

Etude d'un procédé biologique intégré pour l'élimination et la récupération des métaux en solution aqueuse



C4H5O2_5 2/ 9/99 THERMC 4H 50 2 0G 300.000 5000.000 1392.000 1
1.64121890E+01 1.20184883E-02-4.40468566E-06 7.30124728E-10-4.42784365E-14 2



ETUDE N° 90-0402/1A

**ÉTUDE D'UN PROCÉDE BIOLOGIQUE INTEGRE
POUR L'ÉLIMINATION ET LA RECUPERATION
DES METAUX EN SOLUTION AQUEUSE**

RAPPORT FINAL

novembre 1991

**R. GOURDON - LCPAE - INSA de LYON
S. SOFER - HSMRC (NJIT)**

Créée en 1989 à l'initiative du Ministère en charge de l'Environnement, l'association RECORD – REseau COopératif de Recherche sur les Déchets et l'Environnement – est le fruit d'une triple coopération entre industriels, pouvoirs publics et chercheurs. L'objectif principal de RECORD est le financement et la réalisation d'études et de recherches dans le domaine des déchets et des pollutions industrielles.

Les membres de ce réseau (groupes industriels et organismes publics) définissent collégalement des programmes d'études et de recherche adaptés à leurs besoins. Ces programmes sont ensuite confiés à des laboratoires publics ou privés.

Avertissement :

Les rapports ont été établis au vu des données scientifiques et techniques et d'un cadre réglementaire et normatif en vigueur à la date de l'édition des documents.

Ces documents comprennent des propositions ou des recommandations qui n'engagent que leurs auteurs. Sauf mention contraire, ils n'ont pas vocation à représenter l'avis des membres de RECORD.

- ✓ Pour toute reprise d'informations contenues dans ce document, l'utilisateur aura l'obligation de citer le rapport sous la référence :
RECORD, Etude d'un procédé biologique intégré pour l'élimination et la récupération des métaux en solution aqueuse, 1991, 74 p, n°90-0402/1A.
- ✓ Ces travaux ont reçu le soutien de l'ADEME (Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie)
www.ademe.fr

© RECORD, 1991

Etude RECORD n°90-0402/1A

Titre du programme :

Etude au laboratoire d'un procédé biologique pour l'élimination et la récupération des métaux en solution aqueuse.

**Direction scientifique en France
et coordination France/Etats Unis :**

Rémy Gourdon,
Laboratoire de Chimie Physique Appliquée et Environnement,
INSA Bât. 404, 20 av. A. Einstein,
69621 Villeurbanne cédex
Tél. : 72 43 83 83 poste 56 03
Télécopie : 72 43 85 14

Direction scientifique aux Etats Unis :

Professeur Sam Sofer,
Biotechnology Laboratory,
New Jersey Institute of Technology,
Newark, NJ 07102, Etats Unis
Tél. : (19-1-201) 596 5603
Télécopie : (19-1-201) 643 3934

Travail expérimental en France réalisé par :

Nathalie Funtowicz (étudiante en DEA)
Valérie Gavégli (étudiante en licence)
Rémy Gourdon

Travail expérimental aux Etats Unis réalisé par :

Emilia Rus (Ingénieur au NJIT Biotech. Lab.)
Keith Kollar (Chef de project à l'EPA de New York)
C. Hartmann (Etudiant en Master)
Shubhangi Bhende (Etudiante en Master)
Rémy Gourdon

Contexte de l'étude :

Premier programme de recherche conjoint entre
l'Association RE.CO.R.D. et le
Hazardous Substance Management Research Center (HSMRC)

RESUME

Les méthodes classiques actuellement utilisées pour le traitement des effluents aqueux contaminés par des métaux ne sont pas totalement satisfaisantes. La précipitation des hydroxydes ou des sulfures métalliques conduit à de bons résultats mais s'accompagne de la production de boues généralement volumineuses car très humides, et qui sédimentent souvent lentement. Les méthodes telles que l'électrolyse, l'osmose inverse, l'échange d'ions et l'évapo-concentration sont plus coûteuses à mettre en œuvre.

Il existe donc un marché potentiellement important pour des techniques alternatives à coûts réduits. De nombreuses recherches ont été effectuées dans les 15 dernières années pour développer des procédés basés sur l'affinité naturelle des parois ou membranes microbiennes pour les cations métalliques, ou sur l'activité métabolique de certaines espèces microbiennes particulières. La plupart des études publiées dans ce domaine ont porté sur des espèces microbiennes pures. Un certain nombre de brevets ont également été déposés. Les procédés développés sont souvent très similaires, à la fois dans leur conception et leur utilisation, à l'échange d'ions sur résines classiques, les microorganismes étant alors utilisés comme des "biosorbants".

La présente étude suit la même approche. Cependant, contrairement à la plupart des travaux scientifiques publiés, le biosorbant étudié ici est un déchet en lui-même. Il s'agit de boues aérobies de stations d'épuration urbaines, qui sont composées d'un mélange de microorganismes très divers utilisés vivants dans le procédé de biosorption.

L'affinité du biosorbant pour le plomb (II), le cadmium (II), le cuivre (II), le chrome (III) et le zinc (III) a été évaluée au laboratoire dans des conditions parfaitement contrôlées. Les boues ont été testées soit en suspension dans les solutions métalliques étudiées, soit sous forme immobilisée dans des billes d'alginate de calcium. Des pilotes de laboratoire ont ensuite été conçus et mis en œuvre pour optimiser le procédé de biosorption. Enfin, la récupération des métaux biosorbés par lavage acide a également été étudiée.

Des résultats très prometteurs ont été obtenus pour le Pb(II) et le Cu(II). Il a ainsi été démontré que les microorganismes des boues, utilisés en suspension dans la solution métallique, sont capables de concentrer Pb^{2+} et Cu^{2+} par des facteurs de plus de 100 000 fois par rapport à la solution. Les paramètres de biosorption suivant le modèle de Freundlich ont été calculés à différents pH pour tous les métaux étudiés. Ces paramètres peuvent être utilisés soit pour définir les conditions pratiques de mise en œuvre d'un traitement, soit pour prédire l'efficacité d'un traitement de biosorption dans des conditions données.

Des rendements d'épuration de 99,9% et plus ont été obtenus pour le plomb sur les pilotes de laboratoire, avec des concentrations résiduelles en Pb^{2+} proches ou même inférieures aux limites de potabilité. La désorption du plomb à partir des boues immobilisées à l'intérieur de billes d'alginate de calcium a pu être réalisée avec succès en utilisant des solutions d'acides nitrique ou chlorhydrique à concentrations relativement faibles.

Les mécanismes principaux de biosorption sont probablement l'échange d'ions et l'adsorption électrostatique sur des sites de fixation situés à la surface des cellules microbiennes. Dans le cas du Cd (II), il a été démontré que la participation métabolique au phénomène de biosorption est très limitée. Ceci est probablement le cas également pour les autres métaux. Cependant, les microorganismes conservent leur capacité de dégrader des polluants organiques éventuellement présents dans le milieu, puisqu'ils sont utilisés vivants et que les concentrations résiduelles en cations métalliques peuvent être en deçà des seuils de toxicité. Cette particularité est un avantage potentiel important du procédé étudié par rapport aux autres procédés de biosorption existants qui utilisent de la biomasse morte comme biosorbant.

SOMMAIRE

I- <u>INTRODUCTION</u>	p. 1
II- <u>CONTEXTE SCIENTIFIQUE</u>	p.2
III- <u>OBJECTIFS ET ORGANISATION DE L'ETUDE</u>	p. 3
IV- <u>BIOSORPTION DE Cd(II), Pb(II), Cr(III), Cu(II) et Zn(II) SUR LES BOUES EN SUSPENSION</u>	p.5
IV.1- Matériel et méthodes générales	p. 5
IV.1.1- Produits chimiques	p. 5
IV.1.2- Biosorbant	p. 5
IV.1.3- Méthodes analytiques	p. 6
IV.2- Cinétique de biosorption	p. 6
IV.2.1- Procédure expérimentale	p. 6
IV.2.2- Résultats et discussion	p. 7
IV.3- Approche des mécanismes de biosorption du cadmium	p. 9
IV.3.1- Procédure expérimentale	p. 9
a) Expériences de biosorption et effets de l'addition de nutriments	p. 9
b) Toxicité du cadmium pour les microorganismes	p. 10
c) Effet de l'inhibition métabolique sur la biosorption	p. 10
IV.3.2- Résultats et discussion	p. 10
a) Toxicité du cadmium pour les microorganismes	p. 10
b) Effets de l'inhibition métabolique sur la biosorption du cadmium	p. 12
c) Effet de l'addition de nutriments	p. 12
IV.4- Détermination des paramètres de biosorption	p. 13
IV.4.1- Procédure expérimentale	p. 13
IV.4.2- Résultats et discussion	p. 14
a) Isothermes de biosorption	p. 14
b) Modélisation de la biosorption par l'équation de Freundlich	p. 20

IV.4.3- Utilisation des modèles	p. 26
a) Comme modèle prédictif	p. 26
b) Pour le calcul d'un traitement	p. 27
c) Calculs des facteurs de concentration	p. 28
IV.4.4- Conclusions	p. 29
IV.5- Effet d'un agent chélatant modèle : l'ion ammonium	p. 32
IV.5.1- Matériel et méthodes	p. 32
IV.5.2- Résultats et discussion	p. 32
IV.6- Optimisation de la biosorption	p. 34
IV.6.1- Introduction	p. 34
IV.6.2- Matériels et méthodes	p. 36
IV.6.3- Résultats et discussion	p. 38
V- <u>BIOSORPTION DE Cd(II), Pb(II), Cr(III), Cu(II) et Zn(II)</u>	
<u>SUR LES BOUES IMMOBILISEES</u>	p. 41
V.1- Matériels et méthodes	p. 41
V.1.1- Immobilisation	p. 41
V.1.2- Expériences de biosorption	p. 42
V.2- Cinétique de biosorption sur biobilles	p. 43
V.2.1- Procédure expérimentale	p. 43
V.2.2- Résultats et discussion	p. 43
V.3- Détermination des paramètres de biosorption	p. 45
V.3.1- Procédure expérimentale	p. 45
V.3.2- Résultats et discussion	p. 45
V.4- Optimisation de la biosorption	p. 50
V.4.1- Matériels et méthodes	p. 50
V.4.2- Résultats et discussion	p. 50

VI- <u>PHASE DE CONCENTRATION : ETUDE DE FAISABILITE</u>	p. 52
VI.1- Matériels et méthodes	p. 52
VI.1.1- Préparation de la culture bactérienne	p. 52
VI.1.2- Préparation des biobilles contaminées en métaux	p. 53
VI.1.3- Expériences de biodégradation anaérobie	p. 53
VI.2- Principaux résultats et discussion	p. 54
VI.3- Conclusions	p. 56
VII- <u>PHASE DE DESORPTION : ETUDE DE FAISABILITE</u>	p. 57
VII.1- Matériels et méthodes	p. 57
VII.1.1- Préparation des biobilles chargées en métaux	p. 57
VII.1.2- Expériences de désorption	p. 57
VII.2- Résultats et discussion	p. 57
VII.3- Conclusions	p. 59
VIII- <u>CONCLUSIONS GENERALES</u>	p. 61

I- INTRODUCTION

La contamination de notre environnement par les métaux présents dans des effluents très divers est un sérieux problème de santé publique compte tenu de la toxicité de ces polluants même à faibles concentrations. Le problème concerne essentiellement les écosystèmes aquatiques, où les métaux peuvent se concentrer dans les chaînes alimentaires à partir de niveaux de contamination même très faibles dans les eaux.

De nos jours, ce sont essentiellement des méthodes physico-chimiques telles que la précipitation des hydroxydes ou des sulfures métalliques, l'échange d'ions, l'osmose inverse et l'évapo-concentration qui sont utilisées pour traiter les effluents métalliques industriels. Ces méthodes ne sont pas satisfaisantes sur tous les plans, à cause de leurs coûts relativement élevés et/ou de la production de volumes importants de boues qui doivent être traitées ou éliminées, entraînant des surplus de coût.

Les procédés biologiques pourraient conduire au développement de techniques alternatives viables. De nombreuses études scientifiques ont déjà été publiées dans ce domaine, et quelques brevets ont également été déposés¹⁻³.

Il a été démontré que de nombreux microorganismes peuvent concentrer les cations métalliques par des mécanismes passifs ou métaboliques. Cependant, la plupart des études ont porté sur des microorganismes utilisés en cultures pures, ce qui, par une augmentation des coûts de mise en œuvre, peut être une limitation à l'exploitation pratique des techniques développées.

Par exemple, le procédé AlgaSORB (Bio-Recovery Systems, Inc., 1989) utilise différentes espèces d'algues mortes immobilisées dans une matrice à base de gel de silice. L'emploi de différentes espèces microbiennes pour préparer différents types de "résines biologiques" est basée selon les auteurs sur le fait que des biosorptions sélectives de certains métaux pourraient être obtenues. Cependant, ce point n'a pas été clairement démontré.

Le procédé Bio-Fix (US Bureau of Mines, 1990) utilise de la biomasse microbienne morte obtenue à partir d'espèces pures d'algues, de levures, de bactéries ou de flore aquatique, immobilisée dans une matrice à base de diméthyl formamide.

L'originalité de notre approche consiste en l'emploi comme biosorbant de microorganismes issus de boues de station d'épuration (STEP), qui est la source de microorganismes la plus largement répandue et a priori la moins coûteuse. Le biosorbant peut être utilisé directement sans avoir à investir dans des dispositifs annexes nécessaires à l'obtention de souches pures de microorganismes à partir d'autres types d'inoculum. Le procédé étudié utilise un déchet (les boues de STEP) pour en traiter un autre, ce qui est un avantage potentiel par rapport aux autres techniques existantes.

II- CONTEXTE SCIENTIFIQUE

La concentration des cations métalliques en solution par les microorganismes est généralement désignée sous le terme de biosorption. Par abus de langage, ce terme englobe souvent à la fois l'adsorption passive des cations métalliques à la surface des cellules microbiennes et les processus métaboliques conduisant à l'insolubilisation des métaux à l'intérieur ou à l'extérieur des cellules. L'importance relative de ces mécanismes dépend du métal, de sa spéciation, du type de microorganismes et de la composition du milieu⁴.

On sait que de nombreux microorganismes sont capables de synthétiser des protéines et des polysaccharides exocellulaires pouvant fixer les cations métalliques, et de produire certaines molécules telles que les phosphates ou les sulfures formant des complexes insolubles avec ces cations⁴⁻¹⁰. En outre, il existe des procédés métaboliques tels que le transport énergie-dépendant des cations métalliques dans la cellule ou la synthèse de polymères intracellulaires capables de fixer ces cations et ainsi de concentrer les métaux intracellulairement¹¹.

Un nombre relativement restreint d'études a été réalisé sur des mélanges d'espèces microbiennes et sur les boues de STEP¹²⁻¹⁶. Tous les articles publiés sur les interactions métaux-boues de STEP ont porté sur le devenir des métaux en cours de traitement des eaux usées¹²⁻¹⁶, ou sur la toxicité des métaux vis à vis du traitement biologique¹⁷.

Les polymères exocellulaires des microorganismes contenus dans les boues activées fournissent de nombreux groupes fonctionnels pouvant servir de sites de fixation pour les cations métalliques¹². On considère que l'élimination des métaux lourds en cours de traitement des eaux usées en STEP se fait principalement par combinaison des phénomènes de floculation et de sédimentation¹³, mais le rôle de l'activité métabolique des microorganismes dans ces phénomènes n'est pas encore totalement élucidé. On pense que des processus métaboliques de concentration intracellulaire des métaux peuvent se produire dans les boues activées¹⁴.

A notre connaissance, il n'y a pas eu de travail publié sur la conception et la mise en œuvre d'un procédé particulier utilisant les boues activées comme biosorbant pour éliminer les métaux de solutions aqueuses. Ceci est justement le but de la présente étude.

III- OBJECTIFS ET ORGANISATION DE L'ETUDE

C'est en considérant le fait bien connu que les métaux présents dans les eaux usées se retrouvent en grande partie dans les boues biologiques des STEP qu'est née l'idée d'utiliser ces boues comme biosorbant pour le traitement d'effluents métalliques aqueux.

Cette propriété restreint de plus en plus l'utilisation des boues en amendement organique du fait de l'augmentation de la teneur en métaux dans les eaux usées. Mais elle démontre également la bonne affinité des boues de STEP pour les métaux.

La présente étude se base sur cette constatation. Ses buts sont :

- d'étudier la faisabilité de l'emploi de boues de STEP comme biosorbant pour éliminer les cations métalliques de solutions aqueuses,
- d'étudier la faisabilité de la désorption des métaux ainsi concentrés, dans un but de recyclage éventuel des métaux,
- de concevoir un procédé utilisant ce phénomène de biosorption et de le mettre en œuvre au laboratoire.

Du fait de la limitation du programme à une année d'étude, les objectifs ont bien évidemment été dans leur ensemble limités aux études de faisabilité. L'application du procédé à des effluents réels n'a pas été étudiée, et un certain nombre de questions à caractère fondamental a été laissé en suspens.

Le procédé étudié comprend trois phases décrites ci-dessous :

Biosorption :

Les cations métalliques présents en solution sont concentrés par le biosorbant. Cette phase a été étudiée en système à biomasse libre (les boues étant alors utilisées en suspension dans la solution métallique) et en système à biomasse immobilisée (les boues étant alors emprisonnées dans des billes d'alginate de calcium) respectivement au LCPAE de l'INSA de Lyon et au Laboratoire de Biotechnologie du NJIT (Newark, NJ). Cette phase constitue la majeure partie du travail effectué.

Quatre métaux ont été étudiés en système à biomasse immobilisée. Il s'agit de Cd(II), Pb(II), Cr(III) et Cu(II). L'étude en biomasse libre a été étendue au Cr(VI) et au Zn(II).

Les objectifs fixés à ce travail sont les suivants :

- Déterminer les paramètres de biosorption à différents pH,
- comparer l'affinité du biosorbant pour les différents métaux,
- sélectionner les métaux pour lesquels la technique étudiée semble potentiellement viable,
- optimiser la phase de biosorption en réacteurs de laboratoire sur un métal modèle.

Le métal modèle sélectionné pour l'étape finale de ce travail est celui pour lequel les meilleurs résultats de biosorption ont été obtenus.

Concentration :

L'objectif de cette phase du procédé était, si nécessaire, d'augmenter la concentration en métal dans le biosorbant après la phase de biosorption, dans le but de rendre faisable la récupération ultérieure des métaux biosorbés.

La faisabilité de la digestion anaérobie du biosorbant a été étudiée, dans le but de dégrader partiellement la matrice organique du biosorbant en méthane et dioxyde de carbone afin d'augmenter la teneur en métaux dans les solides résiduaux.

Récupération :

L'objectif est de récupérer le(s) métal(aux) biosorbé(s) sous la forme d'une solution concentrée pouvant être recyclée.

La faisabilité de la désorption du plomb par lavage acide du biosorbant a été étudiée.

IV- BIOSORPTION DE Cd(II), Pb(II), Cr(III), Cu(II) ET Zn(II) SUR BIOMASSE LIBRE

IV.1- Matériel et méthodes générales

IV.1.1- Produits chimiques

Tous les produits utilisés sont de qualité "pour analyses". Les métaux ont été utilisés sous la forme des sels solubles CdCl_2 , $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$, $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, CuCl_2 et ZnCl_2 . Pour chaque métal, une solution mère à 1 g/l a été préparée dans du NaCl à 0,5%. Les solutions étaient renouvelées chaque mois.

IV.1.2- Biosorbant

Les boues de STEP ont été prélevées aux stations d'épuration urbaines de Saint Fons pour les études faites à l'INSA et de Parsippany (New Jersey) pour les études faites au NJIT. Pour évaluer l'influence de l'origine des boues sur les résultats de biosorption, certaines expériences ont été doublées pour le plomb au NJIT et à l'INSA. Il n'a pas été observé de différences significatives sur les résultats obtenus. Bien évidemment, des comparaisons plus approfondies seraient nécessaires pour être totalement affirmatif.

Les opérations de préparation des boues décrites ci-dessous ont été conçues et suivies uniquement dans un souci de rigueur scientifique indispensable à toute étude en laboratoire. Elles ne s'intègrent pas au procédé lui-même tel qu'il pourrait éventuellement être mis en pratique.

Lavage : Les boues sont filtrées à 500 μm pour éliminer les particules inertes grossières (débris, etc...), puis aérées à température ambiante pendant une quinzaine d'heures afin de dégrader les matières organiques dissoutes. Puis on les lave deux fois à l'eau du robinet et deux fois à l'eau permutée pour se débarrasser au mieux des matières dissoutes, et on centrifuge les boues ainsi préparées à 1500 g pendant 5 minutes environ.

Conservation : Les culots de centrifugation sont la source unique de biosorbant utilisée pendant toute l'étude. Pour éviter toute évolution biologique et ainsi faire toutes les expériences avec la même biomasse, les culots sont conservés par congélation. Pour ce faire, ils sont réunis, homogénéisés dans une solution de lait écrémé à 12,5% (poids/volume) sur la base de 25 g de culots pour 100 ml de solution, et congelés à -20°C dans des tubes à essais en plastique. Le rôle du lait écrémé est d'éviter l'éclatement des cellules microbiennes en cours de congélation.

Traitement avant chaque expérience : On décongèle le nombre souhaité de tubes en les plongeant dans un bécher rempli d'eau à température ambiante. On homogénéise parfaitement la suspension et on en prélève une masse adéquate correspondant à la masse souhaitée de boues. L'échantillon est dilué dans environ 15 fois son volume de solution de NaCl à 5 g/l et 5°C, parfaitement homogénéisé puis centrifugé pendant 5 min à 1500 g. Le surnageant est éliminé et le culot resuspendu dans 50 ml de solution de NaCl à 5 g/l et 5°C. On réalise ainsi 4 nouvelles centrifugations successives. Le rôle du NaCl dans cette procédure tout comme dans les expériences de biosorption est de protéger les microorganismes contre des pressions osmotiques trop importantes qui risqueraient de les faire éclater. A la fin de cette procédure, le culot obtenu est suspendu dans un volume adéquat de solution de NaCl à 5 g/l à température ambiante afin d'obtenir une concentration en biomasse sèche d'environ 2 g/l. La suspension est agitée dans un bécher pendant une quinzaine de minutes à température ambiante pour permettre aux microorganismes de rétablir leur activité métabolique.

IV.1.3- Méthodes analytiques

Les concentrations en cations métalliques en solution ont été déterminées par absorption atomique de flamme sur spectrophotomètres Perkin Elmer modèle 305B au NJIT et modèle 400 à l'INSA. Les conditions opératoires suivies sont celles recommandées dans le manuel d'instruction Perkin Elmer. Toutes les analyses ont été faites dans les zones de réponse linéaire des appareils. La précision des analyses a été estimée à ± 2 à 3%.

IV.2- **Cinétique de biosorption**

IV.2.1- Procédure expérimentale

Les expériences sont réalisées dans des erlenmeyers de 250 ml, avec des volumes réactionnels de 100 ml. Le milieu réactionnel se compose d'une solution de NaCl à 5 g/l dans laquelle on ajoute le biosorbant et le cation métallique à étudier.

La source de biosorbant est la suspension de boues à 2 g/l préparée comme indiqué ci-dessus. Dans ces expériences, on dilue 10 ou 20 ml de cette suspension dans les 100 ml finals pour obtenir une concentration en biosorbant de 200 ou 400 mg/l (masse sèche). La concentration exacte en biosorbant est déterminée à chaque expérience.

Les solutions mères en chaque cation métallique à 1 g/l sont utilisées comme source de métaux. Dans ces expériences, la concentration initiale en cation métallique était de 25 mg/l (sauf mention contraire).

Le pH est ajusté à la valeur choisie par addition de solution d'HCl 0,01 N. Des blancs ont été conduits pour déterminer les seuils de pH au dessus desquels apparaissent des phénomènes de précipitation chimique.

La biomasse est équilibrée à $30,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ pendant 1/4 h avant de démarrer l'expérience. Le temps 0 est décompté à l'instant de l'ajout du cation métallique dans le milieu réactionnel.

Les erlenmeyers sont mis en agitation à 130-150 rpm dans un incubateur à $30,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$. On prélève 5 ml de milieu aux temps 5, 10, 15, 30, 60 et 120 min. Les échantillons sont immédiatement filtrés à $0,45 \mu\text{m}$ sur des membranes Millipore en acétate de cellulose, à l'aide de filtres à seringue. Puis on procède au dosage du cation métallique en solution. Le pH est mesuré en fin d'expérience dans la solution non filtrée.

IV.2.2- Résultats et discussion

Les graphes de la Figure 1 (page suivante) montrent que l'on peut distinguer deux phases dans le processus de biosorption. La concentration en cation métallique chute en effet rapidement durant les 5 à 20 premières minutes, puis on atteint un palier pratiquement horizontal (cas du cuivre et du cadmium) ou légèrement descendant (cas du chrome(III), du zinc et du plomb dans une moindre mesure).

Cette observation pourrait refléter l'existence d'une première phase rapide d'adsorption passive du cation métallique à la surface du biosorbant, suivi d'une deuxième phase plus lente qui serait liée à l'activité métabolique des microorganismes.

Néanmoins, ces résultats sont bien sûr insuffisamment complets pour être catégoriques. La deuxième phase pourrait correspondre à l'établissement d'un équilibre physico-chimique d'adsorption. De même, s'il semble relativement certain que la première phase corresponde bien à un mécanisme passif d'adsorption compte tenu de la rapidité du phénomène, rien ne prouve qu'aucun processus métabolique ne se déroule dans le même temps.

Des études à caractère fondamental, hors du cadre de ce programme, seraient nécessaires pour mieux cerner ces phénomènes.

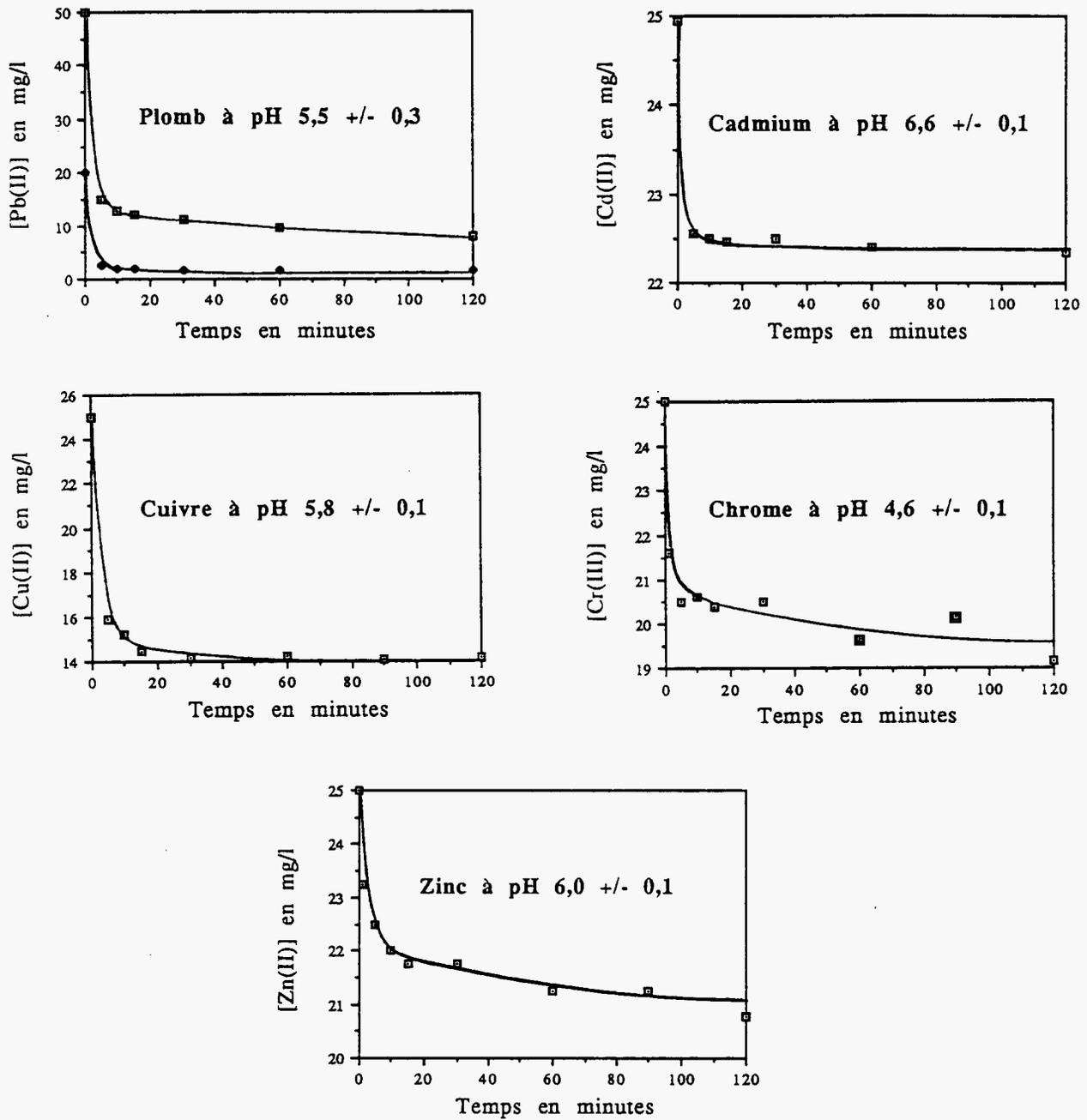


Fig. 1. Cinétiques de biosorption de Pb(II), Cd(II), Cu(II), Cr(III) et Zn(II) sur boues de STEP à $30,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$. La concentration en biosorbant est 200 mg/l pour Cd et Pb, et 400 mg/l pour les autres métaux

IV.3- Approche des mécanismes de biosorption

Ce travail a en fait constitué une étude préliminaire au présent programme. Son but était d'évaluer l'importance de l'activité métabolique des microorganismes dans le phénomène global de biosorption. La recherche a été réalisée sur le cadmium qui a été le premier métal étudié dans notre programme. Compte tenu des résultats de biosorption obtenus par la suite, il aurait été intéressant d'étendre la recherche aux autres métaux, notamment au plomb et au cuivre, mais cela n'a pas été possible dans un programme d'un an.

IV.3.1- Procédure expérimentale

Un certain nombre de paramètres ont été sélectionnés pour évaluer le rôle de l'activité métabolique des microorganismes dans la biosorption du cadmium. Les principaux sont rapportés ici.

a) *Expériences de biosorption. Effets de l'addition de nutriments*

Tous les essais ont été réalisés avec une concentration en biosorbant sec de 200 mg/l et à pH 6,6 afin d'éviter toute interférence avec des phénomènes de précipitation chimique. La concentration initiale en Cd^{2+} a été fixée à 10 mg/l, sauf mention contraire. Les essais ont été conduits dans des séries d'erlens contenant 25 ou 50 ml de milieu réactionnel, suivant la procédure décrite en IV.1 et IV.2.1.

Certaines expériences ont été faites avec apport de nutriments sous forme d'une solution de glucose à 1000 mg/l, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ à 94,6 mg/l, KH_2PO_4 à 17,6 mg/l, extrait de levures à 1,0 mg/l et NaCl à 5000 mg/l. Les concentrations finales en C, N, S et P étaient alors respectivement de 4,00 mg/l, 0,20 mg/l, 0,23 mg/l et 0,04 mg/l. Ces concentrations sont intentionnellement faibles afin de limiter la croissance de la biomasse (qui aurait modifié sa concentration et donc les résultats de biosorption) tout en permettant d'activer son activité métabolique.

Les erlens sont placés dans la chambre d'incubation portée à $30,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ et agités à 130-150 rpm. Au bout de 2 ou 24 h, on prélève une fraction du milieu qu'on filtre à $0,45 \mu\text{m}$ et on mesure le pH dans le reste de la suspension.

Les concentrations en Cd^{2+} et en protéines sont immédiatement mesurées dans les échantillons filtrés. Le dosage des protéines se fait suivant la méthode de Lowry. Le but de ces analyses est d'obtenir des informations sur l'état physiologique et l'activité métabolique des microorganismes, et de rechercher une éventuelle corrélation entre la biosorption du cadmium et la production extracellulaire de protéines. La période d'incubation maximale de 24 h a été jugée

suffisante pour permettre d'initier tout mécanisme métabolique aérobie sans conduire à l'autolyse des cellules qui serait survenu pour des temps plus longs.

b) *Toxicité du cadmium pour les microorganismes*

Elle a été évaluée en mesurant l'inhibition de la respiration endogène et de la production extracellulaire de protéines liée à l'exposition des microorganismes aux ions Cd^{2+} .

Le montage expérimental servant à la mesure de l'activité respiratoire des microorganismes est similaire à un oxygraphe Gilson, et a été décrit par ailleurs¹⁸. Tous les essais ont été réalisés à 30°C et pH 6,6±0,1. Les taux de consommation de l'oxygène dissout ont été mesurés entre 90% et 60% de saturation en oxygène, plage où les taux étaient pratiquement constants. Chaque essai a été au minimum dupliqué.

c) *Effet de l'inhibition métabolique sur la biosorption du cadmium*

Dans cette étude on a comparé la biosorption du cadmium par des microorganismes ayant ou non été traités aux UV ou à l'azide de sodium (NaN_3), qui sont tous deux des agents inhibiteurs bien connus. Le traitement aux UV a été réalisé en exposant la suspension de microorganismes (préparée comme indiqué en IV.1.2) à un rayonnement ultraviolet de 240 nm et d'une puissance de 20 W pendant 20 min. La suspension était étalée dans un récipient suffisamment large pour obtenir un film liquide d'une épaisseur n'excédant pas 1 mm environ. Le récipient était agité périodiquement.

Le traitement au NaN_3 se fait en suspendant les microorganismes dans une solution de NaN_3 à 10^{-3} or 10^{-1} M et en agitant la suspension obtenue pendant 30 ou 45 min à température ambiante. Après ce traitement, les microorganismes sont lavés par centrifugations successives.

L'étude de la biosorption du cadmium par les microorganismes traités est faite suivant la même procédure que pour les organismes non traités. L'activité respiratoire est mesurée en parallèle pour déterminer le niveau d'inhibition obtenu.

IV.3.2- Résultats et discussion

a) *Toxicité du cadmium pour les microorganismes*

Le Tableau 1 montre que la respiration endogène et la production extracellulaire de protéines ont été toutes deux inhibées par la présence de l'ion Cd^{2+} , même à la plus faible concentration testée. La baisse de production protéique pourrait refléter un phénomène de co-précipitation avec le cadmium, mais cette hypothèse a été infirmée par des résultats ultérieurs.

Tableau 1. Toxicité du cadmium pour les microorganismes

[Cd ²⁺] initiale en mg/l	% Inhibition de la respiration endogène ^a (± 5 à 10)	% Inhibition de la production de protéines ^b (± 5)
0	0	0
10	20	11
25	NM	25
50	65	35
100	70	40
500	75	NM

^a Dans le domaine 60-90% de saturation en oxygène dissout

^b En 2 h d'incubation

Conditions expérimentales : Température, 30,0 ± 0,5 °C ; pH 6,6 ± 0,1 ; pas de nutriments ajoutés. Tous les essais sont répétés au moins trois fois. Les résultats donnés dans ce tableau sont des valeurs moyennes. Les intervalles de confiance sont donnés entre parenthèses.

NM, Non Mesuré.

L'activité respiratoire des microorganismes est réduite de 65% lorsque la concentration en Cd²⁺ passe de 0 à 50 mg/l. Mais quand on continue d'augmenter cette concentration jusqu'à 500 mg/l, on constate une très faible augmentation du degré d'inhibition qui passe à 75%. Ce phénomène peut indiquer que certaines espèces microbiennes résistent à de fortes concentrations en cadmium, ou bien que le cadmium ne bloque qu'incomplètement l'activité respiratoire du consortium microbien.

L'isotherme de biosorption du cadmium étudié par la suite (voir la figure 2a p. 15) montre que la biosorption du cadmium s'accroît d'environ 130% lorsque l'on porte la concentration initiale en Cd²⁺ de 10 à 100 mg/l, alors que dans le même domaine de concentrations, le Tableau 1 montre que l'activité respiratoire et la production de protéine sont inhibées de 62% et 32% respectivement.

Ces résultats tendent à montrer que la biosorption du cadmium se déroule principalement selon des mécanismes passifs d'adsorption. Cependant, on ne peut rejeter totalement une éventuelle participation métabolique puisque l'effet toxique du cadmium prouve bien que les ions Cd²⁺ pénètrent dans les cellules. Certains auteurs ont rapporté que des microorganismes sensibles au cadmium auraient de meilleures capacités de biosorption que des espèces insensibles, et que la concentration métabolique intracellulaire du métal est la cause même de la toxicité.

b) *Effet de l'inhibition métabolique sur la biosorption du cadmium*

Cette étude a été réalisée à 40°C pour optimiser l'activité métabolique des microorganismes¹⁸.

Le Tableau 2 montre que l'azide de sodium et les rayons UV ont un effet inhibiteur important sur les deux témoins de l'activité métabolique que sont la respiration endogène et la production extracellulaire de protéines. Par contre, la biosorption du cadmium n'est pratiquement pas affectée par ces inhibiteurs.

Tableau 2. Effet de l'inhibition métabolique sur la biosorption du cadmium et sur la production extracellulaire de protéines avec et sans cadmium

Traitement	% Activité ^a (± 5)	Biosorption du cadmium ^b (±0,5)	Production de protéines ^c (± 5%)	
			Sans Cd	Cd à 10 mg/l
Néant	100	13,5	125	110
NaN ₃ 10 ⁻³ M, 45 min	65	12,5	45	25
NaN ₃ 10 ⁻¹ M, 30 min	55	12,5	65	20
NaN ₃ 10 ⁻¹ M, 45 min	20	13,0	30	30
UV 240 nm, 20 W, 20 min	30	12,5	20	0

a Mesurée par la vitesse de consommation de l'oxygène dissout par respiration endogène

b En µg de cadmium par mg de biomasse sèche en 2 h à 40,0 ± 0,5 °C et pH 6,6 ± 0,1

c En µg de protéines par mg de biomasse sèche en 2 h à 40,0 ± 0,5 °C et pH 6,6 ± 0,1

Aucun ajout de nutriments n'est effectué dans ces expériences.

Ce résultat indique que les mécanismes de biosorption du cadmium sont essentiellement passifs. D'après les données du Tableau 2, la participation métabolique peut être évaluée à 5 à 10% de la biosorption totale.

c) *Effet de l'addition de nutriments*

Cette étude a été conduite à 40°C également. Le Tableau 3 montre que l'apport de nutriments n'a pas d'effet notable sur la biosorption du cadmium en 2 h d'incubation, ce qui démontre que la faible participation métabolique à la biosorption n'est pas due à un manque de nutriments.

Après 24 h d'incubation, on n'observe pas d'augmentation de la biosorption en l'absence de nutriments, alors qu'en présence de nutriments la biosorption est légèrement augmentée. Ceci pourrait suggérer qu'une certaine activité métabolique s'est développée grâce à l'apport de

nutriments. Le phénomène métabolique de concentration du cadmium n'est cependant pas lié à la production extracellulaire de protéines puisque celle-ci est moindre en 24 h qu'en 2 h.

Tableau 3. Effet de l'addition de nutriments et du temps d'incubation sur la biosorption du cadmium et sur la production extracellulaire de protéines avec et sans cadmium

[Cd ²⁺] initiale en mg/l (±2%)	Biosorption du cadmium ^a (±0,5)				Production de protéines ^b (±5%)			
	Sans nutriments		Avec nutriments		Sans nutriments		Avec nutriments	
	2 h	24 h	2 h	24 h	2 h	24 h	2 h	24 h
0	<----- Non applicable ----->				125	0	75	0
10	13,5	13,5	13,5	14,5	110	135	65	25

^a En µg de cadmium par mg de biomasse sèche en 2 h à 40,0 ± 0,5 °C et pH 6,6 ± 0,1

^b En µg de protéines par mg de biomasse sèche en 2 h à 40,0 ± 0,5 °C et pH 6,6 ± 0,1

Lorsque des nutriments sont ajoutés, les concentrations en C, N, S et P sont respectivement de 4,00 mg/l, 0,20 mg/l, 0,23 mg/l, et 0,04 mg/l.

Le Tableau 3 montre également que l'apport de nutriments a notablement réduit la production extracellulaire de protéines. Ce résultat indique que les protéines en question étaient probablement des enzymes hydrolytiques libérées dans le milieu par les microorganismes recherchant des sources de carbone pour leur croissance. Ces protéines n'interviennent pas dans le processus de biosorption du cadmium.

IV.4- Détermination des paramètres de biosorption

IV.4.1- Procédure expérimentale

La procédure expérimentale générale est telle que détaillée en IV.1. Les expériences sont réalisées dans des erlens de 50 ml contenant 25 ml de milieu réactionnel. Aucun apport de nutriments n'est effectué.

En fonction du métal étudié, les concentrations initiales en cation métallique varient de 5 à 300 mg/l. La concentration en biosorbant sec est d'environ 200 ou 400 mg/l, la concentration exacte étant mesurée à chaque expérience.

Les erlens sont bouchés de coton cardé puis placés dans un incubateur où ils sont agités pendant 2 h à 130-150 rpm et 30,0±0,5°C. Cette période de 2 h a été choisie à partir des résultats obtenus en IV.2.2 afin d'approcher correctement l'équilibre de biosorption. Après 2 h d'incubation, on mesure le pH dans chaque erlen et un échantillon du milieu réactionnel est filtré à 0,45 µm. La concentration en cation métallique est mesurée dans le filtrat.

Préalablement à ce travail, le pH de précipitation des hydroxydes (ou d'autres formes insolubles des métaux considérés) a été déterminé en présence de NaCl dans des essais non rapportés ici. Les expériences de biosorption réalisées par la suite ont toutes été réalisées en deçà des valeurs limites de pH ainsi déterminées. En outre, des blancs ont été systématiquement conduits pour chaque expérience en remplaçant la biomasse par un même volume de solution de NaCl à 5g/l. Les gammes de pH étudiées sont indiquées ci-dessous :

Cd :	pH 4,0 à 6,6
Pb :	pH 3,5 à 6,0
Cr :	pH 4,0 à 4,5
Cu :	pH 4,0 à 5,5
Zn :	pH 4,5 à 6,0

IV.4.2- Résultats et discussion

a) *Isothermes de biosorption*

Les isothermes de biosorption ont été déterminés pour chaque métal en traçant à partir des résultats expérimentaux la concentration en cation métallique à l'équilibre (notée C_e) en fonction de la quantité de métal biosorbée par unité de poids sec de biosorbant (notée Q_e), à température, pH et concentration en biosorbant constants.

Pour chaque métal, un isotherme est ainsi obtenu à chaque pH sélectionné dans la gamme étudiée. Les isothermes obtenus pour Cd(II), Pb(II), Zn(II), Cu(II) et Cr(III) sont donnés respectivement dans les Figures 2a à 2e des pages suivantes. La biosorption du Cr(VI) a été pratiquement insignifiante et les résultats ne sont pas donnés ici ; ce cas sera discuté plus loin.

Les Figures 2a à 2e montrent premièrement que le biosorbant a une affinité nettement supérieure pour le plomb que pour les autres métaux dans le domaine de concentrations testé. La Figure 2b montre que le biosorbant est capable d'adsorber plus de 400 mg de plomb par gramme sec de biosorbant à pH 5,5 (soit près de 30% en poids dans le biosorbant saturé), alors qu'au même pH la biosorption du cuivre, du cadmium et du zinc est de 15 à 20 fois moindre si l'on considère des concentrations massiques. Même en considérant les concentrations molaires (le plomb a une masse molaire bien supérieure à celle des autres métaux étudiés), on trouve que la concentration maximale atteinte dans le biosorbant est 5 à 15 fois plus forte pour le plomb que pour les autres métaux.

Les causes de ce phénomène n'ont pas été élucidées. D'autres études sortant du cadre du programme fixé seraient nécessaires.

On voit également sur les Figures 2a à 2e que tous les isothermes sont de forme L (c'est à dire que la partie initiale de l'isotherme est concave), qui est la forme la plus générale des isothermes d'adsorption de solutés sur des surfaces solides¹⁹. Les isothermes ont un plateau unique à l'exception des cas du chrome et du plomb à faible pH, dont la biosorption semble avoir lieu en deux plateaux. Ce phénomène pourrait être dû à une forte compétition avec les protons aux pH inférieurs à 4,5.

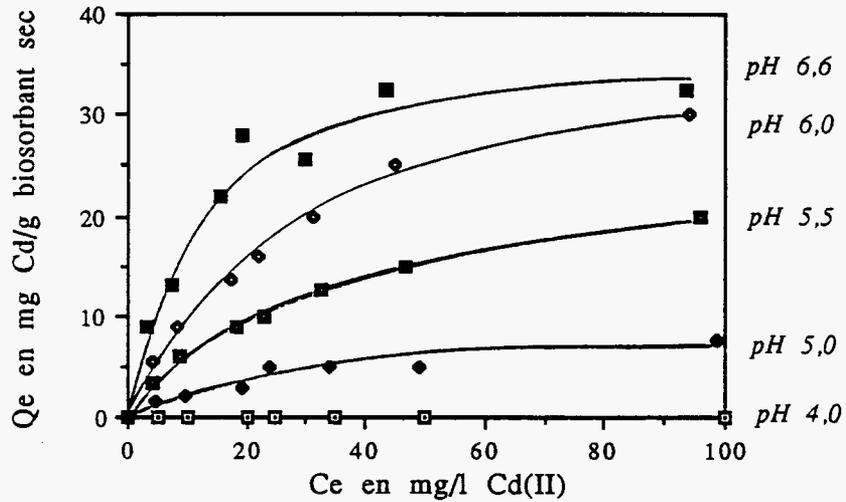


Fig. 2a. Isotherme de biosorption de Cd(II) sur boues en suspension à $30,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ et différents pH.
La concentration en biosorbant sec est de 200 mg/l.

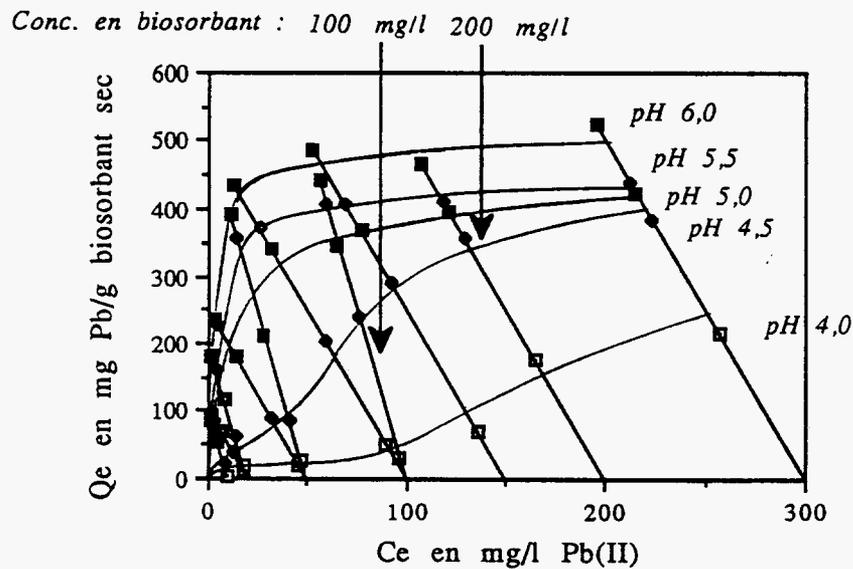


Fig. 2b. Isotherme de biosorption de Pb(II) sur boues en suspension à $30,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ et différents pH.
La concentration en biosorbant sec est de 200 ou 100 mg/l.

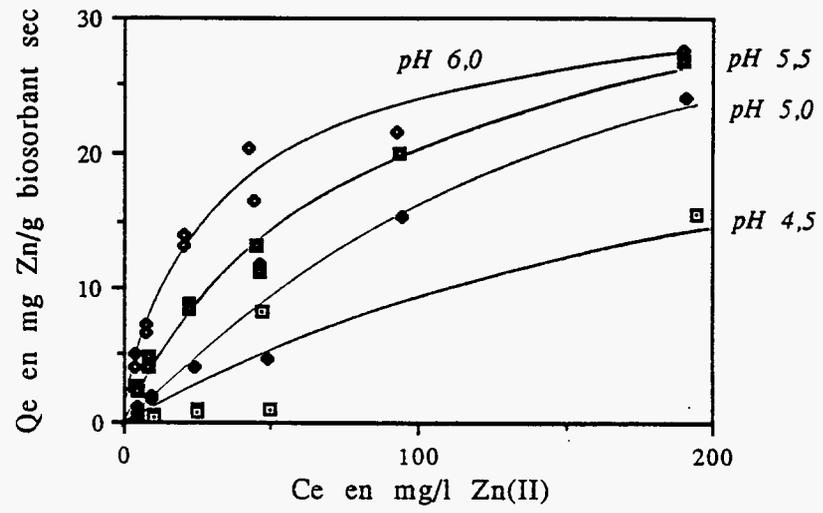


Fig. 2c. Isotherme de biosorption de Zn(II) sur boues en suspension à $30,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ et différents pH.
La concentration en biosorbant sec est de 400 mg/l.

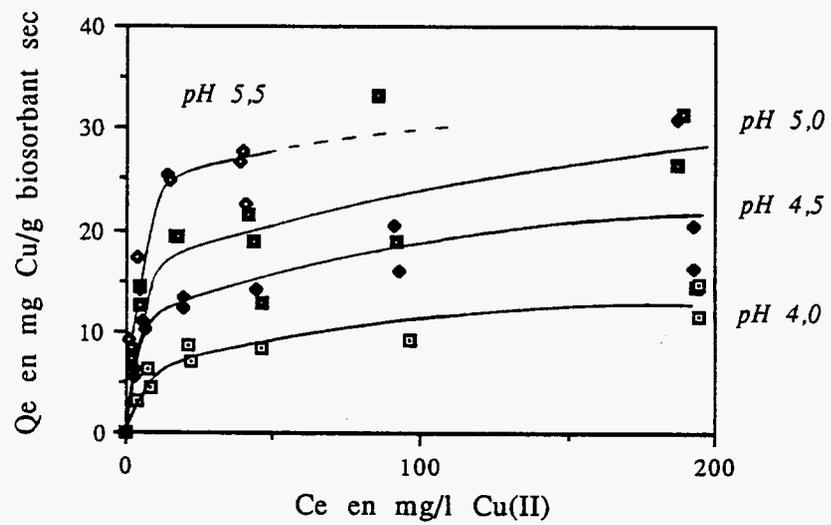


Fig. 2d. Isotherme de biosorption de Cu(II) sur boues en suspension à $30,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ et différents pH.
La concentration en biosorbant sec est de 400 mg/l.

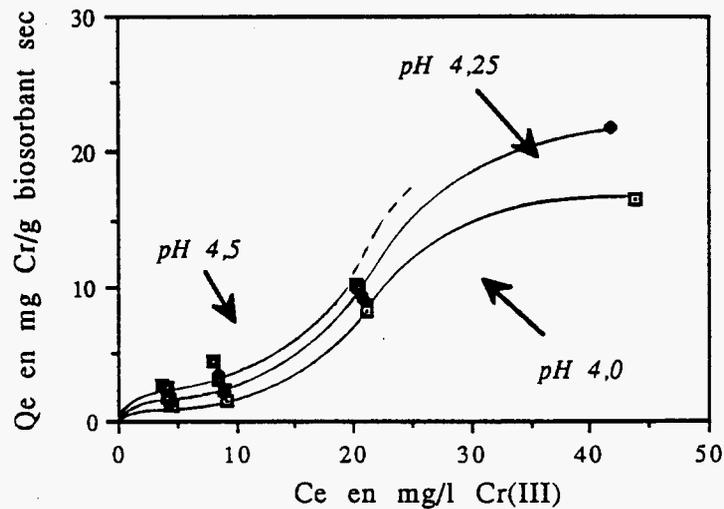


Fig. 2e. Isotherme de biosorption de Cr(III) sur boues en suspension à $30,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ et différents pH.

La concentration en biosorbant sec est de 400 mg/l.

Les Figures 2a à 2e illustrent bien la compétition existant entre les protons et les cations métalliques pour les sites de fixation sur les particules de biosorbant. Abaisser le pH réduit la capacité de biosorption métallique des boues, ce qui indique que les protons à forte concentration sont capables de remplacer les cations métalliques sur ces sites. Ces observations permettent de tirer les conclusions suivantes :

- 1- Les mécanismes d'échange d'ions et d'attraction électrostatique sur sites chargés négativement à la surface des microorganismes régissent probablement la biosorption des cations métalliques. Les groupements fonctionnels tels que les carboxyles, thiols, hydroxyles, amines et amides sont sans doute impliqués, suivant le mécanisme de fixation : $\text{Site-H} + \text{Métal}^{n+} \rightarrow \text{Site-Métal}^{(n-1)+} + \text{H}^+$ qui est favorisé en augmentant le pH.
- 2- La biosorption sera donc optimale à des pH élevés. Dans cette étude, nous avons fixé des limites supérieures de pH pour éviter que la précipitation de composés insolubles n'interfère avec les résultats de biosorption. Cependant, il a été noté que l'addition de boues dans une solution métallique suffit à elle seule à augmenter notablement le pH de la solution. Il est donc possible de combiner facilement la biosorption et la précipitation chimique si on le désire.
- 3- Les résultats montrent qu'il est possible de désorber les cations métalliques en abaissant suffisamment le pH. C'est le principe même de l'étude de la phase de récupération réalisée au NJIT (cf. le paragraphe VII).

Conc. en biosorbant : 100 mg/l 200 mg/l **PLOMB**

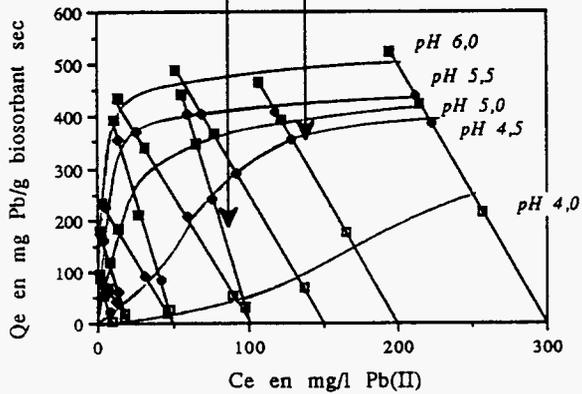
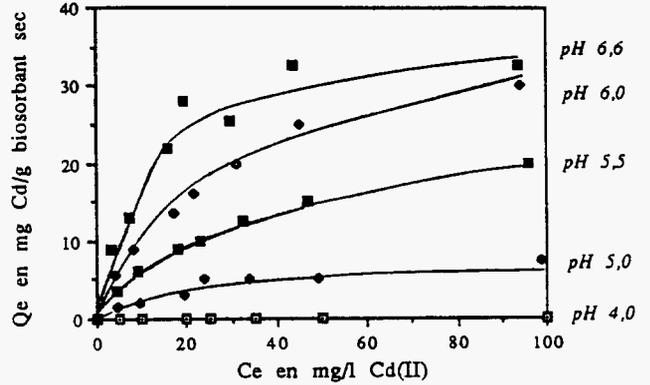
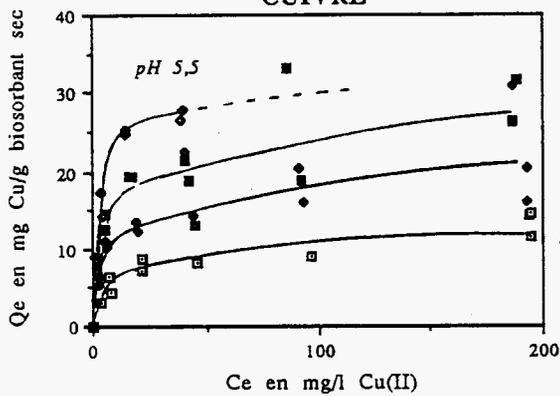
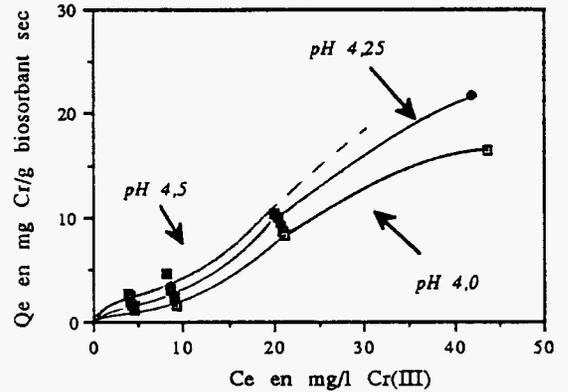
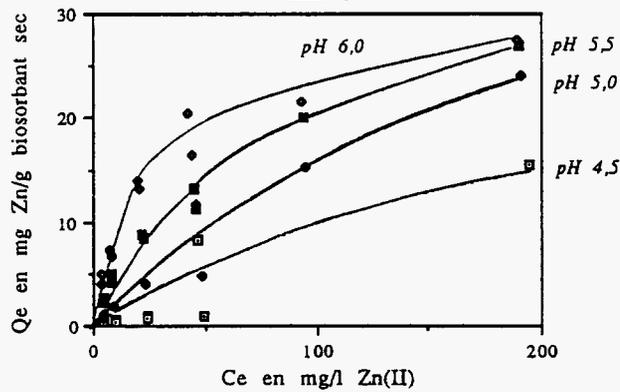
**CADMIUM****CUIVRE****CHROME****ZINC**

Fig. 2f. Isothermes de biosorption du Pb(II), Cd(II), Cu(II), Cr(III) et Zn(II) sur boues en suspension à $30,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ et à différents pH. La concentration en biosorbant sec est de 200 mg/l pour Cd, 200 ou 100 mg/l pour Pb, et 400 mg/l pour les autres métaux.

La forme en L des isothermes montre que la biosorption suit l'équation de Freundlich ou de Langmuir. Le modèle de Langmuir ne peut être retenu ici car il suppose que la surface de l'adsorbant est énergétiquement homogène, ce qui n'est pas le cas des microorganismes. Le modèle de Freundlich est conceptuellement plus acceptable.

Les résultats expérimentaux de biosorption ont cependant été testés suivant les deux modèles. Conformément aux prédictions théoriques, c'est le modèle de Freundlich qui s'est avéré être le plus approprié. En conséquence, l'analyse des résultats par le modèle de Langmuir ne sera pas présentée dans ce rapport.

Calculs graphiques à l'aide des isothermes

Chaque isotherme est tracé à partir d'un ensemble de points expérimentaux qui sont les résultats d'expériences réalisées à concentrations initiales croissantes en cation métallique C_i . Les résultats obtenus à chacune de ces expériences (c'est à dire pour une concentration initiale C_i donnée) peuvent être joints par une droite qui coupe l'axe des X en C_i .

On montre facilement que la pente de ces droites vaut $-1/BC$, où BC est la concentration en biosorbant dans l'expérience correspondante. Ceci est illustré par la Figure 2b pour des concentrations en biosorbant de 100 et 200 mg/l.

Pour une solution métallique de concentration C_i connue, on peut prédire graphiquement la concentration résiduelle C_e à laquelle conduirait un traitement par biosorption à un pH et une concentration en biosorbant donnés. Pour ce faire il suffit de tracer à partir de l'abscisse C_i une droite de pente $-1/BC$. La concentration résiduelle C_e est donnée par l'abscisse du point d'intersection de cette droite avec l'isotherme au pH considéré.

Cependant, cette démarche suppose que les isothermes de biosorption soient indépendants de la concentration en biosorbant, ce qui est théoriquement exact mais peut s'avérer plus ou moins faux dans la pratique.

Note sur la biosorption du Cr(VI)

Des expériences rapides ont montré que la biosorption du Cr(VI) sous forme de chromate CrO_4^{2-} ou de dichromate $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ est pratiquement insignifiante à $\text{pH} \geq 5$. Il a également été observé que la biosorption pouvait être augmentée en abaissant le pH (contrairement au cas des autres métaux) tout en restant cependant très faible même à $\text{pH} < 3$. Ces résultats confirment que des processus d'échange d'ions et d'attraction électrostatique sont les mécanismes principaux de la biosorption. En effet, la biosorption des anions chromate et dichromate n'est pas favorisée par les charges négatives de la surface cellulaire. En abaissant le pH, on peut arriver à charger les cellules positivement et on favorise ainsi l'adsorption des anions.

b) Modélisation de la biosorption par l'équation de Freundlich

Les Figures 3a à 3f ci-dessous montrent que pour tous les métaux et tous les pH étudiés, une relation linéaire est obtenue entre $\text{Ln}(Q_e)$ et $\text{Ln}(C_e)$, au moins jusqu'à une certaine limite supérieure de Q_e .

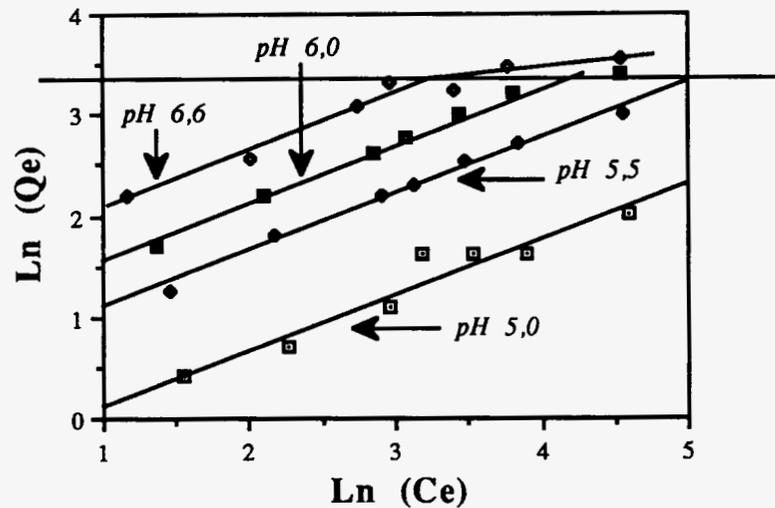


Fig. 3a. Linéarisation des isothermes de biosorption de Cd(II) sur boues en suspension à différents pH. Température $30,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$; concentration en biosorbant 200 mg/l. Les droites sont obtenues par régression linéaire des points expérimentaux.

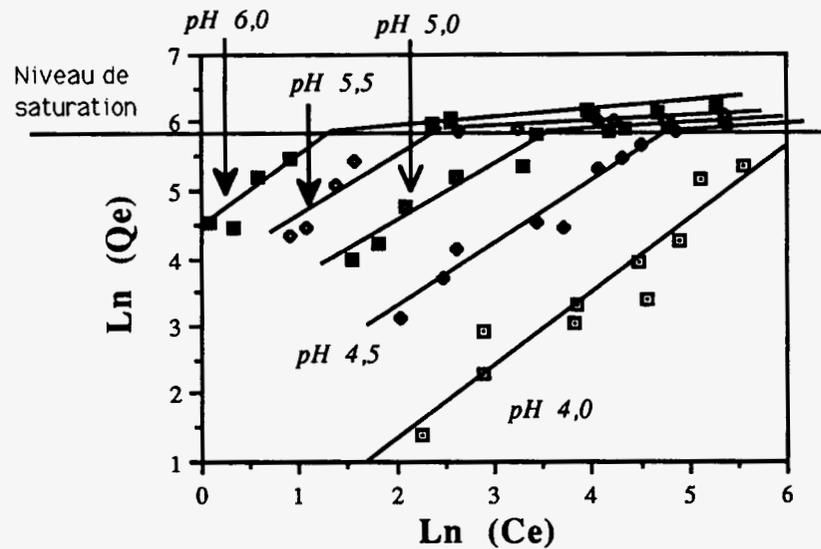


Fig. 3b. Linéarisation des isothermes de biosorption de Pb(II) sur boues en suspension à différents pH. Température $30,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$; concentration en biosorbant 100 ou 200 mg/l. Les droites sont obtenues par régression linéaire des points expérimentaux.

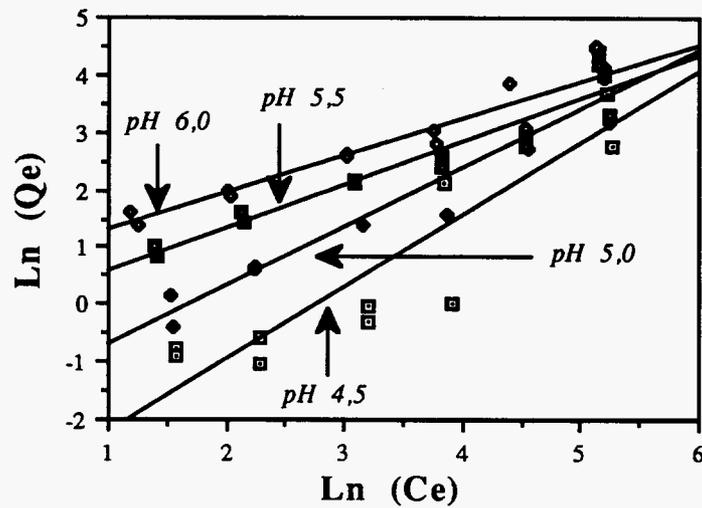


Fig. 3c. Linéarisation des isothermes de biosorption de Zn(II) sur boues en suspension à différents pH. Température $30,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$; concentration en biosorbant 400 mg/l. Les droites sont obtenues par régression linéaire des points expérimentaux.

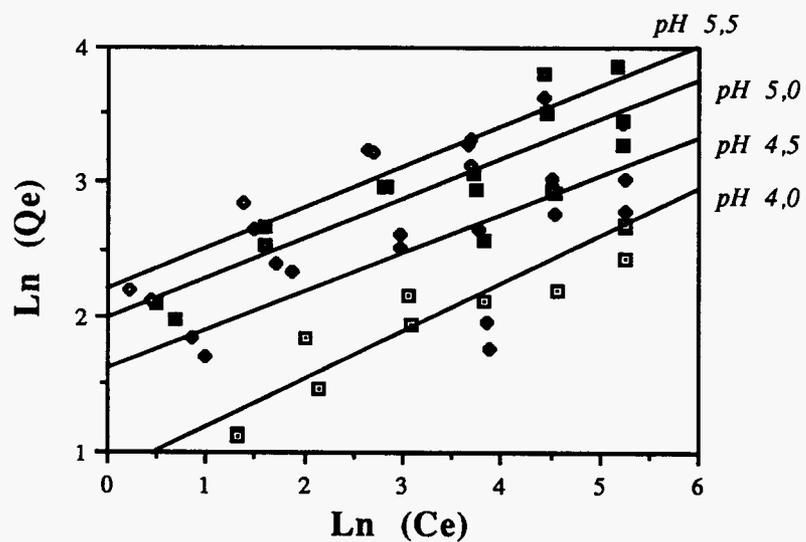


Fig. 3d. Linéarisation des isothermes de biosorption de Cu(II) sur boues en suspension à différents pH. Température $30,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$; concentration en biosorbant 400 mg/l. Les droites sont obtenues par régression linéaire des points expérimentaux.

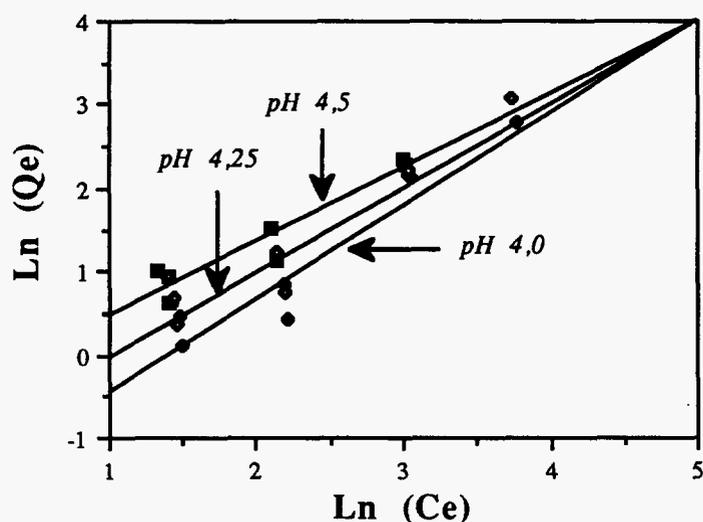


Fig. 3e. Linéarisation des isothermes de biosorption de Cr(III) sur boues en suspension à différents pH. Température $30,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$; concentration en biosorbant 400 mg/l. Les droites sont obtenues par régression linéaire des points expérimentaux.

Ces résultats indiquent que la biosorption de tous les métaux suit le modèle de Freundlich, au moins dans une certaine gamme de concentrations en cation métallique :

$$Q_e = K C_e^n \quad \text{où } K \text{ et } n \text{ sont des constantes avec } n < 1.$$

La relation $\text{Ln}(Q_e) = n \text{Ln}(C_e) + \text{Ln}(K)$ est l'équation d'une droite de pente n et d'ordonnée à l'origine $\text{Ln}(K)$. Les constantes K et n sont les paramètres de biosorption. Ils peuvent dépendre du pH, de la température et de la force ionique du milieu. Les valeurs calculées pour ces paramètres par régressions linéaires des résultats expérimentaux sont données dans le Tableau 4.

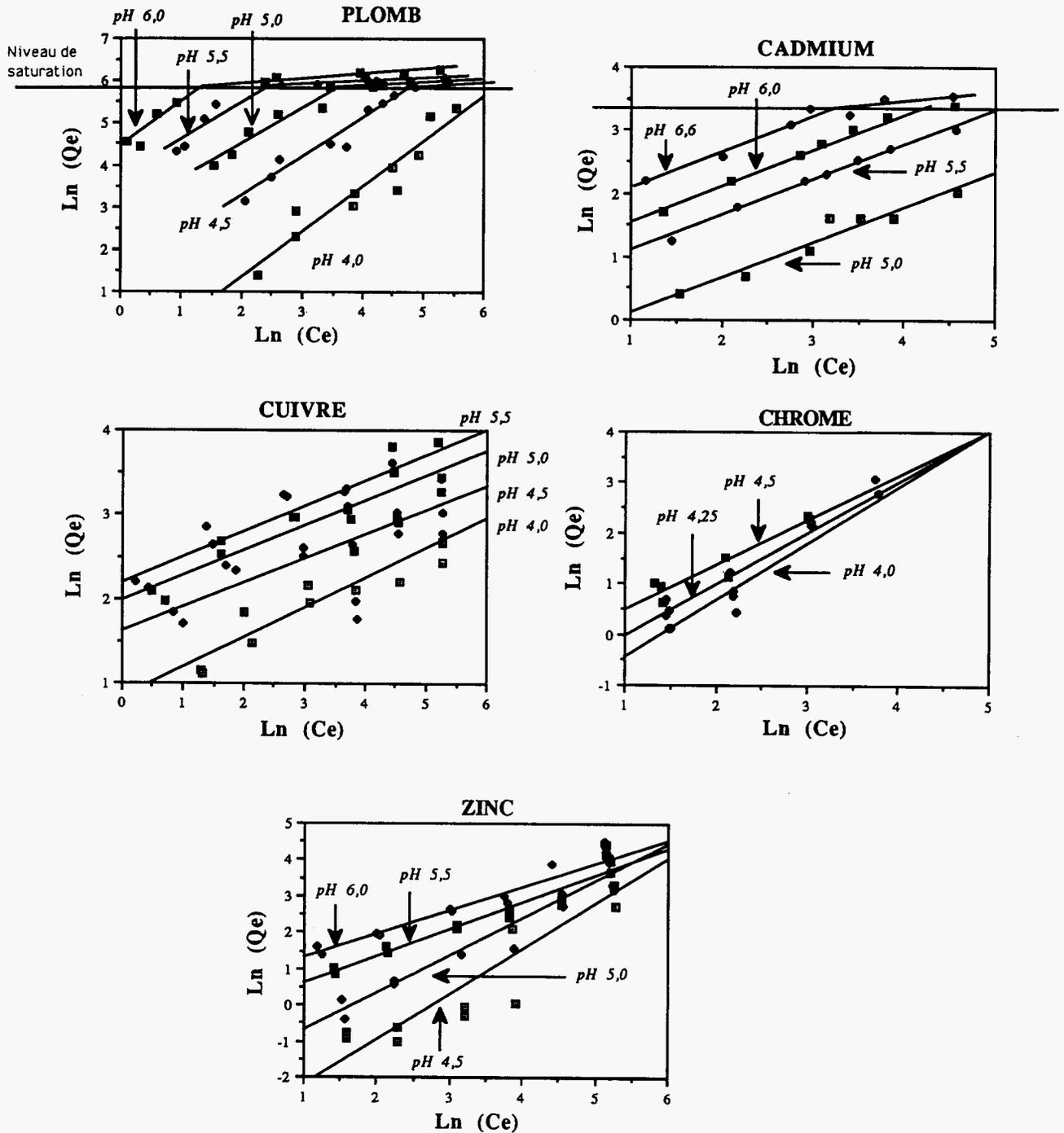


Fig. 3f. Linéarisation suivant le modèle de Freundlich des isothermes de biosorption de Pb(II), Cd(II), Cu(II), Cr(III) et Zn(II) sur boues en suspension à $30,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ et à différents pH. La concentration en biosorbant sec est de 200 mg/l pour Cd, 200 ou 100 mg/l pour Pb, et 400 mg/l pour les autres métaux.

Tableau 4. Paramètres de biosorption de Cd(II), Pb(II), Zn(II), Cu(II) et Cr(III) à $30,0 \pm 0,5$ °C

Métal	Paramètre	pH ($\pm 0,1$)						
		4,0	4,25	4,5	5,0	5,5	6,0	6,6
Cadmium (II)	K ^a	0,0 (0,0)	ND	0,40 (0,004)	0,65 (0,006)	1,7 (0,015)	2,8 (0,025)	4,7 (0,042)
	n	0,00	ND	0,55	0,55	0,56	0,56	0,54
Plomb (II)	K ^a	0,45 (0,002)	ND	4,0 (0,019)	15 (0,072)	37 (0,179)	87 (0,420)	ND
	n	1,05	ND	0,92	0,88	0,84	0,94	ND
Zinc (II)	K ^a	ND (#0)	ND	0,031 ($5 \cdot 10^{-4}$)	0,17 (0,003)	0,84 (0,013)	1,96 (0,03)	ND
	n	ND (#0)	ND	1,25	1,02	0,74	0,64	ND
Cuivre (II)	K ^a	2,3 (0,036)	ND	5,0 (0,079)	7,3 (0,115)	8,95 (0,141)	ND	ND
	n	0,35	ND	0,29	0,30	0,31	ND	ND
Chrome (III)	K ^a	0,19 (0,004)	0,32 (0,006)	0,66 (0,013)	ND	ND	ND	ND
	n	1,18	1,10	0,88	ND	ND	ND	ND

^a En mg (resp. mmole) de métal par gramme de biosorbant sec

La concentration en biosorbant est 200 mg/l pour Cd et Pb, et 400 mg/l pour les autres métaux.

ND, Non déterminé

Signification physique du paramètre K

L'équation de Freundlich montre que $Q_e = K$ (en mg ou mmole de cation métallique par gramme de biosorbant sec) quand $C_e = 1$ (respectivement en mg/l ou mmole/l).

K représente donc la quantité (en mg ou mmole) de métal biosorbé par gramme de biosorbant sec pour une concentration résiduelle de 1 mg/l ou 1 mmole/l respectivement. K est donc un excellent paramètre pour comparer l'affinité du biosorbant pour les différents métaux à faibles concentrations. A l'aide des valeurs de K (exprimées en mmole/g) données dans le Tableau 4, on montre que l'affinité du biosorbant pour les différents métaux se classe comme suit (pour des C_e proches de 1 mmole/l) :

A pH 4,0 : Cu(II) >> Cr(III) > Pb(II) >> Cd(II) # Zn(II) [# Cr(VI)]

A pH 5,5 : Pb(II) > Cu(II) >> Cd(II) > Zn(II) [>> Cr(VI)]

Comme l'illustrent les Figures 2a à 2e, une forte valeur de K s'observe sur les isothermes par une montée très rapide de la courbe dans sa partie initiale, dénotant bien une forte affinité du biosorbant pour le métal en question même à faibles concentrations en solution. C'est notamment le cas pour le cuivre et le plomb à pH > 4,5.

Par contre, une faible valeur de K se traduit sur les isothermes par une pente initiale beaucoup plus faible, dénotant une faible affinité du biosorbant pour le métal en question à faibles concentrations en solution.

De par les différences d'affinité observées, qui varient avec le pH, il apparaît que les boues utilisées comme biosorbant pourraient être utilisées pour des opérations de biosorption sélective de différents métaux en mélange. Ce point est développé au paragraphe IV.4.4.

Signification physique du paramètre n

Ce paramètre est la pente des droites $\ln(Q_e) = f[\ln(C_e)]$. Le modèle de Freundlich fixe une limite supérieure égale à 1 pour n . Les données du Tableau 4 pour le chrome à pH 4,0 et 4,25 et le zinc à pH 4,5 et 5,0 devraient donc être théoriquement rejetées puisque n est alors supérieur à 1. Cependant, ces valeurs ont été conservées car elles ne diffèrent pas trop de 1 et permettent de modéliser très correctement les résultats expérimentaux de biosorption.

Une valeur proche de 1 pour n indique que des variations relativement faibles de $\ln(C_e)$ (en deçà du niveau de saturation du biosorbant) peuvent entraîner d'importantes variations de $\ln(Q_e)$. C'est le cas du plomb, du chrome et du zinc. Par contre, le cuivre a la plus faible valeur de n (environ 0,3).

Niveau de saturation du biosorbant

Bien que cela n'ait été démontré que dans le cas du cadmium, il est probable que les mécanismes de biosorption par les boues de STEP de tous les métaux étudiés soient essentiellement passifs, c'est à dire sans participation métabolique significative. Il est donc logique de penser que des niveaux de saturation doivent exister, au delà desquels la biosorption métallique devient nulle ou très limitée.

Ce phénomène a été clairement observé dans le cas du plomb comme l'illustre la Figure 3b p. 20. On voit qu'au delà d'une concentration en plomb d'environ 350 mg/g dans le biosorbant ($\ln(Q_e) = 5,86$), les droites des isothermes se coupent en des segments de droites quasiment parallèles à l'axe des X, ce qui traduit la saturation du biosorbant.

Le graphe montre que le niveau de saturation est le même pour tous les pH testés (bien que la saturation n'ait pas été atteinte à pH 4,0). Cependant, les concentrations en Pb^{2+} en solution nécessaires pour saturer le biosorbant sont nettement supérieures à faibles qu'à forts pH. Ceci s'explique par le fait qu'à faibles pH, la compétition pour les sites de fixation entre Pb^{2+} et les protons est accentuée, et il faut donc des concentrations supérieures en Pb^{2+} pour remplacer les protons sur le biosorbant.

Un phénomène similaire a été observé pour le cadmium (Fig. 3a), mais de façon beaucoup moins claire que pour le plomb. Pour le cuivre, dont les isothermes sont similaires à ceux du plomb et du cadmium (n ne variant pas significativement avec le pH), il n'a pas été observé de niveaux de saturation. La raison probable est que de fortes concentrations en Cu^{2+} auraient été nécessaires, qui n'ont pas été testées à cause de phénomènes de précipitation chimique de complexes insolubles.

Les cas du zinc et du chrome(III) sont différents car n dépend alors du pH (Tableau 4). Les graphes de biosorption de ces métaux sont formés d'un faisceau de droites tendant à concourir pour de fortes valeurs de Q_e (Figs. 3c et 3e). Les limites correspondantes de Q_e n'ont pas été atteintes expérimentalement dans cette étude, mais on peut penser qu'elles devraient correspondre aux niveaux de saturation du biosorbant. Il est intéressant de noter que ces niveaux seraient atteints pour la même concentration en cation métallique en solution quel que soit le pH. Il s'agit donc d'une situation totalement différente de celle observée pour le plomb, le cadmium et le cuivre.

Effet de la température

L'étude a été réalisée préalablement au présent programme, sur le cadmium utilisé comme métal modèle. Elle a montré que la température a un effet relativement réduit sur la biosorption. En effet, la capacité de biosorption des boues pour le cadmium est augmentée d'environ 30% lorsqu'on porte la température de 5 à 50°C, et de 5 à 10% seulement pour un accroissement de température de 30 à 50°C.

Effet de la force ionique : Non étudié

Effets du pH

Ils sont illustrés par les Figures 2a à 2f et 3a à 3f et par les données du Tableau 4.

Le premier effet du pH est sur le paramètre K qui décroît notablement lorsqu'on acidifie le milieu. Cela reflète une diminution de l'affinité du biosorbant pour tous les métaux, comme il a déjà été discuté plus haut.

Le deuxième effet porte sur le paramètre n . A ce niveau, on peut distinguer deux groupes de métaux :

- Pour le cadmium, le plomb et le cuivre, le pH n'a pratiquement pas d'effet sur n (Tableau 4) comme l'illustre la Figure 3f qui montre que les isothermes de biosorption de ces métaux sont constitués de faisceaux de droites sensiblement parallèles. Pour ces trois métaux, la saturation du biosorbant sera obtenue pour des concentrations métalliques croissantes en solution quand le pH décroît. Ceci a été démontré dans le cas du plomb qui sature le biosorbant à des concentrations en Pb^{2+} en solution de l'ordre de 5 à 10 mg/l à pH 6,0, alors que la saturation a lieu à des concentrations en Pb^{2+} supérieures à 100 mg/l à pH 4,5 (Fig. 3b, p. 20).

- Pour le zinc et le cadmium, n croît lorsqu'on acidifie le milieu comme l'illustrent les Figures 3c et 3e. Contrairement aux trois métaux précédents, il semble d'après ces deux figures que la saturation du biosorbant doit être obtenue pour une même concentration en cation métallique en solution quel que soit le pH.

IV.4.3- Utilisation des modèles

Le modèle de Freundlich $Q_e = K C_e^n$ peut être utilisé, une fois K et n déterminés, soit pour prédire l'efficacité d'un traitement de biosorption dans des conditions données, soit pour concevoir et mettre en œuvre un traitement.

a) *Utilisation comme modèle prédictif*

Supposons qu'on opère un traitement par biosorption sur une solution contenant un cation métallique à concentration C_i (mg/l). Pour cela, on suspend une masse sèche X (en grammes) de biosorbant dans un volume V (en litres) de solution métallique, et on agite pendant deux heures.

On désire prédire la concentration résiduelle C_e en cation métallique dans la solution ainsi traitée, après séparation liquide/solide.

Le bilan matière peut être écrit comme suit pour le cation métallique :

$$VC_i = VC_e + XQ_e$$

qui, en incorporant la relation de Freundlich, devient :

$$VC_i - VC_e = XK C_e^n$$

ou :

$$C_e - C_i + (X/V)K C_e^n = 0$$

Cette équation peut être résolue numériquement, par exemple par la méthode de Newton.

Cette démarche suppose que les paramètres de biosorption, déterminés dans cette étude pour des concentrations en biosorbant de 200 ou 400 mg/l, restent valables quelle que soit la concentration en biosorbant. Ce point a été vérifié expérimentalement pour la biosorption du cadmium lors d'une étude préliminaire. Des expériences de biosorption ont été réalisées à pH et température constants, avec des concentrations en biosorbant variant de 0,1 à 2,0 g sec/l. Les résultats expérimentaux ont été comparés avec les prédictions du modèle faites en utilisant les paramètres déterminés à une concentration en biosorbant de 0,2 g/l. De très bonnes concordances ont été obtenues entre les résultats expérimentaux et les prédictions du modèle.

b) Utilisation pour le calcul d'un traitement

Supposons qu'un atelier industriel produise quotidiennement un volume V (en litres) d'un effluent aqueux contenant un seul cation métallique (cas idéal ...) à une concentration C_i (en mg/l). Les normes de rejet étant fixées à C_e mg/l, on veut calculer la masse sèche de biosorbant X (boues de STEP) à utiliser quotidiennement pour mettre en œuvre un traitement de biosorption répondant à ce cahier des charges. On suppose pour simplifier que le traitement est réalisé en une étape unique et en batch (nous verrons en IV.6 qu'il est possible d'optimiser le procédé par une conception différente du mode de traitement).

La masse de métal à éliminer quotidiennement de la solution est :

$$VC_i - VC_e$$

A la concentration finale C_e fixée pour l'effluent, la concentration métallique Q_e dans le biosorbant sera :

$$Q_e = KC_e^n$$

ou encore : $Q_e = (VC_i - VC_e) / X$

On obtient donc la relation suivante :

$$X = (VC_i - VC_e) / KC_e^n$$

En supposant par exemple que $C_i = 100$ mg/l et $C_e = 1$ mg/l, on peut calculer que pour traiter 1 m^3 de solution dans un procédé batch effectué en une seule étape, les masses suivantes de boues sèches seront nécessaires :

2,7 kg pour Pb(II) à pH 5,5
 11 kg pour Cu(II) à pH 5,5
 58 kg ou 21 kg pour Cd(II) à pH 5,5 ou 6,5 respectivement
 118 kg ou 50 kg pour Zn(II) à pH 5,5 ou 6,0 respectivement
 150 kg pour Cr(III) à pH 4,5.

Ces calculs montrent bien la bien meilleure efficacité du système pour le plomb par rapport aux autres métaux. Notons que si l'on fixe une concentration finale $C_e \ll 1$ mg/l, c'est la biosorption du cuivre qui nécessitera la plus petite masse de biosorbant.

Notons aussi que si le traitement est fait en batch et en une étape unique (comme c'est le cas dans ces calculs), le biosorbant sera forcément en contact avec une solution à faible concentration en cation métallique (1 mg/l ici), et il sera donc lui-même faiblement chargé en métal. Il est possible de réduire les masses de biosorbant nécessaires tout en arrivant à la même concentration C_e en solution en concevant un procédé de contact biosorbant/solution par circulation à contre-courant. Cette approche est détaillée dans le paragraphe IV.6.

c) Calcul des facteurs de concentrations F

Il s'agit du rapport des concentrations massiques en métal entre le biosorbant et la solution aqueuse environnante. On a donc la relation : $F = 1000(Q_e/C_e)$, où Q_e et C_e sont exprimés respectivement en mg de métal par gramme de biosorbant sec et en mg de métal par litre de solution. Le facteur F est une mesure de la capacité du biosorbant à accumuler les métaux à partir d'une solution aqueuse dans laquelle on le met en suspension.

En incorporant l'équation de Freundlich à l'expression de F , on montre que :

$$F = 1000 K C_e^{n-1} \quad \text{avec } n-1 < 0$$

Il apparaît donc que F croît lorsque C_e décroît. Le Tableau 5 donne les valeurs de F calculées pour les boues à des concentrations métalliques en solution de 1,00 et 0,01 mg/l et à différents pH.

Les facteurs de concentration sont très forts pour le plomb et le cuivre, et sont tout à fait comparables voire supérieurs à ceux du biosorbant Algasorb ou des résines synthétiques classiques d'échange d'ions. Ces résultats montrent que le procédé étudié permettrait de traiter efficacement des eaux faiblement concentrées telles que, par exemple, les eaux souterraines contaminées.

Tableau 5. Facteurs de concentration des boues pour chaque métal à 30,0±0,5°C, différents pH, et à des concentrations métalliques en solution de 1,00 et 0,01 mg/l

pH	Métal et Ce en mg/l									
	Pb(II)		Cu(II)		Cd(II)		Zn(II)		Cr(III)	
	1,00	0,01	1,00	0,01	1,00	0,01	1,00	0,01	1,00	0,01
4,5	4 000	5 800	5 000	131 500	400	3200	30*	10*	650	1200
5,5	37 000	77 300	8 900	214 700	1 700	12 900	840	2 800	NC	NC
6,0	87 000	114 700	NC	NC	2 800	21 200	1 960	10 300	NC	NC
6,6	NC	NC	NC	NC	4 700	39 100	NC	NC	NC	NC

*La diminution constatée ici est due au fait que $n > 1$ dans ce cas.

NC : Non Calculable

IV.4.4- Conclusions

Les principales conclusions de la première phase de l'étude de la biosorption du plomb, du cadmium, du cuivre, du zinc et du chrome sur boues de STEP sont les suivantes :

1- Les boues ont une très forte affinité pour le plomb et le cuivre. L'affinité pour le cuivre est surtout forte, même par rapport au plomb, pour de faibles concentrations métalliques en solution. Dans le cas de ces deux métaux, la technique étudiée apparaît comme une alternative possible aux procédés classiques.

2- La biosorption suit dans tous les cas le modèle de Freundlich dans une large plage de concentrations métalliques en solution. Pour obtenir de fortes concentrations métalliques dans le biosorbant (dans le but de minimiser les masses de biosorbant à utiliser ou de rendre faisable le recyclage des métaux par désorption), il faut donc mettre en contact le biosorbant avec une solution métallique à concentration suffisamment élevée. Au delà d'un certain seuil, on obtient la saturation du biosorbant.

3- Les mécanismes de biosorption semblent être principalement l'échange d'ions et l'attraction électrostatique sur des sites chargés négativement présents à la surface des microorganismes. La participation métabolique semble très limitée, bien que ce point n'ait été clairement démontré que dans le cas du cadmium.

4- Les paramètres K et n du modèle de Freundlich ont été calculés pour chaque métal, à l'exclusion des chromate et dichromate pour lesquels la biosorption est insignifiante. Les résultats sont donnés dans le Tableau 4.

5- K décroît significativement avec le pH pour tous les métaux, ce qui indique une forte compétition avec les protons pour les sites de fixation. Le paramètre n ne dépend pas significativement du pH dans le cas du plomb, du cuivre et du cadmium. Par contre, n décroît lorsqu'on augmente le pH dans le cas du zinc et du chrome(III).

Une autre façon d'analyser les résultats expérimentaux est illustrée par la Figure 4. Celle-ci montre l'évolution des pourcentages d'élimination de chaque métal (aux pH les plus élevés testés pour chacun d'eux) en fonction de la concentration métallique initiale en solution.

On voit que pour tous les métaux, le pourcentage d'élimination (donné par le rapport de la masse de métal biosorbé sur la masse de métal initialement en solution) décroît lorsqu'on augmente la concentration initiale en cation métallique en solution. Ce résultat confirme les observations faites auparavant à propos des facteurs de concentration. En d'autres termes, le procédé de biosorption permettra d'éliminer une part plus importante du métal dissout lorsque la concentration de ce métal en solution sera faible. Ceci est réalisé dans le pilote de laboratoire à circulation à contrecourant mis au point dans la suite de l'étude (Cf. IV.6).

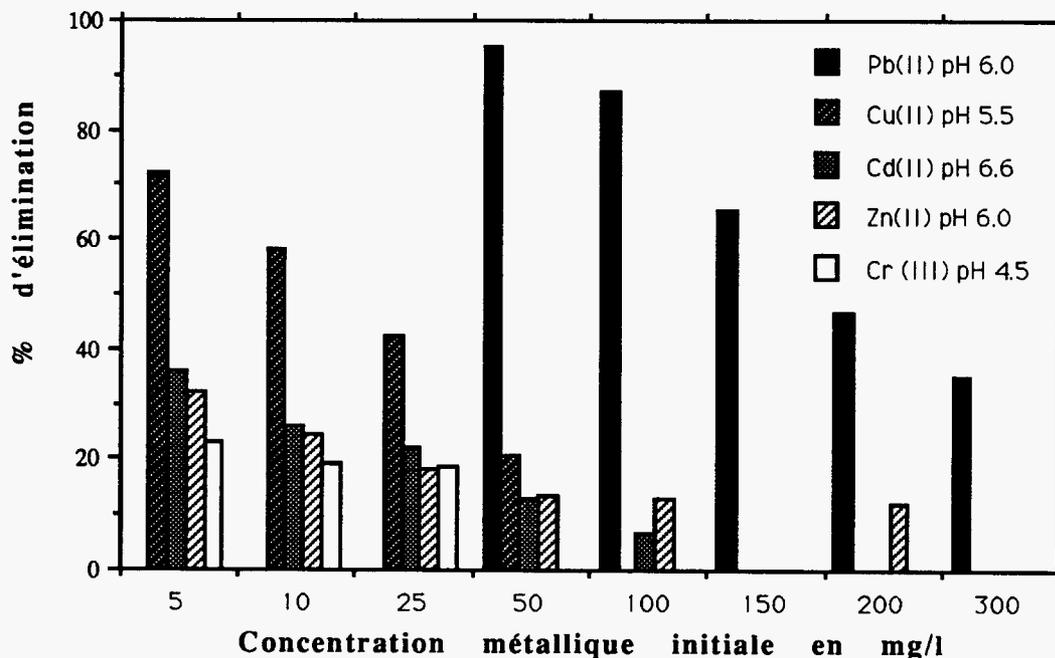


Fig. 4. Effet de la concentration métallique initiale sur le pourcentage d'élimination de chaque métal par biosorption sur boues de STEP. Température $30,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$. La concentration en boues sèches est 200 mg/l pour Cd et Pb, et 400 mg/l pour les autres métaux.

La figure 4 montre également que le procédé de biosorption est bien plus efficace pour le plomb et le cuivre que pour les autres métaux. Bien que la biosorption du plomb ait été étudiée avec une concentration en biosorbant de 200 mg/l, un pourcentage d'élimination de 95% a été obtenu à pH 6,0 à partir d'une concentration initiale en Pb^{2+} de 50 mg/l en solution. Pour le cuivre avec une concentration en biosorbant de 400 mg/l, un pourcentage d'élimination de 72% a été obtenu à pH 5,5 à partir d'une concentration initiale en Cu^{2+} de 5 mg/l en solution. Pour les autres métaux, le pourcentage d'élimination ne dépasse pas 35%.

Il est évident que dans tous les cas, les pourcentages d'élimination peuvent être améliorés en augmentant la masse de boues utilisées.

En comparant l'affinité des boues pour chaque métal, on s'aperçoit que dans certaines conditions, une biosorption plus ou moins sélective de certains métaux pourrait être obtenue. La meilleure sélectivité serait obtenue pour le couple cuivre-zinc. La Figure 5 montre les résultats de biosorption de ces deux métaux obtenus à différents pH pour une même concentration métallique initiale de 5 mg/l.

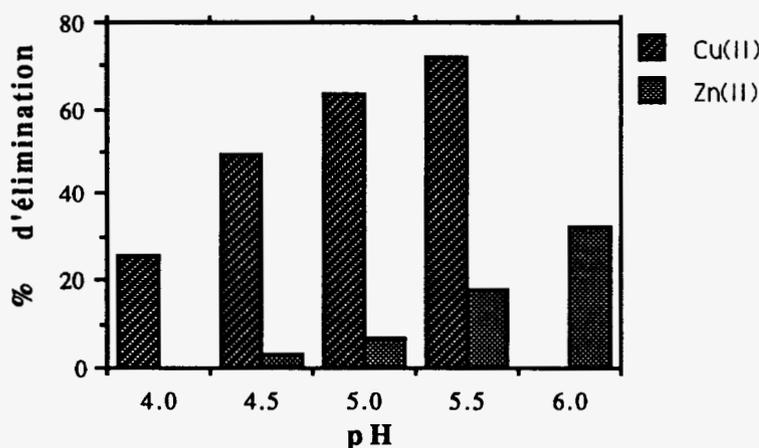


Fig. 5. Biosorption sélective de Cu(II) et Zn(II) par des boues de STEP. Les concentrations métalliques initiales sont 5 mg/l et la concentration en biosorbant sec est 400 mg/l.

A pH 4,0, la sélectivité pourrait être totale, mais la biosorption du cuivre est relativement faible. Il semblerait plus judicieux d'opérer à pH 5,0. Dans ces conditions, le cuivre est éliminé à 65% de la solution, alors la majeure partie du zinc (95%) reste en solution. Des étapes successives pourraient permettre une séparation sélective du cuivre et du zinc. On a pu montrer que la sélectivité s'améliore pour de faibles concentrations métalliques en solutions.

Cette propriété pourrait être utilisée par exemple pour purifier des solutions de Zn(II) contenant des traces de Cu(II). L'affinité des boues est très forte pour le cuivre à faibles concentrations (voir Tableau 5 p. 29), et le cuivre pourrait donc être éliminé correctement de la solution, alors que seule une très faible partie du zinc serait éliminée par biosorption.

Ces réflexions se basent sur des expériences de biosorption réalisées sur chaque métal séparément, et devraient donc être vérifiées par des études faites sur les deux métaux en mélange.

IV.5- Effet d'un agent chélatant modèle : l'ion ammonium

Certains agents chélatants tels que l'ammoniaque (ou l'ion NH_4^+) et les cyanures peuvent accompagner les cations métalliques dans de nombreux types d'effluents industriels. Afin d'évaluer les possibilités d'application du procédé de biosorption étudié à de tels effluents, il est apparu intéressant d'étudier l'effet d'un agent chélatant sur la biosorption d'un métal donné.

De part les risques associés à l'emploi des cyanures à des pH acides, il a été décidé de sélectionner l'ammoniaque comme agent chélatant modèle. L'étude a porté sur la biosorption du cuivre car il a été démontré que les boues ont une bonne affinité pour ce métal.

IV.5.1- Matériel et méthodes

La procédure générale est décrite en IV.1. Les expériences de biosorption sont conduites comme indiqué en IV.4.1, mais ici la concentration initiale en Cu^{2+} est fixée à 25 mg/l (soit environ 0,4 mmole/l) pour toutes les expériences. La concentration en boues dans ces expériences est de 400 mg sec/l.

Les expériences sont réalisées dans des séries d'erenmeyers contenant des concentrations croissantes en NH_4Cl (0,2 ; 0,4 et 0,8 mmole/l) ou ne contenant pas de NH_4Cl (blancs). Les concentrations en NH_4Cl sont choisies pour correspondre à la moitié, l'équivalent ou le double de la concentration molaire initiale en Cu^{2+} .

Le pH varie entre 5,0 et 6,0 afin d'encadrer 5,5 pour pouvoir déterminer la biosorption à ce pH exactement.

IV.5.2- Résultats et discussion

La Figure 6 montre le pourcentage d'élimination du cuivre en présence de concentrations croissantes en NH_4Cl . Les concentrations en cuivre mesurées dans la solution sont les sommes des concentrations en cuivre libre et en cuivre complexé.

On voit sur cette figure que l'effet de NH_4Cl sur la biosorption de Cu(II) est pratiquement insignifiante à pH 5,5. Cette observation peut avoir deux explications :

1- Le complexe $\text{Cu(NH}_3)_4^{2+}$ est un cation qui peut donc être adsorbé par les microorganismes. Cependant, la taille moléculaire du complexe est supérieure à celle des ions Cu^{2+} , et il est probable que l'affinité du biosorbant pour le complexe soit plus faible que son affinité pour Cu^{2+} à cause de possibles empêchements stériques.

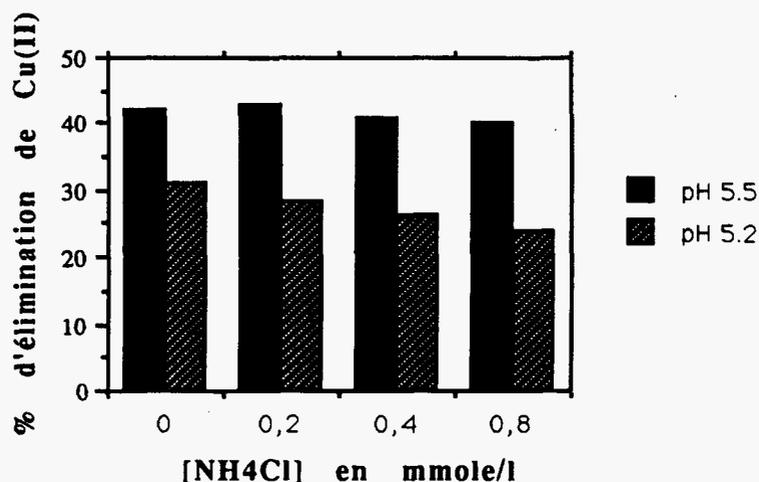


Fig. 6. Effet de NH_4Cl sur la biosorption de Cu(II) à pH 5,5 et 30°C . La concentration initiale en Cu^{2+} en solution est 25 mg/l (env. 0,4 mmole/l) et la concentration en biosorbant sec est 400 mg/l.

2- La formation du complexe est régie par l'équilibre suivant :



Les boues ayant une forte affinité pour les ions Cu^{2+} à faibles concentrations, les traces de Cu^{2+} en solution sont biosorbées. Cela déplace l'équilibre vers la gauche, jusqu'à ce que l'équilibre de biosorption soit atteint.

Cependant, la concentration en Cu^{2+} en solution doit rester faible car la constante de dissociation du complexe est elle-même très faible. Le phénomène de complexation doit donc réduire la quantité de Cu(II) biosorbé sous forme d'ions Cu^{2+} .

Il est probable que les deux phénomènes 1 et 2 aient lieu simultanément, ce qui explique pourquoi le NH_4Cl a une très faible influence sur la biosorption du cuivre à pH 5,5.

A des pH inférieurs à 5,5, la présence de NH_4Cl réduit la biosorption de manière plus significative, comme le montre la Figure 7.

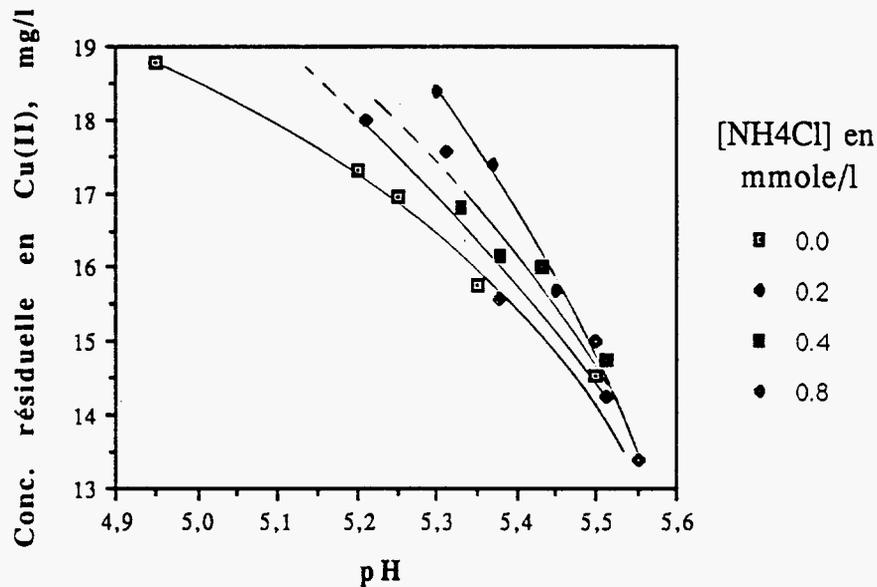


Fig. 7. Effet du pH sur la réduction la biosorption de $\text{Cu}(\text{II})$ par le NH_4Cl . La concentration initiale en Cu^{2+} en solution est 25 mg/l (env. 0,4 mmole/l), et la concentration en biosorbant sec 400 mg/l.

IV.6- Optimisation de la phase de biosorption

IV.6.1- Introduction

La phase de biosorption conduit à la production de boues organiques contenant le métal biosorbé. Afin de pouvoir être considéré comme une méthode crédible et viable de traitement des effluents métalliques, le procédé doit satisfaire aux conditions suivantes :

- La concentration en cation métallique dans l'effluent traité doit être inférieure aux normes de rejet.
- Le métal biosorbé doit pouvoir être récupéré à partir des boues, ou bien les boues résiduelles doivent être traitées et finalement mises en décharge (la première solution étant prioritairement recherchée).

Il a été indiqué plus haut que de très faibles concentrations métalliques en solution peuvent être obtenues si l'on utilise une masse suffisante de biosorbant (Cf. IV.4.3, b). La première condition peut donc être remplie.

Cependant, utiliser des masses importantes de biosorbant conduira à la production de masses accrues de boues résiduelles, et le coût global du traitement sera donc augmenté. Il convient donc de limiter les masses de biosorbant à utiliser.

D'autre part, si on souhaite recycler les métaux biosorbés, il est nécessaire d'obtenir des boues à fortes concentrations en métaux. Cet objectif va de paire avec le précédent car il est clair que plus les boues quittant le système seront chargées en métaux, moins il sera nécessaire d'en utiliser pour traiter un effluent donné.

Il apparaît donc que, pour être une technologie crédible, le procédé de biosorption doit atteindre le double objectif de :

- minimiser la concentration métallique dans la solution traitée
- "maximaliser" la concentration métallique dans les boues quittant le système.

Sur la base de ces considérations, il a été conçu et construit un système expérimental de laboratoire suivant le principe de circulation à contrecourant illustré par la Figure 8 ci-dessous :

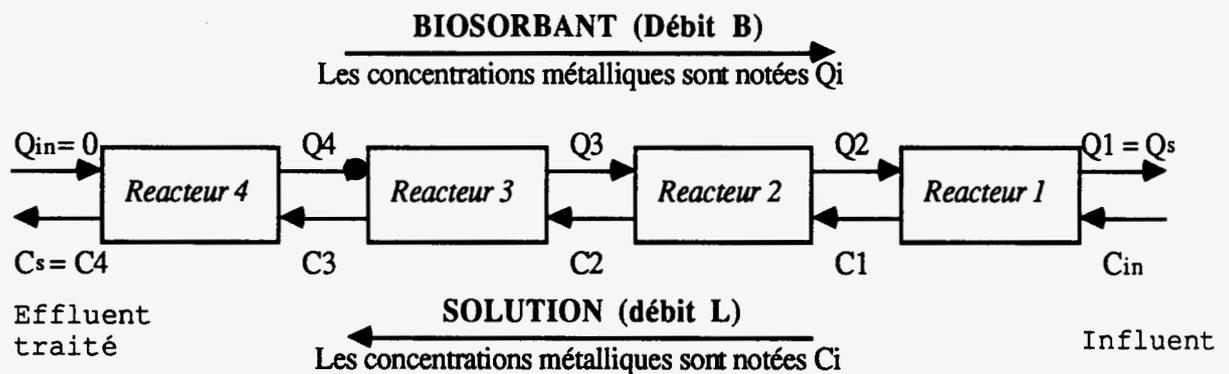


Fig. 8. Principe du système de biosorption à contrecourant

Suivant ce principe, l'effluent traité est en contact (dans le réacteur 4) avec du biosorbant "frais" avant de quitter le système. On minimise ainsi la concentration métallique en solution. Dans le même temps, les boues sont en contact (dans le réacteur 1) avec l'influent à traiter avant de quitter le système, ce qui permet de "maximaliser" la concentration métallique dans les boues résiduelles.

IV.6.2- Matériels et méthodes

Le montage expérimental du pilote de laboratoire est donné dans la Figure 9. Le système comprend 4 réacteurs en série notés R1 à R4, dans lesquels le biosorbant (boues de STEP) est mis en contact avec la solution métallique. Les réacteurs sont en polyéthylène et ont un volume de 1 litre. Préalablement à l'étude expérimentale, le réacteur a été rincé avec une solution de diméthyl-dichloro silane afin d'éviter l'adsorption du cation métallique sur les parois du réacteur et des tuyaux.

L'étude a été réalisée sur le plomb car c'est avec ce métal que les meilleurs résultats de biosorption ont été obtenus en erlens.

La boue utilisée comme biosorbant a été prélevée à la station d'épuration de Saint Fons dans le département du Rhône. Après transport au laboratoire, la boue est tamisée à 500 μm , aérée pendant au moins toute une nuit puis lavée comme indiqué en IV.1.2. On la laisse alors décanter pendant environ une heure, et on introduit les boues décantées dans le réservoir à boues du pilote où elles sont vigoureusement aérées en continu. Le pH des boues ainsi traitées est 6,7 et la teneur en matières en suspension 10 g/l. La solution métallique traitée est une solution de nitrate de plomb à 100 mg/l de Pb^{2+} dans NaCl à 5g/l, acidifiée à pH 4 par ajout d'acide nitrique (10 μl de HNO_3 70% par litre).

Le pilote expérimental est totalement automatisé. Il fonctionne à température ambiante sur le mode suivant :

Quarante ml de boues (contenant 400 mg de matières sèches) sont mélangés à 400 ml de solution métallique dans chacun des réacteurs (seule cette opération préliminaire est réalisée manuellement). Dans ces conditions, la concentration en biosorbant sec est donc d'environ 0,9 g/l dans chaque réacteur. L'agitation du milieu favorisant le contact entre le biosorbant et les ions Pb^{2+} est assurée par insufflation d'air. Le temps de contact est réglé à 1 h.

Après une heure, l'aération s'arrête pendant 1/2 h pour permettre aux boues de décanter. Puis les "électrovannes à boues" s'ouvrent simultanément, et les boues sont ainsi transférées par gravité de chaque réacteur dans le compartiment à boues placé au dessous de lui. La fermeture de chaque vanne est commandée par la sonde de niveau placée dans le compartiment à boues desservi. Suivant le même principe et dans le même temps, 40 ml de boues fraîches sont transférées par gravité depuis le réservoir à boues vers le compartiment à boues situé au dessus du réacteur R4.

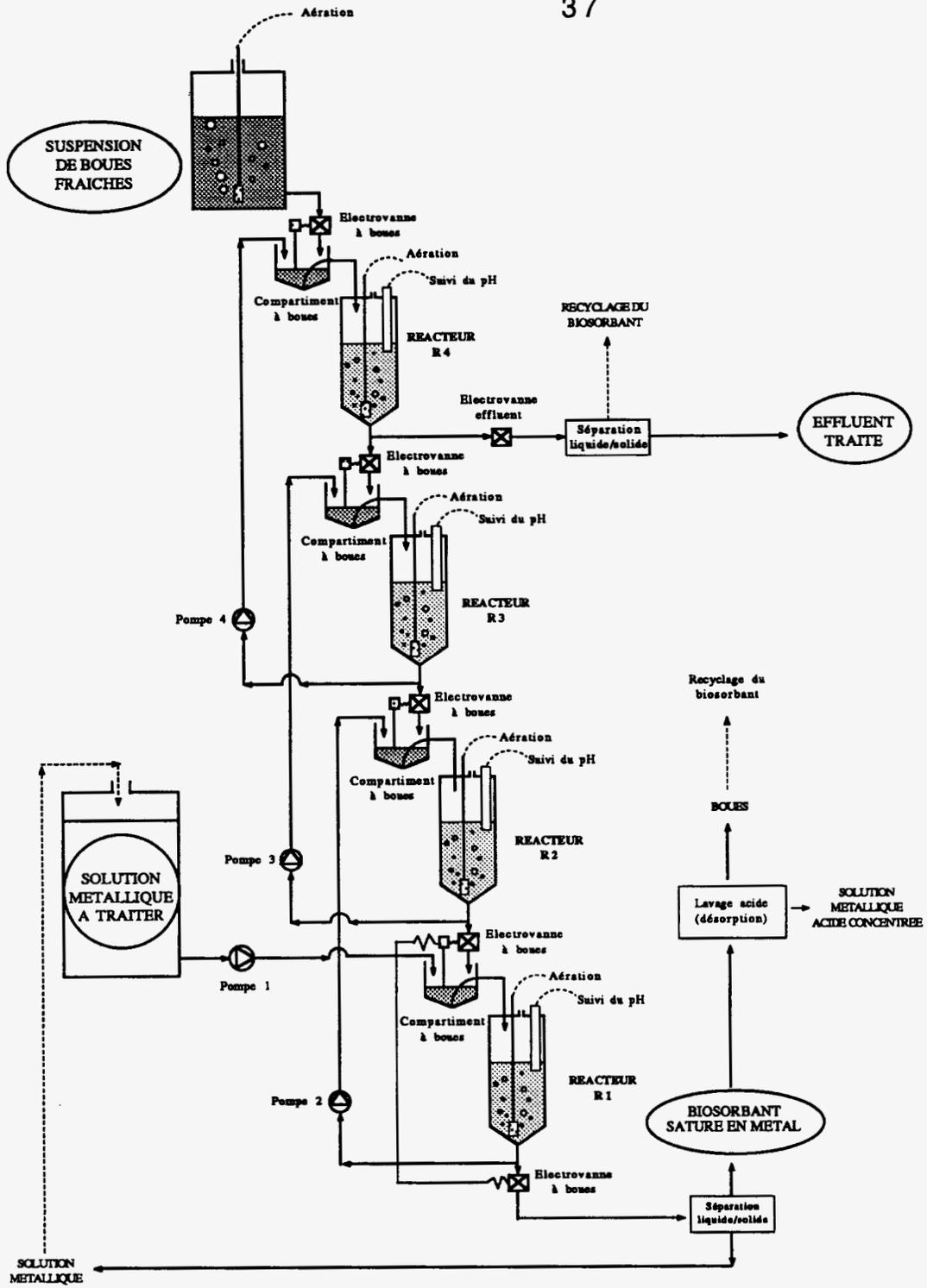


Fig. 9. Pilote expérimental de biosorption à contrecourant

L'effluent liquide traité est alors transféré, toujours par gravité, dans un décanteur secondaire destiné à éliminer les boues pouvant rester en suspension. Le transfert se fait par l'intermédiaire de "l'électrovanne-effluent" dont l'ouverture et la fermeture sont commandées par temporisation.

Lorsque le réacteur R4 est vide, l'électrovanne-effluent se ferme et la pompe 4 se met en marche pour transférer le contenu du réacteur R3 dans R4 par l'intermédiaire du compartiment à boues surplombant R4. De la sorte, la solution pompée depuis R3 se mélange aux boues fraîches. Le compartiment à boues se vide finalement par un système de siphon. La même opération est alors conduite successivement entre R2 et R3 et entre R1 et R2, puis 400 ml de solution métallique sont pompés du réservoir la contenant vers R1, via le compartiment à boues surplombant R1.

Enfin, l'aération se remet en fonction et un nouveau cycle est initié. Chaque cycle a une durée totale d'environ 95 min.

Le pH et le potentiel rédox sont suivis dans chaque réacteur. On considère qu'un état quasiment permanent est atteint en une dizaine de cycles. Après ces 10 premiers cycles, on continue le traitement pendant 12 cycles supplémentaires, au cours desquels on recueille toutes les entrées et sorties du système pour l'établissement d'un bilan.

IV.6.3- Résultats et discussion

Le Tableau 6 a été établi pour le dernier cycle réalisé. Il montre que le plomb est éliminé de la solution à 99,9%, ce qui prouve l'efficacité du traitement. La concentration en Pb^{2+} dans l'effluent traité est proche de la limite de potabilité (fixée à 0,05 mg/l), ce qui est un résultat très satisfaisant. Des concentrations encore plus faibles auraient sans doute pu être obtenues en augmentant la masse de boues utilisée à chaque cycle.

Le pH de l'effluent étant de 6,7, les bons résultats obtenus ne peuvent être imputés à la précipitation de $Pb(OH)_2$ compte tenu des faibles concentrations en Pb^{2+} .

Tableau 6. Elimination du plomb par biosorption à contrecourant, au dernier cycle de l'essai (cycle 22)

Paramètre	Réacteur				
	Influent	R1	R2	R3	R4
pH	4,0	5,1	6,0	6,7	6,7
E en mV	975	910	860	820	820
[Pb ²⁺] en mg/l	100	28	1,6	0,4	0,1

Bilan matière sur les douze cycles de régime quasi permanent :

Entrées : 0,48 l de boues fraîches, correspondant à 4,8 g de biosorbant sec,
4,8 l de solution métallique, contenant 0,48 g de Pb²⁺.

Sorties : 4,3 l d'effluent traité, à partir duquel 0,9 g de boues sèches ont été obtenues par décantation,
0,55 l de boues résiduelles, à partir desquelles 4,1 g de solides secs (180 g humides) ont été obtenus par décantation et séchage.

Bilan : Un volume d'environ 0,43 l d'eau manque au bilan, probablement perdu par évaporation compte tenu de la température ambiante lors de l'essai (proche de 30°C) et de l'aération des réacteurs.
Une masse d'environ 0,3 g de solides secs manque au bilan. Il s'agit probablement d'erreurs expérimentales et/ou d'autolyse des microorganismes en cours de traitement.

Analyse globale du procédé :

On a traité en 19 heures environ 5 litres (4,8) d'une solution de Pb²⁺ à 100 mg/l, en utilisant 4,8 g de boues sèches (0,48 l de suspension de boues), et on a obtenu dans l'effluent traité une concentration en Pb²⁺ de 0,1 mg/l.

Sur les 4,8 g de boues, seuls 3,9 g ont été réellement utilisés dans le système puisque 0,9 g ont été retirés avec l'effluent traité (à cause d'une décantation imparfaite dans le réacteur de biosorption). On peut donc calculer que chaque gramme de boues sèches a biosorbé environ 125 mg de plomb (480/3,9). Sur cette base, on peut estimer que les 4,1 g de boues résiduelles sèches contiennent environ 460 mg de plomb et 3,65 g de solides organiques (soit une teneur en plomb supérieure à 11%).

Ce bon résultat montre que la récupération du plomb à partir des boues résiduaire est envisageable. Cependant, un calcul réalisé en utilisant les paramètres de biosorption déterminés précédemment (Tableau 4) montre que chaque gramme de boues auraient dû adsorber environ 280 mg de plomb ($C_e = 28$ mg/l et $pH = 5,1$ dans R1). Il y a donc une discordance notable entre la prédiction du modèle et les résultats obtenus dans le procédé à contrecourant. On peut penser que la forte concentration en boues est la cause de l'écart observé, mais d'autres essais sont bien évidemment nécessaires.

Le Tableau 6 montre que le pH passe de 4,0 dans la solution métallique de départ (influent) à 6,7 dans l'effluent traité. Ce phénomène, dont l'effet est très bénéfique puisqu'il augmente la capacité de biosorption des boues, est exclusivement dû à l'addition de la suspension de boues (dont le pH est 6,7). Dans le cas d'autres métaux tels que le cuivre ou le chrome(III), cette propriété des boues aurait entraîné la précipitation des hydroxydes. Cela résulterait alors en un mécanisme combiné biosorption/précipitation se traduisant par une première étape de biosorption (dans les premiers réacteurs, où le pH reste faible) suivie de la précipitation des hydroxydes (dans les derniers réacteurs où le pH est plus élevé). Contrairement aux techniques classiques de précipitation des hydroxydes, la précipitation se ferait sans ajout de soude ni de chaux. D'autre part, une grande partie des cations métalliques serait d'abord éliminée par biosorption, et le volume de boues d'hydroxydes serait ainsi réduit.

L'un des avantages potentiels du procédé de biosorption à contrecourant sur boues de STEP est qu'il rend possible le traitement d'effluents contenant à la fois des contaminants métalliques et organiques. En effet, les boues sont utilisées vivantes dans ce procédé (contrairement, par exemple, aux procédés américains Algasorb et Biofix). De part les très faibles concentrations métalliques que le procédé permet d'atteindre, les boues conservent leur capacité à dégrader une grande variété de polluants organiques (au moins dans le ou les derniers réacteurs). On dispose ainsi d'un système dans lequel les microorganismes des boues dégraderaient en premier lieu les contaminants organiques, puis concentreraient les cations métalliques par biosorption. Il est envisagé de poursuivre des travaux dans cette optique à l'INSA.

V- **BIOSORPTION DE Cd(II), Pb(II), Cr(III) ET Cu(II) SUR BOUES DE STEP IMMOBILISEES**

V.1- Matériels et méthodes

Ce travail a été réalisé entièrement au NJIT. La boue utilisée a été prélevée à la station d'épuration municipale de Parsippany dans le New Jersey. Les procédures expérimentales générales sont décrites en IV.1. Les protocoles suivis pour l'immobilisation des boues et les expériences de biosorption sont détaillées ci-dessous.

V.1.1- Immobilisation

La procédure a été décrite en détail dans le cadre d'une précédente étude²¹. Les boues sont traitées comme indiqué en IV.1.2, puis centrifugées. Les culots sont resuspendus dans une solution d'alginate de sodium à 2,55% et de NaCl à 0,5%, sur la base de 35 ml de culot pour 50 ml de solution. L'alginate utilisé est extrait de *Macrocystis pyrifera* et commercialisé par Sigma. La suspension est homogénéisée puis extrudée sous forme de gouttes dans une solution de chlorure de calcium 0,1 M agitée doucement. L'alginate de sodium réticule sous forme d'un gel d'alginate de calcium dès que les gouttes atteignent la solution de CaCl₂, et on obtient des billes à peu près sphériques de 3 à 4 mm de diamètre qui sont désignées sous le terme de biobilles dans ce rapport. On laisse les billes durcir pendant 24 h à 4°C dans la solution de CaCl₂ 0,1M avant de les utiliser.

Dans la présente étude, la teneur en matières sèches des biobilles était d'environ 60 mg par gramme de billes humides, ce qui correspond à 25-30 mg de boues et 30-35 mg d'alginate de calcium par gramme de biobilles humides.

Des billes de contrôle ont été préparées suivant la même procédure en remplaçant les boues par un même volume de solution de NaCl à 0,5%. La teneur en matières sèches des billes obtenues est de 30 à 35 mg par gramme de billes humides.

Les biobilles et les billes de contrôle sont conservées à 4°C dans une solution de CaCl₂ 0,1M. Avant toute utilisation, elles sont rincées abondamment à l'eau du robinet puis à l'eau distillée, puis égouttées pendant quelques minutes sur une feuille de papier filtre.

V.1.2- Expériences de biosorption

L'étude est réalisée à l'aide de trois réacteurs en plexiglass dont l'assemblage est décrit en Figure 10. Chaque réacteur est constitué d'un corps cylindrique dans lequel sont introduites les billes, d'un réservoir dans lequel on insuffle de l'air en continu et on suit le pH, et enfin d'une pompe permettant de recirculer la solution métallique au travers de la colonne de billes à un débit constant de 150 ml/min.

Les billes sont maintenues en place à l'intérieur du corps cylindrique du réacteur entre trois grilles en plastique. Le volume occupé par le lit de billes est d'environ 105 ml par réacteur, avec une porosité de 0,28 à 0,35, ce qui correspond à 70 grammes de billes humides (soit environ 4,2 g de biobilles sèches ou 2,2 g de billes de contrôle sèches). Ces paramètres sont déterminés avec précision à chaque expérience. Le volume réactionnel dans le système (liquide libre + volume des billes considérées comme un milieu liquide) est fixé à 0,500 l.

Toutes les expériences sont faites à température ambiante (25 à 30°C).

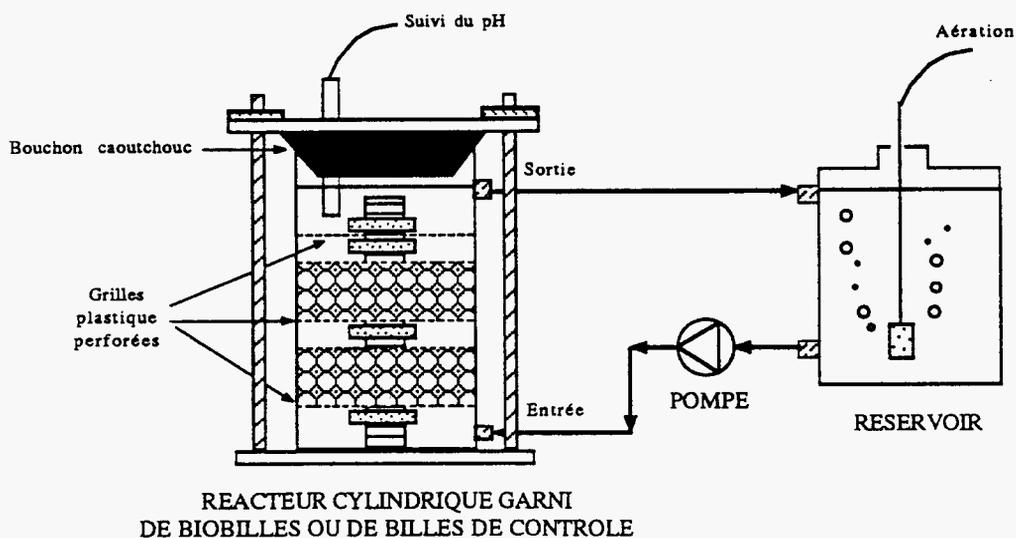


Fig. 10. Schéma des réacteurs utilisés pour l'étude de la biosorption par boues immobilisées

V.2- Cinétique de biosorption sur biobilles

V.2.1- Procédure expérimentale

L'étude a été réalisée uniquement pour le cadmium. En se basant sur les résultats obtenus en biomasse libre (Cf. IV.2.2), on a considéré que la cinétique de biosorption obtenue pour le cadmium serait représentative de celle des autres métaux.

Les réacteurs expérimentaux sont tout d'abord remplis d'une solution de NaCl à 0,5%, jusqu'à obtenir un volume réactionnel de 500 ml. Puis cette solution est recirculée dans le réacteur pendant une heure, et on ajuste le pH aux environs de 6,0. Après une dizaine de minutes, on prélève 5,0 ou 12,5 ml de solution dans le réservoir, et au temps 0 on ajoute dans le réservoir le même volume d'une solution de Cd^{2+} (sous la forme de CdCl_2) à 1000 mg/l. La concentration initiale en Cd^{2+} est donc de 10 ou 25 mg/l.

Le pH est suivi en continu et ajusté à 6,6 lorsque nécessaire avec HCl 6N.

Des échantillons de 2 ou 5 ml sont prélevés depuis le réservoir aux temps 0,5 ; 1 ; 2 ; 4 ; 20 et 24 heures, immédiatement filtrés à 0,45 μm , et analysés.

V.2.2- Résultats et discussion

La Figure 11 montre que la biosorption du cadmium sur les biobilles est beaucoup moins rapide que sur les boues en suspension (Cf. Fig. 1).

Avec les biobilles, il faut environ 10 h pour atteindre l'équilibre de biosorption, alors qu'en biomasse libre une dizaine de minutes suffisent. On peut donc considérer que la vitesse d'approche de l'équilibre est environ 60 fois supérieure en biomasse libre.

Ce résultat suggère que la vitesse de biosorption du cadmium par les biobilles est limitée par la diffusion des ions Cd^{2+} au travers du gel. Bien qu'il ait été reporté par Tanaka *et al.*²² qu'aucun frein diffusionnel ne soit observé dans les billes d'alginate de calcium pour des substrats de masse moléculaire inférieure à 20000 D, les résultats publiés par ces auteurs pourraient ne pas s'appliquer aux corps ionisés tels que les cations métalliques.

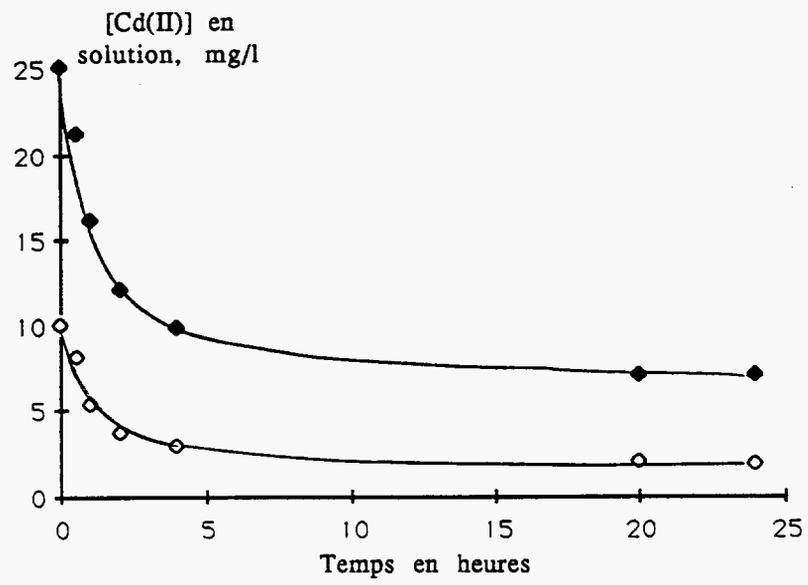


Fig. 11. Cinétique de biosorption du cadmium par les biobilles à pH 6,6 et 25-30°C.

V.3- Détermination des paramètres de biosorption

V.3.1- Procédure expérimentale

La biosorption sur biobilles de chacun des cations métalliques a été étudiée à différents pH en deçà des seuils de précipitation des hydroxydes. La biosorption sur billes de contrôle a également été suivie au moins au pH le plus élevé pour chaque cation.

Les expériences sont réalisées sur une période d'au moins une semaine, au cours de laquelle le pH est périodiquement ajusté à la valeur choisie par addition de solutions de HCl ou de HNO₃ 6 M. Tous les jours, on prélève un certain volume dans les réservoirs (en général 5 ou 10 ml), que l'on remplace par un même volume de solution à 1000 mg/l en cation métallique. On détermine la concentration C_e en cation métallique dans l'échantillon après filtration à 0,45 μm .

On calcule la masse Q_e de métal biosorbé par gramme de biosorbant sec. On peut ainsi tracer les isothermes $Q_e = f(C_e)$ et linéariser en $\text{Ln}(Q_e) = f[\text{Ln}(C_e)]$ pour calculer par régression linéaire les paramètres de biosorption de l'équation de Freundlich.

V.3.2- Résultats et discussion

Les isothermes de biosorption sont donnés à la Figure 12 de la page suivante. On voit qu'ils sont tous de forme "L", ce qui indique que le modèle de Freundlich peut s'appliquer comme dans le cas de l'étude en biomasse libre.

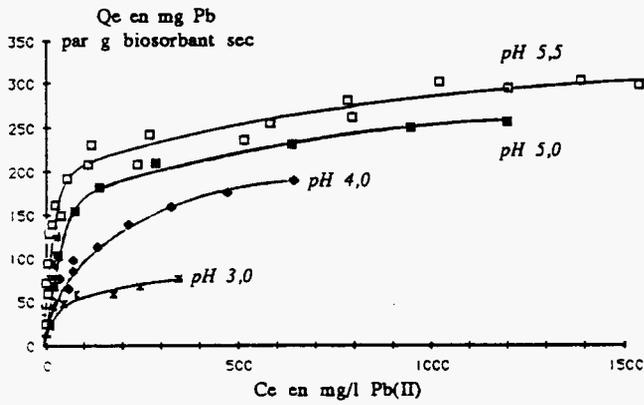
En comparant la Fig. 12 et la Fig. 2f qui montre les isothermes de biosorption obtenus en biomasse libre, on peut faire les commentaires suivants :

1- Dans le cas du plomb à pH 5,5, la capacité de biosorption des biobilles est inférieure de 25% environ à celle des boues libres. A pH 4,0 par contre, les deux biosorbants ont à peu près la même capacité de biosorption.

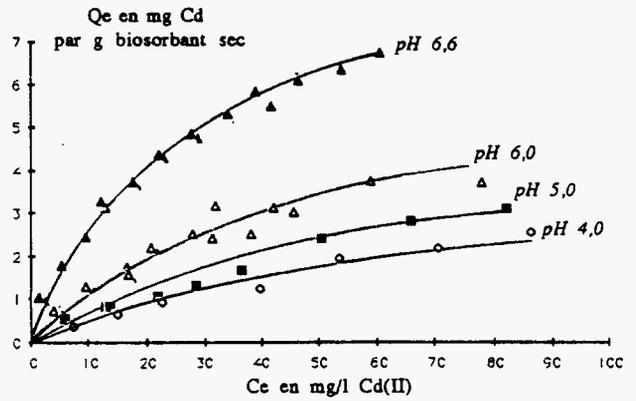
2- Dans le cas du cadmium, les biobilles ont une capacité de biosorption nettement inférieure à celle des boues libres. Par contre, le phénomène inverse est observé pour le chrome(III). En ce qui concerne le cuivre, les deux biosorbants ont approximativement la même capacité de biosorption. Ces observations qualitatives sont confirmées par le calcul des paramètres de biosorption, comme cela est détaillé ci-dessous.

3- La forme particulière de biosorption du chrome(III) sur boues libres n'est pas observée avec les biobilles.

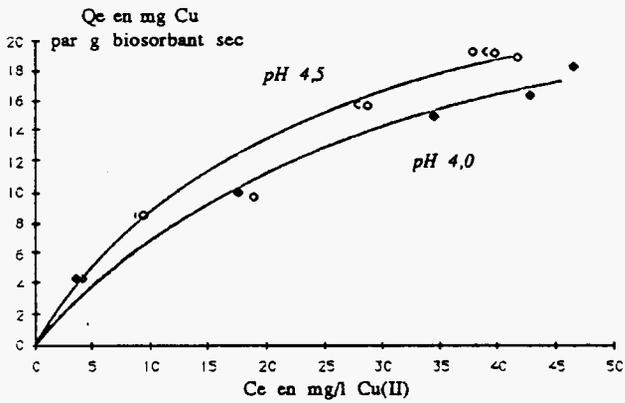
PLOMB (II)



CADMIUM (II)



CUIVRE (II)



CHROME (III)

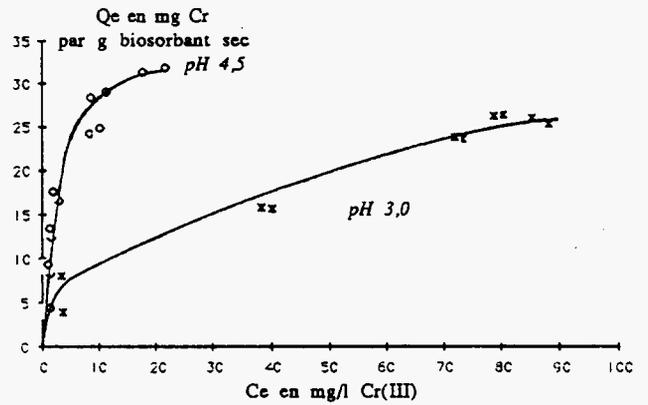


Fig. 12. Isothermes de biosorption de Pb(II), Cd(II), Cu(II) et Cr(III) sur biobilles à 25-30°C

De la même façon que dans le cas de la biosorption sur boues libres, les isothermes de biosorption peuvent être linéarisés suivant le modèle de Freundlich :

$$\text{Ln}(Q_e) = n \text{Ln}(C_e) + \text{Ln}(K) \quad \text{où } K \text{ et } n \text{ sont les paramètres de biosorption.}$$

La Figure 13 ci-dessous montre les linéarisations obtenues pour chaque cation métallique au pH le plus élevé, et donne les valeurs des paramètres K et n calculées par régressions linéaires des points expérimentaux.

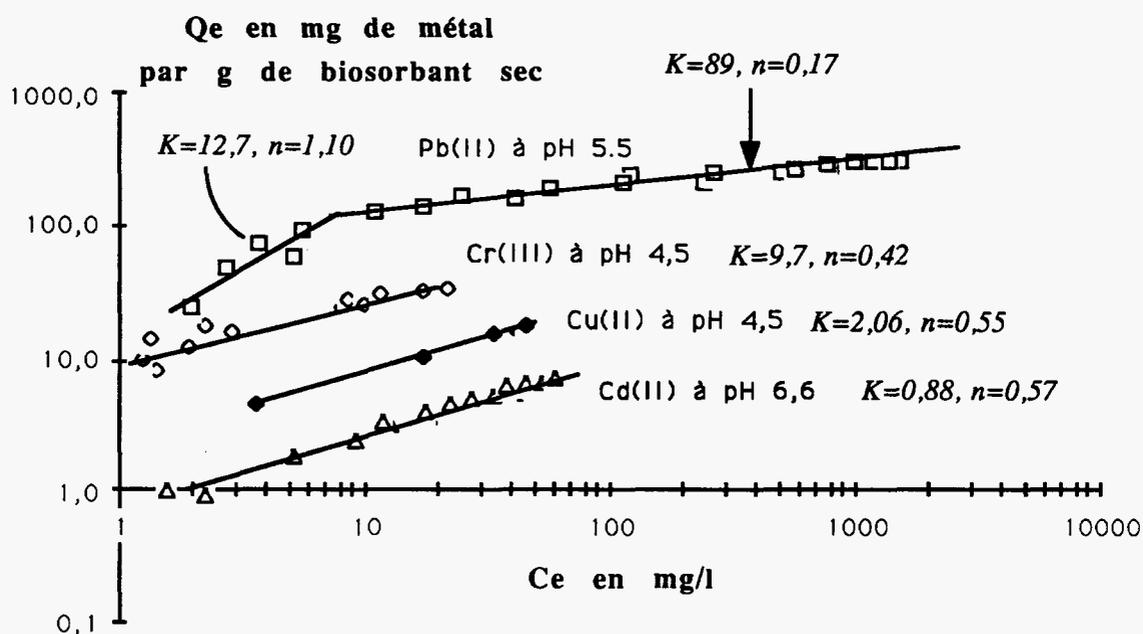


Fig. 13. Linéarisation suivant le modèle de Freundlich des isothermes de biosorption de Pb(II), Cd(II), Cu(II) et Cr(III) par des biobilles utilisées en colonnes à 25-30°C.

Dans le cas du plomb, on voit que la linéarisation de l'isotherme conduit à deux segments de droite, ce qui indique probablement l'existence d'un niveau de saturation, comme cela avait été observé avec les boues libres en suspension (Cf. Fig. 3b).

Cependant, le processus de biosorption sur biobilles est plus complexe que sur boues libres car la matrice d'alginate qui constitue le gel peut adsorber des cations métalliques, tout comme les microorganismes eux-mêmes emprisonnés dans la matrice. Il est donc possible que les deux segments de droites obtenus reflètent en partie cette dualité du processus de biosorption. Les paramètres de biosorption ont été calculés pour chaque segment de droite comme indiqué sur la Fig. 13.

Les paramètres K et n donnés dans la figure pour les quatre métaux peuvent être comparés aux valeurs calculées pour la biosorption de ces métaux sur boues libres (Tableau 4).

La comparaison montre tout d'abord que la biosorption du Cr(III) est bien meilleure sur biobilles ($K = 9,7$ à pH 4,5) que sur boues libres ($K = 0,66$ au même pH). Ce phénomène peut trouver une explication dans la Figure 14 qui compare la biosorption de chaque métal sur biobilles et sur billes de contrôle (lesquelles contiennent la même masse d'alginate de calcium, mais pas de boues).

On voit sur cette figure que, à l'exception de la biosorption du cadmium, les billes de contrôle sont plus efficaces que les biobilles. Dans le cas du Cr(III), la capacité de biosorption des billes de contrôle est plus du double de celle des biobilles. Les meilleurs résultats obtenus pour la biosorption de Cr(III) sur biobilles par rapport aux boues libres s'expliquent donc par l'adsorption du Cr(III) sur le gel d'alginate de calcium.

Par contre, la Fig. 14 montre que la biosorption du cadmium est meilleure sur biobilles que sur billes de contrôle. Cela signifie que les microorganismes des boues ont une meilleure affinité pour le cadmium que l'alginate de calcium, ce qui est confirmé par l'étude de la biosorption de Cd(II) sur boues libres (Cf. Fig. 2a).

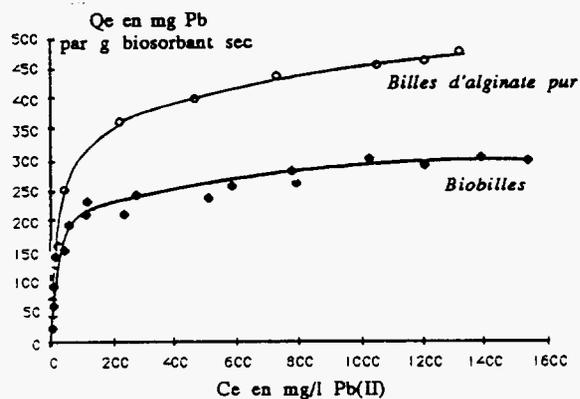
Si l'on compare globalement les capacités de biosorption des boues libres (Fig. 2f) et du gel d'alginate de calcium (billes de contrôle, Fig. 14), on voit que les deux biosorbants donnent des résultats similaires pour le plomb et le cuivre. Par contre, les boues libres donnent de meilleurs résultats pour Cd(II), et le gel d'alginate est plus efficace que les boues pour la biosorption de Cr(III).

Les réacteurs en colonnes garnies de billes (que ce soient des biobilles ou des billes d'alginate pures) sont d'emploi bien plus simple que les boues de STEP utilisées en suspension, ce qui est un avantage important. Cependant, les boues libres ont deux avantages non négligeables :

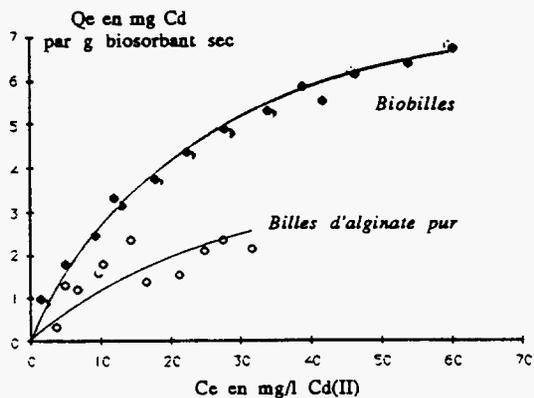
- leur coût est moins élevé que celui de l'alginate,
- la cinétique de biosorption est environ 60 fois plus rapide sur les boues libres que sur les billes.

Enfin, comme cela a déjà été mentionné, l'utilisation de microorganismes vivants (sous forme de boues libres ou immobilisées en billes d'alginate) rend possible le traitement d'effluents contenant polluants métalliques et organiques.

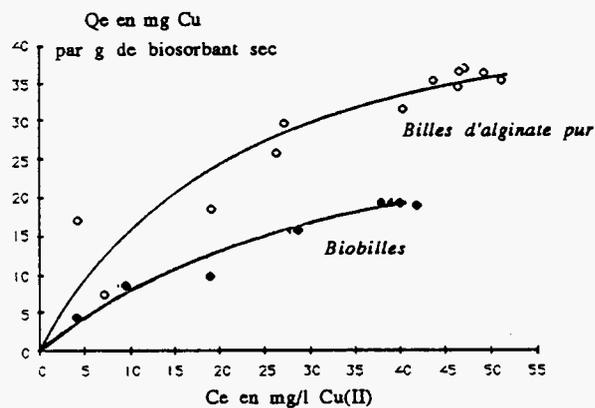
PLOMB (II) A pH 5,5



CADMIUM (II) A pH 6,6



CUIVRE (II) A pH 4,5



CHROME (III) A pH 4,5

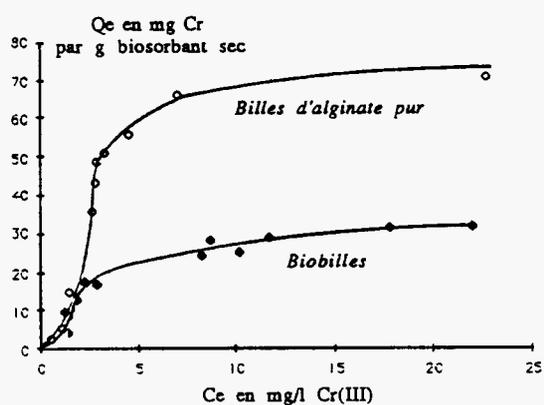


Fig. 14. Isothermes de biosorption de Pb(II), Cd(II), Cu(II) et Cr(III) sur biobilles et billes de contrôle à 25-30°C

V.4- Optimisation de la biosorption

V.4.1- Matériels et méthodes

L'étude a été réalisée sur le plomb en utilisant une cascade de 3 réacteurs en série, chaque réacteur étant constitué comme l'indique la Figure 10. La solution métallique traitée est une solution aqueuse de nitrate de plomb dans NaCl 0,5%, contenant 300 mg/l de Pb^{2+} .

Un volume total de 1300 ml de solution métallique a été traité dans le système. Ce volume est le triple du volume de solution traité dans chaque réacteur à chaque cycle. Le traitement est réalisé à pH 5,5 et à température ambiante. Chaque corps de réacteur est garni de 70 g de biobilles humides, correspondant à 4,2 g de matières sèches qui se répartissent en 2 g de boues immobilisées dans 2,2 g d'alginate de calcium.

Le temps de contact de la solution métallique dans chaque réacteur a été fixé à 4 heures pour raccourcir la durée du traitement. Conformément à l'étude cinétique (Fig. 11), on peut considérer que cela résulte en une perte d'environ 20% en capacité de biosorption par rapport à un cycle de 24 h qui permettrait d'atteindre l'équilibre de biosorption.

La solution métallique est divisée en trois volumes d'environ 430 ml (correspondant au volume de liquide libre dans chaque réacteur pour un volume réactionnel de 500 ml), qui sont traités successivement dans chacun des réacteurs. On effectue donc trois cycles par réacteur, en contrôlant avec soin le pH à 5,5.

V.4.2- Résultats

La solution traitée a été analysée en fin d'expérience. La concentration en Pb^{2+} s'est avérée être inférieure à la limite de détection du spectrophotomètre d'absorption atomique utilisé, et la solution a dû être concentrée par évaporation pour être à nouveau analysée.

On a ainsi mesuré une concentration en Pb^{2+} de 0,04 mg/l (soit 40 ppb) dans la solution traitée. Ce résultat est très satisfaisant puisqu'il est inférieur à la limite de potabilité fixée à 0,05 mg/l pour le plomb. Le procédé utilisé permet donc d'atteindre cet objectif à partir d'une solution à 300 mg/l de Pb^{2+} .

La masse de plomb retenue par les biobilles est (en négligeant la masse de plomb dans la solution traitée) : $0,3 \text{ (g/l)} \times 1,3 \text{ (litres)} = 0,39 \text{ g}$.

Ce résultat est obtenu avec une masse sèche de biobilles de : $3 \times 4,2 = 12,6$ g. On peut donc calculer que la concentration moyenne en plomb dans les billes est proche de 31 mg / g de billes sèches. Si l'on se réfère à l'isotherme de biosorption du plomb par les biobilles à pH 5,5 (Fig. 12) ou encore à sa linéarisation (Fig. 13), on voit qu'on est encore loin du seuil de saturation des biobilles. Par conséquent, le système expérimental est encore capable de traiter des volumes bien supérieurs de solution métallique à 300 mg/l en Pb^{2+} .

Les résultats obtenus ici, au même titre que ceux obtenus en IV.6 sur boues libres, sont très satisfaisants car ils montrent qu'il est possible d'atteindre des objectifs de traitement inférieurs aux normes de rejet des effluents métalliques.

D'autre part, aux faibles concentrations métalliques atteintes, il est clair que l'activité métabolique des microorganismes utilisés ne sera pas inhibée par les cations métalliques. Ainsi, les microorganismes seraient capables de dégrader d'éventuels polluants organiques pouvant être présents dans la solution à traiter. Rappelons que les microorganismes des boues de STEP sont (après acclimatation éventuelle) d'une très grande versatilité, et que de nombreuses études ont montré qu'ils sont capables de dégrader des polluants organiques très divers et réputés toxiques^{18, 21}. Il s'agit là d'un avantage potentiellement important du procédé étudié par rapport aux technologies classiques d'élimination des métaux lourds et aux nouvelles techniques de biosorption sur biomasse morte.

VI- PHASE DE CONCENTRATION : ETUDE DE FAISABILITE

La phase de concentration est conçue comme une éventuelle étape intermédiaire entre les phases de biosorption et de desorption-recyclage. Son but est d'augmenter la teneur en métal(aux) dans le biosorbant quittant la phase de biosorption, afin de rendre, si nécessaire, la phase de récupération des métaux économiquement et techniquement faisable.

L'approche suivie consiste à biodégrader par voie anaérobie le biosorbant organique en méthane et dioxyde de carbone, afin d'aboutir à des solides à teneur accrue en métaux.

La toxicité des métaux vis à vis de la plupart des microorganismes anaérobies et aérobie est bien connue, mais l'étude de faisabilité se justifie par les observations suivantes :

- Les métaux biosorbés se trouvent associés à la phase solide à dégrader, ce qui devrait protéger les microorganismes anaérobies de leur toxicité.

- Dans des conditions d'anaérobiose, les cations métalliques qui pourraient passer en solution par suite de la dégradation du biosorbant devraient précipiter sous forme d'hydroxydes ou de sulfures (les sulfures sont produits par réduction des sulfates que réalisent les bactéries anaérobies sulfato-réductrices ; il existe d'ailleurs un brevet reposant sur ce principe).

VI.1- Matériels et méthodes

VI.1.1- Préparation de la culture bactérienne anaérobie

L'inoculum de départ a été prélevé au digesteur anaérobie municipal de Livingston (New Jersey). Il s'agit d'une boue contenant environ 10 à 15% de matières en suspension.

L'inoculum est rapidement transporté au laboratoire dans un récipient profond étanche à l'air. Dès réception, on le mélange volume à volume avec un milieu nutritif I constitué de : glucose 3 g/l ; extrait de levure 1 g/l ; peptone 0,5 g/l ; alginate de sodium de faible viscosité 1 g/l ; NH_4Cl 0,3 g/l ; $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0,27 g/l ; $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,04 g/l ; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,015 g/l ; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,005 g/l ; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,01 g/l ; $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,005 g/l ; eau du robinet, 1 litre. Le pH du mélange est de $7,4 \pm 0,2$. Il faut noter que le milieu nutritif contient de l'alginate de sodium dans le but d'adapter la culture microbienne à la dégradation de ce substrat.

Pour éviter la contamination à l'oxygène, on fait buller vigoureusement un courant d'azote dans le milieu en cours de mélange. Puis on transfère le milieu dans un digesteur en verre de un litre, on continue à faire buller de l'azote pendant 15 min pour chasser l'oxygène dissout, et on ferme le réacteur de façon étanche.

Le digesteur possède une double enveloppe en verre permettant de thermostatier le milieu. On travaille à $35,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$. Le digesteur est agité manuellement au moins deux fois par jour, et une pompe permet de recirculer le milieu en circuit fermé si on le désire. On suit en continu la production de biogaz et le pH, lequel est ajusté à $7,5 \pm 0,1$ lorsque nécessaire.

Tous les 15 jours, on retire après homogénéisation 1/5ème du volume en cours de digestion, que l'on remplace par un même volume d'un nouveau milieu nutritif II contenant les mêmes composés que le milieu I mais à concentrations 10 fois plus élevées. Dans ces conditions, la concentration en carbone organique dissout du digestat est inférieure à 500 mg/l à la fin de chaque cycle de 2 semaines.

Après 10 semaines de digestion (5 cycles), la culture bactérienne ainsi préparée est prête à servir d'inoculum pour les expériences de biodégradation anaérobie.

VI.1.2- Préparation des biobilles contaminées en métaux

Les biobilles, préparées comme indiqué en V.1, sont contaminées en plomb ou en cadmium en les agitant doucement pendant 24 h dans une solution de nitrate de plomb à pH 5,5 ou de chlorure de cadmium à pH 6,6. Puis on récupère les billes sur une passoire et on les égoutte quelques minutes en les étalant sur un papier filtre absorbant avant de les utiliser.

Les teneurs en plomb ou en cadmium des biobilles ainsi préparées sont :

240 mg Pb / g de biobilles sèches

7,2 mg Cd / g de biobilles sèches

VI.1.3- Expériences de biodégradation anaérobie

La procédure générale a été décrite à l'occasion d'une étude précédente²³.

Le milieu d'incubation dans lequel sont effectuées les études de biodégradation est préparé en diluant sous courant d'azote un volume de culture bactérienne (obtenue comme indiqué en VI.1.1) par trois volumes de milieu nutritif minéral. Ce milieu minéral est composé de : NH_4Cl

1,2 g/l ; $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 1,11 g/l ; $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ 0,17 g/l ; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0,06 g/l ; $MnSO_4 \cdot H_2O$ 0,02 g/l ; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,04 g/l ; $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 0,02 g/l ; eau du robinet 1 litre. Des traces d'extraits de levure et de viande sont également ajoutées pour fournir des vitamines et facteurs de croissance. Le pH du milieu d'incubation obtenu est $7,4 \pm 0,2$.

Dans le même temps, on introduit les substrats organiques à étudier dans des séries de flacons pénicilline de 100 ml. Les substrats sont introduits sous leur forme humide, sur la base de 0,5 g de matières sèches par flacon. On utilise une série de 6 flacons pour chacun des substrats testés. Les substrats en question sont les suivants :

- Biobilles non contaminées
- Biobilles contaminées en Cd (7,2 mg Cd / g biobilles sèches)
- Biobilles contaminées en Pb (240 mg Pb / g biobilles sèches)
- Billes de contrôle non contaminées (résultats non rapportés ici)
- Boues de STEP non contaminées (résultats non rapportés ici).

Une fois les substrats dans les flacons, on introduit 40 ml de milieu d'incubation par flacon, et on purge les flacons remplis pendant 15 minutes sous courant d'azote. Les flacons sont ensuite fermés et scellés, agités vigoureusement et mis à incuber à 35°C. On les agite par la suite deux fois par jour.

Dans le même temps, on suit une série de blancs dans lesquels on n'ajoute pas de substrat organique. On teste également l'activité de la culture bactérienne en suivant la dégradation d'un substrat témoin, en l'occurrence du dextrose (résultats non rapportés ici).

On suit périodiquement la production gazeuse de tous les flacons à l'aide de seringues en verre adaptées. Les expériences de digestion sont conduites sur une période de 70 jours, sur la base de résultats obtenus par ailleurs²³. On contrôle le pH en ouvrant un flacon dans chaque série tous les 20 jours environ. La teneur en CO_2 et CH_4 du biogaz est analysée dans les flacons restant à la fin des 70 jours.

VI.2- Principaux résultats et discussion

Les principaux résultats obtenus sont illustrés par la Figure 15 qui donne les productions gazeuses cumulées recueillies pour chaque substrat en fonction du temps d'incubation.

La production de biogaz par les blancs, très faible, est due à l'autolyse des microorganismes de l'inoculum, induite par l'absence de substrat organique dans le milieu.

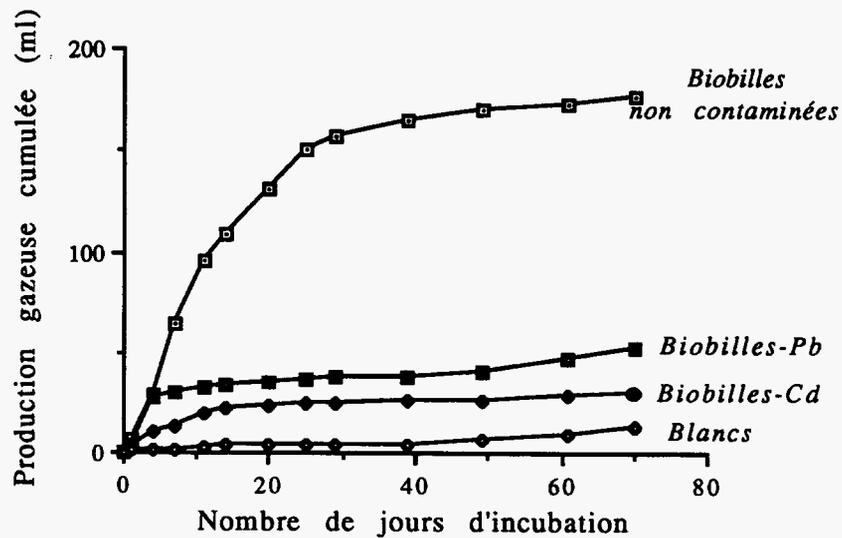


Fig. 15. Production de biogaz par digestion anaérobie des biobilles en présence ou non de métaux biosorbés. La température d'incubation est $35,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$.

On constate que la production de biogaz à partir des biobilles contaminées est très fortement réduite par rapport aux billes non contaminées. On observe des réductions de 83% et 70% de la production gazeuse en présence de cadmium ou de plomb respectivement. Ces résultats montrent que la dégradation anaérobie des biobilles est fortement inhibée par la présence des métaux biosorbés.

Pourtant, conformément aux prédictions théoriques, on s'aperçoit expérimentalement que les concentrations en métaux en solution (mesurées après filtration à $0,45 \mu\text{m}$) restent très faibles même en fin de digestion, comme le montre le Tableau 7 ci-dessous. L'inhibition constatée apparaît donc surprenante compte tenu de ces résultats.

Tableau 7. Effet du cadmium et du plomb biosorbés sur la digestion anaérobie des biobilles

Substrat	Production gazeuse cumulée en ml	%CH ₄	%CO ₂	pH final	[Cd ²⁺] finale en solution (mg/l)*	[Pb ²⁺] finale en solution (mg/l)*
Biobilles non contaminées	177	61	39	7,0	0,0	0,0
Biobilles contaminées en Cd	30	62	38	6,3	0,1	0,0
Biobilles contaminées en Pb	53	71	29	6,7	0,0	2,0

* Après filtration à $0,45 \mu\text{m}$

Une explication de ce phénomène pourrait être la suivante. La dégradation de substrats solides nécessite un contact intime entre les microorganismes impliqués ou leurs enzymes hydrolytiques et le substrat. La phase initiale du contact est souvent l'adsorption des microorganismes ou des enzymes à l'interface liquide/solide. De part la présence des métaux déjà biosorbés, il est possible que cette phase du contact ait été empêchée, ou que les enzymes aient été inhibés au contact des métaux.

VI.3- Conclusions

Les résultats présentés ici montrent que la phase de concentration, telle que conçue dans ce programme, n'est pas réalisable. En conséquence, son étude a été abandonnée à ce stade.

Il apparaît donc que l'ultime phase du procédé, à savoir la désorption des métaux dans le but de les récupérer pour pouvoir les recycler, ne sera techniquement et économiquement faisable que dans le cas des métaux pour lesquels le biosorbant a une affinité suffisante. Il s'agit du plomb, du cuivre et, pour les biobilles, du chrome (III).

VII- PHASE DE RECUPERATION PAR DESORPTION : ETUDE DE FAISABILITE

L'objectif de cette partie du travail est d'évaluer la faisabilité de la récupération des métaux par désorption à l'aide de solutions acides. Le plomb a été sélectionné comme métal modèle pour cette étude. Certains essais ont également été faits sur le cadmium (résultats non rapportés ici). L'étude ayant été réalisée au NJIT, ce sont les biobilles qui ont été utilisées comme biosorbant. Les résultats obtenus sont certainement applicables aux boues de STEP.

VII.1- Matériels et méthodes

VII.1.1- Préparation des biobilles contaminées en plomb

On opère suivant la procédure générale donnée en VI.1.2. La concentration en plomb dans les billes est ici de 150 mg Pb par gramme de biobilles sèches.

VII.1.2- Expériences de désorption

Chaque expérience est réalisée sur un échantillon de biobilles contaminées correspondant à une masse sèche de 200 mg. Les billes sont introduites dans une colonne en verre de 1 cm de diamètre intérieur, sur une hauteur d'environ 6 cm. La colonne est ensuite éluée à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique ou d'acide nitrique, dans des conditions de gradient exponentiel de concentration acide partant de 0,0 M (H₂O pure) pour monter à 0,1 M, 1,0 M, ou 5,0 M suivant les cas. On récupère des fractions aliquotes en sortie de colonne, dans lesquelles les concentrations en acide et en Pb²⁺ sont mesurées.

VII.2- Résultats et discussion

La Figure 16 donne pour chaque expérience le pourcentage de plomb récupéré dans chaque fraction en fonction de la concentration acide mesurée dans la même fraction.

On voit que le plomb est aisément élué des billes, ce qui prouve que les solutions acides utilisées sont de bons agents de désorption. Les protons apportés par l'acide déplacent les cations métalliques adsorbés, ce qui permet de récupérer les métaux en solution dans l'éluat.

La majeure fraction est éluée à des concentrations acides relativement faibles comprises entre 0,02 et 0,05M. La récupération du plomb par lavage acide du biosorbant s'avère donc être une technique crédible puisqu'elle ne nécessite pas l'emploi d'acides trop concentrés.

ACIDE NITRIQUE

ACIDE CHLORHYDRIQUE

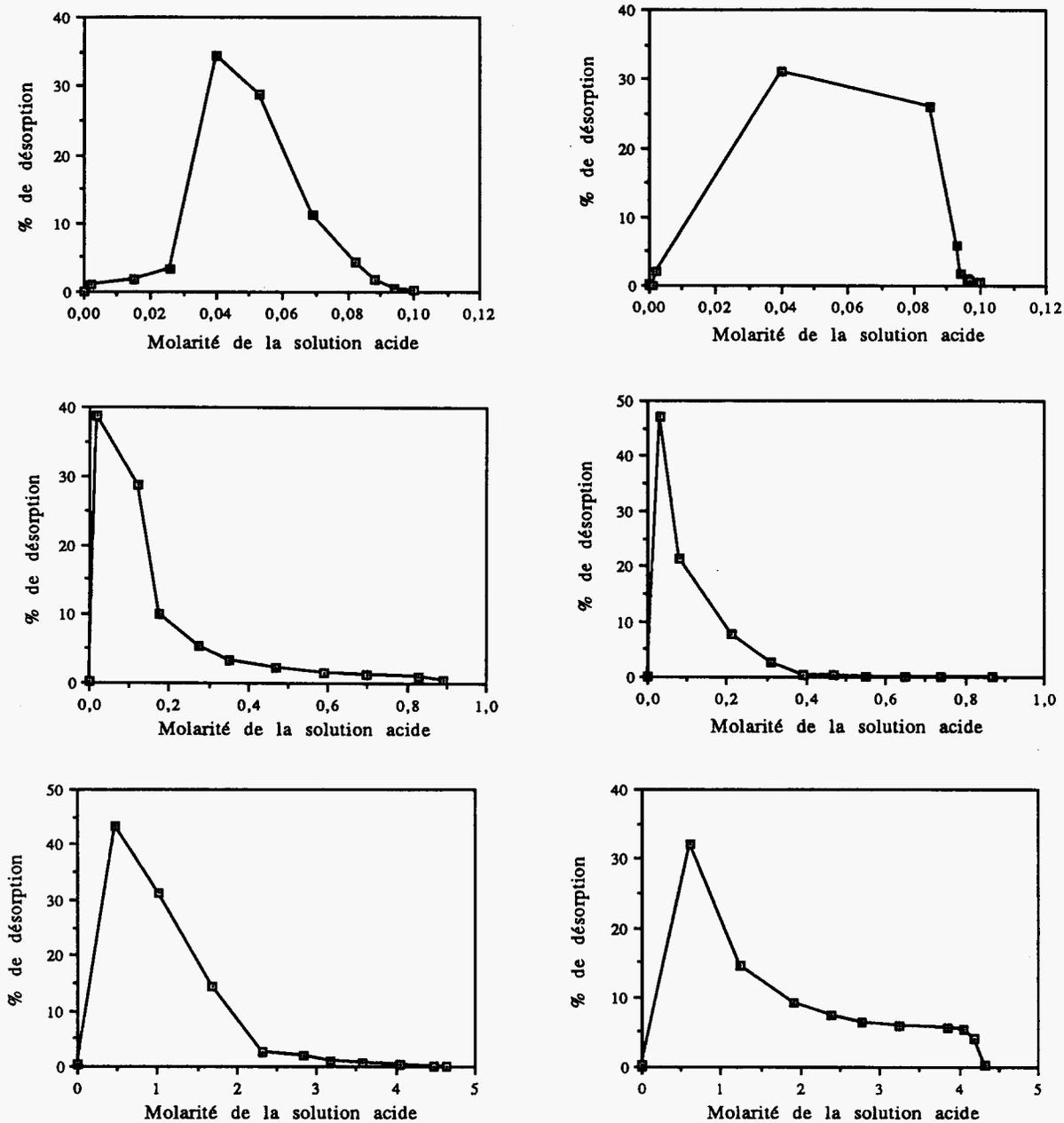


Fig. 16. Désorption du plomb par lavage acide des biobilles

On a pu récupérer ainsi jusqu'à la moitié du plomb adsorbé par lavage acide à des concentrations inférieures à 0,05M, et près de 100% en poursuivant l'éluion. Le biosorbant ainsi traité est faiblement endommagé par l'acide et peut éventuellement être réutilisé dans la phase de biosorption.

Enfin, la Figure 17 montre que l'acide nitrique est plus efficace que l'acide chlorhydrique pour la désorption du plomb. Ce résultat peut être dû à la meilleure solubilité du nitrate de plomb par rapport au chlorure.

VII.3- Conclusions

Le lavage acide permet de désorber près de 100% du plomb adsorbé sur les biobilles. Il s'agit d'un résultat encourageant qui démontre la faisabilité du procédé.

Cependant, des études complémentaires sont nécessaires pour optimiser la phase de désorption. En effet, le rapport Liquide/solide (L/S) affecte considérablement les résultats de désorption. Il est nécessaire d'optimiser ce rapport afin de récupérer dans un volume minimal la plus grande partie du métal adsorbé. Le but ultime de ce travail serait de trouver le meilleur compromis permettant d'obtenir un pourcentage de récupération du métal satisfaisant tout en minimisant le volume de solution acide utilisé, afin d'obtenir dans l'éluat une concentration en cation métallique la plus élevée possible.

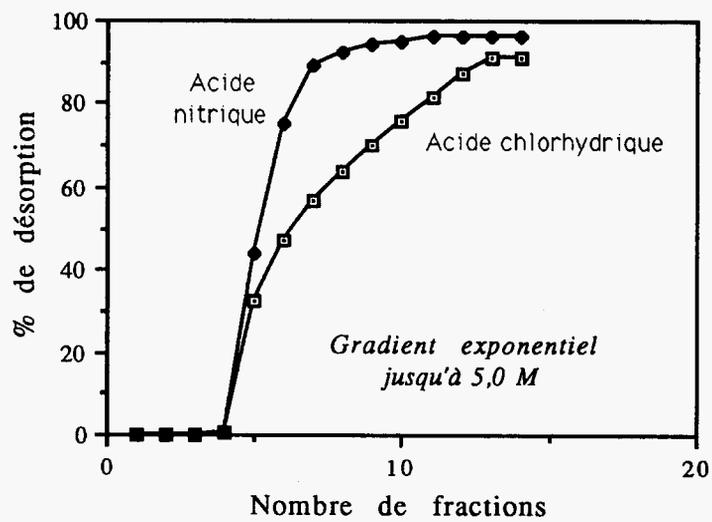
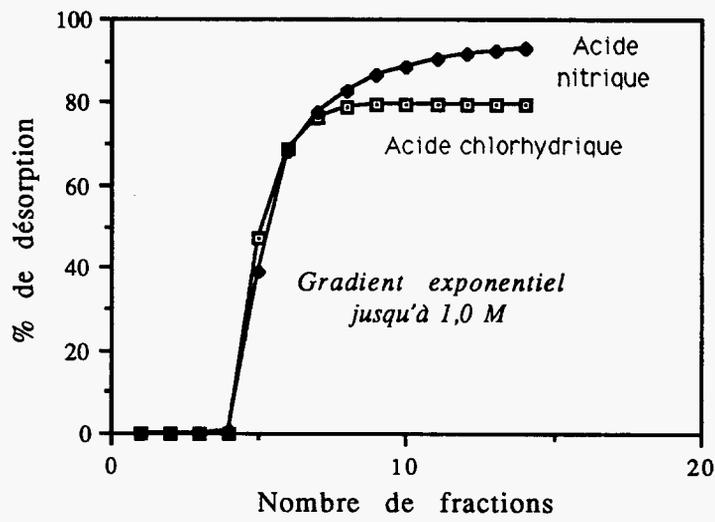
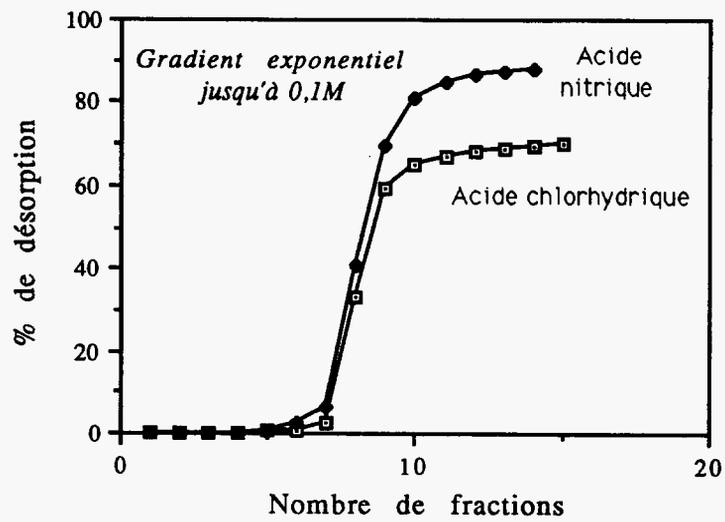


Fig. 17. Comparaison de l'efficacité de la désorption du plomb par l'acide chlorhydrique et l'acide nitrique

VIII- CONCLUSIONS GENERALES

Le concept consistant à utiliser certains déchets ou résidus pour en traiter d'autres est une approche intéressante pour la gestion des déchets dans nos sociétés, qui a déjà inspiré un certain nombre de procédés.

L'intérêt principal de cette approche pour le producteur de déchets est qu'elle peut permettre de réduire les coûts de traitement. En outre, le concept a d'autres avantages pour la collectivité dans son ensemble.

Pourtant, du fait d'un certain nombre de facteurs objectifs et subjectifs, l'utilisation de déchets dans un procédé industriel n'est pas chose facile. L'un des principaux obstacles objectifs réside dans l'hétérogénéité et la variabilité de la composition de la plupart des déchets, facteurs qui souvent ne sont pas compatibles avec le respect d'un cahier des charges bien précis au niveau du procédé industriel. Quant aux réticences subjectives, elles peuvent être nombreuses et complexes, la principale étant sans doute le sentiment qu'un déchet ne peut pas être aussi efficace qu'un produit commercialisé, pour quelque utilisation que ce soit.

Dans l'étude présentée ici, les boues biologiques d'une station d'épuration urbaine ont été testées comme biosorbant potentiellement utilisable pour le traitement d'effluents métalliques. Ces boues constituent un déchet des stations d'épuration. A l'heure actuelle elles sont généralement incinérées, sauf lorsque leur composition et le lieu de leur production permettent de les éliminer par épandage.

Bien que la composition des boues biologiques puisse varier d'un site à un autre, les variations sont relativement limitées pour les stations traitant uniquement des eaux usées urbaines et fonctionnant correctement. On peut également considérer que ce déchet est de composition relativement homogène.

Les boues ont été testées pour l'utilisation envisagée dans des conditions de laboratoire bien définies et contrôlées, comme l'aurait été tout autre matériau destiné à la même utilisation.

Deux techniques ont été sélectionnées pour utiliser les boues comme biosorbant. La première consiste tout simplement à les maintenir en suspension dans la solution métallique à traiter par agitation ou insufflation d'air. La deuxième technique consiste à emprisonner les boues dans des billes d'alginate de calcium, puis à utiliser ces biobilles dans des colonnes. Les deux techniques ont des avantages spécifiques, qui sont prévisibles et ont été confirmées expérimentalement.

Les résultats obtenus avec la deuxième technique montrent que le gel d'alginate a intrinsèquement, par unité de poids sec, plus d'affinité pour le plomb, le cuivre et le chrome(III) que les biobilles. Dans le cas où le but unique du traitement est d'éliminer des cations métalliques en solution, l'emploi de billes d'alginate de calcium pur est donc préférable à celui de biobilles. Par contre les biobilles ont l'avantage d'être capables de dégrader un large éventail de contaminants organiques, ce qui n'est bien sûr pas le cas des billes d'alginate pur ou des autres techniques de biosorption utilisant de la biomasse morte. Il est donc envisageable de traiter à la fois les contaminants métalliques et organiques avec les biobilles.

Les colonnes de biobilles ont démontré leur efficacité au laboratoire. Un abattement de pratiquement 100% du Pb^{2+} en solution a été obtenu en traitant une solution de nitrate de plomb à 300 mg/l de Pb^{2+} . La solution a été épurée jusqu'à un seuil inférieur à la norme de potabilité pour le plomb. Le procédé peut donc s'affirmer comme une technologie compétitive par rapport aux méthodes classiques, surtout lorsqu'on cherche à éliminer à la fois les métaux et les polluants organiques présents dans un effluent.

Les résultats de biosorption obtenus avec les boues en suspension sont très prometteurs. La cinétique de biosorption est bien plus rapide qu'avec les biobilles. On approche l'équilibre de biosorption en 10 à 20 minutes à peine, pour tous les métaux testés. Les boues en suspension ont, par unité de poids sec, une meilleure capacité de biosorption du plomb, du cuivre et du cadmium que les biobilles.

Les meilleurs résultats ont été obtenus pour Pb^{2+} et Cu^{2+} pour lesquels les boues ont une affinité remarquable. Les paramètres de biosorption déterminés à partir des résultats expérimentaux suivant le modèle de Freundlich montrent que les boues utilisées en suspension dans la solution métallique peuvent concentrer ces métaux par des facteurs largement supérieurs à 100 000, ce qui est tout à fait comparable, voire supérieur, aux résines échangeuses d'ions commercialisées (dont l'efficacité est généralement réduite aux faibles concentrations) et aux "biorésines" brevetées.

Ces propriétés indiquent que les boues pourraient être utilisées pour purifier des solutions diluées (telles que, par exemple, les eaux souterraines contaminées par des métaux), ou pour affiner les traitements classiques. Contrairement aux résines synthétiques classiques ou aux "biorésines" existantes, l'avantage des boues est qu'elles peuvent dégrader des polluants organiques (comme les biobilles) alors les composés organiques perturbent d'ordinaire le fonctionnement des autres résines. Par contre, le désavantage majeur est qu'il est nécessaire d'utiliser une technique de séparation liquide/solide pour récupérer les boues avant de rejeter la solution traitée.

Les résultats expérimentaux obtenus montrent également que les boues et les biobilles peuvent être utilisées pour traiter des solutions métalliques concentrées. Dans le cas des boues libres, un pilote de laboratoire original a été conçu et mis en œuvre pour optimiser le traitement par une circulation à contrecourant du biosorbant. Un rendement d'épuration de 99,9% a été obtenu en traitant dans ce pilote une solution de nitrate de plomb contenant 100 mg/ de Pb^{2+} . Près de 5 litres de solution ont été traités en utilisant un volume de boues correspondant à 4,8 g de matières sèches. Une masse sèche de 4,1 g de boues résiduelles ont été retirées du système, ayant une teneur en plomb de 11,2% en poids, alors que la solution traitée avait une concentration en Pb^{2+} de 0,1 mg/l.

D'autres résultats suggèrent que, dans certaines conditions opératoires, les boues pourraient biosorber sélectivement certains métaux. Des études complémentaires sont nécessaires pour mieux définir ce potentiel.

Après la phase de biosorption qui constitue la principale partie du travail effectué, les métaux peuvent être récupérés par lavage acide du biosorbant. La faisabilité du procédé a été démontrée pour la désorption du plomb à partir de biobilles. Des concentrations acides inférieures à 0,05 M ont permis de désorber correctement le plomb. Cependant, il est nécessaire d'étudier la désorption de façon plus approfondie pour optimiser le rapport liquide/solide. Après désorption, la solution métallique concentrée pourrait être recyclée par l'atelier producteur de l'effluent métallique de départ.

Les paramètres de biosorption ont été calculés pour tous les métaux étudiés -Pb(II), Cd(II), Cr(III), Cu(II) et Zn(II)- et sont fournis dans ce rapport. Ces paramètres peuvent être utilisés soit pour prédire l'efficacité d'un traitement donné, soit pour définir les conditions opératoires permettant d'atteindre un objectif fixé. Les paramètres sont théoriquement indépendants de la concentration en biosorbant, mais cela n'a été expérimentalement vérifié que dans le cas du cadmium.

La comparaison entre les biosorbants étudiés (boues libres et biobilles) et les résines commercialisées n'est pas simple car les paramètres de biosorption ne sont pas clairement publiés. Seul un travail expérimental pourrait permettre de comparer valablement les procédés étudiés aux techniques existantes. D'autre part, il serait intéressant, à terme, de tester les procédés développés dans ce programme sur des effluents réels. Ce travail permettrait de mieux définir les possibilités d'application des procédés.

REFERENCES

- 1- D.F. Gibbs, M.E. Greenhalgh, J.H. Watson, R.G. Yeo, et D.C. Ellwood. Process for the separation of metals from aqueous media. October 20, 1987. U.S. Patent No. 4,701,261.
- 2- R.A. Clyde et A. Whipple. Method for treating waste fluid with bacteria. July 23, 1985. U.S. Patent No. 4,530,763.
- 3- J.M. Kauffman et W.C. Laughlin. Process for the removal and recovery of heavy metals from aqueous solutions. June 11, 1985. U.S. Patent No. 4,522,723.
- 4- W.P. Iverson et F.E. Brinckman (1978) Microbial metabolism of heavy metals. *Water Pollut. Microbiol.*, **2**, 201-232.
- 5- T.C. Beveridge et R.J. Doyle (1989) Metal ions and bacteria. In: T.C. Beveridge et R.J. Doyle Eds., Wiley Interscience, New York.
- 6- J.A. Scott, G.K. Sage, S.J. Palmer, et D.S. Powell (1986) Cadmium adsorption by bacterial capsular polysaccharide coatings. *Biotechnol. Lett.*, **8**, 711-714.
- 7- A. Nakajima et T. Sakaguchi (1986) Selective accumulation of heavy metals by microorganisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **24**, 59-64.
- 8- Y.P. Ting, F. Lawson, I.G. Prince (1989) Uptake of cadmium and zinc by the alga *Chlorella vulgaris* - Part 1: Individual ion species. *Biotechnol. Bioeng.*, **34**, 990-999.
- 9- J.H.R. Kägi et Y. Kojima (1987) Chemistry et biochemistry of metallothionein. In: Metallothionein II. Proceedings of the Second International Meeting on Metallothionein and Other Low Molecular Weight Metal-binding Proteins. J.H.R. Kägi et Y. Kojima Eds., Birkhauser Verlag, Basel.
- 10- R.M. Steritt et J.N. Lester (1980) Interactions of heavy metals with bacteria. *Sci. Total Environ.*, **14**, 5-17.
- 11- J.T. Trevors, G.W. Stratton, et G.M. Gadd (1986) Cadmium transport, resistance et toxicity in bacteria, algae and fungi. *Can J. Microbiol.*, **32**, 447-464.
- 12- M.J. Brown et J.N. Lester (1979) Metal removal in activated sludge: the role of bacterial extracellular polymers. *Water Res.*, **13**, 817-837.
- 13- T. Rudd, R.M. Steritt, et J.N. Lester (1984) Complexation of heavy metals by extracellular polymers in the activated sludge process. *J. Water Pollut. Control Fed.*, **56**, 1260-1268.
- 14- M.H. Cheng, J.W. Patterson, et R.A. Minear (1975). Heavy metals uptake by activated sludge. *J. Water Pollut. Control Fed.*, **47**, 362-376.
- 15- M.E. Goldstone, P.W.W. Kirk, et J.N. Lester (1990) The behaviour of heavy metals during wastewater treatment. I. Cadmium, chromium and copper. *Sci. Total Environ.*, **95**, 233-252.
- 16- M.E. Goldstone, P.W.W. Kirk, et J.N. Lester (1990) The behaviour of heavy metals during wastewater treatment. II. Lead, nickel et zinc. *Sci. Total Environ.*, **95**, 253-270.

- 17- P. Eyraud (1989) Epuration des lixiviats de décharge par lit bactérien à ruissellement. Thèse de Doctorat, INSA de Lyon, 89 ISAL 0043, 161 pages.
- 18- S.S. Sofer, G.A. Lewandowski, M.P. Lodaya, F.S. Lakhwala, K.C. Yang, et M. Singh (1990) Biodegradation of 2-chlorophenol using immobilized activated sludge. *Res. J. Water Pollut. Control Fed.*, **62**, 73-80.
- 19- G.D. Parfitt et C.H. Rochester (1983) Adsorption of small molecules. In: Adsorption from solution at the solid/liquid interface. G.D. Parfitt et C.H. Rochester Eds., Academic Press, London, pp. 3-48.
- 20- R. Gourdon, E. Rus, S. Bhende, et S.S. Sofer (1990) Comparison of cadmium biosorption by Gram-positive and Gram-negative bacteria from activated sludge. *Biotechnol. Lett.*, **12**, 839-842.
- 21- F.S. Lakhwala, M.P. Lodaya, K.C. Yang, G.A. Lewandowski, et S.S. Sofer (1988) Design of toxic waste treatment bioreactor. In: Proceedings of the International Conference on Physico-chemical and Biological Detoxification of Hazardous Wastes, Atlantic City, N.J., May 3-5, 1988.
- 22- H. Tanaka, M. Matsura, et I.A. Veliky (1984) Diffusion characteristics of substrates in calcium alginate gel beads. *Biotechnol. Bioengng.*, **26**, 53-58.
- 23- R. Gourdon et P. Vermande (1987) Effects of propionic acid concentration on anaerobic digestion of pig manure. *Biomass*, **13**, 1-12.