

ENDETECH 282818



Conception et étude d'un bioréacteur enzymatique à membrane pour le traitement d'effluents contenant des micropolluants réfractaires d'origine pharmaceutique

M. de Cazes, M.-P. Belleville, J. Sanchez-Marcano

Institut Européen des Membranes (IEM), UMR 5635 (CNRS-ENSCM-UM2) Département Génie des Procédés Membranaires, Université de Montpellier II, Place Eugène Bataillon – 34095, Montpellier, France

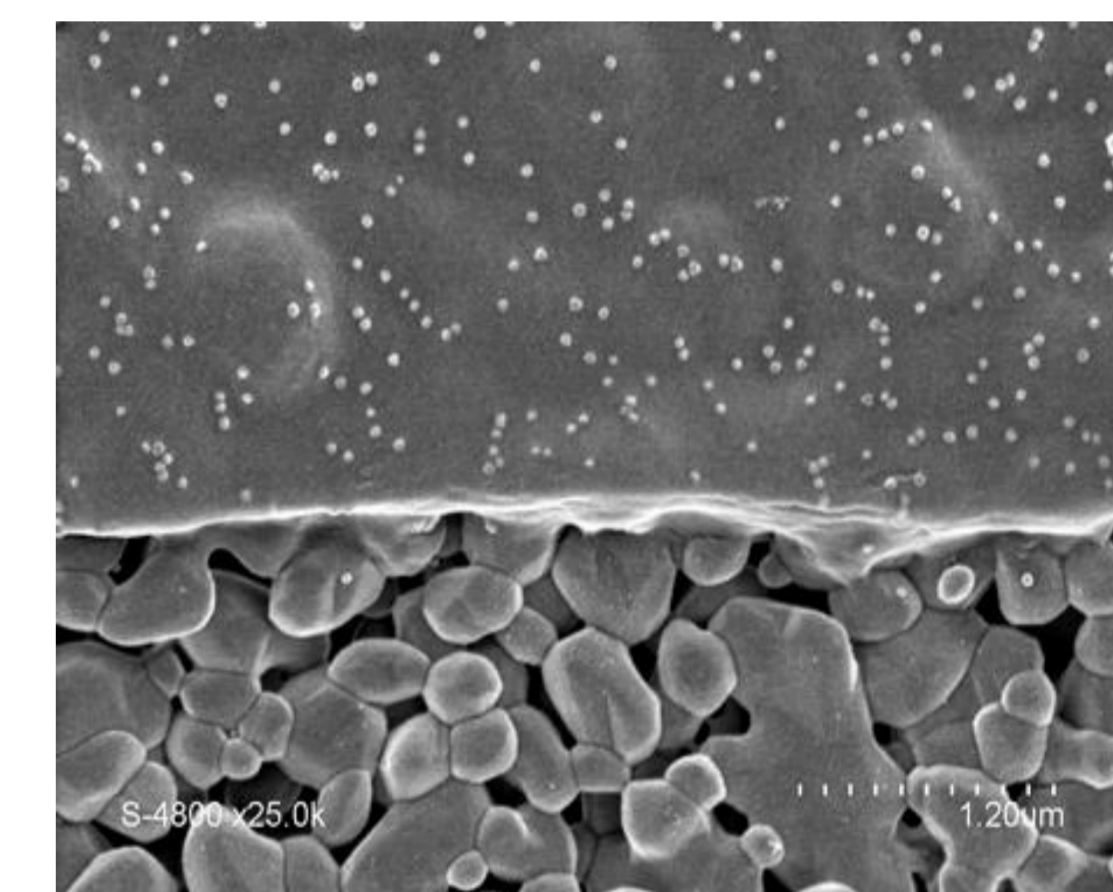
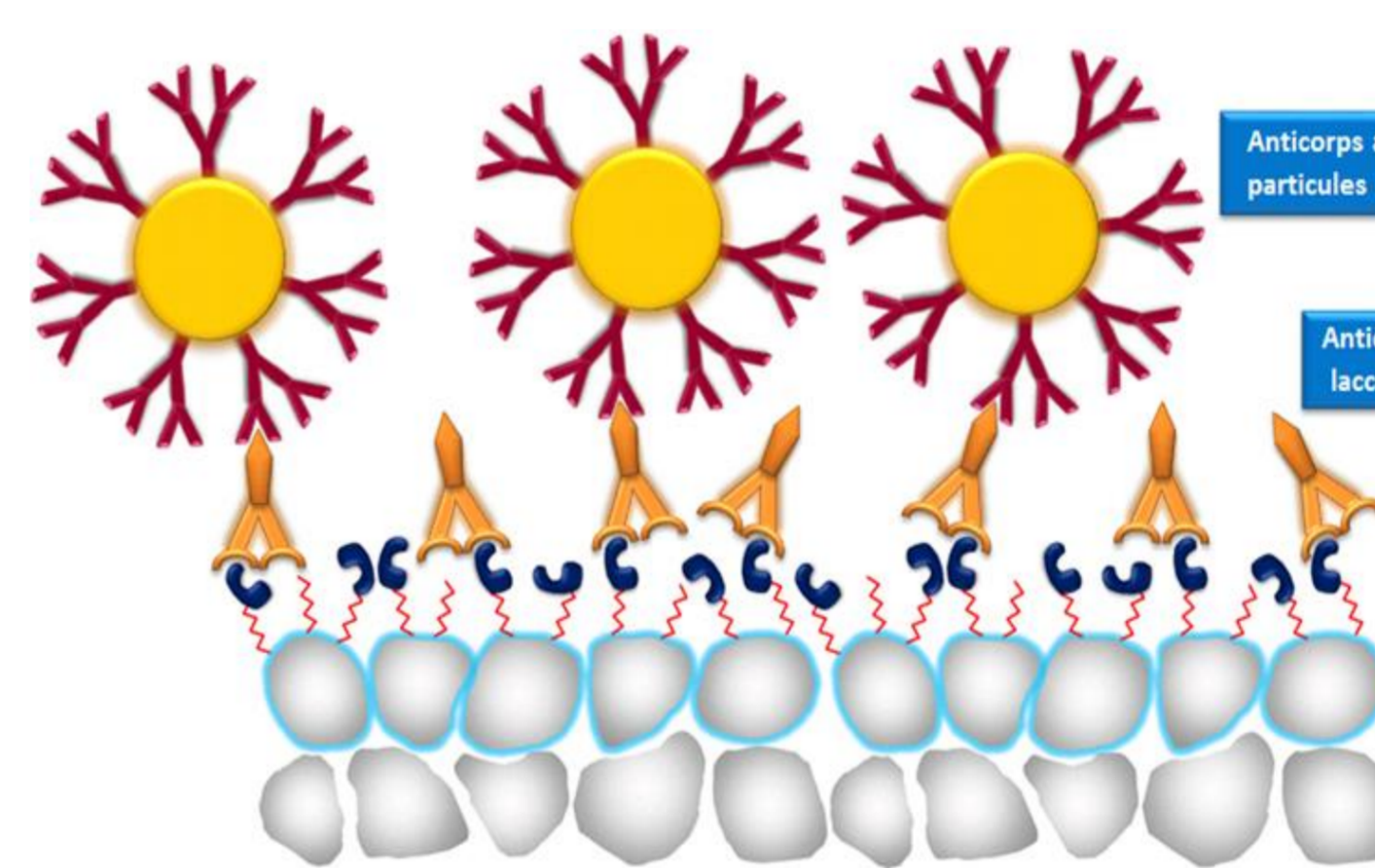
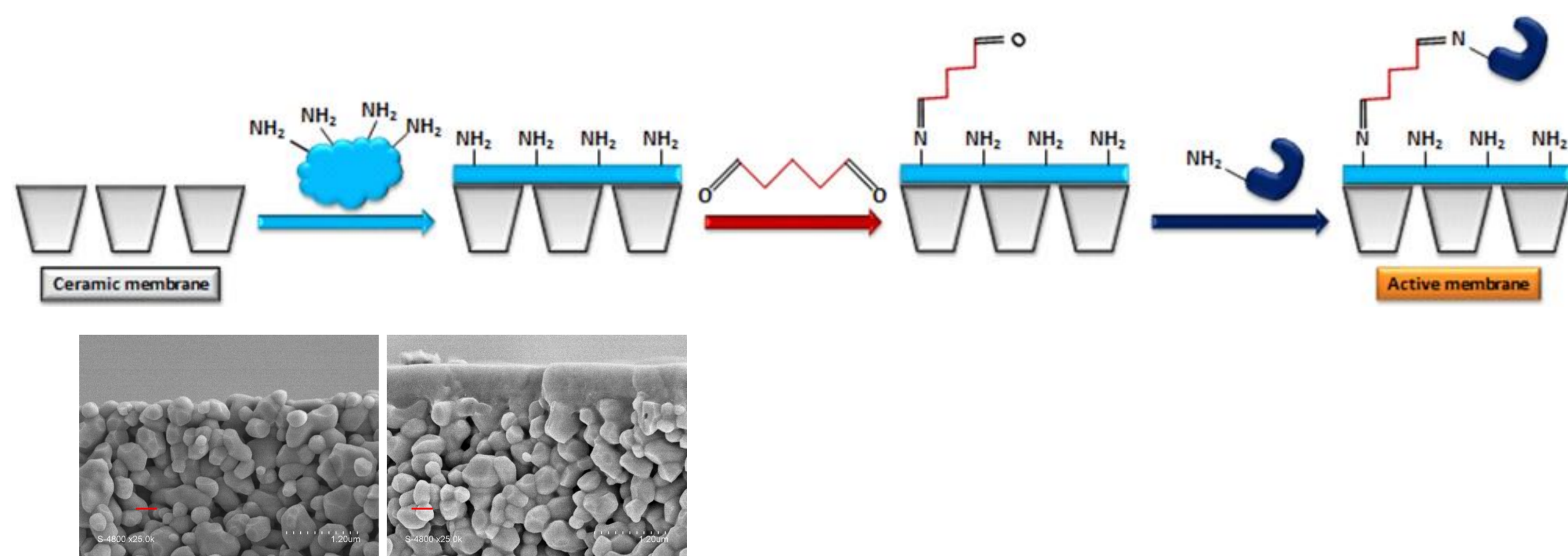
INTRODUCTION

Les progrès de la médecine et de l'industrie pharmaceutique pendant le siècle dernier, se sont traduits par une très grande augmentation de la consommation des médicaments au niveau humain et animal. Certaines de ces molécules, actives à de très faibles doses, sont métabolisées tandis que d'autres restent intactes et sont finalement éliminées. Beaucoup de ces composés et métabolites sont toujours présents à la sortie des usines de traitement d'effluents car ils ne sont pas complètement dégradés au cours des traitements classiques par boues activées. Les eaux usées provenant des zones urbanisées constituent donc une source d'émission importante de ces polluants qui peuvent alors atteindre à long terme les eaux de surface et souterraines qui sont actuellement utilisées pour la consommation humaine.

L'objectif du projet ENDETECH est d'étudier la dégradation des polluants pharmaceutiques réfractaires à l'aide d'enzymes greffées à la surface des membranes céramique ou des solides poreux. Pour ce faire un système modèle a été choisi: la dégradation de la tétracycline, en solution aqueuse par la laccase de *Trametes versicolor*.

La tétracycline est un antibiotique de la classe des cyclines très présent dans des effluents de divers origines. Dans cette recherche nous avons étudié la cinétique de dégradation de la tétracycline avec des enzymes libres et des enzymes greffées dans un réacteur batch pendant que les enzymes greffées sur des membranes en céramique ont été étudiés en batch et/ou continu.

Immobilisation des Enzymes et immunomarquage



Dégradation de la Tétracycline

1-En réacteur batch (100 mL) = cinétique et stabilité de l'enzyme, libre ou greffée sur des fragments de membrane.

2-En réacteur membranaire (pilote (2 L) en configuration batch ou continu = performance de dégradation pendant 10 jours.

-20 ppm de tétracycline dans de l'eau osmosée (pH = 6)

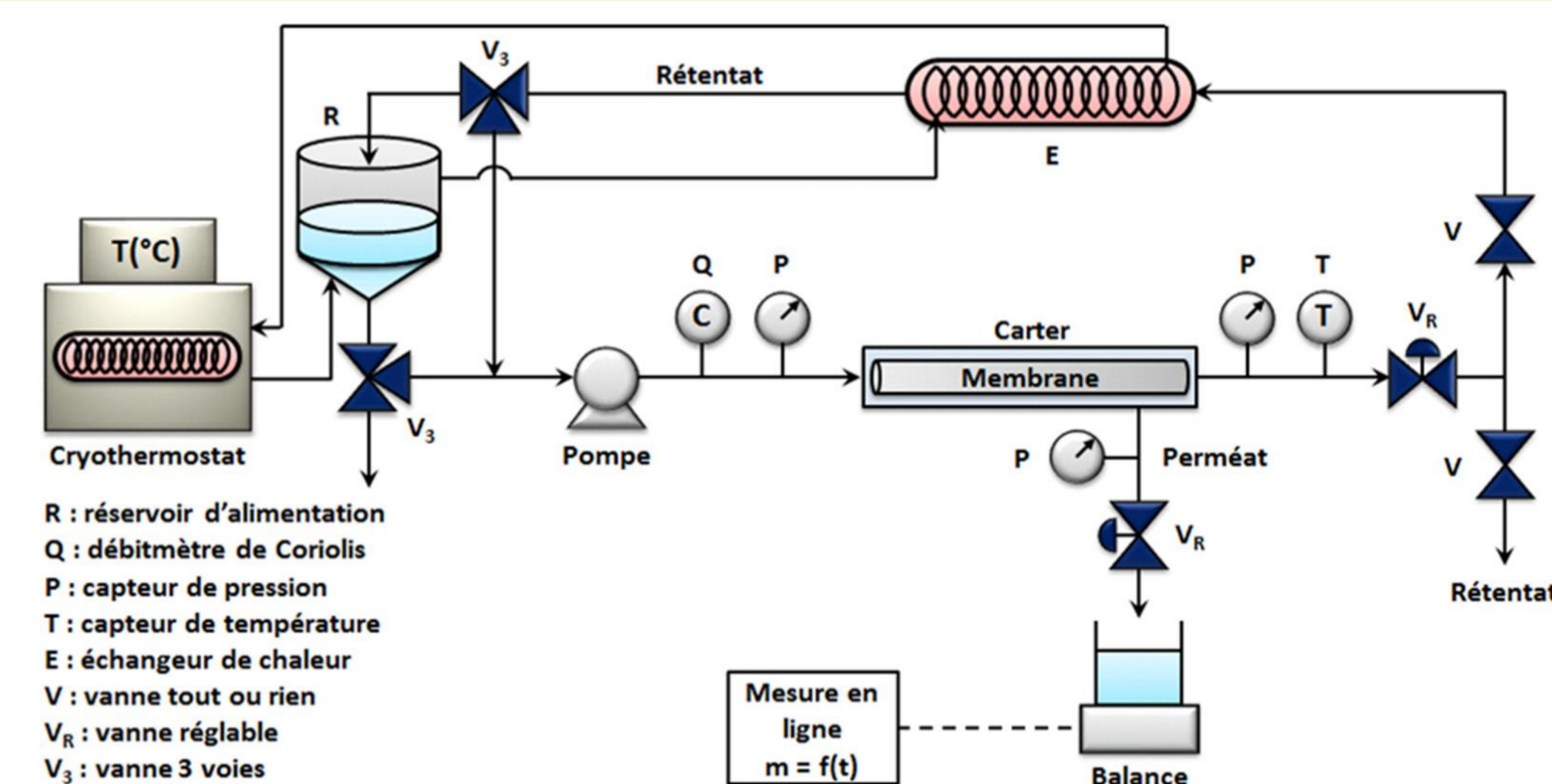
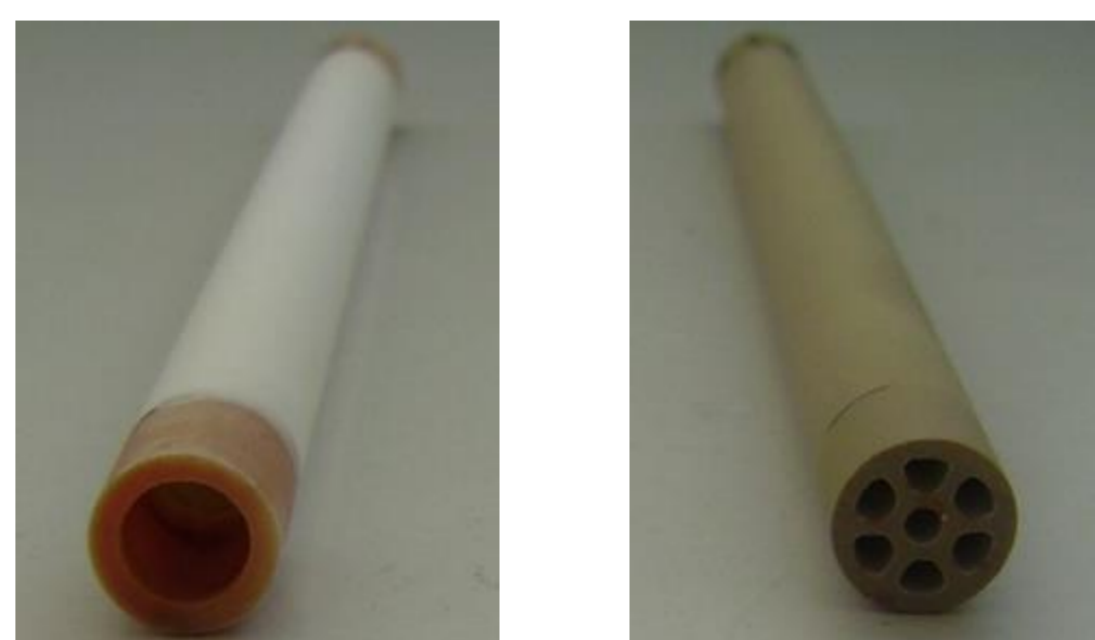
-25 °C

-Recirculation de 10 L.h⁻¹ dans le pilote.

-Analyse par HPLC-MS après inactivation de la laccase à 100°C.

-Témoins: auto-dégradation et adsorption dans le pilote et membranes

Protocole Expérimental



Constantes cinétiques de la laccase libre et greffée pour la dégradation de l'ABTS et de la tétracycline

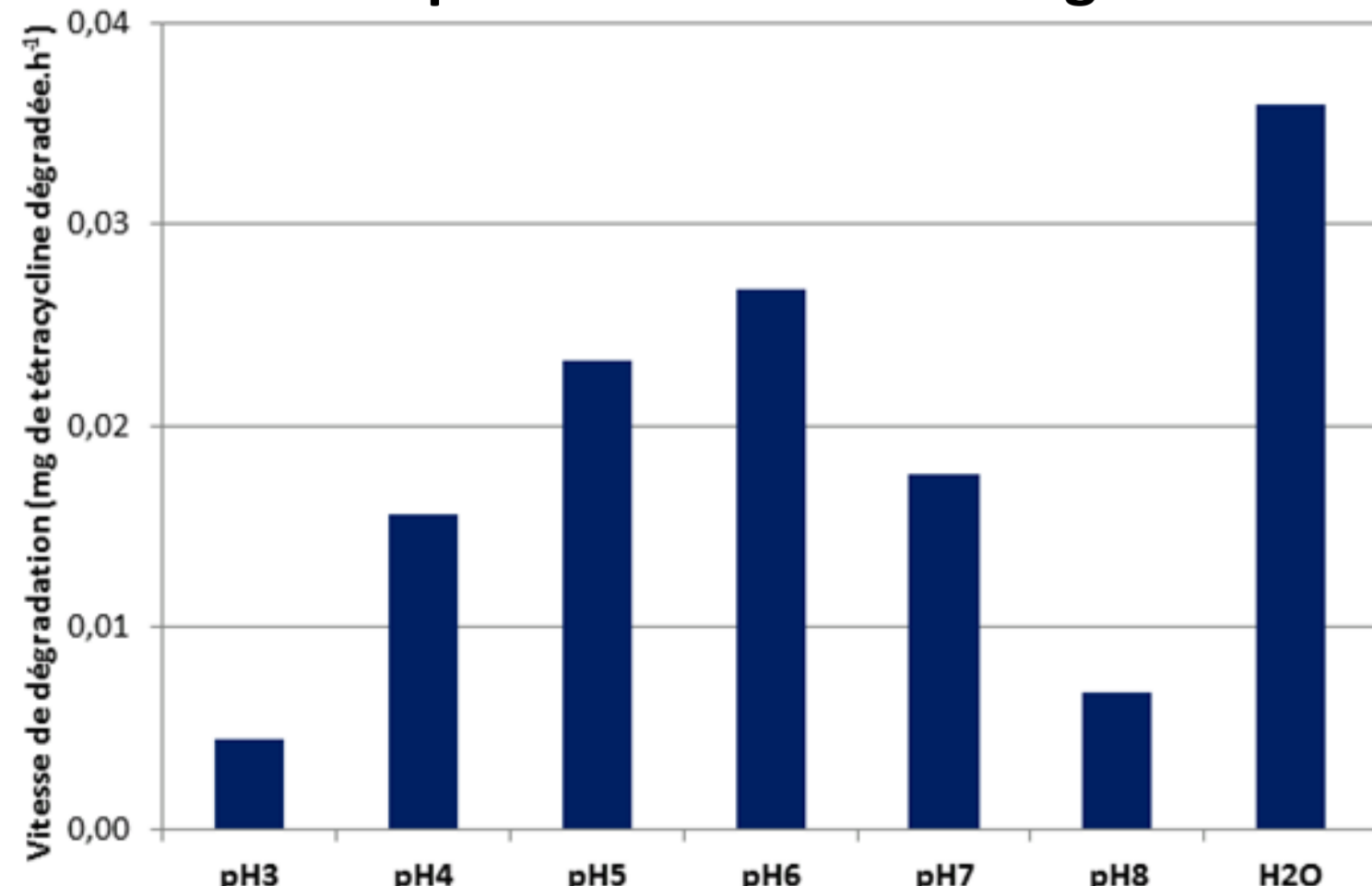
Substrat	Enzyme	V _{max} (μmol.min ⁻¹)	K _m (μmol.L ⁻¹)
ABTS	Libre	0,13	127
	Greffée	0,58	28
Tétracycline	Libre	0,60	282
	Greffée	0,67	57

Résultats

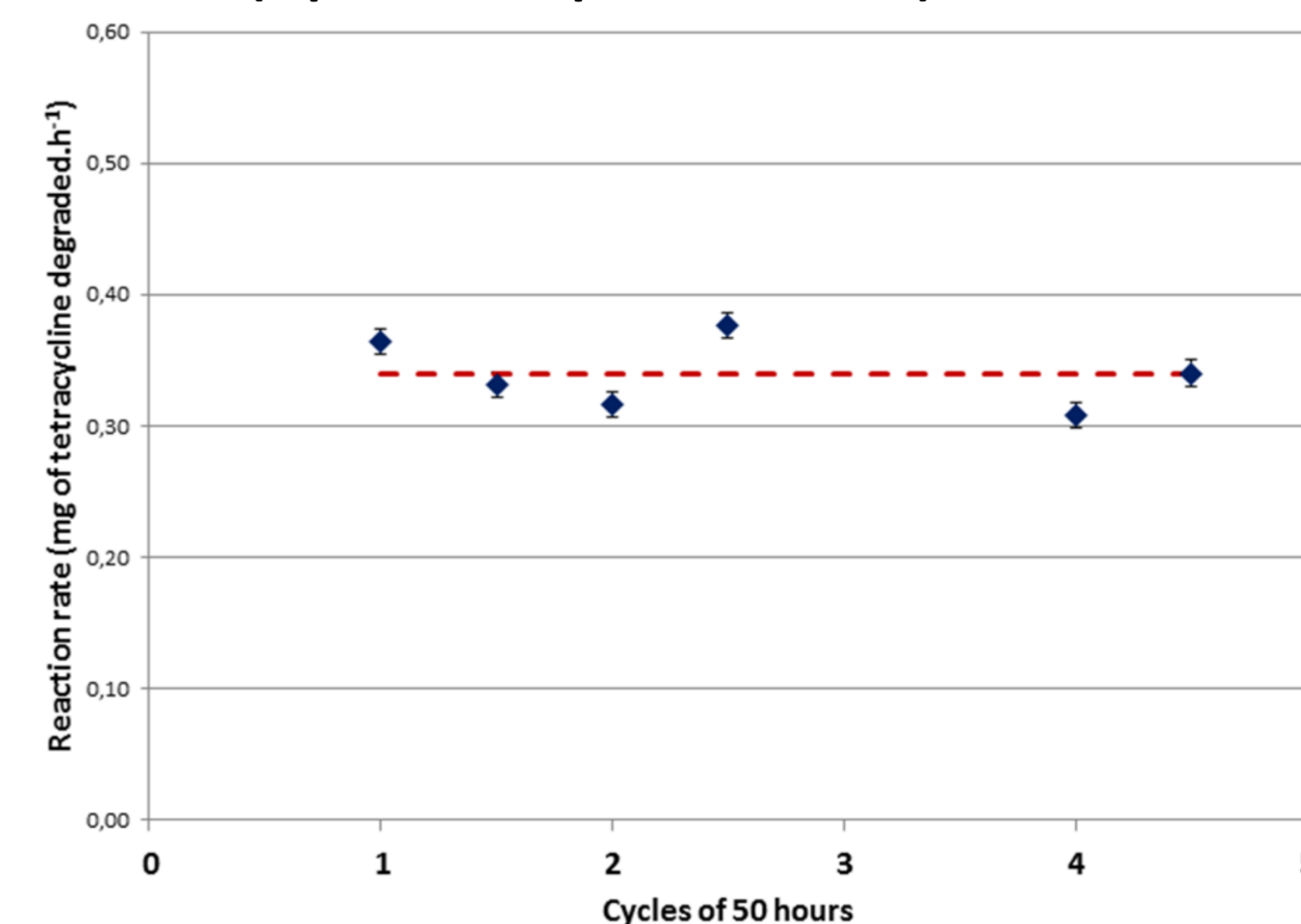
Vitesses de dégradation et dégradation spécifique pour différentes membranes

Diamètre moyen des pores (μm)	Type de membrane	Longueur (cm)	Surface (cm ²)	Vitesse de dégradation (mg.h ⁻¹) (± 8%)	Vitesse de dégradation spécifique (mg.h ⁻¹ .m ⁻²) (± 8%)
0.2	Monocanal	15	28.6	0.33	116
		25	50.6	0.58	115
	Multicanaux	15	57.2	0.60	106
		25	101.2	1.15	114
1.4	Monocanal	15	28.6	0.43	149
	Multicanaux	15	57.2	0.81	141
		25	101.2	1.39	138

Influence du pH sur la vitesse de dégradation



Dégradation de la tétracycline (20 ppm, eau osmosée) en pilote laccase greffée sur une membrane monocanal (Øpore = 0,2 μm, L = 15 cm), 25°C



1-Design and optimization of an enzymatic membrane reactor for tetracycline degradation. M. de Cazes, M.-P. Belleville, E. Petit, M. Llorca, S. Rodriguez-Mozaz, J. de Gunzburg, D. Barceló, J. Sanchez-Marcano. *Catalysis Today*, 2014, 236, 146-152.

2-Characterization of laccase-grafted ceramic membranes for pharmaceuticals degradation. M. de Cazes, M.-P. Belleville, M. Mougél, H. Kellner, J. Sanchez-Marcano. Soumis à *Journal of Membrane Science* (2014)

CONCLUSIONS

- La laccase de *trametes versicolor* a pu être greffée sur des membranes en céramique et pour la première fois, la localisation du biocatalyseur a pu être visualisée par immunomarquage.
- la laccase greffée est plus active et plus aussi plus stable que l'enzyme libre.

- les membranes enzymatiques peuvent être utilisées en continu pendant au moins 10 jours sans perte notable d'activité.
- L'utilisation de supports poreux avec de larges pores permet d'augmenter le nombre de sites de greffage à l'intérieur de la porosité, améliorant ainsi le contact enzyme /substrat.

Ces recherches ont été financées par l'Union Européenne, 7ème programme cadre (FP7/2007-2013) projet ENDETECH, n°282818.