

**SUPPORT TECHNIQUE ET RECHERCHE DANS LE CADRE
DES ANAEROBIES STRICTES DE L'ORSTOM MEXICO
EXEMPLE D'INTEGRATION**

H. FERRER (ORSTOM - Mexico)

1- Présentation du laboratoire et de son environnement

voir figure 1

2- Groupe de microbiologie du milieu ambiant

voir figure 2

Il comprend trois équipes interdépendantes en raison de leur objectif commun qui est le traitement anaérobie des eaux résiduaires urbaines ou d'origines industrielles. Les différents programmes développés sont:

- Microbiologie des anaérobies strictes.
- Ingénierie des digesteurs anaérobies pour le traitement des eaux.
- Posttraitement d'effluents issus de la digestion anaérobie par les jacinthes d'eau ou des microalgues.

Dans ce groupe une recherche adaptée aux besoins du pays s'est développée autour d'un système qui consiste à combiner les réacteurs anaérobies de deuxième génération du type UASB (Upflow Anaérobie Sludge Blanket figure 3) ou à pellicule fixée, figure 4, (traitement secondaire) avec une lagune contenant des jacinthes d'eau ou des microalgues (traitement tertiaire). Ces réacteurs sont destinés à diminuer le taux de matière organique polluante et la lagune les sels nutritifs (P et N microalgues) et ou les métaux lourds (Pb, Hg, etc... jacinthes d'eau figure 5). Un travail au niveau du laboratoire et au niveau de réacteurs semi-pilotes, tant sur les aspects fondamentaux qu'appliqués, permet d'acquérir une connaissance plus détaillée de ces procédés afin de passer au stade industriel. Ce système permet d'obtenir un traitement des eaux résiduaires dans des conditions économiques avantageuses.

3- Quelques principes fondamentaux (voir figure 6)

3.1 Avantages des digesteurs anaérobies

Les principaux avantages du traitement anaérobie (absence d'oxygène) des eaux usées par rapport aux systèmes aérobies employés à l'heure actuelle (tel le procédé dit à boues activées) sont:

- moindre coût de construction et d'opération dû essentiellement à l'absence d'aération forcée ce qui permet une économie très importante en équipement et en dépense énergétique.
- Possibilité d'appliquer des charges organiques très élevées.
- Faible production de boues due à des taux de croissance très faibles de la biomasse anaérobie. En revanche les procédés aérobies génèrent une très grande quantité de boues qu'il est nécessaire de traiter ultérieurement, le plus souvent par voie anaérobie.

- Bilan énergétique positif si l'on considère la production de gaz méthane lors de la digestion anaérobie de la matière organique. Ce gaz pouvant être réutilisé pour le réchauffement des réacteurs, et produire de l'énergie électrique pour les besoins propres de l'installation. Néanmoins, les systèmes anaérobies présentent le fâcheux inconvénient d'être longs à démarrer ce qui fait perdre un temps appréciable lors de la mise en route des procédés; par ailleurs les taux de dégradation de la matière organique ne sont pas toujours suffisants pour permettre d'obtenir un effluent de qualité acceptable, d'où l'intérêt de coupler parfois un tel procédé à un autre aérobie pour obtenir une meilleure finition.

3.2 Processus de la fermentation anaérobie

Le traitement anaérobie comprend une série de réactions nécessaires à la dégradation de la matière organique en l'absence d'oxygène. Ce processus est réalisé par les microorganismes anaérobies facultatifs, et anaérobies strictes lesquels transforment la matière organique en méthane et gaz carbonique.

Ce processus se déroule en trois étapes (figure 7):

Etape de fermentation; les microorganismes anaérobies facultatifs hydrolysent les molécules organiques (carbohydrates, lipides et protéines) en acides gras volatiles comme l'acétate, le formiate, le butyrate, le propionate, en alcools et en hydrogène et gaz carbonique.

Etape acétogénique; ce sont les bactéries acétogènes qui à partir des métabolites des bactéries fermentatives vont produire de l'acide acétique et de l'hydrogène.

Etape méthanogénique; ce sont les bactéries anaérobies strictes qui transforment les métabolites des bactéries acétogènes en méthane et CO₂.

Dans les digesteurs anaérobies 70 % du méthane est produit à partir de l'acide acétique; les 30 % restant pouvant être produit à partir des autres substrats comme le formiate, l'H₂, CO₂, méthanol. Les produits de fermentation méthanique sont le biogas, source d'énergie stockable, et les boues de digestion, excellent fertilisant

4- L'équipe de microbiologie des anaérobies strictes Cette équipe constitue le pôle principal de l'action de l'ORSTOM au sein du groupe précédemment décrit de microbiologie du milieu ambiant (responsable JP GUYOT). Sa thématique est essentiellement fondée sur la compréhension de l'écophysiologie de la digestion anaérobie. Les digesteurs anaérobies sont des réacteurs biologiques dont le bon fonctionnement est conditionné par celui des microorganismes avec lesquels ils sont inoculés. Le programme de recherche s'est donc naturellement articulé autour de différents axes.

4.1 Les inocula

- Recherche d'inocula appropriés pour l'ensemencement des réacteurs.
- Etudes microbiologiques des inocula, composition, activité microbiologique.
- Développement d'un procédé de production d'inoculum.
- Etude comparative du démarrage de digesteurs inoculés avec différents inocula en opérant sous différentes conditions d'alimentation (régimes, composition des effluents).
- Etude de la granulation des boues dans les réacteurs UASB.

4.2 Effluents et molécules difficilement biodégradables:

- Etude du traitement anaérobie d'effluents de l'industrie pétrochimique (Ex: industrie produisant de l'acide téréphtalique)
- Isolement de souches microbiennes anaérobies dégradant les composés aromatiques ou d'autres substances pouvant se rencontrer dans les effluents des industries chimiques ou pharmaceutiques (acide paratoluïque, acétamide).

Cette recherche est menée en étroite collaboration avec nos collègues mexicains et suit de très près leurs préoccupations. Grâce aux résultats acquis le groupe a pu obtenir une meilleure maîtrise des inocula (un brevet est en cours de dépôt) et définir ses propres stratégies de traitement de certains effluents difficiles. Actuellement 2 réacteurs UASB sont en cours de construction, un de 50 M³ pour le traitement des eaux résiduaires, un autre de 40 M³ pour le traitement d'effluents provenant d'une industrie fabriquant des levures.

5- Support technique à la recherche

5.1 Présentation générale: le laboratoire doit faire face à de nombreux types de demandes venant des chercheurs:

- Analyses chimiques quantitatives de routine.
- Analyses chimiques quantitatives à la demande, qui doivent répondre à un problème nouveau, comme par exemple l'étude de la biodégradabilité d'un composé inhabituel.
- Maintenance et contrôle de la qualité analytique qui passe par celle des équipements, séminaires et rapports techniques.
- Mise en route et opérations de réacteurs anaérobies.
- Manipulations de microorganismes anaérobies strictes.

Pour répondre à ces besoins le laboratoire s'est doté de 3 chromatographes en phase gazeuse (dont 1 grâce à la MEIST) pour les analyses de gas et des métabolites solubles résultant des activités microbiennes et d'un spectrophotomètre UV (BECKMAN). Le département dispose aussi d'un HPLC qui malheureusement se trouve actuellement saturé. Pour la manipulation des bactéries anaérobies strictes le laboratoire possède une hotte anaérobie contenant de l'azote, 95% et de l'hydrogène, 5% (avec piège d'O₂ au chlorure de palladium) et un microscope à contraste de phase équipé d'un système d'épifluorescence pour la détection des bactéries méthanogènes.

5.2 Les analyses quantitatives de routine.

- Les paramètres de contrôle des digesteurs anaérobies:
le suivi des digesteurs anaérobies impose l'analyse des paramètres suivants:
- la demande chimique en oxygène (DCO) qui permet de déterminer la concentration en matière oxydable à l'entrée et à la sortie d'un digesteur anaérobie afin de pouvoir déterminer l'efficacité de dépollution en terme de % de DCO éliminée par le réacteur.

- **Matière sèche totale (MST) et la matière volatile en suspension (MVS):** la MST caractérise le résidu total après séchage à 105°C à poids constant des eaux usées à traiter ou des boues de digestion. Si un effluent a une teneur en MST élevée il faudra s'orienter vers des procédés permettant la digestion de cette matière solide. La MVS obtenue après calcination à 500°C des effluents ou des boues de digesteurs permet de caractériser la matière organique contenue dans la MST. Dans le cas des boues de digesteurs la MSV caractérise essentiellement la biomasse et permet de définir certains paramètres du réacteur comme la charge massique (KgDCO appliquée/Kg MSV/jour).
- **L'alcalinité:** à l'entrée et à la sortie du réacteur par dosage volumétrique permet de suivre le pouvoir tampon des effluents et de prévoir son comportement face à une acidification.
- **Le pH :** à l'entrée et à la sortie. Ce paramètre est important car en cas d'acidification du réacteur le procédé est gravement compromis. Le pH du réacteur se situant entre 6.8 et 7.2
- **Le potentiel redox:** pour que les bactéries méthanogènes puissent opérer dans des conditions adéquates le Eh doit être inférieur à -200 mV
- **Composition du gaz produit:** analysés en chromatographie phase gazeuse à conductivité thermique, permet de déterminer le % de gaz produit. Le biogaz est surtout composé de CH₄, CO₂ et parfois de H₂S en faible quantité. En cas de mauvais fonctionnement on détecte de l'H₂ ce qui impose une décision rapide pour rétablir les conditions optimales d'opération.
- **Analyses des activités microbiennes:**
elles permettent de caractériser les boues du digesteur, leur état et de suivre leur évolution. Les cinétiques de dégradation des AGV classiques (acétate, butyrate, propionate) sont analysés en chromatographie phase gazeuse avec FID. Ces activités peuvent être confirmées à partir de la production de méthane. Les analyses sont périodiquement reconsidérées en fonction de l'évolution des colonnes chromatographiques. Actuellement le laboratoire s'équipe de colonnes capillaires WIDE BORE (Ø=0.53 mm) mieux adaptée à nos besoins. Pour les AGV les nouvelles mises au point sont en cours avec la colonne suivante: Supreox FA 10m X 0.54mm, 1.2µm 150°C ALLTECH ref 975110. Actuellement les AGV sont analysés avec une colonne en acier inox de 1/8 de diamètre et de 1m de long remplie de porapack Q (80 - 100 mesh). Cette colonne ne nous satisfait plus en raison des phénomènes d'adsorption et de Ghostings (pics fantômes) et de la faible reproductibilité des analyses.
En marge des analyses d'activité microbienne le laboratoire est parfois amené à analyser la teneur en polysaccharides totaux (méthode DUBOIS) et en protéines totales (méthode au bleu de COOMASSI) par colorimétrie.

5.3 Mise au point d'analyses à la demande:

Les programmes de recherche en constante évolution impliquent des mises au point d'analyses sortant de l'ordinaire. Ainsi l'étude de la biodégradation des composés aromatiques entraîne une méthodologie d'analyse spécifique à certains composés.

Actuellement nous essayons d'analyser l'acide para-toluïque par HPLC. ou en CPG avec la colonne suivante: HP 1(méthyl silicon gum) 5m X 0.53mm X 2.65µm ref 4293415.

Par ailleurs les chercheurs du laboratoire tentent d'isoler les bactéries anaérobies strictes dégradant l'acétamide. Le suivi de cette dégradation nécessite une mise au point d'analyse de l'acétamide en CPG en utilisant une colonne capillaire superox II, 10 m X 0.53mm, 1.2 um 280°C ALLTECH ref 9951102.

5.4 Qualité des analyses: Pour les activités et les cinétiques il est indispensable de choisir soigneusement avant tout la méthode à utiliser, et optimiser les paramètres d'analyse. Cette qualité passe aussi par la maintenance périodique des équipements qui consistent à contrôler la précision et la reproductibilité des analyses chromatographiques dans le temps. Des séminaires sont organisés sur les nouvelles mises au point et les nouvelles techniques. Des rapports techniques sont établis de manière à diffuser l'information et à maintenir le chercheur au courant des évolutions.

5.5 Mise en route et opération des réacteur anaérobies: Cette mise en route est une étape difficile. Le temps de mise en route est très important et doit être le plus court possible. Pour cette raison la qualité de l'inoculum doit répondre à plusieurs paramètres, Eh = -200 mV, capacité de granulation, vitesse de sédimentation des boues, etc... Le réacteur atteint la phase opérationnelle quand les paramètres suivants sont stables: pH, Eh, T, rendement d'épuration, biogas produit. Lors de ces états d'équilibre on caractérise les paramètres moyens d'opération.

5.6 Manipulations sur les microorganismes anaérobies strictes:

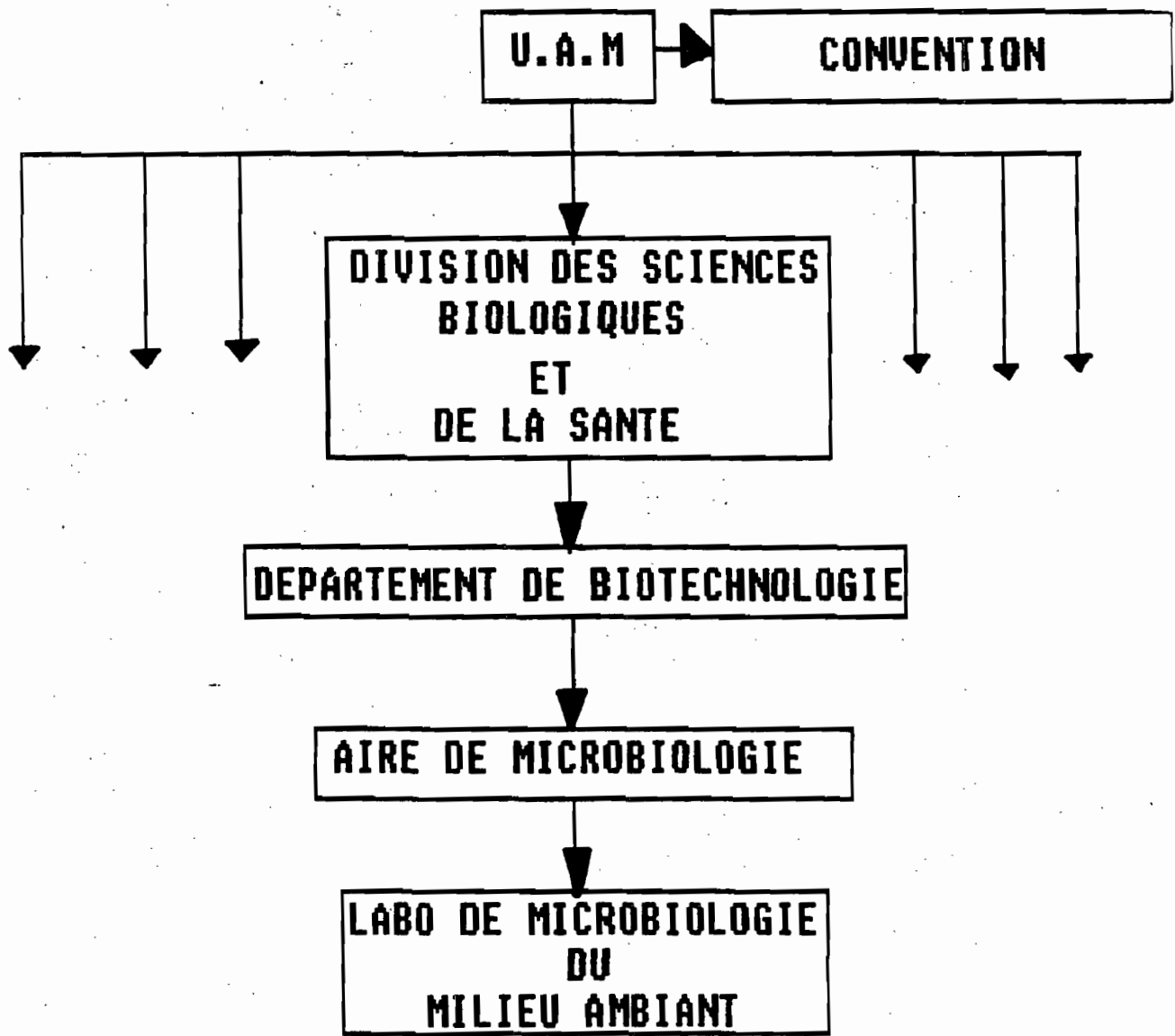
A partir des boues des réacteurs on caractérise la composition microbienne par comptage des différents groupes impliqués dans les étapes de la digestion anaérobie de la matière organique. Ces comptages, couplés avec les analyses d'activité microbienne, nous renseignent sur la composition des boues et leur potentiel biologique.

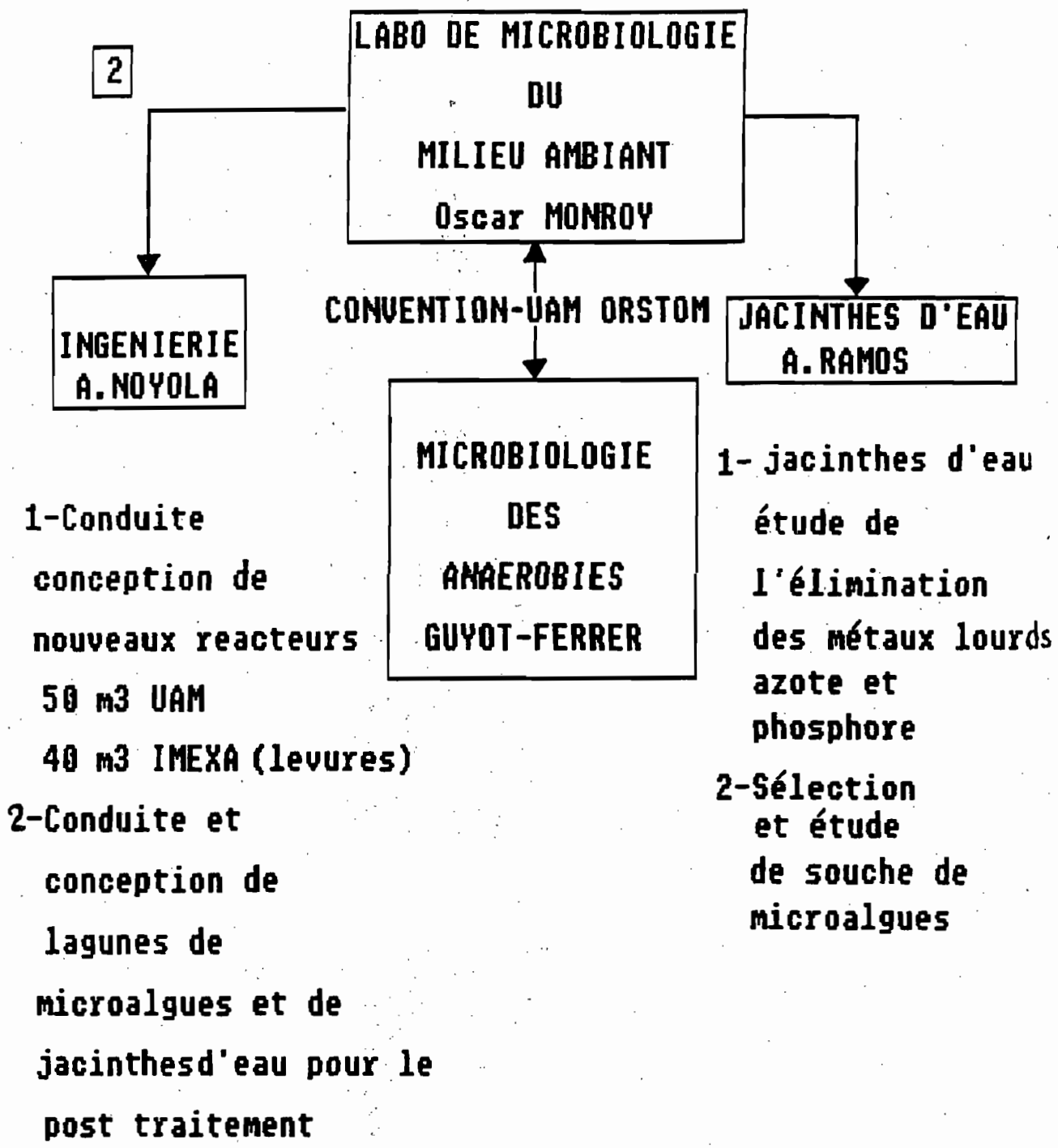
Par ailleurs, les microorganismes ayant des capacités particulières d'utilisation de certaines substances (composés aromatiques par exemple) sont isolés. Etant donné que ces bactéries sont anaérobies strictes, c'est-à-dire sensible à l'oxygène, on utilise des techniques de microbiologie spéciales. Toutes les manipulations des échantillons sont effectuées à l'abri de l'air en employant une verrerie spéciale (tubes de HUNGATE) et une hotte anaérobie. Les milieux de cultures sont dégazés par ébullition sous azote et réduits.

1

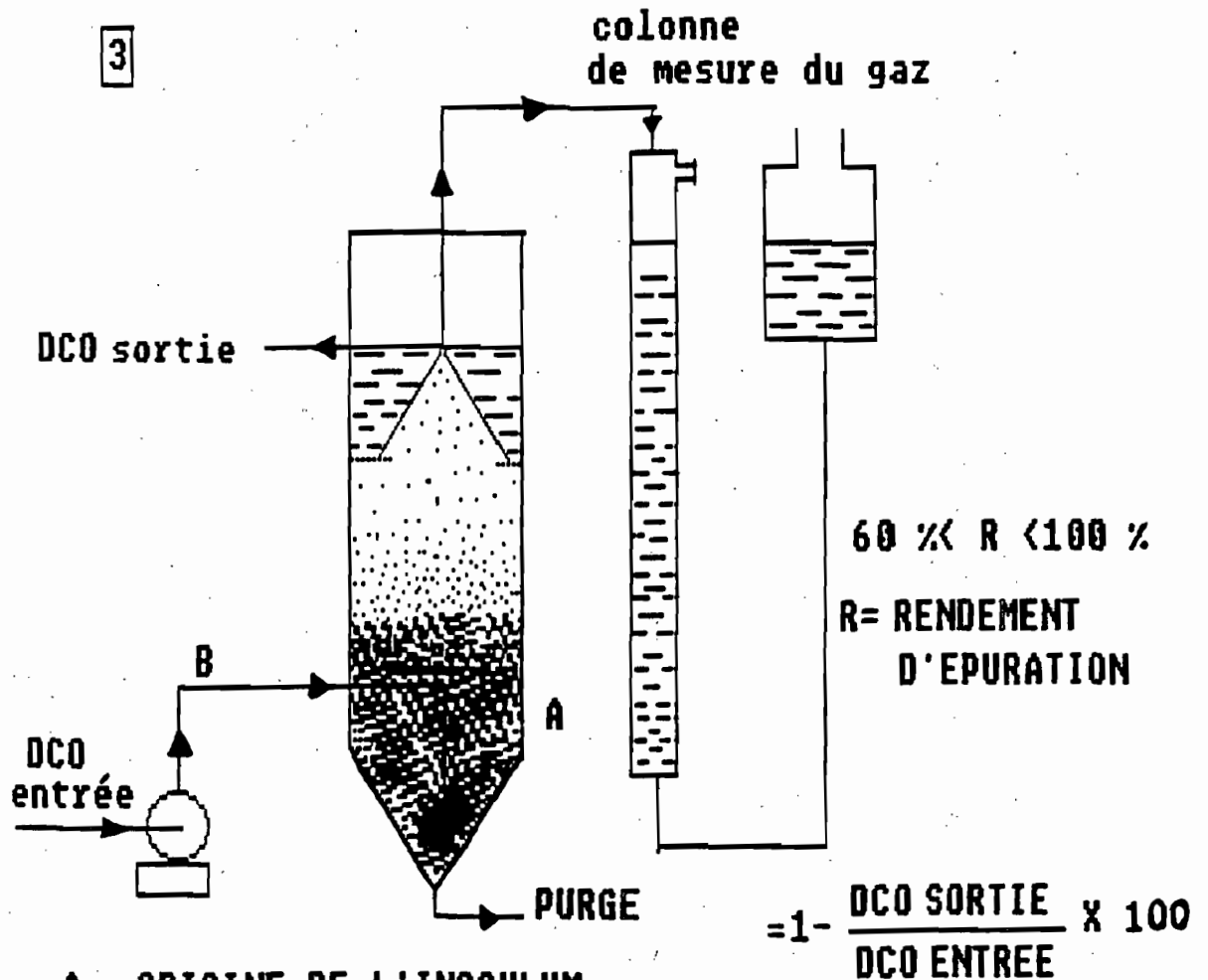
ENVIRONNEMENT DU LABORATOIRE DES ANAEROBIES

dept MAA UR.3B (fermentations liquides)





REACTEUR U.A.S.B (upflow anaerobic sludge blanket)



A- ORIGINE DE L'INOCULUM
SELECTION D'INOCULA
FORMATION DES BOUES GRANULAIRES
MATURATION

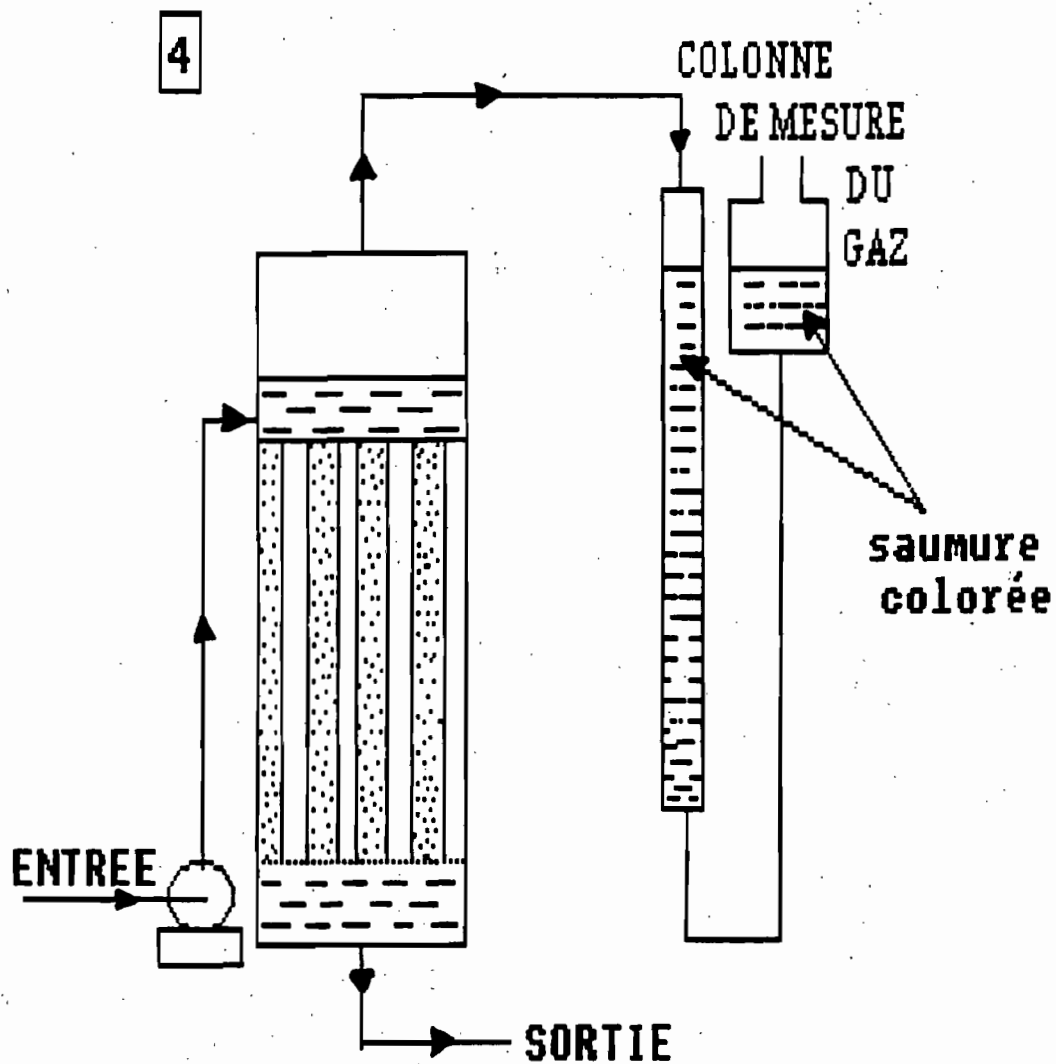
B- BIODEGRADABILITE

- CONDUITE DES REACTEURS DE 5 LITRES

- CONDITIONS D'OPERATION EN FONCTION

DE L'EFFLUENT A TRAITER

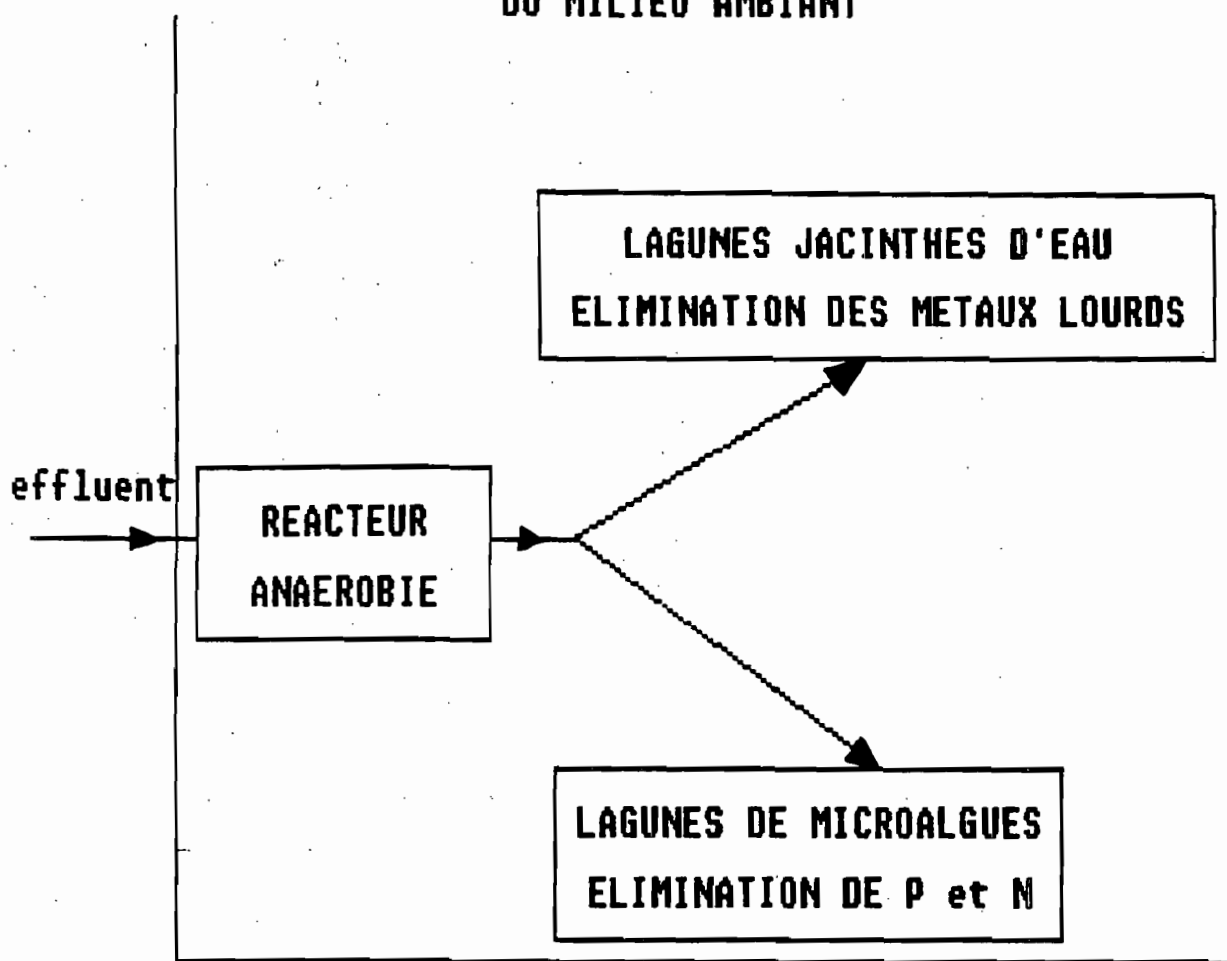
REACTEUR TUBULAIRE A PELLICULE FIXEE



RAPPORT VOLUME/SURFACE = 221

5

INTERACTIONS DES LABORATOIRES
DE MICROBIOLOGIE
DU MILIEU AMBIANT

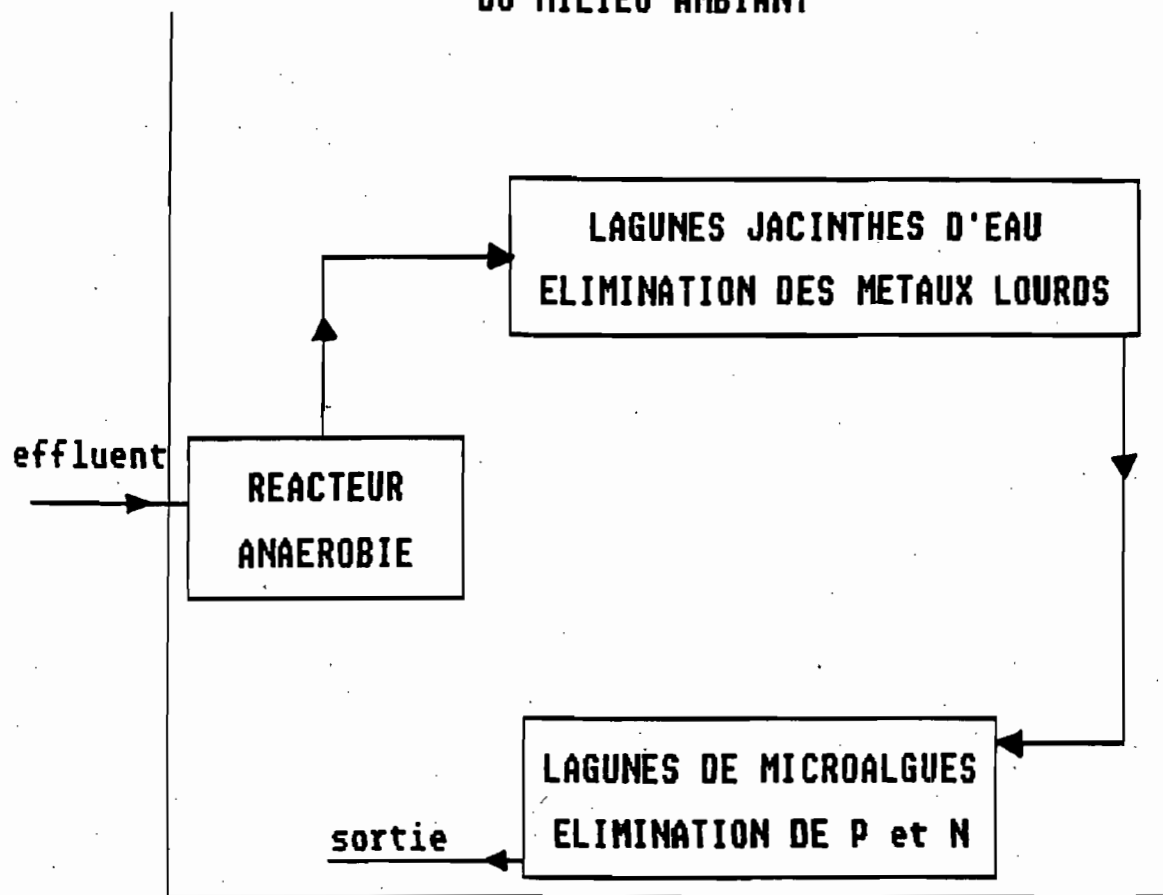


traitement biologique

effluent ayant subi un traitement primaire (décantation
désablage, déshuilage, dégrillage)

5

INTERACTIONS DES LABORATOIRES DE MICROBIOLOGIE DU MILIEU AMBIANT



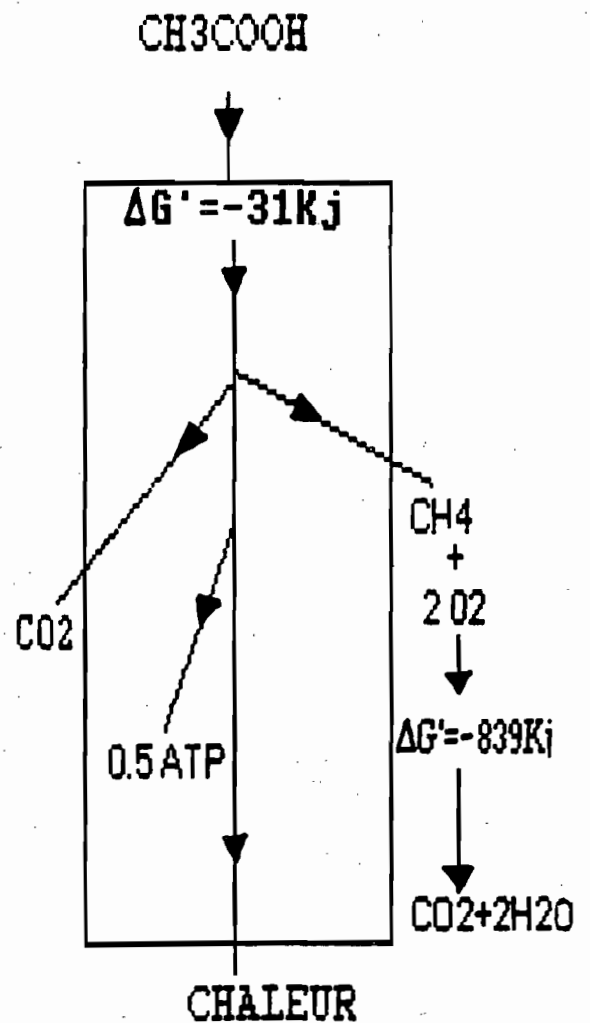
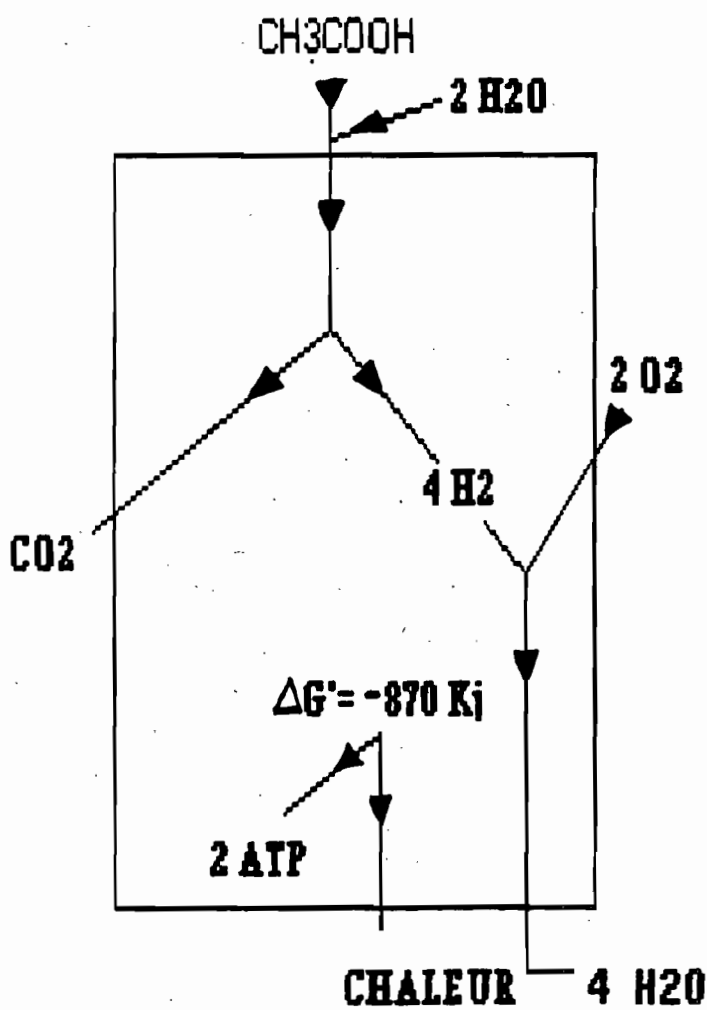
traitement biologique

comparaison des traitements

6

AEROBIE

ANAEROBIE



PROCESSUS DE LA FERMENTATION ANAEROBIE

