

**MORPHOLOGIES ET PERFORMANCES DES BOUES
EN BIOMETHANISATION EN LIT FLUIDISE
DE CELLULES IMMOBILISEES SUR MICRO-SUPPORT.**

D. PONCELET, M. CONSTANT, F. DE PAOLI, E.-J. NYNS et H. NAVEAU
Université Catholique de Louvain

Summary

Several morphologies for the active biomass are observed in biomethanation of wastewater in fluidised beds of cells immobilised on a microsupport. The granular morphology assures the highest performance and stability of this process. It is shown that the formation of granules is associated with an hydrodynamic and feeding stress. On this basis, a starting procedure for fluidised bed methane reactors is proposed.

1. INTRODUCTION

La biométhanisation d'eaux résiduaires en lit fluidisé de cellules immobilisées sur micro-support est un procédé qui s'annonce comme une solution d'avenir pour le traitement de ces eaux. Ce procédé permet, en effet, un degré d'épuration élevé en un temps court grâce à une forte accumulation de biomasse active. On observe de plus une grande stabilité du procédé, même à fortes charges, (Binot, 1982).

Le sujet de cette étude est de préciser le rôle de la morphologie des boues dans les performances de ces réacteurs et de définir les facteurs déterminant cette morphologie.

Sur cette base, on s'attache à reformuler le problème de la mise en route des réacteurs méthanigènes à lit fluidisé de cellules immobilisées sur micro-support. On conclura en proposant une procédure de démarrage de ces réacteurs.

1.1. Description du procédé

L'immobilisation des microorganismes dans le procédé utilisé consiste en une fixation naturelle des bactéries sur des grains de sable de 10 à 70 μ m. Ces unités s'agglomèrent pour former des ensembles pouvant contenir plusieurs centaines de grains de sable. Les agglomérats, ainsi formés, sont maintenus en fluidisation par un courant ascendant.

Les avantages de ce mode d'immobilisation résident dans :

- La haute concentration en biomasse active accumulée, spécialement en ce qui concerne la communauté méthanigène,
- Le faible volume de support à mettre en oeuvre (1 % du volume du réacteur),
- La bonne sédimentabilité des boues et la vitesse maximale de fluidisation inférieure à celle des lits fluidisés à "macro-support" (0.3 à 1 mm), ce qui permet de travailler à vitesse ascensionnelle moins élevée et donc à coût énergétique moindre,
- La forte porosité des agglomérats obtenus, qui facilite le transfert de masse entre le milieu et la biomasse fixée et dont résulte un taux d'activité élevé.

Il faut ajouter à cette liste les avantages propres aux lits fluidisés en général et spécialement l'absence de chemins préférentiels et de volumes morts.

Nous utilisons deux géométries de réacteur (cylindrique et tronc-conique) avec une préférence pour cette deuxième géométrie car, dans les réacteurs tronc-coniques, (Poncelet et al., 1980) :

- l'emportement éventuel du solide est graduel en fonction du débit,
- en régime de lit déplacé, c'est-à-dire lorsque la vitesse maximale de fluidisation est atteinte dans le bas du lit, la porosité moyenne et le volume du lit dépendent peu du débit d'entrée,
- la diminution de la vitesse ascensionnelle hydraulique avec la hauteur contrebalance l'effet d'emportement des particules par le gaz,
- la croissance de la biomasse active sur les particules solides, ne déstabilise pas le lit de particules mais provoque seulement le déplacement de celui-ci.

1.2. Mécanisme de formation des agrégats

Sur la base des données de la littérature et de l'expérience propre à notre laboratoire, nous divisons le mécanisme de formation des agrégats en cinq étapes :

- Un film organique, de nature principalement glyceprotéinique (Corpe, 1976; Baier, 1980b; Carlier, 1981) s'adsorbe sur les grains de sable introduits dans le milieu de fermentation. Ce premier film de macromolécules augmente la capacité d'adsorption de composés de faible poids moléculaire et confère à la surface du support des propriétés proches de celles des bactéries, c'est-à-dire de colloïdes hydrophiles (Busch et Stumm, 1962; Hodge et Metcalte, 1958).

- Cette première étape est suivie, endéans les quelques heures, de la formation d'une première couche de cellules simplement adsorbées de manière réversible sur la surface du support et assez facilement détachables (Corpe, 1976). La présence prépondérante de bactéries mobiles dans cette première couche (Mitchell, 1978), confirmée dans le système étudié ici, (Carlier, 1981), permet d'envisager une réponse chémo-tactile au gradient de concentration existant à proximité de la surface solide. Le mécanisme d'adhésion durant cette étape implique une neutralisation de charges entre le support et les bactéries.
- Cette première population évolue alors, dans les jours qui suivent et on voit s'installer et se développer d'autres espèces bactériennes (Corpe, 1978a; Mitchell, 1978) capables de se fixer de manière quasi irréversible par la synthèse d'une matière polymérique exocellulaire (Gibbons et Van Houte, 1975; Corpe, 1978) reconnue comme étant essentiellement de nature glycoprotéinique (Corpe, 1978b).
- Le développement du biofilm sur le support est concomitant à l'agglomération des entités sable-biomasse active avec formation d'agrégats pouvant contenir jusqu'à plusieurs centaines de grains et avoir un diamètre de 3 à 5 mm. La formation d'agrégats et leur maturation complète pourront toutefois couvrir une très longue période (plusieurs mois). La cohésion dans ces ensembles sera assurée par pontage à l'aide d'exobiopolymères ou par émaillage par des filaments de nature glycoprotéinique ou par des bactéries filamenteuses (Carlier, 1981).
- La taille des agrégats est limitée par des phénomènes d'érosion mais surtout de scission. Quand l'agrégat atteint une certaine taille, les forces de cohésion deviennent insuffisantes et l'agrégat se rompt (Binot, 1983).

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Le fermenteur

La Figure 1 montre un montage type de digesteur. C'est essentiellement au niveau de la cuve que se situent les éventuelles différences. On dispose de réacteurs à cuve tronc-conique ou tronc-pyramidale (avec un rapport des surfaces supérieure et inférieure de 10) de 0,33; 1,1; 1,2 et 2 l et d'autre part un réacteur à cuve cylindrique de 12 l.

Les pompes utilisées sont de type pompe à membrane. Une pompe assure la recirculation de la liqueur mixte et les deux autres pompes servent à alimenter le digesteur en substrat concentré et en eau de dilution. L'influent est introduit en amont de la pompe de recirculation pour assurer un débit constant dans la cuve.

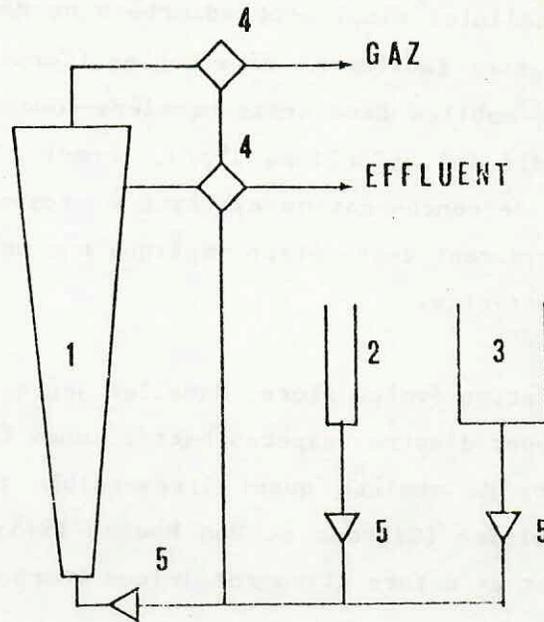


Fig. 1. : Montage des réacteurs

1. Cuve de fermentation
2. Cuve d'alimentation en substrat
3. Cuve et alimentation en eau
4. Séparateur Gaz-liquide
5. Pompe

2.2. Substrat

Le substrat est un résidu industriel, le citrocol, issu de la production de citrate à partir de mélasse de sucrerie. Il est dilué à l'entrée par une eau tamponnée par du monohydrogénocarbonate de sodium. La composition du citrocol est reprise dans le Tableau 1.

Le choix du substrat est basé sur les critères suivants :

- A l'état concentré, il peut être conservé pendant une très longue période sans qu'on observe d'évolution physique ou chimique. Il en résulte l'élimination d'une source de variation dans les essais,
- Le citrocol est complètement soluble dans l'eau et ses composés n'interfèrent donc pas avec les estimations de la concentration en biomasse active (matières en suspension),
- L'introduction des charges organiques et hydrauliques étant indépendantes (pompes à citrocol et pompe à eau). On pourra jouer indépendamment sur la charge volumique (B_V) et sur le temps de séjour hydraulique (θ),
- Une étude antérieure (Binot, 1983) a montré l'aptitude de ce substrat, à la biodégradation et à l'obtention d'une concentration en biomasse active importante et stable dans le temps.

Tableau 1. Composition moyenne du citrocol

(pour les symboles et abréviations, voir Tableau 2)

		par kg de citrocol
TS	700	g
VS	445	g
Cendres	60	g
DCO	590	g O ₂
COT	209	g C
N _T	38	g N
N _{NH4+}	2.5	g N
Matières azotées (1)	222	g
Sucres (exprimés en glucose) (2)	40	g
Acides volatiles totaux (exprimés en VA ₂)	0	g VA ₂
Acide citrique	31	g
Na ⁺ (2)	23	g
K ⁺ (2)	16	g
Ca ⁺⁺ (2)	2	g
Pi (2)	2	g
Cl ⁻ (exprimé en NaCl) (2)	33	g NaCl
SO ₄ ⁻ (exprimé en H ₂ SO ₄) (2)	5	g H ₂ SO ₄
Masse volumique	1350	kg l ⁻¹

(1) $(N_K - N_{NH4+}) \times 6,25$

(2) déterminé par le laboratoire d'analyse de la citrique Belge S.A.

2.3. Les méthodes d'analyse

La demande chimique en oxygène (DCO) est mesurée par oxydation chimique par K₂Cr₂O₇ en solution acide sulfurique bouillante suivant la norme Belge NBN T91-201. On distinguera :

- la DCO_S, mesure de la DCO sur la partie soluble (filtré sur millipore 0,45 m) qui estime la matière organique en solution,
- la DCO_X, mesure de la différence entre la DCO totale et la DCO_S de l'échantillon, qui est représentative de la biomasse active.

Le dosage du coenzyme F₄₂₀, coenzyme spécifique des bactéries méthanigènes, par spectrofluorescence (Binot et al., 1981) est une mesure de l'activité des bactéries méthanigènes.

Les solides totaux (TS) sont déterminés comme la masse du résidu après traitement à 105 °C jusqu'à poids constant. Les solides volatils (VS) sont définis comme la différence entre les solides totaux et le résidu obtenu après 12 h à 450 °C. Les cendres sont assimilées à la masse de résidu après traitement à 1000 °C pendant 2 h.

Le carbone organique total (COT) est déterminé par oxydation de la méthode organique en CO₂, réduction du CO₂ en méthane et mesure de ce dernier par ionisation en flamme (DC 50 TOC analyse, Dohrman, Santa Clasen, Cal., U.S.A.).

La mesure de l'azote total (N_T) et de l'azote amoniacal (N_{NH4+}) sont effectuées suivant les normes NBN T91-252, après minéralisation préliminaire, ébullition en milieu acide sulfurique en présence de K₂SO₄ et CuSO₄ pour l'azote total.

La porosité du lit (ϵ) est déterminée par la formule :

$$\epsilon = (V_1 - V_2) / V_1$$

où V₁ est le volume de l'échantillon et V₂ le volume de la phase solide décantée d'échantillon. La porosité propre à la phase solide décantée est négligée.

2.4. Symboles et unités

Le Tableau 2 reprend l'ensemble des symboles et unités utilisés dans ce travail.

Tableau 2 : Symboles et Unités

<u>Grandeurs</u>	
B _V	charge volumique organique (g DCO l ⁻¹ d ⁻¹)
COT	carbone organique total (g C kg ⁻¹)
DCO	demande chimique en oxygène (g O ₂ l ⁻¹ ou kg ⁻¹)
F ₄₂₀	concentration en coenzyme F ₄₂₀ (M F ₄₂₀)
N _{NH4}	concentration en azote amoniacal (g kg ⁻¹)
N _T	concentration en azote total (g kg ⁻¹)
TS	solides totaux (g kg ⁻¹)
Q _{CH4} (X)	vitesse spécifique de production de méthane (l _{CH4} X ⁻¹ d ⁻¹)
u _{max}	vitesse maximale de fluidisation (m h ⁻¹)
r _{vCH4}	vitesse volumique de production de méthane (l _{CH4} l ⁻¹ d ⁻¹)
VS	solides volatils (g kg ⁻¹)
VA _n	concentration en acide gras et n carbonés (g l ⁻¹)
X	concentration en coenzyme F ₄₂₀ (M F ₄₂₀)

Indices

b	lit
DCO	biomasse active totale exprimée en DCO
e	effluent
F ₄₂₀	biomasse active méthanigène
o	influent
S	soluble
X	biomasse active

3. RESULTATS ET DISCUSSIONS

3.1. Morphologie de la biomasse active en lit fluidisé de cellules immobilisées sur micro-support

L'observation des photos 1, 2 et 3, prises dans nos réacteurs, montre qu'il existe plusieurs morphologies possibles pour la biomasse active. Nous avons classé en quatre catégories les différents aspects morphologiques qui caractérisent la biomasse active de nos lits fluidisés suivant son évolution, (Figure 2).

- Boue informe : le lit de biomasse active forme une masse compacte sans aucune structure apparente. Cet état est, en fait, celui de la biomasse active introduite au départ dans le réacteur.
- Boue particulaire : dès que la recirculation est amorcée, la boue est soumise à des forces hydrodynamiques telles, qu'elle se fragmente et s'organise en une nouvelle structure formée de très petites particules (Photo 1) plus ou moins compactes de diamètre proche de 1 mm.

L'évolution ultérieure de la boue peut s'orienter alors dans deux directions différentes :

- Boue floconneuse : la boue floconneuse à l'aspect d'une suspension lâche formée d'agrégats "chevelus". La taille des flocons pourra atteindre plusieurs millimètres (Photo 2).
- Boue granulaire : une boue granulaire se présente comme une suspension dense formée d'un grand nombre de petites sphères au contour bien net, qui forment des entités bien individualisées, mais fortement poreuses, leur taille variant de 1 à 5 mm (Photo 4 et 5).

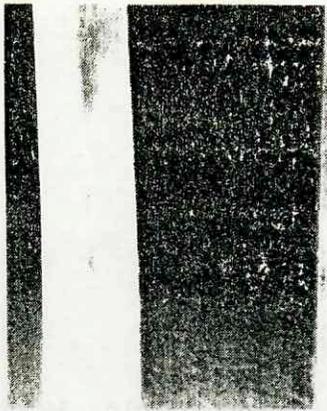


Photo 1. boue particulaire

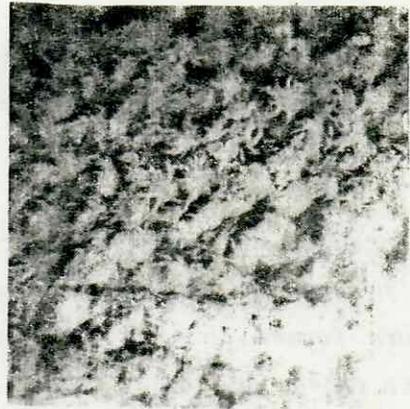


Photo 2. boue floconneuse

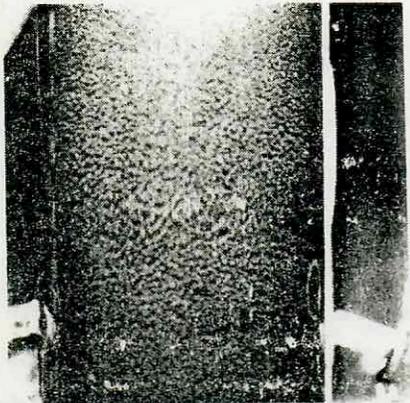


Photo 3. boue granulaire

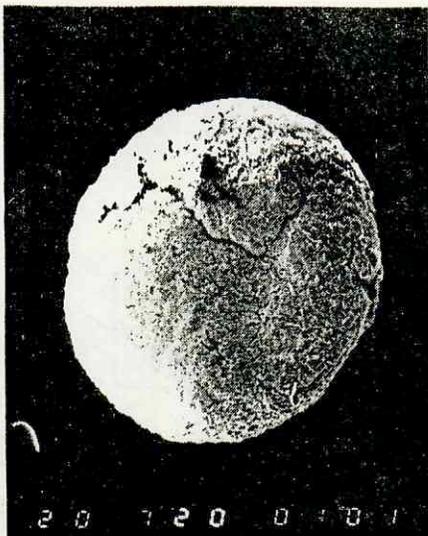


Photo 4. granule (90 x)



Photo 5. granule (1260 x)

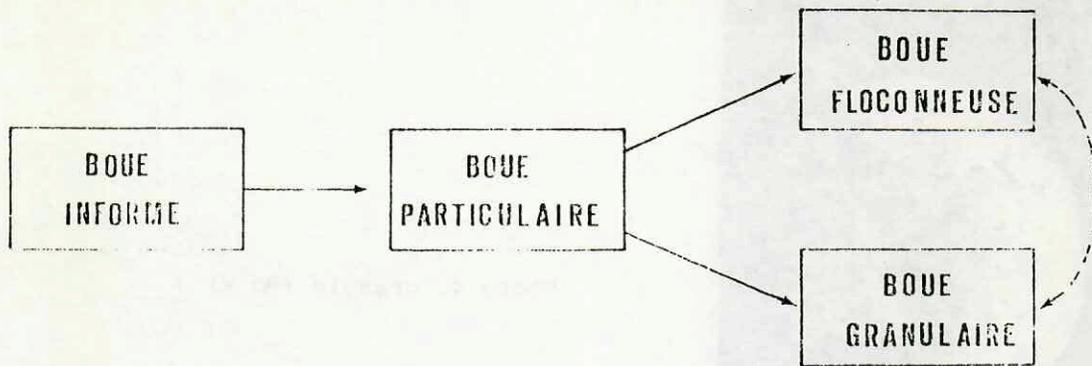


Fig. 2 : Organisation des morphologies

Les mécanismes de transfert d'une morphologie à une autre ne sont pas encore bien établis. On peut toutefois tirer les règles suivantes (Figure 2) :

- Le mécanisme de passage d'une morphologie à une autre pourrait se faire soit par sélection bactérienne soit par réponse bactérienne à un changement de conditions extérieures. La rapidité de passage d'une morphologie à l'autre (parfois en 1 heure) serait en faveur de la deuxième hypothèse.

Les conditions écologiques pourraient être différentes au sein des différents agrégats. La sélection pourrait alors jouer un rôle important dans la maturation et l'expansion de la morphologie.

- Le passage de la boue informe à la boue particulaire est rapide. Il est provoqué essentiellement par des causes mécaniques. La boue informe donne toujours, dans un premier temps, une boue particulaire.
- Les passages de la boue particulaire à la boue granulaire ou à la boue floconneuse pourraient se faire soit par agglomération de particules soit par développement des particules. A l'état actuel de nos recherches, il n'est pas possible de définir la contribution de chaque mécanisme.
- Le passage direct de la boue floconneuse à la boue granulaire et vice-versa est peu probable. Ce passage se fera via un état particulaire. Le mécanisme de passage direct n'est pas connu.
- Après un temps de maturation (quelques mois), l'état granulaire devient stable dans le temps (Binot, 1983).

3.2. Influences de la morphologie de la biomasse active sur les performances des boues

L'existence de plusieurs morphologies pour les boues immobilisées sur micro-support pose la question de l'influence de la morphologie sur les performances du fermenteur. Nous avons étudié une série d'états stationnaires sur des réacteurs méthaniques dont les boues ont été classées suivant la division proposée au point 3.1. Le Tableau 3 reprend les valeurs les plus significatives observées dans ces états stationnaires.

Tableau 3. Caractéristiques des lits de boues

	lit			unité
	particulaire	floconneux	Granulaire	
$DCO_{X,b}$	8,0	6,0	30	g DCO l_{LM}^{-1}
$DCO_{X,e}$	0,25	1,0	0,4	g DCO l_e^{-1}
$F_{420,e}$	2,0	2,5	13	$\mu M F_{420}$
r_{VCH_4}	2,0	1,5	11,6	$l_{CH_4}^{-1} d^{-1}$
$Q_{CH_4} (DCO)$	0,25	0,25	0,36	$l_{CH_4} g^{-1} DCO_{X,b} d^{-1}$
$Q_{CH_4} (F_{420})$	1,0	0,60	0,89	$l_{CH_4} mol F_{420} d^{-1}$
porosité	80	90	60	%
u_{max}	20	5	50	m h^{-1}

$Q = 1 d$, u (sommet du réacteur) = 1 à 2 m h^{-1}

3.2.1. Influence de la morphologie de la biomasse active sur la concentration bactérienne :

L'observation du Tableau 3 montre une grande différence entre les valeurs des concentrations en biomasse active totale ($DCO_{X,b}$) dans les lits granulaires (30 g DCO l_b^{-1}) et dans les lits floconneux et particuliers (6 et 8 g DCO l_b^{-1}).

L'augmentation de la concentration bactérienne ne peut s'expliquer uniquement par la diminution de la porosité. On est amené à conclure à des valeurs plus élevées de la concentration bactérienne dans les granules, et de leur masse volumique, que pour les autres types de boues.

3.2.2. Influence de la morphologie de la biomasse active sur la fraction méthanigène :

La proportion méthanigène dans la biomasse active totale peut être approchée par le rapport $F_{420,b}/DCO_{X,b}$. Les valeurs du rapport $F_{420,b}/DCO_{X,b}$, calculées à partir des données du Tableau 3 soit 0,43; 0,41 et 0,25 pour respectivement les lits granulaires, floconneux et particuliers, montrent que cette proportion est plus élevée dans les lits granulaires et floconneux que dans les lits particuliers.

Dans le cas des lits granulaires, l'hypothèse la plus probable pour expliquer cet effet est la formation de microcolonies méthanigènes au sein des granules. Dans ces microcolonies s'établiront des conditions environnementales favorables aux bactéries méthanigènes, indépendamment des conditions réelles des granules. Ce type de microcolonies a été observé dans notre laboratoire par microscopie de fluorescence (Binot, 1983; Carlier, 1981).

Dans le cas des boues floconneuses, nous verrons que leur existence est liée à des conditions favorables à une croissance équilibrée des communautés (variations de charges faibles, vitesse ascensionnelle réduite). Il est donc logique de trouver un rapport $F_{420,b}/DCO_{X,b}$ élevé.

3.2.3. Influence de la morphologie de la biomasse active sur la vitesse de production de méthane :

L'augmentation des valeurs de la concentration en biomasse active ($DCO_{X,b}$ et $F_{420,b}$) dans les lits granulaires vis-à-vis des autres lits s'accompagne d'une augmentation des capacités volumiques du digesteur et, entre autre, de la vitesse volumique de production de méthane (r_{VCH_4}) dans ces lits (Tableau 3).

Cet effet est d'autant plus important que l'augmentation de la concentration en biomasse active s'accompagne d'une élévation de la vitesse de production de méthane rapportée à la biomasse active totale ($Q_{CH_4}(DCO)$) (Tableau 3). Ce phénomène peut être attribué à l'accroissement du rapport des concentrations en communauté méthanigène et en biomasse active globale. La vitesse de production de méthane rapportée à la communauté méthanigène ($Q_{CH_4}(F_{420})$) est similaire dans les trois types de boues (Tableau 3).

La taille importante des granules (2 à 5 mm) et, en conséquence, du biofilm (3 à 2,5 mm), fait craindre des problèmes de diffusion ou de mortalité bactérienne au sein des granules. Ceci diminuerait la fraction active du biofilm bactérien avec réduction de la vitesse de production de méthane rapportée à la biomasse active.

On n'observe pas ce phénomène pour deux raisons. D'une part les photographies au microscope électronique (photo 5) des granules révèlent une forte porosité au sein des granules (canaux). Par contre, il n'a pu être mis en évidence la présence de reste de cellules lysées (parois). Il existe donc un phénomène de rejet, par exemple par scission des granules quand celui-ci atteint une taille trop importante (Binot, 1983).

3.2.4. Influence de la morphologie de la biomasse active sur la résistance à l'emportement :

Les concentrations effluentes en biomasse active ($DCO_{X,e}$) sont similaires pour les trois types de boues. Un meilleur estimateur de la stabilité du lit vis-à-vis de l'emportement est le rapport entre les concentrations dans l'effluent et dans le lit ($DCO_{X,e}/DCO_{X,b}$).

Les valeurs des rapports $DCO_{X,e}/DCO_{X,b}$, calculées à partir des données du Tableau 3 sont 0,03; 0,16 et 0,01 respectivement pour les lits particuliers, floconneux et granulaires.

Si l'on impose une vitesse ascensionnelle dans le réacteur supérieur ou égale à la vitesse de sédimentation des agrégats, ceux-ci seront emportés hors du fermenteur. Cette vitesse ascensionnelle limite est appelée vitesse maximum de fluidisation.

Les valeurs de la vitesse maximum de fluidisation, tirées du Tableau 3, sont des moyennes pour le lit. Cette vitesse pourra varier d'un agrégat à l'autre soit par manque d'homogénéité des diamètres et des densités des agrégats dans le lit, soit par absorption, momentanée, d'une bulle de gaz par l'agrégat. Ce dernier effet est important : nous avons observé que la vitesse maximum de fluidisation des granules au repos (production de gaz nulle) est de 80 m/h contre 50 m/h en lit actif.

Plus la vitesse maximale de fluidisation moyenne est faible et plus sa dispersion est élevée, plus le risque d'emportement des agrégats est important.

Le diamètre des particules est faible, la vitesse maximale de fluidisation sera donc peu élevée (Tableau 3). La probabilité de l'emportement des particules dans l'influent ne sera pas négligeable ce qui entraîne une valeur élevée du rapport $DCO_{X,e}/DCO_{X,b}$.

Pour les lits floconneux, l'aspect tentaculaire des agrégats permet de conclure à une faible densité bactérienne en leur sein et donc à une valeur faible de la masse volumique des flocons. La densité apparente des flocons est encore diminuée par leur capacité à retenir des bulles de gaz (aspect tentaculaire); cet effet jouera de ma-

nière aléatoire sur la densité des flocons. Il n'est donc pas étonnant de trouver une valeur très faible pour la vitesse maximale de fluidisation et très élevée pour le rapport $DCO_{X,e}/DCO_{X,b}$.

La valeur très faible du rapport $DCO_{X,e}/DCO_{X,b}$ dans les lits granulaires indique que très peu de granules sont emportés. En fait, la $DCO_{X,e}$ pourrait être due uniquement à une élution des bactéries non immobilisées ou de débris de granules.

3.2.5. Influence de la morphologie de la biomasse active sur la stabilité des lits :

A faible porosité, c'est-à-dire à vitesse ascensionnelle faible par rapport à la vitesse maximum de fluidisation, on observe des phénomènes de bullage ou de remouillage dans le lit. Par contre, à vitesse ascensionnelle élevée, proche de la vitesse maximum de fluidisation, la production de gaz sera susceptible de déstabiliser le lit. Il existe donc une gamme de vitesses ascensionnelles optimales. Un critère pour définir la stabilité hydrodynamique des lits est l'observation de l'interface supérieure du lit. Si cette interface est peu agitée et plane, la stabilité du lit est assurée.

Sur la base de l'observation de l'interface supérieure du lit, à une vitesse ascensionnelle de 1 m/h au sommet du réacteur tronc-conique, nous avons classé les lits de boues, vis-à-vis de la stabilité hydrodynamique dans l'ordre croissant suivant :

flocons > particules > granules

Notons, à côté de cette stabilité hydrodynamique des lits granulaires, une stabilité biologique des granules face à des variations de conditions alimentaires (B_V, θ) (Binot, 1983).

3.2.6. Conclusions :

L'ensemble des résultats du Tableau 3 et sa discussion permet de conclure que l'obtention d'une boue granulaire assure :

- une concentration maximum en biomasse active totale et spécialement méthanigène,
- une stabilité hydrodynamique du lit,
- des conditions de vitesse et de rendement maximums et stables pour la conversion anaérobie du substrat.

Le problème de l'optimisation du procédé et du démarrage de digestion anaérobie en lits fluidisés de cellules immobilisées sur micro-support consistera donc essen-

tiellement dans l'obtention d'une morphologie de boue adéquate, c'est-à-dire d'une structure granulaire du lit.

3.3. Facteurs influençant la morphologie de la biomasse active

A part l'influence de la composition de l'influent (substrat et additifs) sur l'agrégation et la morphologie, non abordée ici, les deux facteurs principaux susceptibles d'influencer la morphologie des boues sont la vitesse ascensionnelle dans le réacteur et la charge volumique.

3.3.1. Influence de la vitesse ascensionnelle du liquide sur la morphologie de la biomasse active :

La vitesse ascensionnelle dans le réacteur joue un rôle de sélection :

- par emportement hydraulique d'une partie de la biomasse,
- par effet de turbulence; une augmentation de la vitesse ascensionnelle correspondant à une augmentation de la turbulence.

La vitesse ascensionnelle qui définira la contrainte sélective par emportement est la vitesse ascensionnelle au sommet du réacteur. Par contre, la vitesse ascensionnelle moyenne sera une meilleure estimation de la contrainte par turbulence. Ce fait rend plus difficile la comparaison entre digesteurs de géométrie différente (cylindre et tronc-conique).

On observe dans les réacteurs tronc-coniques l'apparition des granules sur une large partie du réacteur en un temps court (1 à quelques heures). Dans les réacteurs cylindriques, par contre, les granules apparaissent dans le bas du réacteur, dans la zone conique où la turbulence est la plus importante, et envahissent lentement l'ensemble du réacteur (6 semaines pour un volume de lit granulaire de 10 l). Ces expériences ont été menées à vitesse ascensionnelle de 1 à 2 m/h au sommet des réacteurs.

Deux conclusions peuvent être tirées de ces expériences.

Premièrement, l'apparition de granules est favorisée par une élévation de la turbulence. L'apparition des granules dans les zones turbulentes expliquerait leur forte densité. Il a été montré; entre autre que la masse volumique et un biofilm augmentaient avec la turbulence (Zelver, 1979). Cet effet est dû au tassement physique des agrégats mais aussi à une sélection bactérienne ou à une réponse métabolique à un stress environnemental (Chavacklis, 1983).

L'augmentation de la turbulence, à elle seule, est toutefois insuffisante à l'obtention de granules. D'autre part, en réacteur tronc-conique, la rapidité d'apparition et de disparition des granules montre que le changement de morphologie n'est pas dû à une sélection bactérienne en soi.

Pour des raisons purement mécaniques, il est évident que l'existence de flocons, agrégats chevelus, est peu probable en zones turbulentes.

Deuxièmement, le comportement du réacteur n'est pas indépendant de sa géométrie. La géométrie tronc-conique constituerait, dans ce cas, un avantage certain car il est possible de maintenir une turbulence importante (vitesse ascensionnelle moyenne élevée) sans augmenter trop fortement la vitesse au sommet du réacteur.

La vitesse maximum de fluidisation d'une biomasse non fixée est d'environ 1 m/h. On maintiendra donc la vitesse ascensionnelle au sommet du réacteur entre 1 à 2 m/h pour sélectionner la communauté bactérienne immobilisée et floculente.

D'une part pour favoriser une forte concentration en biomasse active et donc la probabilité de rencontre et d'union de 2 agrégats, il conviendrait de limiter l'expansion du lit. Il ne serait donc pas intéressant d'augmenter trop fortement la vitesse ascensionnelle.

D'autre part, en contradiction avec le paragraphe précédent, on aurait avantage à augmenter la turbulence dans le réacteur par le biais d'une élévation de la vitesse ascensionnelle. Le choix d'une vitesse ascensionnelle sera donc un compromis entre ces deux hypothèses de travail.

Une solution à ce problème est l'utilisation de réacteurs à section variable qui, pour une vitesse au sommet faible, offriront des zones à fortes turbulences.

3.2.2. Influence de la charge volumique sur la morphologie de la biomasse active :

La charge volumique, ou plus exactement la charge massique, est susceptible d'influencer fortement le métabolisme bactérien mais aussi l'équilibre entre les communautés. La morphologie d'une biomasse active dépendra de l'écologie bactérienne au moment de la formation des agrégats, par exemple l'influence de celle-ci sur la production d'exopolymères. Il est donc fortement probable que la charge joue un rôle déterminant sur la morphologie de la biomasse active.

Nous avons testé cette hypothèse à partir d'une série de démarrages de réacteurs méthaniques tronc-coniques à 1 m/h. Nous avons observé la formation de cellules immobilisées sur micro-support.

support. Pour tous les réacteurs, le temps de séjour hydraulique était de 1 jour; la vitesse ascensionnelle était maintenue à 10 m/h dans le bas du réacteur et de 1 m/h au sommet du réacteur; la biomasse active était initialement sous forme particulaire. On peut résumer les observations faites comme suit (Figure 3) :

- une charge (3 à 7 g DCO l⁻¹ d⁻¹) constante ou faiblement croissante conserve la morphologie particulaire (Figure 3. courbe 1).
- une augmentation lente et croissante de la charge (augmentation journalière de 10 % de la charge précédente, à partir d'une charge de 2 g DCO l⁻¹ d⁻¹) provoque l'apparition de flocons (Figure 3. courbe 2).
- Une augmentation rapide, régulière ou décroissante de la charge (à partir d'une charge de 2 à 3 g DCO l⁻¹ d⁻¹, augmentation journalière et moyenne de la charge de 0,5 g DCO l⁻¹ d⁻¹) jusqu'à une valeur maximum, suivie d'une baisse de la charge (à 2 g DCO l⁻¹ d⁻¹) donne une boue granulaire (Figure 3. courbe 3).

La valeur maximum permise de la charge volumique, durant la troisième procédure est déterminée par l'apparition d'acides gras (2 g d'acétate et/ou 1 g de propionate) dans la liqueur mixte. La formation de granules est induite dans les quelques heures à quelques jours qui suivent l'apparition du stress (acide gras).

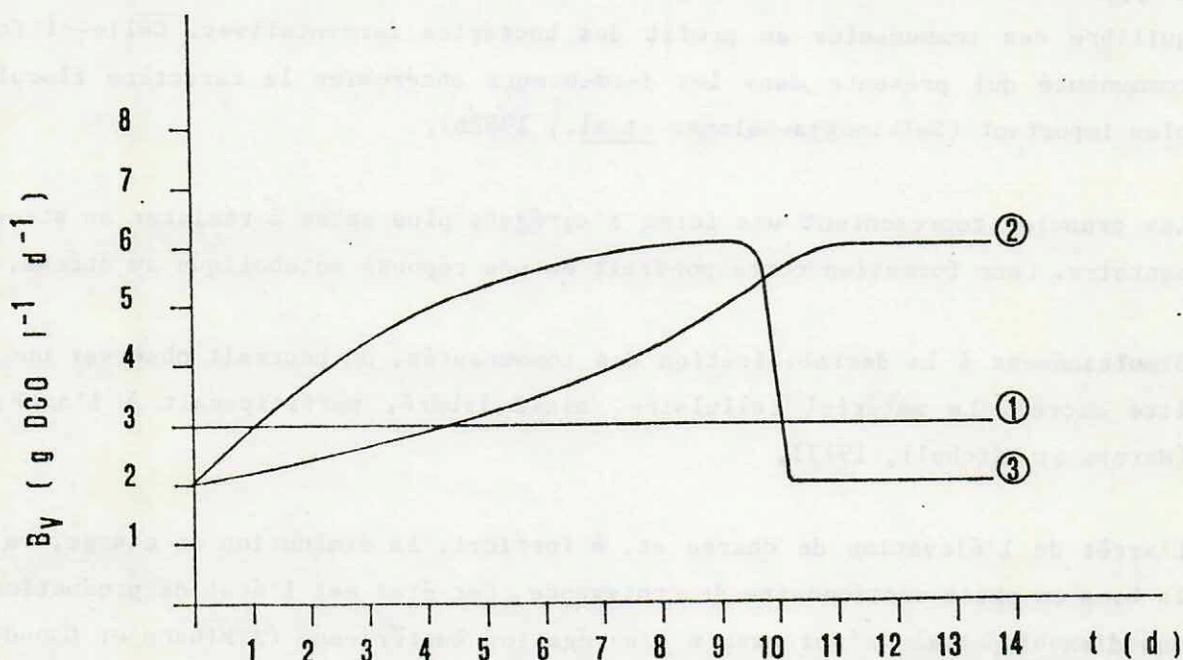


Fig. 3 : Exemple de procédure de démarrage

1. Particules
2. Flocons
3. Granules

La diminution de la charge après le stress est nécessaire pour limiter l'impact du stress et ne pas déstabiliser irréversiblement l'équilibre entre les communautés bactériennes. De même, on contrôle le pH et on l'ajuste si besoin à une valeur proche de 7.

On conclut de cette expérience que :

- la boue particulaire est le résultat d'une croissance faible de la biomasse active.
- la boue floconneuse est le résultat d'une croissance de la biomasse active par élévation lente de la charge en conditions non stressantes. La majorité des propositions de démarrage suivent cette procédure (Binot, 1983; Salkinoja-Salonen, 1982, Hall et Jovanie, 1982), le principe de base étant de provoquer une croissance équilibrée des communautés.
- La boue granulaire est le résultat d'une croissance de la biomasse active en conditions stressantes suivie d'une phase stationnaire voire endogène (chute de la charge).

L'explication de la corrélation entre cette dernière procédure, spécialement du stress, et l'apparition des granules est encore incomplète. On citera les hypothèses suivantes :

- L'apparition du stress (acides gras) est révélateur d'une déstabilisation de l'équilibre des communautés au profit des bactéries fermentatives. Celle-ci forme la communauté qui présente dans les fermenteurs anaérobies le caractère flocculant le plus important (Salkinoja-Salonen et al., 1982b),
- Les granules représentent une forme d'agrégats plus aptes à résister au stress alimentaire. Leur formation correspondrait en une réponse métabolique au stress,
- Simultanément à la déstabilisation des communautés, on pourrait observer une mortalité accrue. Le matériel cellulaire, ainsi libéré, participerait à l'agrégation (Harris et Mitchell, 1973),
- L'arrêt de l'élévation de charge et, à fortiori, la diminution de charge, va placer la boue en phase stationnaire de croissance. Cet état est l'état de production maximum d'exobiopolymères qui assure l'agrégation bactérienne (Atkinson et Daoud, 1976; Lovett et al., 1983).

La question principale qui se pose est le contrôle du stress. Trop faible, il ne provoque pas d'apparition de granules; trop important, il déstabilise irrémédiablement l'équilibre des communautés au sein du fermenteur.

Cette question, en fait, comporte deux éléments : d'une part, il faut déterminer la procédure provoquant le stress et, d'autre part, il faut définir la mesure et la limite permises pour ce stress;

La réponse à ces questions dépend de chaque cas particulier : la composition du substrat, les conditions physico-chimiques et l'histoire de la boue sont susceptibles d'influencer le comportement morphologique de la boue durant le stress. La proposition de démarrage, que nous ferons au point 4, sera donc à affiner selon chaque cas.

On limitera le stress dans le temps pour ne pas déstabiliser trop fortement l'équilibre entre les communautés. Dans cette optique, on maintiendra le pH au environ de 7 soit par ajustement du pH soit en tamponnant l'influent durant la période de démarrage.

La diminution de la charge, à l'apparition du stress, permettra aussi de limiter l'impact du stress de charge et de placer la communauté fermentative en phase stationnaire de croissance. La communauté méthanigène se rééquilibre avec les autres communautés bactériennes durant cette période.

3.4. Conclusions

Les granules présentent de grandes qualités de résistance aux stress alimentaires et aux conditions hydrodynamiques sévères. Leur formation représente une réponse de la biomasse active à ces conditions défavorables.

Vu les performances élevées des lits granulaires vis-à-vis des autres lits, l'optimisation de la conduite et du démarrage des lits fluidisés de cellules immobilisées sur micro-support passe par l'obtention de granules. Dans ce cadre, la phase de démarrage sera conduite pour provoquer les conditions de stress hydrodynamiques et alimentaires favorables à leur formation.

4. PROPOSITION DE DEMARRAGE

Sur la base des conclusions des points 3.3.1. et 3.3.2., nous proposons une procédure optimale de démarrage des fermenteurs méthanigènes à lit fluidisé de cellules immobilisées sur micro-support. Les valeurs données dans cette procédure devront être adaptées en fonction de chaque cas, en particulier en fonction du substrat.

4.1. Remplissage du réacteur

Le faible taux de croissance des bactéries anaérobies rend nécessaire l'inoculation préalable du milieu (40 % du volume du réacteur). L'ajout de sable (1 % en volume, sable de 10 à 70 μ m) se fait par le haut du réacteur dès la mise en route de la recirculation.

La réinoculation et l'ajout de sable devront être effectués en fonction des pertes dans l'effluent.

4.2. Phase d'adaptation

La vitesse ascensionnelle est amenée graduellement à 1 m/h au sommet du réacteur. Le temps de séjour est maintenu constant, entre $\frac{1}{2}$ et 1 jours. La charge est laissée à 2 g DCO $l_b^{-1} d^{-1}$. La période d'adaptation sera de 8 à 15 jours.

4.3. Mise en route

En conservant les autres facteurs constants, on augmente graduellement et journalièrement la charge de 0.5 g DCO $l_b^{-1} d^{-1}$. La durée de cette étape est fonction de l'évolution de la concentration en acides gras (maximum 2 g l_b^{-1} en acide acétique ou 1 g en acide propionique). Dès que la concentration maximum en acide gras est atteinte, on ramène la charge à une valeur de 2 à 3 g DCO $l_b^{-1} d^{-1}$. Durant cette phase, on contrôle le pH et si besoin, on le rétablit par ajouts adéquats.

La vitesse ascensionnelle est adaptée en fonction de l'évolution de la morphologie de manière à maintenir une porosité légèrement supérieure à 50 %. On gardera ainsi une expansion suffisante pour éviter des problèmes de tassement du lit et on conservera une concentration importante en biomasse.

Après obtention de granules, on augmente la charge lentement jusqu'à la valeur désirée.

5. RESUME

Par le suivi de 5 fermenteurs méthanigènes à lit fluidisé de cellules immobilisées sur micro-support, nous avons :

- mis en évidence l'existence de plusieurs morphologies de la biomasse active,

- montré que la biomasse active sous la forme granulaire est la plus performante et la plus stable biologiquement et hydrodynamiquement,
- montré que la formation de granules correspond à une réponse, essentiellement métabolique, à des conditions environnementales défavorables (turbulence, stress alimentaire).
- proposé sur cette base, une procédure de démarrage des lits fluidisés de cellules immobilisées sur micro-suppôts.

BIBLIOGRAPHIE

Atkinson, B. et Daoud, I.S. Microbial flocs and flocculation in Fermentation Process Engineering. *Advances in Biochemical Engineering*, 4, 41-124 (1976).

Baier, R.E. Substrata Influences on Adhesion of Microorganisms and their Resultant New Surface Properties, p 59-104. In G. Bitton, and R.C. Marshall (Ed.), *Adsorption of Microorganisms to surfaces*. J. Wiley and sons. (1980).

Binot, R., H. Naveau et E.-J. Nyns. Methanogenic potential activity of mixed liquors : fluorimetric monitoring. *Biotechnol. lett.*, 3, 623-628 (1981).

Binot, R., T. Bol, H. Naveau et E.-J. Nyns. Biomethanation by immobilised fluidised cells presented : I.A.W.P.R. 82, Copenhagen, Denmark, June 16-18. *Water Science and technology*, in the press.

Binot, R. Biométhanisation en lit fluidisé de microorganismes immobilisés. Thèse de doctorat, Louvain-la-Neuve, Belgique (1983).

Busch, P. et W. Stumm. Chemical interaction in the aggregation of bacteria. *Environmental Science and Technology*, 2, (1), 49-53 (1968).

Carlier, M. Exopolymères agrégeant une communauté bactérienne méthanigène. Mémoire de fin d'étude d'ingénieur industriel, Institut des Industries de Fermentation, C.E.R.I.A., Anderlecht, Belgique.

Characklis W. Fouling Biofilm Development : A process analysis *Biotechnology and Bioengineering*, 23, 1923-1960 (1981).

Corpe, W. Primary bacterial films and marine microfouling. p 105-108. In : Centre de recherches et d'études océanographiques, 92100 Boulogne, F (Ed.), Proc. 4th Int. Congress on Marine Corrosion and Fouling, June 14-18, Antibes, F. (1976).

Corpe, W. Microfouling : the rule of primary film forming marine bacteria. 52nd Colloid and Surface Sci. Symp. June 12-14, Knoxville, TN, U.S.A. (1978a).

Corpe, W. Formation and properties of primary bacterial films on solid substrates in the sea, p. 73. In : E.C. Fuller and H.G. Corbett (Ed), Proc. 52nd Colloid and Surface Sci. Symp. June 12-14, Knoxville, TN, U.S.A. (1978b).

Gibbons, R. et J. Van Houte. Dental cavities. Ann. Rev. Med. 26, 121-126 (1975).

Hall E. and M. Jovanie. Anaerobic Treatment of thermal Sludge conditioning liquor with fixed film and suspended Growth processes. Presented at : 37th Purdue Industrial waste conference west La Fayette, Indiana, May 11-13, 1982.

Harris, R. et R. Mitchell. The rule of polymer in microbial aggregation. Ann. Rev. Microbial, 27, 27-40 (1973).

Hodge, H. et S. Metcalfe. Flocculation of bacteria by hydrophilic colloids. Journal of Bacteriology, 75, 258-264 (1958).

Salkinoja-Salonen, M.S., E.-J. Nyns, P.M. Sutton, L. Van den Berg et A.D. Wheatley. "Starting-up of an anaerobic fixed-film reactor". I.A.W.P.R. Specialised seminaire : "anaerobic treatment wastewater in fixed film reactor", Copenhagen, Denmark, June 16-18. Water Science and technology, In press.

Lovet, D., B. Kavanagh et L. Herbert, "Effect of Sludge Age and substrate composition on the Settling and Dewatering characteristics of activated sludge" Water Research, 17 (11), 1511-1515 (1983).

Mitchell, R. Chemotactic influences on surface colonisation by microorganisms. 52nd Colloid and surface Sci. Symp. June 12-14, Knoxville, TN, U.S.A. (1978)

Poncelet, D. T. Bol, H. Naveau et E.-J. Nyns. "Biotechnologie des lits fluidisés en réacteur cylindrique et tronc-conique". Soumis à la Tribune du CEBEDEAU.

Zelver N. Biofilm Development and Associated Energy losses in water conduits. M.S. Thesis, Rice University, Houston, T.X. (1979).