

UNIVERSITE DE MONTREAL

ECOLE POLYTECHNIQUE

Ce mémoire intitulé:

CINETIQUE D'OXYDATION DU FER FERREUX PAR THIOBACILLUS
FERROOXIDANS EN CULTURE LIBRE ET EN BIOFILM

présenté par: François Godard

en vue de l'obtention du grade de: maître ès sciences appliquées
a été dûment accepté par le jury d'examen constitué de:

Dr Denis Rouleau, Ph.D. ing., président

Dr Claude Chavarie, Ph.D. ing.

Dr Bruce Ramsey, Ph.D.





BIBLIOTHÈQUE

Cégep de l'Abitibi-Témiscamingue
Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue

Mise en garde

La bibliothèque du Cégep de l'Abitibi-Témiscamingue et de l'Université du Québec en Abitibi-Témiscamingue a obtenu l'autorisation de l'auteur de ce document afin de diffuser, dans un but non lucratif, une copie de son œuvre dans Depositum, site d'archives numériques, gratuit et accessible à tous.

L'auteur conserve néanmoins ses droits de propriété intellectuelle, dont son droit d'auteur, sur cette œuvre. Il est donc interdit de reproduire ou de publier en totalité ou en partie ce document sans l'autorisation de l'auteur.

UNIVERSITE DE MONTREAL

CINETIQUE D'OXYDATION DU FER FERREUX PAR THIOBACILLUS
FERROOXIDANS EN CULTURE LIBRE ET EN BIOFILM

par

François GODARD b.ing.

DEPARTEMENT DE GENIE CHIMIQUE

ECOLE POLYTECHNIQUE

MEMOIRE PRESENTE EN VUE DE L'OBTENTION
DU GRADE DE MAITRE ES SCIENCES APPLIQUEES (M.Sc.A.)

août 1987

▲ mon épouse Louise

SOMMAIRE

CINETIQUE D'OXYDATION DU FER FERREUX PAR THIOBACILLUS FERROOXIDANS EN CULTURE LIBRE ET EN BIOFILM

Le but de cette recherche était de modéliser la cinétique d'oxydation, en continu, de solutions de sulfate ferreux par la bactérie Thiobacillus ferrooxidans. Trois souches différentes ont été étudiées, ATCC 23270, ATCC 19859 et G 15.

Les expériences en culture libre submergée ont été réalisées avec des bioréacteurs de type airlift, parfaitement mélangés, de volumes nominaux de 4 litres. Un nouveau type de bioréacteur (réacteur à biofilm à fluidisation inversée) a été obtenu en ajoutant au airlift des particules de polystyrène expansé dans l'espace annulaire. La modélisation de la cinétique d'oxydation pour la culture fixée a été réalisée au cours de la croissance du biofilm sur les particules support.

En culture libre, la cinétique de croissance suivait un modèle de Monod à un substrat limitant, le fer ferreux. De plus, le taux d'oxydation était directement proportionnel au taux de croissance de la biomasse. De façon spécifique, on a obtenu pour les souches ATCC 23270, ATCC 19859 et G 15:

- Un coefficient de rendement théorique en biomasse (Y_T) de 0,049 (ATCC 19859), 0,048 Kg MST/Kg (G 15).
- Un taux spécifique de dépérissement de la biomasse (K_d) non

statistiquement différent de zéro.

- Un taux spécifique maximum de croissance (μ_m) de 0,140 (à 31°C), 0,128 (à 30°C), 0,158 h⁻¹ (à 30°C).
- Une constante du taux de moitié (K_m) de 0,478, 0,288, 0,665 Kg/m³.

En culture fixe, on a enregistré comme valeur maximale pour le taux volumique d'utilisation du substrat, $r_{su}=2,62$ Kg/m³.h. Ce maximum correspond à cinq fois et demi (5,5) la valeur maximale observée en culture libre.

L'analyse des résultats a montré que la cinétique d'oxydation en biofilm était d'ordre zéro par rapport au fer ferreux jumelée à une cinétique de type Michaelis-Menten pour l'oxygène dissous. La diffusion de l'oxygène dans le biofilm contrôlait la vitesse de la réaction globale, dès que l'épaisseur du biofilm excédait quelques microns.

Les taux spécifiques maximum d'utilisation du substrat (q_m) pour les souches ATCC 23270, ATCC 19859 et G 15, ont été évalués à: 0,0493, 0,0379 et 0,0529 Kg/Kg MST.h. Pour la souche G 15, trois épaisseurs du biofilm (6,5, 18 et 49 μ m) ont été testées dans un réacteur différentiel pour l'oxygène. La constante du taux de moitié pour l'oxygène, $K_{O_2}=0,734*10^{-3}$ Kg O₂/m³, a été obtenue de l'expérience à biofilm mince. Un estimé pour la diffusivité effective de l'oxygène dans le biofilm, $D_{O_2}= 2,4*10^{-6}$ m²/h, a été obtenu des deux expériences à biofilm plus épais.

ABSTRACT

The iron oxidizing bacterium, Thiobacillus ferrooxidans, was grown in an aqueous ferrous sulfate solution in continuous bioreactors. The submerged culture kinetic experiments were performed in a laboratory-scale airlift fermentor. The fixed biofilm kinetics were investigated in a new reactor, the inversed fluidised bed bioreactor. Three strains, ATCC 23270, ATCC 19859 and Bulgarian G 15 have been studied.

In submerged culture, the specific growth rate followed Monod kinetics and the oxidation rate of ferrous iron was proportional to the growth rate. The microbial decay coefficient (K_d) was negligible and the yield coefficient (Y_T) was about 0.05 Kg dry weight/Kg iron oxidized for all strains. The maximum specific grow rate (μ_m) was 0.140 (31°C), 0.128 (30°C) and 0.158 h⁻¹ (30°C). The saturation constant (K_m) was: 0.478, 0.288 and 0.665 Kg/m³.

Diffusion of oxygen through the biofilm was found to be the limiting step for film oxidation. The reaction rate was zero order w.r.t. ferrous iron and Michaelis-Menten order w.r.t. dissolved oxygen. The maximum specific substrate utilisation rate (q_m) was approximately: 0.0493, 0.0379 and 0.0529 Kg/Kg biofilm.h. Saturation constant for oxygen (K_{O_2}) was found to be 0.734 ppm (G 15). The effective diffusion coefficient of oxygen through the biofilm was estimated at $2.4 \cdot 10^{-4}$ m²/h.

REMERCIEMENTS

Je désire remercier les personnes suivantes, pour leur aide et intérêts à la réalisation de cette recherche:

- Mon directeur de recherche, le Dr. Claude Chavarie pour les nombreuses heures consacrées à la discussion des "problèmes", tout au cours de ce projet.
- M. D.G. Karamanev, pour l'encadrement et l'assistance qu'il a assuré au cours de la première année de recherches.
- M. Mario Jolicoeur, pour sa détermination et son aide précieuse à la caractérisation de la cinétique en biofilm.

Je voudrais également remercier l'Institut de Recherche en Biotechnologie pour son aide matérielle et financière.

Enfin, je désire remercier le CRSNG pour la bourse d'études qu'il m'a attribuée, grâce à laquelle j'ai pu réaliser cette maîtrise.

TABLE DES MATIERES

SOMMAIRE	v
ABSTRACT	vii
LISTE DES TABLEAUX	xiii
LISTE DES FIGURES	xv
LISTE DES SYMBOLES	xviii
LISTE DES ANNEXES	xxi
INTRODUCTION	1
CHAPITRE 1: REVUE DE LA LITTERATURE	3
1.1. Description du microorganisme	3
1.1.1. Morphologie	3
1.1.2. Physiologie	3
1.2. Facteurs influençant l'activité bactérienne	4
1.2.1. Influence de paramètres physico-chimiques en culture libre submergée	4
1.2.2. Influence de paramètres physico-chimiques en culture fixe (biofilm)	6
1.3. Modèles cinétiques	7
1.3.1. Modèles cinétiques de croissance et d'oxydation du fer ferreux en culture libre submergée	7
1.3.2. Modèle cinétique d'oxydation du fer ferreux en culture fixe	10
1.4. Intérêt de l'étude	12

CHAPITRE 2: METHODE EXPERIMENTALE	15
2.1. Description des bioréacteurs	15
2.1.1. Bioréacteur de type airlift	15
2.1.2. Réacteur à biofilm à fluidisation inversée (RBFi)	17
2.2. Composition de l'alimentation	19
2.3. Comparaison culture fixe versus culture libre	21
2.4. Procédures analytiques	22
2.4.1. Mesures effectuées	22
2.4.1.1. Culture libre	22
2.4.1.2. Culture fixe	22
2.4.2. Débits	23
2.4.3. Température	24
2.4.4. pH	24
2.4.5. Concentration en fer ferreux	24
2.4.6. Concentrations en fer ferrique et en fer total	25
2.4.7. Concentration en oxygène dissous	26
2.4.8. Concentration en biomasse libre	26
2.4.9. Epaisseur du biofilm	27
2.4.10. Expansion du lit fluidisé inversé	27
2.5. Souches étudiées	27
 CHAPITRE 3: CINETIQUE DE CROISSANCE ET D'OXYDATION DU FER FERREUX EN CULTURE LIBRE SUBMERGEE	 29
3.1. Equations de base en culture libre	29
3.2. Modèle cinétique souche ATCC 23270	31

3.2.1. Evaluation du coefficient de rendement en biomasse	31
3.2.2. Modèles pour le taux spécifique de croissance et pour le taux spécifique d'utilisation du substrat	33
3.3. Cinétique souche ATCC 19859	36
3.4. Cinétique souche G 15	37
3.5. Tableau comparatif des paramètres biocinétiques	38
CHAPITRE 4: COMPORTEMENT DES RBF1 EN CULTURE FIXEE	41
4.1. Performances des RBF1 de 4 litres	41
4.1.1. Données physiques sur les expériences	41
4.1.2. Croissance du biofilm	42
4.1.3. Taux d'utilisation du substrat	42
4.1.4. Taux spécifique d'utilisation du substrat	44
4.2. Stabilité des RBF1 de 4 litres	45
4.3. Mécanique du biofilm	46
4.3.1. Performances des érodeurs	46
4.3.2. Modélisation du profil d'épaisseur du biofilm avant la recirculation des bioparticules	48
CHAPITRE 5: CINETIQUE DE L'OXYDATION DU FER FERREUX EN BIOFILM	50
5.1. Objectifs	50
5.2. Modèle de Michaelis-Menten	50
5.3. Cinétique d'ordre zéro par rapport au fer ferreux	54
5.4. Modèle avec réaction et diffusion en parallèle	56

5.4.1. Equation de vitesse	56
5.4.2. Equation différentielle	58
5.5. Réacteur à recirculation	59
5.5.1. Caractéristiques du réacteur	59
5.5.2. Identification des paramètres de l'équation de vitesse	62
5.5.3. Identification de la diffusivité effective de l'oxygène	65
CONCLUSION	68
RECOMMANDATIONS	71
REFERENCES	72
ANNEXE A	77
ANNEXE B	85
ANNEXE C	109
ANNEXE D	116
ANNEXE E	123
ANNEXE F	128

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	Evaluation des paramètres biocinétiques K_d et Y_T souche ATCC 23270	31
Tableau 2	Paramètres de régression K_d et Y_T souche ATCC 23270	32
Tableau 3	Paramètre de régression Y_T souche ATCC 23270	33
Tableau 4	Evaluation des paramètres biocinétiques K_m et μ_m souche ATCC 23270	35
Tableau 5	Paramètres de régression K_m et μ_m souche ATCC 23270	35
Tableau 6	Paramètres de régression souche ATCC 19859	37
Tableau 7	Paramètres de régression souche G 15	38
Tableau 8	Résumé des paramètres biocinétiques en culture libre	39
Tableau 9	Paramètres de régression K_m et μ_m	40
Tableau 10	Caractéristiques des expériences en culture fixe	41
Tableau 11	Profil d'épaisseur du biofilm dans l'espace annulaire	47
Tableau 12	Domaine des points considérés pour les régressions	53
Tableau 13	Paramètres de régression modèle de Michaelis-Menten	54
Tableau 14	Paramètres de régression modèle d'ordre zéro	55
Tableau 15	Coefficients de corrélation de Pearson	56
Tableau 16	Paramètres de régression q_m et K_{O_2} pour trois épaisseurs de biofilm souche G 15	62
Tableau 17	Estimés de q_m par extrapolations à $t=0$	65

Tableau A1	Données expérimentales en culture libre souche ATCC 23270	78
Tableau A2	Données expérimentales en culture libre souche ATCC 19859	79
Tableau A3	Données expérimentales en culture libre souche G 15	80
Tableau B1	Données expérience #2 en culture fixe souche ATCC 23270	86
Tableau B2	Données expérience #4 en culture fixe souche ATCC 19859	87
Tableau B3	Données expérience #7 en culture fixe souche G 15	88
Tableau B4	Données expérience #8 en culture fixe souche G 15	89
Tableau E1	Résultats sur l'état du mélange du réacteur à recirculation	126
Tableau F1	Données expérience à biofilm mince	129
Tableau F2	Données expérience à biofilm moyen	130
Tableau F3	Données expérience à biofilm épais	131

LISTE DES FIGURES

Figure 1	Schéma de la lixiviation en tas	14
Figure 2	Schéma d'un bioréacteur de type airlift de 4 litres	16
Figure 3	Schéma du réacteur à recirculation	61
Figure 4	Taux spécifique de consommation du substrat en fonction de la concentration en oxygène	63
Figure 5	Facteur d'efficacité en fonction de la concentration en oxygène pour deux épaisseurs du biofilm	67
Figure A1	Comparaison de la courbe de régression du modèle de Monod et des points expérimentaux (ATCC 23270)	81
Figure A2	Comparaison de la courbe de régression du modèle de Monod et des points expérimentaux (ATCC 19859)	82
Figure A3	Comparaison de la courbe de régression du modèle de Monod et des point expérimentaux (G 15)	83
Figure A4	Courbe de régression du modèle de Monod sur l'ensemble des points expérimentaux	84
Figure B1	Croissance du biofilm en fonction du temps expérience #2	90
Figure B2	Croissance du biofilm en fonction du temps expérience #4	91
Figure B3	Croissance du biofilm en fonction du temps expérience #7	92
Figure B4	Croissance du biofilm en fonction du temps expérience #8	93
Figure B5	Taux d'utilisation du substrat en fonction du	

	temps expérience #2	94
Figure B6	Taux d'utilisation du substrat en fonction du temps expérience #4	95
Figure B7	Taux d'utilisation du substrat en fonction du temps expérience #7	96
Figure B8	Taux d'utilisation du substrat en fonction du temps expérience #8	97
Figure B9	Taux spécifique d'utilisation du substrat en fonction du temps expérience #2	98
Figure B10	Taux spécifique d'utilisation du substrat en fonction du temps expérience #4	99
Figure B11	Taux spécifique d'utilisation du substrat en fonction du temps expérience #7	100
Figure B12	Taux spécifique d'utilisation du substrat en fonction du temps expérience #8	101
Figure B13	Taux spécifique d'utilisation du substrat en fonction de la concentration du substrat expérience #2	102
Figure B14	Taux spécifique d'utilisation du substrat en fonction de la concentration du substrat expérience #4	103
Figure B15	Taux spécifique d'utilisation du substrat en fonction de la concentration du substrat expérience #7	104
Figure B16	Taux spécifique d'utilisation du substrat en fonction de la concentration du substrat expérience #8	105

Figure B17	Ensemble des valeurs de l'épaisseur du biofilm	106
Figure B18	Ensemble des valeurs du taux d'utilisation du substrat	107
Figure B19	Ensemble des valeurs du taux spécifique d'utilisation du substrat	108
Figure C1	Profil simulé de porosité	113
Figure C2	Profil simulé d'épaisseur du biofilm	114
Figure C3	Epaisseur du biofilm en fonction de la position dans l'annulus et du temps	115
Figure D1	Profil simulé d'oxygène dans le biofilm	122
Figure E1	Concentration expérimentale vs théorique (mélange parfait) pour le réacteur à recirculation	127

LISTE DES SYMBOLES

a_{BF}	Aire interfaciale du biofilm (m^2)
C_{O_2}	Concentration en oxygène ($Kg O_2/m^3$)
$C^*_{O_2}$	Concentration en oxygène à la surface du biofilm ($Kg O_2/m^3$)
D	Taux de dilution (h^{-1})
D_m	Taux de dilution maximum (h^{-1})
D_{O_2}	Diffusivité effective de l'oxygène dans le biofilm (m^2/h)
d_p	Diamètre des particules de support (m)
d_{BF}	Diamètre des bioparticules (cm)
F	Débit d'alimentation (m^3/h)
K	Constante du taux d'abrasion (cm/h)
K_d	Taux spécifique de déperissement de la biomasse (h^{-1})
K_{O_2}	Constante du taux de moitié pour l'oxygène ($Kg O_2/m^3$)
K_s	Constante du taux de moitié (Kg/m^3)
M_{BF}	Masse totale de biofilm (Kg MST)
N_{tot}	Nombre de particules (sans dimension)
pH	$-\log_{10}[H^+]$ (sans dimension)
q	Taux spécifique d'utilisation du substrat (Kg/Kg MST.h)
q_m	Taux spécifique maximum d'utilisation du substrat (Kg/Kg MST.h)
q_{O_2}	Taux spécifique de consommation d'oxygène (Kg O ₂ /Kg MST.h)
r_{ab}	Taux d'abrasion du biofilm (cm^3/h)
r_{BF}	Taux de croissance du biofilm (cm^3/h)
r_{BFn}	Taux net de croissance du biofilm (cm^3/h)
r_{O_2}	Taux volumique de consommation d'oxygène (Kg O ₂ /m ³ .h)
r_{su}	Taux volumique d'utilisation du substrat (Kg/m ³ .h)
r_x	Taux volumique de croissance de la biomasse (Kg MST/m ³ .h)

R	Débit de recirculation (m^3/h)
S	Concentration en substrat (Kg/m^3)
S_0	Concentration du substrat à l'entrée (Kg/m^3)
T	Température ($^{\circ}C$)
V	Volume de liquide (m^3)
V_{BF}	Volume du biofilm par bioparticule (cm^3)
W_{O_2}	Taux de consommation en oxygène ($Kg O_2/h$)
W_{su}	Taux d'utilisation du substrat (Kg/h)
X	Concentration en biomasse ($Kg MST/m^3$)
X_0	Concentration en biomasse à l'entrée ($Kg MST/m^3$)
y	Cote dans le lit fluidisé, sommet $\Rightarrow y=0$ (m)
Y	Coefficient de rendement en biomasse ($Kg MST/Kg$)
Y_T	Coefficient de rendement théorique en biomasse ($Kg MST/Kg$)
Y_{s/O_2}	Coefficient de rendement en oxygène ($Kg/Kg O_2$)
z	Position dans le biofilm (μm)
δ	Epaisseur du biofilm (μm)
Δt	Incrément de temps (24 h)
ϵ	Porosité (sans dimension)
η	Facteur d'efficacité (sans dimension)
μ	Taux spécifique de croissance (h^{-1})
μ_{BF}	Constante du taux spécifique de croissance du biofilm (h^{-1})
μ_m	Taux spécifique maximum de croissance (h^{-1})
ρ_{BF}	Masse volumique du biofilm ($Kg MST/m^3$)
ρ_p	Masse volumique des particules de support (Kg/m^3)

Note: Kg = Kg de fer ferreux (substrat)

Kg MST = Kg de matière sèche totale

Kg O₂ = Kg d'oxygène

p = Particule support

BF = Biofilm

BP = Bioparticule

% p/p = Pourcentage poids-poids

% v/v = Pourcentage volume-volume

LISTE DES ANNEXES

Annexe A	Données des expériences en culture libre	77
Annexe B	Données des expériences en culture fixe	85
Annexe C	Programme de prédiction du profil d'épaisseur de biofilm avant la recirculation des bioparticules	109
Annexe D	Programme d'intégration numérique de Runge-Kutta	116
Annexe E	Caractérisation du mélange du réacteur à recirculation	123
Annexe F	Données des expériences du réacteur à recirculation	128

INTRODUCTION

Avec l'épuisement des gisements à haute teneur, on a assisté depuis quelques années à un intérêt croissant pour les résidus miniers et les minerais à basse teneur. Cependant, les procédés traditionnels de pyrométallurgie ne sont pas économiquement viables avec ces matières premières. L'hydrométallurgie, technique qui utilise des réactifs solubles, s'est développée pour mettre en valeur ces minerais. Depuis plus de soixante ans, on sait que des microorganismes sont impliqués dans les processus de lixiviation. Jusqu'à récemment, l'industrie s'est peu intéressé à l'activité catalytique de ces microorganismes; ils étaient des habitants naturels de l'environnement minier et participaient spontanément aux réactions d'extraction. Cependant, leurs faibles concentrations naturelles limitaient les taux d'extraction et une à plusieurs années étaient nécessaires au traitement d'un site.

L'industrialisation des biotechnologies et l'amélioration des unités existantes reposent sur l'utilisation de bioréacteurs à haute productivité et sur la capacité d'extrapoler les résultats obtenus à l'échelle du laboratoire. Cette capacité de mise à l'échelle nécessite, entre autre, la connaissance précise de l'équation de vitesse.

Cette étude porte principalement sur la modélisation de la cinétique d'oxydation du fer ferreux en fer ferrique (agent

oxydant) par des cultures pures de Thiobacillus ferrooxidans; trois souches différentes ont été étudiées.

La recherche en laboratoire, permettra de déterminer la forme du modèle ainsi que les paramètres biocinétiques, pour les expériences en culture libre submergée et pour les expériences en culture fixe (biofilm). Les expériences en culture libre seront réalisées avec des bioréacteurs de type "airlift". Un nouveau type de bioréacteur à biomasse fixée, le "réacteur à biofilm à fluidisation inversée (RBF1)" sera mis en oeuvre pour caractériser la cinétique d'oxydation de la culture fixée.

CHAPITRE 1

REVUE DE LA LITTERATURE

1.1. Description du microorganisme

1.1.1. Morphologie

Ce sont les travaux des Américains Colmer et Hinkle [1], puis Temple et Colmer [2] qui ont permis l'identification d'une nouvelle bactérie, Thiobacillus ferrooxidans, impliquée dans les processus de lixiviation.

Cette bactérie, gram négatif, a la forme d'un bâtonnet 0,5 μm de diamètre par 1,0 à 2,0 μm de long et possède un flagelle qui assure sa mobilité [3]. Elle ne forme pas de spores de résistance. La reproduction se fait par fission binaire. On la retrouve généralement seule ou en paire, rarement en courtes chaînes [4].

1.1.2. Physiologie

Thiobacillus ferrooxidans est un microorganisme autotrophe, sa source de carbone est le CO_2 . Elle tire son énergie de l'oxydation de matière inorganique (Fe^{2+} , U^{4+} ou S^0), elle est donc un chemolithotrophe. Cette bactérie est aussi aérobie stricte (l'oxygène est nécessaire à sa croissance), mésophile (température optimale entre 20 et 35°C) et acidophile (pH

"optimal" 2 et 3) [5].

La composition chimique de la bactérie est: 44% protéines, 26% lipides, 15% hydrates de carbone, 10% cendres [6]. La rusticyanine, une protéine contenant du cuivre constitue 5% des protéines cellulaires [5].

1.2. Facteurs influençant l'activité bactérienne

1.2.1. Influence de paramètres physico-chimiques en culture libre submergée

On mentionne dans la littérature [4,5,6,7] que la croissance est possible entre les limites de pH 1 et 6. Il semble cependant possible, d'abaisser la limite inférieure par une acclimatation de la bactérie [4]. Par contre, le pH intracellulaire est voisin de la neutralité [5].

Dans sa revue de la littérature, Torma [6] mentionne que cette bactérie peut tolérer des concentrations extrêmement élevées en métaux lourds, par exemples: 120 g/l de zinc, 72 g/l de nickel, 30 g/l de cobalt, 12 g/l de U_3O_8 , 55 g/l de cuivre et 160 g/l de fer ferreux. Berthelin [3] signale que *T. ferrooxidans* montre une très bonne tolérance au zinc, au nickel, au cuivre, au cobalt, au manganèse et à l'aluminium; mais est plus sensible à l'uranium, à l'arsenic, au sélénium et au tellurium. Cependant, le mercure et l'argent lui sont beaucoup

plus toxiques.

Nikolov et Karamanev [8] ont déterminé la température et le pH optimaux pour une souche bulgare (G 15), cultivée en culture libre dans un réacteur parfaitement mélangé. La température optimale se situait entre 29 et 31°C et le pH optimal entre 1,8 et 2,0. Pour une température supérieure à 35°C, le taux d'oxydation diminuait rapidement, pour devenir presque nul à 45°C. Ce changement était réversible jusqu'à 45°C et irréversible pour une température supérieure. L'activité bactérienne diminuait aussi rapidement pour un pH inférieur à 1,8. Ils ont aussi déterminé que le fer ferrique est un inhibiteur lorsque sa concentration est supérieure à 6 Kg/m³.

MacDonald et Clark [15], à partir d'expériences en cuvette avec la souche ATCC 13728, ont trouvé que la température optimale était fonction du pH. L'optimum variait de 29°C à pH 1,5 jusqu'à 33°C à pH 3,5. Le taux de croissance maximum était obtenu pour T=33°C et pH=2,5. La température maximale compatible avec la croissance a aussi été trouvée dépendante du pH. La limite était 45°C entre pH 2,5 et 3,5; elle n'était que 35°C à pH 1,5. Par ailleurs, ils ont déterminé que le taux spécifique de croissance était indépendant de la concentration en dioxyde de carbone, pour une concentration alimentée supérieure à 0,01% v/v (0,033% dans l'air). On rapporte dans la littérature [34], que la croissance de T. ferrooxidans oxydant du fer ferreux à pH 1,6, n'est à peu près pas affectée par la concentration en CO₂ sur une plage de

0,001 à 8%.

1.2.2. Influence de paramètres physico-chimiques en culture fixe (biofilm)

Il est bien connu que T. ferrooxidans forme spontanément un biofilm en présence d'une surface solide [9,10,11]. Lorsque sa source d'énergie provient d'une solution de sulfate ferreux, ce biofilm est constitué en majeure partie d'un complexe inorganique: la jarosite. La jarosite se forme de façon homogène, lorsque le fer ferrique se trouve en présence de sulfate en milieu acide. Sa formule chimique générale est: $AFe_3(SO_4)_2(OH)_4$ où A varie suivant le cation en présence (v.g. potassium, sodium, ammonium, hydronium) [12].

L'influence de paramètres physico-chimiques sur le taux d'oxydation du fer ferreux pour la souche G 15 en biofilm, a été étudié par Nikolov et Karamanev [9]. Ils ont mis en évidence que le taux d'oxydation n'était pas affecté par un changement de température entre 13 et 38°C, de pH entre 1,3 et 2,2 et par la concentration en fer ferrique jusqu'à 14 Kg/m³. Ces résultats contrastent avec ceux obtenus en culture libre, où des optimums bien définis avaient été identifiés.

Nakamura et collaborateurs [11] ont étudié l'influence de la température et du pH sur le taux d'oxydation du fer ferreux pour une souche japonaise en biofilm. Ils ont trouvé que le taux

d'oxydation n'était pas affecté par le pH entre 1,0 et 2,6 ni par la température entre 10 et 40°C. A 5°C, le taux d'oxydation était diminué d'environ 40%; tandis qu'à 45°C, il était réduit à zéro.

Les américains Unz, Olem et Wichlacz [13] ont étudié l'influence de la température et du pH sur la conversion du fer ferreux en fer ferrique avec un réacteur à biodisques rotatifs. Pour une température comprise entre 10 et 25°C et un pH compris entre 2,2 et 5,6 la conversion n'était, en pratique, pas affectée.

Ces résultats appuient la thèse, largement admise, qu'un microorganisme en culture fixe (biofilm) est moins sensible aux conditions du milieu, que le même microorganisme en culture libre submergée.

1.3. Modèles cinétiques

1.3.1. Modèles cinétiques de croissance et d'oxydation du fer ferreux en culture libre submergée

On retrouve dans la littérature, plusieurs travaux sur l'oxydation du fer ferreux par I. ferrooxidans, en culture submergée, où le modèle de Monod est utilisé [6,7,8,14,15,16]. Ce modèle a été utilisé pour décrire le taux spécifique de croissance (μ), aussi bien pour des expériences en cuvée qu'en

continue. Ces auteurs s'accordent pour dire que le taux d'oxydation du fer ferreux est directement proportionnel au taux de croissance bactérien. Cette hypothèse sera vérifiée dans ce travail.

Lacey et Lawson [16], ont déterminé les deux paramètres du modèle de Monod, pour l'oxydation du sulfate ferreux en phase liquide au cours d'expériences en cuvée. L'oxygène, le dioxyde de carbone ainsi que les autres nutriments étaient fournis en excès. Ils ont effectué des expériences à trois températures: 20, 25 et 31°C. Les valeurs correspondantes de μ_m étaient: 0,12; 0,17 et 0,20 h⁻¹. Ces valeurs suivaient une loi d'Arrhénius avec une énergie d'activation de 33500 J/mole. Le paramètre du taux de moitié, K_m , prenait des valeurs aléatoires entre 1 et 2 Kg/m³ avec une moyenne de 1,25.

Dans son projet de fin d'études, S. Laparé [17] a étudié la cinétique de croissance d'une souche américaine (ATCC 23270) à partir de solutions aqueuses de sulfate ferreux. Il a opéré en régime permanent, dans un réacteur de type airlift considéré comme parfaitement mélangé. Ses conditions opératoires étaient:

$$T = 29,5^\circ\text{C}$$

$$\text{pH} = 1,85$$

$$S_0 \approx 5 \text{ Kg/m}^3$$

Il a obtenu pour résultats:

$$\mu_m = 0,12 \text{ h}^{-1}$$

$$K_m = 0,54 \text{ Kg/m}^3$$

$$r_{su} \text{ maximum} = 0,31 \text{ Kg/m}^3 \cdot \text{h} \quad (\text{temps de résidence optimum } 12,1 \text{ h})$$

$$\text{temps de résidence minimum} = 9,3 \text{ h}$$

MacDonald et Clark [15] ont étudié l'oxydation de solutions aqueuses de sulfate ferreux par une souche américaine, ATCC 13728, dans un réacteur de type réservoir agité, opéré en continu.

Leurs conditions étaient:

$$T = 32^\circ\text{C}$$

$$\text{pH} = 2,3$$

$$S_0 = 2,93 \text{ Kg/m}^3$$

Ils ont trouvé:

$$\mu_m = 0,161 \text{ h}^{-1}$$

$$K_m = 0,215 \text{ Kg/m}^3$$

$$Y = 4,7 \cdot 10^{10} \text{ cellules/ g fer oxydé}$$

La cinétique en culture libre de la souche bulgare G 15, a été étudiée par Nikolov et Karamanev [8], dans un bioréacteur de type airlift opéré en continu. Ils ont quantifié l'influence de l'oxygène sur le taux de croissance en utilisant un modèle de type Monod à deux substrats (fer ferreux et oxygène dissous).

Leurs conditions étaient:

$$T = 25,5^{\circ}\text{C}$$

$$\text{pH} = 2,5$$

$$S_0 \approx 4,0 \text{ Kg/m}^3$$

Ils ont trouvé:

$$\mu_m = 0,0977 \text{ h}^{-1}$$

$$K_m = 0,144 \text{ Kg/m}^3$$

$$K_{O_2} = 0,00023 \text{ Kg O}_2/\text{m}^3$$

On retrouve donc dans la littérature, plusieurs valeurs pour les paramètres biocinétiques μ_m et K_m pour différentes souches et conditions opératoires. Cependant l'information disponible sur le taux de rendement en biomasse (Y) et sur le taux spécifique de déperissement de la biomasse (K_d) est beaucoup plus restreinte [14,15]. La connaissance de ces deux derniers paramètres est, malgré tout, nécessaire au design d'un bioréacteur industriel. L'évaluation de ces deux paramètres a été considérée dans ce travail.

1.3.2. Modèle cinétique d'oxydation du fer ferreux en culture fixe

Chavarie et ses collaborateurs [18] font remarquer le peu d'information disponible dans la littérature scientifique sur

l'oxydation du fer ferreux en biofilm. En particulier, l'influence de la concentration en oxygène dissous et les effets diffusionnels sont très mal définis.

Nikolov et Karamanev [9] ont étudié la cinétique d'oxydation en biofilm de la souche G 15. Ils ont postulé une cinétique d'ordre zéro par rapport à l'oxygène et négligé le transfert de masse intrabiofilm.

Leurs conditions étaient:

$$T = 27^{\circ}\text{C}$$

$$\text{pH} = 1,8 \text{ à } 2,0$$

$$S_0 = 3,5 \text{ à } 4,0 \text{ Kg/m}^3$$

$$\delta = 80 \text{ } \mu\text{m}$$

Ils ont déterminé les paramètres biocinétiques du taux d'oxydation pour une équation analogue à celle de Monod:

$$q = q_m * S / (S + K_m) \quad \text{où} \quad q = W_{\text{bio}} / M_{\text{BF}}$$

Ils ont déterminé:

$$K_m = 0,275 \text{ Kg/m}^3$$

$$q_m = 0,091 \text{ Kg/Kg biofilm.h}$$

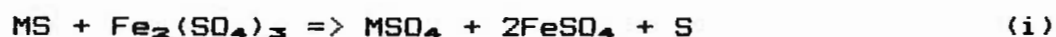
A notre connaissance, aucune étude tenant compte de l'oxygène

dissous et de sa diffusion dans le biofilm, sur la vitesse d'oxydation du fer ferreux en biofilm par T. ferrooxidans n'a été publiée à ce jour, à l'exception des travaux préliminaires du groupe de recherches du professeur Chavarie [18,19,20].

1.4. Intérêt de l'étude

L'oxydation bactériologique du fer ferreux a suscité beaucoup d'intérêts au cours des dernières années. Dans plusieurs centres miniers, la biohydrométallurgie permet de récupérer du cuivre de résidus à basse teneur [5,6]. On estime aujourd'hui, que plus de 10% du cuivre mondial est récupéré à l'aide de la lixiviation bactériologique [3].

La lixiviation proprement dite se fait par les ions ferriques qui servent d'agent oxydant, pour solubiliser les sulfures présents dans le minerai (v.g. CuS, ZnS, FeS). Au cours de cette réaction le fer ferrique est réduit en fer ferreux.



Après la lixiviation, il est possible de régénérer les ions ferriques en oxydant les ions ferreux selon la réaction (ii) dans un bioréacteur [10,11,13,18,21]. Cette réaction (lixiviation indirecte), sert de source d'énergie à la bactérie. L'étude de la biocinétique de cette réaction a été l'objet de notre recherche.



Le soufre élémentaire produit par la lixiviation sert aussi de source d'énergie à la bactérie. Elle le transforme en acide sulfurique qui peut être utilisé par la réaction (ii).



La présence de Thiobacillus ferrooxidans augmente la vitesse de la réaction (ii) par un facteur de 500 000 par rapport à l'oxydation dû à l'oxygène atmosphérique [16]. C'est donc dire que les solutions aqueuses de sulfate ferreux, en conditions acide et à température ambiante, sont très stables. De même, l'oxydation de la pyrite de fer est accélérée par un facteur 10^4 par T. ferrooxidans, par rapport au taux abiotique [5].

La figure 1 représente la lixiviation en tas d'un minerai de cuivre à basse teneur. L'étang d'oxydation peut être remplacé par un bioréacteur plus sophistiqué.

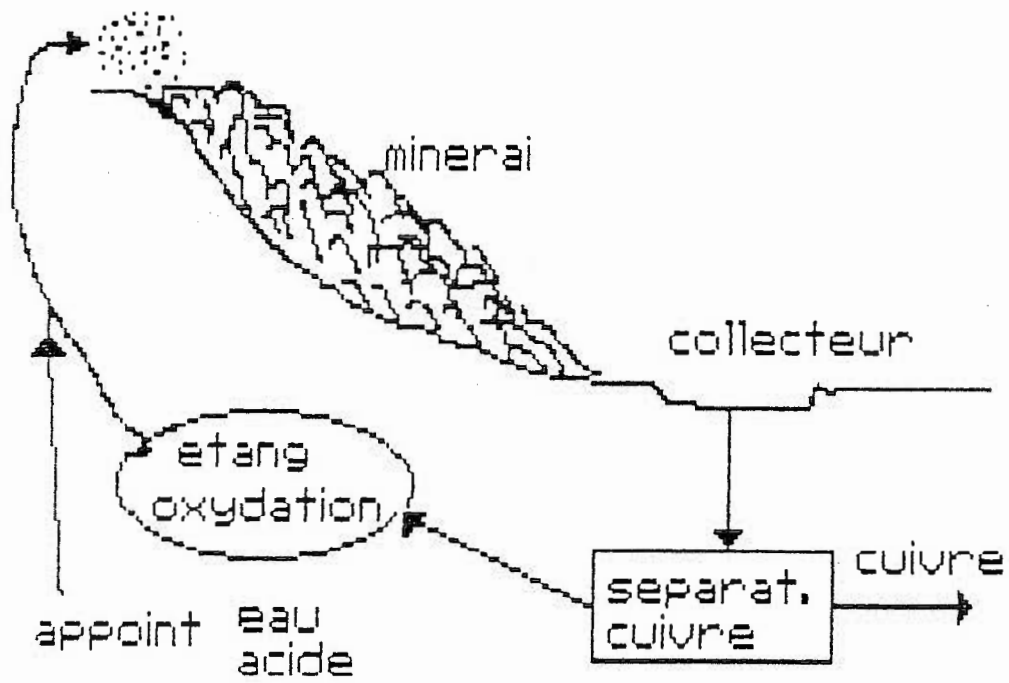


Figure 1 Schéma de la lixiviation en tas

CHAPITRE 2

METHODE EXPERIMENTALE

2.1. Description des bioréacteurs

2.1.1. Bioréacteur de type airlift

On a utilisé, pour l'étude cinétique en culture libre submergée, un bioréacteur de type "airlift" [22], d'un volume nominal de 4 litres (fig.2). Ce réacteur est principalement formé de deux tubes de verre cylindriques concentriques. On introduit un courant gazeux à la base du tube interne avec une pompe à air. Ce courant, en plus d'assurer l'oxygénation de la solution à traiter, entraîne par siphonage le liquide de l'espace annulaire et provoque ainsi une recirculation interne continue entre la zone centrale et l'annulus. Le tube interne est maintenu au centre du tube externe à l'aide de fils d'acier inoxydable 316, à une profondeur d'environ 10 cm. Le tube externe est ceint par un tube de plexiglass, dans lequel circule de l'eau thermostatée.

A la base du tube externe, on retrouve un réducteur en verre qui permet de passer du diamètre de 7,62 cm à un "T" en verre d'un diamètre de 2,54 cm. La sortie latérale du "T", sert pour le contrôle de niveau du liquide dans le bioréacteur. Un tube de Tygon relie cette sortie à un tube de verre coudé, placé à la verticale. En déplaçant le sommet du coude, on peut modifier le

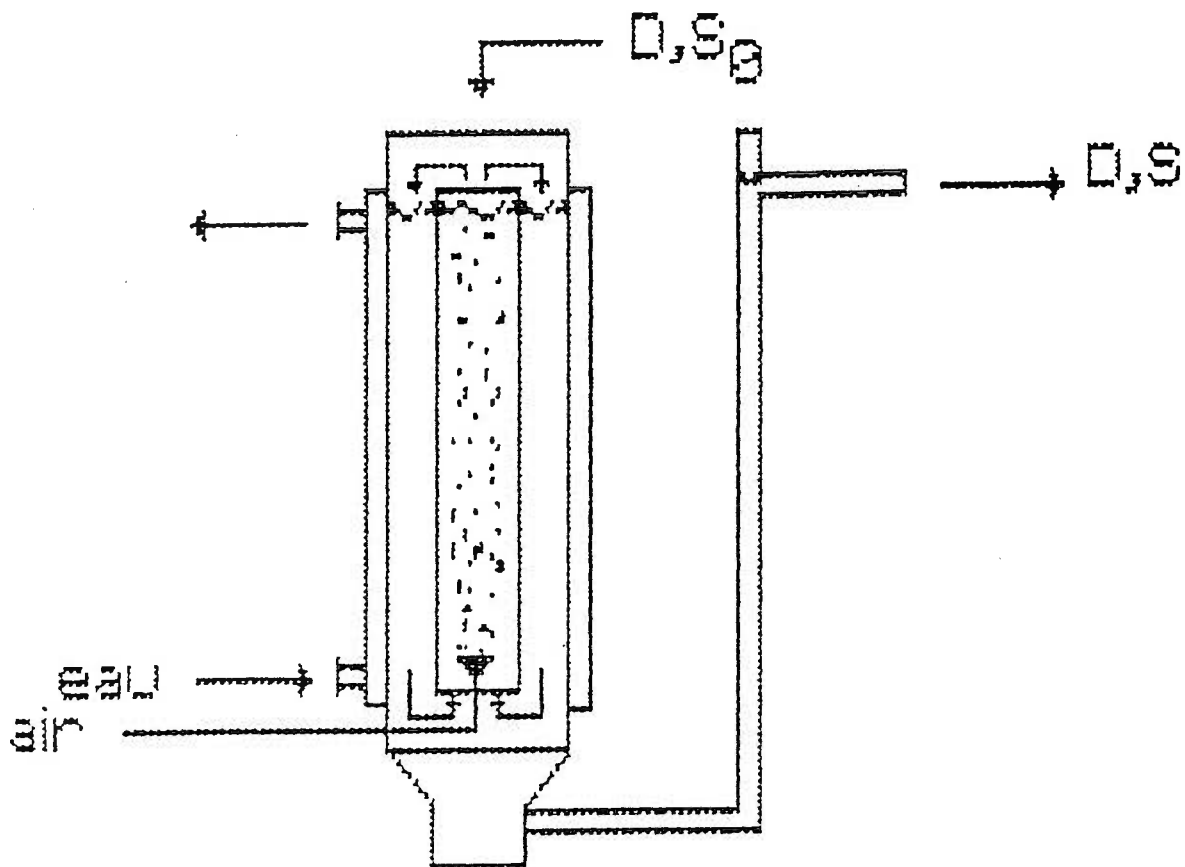


Figure 2 Schéma d'un bioréacteur de type airlift de 4 litres

niveau de liquide. Par la suite, un autre tube de Tygon amène les produits à l'évier. La sortie inférieure du "T", est connectée avec un tube de Tygon normalement fermé par des pinces tubes de laboratoire. Ce tube sert lors de nettoyages pour éliminer l'excès de jarosite.

Trois bioréacteurs de ce type ont été construits pour cette étude, chacun possède de petites particularités. Les dimensions typiques sont les suivantes: Tube interne, diamètre interne 2,54 cm, diamètre externe 3,60 cm, longueur 60,5 cm. Tube externe, diamètre interne 7,62 cm, longueur 77 cm. Réducteur, longueur 10 cm. Chemise de plexiglass, diamètre interne 10,16 cm, longueur 64 cm.

L'état du mélange pour un réacteur de 1,8 litre de géométrie analogue, a été caractérisé par Nikolov et Karamanev [8]. Pour un temps de résidence de 7,7 h et un débit gazeux très faible (3 l/h), ils ont obtenu un nombre de Péclet de 0,002. Ils concluent que le réacteur peut être considéré parfaitement mélangé.

2.1.2. Réacteur à biofilm à fluidisation inversée (RBFII)

Pour l'étude en culture fixe (biofilm), on a ajouté au bioréacteur de type airlift, des particules de polystyrène expansée dans l'espace annulaire. Ces particules de faible densité ont évidemment tendance à flotter, elles sont cependant entraînées vers le bas par le courant de recirculation du

liquide et l'on obtient ainsi un lit fluidisé inversé.

On fait subir aux particules de polystyrène expansé un traitement de surface avec de la terre diatomée afin de faciliter l'adhésion de *T. ferrooxidans*. Ce traitement consiste à agiter mécaniquement à grande vitesse pendant 10 minutes, les particules auxquelles on a ajouté 20% en volume de terre diatomée à l'aide d'un "blender". Les particules sont ensuite rincées à l'eau courante.

Thiobacillus ferrooxidans se fixe spontanément sur le support ainsi traité et un biofilm se développe. Ce biofilm est constitué en majeure partie d'un complexe inorganique, la jarosite et d'environ 0,75% p/p de bactéries [27]. La densité du biofilm a été évaluée à 2000 Kg/m³ [24].

Avec le temps, l'épaisseur du biofilm croît, la densité de la bioparticule (particule support + biofilm) augmente, causant une augmentation de l'expansion du lit fluidisé inversé. Eventuellement, les bioparticules atteignent l'ouverture du tube interne et commencent à recirculer. On a placé au préalable une grille supportant un lit de particules abrasives, à l'intérieur du tube interne. Ce lit est légèrement fluidisé par le courant de recirculation du liquide. Il a pour fonction d'éroder les bioparticules afin de contrôler l'épaisseur du biofilm. Plusieurs types d'érodeurs ont été testés au cours de cette étude.

Ce réacteur à biofilm à fluidisation inversée (RBFi) a d'abord été développé en Bulgarie [25]. Il possède l'avantage d'offrir une très grande surface spécifique (650 à 4000 m²/m³) et combine en une seule unité le lit fluidisé, l'aérateur, le système de recirculation du liquide et l'appareil de contrôle du biofilm.

L'état du mélange pour le RBFi a été caractérisé par Nikolov et Karamanev [24]. Pour différents temps de résidence, il ont trouvé des nombres de Péclet variant de 0,0011 à 0,0057. Ainsi on peut considérer le RBFi parfaitement mélangé par rapport au fer. Garnier [23], avec des traceurs salins arrive à la même conclusion.

2.2. Composition de l'alimentation

Les deux types de bioréacteurs ont été opérés en continu. Une solution aqueuse de fer ferreux ainsi qu'une solution de sels nutritifs de type 9K [26] étaient alimentées à la tête des bioréacteurs. De l'air ambiant était pompé continuellement au bas du tube interne; un débit d'environ 4 l/min assurait une concentration en oxygène près de la saturation (7,5 mg/l) en culture libre. L'air contenait aussi le CO₂ (0,033% v/v) nécessaire à la croissance de Thiobacillus ferrooxidans. Le débit gazeux était fourni par une pompe à air d'aquarium de marque Hagen modèle optima à débit variable, 1,0 à 6,5 l/min.

La solution de sels de type 9K, contenait la source d'azote de phosphore ainsi que des facteurs de croissance. Sa composition était:

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	3,0 g/l
K_2HPO_4	0,5 g/l
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,5 g/l
KCl	0,1 g/l
H_2SO_4	1,5 ml/l

Dilution à l'eau du robinet

La solution aqueuse de fer ferreux servait de source d'énergie. Le sulfate ferreux utilisé était de qualité technique, il provenait de la compagnie Sivaco (analyse typique: 97,7% $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, minimum 20% fer).

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	50 g/l
H_2SO_4	1,5 ml/l

Dilution à l'eau du robinet

Ces deux solutions étaient stockées à température pièce, dans deux réservoirs de 110 litres de marque Nalgène en polyéthylène haute densité. Pour l'étude en culture libre, les débits liquides étaient assurés par deux pompes péristaltiques Watson-Marlow. En culture fixe, on a utilisé deux pompes à déplacement positif Prominent #E0212T.

2.3. Comparaison culture fixe versus culture libre

Les principaux avantages de la culture fixée par rapport à la culture libre sont les suivants:

- Grande concentration en bactéries par unité de volume.
- Les bactéries fixées ne peuvent être lessivées (washout).
- Les bactéries fixées sont beaucoup moins sensibles aux conditions du milieu (T , pH , $[Fe^{2+}]$, $[Fe^{3+}]$) que les bactéries libres.

Les désavantages principaux sont:

- Résistance à la diffusion de l'oxygène dans le biofilm.
- Les cellules fixées se divisent plus lentement, elles seront, en moyenne, plus vieillies qu'en culture libre.

Nikolov et Karamanev [9], ont comparé le taux maximal d'oxydation du fer ferreux pour trois conditions d'opération:

- 1- En cuvée pour une culture libre (airlift)
- 2- En continu pour une culture libre (airlift)
- 3- En continu pour une culture fixe (RBFI)

Ils ont trouvé avec $S_0=4 \text{ Kg/m}^3$, un taux d'oxydation volumique maximum de 0,15; 0,30 et 1,50 $\text{Kg/m}^3 \cdot \text{h}$ respectivement.

2.4. Procédures analytiques

2.4.1. Mesures effectuées

2.4.1.1. Culture libre

Pour l'étude en culture libre, on a mesuré pour chaque régime établi: La concentration en biomasse, le fer ferreux, le fer ferrique et le fer total, la température, le débit de la solution de sulfate ferreux, le débit de la solution 9K, le débit d'air et le pH. On a aussi mesuré à quelques reprises la concentration en oxygène dissous.

On considèrait que le régime permanent était atteint, après un délai de cinq fois le temps de résidence hydraulique moyen. 200 ml de particules de polypropylène était ajouté dans le liquide, afin de prévenir la formation d'un biofilm sur les surfaces de verre. Ces particules étaient remplacées à chaque série de mesures. Le volume de liquide dans le bioréacteur était mesuré une fois au début de chaque expérience, avec un cylindre gradué de 1 litre. Ce volume excluait les volumes morts et était corrigé pour la présence des particules de polypropylène.

2.4.1.2. Culture fixe

Pour l'étude en biofilm, les mesures étaient effectuées sur

une base quotidienne. On mesurait, l'épaisseur du biofilm, le fer ferrique et le fer total, la température, le débit de la solution de sulfate ferreux, le débit de la solution 9K, le débit d'air, l'expansion du lit fluidisé inversé. Sur une base moins régulière, on mesurait, le fer ferreux, le pH. A quelques reprises, on a mesuré, le profil d'oxygène et le profil d'épaisseur du biofilm dans l'annulus, la production de jarosite.

Les particules support étaient caractérisées avant d'être introduites dans le bioréacteur. A partir d'un échantillon, on mesurait, la masse volumique (pycnomètre), le diamètre moyen (microscope avec vernier), la masse moyenne (balance analytique). Le nombre total de particules était obtenu à partir du volume sec, en supposant une porosité de 40%. La masse totale de biofilm présente dans le bioréacteur, était estimée à partir de l'épaisseur du biofilm et du nombre total de particules. Le volume liquide était mesuré au début de l'expérience et était corrigé pour la présence du lit fluidisé.

2.4.2. Débits

Les débits liquides ont été mesurés à l'aide d'un cylindre gradué de 10 ml et d'un chronomètre. Un volume d'au moins 5 ml était recueilli, l'erreur expérimentale ne dépassait pas 2%. Le débit d'air était mesuré avec un rotamètre gradué entre 0,5 et 7,0 l/min.

2.3.3. Température

La température a été mesurée avec un thermomètre à mercure gradué au demi degré Celcius, l'incertitude était donc $\pm 0,25^{\circ}\text{C}$. La température dans les bioréacteurs était contrôlée, à l'aide d'un bain thermostaté (Brinkmann, modèle mgw Lauda RM20) muni d'une pompe à eau (Brinkmann, modèle mgw Lauda RMT).

2.4.4. pH

Le pH a été mesuré avec un pHmètre électronique de marque Fisher accumet (modèle 825 MP). Une électrode de verre et une électrode de référence au Calomel ont été utilisées. On effectuait une calibration à deux points avec des solutions tampons de pH 2 et 4. Dans ces conditions, on a estimé l'incertitude à $\pm 0,05$.

2.4.5. Concentration en fer ferreux

Le fer ferreux a été déterminé par un titrage au dichromate de potassium (0,1 N) avec le diphénylaminosulfonate de barrium (0,2% p/p) comme indicateur. Un échantillon était prélevé du bioréacteur avec une pipette de 5 ml. On ajoutait 2 ml d'acide sulfurique concentrée, environ 50 ml d'eau distillée et quatre gouttes d'indicateur. La coloration au point de virage était le mauve. Une burette graduée au dixième de millilitre a été utilisée. Par des points répétés, on a estimé l'incertitude à \pm

0,05 g/l.

2.4.6. Concentrations en fer ferrique et en fer total

La détermination du fer ferrique et du fer total (ferreux + ferrique) était effectuée à partir d'un même échantillon par une méthode colorimétrique. Un aliquote de 0,4 ml était prélevé du bioréacteur à l'aide d'une pipette automatique. On ajoutait 5 ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (100 g/l), qui formait un complexe de couleur violet avec le fer ferrique et 100 ml d'eau distillée. L'absorbance était mesurée au spectrophotomètre (Beckman, modèle DB) à 455 nm. Pour déterminer le fer total, on ajoutait à la solution précédente 5 ml d'hydroxide d'ammonium concentré, un complexe jaunâtre était alors formé avec le fer ferrique et ferreux. L'absorbance était mesurée à 499 nm. Par des mesures répétées, on a évalué la précision de cette technique à $\pm 0,05$ g/l. La courbe de calibration a été réalisée avec des solutions de fer ferrique à 1,0, 2,5 et 5,0 g/l. Une recalibration était effectuée lorsque la somme des concentrations expérimentales en fer ferreux et ferrique était différente à plus de 5% de la concentration en fer total.

Le titrage du fer ferreux servait surtout à vérifier si le bilan sur le fer bouclait. En effet, les deux mesures obtenues avec le spectrophotomètre étaient suffisantes pour déterminer le taux d'oxydation du fer ferreux. La concentration en fer ferreux à l'entrée (S_0) est égale à la concentration en fer total dans le

bioréacteur, puisque l'alimentation ne contient pas de fer ferrique. La concentration en fer ferreux (substrat) dans le bioréacteur (S), est égale à la différence entre le fer total et le fer ferrique (produit).

2.4.7. Concentration en oxygène dissous

L'oxygène dissous a été mesuré à l'aide d'une sonde à oxygène de type industriel en acier inoxydable de marque Ingold. La lecture en pourcentage de la saturation était lue sur un moniteur (DIGEM ff1E, GOSSEN). On a assumé que la concentration de saturation dans notre liquide était égale à 95% de la concentration de saturation dans l'eau distillée, dans les mêmes conditions de température et de pression.

2.4.8. Concentration en biomasse libre

Trois échantillons de 100 ml du liquide dans le bioréacteur étaient centrifugés à 4500 TPM pendant 30 minutes. Le surnageant était jetté, on récupérait le culot de sédiments issu de la centrifugation et on le plaçait dans un récipient préalablement pesé. On séchait à l'étuve à 105°C pendant 24 h. On obtenait la masse sèche total (MST) des sédiments par différence. La moyenne des MST divisée par le volume de l'échantillon donnait "la concentration en biomasse". Il faut noter que le culot de sédiments contenait les bactéries mais aussi de la jarosite qui était en suspension dans le bioréacteur. On a observé au

microscope (1000X) le surnageant après centrifugation, aucune bactérie n'a été détectée. Les masses impliquées étaient très faibles, on a pris soin de manipuler les récipients avec des pinces et d'utiliser un dessiccateur avant chaque pesée.

2.4.9. Epaisseur du biofilm

L'épaisseur du biofilm était déterminée à partir d'un échantillon de 50 à 100 bioparticules. On comptait le nombre exact de bioparticules, elles étaient séchées à l'étuve à 70°C pendant 60 minutes et par la suite, pesées par différence. Le biofilm forme une couronne sphérique autour de la particule support. La masse et le diamètre moyens du support sont connus ainsi que la densité du biofilm (2000 Kg/m³), on peut donc calculer l'épaisseur de la couronne de biofilm à partir de la masse moyenne d'une bioparticule.

2.4.10. Expansion du lit fluidisé inversé

L'expansion était mesurée avec une règle de 30 cm. Les mouvements de l'interface du lit, limitait la précision de la mesure à ± 1 cm.

2.5. Souches étudiées

Trois souches de Thiobacillus ferrooxidans ont été étudiées. Deux souches américaines, ATCC 23270 et ATCC 19859, provenaient

de American Type Culture Collection. Une souche bulgare, G 15, provenait de la collection du département de microbiologie de l'Université de Sofia.

Ces trois souches ont été conservées dans une incubateur rotatif à 28°C et repiquées régulièrement. Les trois souches ont été étudiées séquentiellement. Les bioréacteurs étaient d'abord nettoyés avec une solution d'acide chlorhydrique et d'acide oxalique. Les bioréacteurs, les instruments, les réservoirs et la tuyauterie étaient ensuite désinfectés avec de l'eau de javel concentrée pendant plusieurs heures et puis rincés à l'eau courante. La surface des comptoirs de travail était flambée à l'éthanol.

On utilisait un innoculum de 10% v/v. Le réacteur était alimenté en air et opéré en cuvée, jusqu'à ce que la coloration change du vert (fer ferreux) au rouge brique (fer ferrique). On débutait alors l'étude en culture libre, en alimentant en continu les deux solutions décrites précédemment. On débutait l'étude en culture fixe, en ajoutant les particules de support au réacteur en culture libre en régime permanent. Le volume des particules de support correspondait à environ 20% du volume de liquide.

CHAPITRE 3
CINETIQUE DE CROISSANCE ET D'OXYDATION DU FER FERREUX
EN CULTURE LIBRE SUBMERGEE

3.1. Equations de base en culture libre

Les équations 1 à 4 définissent les relations de base de la cinétique en culture libre.

$$r_x = \mu X \quad (1)$$

$$r_{su} = qX \quad (2)$$

$$r_x = Yr_{su} \quad (3)$$

Alors $Y = \mu/q \quad (4)$

Les paramètres μ , q et Y sont des coefficients de proportionnalité qui doivent être modélisés. A priori, on considère qu'il peut y avoir un taux de mortalité significatif, on pose [27]:

$$\mu = Y_T q - K_d \quad (5) \quad \text{avec } K_d \geq 0$$

$$\text{d'où } q = (1/Y_T) * \mu + K_d/Y_T \quad (6)$$

Bilan sur la biomasse:

accumulation = entrée - sortie + génération

$$V * dX/dt = F * X_0 - F * X + V * r_x$$

En régime permanent avec une alimentation stérile, le bilan se simplifie:

$$r_x = (F/V) * X$$

Soit $\mu X = D * X$

Alors $\mu = D \quad (7)$

Le taux de dilution (D), est égale à l'inverse du temps de résidence hydraulique moyen. L'équation (7) a une signification particulière, en régime permanent: une population non nulle peut se maintenir seulement si elle peut ajuster son taux spécifique de croissance au taux de dilution (variable de contrôle).

De (4) et (6), on a:

$$Y = Y_T / (1 + K_d / \mu) \quad (8)$$

L'équation (8) est un modèle pour le coefficient de rendement en biomasse, qui tient compte d'un dépérissement possible de la biomasse. Les valeurs de Y et μ sont obtenues des bilans en régime permanent.

Bilan sur la biomasse: $r_x = DX$

Bilan sur le substrat: $r_{su} = D(S_0 - S)$

Mais $Y = r_x / r_{su}$

Donc $Y = X / (S_0 - S)$

3.2. Modèle cinétique souche ATCC 23270

3.2.1. Evaluation du coefficient de rendement en biomasse

Les données expérimentales sont présentées au tableau A1 de l'annexe A. On a utilisé des régressions non-linéaires pour ne pas amplifier les incertitudes relativement grandes sur les petites valeurs de S et X . Les valeurs expérimentales de μ et Y sont présentées au tableau 1.

Y	0,1873	0,1513	0,1778	0,2028	0,1437	0,1916
(Kg MST/Kg)						
μ	0,0328	0,0383	0,0491	0,0701	0,0946	0,1115
(h ⁻¹)						

Tableau 1: Evaluation des paramètres biocinétiques K_d et Y_T
souche ATCC 23270

Les estimés des paramètres Y_T et K_d ont été obtenus avec le progiciel SAS, par des régressions non-linéaires (méthode de Gauss-Newton), les résultats figurent au tableau 2.

	estimé du paramètre	écart-type	intervalle de confiance à 95%	
			bas	haut
Y_T	0,1809	0,0300	0,0975	0,2648
(Kg MST/Kg)				
K_d	0,0013	0,0086	-0,0226	0,0252
(h ⁻¹)				

Tableau 2: Paramètres de régression K_d et Y_T souche ATCC 23270

La valeur de la K_d n'est pas significativement différente de zéro. Cela signifie que la mortalité bactérienne est négligeable. Par le principe de la parcimonie, on doit éliminer ce paramètre du modèle, on pose donc dans (8): $K_d=0$.

L'équation se simplifie à: $Y=Y_T$ (9)

Mathématiquement, pour une culture libre, un taux de dépérissement nul est équivalent à un taux de maintenance nul [29]. On doit refaire la régression non-linéaire pour obtenir le meilleur estimé de Y_T .

	estimé du paramètre	écart-type	intervalle de confiance à 95%	
			bas	haut
Y_T	0,1770	0,0103	0,1505	0,2033
(Kg MST/Kg)				

Tableau 3: Paramètre de régression Y_T souche ATCC 23270

3.2.2. Modèles pour le taux spécifique de croissance et pour le taux spécifique d'utilisation du substrat

L'équation (9) suggère le modèle suivant:

$$\mu = \mu_m * S / (K_m + S) \quad (10) \quad \text{équation de Monod}$$

$$q = q_m * S / (K_m + S) \quad (11) \quad \text{où } q_m = \mu_m / Y_T$$

De (4), (10) et (11) on a bien que:

$$Y = \mu / q = \mu_m / q_m = \text{constante } (Y_T)$$

Alors (7) et (10) donne:

$$D = \mu_m * S / (K_m + S) \quad (12)$$

En isolant S de l'équation (12), on a que:

$$S = D * K_m / (\mu_m - D) \quad (13)$$

La connaissance de S, nous permet d'exprimer la concentration en biomasse en termes des paramètres biocinétiques et des conditions d'opération.

$$X = Y(S_0 - S) = Y(S_0 - D * K_m / (\mu_m - D)) \quad (14)$$

Dans la littérature, on nomme souvent les équations (13) et (14) le "Monod chemostat model" [29]. Ce modèle est valide dans une plage de concentrations où il n'y a pas d'inhibition ni par le produit, ni par le substrat.

L'équation (13) indique que la concentration du substrat à la sortie du bioréacteur (S) est indépendante de la concentration à l'entrée (S₀), elle ne dépend que du temps de résidence et des paramètres biocinétiques. L'équation (14) montre que la concentration du catalyseur (X), s'ajuste à la charge de l'alimentation (S₀). En posant X=0 dans l'équation (14) ou encore S=S₀ dans l'équation (13), on obtient le taux de dilution maximum ("washout").

$$D_m = \mu_m * S_0 / (K_m + S_0) \quad (15)$$

Pour S₀ >> K_m, on a que: D_m ≈ μ_m

Les données nécessaires à l'estimation de μ_m et K_m avec l'équation (12), sont présentées au tableau 4.

D	0,0328	0,0383	0,0491	0,0701	0,0946	0,1115
(h ⁻¹)						
S	0,17	0,22	0,22	0,40	1,12	1,72
(Kg/m ³)						

Tableau 4: Evaluation des paramètres biocinétiques K_m et μ_m
souche ATCC 23270

L'estimation des paramètres est obtenue par une régression non linéaire, les résultats figurent au tableau 5.

paramètre	estimé du	écart-type	intervalle de confiance à 95%	
			bas	haut
K _m	0,4780	0,0851	0,2418	0,7142
(Kg/m ³)				
μ _m	0,1403	0,0102	0,1119	0,1678
(h ⁻¹)				

Tableau 5: Paramètres de régression K_m et μ_m souche ATCC 23270

Les deux paramètres sont significatifs. Notre modèle cinétique est donc constitué des équations (1), (2), (3), (10) et (11). Il se résume par :

$$r_x = 0,140 * S / (0,478 + S) * X \quad (\text{Kg MST/m}^3 \cdot \text{h})$$

$$r_{\text{Fe}} = r_x / 0,177 = 5,652 * r_x \quad (\text{Kg/m}^3 \cdot \text{h})$$

La courbe $D = \mu = 0,140 * S / (0,478 + S)$ est tracé la figure A1 de l'annexe A, les points expérimentaux y correspondent très bien. Cette similitude confirme que le modèle de Monod est adéquat, pour représenter le taux spécifique de croissance de Thiobacillus ferrooxidans, cultivée en continue dans un réacteur parfaitement mélangé à partir de sulfate ferreux.

Remarque: Pour cette série (ATCC 23270), la valeur de Y_T est surévaluée car notre technique de mesure de la biomasse (X) était biaisée: après la centrifugation on ne jettait pas tout le surnageant. Par la suite, on a déterminé que le surnageant contenait de la matière sèche et volatile. Cependant, les valeurs de μ_m , K_s et K_d restent valides. Dans les expériences qui ont suivi, on a conservé seulement le culot de la centrifugation.

3.3. Cinétique souche ATCC 19859

On a utilisé le modèle cinétique de la section précédente pour exprimer la croissance et l'oxydation du fer ferreux par la souche ATCC 19859. Les données expérimentales sont présentées au

tableau A2. Les résultats trouvés avec deux régressions non-linéaires figurent au tableau 6.

Taux de déperissement non significatif, $K_d=0$.				
	estimé du	écart-type	intervalle de confiance à 95%	
	paramètre		bas	haut
Y_T	0,0489	0,0026	0,0423	0,0549
(Kg MST/Kg)				
μ_m	0,1280	0,0212	0,0760	0,1800
(h^{-1})				
K_m	0,2881	0,1486	-0,0761	0,6523
(Kg/m ³)				

Tableau 6: Paramètres de régression souche ATCC 19859

La figure A2 compare la courbe de régression et les points expérimentaux pour le modèle de Monod. La courbe porte bien les points expérimentaux.

3.4. Cinétique souche G 15

Les données expérimentales sont présentées au tableau A3. Les résultats trouvés à l'aide de deux régressions non-linéaires

sont présentés au tableau 7.

Taux de déperissement non significatif, $K_a=0$.				
paramètre	estimé	écart-type	intervalle de confiance à 95%	
			bas	haut
Y_T	0,0475	0,0050	0,0353	0,0597
(Kg MST/Kg)				
μ_m	0,1584	0,0102	0,1336	0,1833
(h^{-1})				
K_m	0,6646	0,1193	0,3727	0,9566
(Kg/m ³)				

Tableau 7: Paramètres de régression souche G 15

Encore une fois, la courbe de régression porte bien les points expérimentaux (fig. A3).

3.5. Tableau comparatif des paramètres biocinétiques

Le tableau 8 compare les différents paramètres biocinétiques en culture libre, pour les trois souches étudiées.

Souche	T	K_d	Y_T	μ_m	K_m
	°C	h^{-1}	Kg MST/Kg	h^{-1}	Kg/m ³
ATCC 23270	31	0	-	0,140	0,478
ATCC 19859	30	0	0,049	0,128	0,288
G 15	30	0	0,048	0,158	0,665

Tableau 8: Résumé des paramètres biocinétiques en culture libre

Les deux coefficients de rendement théorique en biomasse sont sensiblement égaux, on peut présumer une valeur analogue pour la souche ATCC 23270. Pour les trois souches étudiées, la valeur de K_d n'est pas significativement différente de zéro. Cela n'est pas surprenant, puisqu'une culture libre peut se maintenir en régime permanent, seulement si les bactéries se divisent régulièrement, ainsi la population reste toujours "jeune".

On remarque que les valeurs des paramètres μ_m et K_m vont dans le même sens; les plus petites valeurs, les valeurs intermédiaires et les plus grandes valeurs sont paires. Ainsi sur la plage de concentrations étudiées (env. 0,1 à 2 Kg/m³), les trois courbes $\mu=f(S)$ sont voisines. Compte tenu de cette observation, on a effectué une régression sur l'ensemble des 22

points expérimentaux. Les paramètres de régression sont présentés au tableau 9. La figure A4 montre que la courbe de régression décrit globalement bien le comportement des trois souches en culture libre.

	estimé du paramètre	écart-type	intervalle de confiance à 95%	
			bas	haut
K_m	0,4231	0,0593	0,2995	0,5468
(Kg/m ³)				
μ_m	0,1427	0,0071	0,1279	0,1574
(h ⁻¹)				

Tableau 9: Paramètres de régression K_m et μ_m

CHAPITRE 4

COMPORTEMENT DES RBFI EN CULTURE FIXEE

4.1. Performances des RBFI de 4 litres

4.1.1. Données physiques sur les expériences

Huit expériences en culture fixe ont été réalisées dans des bioréacteurs de 4 litres (volume nominal). De ces huit expériences, quatre ont été suffisamment longues pour générer des données cinétiques valables. Les données de ces expériences figurent aux tableaux B1 à B4 de l'annexe B. Il faut noter que les valeurs de M_{BF} ne tiennent pas compte des bactéries libres submergées. Le tableau 10 donnent les paramètres physiques de ces expériences.

exp.	souche	T	pH	V	ρ_p	d_p	N_{tot}
		°C		$10^{-3}m^3$	Kg/m ³	$10^{-3}m$	10^3
#2	ATCC 23270	29,5	1,6 à 2,3	2,30	60	1,54	282,4
#4	ATCC 19859	30,0	1,85 à 2,2	2,30	60	1,19	438,7
#7	G 15	30,0	1,7 à 2,3	2,50	363	1,11	394,8
#8	G 15	30,0	1,7 à 2,3	2,80	388	1,17	342,5

Tableau 10: Caractéristiques des expériences en culture fixe

Les figures B1 à B12 de l'annexe B montrent pour les expériences 2,4,7 et 8: L'épaisseur du biofilm (δ), le taux d'utilisation du substrat (W_{su}) et le taux spécifique d'utilisation du substrat (q) en fonction du temps.

4.1.2. Croissance du biofilm

On remarque dans tous les cas, que la croissance initiale du biofilm est très lente (jusqu'à env. 15 μm). Durant cette période, le biofilm est très sensible au cisaillement. Après cette épaisseur critique, le biofilm devient beaucoup plus résistant et son épaisseur augmente à peu près de façon exponentielle (évolution similaire au processus autocatalytique). La figure B17 regroupe l'ensemble des valeurs de δ sur un même graphique.

L'expérience a montrée qu'il s'établit un profil d'épaisseur de biofilm en fonction de la cote dans le lit fluidisé, ce profil est évident lorsque l'épaisseur du biofilm excède 30 μm . L'épaisseur du biofilm augmente de haut en bas de l'annulus. Les échantillons de bioparticules ont toujours été pris à la même position, les courbes représentent donc l'évolution de l'épaisseur du biofilm à 0,1 m du sommet du lit fluidisé. Un modèle pour expliquer ce phénomène est présenté à la section 4.3.

4.1.3. Taux d'utilisation du substrat

Les courbes $W_{\text{Fe}}=f(t)$ montrent qu'à $t=0$, le taux de réaction n'est pas nul car les bactéries libres assurent une oxydation. Lorsque l'épaisseur du biofilm augmente, la contribution relative des bactéries libres à l'oxydation du fer ferreux diminue, car le rapport bactéries fixées/bactéries libres devient de plus en plus élevé. La figure B18 regroupe l'ensemble des valeurs de W_{Fe} sur un même graphique.

Au cours de certaines expériences (v.g. exp. #2), on a noté que la courbe $W_{\text{Fe}}=f(t)$ possède un maximum relatif quelques jours après le début de l'expérience. La chute qui suit correspond au lessivage (washout) des bactéries libres, car on augmente le taux de dilution à mesure que le biofilm croît en épaisseur.

Lorsque le temps de résidence dans le bioréacteur est inférieur au temps de résidence minimal des bactéries libres ($1/D_m$), la concentration en bactéries libres devient très faible. Cette concentration n'est pas nulle, puisque les bactéries fixées libèrent dans le liquide des cellules lors de leurs divisions. Cette concentration est particulièrement faible, car les bactéries fixées se divisent plus lentement que des bactéries libres. Cependant on a observé à l'aide d'un microscope, la présence de bactéries libres dans le liquide à un temps de résidence inférieur à 1 heure.

Un faible taux d'utilisation du substrat, peut être causé par une faible activité bactérienne ou encore la conséquence des

conditions d'opération. Deux types de conditions d'opération peuvent entraînées une faible valeur de W_{su} ($W_{su}=F*(S_0-S)$). La première, est un faible débit d'alimentation, le temps de résidence sera long et la conversion voisine de 100%. La seconde, est une faible concentration du substrat alimentée.

En culture libre, on a enregistré comme valeurs maximales du taux volumique d'utilisation du substrat: 0,476; 0,405 et 0,349 $Kg/m^3.h$ pour les souches ATCC 23270, ATCC 19859 et G 15. En culture fixe, on a obtenu respectivement comme valeurs maximales: 2,62 ($\delta=67,8 \mu m$); 0,830 ($\delta=15,9 \mu m$) et 1,01 $Kg/m^3.h$ ($\delta=45,8 \mu m$). Ces valeurs montrent bien l'effet positif du lit fluidisé, surtout si l'on considère que le nombre de particules support ainsi que l'épaisseur du biofilm n'étaient pas optimisés.

4.1.4. Taux spécifique d'utilisation du substrat

Pour les courbes $q=f(t)$, les valeurs à biofilm très mince ne sont pas valables. Au début des expériences, les bactéries libres assurent en majorité l'oxydation du fer ferreux ainsi on obtient des valeurs très grandes pour $q=W_{su}/M_{BF}$ (M_{BF} n'inclut pas les bactéries libres). La figure B19 regroupe l'ensemble des valeurs de q sur un même graphique.

Après ces valeurs anormalement élevées, q varie peu. On remarque cependant que la pente de la courbe est légèrement négative pour les 4 expériences. Cela peut être causé par la

concentration du substrat (S) qui n'est pas constante dans le temps ou bien par une résistance à la diffusion de l'oxygène dans le biofilm. On montre au chapitre 5, que la première hypothèse ne peut expliquer les résultats expérimentaux. Ce chapitre est consacré à la cinétique en culture fixe, c'est la modélisation des valeurs expérimentales de q .

4.2. Stabilité des RBF1 de 4 litres

Au cours des expériences #1 et #2 en biofilm, on a coupé l'alimentation de la solution en sels (9K), après l'expansion complète du lit fluidisé inversé (54 cm). L'expansion complète avait nécessité respectivement 40 et 62 jours. Cette action avait trois buts, limiter la croissance du biofilm, réduire au minimum la formation de jarosite et diminuer les coûts d'opération. Dans les deux cas, on a observé une amélioration des performances et par la suite, une détérioration du biofilm avec une chute brutale des performances.

La chronologie suivante a été observée au cours de l'expérience #2 (c.f. fig. B5). Initialement, la valeur de W_{su} a augmenté jusqu'à un plateau d'environ $4,0 \cdot 10^{-3}$ Kg/h. Au 67^{ème} jours, on a coupé l'alimentation en sels. Environ 2 jours plus tard, W_{su} a augmenté sensiblement pour dépasser $5,0 \cdot 10^{-3}$ Kg/h, on a enregistré un maximum de $6,42 \cdot 10^{-3}$ Kg/h. Ces performances remarquables ont duré approximativement 21 jours. Après cette période, le biofilm est devenu très friable, W_{su} a diminué

radicalement pour atteindre aussi peu que $0,74 \cdot 10^{-3}$ Kg/h. Le 111^{ème} jours on a réalimenté en sels, la croissance a alors reprise très lentement.

La compréhension de ce phénomène n'est pas évidente, on avance l'explication suivante: le sulfate ferreux que nous avons utilisé ne contenait pas assez d'impuretés (sels) pour permettre la croissance ou la maintenance de la biomasse. Lorsqu'il n'y avait plus de sels disponibles, les cellules ont axé leur métabolisme sur la consommation du substrat. Cependant après environ 21 jours, les cellules avaient vieilli et ont dégénéré rapidement.

Dans les expériences qui ont suivi, on n'a pas interrompu l'alimentation en sels après l'expansion complète du lit fluidisé. On a essayé de limiter la croissance du biofilm en diluant la solution 9K par un facteur 2, puis par un facteur 4. Ces dilutions n'ont pas eut l'effet escompté.

4.3. Mécanique du biofilm

4.3.1. Performances des érodeurs

Aucune des expériences en culture fixe n'a permis l'établissement d'un véritable régime permanent, où la croissance du biofilm dans l'espace annulaire est contrebalancée par l'abrasion dans le tube interne par l'érodeur. Aucun des

érodeurs, n'a été capable d'user le biofilm très dur de Thiobacillus ferrooxidans. Cinq types différents d'érodeurs ont été testés:

- Gravier grossier 0,635 cm (12 à 25 pièces).
- Cylindres 6X6 mm d'acier inoxydable 316L (12 à 58 pièces).
- Boudins d'acier inoxydable 316L.
- Combinaison cylindres et boudins.
- Cylindres d'acier inoxydable 316L 10 mm coupés en biseau.

Le tableau 11 donne un exemple d'épaisseur du biofilm dans l'espace annulaire. Les mesures ont été prises à 16 jours d'intervalles, lors de l'expérience #6 avec la souche G 15. Au cours de cette période, l'expansion du lit fluidisé était complète (54 cm), il y avait présence d'un érodeur constitué de 24 cylindres de 6X6 mm dans le tube interne et la solution 9K n'était pas diluée.

	10 sept. 86		26 sept. 86		
	γ	δ	γ	δ	
	m	μm	m	μm	
	0,1	48,2	0,1	77,7	
	0,2	58,6	0,2	83,8	
	0,3	57,9	0,3	92,2	
			0,4	90,5	
			0,5	91,7	

Tableau 11: Profil d'épaisseur du biofilm dans l'espace annulaire

Expérimentalement, on observait que le taux de recirculation des bioparticules était élevé. Le tableau précédent montre clairement que la croissance du biofilm n'était pas contrôlée. Malgré la présence de l'érodeur, il y avait croissance nette du biofilm; donc augmentation de la densité des bioparticules. Ainsi avec le temps, on a observé qu'une fraction croissante du lit fluidisé décantait au fond du bioréacteur.

4.3.2. Modélisation du profil d'épaisseur du biofilm avant la recirculation des bioparticules

Avec un érodeur efficace, il serait normal d'obtenir un profil d'épaisseur de biofilm dans l'annulus en régime permanent; car il y aurait abrasion dans le tube interne et croissance dans l'espace annulaire. L'expérience a montré, qu'un profil se développait en l'absence d'un érodeur et même avant la recirculation des bioparticules. Le profil était évident pour une épaisseur de biofilm excédant 30 μm .

Un programme FORTRAN pour expliquer l'apparition d'un profil d'épaisseur de biofilm avant la recirculation des bioparticules a été développé. Ce programme tient compte des observations suivantes:

- a) Il y a une distribution des diamètres des particules support.
- b) Dès le début de l'expérience, il y a ségrégation suivant le diamètre des particules support: le diamètre décroît de haut en bas du lit fluidisé inversé.

- c) La porosité croît de haut en bas du lit.
- d) Avec le temps, il s'établit un profil d'épaisseur du biofilm, l'épaisseur croît de haut en bas du lit.
- e) Ce profil se développe avant la recirculation des bioparticules.

Le programme est basé sur le modèle suivant:

$$r_{BFn} = r_{BF} - r_{ab} \quad (16)$$

$$= \mu_{BF} * V_{BF} - K(1-\epsilon) * \pi * (d_{BP})^2 \quad (17)$$

$$V_{BF1+1} = V_{BF1} + r_{BFn} * \Delta t \quad (18)$$

On suppose que le taux de croissance du biofilm est directement proportionnel à son volume, cela est caractéristique d'un processus autocatalytique. On suppose aussi que l'abrasion est causée par le frottement des bioparticules les unes contre les autres à l'intérieur du lit fluidisé. Cette abrasion superficielle est d'autant plus importante que les bioparticules sont entassées, la porosité (ϵ) est calculée par la corrélation de Richardson-Zaki [30]. La constante du taux d'abrasion a des unités de vitesse ce qui est classique d'un phénomène d'usure. Ce modèle demande d'ajuster deux paramètres μ_{BF} et K , l'essai de différentes combinaisons arbitraires rend son utilisation laborieuse. Des résultats vraisemblables ont tout de même été générés avec $\mu_{BF} = 0,002 \text{ h}^{-1}$ et $K = 1,2 * 10^{-4} \text{ cm/h}$; un petit profil d'épaisseur s'est développé, dû aux conditions de cisaillement différentes à l'intérieur du lit sur une période de 75 jours. On retrouve à l'annexe C (c.f. fig. C1, C2, C3) ces résultats ainsi qu'un listing du programme.

CHAPITRE 5

CINETIQUE DE L'OXYDATION DU FER FERREUX EN BIOFILM

5.1. Objectifs

Notre objectif est de modéliser les valeurs expérimentales du taux spécifique d'utilisation du substrat (c.f. fig. B9, B10, B11, B12). Ce modèle de l'oxydation du fer ferreux ne fera pas référence à un modèle de croissance du biofilm.

On utilisera les données recueillies lors de la croissance du biofilm, au cours des expériences # 2,4,7 et 8, pour déterminer la forme du modèle et les paramètres biocinétiques pour l'oxydation du fer ferreux en culture fixe, par les souches ATCC 19859, ATCC 23270 et G 15. Les données expérimentales figurent aux tableaux B1, B2, B3, B4.

5.2. Modèle de Michaelis-Menten

Le modèle de Michaelis-Menten et celui de Monod sont analogues. Celui de Michaelis-Menten a été développé sur des bases théoriques, pour décrire la vitesse d'une réaction catalysée par un enzyme. Celui de Monod est basé sur l'empirisme, il exprime le taux spécifique de croissance d'une espèce microbienne cultivée avec un substrat limitant [35].

L'équation de Michaelis-Menten s'écrit:

$$q = q_m * S / (K_s + S) \quad (19)$$

$$\text{où } q = W_{su} / M_{BF} \quad (20)$$

$$\text{avec } W_{su} = F(S_0 - S) \quad (21) \text{ mélange parfait}$$

En combinant les équations (19), (20) et (21), on obtient une expression quadratique en S dont une seule racine est positive:

$$S = [(q_m M_{BF} + FK_s - FS_0)^2 + 4F^2 K_s S_0]^{0.5} - (FK_s - FS_0 + q_m M_{BF}) \quad (22)$$

2F

Contrairement au modèle du "Monod Chemostat" utilisé pour la culture libre, la concentration du substrat à la sortie du bioréacteur est fonction de la concentration d'entrée dans le cas d'une culture fixée.

L'utilisation du modèle de l'équation (19) pour expliquer les valeurs observées de q, implique les hypothèses suivantes:

- a) Régime pseudo-permanent.
- b) La biomasse ne dépérit pas.
- c) Cinétique d'ordre zéro par rapport à l'oxygène
(l'oxygène dissous est cependant le réactif limitant car $S \gg C_{O_2}$).
- d) La diffusion interne (dans le biofilm) de l'oxygène n'est pas

l'étape limitante.

- e) L'épaisseur du biofilm est approximativement constante dans tout le bioréacteur.
- f) L'oxydation du fer ferreux par les bactéries libres est négligeable par rapport à celle des bactéries fixées.

Justification respective des hypothèses:

- a) Expérimentalement, on observe que la croissance du biofilm est un processus très lent. L'hydrodynamisme et la cinétique possèdent une dynamique beaucoup plus rapide.
- b) En culture libre on a trouvé $K_d=0$.
- c) Nikolov et Karamanev ont trouvé qu'en culture libre la constante de saturation pour l'oxygène est: $K_{O_2}=0,00023$ Kg O_2/m^3 . La concentration la plus faible mesurée dans le RBF1 a été de $0,0038$ Kg O_2/m^3 .
- d) Hypothèse simplificatrice en première approche
- e) D'après nos observations, cela est vérifié pour $\delta < 30\mu m$.
- f) L'approximation est bonne lorsque le taux de dilution est supérieur à D_m .

Remarque: Le transfert de masse intrabiofilm qui peut être limitant est celui de l'oxygène. En effet, la concentration de saturation de l'oxygène (env. $8 \cdot 10^{-3}$ Kg O_2/m^3) est beaucoup plus faible que les concentrations de fer ferreux utilisées. Puisque les consommations de fer et d'oxygène sont reliées par la stoechiométrie, on conclut que la concentration du fer

ferreux à l'intérieur du biofilm est pratiquement constante, elle est essentiellement égale à sa concentration en vrac ("bulk").

Pour satisfaire les conditions e) et f), on a considéré seulement un certain domaine des points expérimentaux, les limites figurent au tableau 12.

exp.	limite inf. (jours)	limite sup. (jours)	nb de points
#2	8	50	21
#4	3	39	19
#7	6	49	20
#8	6	49	15

Tableau 12: Domaine des points considérés pour les régressions

Le tableau 13 résume les résultats obtenus par régression non linéaire (méthode de Gauss-Newton) avec le logiciel SAS.

On obtient un résultat remarquable, de façon générale le paramètre K_m n'est pas statistiquement différent de zéro en culture fixe. Par contre, en culture libre, ce paramètre était statistiquement différent de zéro pour les trois souches étudiées.

	q_m (Kg/Kg MST.h)		K_m (Kg/m ³)	
	estimé	écart-type	estimé	écart-type
exp.#2	0,0318	0,00286	0,026	0,0810
exp.#4	0,0488	0,00631	0,125	0,0822
exp.#7	0,0214	0,00197	0,010	0,0330
exp.#8	0,0196	0,00193	-0,107	0,0125

Tableau 13: Paramètres de régression modèle de Michaelis-Menten

5.3. Cinétique d'ordre zéro par rapport au fer ferreux

Dans le but de vérifier que les K_m sont voisins de zéro, on tracé les courbe $q=f(S)$ (c.f. figures B13 à B16). On remarque que ces courbes n'ont pas la forme caractéristique d'un modèle de Michaelis-Menten, les valeurs de q sont à toute fin pratique indépendants de S (les points singuliers à biofilm très minces n'ont pas été considérés).

L'équation (19) se simplifie donc à: $q=q_m$ (23)

Le tableau 14 donne la valeur de q_m après l'application de nouvelles régressions non-linéaires.

q _m (Kg/Kg MST.h)		
	estimé	écart-type
exp.#2	0,0310	0,00116
exp.#4	0,0345	0,00340
exp.#7	0,0209	0,00117
exp.#8	0,0229	0,00258

Tableau 14: Paramètres de régression modèle d'ordre zéro

Les paramètres q_m obtenus pour la souche Bulgare G 15 (exp.#7 et #8) sont très semblables, cela confirme la reproductibilité des résultats expérimentaux dans les limites que l'on s'est fixées.

Dans le but de vérifier la dépendance de q par rapport à la concentration du substrat et à l'épaisseur du biofilm, on a calculé les coefficients de corrélation de Pearson q vs S et q vs δ (c.f. tableau 15).

	q vs S	q vs δ
exp.#2	0,572	-0,779
exp.#4	0,130	-0,681
exp.#7	-0,075	-0,605
exp.#8	-0,345	-0,900

Tableau 15: Coefficients de corrélation de Pearson

Les corrélations entre q et S sont, d'une façon générale, assez faibles. Encore une fois, on a confirmation que les valeurs des K_m sont près de zéro car le taux spécifique d'utilisation du substrat est à toute fin pratique indépendant de la concentration en substrat. D'autre part, les corrélations entre q et δ sont toutes négatives et hautement significatives. Donc la diminution du taux spécifique d'utilisation du substrat peut être associée à l'augmentation de l'épaisseur du biofilm. Les valeurs de q_m identifiées ci-dessus ne sont en fait que les valeurs moyennes.

5.4. Modèle avec réaction et diffusion en parallèle

5.4.1. Equation de vitesse

On peut modéliser plus exactement les résultats

expérimentaux, par une cinétique d'ordre zéro par rapport au fer ferreux jumellée à une cinétique de Michaelis-Menten pour l'oxygène, la vitesse de la réaction globale étant contrôlée par la diffusion de l'oxygène dans le biofilm.

L'équation cinétique s'écrit alors:

$$q = q_m * (C_{O_2} / (C_{O_2} + K_{O_2})) \quad (24)$$

Ici, q est un taux local et C_{O_2} est une concentration locale dans le biofilm. A des fins pratiques, on peut décrire le taux moyen dans tout le biofilm en termes d'une concentration mesurable et d'un facteur d'efficacité.

$$q = \eta * q_m * (C^*_{O_2} / (C^*_{O_2} + K_{O_2})) \quad (25)$$

Où η = taux de réaction observé / taux de réaction en l'absence de profil d'oxygène dans le biofilm

On néglige la diffusion externe, ainsi $C^*_{O_2}$ est égale à la concentration d'oxygène dissous en vrac ("bulk"). Cette simplification est justifiée par la forte turbulence qui agite le lit fluidisé inversé. Miller et Melick [31] mentionne que pour un bioréacteur bien conçu, où le film stagnant reçoit suffisamment de perturbations, le transfert de masse externe n'est pas important. De façon typique, pour des enzymes ou des cellules immobilisés, l'étape limitante est la diffusion interne.

5.4.2. Equation différentielle

Le profil d'oxygène, en régime permanent, à l'intérieur du biofilm est régi par l'équation différentielle non-linéaire:

$$D_{O_2} * d^2 C_{O_2} / dz^2 = q_m * \rho_{BF} * (C_{O_2} / (C_{O_2} + K_{O_2})) / Y_{e/O_2} \quad (26)$$

où $Y_{e/O_2} = 7,0 \text{ Kg/Kg } O_2$ (valeur stoechiométrique)

$$\rho_{BF} = 2000 \text{ Kg MST/m}^3$$

Avec pour conditions de frontières:

$$C.F.1 \quad C_{O_2} = C^*_{O_2} \quad @ \quad z=0$$

$$C.F.2 \quad dC_{O_2}/dz=0 \quad @ \quad z=\delta$$

Le membre de gauche de l'équation (26) décrit la diffusion effective de l'oxygène dans le biofilm selon la loi de Fick. Le membre de droite est la consommation de l'oxygène suivant la cinétique postulée. On a négligé la courbure du biofilm car le diamètre du support de polystyrène expansé est beaucoup plus grand que l'épaisseur du biofilm. La condition 1 stipule que la concentration à l'interface liquide-biofilm est connue, la condition 2 dit que le flux d'oxygène à l'interface biofilm-support est nul.

Si l'on connaît les valeurs des paramètres biocinétiques q_m et K_{O_2} ainsi que la diffusivité effective D_{O_2} , on peut

solutionner numériquement l'équation (26). De cette solution, on peut obtenir le taux réel de consommation d'oxygène pour une bioparticule (W_{O_2}) et calculer la valeur du facteur d'efficacité.

$$W_{O_2} = -D_{O_2} * a_{BF} * dC_{O_2}(0) / dz \quad (27)$$

$$\eta = \frac{-(D_{O_2} * dC_{O_2}(0) / dz) / \delta}{\rho_{BF} * q_m (C^*_{O_2} / (C^*_{O_2} + K_{O_2})) / Y_{B/O_2}} \quad (28)$$

Bailey et Ollis [29] discute des valeurs du facteur d'efficacité en fonction de la cinétique et de la géométrie du catalyseur. Pour la cinétique de Michaelis-Menten ainsi que les deux cas limites, ordre un et ordre zéro, ils concluent à la relative insensibilité de η ; ils tirent la même conclusion pour l'effet de la géométrie. L'équation (26) ne possède pas de solution analytique, un programme FORTRAN a été développé pour intégrer cette équation. On retrouve à l'annexe D un listing du programme et un exemple de solution. Par contre, la solution exacte pour une cinétique d'ordre 1 pour un catalyseur sphérique est bien connue [32].

5.5. Réacteur à recirculation

5.5.1. Caractéristiques du réacteur

Le RBFI n'est pas adapté à l'identification des paramètres K_{O_2} et D_{O_2} à cause de l'appauvrissement en oxygène dans l'espace annulaire. Le profil d'oxygène est une fonction très complexe de l'hydrodynamisme et de la vitesse de réaction. A cette fin, on a conçu un petit lit fixe avec forte recirculation (c.f. fig.3). C'est un réacteur opéré en continu, la connaissance du débit de recirculation du liquide, permet de calculer le taux de consommation en oxygène pour un échantillon de bioparticules. On a les relations suivantes entre les différents taux de consommation.

$$W_{su} = F(S_0 - S)$$

$$W_{O_2} = R(C_{O_2 \text{ entrée}} - C_{O_2 \text{ sortie}})$$

$$r_{su} = W_{su} / V$$

$$r_{O_2} = W_{O_2} / V$$

$$q = W_{su} / M_{BF}$$

$$q_{O_2} = W_{O_2} / M_{BF}$$

Une étude sur l'état du mélange à été réalisée avec le bleu de méthylène comme traceur (c.f. annexe E). Suite à cette étude, on peut assumer un mélange parfait pour le fer. Le réacteur a été traité comme différentiel pour l'oxygène, on a supposé que la concentration en oxygène était uniforme et égale à la moyenne entre la concentration d'entrée et de sortie du réacteur. Le transfert de masse externe n'est pas considéré. Compte tenu de ces hypothèses, on a que: $C^*_{O_2} = (C_{O_2 \text{ entrée}} + C_{O_2 \text{ sortie}}) / 2$.

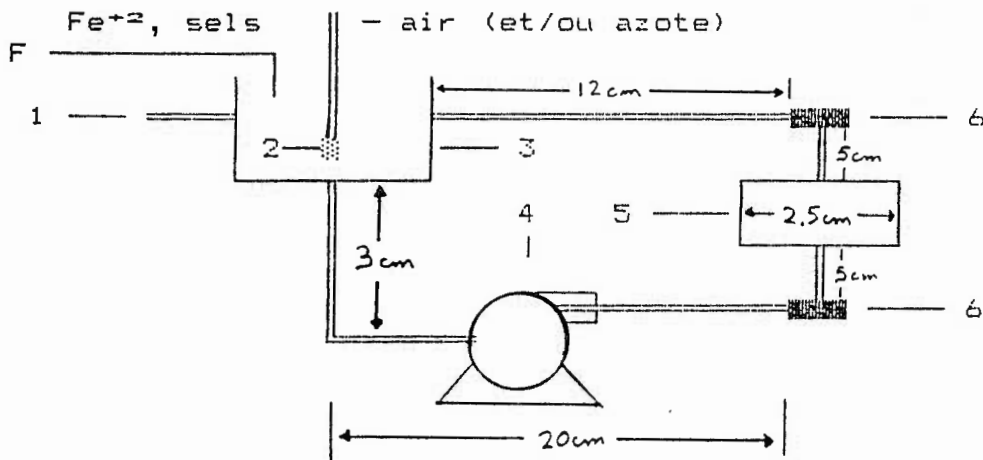


Figure 3 Schéma du réacteur à recirculation

- 1 sortie de trop plein
 - 2 diffuseur poreux
 - 3 réservoir de mélange (50 mL de liquide)
 - 4 pompe de recirculation péristaltique (9.65 L/h)
 - 5 bioréacteur à lit compacte (6 à 8 mL de billes)
 - 6 sondes à oxygène
- volume total de liquide = 65 ± 2 mL
- diamètre des conduites = 0,5 cm

5.5.2. Identification des paramètres de l'équation de vitesse

On a effectué des expériences avec la souche G 15, pour trois épaisseurs de biofilm, en diminuant la teneur en oxygène alimentée (c.f. fig.4) [33]. Les données expérimentales sont tabulées à l'annexe F. Les trois courbes ont la forme caractéristique d'une cinétique de Michaelis-Menten, $q \rightarrow 0$ lorsque $C^*_{O_2} \rightarrow 0$ et q tend vers une limite lorsque $C^*_{O_2}$ prend de grandes valeurs. On a effectué une régression non-linéaire pour estimer les paramètres q_m et K_{O_2} pour chacune des épaisseurs de biofilm, les résultats figurent au tableau 16. On remarque qu'avec l'augmentation de l'épaisseur du biofilm, l'estimé de q_m diminue et l'estimé de K_{O_2} augmente. Ces deux tendances confirment que le transfert de masse ne peut être négligé, la diffusion de l'oxygène dans le biofilm doit être pris en considération pour expliquer les vitesses de réaction observées.

δ	q_m	K_{O_2}
μm	Kg/Kg MST.h	Kg O ₂ /m ³
6,5	1,235	$7,34 \cdot 10^{-4}$
18,0	0,465	$9,44 \cdot 10^{-4}$
49,0	0,392	$4,67 \cdot 10^{-3}$

Tableau 16: Paramètres de régression q_m et K_{O_2} pour trois épaisseurs de biofilm souche G 15

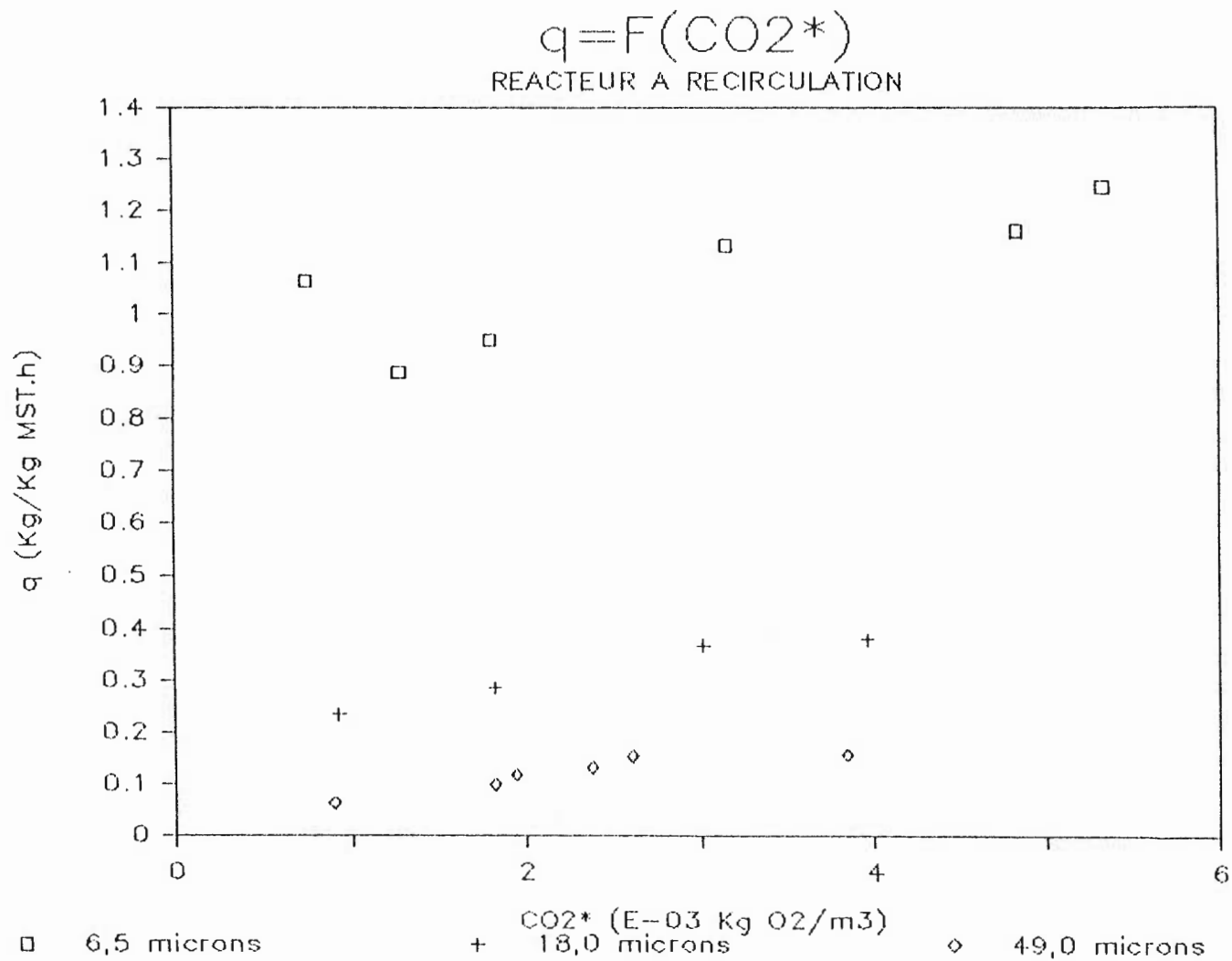


Figure 4 Taux spécifique de consommation du substrat en fonction de la concentration en oxygène

On a considéré que le transfert de masse n'était pas l'étape limitante pour l'expérience à biofilm mince ($\delta=6,5\mu\text{m}$). Les valeurs des paramètres biocinétiques de l'équation de vitesse seraient: $K_{O_2}=0,734*10^{-3}$ Kg O_2/m^3 et $q_m=1,235$ Kg/Kg MST.h. La valeur de K_{O_2} est vraisemblable, mais celle de q_m est d'un ordre de grandeur supérieure aux valeurs observées dans le RBFI (c.f. fig. B11 et B12), elle doit être rejetée. Le réacteur à recirculation contient très peu de bioparticules et donc très peu de biomasse fixée sur ces bioparticules; d'un autre côté les surfaces sont omniprésentes dû à sa faible taille. Ainsi il y avait une importante biomasse présente sur les diverses surfaces (tubulures, diffuseur, etc.) qui n'a pas été comptabilisée dans M_{BF} , cela a augmenté artificiellement les valeurs de q . Cependant, l'estimé de K_{O_2} n'est pas affecté par la sous estimation de M_{BF} .

L'écart-type sur K_{O_2} est $0,450*10^{-3}$ Kg O_2/m^3 . L'estimé du paramètre est 1,63 fois supérieur à cette valeur, statistiquement il est peu significatif. Cependant, on doit nécessairement l'inclure dans notre modèle pour expliquer la décroissance chronologique des valeurs de q . On a assumé une concentration constante de bactéries dans le biofilm, la décroissance ne peut être expliquée que par une influence du substrat ou de l'oxygène dissous. On a montré sans équivoque que la cinétique d'oxydation était d'ordre zéro par rapport au fer ferreux (pour les concentrations étudiées), alors on doit considérer un K_{O_2} non nul.

On a obtenu des estimés de q_m en extrapolant à $t=0$, les courbes $q=f(t)$ (c.f. fig. B9 à B12) avec des régressions linéaires. Les points considérés pour ces régressions sont mentionnés au tableau 12. On a ensuite corrigé les valeurs extrapolées par le facteur $(K_{O_2}+C_{O_2})/C_{O_2}$, avec $K_{O_2}=0,734*10^{-3}$ Kg O_2/m^3 et $C_{O_2}=7,47*10^{-3}$ Kg O_2/m^3 (concentration de saturation à 30°C). Les résultats sont présentés au tableau 17. Pour la souche G 15, on a choisi la plus grande des deux valeurs, comme estimé de q_m .

Expérience	souche	extrapolation à $t=0$ Kg/Kg MST.h	estimé de q_m Kg/Kg MST.h
#2	ATCC 23270	0,0449	0,0493
#4	ATCC 19859	0,0345	0,0379
#7	G 15	0,0304	0,0334
#8	G 15	0,0482	0,0529

Tableau 17: Estimés de q_m par extrapolations à $t=0$

5.5.3. Identification de la diffusivité effective de l'oxygène

L'identification de la diffusivité effective de l'oxygène

dans le biofilm a été obtenue des deux expériences à biofilm plus épais (18,0 et 49,0 μ m). Les paramètres q_m et K_{O_2} ont été estimés à 0,0529 Kg/Kg MST.h et $7,34 \cdot 10^{-4}$ Kg O₂/m³ respectivement.

Pour un D_{O_2} donné, on peut solutionner numériquement l'équation (26). De cette solution, on peut calculer la valeur théorique de W_{O_2} par l'équation (27). La valeur de D_{O_2} qui minimise la somme des carrés des résidus entre les valeurs expérimentales et les valeurs calculées est $2,4 \cdot 10^{-4}$ m²/h. Cette valeur correspond à 30% de la diffusivité de l'oxygène dans l'eau à la même température. Cette valeur de diffusivité n'est qu'approximative étant donné la présence de biomasse active qui n'était pas sur les bioparticules. La figure 5 donne la valeur du facteur d'efficacité pour deux épaisseurs du biofilm sur une plage de concentrations d'oxygène dissous.

EFFICACITE SIMULEE

SOUCHE G 15

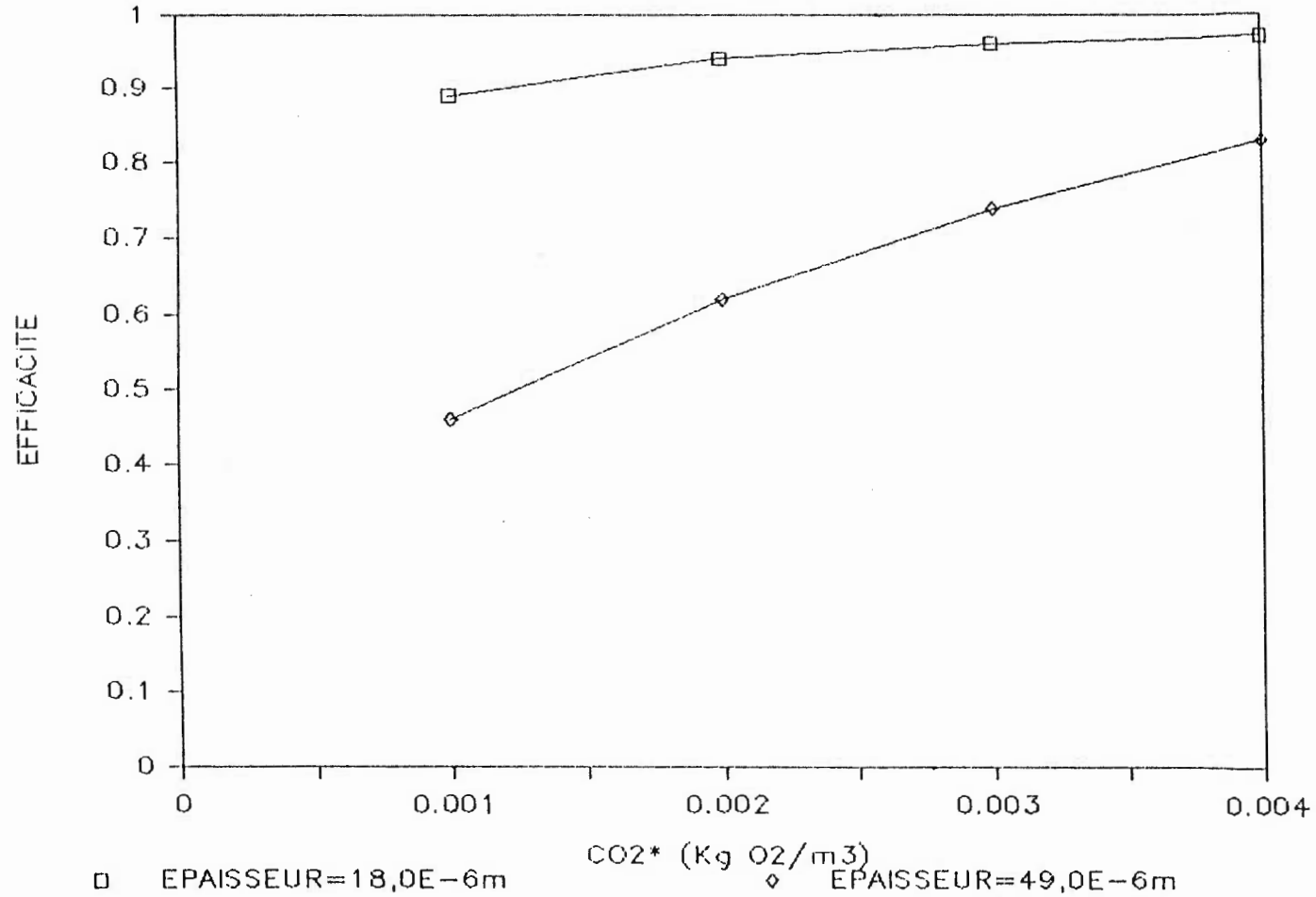


Figure 5 Facteur d'efficacité en fonction de la concentration en oxygène pour deux épaisseurs du biofilm

CONCLUSION

Cette étude a porté sur la caractérisation de la cinétique de croissance et d'oxydation du fer ferreux en culture libre submergée, de Thiobacillus ferrooxidans et sur la modélisation de la cinétique d'oxydation du fer ferreux lorsque la bactérie était fixée dans un biofilm et mise en oeuvre dans un réacteur à lit fluidisé inversé. Dans les deux volets, trois souches différentes ont été étudiées.

En culture libre submergée, on a obtenu à partir d'expériences en continu, que le taux spécifique de croissance suivait une équation de Monod à un substrat limitant, le fer ferreux. On a aussi montré, que le taux volumique de consommation du substrat était directement proportionnel au taux volumique de croissance de la biomasse. De façon spécifique, on a obtenu pour les souches ATCC 23270, ATCC 19859 et G 15:

- Un coefficient de rendement théorique en biomasse (Y_T) de 0,049 (ATCC 19859), 0,048 Kg MST/Kg (G 15).
- Un taux spécifique de déperissement de la biomasse (K_d) non statistiquement différent de zéro.
- Un taux spécifique maximum de croissance (μ_m) de 0,140 (à 31°C), 0,128 (à 30°C), 0,158 h⁻¹ (à 30°C).
- Une constante du taux de moitié (K_m) de 0,478, 0,288, 0,665 Kg/m³.

Pour la cinétique d'oxydation en biofilm, l'analyse des résultats a montré que l'équation de vitesse était d'ordre zéro par rapport au fer ferreux couplé à une cinétique de Michaelis-Menten pour l'oxygène dissous. La diffusion de l'oxygène dans le biofilm contrôlait la vitesse de la réaction globale.

Des expériences menées dans les RBF, on a obtenu des estimés pour le taux spécifique maximum d'utilisation du substrat (q_m). Pour les souches ATCC 23270, ATCC 19859 et G 15, on a obtenu respectivement: 0,0493, 0,0379 et 0,0529 Kg/Kg MST.h.

Un réacteur à recirculation a été conçu pour mesurer la consommation d'oxygène, au cours d'expériences où la concentration en oxygène alimenté était variée. Ce réacteur était parfaitement mélangé pour le fer et on l'a considéré différentielle pour l'oxygène. Trois expériences ont été réalisées avec la souche G 15. Pour l'expérience avec l'épaisseur du biofilm le plus mince ($6,5\mu\text{m}$), on a considéré que le transfert de masse n'était pas limitant; on a obtenu la constante du taux de moitié pour l'oxygène (K_{O_2}) $0,734 \cdot 10^{-3}$ Kg O_2/m^3 .

Les deux autres expériences à biofilm plus épais, ont permis d'obtenir un estimé pour la diffusivité effective de l'oxygène dans le biofilm (D_{O_2}) $2,4 \cdot 10^{-6}$ m^2/h . Cette valeur a été déterminée par la minimisation de la somme des carrés des écarts,

entre les valeurs expérimentales du taux de consommation d'oxygène (W_{O_2}) et les valeurs calculées. Les valeurs calculées ont été générées à partir de la solution numérique de l'équation différentielle, reliant la diffusion et la consommation de l'oxygène dans le biofilm.

Cette valeur de diffusivité est peu précise car des problèmes ont été rencontrés lors de l'opération du réacteur à recirculation. Une partie importante de la biomasse n'était pas fixée sur les bioparticules, cela a faussé à la hausse les consommations de substrat et d'oxygène. La validation de cette valeur devra faire appel à un autre type de système.

Pour les expériences en culture libre, on a enregistré comme valeur maximale pour le taux d'utilisation du substrat, $W_{su}=1,24*10^{-3}$ Kg/h ($r_{su}=0,476$ Kg/m³.h). On a obtenu avec le même bioréacteur muni d'un lit fluidisé (0,9 litre), $W_{su}=6,03*10^{-3}$ Kg/h ($r_{su}=2,62$ Kg/m³.h) pour une épaisseur du biofilm, $\delta=67,8\mu\text{m}$ ($M_{BF}=0,311$ Kg MST). Ainsi, pour un même volume de réacteur, le RBF1 a permis d'oxyder jusqu'à 5 fois plus de fer que le airlift. Il faut noter que cette performance a été obtenue sans optimisation du volume du lit et de l'épaisseur du biofilm.

RECOMMANDATIONS

1. Utiliser un réacteur d'un volume d'environ 250 ml, parfaitement mélangé par rapport l'oxygène dissous pour vérifier la cinétique en culture fixe (v.g. réacteur "jet").
2. Déterminer si la concentration en bactéries est uniforme à l'intérieur du biofilm ($0 < \delta < 100 \mu\text{m}$).
3. Trouver les conditions opératoires des RBFI qui minimisent la production de la jarosite, tout en permettant de bonnes performances.
4. Quantifier la contribution des bactéries libres à l'oxydation du fer ferreux en RBFI.
5. Utiliser l'effluent d'un RBFI pour la lixiviation d'un minerai de cuivre à basse teneur.

REFERENCES

1. Colmer, A.R. and Hinkle, M.E., The role of microorganisms in acid mine drainage: A preliminary report. *Science*, vol.106, pp.253-256, 1947.
2. Temple, K.L., Colmer, A.R., The autotrophic oxidation of iron by a new bacterium: Thiobacillus ferrooxidans. *J. Bacteriol.*, vol.62, pp.605-611, 1951.
3. Bertelin, J., Des bactéries pour extraire des métaux. *La Recherche*, vol.18, no 188, pp.720-725.
4. Buchanan, R.E. and Gibbons N.E. (eds.): *Bergey's manual of determinative bacteriology*, 8th ed., Williams & Wilkins, Baltimore, 1974.
5. Olson, J.G., Kelly, R.M., Microbiological metal transformations: biotechnological applications and potential. *Biotech. progress*, vol.2, no 1, pp.1-15, 1986.
6. Torma, A. E., The role of Thiobacillus ferrooxidans in hydrometallurgical process. *Adv. Biochem. Eng.*, vol.6, pp.1-37, 1977.
7. Kelly, D.P. and Eccleston, M., Evaluation of continous chemostat cultivation of Thiobacillus ferrooxidans on iron or tetrathionate. *Conference bacterial leaching*, Schwartz, W., Ed., pp.1-7, 1977.
8. Nikolov, L.N., Karamanev, D.G., An investigation of the influence of some basic parameters of Fe^{2+} oxydation by Thiobacillus ferrooxidans using the chemostat principe. *Conférence 34^{ème} congrès canadien de génie chimique*,

- Québec, pp.287-297, 1984.
9. Nikolov, L.N., Karamanev, D.G., Influence of some physico-chemical parameters on bacterial activity of biofilm. Ferrous iron oxidation by Thiobacillus ferrooxidans. To be published in Can. J. Chem. Eng.
 10. Wichlacz, P.L. and Unz, R.F., Fixed film biokinetics of ferrous iron oxidation. Biotech. Bioeng. Symp., no 11 pp.493-504, 1981.
 11. Nakamura, K., Noike, T. and J. Matsumoto, Effect of operation conditions on biological Fe²⁺ oxidation with rotating biological contactors. Wat. Res., vol.20, no 1, pp.73-77, 1986.
 12. Tuovinen, O.H., Carlson, L., Jarosite in cultures of iron-oxidizing Thiobacilli. Geomicrobiology J., vol.1, no 3, pp.205-210, 1979.
 13. Unz, R.F., Olem, H., Wichlacz, P.L., Microbiological ferrous iron oxidation in acid mine drainage. Process Biochem., pp.2-6, June 1979.
 14. Jones, C.A. and Kelly, D.P., Growth of Thiobacillus ferrooxidans on ferrous iron in chemostat culture: influence of product and substrate inhibition. J. Chem. Tech. Biotechnol., vol.33B, pp.241-261, 1983.
 15. MacDonald, D.G. and Clark, R.H., The oxidation of aqueous ferrous sulfate by Thiobacillus ferrooxidans. Can. J. Chem. Eng., vol.48, pp.669-676, 1970.
 16. Lacey, D.T. and Lawson, F., Kinetics of the liquid-phase oxidation of acid ferrous sulfate by the bacterium

Thiobacillus ferrooxidans. Biotech. Bioeng., vol.12, pp.29-50, 1970.

17. Laparé, S., Caractérisation de la cinétique de croissance lors de l'oxydation du fer par une bactérie: Thiobacillus ferrooxidans. Projet de fin d'études, génie chimique, Ecole Polytechnique de Montréal, avril 1985.
18. Chavarie, C. et al., Simulation of IFBBR. 4th European fluidization conference, Toulouse, pp.254-264, sept. 1985.
19. Jolicoeur, M., Evaluation des effets diffusionnels de l'oxygène sur la cinétique en biofilm de l'oxydation du fer ferreux en fer ferrique par Thiobacillus ferrooxidans. Projet de fin d'études, génie chimique, Ecole Polytechnique de Montréal, avril 1987.
20. Godard, F. et al., Cinétique d'oxydation du fer ferreux par Thiobacillus ferrooxidans. 37^{ème} congrès canadien de génie chimique, Montréal, pp.329-331, mai 1987.
21. Chavarie, C., Karamanev, D.G., Use of inverse fluidisation in biofilm reactors. International conference on bioreactor fluid dynamics, Cambridge, pp.181-190, april 1986.
22. Onken, U. and Weiland, P., Airlift fermenters: Construction, behavior, and uses. Adv. Biotech. Proc., vol. 1, pp.67-95, 1983.
23. Garnier, A., Etude hydrodynamique d'un réacteur à biofilm à fluidisation inversée. Mémoire de maîtrise en sciences appliquées, génie chimique, Ecole polytechnique de Montréal, août 1987.
24. Nikolov, L.N., Karamanev, D.G., Experimental study of the

- inversed fluidized bed biofilm reactor. To be published in Can. J. Chem. eng.
25. Nikolov, L.N., Karamanev, D.G., Elenkov, D.G., Bulg. pat. no 53798 1982
 26. Silverman, M.P., Lundgren, D.G., Studies on the chemoautotrophic iron bacterium Ferrobacillus ferrooxidans. J. Bacteriol., vol.77, pp.642-647, 1959.
 27. Chavarie, C. et al., La modélisation, design et scale-up des bioréacteurs à biofilms à fluidisation inversée. Rapport bimestriel no 2 (seconde année), projet CDT P1048, Ecole Polytechnique de Montréal, décembre 1986.
 28. Benefield, L.D., Randall, C.W., Biological process design for Wastewater treatment. Prentice-Hall, Englewood cliffs, N.J., 1980.
 29. Bailey, J.E., Ollis, D.F., Biochemical engineering fundamentals 2nd ed., McGraw-Hill, New York, 1986.
 30. Richardson, J.F., Zaki, W.N., Sedimentation and instrumentation: part 1. Trans. Inst. Chem. Eng., vol.32 p.35, 1954.
 31. Miller, R. and Melick, M., Modeling bioreactors. Chem. Eng., vol.94, no 2, pp.112-120, 1987.
 32. Bird, R.B., Stewart, W.E., Lightfoot, E.N., Transport phenomena. John Wiley & Sons, New York, 1960.
 33. Chavarie, C. et al., La modélisation, design et scale-up des bioréacteurs à biofilms à fluidisation inversée. Rapport bimestriel no 4 (seconde année), projet CDT P1048, Ecole Polytechnique de Montréal, mai 1987

34. Wichlacz, P.L. and Unz, R.F., Growth kinetics of attached iron-oxidizing bacteria. *Appl. Env. Microbiol.*, vol.50, no 2, pp. 460-467, 1985.
35. Aiba, S., Humphrey, A.E., Millis, N.F., *Biochemical engineering* 2nd ed., Academic Press, New York, 1973.

ANNEXE A

DONNEES DES EXPERIENCES EN CULTURE LIBRE

Tableau A1: Données expérimentales souche ATCC 23270

$$V = 2,60 \pm 0,05 \text{ litres}$$

$$T = 31,0 \pm 0,25^\circ\text{C}$$

$$\text{pH} = 1,9 \text{ à } 2,1$$

D	S(Fe ²⁺)	Fe ³⁺	S ₀ (Fe ^{tota})	X	r _{au}	q
h ⁻¹	Kg/m ³	Kg/m ³	Kg/m ³	Kg MST/m ³	Kg/m ³ .h	Kg/Kg MST.h
0,0328	0,17	5,40	5,60	1,017	0,178	0,175
0,0383	0,22	4,32	4,42	0,636	0,161	0,253
0,0491	0,22	4,64	4,82	0,818	0,226	0,276
0,0701	0,40	4,40	4,50	0,860	0,287	0,334
0,0946	1,12	4,88	5,63	0,648	0,427	0,659
0,1115	1,73	4,20	6,00	0,818	0,476	0,582

Tableau A2: Données expérimentales souche ATCC 19859

$$V = 3,20 \pm 0,05 \text{ litres}$$

$$T = 30,0 \pm 0,25^\circ\text{C}$$

$$\text{pH} = 1,9 \text{ à } 2,1$$

D	S (Fe ²⁺)	Fe ³⁺	S ₀ (Fe ^{total})	X	r _{su}	q
h ⁻¹	Kg/m ³	Kg/m ³	Kg/m ³	Kg MST/m ³	Kg/m ³ .h	Kg/Kg MST.h
0,0347	0,14	4,60	4,75	0,2150	0,160	0,744
0,0497	0,28	4,05	4,40	0,2133	0,205	0,960
0,0694	0,45	4,35	5,00	0,2467	0,316	1,280
0,0797	0,34	4,27	4,50	0,2533	0,332	1,309
0,0919	0,50	4,15	4,70	0,1733	0,386	2,227
0,1012	0,67	4,00	4,60	0,1900	0,398	2,093
0,1068	1,80	3,15	5,00	0,1567	0,342	2,181
0,1125	1,33	2,80	4,15	0,1030	0,317	3,058

Tableau A3: Données expérimentales souche G 15

$$V = 3,20 \pm 0,05 \text{ litres}$$

$$T = 30,0 \pm 0,25^\circ\text{C}$$

$$\text{pH} = 1,9 \text{ à } 2,1$$

D	S (Fe ²⁺)	Fe ³⁺	S ₀ (Fe ^{tot})	X	r _{su}	q
h ⁻¹	Kg/m ³	Kg/m ³	Kg/m ³	Kg MST/m ³	Kg/m ³ .h	Kg/Kg MST.h
0,0375	0,25	3,65	3,91	0,2167	0,137	0,633
0,0750	0,45	3,55	4,18	0,2000	0,280	1,399
0,0787	0,39	3,96	4,45	0,2100	0,320	1,522
0,0938	0,82	3,65	4,60	0,1500	0,355	2,367
0,0975	1,23	3,58	4,80	0,1400	0,339	2,424
0,1125	1,62	3,08	4,75	0,1767	0,352	1,993
0,1181	1,96	2,65	4,70	0,1633	0,324	1,982
0,1280	2,35	2,51	4,95	0,1467	0,333	2,269

Monod: $D=F(S)$

ATCC 23270, CULTURE LIBRE

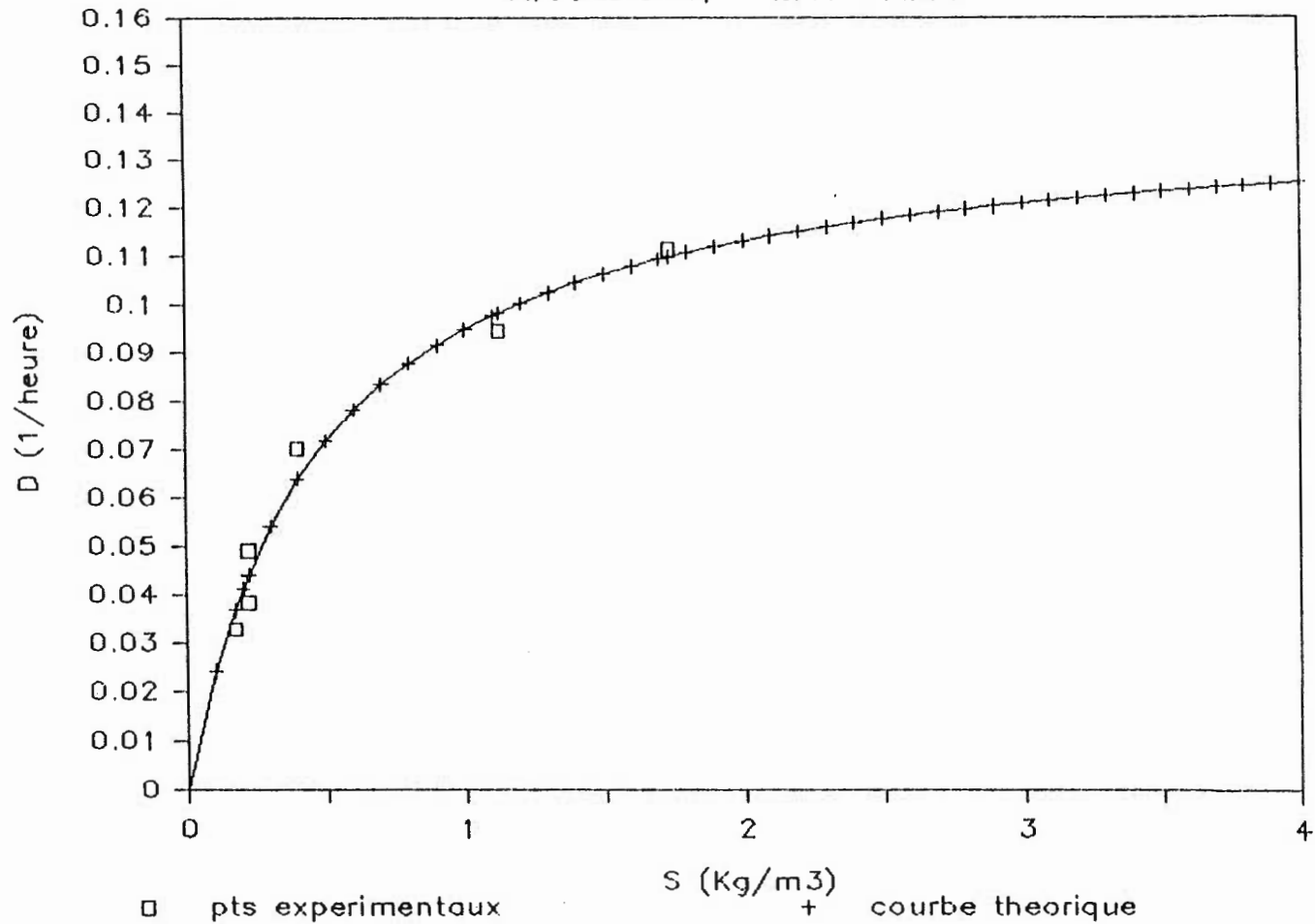


Figure A1 Comparaison de la courbe de régression du modèle de Monod et des points expérimentaux (ATCC 23270)

Monod $D=F(S)$
ATCC 19859, CULTURE LIBRE

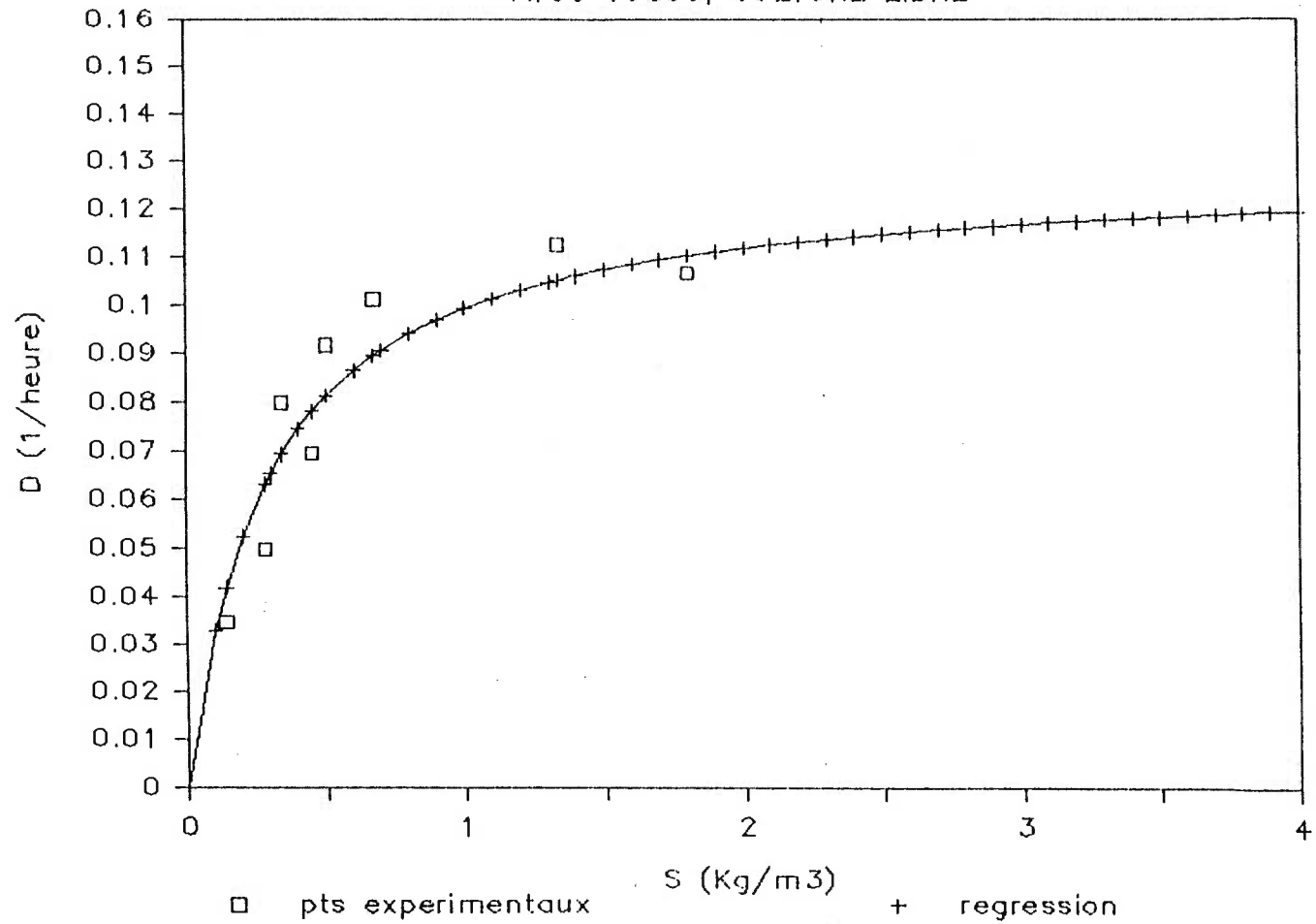


Figure A2 Comparaison de la courbe de régression du modèle de Monod et des points expérimentaux (ATCC 19859)

Monod $D=F(S)$
SOUCHE G 15, CULTURE LIBRE

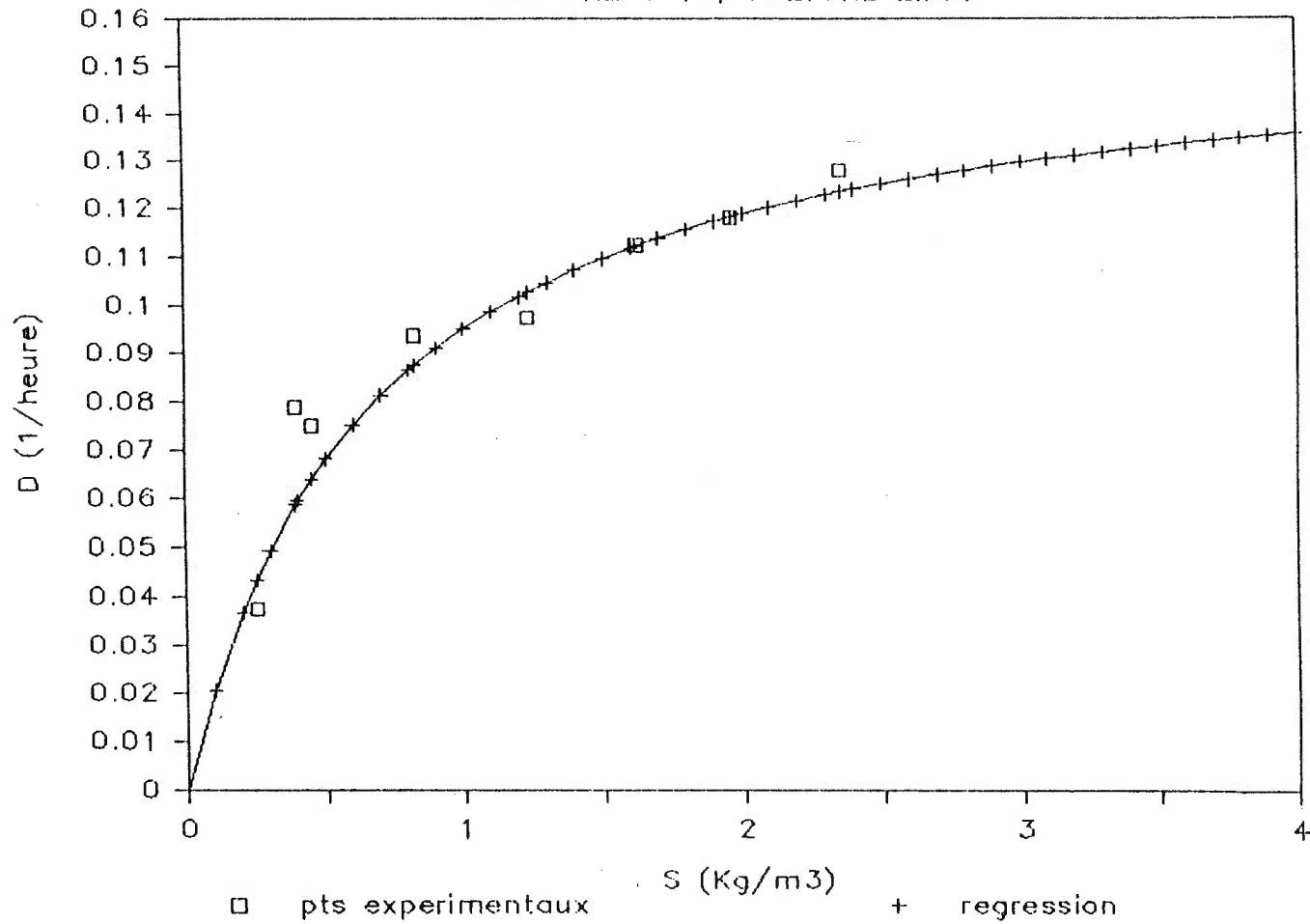


Figure A3 Comparaison de la courbe de régression du modèle de Monod et des point expérimentaux (G 15)

Monod: $D = F(S)$
 CULTURE LIBRE

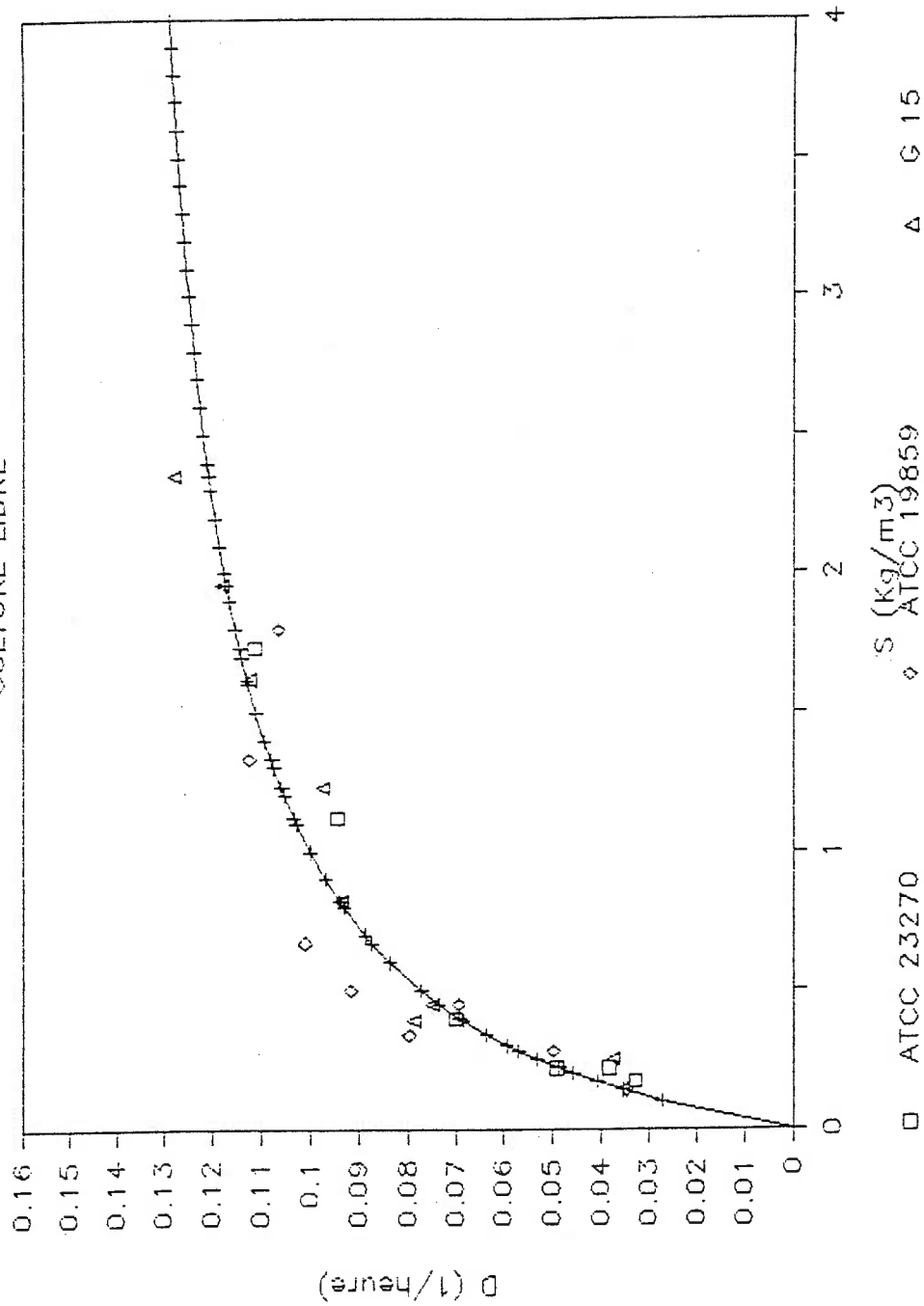


Figure A4 Courbe de régression du modèle de Monod sur l'ensemble des points expérimentaux

ANNEXE B

DONNEES DES EXPERIENCES EN CULTURE FIXE

Tableau B1: Données expérience #2 en culture fixe souche ATCC 23270

TEMPS jours	F L/h	S0 g/L	S g/L	EPAISSEUR microns	Mbf g MST	Wsu g/h	q g/g MST.h
0				0	0		
1	0.2852	4.55	2.85	0.1	0.508474	0.483	0.9499
2	0.3013	4.5	1.3	0.1	0.508474	0.966	1.8998
4	0.299	4.5	0.3	2.2	9.067796	1.265	0.139504
5	0.5773	5.1	0.9	4	16.99152	2.438	0.143483
6	1.2604	5.38	3.65	5.4	23.05084	2.185	0.094790
7	0.5405	4.5	1.4	5.1	21.77966	1.679	0.077090
8	0.6095	5.6	3.25	6.9	29.49152	1.426	0.048352
10	0.6049	4.5	1.98	7.5	31.77966	1.518	0.047766
13	0.5635	4.55	2.23	8	33.98305	1.311	0.038578
15	0.5474	4.7	2.28	6.5	27.45762	1.334	0.048583
17	0.5543	5.1	2.45	9.8	41.61016	1.449	0.034823
20	0.6049	4.51	1.68	10	42.79661	1.725	0.040306
21	0.5842	4.28	1.66	11.6	49.36440	1.541	0.031216
22	0.5819	4.25	1.48	8.1	34.49152	1.61	0.046678
27	0.5796	4.35	1.4	9.2	39.32203	1.702	0.043283
28	0.5658	4.37	1.27	13.3	56.82203	1.748	0.030762
29	0.5727	4.18	1.18	11.8	50.46610	1.725	0.034181
34	0.5888	3.68	0.44	14.7	63.05084	1.909	0.030277
35	0.6555	3.62	0.48	17.3	74.53389	2.047	0.027464
36	0.6946	3.8	0.65	15.7	67.37288	2.162	0.032090
41	0.805	4.65	1.43	20.6	89.19491	2.599	0.029138
42	0.851	5.25	1.55	20.9	90.29661	3.151	0.034896
43	0.828	4.63	0.72	22.5	97.24576	3.22	0.033111
45	0.874	4.38	0.7	25.7	111.9491	3.22	0.028763
48	0.9614	4.33	0.8	27	117.6694	3.358	0.028537
49	1.0396	4.1	0.9	22.2	96.48305	3.335	0.034565
50	1.0557	5.15	2.13	30.4	132.9661	3.197	0.024043
52	1.0189	3.9	0.8	33.4	146.8220	3.151	0.021461
53	1.0189	4.13	0.88	35.4	155.8474	3.312	0.021251
54	1.0074	4	0.85	41.6	184.7457	3.174	0.017180
57	0.9085	4.25	0.63	37.8	167.1610	3.289	0.019675
60	1.0879	4.1	0.85	49.7	222.8813	3.542	0.015891
61	3.3695	6.62	5.44	43.6	193.8559	3.979	0.020525
62	1.1293	4.55	1.25	49.1	219.9576	3.726	0.016939
67	1.0971	4.12	0.27	66.8	306.2711	4.232	0.013817
69	1.1454	5.3	0.75	47.1	210.3389	5.221	0.024821
71	0.8579	4.62	0.05	46.5	207.7118	3.979	0.019156
73	1.0856	4.1	0.05	46.5	207.7118	4.393	0.021149
74	1.4835	3.92	0.12	52.9	238.4322	5.635	0.023633
75	2.0907	3.95	1.07	67.8	311.2288	6.026	0.019361
76	1.8262	3.9	0.75	75.5	349.8305	5.75	0.016436
79	0.9913	4.57	0.07	56.7	256.6949	4.462	0.017382
83	0.9361	4.12	0.05	26.1	113.6864	3.818	0.033583
86	1.8377	4.42	0.93			6.417	
88	1.4191	4.9	1.42			4.945	
90	1.4927	4.9	1.77	23.8	100.5508	4.669	0.046434
111	0.6141	2.55	0.31			1.38	
125	0.7406	3.5	1.02	26.6	115.8898	1.84	0.015877
131	0.6049	3.95	2.73	49.8	222.9661	0.736	0.003300
132	0.6256	3.82	1.39	32.4	142.3728	1.518	0.010662

Tableau B2: Données expérience #4 en culture fixe souche ATCC 19859

TEMPS jours	F L/h	S0 g/L	S g/L	EPAISSEUR microns	Mbf g MST	Wsu g/h	q g/g MST.h
0	0.222	5.97	0.39	0	0	1.23876	
1	0.247	5.4	0.95	1.5	6.01	1.09915	0.079516
2	0.262	5.53	0.28	0.9	3.43	1.3755	0.174356
3	0.327	4.47	0.22	2.6	12.16	1.38975	0.049690
4	0.385	6.5	2.02	3.9	13.39	1.7248	0.056005
7	0.462	4.25	1.02	5.2	19.29	1.49226	0.033634
8	0.356	4.13	1.23	4.9	19.36	1.0324	0.023185
9	0.368	4.29	1.34	7.1	28.07	1.0856	0.016815
10	0.405	4.02	1.12	6	23.77	1.1745	0.021483
11	0.417	4.58	2.13	6.1	24.17	1.02165	0.018377
14	0.423	4.16	1.23	7.3	28.88	1.23939	0.018658
15	0.429	3.64	1.34	7.4	29.53	0.9867	0.014527
16	0.413	3.73	1.12	7.3	29.11	1.07793	0.016099
17	0.392	4.55	1.85	8.9	35.53	1.0584	0.012951
18	0.397	4.73	1.9	6.9	27.56	1.12351	0.017724
21	0.458	4.01	1.29	8.4	33.62	1.24576	0.016110
23	0.417	4.07	1.12	8.6	34.25	1.23015	0.015615
24	0.376	4.06	1.06	6.6	26.18	1.128	0.018733
28	0.388	4.17	0.62	10.9	43.71	1.3774	0.013700
33	0.393	4.07	0.23	11.1	44.46	1.50912	0.014757
38	0.397	3.57	0.13	16.9	68.21	1.36568	0.008705
39	0.553	3.79	0.34	15.9	60.98	1.90785	0.013602

Tableau B3: Données expérience #7 en culture fixe souche G 15

TEMPS jours	F L/h	S0 g/L	S g/L	EPAISSEUR microns	Mbf g MST	Wsu g/h	q g/g MST.h
0	0.153	4.77	0.16	0	0	0.70533	
1	0.175	4.57	0.64	1.7	5.2	0.68775	0.132259
5	0.183	3.1	0.14	5.7	17.8	0.54168	0.030431
6	0.189	3.01	0.13	8.5	26.7	0.54432	0.020386
7	0.168	3.17	0.27	7.7	23.9	0.4872	0.020384
8	0.168	3.29	0.26	7.5	23.1	0.50904	0.022036
14	0.248	3.68	0.23	8.5	26.6	0.8556	0.032165
16	0.319	3.93	0.24	10.6	33.3	1.17711	0.035348
19	0.372	4.48	0.59	13	40.7	1.44708	0.035554
20	0.336	5.18	1.03	13.5	42.4	1.3944	0.032886
21	0.348	4.62	0.9	13.4	41.9	1.29456	0.030896
26	0.331	5.14	1.57	19.4	61.7	1.18167	0.019151
27	0.331	5.14	1.58	19.2	61	1.17836	0.019317
28	0.344	8.93	5.45	16.5	52.3	1.19712	0.022889
33	0.335	4.1	0.38	16.6	52.5	1.2462	0.023737
34	0.335	3.85	0.21	15.8	49.8	1.2194	0.024485
35	0.385	3.65	0.45	20.6	65.6	1.232	0.018780
40	0.438	3.74	0.83	20.2	64.4	1.27458	0.019791
41	0.438	3.84	0.93	19.1	60.6	1.27458	0.021032
42	0.413	3.89	0.91	22.9	73.2	1.23074	0.016813
47	0.417	4.05	1.05	23.1	74.1	1.251	0.016882
48	0.417	3.32	0.17	24.5	78.6	1.31355	0.016711
49	0.474	3.34	0.24	24.8	79.6	1.4694	0.018459
61	0.544	3.43	0.25	30.8	100.07	1.72992	0.017287
68	0.536	3.18	0.39	36.9	121.1	1.49544	0.012348
69	0.54	3.17	0.17	39.4	129.95	1.62	0.012466
70	0.278	0.38	0.07			0.08618	
75	0.6	2.47	0.17	33.5	109.38	1.38	0.012616
76	0.621	5.24	1.49	44.7	148.65	2.32875	0.015665
77	0.632	8.1	4.11	45.8	152.76	2.52168	0.016507
83				57.4	195.33		
84	0.499	2.3	0.19	55.7	188.73	1.05289	0.005578
87	0.528	2.3	0.21	62	212.42	1.10352	0.005194
88	0.622	8.32	5.03	62.6	214.89	2.04638	0.009522
90	0.627	7.47	5.01	52.3	176.35	1.54242	0.008746
91	0.627	2.8	0.25	53.2	179.54	1.59885	0.008905
94	0.614	2.7	0.35	59.7	203.79	1.4429	0.007080
110	0.164	1.6	0.12	62.9	215.94	0.24272	0.001124
112	0.601	1.97	0.19	70.7	246.09	1.06978	0.004347

Tableau B4: Données expérience #8 en culture fixe souche G 15

TEMPS jours	F L/h	SO g/L	S g/L	EPAISSEUR microns	Mbf g MST	Wsu g/h	q g/g MST.h
0	0.232	4.38	0.28	0	0	0.9512	
1	0.249	4.44	1.06	3.6	10.79	0.84162	0.078
5	0.252	3.92	0.3	7.6	22.57	0.91224	0.040418
6	0.301	3.79	0.31	8.9	26.65	1.04748	0.039305
7	0.295	3.64	0.15	5.5	16.52	1.02955	0.062321
8	0.334	3.82	0.46	9	26.94	1.12224	0.041657
14	0.287			8.5	25.35		
19	0.348	4.27	1.64	8.6	25.65	0.91524	0.035681
20	0.348	4.3	1.95	8.8	26.26	0.8178	0.031142
21	0.348	4.13	2.16	13.8	41.49	0.68556	0.016523
26	0.354	4.76	2.64	10.9	32.83	0.75048	0.022859
27	0.345	4.87	2.62	9.3	27.76	0.77625	0.027962
28	0.348	7.89	5.29	13.1	39.47	0.9048	0.022923
34	0.174			11.3	33.91		
35	0.17	4.31	0.61	12.1	36.33	0.629	0.017313
40	0.255	4.29	1.57	10.7	31.93	0.6936	0.021722
41	0.255	4.05	1.45	11.2	33.53	0.663	0.019773
42	0.257	4.05	1.07	12.7	38.29	0.76586	0.020001
47	0.24			13.7	41.16		
48	0.24	3.32	1.32	12.9	38.82	0.48	0.012364
49	0.255	3.63	1.15	15.1	45.65	0.6324	0.013853
61	0.241	3.85	0.74	12.9	38.88	0.74951	0.019277
68	0.24	3.13	0.38	15.7	47.51	0.66	0.013891
69	0.24	6.12	3.65	16.7	50.45	0.5928	0.011750
70	0.24	7.47	5.49	14.3	43.21	0.4752	0.010997
75				17.3	52.35		
76	0.166	2.57	0.09	19	57.61	0.41168	0.007145
77	0.249	2.8	0.31	20.2	61.26	0.62001	0.010120
83	0.266	2.42	0.04	17.6	53.14	0.63308	0.011913
84	0.355	3.1	0.16	17.9	54.36	1.0437	0.019199
87	0.396	2.39	0.09	18.9	57.25	0.9108	0.015909
88	0.486	6.66	2.91	20	60.73	1.8225	0.030009
90	0.492	7.7	5.15	21.3	64.87	1.2546	0.019340
91	0.492	2.57	0.22	19.8	60.17	1.1562	0.019215
94				20.4	62.18		
95	0.465	2.62	0.15	20.1	61.06	1.14855	0.018810
110	0.165	2.28	0.18	23.8	72.87	0.3465	0.004755
112	0.498	2.27	0.22	22.6	68.85	1.0209	0.014827
116	0.3	6.46	0.36	23.8	72.83	1.83	0.025127
117	0.588	3.54	0.24	28.9	89.08	1.9404	0.021782
118	0.676	3.71	0.21	30.3	93.91	2.366	0.025194
122	0.712	2.41	0.22	24.2	74.04	1.55928	0.021059
123	0.712	1.26	0.08	25.1	77.04	0.84016	0.010905
124	0.712	8.96	5.6	24.7	75.49	2.39232	0.031690
125	0.712	5.75	2.02	23.3	71.33	2.65576	0.037232
126	0.712	5.11	1.68	28	85.9	2.44216	0.028430

Epaisseur biofilm=f(temps)

exp#2 SOUCHE ATCC 23270

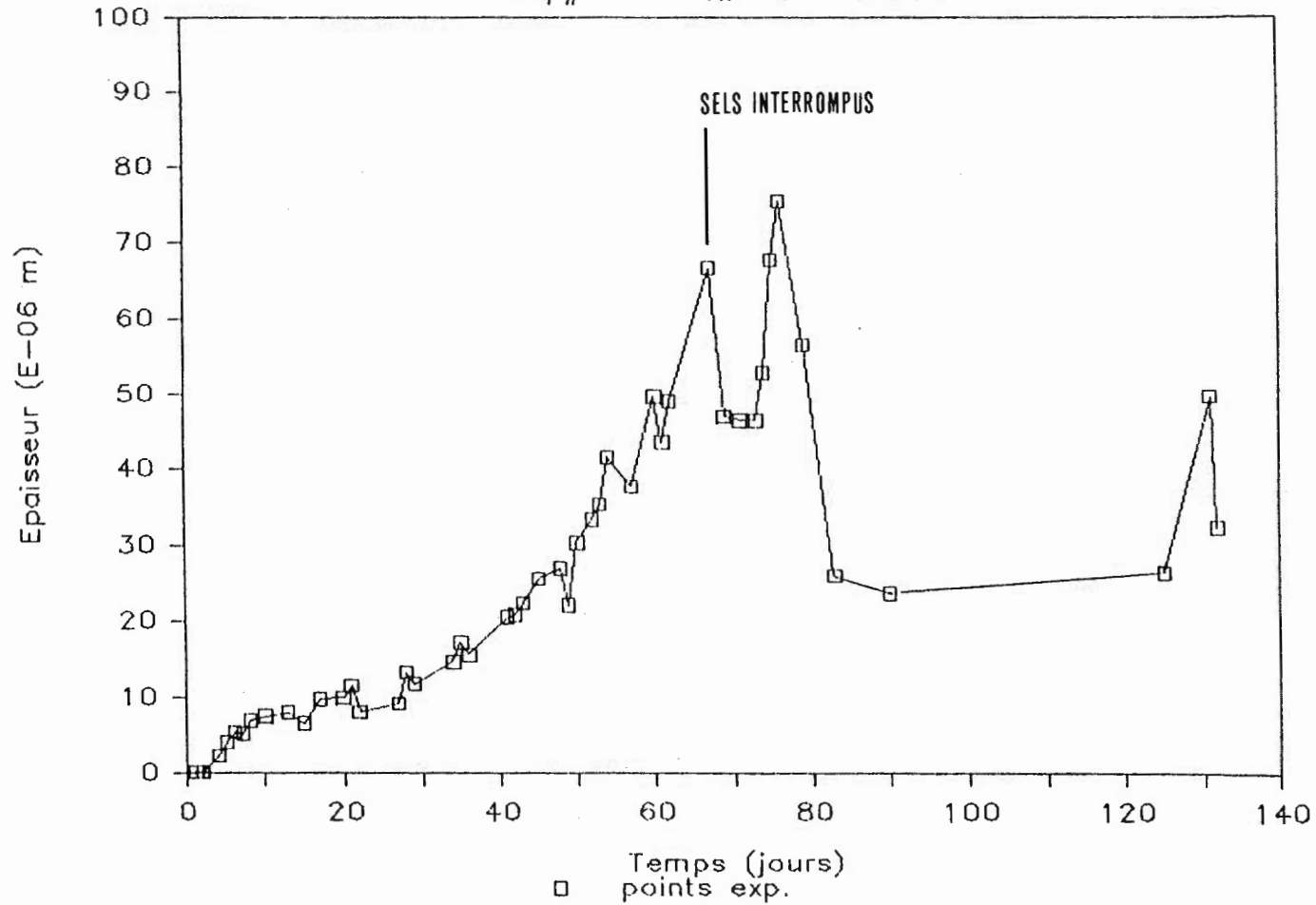


Figure B1 Croissance du biofilm en fonction du temps expérience #2

EPAISSEUR BIOFILM=F(TEMPS)

EXP#4 SOUCHE ATCC 19859

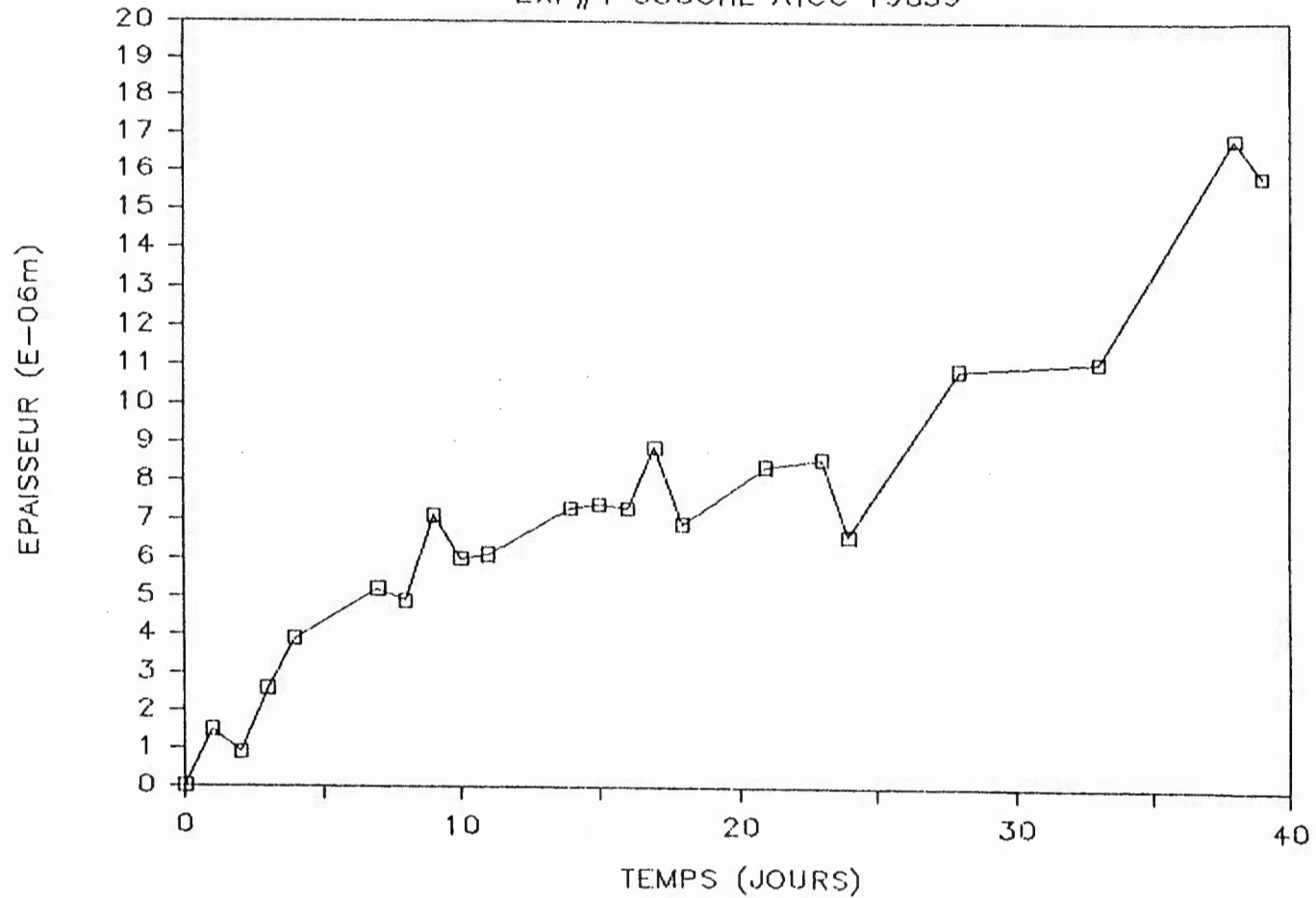


Figure B2 Croissance du biofilm en fonction du temps expérience #4

EPAISSEUR BIOFILM = F(TEMPS)

EXP#7 SOUCHE G 15

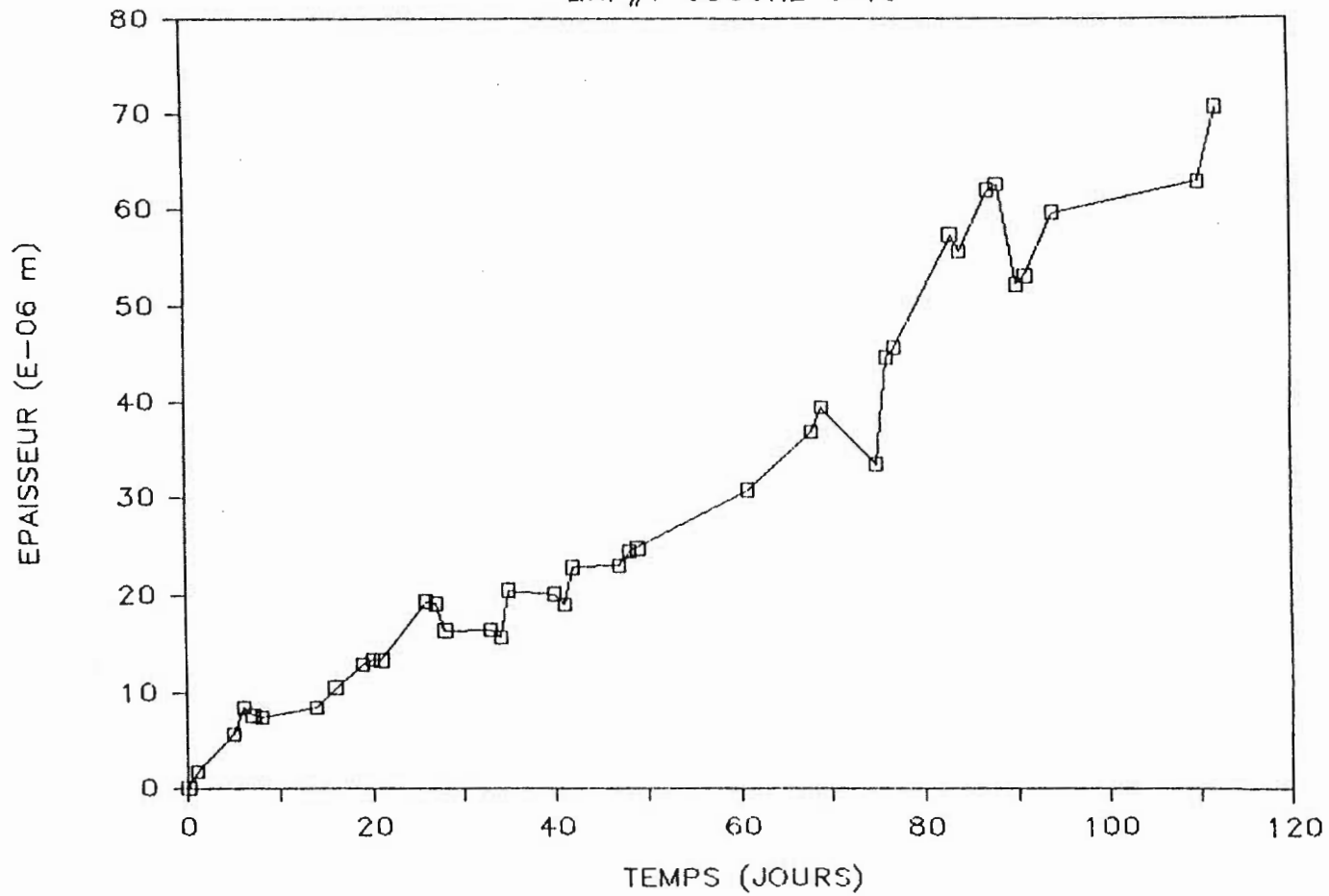


Figure B3 Croissance du biofilm en fonction du temps expérience #7

EPAISSEUR BIOFILM=F(TEMPS)

EXP#8 SOUCHE G 15

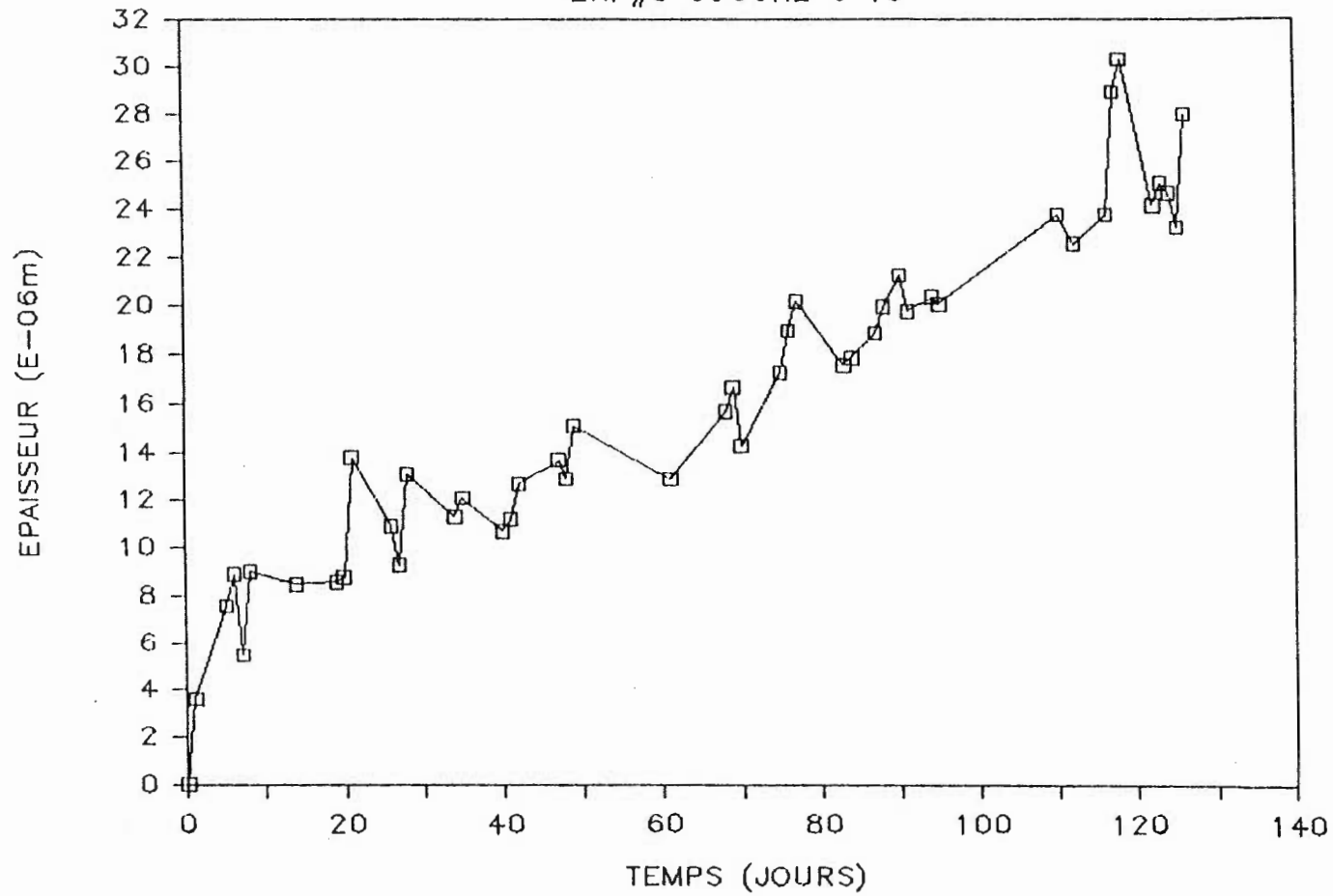


Figure B4 Croissance du biofilm en fonction du temps expérience #8

$W_{su} = F(\text{temps})$
EXP #2 SOUCHE ATCC 23270

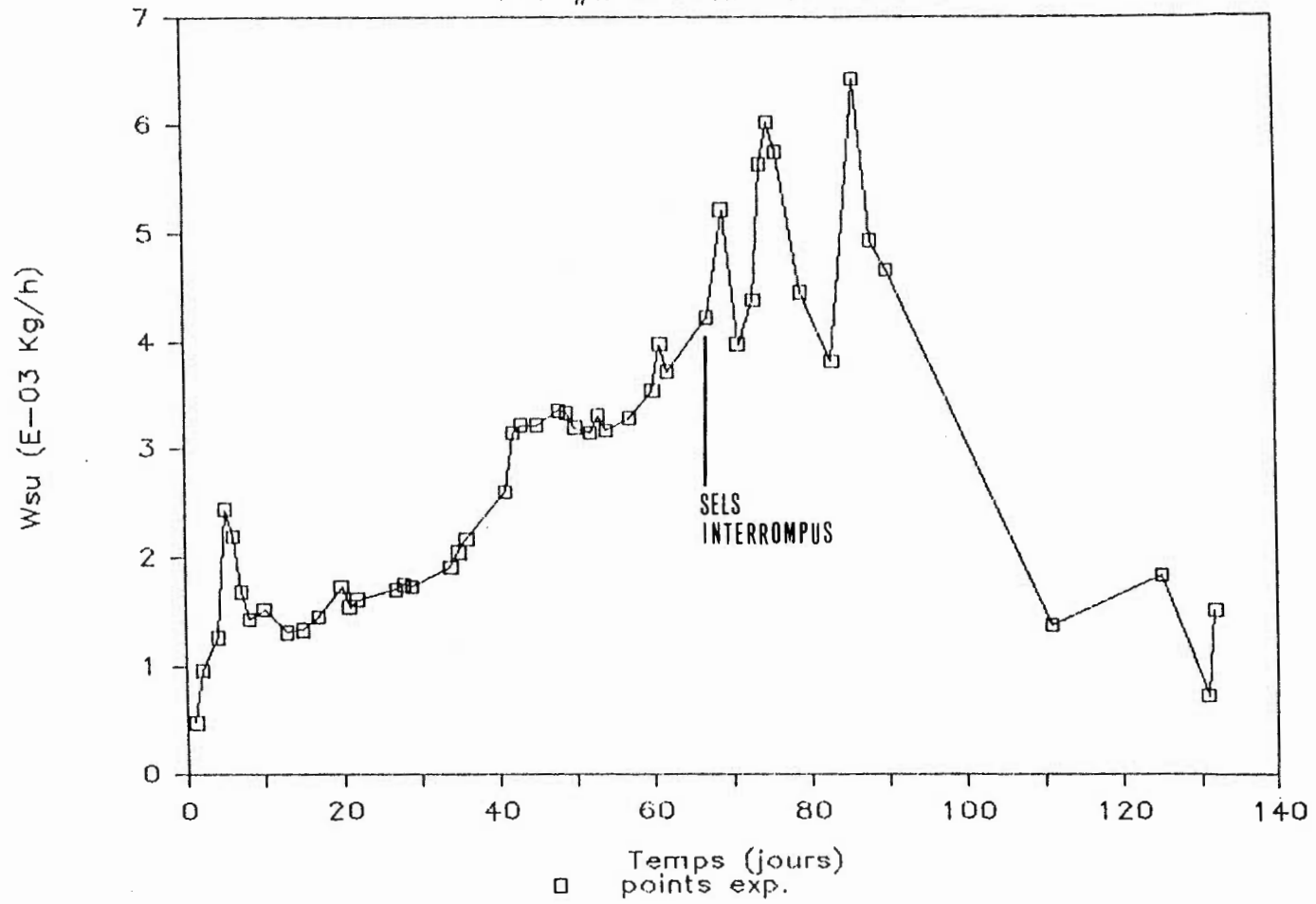


Figure B5 Taux d'utilisation du substrat en fonction du temps expérience #2

$$Wsu = F(\text{TEMPS})$$

EXP#4 SOUCHE ATCC 19859

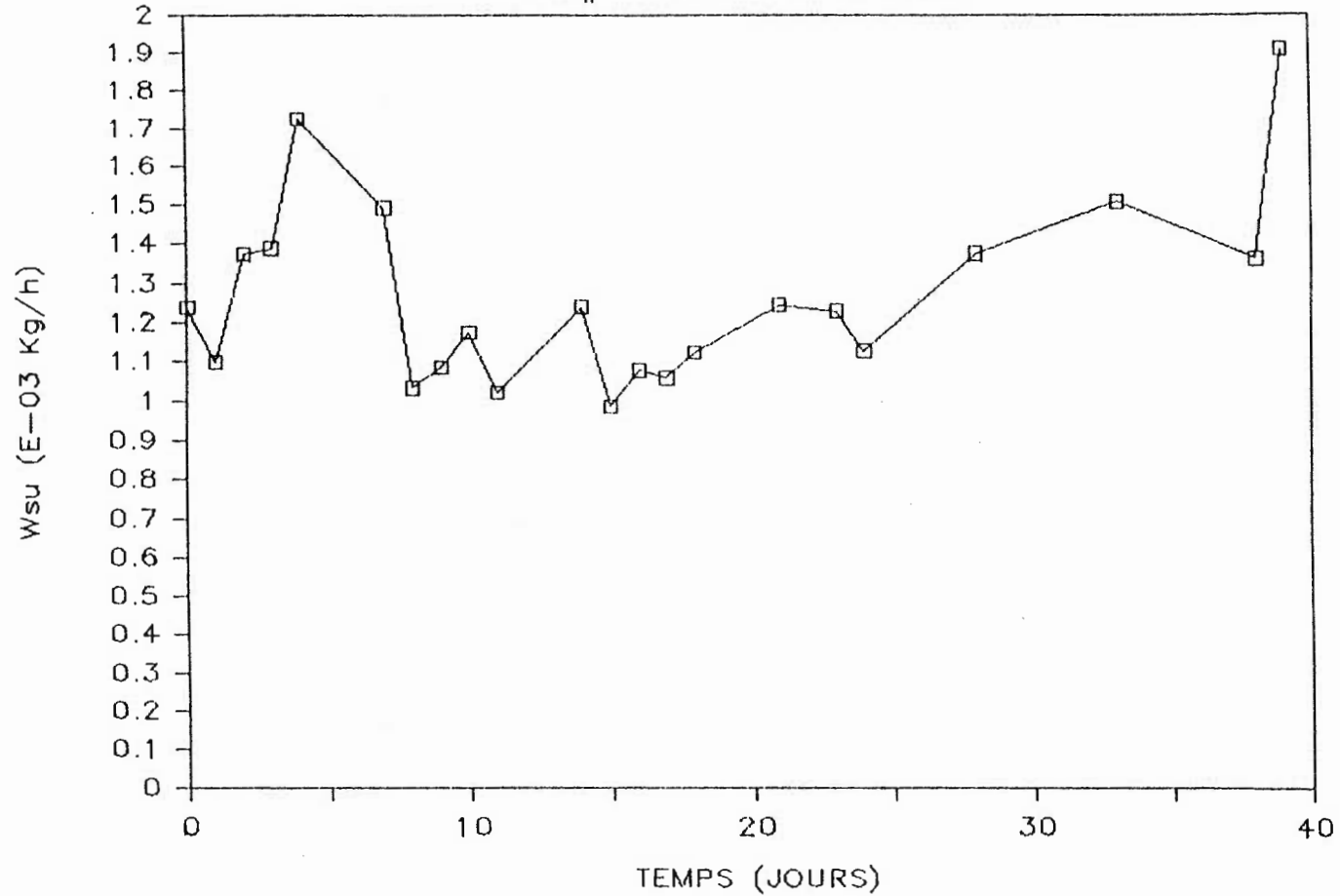


Figure B6 Taux d'utilisation du substrat en fonction du temps expérience #4

$$W_{su} = F(\text{TEMPS})$$

EXP#7 SOUCHE G 15

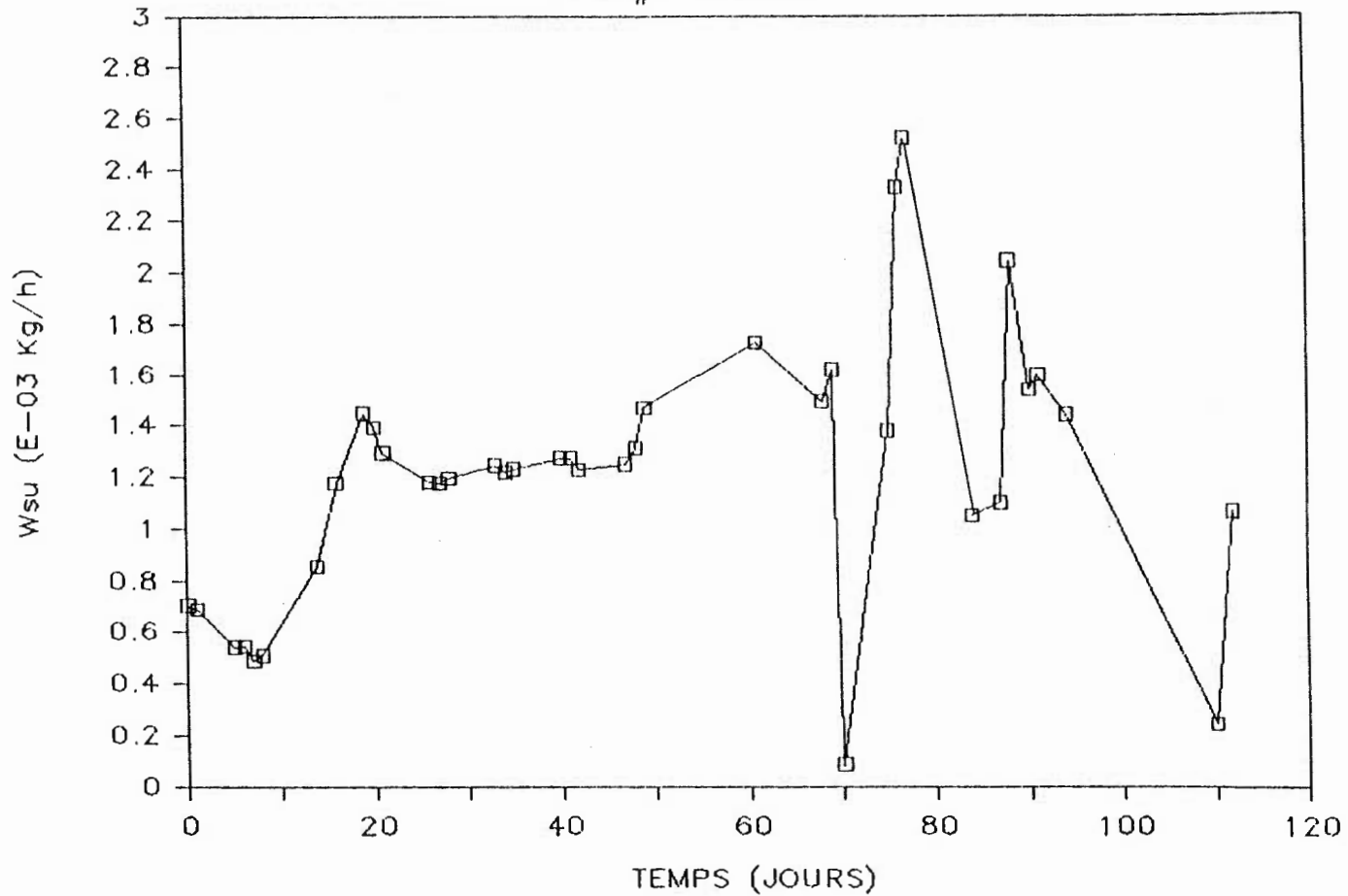


Figure B7 Taux d'utilisation du substrat en fonction du temps expérience #7

$$W_{su} = F(\text{temps})$$

exp.#8 souche G 15

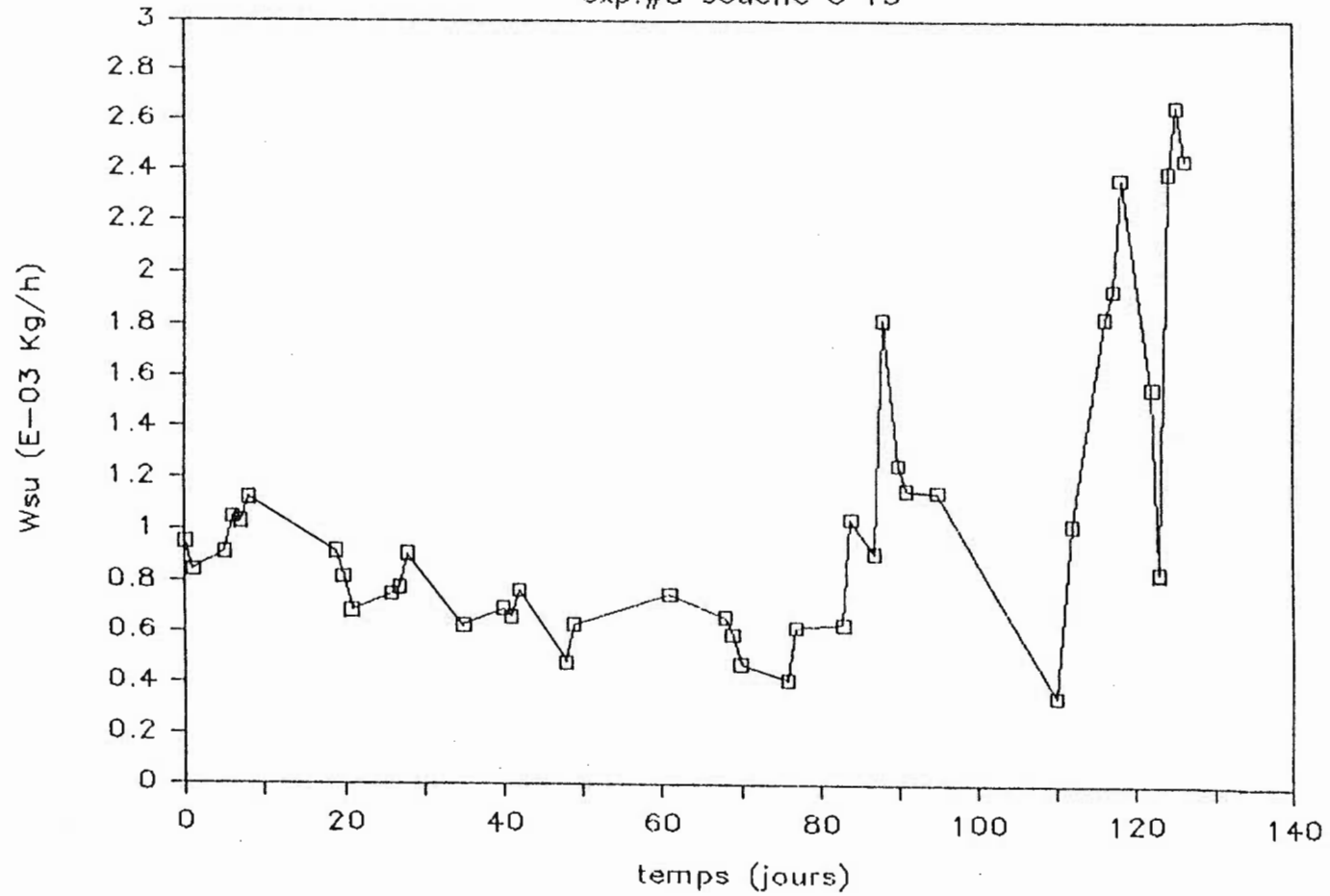


Figure B8 Taux d'utilisation du substrat en fonction du temps expérience #8

$q = F(\text{temps})$
exp#2 SOUCHE ATCC 23270

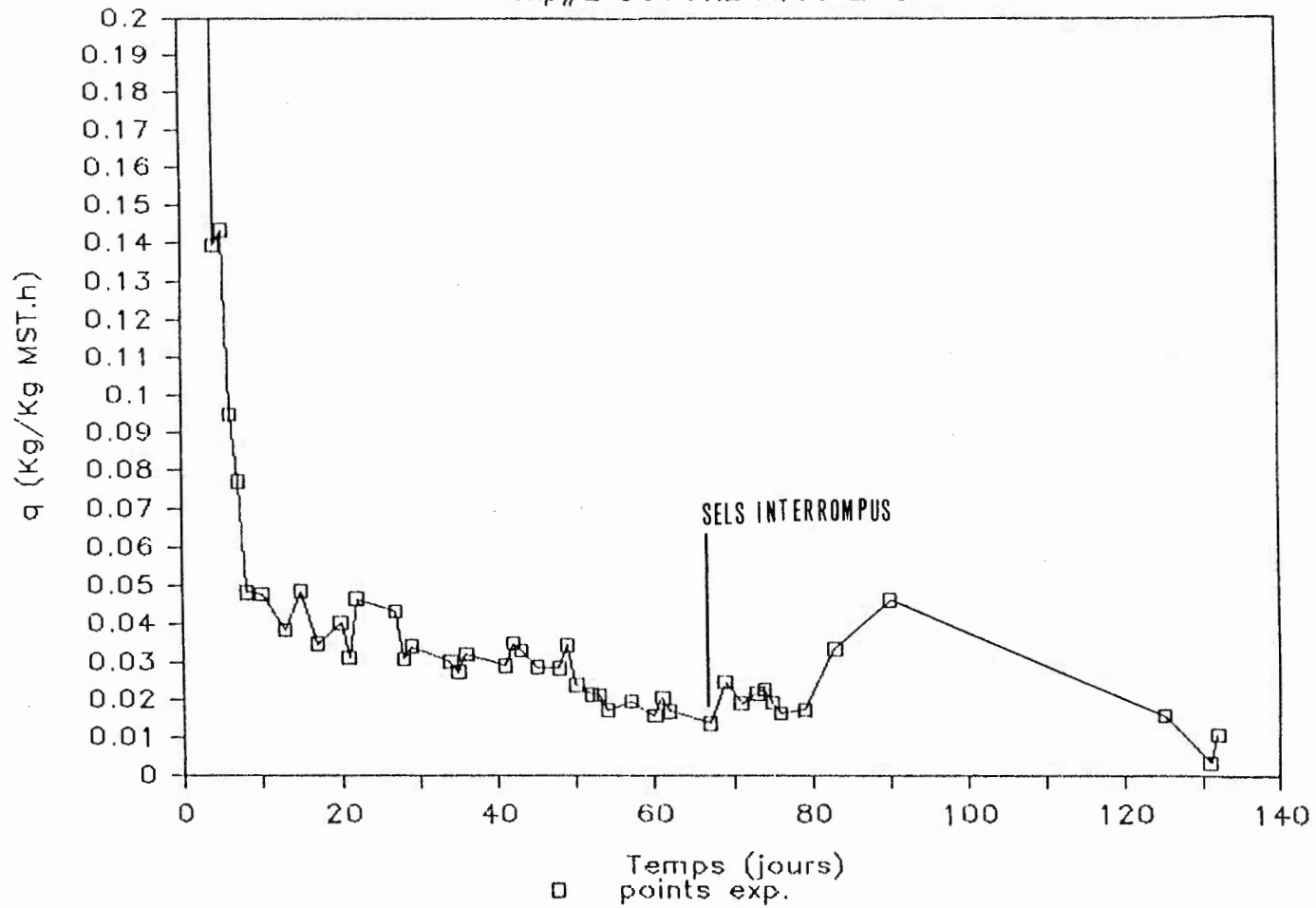


Figure B9 Taux spécifique d'utilisation du substrat en fonction du temps expérience #2

$q = F(\text{TEMPS})$
EXP#4 SOUCHE ATCC 19859

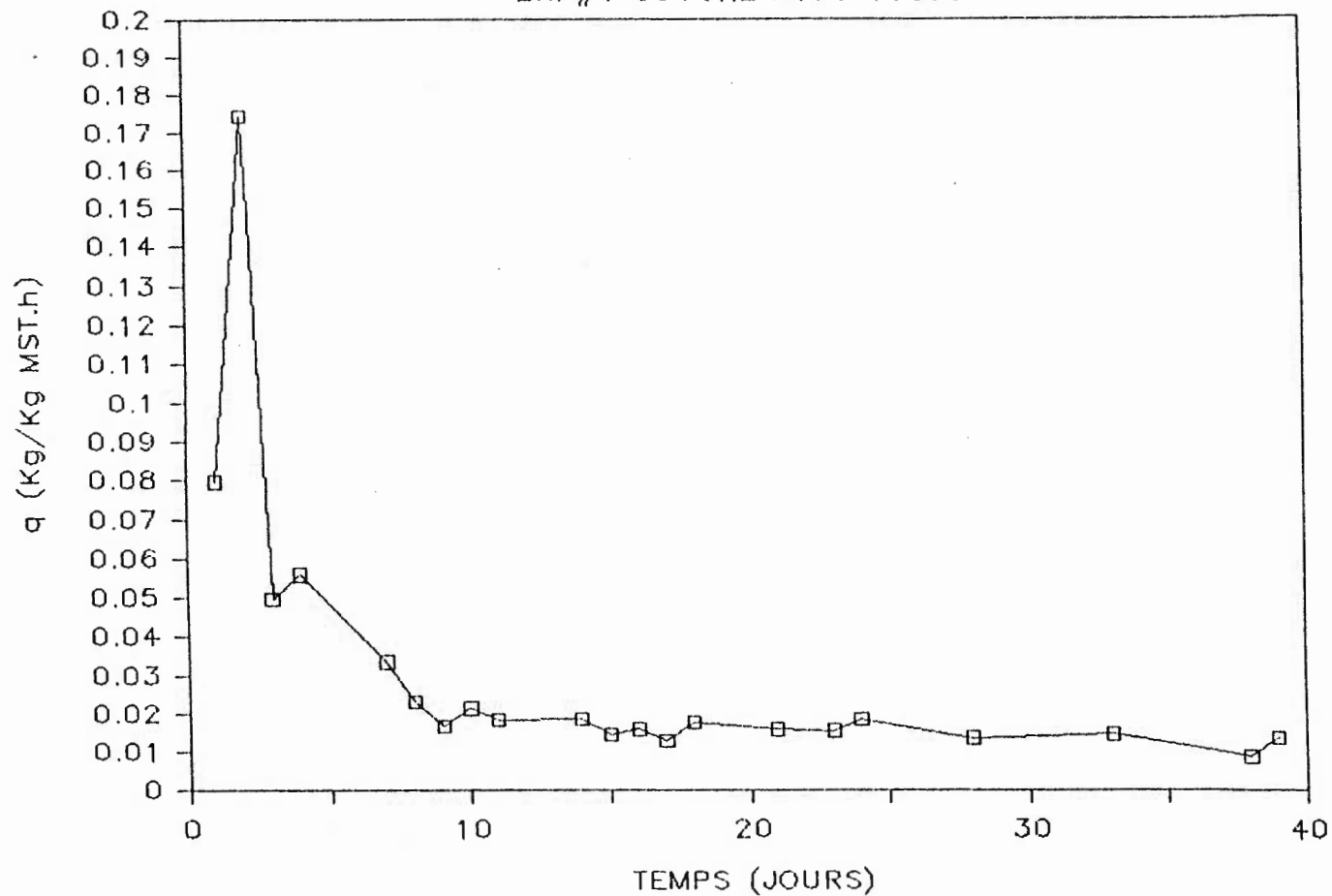


Figure B10 Taux spécifique d'utilisation du substrat en fonction du temps expérience #4

$$q = F(\text{TEMPS})$$

EXP#7 SOUCHE G 15

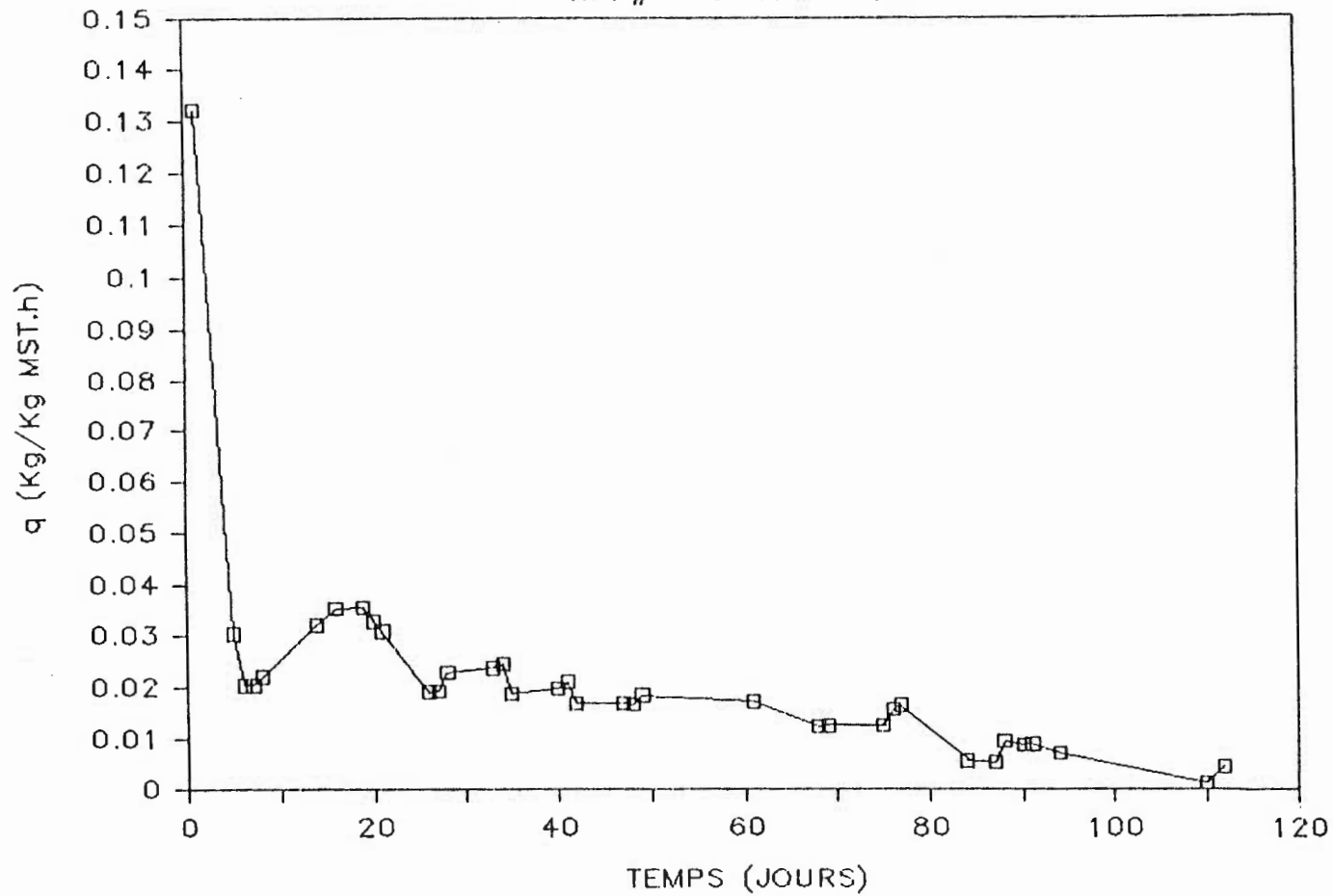


Figure B11 Taux spécifique d'utilisation du substrat en fonction du temps expérience #7

$$q = F(\text{temps})$$

exp. #8 souche G 15

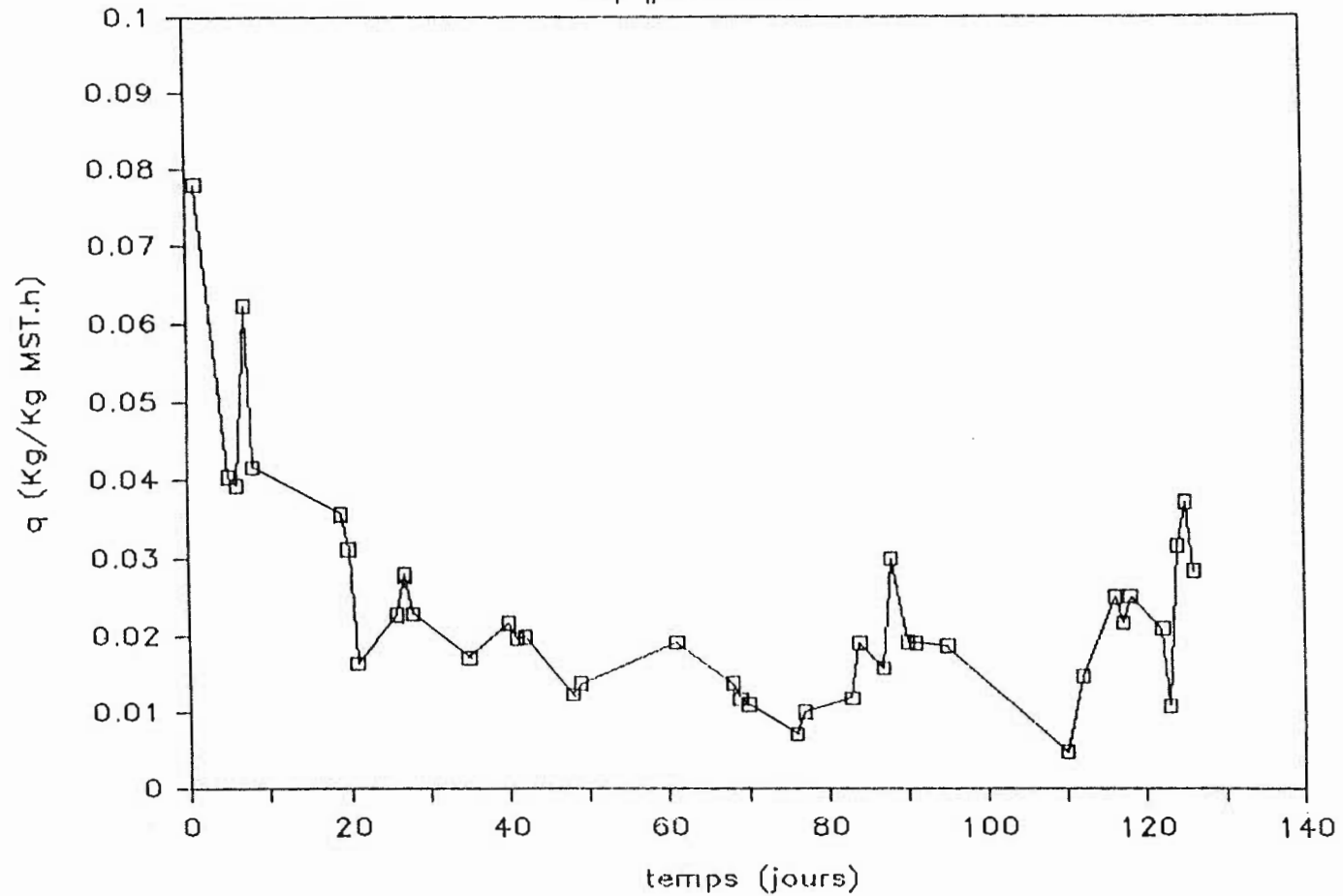


Figure B12 Taux spécifique d'utilisation du substrat en fonction du temps expérience #8

$$q = F(S)$$

EXP#2 SOUCHE ATCC 23270

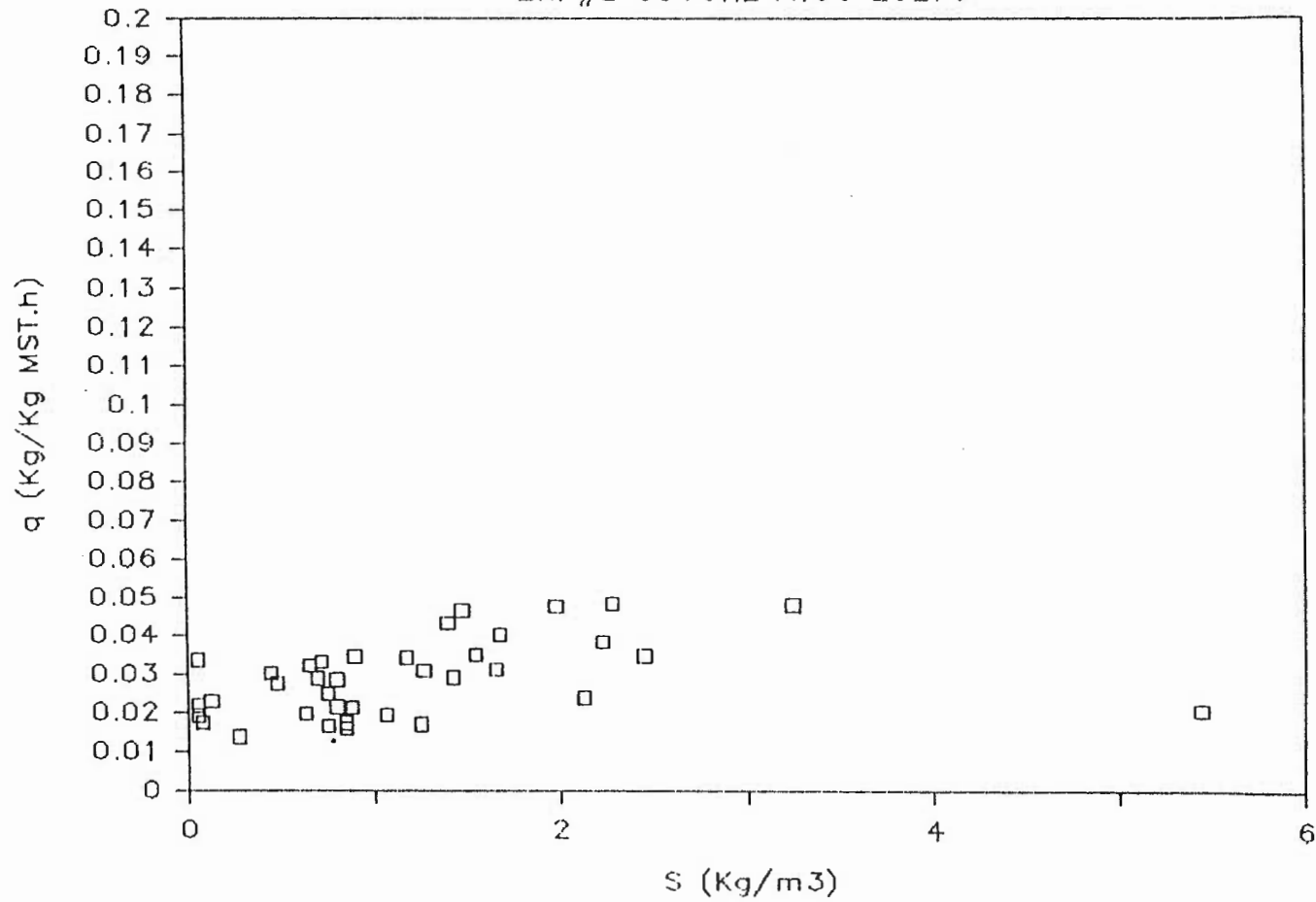


Figure B13 Taux spécifique d'utilisation du substrat en fonction de la concentration du substrat expérience #2

$$q = F(S)$$

EXP#4 SOUCHE ATCC 19859

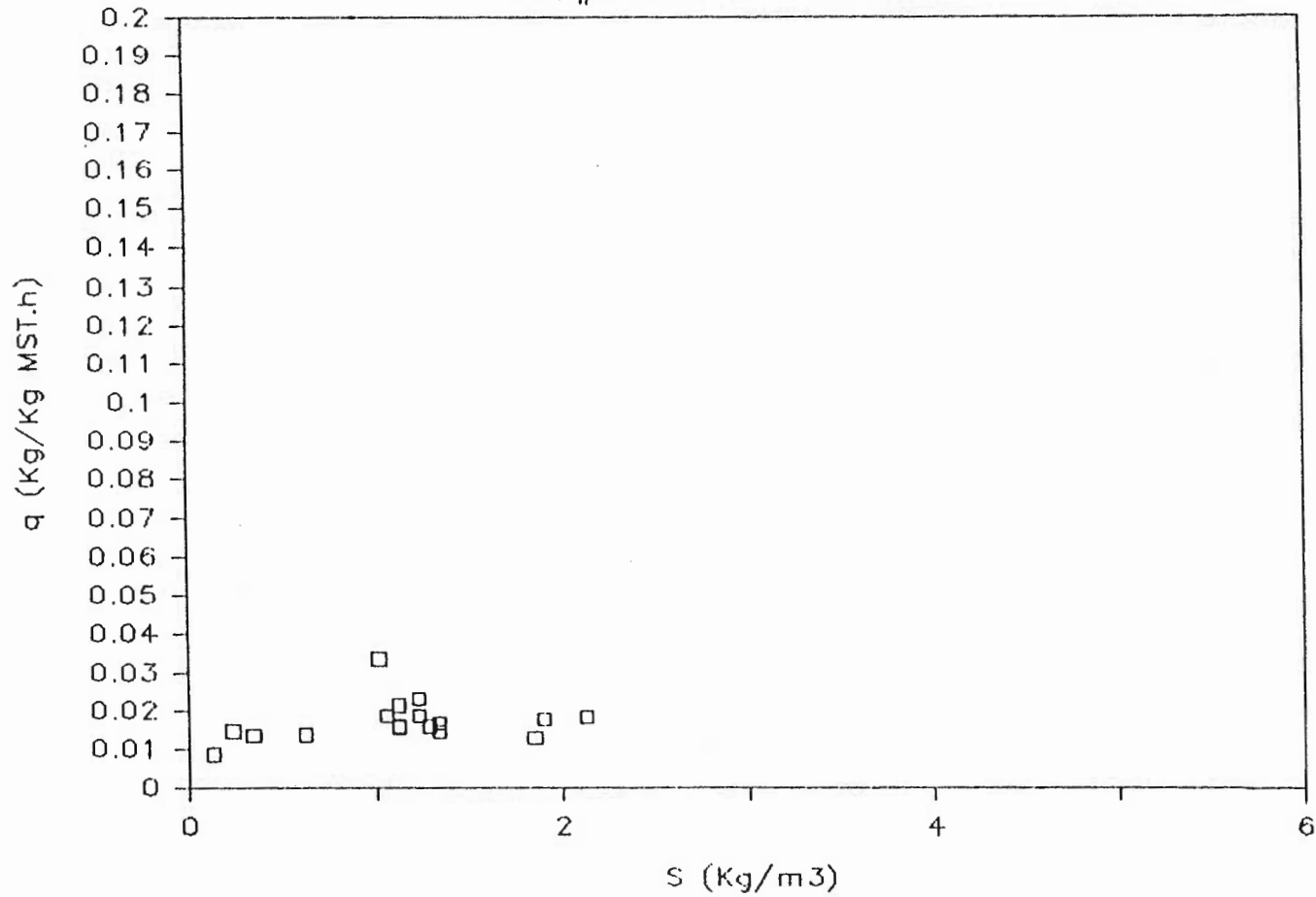


Figure B14 Taux spécifique d'utilisation du substrat en fonction de la concentration du substrat expérience #4

$q = F(S)$
EXP#7 SOUCHE G 15

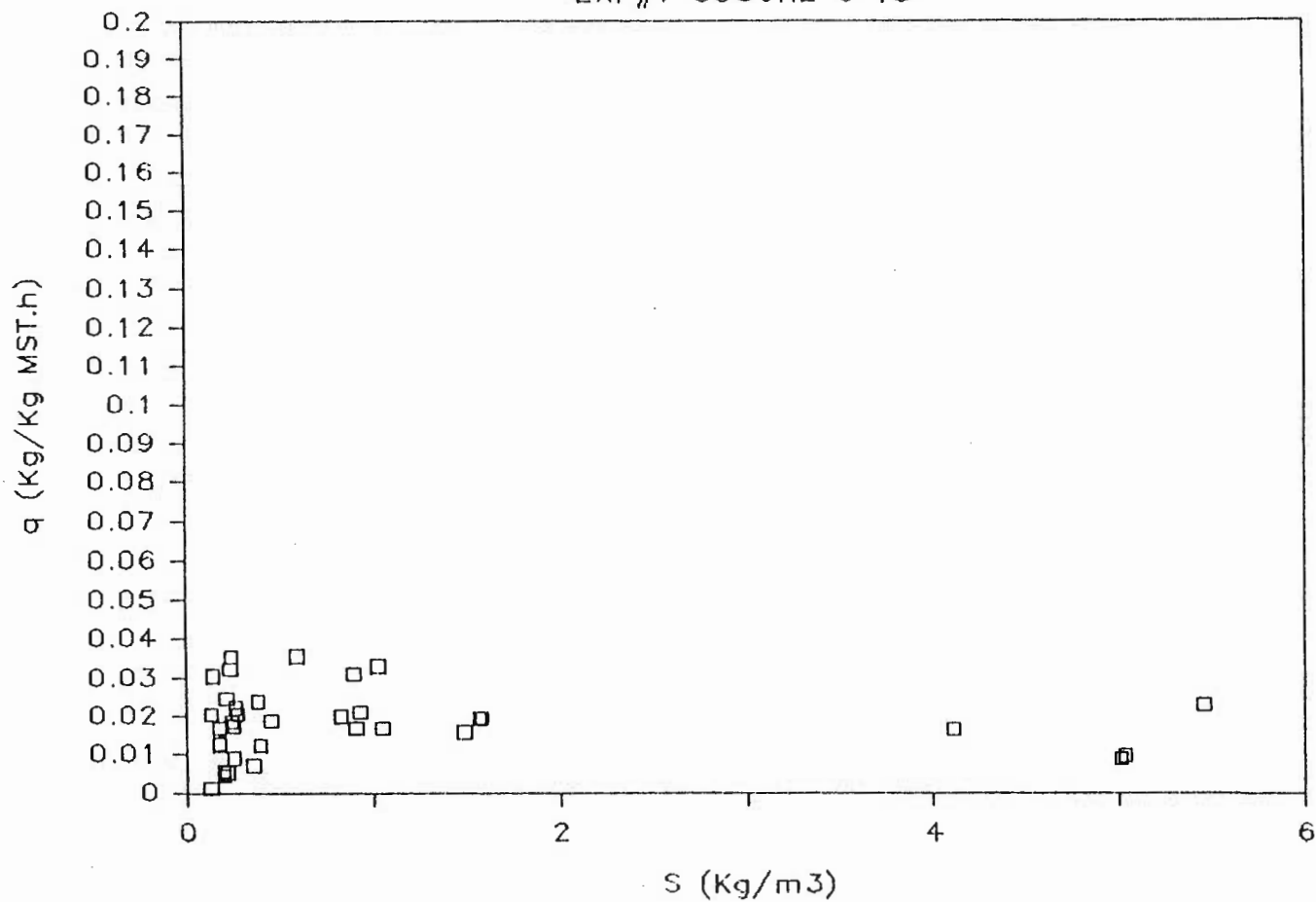


Figure B15 Taux spécifique d'utilisation du substrat en fonction de la concentration du substrat expérience #7

$$q = F(S)$$

exp. #8 souche G 15

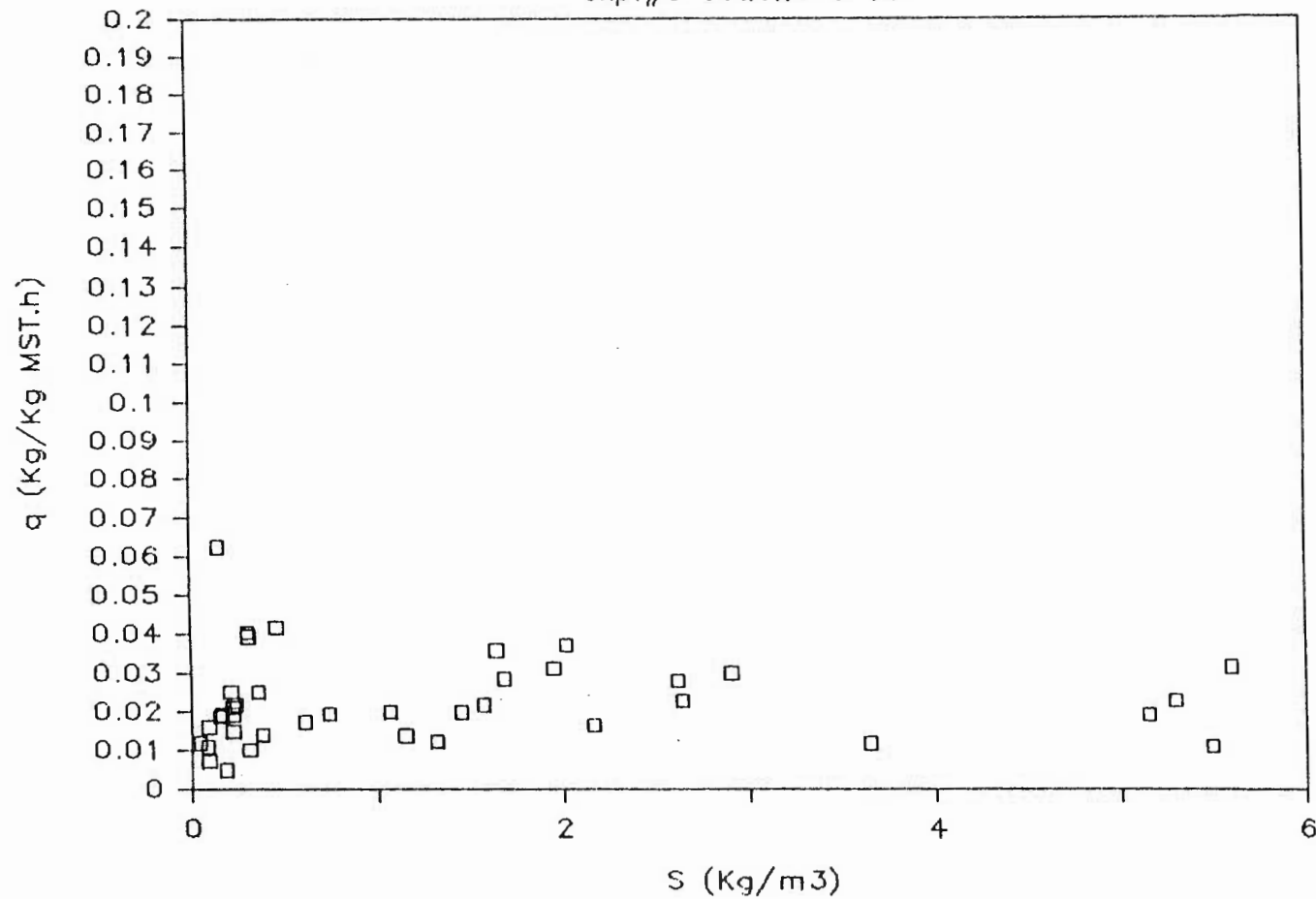


Figure B16 Taux spécifique d'utilisation du substrat en fonction de la concentration du substrat expérience #8

EPAISSEUR BIOFILM = F(TEMPS)

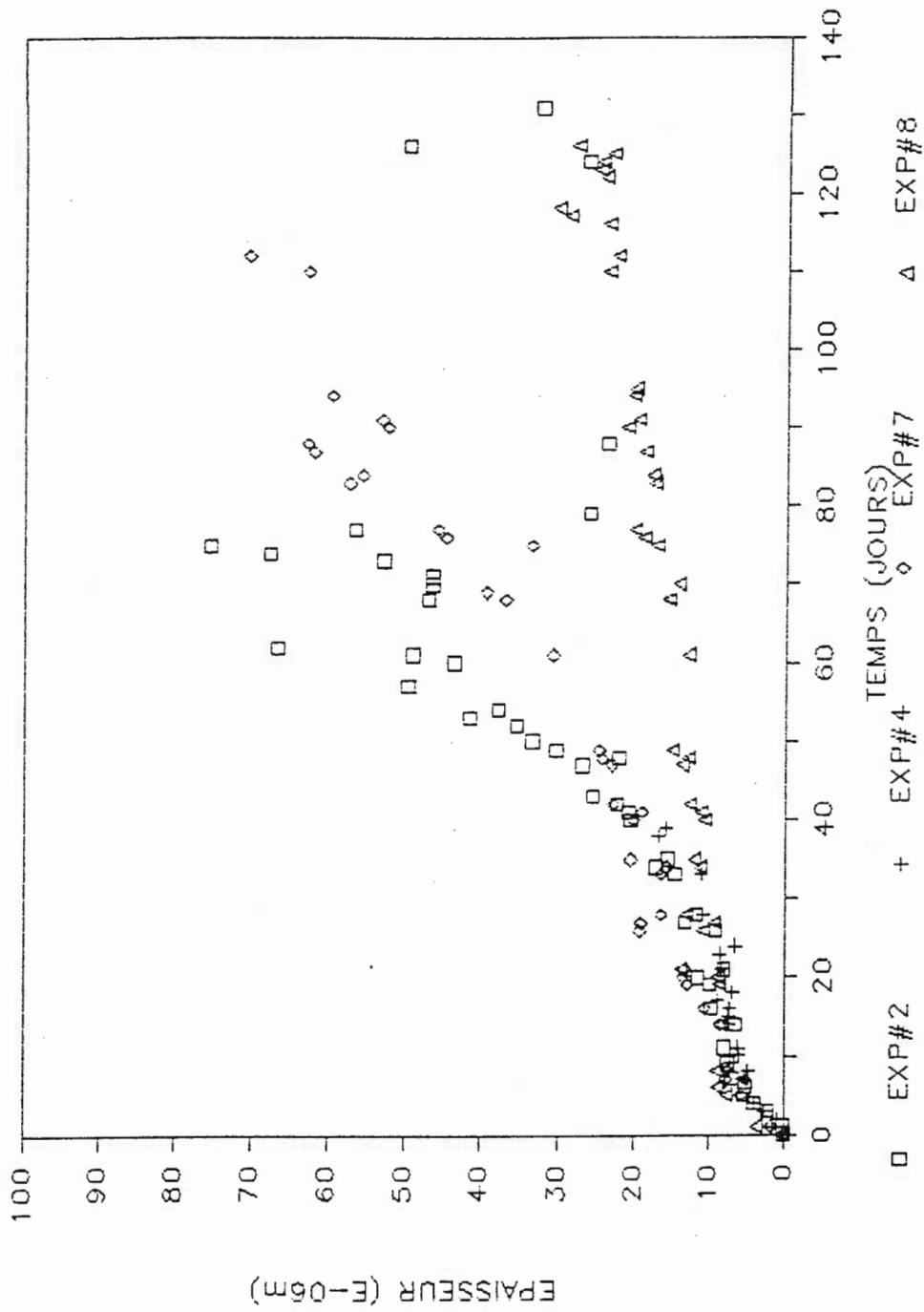


Figure B17 Ensemble des valeurs de l'épaisseur du biofilm

$$Wsu = F(\text{TEMPS})$$

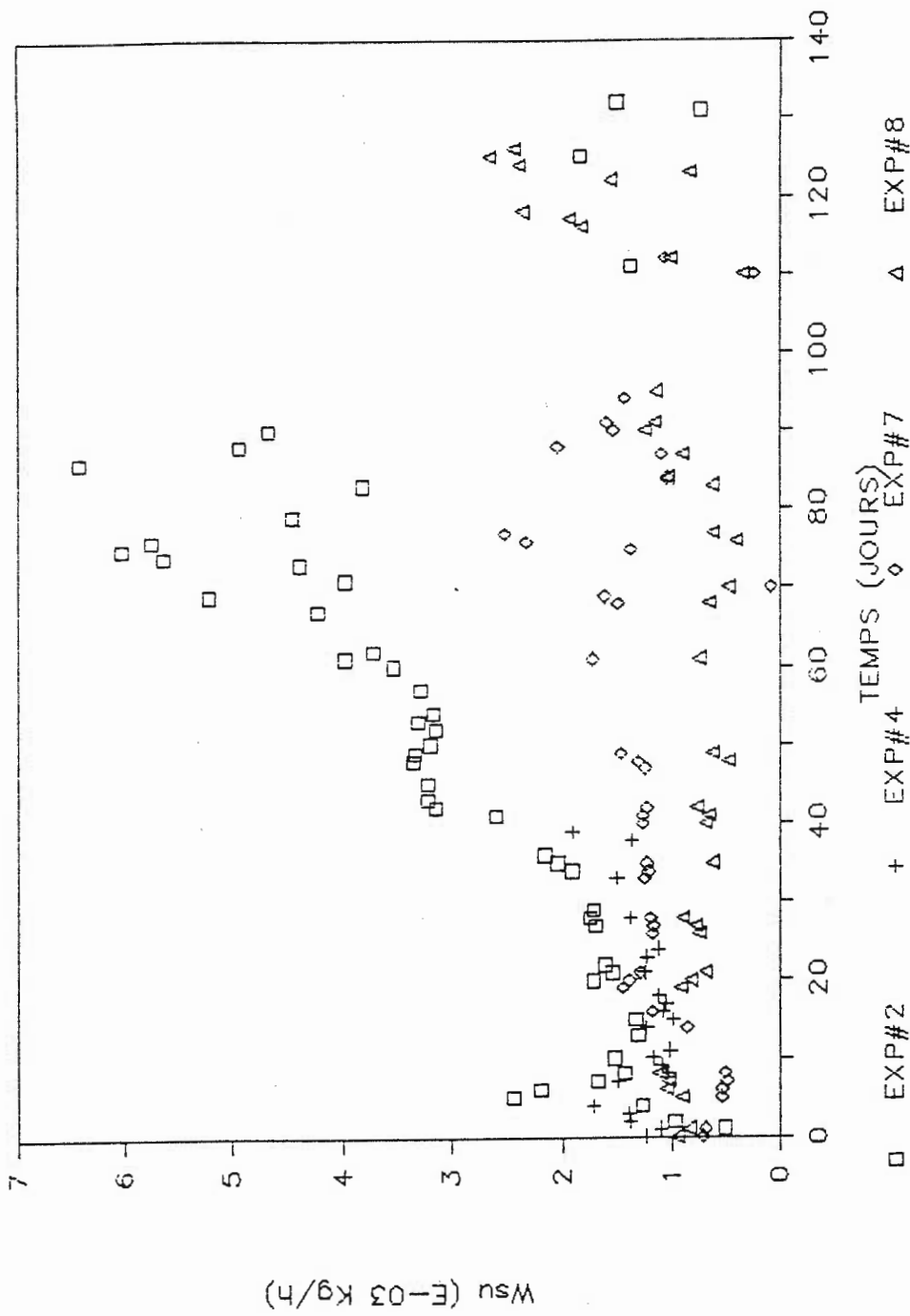


Figure B18 Ensemble des valeurs du taux d'utilisation du substrat

$$q = F(\text{TEMPS})$$

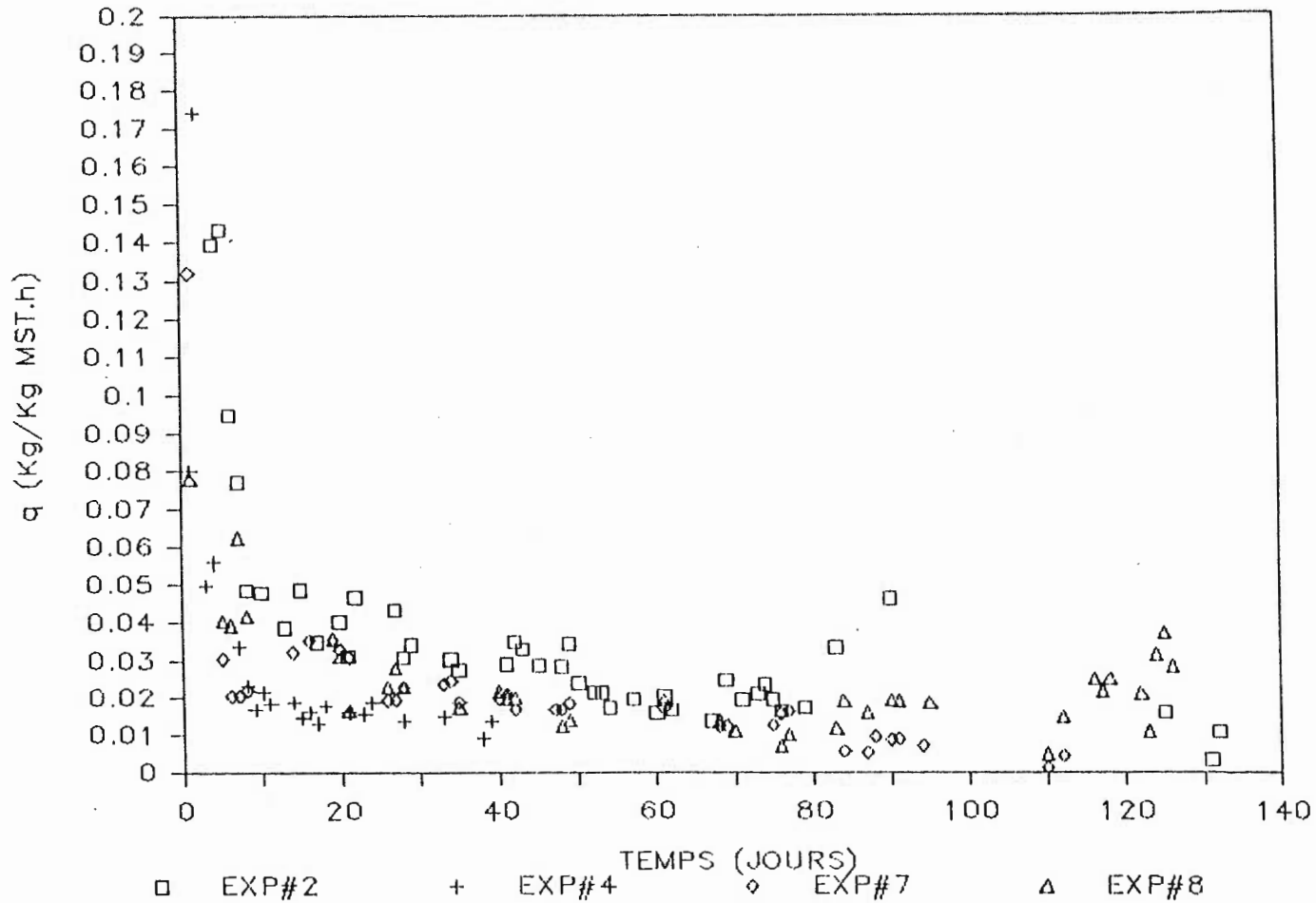


Figure B19 Ensemble des valeurs du taux spécifique d'utilisation du substrat

ANNEXE C

**PROGRAMME DE PREDICTION DU PROFIL D'ÉPAISSEUR DE
BIOFILM AVANT LA RECIRCULATION DES BIOPARTICULES**

Page 1
01-01-80
00:03:02

```

D Line# 1          7          Microsoft FORTRAN77 V3.20 02/84
1 C PROGRAMME DE PREDICTION DU PROFIL D'EPAISSEUR DE BIOFILM
2 C AVANT LA RECIRCULATION DES BIOPARTICULES
3 C
4     REAL DP(20),NB(20),DBP(20),ROBP(20),UT,EPSILON(20),
5     *DELTA(20),H(20),VBF(20),VP(20),RBF(20),N,MU,K,EXP
6     INTEGER T
7     DATA D,S/5.00,35.42/
8 C
9 C     D EST LE DIAMETRE EQUIVALENT DE L"ANNULUS
10 C    S EST LA SECTION D"ECOULEMENT DANS L"ANNULUS
11 C
12     WRITE(*,*)'----- UNITES CGS-----'
13     WRITE(*,*) ' VITESSE SUPERFICIELLE DU LIQUIDE? '
14     READ(*,*) U
15     WRITE(*,*) ' DENSITE DU SUPPORT?'
16     READ(*,*) ROP
17     WRITE(*,*) ' NOMBRE TOTAL DE PARTICULES?'
18     READ(*,*) NTOT
19     WRITE(*,*) ' EPAISSEUR INITIALE DU BIOFILM?'
20     READ(*,*) DELTAO
21     WRITE(*,*) 'ENTRER LE NOMBRE DE DIAMETRES DIFFERENTS (<21)'
22     READ (*,*) M
23     WRITE(*,*) 'ENTRER LES DIAMETRES PAR ORDRE DECROISSANT AVEC LEURS
24     *FRACTIONS'
25     DO 10 I=1,M
1 26     READ(*,*) DP(I),NB(I)
1 27 10     CONTINUE
28     DO 20 I=1,M
1 29     NB(I)=NB(I)*NTOT
1 30 20     CONTINUE
31 C ECHO DES DONNEES
32     WRITE(*,*) 'U=',U,'ROP=',ROP,'NTOT=',NTOT,'DELTAO=',DELTAO
33     DO 30 I=1,M
1 34     WRITE(*,*) 'DP(I)=',DP(I),'NB(I)=',NB(I)
1 35 30     CONTINUE
36     WRITE(*,*) ' TAUX SPECIFIQUE DE CROISSANCE: MU (1/H)?'
37     READ(*,*) MU
38     WRITE(*,*) ' CONSTANTE D"ABRASION: K (CM/H)?'
39     READ(*,*) K
40 C
41     T=0
42     DO 40 I=1,M
1 43     VP(I)=(DP(I)**3)*3.14159/6.
1 44     VBF(I)=((DP(I)+2.*DELTAO)**3)*3.14159/6.-VP(I)
1 45     DELTA(I)=DELTAO
1 46 40     CONTINUE
47 90     CONTINUE
48     EXP=0.
49     DO 50 I=1,M
1 50     DBP(I)=DP(I)+2.*DELTA(I)
1 51 50     CONTINUE
52     DO 60 I=1,M
1 53     ROBP(I)=(2.0*VBF(I)+ROP*VP(I))/(VBF(I)+VP(I))
1 54 60     CONTINUE
55 C
56     DO 500 I=1,M
1 57     XDBP=DBP(I)
1 58     XROBP=ROBP(I)
1 59     IF(XROBP.GT.1.) THEN

```

Page 2
01-01-80
00:03:02
Microsoft FORTRAN77 V3.20 02/84

```

D Line# 1      7
1      60      WRITE(*,*) 'DENSITE BIOPARTICULE > 1'
1      61      STOP
1      62      ENDIF
1      63 C     CALCUL DE LA POROSITE PAR RICHARDSON-ZAKI
1      64      XK=XDBP*(981.*1.*(1.-XROBP)/(0.01**2))*0.333333
1      65      IF(XK.LE.3.3) THEN
1      66      UT=(981.*XDBP**2*(1.-XROBP))/(18.*0.01)
1      67      ELSEIF(XK.LE.43.6) THEN
1      68      UT=0.153*(981.**0.71)*(XDBP**1.14)*(1-XROBP)**0.71
1      69      UT=UT/((XROBP**0.29)*(0.01**0.43))
1      70      ELSE
1      71      UT=1.75*SQRT(981.*XDBP*(1-XROBP)/1.)
1      72      ENDIF
1      73      RET=1.0*XDBP*UT/0.01
1      74      IF(RET.LE.0.2) THEN
1      75      N=4.65+20.*XDBP/D
1      76      ELSEIF(RET.LE.1.0) THEN
1      77      N=(4.4+18.*XDBP/D)*RET**(-0.03)
1      78      ELSEIF(RET.LE.200.) THEN
1      79      N=(4.4+18.*XDBP/D)*RET**(-0.01)
1      80      ELSEIF(RET.LE.500.) THEN
1      81      N=4.4*RET**(-0.1)
1      82      ELSE
1      83      N=2.4
1      84      ENDIF
1      85      EPS=(U/UT)**(1./N)
1      86 C     ECRITURE DES RESULTATS
1      87      EPSILON(I)=EPS
1      88      H(I)=(NB(I)*(3.1416/6.)*DBP(I)**3)/(S*(1.-EPSILON(I)))
1      89      EXP=EXP+H(I)
1      90      IF(IFIX(T/5.)*5.NE.T) GOTO 500
1      91      WRITE(*,*) 'T=',T,' EPSILON=',EPSILON(I),' DELTA=',DELTA(I),' H=',H(I)
1      92 500    CONTINUE
1      93      IF(IFIX(T/5.)*5.NE.T) GOTO 600
1      94      WRITE(*,*) 'EXPANSION=',EXP,' CM'
1      95 600    CONTINUE
1      96 C     MODELE DE CROISSANCE ET D"ABRASION
1      97      T=T+1
1      98      DO 80 I=1,M
1      99      RBF(I)=MU*VBF(I)-K*(1.-EPSILON(I))*3.14159*DBP(I)**2
1     100      VBF(I)=VBF(I)+RBF(I)*24.
1     101      DELTA(I)=((6.*VBF(I)/3.14159+DP(I)**3)**.333333-DP(I))/2.
1     102 80    CONTINUE
1     103 C
1     104      IF(T.LE.100) THEN
1     105      GOTO 90
1     106      ENDIF
1     107      STOP
1     108      END

```

Name	Type	Offset	P	Class
D	REAL	802		
DBP	REAL	642		
DELTA	REAL	722		
DELTAO	REAL	822		
DP	REAL	2		
EPS	REAL	902		
EPSILO	REAL	482		

Page 3
01-01-80
00:03:02

Microsoft FORTRAN77 V3.20 02/84

D Line# 1	7		
EXP	REAL	862	
H	REAL	562	
I	INTEGER*4	830	
IFIX			INTRINSIC
K	REAL	850	
M	INTEGER*4	826	
MU	REAL	846	
N	REAL	898	
NB	REAL	82	
NTOT	INTEGER*4	818	
RBF	REAL	402	
RET	REAL	894	
ROBP	REAL	162	
ROP	REAL	814	
S	REAL	806	
SQRT			INTRINSIC
T	INTEGER*4	854	
U	REAL	810	
UT	REAL	890	
VBF	REAL	242	
VP	REAL	322	
XDBP	REAL	878	
XK	REAL	886	
XROBP	REAL	882	

Name	Type	Size	Class
MAIN			PROGRAM

Pass One No Errors Detected
108 Source Lines

A>

PROFIL DE POROSITE

SIMULATION, EXP#7

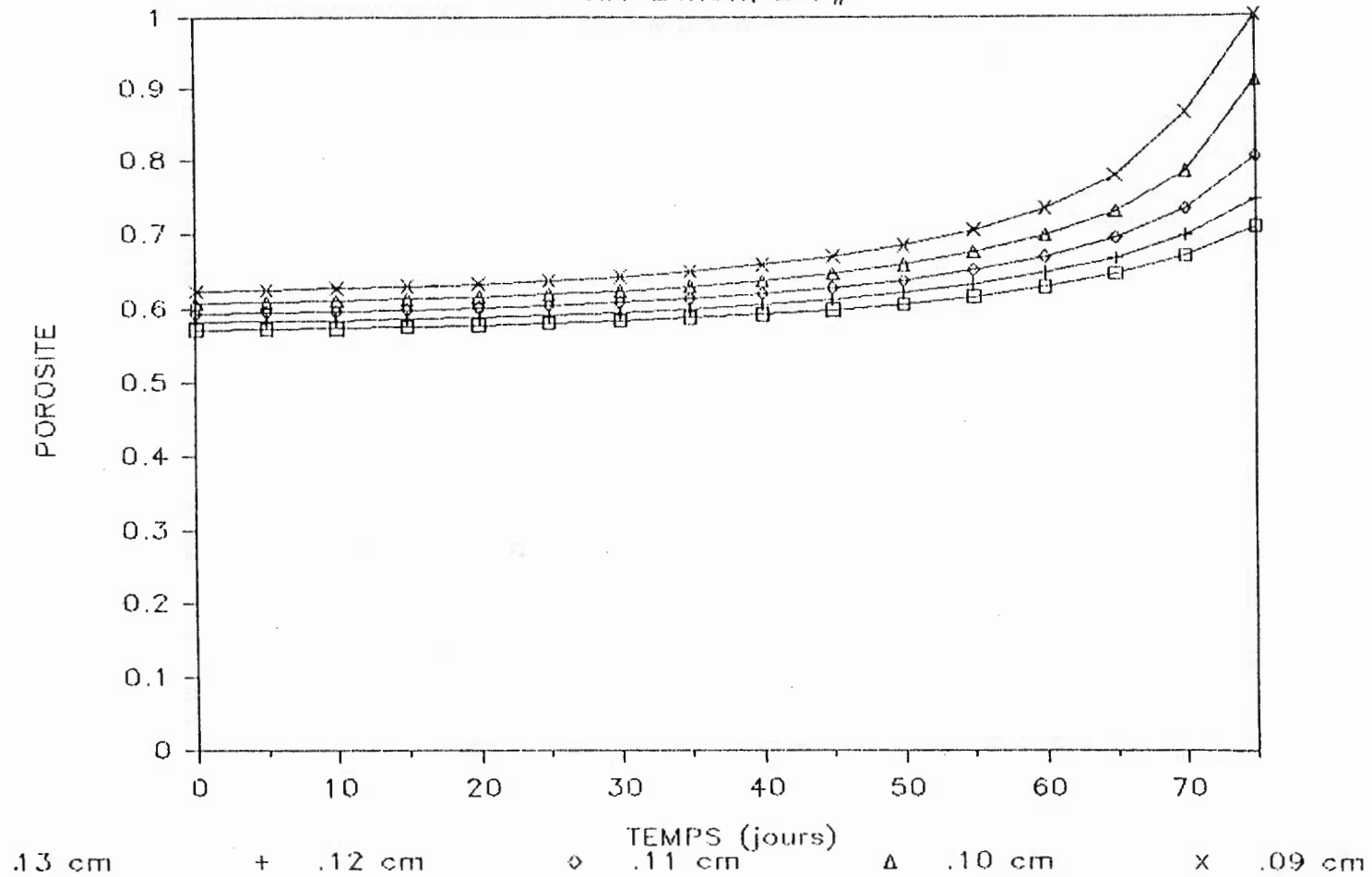


Figure C1 Profil simulé de porosité

PROFIL D'ÉPAISSEUR

SIMULATION, EXP#7

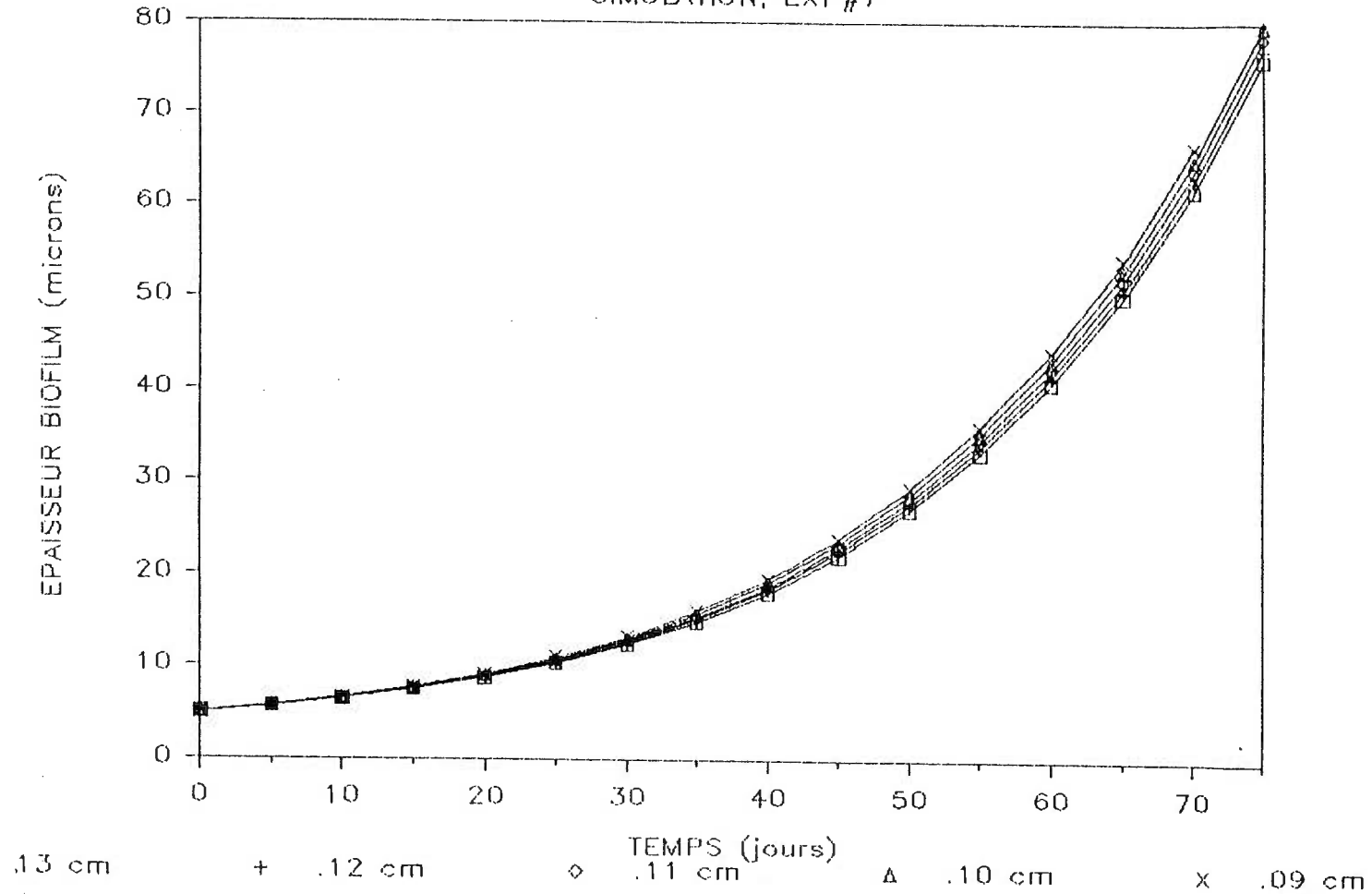


Figure C2 Profil simulé d'épaisseur du biofilm

EPAISSEUR = F(position, temps)

SIMULATION, EXP#7

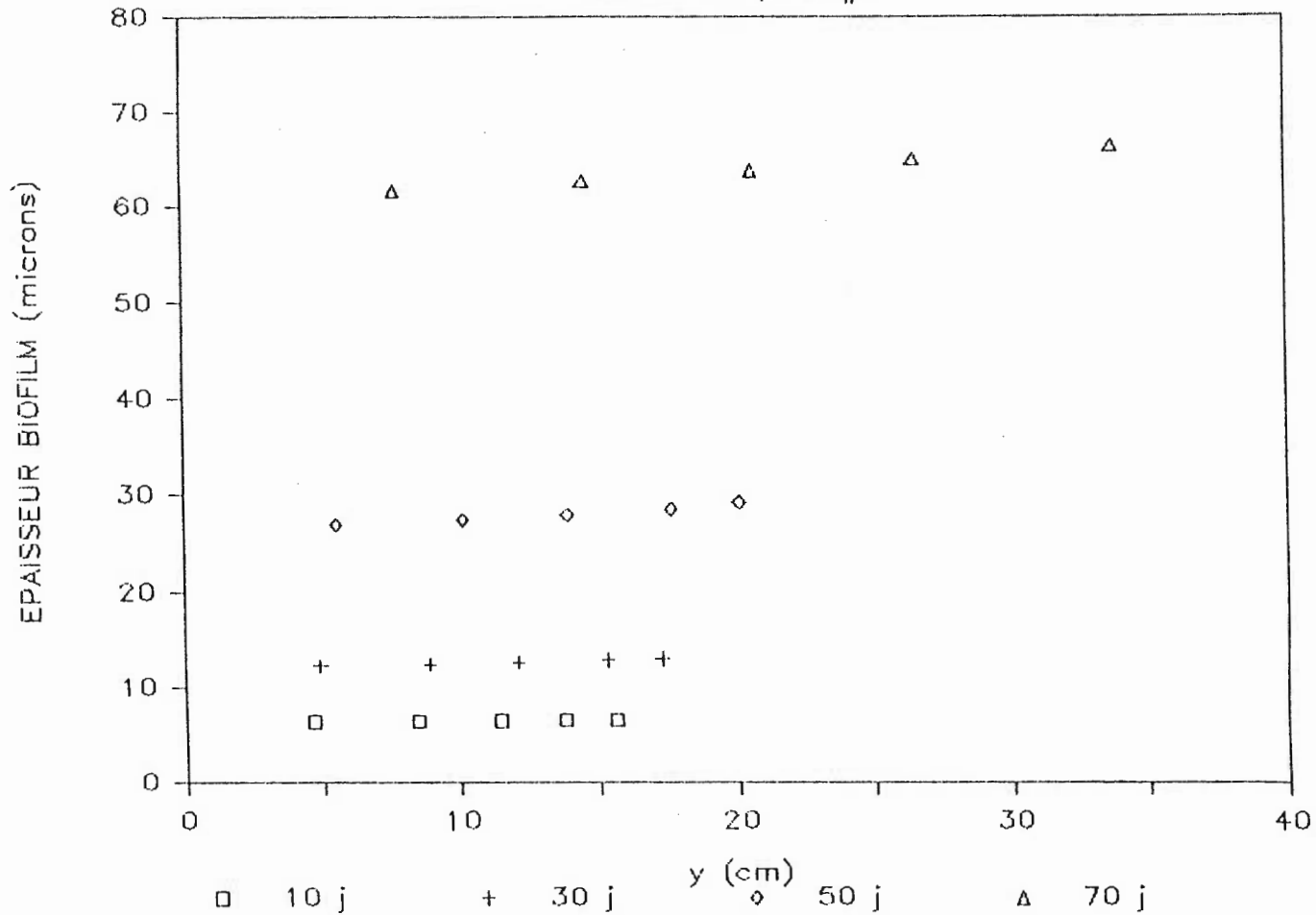


Figure C3 Epaisseur du biofilm en fonction de la position dans l'annulus et du temps

ANNEXE D

PROGRAMME D'INTEGRATION NUMERIQUE DE RUNGE-KUTTA

Page 1
01-01-80
00:25:12

```

D Line# 1      7      Microsoft FORTRAN77 V3.20 02/84
1 C CE PROGRAMME RESOUD LA DIFFUSION ET LA REACTION SELON MONOD
2 C EN REGIME PERMANENT DANS UN BIOFILM PLANAIRE
3 C LES VARIABLES SONT ADIMENTIONNELLES
4 C PAR FRANCOIS GODARD B. ING.
5 C
6 C LECTURE ET INITIALISATION DES DONNEES
7   REAL*8 M,KO2,NTOT,CSTAR,QMAX,ROBF,DELTA,YO2,RP,WO2,DO2,C1,
8   *EPS,A1,A2,I1,I2,G,G1,G2,Z,ABF,WCAL
9   REAL*8 TEMP(11),GRAD(11),ETHA(11)
10  LOGICAL LOGI
11  WRITE(*,*) ' ENTRER C*,QMAX,ROBF,DELTA,YS/O2,KO2,RP,WO2,NTOT'
12  READ(*,*) CSTAR,QMAX,ROBF,DELTA,YO2,KO2,RP,WO2,NTOT
13  WRITE(*,*) ' ENTER DO2'
14  READ(*,*) DO2
15  C1=(QMAX*ROBF*DELTA*DELTA)/(YO2*CSTAR)
16  KO2=KO2/CSTAR
17  ABF=4.*3.1416*(RP+DELTA)**2
18  WRITE(*,*) ' EPSILON ?'
19  READ(*,*) EPS
20  WRITE(*,1100)
21  WRITE(*,1200)
22  WRITE(*,1400) EPS
23  WRITE(*,1500)
24  WRITE(*,1300) C1
25  WRITE(*,1700) CSTAR
26  WRITE(*,1800) KO2
27  WRITE(*,1900) DO2
28  KKK=0
29  LOGI=.TRUE.
30 C CALCUL AVEC LA PREMIERE ESTIMATION
31   A1=-1.7
32   WCAL=-A1*DO2*ABF*NTOT*CSTAR/DELTA
33   G1=A1
34   WRITE(*,2100) G1
35   CALL RUNGE(TEMP,GRAD,ETHA,C1,KO2,DO2,A1,LOGI)
36   I1=A1
37   IF(ABS(I1).GT.EPS) GOTO 1
38   Z=G1
39   GOTO 20
40 C CALCUL AVEC LA SECONDE ESTIMATION
41  1   A2=-0.5
42   WCAL=-A2*DO2*ABF*NTOT*CSTAR/DELTA
43   G2=A2
44   CALL RUNGE(TEMP,GRAD,ETHA,C1,KO2,DO2,A2,LOGI)
45   I2=A2
46   IF(ABS(I2).GT.EPS) GOTO 2
47   Z=G2
48   GOTO 20
49  2   CONTINUE
50 C DEBUT DES ITERATIONS
51 C CALCUL DE LA PENTE DE LA CORDE
52  10  M=(I2-I1)/(G2-G1)
53 C CALCUL DE LA SECANTE
54   G=-I2/M+G2
55   G2=G1
56   G1=G
57   WCAL=-G1*DO2*ABF*NTOT*CSTAR/DELTA
58   CALL RUNGE(TEMP,GRAD,ETHA,C1,KO2,DO2,G,LOGI)
59   I2=I1

```

```

D Line# 1      7
60      I1=G
61      KKK=KKK+1
62      IF(ABS(I1).GT.EPS) GOTO 10
63      WRITE(*,2200) KKK
64      Z=G1
65 C
66 C CALCUL DES RESULTATS
67 C
68 20     LOGI=.FALSE.
69       CALL RUNGE(TEMP,GRAD,ETHA,C1,KO2,DO2,Z,LOGI)
70 C
71 C ECRITURE DES RESULTATS
72 C
73       WRITE(*,2300)
74       WRITE(*,1600) WO2
75       WRITE(*,1650) WCAL
76       WRITE(*,1000)
77       DO 50 III=1,11
1 78      WRITE(*,2000) ETHA(III),TEMP(III),GRAD(III)
1 79 50    CONTINUE
80 1100   FORMAT(///)
81 1200   FORMAT(' LES DONNEES SONT: '//)
82 1300   FORMAT(' C1=',1E12.4)
83 1600   FORMAT(' WO2 EXP.=',1E12.4)
84 1650   FORMAT(' WO2 CALCULE=',1E12.4)
85 1700   FORMAT(' C*=',1E12.4)
86 1800   FORMAT(' KO2*=',1E12.4)
87 1900   FORMAT(' DO2=',1E12.4)
88 1400   FORMAT(' EPSILON=',1E12.4)
89 1500   FORMAT(' PAS=0.001')
90 1000   FORMAT(/11X,'POSITION',11X,'CONCENTRATION',9X,'GRADIENT'/)
91 2000   FORMAT( (3E20.4))
92 2100   FORMAT(' L"ESTIMATION INITIALE DU GRADIENT=',1E12.4)
93 2200   FORMAT(' NOMBRE DE CALCUL DE LA SECANTE=' I3)
94 2300   FORMAT('// LES RESULTATS OBTENUS SONT: '//)
95       STOP
96       END

```

Name	Type	Offset	P	Class
A1	REAL*8	378		
A2	REAL*8	418		
ABF	REAL*8	354		
ABS				INTRINSIC
C1	REAL*8	346		
CSTAR	REAL*8	266		
DELTA	REAL*8	290		
DO2	REAL*8	338		
EPS	REAL*8	362		
ETHA	REAL*8	178		
G	REAL*8	450		
G1	REAL*8	394		
G2	REAL*8	426		
GRAD	REAL*8	90		
I1	REAL*8	402		
I2	REAL*8	434		
III	INTEGER*4	458		
KKK	INTEGER*4	370		
KO2	REAL*8	306		

Page 3
01-01-80
00:25:12

Microsoft FORTRAN77 V3.20 02/84

```
D Line# 1      7
LOGI  LOGICAL*4    374
M     REAL*8      442
NTOT  REAL*8      330
QMAX  REAL*8      274
ROBF  REAL*8      282
RP     REAL*8      314
TEMP  REAL*8        2
WCAL  REAL*8      386
WO2   REAL*8      322
YO2   REAL*8      298
Z     REAL*8      410
```

```
97 C
98 C SOUS ROUTINE D"INTEGRATION DE RUNGE KUTTA D"ORDRE 4
99 C
100      SUBROUTINE RUNGE(TEMP,GRAD,ETHA,C1,KO2,DO2,Z,LOGI)
101      REAL*8 L1,L2,L3,L4,K1,K2,K3,K4,KO2,C1,DO2,X,Y,Z,H
102      REAL*8 TEMP(11),GRAD(11),ETHA(11)
103      LOGICAL LOGI
104      X=0.
105      Y=1.
106      H=0.001
107      III=0
108      DO 20 N=1,1001
1 109      K1=Z*H
1 110      L1=(C1/DO2)*(Y/(Y+KO2))*H
1 111      K2=(Z+L1/2.)*H
1 112      L2=(C1/DO2)*(Y+.5*K1)/((Y+.5*K1)+KO2)*H
1 113      K3=(Z+L2/2.)*H
1 114      L3=(C1/DO2)*(Y+.5*K2)/((Y+.5*K2)+KO2)*H
1 115      K4=(Z+L3)*H
1 116      L4=(C1/DO2)*(Y+K3)/((Y+K3)+KO2)*H
1 117 C
1 118 C TEST POUR LES TROIS VALEURS INITIALES OK
1 119 C
1 120      IF(LOGI) GOTO 10
1 121      IF(IFIX((N-1.)/100.)*100.NE.N-1) GOTO 10
1 122      III=III+1
1 123      ETHA(III)=X
1 124      TEMP(III)=Y
1 125      GRAD(III)=Z
1 126 10  IF(N.EQ.1001) GOTO 20
1 127      Y=Y+1./6.*(K1+2.*K2+2.*K3+K4)
1 128      Z=Z+1./6.*(L1+2.*L2+2.*L3+L4)
1 129      X=X+H
1 130 20  CONTINUE
131      RETURN
132      END
```

Name	Type	Offset	P	Class
C1	REAL*8	12	*	
DO2	REAL*8	20	*	
ETHA	REAL*8	8	*	
GRAD	REAL*8	4	*	
H	REAL*8	846		
IFIX				INTRINSIC
III	INTEGER*4	854		

Page 4
01-01-80
00:25:12

Microsoft FORTRAN77 V3.20 02/84

D Line#	1	7	
K1	REAL*8		862
K2	REAL*8		878
K3	REAL*8		894
K4	REAL*8		910
KO2	REAL*8		16 *
L1	REAL*8		870
L2	REAL*8		886
L3	REAL*8		902
L4	REAL*8		918
LOGI	LOGICAL*4		28 *
N	INTEGER*4		858
TEMP	REAL*8		0 *
X	REAL*8		830
Y	REAL*8		838
Z	REAL*8		24 *

Name	Type	Size	Class
MAIN			PROGRAM
RUNGE			SUBROUTINE

Pass One No Errors Detected
 132 Source Lines

DIFF
 ENTRER C*, QMAX, ROBF, DELTA, YS/O2, KO2, RP, WO2, NTOT
 1.8E-3
 .0304
 2000.
 49E-6
 7.0
 .734E-3
 0.66E-3
 2.01E-5
 3237.
 ENTER DO2
 2.4E-6
 EPSILON ?
 0.001

LES DONNEES SONT:

EPSILON= .1000E-02
 PAS=0.001
 C1= .1159E-04
 C*= .1800E-02
 KO2*= .4078E+00
 DO2= .2400E-05
 L'ESTIMATION INITIALE DU GRADIENT= -.1700E+01
 NOMBRE DE CALCUL DE LA SECANTE= 10

LES RESULTATS OBTENUS SONT:

WO2 EXP.= .2010E-04
 WO2 CALCULE= .3866E-05

POSITION	CONCENTRATION	GRADIENT
.0000E+00	.1000E+01	-.2145E+01
.1000E+00	.8023E+00	-.1813E+01
.2000E+00	.6366E+00	-.1506E+01
.3000E+00	.5003E+00	-.1225E+01
.4000E+00	.3906E+00	-.9741E+00
.5000E+00	.3045E+00	-.7529E+00
.6000E+00	.2390E+00	-.5608E+00
.7000E+00	.1914E+00	-.3949E+00
.8000E+00	.1593E+00	-.2505E+00
.9000E+00	.1408E+00	-.1214E+00
.1000E+01	.1348E+00	-.1003E-03

Stop - Program terminated.

B>

PROFIL O2 BIOFILM

SOUCHE G 15, CULTURE FIXE

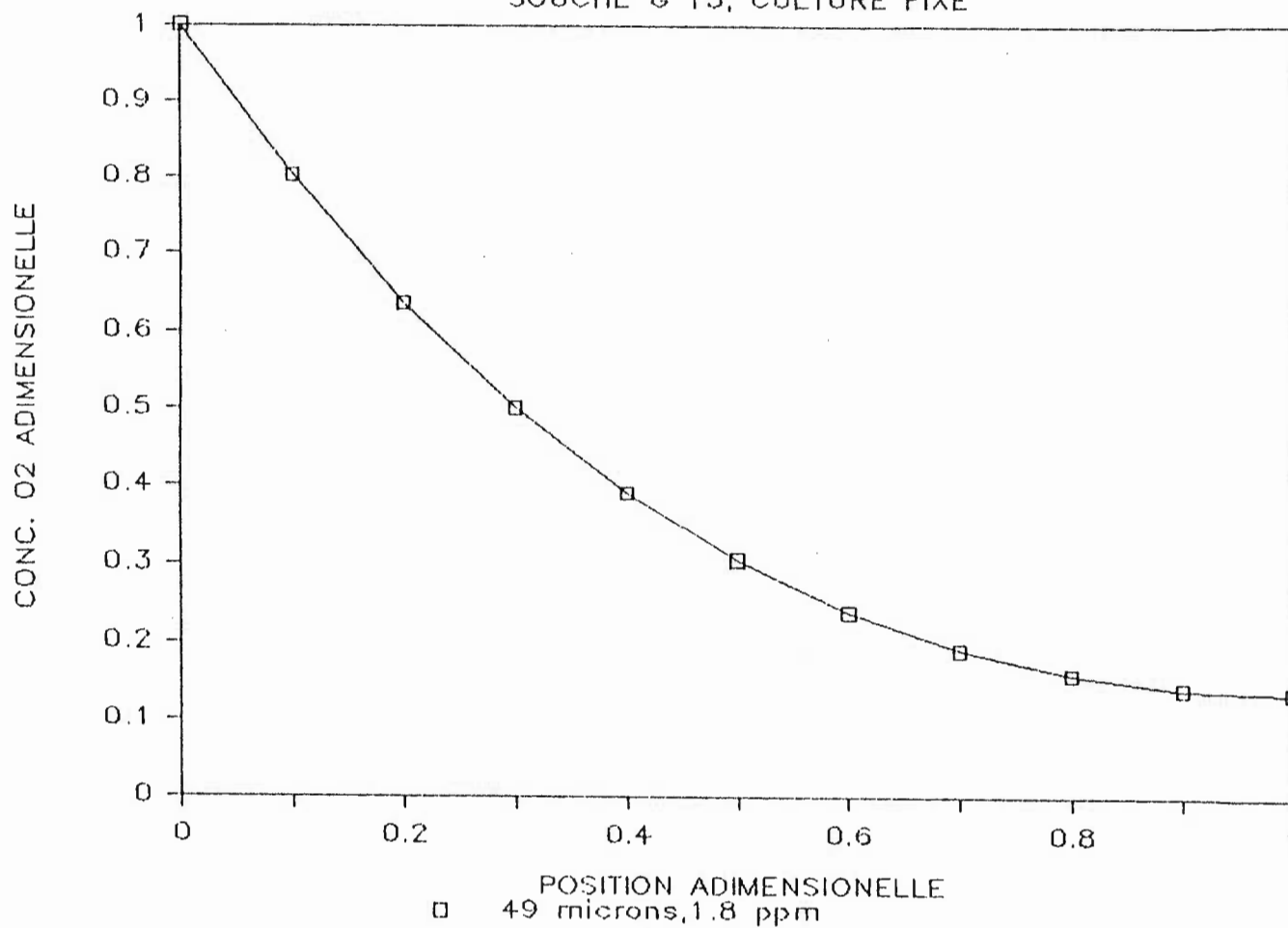


Figure D1 Profil simulé d'oxygène dans le biofilm

ANNEXE E

CARACTERISATION DU MELANGE POUR LE REACTEUR A RECIRCULATION

Le but de l'étude de la qualité du mélange, était de vérifier si l'on pouvait considéré le réacteur à recirculation, parfaitement mélangé pour le fer. Cette condition était essentielle car les échantillons liquides étaient pris dans le réservoir de mélange, loin des bioparticules.

La pompe de recirculation a été opérée à puissance maximale et le débit d'air dans le réservoir de mélange était constant. Certaines conditions opératoires ont été choisies afin de défavoriser le mélange.

- Temps de résidence hydraulique d'environ 20 minutes.
- Environ 30 ml de particules support occupant tout le volume de la colonne.

Ces conditions étaient plus sévères que le mode d'opération usuel du réacteur.

Le système a d'abord été rempli avec une solution aqueuse de bleu de méthylène (3,06 mg/l). Ensuite, on a introduit un débit constant d'eau. L'évolution de la concentration a été suivie par analyse spectrophotométrique. Les échantillons ont été pris à intervalles réguliers dans le réservoir de mélange.

La courbe de calibration a montrée que la relation entre l'absorbance et la concentration était linéaire jusqu'à une absorbance de 0,60: $C = 5,37 \cdot Ab$, pour $0 \leq Ab \leq 0,60$.

Le volume de liquide dans le système était de 145 ml et le débit d'eau alimenté de 6,67 ml/min. Par un bilan de masse, on obtient pour un mélange parfait la relation suivante:

$$C = C_0 \cdot \exp[(-F/V) \cdot t] = 3,06 \cdot \exp[-0,046 \cdot t]$$

On retrouve les résultats expérimentaux ainsi que les valeurs théoriques pour un mélange parfait au tableau E1. La figure E1 permet de visualiser la très bonne correspondance entre les points expérimentaux et la courbe théorique. On pourra donc assumer un mélange parfait pour le fer, lors d'opérations à débits plus faibles (mais pas pour l'oxygène lorsqu'il y aura présence de biomasse).

t (min)	Absorbance	C exp. (mg/l)	C théorique (mg/l)
0	0,57	3,06	3,06
2	0,51	2,74	2,79
4	0,46	2,50	2,55
6	0,42	2,26	2,32
8	0,38	2,04	2,12
10	0,35	1,88	1,93
12	0,31	1,67	1,76
14	0,30	1,61	1,61
16	0,27	1,45	1,47
18	0,25	1,34	1,34
20	0,22	1,18	1,22
22	0,20	1,07	1,11
24	0,19	1,02	1,01
26	0,18	0,97	0,93
28	0,17	0,91	0,84
30	0,16	0,86	0,77
32	0,14	0,75	0,70
34	0,13	0,70	0,64
36	0,12	0,64	0,58
38	0,10	0,54	0,53

Tableau E1: Résultats sur l'état du mélange du réacteur à recirculation

MELANGE REACTEUR A RECIRCULATION

CONCENTRATION EXP. VS SIMULEE

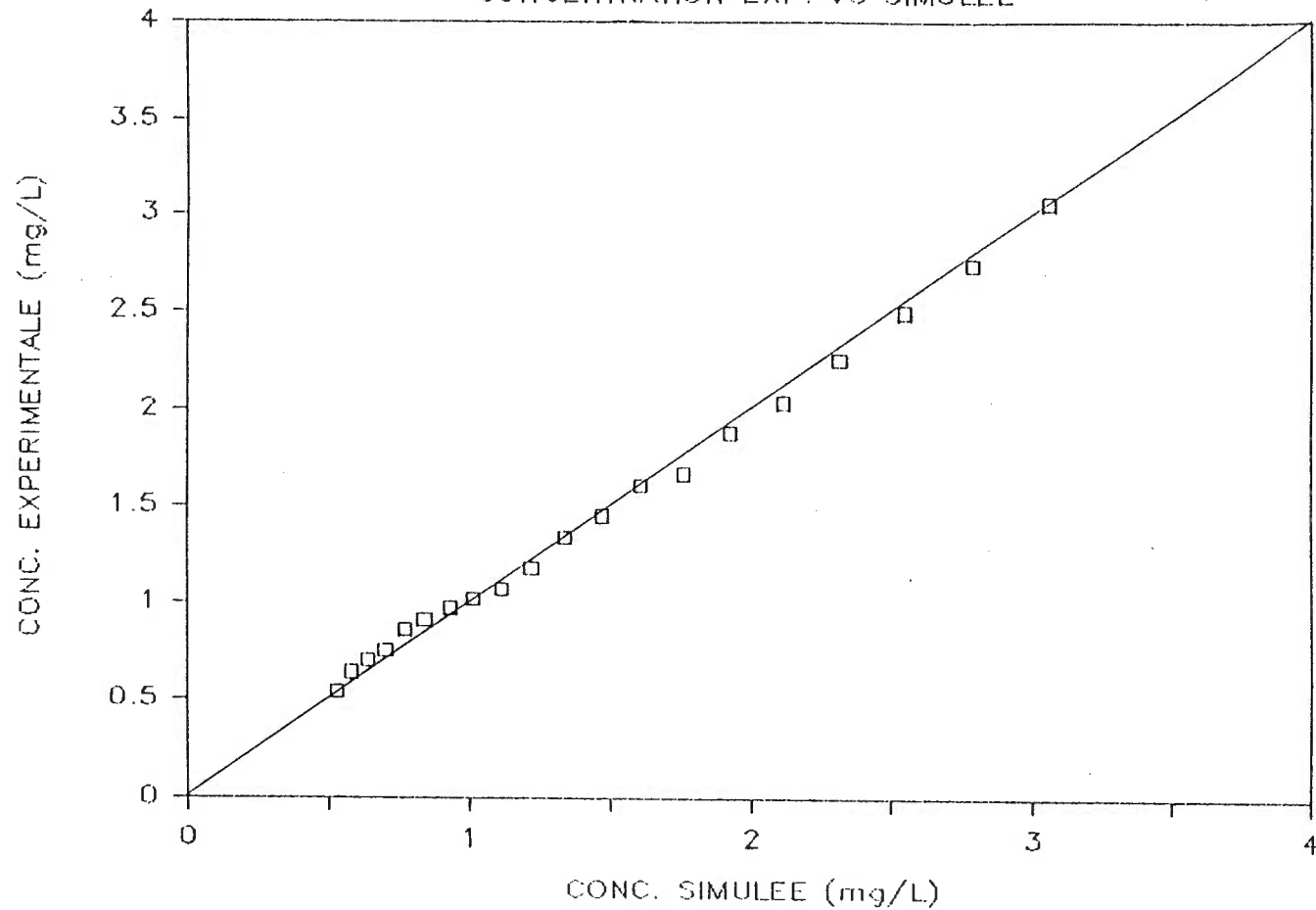


Figure E1 Concentration expérimentale vs théorique (mélange parfait) pour le réacteur à recirculation

ANNEXE F

DONNEES DES EXPERIENCES DU REACTEUR A RECIRCULATION

Tableau F1: Données expérience à biofilm mince

$$\delta = 6,5 \text{ } \mu\text{m}$$

$$R = 9,65 \cdot 10^{-3} \text{ m}^3/\text{h}$$

$$F = 62,3 \cdot 10^{-4} \text{ m}^3/\text{h}$$

$$N_{\text{tot}} = 1931$$

$$d_p = 1,52 \cdot 10^{-3} \text{ m}$$

CO ₂ entrée	CO ₂ sortie	M _{BF}	C*O ₂	q	q _{O₂}
% saturat.	% saturat.	10 ⁻³ Kg MST	ppm	Kg/Kg MST.h	Kg O ₂ /Kg MST.h
76,4	55,1	0,181	5,33	1,247	0,092
71,8	47,4	0,183	4,83	1,161	0,104
52,8	25,1	0,186	3,16	1,132	0,117
30,7	13,7	0,188	1,80	0,949	0,071
17,6	01,0	0,191	1,28	0,887	0,068
24,0	07,7	0,193	0,75	1,063	0,066

Tableau F2: Données expérience à biofilm moyen

$$\delta = 18,0 \text{ } \mu\text{m}$$

$$R = 9,65 \cdot 10^{-3} \text{ m}^3/\text{h}$$

$$F = 62,3 \cdot 10^{-6} \text{ m}^3/\text{h}$$

$$N_{\text{tot}} = 1838$$

$$d_p = 1,52 \cdot 10^{-3} \text{ m}$$

Co ₂ entrée	Co ₂ sortie	M _{BF}	C* _{O₂}	q	q _{O₂}
% saturat.	% saturat.	10 ⁻³ Kg MST	ppm	Kg/Kg MST.h	Kg O ₂ /Kg MST.h
61,6	36,4	0,487	3,97	0,381	0,041
49,8	24,8	0,498	3,02	0,369	0,039
31,2	13,6	0,506	1,82	0,288	0,027
16,0	07,0	0,516	0,93	0,235	0,014

Tableau F3: Données expérience à biofilm épais

$$\delta = 49,0 \text{ } \mu\text{m}$$

$$R = 9,65 \cdot 10^{-3} \text{ m}^3/\text{h}$$

$$F = 78,0 \cdot 10^{-6} \text{ m}^3/\text{h}$$

$$N_{\text{tot}} = 3237$$

$$d_p = 1,32 \cdot 10^{-3} \text{ m}$$

Co ₂ entrée	Co ₂ sortie	M _{BF}	C*o ₂	q	q _{o₂}
% saturat.	% saturat.	10 ⁻³ Kg MST	ppm	Kg/Kg MST.h	Kg O ₂ /Kg MST.h
46,9	17,6	1,862	2,61	0,155	0,0123
68,6	26,4	1,890	3,85	0,157	0,0175
45,2	13,5	1,920	2,38	0,132	0,0129
36,8	11,1	1,980	1,94	0,118	0,0102
33,7	11,2	2,240	1,82	0,099	0,0079
17,6	04,7	2,700	0,90	0,063	0,0038