

UNIVERSITE DU QUEBEC

THESE

présentée

à

L'INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (EAU)

comme exigence partielle

de la

maîtrise ès Sciences (eau)

par

Vahé G. Zoulalian

B.Sc. (Chimie)

"ETUDE DES VOIES DE DISPARITION DU PHENOL

DANS LE FLEUVE SAINT-LAURENT"

Juin 1974

REMERCIEMENTS

Je désire remercier le Docteur André Tessier qui m'a dirigé, conseillé et encouragé durant mes travaux de recherche.

Je tiens aussi à remercier les Docteurs P.G. Campbell, J.-P. Villeneuve et S. Visser pour leurs conseils et encouragements.

Je voudrais également remercier Messieurs G. Lamontagne pour son assistance en microbiologie et F. Bessou pour son aide tout au long de mes travaux de recherche.

à Danielle

TABLE DES MATIERES

	Page
REMERCIEMENTS.....	ii
RESUME.....	vii
1. INTRODUCTION.....	1
2. METHODE EXPERIMENTALE.....	5
2.1 Prélèvement de l'eau nécessaire aux expériences.....	5
2.2 Méthodes d'analyse.....	6
2.2.1 Méthode à la 4 - amino-antipyrine.....	6
2.2.2 Méthode de la spectroscopie de fluorescence.....	7
2.2.2.1 Aspects théoriques.....	7
2.2.2.2 Préparation de l'échantillon.....	8
2.2.2.3 Technique pour l'analyse du phénol.....	9
2.2.2.4 Avantages de la méthode de fluorescence...	12
3. ETUDE DES VOIES DE DISPARITION DU PHENOL.....	15
3.1 Etude comparative du comportement du phénol dans l'eau stérile et non stérile.....	15
3.2 Etude de l'adsorption du phénol dans l'eau du fleuve.....	19
3.3 Evidence de la biodégradation comme mécanisme important pour expliquer la disparition du phénol.....	20
4. ETUDE DE LA BIODEGRADABILITE DU PHENOL.....	23
4.1 Expériences de simulation sur le terrain.....	23
4.1.1 Description des expériences.....	23
4.1.2 Résultats.....	24
4.1.2.1 Effet de la température.....	24

4.2	Expériences de simulation en laboratoire.....	28
4.2.1	Description des expériences.....	28
4.2.1.1	Préparation de la suspension de bactéries.	29
4.2.1.2	Adaptation des bactéries.....	29
4.2.2	Expériences à température et concentration en bactéries constantes.....	30
4.2.3	Expérience à température et concentration initiale de phénol constantes.....	32
4.3	Interprétation des résultats.....	36
4.3.1	Théorie de la cinétique enzymatique.....	36
4.3.2	Utilisation de l'équation différentielle pour les expériences à température et concentration en bactéries constantes.....	38
4.3.3	Utilisation de l'équation intégrée pour les expériences à température et nombre de bactéries constants..	40
4.3.3.1	Première approche d'optimisation.....	42
4.3.3.2	Deuxième approche d'optimisation.....	43
4.3.3.3	Troisième approche d'optimisation.....	44
4.3.4	Comparaison des trois approches d'optimisation.....	47
4.3.5	Influence de la température sur K_M , V_{max} et k_3 pour les expériences à concentration en bactéries constante.....	50
4.3.6	Relation entre la vitesse de biodégradation et le nombre de bactéries.....	52
4.3.7	Comparaison des paramètres cinétiques pour le phénol avec ceux obtenus pour d'autres substrats.....	55

5.	CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS.....	59
	ANNEXE A.....	61
	ANNEXE B.....	69
	ANNEXE C.....	72
	BIBLIOGRAPHIE.....	76

RESUME

Les phénols produits par les raffineries de pétrole de l'est de Montréal lors de leurs opérations normales, sont rejetés en grande partie dans le fleuve Saint-Laurent. Ces substances sont indésirables dans le milieu aquatique à cause du goût et de l'odeur qu'elles confèrent à l'eau en cas de traitement au chlore et à cause de leurs effets sur la faune et la flore aquatique.

Des études antérieures ont démontré que la concentration de phénols diminue en fonction de la distance en aval des rejets des raffineries lorsque les conditions sont favorables. Nous avons réalisé des expériences, en tenant compte des conditions du milieu naturel, pour mettre en évidence une voie principale pouvant expliquer la disparition du phénol. Un effort particulier a été fourni pour déterminer l'expression cinétique de cette disparition. Deux méthodes ont été utilisées pour déterminer la concentration du phénol, celle à la 4-amino-antipyrine et celle de la spectroscopie de fluorescence.

Les résultats obtenus ont montré que la biodégradation est une voie importante de disparition du phénol. Les résultats expérimentaux se conforment à l'expression cinétique de Michaëlis et Menten. Il semble également qu'il existe une relation linéaire entre la vitesse de biodégradation et le nombre de bactéries par ml. L'énergie d'activation calculée est de 36.4 Kcal/mole.

1. INTRODUCTION

Les eaux du fleuve Saint-Laurent transportent dans la région de Montréal-Est Pointe-aux-Trembles, des quantités de phénols importantes (1). Ce sont les six raffineries regroupées dans cette zone qui contribuent surtout à cet aspect. Les phénols sont produits lors des opérations de craquage catalytique ou thermique, de la fractionnement des huiles brutes et du procédé de raffinage (2) et comprennent (3): le phénol, les crésols, xylénols, éthylphénols, le thiophénol, le catéchol et le résorcinol.

La présence des phénols dans le milieu aquatique est indésirable à cause du goût et de l'odeur qu'ils confèrent à l'eau en cas de traitement au chlore (4). Le goût est perceptible lorsque la concentration est supérieure à 2 parties par milliard (ppb) (5). A des concentrations plus élevées, ils agissent sur les microorganismes épurateurs provoquant ainsi un ralentissement et quelquefois l'arrêt des processus naturels d'épuration biologique (4). A ces concentrations, ils sont aussi toxiques pour certains poissons (6).

Un échantillonnage a déjà été effectué (1) au cours de l'été 1972 et de l'hiver 1973 dans sept sections transversales du fleuve Saint-Laurent comprises entre l'amont des raffineries et la confluence avec la Rivière-des-Prairies. Les résultats obtenus démontrent que les eaux de rejets des raffineries se mélangent peu aux eaux du fleuve et s'écoulent dans un cône de diffusion assez étroit, inférieur à 450 mètres de largeur, le long de la rive

nord du fleuve. Pour plusieurs sections transversales du fleuve, les résultats montrent d'autre part, un bon mélange vertical et une décroissance latérale de la concentration des phénols jusqu'au "bruit de fond" (le bruit de fond étant la concentration en amont des raffineries) qui est atteint à partir de 300 - 450 mètres de la rive nord. Les calculs du bilan des phénols pour plusieurs sections transversales ont permis de mettre en évidence une disparition des phénols en fonction de la distance en aval des rejets, lorsque la température de l'eau est assez élevée (1). Plusieurs mécanismes pourraient être invoqués pour expliquer cette disparition des substances phénoliques.

Kaplin et al. (7) ont étudié la décomposition d'un mélange de phénols dans les eaux naturelles. Leurs expériences consistaient à ajouter 50 ml d'un effluent de cokerie, préalablement traité biologiquement, à 5.0 l d'eau d'une rivière. En ajoutant 50 ml d'effluent, ils introduisaient dans l'eau de la rivière les microorganismes et les substances organiques qui, normalement sont déversés dans les effluents. A ce mélange, ils ajoutaient diverses quantités de différents phénols pour en étudier la vitesse de décomposition. Des différents phénols étudiés (phénol, crésols, etc...), ils ont trouvé que le phénol (C_6H_5OH) est le plus instable alors que les xylénols sont les plus stables. D'après leur étude, la décomposition du phénol et des crésols se fait surtout par oxydation biologique. Par contre, le mécanisme de disparition des xylénols est incertain.

La vitesse de décomposition des phénols a été décrite par l'équation

$$\frac{C}{C_0} = e^{- (kt)^n} \quad (1.1)$$

où C_0 = concentration initiale, C = concentration au temps t , k = constante de vitesse, n = ordre de la réaction. Pour les crésols et xylénols $n = 2$; pour le phénol $n = 1$. Les constantes de vitesse obtenues à $T = 20^\circ\text{C}$ pour le phénol, les *m* et *p*-crésols, l'*o*-crésol, le 2 - 4 xylénol et le 2 - 3 xylénol sont respectivement 0.575, 0.188, 0.160, 0.076 et 0.048 jour⁻¹.

Krombach et Barthel (8) ont étudié l'évolution de la concentration des composés phénoliques, déversés accidentellement dans un petit cours d'eau par une usine de fabrication de phénol. Cette étude a été faite sur une distance de 36 km. En calculant les bilans des composés phénoliques à différentes distances en aval du point de rejet, ils ont constaté une diminution rapide de ces derniers. Ils ont attribué ceci en grande partie à la biodégradation. En supposant une réaction du premier ordre, ils ont trouvé une constante de vitesse moyenne de l'ordre de 0.20 jour⁻¹ à $T = 15$ à 16°C , ce qui est comparable à celles obtenues pour la biodégradation des eaux usées domestiques dans les cours d'eau (9).

Kaplin et al. (10) ont étudié l'effet de la température sur la vitesse de dégradation des phénols dans les eaux naturelles. A des échantillons de 1.5 l d'eau de la rivière Don, ils ajoutaient 30 ml d'eau d'un effluent d'une cokerie préalablement traité biologiquement et 1 mg/l de différents phénols. Les échantillons ont ensuite été étudiés aux températures de 0, 5, 10, 20, 25 et 30°C . A 30°C le phénol ($\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$) disparaissait après 96 - 100 heures, le *m*-xylénol après 170 heures. A 5°C des quantités appréciables de phénol étaient encore décelables après 210 heures, et seulement une petite partie (environ 20%) du *m*-xylénol et du *p*-xylénol était décomposée.

Malgré l'importance des effets des phénols dans le milieu aquatique, il

semble que peu de recherches sur leur stabilité dans le milieu aquatique aient été entreprises, surtout à des concentrations représentatives de celles existant dans un tel milieu. Les recherches ont en effet jusqu'à présent porté sur leur stabilité à des concentrations de l'ordre de plusieurs ppm et le mécanisme ainsi que la cinétique de décomposition n'ont pas été clairement démontrés.

Notre étude porte sur les modalités de disparition du phénol. Par des expériences effectuées avec le souci de se rapprocher le plus possible des conditions naturelles du milieu, nous tentons de déterminer le mécanisme et la cinétique de dégradation du phénol (C_6H_5OH). Ceci pourrait conduire ultérieurement à l'élaboration d'un modèle explicatif de cette disparition. Celle-ci serait étudiée en fonction de paramètres tels que: concentration et type de phénol, température, nombre de bactéries phénoliques, quantité et nature des solides en suspension, pH, concentration d'oxygène dissous et turbidité. Ce modèle devrait permettre de prédire l'effet de la variation de ces différents paramètres sur les modalités de disparition des phénols, ainsi que la qualité des eaux réceptrices suivant la nature et la quantité des rejets des raffineries.

2. METHODE EXPERIMENTALE

2.1 Prélèvement de l'eau nécessaire aux expériences

Comme mentionné précédemment, des études préliminaires (1) ont montré que le cône de diffusion des raffineries forme une bande assez étroite le long de la rive nord du fleuve. D'autre part, on a constaté un bon mélange vertical des eaux de rejets des raffineries avec l'eau du fleuve. A la lumière de ces constatations, nous avons déterminé un lieu de prélèvement de l'eau nécessaire pour les expériences décrites subséquemment. Ce lieu a les caractéristiques suivantes:

- il est situé dans le cône de diffusion des raffineries et est donc représentatif des conditions existantes dans les eaux influencées par les rejets des raffineries;
- il est facilement repérable car il se trouve face à l'Ile Sainte-Thérèse, sous les pylones de l'Hydro-Québec, à proximité des bouées, à environ 3,000 mètres en aval du point de rejet.

Tous les échantillons ont été prélevés à ce même endroit, à une profondeur approximative d'un mètre, ceci en raison du bon mélange vertical existant et pour éviter de prendre les huiles de surface. Les échantillons ont été recueillis dans des bouteilles de polyéthylène. Tant que la température le permettait, c'est-à-dire avant le gel du fleuve, nous allions en bateau prélever les échantillons. Durant l'hiver, c'était en hélicoptère que nous opérions.

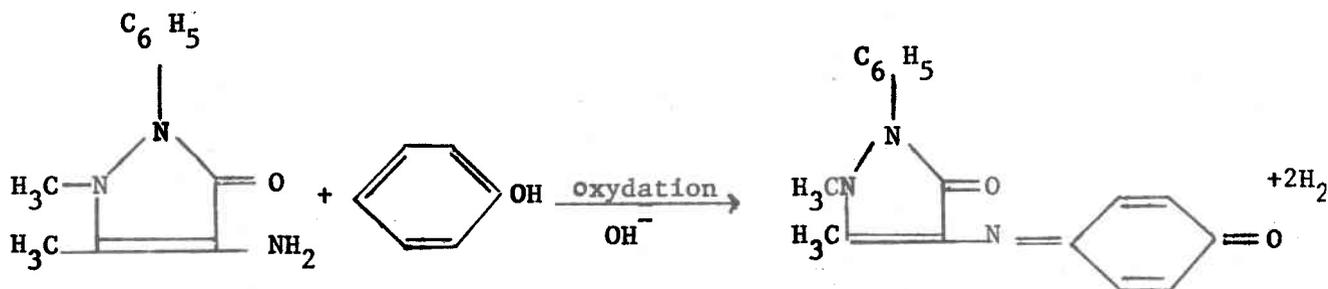
2.2 Méthodes d'analyse

Pour l'analyse du phénol nous avons utilisé deux méthodes spectroscopiques: l'une dans le visible, après coloration à la 4 - amino-antipyrine et l'autre par détermination directe de la fluorescence. La première méthode s'est avérée longue et nous l'avons abandonnée à partir d'un certain moment au profit de la seconde.

2.2.1 Méthode à la 4 - amino-antipyrine

Cette méthode est dérivée de celle proposée par American Public Health Association (APHA) (11). Quelques modifications y ont été apportées, telles que suggérées par Faust (12). Le principe de cette méthode est le suivant: les composés phénoliques se condensent à la 4 - amino-antipyrine et une oxydation subséquente produit, à des conditions alcalines, une coloration dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en phénol. Les opérations suivantes sont effectuées:

- distillation de l'échantillon de 500 ml pour entraîner les phénols à la vapeur d'eau;
- ajustement du pH du distillat à 8.0 avec un tampon de phosphates;
- addition de 4 - amino-antipyrine et de ferricyanure de potassium; les phénols se condensent alors à la 4 - amino-antipyrine et on a ensuite une oxydation du complexe en forme quinone donnée par la réaction suivante;



- extraction du complexe avec le chloroforme pour le concentrer;
- mesure de l'absorbance à 460 nanomètres (nm) à l'aide d'un spectrophotomètre ultraviolet-visible (Beckman, Acta III).

La limite de détection, définie comme étant deux fois la valeur du "bruit de fond" de l'appareil, est de l'ordre de 0.5 ppb. L'écart type, déterminé (1) à partir de huit analyses sur un même échantillon d'eau du fleuve contenant 11 ppb de phénols s'est avéré être de 0.3 ppb.

2.2.2 Méthode de la spectroscopie de fluorescence

2.2.2.1 Aspects théoriques

Quand une molécule, à l'état stable M, absorbe une énergie $E = h\nu$, elle est portée à l'état excité M^* . Il se produit ensuite une rapide désactivation par collisions.

La molécule, en revenant à son état stable initial, émet une énergie appelée suivant le cas, fluorescence ou phosphorescence. La fluorescence présente une durée de vie plus courte et s'éteint presque immédiatement, i.e. $< 10^{-8}$ sec., alors que la phosphorescence peut persister pendant quelques dixièmes de secondes.

La relation concentration-fluorescence peut être déduite de la loi Lambert-Beer comme suit:

$$I_0 - I = I_0 (1 - 10^{-acd}) = \text{quantité de lumière absorbée} \quad (2.1)$$

où I_0 = intensité incidente, I = intensité transmise, c = concentration, d = longueur chemin optique et a = coefficient d'extinction molaire.

L'intensité F de fluorescence est proportionnelle à la quantité de lumière absorbée. Si θ est le rendement quantique de fluorescence, on a

$$F = k \theta I_0 (1 - 10^{-acd}) \quad (2.2)$$

où k = constante de proportionnalité.

Pour des solutions diluées, c'est-à-dire où $acd < 0.05$ et le pourcentage de lumière absorbée est faible, les derniers termes du développement de l'expression $(1 - 10^{-acd})$ peuvent être négligés. On a donc

$$F = k \theta I_0 acd = Kc \quad (2.3)$$

Il existe donc, sous ces conditions, une relation linéaire entre la concentration du composé et l'intensité de la fluorescence. D'après Bridges (13), la relation linéaire est valide pour des concentrations variant de 10 ppb à 8000 ppb de phénol.

Par ailleurs, certains facteurs (13) affectent le rendement de fluorescence: caractéristiques des instruments, température, photodécomposition, pH, structure chimique, etc... Par exemple, une variation de pH peut amener une modification de la forme ionique du composé. La molécule neutre de phénol est fluorescente tandis que l'ion phénolate ne l'est pas. A des pH supérieurs à 11.8, 99% du phénol étant sous forme d'ions phénolates, la fluorescence est pratiquement nulle (14). Il est important donc de bien contrôler ces facteurs afin de ne pas affecter la reproductibilité de la méthode.

2.2.2.2 Préparation de l'échantillon

Afin d'éliminer les interférences dues aux bactéries, aux matières en

suspension, etc..., nous nous trouvons dans l'obligation de distiller nos échantillons d'eau brute. Comme l'échantillon ne peut en pratique être distillé complètement, nous avons étudié la relation entre la quantité de phénol récupérée dans le distillat et le volume distillé. Sur la figure 2.1, cette relation est représentée pour un échantillon de départ de 100 ml, contenant 100 ppb de phénol. Nous voyons sur cette figure que nous retrouvons 42.5%, 73%, 93% et 102% du phénol dans le distillat après avoir distillé 25%, 50%, 75% et 100% de l'échantillon.

Nous avons ensuite déterminé la reproductibilité de la technique. Pour un total de 16 échantillons de 100 ml et de concentration de 100 ppb de phénol, nous avons recueilli pour chacun, les premiers 50 ml de distillat et avons analysé la concentration en phénol dans ces distillats. La moyenne des concentrations, \bar{C} , s'est avérée être de 143.2 ppb et l'écart type, σ , de 1.4 ppb, ce qui permet de calculer un coefficient de variation $\sigma/\bar{C} < 1\%$. Il est à noter que ce coefficient de variation implique toutes les étapes: distillation et mesure de fluorescence.

2.2.2.3 Technique pour l'analyse du phénol

Pour nos études, nous disposons d'un spectrophotomètre de fluorescence Perkin Elmer 204 avec source au Xénon (150W) et balayage des longueurs d'ondes d'excitation et d'émission de 220 à 780 nm.

Sur un échantillon étalon, nous avons déterminé les paramètres suivants:

- la longueur d'onde optimale d'excitation, qui est située à environ 278 nm.
- la longueur d'onde d'émission optimale pour une excitation à 278 nm qui se situe entre 299 et 301 nm.

La figure 2.2 nous montre des courbes d'émission de fluorescence pour un é-

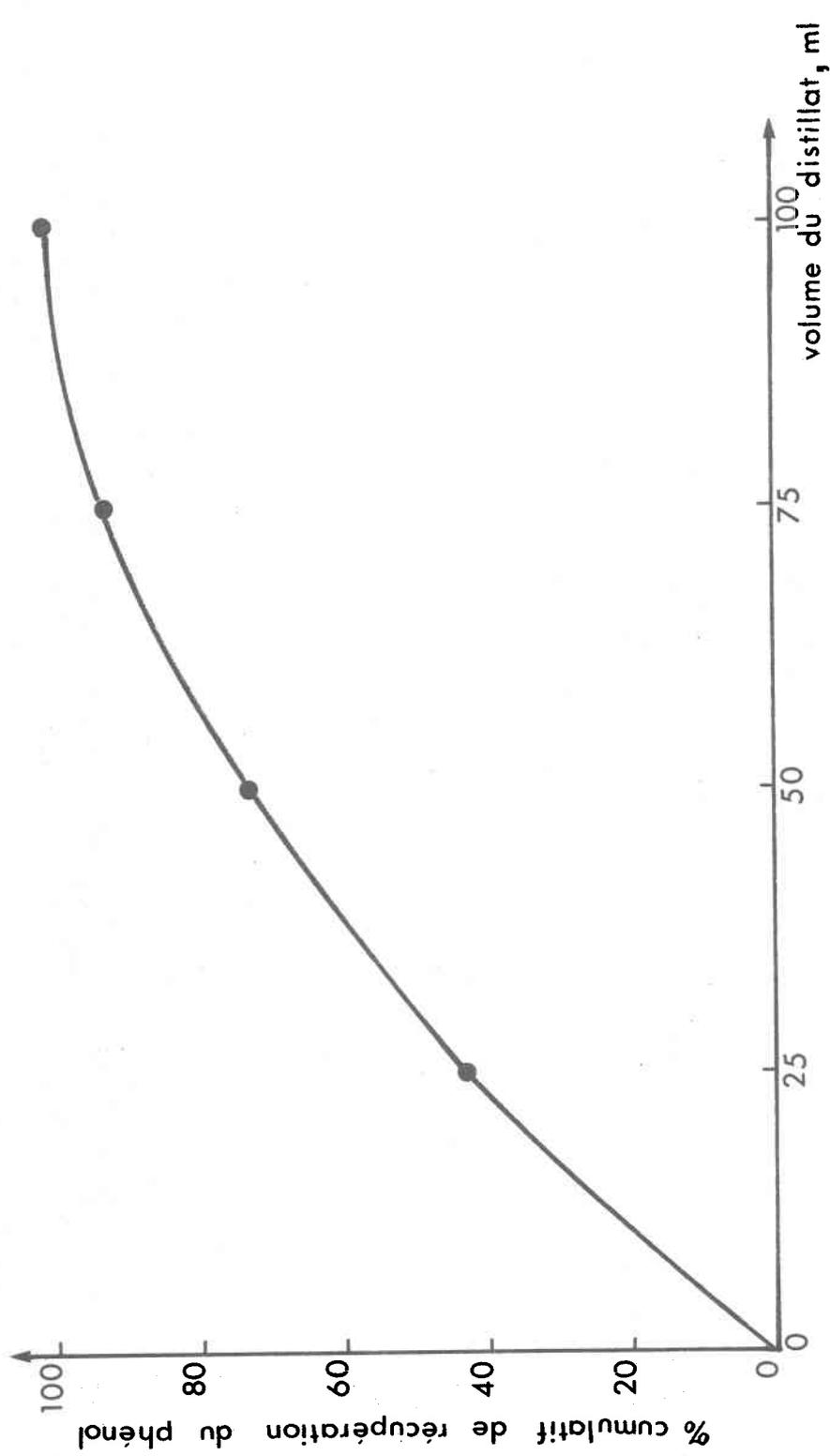


Figure 2.1: Pourcentage cumulé de phénol récupéré dans le distillat en fonction du volume distillé.

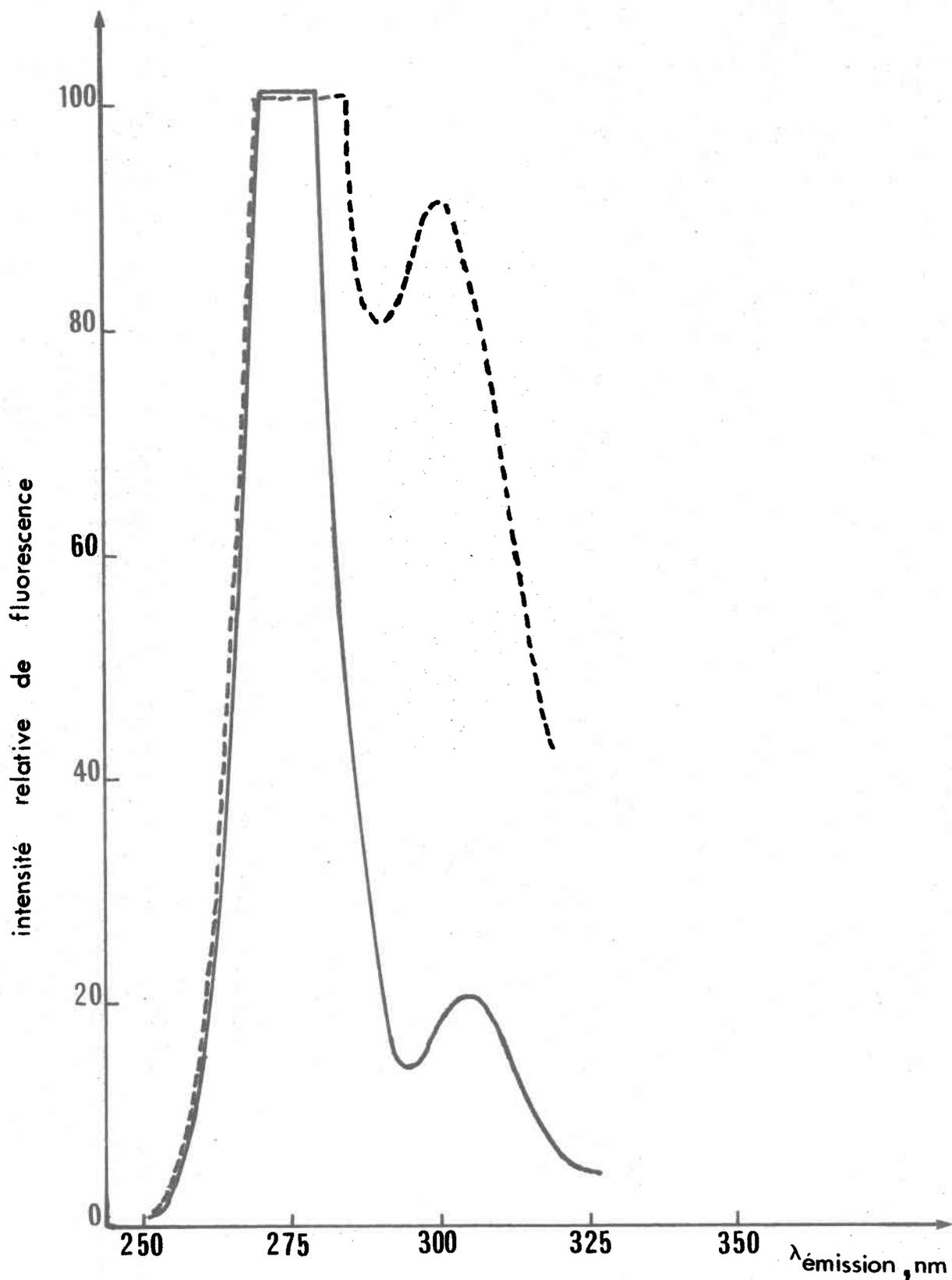


Figure 2.2: Courbe d'émission de fluorescence pour un étalon de 100 ppb (traits pointillés) et pour un témoin (trait plein).

talon de 100 ppb (traits pointillés) et pour un témoin (trait plein). La bande de forte intensité entre 250 et 290 nm correspond à l'effet Tyndall dû au faisceau excitateur. Le témoin peut être obtenu:

- soit par un échantillon d'eau distillé;
- soit par l'échantillon du phénol lui-même amené à $\text{pH} > 11.8$; dans ces conditions, nous sommes en présence d'ions phénolates qui ne présentent aucune fluorescence.

Comme le montre la figure 2.2, l'intensité de fluorescence observée pour l'étalon comprend l'intensité de fluorescence du phénol présent et aussi le spectre Raman de l'eau (entre 300 et 325 nm) qui se situe dans la région de fluorescence du phénol (15). Pour obtenir la fluorescence de l'étalon, on procède donc par différence des valeurs maximales de fluorescence de l'étalon et du spectre Raman du témoin.

Sur la figure 2.3, nous avons représenté une courbe d'étalonnage de l'intensité de fluorescence du phénol en fonction de la concentration de phénol. On y voit qu'on obtient une relation linéaire entre 0 et 200 ppb; le coefficient de corrélation calculé est de 0.997. La limite de détection, définie comme étant la plus petite quantité mesurable dépassant le pic Raman de l'eau, est d'environ 2 ppb.

2.2.2.4 Avantages de la méthode de fluorescence

La technique de fluorescence présente pour nous, plusieurs avantages par rapport à la méthode à la 4 - amino-antipyrine. Nous pouvons noter une réduction de cinq fois du volume nécessaire à la prise d'essai et de dix fois du distillat à recueillir. Ceci amène, par le fait même, une réduction très ap-

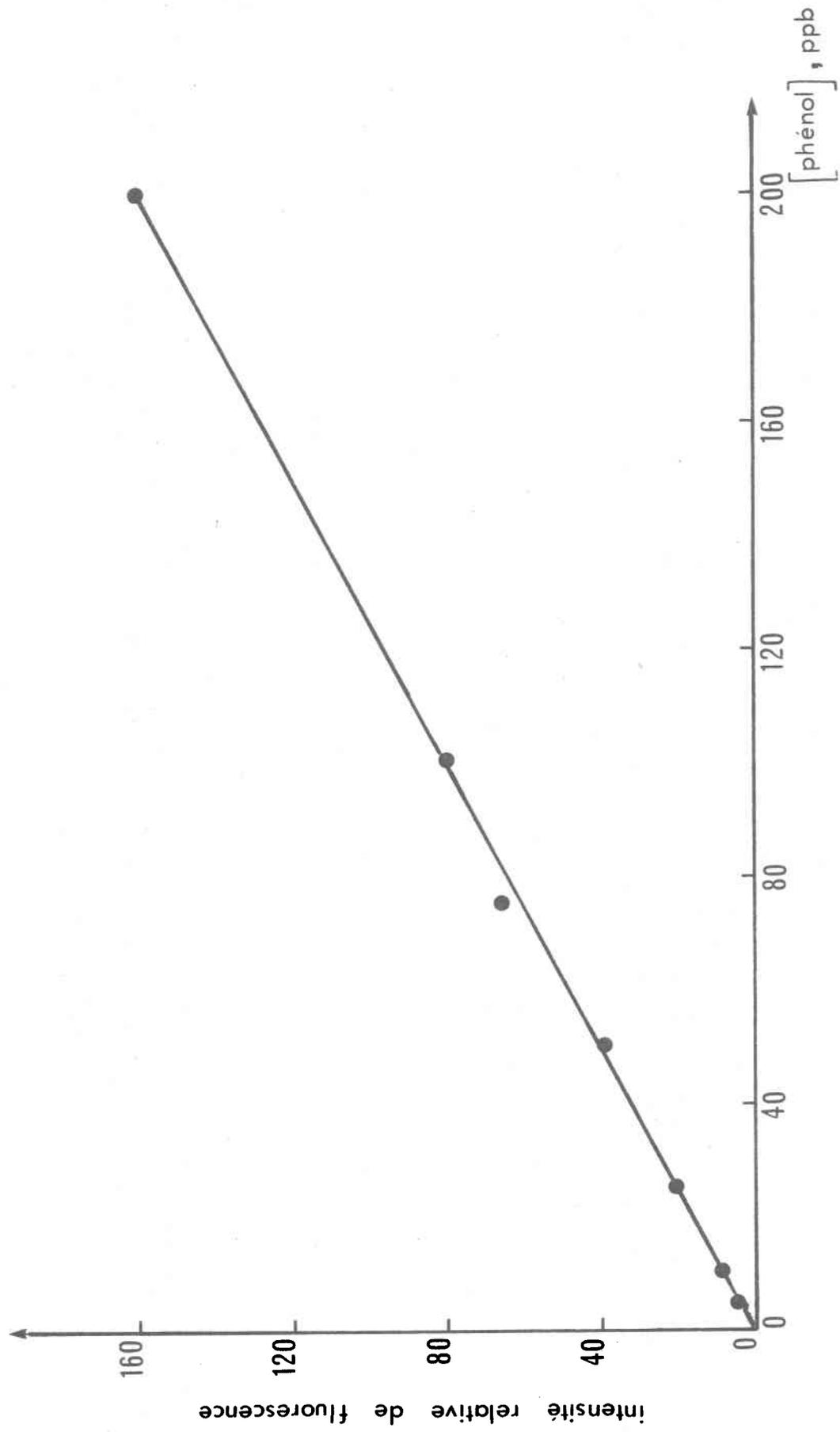


Figure 2.3: Courbe d'étalonnage de la fluorescence du phénol en fonction de sa concentration.

préciable du temps de distillation. Les réactions colorimétriques et l'extraction étant supprimées, nous pouvons passer directement à la mesure, après distillation.

Des essais de reproductibilité sur un étalon de 100 ppb dans l'eau déminéralisée, ont donné de très bons résultats, le coefficient de variation étant inférieur à 1%. La limite de détection se rapproche de celle de la méthode à la 4 - amino-antipyrine. Il est à noter cependant que la technique a été mise au point uniquement pour le phénol (C_6H_5OH), seul composé nécessaire pour notre travail.

3. ETUDE DES VOIES DE DISPARITION DU PHENOL

Dans le milieu aquatique, le phénol peut disparaître selon plusieurs mécanismes comme oxydation chimique, photooxydation, adsorption ou biodégradation. La première étape de notre étude a consisté à effectuer des expériences nous permettant de mettre en évidence une voie importante de disparition du phénol.

3.1 Etude comparative du comportement du phénol dans de l'eau stérile et non stérile

Environ 25 litres d'eau du fleuve ont été prélevés au lieu d'échantillonnage décrit dans la section 2.1. Cette eau, dont la température était de 20°C, était recueillie dans une bouteille de polyéthylène de 25 litres. Un échantillon de 1.0 l a été fixé selon la méthode proposée par l'APHA (11) afin de permettre la détermination ultérieure de la concentration de phénols dans le fleuve; cette concentration était de 10 ppb. Une fois revenus au quai, la quantité d'eau fut séparée en deux portions respectives de 15 et 5 litres qui furent traitées différemment selon la procédure décrite ci-dessous.

A la portion de 15 litres d'eau, nous avons ajouté du phénol pour obtenir une concentration d'environ 125 ppb. Après une forte agitation, un échantillon de 600 ml a été prélevé pour mesurer la concentration en phénols au temps initial. Ensuite la bouteille a été immergée dans le fleuve à une profondeur d'environ 0.5 mètre pour que l'expérience se déroule à température constante et une agitation a été effectuée régulièrement. Pendant quatre heures, des é-

chantillons furent prélevés toutes les 15 minutes (600 ml) en vue de mesurer la concentration de phénols et toutes les 30 minutes (10 ml) pour la détermination du nombre de bactéries phénoliques. Pour cette dernière détermination, effectuée par la méthode de dilution sur un milieu solide phénolique décrit dans l'annexe B, l'ensemencement a eu lieu sur place, immédiatement après le prélèvement de l'échantillon. Les bactéries étaient comptées après incubation à 20°C pendant 5 jours à l'aide d'un compteur de colonies. Les échantillons prélevés en vue de l'analyse de phénols ont été fixés immédiatement et conservés à 4°C jusqu'à l'analyse par la méthode à la 4 - amino-antipyrine. Entre le prélèvement de l'eau au lieu d'échantillonnage et l'immersion de la bouteille dans le fleuve, environ 20 minutes s'étaient écoulées.

La portion de 5 litres d'eau du fleuve a été portée à ébullition pour la stériliser. Après qu'elle fut revenue à la température ambiante, elle fut placée dans une bouteille de polyéthylène de 25 litres, préalablement stérilisée avec de l'alcool à 99% et rincée plusieurs fois avec de l'eau stérile. Après agitation, pour faciliter la réoxygénation de l'eau, sa concentration en phénols fut ajustée à environ 125 ppb. Avant de placer la bouteille dans le fleuve, un échantillon fut prélevé pour mesurer les concentrations initiales de phénols et des bactéries. En prenant soin d'agiter régulièrement la bouteille, des échantillons furent prélevés toutes les 60 minutes, durant quatre heures, pour analyser les phénols et déterminer le nombre de bactéries phénoliques selon les méthodes décrites pour l'expérience précédente.

Les résultats de ces deux expériences sont représentés par les courbes de la figure 3.1. Nous pouvons observer qu'il y a une diminution de la concentration en phénols en fonction du temps dans la première expérience, alors que dans

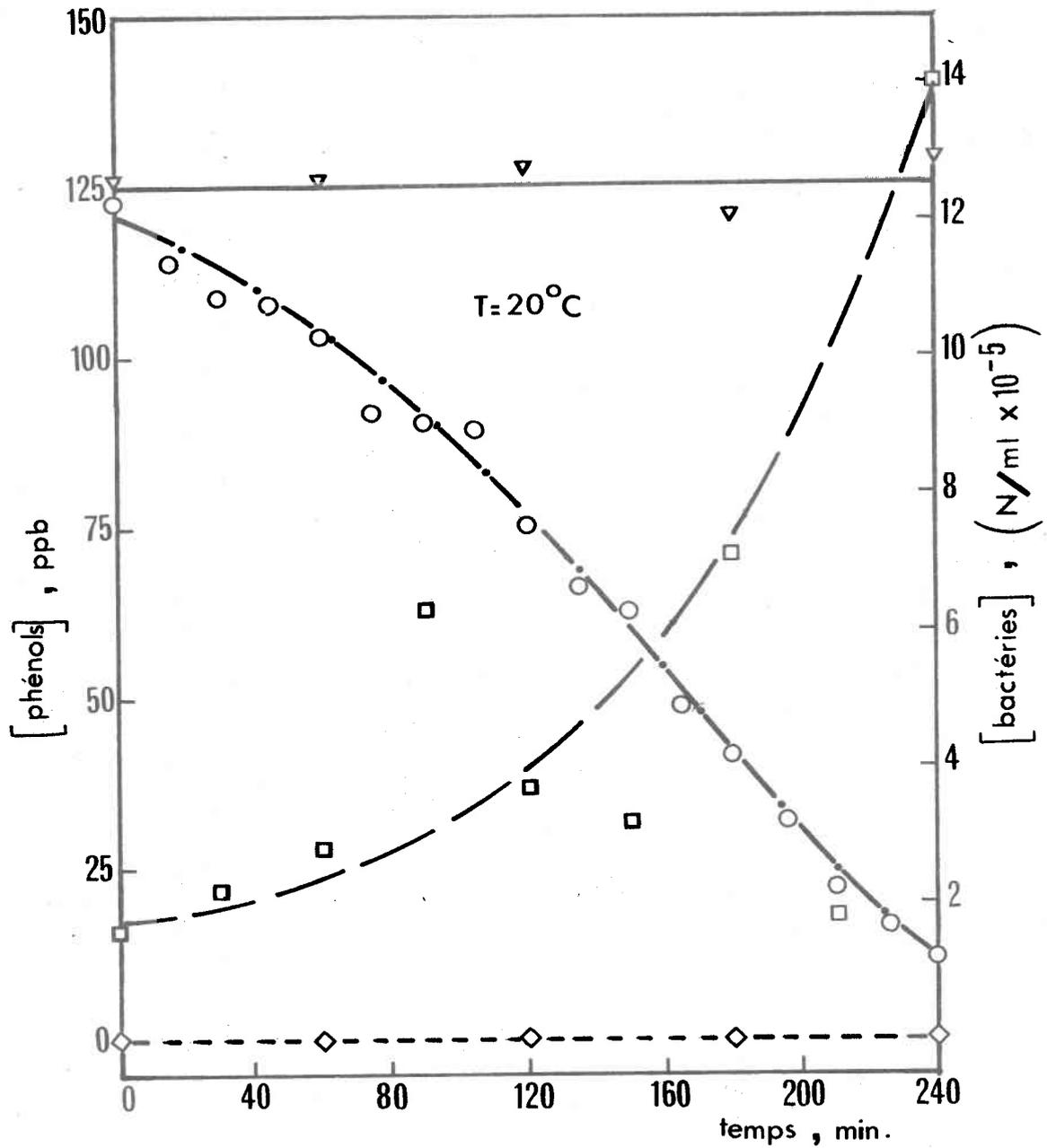


Figure 3.1: Evolution de la concentration de phénol et du nombre de bactéries phénoliques dans une eau stérile et dans une eau non stérile.

- = [phénols] dans l'eau non stérile
- ▽ = [phénols] dans l'eau stérile
- = [bactéries] dans l'eau non stérile
- ◇ = [bactéries] dans l'eau stérile

la deuxième, la concentration en phénols en fonction du temps reste pratiquement inchangée. Nous remarquons aussi que dans la première expérience, le nombre de bactéries phénoliques augmente en fonction du temps, à mesure que les phénols disparaissent, tandis que dans la deuxième, l'eau est bien demeurée stérile. Le nombre de bactéries phénoliques (entre 10^5 et 10^6 bactéries/ml) représente 3 à 4% de la microflore totale.

A la lumière de ces deux expériences, nous pouvons nous permettre d'éliminer au moins un mécanisme de disparition du phénol, lequel était le principal composé phénolique dans les deux milieux, ceux avec l'eau stérile et l'eau non stérile. En effet, dans l'eau stérile, le phénol pourrait disparaître par oxydation chimique, adsorption ou photooxydation; or, nous ne notons aucune disparition pendant quatre heures. Nous devons donc éliminer de toute évidence l'oxydation chimique comme voie de disparition du phénol. L'adsorption sur des sédiments en suspension ne semble pas également être un mécanisme important si on en juge d'après les résultats (voir la section 3.2). Il est à noter cependant, que le fait d'amener l'eau à ébullition, peut modifier les sédiments en suspension. Quant à la photooxydation, comme l'expérience a été effectuée dans une bouteille de polyéthylène et que ce matériau ne transmet pas la lumière de tout le spectre solaire, nous ne pouvons l'éliminer comme mécanisme de disparition du phénol.

Puisque le fait de faire bouillir l'eau peut modifier les sédiments en suspension, nous avons pensé utiliser un autre moyen de stérilisation à l'aide d'antibiotiques. Nous avons utilisé un mélange de pénicilline et streptomycine à une concentration de 500 µg/ml chacune. Malheureusement, cette expérience s'est avérée infructueuse à cause des difficultés rencontrées lors des analyses

à la 4 - amino-antipyrine. Les antibiotiques ou leurs produits de dégradation interfèrent lors du dosage des phénols.

3.2 Etude de l'adsorption du phénol dans l'eau du fleuve

Afin d'évaluer le rôle de l'adsorption dans la disparition du phénol, nous avons conçu l'expérience décrite ci-dessous.

Un volume de 5 litres d'eau du fleuve a été stérilisé à l'autoclave, pendant 15 minutes à 15 livres de pression et à 121°C. Comme la stérilisation amène un léger changement de pH, nous l'avons réajusté à sa valeur initiale, 8.1, avec de l'acide chlorhydrique dilué. Un échantillon a ensuite été prélevé afin de mesurer la concentration initiale de phénols dans l'eau stérile. Cette concentration était de 15 ppb. Pour cette expérience, les concentrations de phénols ont été déterminées par la méthode de fluorescence.

La même quantité de phénol par unité de volume, a été ajoutée à l'eau du fleuve et à un étalon préparé avec de l'eau déminéralisée. L'eau du fleuve fut divisée en deux portions placées dans des Erlenmeyers. Après agitation continue pendant 90 minutes, deux échantillons étaient prélevés dans chaque fiole. L'un était distillé immédiatement tout comme l'étalon, tandis que l'autre l'était après filtration sur une membrane (millipore HA) de porosité 0.45 micromètres (μm). Avant la filtration, les filtres ont été lavés avec 1.5 litre d'eau déminéralisée afin de minimiser les interférences dues aux matériaux composant les filtres et pouvant être lessivés. Par mesure de précaution, les derniers 50 ml de cette eau de lavage, ont été utilisés comme témoin pour les échantillons filtrés lors de l'analyse par fluorescence.

Les résultats de cette expérience sont indiqués dans le tableau 3.1. On y

voit qu'environ 15% du phénol est adsorbé sur les sédiments après 90 minutes,

TABLEAU 3.1: Adsorption du phénol par les sédiments en suspension.

ESSAI	[phénol] dans l'eau du fleuve stérile (ppb)			% d'adsorption	% de récupération par distillation
	ajoutée + naturelle	après filtration et distillation	après distillation		
1	115	94.5	111.5	15.2	97.0
2	115	97.0	114.0	14.9	99.0

ce qui est un peu plus que le temps nécessaire pour que les eaux en provenance des raffineries atteignent le lieu d'échantillonnage. Par contre, lors de la distillation, on récupère dans le distillat presque tout le phénol qui s'était adsorbé; puisque les deux méthodes analytiques comportent cette étape de distillation, elles dosent à la fois le phénol en solution de même que le phénol adsorbé sur les sédiments en suspension. Il a été vérifié, dans cette expérience, qu'il n'y avait aucune adsorption de phénol sur les filtres.

3.3 Evidence de la biodégradation comme mécanisme important pour expliquer la disparition du phénol

Nous avons retenu quatre mécanismes explicatifs de la disparition du phénol dans le fleuve. D'après les résultats de l'expérience décrite dans la section 3.1, nous pouvons éliminer l'oxydation chimique, puisque dans l'eau stérile, au-

cune diminution de phénol n'était observée. Par contre, la photooxydation ne peut être éliminée d'après ces mêmes résultats, puisque le polyéthylène ne transmet qu'une partie du spectre solaire. Cependant, la photooxydation n'est peut être pas un mécanisme important pour expliquer la disparition du phénol dans l'eau du fleuve, si on considère la profondeur du fleuve dans cette région (environ 7 mètres) et la turbidité de l'eau, de l'ordre de 10 unités Jackson (11) d'après Korab (16). L'expérience décrite dans la section 3.2 a permis de mettre en évidence une adsorption de l'ordre de 15% du phénol sur les sédiments en suspension. Pour que ce mécanisme explique la disparition du phénol dans les eaux du fleuve, il faudrait qu'il y ait sédimentation des particules en suspension et par le fait même entraînement du phénol adsorbé dans les sédiments de fond. Or, si on considère que les vitesses de courant dans la région étudiée sont de l'ordre de 0.5 mètre/seconde, il est peu probable que la sédimentation soit importante.

La biodégradation semble cependant être le mécanisme important pour expliquer la disparition du phénol dans les eaux du fleuve. Plusieurs faits militent en effet en faveur de ce mécanisme. D'après l'expérience décrite dans la section 3.1 et représentée sur la figure 3.1, nous n'observons aucune diminution de phénol dans l'eau stérile, alors que nous en observons une lorsque l'eau n'est pas stérile. De plus, nous observons une augmentation du nombre de bactéries phénoliques à mesure que la concentration de phénol décroît. D'après Visser et Lamontagne (17), plus de 30 souches différentes de bactéries, capables d'utiliser le phénol comme substrat, ont été isolées de l'eau du fleuve prélevée dans la région influencée par les raffineries.

En conséquence, il semble bien que la biodégradation soit le mécanisme le plus important, sinon le seul à pouvoir expliquer la disparition du phénol dans

les eaux du fleuve. Nous nous sommes donc attachés, dans le reste du travail, à n'étudier que ce mécanisme de disparition du phénol; pour y arriver, nous devons travailler dans des conditions qui nous permettent de n'observer que ce mécanisme. D'après les résultats des expériences décrites dans les sections 3.1 et 3.2, il est possible de réaliser ces conditions en utilisant une bouteille de polyéthylène comme contenant du milieu réactionnel et en effectuant une distillation avant l'analyse du phénol. En effet, d'après les résultats de l'expérience dans la section 3.1, la disparition de phénol observée dans l'eau non stérile, ne peut être expliquée que par la biodégradation. De plus, d'après l'expérience décrite dans la section 3.2, on constate qu'on récupère, lors de la distillation, tout le phénol adsorbé, ce qui fait qu'on ne voit pas le phénomène d'adsorption.

4. ETUDE DE LA BIODEGRADABILITE DU PHENOL

Des expériences de simulation ont été effectuées pour étudier la vitesse de biodégradation du phénol en essayant de se rapprocher des conditions qui existent dans le fleuve Saint-Laurent. Les premières expériences ont été conçues pour être effectuées sur le terrain. Cependant, après nous être rendu compte que nous ne pouvions bien contrôler les variables de la réaction, nous avons modifié le protocole expérimental et avons dû exécuter les expériences de simulation en laboratoire. Ce chapitre décrit les expériences effectuées ainsi que les résultats obtenus.

4.1 Expériences de simulation sur le terrain

4.1.1 Description des expériences

De l'eau prélevée au lieu d'échantillonnage décrit dans la section 2.1, était placée dans une bouteille de polyéthylène de 25 litres et ramenée au quai. La température de l'eau était mesurée et un échantillon d'eau prélevé pour déterminer la concentration naturelle de phénols. Une quantité déterminée de phénol était ajoutée dans la bouteille de polyéthylène qui était ensuite plongée dans le fleuve, en ayant soin de l'agiter régulièrement. A différents temps, des échantillons étaient prélevés pour mesurer la concentration de phénols et le nombre de bactéries phénoliques. La concentration en phénols a été mesurée par la méthode à la 4 - amino-antipyrine et le nombre de bactéries phénoliques, déterminé selon la méthode décrite dans l'annexe B.

4.1.2 Résultats

Quatre expériences ont été réalisées à des températures de 16, 20, 23 et 25°C. Les résultats apparaissent dans le tableau A-1, annexe A. On y retrouve, pour chaque expérience: la température de l'eau, la concentration naturelle de phénols, ainsi que l'évolution en fonction du temps, de la concentration de phénols et du nombre de bactéries phénoliques. Nous remarquons, en consultant ces résultats que pour chacune des expériences, le nombre de bactéries phénoliques croît à mesure que la concentration de phénol décroît, ce que nous avons d'ailleurs observé (voir la section 3.1). De plus, il faut souligner que la concentration en phénols ajoutée, était supérieure à la concentration dite naturelle. Par conséquent, dans les sections qui suivent, nous parlerons de la disparition du phénol ajouté plutôt que de la diminution de la concentration en phénols.

4.1.2.1 Effet de la température

Afin d'évaluer l'effet de la température de l'eau sur la dégradation du phénol, nous avons représenté sur la figure 4.1 le pourcentage de phénol en fonction du temps pour les quatre températures étudiées. Les courbes de la figure 4.1 montrent que plus la température est élevée, plus vite se fait la dégradation. Cette action de la température ambiante peut cependant être multiple. Elle peut agir sur la cinétique même de biodégradation, sur le nombre de bactéries phénoliques présentes lorsque l'expérience débute, de même que sur le taux de croissance de ces microorganismes pendant l'expérience. Il est en effet logique de penser que la vitesse de biodégradation puisse être fonction du nombre de bactéries phénoliques. Le tableau 4.1 montre le nombre initial de bactéries phénoliques pour chacune des expériences; on y voit que ce nombre varie d'une expérience à

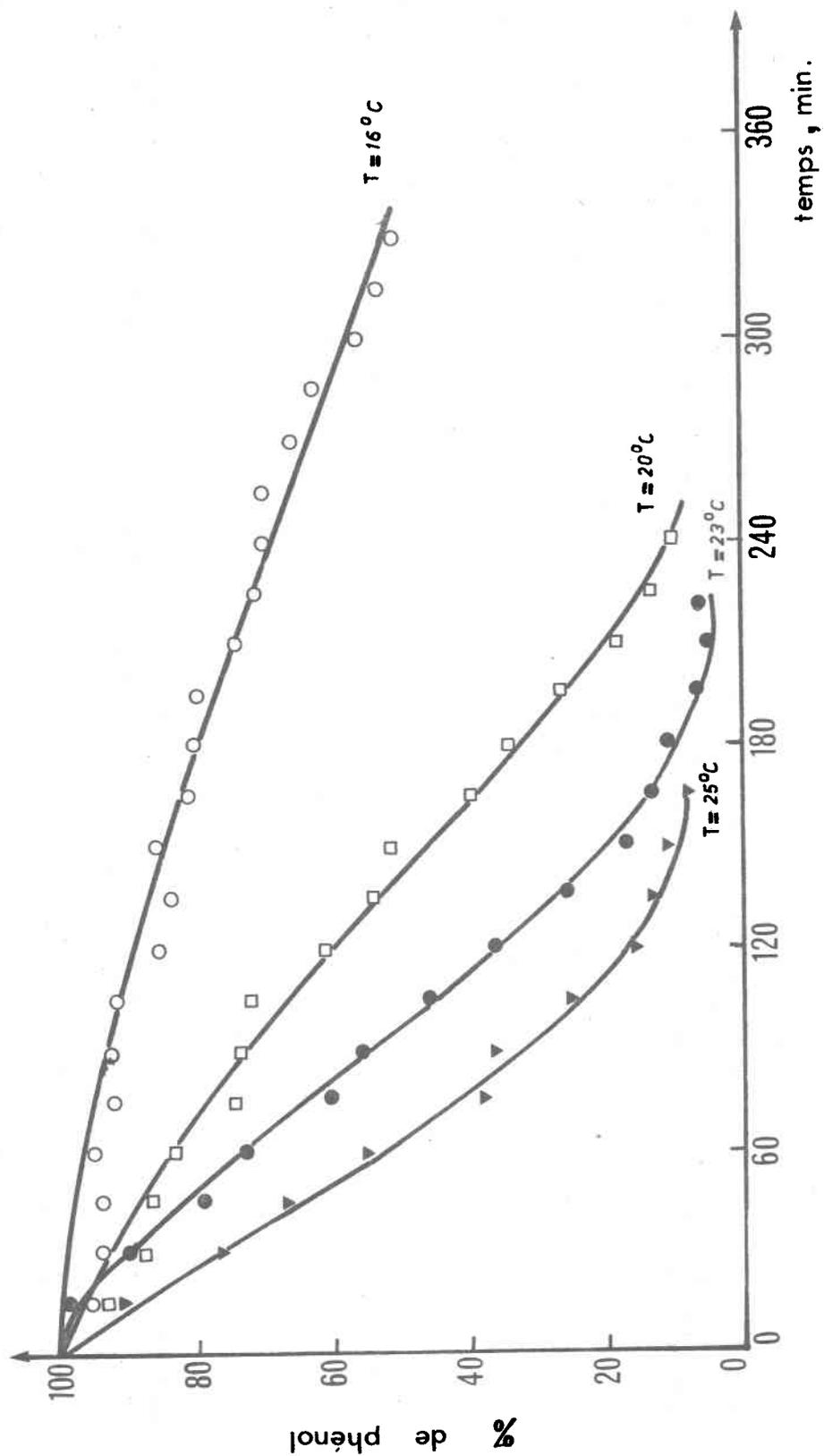


Figure 4.1: Influence de la température de l'eau sur la biodégradation du phénol, l'ordonnée représente le % de phénol qui reste dans le milieu réactionnel. Résultats des expériences de simulation sur le terrain.

TABEAU 4.1: Variation du nombre initial de bactéries phénoliques et de la concentration naturelle des phénols en fonction de la température de l'eau

Date	25/9/73	11/9/73	28/8/73	5/9/73
Température en °C	16	20	23	25
Nombre de bactéries par ml	6.0×10^4	1.6×10^5	8.9×10^4	1.0×10^5
[phénols] naturelle (ppb)	44.5	10.2	8.2	7.0

l'autre. Nous remarquons également que la concentration naturelle en phénols diminue à mesure que la température augmente.

Sur la figure 4.2, où nous avons représenté les résultats obtenus lors de l'expérience réalisée à 23°C, nous constatons que la vitesse maximale de dégradation ne se produit pas au tout début de l'expérience. Ce phénomène pourrait s'expliquer par une phase de latence due à un stress imposé aux bactéries. Ce stress serait dû à la présence de parois (bouteille de polyéthylène) et à l'addition subite d'une quantité de phénol. En plus, il est possible d'imaginer que les bactéries, avant de dégrader le phénol, s'attaquent à d'autres substances organiques présentes, elles aussi, dans le milieu.

Plusieurs essais ont été tentés afin de déterminer une expression cinétique pouvant expliquer les résultats des expériences de simulation sur le terrain. Nous avons essayé des expressions cinétiques d'ordres 1 et 2, ainsi que l'équation de Michaëlis et Menten. Cependant, aucune de ces expressions cinétiques ne

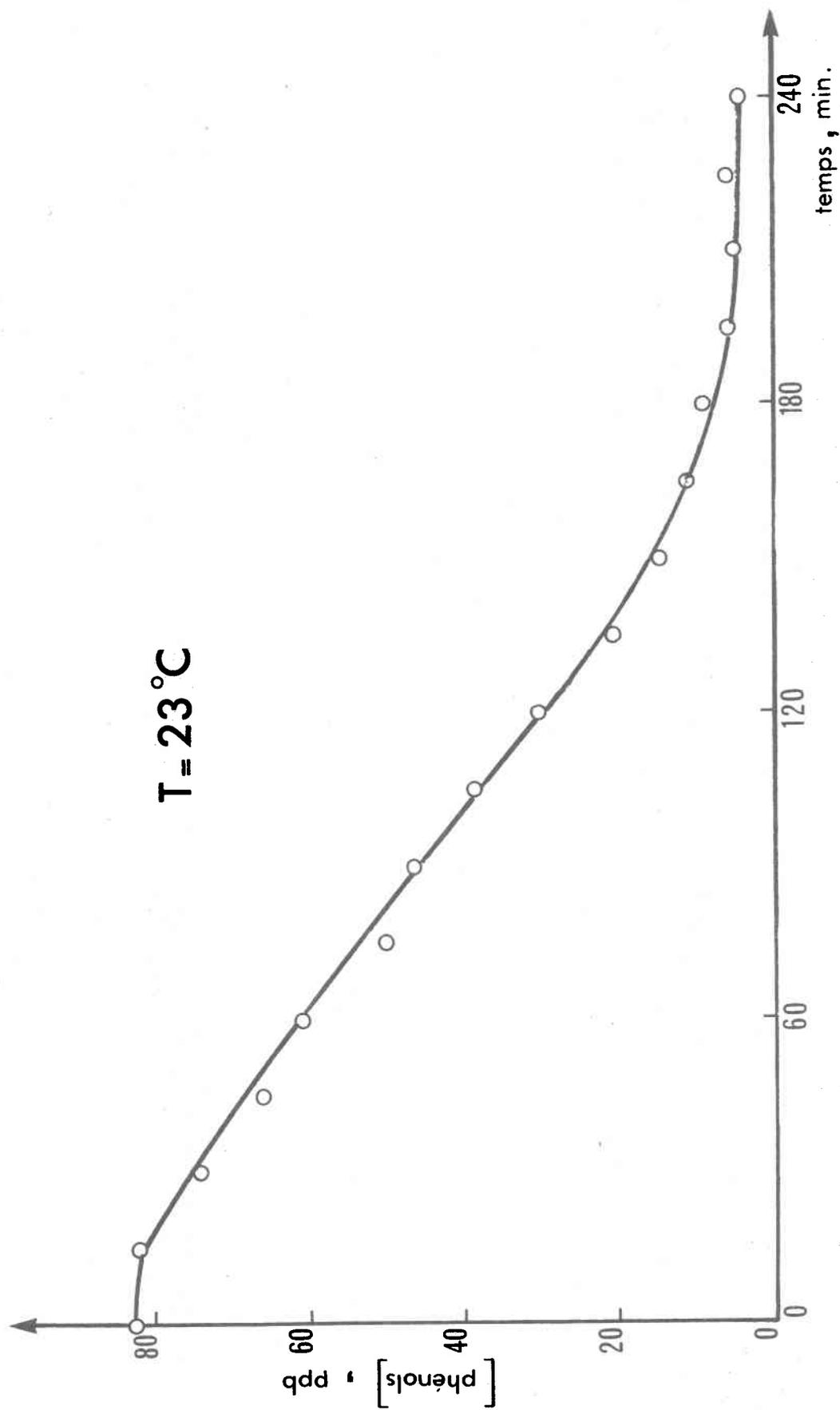


Figure 4.2: Evolution de la concentration de phénols lors d'une expérience de simulation sur le terrain.

s'est avérée satisfaisante. Plusieurs raisons peuvent être invoquées pour expliquer les difficultés rencontrées. Tout d'abord, soulignons la variation simultanée du nombre de bactéries par ml et de la concentration de phénol. Ensuite, la présence dans le milieu naturel de différents types de phénols (crésols, xylénols, etc...), qui n'ont pas nécessairement la même vitesse de dégradation que le phénol (7). Enfin, la vitesse maximale de dégradation ne se produit qu'après un temps de latence.

4.2 Expériences de simulation en laboratoire

Pour les raisons mentionnées dans la section précédente nous avons effectué des expériences de simulation en laboratoire, ce qui nous permettait de mieux contrôler les différents facteurs susceptibles d'affecter le taux de la biodégradation. Cependant, durant cette expérimentation, nous avons eu le souci constant de nous rapprocher le plus possible des conditions naturelles du milieu fluvial.

4.2.1 Description des expériences

De l'eau du fleuve prélevée au lieu d'échantillonnage habituel, fut ramenée au laboratoire et laissée à la température ambiante entre un et deux jours pour que la biodégradation des phénols présents originellement dans l'eau, s'effectue. Cette eau fut ensuite conservée à 4°C jusqu'à son utilisation pour une expérience. La quantité requise pour une expérience était stérilisée à l'autoclave, pendant 15 minutes à 121°C et 15 livres de pression. Le pH était ensuite ajusté à sa valeur initiale avec de l'acide chlorhydrique dilué. Nous avons ensuite ajouté une suspension de bactéries que nous avons adaptée au phénol, selon une procédure décrite plus loin.

Toutes les expériences, sauf celle réalisée à 23.0°C (température ambiante

du laboratoire) ont été effectuées dans une chambre à température contrôlée. La concentration de phénol était déterminée par la méthode de fluorescence et le nombre de bactéries phénoliques, selon la procédure décrite dans l'annexe B.

4.2.1.1 Préparation de la suspension de bactéries

La suspension de bactéries provenait d'un mélange de quatre souches, isolées précédemment de l'eau du fleuve et cultivées dans un milieu phénolique (concentration en phénol de 200 ppb) en boîtes de Pétri. Ces quatre souches représentaient les souches phénoliques dominantes isolées du fleuve (17) et nous avons joint dans le tableau B-1, annexe B, certaines de leurs caractéristiques. Des prélèvements des quatre souches de bactéries, effectués à partir des boîtes de Pétri, ont été conservés pendant environ 60 minutes dans une solution saline (NaCl, 0.5%) jusqu'au moment de l'expérience. Le comptage préliminaire des bactéries s'effectuait au microscope à l'aide d'un hémacytomètre. Ce comptage nous permettait de déterminer le volume de la suspension de bactéries à ajouter au volume d'eau du fleuve stérilisée pour obtenir dans celui-ci une concentration en bactéries de l'ordre de 10^6 bactéries/ml.

4.2.1.2 Adaptation des bactéries

Afin d'éliminer la phase de latence, nous avons adapté les bactéries au phénol avant de procéder à l'expérience proprement dite. L'adaptation des bactéries était effectuée comme suit:

- l'eau du fleuve stérilisée était amenée à une concentration de phénol de l'ordre de 100 ppb et la suspension de bactéries phénoliques y était ajoutée;
- Après avoir attendu suffisamment longtemps pour que le phénol soit presque complètement dégradé (ceci était vérifié par mesure de la concentration de

phénol pendant la période d'adaptation), une deuxième quantité de phénol était ajoutée;

- après avoir attendu le temps nécessaire pour que la nouvelle addition de phénol soit dégradée, on considérait que les bactéries étaient adaptées et les expériences décrites dans les sections 4.2.2 et 4.2.3 débutaient.

Pendant la période d'adaptation, des échantillons étaient prélevés pour déterminer la concentration de phénol par fluorescence. D'autres étaient également prélevés, au début et à la fin de la période d'adaptation, pour déterminer le nombre de bactéries phénoliques par ml selon la méthode décrite dans l'annexe B. Les valeurs mesurées sont données dans les tableaux A-2 et A-3, annexe A. Sur la figure 4.3, nous avons représenté la concentration de phénol en fonction du temps pour une adaptation à 23.0°C. Nous remarquons sur cette figure, une phase de latence de plus d'une heure au début de la période d'adaptation. Par contre, après le deuxième ajout de phénol, les bactéries, mieux adaptées, commencent immédiatement à dégrader le phénol. Quant au nombre de bactéries phénoliques, si on considère le tableau A-2, annexe A, on ne constate pas de différence appréciable entre le début et la fin de l'expérience.

4.2.2 Expériences à température et concentration en bactéries constantes

Ces expériences ont été réalisées afin d'étudier l'influence de la concentration de phénol sur la vitesse de sa biodégradation. Nous avons donc tenté de garder constants et le nombre de bactéries par ml et la température.

Après la période d'adaptation, l'eau était séparée en portions égales dans six bouteilles de polyéthylène de 4.5 litres. Chacune des bouteilles contenait donc la même concentration de bactéries phénoliques. Par contre, des quantités différentes de phénol étaient ajoutées à chacune des bouteilles, de façon à obte-

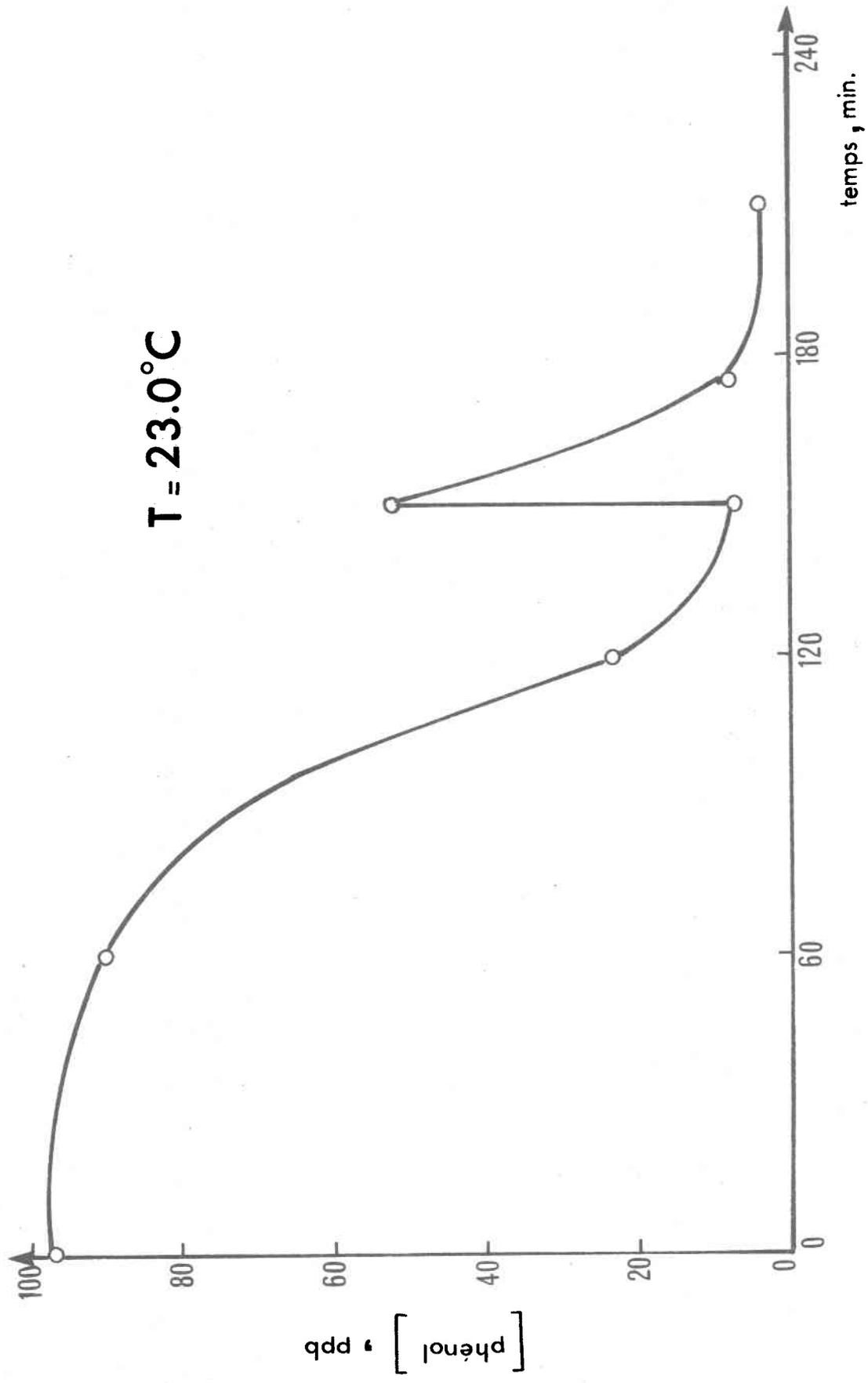


Figure 4.3: Courbe typique d'adaptation des bactéries.

nir des concentrations initiales de phénol variant entre 30 et 180 ppb. Pendant la durée de l'expérience, l'eau était agitée continuellement (par des agitateurs magnétiques) et des échantillons étaient prélevés à des temps connus pour la détermination de la concentration de phénol. La température de l'eau, mesurée dans une des bouteilles, demeurait constante à mieux que 0.1°C pendant la durée de l'expérience. De plus, puisque l'expérience était de courte durée (environ 15 minutes), on s'attendait à ce que le nombre de bactéries par ml varie peu au cours de l'expérience. Toutefois, afin de vérifier ce point, des échantillons d'eau étaient prélevés au début et à la fin de l'expérience dans deux bouteilles (celles contenant la plus faible et la plus grande concentration de phénol) afin de déceler des changements de concentration en bactéries.

Les résultats de ces expériences effectuées aux températures de 15.0, 19.5, 23.0 et 30.0°C sont présentés dans le tableau A-2, annexe A. Sur la figure 4.4, nous avons représenté, à titre d'exemple, les résultats de l'expérience réalisée à 23.0°C . D'après la figure 4.4, on voit que la vitesse de biodégradation ($-\frac{d[\text{phénol}]}{dt}$, c'est-à-dire, la pente des courbes) varie en fonction de la concentration de phénol. Les résultats expérimentaux seront cependant traités de façon plus approfondie dans la section 4.3.

4.2.3 Expérience à température et concentration initiale de phénol constantes

Cette expérience a été réalisée afin d'étudier l'influence de la concentration de bactéries phénoliques sur la vitesse de biodégradation du phénol.

Après la période d'adaptation décrite dans la section 4.2.1.2, l'eau était séparée en cinq portions de volumes différents, contenant la même concentration de bactéries phénoliques, déterminée selon la méthode habituelle. Quatre de ces portions étaient ensuite diluées avec de l'eau du fleuve préalablement stérilisée,

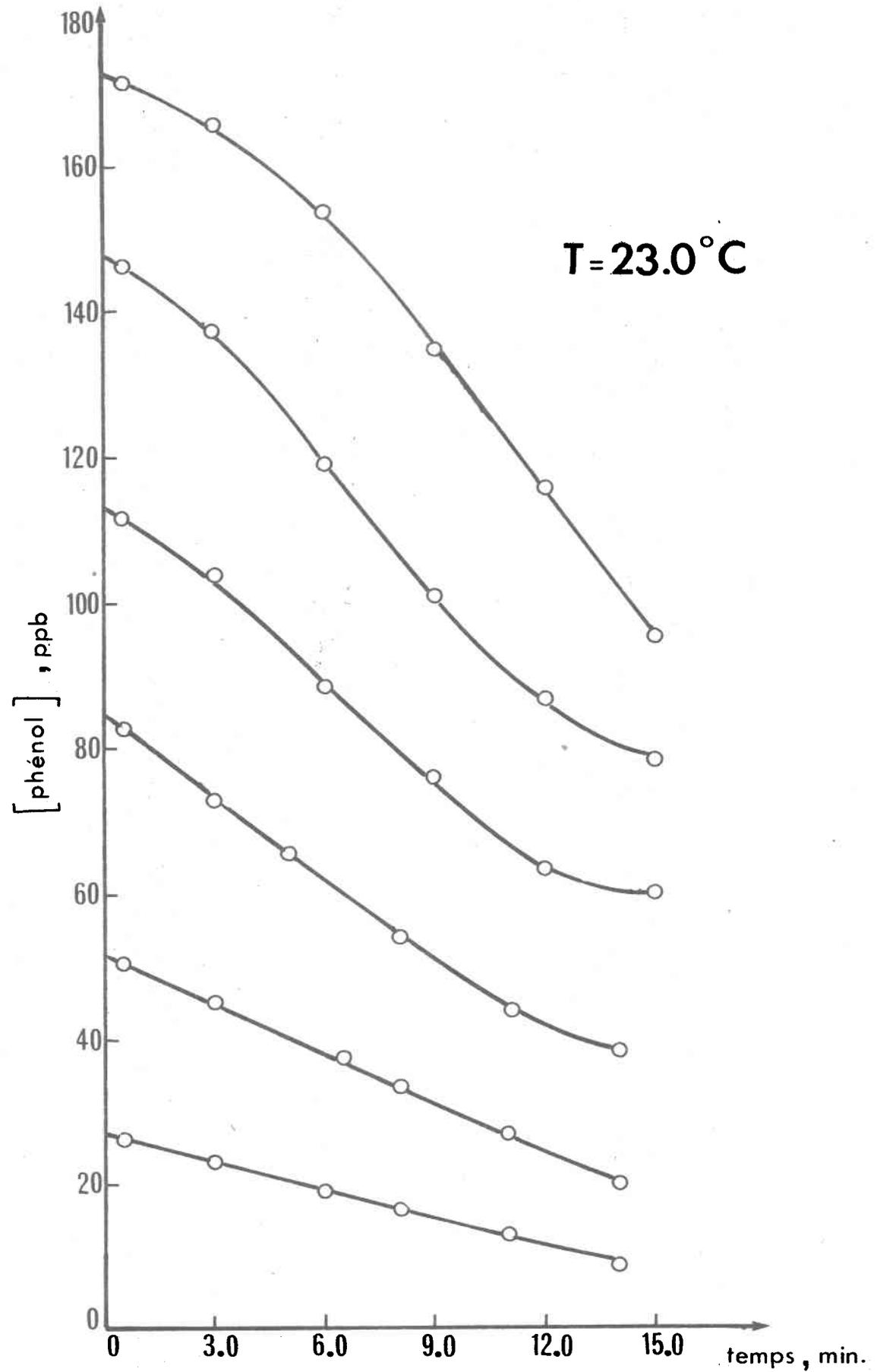


Figure 4.4: Courbes de biodégradation du phénol à température et concentration en bactéries constantes.

de façon à obtenir ainsi des facteurs de dilution pour les bactéries de 1.6, 2.0, 2.7 et 4.0. Nous avons ensuite tenté, sans y réussir complètement, d'amener les cinq portions d'eau, en leur ajoutant les quantités appropriées de phénol, à une concentration uniforme. Pendant toute la durée de l'expérience, l'eau était agitée continuellement (au moyen d'agitateurs magnétiques) et des échantillons prélevés à intervalles réguliers pour déterminer la concentration de phénol.

Les résultats de cette expérience, effectuée à une seule température (23.0°C), sont présentés dans le tableau A-3, annexe A et représentés graphiquement sur la figure 4.5. Nous notons sur cette figure que les concentrations initiales de phénol, quoique du même ordre de grandeur, ne sont pas identiques pour les différentes dilutions de bactéries. Ceci s'explique par le fait que les volumes de solution phénolique à ajouter, pour obtenir une concentration uniforme de phénol dans les différentes bouteilles, étaient calculés en tenant compte de la concentration de phénol dans la solution mère à la fin de la période d'adaptation. Cette dernière concentration était obtenue par extrapolation de concentrations mesurées avant la fin de la période d'adaptation des bactéries. L'erreur impliquée dans la détermination de la concentration extrapolée, se retrouvait dans les volumes de solution phénolique à ajouter et rendait donc difficile la réalisation d'une concentration uniforme en phénol dans les différentes bouteilles. Toutefois, connaissant la relation entre la vitesse de dégradation et la concentration de phénol, il sera possible, dans la section 4.3.6, de "corriger" ces expériences en les ramenant, lors du traitement des données, à une même concentration initiale et d'obtenir ainsi la relation entre la vitesse de dégradation et la concentration de bactéries.

Malgré les difficultés mentionnées, nous voyons quand même sur la figure 4.5

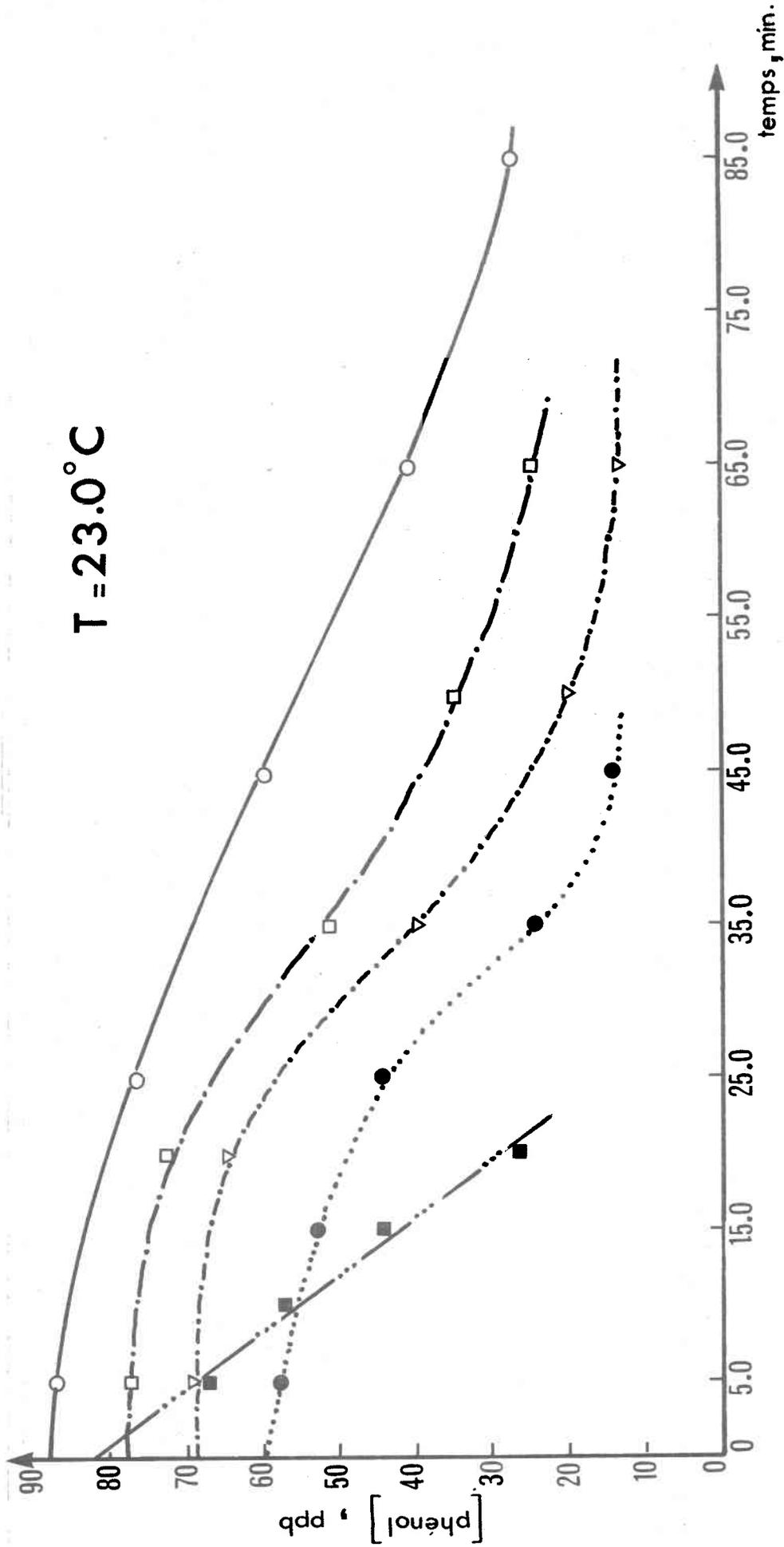


Figure 4.5: Courbes de biodégradation du phénol à température et concentration initiale de phénol constantes
 ■ = facteur de dilution 0, (2.3×10^6 bact./ml), ● = facteur de dilution 1.6, (1.4×10^6 bact./ml)
 ▽ = facteur de dilution 2.0, (1.2×10^6 bact./ml), □ = facteur de dilution 2.7, (8.6×10^5 bact./ml)
 ○ = facteur de dilution 4.0, (5.8×10^5 bact./ml)

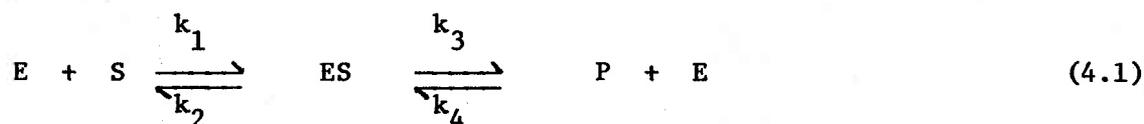
que la vitesse maximale de biodégradation du phénol ($-\frac{d[\text{phénol}]}{dt}$, c'est-à-dire la pente des courbes) pour chacune des dilutions, est fonction du nombre de bactéries phénoliques. Nous observons, d'autre part, sur les courbes, sauf sur celle représentant l'échantillon non dilué, qu'il existe un temps de latence, ceci malgré l'adaptation préalable des bactéries. Ceci pourrait être dû à la présence dans l'eau du fleuve, préalablement stérilisée, qui servait d'eau de dilution, de substances organiques que les bactéries assimilent de façon préférentielle au phénol. Dans la bouteille où la dilution est nulle, les bactéries auraient déjà assimilé ces substances pendant la période d'adaptation et, par conséquent, elles dégraderaient sans temps de latence le phénol.

4.3 Interprétation des résultats

Comme nous avons indiqué précédemment que les expériences effectuées sur le terrain sont sujettes à de nombreux facteurs incontrôlables, l'interprétation des résultats qui suit, vaut seulement pour les expériences de simulation réalisées en laboratoire. Après un bref exposé de la cinétique enzymatique, plusieurs méthodes de traitement des données expérimentales seront décrites et comparées entre elles.

4.3.1 Théorie de la cinétique enzymatique

Selon l'hypothèse émise par Henri (18) et adoptée par la suite par Michaëlis et Menten (19), le mode d'intervention d'un enzyme dans une réaction chimique est décrit par la formation d'un complexe intermédiaire ES entre l'enzyme E et le substrat S, qui se décompose ensuite pour donner le produit P de la réaction et l'enzyme inchangé, suivant l'équation:



où k_1 , k_2 , k_3 et k_4 représentent les constantes de vitesse des réactions.

Au début de la réaction, quand la concentration en P, $[P]$, est faible, la réaction inverse ($E + P \xrightarrow{k_4} ES$) peut être négligée et la vitesse de la réaction globale, v , est donnée par l'équation de Michaëlis et Menten (20):

$$v = \frac{k_3 [E] [S]}{[S] + \left(\frac{k_2 + k_3}{k_1}\right) [S]} = \frac{v_{\max} [S]}{[S] + K_M} \quad (4.2)$$

où $v_{\max} = k_3 [E]$ = vitesse maximale possible de la réaction lorsque toutes les molécules d'enzymes sont sous la forme du complexe ES, et $K_M = \left(\frac{k_2 + k_3}{k_1}\right)$ = constante de Michaëlis = concentration de substrat pour laquelle la vitesse de la réaction est égale à $\frac{v_{\max}}{2}$.

D'après l'équation (4.2), lorsque $[S] \gg K_M$, $v = v_{\max}$ et la réaction suit une cinétique d'ordre 0 par rapport au substrat. Par contre, si $[S] \ll K_M$, $v = \frac{v_{\max}}{K_M} [S]$ et la réaction suit une cinétique d'ordre 1 par rapport au substrat. Lorsque K_M et $[S]$ sont du même ordre de grandeur, la détermination de la vitesse de la réaction requiert l'équation complète.

De nombreuses études ont signalé que la vitesse de biodégradation de plusieurs substances organiques, suit l'équation de Michaëlis et Menten (20). Tench et Morton (21) ont rapporté que l'équation de Michaëlis et Menten s'applique à la vitesse d'oxydation d'un substrat unique, ou d'un mélange de substrats, par les boues activées. Hemmet (22) a étudié avec des boues activées la cinétique de la biodégradation de plusieurs acides phénoxyacétiques et a établi que la majorité d'entre eux suivaient l'équation de Michaëlis et Menten. Les concentrations d'acides utilisées étaient cependant de plusieurs dizaines de ppm.

En ce qui concerne la biodégradation de la matière organique dans les eaux

naturelles, Hobbie et Wright (23) ont suggéré deux mécanismes distincts pour l'assimilation du glucose et de plusieurs solutés organiques. Le premier, prédominant aux basses concentrations de substrat, suit la cinétique de Michaëlis-Menten et est attribué aux bactéries. Le second, plus efficace aux fortes concentrations de substrat, suit une cinétique de diffusion, et est attribué aux algues.

Ces observations permettent de remplacer [E] et [S] dans l'équation (4.2) respectivement par [B] = [bactéries] et [ϕ] = [phénol], celle-ci s'écrit alors:

$$v = - \frac{d[\phi]}{dt} = \frac{k_3 [B] [\phi]}{K_M + [\phi]} = \frac{v_{\max} [\phi]}{K_M + [\phi]} \quad (4.3)$$

4.3.2 Utilisation de l'équation différentielle pour les expériences à température et concentration en bactéries constantes

Ces expériences ont été décrites dans la section 4.2.2, et celle effectués à 23.0°C a été représentée sur la figure 4.4. D'après l'équation différentielle (4.3), pour obtenir la relation entre la vitesse et la concentration de phénol les pentes des courbes de la figure 4.4 doivent être mesurées, tout en prenant comme concentration de phénol correspondante celle du point de tangence. Pour la mesure des pentes, nous avons pris soin d'éliminer la phase initiale de latence afin d'obtenir leurs valeurs maximales. Sur la figure 4.6, la relation entre les vitesses maximales mesurées sur chacune des courbes et les concentrations en phénol correspondantes est représentée pour les expériences effectuées à 15.0°C et 23.0°C.

Nous avons vu, dans l'exposé de la théorie de la cinétique enzymatique dans la section 4.3.1, que la réaction passe d'une cinétique d'ordre 1 à une cinétique d'ordre 0 au fur et à mesure que la concentration en substrat augmente. Les courbes de la figure 4.6 semblent suivre l'hyperbole que définit l'équation de Michaëlis et Menten. Cependant, il est à noter que dans ces

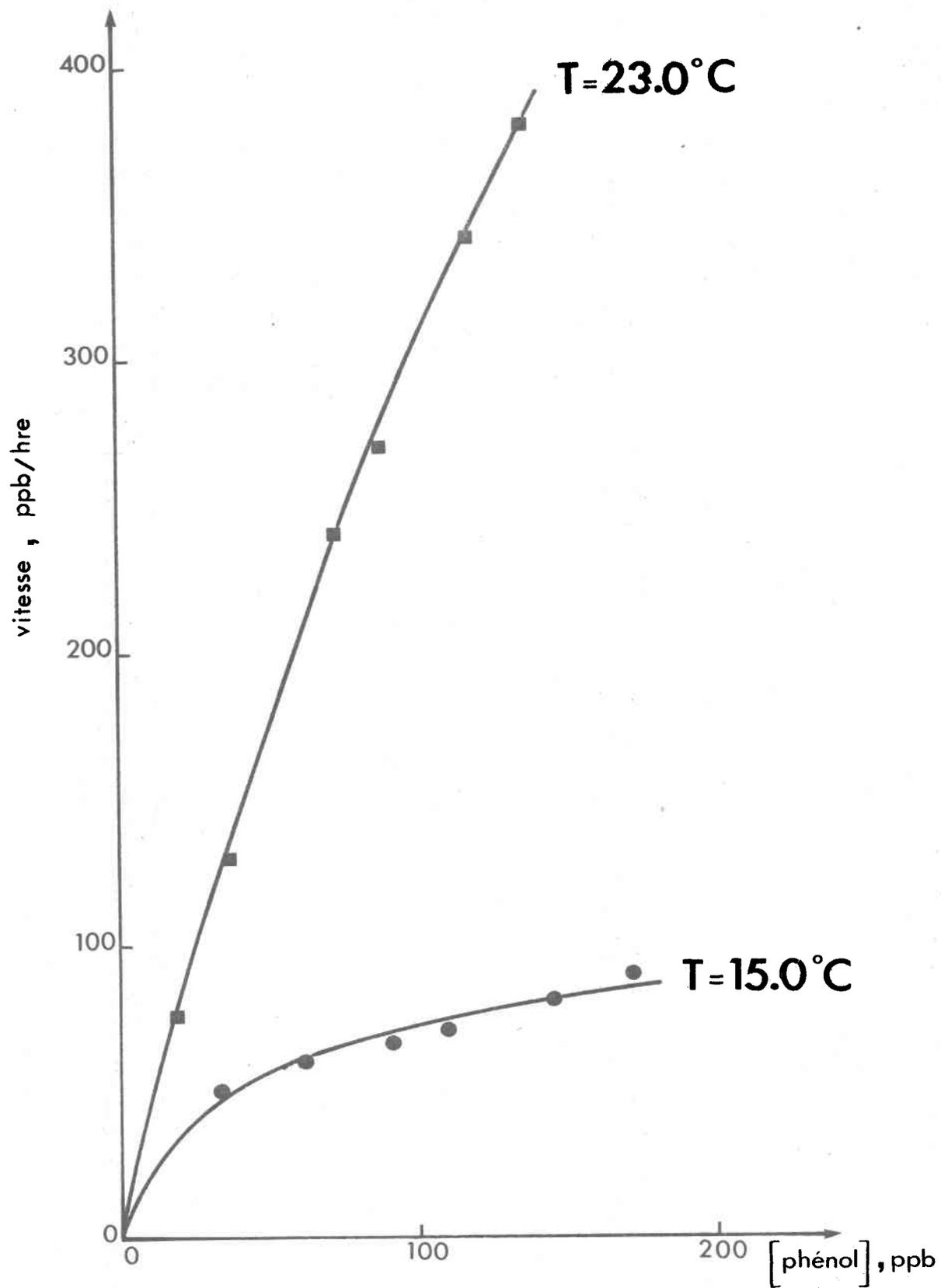


Figure 4.6: Graphique représentant la relation entre la vitesse de biodégradation et la concentration de phénol.

deux expériences nous n'avons pas une gamme assez grande de concentrations, ce qui ne nous permet pas, pour une seule expérience, d'observer des cinétiques d'ordre 0 et 1. Pour l'expérience à 23.0°C, les concentrations de phénol ne sont pas suffisamment élevées pour atteindre la vitesse maximale de dégradation. Par contre, pour l'expérience à 15.0°C les concentrations en phénol semblent être suffisamment élevées pour que l'on s'approche de la cinétique d'ordre 0 et donc de la vitesse maximale de dégradation.

L'équation différentielle (4.3), après inversion et réarrangement peut s'écrire:

$$\frac{1}{U} = \frac{K_M}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{[\phi]} + \frac{1}{V_{\max}} \quad (4.4)$$

L'expression (4.4) communément appelée l'équation de Lineweaver-Burk est représentée par une droite de pente $\frac{K_M}{V_{\max}}$ et d'ordonnée à l'origine $\frac{1}{V_{\max}}$. Nous avons représenté sur la figure 4.7 $\frac{1}{U}$ en fonction de $\frac{1}{[\phi]}$ pour l'expérience effectuée à 23.0°C. Les points obtenus semblent être alignés, ce qui laisse supposer que la relation de Michaëlis et Menten est vérifiée. La signification des droites en trait plein et pointillé sera expliquée ultérieurement, dans la section 4.3.4.

4.3.3- Utilisation de l'équation intégrée pour les expériences à température et nombre de bactéries constants.

D'après les résultats précédents, la biodégradation du phénol semble suivre l'équation de Michaëlis et Menten. Cependant, l'utilisation de l'équation différentielle implique des mesures de pentes, opération sujette à des erreurs subjectives. C'est pourquoi nous avons utilisé l'équation intégrée, qui nous permet d'utiliser directement les valeurs expérimentales mesurées.

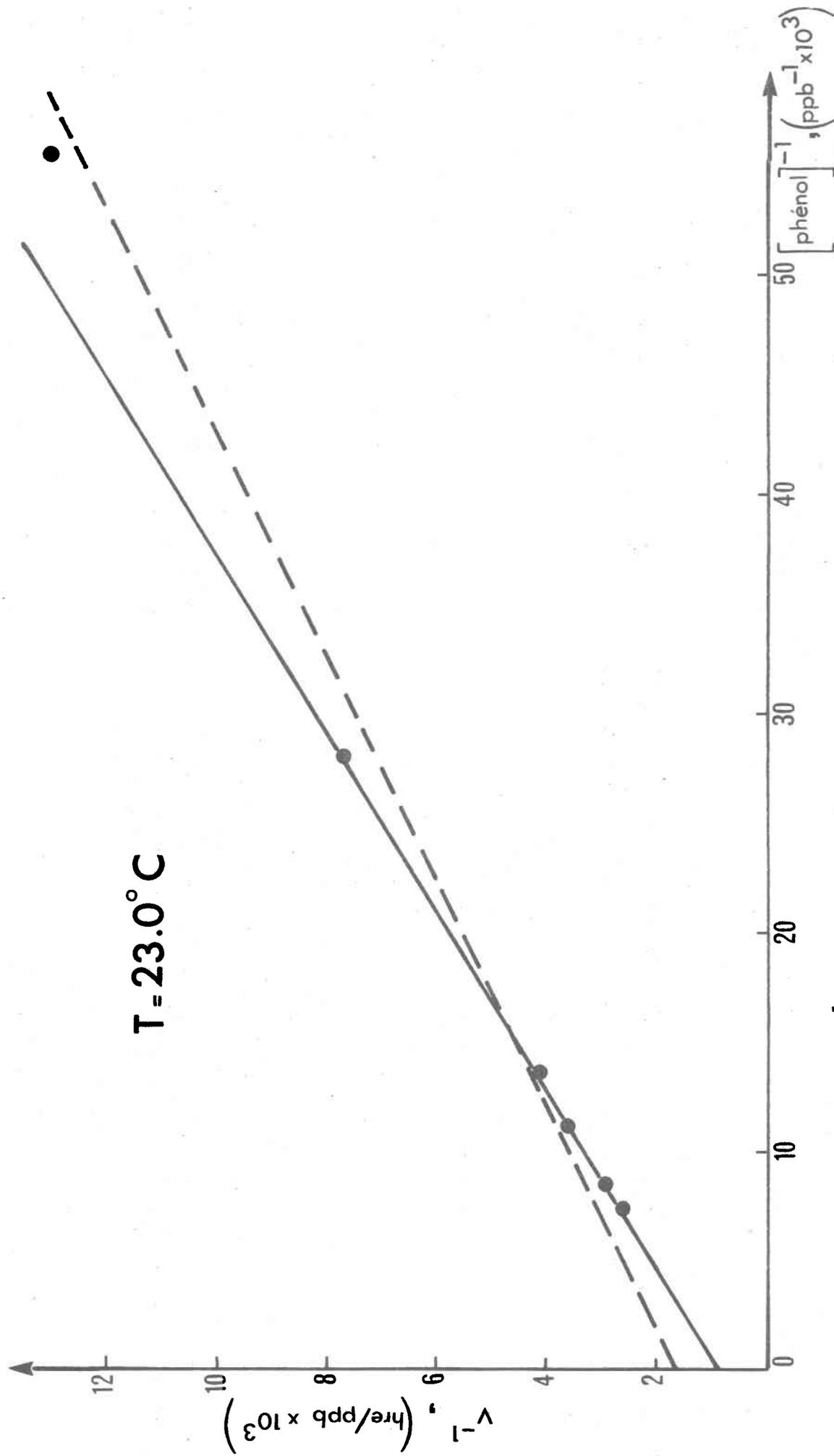


Figure 4.7: Représentation de $\frac{1}{v}$ en fonction de $\frac{1}{[\phi]}$. L'ordonnée à l'origine représente $\frac{1}{V_{\max}}$ et la pente, $\frac{K_M}{V_{\max}}$.

L'équation différentielle (4.3) est intégrée:

$$\frac{d[\phi]}{[\phi]} (K_M + [\phi]) = -k_3 [B] dt \quad (4.5)$$

$$\frac{d[\phi]}{[\phi]} \cdot K_M + \frac{d[\phi]}{[\phi]} \cdot [\phi] = -k_3 [B] dt \quad (4.6)$$

$$K_M \int_{[\phi]_0}^{[\phi]} \frac{d[\phi]}{[\phi]} + \int_{[\phi]_0}^{[\phi]} d[\phi] = -k_3 [B] \int_0^t dt \quad (4.7)$$

$$K_M \left\{ \ln [\phi] \right\} \frac{[\phi]}{[\phi]_0} + \left\{ [\phi] \right\} \frac{[\phi]}{[\phi]_0} = -k_3 [B] \left\{ t \right\}_0^t \quad (4.8)$$

Elle se présente alors sous la forme:

$$K_M \ln \left(\frac{[\phi]}{[\phi]_0} \right) + \left([\phi] - [\phi]_0 \right) = -k_3 [B] t = V_{\max} t \quad (4.9)$$

D'après cette équation intégrée (4.9) les valeurs de V_{\max} et K_M sont calculées en utilisant les données expérimentales $[\phi]_0$, $[\phi]$ et t . Pour la détermination de V_{\max} et K_M nous avons essayé les trois approches différentes d'optimisation décrites ci-dessous.

4.3.3.1- Première approche d'optimisation

En divisant tous les termes de l'équation (4.9) par $K_M \cdot t$, on obtient:

$$\frac{1}{t} \cdot \ln \frac{[\phi]}{[\phi]_0} = \frac{1}{K_M} \cdot \frac{[\phi] - [\phi]_0}{t} - \frac{V_{\max}}{K_M} \quad (4.10)$$

La relation (4.10) représente l'équation d'une droite dont on peut déterminer la pente et l'ordonnée à l'origine, en appliquant le principe des moindres carrés.

$$\text{Posons } W = \frac{1}{t} \ln \frac{[\phi]}{[\phi]_0}, \quad \alpha = \frac{1}{K_M}, \quad U = \frac{[\phi] - [\phi]_0}{t} \quad \text{et} \quad \beta = - \frac{V_{\max}}{K_M}$$

L'équation (4.10) s'écrit alors

$$W = \alpha U + \beta \quad (4.11)$$

Soit ψ une fonction définie par:

$$\psi = \sum_{i=1}^N (w_i - \alpha u_i - \beta)^2 \quad (4.12)$$

où N = nombre total de valeurs expérimentales.

Les valeurs optimales de α et β sont celles minimisant cette fonction ψ . Elles sont obtenues par:

$$\left. \begin{aligned} \frac{\partial \psi}{\partial \alpha} &= 0 \\ \frac{\partial \psi}{\partial \beta} &= 0 \end{aligned} \right\} \quad (4.13)$$

ce qui conduit au système d'équations suivant:

$$\left. \begin{aligned} \alpha \sum_{i=1}^N (u_i^2) + \beta \sum_{i=1}^N (u_i) &= \sum_{i=1}^N (u_i w_i) \\ \alpha \sum_{i=1}^N (u_i) + N\beta &= \sum_{i=1}^N (w_i) \end{aligned} \right\} \quad (4.14)$$

que l'on résout à l'aide d'un ordinateur pour obtenir α et β .

Le programme en langage APL nommé VZ et donné dans l'annexe C permet de résoudre le système d'équations (4.14) et nous donne ainsi les valeurs optimales de V_{\max} et K_M .

4.3.3.2- Deuxième approche d'optimisation.

En divisant tous les termes de l'équation (4.9) par V_{\max} , on obtient:

$$\frac{K_M}{V_{\max}} \ln \left(\frac{[\phi]}{[\phi]_0} \right) + \frac{1}{V_{\max}} \cdot ([\phi] - [\phi]_0) = -t \quad (4.15)$$

Posons $U = \ln \frac{[\phi]}{[\phi]_0}$, $V = ([\phi] - [\phi]_0)$, $W = -t$, $\alpha = \frac{K_M}{V_{\max}}$ et

$$\beta = \frac{1}{V_{\max}} \quad . \quad \text{L'équation (4.15) s'écrit alors} \quad (4.16)$$

$$\alpha U + \beta V = W$$

Soit ψ une fonction définie par:

$$\psi = \sum_{i=1}^N \left(\alpha U_i + \beta V_i - W_i \right)^2 \quad (4.17)$$

Le programme en langage APL nommé AS et donné dans l'annexe C nous donne les valeurs optimales de V_{\max} et K_M suivant la procédure décrite dans la section 4.3.3.1. Toutefois, ces valeurs ne sauraient être considérées exactes et définitives. En effet, le principe des moindres carrés suppose une distribution normale des erreurs expérimentales autour de la courbe théorique. L'utilisation de la variable $U = \ln \frac{[\phi]}{[\phi]_0}$ implique une distribution log-normale qui ne permet pas de vérifier l'hypothèse de base. Une amélioration va être apportée par la troisième approche d'optimisation.

4.3.3.3- Troisième approche d'optimisation

L'équation (4.9) peut aussi s'écrire, après division par K_M :

$$\ln \frac{[\phi]}{[\phi]_0} = - \frac{V_{\max}}{K_M} \cdot t + \frac{[\phi]_0 - [\phi]}{K_M} \quad (4.18)$$

Sous cette forme, l'équation (4.18) pourrait être traitée en utilisant la deuxième approche présentée dans la section précédente. Cependant, afin de respecter l'hypothèse de base du principe des moindres carrés, l'équation (4.18) doit être mise sous la forme:

$$\frac{[\phi]}{[\phi]_0} = e \left(\frac{[\phi]_0 - [\phi]}{K_M} - \frac{V_{\max}}{K_M} \cdot t \right) \quad (4.19)$$

En posant $Z = \frac{[\phi]}{[\phi]_0}$, $x = [\phi]_0 - [\phi]$, $y = t$, $A = \frac{1}{K_M}$ et $B = -\frac{V_{\max}}{K_M}$,

on obtient après substitution:

$$Z = e^{Ax + By} \quad (4.20)$$

L'équation (4.20) obtenue étant non linéaire, il est nécessaire de prendre un développement en série de Taylor de l'exponentielle autour des points A_0 et B_0 ; ces valeurs approchées de la solution finale sont déterminées en première approximation à l'aide de la deuxième approche. Le développement en série de Taylor d'une fonction de deux variables, $f(A, B)$, est donné par:

$$\begin{aligned} f(A, B) = f(A_0 + \Delta A, B_0 + \Delta B) &= f(A_0, B_0) + \Delta A \frac{\partial f}{\partial A} (A_0, B_0) \\ &+ \Delta B \frac{\partial f}{\partial B} (A_0, B_0) + \frac{1}{2!} \left[(\Delta A)^2 \frac{\partial^2 f}{\partial A^2} (A_0, B_0) + (\Delta B)^2 \frac{\partial^2 f}{\partial B^2} (A_0, B_0) \right. \\ &\left. - 2 \Delta A \Delta B \frac{\partial^2 f}{\partial A \partial B} (A_0, B_0) \right] + \dots \end{aligned} \quad (4.21)$$

En négligeant les termes du second ordre dans la série de Taylor, on obtient

$$Z(A, B) = Z(A_0, B_0) + \left(\frac{\partial Z}{\partial A} \right)_0 \cdot \Delta A + \left(\frac{\partial Z}{\partial B} \right)_0 \cdot \Delta B \quad (4.22)$$

L'équation (4.20) se trouve donc linéarisée

$$Z = e^{A_0 x + B_0 y} + x e^{A_0 x + B_0 y} \Delta A + y e^{A_0 x + B_0 y} \Delta B \quad (4.23)$$

Posons

$$\left. \begin{aligned} z &= e^{A_0 x + B_0 y} \\ DA_0 &= \left(\frac{\partial Z}{\partial A} \right)_0 = x e^{A_0 x + B_0 y} \\ DB_0 &= \left(\frac{\partial Z}{\partial B} \right)_0 = y e^{A_0 x + B_0 y} \end{aligned} \right\} \quad (4.24)$$

Nous obtenons

$$Z = z + DA_0 \Delta A + DB_0 \Delta B \quad (4.25)$$

C'est à cette équation que l'on applique, comme précédemment, le principe des moindres carrés. Soit ψ la fonction:

$$\psi = \sum_{i=1}^N (Z_i - z_{ij} - DA_{ij} \Delta A_j - DB_{ij} \Delta B_j)^2 \quad (4.26)$$

où j représente l'indice d'itération.

On détermine ΔA_j et ΔB_j en minimisant la fonction ψ :

$$\left. \begin{aligned} \frac{\partial \psi}{\partial \Delta A} &= 0 \\ \frac{\partial \psi}{\partial \Delta B} &= 0 \end{aligned} \right\} \quad (4.27)$$

ce qui conduit au système d'équations suivant:

$$\left. \begin{aligned} \Delta A_j \sum_{i=1}^N (DA_{ij}^2) + \Delta B_j \sum_{i=1}^N (DA_{ij} DB_{ij}) &= \sum_{i=1}^N [DA_{ij} (Z_i - z_{ij})] \\ \Delta A_j \sum_{i=1}^N (DA_{ij} DB_{ij}) + \Delta B_j \sum_{i=1}^N (DB_{ij}^2) &= \sum_{i=1}^N [DB_{ij} (Z_i - z_{ij})] \end{aligned} \right\} \quad (4.28)$$

En résolvant le système d'équations (4.28), on détermine les corrections ΔA_j et ΔB_j à apporter à A_j et B_j :

$$A_{j+1} = A_j + \Delta A_j \quad (4.29)$$

$$B_{j+1} = B_j + \Delta B_j \quad (4.30)$$

où $j = 0, 1, 2, \dots, F$, $j = 0$ représente les conditions initiales données par le programme AS.

Ces nouvelles valeurs A_{j+1} et B_{j+1} obtenues permettent de recommencer pour la $(j + 1)^{\text{ième}}$ fois la séquence comprise entre (4.28) et (4.30).

Ces calculs sont effectués à l'aide du programme en langage APL appelé EXPO

et donné dans l'annexe C. L'itération est reprise jusqu'à ce que $\frac{\Delta A_{j+1}}{A_{j+1}}$ et $\frac{\Delta B_{j+1}}{B_{j+1}}$ soient inférieurs à la précision désirée. Dans ces calculs, la précision a été fixée à 10^{-10} . Les valeurs A_F et B_F sont celles cherchées et permettent d'obtenir K_M et V_{\max} .

4.3.4- Comparaison des trois approches d'optimisation

Les résultats obtenus par la première approche ne donnent pas satisfaction. Pour chacune des expériences, une droite est tracée à partir des valeurs de V_{\max} et K_M obtenues à l'aide du programme VZ. Plutôt que de s'aligner sur cette droite, les points expérimentaux se regroupent sous forme de "nuage". Le coefficient de corrélation est d'ailleurs inférieur à 0.3. De plus, les valeurs de K_M et V_{\max} obtenues sont souvent négatives et donc sans aucune signification physique. En outre, le réarrangement des termes dans chaque membre de l'équation (4.10) impose une variance de toutes les nouvelles variables beaucoup plus élevée que lors de l'utilisation de l'équation (4.15).

Ayant rejeté la première approche d'optimisation, nous nous sommes limités à la deuxième et à la troisième approche. Afin d'examiner l'effet produit par les erreurs expérimentales, commises sur $[\phi]$, t et $[\phi]_0$, sur l'optimisation de V_{\max} et K_M , nous avons pris pour base une série de données (36 triplets t , $[\phi]$ et $[\phi]_0$), simulée à partir de valeurs de K_M et V_{\max} fixées respectivement à 250 ppb et 500 ppb/heure, dont le traitement au moyen des différentes approches conduisait bien aux valeurs désignées.

Nous avons ensuite introduit une erreur aléatoire sur t , $[\phi]$ et $[\phi]_0$ afin d'examiner les modifications apportées aux valeurs de K_M et V_{\max} optimisées. Dans cette étude, quelle que soit la variable α sur laquelle l'erreur $\varepsilon(\alpha)$ est appliquée, celle-ci sera de la forme

$$\varepsilon(\alpha) = \frac{X_p}{100} \cdot \alpha \quad (4.31)$$

où les valeurs X_p , déterminées par le programme HASARD, possèdent une distribution gaussienne, $N(0,1)$. Ce programme en langage APL est donné dans l'annexe C. Pour plusieurs séries d'erreurs simulées, les variables X_p , donc $\varepsilon(\alpha)$, sont indépendantes entre elles.

D'après le tableau 4.2, où sont rapportés les résultats de cette étude comparative, les erreurs sur K_M et V_{max} sont minimisées en utilisant la troisième approche d'optimisation. Nous remarquons aussi sur la figure 4.7 (dans la section 4.3.2) que la droite obtenue avec la troisième approche (celle en trait plein) coïncide mieux avec les données expérimentales que la droite en pointillé qui résulte de la deuxième approche. C'est donc à l'aide de cette troisième approche que nous avons traité nos résultats. Dans ce traitement, nous avons cependant négligé certaines valeurs expérimentales telles qu'indiquées dans le tableau A-2, annexe A, afin d'éliminer la phase de latence.

Pour chacune des expériences effectuées à température et concentration en bactéries constantes, les résultats sont rapportés dans le tableau 4.3; le protocole expérimental a déjà été décrit dans la section 4.2.2.

TABLEAU 4.3: Valeurs des paramètres cinétiques à différentes températures

Temp. °C	Nombre de bact. phénoliques par ml	V_{max}		K_M		k_3	
		ppb/hre	$\frac{\mu\text{mole}}{\text{l.hre}}$	ppb	$\frac{\mu\text{mole}}{\text{l}}$	$\frac{\text{ppb.ml}}{\text{bact.hre}}$	$\frac{\mu\text{mole}}{\text{bact.hre}}$
15.0	2.0×10^6	125	1.33	75	0.80	6.2×10^{-5}	6.6×10^{-10}
19.5	2.1×10^6	350	3.72	135	1.43	1.7×10^{-4}	1.8×10^{-9}
23.0	3.4×10^6	1150	12.3	280	2.97	3.3×10^{-4}	3.6×10^{-9}
30.0	8.6×10^6	1550	16.5	600	6.38	1.8×10^{-4}	1.9×10^{-9}

TABEAU 4.2: Effets des erreurs aléatoires des variables sur l'optimisation des paramètres cinétiques au moyen des programmes AS et EXPO.

Erreurs aléatoires sur			Erreur relative d'après la 2e approche (Prog.AS) sur		Erreur relative d'après la 3e approche (Prog.EXPO) sur	
t	$[\phi]$	$[\phi]_0$	K_M (%)	V_{max} (%)	K_M (%)	V_{max} (%)
ϵ	-	-	-5.1	-3.3	-4.0	-2.5
ϵ	-	-	-5.8	-4.3	-4.0	-2.9
ϵ	-	-	-4.0	-2.8	-2.4	-1.5
ϵ	-	-	-5.2	-3.5	-4.0	-2.5
ϵ	-	-	-1.7	-2.0	-1.3	-1.6
-	ϵ	-	-7.2	-5.0	+9.6	+8.1
-	ϵ	-	-9.8	-6.9	+3.6	+4.2
-	ϵ	-	-12.4	-10.0	+7.3	+5.0
-	ϵ	-	-19.3	-15.3	+13.4	+9.5
-	ϵ	-	-21.9	-17.0	+13.2	-5.4
ϵ	ϵ	-	-22.0	-17.0	+4.5	+3.3
ϵ	ϵ	-	-13.5	-10.0	+3.7	+3.0
ϵ	ϵ	-	-15.4	-12.4	+8.6	+6.0
ϵ	ϵ	-	-25.0	-20.4	-10.6	-9.4
ϵ	ϵ	-	-20.9	-15.8	+1.3	+0.9
ϵ	ϵ	ϵ	-35.0	-26.9	+14.2	+11.1

4.3.5- Influence de la température sur K_M , V_{max} et k_3 pour les expériences à concentration en bactéries constante

L'effet de la température sur les valeurs de K_M et V_{max} est mise en évidence dans le tableau 4.3; on y voit une augmentation des valeurs de K_M et V_{max} à mesure que la température croit.

L'influence de la température sur la vitesse de réaction peut être donnée par l'équation d'Arrhénius

$$k = A e^{-\frac{E_a}{RT}} \quad (4.32)$$

où k = la constante de vitesse, A = la constante pré-exponentielle, $e = 2.718$, E_a = l'énergie d'activation d'Arrhénius, T = température absolue, $R = 1.987$ cal. deg.⁻¹ mole⁻¹. En prenant le logarithme de l'expression précédente, on obtient:

$$\ln k = -\frac{E_a}{RT} + \ln A \quad (4.33)$$

Si nous traçons $\ln k$ en fonction de $\frac{1}{T}$, une droite est obtenue dont la pente est égale à $-\frac{E_a}{R}$. La figure 4.8 représente $\ln k_3$ en fonction de $\frac{1}{T}$. On voit sur cette figure que la vitesse passe par un maximum. A l'aide de la pente de cette courbe, on calcule une énergie d'activation de 36.4 Kcal.mole⁻¹. Il est à noter cependant que nous avons négligé le point correspondant à la température la plus élevée (30.0°C), supérieure à la température optimale d'utilisation du substrat par les bactéries.

Cette valeur d'énergie d'activation est élevée comparativement à celles des réactions enzymatiques; pour ces dernières, l'énergie d'activation est ordinairement entre 5 à 12 Kcal.mole⁻¹ (24). La valeur élevée que nous obtenons peut être due à des erreurs commises sur k_3 et dont il sera discuté dans la section 4.3.6.

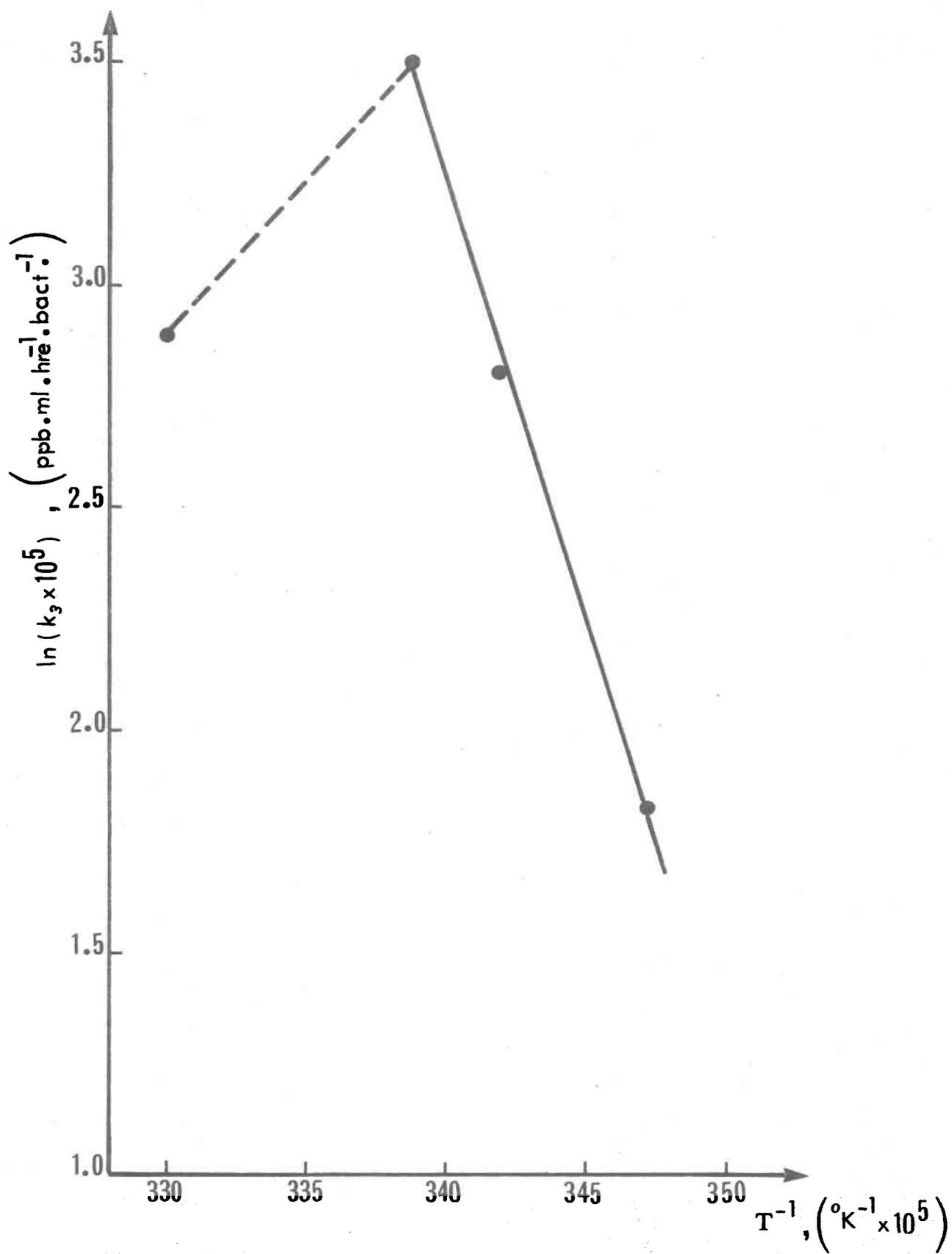


Figure 4.8: Courbe d'Arrhénus pour les expériences à concentration en bactéries constante.

4.3.6- Relation entre la vitesse de biodégradation et le nombre de bactéries

D'après l'équation (4.3), la vitesse de biodégradation devrait être proportionnelle au nombre de bactéries par ml, [B]. Dans la section 4.2.3, nous avons décrit une expérience à 23.0°C conçue pour vérifier l'effet de la concentration en bactéries, [B], sur la vitesse de biodégradation du phénol. A cause de difficultés techniques, il a été impossible d'effectuer l'expérience à des concentrations initiales de phénol identiques pour les différentes dilutions de bactéries. On peut cependant "corriger" les résultats, puisque nous connaissons la relation entre la vitesse de dégradation et la concentration de phénol, ainsi que les valeurs des paramètres cinétiques K_M et V_{max} à 23.0°C, données dans le tableau 4.3. Cette correction est apportée en utilisant la différentielle de l'équation (4.3):

$$\Delta v = \frac{K_M V_{max} \Delta[\phi]}{(K_M + [\phi])^2} \quad (4.34)$$

où Δv = correction à apporter à la vitesse expérimentale pour tenir compte des variations de concentrations initiales de phénol.

$[\phi] = 50$ ppb. C'est la concentration initiale de phénol choisie pour uniformiser les résultats.

$\Delta[\phi] =$ (concentration de phénol lors de l'expérience)
- (concentration de phénol uniforme de 50 ppb)

$K_M = 280$ ppb = $2.97 \mu\text{mole.l}^{-1}$ à 23.0°C

$V_{max} = k_3 [B]$. La valeur de k_3 à 23.0°C est de 3.3×10^{-4} ppb.ml.bact.⁻¹heure⁻¹
ou 3.6×10^{-9} $\mu\text{mole.bact.}^{-1}$ heure⁻¹.

Un résumé du calcul de ces corrections est présenté dans le tableau 4.4.

TABLEAU 4.4: Corrections apportées à l'expérience décrite dans la section 4.2.3

Valeurs expérimentales				Corrections			v corrigée	
Facteur de dilution	v ppb/hre	[φ] ₀ ppb	[B] bact/ml	Δ[φ] ppb	v _{max} ppb/hre	Δv ppb/hre	ppb/hre	μmole/1.hre
1.6	108	34	14x10 ⁵	+ 16	465	+ 22.3	130	1.38
2.0	96	44	12x10 ⁵	+ 6	382	+ 6.0	102	1.08
2.7	84	53	8.7x10 ⁵	- 3	287	- 2.2	82	0.87
4.0	65	57	5.8x10 ⁵	- 7	191	- 3.3	62	0.66

La relation entre la vitesse corrigée et le nombre de bactéries par ml pour les différentes dilutions est représentée sur la figure 4.9. D'après ce graphique, il existe une relation linéaire entre la vitesse de dégradation du phénol et le nombre de bactéries. D'après l'équation de Michaëlis et Menten, $v = \left(\frac{k_3 [\phi]}{K_M + [\phi]} \right) \cdot [B]$, la pente m de la droite de la figure 4.9 est égale à

$$m = \frac{k_3 [\phi]}{K_M + [\phi]} \quad (4.35)$$

La pente mesurée sur la droite permet de calculer une valeur de $k_3 = 6.0 \times 10^{-4} \text{ ppb.ml.bact.}^{-1} \text{ hre}^{-1} = 6.3 \times 10^{-9} \text{ μmole.bact.}^{-1} \text{ hre}^{-1}$. Or, la valeur de k_3 précédemment obtenue à 23.0°C était de $3.6 \times 10^{-9} \text{ μmole.bact.}^{-1} \text{ hre}^{-1}$ (voir tableau 4.3). Il y a un facteur de 1.7 entre ces deux valeurs de k_3 , pour une même température. On peut trouver au moins deux explications à cette différence.

Les erreurs commises lors du dénombrement des bactéries sont assez im-

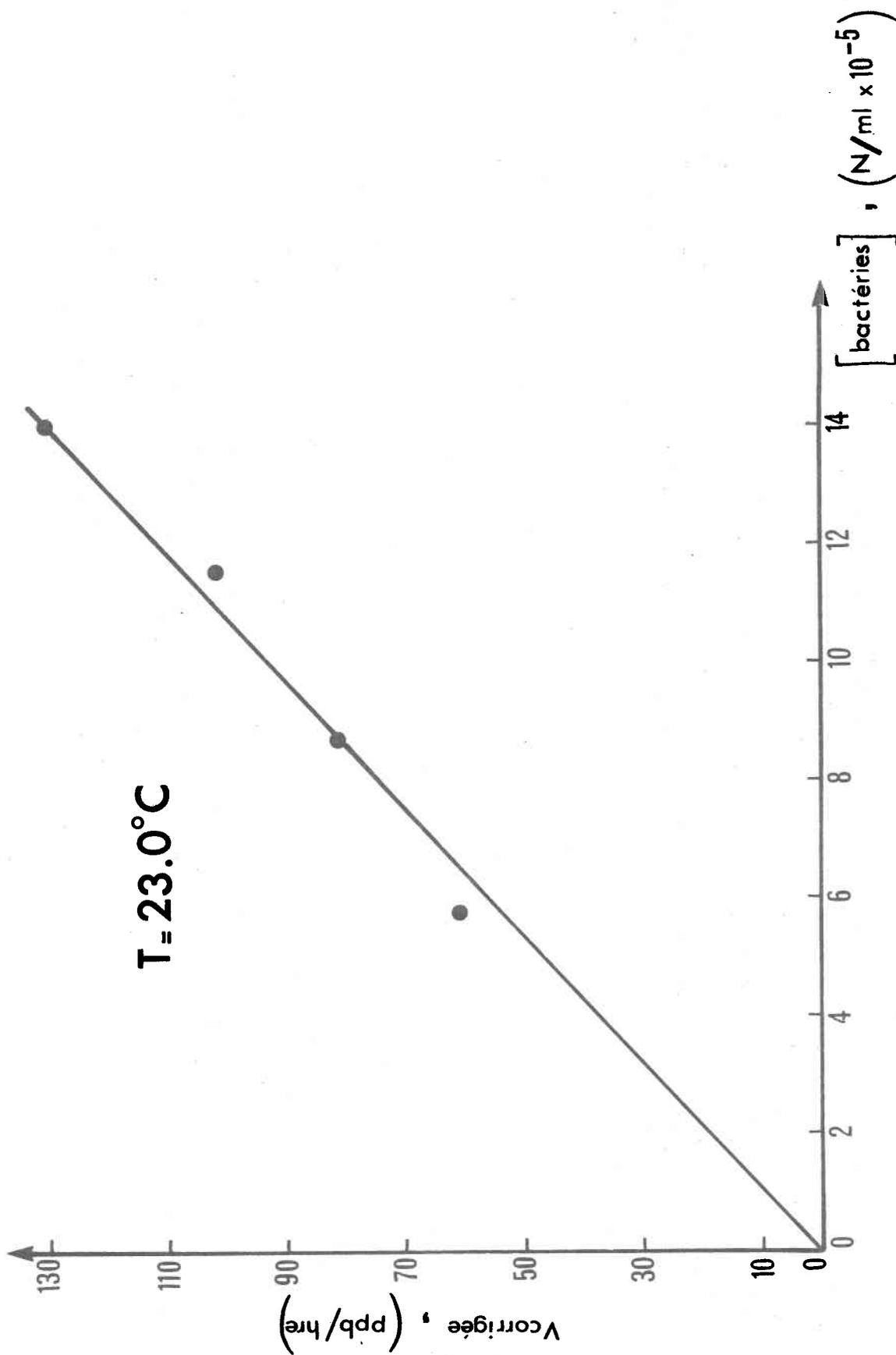


Figure 4.9: Graphique représentant la relation entre la vitesse de dégradation du phénol ($v_{correctée}$) et le nombre de bactéries par ml.

portantes ($\pm 20\%$); ce sont des erreurs inhérentes aux méthodes de comptage en microbiologie (25). Ces erreurs sont introduites de plusieurs façons dans le calcul des valeurs de k_3 . D'abord, la valeur de k_3 apparaissant dans le tableau 4.3 a été obtenue en divisant la valeur de V_{\max} expérimentale par le nombre de bactéries par ml dénombrées dans le mélange réactionnel correspondant. Ensuite, la pente de la droite de la figure 4.9, servant elle aussi à déterminer une valeur pour k_3 (celle de $6.3 \times 10^{-9} \mu\text{mole.bact.}^{-1} \text{hre}^{-1}$) est également entachée d'erreurs provenant du dénombrement des bactéries. En effet, pour le calcul de $v_{\text{corrigée}}$ apparaissant en ordonnée, nous utilisons l'équation (4.34) où, pour calculer V_{\max} , nous devons avoir recours au nombre de bactéries par ml correspondant. Egalement, les valeurs des concentrations en bactéries, portées en abscisse, dépendent nécessairement d'un comptage de bactéries.

Comme deuxième explication possible, mentionnons que la composition du mélange des quatre souches de bactéries aurait pu varier d'une expérience à l'autre. En supposant que chacune des souches de bactéries puisse avoir une valeur distincte de K_M et V_{\max} , de tels changements de composition amèneraient évidemment des valeurs différentes de k_3 (26).

4.3.7- Comparaison des paramètres cinétiques obtenus pour le phénol avec ceux obtenus pour d'autres substrats

Les différentes valeurs des paramètres cinétiques, regroupées dans la première partie du tableau 4.5, ont été tirées de la littérature scientifique. Elles ont été obtenues par une méthode utilisant des substrats radioactifs, marqués au C^{14} (23), à des concentrations proches de celles susceptibles d'être trouvées dans le milieu naturel. Dans cette méthode, les échantillons prélevés du milieu naturel subissaient une courte période d'incu-

TABEAU 4.5: Comparaison des paramètres cinétiques, K_M et V_{max} , pour quelques substrats.

Lieu	Substrat	Temp. °C	V_{max} $\mu\text{mole.}\ell^{-1}\text{h}^{-1}$	K_M $\mu\text{mole.}\ell^{-1}$	Ref.
West Blue Lake, Manitoba	acide lactique	-	.0031	< .98*	(27)
	acide pyruvique	-	.0021	< .64*	
	acide fumarique	-	.0010	< .054*	
	acide malique	-	.0007	< .0062*	
	acide acétique	-	.0012	< .54*	
	acide succinique	-	.0005	< .019*	
	acide glycollique	-	.0003	< .35*	
	acide citrique	-	.0001	< .011*	
acide formique	-	.0002	< .15*		
Chukchi Sea Alaska	glycine	4	.0017	< .35*	(28)
Pamlico River North Carolina	acide glutamique	-	.13	.21	(29)
	acide aspartique	-	.21	.30	
	lysine	-	.017	.17	
	phénylalanine	-	.0088	.17	
	alanine	-	.16	.31	
	leucine	-	.015	.046	
	isoleucine	-	.011	.040	
	proline	-	.021	.13	
	valine	-	.020	.085	
	tyrosine	-	.042	1.10	
thréonine	-	.030	.11		

TABLEAU 4.5: (suite)

Lieu	Substrat	Temp. °C	V_{\max} $\mu\text{mole} \cdot \ell^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$	K_M $\mu\text{mole} \cdot \ell^{-1}$	Ref.
Lac	glucose	10	.0010	< .017*	(23)
Erken	glucose	4	.00025	< .017*	
Suède	glucose	3	.00014	< .017*	
	glucose	3	.00013	< .011*	
	acétate	10	.0032	< .12*	
	acétate	4	.00069	< .10*	
	acétate	3	.00092	.051	
	acétate	3	.00032	< .14*	
Fleuve St-Laurent	phénol	15.0	1.3	0.80	Ce travail
	phénol	19.5	3.7	1.43	
	phénol	23.0	12.2	2.97	
	phénol	30.0	16.5	6.39	

(*) Cette valeur représente $(K_M + S_n)$, où S_n = concentration naturelle en substrat du milieu; cette dernière, n'a pas été, ici, déterminée. En absence de la valeur de S_n , on ne peut donc donner qu'une limite supérieure pour K_M .

bation, impliquant ainsi peu ou pas d'adaptation, de la part de la microflore, aux substrats utilisés.

Il est difficile de comparer les valeurs de V_{\max} trouvées dans notre étude sur le phénol avec celles citées dans la littérature pour d'autres substrats. En effet, V_{\max} , paramètre multiple ($k_3[B]$), dépend à la fois de la température et de la concentration en bactéries. Des nombreux résultats publiés, seuls quelques-uns font mention de la température qui prévalait lors de l'expérience, alors que la concentration des bactéries n'a pas été souvent mentionnée.

Par contre, il paraît plus facile de comparer les diverses valeurs de K_M . Ce paramètre varie beaucoup moins avec la température et est indépendant de la concentration en bactéries. L'analyse des résultats montre que les valeurs de K_M obtenues pour le phénol sont plus élevées que celles trouvées pour d'autres substrats communs (voir tableau 4.5); en d'autres termes, pour atteindre la moitié de la vitesse maximale de dégradation, $\frac{V_{\max}}{2}$, il faudra des concentrations plus grandes en phénol qu'en autres substrats.

CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

Ce travail a permis d'établir que la biodégradation est une des voies importantes de disparition du phénol dans le fleuve Saint-Laurent. Les résultats ont démontré que la vitesse de biodégradation est influencée, entre autre, par la concentration en substrat et par la température du milieu; cette dernière observation vient confirmer les observations de Polisois (1) concernant la disparition plus rapide du phénol en été qu'en hiver. La dépendance de la vitesse de dégradation sur la concentration en phénol suit l'équation de Michaëlis-Menten et l'énergie d'activation calculée pour l'intervalle de température de 15.0 - 23.0°C est de 36.4 Kcal.mol⁻¹. Il est à remarquer, cependant, que d'autres auteurs (7, 8), pour des concentrations plus élevées (de l'ordre de ppm), ont adopté une expression cinétique d'ordre 1 comme modèle de biodégradation. Selon nos résultats, de telles concentrations en phénol devraient donner une cinétique d'ordre 0. Aucune explication de cette divergence ne s'offre, à moins que les valeurs de K_M aient été beaucoup plus élevées, dans les études citées, que celles que nous avons obtenues.

Comme la biodégradation suit la cinétique de Michaëlis et Menten, il serait justifié de penser que l'étape limitant la vitesse soit une réaction enzymatique, ou du moins, une réaction sujette à "saturation" (26) à des concentrations élevées en substrat (p.e. une adsorption de type Langmuir). Le système enzymatique en question pourrait jouer ce rôle limitant, soit dans le

mécanisme de transport du phénol à travers la membrane de la bactérie (30, 31, 32), soit à l'intérieur de la bactérie (en dégradant le phénol qui a déjà traversé la membrane). Cependant, on ne peut distinguer, dans notre étude, lequel de ces deux mécanismes (transport du substrat ou sa dégradation enzymatique intracellulaire) contrôlerait la vitesse de disparition du phénol.

Ce travail nous a permis également d'évaluer l'importance du choix de la méthode de traitement des données. En effet, nous avons vu que le respect des hypothèses de base du principe des moindres carrés ainsi que le regroupement des variables dans l'équation de Michaëlis et Menten sont des facteurs importants dont il faut bien tenir compte.

Pour ce travail, nous avons utilisé les quatre souches de bactéries prédominantes afin de nous rapprocher des conditions existantes dans le fleuve Saint-Laurent. Il serait intéressant, pour des expériences futures, d'utiliser des souches individuelles afin de vérifier s'il existe une différence entre leurs valeurs individuelles de K_M et V_{max} pour la dégradation du phénol. Pour un substrat particulier comme le phénol, utilisé uniquement par des bactéries spécialisées, on peut penser à un système enzymatique spécifique qui serait présent dans chacune des souches de bactéries utilisées (33, 34).

ANNEXE A

	Page
TABLEAU A-1: Résultats des expériences de simulation sur le terrain	62
TABLEAU A-2: Résultats des expériences à température et concentration en bactéries constantes	64
TABLEAU A-3: Résultats de l'expérience à température et concentration initiale de phénol constantes	68

TABLEAU A-1: Résultats des expériences de simulation sur le terrain.

temps hrs	Expérience 1 Temp. (eau): 16°C [phénol]nat.: 44.5ppb		Expérience 2 Temp. (eau): 20°C [phénol]nat.: 10.2ppb		Expérience 3 Temp. (eau): 23°C [phénol]nat.: 8.2ppb		Expérience 4 Temp. (eau): 25°C [phénol]nat.: 7.0ppb	
	[bact.] N/ml	[phénol] ppb	[bact.] N/ml	[phénol] ppb	[bact.] N/ml	[phénol] ppb	[bact.] N/ml	[phénol] ppb
0.00	6.0 x 10 ⁴	137.3	1.6 x 10 ⁵	123.2	8.9 x 10 ⁴	82.8	1.0 x 10 ⁵	47.6
0.25		132.0		114.0		82.5		43.2
0.50	8.3 x 10 ⁴	129.0	2.2 x 10 ⁵	109.2	1.8 x 10 ⁵	74.0	1.0 x 10 ⁶	36.0
0.75		129.0		108.0		66.0		32.0
1.00	4.7 x 10 ⁴	130.8	2.8 x 10 ⁵	102.8	3.5 x 10 ⁵	61.0	2.5 x 10 ⁵	26.3
1.25		127.1		91.8		50.0		18.5
1.50	3.7 x 10 ⁴	126.6	6.3 x 10 ⁵	90.6	3.5 x 10 ⁵	46.5	6.3 x 10 ⁴	17.3
1.75		126.0		89.6		38.5		11.8
2.00	1.1 x 10 ⁵	117.6	3.7 x 10 ⁵	75.6	3.2 x 10 ⁶	30.5	4.5 x 10 ⁵	7.4
2.25		115.6		66.6		20.8		6.2
2.50	2.0 x 10 ⁵	118.0	3.2 x 10 ⁵	63.4	3.5 x 10 ⁵	14.5	6.3 x 10 ⁵	5.3
2.75		111.8		49.0		11.0		3.8
3.00	4.5 x 10 ⁵	111.0	7.1 x 10 ⁵	42.0	1.6 x 10 ⁶	8.7	1.1 x 10 ⁶	
3.25		110.0		32.0		5.3		
3.50	4.5 x 10 ⁴	102.2	1.8 x 10 ⁵	22.5	4.5 x 10 ⁵	4.7	3.2 x 10 ⁵	

TABLEAU A-1: (suite)

temps hrs	Expérience 1 Temp. (eau): 16°C [phénol]nat.: 44.5ppb		Expérience 2 Temp. (eau): 20°C [phénol]nat.: 10.2ppb		Expérience 3 Temp. (eau): 23°C [phénol]nat.: 8.2 ppb		Expérience 4 Temp. (eau): 25°C [phénol]nat.: 7.0ppb	
	[bact.] N/ml	[phénol] ppb	[bact.] N/ml	[phénol] ppb	[bact.] N/ml	[phénol] ppb	[bact.] N/ml	[phénol] ppb
3.75		98.2		16.5		4.8		
4.00	7.6 x 10 ⁵	97.8	1.4 x 10 ⁶	12.5	4.0 x 10 ⁵	5.5	1.6 x 10 ⁶	
4.25		92.7				64.5*		
4.50	1.8 x 10 ⁵	89.8			8.0 x 10 ⁵	60.0		
4.75		85.8				45.5		
5.00	6.6 x 10 ⁵	76.4			1.0 x 10 ⁶	27.4		
5.25		73.0				14.2		
5.50	6.0 x 10 ⁵	70.			1.6 x 10 ⁶	7.2		
6.00					1.2 x 10 ⁶	6.4		
6.50					4.5 x 10 ⁵			
7.00					3.2 x 10 ⁶			
7.50					2.0 x 10 ⁶			
8.00					1.4 x 10 ⁶			

(*): Dans l'expérience 3, un deuxième ajout de phénol a été effectué quatre heures après le début de cette expérience.

TABLEAU A-2: Résultats des expériences à température et à concentration en bactéries constantes.

Température de l'eau: 15.0°C												
Adaptation des bactéries												
t (min)	0	60	120	180	240	300	360	395	398	455	487	525
[φ] (ppb)	103.0	101.5	100.5	96.0	84.0	61.5	39.0	23.0	91.5	45.5	34.0	10.0
Bact./ml	3.3x10 ⁶											2.0x10 ⁶
Expérience à température et à concentration en bactéries (= 2.0 x 10 ⁶ bact./ml) constantes.												
t (min)		0.5	6.0	12.0	18.0	30.0	36.0	42.0				
[φ] (ppb)		181.5	170.0	164.0	149.5	140.0	131.0	122.5				
t (min)		0.5	6.0	12.0	18.0	24.0	30.0	36.0	42.0			
[φ] (ppb)		148.0	142.0	138.5	134.5	121.5	116.0	104.0	101.0			
t (min)		0.5	6.0	12.0	18.0	24.0	30.0	36.0	42.0			
[φ] (ppb)		113.0	108.5	104.0	99.0	91.0	85.0	78.5	73.0			
t (min)		0.5	6.0	12.0	18.0	24.0	30.0	36.0	42.0			
[φ] (ppb)		95.0	88.5	85.5	77.5	71.5	66.0	58.0	54.0			
t (min)		0.5	6.0	12.0	18.0	24.0	30.0	36.0	42.0			
[φ] (ppb)		67.5	61.5	54.5	51.0	44.0	39.0	34.0	29.0			
t (min)		0.5	6.0	12.0	18.0	24.0	30.0	36.0				
[φ] (ppb)		38.0	32.0	28.0	24.0	21.5	18.5	16.0				

TABLEAU A-2: (suite)

Température de l'eau: 19.5°C									
Adaptation des bactéries									
t (min)	0	60	120	150	180	208	210	240	285
[φ] (ppb)	103.0	102.0	76.0	64.0	38.0	21.0	105.5	54.0	15.0
Bact./ml	2.6x10 ⁶								2.1x10 ⁶
Expérience à température et à concentration en bactéries (= 2.1 x 10 ⁶ bact./ml) constantes.									
t (min)		0.5	3.0	6.0	9.0	12.0	15.0	18.0	24.0
[φ] (ppb)		180.0*	173.0*	166.0*	156.0*	146.0	136.0	125.0	116.0
t (min)		0.5	3.0	6.0	9.0	12.0	15.0	18.0	24.0
[φ] (ppb)		150.0*	144.0*	138.0	130.0	122.0	114.0	105.0	97.0
t (min)		0.5	3.0	6.0	9.0	12.0	15.0	18.0	
[φ] (ppb)		116.0	106.0*	103.0	97.0	91.0	84.0	79.5	
t (min)		0.5	3.0	6.0	9.0	12.0	15.0		
[φ] (ppb)		95.0	88.0	82.0	77.0	72.0	68.0		
t (min)		0.5	3.0	6.0	9.0	12.0	15.0		
[φ] (ppb)		66.0	61.5	54.0	48.0	44.0	39.0		
t (min)		0.5	3.0	6.0	12.0	18.0			
[φ] (ppb)		39.0	35.5	30.0	24.0	21.0			

(*) Concentrations négligées lors du calcul des paramètres cinétiques.

TABLEAU A-2: (suite)

Température de l'eau: 23.0°C							
Adaptation des bactéries							
t (min)	0	60	120	150	151	175	210
[φ] (ppb)	96.5	90.0	23.0	7.5	52.0	8.0	4.0
Bact./ml	5.4x10 ⁶						3.4x10 ⁶
Expérience à température et à concentration en bactéries (= 3.4 x 10 ⁶ bact./ml) constantes.							
t (min)	0.5	3.0	6.0	9.0	12.0	15.0	
[φ] (ppb)	172.0*	166.0*	154.0	135.0	116.0	96.0	
t (min)	0.5	3.0	6.0	9.0	12.0	15.0	
[φ] (ppb)	146.5*	137.5	119.0	101.0	87.0	78.5	
t (min)	0.5	3.0	6.0	9.0	12.0	15.0	
[φ] (ppb)	112.0*	104.0	88.5	76.5	63.0	60.0	
t (min)	0.5	3.0	5.0	8.0	11.0	14.0	
[φ] (ppb)	83.0	73.0	66.0	54.0	44.0	39.0	
t (min)	0.5	3.0	6.5	8.0	11.0	14.0	
[φ] (ppb)	50.5	45.0	37.0	33.5	27.0	20.0	
t (min)	0.5	3.0	6.0	8.0	11.0	14.0	
[φ] (ppb)	26.5	23.0	19.0	16.5	13.0	9.0	

(*): Concentrations négligées lors du calcul des paramètres cinétiques.

TABLEAU A-2: (suite)

Température de l'eau: 30.0°C							
Adaptation des bactéries							
t (min)	0	60	120	152	153	190	225
[φ] (ppb)	106	102	39	16	107	40	11
Bact./ml	6.0x10 ⁶						8.6x10 ⁶
Expérience à température et à concentration en bactéries (= 8.6 x 10 ⁶ bact./ml) constantes.							
t (min)	0.5	3.0	6.0	9.0	12.0	15.0	
[φ] (ppb)	169.5*	162.0	144.0	131.0	116.0	105.0	
t (min)	0.5	3.0	6.0	9.0	12.0	15.0	
[φ] (ppb)	140.0	130.0	115.0	103.5	91.0	83.0	
t (min)	0.5	3.0	6.0	9.0	12.0	15.0	18.0
[φ] (ppb)	116.0	103.5	93.0	84.5	73.0	65.0	60.0
t (min)	0.5	3.0	6.0	9.0	12.0	15.0	
[φ] (ppb)	87.5	80.0	71.5	64.0	57.0	52.0	
t (min)	0.5	3.0	6.0	9.0	12.0	15.0	
[φ] (ppb)	64.0	59.0	51.0	46.5	41.0	37.0	
t (min)	0.5	3.0	6.0	9.0	12.0	15.0	
[φ] (ppb)	36.0	32.0	27.0	24.0	22.0	20.0	

(*): Concentration négligée lors du calcul des paramètres cinétiques.

TABLEAU A-3: Résultats de l'expérience à température et concentration initiale de phénol constantes.

Température de l'eau: 23.0°C									
Adaptation des bactéries									
t (min)	0	60	120	180	210	211	230	240	
[φ] (ppb)	107.5	93.5	17.0	2.0	1.0	50.0	13.0	5.0	
Expérience à température et concentration initiale de phénol constantes.									
2.3x10 ⁶ bact./ml		1.4x10 ⁶ bact./ml		1.2x10 ⁶ bact./ml		8.6x10 ⁵ bact./ml		5.8x10 ⁵ bact./ml	
t (min)	[φ] (ppb)	t (min)	[φ] (ppb)	t (min)	[φ] (ppb)	t (min)	[φ] (ppb)	t (min)	[φ] (ppb)
5.0	68.0	5.0	58.0	5.0	68.0	5.0	77.0	5.0	87.0
10.0	57.0	15.0	53.0	20.0	64.5	20.0	72.5	25.0	76.5
15.0	44.5	25.0	44.5	35.0	39.5	35.0	51.0	45.0	59.5
20.0	26.0	35.0	24.5	50.0	19.0	50.0	34.5	65.0	40.5
		45.0	14.0	65.0	13.0	65.0	24.5	85.0	27.0

ANNEXE B

	Page
METHODE DE DENOMBREMENT DES BACTERIES.....	70
TABLEAU B-1: Certaines caractéristiques des souches de bactéries utilisées.....	71

METHODE DE DENOMBREMENT DES BACTERIES

Le dénombrement des bactéries a été effectué par la méthode de dilution sur un milieu solide, dans des boîtes de Pétri. Trois dilutions, 10^{-3} , 10^{-4} et 10^{-5} ont été utilisées. Chaque dilution a été effectuée en triple. Le milieu de culture de pH = 7.3 avait la composition suivante:

K_2HPO_4	1.0 g.l ⁻¹
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.2 g.l ⁻¹
NaCl	0.1 g.l ⁻¹
$CaCl_2$	0.1 g.l ⁻¹
$FeCl_3$	0.02 g.l ⁻¹
$(NH_4)_2 SO_4$	1.0 g.l ⁻¹
Bacto-Agar	20.0 g.l ⁻¹
Eau distillée	1.0 l
Phénol	150 ppm (expériences sur le terrain; concentration permettant d'isoler les bactéries phénoliques du milieu naturel). 200 ppb (expériences au laboratoire; concentration permettant la croissance des bactéries phénoliques déjà isolées).

Après ensemencement en surface, les boîtes de Pétri étaient mises en incubation à 20°C pendant 5 jours. Les colonies étaient ensuite comptées et le nombre de bactéries par ml était déterminé à l'aide d'une méthode graphique d'extrapolation linéaire (35).

TABLEAU B-1: Certaines caractéristiques des souches de bactéries utilisées (fournies par S. Visser et G. Lamontagne).

Souche de bactéries	Temp. optimale de croissance	Type respiratoire	Peroxydase	Phénylène diamine oxydase	Tolérance max au phénol
A	30°C	aérobie	+	-	2400 ppm
B	25°C	aérobie	+	-	2400 ppm
C	25°C	aérobie	+	-	2400 ppm
D	15°C	aérobie	+	-	600 ppm

ANNEXE C

	Page
Programme "VZ".....	73
Programme "HASARD".....	73
Programme "MCAR".....	74
Programme "AS".....	75
Programme "EXPO".....	75

▽ VZ

```
[1] Y←(⊗FO÷F)÷T
[2] X←(FO-F)÷T
[3] MCAR
[4] KI←1÷-B
[5] VI←AA×KM×60
[6] ' VI = ' ; VI
[7] ' KI = ' ; KI
```

▽

▽ HASARD

```
[1] XH←?100p1000
[2] XH←XH÷1000
[3] XT←(⊗(1÷(XH*2)))×0.5
[4] A←(2.30753+0.27061×XT)
[5] B←(1+0.99229×XT+0.04481×XT×XT)
[6] C←A÷B
[7] XP←XT-C
[8] ' NOMBRES AU HASARD '
[9] ''
[10] ' LOI NORMALE M = 0 SIGMA = 1 '
[11] ''
[12] XP
```

▽

```

▽ MCAF
[1] B←(((+/X)÷ρX)×((+/Y)÷ρY))-((+/Y×Y)÷ρX)÷(((+/X)÷ρX)*2)-((+/Y*2)÷ρX)
[2] AA←((+/Y)÷ρY)-(P×(+/X)÷ρX)
[3] XM←((+/X)÷ρX)
[4] YI←((+/Y)÷ρY)
[5] SY←((+/((Y-YM)*2))-B×(+(X-XI)×(Y-YI)))÷((ρY)-2)
[6] DEH←((+/X*2)×ρX)-((+/X)*2)
[7] SB←((SY×ρY)÷DEH)*0.5
[8] SAA←((SY×(+/X*2))÷DEH)*0.5
[9] ('X = ' ; X)
[10] ''
[11] ('Y = ' ; Y)
[12] ''
[13] (' PENTE DE LA DROITE B = ' ; B)
[14] ''
[15] (' ERREUR STANDARD SUR LA PENTE SB = ' ; SB)
[16] ''
[17] (' ORDONNEE A L'ORIGINE AA = ' ; AA)
[18] ''
[19] (' ERREUR STANDARD SUR L'ORDONNEE A L'ORIGINE AA = ' ; SAA)
[20] ''
[21] R←(+(X-XI)×(Y-YI))÷(((+/X-XI)*2)×(+(Y-YI)*2))*0.5
[22] (' COEFFICIENT DE CORRELATION R = ' ; R)
▽

```

```

▽ AS
[1] A ← -, (2 1 ρ(+ /Z×U), + /T×Z+F-FO)E 2 2 ρ(+ /U×U), I, (I++ /T×U+⊕F÷FO), + /T×F
[2] KM ← A[1]
[3] VM ← A[2]×60
[4] K3 ← VM÷BBB
[5] ' KM = ' ; A[1]
[6] ' VM = ' ; A[2]×60
[7] ' K3 = ' ; A[2]×60÷BBB
▽

```

```

▽ EXPO
[1] VM ← VM÷60
[2] A ← 1÷KM
[3] B ← (-VM÷KM)
[4] X ← FO-F
[5] Y ← T
[6] Z ← F÷FO
[7] S1: U ← *(A×X)+(B×Y)
[8] DA ← X×U
[9] DE ← Y×U
[10] M1 ← 2 1 ρ(+ /DA×(Z-U)), + /DB×(Z-U)
[11] M2 ← 2 2 ρ(+ /DA×DA), I, (I++ /DA×DB), + /DB×DB
[12] MM ←, I1MM2
[13] A ← A+MM[1]
[14] B ← B+MM[2]
[15] → (( |MM÷A, B) > PRE) / S1
[16] XM ← 1÷A
[17] VM ← (-B×KM)×60
[18] ' KM = ' ; KM
[19] ' VM = ' ; VM
▽

```

BIBLIOGRAPHIE

- (1) Polisois, G. "Evolution spatio-temporelle des phénols rejetés par les raffineries de Montréal-Est dans les eaux du St-Laurent", Thèse de maîtrise, Université du Québec, Québec, 1974.
- (2) FWPCA, "Cost of Clean Water, IWP5 - Petroleum Refining", Washington, 1967, p.153.
- (3) Beychock, M.R. "Aqueous Wastes from Petroleum and Petro-chemical Plants", John Wiley, London, 1967, p.370.
- (4) Brebion, G., Cabridenc, R. et Rogeon, M. "Etude en laboratoire de l'épuration mixte d'effluents urbains et industriels renfermant du phénol", Trib. Cebedeau, 19, 406, (1966).
- (5) Babitt, H.E. et Baumann, E.R. "Sewerage and Sewage Treatment", John Wiley, New York, 1958, p.662.
- (6) Mitrovic, V.V., et al. "Some Pathological Effets of Sub-acute and Acute Poisoning of Rainbow Trout by Phenol in Hard Water", Water Research, 2, 249, (1968).
- (7) Kaplin, V.T., Sememchenko, L.V. et Ivanov, E.G. "Decomposition of a Phenol Mixture in Natural Waters", Gidrokhim. Mater., 46, 199, (1968).
- (8) Krombach, H. et Barthel, J. "Investigation of a Small Water Course Accidentally Polluted by Phenol Compounds", Advances in Water Pollution Research, 1, 191, (1964).
- (9) Clark, John W. et Viessman, Warren Jr. "Water Supply and Pollution Control", International Textbook Company, Scranton, Pennsylvania, 1966, p.575.
- (10) Kaplin, V.T., et al. "The Influence of Temperature on the Rate of Degradation of Monohydric Phenols in Natural Water", Gidrokhim. Mater., 37, 158, (1964).

- (11) APHA, AWWA, WPCF, "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater", 13e éd., Washington, 1971, p.874.
- (12) Faust, S.M. et Mikulewicz, E.W. "Factors Influencing the Condensation of 4-AAP with Derivatives of Hydroxobenzene. II. Influence of Hydroxonium Ion Concentration on Absorptivity", Water Research, 1, 509, (1967).
- (13) Bridges, J.W. "Spectrophotofluorimetry with Particular Reference to the Fluorescence of Phenols", in Proc. Plant. Phenolics Group. Sympos., 1964.
- (14) Rosen, A. et Williams, R.T. "Effect of Substitution on the Fluorescence of Phenol and Aniline", Photoelectric Spectroscopy Group Bulletin, 13, 339, (1961).
- (15) Smith, Harold F. "Fluorescence Spectroscopy in the Study and Control of Water Pollution", UV/Fluorescence Product Department, Perkin Elmer Corporation, Norwalk, Conn., Technical memo no. 62, 1971.
- (16) Environmental Research Division of Korab Marine Ltd. "Etude du fleuve St-Laurent: Qualité des eaux", 1972.
- (17) Visser, S. et Lamontagne, G. Communication personnelle.
- (18) Henri, V.C. "Lois Générales de l'Action des Diastases", Hermann, Paris, 1903.
- (19) Michaëlis, L. et Menten, M.L. Biochem.Z., 49, 433, (1913).
- (20) Brezonik, P.L. "Chemical Kinetics and Dynamics in Natural Water Systems", in Water and Water Pollution Handbook, Leonard L. Ciaccio, editor. Marcel Dekker, Inc., New York, 1972, p.1945.
- (21) Tench, H.B. et Morton, A.Y. "The Application of Enzyme Kinetics to Activated Sludge Research", Water Pollution Control, 5, 478, (1962).

- (22) Hemmet, Jr., Roland B. "The Biodegradation Kinetics of Selected Phenoxyacetic Acid Herbicides and Phenols by Aquatic Microorganisms", Thèse de doctorat, Université Rutgers, New Jersey, 1972, p.121.
- (23) Wright, Richard T. et Hobbie, John E. "Use of Glucose and Acetate by Bacteria and Algae in Aquatic Ecosystems", Ecology, 47, 447, (1966).
- (24) Dixon, M. et Webb, E.C. "Enzymes", 2e éd., Longmans, London, 1964, p.950.
- (25) Buttiaux, R., Beerens, H. et Tacquet, A. "Manuel de techniques bactériologiques", 3e éd., Editions Médicales Flammarion, 1969, p.707.
- (26) Williams, P.J. Leb. "The Validity of the Application of Simple Kinetic Analysis to Heterogeneous Microbial Populations", Limnology and Oceanography, 18, 159, (1973).
- (27) Robinson, G.G.C., Hendzel, L.L. et Gillespie, D.C. "A Relationship between Heterotrophic Utilization of Organic Acids and Bacterial Populations in West Blue Lake, Manitoba", Limnology and Oceanography, 18, 264, (1973).
- (28) Horner, R. et Alexander, V. "Algal Populations in Arctic Sea Ice: An Investigation of Heterotrophy", Limnology and Oceanography, 17, 454, (1972).
- (29) Hobbie, J.E. "Heterotrophic Bacteria in Aquatic Systems; Some Results of Studies with Organic Radioisotopes", in The Structure and Function of Fresh-Water Microbial Communities, J. Cairns, editor. American Microscopical Society Symposium, 1969.
- (30) Cohen, G.N. et Monod, J. "Bacterial Permeases", Bact. Rev., 21, 169, (1957).
- (31) Kepes, A. "Permeases: Identification and Mechanism", in Recent Progress in Microbiology. 8th Inter. Congress for Microb., Montréal, 1962, N.E. Gibbons, editor. Univ. Toronto Press, Toronto, 1963.

- (32) Kepes, A. "Trois classes de systèmes de transport chez les bactéries", Biochimie, 55, 693, (1973).
- (33) Chapman, J.P. "An Outline of Reaction Sequences Used for the Bacterial Degradation of Phenolic Compounds", in Degradation of Synthetic Organic Molecules in the Biosphere, National Academy of Science, Washington, 1972, p.350.
- (34) Dagley, S. "The Microbial Metabolism of Phenolics" in Soil Biochemistry, vol. 1, A.D. McLaren et J. Skujins, editors. Marcel Dekker, Inc., New York, 1967.
- (35) Lavergne, D. "Signification et interprétation de la numération sur plaque des germes telluriques", Ann. de l'Institut Pasteur, 86, 503, (1954).