLES D'AIR

IV.4.1. INTRODUCTION

Le chapitre précédent a permis de tirer certaines conclusions et d'émettre quelques hypothèses quant aux mécanismes régissant le transfert de masse en milieu biphasique. Dans le but de confirmer ces hypothèses, de remédier aux carences constatées, et de proposer une analyse plus fine des résultats, la récolte de données supplémentaires apparaît comme une nécessité. La détermination du diamètre des bulles permettrait de répondre à cet objectif. Par conséquent et dans le but de pouvoir déterminer l'impact de la concentration en biomasse ou en surfactant sur la taille des bulles d'air dans un réacteur biphasique, l'approche proposée par BARIGOU et GREAVES [1990] a été adaptée. Ces auteurs proposaient de déterminer en temps réel la taille des bulles dans un réacteur par un système de succion et de détection à travers un capillaire. Cette approche a été transformée et mise au point de manière à proposer une méthode applicable au système biphasique.

IV.4.2. PRINCIPE

Du milieu biphasique aéré et agité dans un bioréacteur est aspiré à travers un capillaire de dimensions connues. Les bulles gazeuses possèdent un indice de réfraction de la lumière différent de celui du milieu biphasique. Le passage des bulles à travers le capillaire est enregistré à l'aide d'une caméra numérique. En admettant le fait que la forme d'une bulle dans un réacteur est sphérique et en mesurant la longueur (et donc le volume) des bulles dans le capillaire, il est possible de déterminer le diamètre et la surface qu'occuperait une sphère de même volume dans le réacteur. Pour l'interprétation des résultats, une hypothèse de travail est cependant émise : au vu de la faible contenance du réacteur et des conditions opératoires (section II.7.), il est tout à fait plausible d'admettre que la distribution de taille des bulles est identique en tout point du réacteur.

IV.4.3. DESCRIPTION DU SYSTEME

Un capillaire en verre dont les dimensions sont données à la figure 31 est plongé, côté tubulaire, 5 cm sous la surface de liquide d'un TPPB et à 2 cm du bord.

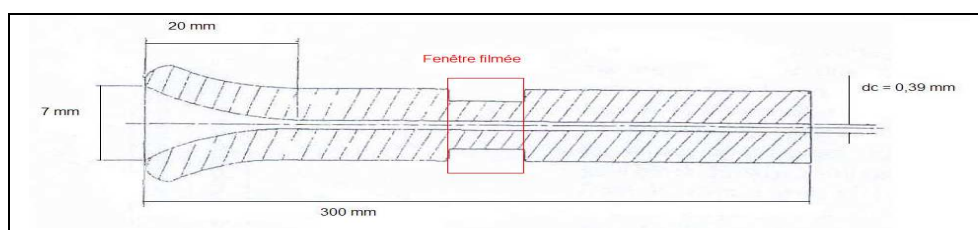


Figure 31 : Représentation schématique du capillaire à tubulure utilisé lors des mesures (adapté de BARIGOU et GREAVES [1990]).

L'autre extrémité du capillaire (2) est reliée à une pompe péristaltique (3) par un tuyau en silicone de 1 mm d'épaisseur. La pompe WATSON MARLOW est alimentée en courant continu par une alimentation HQ POWER 12V (4). La pompe est conçue pour fonctionner avec des tuyaux de faible diamètre. Cette caractéristique, ajoutée au fait que les quatre galets générant le pompage tournent à une fréquence élevée (200 rpm), permet de limiter les à-coups et de conserver un débit constant au cours du temps. L'autre extrémité de la pompe est reliée au bioréacteur (1), cinq centimètres sous la surface de liquide. Le débit est réglé grâce à l'alimentation de manière à ce qu'il soit suffisant pour éviter la coalescence des bulles dans la partie conique du tube (figure 31). Un débit de 2 l de milieu/heure est choisi. Un écran de diodes (10) est placé derrière la partie émergée du capillaire et une caméra ultra rapide (5) permet d'enregistrer 5000 images, sur une fenêtre d'observation de 1,2 cm de longueur (6) (figure 32).

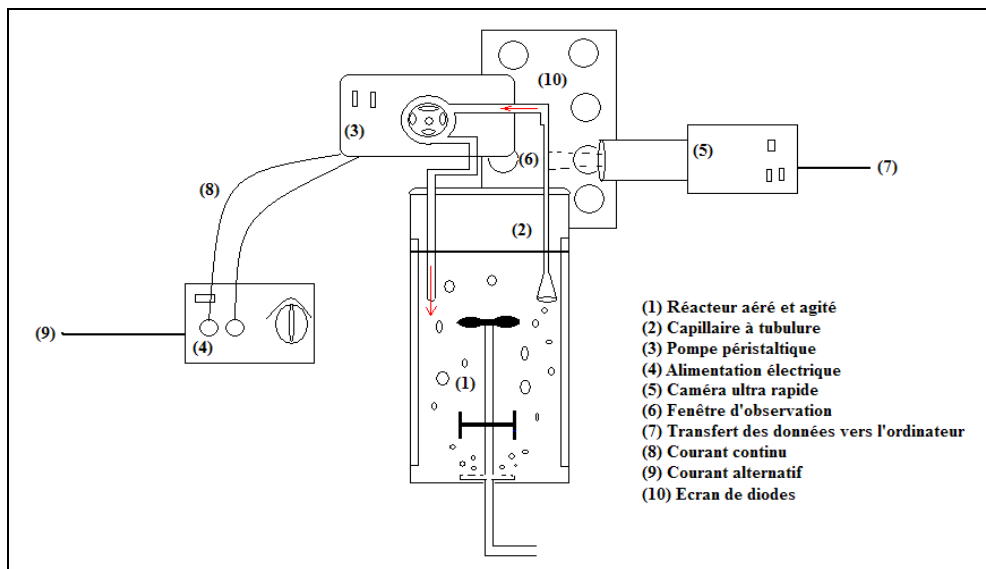


Figure 32 : Dispositif mis au point lors du travail pour mesurer le diamètre des bulles.

IV.4.4. RECOLTE DES DONNEES

Le réacteur est aéré et agité, la pompe péristaltique est mise en marche à un débit donné (2 l/h) et la caméra peut de ce fait enregistrer les images (section III.7.). Bien que filmant en noir et blanc, ce système permet néanmoins de distinguer nettement l'air de l'huile et du milieu de culture car les indices de réfractons de ces trois milieux sont différents (figure 33).

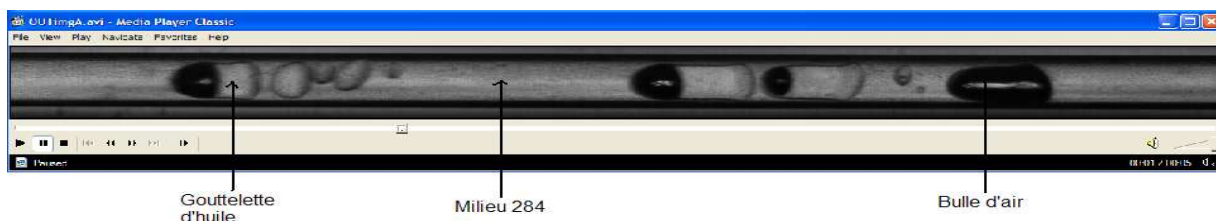


Figure 33 : Une image extraite d'un film – cas du blanc biphasique.

IV.4.5. ANALYSE DES DONNEES PAR MATLAB

Une fois le film de 5000 images réalisé, il est exporté vers le logiciel MATLAB où trois feuilles de programmations mises au point lors de ce travail de fin d'études (annexes 6) vont permettre de transformer ces données numériques en un signal puis une matrice de nombres. Les principes de l'analyse d'image sont décrits ci-après.

IV.4.5.1. RECONSTITUTION D'UN « FILM CONTINU ».

La première feuille de travail permet d'extraire les images à analyser sur le film. Une image sur cinq sera extraite, ce qui correspond au temps nécessaire pour qu'une bulle traverse la fenêtre d'enregistrement. De cette manière, une bulle ne sera prise en compte qu'une seule fois lors de l'analyse. Ces images mises « bout à bout » vont constituer la base de l'analyse d'image (figure 34).

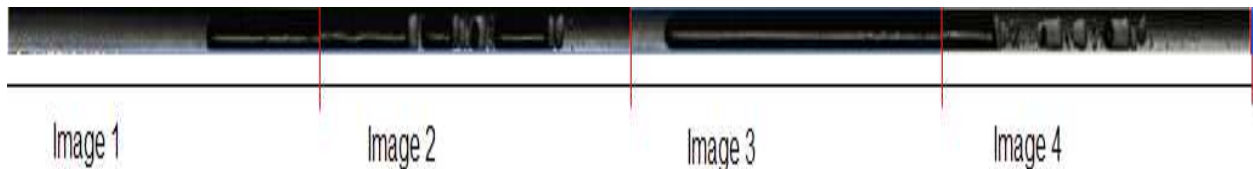


Figure 34 : Images sélectionnées et mises « bout à bout ».

Sur chaque image de cette grande « photographie reconstituée », un profil d'intensité de couleur va être réalisé sur toute la longueur (intensité moyenne de toute la largeur de la fenêtre pour chaque pixel de long). Chacune des images sélectionnées va ainsi être « scannée » et l'intensité lumineuse moyenne sur chaque épaisseur d'un pixel va pouvoir être portée sur un graphique (figure 35)

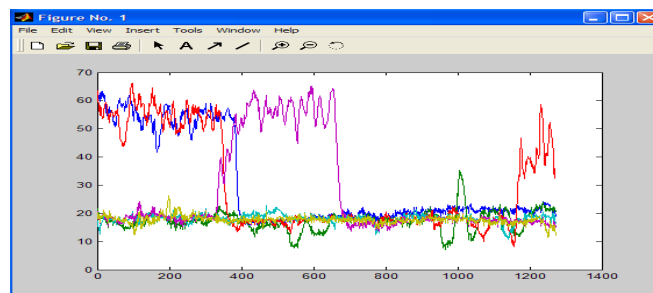


Figure 35 : Profil d'intensité lumineuse moyen de six images - en abscisse la longueur en pixels, en ordonnée l'intensité lumineuse moyenne du canal rouge.

Le signal n'est pas parfait et doit être retravaillé. L'intensité lumineuse moyenne peut varier en fonction de nombreux paramètres : l'angle que fait la caméra ou le mur de diodes avec le capillaire, la concentration de la biomasse ou du surfactant que l'on retrouve dans le milieu, etc. Une deuxième feuille de programmation a donc été mise au point.

IV.4.5.2. RECONSTITUTION D'UN SIGNAL BINAIRE POUR CHAQUE IMAGE

Cette deuxième feuille de programmation va permettre de reconstituer un signal binaire. Une zone d'entrée de paramètre permet à l'utilisateur de choisir une intensité lumineuse moyenne au-delà de laquelle le signal est considéré comme égal à 0. Cela correspond à la couleur « blanche » du milieu de culture. En dessous de cette limite, le signal sera considéré comme égal à 1, ce qui correspond au « noir » des bulles gazeuses. Sur la figure 35, la limite est établie à 30. Au-delà de cette limite, on considèrera que la phase est liquide et, à contrario, en dessous de cette limite, on admettra être en phase gazeuse. Un profil binaire d'une image est représenté à la figure 36. La longueur de chaque bulle sera égale à la longueur, en pixel, de chaque signal égal à 1 lui correspondant.

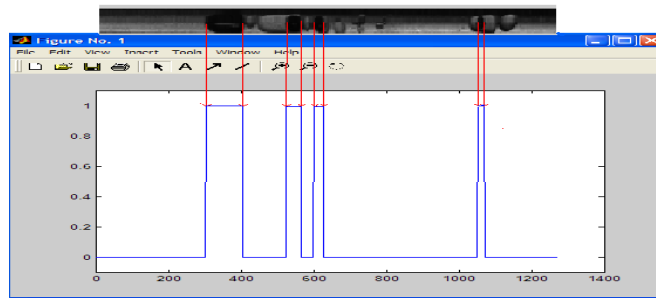


Figure 36 : Profil binaire d'une image (en abscisses la longueur en pixels).

IV.4.5.3. CONSTITUTION D'UN SIGNAL BINAIRE GLOBAL

La dernière feuille de programmation va permettre de relier bout à bout les profils binaires des images analysées, ce qui permettra d'obtenir le signal binaire de la grande « photographie reconstituée » (figure 37).



Figure 37 : Signal binaire d'une « photographie reconstituée » (en abscisse la longueur en 10^5 x pixels).

Le programme va ensuite sommer les pixels de manière à obtenir la longueur de chaque pic « 1 » et de chaque pic « 0 » puis porter ces valeurs dans une matrice.

Une dernière correction consistera à éliminer du signal toutes les bulles dont la taille est inférieure à 30 pixels. Sous cette dimension limite, il peut s'agir soit d'impuretés dans le milieu liquide soit de bulles d'air dont il serait erroné de calculer le diamètre : leurs dimensions étant trop faibles par rapport à la largeur du capillaire.

Pour terminer, les pics « 0 » seront éliminés de la première matrice pour donner une dernière matrice « time 3 » dans laquelle sera enregistrée la longueur de chaque bulle en pixels (figure 38).

Les données de cette matrice seront ensuite exportées vers le logiciel Excel pour le traitement des résultats.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
1	1	40	716	118	52	58	845	981	31	61	38	1200

Figure 38 : Matrice contenant la longueur de chaque bulle analysée en pixel.

IV.4.6. EXPERIMENTATION ET TRAITEMENT DES DONNEES « MATLAB »

Des mesures sont réalisées sur du milieu biphasique contenant des concentrations croissantes en biomasse ou en surfactant ; respectivement de 0 à 8 g/l et de 0 à 2 g/l (section IV.1.2.).

Le logiciel MATLAB va fournir une matrice reprenant la longueur de chaque bulle d'air en pixel. Ces données vont être traitées de la manière suivante :

- 1) Chaque longueur (L) va être convertie en mm (1067 pixels = 1 cm)
- 2) Chaque longueur obtenue va être portée dans les formules données à la figure 39 afin de déterminer le diamètre, la surface et le volume que chaque bulle analysée occuperait dans le réacteur.
- 3) Une distribution de diamètre de bulle va être réalisée pour chaque concentration de biomasse ou de surfactant.
- 4) Une moyenne des diamètres, des surfaces et des volumes ($d_{Moy B}$, $S_{Moy B}$, $V_{Moy B}$) de chaque bulle va être réalisée pour chaque concentration testée ; cela permet de tenir compte de la morphologie de la distribution (voir section IV.4.9.).

$$d_B = \sqrt[3]{\frac{3}{2} \times d_C^2 \times L} \quad S_B = \pi \times \sqrt[3]{\left(\frac{3}{2} \times d_C^2 \times L\right)^2} \quad V_B = \frac{\pi}{4} \times d_C^2 \times L$$

Avec :

- d_B , S_B et V_B : respectivement le diamètre (mm), la surface (mm²) et le volume (mm³) des bulles,
- d_C : le diamètre du capillaire = 0,39 mm,
- L : la longueur des bulles dans le capillaire (mm).

Figure 39 : Formules permettant de déterminer le diamètre, la surface et le volume des bulles dans le réacteur à partir de la longueur occupée dans le capillaire.

IV.4.7. UTILISATION DES RESULTATS OBTENUS POUR LA DISTINCTION DU « $k_L a$ » EN « k_L » ET « a ».

Les résultats obtenus dans ce chapitre vont permettre de dissocier la constante « $k_L a$ » en ses composantes « k_L » et « a ». L'intérêt de cette opération, outre son originalité, est qu'elle va rendre possible l'évaluation de l'impact de la biomasse et du surfactant, indépendamment, sur les composantes du coefficient global de transfert de masse, permettant l'explication des constatations de la section précédente et la validation des hypothèses émises lors de l'analyse de la figure 29.

A partir des mesures de « $k_L a$ », de rétention gazeuse et de diamètre de bulles (donc de surface et de volume) réalisées dans ce chapitre et le précédent, il va être possible de déterminer l'aire interfaciale « a » et le coefficient de transfert de masse « k_L ». La figure 42 reprend, de (A) à (D), les quatre formules permettant d'obtenir la valeur des deux composantes du « $k_L a$ ».

(A)	(B)	(C)	(D)
$\frac{Rét_{Gaz}}{V_{Moy B}} = N_{Moy B}$	$N_{Moy B} \times S_{Moy B} = S_T$	$\frac{S_T}{C_R} = a$	$\frac{k_L a}{a} = k_L$
Avec :			
<ul style="list-style-type: none"> - Rét_{Gaz} : le volume de gaz retenu dans le réacteur (m³), - V_{Moy B} : le volume moyen des bulles dans le réacteur (m³), - N_{Moy B} : le nombre moyen de bulles dans le réacteur, - S_{Moy B} : la surface moyenne des bulles dans le réacteur (m²), - S_T : la surface totale de l'ensemble des bulles du réacteur (m²), - C_R : la contenance du réacteur (m³), - a : l'aire interfaciale (m²/m³), - k_La : le coefficient global de transfert de masse (s⁻¹), - k_L : le coefficient de transfert de masse (m/s), 			

Figure 40 : Formules utilisées pour la séparation du « $k_L a$ » en ses deux composantes.

IV.4.8. RESULTATS

IV.4.8.1. L'INFLUENCE DE L'HUILE DE SILICONE

Des mesures ont été réalisées, tel que décrit ci-dessus, sur du milieu 284 et biphasique afin d'évaluer l'impact de l'huile de silicone sur le diamètre des bulles. Les valeurs obtenues sont données dans le tableau 10.

Tableau 10 : Diamètre moyen des bulles pour deux milieux.

	Milieu 284	Milieu biphasique
Nombre de bulles analysées (en 5 s)	1510	1823
Diamètre moyen des bulles (mm)	1,075	1,094

Par rapport aux diminutions de diamètres qui seront constatées sur les figures 43 et 44, l'adjonction d'huile de silicone à raison de 10% sur du milieu 284 n'induit pas de modifications significatives de taille des bulles de gaz.

En revanche l'aire interfaciale du milieu biphasique sera augmentée (figures 29 et 30). L'aire interfaciale peut être estimée sur base de la formule suivante :

$$a = (K) \times \frac{Rét_{Gaz}}{d_{Moy B}}, \text{ K étant une constante.}$$

Cela tend à montrer, que contrairement aux théories de MORAO *et al.* [1999] et de DUMONT *et al.* [2006] (section I.4.4.1.3.), on remarque bien un impact positif de l'huile sur l'aire interfaciale (tableau 11), non pas par un quelconque effet sur la tension interfaciale, mais bien par une augmentation de la rétention gazeuse.

L'approche de la section IV.4.9 à été utilisée pour déterminer le coefficient de transfert de masse. Les valeurs de « k_L » obtenues dans les deux milieux sont présentées au tableau 11.

Tableau 11 : Valeurs de " k_L " et de « a » pour deux milieux.

	Milieu 284	Milieu biphasique
« k_L »	0,00022 m/s	0,00016 m/s
« a »	144,9 m ² /m ³	238,0 m ² /m ³

Ces observations confirment l'étude de SHARMA *et al.*, 1968 qui constatait que la présence de petites quantités de gouttelettes d'huile diminuait la mobilité à l'interface, et donc le « k_L » (section I.4.4.1.3.). Dans les conditions opératoires, il n'y aurait donc pas de turbulences générées par l'interaction dynamique des gouttes avec l'interface, comme le préconisait DUMONT et DELMAS [2003]. Cela infirme l'hypothèse émise lors de l'interprétation de la figure 29 (section IV.3.6.).

DUMONT *et al.*, [2006], rapportaient que pour les huiles de silicone, « S » est au départ positif, la phase « huile » serait donc capable de s'étaler sur la surface des bulles de gaz. Mais, lorsque les phases aqueuses et « huile » sont saturées mutuellement (tel que rencontré dans un réacteur en fonctionnement), « S » deviendrait négatif et l'huile aurait tendance à reformer des gouttelettes.

Considérant ce fait, une information semble être importante à souligner. La technique d'analyse, bien que n'ayant pas permis de déterminer le diamètre des gouttelettes d'huile, montre néanmoins que dans la plupart des cas (principalement lors de l'adjonction de biomasse et de surfactant), l'huile se présente sous la forme de gouttelettes discrètes de petites tailles (env. 0,05 mm de moyenne $\geq \delta_1$). Il a également été constaté que la taille des gouttelettes diminuait en fonction de la quantité de surfactant et biomasse. Cela semble orienter le transfert vers le modèle en série, ce dernier reposant sur l'effet navette [DUMONT et DELMAS, 2003].

IV.4.8.2. LES DISTRIBUTIONS DE TAILLES DE BULLES

Les distributions de taille de bulles dans le réacteur en fonction des concentrations en biomasse et en surfactant sont données dans les figures 40 et 41.

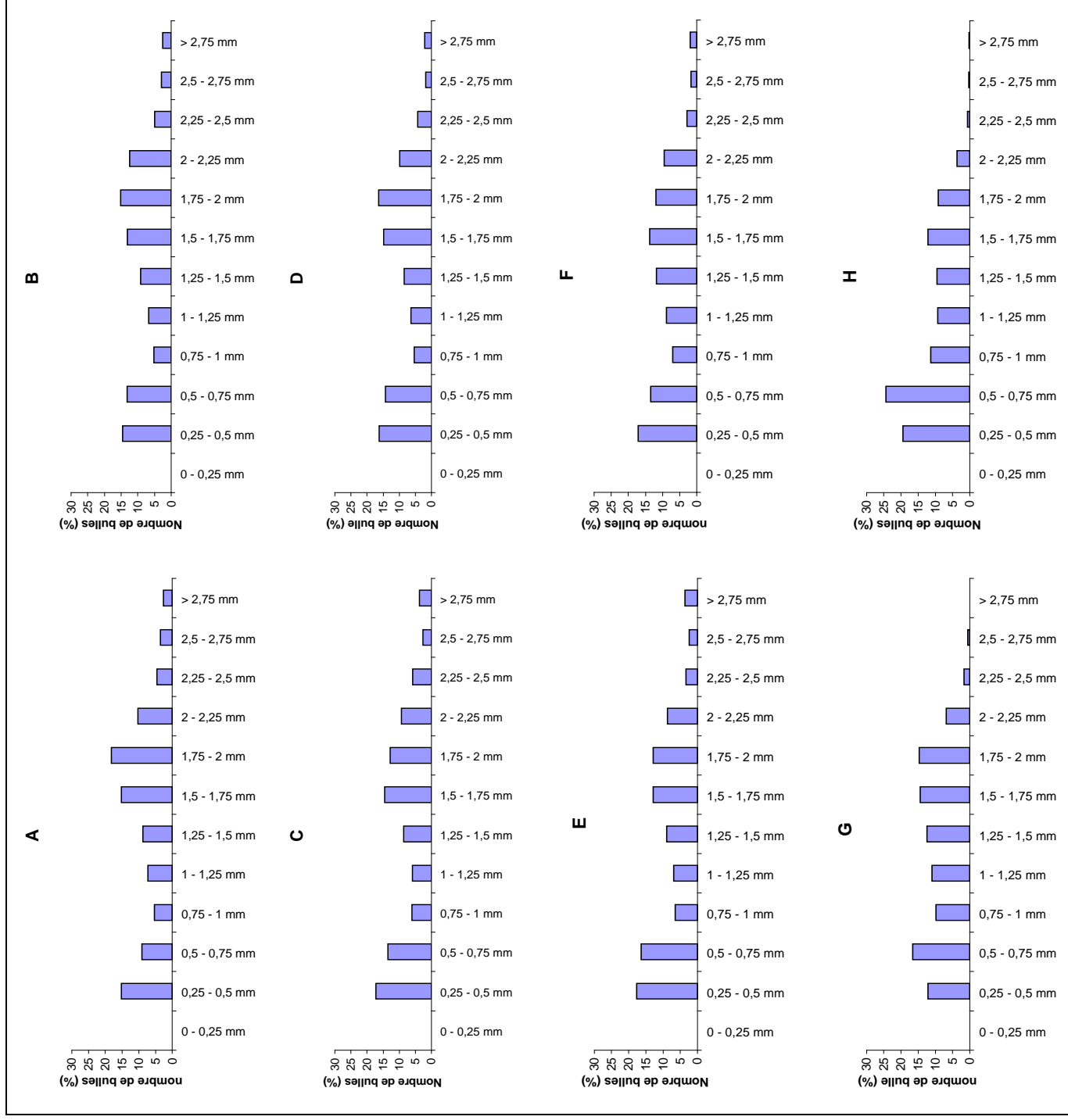


Figure 41 : Distributions de la taille des bulles dans le réacteur en fonction de la concentration en surfactant – (A) 0 g/l ; (B) 0,1 g/l ; (C) 0,2 g/l ; (D) 0,5 g/l ; (E) 0,7 g/l ; (F) 1 g/l ; (G) 1,5 g/l ; (H) 2 g/l.

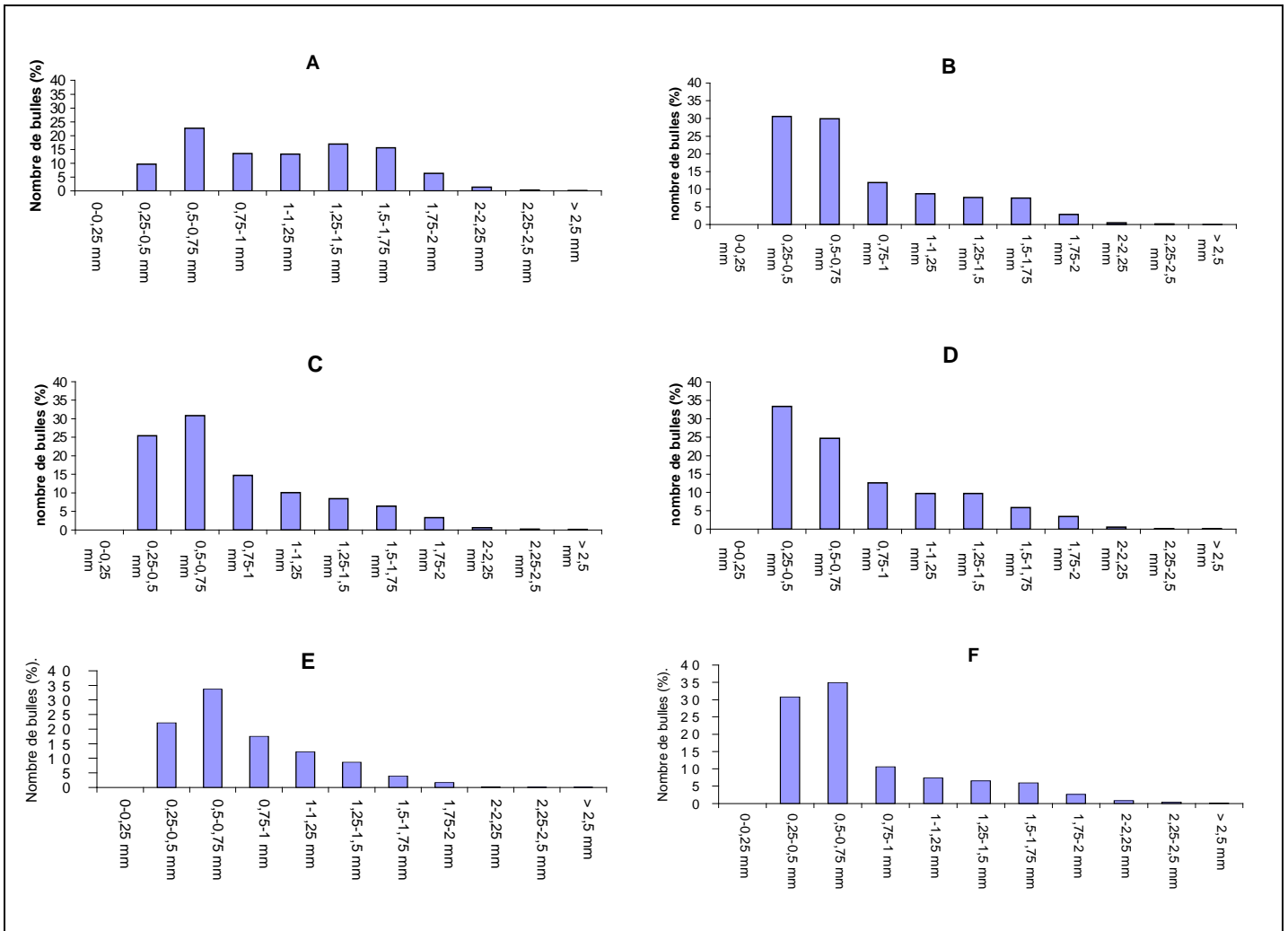


Figure 42 : Distributions de la taille des bulles dans le réacteur en fonction de la concentration en biomasse – (A) 0 g/l ; (B) 0,5 g/l ; (C) 1 g/l ; (D) 2 g/l ; (E) 4 g/l ; (F) 8 g/l.

La figure 41 met en évidence la présence de deux populations au sein des distributions issues de milieux faiblement concentrés en surfactant. La première population se situe dans les classes comprises entre 0,25 et 0,75 mm de diamètre, et la seconde entre 1,5 et 2,5 mm. Pour les concentrations plus importantes, cette tendance s’estompe et la distribution, plus homogène, s’oriente vers les classes de plus petites tailles.

Au niveau de la figure 42, on remarque que le blanc (M284-huile) a une distribution plus homogène. Cette dernière évolue très rapidement vers une distribution plus hétérogène orientée vers la gauche (classes de plus petites tailles).

IV.4.8.3. LA DISSOCIATION DU « k_{1a} »

Les résultats obtenus, suivant la méthode décrite à la section IV.4.7., sont présentés de manière synthétique dans les figures 43 à 48 ci-dessous. Les graphiques intermédiaires ayant permis l’obtention de ces résultats sont fournis en annexes 8.

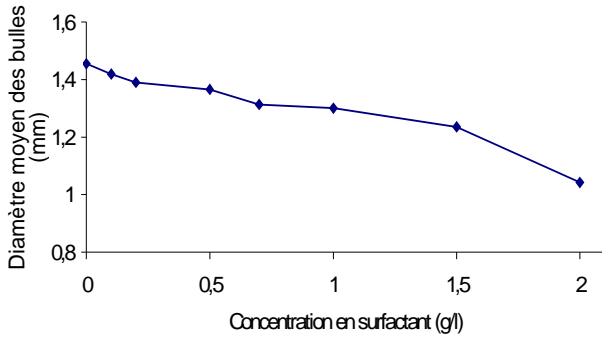


Figure 43 : Evolution du diamètre moyen des bulles en fonction de la concentration en surfactant.

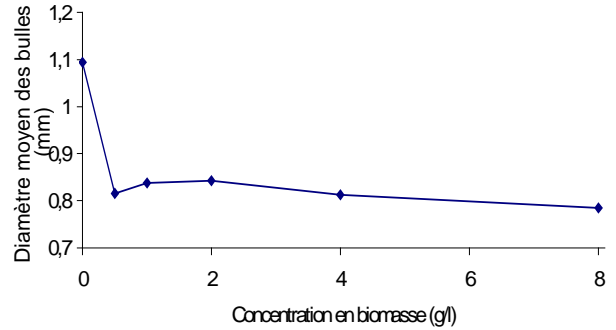


Figure 44 : Evolution du diamètre moyen des bulles en fonction de la concentration en biomasse.

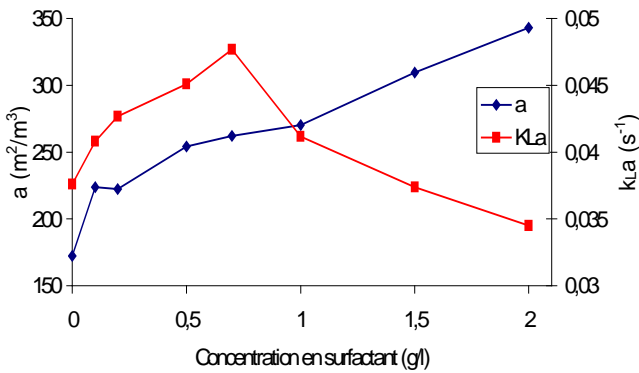


Figure 45 : Evolution de l'aire interfaciale et du « $k_L a$ » en fonction de la concentration en surfactant.

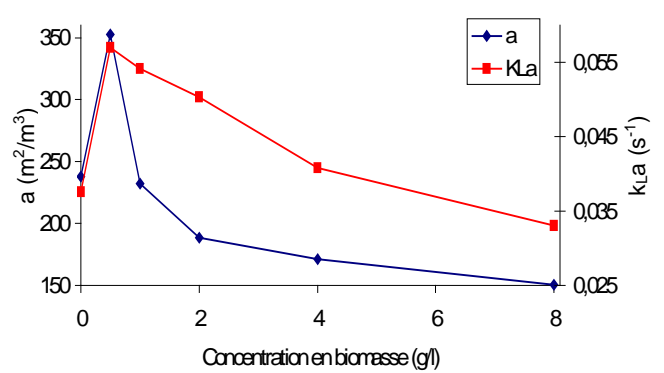


Figure 46 : Evolution de l'aire interfaciale et du « $k_L a$ » en fonction de la concentration en biomasse.

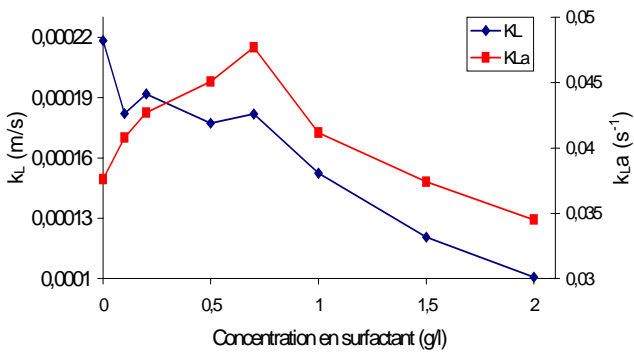


Figure 47 : Evolution du coefficient de transfert de masse et du « $k_L a$ » en fonction de la concentration en surfactant.

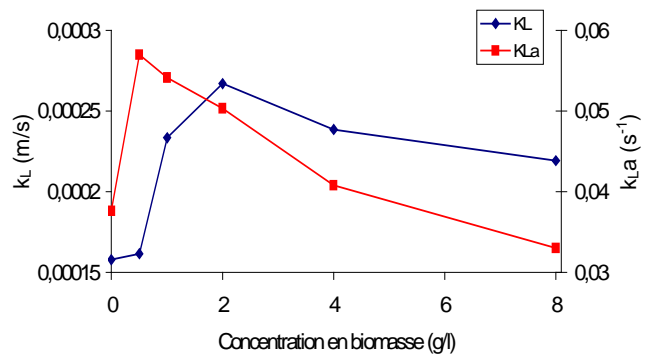


Figure 48 : Evolution du coefficient de transfert de masse et du « $k_L a$ » en fonction de la concentration en biomasse.

Certaines constatations peuvent être établies au regard de ces figures :

i. AU NIVEAU DU DIAMÈTRE MOYEN DES BULLES DE GAZ ($d_{Moy B}$)

La figure 43 indique une diminution continue du diamètre des bulles lors de l'ajout de surfactant. Pour l'adjonction de quantités croissantes de biomasse, la réponse est différente (figure 44). On constate une diminution brutale du diamètre des bulles pour une concentration de 0,5 g/l de biomasse, puis passé ce point, les valeurs de diamètre moyen restent relativement constantes. RUTHIYA *et al.* [2003] avaient déjà suggéré cet impact (moins tensioactif et plutôt stabilisateur et inhibiteur de coalescence) de la biomasse sur la taille des bulles (section I.4.5.5.).

ii. AU NIVEAU DE L'AIRES INTERFACIALE « a »

L'aire interfaciale augmente continuellement avec la quantité de surfactant présente dans le milieu (figure 45), comme c'est le cas en milieu monophasique (THONART [2006], section I.4.5.6.). Cela indique que cet extrait « surfactant » (section III.3.2.) possède bien des propriétés tensioactives dans la gamme de concentration testée.

Rétention gazeuse et aire interfaciale sont également liées par la relation suivante :

$$a = (K) \times \frac{Rét_{Gaz}}{d_{Moy B}}, \text{ K étant une constante.}$$

En se référant à la figure 27, on remarque que la courbe d'évolution de l'aire interfaciale ne suit pas celle de la rétention gazeuse, car le diamètre des bulles décroît dans des proportions plus importantes lors de l'adjonction de surfactant.

Pour la biomasse, la courbe présente un maximum à la concentration de 0,5 g/l, puis présente des valeurs plus faibles (figure 46). Cette courbe semble scrupuleusement liée à celle de la rétention gazeuse (figure 28). Il n'y a rien d'illogique à cela, car le diamètre des bulles n'évolue plus, une fois la concentration de 0,5 g/l passée.

Il est en revanche possible de s'interroger quant à la diminution de rétention gazeuse observée à la figure 28, alors que le diamètre des bulles de gaz n'évolue plus (figure 44). L'explication tient du fait que, lors de l'ajout de concentrations croissantes de biomasse, une partie du volume du réacteur se convertit en mousse (non-prise en compte pendant les mesures), proportionnellement à la concentration en microorganismes. Un moins grand volume de milieu est donc disponible pour retenir le gaz, la rétention diminue et par conséquent l'aire interfaciale (figure 46). Le même phénomène est observé également dans le cas du surfactant mais dans des proportions moindres.

iii. AU NIVEAU DU COEFFICIENT DE TRANSFERT DE MASSE « k_L »

Le coefficient de transfert de masse diminue en fonction de la quantité de surfactant présente dans le TPPB (figure 47). Cela peut aisément être expliqué. L'augmentation d'aire interfaciale requiert des quantités de surfactant plus importantes à l'interface gaz-liquide. Cette forte présence d'agents tensioactifs a comme conséquence de rigidifier l'interface G-L, donc d'y diminuer les turbulences et de fournir une résistance supplémentaire au transfert. Cet impact du surfactant sur le « k_L » avait déjà été mis en évidence en système monophasique par PAINMANAKUL *et al.* [2005] (section I.4.5.6.).

A la figure 48, la valeur du « k_L » connaît une croissance lors de l'ajout de faibles concentrations en biomasse. Cette augmentation peut s'expliquer, comme en système monophasique, par les effets hydrodynamiques de turbulence créés au sein de la couche limite par les bactéries [FYFERLING *et al.*, 2008]. Aux plus fortes concentrations, la baisse observée du « k_L » serait due une réduction de ces effet par encombrement de l'interface G-L et à la perméabilité plus basse des cellules au transfert l'O₂ en comparaison à la phase abiotique (section I.4.5.5.).

Il faut cependant rester prudent. Les variations de « k_L » observées pourraient ne pas être dues uniquement à la présence de biomasse ou de surfactant à l'interface gaz-liquide. En effet, ces derniers ont également un impact sur la taille des gouttelettes d'huile (sections I.4.5.5 et I.4.5.6.). Une modification de la structure des gouttelettes pourrait également avoir un impact sur l'effet navette (voir section V.).

iv. AU NIVEAU DE L'INFLUENCE DES DEUX PARAMÈTRES PRÉCITÉS SUR LE COEFFICIENT GLOBAL DE TRANSFERT DE MASSE « $k_L a$ ».

Le maximum observé sur la courbe d'évolution du « $k_L a$ » en fonction de la concentration en surfactant correspond à la combinaison d'une valeur de « k_L » intermédiaire et d'une valeur de « a » intermédiaire également. Pour les autres valeurs de « $k_L a$ », chaque accroissement de la valeur du « k_L » est contrecarré par une diminution plus importante de la valeur du « a », et vice-versa (figures 45 et 47).

Cette configuration de la courbe de « $k_L a$ » s'explique donc par le fait qu'à faible concentration, le surfactant diminue le diamètre moyen des bulles, augmentant par conséquent le « $k_L a$ ». A plus forte concentration, le diamètre moyen des bulles diminue encore légèrement mais la présence supplémentaire de tensioactifs induit la formation d'une pellicule relativement rigide autour des bulles, diminuant les turbulences à l'interface (résistance au transfert), réduisant de ce fait le « k_L » (section I.4.5.6.) et donc le « $k_L a$ ».

Sur la courbe de coefficient global de transfert de masse relative à la biomasse, le maximum correspond au maximum d'aire interfaciale. La courbe présente ensuite une diminution des

valeurs de « $k_L a$ » mais dans des proportions moindres que la chute des valeurs observées sur la courbe « a », car cette dernière est compensée par une augmentation de « k_L » par effets hydrodynamiques (figures 46 et 48). En effet, les microorganismes, assimilés à de fines particules peuvent générer des turbulences à l'interface et, de ce fait augmenter le coefficient de transfert de masse (I.4.5.5.). Pour des concentrations plus élevées en biomasse (4 à 12 g/l), l'effet positif des turbulences serait contrecarré par une plus grande résistance au transfert, dû à la présence de ces particules biologiques hydrophobes à l'interface. Par conséquent, le « $k_L a$ » diminue de manière plus importante.

Ces résultats permettent, en outre, de confirmer les hypothèses émises lors de l'interprétation des figures 29 et 30 (section IV.3.6.).

De même, ces informations permettent d'expliquer la morphologie des distributions présentées en figures 40 et 41. Lors de l'ajout de concentrations croissantes en surfactant, le diamètre moyen des bulles diminue progressivement. Cela se traduit par une évolution lente de la distribution vers les classes de plus petites tailles. A contrario, l'adjonction de biomasse n'induit plus de modifications de diamètre moyen passé la concentration de 0,5 g/l. La distribution subit donc un changement brusque de morphologie à cette concentration puis ne présente plus de grandes modifications.

* * *

L'intérêt de cette méthode de détermination des composantes du « $k_L a$ » est qu'elle est basée sur des mesures réelles et non des approches mathématiques. Ces mesures, de rétention gazeuse, de « $k_L a$ » et de diamètre de bulle, outre l'avantage d'être rapides, sont simples à réaliser. Un autre avantage de cette approche est qu'elle permet de prendre en considération les phénomènes de production de mousse et de variation de la viscosité (traduits par une modification de la rétention gazeuse) et de la densité, choses que ne prennent pas en considération les modèles mathématiques proposés dans la littérature.

V. DISCUSSION GÉNÉRALE

V.1. EXTRAPOLATION DU SYSTÈME

La présence de biomasse et de surfactant dans un réacteur biphasique permet, par effets stabilisant sur l'émulsion, d'envisager le passage à une échelle supérieure.

Cette stabilité garantirait au système de plus grande taille une certaine homogénéité, ce qui rendrait possible un transfert G-L optimum et réduirait la formation sporadique de zones de trop fortes concentrations en polluant toxiques (extrêmement néfaste à la survie et la croissance du microorganisme).

L'extrapolation n'est cependant pas illimitée en volume. On remarque qu'au débit de circulation testé le plus faible (simulant un réacteur de grande taille), la stabilité est moindre.

Il est pourtant possible que cette stabilité ait été légèrement sous-évaluée. En effet, le dispositif développé pour produire de la biomasse et du surfactant ne contenait pas d'huile de silicone (section III.2.3.).

En terme de sélection naturelle, il est fort probable que les microorganismes favorisés par ce dispositif soient ceux produisant un peu plus de surfactant (micellisation de l'IPB pour son assimilation) [DÉZIEL *et al.*, 1999] et non ceux très hydrophobes (assimilation de l'IPB directement à l'interface M284-huile) [ASCON-CABRERA *et al.*, 1995].

Cela étant dit, les résultats présentés par MANIGAT [2008] mettent en évidence, une hydrophobicité de surface des microorganismes cultivés sur IPB nettement plus importante que celle retrouvée lors de la culture sur milieu riche.

DOROBANTU *et al.* [2004], rapportent que des bactéries intactes et lavées peuvent stabiliser une émulsion, sans modification de la tension interfaciale, en inhibant la coalescence. Cette propriété est expliquée par les interactions hydrophobes existant entre bactéries et la phase dispersée, permettant aux microorganismes de s'adsorber aux interfaces (section I.4.5.5.). En plus de l'adhésion forte à l'interface, les bactéries hydrophobes possèdent une affinité entre elles, ce qui mène à un auto-assemblage de bactéries à l'interface eau-huile, qui résiste à la coalescence et la déformation.

Partant de cette constatation, un parallèle intéressant peut également être fait entre les expériences menées sur la stabilité de l'émulsion et celles sur le transfert de masse. La figure 22 met en évidence un maximum de stabilité de la dispersion pour une concentration de 0,5 g/l en biomasse. C'est également à cette concentration que la biomasse induit des tailles de bulles d'air minimales. Pour des concentrations plus importantes, la stabilité huile-M284 décroît un peu (la courbe 22 présente un minimum) tandis que plus aucune modification n'est constatée sur le diamètre des bulles d'air. Cela pourrait s'expliquer par le fait que :

- D'une part, une faible concentration de biomasse est suffisante pour limiter la coalescence (ce qui a comme conséquence une diminution du diamètre des bulles et des gouttelettes) sans modification de la tension de surface, tel que décrit ci-dessus
- D'autre part, à plus forte concentration, les propriétés hydrophobes du microorganisme confèrent à ce dernier la possibilité de passer en phase organique [Manigat 2008]. Cette absorption dans la phase non aqueuse aurait pour conséquence de déstabiliser l'émulsion et promouvoir la coalescence (section I.4.5.5. : WATKINSON *et al.*, [1990]), ce qui expliquerait le passage par un maximum de stabilité entre les phases aqueuses et organiques alors que l'on ne retrouve pas cette tendance entre les phases air et aqueuses.

En outre, un dispositif d'évaluation de la stabilité de la dispersion en réacteur biphasique, en vue d'extrapoler le système, a été mis au point lors de ce travail. Ce dispositif présente l'avantage de permettre une visualisation, en continu et en conditions réelles, de l'impact de la biomasse et du surfactant sur la stabilité du système.

D'autres approches existent dans la littérature. L'une d'elle, proposée par SCHMID *et al.*, [1998], consiste à soumettre le milieu biphasique chargé en biomasse ou surfactant à une agitation de 2500 rpm, puis à prélever un échantillon et l'analyser « off line » à l'aide d'un spectromètre à réfraction laser (détermination du diamètre des gouttelettes). Les auteurs considèrent la mesure « off line », après une agitation non-représentative des conditions réelles, comme représentant raisonnablement, la distribution de taille de bulles et la stabilité de l'émulsion dans les conditions de fonctionnement du bioréacteur ; cette hypothèse nous semble erronée.

Une autre approche, proposée par CULL *et al.*, [2002], propose de mesurer le diamètre des gouttelettes par une mesure de réflectance optique directement dans le réacteur. Cette approche beaucoup plus intéressante que la précédente évalue également la stabilité de l'émulsion à partir du diamètre des gouttelettes.

Pour ces auteurs, le paramètre clé dans la réussite d'un « scale-up » de réacteur biphasique est le maintien de l'aire interfaciale. Partant de ce fait, ils démontrent qu'une puissance d'agitation volumique apparaît comme la meilleure base (même distribution de tailles) pour prédire le « scale-up » d'une culture de *Rhodococcus erythropolis* 10 g/l en milieu biphasique contenant 20% de toluène. Ces résultats sont toutefois à prendre avec réserve car une même puissance volumique appliquée à un plus grand volume implique, dans l'entourage des mobiles d'agitation, des contraintes de cisaillement beaucoup plus importantes qui stressent le microorganisme.

V.2 TRANSFERT DE MASSE

Les expériences réalisées ont permis de mettre en évidence une diminution du « k_{La} » (par rapport au milieu biphasique simple) au cours de la vie du réacteur.

De même, il fut constaté que l'impact du surfactant sur le « k_{La} » en milieu biphasique se situait principalement au niveau de l'aire interfaciale, tel qu'en milieu monophasique. La biomasse a, quant à elle, également un effet sur le « k_L » en augmentant les turbulences à l'interface.

Des explications ont également pu être fournies quant aux mécanismes agissant lorsque ces deux éléments sont mis en présence, révélant l'impact négatif des tensioactifs sur l'hydrophobicité des microorganismes qui voient, de ce fait, une réduction de leur activité à l'interface.

D'autre part, l'observation dans les films des gouttelettes d'huile sous forme discrète ainsi que le fait que le diamètre des bulles d'air n'évolue pas lors de l'ajout d'huile montrent que l'huile de silicone n'a pas d'effet sur la tension interfaciale gaz-liquide, et donc sur la surface d'une bulle (section IV.8.1). Ce n'est donc pas elle qui serait impliquée dans l'augmentation d'aire interfaciale constatée lors de l'ajout de biomasse (ou de surfactant). Ces constatations permettent en outre de supposer que le modèle le plus représentatif de la réalité est bien celui « en série » (section I.4.4.1.2.2.).

De même il est vraisemblable qu'un affaiblissement des effets navette ait lieu également. En effet, le surfactant et la biomasse, en migrant vers les interfaces M284-huile devraient générer une résistance supplémentaire à ce mécanisme de transfert.

Il semble donc que l'augmentation de « k_L » constatée lors de l'ajout de biomasse (figure 48) est probablement bien due à l'impact hydrodynamique des microorganismes aux interfaces, et non aux modifications structurelles des gouttelettes d'huile.

Cela signifie que des effets hydrodynamiques de turbulences peuvent être induits, en milieu biphasique, par les bactéries, comme le préconisait par FYFERLING *et al.*, [2008] en milieu monophasique (ce qui s'oppose aux théories de RUTHIYA *et al.* [2003] ; section I.4.5.5.).

En revanche, la diminution de coefficient de transfert de masse induite par l'ajout de quantités croissantes de surfactant (figure 47) pourrait également être due à une réduction des effets navettes.

Enfin, l'approche proposée dans ce TFE est très intéressante. Basée sur trois types de mesures réelles, elle permet d'intégrer de nombreux cas de figures, ce qui est impossible en utilisant les modèles mathématiques fournis dans la littérature.

La méthode développée n'est cependant pas encore parfaite. Les figures 43 et 44, montrent clairement que les blancs respectifs de ces deux salves d'expériences sont différents, mettant en évidence des différences de tailles moyenne des diamètres.

Cela n'a rien d'étonnant, BARIGOU *et al.*, [1990] mettent en évidence qu'une légère modification de l'inclinaison du tube peut modifier la récolte de bulles. De même, MOILANEN *et al.*, [2003] montrent que la distribution des gouttes n'est pas identique en tout point du réacteur. L'hypothèse de départ supposant une distribution identique des bulles, au vu du

faible volume du réacteur, était donc erronée. Il est possible que d'une salve d'expériences à l'autre, certaines modifications de la profondeur ou de l'inclinaison du capillaire aient eu lieu. Pour pallier ces phénomènes, il s'avère nécessaire d'automatiser la méthode et de réaliser un échantillonnage beaucoup plus important sur la largeur et la hauteur du réacteur, pour fournir une moyenne beaucoup plus représentative de la réalité et permettre une comparaison quantitative entre toutes les séries d'expériences.

Cela étant dit, d'autres méthodes de distinction du « $k_L a$ » en ses composantes principales sont fournies dans la littérature, mais aucune ne semble pouvoir rivaliser, dans le contexte des réacteurs biphasique, avec celle développée dans ce travail de fin d'étude.

Ainsi, SARDEING et al., [2006] et PAINMANAKUL et al., [2005] proposent de filmer le passage de quelques bulles dans une colonne en verre raccordée à une sonde à oxygène. Par analyse d'image, ils déterminent le diamètre d'une bulle (considérée comme ellipsoïdale) et en déduisent son aire interfaciale. En cumulant le « a » de chaque bulle analysée et en le rapportant au transfert ayant eu lieu durant l'intervalle d'analyse, ils parviennent à déterminer le « k_L ». Cette approche, quoi qu'intéressante mathématiquement, ne représente cependant ni la géométrie ni les conditions retrouvées en réacteur. Le fait de travailler dans une colonne non agitée réduit considérablement les turbulences retrouvées aux interfaces gaz-liquide d'un réacteur agité, sous-estimant de ce fait, les valeurs de « k_L ».

La méthode n'est donc pas applicable en milieu biphasique car une agitation continue est indispensable lors des mesures.

En adoptant la même approche que celle de ce travail, il est cependant possible d'utiliser des techniques de mesures de diamètre de bulles différentes, telles qu'illustrées dans le tableau 11.

Tableau 21 : Résumé des méthodes expérimentales utilisées pour la détermination du diamètre des bulles – tiré de MOILANEN et al., [2003].

Experimental method	Range of applicability	Gas hold-up	Physical requirements	General notes
Capillary Suction Probe (CSP)	0.4 – 8.0 mm	< 25 %	Low viscosity dispersion. No solid particles allowed.	Invasive method. May disturb flow pattern. Isokinetic sampling is problematic.
Phase Doppler Anemometry (PDA)	30 μm -1.4 mm	< 5 %	Transparent dispersion.	Limited to small and spherical bubbles.
Photography with automated image analysis	1 μm - depends on optics and equipment	< 1%	Transparent dispersion.	Identification algorithms need improvement, depth of focus (DOF) correction needed

Ces informations démontrent toutefois que la succion à travers un capillaire demeure la seule technique de mesure applicable aux conditions rencontrées dans un réacteur biphasique voué au traitement des effluents gazeux.

VI. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Ce travail a permis de mettre en évidence l'effet positif de la concentration en biomasse et en surfactant sur la stabilité d'un système biphasique. Partant de ce constat, il est possible d'envisager le passage à une échelle supérieure. L'étude de l'action combinée du surfactant et de la biomasse, tel qu'en conditions réelles d'utilisation, a révélé des différences (très minimes), en terme de stabilisation du système, par rapport à ces composés testés séparément. La cause étant l'interaction qui existe entre le surfactant et la biomasse lorsqu'ils sont mis en présence. En effet, la partie lipophile du tensioactif s'adsorbe à la surface apolaire du microorganisme lui conférant une plus grande hydrophilie, ce qui réduit son activité à l'interface et ses effets stabilisateurs d'émulsion [MANIGAT 2008].

La stabilisation de la dispersion constatée lors de la simulation d'un réacteur de plus grand volume confèrerait au système extrapolé une certaine homogénéité et une aire interfaciale Huile-M284 importante, garantissant un transfert de masse de l'oxygène ou du polluant (l'étape limitante du procédé) optimum.

Le transfert de masse, quant à lui, fut évalué au travers du paramètre « $k_L a$ », Ce dernier présente une diminution au cours de la vie du TPPB. Les interactions existant entre biomasse et surfactant (confer infra), ainsi que l'augmentation de la concentration en ces deux éléments, en sont en grande partie responsable.

En outre, la méthode développée de dissociation du « $k_L a$ » en ses composantes principales « k_L » et « a », a permis de démontrer l'impact du surfactant sur l'aire interfaciale (l'augmentant mais à contrario diminuant le « k_L ») et l'action génératrice de turbulence des microorganismes aux interfaces air-liquide du milieu biphasique.

D'un point de vue théorique, le passage à une échelle plus importante semble tenir la route. Cela confère à la technique de belles perspectives de développement dans les années futures, d'autant plus qu'il est fort probable que de nouvelles normes en matière de qualité de l'air intérieur voient le jour. Le développement de systèmes composés de consortiums bactériens offre également des perspectives d'avenir à cette méthode de traitement.

D'un point de vue plus fondamental, il serait possible d'améliorer la compréhension des mécanismes régissant non seulement le transfert mais aussi la stabilisation en milieu biphasique en se livrant à une salve d'expériences destinées à déterminer la taille des gouttelettes d'huile, en continu, dans le réacteur. Pour ce faire, une solution de choix consisterait à utiliser le même dispositif que celui ayant servi à déterminer la taille des bulles, mais composé d'un diamètre de capillaire plus étroit.

Il serait également intéressant, d'essayer de confirmer ou d'infirmer l'hypothèse du transfert en série. Pour ce faire, certaines approches proposées dans la littérature pourraient être applicables au cas étudié. Ainsi TABOADA *et al.* [2003] proposent d'acquérir des images à l'intérieur d'un réacteur biphasique en synchronisant une caméra à objectif puissant à un stroboscope. De cette manière, il serait envisageable de repérer la présence de gouttelettes d'huile colorée étalées à l'interface gaz-liquide, traduisant un mécanisme de recouvrement de bulle.

Une autre démarche intéressante consisterait à effectuer les mêmes expériences que celles réalisées dans le présent travail mais avec de la biomasse produite en milieu riche (section III.1.5.). MANIGAT [2008] a mis en évidence une hydrophobicité de surface beaucoup plus faible chez les microorganismes produits dans ces conditions. De telles expériences permettraient donc d'évaluer l'impact de bactéries plus hydrophiles sur la dispersion du système et le transfert de masse gaz liquide. Il pourrait être judicieux de faire de même avec des particules inertes de même dimensions, ne possédant pas de pouvoir absorbant.

D'un point de vue plus appliqué, une recherche et une identification des mécanismes déstabilisant l'émulsion du réacteur (crémage, coalescence, maturation d'Ostwald, etc.) permettraient une meilleure maîtrise du procédé. En outre, il serait judicieux de tester l'adjonction de certains composés susceptibles de stabiliser l'émulsion tout en maintenant un bon transfert de masse et une biodégradation microbienne optimale.

VII. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AGBLE D., MENDES-TATSIS M. A. [2000]. The effect of surfactants on interfacial mass transfer in binary liquid-liquid systems. *International Journal of Heat and Mass Transfer* **43**, 1025-1034.

AHIMOU F. [2000]. Etude des propriétés de surface et d'adhésion de *Bacillus subtilis*. *FUSAGx*. Thèse de doctorat.

ALDRIC J-M. [2001]. Contribution a la mise au point d'un réacteur biphasique destiné à la dégradation des composés organiques volatils par voie biologique. *FUSAGx*. DEA.

ALDRIC J-M., DESTAIN J., THONART P. [2003]. Study of some factors influencing biodegradation of isopropylbenzene by *Rhodococcus erythropolis*. *Environment 2010 : Situation and perspectives for European Union*, symposium 6-10 May 2003. Porto, Portugal.

ALDRIC J-M., THONART P. [2008]. Performance evaluation of a water/silicone oil two-phase partitioning bioreactor using *Rhodococcus erythropolis* T902.1 to remove volatile organic compounds from gaseous effluents. *J Chem Technol Biotechnol* **83**, sous presse.

ARANDA F. J., TERUEL J. A., ESPUNY M. J., MARQUES A., MANRESA A., PALACIOS-LIDON E., ORTIZ A. [2007]. Domain formation by a *Rhodococcus* sp. biosurfactant trehalose lipid incorporated into phosphatidylcholine membranes. *Biochimica et biophysica acta* **1768**, 2596-2604.

ASCON-CABRERA M. A., LEBEAULT J-M. [1995]. Cell hydrophobicity influencing the activity/stability of xenobiotic-degrading microorganisms in a continuous biphasic aqueous-organic system. *Journal of Fermentation and Bioengineering* **80**, 270-275.

ASCON-CABRERA M. A., LEBEAULT J-M. [1995]. Interfacial area effects of a biphasic aqueous/organic system of growth kinetic of xenobiotic-degrading microorganisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **43**, 1136-1141.

BAKRI Y., JAQUES P., SHI L. K., THONART P. [2001]. Effects of a new impeller oxygen transfer rates in 5L bioreactor. *Applied biochemistry and biotechnology* **100**, 1037-1048.

BANDYOPOUDHYAY B., HUMPREY A. E., TAGUCHI H. [1967]. Dynamic mesurment of the volumetric oxygen transfer coefficient in fermentation systems. *Biotechnol. Bioeng.* **9**, 533-544.

BARIGOU M., GREAVES M. [1991]. A capillary suction probe for bubble size measurement. *Meas. Sci. Technol.* **2**, 318-326.

BENDINGER B., RIJNAARTS H. H. M., ALTENDORF K., ZEHNDER A. J. B. [1993]. Physicochemical Cell Surface and Adhesive Properties of Coryneform Bacteria Related to the Presence and Chain Length of Mycolic. *Appl Environ Microbiol* **59**, 3973-3977.

- BLOKKER PC [1957]. On mass transfer across liquid/liquid interfaces in systems with and without surface active agents. In: Schulman JH (ed) Proceedings of the Second International Congress of Surface Activity, vol 1. Butterworths, London, 503–511.
- BOUDREAU N. G., DAUGULIS A. J. [2006]. Transient Performance of Two-Phase Partitioning Bioreactors Treating a Toluene Contaminated Gas Stream. *Biotechnology and Bioengineering* **94**, 448-457.
- BOUWER E. J., ZEHNDER J. B. [1993]. Bioremediation of organic compounds – putting microbial metabolism to work. *Trends in biotechnology* **11**, 360-367.
- BRADFORD M. M. [1976]. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* **72**, 248-254.
- BRUINING W.J., JOOSTEN G.E.H., BEENACKERS A.A.C.M., HOFMAN H. [1986]. Enhancement of gas-liquid mass transfer by a dispersed second liquid phase. *Chemical Engineering Science* **41** (7), 1873-1877.
- CERNIGLIA C. [1992]. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Biodegradation* **3**, 351-368.
- CESÁRIO M.T. [1997]. Water-immiscible solvents for the biological treatment of waste gases. *Landbouwwuniversiteit Wageningen*. Library.wur.nl/wda/abstract/ab2279.html. 16/03/2008.
- CESÁRIO M.T., BEEFTINK H.H., TRAMPER J. [1992]. Biological treatment of waste gases containing poorly-water-soluble pollutants. *Studies in Environmental Science* **51**, 135-140.
- COLLINS L.D., DAUGULIS A.J. [1999]. Simultaneous biodegradation of benzene, toluene and p-xylène in a two-phase partitioning bioreactor: Concept demonstration and practical application. *Biotechnology Progress* **15**, 74-80.
- CULL S.G., LOVICK J.W., LYE G.J., ANGELI P. [2002]. Scale-down studies on the hydrodynamics of two-liquid phase biocatalytic reactors. *Bioprocess Biosyst. Eng* **25**, 143-153.
- DABROCK B., KEßLER M., AVERHOFF B., GOTTSCHALK G. [1994]. Identification and characterization of a transmissible linear plasmid from *Rhodococcus erythropolis* BD₂ that encodes Isopropylbenzene and trichloroethene catabolism. *Applied and Environmental Microbiology* **60**, 853-860.
- DAUGULIS A. J. [1997]. Partitioning bioreactors. *Current Opinion in Biotechnology* **8**, 169-174.
- DAUGULIS A. J., BOUDREAU N. G. [2003]. Removal and destruction of high concentrations of gaseous toluene in a two-phase partitioning bioreactor. *Biotechnology Letters* **25**, 1203-1207.
- DAUGULIS A.J. [2001]. Two-phase partitioning bioreactors: a new technology platform for destroying xenobiotics. *Trends in Biotechnology* **19** (11), 457-462.

DAVIDSON C. T., DAUGULIS A. J. [2003]. Addressing biofilter limitations: A two-phase partitioning bioreactor process for the treatment of benzene and toluene contaminated gas streams. *Biodegradation* **14**, 415–421.

DAVIDSON C. T., DAUGULIS A. J. [2003]. The treatment of gaseous benzene by two phase partitioning bioreactor : a high performance alternative to the use of biofilters. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **62**, 297-301.

DELVIGNE F., DESTAIN J., THONART P. [2006]. A methodology for the design of scale-down bioreactors by the use of mixing and circulation stochastic models. *Biochemical Engineering Journal* **28**, 256-268.

DESHUSSES M., JOHNSON C. T., LESON G. [1999]. Biofiltration of high loads of ethyl acetate in the presence of toluene - *Journal of the Air & Waste Management Association* **49**, 973-979.

DEVINNY J. S., DESHUSSES M.A., WEBSTER T.S. [1999]. *Biofiltration for air pollution control*. CRC press, Boca Raton.

DE WEVER H., BESSE P., VERACHTERT H. [2001]. Microbial transformations of 2-substituted benzothiazoles. *Applied microbiology and biotechnology* **57**, 620-625.

DÉZIEL E., COMEAU Y., VILLEMUR R. [1999]. Two-liquid-phase bioreactors for enhanced degradation of hydrophobic/toxic compounds. *Biodegradation* **10**, 219-233.

Directive 96/62/CE du conseil du 27/09/1996. europa.eu/scadplus/leg/fr/lvb/l28031a.htm, 15/02/2008.

Directive 99/13/CE du conseil du 11/03/99. www.sits.fr/htm/Francais/COV15EnvLyonl.pdf, 15/02/2008.

DOROBANTU L. S., YEUNG A. K. C., FOGHT J. M., GRAY M. R. [2004]. Stabilization of Oil-Water Emulsions by Hydrophobic Bacteria. *Applied and environmental microbiology* **70**, 6333–6336.

DUBOIS M., GILLES K. A., HAMILTON J. K., REBERS P.A., SMITH F. [1956]. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* **28**, 350-356.

DUMONT E., ANDRÈS Y., LE CLOIREC P. [2006]. Effect of organic solvents on oxygen mass transfer in multiphase systems: Application to bioreactors in environmental protection. *Biochemical Engineering Journal* **30** (3), 245-252.

DUMONT E., ANDRÈS Y., LE CLOIREC P. [2006]. Mass transfer coefficients of styrene and oxygen into silicone oil emulsions in a bubble reactor. *Chemical Engineering Science* **61** (17), 5612-5619.

DUMONT E., DELMAS H. [2003]. Mass transfert enhancement of gaz absorption in oil-in-water systems : a review. *Chemical Engineering and Processing* **42**, 419-438.

FANLO J.L. [1998]. Des bactéries désodorisantes. *Biofutur* **175**, 20-23.

FAVRE-BULLE O., WITHOLT B. [1992]. Biooxidation of n-octane by a recombinant *Escherichia coli* in a two-liquid-phase system: Effect of medium components on cell growth and alkane oxidation activity. *Enzyme and Microbial Technology* **14**, 931-937.

FINNERTY W. R. [1992]. The biology and genetics of the genus *Rhodococcus*. *Ann. Rev. Microbiol* **46**, 193-218.

FRANCOIS C. [2007]. Mise au point d'un protocole de détermination de l'activité dioxygénase chez *Rhodococcus erythropolis*. *FUSAGx*. TFE.

FYFERLING M., URIBELARREA J-L., GOMA G., MOLINA-JOUVE C. [2008]. Oxygen transfer in intensive microbial culture. *Bioprocess biosyst. Eng.* **26**.

GALACTION A. I., CASCAVAL D., ONISCU C., TURNEA M. [2004]. Prediction of oxygen mass transfer coefficients in stirred bioreactors for bacteria, yeasts and fungus broths. *Biochemical Engineering Journal* **20**, 85-94.

GARCIA-OCHOA F., GOMEZ CASTRO E., SANTOS V. E. [2000]. Oxygen transfer and uptake rates during xanthan gum production. *Enzyme and microbial technology* **27**, 680-690.

GOGOI N. C., DUTTA N. N. [1996]. Empirical approach to solid-liquid mass transfer in a three-phase sparged reactor. *Fuel Processing Technology* **48**, 145-157.

GUIEYSSE B., HORT C., PLATEL V., MUNOZ R., ONDARTS M., REVAH S. [2008]. Biological treatment of indoor air for VOC removal: Potential and challenges. *Biotechnology Advances*, In Press.

GUIEYSSE B., VIKLUND G., TOES A-C., MATTIASSON B. [2004]. Combined UV-biological degradation of PAHs. *Chemosphere* **55**, 1493-1499.

GUTIERREZ J. A., NICHOLS P., COUPERWHITE I. [1999]. Changes in whole cell-derived fatty acids induced by benzene and occurrence of the unusual 16:1 ω 6c in *Rhodococcus* sp. 33. *FEMS Microbiology Letters* **176**, 213-218.

HEYMES F., MANNO-DEMOUSTIER P., CHARBIT F., FANLO J.L., MOULIN P. [2006]. A new efficient absorption liquid to treat exhaust air loaded with toluene. *Chemical Engineering Journal* **115** (3), 225-231.

HODGE D. S., DEVINNY J. S. [1995]. Modelling removal of air contaminants by biofiltration. *Journal of Environmental Engineering* **121**, 21-32.

HSIEH C.C. [2000]. Removal mechanisms of VOCs in an activated sludge process. *Journal of Hazardous Materials* **79** (1-2), 173-187.

JAJUEE B., MARGARITIS A., KARAMANEV D., BERGOUGNOU M. A. [2006]. Influence of dissolved hydrocarbons on volumetric oxygen mass transfer coefficient in a novel airlift contractor. *Chemical Engineering Science* **61**, 4111-4119.

JUNKER B. H., HATTON T. A., WANG D.I.C. [1990]. Oxygen transfer enhancement in aqueous/perfluorocarbon fermentation systems: I. Experimental observations. *Biotechnologie Bioengineering* **35**, 578-585.

JUNKER B. H., WANG D.I.C., HATTON T. A. [1990]. Oxygen transfer enhancement in aqueous/perfluorocarbon fermentation systems: II. Theoretical analysis. *Biotechnologie Bioengineering* **35**, 586-597.

KANG Z., YEUNG A., FOGHT J. M., GRAY M. R. [2008]. Mechanical properties of hexadecane–water interfaces with adsorbed hydrophobic bacteria. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **62**, 273–279.

KITAMOTO D., ISODA H., NAKAHARA T. [2001]. Functions and Potential applications of glycolipid biosurfactants : from energy-saving materials to gene delivery carriers. *Journal of bioscience and bioengineering* **94**, 187-201.

KLUYTMANS J.H.J., VAN WACHEM B.G.M., KUSTER B.F.M. [2003] - Mass transfer in sparged and stirred reactors: influence of carbon particles and electrolyte. *Chem. Eng. Sci.* **58**, 4719–4728.

KONE T. [2006]. Caracterisation de l'évolution à moyen terme d'un réacteur biphasique destiné a la biodégradation des composés organiques volatils dans les effluents gazeux. *FUSAGx*. DES.

KRETSCHMER A., BOCK H., WAGNER F. [1982]. Chemical and physical characterization of interfacial-active lipids from *Rhodococcus erythropolis* grown on n-alkanes. *Applied and environmental microbiology* **44**, 864-870.

KUYUKINA M.S., IVSHINA I.B., PHILP J.C., CHRISTOFI N., DUNBAR S. A., RITCHKOVA M. I. [2001]. Recovery of *Rhodococcus* biosurfactants using methyl tertiary-butyl ether extraction. *Journal of microbiological methods* **46**, 149-156.

LABRECQUE M. H. [2003] Etude de la capacité de deux souches de levure à dégrader le xylène. *Université de Laval*. Thèse de doctorat.

LANG S., PHILP J.C. [1998]. Surface active lipids in *Rhodococci*. *Antonie van Leeuwenhoek* **74**, 59-70.

LEAL-CALDERON F., SCHMITT V. [2008]. Solid-stabilized emulsions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* **13**, 217–227.

LEVEAU J. Y., BOUX M. [1993]. *Microbiologie industrielle, les microorganismes d'intérêt industriel*. Paris : technique et documentation – Lavoisier.

LINEK V., BENES P. [1976]. A study of the mechanism of gas absorption into oil-in-water emulsions. *Chem. Eng. Sci.* **31**, 1037-1046.

LITTLEJOHNS J.V., DAUGULIS A. J. [2007]. Oxygen transfer in a gas–liquid system containing solids of varying oxygen affinity. *Chemical Engineering Journal* **129**, 67–74.

MAC LEOD C.T., DAUGULIS A.J. [2005]. Interfacial effects in a two-phase partitioning bioreactor : degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by a hydrophobic Mycobacterium. *Process biochemistry* **40**, 1799-1805.

MANÉRO M-H. [2003]. *Elimination des odeurs et des COV – Transfert gaz-liquide dans les procédés de traitement des eaux et des effluents gazeux*. Ed Paris : Lavoisier

MARTIN M., BOSCH P., PARRA J.L., ESPUNY M.J., VIRGILI A. [1991]. Structure and bioconversion of threalose lipids. *Carbohydr. Res.* **220**, 93-100.

MBUYI MUNDELA D [2005]. Etude de la densité de l'inoculum sur l'efficacité d'un réacteur biphasique destiné à la biodégradation des composés organiques volatils dans les effluents gazeux. *FUSAGx*. DES.

MOILANEN P., LAAKKONEN M., AITTAMAA J. [2003]. Measurement of local bubble size distributions in stirred vessels using various techniques. Prepared for presentation at AIChE 2003 Annual meeting, November 16-21, Gas-liquid mixing. Unpublished.

MOE W.M., Qi B. [2004]. Performance of a fungal biofilter treating gas-phase solvent mixtures during intermittent loading. *Water Research* **38**, 2259-2268.

MOMAS I [1998]. La santé mise en jeu. *Biofutur* **175**, 14-17.

MONNEYRON P., MANERO M. H., FOUSSARD J. N., BENOIT-MARQUIÉ F., MAURETTE M. T. [2003]. Heterogeneous photocatalysis of butanol and methyl ethyl ketone—characterization of catalyst and dynamic study. *Chemical Engineering Science* **58**, 971-978.

MONTES F. J., CATALAN J., Galan M. A. [1999]. Prediction of k_{La} in yeast broths. *Process biochemistry* **34**, 549-555.

MORÃO A., MAIA C. I., FONSECA M. M. R., VASCONCELOS J. M. T., ALVES S. S. [1999]. Effect of antifoam addition on gas-liquide mass transfer in stirred fermenters. *Bioprocess and Biosystems Engineering* **20**, 165-172.

MOUMOU O. [2004]. Contribution à l'étude de l'effet de l'huile de silicone sur le transfert gaz-liquide au sein d'un réacteur biphasique destine a la biodégradation des composés organiques volatils. *FUSAGx*. DES.

MUNOZ R., ARRIAGA S., HERNANDEZ S., GUIEYSSE B., REVAH S. [2006]. Enhanced hexane biodegradation in a two phase partitioning bioreactor: Overcoming pollutant transport limitations. *Process Biochemistry* **41**, 1614–1619.

MUNOZ R., DIAZ L. F., BORDEL S., VILLAVERDE S. [2007]. Inhibitory effects of catechol accumulation on benzene biodégradation in pseudomonas putida F1 cultures. *Chemosphere* **68**, 244-252.

MUNOZ R., VILLAVERDE S., GUIEYSSE B., REVAH S. [2007]. Two-phase partitioning bioreactors for treatment of volatile organic compounds. *Biotechnology advances* **25**, 410-422.

NIELSEN D. R., DAUGULIS A. J., MCLELLAN P. J. [2005]. A restructured framework for modeling oxygen transfer in two-phase partitioning bioreactors. *Biotechnology and bioengineering* **91**, 773-777.

OZBEK B., GAYIK S. [2001]. The studies on the oxygen mass transfer coefficient in a bioreactor. *Process Biochemistry* **36**, 729-741.

OZKAN O., CALIMLI A., BERBER R., OGUZ H. [2000]. Effect of inert solid particles at low concentrations on gas-liquid mass transfer in mechanically agitated reactors. *Chemical Engineering Science* **55**, 2737-2740.

PAINMANAKUL P., LOUBIÈRE K., HÉBRARD G., MIETTON-PEUCHOT M., ROUSTAN M. [2005]. Effect of surfactants on liquid-side mass transfer coefficients. *Chemical Engineering Science* **60**, 6480-6491.

PARAKULSUKSATID P. [2000]. Utilisation of a microbubble dispersion to increase oxygen transfer in pilot-scale baker's yeast fermentation unit. *Institut polytechnique de virginie, Université d'état*. Thèse de doctorat.

PRE P., ANDRES Y., GERENTE C., LE CLOIREC P. [2004]. Bioprocédés en traitement de l'air. *Techniques de l'ingénieur, traité environnement*, **G 1. 780**, 1-19.

PREUSTING H., KINGMA J., WITHOLT B. [1991]. Physiology and polyester formation of *Pseudomonas oleovorans* in continuous two-liquid-phase cultures. *Enzyme and Microbial Technology* **13**, 770-780.

PUDGE IB, DAUGULIS A.J., DUBOIS C. [2003]. The use of *Enterobacter cloacae* ATCC 43560 in the development of a two-phase partitioning bioreactor for the destruction of hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-s-triazine (RDX). *Journal of Biotechnology* **100** (1-9), 65-75.

RAPP P., BOCK H., WRAY V., WAGNER F. [1979]. Formation, isolation and characterization of trehalose dimycolates from *Rhodococcus erythropolis* Grown on n-alkanes. *J Gen Microbiol* **115**, 491-503.

ROUSTAN [2003] - *Transfert gaz liquide dans les procédés de traitement des eaux et des effluents gazeux* – Editions Lavoisier, 798p.

RUTHIYA K.C., VAN DER SCHAAF J., KUSTER B. F. M., SCHOUTEN J.C. [2003]. Mechanisms of physical and reaction enhancement of mass transfer in a gas inducing stirred slurry reactor. *Chemical Engineering Journal* **96**, 55-69.

SARDEING R., PAINMANAKUL P., HÉBRARD G. [2006]. Effect of surfactants on liquid-side mass transfer coefficients in gas-liquid systems: A first step to modeling. *Chemical Engineering Science* **61**, 6249-6260.

- SCHMID A., KOLLMER A., WITHOLT B. [1998]. Effect of biosurfactant and emulsification on two-liquide phase *Pseudomonas oleovorans* culture and cell-free emulsions containing n-decane. *Enzyme and microbial technology* **22**, 487-493.
- SCHROEDER E. D. [2002]. Trends in application of gas-phase bioreactors. *Views in environmental science and biotechnology* **1**, 65-74.
- SCHWARZ B.C.E., DEVINNY J.S., TSOTSIS T.T. [1999]. Degradation of PCE in an anaerobic waste gas by biofiltration. *Chemical Engineering Science* **54** (15-16), 3187-3195.
- SHARMA M. M., MASHELKAR R. A. [1968]. Absorption with reaction in bubble columns – *Inst. Chem. Eng. symp.* **28**, 10-21.
- SINDIC M. [2006]. Cours de physico-chimie des formulations. *FUSAGx*.
- STANIER R. Y. [1987]. *General microbiology*, fifth edition. Paris : Macmillan education.
- SUSAN M. C., DAUGULIS A. J., MCLELLAN P. J. [2000]. Modelling of a continuous two-phase partitionning bioreactor for the degradation of xenobiotics. *Process Biochemistry* **35**, 1027-1035.
- TABOADA B., LARRALDE P., BRITO T., VEGA-ALVARADO L., DIAZ R., GALINDO E., CORKIDI G. [2003]. Images acquisition of multiphase dispersions in fermentation processes. *Journal of Applied Sciences and Technology* **1**, 78-84.
- THONART P. [2006]. Cours d'industries d'extraction et de fermentation 1^{ère} partie. *FUSAGx*.
- TURTOI M., HOPUELE T., CARAMAN S. [2000]. Modeling of the biodegradation in multiphase stirred tank reactor. *The annals of "Dunarea De Jos" University of galati fascicle III* **1221-454**, 80-85.
- VAN GROENESTIJN J.W., KRAAKMAN N.J.R. [2005]. Recent developments in biological waste gas purification in europe. *Chemical Engineering Journal* **113** (2-3), 85-91.
- WATKINSON, R. J., MORGAN P. [1990]. Physiology of aliphatic hydrocarbondegrading microorganisms. *Biodegradation* **1**, 79–92.
- WEEKERS F., RODRIGUEZ C., JACQUES P., MERGEAY M., THONART P. [2001]. Dissemination of catabolic plasmids among dessication-tolerant bacteria in soil microcosms. *Applied biochemistry and biotechnology* **91-93**, 219-232.
- YEOM S., DALM M. C. F., DAUGULIS A. J. [2000]. Treatment of high concentration gaseous benzene streams using a novel bioreactor system. *Biotechnology Letters* **22**, 1747-1752.
- YEOM S., DAUGULIS A. J. [2000]. Development of a novel bioreactor system for treatment of gaseous benzene. *Biotechnology and Bioengineering* **72** (2), 156 – 165.
- YEOM S.H., YOO Y.J. [1999] Removal of benzene in a hybrid bioreactor. *Process Biochemistry* **34** (3), 281-288.

ZHAO S., KUTTUVA S. G., JU L. K. [1999]. Oxygen transfer characteristics of multi-phase dispersions simulating water-in-oil xanthan fermentation. *Bioprocess. Eng.* **20**, 313-323.

VIII. ANNEXES

ANNEXE 1

Dosage des protéines : méthode de bradford

Principe

En milieu acide, les protéines forment des complexes avec les colorants organiques à groupements sulfoniques, qui se fixent, sur les groupements protonés des chaînes latérales des acides aminés basiques (lysine, arginine, histidine) et le α -NH₂ libre de la chaîne polypeptidique. Dans la méthode de bradford, le bleu de coomassie forme avec les protéines un complexe coloré présentant un maximum d'absorbance à 595 nm.

Réactif

Réactif de bradford (bleu de coomassie) : 100 mg de bleu de coomassie (brillant blue G sigma) sont dissous dans 50 ml d'éthanol 96%, ensuite, ajouter 100 ml de l'acide phosphorique à 85% et ramener à 1000 ml avec de l'eau distillée. La solution filtrée est conservée à l'abri de la lumière.

Protocole

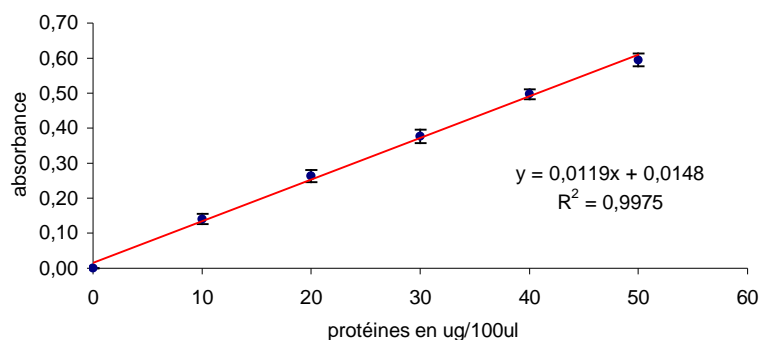
- Mettre 100 μ l de l'échantillon dans un tube ;
- Ajouter dans le tube 4 ml du réactif de bradford, mélanger au vortex et laisser reposer 10 minutes à l'abri de la lumière ;
- Mesurer l'absorbance à 595 nm en utilisant comme référence l'eau distillée ;

La teneur en protéines est exprimée par rapport à la droite étalon du sérum d'albumine de bœuf (BSA). Cette courbe représente les absorbances en fonction de la concentration croissante en albumine en μ g.

Construction de la courbe d'étalonnage

- préparer une solution 1/1000 d'albumine bovine (Sigma-aldrich, Germany), soit 1g/l ;
- Réaliser la courbe de calibrage contenant de 20 à 50 μ g de protéines selon le protocole indiqué ;
- Tracer la courbe ;

La teneur en protéines du surfactant est obtenue en rapportant l'absorbance à l'équation de la droite trouvée à partir de la courbe d'étalonnage.



ANNEXE 2

Méthode phénol-acide sulfurique (Dubois et al, 1956)

Principe

Le phénol, en présence d'acide sulfurique peut être utilisé pour le dosage quantitatif des sucres et leurs dérivés méthylés, des oligosaccharides et polysaccharides. C'est une méthode colorimétrique.

Réactifs

- de l'acide sulfurique 95% massique de densité 1,84 ;
- du phénol 80% massique préparé en ajoutant 20 g d'eau distillée glacée à 80g de phénol ;

Protocole

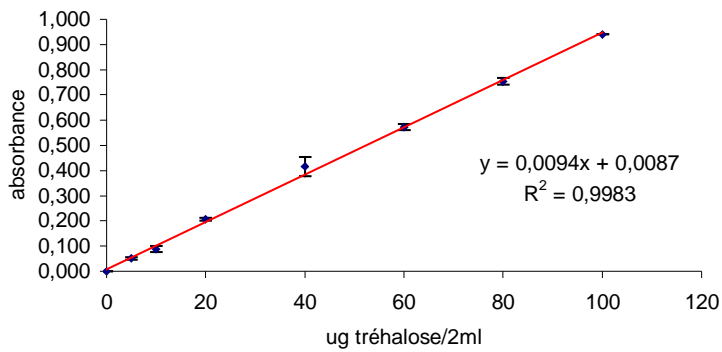
- 2 ml de solution sucrée, contenant entre 10 et 70 μ g de sucre, est pipetée et placée dans un tube à essais ;
- 0,05 ml de phénol à 80% sont ajoutés ;
- 5 ml d'acide sulfurique concentré sont ajoutés rapidement et de manière à ce que le mélange soit homogène ;
- les tubes sont laissés au repos 10 minutes, puis agités et placés pendant 10 à 20 minutes à une température entre 25° et 30° C.
- l'absorbance est mesurée à la longueur d'onde de 490 nm.

La teneur en hexoses est exprimée par rapport à la droite étalon du tréhalose. Cette courbe représente les absorbances en fonction de la concentration croissante en tréhalose en μ g.

Construction de la courbe d'étalonnage

- préparer une solution 1/1000 en tréhalose, soit 1g/l ;
- Réaliser la courbe de calibrage contenant de 0 à 100 µg d'hexoses selon le protocole indiqué ;
- Tracer la courbe ;

La teneur en hexoses du surfactant est obtenue en rapportant l'absorbance à l'équation de la droite trouvée à partir de la courbe d'étalonnage.



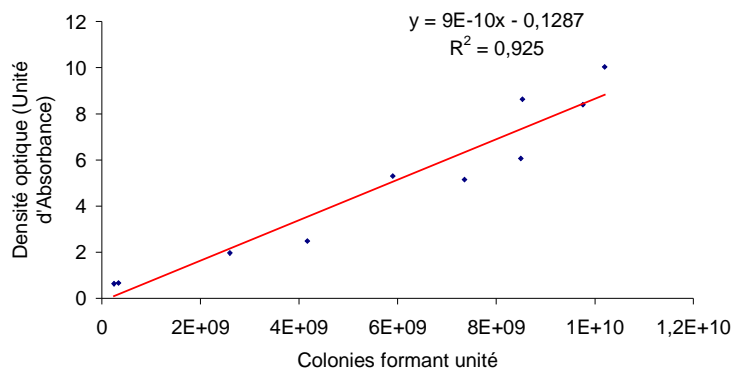
ANNEXE 3

Corrélation Densité optique – Biomasse



ANNEXE 4

Corrélation Densité Optique – CFU.



ANNEXE 5

Mesures de tensiométrie sur l'huile de silicone.

LAUDA DROP-VOLUME-TENSIOMETER TVT1				
Sample: eau-huile sil			sebastien	T = 25.0 C°
Mode: DYN	SVol = 5.0 ml	r = 1.050 mm	d = 0.064 g/ml	N = 2 x 3
Nr	σ [mN/m]	V [μ l]	t [s]	
1	38.96 \pm 0.04	350.28	56.4 \pm 0.4	Interface Tension: $\sigma(\infty) = 38.09 \pm 0.01$ mN/m last 3 cycles extrapol. $d\sigma/dt = -0.000$ mN/ms Correlation = 0.9860 Mean Reproducibility of Single Drops: Volume: ± 0.20 μ l Stroke: ± 2.5 μ m
2	38.57 \pm 0.00	346.50	244.6 \pm 1.3	
3	38.38 \pm 0.03	344.65	404.3 \pm 1.6	
				s/ μ l 0.04 x 1 x 2 x 5 x20 Red: ON
File Name:c:\jm\SEBARSOU.TVT			t = 0.04 - 0.40 s/ μ l, dt = 0.178 s/ μ l	
>Data Set: 2<			>09-10-1983 21:18:59<	

LAUDA DROP-VOLUME-TENSIOMETER TVT1										
Sample: eau-huile sil			sebastien	T = 25.0 C°						
Mode: DYN	SVol = 5.0 ml	r = 1.050 mm	d = 0.064 g/ml	N = 2 x 3						
Nr	σ [mN/m]	V [μ l]	t [s]							
1	38.62 \pm 0.12	346.97	56.9 \pm 1.0	Interface Tension: $\sigma(\infty) = 38.08 \pm 0.01$ mN/m last 3 cycles extrapol. $d\sigma/dt = -0.000$ mN/ms Correlation = 0.9662 Mean Reproducibility of Single Drops: Volume: ± 0.71 μ l Stroke: ± 8.5 μ m						
2	38.40 \pm 0.10	344.85	245.9 \pm 4.0							
3	38.25 \pm 0.02	343.38	400.3 \pm 0.2							
				<table border="1"> <thead> <tr> <th>s/μl</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.04</td> </tr> <tr> <td>x 1</td> </tr> <tr> <td>x 2</td> </tr> <tr> <td>x 5</td> </tr> <tr> <td>x20</td> </tr> </tbody> </table> Red: ON	s/ μ l	0.04	x 1	x 2	x 5	x20
s/ μ l										
0.04										
x 1										
x 2										
x 5										
x20										
File Name: c:\jm\SEBABLAN.TVT			t = 0.04 - 0.40 s/ μ l, dt = 0.178 s/ μ l							
Data Set: 1<			>09-11-1983 01:27:15<							

ANNEXES 6

Programmes MATLAB

6.1 Extrapolation

Programme 1

```
clear all
frame_init = 1050;
frame_interval = 100;
frame_final = 3050;

index = frame_init:frame_interval:frame_final;
% indices des images à extraire dans la vidéo

info = aviinfo('OUTdc55');

% Frames extraction governed by index (see below)
file1 = aviread('OUTdc55',index(1));
file2 = aviread('OUTdc55',index(2));
file3 = aviread('OUTdc55',index(3));
file4 = aviread('OUTdc55',index(4));
file5 = aviread('OUTdc55',index(5));
file6 = aviread('OUTdc55',index(6));
file7 = aviread('OUTdc55',index(7));
file8 = aviread('OUTdc55',index(8));
file9 = aviread('OUTdc55',index(9));
file10 = aviread('OUTdc55',index(10));
file11 = aviread('OUTdc55',index(11));
file12 = aviread('OUTdc55',index(12));
file13 = aviread('OUTdc55',index(13));
file14 = aviread('OUTdc55',index(14));
file15 = aviread('OUTdc55',index(15));
file16 = aviread('OUTdc55',index(16));
file17 = aviread('OUTdc55',index(17));
file18 = aviread('OUTdc55',index(18));
file19 = aviread('OUTdc55',index(19));
file20 = aviread('OUTdc55',index(20));

% Frames conversion to images
image1 = frame2im(file1);
```

```
image2 = frame2im(file2);
image3 = frame2im(file3);
image4 = frame2im(file4);
image5 = frame2im(file5);
image6 = frame2im(file6);
image7 = frame2im(file7);
image8 = frame2im(file8);
image9 = frame2im(file9);
image10 = frame2im(file10);
image11 = frame2im(file11);
image12 = frame2im(file12);
image13 = frame2im(file13);
image14 = frame2im(file14);
image15 = frame2im(file15);
image16 = frame2im(file16);
image17 = frame2im(file17);
image18 = frame2im(file18);
image19 = frame2im(file19);
image20 = frame2im(file20);

% Cadrage des images
i_inf = 85; % à modifier
i_sup = 155; % à modifier
j_inf = 40; % à modifier
j_sup = 290; % à modifier
image1_corr = image1(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup,1);
image2_corr = image2(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup,1);
image3_corr = image3(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup,1);
image4_corr = image4(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup,1);
image5_corr = image5(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup,1);
image6_corr = image6(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup,1);
image7_corr = image7(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup,1);
image8_corr = image8(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup,1);
image9_corr = image9(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup,1);
image10_corr = image10(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup,1);
image11_corr = image11(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup,1);
image12_corr = image12(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup,1);
image13_corr = image13(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup,1);
image14_corr = image14(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup,1);
image15_corr = image15(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup,1);
image16_corr = image16(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup,1);
image17_corr = image17(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup,1);
image18_corr = image18(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup,1);
image19_corr = image19(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup,1);
image20_corr = image20(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup,1);
```

```
% Background suppression
threshold = 220;
ind1 = find(image1_corr >= threshold);
ind2 = find(image2_corr >= threshold);
ind3 = find(image3_corr >= threshold);
ind4 = find(image4_corr >= threshold);
ind5 = find(image5_corr >= threshold);
ind6 = find(image6_corr >= threshold);
ind7 = find(image7_corr >= threshold);
ind8 = find(image8_corr >= threshold);
ind9 = find(image9_corr >= threshold);
ind10 = find(image10_corr >= threshold);
ind11 = find(image11_corr >= threshold);
ind12 = find(image12_corr >= threshold);
ind13 = find(image13_corr >= threshold);
ind14 = find(image14_corr >= threshold);
ind15 = find(image15_corr >= threshold);
ind16 = find(image16_corr >= threshold);
ind17 = find(image17_corr >= threshold);
ind18 = find(image18_corr >= threshold);
ind19 = find(image19_corr >= threshold);
ind20 = find(image20_corr >= threshold);

image1_corr(ind1) = 250;
image2_corr(ind2) = 250;
image3_corr(ind3) = 250;
image4_corr(ind4) = 250;
image5_corr(ind5) = 250;
image6_corr(ind6) = 250;
image7_corr(ind7) = 250;
image8_corr(ind8) = 250;
image9_corr(ind9) = 250;
image10_corr(ind10) = 250;
image11_corr(ind11) = 250;
image12_corr(ind12) = 250;
image13_corr(ind13) = 250;
image14_corr(ind14) = 250;
image15_corr(ind15) = 250;
image16_corr(ind16) = 250;
image17_corr(ind17) = 250;
image18_corr(ind18) = 250;
image19_corr(ind19) = 250;
image20_corr(ind20) = 250;

% Inversion des intensités
image1_corr = imcomplement(image1_corr);
```



```

image2_corr = imcomplement(image2_corr);
image3_corr = imcomplement(image3_corr);
image4_corr = imcomplement(image4_corr);
image5_corr = imcomplement(image5_corr);
image6_corr = imcomplement(image6_corr);
image7_corr = imcomplement(image7_corr);
image8_corr = imcomplement(image8_corr);
image9_corr = imcomplement(image9_corr);
image10_corr = imcomplement(image10_corr);
image11_corr = imcomplement(image11_corr);
image12_corr = imcomplement(image12_corr);
image13_corr = imcomplement(image13_corr);
image14_corr = imcomplement(image14_corr);
image15_corr = imcomplement(image15_corr);
image16_corr = imcomplement(image16_corr);
image17_corr = imcomplement(image17_corr);
image18_corr = imcomplement(image18_corr);
image19_corr = imcomplement(image19_corr);
image20_corr = imcomplement(image20_corr);

```

```

% Images originales
image1_or = image1(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup);
image2_or = image2(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup);
image3_or = image3(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup);
image4_or = image4(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup);
image5_or = image5(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup);
image6_or = image6(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup);
image7_or = image7(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup);
image8_or = image8(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup);
image9_or = image9(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup);
image10_or = image10(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup);
image11_or = image11(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup);
image12_or = image12(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup);
image13_or = image13(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup);
image14_or = image14(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup);
image15_or = image15(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup);
image16_or = image16(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup);
image17_or = image17(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup);
image18_or = image18(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup);
image19_or = image19(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup);
image20_or = image20(i_inf:i_sup,j_inf:j_sup);

```

```
% Extraction de données
```

```

figure(1)
subplot(3,3,1),imshow(image1_corr),title('1 sec')
subplot(3,3,2),imshow(image3_corr),title('2 sec')
subplot(3,3,3),imshow(image5_corr),title('3 sec')
subplot(3,3,4),imshow(image7_corr),title('4 sec')
subplot(3,3,5),imshow(image9_corr),title('5 sec')
subplot(3,3,6),imshow(image11_corr),title('6 sec')
subplot(3,3,7),imshow(image13_corr),title('7 sec')
subplot(3,3,8),imshow(image15_corr),title('8 sec')
subplot(3,3,9),imshow(image20_corr),title('9 sec')

```

```

figure(2)
subplot(3,3,1),imshow(image1_or),
subplot(3,3,2),imshow(image3_or),
subplot(3,3,3),imshow(image5_or),
subplot(3,3,4),imshow(image7_or),
subplot(3,3,5),imshow(image9_or),
subplot(3,3,6),imshow(image11_or),
subplot(3,3,7),imshow(image13_or),
subplot(3,3,8),imshow(image15_or),
subplot(3,3,9),imshow(image20_or)

```

Programme 2

```
S = size(image1_corr);
```

```

matrix_1 = double(image1_corr);
for i = 1:S(2)
    profile1(i)=mean(matrix_1(:,i));
end
matrix_2 = double(image2_corr);
for i = 1:S(2)
    profile2(i)=mean(matrix_2(:,i));
end
matrix_3 = double(image3_corr);
for i = 1:S(2)
    profile3(i)=mean(matrix_3(:,i));
end
matrix_4 = double(image4_corr);
for i = 1:S(2)
    profile4(i)=mean(matrix_4(:,i));
end
matrix_5 = double(image5_corr);
for i = 1:S(2)
    profile5(i)=mean(matrix_5(:,i));
end
matrix_6 = double(image6_corr);
for i = 1:S(2)
    profile6(i)=mean(matrix_6(:,i));
end

```

```

matrix_7 = double(image7_corr);
for i = 1:S(2)
    profile7(i)=mean(matrix_7(:,i));
end
matrix_8 = double(image8_corr);
for i = 1:S(2)
    profile8(i)=mean(matrix_8(:,i));
end
matrix_9 = double(image9_corr);
for i = 1:S(2)
    profile9(i)=mean(matrix_9(:,i));
end
matrix_10 = double(image10_corr);
for i = 1:S(2)
    profile10(i)=mean(matrix_10(:,i));
end
matrix_11 = double(image11_corr);
for i = 1:S(2)
    profile11(i)=mean(matrix_11(:,i));
end
matrix_12 = double(image12_corr);
for i = 1:S(2)
    profile12(i)=mean(matrix_12(:,i));
end
matrix_13 = double(image13_corr);
for i = 1:S(2)
    profile13(i)=mean(matrix_13(:,i));
end
matrix_14 = double(image14_corr);
for i = 1:S(2)
    profile14(i)=mean(matrix_14(:,i));
end
matrix_15 = double(image15_corr);
for i = 1:S(2)
    profile15(i)=mean(matrix_15(:,i));
end
matrix_16 = double(image16_corr);
for i = 1:S(2)
    profile16(i)=mean(matrix_16(:,i));
end
matrix_17 = double(image17_corr);
for i = 1:S(2)
    profile17(i)=mean(matrix_17(:,i));
end
matrix_18 = double(image18_corr);
for i = 1:S(2)
    profile18(i)=mean(matrix_18(:,i));
end
matrix_19 = double(image19_corr);
for i = 1:S(2)
    profile19(i)=mean(matrix_19(:,i));
end
matrix_20 = double(image20_corr);
for i = 1:S(2)
    profile20(i)=mean(matrix_20(:,i));
end

```

```

plot(1:length(profile1),profile1,1:length(profile1),
profile2,1:length(profile1),profile3,1:length(profile1),
profile4,1:length(profile1),profile5,1:length(profile1),
profile6,1:length(profile1),profile7,1:length(profile1),
profile8,1:length(profile1),profile9,1:length(profile1),
profile10,1:length(profile1),profile11,1:
length(profile1),profile12,1:length(profile1),
profile13,1:length(profile1),profile14,1:
length(profile1),profile15,1:length(profile1),
profile16,1:length(profile1),profile17,
1:length(profile1),profile18,1:length(profile1),
profile19,1:length(profile1),profile20)

```

Programme 3

```

val1 = trapz(profile1);
val2 = trapz(profile2);
val3 = trapz(profile3);
val4 = trapz(profile4);
val5 = trapz(profile5);
val6 = trapz(profile6);
val7 = trapz(profile7);
val8 = trapz(profile8);
val9 = trapz(profile9);
val10 = trapz(profile10);
val11 = trapz(profile11);
val12 = trapz(profile12);
val13 = trapz(profile13);
val14 = trapz(profile14);
val15 = trapz(profile15);
val16 = trapz(profile16);
val17 = trapz(profile17);
val18 = trapz(profile18);
val19 = trapz(profile19);
val20 = trapz(profile20);

```

```

int = [val1 val2 val3 val4 val5 val6 val7
val8 val9 val10 val11 val12 val13 val14
val15 val16 val17 val18 val19 val20];

```

```

time = index(1:20)./15;
coeff = polyfit(time,int,1);
int2 = coeff(1)*time+coeff(2);
plot(time,int,'o',time,int2)

```

Correction de la variation de volume 1

% A ce niveau, il faut choisir une image représentative (à mi décantation) au moyen de imshow(imageX_or) % Il faut aussi vérifier que le cadrage des trois tranches est correct et qu'il ne comporte pas de blanc

```
% Cadrage des images
```

```
% Pour les hauteurs de l'image, on laisse constant % pour les largeurs (y) on doit prendre trois fenêtres différentes
```

```
% première fenêtre
```

```
i1_inf = 85; % à modifier éventuellement
i1_sup = 155; % à modifier éventuellement
```

```
j1_inf = 40; % première tranche décantat :
MODIFIER ICI !
j1_sup = 50;
```

```
i2_inf = 85; % à modifier éventuellement
i2_sup = 155; % à modifier éventuellement
```

```
j2_inf = 250; % Première tranche "non décanté" :
MODIFIER ICI !
j2_sup = 260;
```

```
% deuxième fenêtre
```

```
i3_inf = 85; % à modifier éventuellement
i3_sup = 155; % à modifier éventuellement
```

```
j3_inf = 50; % deuxième tranche décantat :
MODIFIER ICI !
j3_sup = 60;
```

```
i4_inf = 85; % à modifier éventuellement
i4_sup = 155; % à modifier éventuellement
```

```
j4_inf = 260; % deuxième tranche "non décanté" :
MODIFIER ICI !
j4_sup = 270;
```

```
% Troisième fenêtre
```

```
i5_inf = 85; % à modifier éventuellement
i5_sup = 155; % à modifier éventuellement
```

```
j5_inf = 60; % Troisième tranche décantat :
MODIFIER ICI !
j5_sup = 70;
```

```
i6_inf = 85; % à modifier éventuellement
i6_sup = 155; % à modifier éventuellement
```

```
j6_inf = 270; % Troisième tranche "non décanté" :
MODIFIER ICI !
j6_sup = 280;
```

```
% définition des 3 X 2 cadres d'analyse
```

```
% premier groupe d'image
```

```
image71_corr = image7(i1_inf:i1_sup,j1_inf:j1_sup,1)
; % modifier éventuellement le numéro de l'image
image72_corr = image7(i2_inf:i2_sup,j2_inf:j2_sup,1)
; % modifier éventuellement le numéro de l'image
```

```
% deuxième groupe d'image
```

```
image73_corr = image7(i3_inf:i3_sup,j3_inf:j3_sup,1)
; % modifier éventuellement le numéro de l'image
image74_corr = image7(i4_inf:i4_sup,j4_inf:j4_sup,1)
; % modifier éventuellement le numéro de l'image
```

```
% troisième groupe d'image
image75_corr = image7(i5_inf:i5_sup,j5_inf:j5_sup,1)
% modifier éventuellement le numéro de l'image
image76_corr = image7(i6_inf:i6_sup,j6_inf:j6_sup,1)
% modifier éventuellement le numéro de l'image
```

```
% correction du bruit de fond
```

```
ind71 = find(image71_corr>=treshold);
ind72 = find(image72_corr>=treshold);
ind73 = find(image73_corr>=treshold);
ind74 = find(image74_corr>=treshold);
ind75 = find(image75_corr>=treshold);
ind76 = find(image76_corr>=treshold);
```

```
image71_corr(ind71) = 250;
image72_corr(ind72) = 250;
image73_corr(ind72) = 250;
image74_corr(ind72) = 250;
image75_corr(ind72) = 250;
image76_corr(ind72) = 250;
```

```
%inversion des intensités
```

```
image71_corr= imcomplement(image71_corr);
image72_corr= imcomplement(image72_corr);
image73_corr= imcomplement(image73_corr);
image74_corr= imcomplement(image74_corr);
image75_corr= imcomplement(image75_corr);
image76_corr= imcomplement(image76_corr);
```

```
% images originales
```

```
image71_or = image7(i1_inf:i1_sup,j1_inf:j1_sup,:);
image72_or = image7(i2_inf:i2_sup,j2_inf:j2_sup,:);
```

```
image73_or = image7(i3_inf:i3_sup,j3_inf:j3_sup,:);
image74_or = image7(i4_inf:i4_sup,j4_inf:j4_sup,:);
```

```
image75_or = image7(i5_inf:i5_sup,j5_inf:j5_sup,:);
image76_or = image7(i6_inf:i6_sup,j6_inf:j6_sup,:);
```

```
% Extraction de données
```

```
subplot(2,3,1),imshow(image71_or),subplot(2,3,2)
,imshow(image73_or),subplot(2,3,3)
,imshow(image75_or), subplot(2,3,4)
,imshow(image72_or),subplot(2,3,5)
,imshow(image74_or),subplot(2,3,6)
,imshow(image76_or)
```

Correction de la variation

de volume 2

```
% définition de taille d'une fenêtre
```

```
S = size(image71_corr);
```

```
% premier couple de données (sample 1)
```

```
matrix_sup71 = double(image71_corr);
for i = 1:S(2)
    profilesup71(i)=mean(matrix_sup71(:,i));
end
matrix_inf72 = double(image72_corr);
for i = 1:S(2)
    profileinf72(i)=mean(matrix_inf72(:,i));
end
```

```
% Deuxième couple de données (sample 2)
```

```
matrix_sup73 = double(image73_corr);
for i = 1:S(2)
    profilesup73(i)=mean(matrix_sup73(:,i));
end
matrix_inf74 = double(image74_corr);
for i = 1:S(2)
    profileinf74(i)=mean(matrix_inf74(:,i));
end
```

```
% Troisième couple de données (sample 3)
```

```
matrix_sup75 = double(image75_corr);
for i = 1:S(2)
```

```
    profilesup75(i)=mean(matrix_sup75(:,i));
end
matrix_inf76 = double(image76_corr);
for i = 1:S(2)
    profileinf76(i)=mean(matrix_inf76(:,i));
end
```

```
plot(1:length(profilesup71),profilesup71,1
:length(profileinf72),profileinf72,1:
length(profilesup73),profilesup73,1:
length(profileinf74),profileinf74,1:1
ength(profilesup75),profilesup75,1:
length(profileinf76),profileinf76);
```

Correction de la variation

de volume 3

```
% mesure d'intensité dans fenêtre supérieur
et inférieure
```

```
Intensitesup71 = trapz(profilesup71);
Intensiteinf72 = trapz(profileinf72);
```

```
Intensitesup73 = trapz(profilesup73);
Intensiteinf74 = trapz(profileinf74)
```

```
Intensitesup75 = trapz(profilesup75);
Intensiteinf76 = trapz(profileinf76);
```

```
RapportA = Intensitesup71/Intensiteinf72;
RapportB = Intensitesup73/Intensiteinf74;
RapportC = Intensitesup75/Intensiteinf76;
```

```
moysup = mean ([Intensitesup71
Intensitesup73 Intensitesup75])
moyinf = mean ([Intensiteinf72
Intensiteinf74 Intensiteinf76])
```

```
Moyenne = mean([RapportA RapportB RapportC])
Ecartype = std([RapportA RapportB RapportC])
```

6.2 Caméra rapide

Programme 1

```
clear all
frame_init = 4000;
frame_interval = 5;
frame_final = 5000;
```

```
index = frame_init:frame_interval:frame_final;
% indice des images à extraire dans la vidéo
```

```
info = aviinfo('OUTimgA');
```

```
%Extraction des fichiers (200 fichiers) (see below)
```

```
file1 = aviread('OUTimgA',index(1));
file2 = aviread('OUTimgA',index(2));
file3 = aviread('OUTimgA',index(3));
file4 = aviread('OUTimgA',index(4));
file5 = aviread('OUTimgA',index(5));
file6 = aviread('OUTimgA',index(6));
file7 = aviread('OUTimgA',index(7));
file8 = aviread('OUTimgA',index(8));
file9 = aviread('OUTimgA',index(9));
file10 = aviread('OUTimgA',index(10));
file11 = aviread('OUTimgA',index(11));
file12 = aviread('OUTimgA',index(12));
```

```
file13 = aviread('OUTimgA',index(13));
file14 = aviread('OUTimgA',index(14));
file15 = aviread('OUTimgA',index(15));
file16 = aviread('OUTimgA',index(16));
file17 = aviread('OUTimgA',index(17));
file18 = aviread('OUTimgA',index(18));
file19 = aviread('OUTimgA',index(19));
file20 = aviread('OUTimgA',index(20));
file21 = aviread('OUTimgA',index(21));
file22 = aviread('OUTimgA',index(22));
file23 = aviread('OUTimgA',index(23));
file24 = aviread('OUTimgA',index(24));
```

```
file25 = aviread('OUTimgA',index(25));
file26 = aviread('OUTimgA',index(26));
file27 = aviread('OUTimgA',index(27));
file28 = aviread('OUTimgA',index(28));
file29 = aviread('OUTimgA',index(29));
file30 = aviread('OUTimgA',index(30));
file31 = aviread('OUTimgA',index(31));
file32 = aviread('OUTimgA',index(32));
file33 = aviread('OUTimgA',index(33));
file34 = aviread('OUTimgA',index(34));
file35 = aviread('OUTimgA',index(35));
file36 = aviread('OUTimgA',index(36));
```

```
file37 = aviread('OUTimgA',index(37));
file38 = aviread('OUTimgA',index(38));
file39 = aviread('OUTimgA',index(39));
file40 = aviread('OUTimgA',index(40));
file41 = aviread('OUTimgA',index(41));
file42 = aviread('OUTimgA',index(42));
file43 = aviread('OUTimgA',index(43));
file44 = aviread('OUTimgA',index(44));
file45 = aviread('OUTimgA',index(45));
file46 = aviread('OUTimgA',index(46));
file47 = aviread('OUTimgA',index(47));
file48 = aviread('OUTimgA',index(48));
```

```
file49 = aviread('OUTimgA',index(49));
file50 = aviread('OUTimgA',index(50));
file51 = aviread('OUTimgA',index(51));
file52 = aviread('OUTimgA',index(52));
file53 = aviread('OUTimgA',index(53));
file54 = aviread('OUTimgA',index(54));
file55 = aviread('OUTimgA',index(55));
file56 = aviread('OUTimgA',index(56));
file57 = aviread('OUTimgA',index(57));
file58 = aviread('OUTimgA',index(58));
file59 = aviread('OUTimgA',index(59));
file60 = aviread('OUTimgA',index(60));
```

```
file61 = aviread('OUTimgA',index(61));
file62 = aviread('OUTimgA',index(62));
file63 = aviread('OUTimgA',index(63));
file64 = aviread('OUTimgA',index(64));
file65 = aviread('OUTimgA',index(65));
file66 = aviread('OUTimgA',index(66));
file67 = aviread('OUTimgA',index(67));
file68 = aviread('OUTimgA',index(68));
file69 = aviread('OUTimgA',index(69));
file70 = aviread('OUTimgA',index(70));
file71 = aviread('OUTimgA',index(71));
file72 = aviread('OUTimgA',index(72));
```

```
file73 = aviread('OUTimgA',index(73));
file74 = aviread('OUTimgA',index(74));
file75 = aviread('OUTimgA',index(75));
file76 = aviread('OUTimgA',index(76));
file77 = aviread('OUTimgA',index(77));
file78 = aviread('OUTimgA',index(78));
file79 = aviread('OUTimgA',index(79));
file80 = aviread('OUTimgA',index(80));
file81 = aviread('OUTimgA',index(81));
file82 = aviread('OUTimgA',index(82));
file83 = aviread('OUTimgA',index(83));
file84 = aviread('OUTimgA',index(84));
```

```
file85 = aviread('OUTimgA',index(85));
file86 = aviread('OUTimgA',index(86));
file87 = aviread('OUTimgA',index(87));
file88 = aviread('OUTimgA',index(88));
file89 = aviread('OUTimgA',index(89));
file90 = aviread('OUTimgA',index(90));
file91 = aviread('OUTimgA',index(91));
file92 = aviread('OUTimgA',index(92));
file93 = aviread('OUTimgA',index(93));
file94 = aviread('OUTimgA',index(94));
file95 = aviread('OUTimgA',index(95));
file96 = aviread('OUTimgA',index(96));
```

```
file97 = aviread('OUTimgA',index(97));
file98 = aviread('OUTimgA',index(98));
file99 = aviread('OUTimgA',index(99));
file100 = aviread('OUTimgA',index(100));
```

```
file101 = aviread('OUTimgA',index(101));
file102 = aviread('OUTimgA',index(102));
file103 = aviread('OUTimgA',index(103));
file104 = aviread('OUTimgA',index(104));
file105 = aviread('OUTimgA',index(105));
file106 = aviread('OUTimgA',index(106));
file107 = aviread('OUTimgA',index(107));
file108 = aviread('OUTimgA',index(108));
file109 = aviread('OUTimgA',index(109));
file110 = aviread('OUTimgA',index(110));
file111 = aviread('OUTimgA',index(111));
```



```

profile165(i)=mean(matrix_165(:,i));
if (profile165(i)<lim )profile165(i)= 1;
else profile165(i)= 0;
end
end
matrix_166 = double(image166_corr);
for i = 1:S(2)
profile166(i)=mean(matrix_166(:,i));
if (profile166(i)<lim )profile166(i)= 1;
else profile166(i)= 0;
end
end
matrix_167 = double(image167_corr);
for i = 1:S(2)
profile167(i)=mean(matrix_167(:,i));
if (profile167(i)<lim )profile167(i)= 1;
else profile167(i)= 0;
end
end
matrix_168 = double(image168_corr);
for i = 1:S(2)
profile168(i)=mean(matrix_168(:,i));
if (profile168(i)<lim )profile168(i)= 1;
else profile168(i)= 0;
end
end
matrix_169 = double(image169_corr);
for i = 1:S(2)
profile169(i)=mean(matrix_169(:,i));
if (profile169(i)<lim )profile169(i)= 1;
else profile169(i)= 0;
end
end
matrix_170 = double(image170_corr);
for i = 1:S(2)
profile170(i)=mean(matrix_170(:,i));
if (profile170(i)<lim )profile170(i)= 1;
else profile170(i)= 0;
end
end
matrix_171 = double(image171_corr);
for i = 1:S(2)
profile171(i)=mean(matrix_171(:,i));
if (profile171(i)<lim )profile171(i)= 1;
else profile171(i)= 0;
end
end
matrix_172 = double(image172_corr);
for i = 1:S(2)
profile172(i)=mean(matrix_172(:,i));
if (profile172(i)<lim )profile172(i)= 1;
else profile172(i)= 0;
end
end
matrix_173 = double(image173_corr);
for i = 1:S(2)
profile173(i)=mean(matrix_173(:,i));
if (profile173(i)<lim )profile173(i)= 1;
else profile173(i)= 0;
end
end
matrix_174 = double(image174_corr);
for i = 1:S(2)
profile174(i)=mean(matrix_174(:,i));
if (profile174(i)<lim )profile174(i)= 1;
else profile174(i)= 0;
end
end
matrix_175 = double(image175_corr);
for i = 1:S(2)
profile175(i)=mean(matrix_175(:,i));
if (profile175(i)<lim )profile175(i)= 1;
else profile175(i)= 0;
end
end
matrix_176 = double(image176_corr);
for i = 1:S(2)
profile176(i)=mean(matrix_176(:,i));
if (profile176(i)<lim )profile176(i)= 1;
else profile176(i)= 0;
end
end
matrix_177 = double(image177_corr);
for i = 1:S(2)
profile177(i)=mean(matrix_177(:,i));
if (profile177(i)<lim )profile177(i)= 1;
else profile177(i)= 0;
end
end
matrix_178 = double(image178_corr);
for i = 1:S(2)
profile178(i)=mean(matrix_178(:,i));
if (profile178(i)<lim )profile178(i)= 1;
else profile178(i)= 0;
end
end
matrix_179 = double(image179_corr);
for i = 1:S(2)
profile179(i)=mean(matrix_179(:,i));
if (profile179(i)<lim )profile179(i)= 1;
else profile179(i)= 0;
end
end
matrix_180 = double(image180_corr);
for i = 1:S(2)
profile180(i)=mean(matrix_180(:,i));
if (profile180(i)<lim )profile180(i)= 1;
else profile180(i)= 0;
end
end
matrix_181 = double(image181_corr);
for i = 1:S(2)
profile181(i)=mean(matrix_181(:,i));
if (profile181(i)<lim )profile181(i)= 1;
else profile181(i)= 0;
end
end
matrix_182 = double(image182_corr);
for i = 1:S(2)
profile182(i)=mean(matrix_182(:,i));
if (profile182(i)<lim )profile182(i)= 1;
else profile182(i)= 0;
end
end
matrix_183 = double(image183_corr);
for i = 1:S(2)
profile183(i)=mean(matrix_183(:,i));
if (profile183(i)<lim )profile183(i)= 1;
else profile183(i)= 0;
end
end
matrix_184 = double(image184_corr);
for i = 1:S(2)
profile184(i)=mean(matrix_184(:,i));
if (profile184(i)<lim )profile184(i)= 1;
else profile184(i)= 0;
end
end
matrix_185 = double(image185_corr);
for i = 1:S(2)
profile185(i)=mean(matrix_185(:,i));
if (profile185(i)<lim )profile185(i)= 1;
else profile185(i)= 0;
end
end
matrix_186 = double(image186_corr);
for i = 1:S(2)
profile186(i)=mean(matrix_186(:,i));
if (profile186(i)<lim )profile186(i)= 1;
else profile186(i)= 0;
end
end
matrix_187 = double(image187_corr);
for i = 1:S(2)
profile187(i)=mean(matrix_187(:,i));
if (profile187(i)<lim )profile187(i)= 1;
else profile187(i)= 0;
end
end
matrix_188 = double(image188_corr);
for i = 1:S(2)
profile188(i)=mean(matrix_188(:,i));
if (profile188(i)<lim )profile188(i)= 1;
else profile188(i)= 0;
end
end
matrix_189 = double(image189_corr);
for i = 1:S(2)
profile189(i)=mean(matrix_189(:,i));
if (profile189(i)<lim )profile189(i)= 1;
else profile189(i)= 0;
end
end
matrix_190 = double(image190_corr);
for i = 1:S(2)
profile190(i)=mean(matrix_190(:,i));
if (profile190(i)<lim )profile190(i)= 1;
else profile190(i)= 0;
end
end
matrix_191 = double(image191_corr);
for i = 1:S(2)
profile191(i)=mean(matrix_191(:,i));
if (profile191(i)<lim )profile191(i)= 1;
else profile191(i)= 0;
end
end
matrix_192 = double(image192_corr);
for i = 1:S(2)
profile192(i)=mean(matrix_192(:,i));
if (profile192(i)<lim )profile192(i)= 1;
else profile192(i)= 0;
end
end
matrix_193 = double(image193_corr);
for i = 1:S(2)
profile193(i)=mean(matrix_193(:,i));
if (profile193(i)<lim )profile193(i)= 1;
else profile193(i)= 0;
end
end
matrix_194 = double(image194_corr);
for i = 1:S(2)
profile194(i)=mean(matrix_194(:,i));
if (profile194(i)<lim )profile194(i)= 1;
else profile194(i)= 0;
end
end
matrix_195 = double(image195_corr);
for i = 1:S(2)
profile195(i)=mean(matrix_195(:,i));
if (profile195(i)<lim )profile195(i)= 1;
else profile195(i)= 0;
end
end
matrix_196 = double(image196_corr);
for i = 1:S(2)
profile196(i)=mean(matrix_196(:,i));
if (profile196(i)<lim )profile196(i)= 1;
else profile196(i)= 0;
end
end
matrix_197 = double(image197_corr);
for i = 1:S(2)
profile197(i)=mean(matrix_197(:,i));
if (profile197(i)<lim )profile197(i)= 1;
else profile197(i)= 0;
end
end
matrix_198 = double(image198_corr);
for i = 1:S(2)
profile198(i)=mean(matrix_198(:,i));
if (profile198(i)<lim )profile198(i)= 1;
else profile198(i)= 0;
end
end
matrix_199 = double(image199_corr);
for i = 1:S(2)
profile199(i)=mean(matrix_199(:,i));
if (profile199(i)<lim )profile199(i)= 1;
else profile199(i)= 0;
end
end
matrix_200 = double(image200_corr);
for i = 1:S(2)
profile200(i)=mean(matrix_200(:,i));
if (profile200(i)<lim )profile200(i)= 1;
else profile200(i)= 0;
end
end
plot(1:length(profile1),profile1,1:length(profile1)
,profile2,1:length(profile1),profile3,1:length(profile1)
,profile4,1:length(profile1),profile5,1:length(profile1)
,profile6,1:length(profile1),profile7,1:length(profile1)
,profile8,1:length(profile1),profile9,1:length(profile1)
,profile10,1:length(profile1),profile11,1:length(profile12)
,profile12)
% profile total
profiletot = [profile1 profile2 profile3 profile4
profile5 profile6 profile7 profile8 profile9
profile10 profile11 profile12 profile13

```

Programme 3

```

profile14 profile15 profile16 profile17
profile18 profile19 profile20 profile21
profile22 profile23 profile24 profile25
profile26 profile27 profile28 profile29
profile30 profile31 profile32 profile33
profile34 profile35 profile36 profile37
profile38 profile39 profile40 profile41
profile42 profile43 profile44 profile45
profile46 profile47 profile48 profile49
profile50 profile51 profile52 profile53
profile54 profile55 profile56 profile57
profile58 profile59 profile60 profile61
profile62 profile63 profile64 profile65
profile66 profile67 profile68 profile69
profile70 profile71 profile72 profile73
profile74 profile75 profile76 profile77
profile78 profile79 profile80 profile81
profile82 profile83 profile84 profile85
profile86 profile87 profile88 profile89
profile90 profile91 profile92 profile93
profile94 profile95 profile96 profile97
profile98 profile99 profile100 profile101
profile102 profile103 profile104 profile105
profile106 profile107 profile108 profile109
profile110 profile111 profile112 profile113
profile114 profile115 profile116 profile117
profile118 profile119 profile120 profile121
profile122 profile123 profile124 profile125
profile126 profile127 profile128 profile129
profile130 profile131 profile132 profile133
profile134 profile135 profile136 profile137
profile138 profile139 profile140 profile141
profile142 profile143 profile144 profile145
profile146 profile147 profile148 profile149
profile150 profile151 profile152 profile153
profile154 profile155 profile156 profile157
profile158 profile159 profile160 profile161
profile162 profile163 profile164 profile165
profile166 profile167 profile168 profile169
profile170 profile171 profile172 profile173
profile174 profile175 profile176 profile177
profile178 profile179 profile180 profile181
profile182 profile183 profile184 profile185
profile186 profile187 profile188 profile189
profile190 profile191 profile192 profile193
profile194 profile195 profile196 profile197
profile198 profile199 profile200];

plot(1:length(profiletot),profiletot)

% génération de la matrice comprenant les longueurs de bulles

[Seq,time] = binaryvector(profiletot);

% suppression des zeros de la matrice générée
% attention: modifier éventuellement: mettre 2
% si ça commence par des 0 (eau) et mettre 1 si
% ça commence par des 1 (bulles)

time2 = time(1:2:numel(time));

% suppression des dimensions de

```

ANNEXE 7

Graphiques ayant permis l'obtention des figures 23 et 24

```

bulles dont la taille est inf à 40pixels
time3=time2(find(time2>30));
% mettre les données en colonne
time3=time3';

% sauve en fichier txt
save time.txt time3 -ascii;

S = size(image1_corr);

matrix_101 = double(image101_corr);
for i = 1:S(2)
    profile101(i)=mean(matrix_101(:,i));
end

matrix_102 = double(image102_corr);
for i = 1:S(2)
    profile102(i)=mean(matrix_102(:,i));
end

matrix_103 = double(image103_corr);
for i = 1:S(2)
    profile103(i)=mean(matrix_103(:,i));
end

matrix_104 = double(image104_corr);
for i = 1:S(2)
    profile104(i)=mean(matrix_104(:,i));
end

matrix_105 = double(image105_corr);
for i = 1:S(2)
    profile105(i)=mean(matrix_105(:,i));
end

matrix_106 = double(image106_corr);
for i = 1:S(2)
    profile106(i)=mean(matrix_106(:,i));
end

plot(1:length(profile1),profile101,1:length(profile1),
profile102,1:length(profile1),profile103,1:
length(profile1),profile104,1:length(profile1),
profile105,1:length(profile1),profile106);

```

Programme Annexe 2

```
% Fonction binaryvector
```

```

% Input : v
% Output : Seq et time
% Permet de traiter une séquence binaire (contenue
dans le vecteur v) en donnant la statistique des chaînes
de 1 et de 0 au sein de cette séquence
% Seq donne les indices de passage de 0 à 1 ou de
1 à 0 dans la séquence
% time donne la longueur des chaînes de 1 et de 0
dans la séquence (et dans l'ordre de la séquence)
% Astuce : on prend le vecteur binaire
original et on
décale la séquence d'un élément (ce qui
donne w dans
le code)
% exemple :
% v = [0 0 0 1 1 1 1 0 0 0 0 1 1 1 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0
1 1 1 0 0 1 1 1 1 1 1 1 0 0 0 0 1 1 1 0 0 0 0 0 1 1 0 0
0 1 1 1 1 1 1];

function [Seq,time] = binaryvector(v)

if v(1) == 0
w = [0 v];
w(numel(w)) = [];
end

if v(1) == 1
w = [1 v];
w(numel(w)) = [];
end

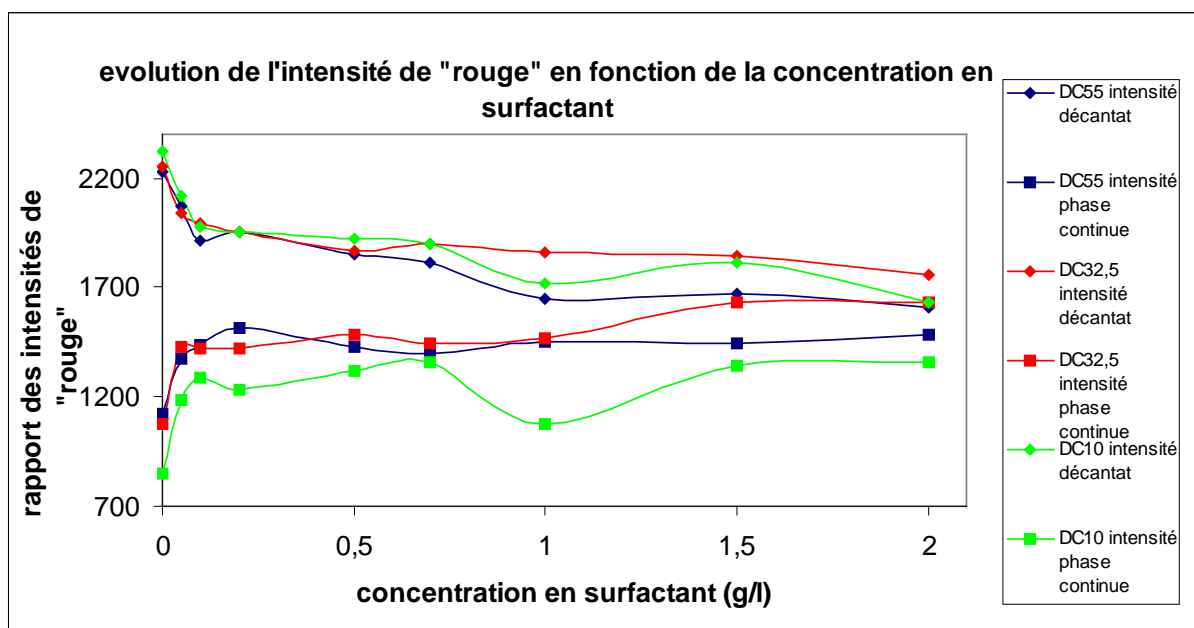
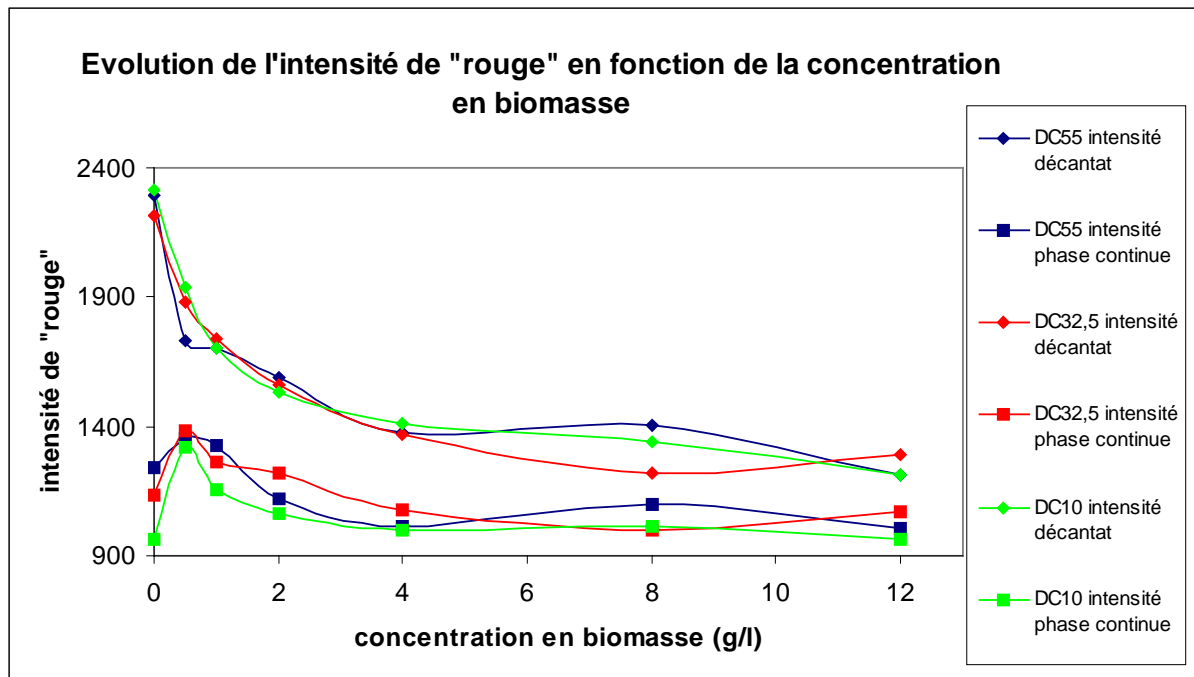
x = w-v; % la dernière séquence (dans exemple
111111) n'est pas prise en compte

ON = find(x==1)-1;
OFF = find(x==-1)-1;

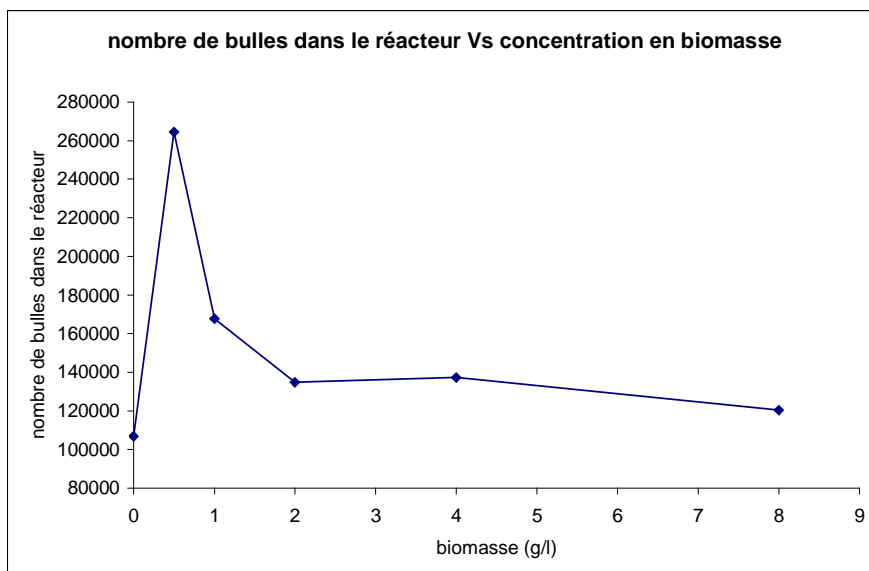
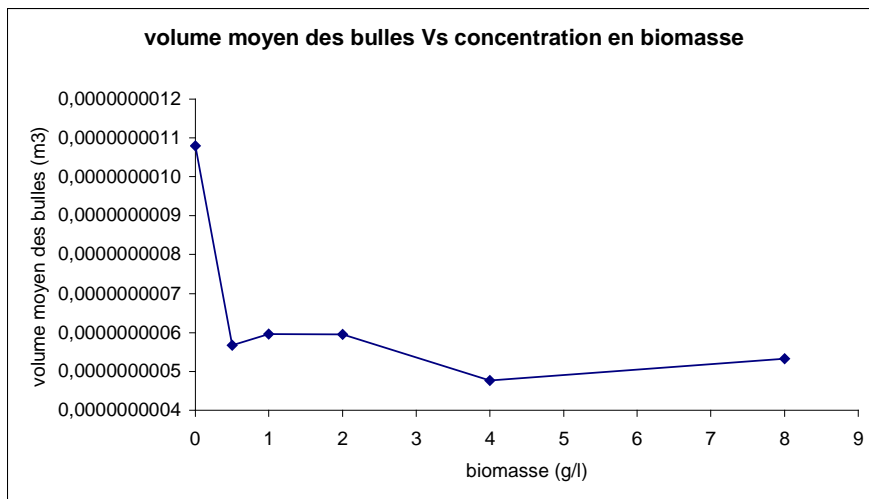
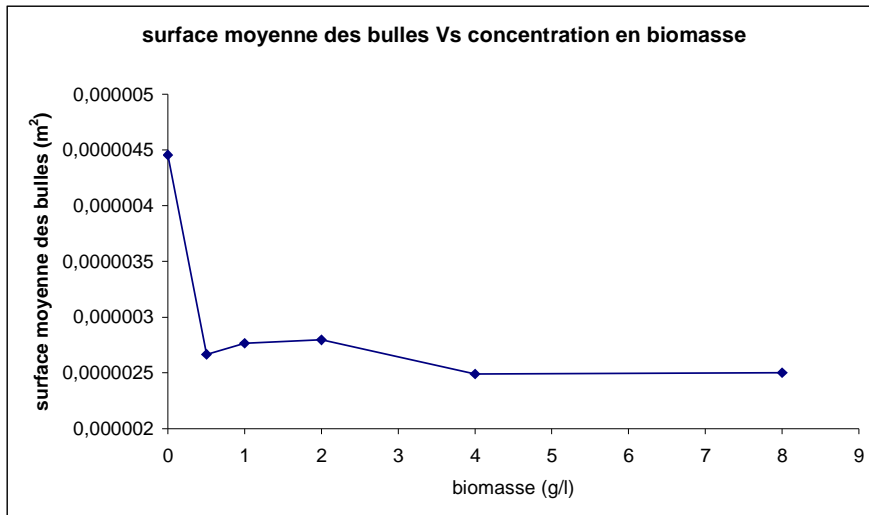
if v(1) == 1
Seq = zeros(1,numel(OFF)+numel(ON));
Seq(1:2:numel(Seq))=ON(1:numel(ON));
Seq(2:2:numel(Seq))=OFF(1:numel(OFF));
time = [Seq(1) diff(Seq) ];
end

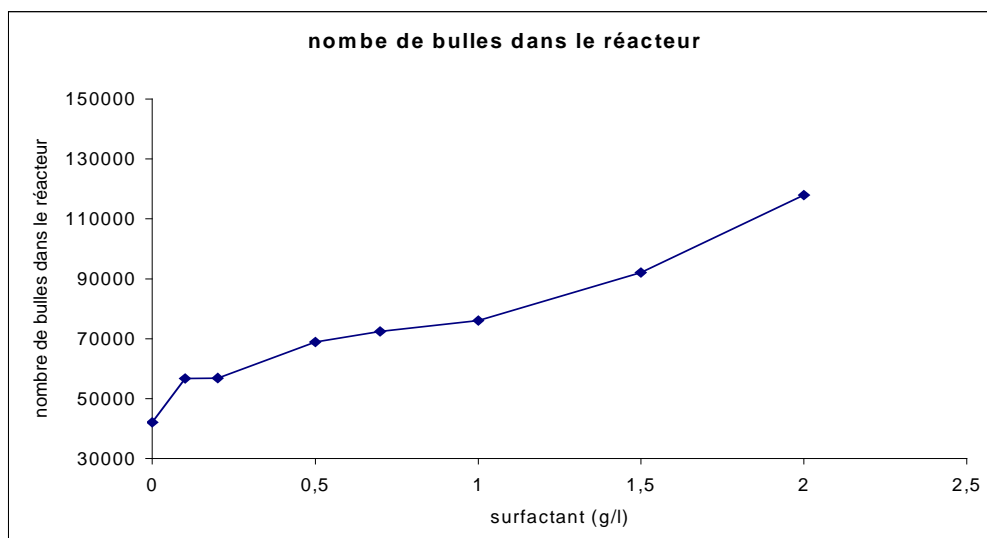
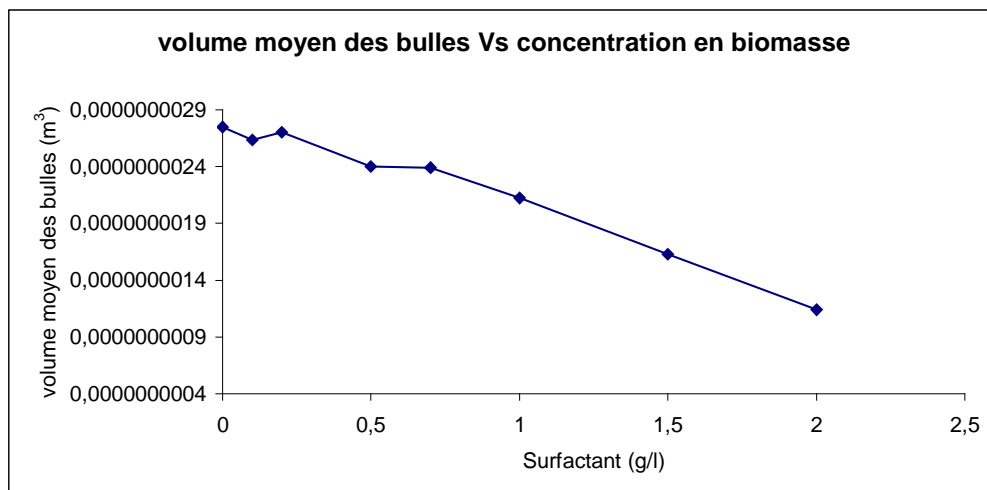
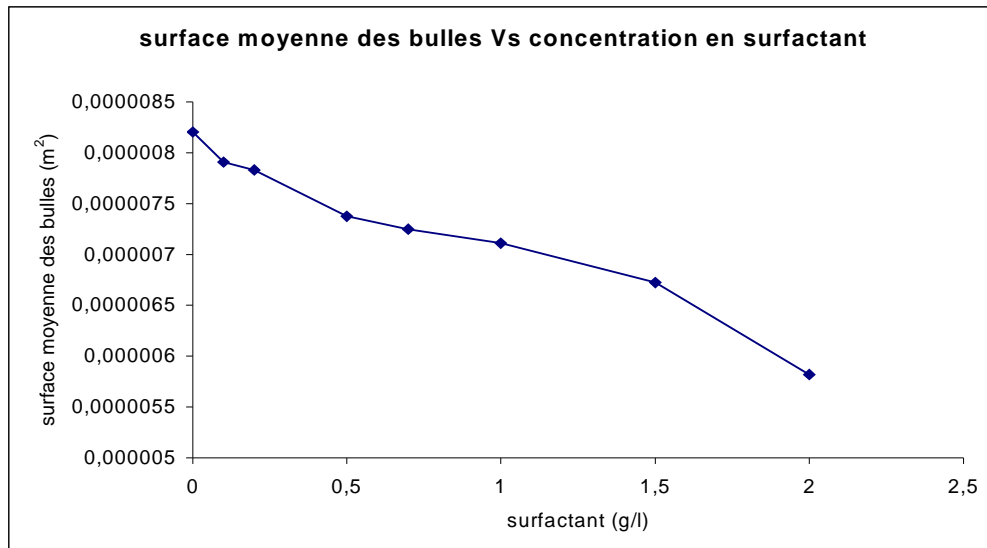
if v(1) == 0
Seq = zeros(1,numel(OFF)+numel(ON));
Seq(1:2:numel(Seq))=OFF(1:numel(OFF));
Seq(2:2:numel(Seq))=ON(1:numel(ON));
time = [Seq(1) diff(Seq) ];
end

```



ANNEXE 8





I. Synthèse bibliographique

II. OBJECTIFS DE L'ÉTUDE

III. MATÉRIEL ET MÉTHODES

IV. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

V. DISCUSSION GÉNÉRALE

VI. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

VII. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

VIII. ANNEXES