

## Méthanisation des eaux résiduaires de la production des levures fourragères dans un biofiltre thermophile

Moussa Amrani\*, et Nassima Tazrouti

Laboratoire des Matériaux Composites et Environnement, Faculté des Sciences de l'Ingénieur  
Université M'Hamed Bouguerra, Rue de l'indépendance, 35000 Boumerdes, Algérie

(reçu le 10 Décembre 2008 – accepté le 21 Mars 2009)

**Résumé** - La méthanisation des eaux résiduaires de la production des levures fourragères sur hydrolysats de l'alfagrass (*Stepia Tenacissima*), est réalisée sur des biofiltres de laboratoire. Afin d'immobiliser les bactéries méthanogènes thermophiles, plusieurs matériaux sont testés en qualité de support. Un biofilm de la microflore anaérobie méthanogène est différemment développé à la surface de tous les matériaux - supports. Le biofiltre au support en fibres synthétiques en forme de frange a montré le meilleur temps de démarrage (40 jours). Avec ce biofiltre, la fermentation a atteint l'état stationnaire en terme de production du biogaz à  $2,1 \text{ m}^3/\text{m}^3/\text{jour}$  avec une charge volumique de  $8,6 \text{ kg DCO}/\text{m}^3/\text{jour}$ . Les performances du biofiltre ont augmenté, lorsqu'on a diminué la charge volumique jusqu'à  $6,9 \text{ kg DCO}/\text{m}^3/\text{jour}$  en maintenant le temps de séjour hydraulique à 24 heures. Dans ces conditions, la biodégradabilité de la DCO a atteint un taux de réduction maximum de 84,7 % et une production de biogaz de  $0,51 \text{ m}^3/\text{kg}$  de DCO éliminée/jour avec une teneur de 70 % en  $\text{CH}_4$ .

**Abstract** - The digestion of waste water of fodder yeasts production on hydrolyzats of alfagrass (*Stepia Tenacissima*) was realised on the laboratory-scale (10 liter) reactor configuration of anaerobic filter. Several mediums were tested in the reactor to support the thermophilic methanogens bacteria in the form of microbial films. Fixed biofilm of the anaerobic microflora was observed on the surface of all the supports mediums with different development. The anaerobic filter who's medium of synthetic fibre in a fringe showed the best start-up time for 40 days, with fermentation attained a steady state in term of methane production of  $2.1 \text{ m}^3/\text{m}^3/\text{day}$  with at organic loading rate of  $8.6 \text{ kg DCO}/\text{m}^3/\text{day}$ . When it was increased to  $6.9 \text{ kg DCO}/\text{m}^3/\text{day}$  maintaining the hydraulic retention time of 24 hours, the performances of the anaerobic filter increase. The biodegradability of the waste water was reached a maximum removal efficiency of COD 80.7 % and the specific biogas yield obtained was  $0.51 \text{ m}^3/\text{kg}$  of DCO removed/day with 70 % of  $\text{CH}_4$ .

**Mots clés:** Biofiltre anaérobie - Bactéries méthanogènes - Thermophile - Biogaz - Charge volumique - Eau résiduaire.

### 1. INTRODUCTION

L'augmentation de l'efficacité du fonctionnement des fermenteurs anaérobies pour le traitement des effluents liquides à forte charge organique est obtenue par l'élaboration de méthodes permettant l'accroissement de la concentration et la rétention des bactéries méthanogènes actives dans le fermenteur [1-3] en utilisant des micro-supports (des particules fines et dispersées de matériaux inertes) ou des macro-supports à la surface desquels s'accumulent les bactéries [4-7].

---

\* moussaamrani@yahoo.fr

Le support représente une surface disponible pour la formation d'un film bactérien qui diminue la turbulence du fluide et qui de fait, permet une sédimentation efficace de la biomasse restée en suspension [8-9].

Pour les résidus liquides des fermentations, très riches en matière organique source de la production du biométhane, il est efficace d'utiliser un biofiltre anaérobie [10-12].

Les principaux groupes de microorganismes limitant la vitesse de production du méthane à partir de la matière organique sont les *Methanotrix* et *Methanosarcia* assimilateurs d'acétates [13-16].

Ces bactéries ont une aptitude à l'adhésion et à la formation d'agrégats et de micro colonies à la surface des différents matériaux en particulier hydrophobes [17-19].

L'intention de cette étude est d'une part, d'évaluer le processus de fixation des bactéries méthanogènes thermophiles, ainsi que la formation du biofilm à la surface de différents matériaux supports, à savoir: le charbon actif granulé, les spirales en PVC, la fibre de verre et la fibre synthétique à frange en forme de cils et d'autre part, de développer un biofiltre efficace pour traiter l'effluent issu de la production des levures sur hydrolysats de l'alfagrass dont la charge organique est très élevée.

## 2. MATERIELS ET METHODES

### 2.1 Microflore

On a utilisé un mélange de bactéries anaérobies strictes, obtenues initialement à partir des boues de la station d'épuration des eaux urbaines en pleine fermentation méthanique. La culture bactérienne isolée a été maintenue, selon la technique microbiologique appliquée par Nozhevnikova et Chudina [20].

### 2.2 Bioréacteur

L'étude de la formation et de l'activité du biofilm est réalisée sur des réacteurs horizontaux de volume de 10 litres à double enveloppe thermostatée pour un maintien de la température à 58 °C. La phase gaz occupe la partie interne supérieure le long du fermenteur avec 10 % du volume total.

Pour augmenter le temps de rétention de l'effluent, les réacteurs sont équipés de séparations verticales qui délimitent 5 compartiments successifs sur toute la longueur du digesteur. Le courant d'eau est alternativement montant et descendant d'un compartiment à l'autre.

La circulation de l'effluent est assurée par une pompe péristaltique et s'effectue à un débit constant de 5 litres/heure qui permet un bon mélange du courant d'alimentation avec la phase liquide du réacteur ainsi qu'une régulation correcte de la température.

### 2.3 Support bactérien

En qualité de support bactérien, on en a utilisé quatre types, à savoir: - le charbon actif granulé, de surface spécifique 400 - 600 m<sup>2</sup>/g et de volume massique 0,5 - 0,6 cm<sup>3</sup>/g; - la fibre de verre, de surface volumique 1000 - 1500 m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup> et d'indice de vide 95 %; - la fibre synthétique en frange en forme de cils, d'indice de vide 98 % et de surface volumique 8000 - 10000 m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup>, [21] et - les spirales en PVC, de surface volumique 650 m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup>, d'indice de vide 85 % et de taille 60 mm.

## 2.4 Substrat

L'étude de l'efficacité du biofiltre anaérobie des différents supports où les bactéries méthanogènes thermophiles s'immobilisent, a été réalisée sur l'eau résiduaire de la production de levures fourragères (**Tableau 1**) ayant subi la fermentation anaérobie acidogène thermophile dans un digesteur discontinu, ainsi que la stérilisation. La digestion acidogène est arrêtée une fois atteint, le taux de 60 - 65 % de CO<sub>2</sub> dans le biogaz et le pH 4,5 - 5 pour le milieu fermentaire.

Afin d'évaluer la fixation de la microflore sur les différents supports et la formation du biofilm, la préparation du milieu de culture est la suivante: à 7 litres du milieu minéral de Pfenning, on a ajouté 2 litres d'eau résiduaire fermentée et stérilisée, 1 litre d'ensemencement bactérien et 50 g d'acétate de sodium. Le pH et la concentration du substrat en matière sèche sont respectivement corrigés à 7 et 1,2 %. La quantité d'acétate de sodium est ajoutée au fur et à mesure, selon sa consommation par les bactéries.

## 2.5 Méthodes d'analyses

Le biogaz est quantifié par un gazomètre et analysé par un chromatographe en phase gaz Varia-2000 avec détecteur à conductivité thermique et colonne porapak-104 de 1,2 m de longueur. Les acides organiques volatils ont été déterminés par un chromatographe en phase gazeuse Chrom-5 avec détecteur d'ionisation de flamme et colonne chromosorb-101 de 1 m de longueur. Les protéines, la DCO, les matières volatiles solides et minérales sont déterminées, selon les méthodes prescrites dans le Degrément [22].

**Tableau 1:** Caractéristiques physico-chimiques de l'eau résiduaire de la production de levures fourragères sur hydrolysate de l'alfagress

Paramètres	Quantités
Température (°C)	35 – 37
pH	4 – 4,5
Matière organique (mg/l)	7000 – 10000
Matière minérale (mg/l)	2000 – 4000
Matière en suspension (mg/l)	1000 – 2000
DCO (mgO <sub>2</sub> /l)	6000 – 11000
DBO <sub>5</sub> (mgO <sub>2</sub> /l)	2500 – 5000
Matière réductrice (mg/l)	800 – 2400
Acides organiques (mg/l)	200 – 500
Phénols (mg/l)	1.1 – 2.3
Azote total (mg/l)	200 – 700
Phosphore (mg P <sub>2</sub> O <sub>4</sub> /l)	25 – 100
Sulfates (mg/l)	2000 – 3000

## 3. RESULTATS ET DISCUSSIONS

Le **tableau 2** présente les résultats des analyses de la teneur en protéines dans la biomasse bactérienne immobilisée sur les différents supports étudiés. On remarque des quantités plus élevées de protéines avec la frange 13873 µg/g et avec la fibre de verre 9398 µg/g, qui correspondent à une rétention spécifique en protéines de 470 µg/cm<sup>2</sup> et 327 µg/cm<sup>2</sup> respectivement.

Ces quantités importantes sont dues aux deux particularités de ces matériaux, à savoir: la surface spécifique et l'indice de vide très développés [23]. De plus, la rugosité des fibres permet à la frange d'atteindre la valeur maximale [24 - 26].

Concernant le charbon actif, la rétention est de 2887  $\mu\text{g/g}$  correspondant à 205  $\mu\text{g/cm}^2$ . Ces valeurs découlent de la formation d'un biofilm à la surface des raines du charbon rendant inutile sa texture microporeuse [27]. Les quantités les plus faibles en protéines (1680  $\mu\text{g/g}$  correspondant à 192  $\mu\text{g/cm}^2$ ) ont été obtenues avec les spirales en PVC qui possèdent l'indice de vide le moins important, induisant l'augmentation du risque de colmatage qui favorise le lessivage des particules en suspension [23].

**Tableau 2:** Teneur en protéines dans les bactéries fixées sur différents supports

Matériaux	Quantités de protéines	
	( $\mu\text{g/cm}^2$ )	( $\mu\text{g/g}$ . support)
Charbon actif	205	2887
Fibre de verre	327	9398
Fibres synthétiques en frange	470	13873
Spirales en PVC	192	1680

Les courbes de la figure 1 présentent l'allure de l'évolution de la production journalière du biogaz durant une période de 100 jours de processus. Ces résultats font apparaître trois phases successives: la *phase de latence* allant jusqu'à 25 jours, selon la nature du support, la *phase de montée de charge* au cours de laquelle la production journalière du biogaz croît et la dernière phase est celle de la *stabilité de production*.

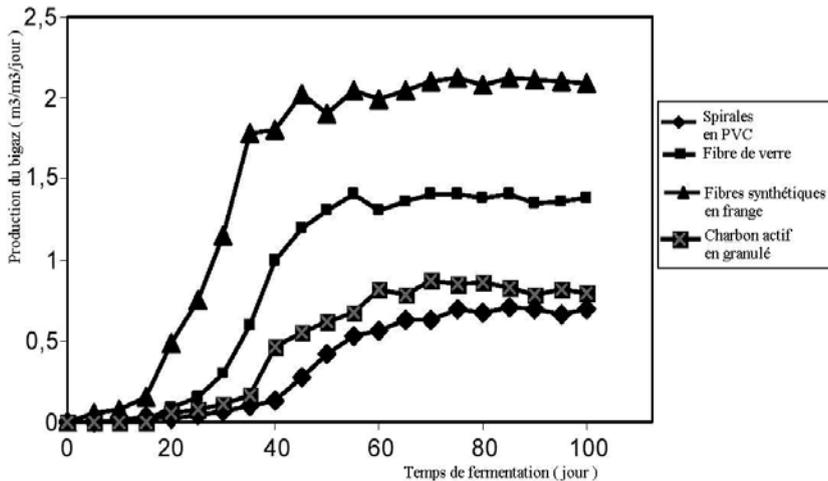


Fig. 1: Production journalière du biogaz par les bactéries méthanogènes thermophiles immobilisées sur différents supports, à partir de l'effluent de la production de levures fourragères

La meilleure quantité de biogaz (2,0 – 2,2  $\text{m}^3/\text{m}^3/\text{jour}$ ) est constatée avec la microflore fixée sur la frange en fibre synthétique après 45 jours de fermentation. Avec la microflore immobilisée sur la fibre de verre, la production maximale atteint 1,8  $\text{m}^3/\text{m}^3/\text{jour}$  après 55 jours de fermentation, tandis qu'avec le charbon actif et les spirales en PVC, elle est respectivement de 0,76 et de 0,52  $\text{m}^3/\text{m}^3/\text{jour}$ .

Le temps de démarrage de 75 jours, le plus long, est celui du biofiltre avec support en spirale de PVC. L'efficacité du fonctionnement des biofiltres aux supports en fibre de verre et en fibre synthétique en frange provient de l'accumulation de la biomasse et de l'absence des zones de colmatage dans le fermenteur.

L'effluent sortant du biofiltre à support en fibre synthétique est de plus faible teneur en AGV dont l'acide propénoïque est totalement absent (**Tableau 3**), ce qui confirme que ce biofiltre est le plus performant.

En conséquence, nous l'avons choisi pour l'étude de l'effet de la charge volumique sur la dynamique de la microflore et l'efficacité de la méthanisation de l'effluent issu de la culture des levures fourragères sur hydrolysats de l'alfagrass.

**Tableau 3:** Quantité des acides gras volatiles dans l'effluent issu des biofiltres à différents garnissages

	Acétate (mg/l)	Propionate (mg/l)	Butyrate (mg/l)	Valérate (mg/l)	Isovalérate (mg/l)	AGV total (mg/l)
Spirales en PVC	0,13	0,09	traces	-	traces	0,25
Charbon actif	0,08	0,07	Traces	-	-	0,17
Fibre de verre	0,02	-	-	-	-	-
Fibre synthétique	0,01	traces	-	-	-	0,01

Les données de la figure 2 montrent que la variation de la charge volumique perturbe la microflore méthanogène très susceptible aux changements externes [28].

Avec l'application de la charge volumique de 6,9 kg DCO/m<sup>3</sup>/jour, la fermentation ne se stabilise qu'après le 6<sup>ème</sup> jour. Pendant cette période, le taux de réduction de la DCO passe de 38,3 à 80,7 % et la production de biogaz augmente progressivement de 1,23 jusqu'à 2,15 m<sup>3</sup>/m<sup>3</sup>/jour et se stabilise à 1,82 m<sup>3</sup>/m<sup>3</sup>/jour après un déclin expliqué par la quantité de carbone métabolisée et déviée vers la production de biomasse réalisée au détriment de la production de biogaz.

Lorsqu'on applique la charge volumique de 5,2 kg DCO/m<sup>3</sup>/jour, on observe un temps d'adaptation de la microflore plus long de 2 jours que dans le cas précédent et un taux de réduction de la DCO progressant jusqu'à 74,4 % où il atteint la stabilité avec une production de biogaz de 1,6 m<sup>3</sup>/m<sup>3</sup>/jour.

La charge volumique de 6,9 kg DCO/m<sup>3</sup>/jour à un temps de séjour hydraulique de 24 heures, comme l'indiquent les données du **tableau 4**, est l'optimale. A cette charge, le biofiltre produit 0,5 m<sup>3</sup>/kg DCO éliminée/jour de biogaz qui est la quantité maximale avec un taux de méthane de 70 %.

L'effluent issu du biofiltre a perdu 86,2 % de sa MVS ce qui correspond à un taux de 80,7 % de DCO éliminée.

**Tableau 4:** Performances de l'activité des bactéries méthanogènes thermophiles immobilisées sur la fibre synthétique en frange

Paramètres	Charge volumique ( kg DCO/m <sup>3</sup> /jour )		
	8,6	6,9	5,2
Temps de rétention hydraulique (h)	24	24	24
Taux de réduction de la DCO (%)	78,8	80,7	74,4
Taux de réduction de MVS (%)	82,8	86,2	79,1
Quantité de biogaz (m <sup>3</sup> /kg DCO/jour)	0,47	0,51	0,45
Taux du méthane dans le biogaz (%)	78	71	71
AGV dans l'effluent fermenté (mg/l)	0,4	0,32	0,25

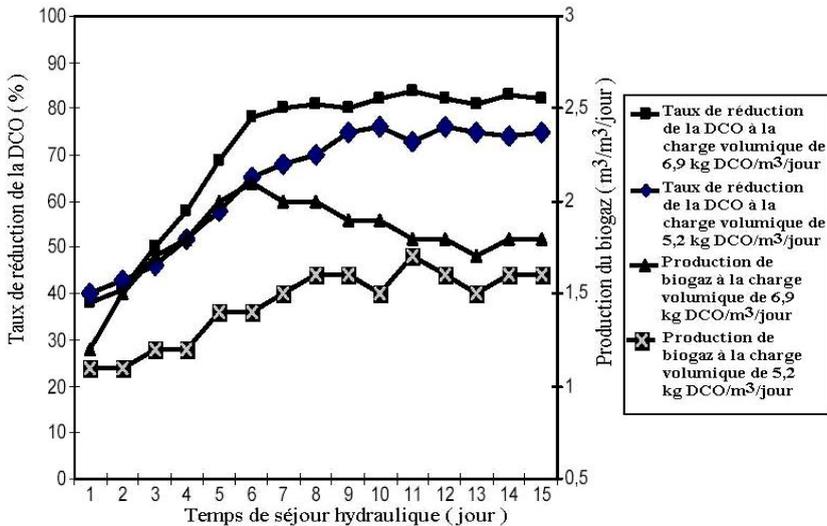


Fig. 2: Effet de la charge volumique sur l'efficacité du biofiltre anaérobie à bactéries méthanogènes thermophiles

#### 4. CONCLUSION

Il ressort de cette étude que l'utilisation du biofiltre anaérobie thermophile à garnissage en fibre synthétique en frange avec une surface spécifique et un indice volumique élevé, pour la phase méthanogène, permet la rétention et l'accumulation d'une importante quantité de bactéries.

Avec ce biofiltre, le temps de démarrage de la fermentation est court. Son utilisation pour la méthanisation des effluents issus de la culture de levures fourragères sur hydrolysats de la matière végétale (alfagrass), très chargés en matière organique et ayant subi la fermentation acidogène, s'est avérée efficace.

## REFERENCES

- [1] M. Henze and P. Harremoës, 'Anaerobic Treatment of Wastewaters in Fixed Film Reactors: A Literature Review', Water Science Technology, Vol. 40, N°11-12, pp. 67 -76, 1983.
- [2] C. Camilleri, 'Récente Réalisation de Méthanisation des Effluents des Industries Agroalimentaires et Chimiques', L'Eau, l'Industrie, les Nuisances, pp. 107 – 110, 1988.
- [3] L. Bodkhe and P. Lessard, 'Concept and Application of a Novel Anaerobic reactor system for decentralised sewage treatment', The Proceedings of 5<sup>th</sup> GVC-Ab wasser Kongress, Bremen (FRG), Sept. 22 - 24 , Vol. 2, pp. 557 – 563, 2003.
- [4] M.F. Hamoda and K.J. Kennedy, 'Anaerobic Treatment of Beet Waste in Stationary Fixed-Film Reactor', Agricultural wastes, Vol. 17, N°3, pp.175 – 187, 1986.
- [5] K.J. Kennedy, S.S. Gorur, C.A. Elliot, E. Andreas and S.R. Guiot, 'Mediat Effect on Performance of Anaerobic Hybrid Reactor', Water Resources, Vol. 34, N°11, pp. 1397 – 1405, 1989.
- [6] C. Pawinee and S. Worakrit, 'Nylon Fibers as Supporting Media in Anaerobic Hybrid Reactors: It's Effects on Systems Performance and Microbial Distribution', Water Resources, Vol. 37, N°19, pp.4603 – 4612, 2003.
- [7] U. Zaher, C. Frear, P. Panday and S. Chen, 'Evaluation of a New Fixed-Bed Digester Design Utilizing Large Media for Flush Dairy Manure Treatment', Bioresources Technology, Vol. 99, N°18, pp. 8619 – 8625, 2008.
- [8] J.C. Young and M.F. Dahab, 'Operational characteristics of anaerobic packed-bed Reactors', Biotechnology and Bioengineering Symposium, Series 12, pp. 303 - 316, 1982.
- [9] L. Van Den Berg, K.J. Kennedy and R. Samson, 'Anaerobic Down Flow Stationary Fixed Film Reactors: Performance under Steady-State and Non-Steady-State Conditions', Water Science and Technology, Vol. 17, pp. 89 - 102, 1985.
- [10] K.V. Lo and P.H. Liao, 'High-Rate Anaerobic Digestion of Screened Dairy Manure', Journal of Agricultural Engineering Research, Vol. 32, N°4, pp. 349 – 358, 1985.
- [11] E.P.S. Hernandez and L.T. Cordoba, 'Anaerobic Treatment of Sugar-Mill Waste Water in Down Flow Fixed-Bed Reactor', Bioresources Technology, Vol. 48, N°2, pp. 179 – 181, 1994.
- [12] S.K. Gupta and S. Gurdeep, 'Biodegradation of Distillery Spent Wash in Anaerobic Hybrid Reactor', Water Resources, Vol. 41, N°4, pp. 727 - 730, 2007.
- [13] S.H. Zinder, S.C. Cardwell, T. Anguish, M. Lee and M. Koch, 'Methanogenesis in a Thermophilic (58 °C) Anaerobic Digester: Methanotherix sp. as an Important Aceticlastic Methanogen', Journal of Applied and Environmental Microbiology, Vol.47, N°4, pp.796 – 807, 1984.
- [14] M.Hang and S.H. Zinder, 'Kinetics of Acetate Utilization by Two Thermophilic Methanogens: Methanosarcina sp. Strain CALS-1 and Methanotherix sp Strain CALS-1', Journal of Applied and Environmental Microbiology, Vol. 55, N°2, pp. 488 - 491, 1989.
- [15] Y. Kamagata, H. Kawasaki, H. Oyaizu, K. Nakamuno and E. Mikami, 'Characterisation of Thermophilic Strains of Methanotherix', International Journal of Bacteriology, Vol. 42, N°3, pp. 463 – 468, 1992.
- [16] M. Madigan, K.J. Martin and J. Porter, 'Biology of Microorganisms', Printice Hall International, 1997.

- [17] C.H. Dubourgier, D.B. Archer and G. Albagnac, '*Anaerobic Digestion*', Pergamon Press, pp. 13 – 23, 1988.
- [18] D. Verrier, B. Mortier and C. Albagnac, '*Initial Adhesion of Methanogenic Bacteria to Polymers*', Biotechnology Letters, Vol. 9, N°10, pp. 737 -740, 1987.
- [19] Y.H. Liu, H.L. Xu, S.F. Yuang and J.H. Tay, '*Mechanisms and Models for Formation of Biofilm and Granular Sludge*', Water Resources, Vol. 36, N°3, pp. 661 – 673, 2003.
- [20] A.V. Nochevikova. and V.I. Chudina, '*Morphology of the Thermophilic Acetate Bacterium Methanotrix Thermoacetophila*', Journal of Applied Microbiology, Vol. 53, pp. 756 – 760, 1984.
- [21] P.I Gvozdiak, P.I Dmetrionko and H.I. Koulikov, '*Anaerobic Treatment of Industrial Waste Water in Stationary Fixed-Film Reactor*', Chemistry and Water Technology, Vol. 7, N°1, pp. 64 – 67, 1985.
- [22] Degrémont , '*Mémento Technique de l'Eau*', 10<sup>ème</sup> Ed. Lavoisier, p. 1928, 2005.
- [23] J.H. Abn and C.F. Forster, '*Kinetic Analyses of Operation of Mesophilic and Thermophilic Anaerobic Filter Treating, A Simulated Starch Waste Water*', Process Biochemistry, Vol. 36, pp.19 – 23, 2000.
- [24] A.M. Lauwers, W. Heinen, L.G.M. Gorris and C. van der Drift, '*Variation of Parameters Affecting the Start-Up of Methanogenic Fluidized Bed Reactors*', Biotechnology Letters, Vol. 11, N°12, pp. 907 - 912, 1989.
- [25] Y. Hsu and W.K. Shieh , '*Startup of Anaerobic Fluidized Bed Reactors with Acetic Acid as the substrate*', Biotechnology and Bioengineering ,Vol. 41, N°3, pp. 347 - 353, 1992.
- [26] F. Bolochi, A. Grasmick et S. El Maleh, '*Comparaison de Supports Minéraux pour Cellules Epuratrices Cas: de la Conversion du Carbone Organique et de la Dénitrification*', Tribune de l'Eau, Cebedoc, Vol. 479, N°36, pp. 401 – 408, 1988.
- [27] L. van den Berg and C.P. Lentz, '*Comparison Between Up and Down Flow Anaerobic Fixed Film Reactors of Varying Surface-to-Volume Ratios for the Treatment of Bean Bleaching Waste*', 34<sup>th</sup> Purdue University Industrial Waste Conference, Ann Arbor Science, West Lafayette (Indiana), 1979.
- [28] A. Bhadar, J.M. Scharer and M. Moo-Young, '*Methanogenesis from Volatile Fatty Acids in Down Flow Stationary Fixed Film Reactor*', Biotechnology and Bioengineering, Vol. 30, N°2, pp. 314 – 319, 1986.