

# CINETIQUE DE LA DEGRADATION D'UN EFFLUENT SYNTHETIQUE ET DE L'AMOXICILLINE PAR LES BOUES ACTIVEES D'UNE STATION CLASSIQUE ET AUTRE A MEMBRANE DANS UN BIOREACTEUR BATCH

SAKHRAOUI Mahfoud<sup>\*1,2</sup>, BENCHEIKH-Lehocine Mossaab<sup>1</sup> et Heran Marc<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> : Laboratoire de l'Ingénierie des Procédés d'Environnement 'LIPE', Faculté de Génie des Procédés, Université Constantine 3, 25000 ; Algérie.

<sup>2</sup> : Institut Européen des Membranes, IEM ; UMR-5635, Université de Montpellier, ENSCM, CNRS ; Place Eugène Bataillon 34095 Montpellier Cedex 5 ; France.

[mahfoudsakh@yahoo.com](mailto:mahfoudsakh@yahoo.com)

**Abstract** – Le traitement des rejets polluants est réalisé dans des STEP à boues activées, cette pollution est quantifiée par la mesure de la Demande Chimique en Oxygène. Dans ce travail, on mesure dans des conditions batch l'élimination de la DCO de deux effluents, l'un contenant la source de carbone et l'autre contenant l'Amoxicilline; les deux effluents ont la même concentration en DCO<sub>théorique</sub>. On suit la consommation de DCO et d'Amoxicilline par deux types de boues soit d'origine de la station classique et/ou station à membrane. Les essais ont été réalisés avec contrôle d'Amoxicilline dans les prélèvements par HPLC-et-LCMS/MS, et par IR dans les boues séchées avant et après tests, pour avoir si l'Amoxicilline est biodégradée ou biosorbée. Les résultats montrent des différentes vitesses de consommation de substrat et d'Amoxicilline, pour les deux types de boues le substrat est consommé avec une vitesse de 0,9825mg/l/min, plus de 80% d'abattement, par contre pour l'amoxicilline, il est totalement biodégradé, 100%, par les boues de la station à membrane avec une vitesse de 0,8mg/l/min, mais peu biodégradé par les boues de la station classique, les analyses montrent la présence de l'amoxicilline dans les boues classiques et leur absence dans les deux boues séchées.

**Keywords:** Eaux Usées, Amoxicilline, DCO, Boues Activées, Bioréacteur, biodégradation et biosorption.

## I. Introduction

Le traitement actuel des rejets polluants liquides domestiques est réalisé dans des stations d'épuration fonctionnant pour la majorité selon le principe du procédé biologique à boues activées<sup>[01]</sup>, ces polluants sont l'origine des matières organiques qui peuvent être séparés entre pollution soluble et pollution insoluble<sup>[02]</sup>, cette pollution est quantifiée par la mesure de la Demande Chimique en Oxygène (DCO). Dans ce travail, on mesure dans des conditions batch aérobies<sup>[03]</sup> la cinétique d'élimination de la demande chimique en oxygène soluble d'un effluent synthétique contenant la source de carbone facilement biodégradable et un autre effluent contenant un micropolluant, l'Amoxicilline trihydratée; les deux effluents ont la même concentration en DCO théorique (50 mg/l). On suit en fonction de temps, un pas de 15 minutes, l'évolution de la consommation de DCO et d'Amoxicilline par deux types de boues activées dans l'état endogène<sup>[04]</sup>, ces boues sont d'origine de la station d'épuration classique et l'autre d'une station d'épuration à membrane immergée. Les essais ont été réalisés à la température ambiante<sup>[05]</sup> et avec un contrôle de la concentration en Amoxicilline dans les différents prélèvements par HPLC et LCMS/MS<sup>[06]</sup>, et des échantillons des boues séchées avant et après les tests ont été passés sur IR pour avoir si l'Amoxicilline est biodégradée ou biosorbée dans ces boues<sup>[07]</sup>. De ce fait, les résultats obtenus montrent des différentes vitesses de consommation de substrat et d'Amoxicilline, car pour les deux types de

boues le substrat est consommé avec une vitesse de 0,9825 mg/l/min, plus de 80 % d'abattement, par contre pour l'amoxicilline, il est totalement biodégradé, 100%, par les boues de la station à membrane avec une vitesse de 0,8 mg/l/min, mais pour les boues de la station classique on observe une petite dégradation de la concentration en DCO théorique au début de test et après la concentration presque reste constante, les analyses par chromatographie et IR montrent la présence de l'amoxicilline à la fin du test avec les boues classiques et leur absence dans les deux boues séchées. A la lumière de ces résultats de l'évolution nous permettons de dire que l'amoxicilline soit biodégradée par les boues de la station à membrane et n'est pas biodégradée par les boues classiques et n'est pas biosorbée dans les deux boues séchées.

## II. Matériels et Méthodes

Les tests en batch de la biodégradation de substrat et d'Amoxicilline ont été effectués dans le laboratoire IEM de Montpellier, France. Afin d'évaluer la biodégradation ou la biosorption de l'Amoxicilline dans les boues.

### II.1. Source de Boues :

Les deux types de boues utilisées dans cette étude ont été obtenus de deux différentes stations d'épuration à Montpellier, France, la station d'épuration classique de SAINT CLEMENT DE RIVIERE destinée pour l'épuration des eaux usées de Rouargues avec une capacité de 5000 Equivalent Habitants et la rivière le LEZ c'est le milieu récepteur de cette station; et les

autres boues ont été obtenue da la station d'épuration à membrane de *GRANDE MOTTE* qui traite une capacité de 64200 Equivalent Habitant et verser les eaux épurer dans le canal du Rhône à Sète.

Les deux types de boues et avant leur utilisation on mesure leur MES et MVS par des méthodes standard selon la recommandation APHA, 1992, et un volume filtré à 0,45 µm pour analyser par HPLC/UV/Fluo de marque Waters, modèle 600 W717-PDA 29966 et LC-MS/MS de marque Waters, modèle Quattro Micro API et pour les analyses par IR/TF-ATR de marque Thermofischer, modèle NEXUS-NICOLET 710 une quantité de chaque boues ont été aussi séché à 105°C pendant 20 heures et puis mettre dans un dessiccateur. On mettre sous aération/ agitation à la température ambiante pendant au moins 24 heures afin d'avoir l'état endogène avant leur utilisation.

On a utilisé un volume de 1 litre de chaque boues à l'état endogée pour les tests de dégradation et on extraire un volume de 5 ml maximum chaque un pas de temps de 15 minutes pour les analyses de DCO et les analyses de chromatographie.

## II.2. Composition de l'effluent synthétique:

On a utilisé deux effluents synthétique préparer dans le surnagent de la liqueur mixte et les concentrations calculés on prendre en considération le volume totale de la liqueur mixte et le volume ajouté comme étant 1 litre, l'un contenu la source de carbone (Acétate de Sodium trihydraté,  $C_2H_3NaO_2 \cdot 3H_2O$ ) et la source d'azote (Chlorure d'Ammonium,  $NH_4Cl$ ) et un apport en phosphore (Hydrogénophosphate de di-ammonium,  $(NH_4)_2HPO_4$ ), l'autre effluent contenant un micropolluant seul, c'est le principe actif de l'antibiotique Amoxicilline trihydraté  $C_{16}H_{19}N_3O_5S \cdot 3H_2O$ , qui a été aussi préparer dans la même solution utilisée pour la préparation de l'effluent sans micropolluant, et sans présence d'autre source soit de carbone, d'azote ou de phosphore. Pour les deux effluents la concentration en DCO<sub>théorique</sub> préparée est de 100 mg/l de DCO. Ces deux effluents ont été ajoutés dans les bioréacteurs qui contiennent les boues activées aérées pendant 1 nuit précédente les tests.

## II.3. Bioréacteurs Batch :

Les bioréacteurs ou les colonne utilisés pour cette étude, montré dans la [figure 01](#), dans des réacteur de volume totale de 3 litres, ont été menu d'un système d'aération/agitation par diviseur d'air placé au fond de bioréacteurs, et les prélèvement ont été assuré manuellement à l'aide d'une seringue de volume de 5 ml, ce volume et filtré à un filtre millipore à 0,45 µm.



**Fig. 01** : photographie des bioréacteurs utilisés.

## II.4. Procédure Expérimental :

Pour avoir évalué la capacité des boues de la station d'épuration classique et les boues de la station d'épuration à membrane à dégrader les effluent synthétique contenant soit l'Amoxicilline et/ou le substrat facilement biodégradable et de comparer les vitesses et les pourcentage de dégradation dans les mêmes conditions opératoires.

Une série de bioréacteur batch de volume fonctionnant de 1 litre, deux (R1 et R2) contenant les boues de la station d'épuration classique, R1 pour l'injection de l'effluent contenant le substrat sans micropolluant et R2 pour l'injection de l'effluent synthétique contenant l'Amoxicilline ; et l'autre deux bioréacteurs (R3 et R4) sont contenus les boues de la station d'épuration à membrane, R3 pour l'injection de l'effluent synthétique sans micropolluant et R2 pour l'injection d'effluent contenant l'Amoxicilline.

Dans les quartes bioréacteurs et avant l'injection, un volume suffisant de la liqueur mixte, hors le volume de 1 litre fonctionnant, a été prélevé et filtré à un filtre millipore de 0,45 µm, le filtrat a été utilisé pour les mesures de DCO et les mesure de Chromatographie, et les boues retenu par les filtres ont été séchés à l'étuve à 105 °C afin d'être analyser avec IR.

Après l'injection les deux effluents de même concentration, 100 mg/l DCO, dans les quatre bioréacteurs bien aérer/agiter, on prélève chaque un pas de temps de 15 minutes un volume de 5 ml de la liqueur mixte, ce volume a été filtré et destiné pour les différents mesure. Au bout d'une heure 30 minutes, fin de ces tests, on prendre un volume de boues filtrés et les boues retenu par les filtres et aussi séché et passé sur IR.

## III. Résultats et discussions

Les résultants obtenus après cette études on été regroupés dans le [tableau 1](#) et [2](#), le [tableau 1](#) montre les valeurs de la DCO mesuré dans les deux premier bioréacteurs contenant les boues de la station d'épuration classique : le bioréacteur R1, qui a été destiné pour l'injection de l'effluent contenant le substrat seul et le bioréacteur R2 destiné pour l'injection d'effluent contenant l'Amoxicilline seul, le [tableau 2](#) montre aussi les valeurs de la DCO mesuré dans les deux autres bioréacteurs contenant les boues de la station d'épuration à membrane, R3 pour l'injection d'effluent sans micropolluant et R4, pour l'injection du micropolluant.

**Tab. 01** : les valeurs de la DCO mesuré dans R1 et R2.

R1 : effluent contenant le Substrat			R1 : effluent contenant l'Amoxicilline		
Temps (min)	[DCO] (mg/l)	$\Delta_{DCO}/\Delta_{temp}$ <sub>s</sub>	Temps (min)	[DCO] (mg/l)	$\Delta_{DCO}/\Delta_{temp}$
0	39	4	0	/	/
2	47	-0,84	2	91,6	-1,16
17	34,4	-0,34677	17	74,2	-0,09333
32	29,2	-0,02667	32	72,8	-0,88
47	28,8	/	47	59,6	-1,81333
62	/	/	62	32,4	0,28
82	/	/	82	38	0,463415

**Tab. 02** : les valeurs de la DCO mesuré dans R3 et R4.

R3 : effluent contenant le Substrat			R4 : effluent contenant l'Amoxicilline		
Temps (min)	[DCO] (mg/l)	$\Delta_{DCO}/\Delta_{temp}$ <sub>s</sub>	Temps (min)	[DCO] (mg/l)	$\Delta_{DCO}/\Delta_{temp}$ <sub>s</sub>
0	66,8	15,4	0	52,6	9,8
2	97,6	-3,13333	2	72,2	-1,61333
17	50,6	-0,93333	17	48	-0,28
32	36,6	-0,61333	32	43,8	-0,01333
47	27,4	-0,25333	47	43,6	-0,02667
62	23,6	-0,23	62	43,2	0,01
82	19	0,231707	82	43,4	0,529269

Les figures 2 et 3 montre l'évolution en fonction de temps de la concentration mesuré en DCO d'effluent synthétique contenant le substrat seul dans les deux bioréacteur R1 (contant les boues de la station classique) et R3 (contant les boues de la station à membrane) successivement, et les figures 4 et 5 montre l'évolution en fonction de temps des concentrations mesurés en DCO pour l'effluent contenant l'Amoxicilline dans le bioréacteur R2 (contenant boues classique) et R4 (contenant les boues de la station à membrane).

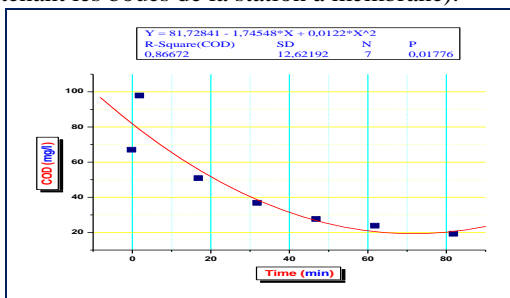


Fig. 02 : La DCO d'effluent contenant substrat seul en fonction de temps dans les boues de la station classique.

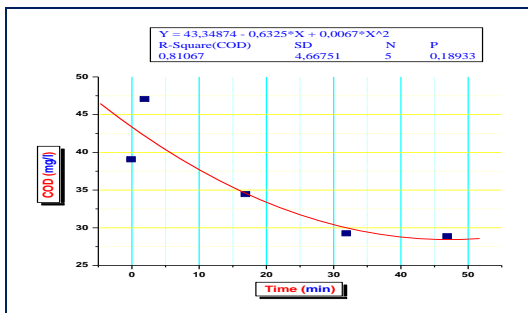


Fig. 03 : La DCO d'effluent contenant substrat seul en fonction de temps dans les boues de station à membrane.

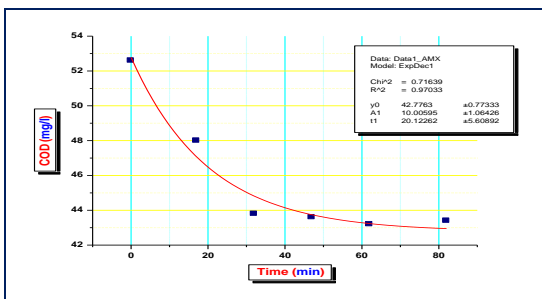


Fig. 04 : La DCO d'effluent contenant l'Amoxicilline en fonction de temps dans les boues de station classique.

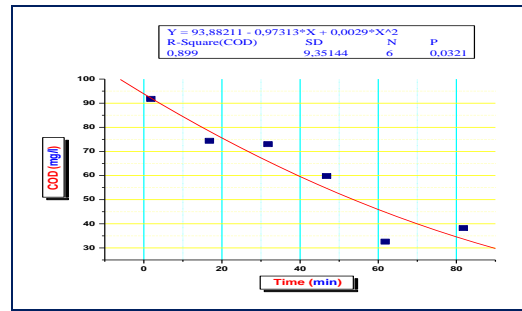


Fig. 05 : La DCO d'effluent contenant l'Amoxicilline en fonction de temps dans les boues de station à membrane.

La figure 6 représente l'évolution en fonction de temps de l'effluent synthétique contenant le substrat seul (triangle vert et bleu) et qui contient l'Amoxicilline seul (cercle et carré) dans les deux types de boues activées.

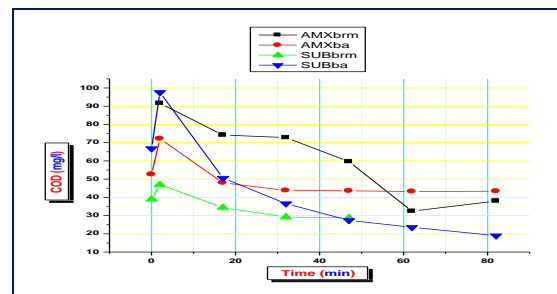
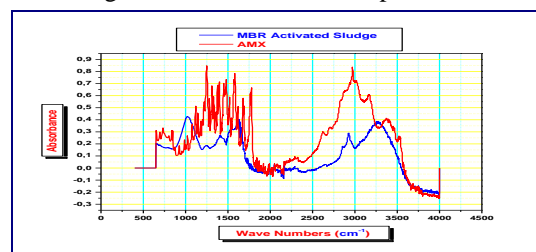
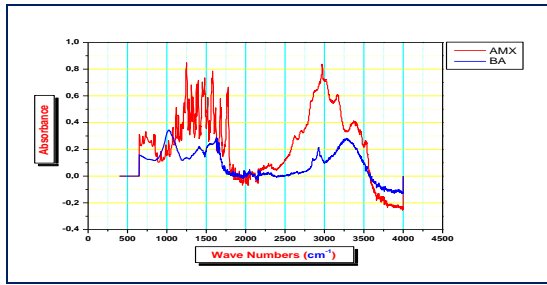


Fig.06 : la DCO d'effluent contenant soit substrat seul ou/et Amoxicilline seul dans les boues activées.

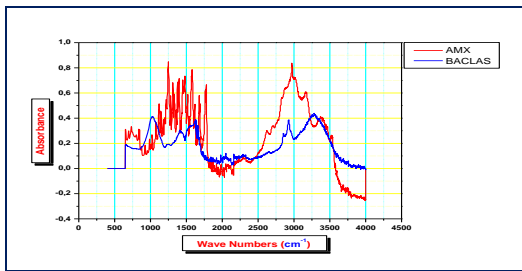
Les analyses d'Amoxicilline par HPLC, montre, pour les boues de la station à membrane la concentration en Amoxicilline mesuré après environ 15 minutes d'injection de 100 mg/l de DCO qui donne une concentration de 13,2 mg/l en Amoxicilline et à la fin du test la concentration en Amoxicilline égale 0 mg/l (pas d'Amoxicilline à la fin du test) et avec des concentration en DCO d'environ 30 mg/l, cela nous permet de dire que les boues de la station d'épuration à boues activées ont consommé ou biodégradé l'Amoxicilline rapidement et totalement comme le cas de l'effluent contenant le substrat seul et avec une vitesse de 0,8 mg/l/min ; par contre les boues de la station d'épuration classique, les analyses par HPLC montre la présence de l'Amoxicilline avec des concentration assez proche à la concentration initiale injecté et avec une vitesse de dégradation ne dépasse pas 0,3 mg/l/min. cela nous permet de dire aussi que la biomasse de la station d'épuration classique n'est pas capable de dégrader l'amoxicilline. Par contre pour la dégradation de l'effluent contenant le substrat seul, les deux types de boues représente la même cinétique et vitesse de dégradation au cours de temps.



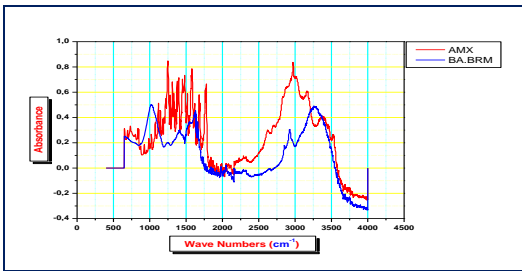
**Fig. 7 :** spectre IR des boues de la station à membrane avant les tests de biodégradation.



**Fig. 8 :** spectre IR des boues de la station classique avant les tests de biodégradation.



**Fig. 9 :** spectre IR des boues de la station classique après le test de biodégradation.



**Fig. 10 :** spectre IR des boues de la station à membrane après le test de biodégradation.

Et pour montrer que l'Amoxicilline est soit biodégradé et pas biosorbé dans les boues, les spectres IR, représenté dans la figure 7 et 8, montre les spectres obtenus avant les tests de biodégradation et les figures 9 et 10 après les tests de biodégradation. Généralement les spectres de la figure 9 et 10 montre l'absence de la majeure fonctionnel de l'amoxicilline dans les boues séchée, cela aussi nous permet de bien dire que l'Amoxicilline est biodégradable dans les boues, mais les boues bien adapté a consommer et dégrader les micropolluant comme le cas des boues de la station d'épuration à membrane, ces boues sont adapté à dégrader les différents types de polluants, en plus se sont riche en virus, a cause de la membrane qui joue un rôle de barrière, qui ne pas laissez passer les virus, ces dernier ont une importante dans l'adaptation des bactéries aux micropolluants et dans la transformation génétique dedans les bactérie, alors l'apparitions des gènes résistantes au micropolluant comme l'Amoxicilline dans la biomasses des boues activées.

## IV. Conclusion

Généralement, la problématique de que l'amoxicilline soit être biodégradé par la biomasse des boues activées ou biosorbé dans les boues pose un problème majeur pour les études et l'interprétation des tests de toxicité et de leur biodégradation ou élimination ; les résultats obtenus montre clairement l'efficacité des boues acclimaté ou plutôt les boues de la station d'épuration à membrane pour dégradé l'Amoxicilline à un pourcentage de 67,25% comme DCO et à 100% comme concentration en amoxicilline, par contre les boues ne adaptées ne peu pas dégradé totalement l'amoxicilline, 40% comme DCO et environ 30% comme Amoxicilline. Dans ce travail et dans des autres travaux complémentaires qui consiste à tester la biodégradation, par des tests d'acclimatation et des tests respirométriques ; et les tests de biosorbition comme les tests en batch, ont été montrés la biodégradabilité de l'Amoxicilline dans les boues acclimatées, donc la possibilité de dépollué ce type de micropolluants dans les effluents industriels. Cette étude nous permet aussi de met les points sur l'importance de l'apparitions des gènes résistantes qui varie le mode d'action de l'Amoxicilline et changer l'effet inhibiteur de l'amoxicilline sur les bactéries épuratrices.

## Références

- [1] Alisi C.S., Nwaogu L.A., Ibegbulem C.O., Ujowundu C.U., Antimicrobial action of methanol extract of *Chromolaena odorata*-Linn is logistic and exerted by Inhibition of Dehydrogenase Enzymes. *Jour. Res. Bio.* (2011) 3: 209-216. JRB.Vol-01. No 03.
- [2] Jung S.C., Establishment of control system of antibiotics for livestock. *A. Rep. Korea Food Drug Admin.* 7, (2003)1113–1114.
- [3] Wuhrman K., Effect of oxygen tension on biochemical reaction in sewage purification plants. *Manhaman college conf. on biological waste treatment.* Paper N°: 3 (1960) pp10.
- [4] Wang J.P., Yu J., (2001). Kinetic analysis on formation of poly (3-hydroxybutyrate) from acetic acid by *Ralstonia eutropha* under chemically defined conditions. *Jou. Ind. Microbio. Biotech.* 26 (3), 121-126.
- [5] Liu Y., (1996). Bioenergetic interpretation on the S<sub>0</sub>/X<sub>0</sub> ratio in substrate-sufficient batch culture. *Water. Res.* 30, 2766-2770.
- [6] Le M.N., Khan S.J., Drewes J.E., Stuetz R.M., Fate of antibiotics during municipal water recycling treatment processes. *Wat. Res.* (2010) 44, 4295-4323.
- [7] Chapman P.M., Whole effluent toxicity testing-usefulness, level of protection, and risk assessment. *Env. Tox. Chem.* (2000) 19, 3–13.
- [8] Albek M., Yetis U., Gokcay C.F., Effects of Ni (II) on respirometric oxygen uptake. *Appl. Micr. Bio.* (1997) 48, 636–641.
- [9] Kristensen H.G., Jorgensen P.E., Henze M., Characterization of functional microorganism groups and substrate in activated sludge and wastewater by AUR,