
Contrat de Recherche

Université Henri Poincaré - **Nan.C.I.E.** - Agence de l'Eau Rhin-Meuse

**Extraction, Mobilité et Biodisponibilité de Polluants Organiques
accumulés dans les Modèles Sédiments**

Rapport Intermédiaire n°3

Mai 1995

Sandrine Magdaliniuk
Laboratoire Santé Environnement
Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques
5 rue Albert Lebrun
54001 Nancy cedex

Sommaire

1. Introduction.....	1
2. Conclusions	3
3. Matériel et Méthodes..	4
3.1. Préparation de l'argile organique B34.....	4
3.2. Test de relargage du surfactant à partir de l'argile organique B34	4
3.3. Dosage du naphthalène adsorbé : extraction	4
3.4. Modèles	5
3.4.1. Cinétiques d'adsorption	5
3.4.2. Isothermes d'adsorption	5
3.4.3. Cinétiques de biodégradation	6
4. Protocole expérimental	7
4.1. Tests de sorption	7
4.1.1. Cinétiques d'adsorption	7
4.1.2. Cinétiques de désorption	7
4.1.3. Isotherme d'adsorption	8
4.1.4. Isotherme de désorption	8
4.2. Biodégradation du naphthalène en présence d'argile organique B34	9
4.2.1. Influence de la concentration en B34.....	9
4.2.2. Influence du rapport S_0/X_0	9
5. Résultats - Discussion	10
5.1. Sorption du naphthalène sur l'argile organique B34.....	10
5.1.1. Les cinétiques de sorption.....	10
5.1.2. Isothermes d'adsorption et de désorption	16
5.2. Biodégradation du naphthalène en présence d'argile organiques B34	20
5.2.1. Influence de la concentration en B34.....	20
5.2.2. Influence du rapport S_0/X_0	24
5.2.3. Modélisation des cinétiques de biodégradation du naphthalène en présence de B34.....	27
6. Références bibliographiques..	29

7. Annexes30
7.1. Définition des outils analytiques30
7.2. Test de relargage du surfactant à partir de l'argile organique B3431
7.3. Essais de croissance de <i>Burkholderia cepacia</i> sur le surfactant31
7.5. Les tests statistiques32
7.5.1. Test de Student Fisher	32
7.5.2. Comparaison de 2 moyennes suivant une loi normale32

1. Introduction

Dans les milieux naturels tels que les sols, les sédiments ou les hydrosystèmes souterrains, les polluants organiques soumis à des interactions subissent de nombreuses transformations biotiques et abiotiques. La sorption, la complexation, la solubilisation, la volatilisation, des transformations physicochimiques telles que les oxydations, les réductions, et des transformations biologiques appelées plus communément la biodégradation représentent quelques uns des mécanismes mis en jeu (Figure 1).

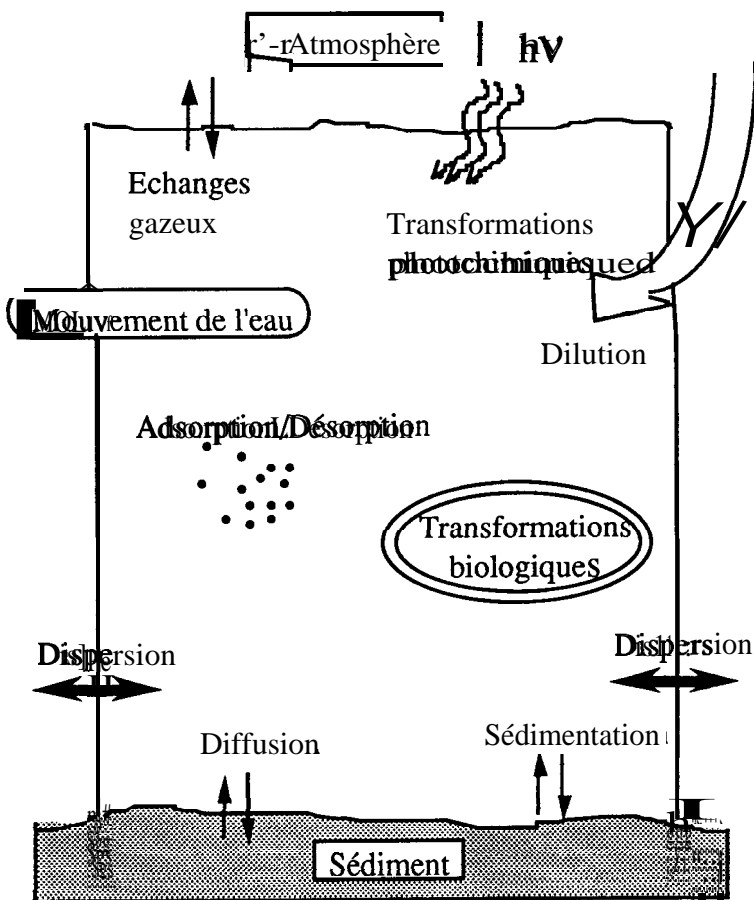


Figure 1. Transformations et mouvements des polluants dans des hydrosystèmes

Dans un objectif de dépollution des sols par voie biologique, il est crucial de connaître la biodisponibilité du polluant vis-à-vis des microorganismes. Cette biodisponibilité peut se définir comme le statut physique du polluant lui permettant d'être disponible ou non vis-à-vis des microorganismes. Cette disponibilité est supposée maximale quand le polluant est solubilisé dans la phase eau et réduite dans les cas où le polluant est sorbe par la matière organique (Bottero *et al.*, 1994; Gennari *et al.*, 1994; Rodriguez-Gonzalo *et al.*, 1993; Wilson and Foy, 1992) et les complexes organoargileux (Murphy *et al.*, 1990; Zhang and spark, 1993).

Ce rapport **n°3** s'inscrit dans le cadre du Projet de Recherche financé par L'Agence de l'Eau Rhin-Meuse ayant pour titre "Extraction, Mobilité et Biodisponibilité de Polluants Organiques accumulés dans les Modèles Sédiments". Il fait suite à deux autres rapports : Rapport **n°1**, Avril 1994 sur la mise en place d'outils analytiques et Rapport **n°2**, Septembre 1994, mettant en évidence l'influence **de la** diffusion du produit organique sur les cinétiques de biodégradation. Ce rapport **n°3**, Mai 1995, quant à lui, montre l'importance des phénomènes de sorption dans les mécanismes de biodisponibilité d'un polluant. Un nouveau matériau support a été utilisé à cet effet : une argile organique appelée B34, qui est constituée d'une montmorillonite sur laquelle a été adsorbé un surfactant (Annexe 7.1).

Les résultats sont présentés ici selon le plan de travail suivi pour les expérimentations :

- (1) Comportement du naphthalène en présence de l'argile organique B34
 - Cinétiques d'adsorption et de désorption
 - Isothermes d'adsorption et de désorption (état d'équilibre)
- (2) Biodégradation du naphthalène en présence des particules adsorbantes (**B34**)
- (3) Modélisation des cinétiques de biodégradation de façon à estimer la part de l'adsorption et de la diffusion dans la biodisponibilité

Ces résultats ont fait l'objet d'une communication orale au **4°** Congrès de la Société Française de Microbiologie (Tours, 2-5 Mai 1995).

Ces recherches sont menées en collaboration avec F.Thomas du Laboratoire Environnement et Minérallurgie (Vandoeuvre les Nancy), J.Y. **Bottero** du Laboratoire des Géosciences de **l'Environnement** (Les Milles), de J. Berthelin, C. Leyval, G. Villemin du Centre de Pédologie Biologique (Vandoeuvre les Nancy), M. Sardin de **l'Ensic** (Nancy) et Ph. Baveye de Cornell University (USA).

2. Conclusion

Les résultats exposés dans ce rapport n°3 complètent la première étude de biodégradation du naphthalène réalisée en présence de montmorillonite de sodium et d'un complexe montmorillonite/polycarbylamide. Ces-deux systèmes **particulaires** se différencient du matériau utilisé dans ce rapport (B34) par le fait qu'ils n'adsorbent pas ou peu le naphthalène. En effet, les coefficients de distribution K_d (rapport entre la quantité de naphthalène **adsorbé** et la concentration restant en solution) pour la montmorillonite et le complexe étaient respectivement 0 et **0,04 L/g**. Le troisième matériau, l'argile organique nommée B34 constitue quant à lui un support adsorbant le naphthalène.

Il a été possible, aux travers des expérimentations sur la biodégradation du naphthalène par une souche pure *Burkholderia (Pseudomonas) cepacia* en présence d'argile organique B34 de dégager les résultats suivants :

1) Le naphthalène s'adsorbe sur l'argile organique B34 de façon importante. Une modélisation de Freundlich a permis d'évaluer un K_d de **8,7 (1,2) L/g** avec un coefficient de non linéarité n de **0,8**. Cette adsorption **résulte** d'un équilibre entre la phase liquide et les particules solides **(B34)** qui s'établit rapidement (équilibre en 2 heures).

Cette adsorption est un phénomène totalement réversible, puisque le naphthalène **adsorbé** replacé dans un milieu propre est relargué dans la phase aqueuse avec un coefficient de **désorption** identique à celui d'adsorption $K_d = \mathbf{9,5 (4,2) L/g}$.

2) Les essais de biodégradation du naphthalène en présence d'argile organique, donc de naphthalène à la fois sous forme adsorbée et sous forme dissoute, ont mis une évidence une diminution des cinétiques de biodégradation (constantes cinétiques et vitesses) en présence des particules adsorbantes. La constante cinétiques de dégradation du premier ordre $k = \mathbf{0,16 h^{-1}}$ pour $\mathbf{0 g/L}$ de B34 est réduite à $k = \mathbf{0,04 h^{-1}}$ pour $\mathbf{1 g/L}$.

Toutefois, le fait qu'une partie du naphthalène soit sorbe ne permet pas d'expliquer la diminution de la dégradation puisque les constantes cinétiques k calculées pour la désorption sont plus **grandes** (d'environ un facteur 10) que les constantes cinétiques de biodégradation. Ceci permet de conclure que la désorption du naphthalène à partir de l'argile organique B34 n'est pas le **mécanisme** limitant la biodégradation du naphthalène dans un système **particulaire**.

Il semble, tout comme dans le cas de la montmorillonite de sodium ou complexe montmorillonite/polycarbylamide (Rapport n°2 Septembre 1994) que la réduction de la biodégradation provienne d'une limitation du transfert de masse externe dû à la présence des particules solides d'argile organique.

3. Matériel et Méthodes

La préparation des milieux de culture, les méthodes de dosage du naphthalène (HPLC) et du carbone organique dissous (COD par Dohrmann) sont consignées dans le rapport n°1 (Avril 1994).

3.1. Préparation de l'argile organique B34

L'argile organique B34 (Khatib *et al.*, 1994) est une bentonite saturée par du diméthyl-distéaryl ammonium fournie par le Laboratoire Environnement Minéralurgie (Vandoeuvre-les Nancy). Cette argile est lavée au méthanol de façon à éliminer les molécules de surfactants sur les feuillets externes de l'argile.

1 g de B34 est placé dans 100 mL de méthanol pour analyses (Labosi) et maintenu sous agitation pendant 10 minutes. La suspension subit une décantation pendant 10 minutes et le surnageant (méthanol) est éliminé. La bentonite est alors séchée à 30°C pendant 48 heures à 30°C et conservée dans un dessiccateur.

3.2. Test de relargage du surfactant à partir de l'argile organique B34

50 mg de B34 (§3.1) sont placés dans 100 mL d'eau Milli-Q dans des flacons téflon utilisés pour tous les tests biotiques et abiotiques. Deux flacons servent d'essai et deux flacons ne contenant pas d'argile organique B34 mais subissant le même traitement servent de témoins. La suspension est agitée à l'aide de barreaux magnétiques recouverts de Téflon à une température de 30°C (k1).

Des prélèvements sont réalisés à 8 heures et à 24 heures. Le carbone organique dissous est dosé au Dohrmann DC 80 (§Rapport n°1, Avril 1994) après centrifugation des solutions à 45000 g dans des tubes de centrifugation Téflon (Nalgène).

3.3. Dosage du naphthalène adsorbé : extraction

10 mL de suspension de B34 dans des tubes de 10 mL sont centrifugés à 45000g pendant 10 minutes. Le surnageant aqueux est entièrement éliminé et remplacé par le même volume d'un mélange méthanol/eau à 90 % de méthanol. Le culot est remis en suspension par une agitation au vortex de 30 secondes, laissé au repos pendant 15 minutes, agité de nouveau pendant 30 secondes puis centrifugé à nouveau à 45000g pendant 10 minutes. Le naphthalène extrait est dosé par HPLC

3.4. Modèles

3.4.1. Cinétiques d'adsorption

L'équation de Langmuir définissant une cinétique d'adsorption ou de désorption est la plus souvent employée. Elle s'écrit de la façon suivante :

$$dQ/dt = k_1.C.(Q_m - Q) - k_2.Q$$

Après intégration, l'équation devient :

$$Q = Q_m (1 - \exp(-k_1.t)) \text{ pour l'adsorption}$$

$$Q = Q_m (1 - \exp(-k_2.t)) \text{ pour la désorption}$$

k_1 : Constante cinétique d'adsorption

k_2 : Constante cinétique de désorption

Q_m : Quantité maximale adsorbée

3.4.2. Isothermes d'adsorption

Les deux modèles les plus souvent rencontrés dans la littérature sont appliqués aux isothermes d'adsorption et de désorption du naphthalène sur l'argile organique B34.

Ces deux modèles sont Freundlich et Langmuir. Ils ne décrivent pas une sorption du même type : le modèle défini par Langmuir fait l'hypothèse d'une capacité maximale de sorption, c'est-à-dire que l'adsorbant peut être saturé. Le modèle de Freundlich, quant à lui, fait l'hypothèse d'une capacité d'adsorption infinie (Fetter, 1993, Schwarzenbach *et al.*, 1993).

L'équation de Langmuir s'écrit : $Q_e = Q_m.b.C_e / 1+b.C_e$

L'équation de Freundlich s'écrit : $Q_e = K.C_e^n$

avec : Q_e : Quantité de composé adsorbé à l'équilibre

Q_m : Quantité maximale pouvant s'adsorber sur le solide

C_e : Concentration du composé dans la phase liquide à l'équilibre

b : Rapport entre la constante cinétique d'adsorption et de désorption (k_1/k_2) (Langmuir)

K : Constante de distribution entre la phase liquide et la phase solide

n : Paramètre de non linéarité de la courbe

3.4.3. Cinétiques de biodégradation

Les cinétiques de biodégradation ont été modélisées selon une cinétique de consommation du premier ordre (Simkins and Alexander, 1984).

$$C = C_i \exp(-k.t)$$

où C_i représente la concentration initiale de naphthalène à dégrader et où k représente la constante cinétique de dégradation exprimée en h^{-1} .

Cette constante cinétique est ensuite mise en relation avec la concentration en argile organique B34 présente en suspension de façon à évaluer la part du transfert de masse et la part de la désorption.