

# THÈSE

présentée à

**L'INSTITUT NATIONAL DES SCIENCES APPLIQUÉES DE TOULOUSE**

En vue de l'obtention du

**DOCTORAT**

**SCIENCES DES PROCÉDÉS**

**SPÉCIALITÉ : GÉNIE DES PROCÉDÉS DE L'ENVIRONNEMENT**

par

**ANTHONY MASSÉ**

## **BIORÉACTEUR A MEMBRANES IMMERGÉES POUR LE TRAITEMENT DES EAUX RÉSIDUAIRES URBAINES: SPÉCIFICITÉS PHYSICO-CHIMIQUES DU MILIEU BIOLOGIQUE ET COLMATAGE**

*Soutenu le 15 décembre 2004*

M. R. WIESNER	Professeur – Université Rice (USA)	Président
A. GRASMICK	Professeur – Université Montpellier II	Rapporteur
M. MIETTON-PEUCHOT	Professeur – Université Bordeaux II	Rapporteur
C. ALBASI	Chargé de recherche CNRS, HDR, UPS Toulouse	Examineur
P. BALDONI-ANDREY	Ingénieur de Recherche, Docteur, Mont/Lacq TPF	Examineur
<u>C. CABASSUD</u>	Professeur, INSA, Toulouse	Directrice
<u>M. SPÉRANDIO</u>	Maître de conférences, INSA, Toulouse	Co-Directeur



# REMERCIEMENTS

Cette thèse a été réalisée au sein du Laboratoire d'Ingénierie des Procédés et de l'Environnement (LIPE) de l'Institut National des Sciences Appliquées (INSA) de Toulouse.

Je remercie M WIESNER d'avoir accepté la présidence du jury et participé à l'évaluation de ce travail.

Je remercie également :

- Mme MIETTON-PEUCHOT et M. GRASMICK pour avoir accepté d'être les rapporteurs de ma thèse et pour la pertinence de leurs critiques.
- Mme ALBASI et M. BALDONI-ANDREY pour l'attention qu'ils ont bien voulu porter à ce travail et la qualité de leurs remarques durant la discussion ayant pris place à la fin de ma soutenance.

Au terme de cette thèse, je mesure l'étendue du chemin parcouru et des progrès réalisés. Je le dois en partie aux compétences scientifiques et qualités humaines de Corinne CABASSUD et Mathieu SPERANDIO. Merci notamment d'avoir apporté la couleur à mes présentations et analyses.

Cette thèse n'aurait pas abouti sans les compétences techniques, l'aide et la disponibilité d'Evrard MENGELLE et Aldo MORO. Merci à vous. Le JUDA vous salue bien bas.

J'aimerais également remercier Ana ORALLO et Rémi BARRIER, deux étudiants qui ont contribué à cette thèse. Je vous remercie du soin apporté à vos analyses, de votre disponibilité et de votre motivation.

Je remercie ensuite tous mes amis de la team membrane :

La reine de la salsa et des pistes de danse, Marie-Carmen,

Le talentueux DJ PJ. C'est bien toi le roi de la galéjade et du bon mot. Je me souviendrais toujours des bons moments passés ensemble au bureau et aux congrès,

Seb, alors amoureux ? Plein d'estime pour mon pote,

Encore une reine, celle du Tiramisu, Christelle. Merci pour ton aide et tes conseils liés à ma thèse. Avec toi, toujours partant pour un tournoi de tennis, un repas, un ciné, voire un congrès,

Nico, si les Bretons sont sympas et serviables alors il ne fait aucun doute que tu en es un.

Merci, va breur Brezhoneg,

Julie, le rayon de soleil du bureau. Garde ta gentillesse et ton naturel. Keep cool,

Merci également à Manuel, David et Gaëlle.

J'aimerais également remercier ma technicienne préférée, Eugénie BADORC pour son aide et sa serviabilité durant les TP ainsi que Danièle CORRADI pour son aide administrative. Je n'oublie pas Bernard REBOUL pour ses dépannages et pour son immense sympathie.

Merci à ma petite Sarah et à Aymeric de rester les mêmes et d'être encore là à chaque fois que je rentre. Vous êtes loin des yeux mais près de mon cœur. Merci Niña pour ton soutien ; Sache que tu es quelqu'un de bien et souviens toi toujours des mots du petit génie. Merci Romuald pour ta formation culinaire ; Ton entrecôte est gravée à jamais dans ma mémoire.

J'ai également une pensée pour mes amis du labo : Adrian (la gentillesse sera toujours récompensée), Vincent (un petit homme au grand cœur), Adil (merci pour l'aide sur mes transparents), Vaïtea et Ferial (ma Tahitienne et Tunisienne préférées), Pierre, Laure, Nathalie, Carole, Pisut, Juan-Gabrielle, Thing, Eduardo, Sam et puis les petits derniers Angélique, Julien, Marlène (bien sûr que je t'adore) et Julie à qui je souhaite bon vent (c'est parce que je suis breton...). Merci également à mes grands frères et amis du foot Olivier, Denis, Hassen.

Je remercie également Alain (vous êtes sûr que Platini ait été le meilleur buteur de l'Euro 84 ?), Marie-Hélène (merci de ta gentillesse), Dominique, Pascal, Gilles, Xavier, Dominique, Louis, Marie-Eve, Etienne, Stéphane, Jean Stéphane, Sandrine, Jean-Noël, Jérôme pour leur soutien et leur sympathie.

Merci également à ceux qui m'ont initié à la recherche et que je n'oublie pas : Marie-Pierre BELLEVILLE et Delphine PAOLLUCCI-JEAN JEAN.

Enfin, the last but not the least.

Merci à toute ma famille. Merci à mon frère, David, de toujours me montrer l'exemple. Merci de faire le plus beau métier du monde : l'intelligence du cœur c'est ce qu'il y a de plus beau.

Je n'oublie pas Fabienne et la remercie pour sa gentillesse.

Merci également à mes parents pour tout ce qu'ils me transmettent et m'inculquent. S'il y a une chose dont je suis fier, c'est bien d'être votre fils.



---

# **TABLE DES MATIERES**

---



<b>NOMENCLATURE</b>	6
<b>INTRODUCTION GENERALE</b>	11
<b>CHAPITRE I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	
I. Caractérisation des boues biologiques	15
<i>1. Caractérisation des floccs: les EPS<sub>liés</sub></i>	16
a. Description de l'organisation d'un flocc	16
b. Description des EPS <sub>liés</sub> : rôle, origine, composition	17
c. Paramètres influençant la production d'EPS	24
c.1 Les paramètres environnementaux	25
c.2 Les paramètres opératoires - l'âge de boues	28
c.3 Perturbations et dysfonctionnements des réacteurs	30
d. Influence de la composition en EPS <sub>liés</sub> sur les propriétés des floccs	31
d.1 La flocculation/décantation	32
d.2 Propriétés de surface des floccs - Charge de surface et hydrophobicité	34
d.3 Granulométrie	37
<i>2. Les produits microbiens solubles (PMS)</i>	40
a. Description des PMS: composition, origine	40
b. Mécanismes de production des PMS	42
c. Les paramètres influençant la production de PMS	45
II. Etude des mécanismes de production de boues	47
<i>1. Production de boues et métabolisme cellulaire</i>	48
a. L'hydrolyse	49
b. La croissance cellulaire	50
c. Le métabolisme de décroissance	51

c.1 Le concept de maintenance	52
c.2 La respiration endogène	54
c.3 Le concept de mort régénération (croissance cryptique)	54
2. Paramètres influant sur la production de boues	55
a. Effet des paramètres opératoires - l'âge des boues	55
b. Rôle joué par les micro-organismes supérieurs	57
c. Influence des caractéristiques de l'eau à traiter	58
d. Rôle de la membrane	59
III. Caractérisation du colmatage	60
1. Description des mécanismes de colmatage	61
2. Paramètres influençant le colmatage	67
a. Influence des conditions de filtration	67
a.1 Nature chimique et physique de la membrane	67
a.2 Les conditions opératoires de filtration	69
b. Influence des caractéristiques chimiques et physico-chimiques du milieu biologique	73
b.1 Nature et composition de l'effluent à traiter	73
b.2 Importance relative des matières particulaires et solubles - les produits microbiens	74
b.3 Distribution de la taille des particules et floccs	78
b.4 Propriétés de surface des floccs	79
c. Etat physiologique de la biomasse et charge appliquée	81
c.1 Viabilité et carences nutritives	81
c.2 Age de la boue	83
IV. Conclusion	84

## CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

I. Description des procédés biologiques	86
1. <i>Le pilote à boues activées</i>	86
2. <i>Le bioréacteur à membranes immergées (BAMI)</i>	87
3. <i>Récapitulatif des conditions opératoires</i>	89
II. Caractéristiques de l'eau résiduaire urbaine	90
III. Techniques analytiques mises en œuvre	91
1. <i>DCO/MES/MVS</i>	91
2. <i>Indice de boue</i>	91
3. <i>Analyse granulométrique</i>	92
4. <i>Evaluation de la filtrabilité d'une boue</i>	95
a. Calcul de la vitesse de colmatage	96
b. Calcul du produit $\alpha.C$	99
5. <i>Extraction et dosage des <math>EPS_{liés}</math> et <math>EPS_{solubles}</math></i>	100
a. Protocole d'extraction retenu	100
b. Protocole de dosage des EPS	103
b.1 Dosage des protéines et substances humiques	103
b.2 Dosage des polysaccharides	105
6. <i>Détermination de la production de boues</i>	105

## CHAPITRE III : ANALYSE COMPARATIVE D'UN PROCEDE BIOREACTEUR A MEMBRANES IMMERGEES ET D'UN PROCEDE A BOUES ACTIVEES

I. Performances d'élimination de la DCO	107
1. <i>Performances globales</i>	107
2. <i>Rôle de la rétention membranaire: étude dynamique</i>	109

3. <i>Etude de l'élimination des EPS solubles</i>	113
a. Bilan matière sur le BAMI	113
b. Bilan matière sur le procédé à boues activées	117
II. Etude des mécanismes de production de boues	120
1. <i>Comparaison des procédés et effet de l'âge des boues</i>	120
2. <i>Modélisation de la production de boue</i>	123
III. Conclusion	127

## **CHAPITRE IV : INFLUENCE DE LA SEPARATION MEMBRANAIRE SUR LES PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES D'UN MILIEU BIOLOGIQUE**

I. Evolution des matières en suspension	129
II. Caractérisation des floccs	133
1. <i>EPS des floccs</i>	133
2. <i>Evolution de la taille des floccs</i>	137
3. <i>Décantabilité et épaissement de la boue</i>	141
III. Caractérisation du surnageant des boues	142
IV. Conclusion et discussion	147

## **CHAPITRE V : ANALYSE DU COLMATAGE PAR UN MILIEU BIOLOGIQUE DANS UN BAMI**

I. Identification des paramètres influençant le colmatage à long terme	151
1. <i>Evolution de la pression transmembranaire au cours du temps</i>	152
2. <i>Observation du faisceau de fibres - colmatage du faisceau</i>	156
3. <i>Influence des caractéristiques du milieu biologique</i>	157
II. Réversibilité du colmatage	162
III. Identification des paramètres influençant le colmatage à court terme	164
1. <i>Colmatage à court terme à âge de boues faibles (9 jours)</i>	166
2. <i>Influence des propriétés du fluide biologique sur le colmatage à court terme</i>	170

IV. Mécanismes de colmatage par un milieu biologique dans un BAMI	176
V. Conclusion	180
<b>CONCLUSION GENERALE</b>	182
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	186
<b>ANNEXE</b>	196



---

# **NOMENCLATURE**

---



## ABBREVIATIONS

Abs	Absorbance	-
ADN	Acide Désoxyribonucléique	-
ARN	Acide Ribonucléique	-
ASM	Activated sludge model –modèle des procédés biologique	-
ATP	Adénosine triphosphate	-
ATR-FTIR	Spectrophotomètre à transformé de fourrier - réflexion total atténuée	-
BA	Bioréacteur à boues activées	-
BAM	Bioréacteur à membranes	-
BAMI	Bioréacteur à membranes immergées	-
BAME	Bioréacteur à membranes externes	-
BRT	Bioréacteur à textile	-
CFSR	Continuous flow stirred reactor (réacteur mélangé à flux continu)	-
$D_f$	Dimension fractale	-
EDTA	Acide Ethylène Diamine Tétra acétique	-
EPS	Exopolymères	-
ERU	Eau Résiduaire Urbaine	-
GAL	Gradual Area Loss (chute progressive de la surface membranaire)	-
GPC	Gradual Pore Closure (rétrécissement progressif du pore)	-
LIPE	Laboratoire d'Ingénierie des Procédés de l'Environnement	-
M(R)	Masse d'un agrégat	-
$n_p$	Nombre de pores	-
n	Indice de réfraction	-
NF	Nanofiltration	-
PN	Protéines	-
PS	Polysaccharides	-
PAC	Poudre de charbon actif	-
PMS	Produits microbiens solubles	-

PMS <sub>H</sub>	Produits microbiens solubles issus de l'hydrolyse	-
PMS <sub>C</sub>	Produits microbiens solubles issus de la croissance bactérienne	-
PMS <sub>L</sub>	Produits microbiens solubles issus de la lyse bactérienne	-
R	Taille d'un agrégat	
SBR	Sequencing Batch Reactor – réacteur discontinu séquencé	-
SH	Substances Humiques	-
UF	Ultrafiltration	-

## LETTRES LATINES

b	Constante de décroissance cellulaire	T <sup>-1</sup>
C	Quantité de matière déposée sur la membrane par unité de volume	M.L <sup>-3</sup>
C <sub>ma</sub>	Charge massique appliquée	T <sup>-1</sup>
C <sub>me</sub>	Charge massique éliminée	T <sup>-1</sup>
C <sub>va</sub>	Charge volumique appliquée	M.L <sup>-3</sup> .T <sup>-1</sup>
C <sub>ve</sub>	Charge volumique éliminée	M.L <sup>-3</sup> .T <sup>-1</sup>
COT	Concentration en carbone organique total	M.L <sup>-3</sup>
C <sub>soluté</sub>	Concentration en soluté dans la solution	M.L <sup>-3</sup>
Da	Dalton	M.mol <sup>-1</sup>
DBO	Demande biologique en oxygène	M.L <sup>-3</sup>
DCO	Demande chimique en oxygène	M.L <sup>-3</sup>
%DCO <sub>élim</sub>	Pourcentage de DCO éliminé dans le système	%
DCO <sub>e</sub>	Concentration en DCO à l'entrée	M.L <sup>-3</sup>
DCO <sub>s</sub>	Concentration en DCO dans la sortie	M.L <sup>-3</sup>
DCO <sub>totale</sub>	Concentration en DCO totale	M.L <sup>-3</sup>
DCO <sub>soluble</sub>	Concentration en DCO soluble	M.L <sup>-3</sup>
DCO <sub>particulaire</sub>	Concentration en DCO particulaire	M.L <sup>-3</sup>
EPS <sub>liés</sub>	Teneur en exopolymères au sein des floccs	-

$EPS_{\text{solubles}}$	Concentration en polymères au sein du surnageant des boues	$M.L^{-3}$
$F/M$	Concentration en DCO de l'ERU sur la concentration en MES des boues	-
$f_p$	Fraction de biomasse lysée non biodégradable	-
$F_p$	Flux de perméat	$L.T^{-1}$
$F_{p_{\text{crit}}}$	Flux de perméat limite	$L.T^{-1}$
$F_{p_{\text{lim}}}$	Flux de perméat critique	$L.T^{-1}$
$f_{X_i}$	Fraction de DCO inerte dans la DCO totale de l'ERU	-
$IB$	Indice de boue	$L.M^{-1}$
$J_p$	Flux de perméat dans un pore	$L.T^{-1}$
$k_1$	Constante de proportionnalité	-
$k_2$	Constante de proportionnalité	-
$k_d$	Constante de décès	$T^{-1}$
$k_H$	Constante d'hydrolyse	$T^{-1}$
$K_H$	Constante d'hydrolyse	$T^{-1}$
$K_S$	Constante de demi saturation	$M.L^{-3}$
$K_X$	Constante de demi saturation	-
$L_p$	Perméabilité de la membrane	$M^{-1}.T.L^2$
$M$	Masse molaire	$M.mol^{-1}$
$M$	Masse de composés interagissant avec la membrane	$M$
$m_s$	Vitesse spécifique de consommation du substrat pour la maintenance	$T^{-1}$
$MES$	Concentration des matières en suspension	$M.L^{-3}$
$\%MES_{\text{elim}}$	Pourcentage de MES éliminé dans le procédé	%
$MES_e$	Concentration en MES à l'entrée	$M.L^{-3}$
$MES_p$	Concentration en MES des purges	$M.L^{-3}$
$MES_r$	Concentration en MES au sein du réacteur	$M.L^{-3}$
$MES_s$	Concentration en MES dans la sortie	$M.L^{-3}$
$MES_{\text{test}}$	Concentration en MES du test	$M.L^{-3}$
$MM$	Concentration en matières minérales en suspension	$M.L^{-3}$

MS	Concentration en matières sèches	$M.L^{-3}$
MVS	Concentration en matières volatiles en suspension	$M.L^{-3}$
MVS <sub>p</sub>	Concentration en matières volatiles en suspension dans la purge	$M.L^{-3}$
MVS <sub>s</sub>	Concentration en matières volatiles en suspension en sortie	$M.L^{-3}$
MVS <sub>r</sub>	Concentration en matières volatiles en suspension dans le réacteur	$M.L^{-3}$
PTM	Pression transmembranaire	$M.L^{-1}.T^{-2}$
PTM <sub>0</sub>	Valeur initiale de la pression transmembranaire à chaque changement de flux de perméat	$M.L^{-1}.T^{-2}$
P <sub>x</sub>	Production de boue cumulée	$M.T^{-1}$
q	Vecteur d'onde	-
Q	Débit volumique	$L^3.T^{-1}$
Q <sub>e</sub>	Débit volumique d'entrée	$L^3.T^{-1}$
Q <sub>s</sub>	Débit volumique de sortie	$L^3.T^{-1}$
Q <sub>p</sub>	Débit volumique de purge	$L^3.T^{-1}$
rpm	Rotation par minute	$tr.T^{-1}$
R <sub>c</sub>	Résistance de colmatage	$L^{-1}$
R <sub>m</sub>	Résistance de la membrane	$L^{-1}$
S	Surface de la membrane	$L^2$
S	Concentration en substrat	$M.L^{-3}$
S <sub>0</sub>	Concentration initiale en substrat dans l'ERU	$M.L^{-3}$
S <sub>i</sub>	Concentration en DCO soluble non biodégradable	$M.L^{-3}$
SOUR	Specific oxygen uptake rate – vitesse de consommation de l'oxygène	$T^{-1}$
Sp	Section d'un pore	$L^2$
SRT	Age des boues	T
S <sub>s</sub>	Concentration en DCO facilement biodégradable	$M.L^{-3}$
t	Temps	T
t <sub>f</sub>	Temps de filtration	T
t <sub>R</sub>	Temps de relaxation	T
T	Température	K

TSB	Temps de séjour des boues	T
TSH	Temps de séjour hydraulique	T
V	Volume de filtrat recueilli	L <sup>3</sup>
V <sub>c</sub>	Vitesse de colmatage	L <sup>-1</sup> .T <sup>-1</sup>
V <sub>p</sub>	Volume de purge	L <sup>3</sup>
V <sub>r</sub>	Volume du réacteur	L <sup>3</sup>
V <sub>30</sub>	Volume du décantat après 30 minutes de filtration	L <sup>3</sup>
X	Concentration en biomasse	M.L <sup>-3</sup>
X <sub>0</sub>	Concentration initiale en biomasse	M.L <sup>-3</sup>
X <sub>H</sub>	Concentration en biomasse hétérotrophe	M.L <sup>-3</sup>
X <sub>p</sub>	Concentration en DCO non biodégradable sécrétée par la biomasse	M.L <sup>-3</sup>
X <sub>i</sub>	Concentration en DCO non biodégradable	M.L <sup>-3</sup>
X <sub>s</sub>	Concentration en DCO hydrolysable	M.L <sup>-3</sup>
X <sub>sto</sub>	Concentration en substrat stocké	M.L <sup>-3</sup>
Y <sub>H</sub>	Taux de conversion intrinsèque du substrat en biomasse	-
Y <sub>obs</sub>	Production de boue observée	-

## LETTRES GRECQUES

α	Résistance spécifique du colmatage	L.M <sup>-1</sup>
λ	Longueur d'onde	L
θ	Angle de dispersion	°
μ	Viscosité du perméat	M.L <sup>-1</sup> .T <sup>-1</sup>
μ <sub>max</sub>	Taux de croissance maximal	T <sup>-1</sup>



---

# **INTRODUCTION**

---



Le traitement des eaux usées urbaines est réalisé le plus couramment par des procédés à boues activées constitués par un bassin biologique aéré dont la surverse alimente un décanteur. Les dysfonctionnements rencontrés notamment au niveau de la décantation ont facilité l'émergence de techniques de substitution telles que les bioréacteurs à membranes (BAM). Ces systèmes couplent une dégradation biologique à une séparation par membranes d'ultra ou de microfiltration: les micro-organismes oxydent et/ou assimilent la pollution organique (voire azotée) entrante et sont totalement séparés de l'eau traitée grâce à la membrane. Les BAM permettent d'obtenir une excellente qualité d'eau traitée (Xing et al. 2000 ; Praderie 1996) et sont très souvent compacts et robustes. Le temps de séjour hydraulique et l'âge des boues sont totalement découplés et offrent donc aux BAM une grande flexibilité d'opération.

Du fait de ces avantages, l'usage des bioréacteurs à membranes pour le traitement des eaux domestiques est de plus en plus important et de nombreuses installations industrielles ont été réalisées ou sont en cours de projet.

A l'heure actuelle, la plupart des avancées obtenues concernent le bioréacteur à membranes immergées (BAMI) proposé par Yamamoto en 1989. Dans cette configuration, la membrane est directement immergée au sein du milieu biologique et le perméat est aspiré à travers les membranes (Figure A). En comparaison avec la première génération de bioréacteurs à membranes, les bioréacteurs à membranes externes (BAME) dans lesquels les modules de filtration sont placés à l'extérieur du bioréacteur et le concentrât recirculé, le système immergé permet une consommation d'énergie moindre et donc un coût opératoire réduit.

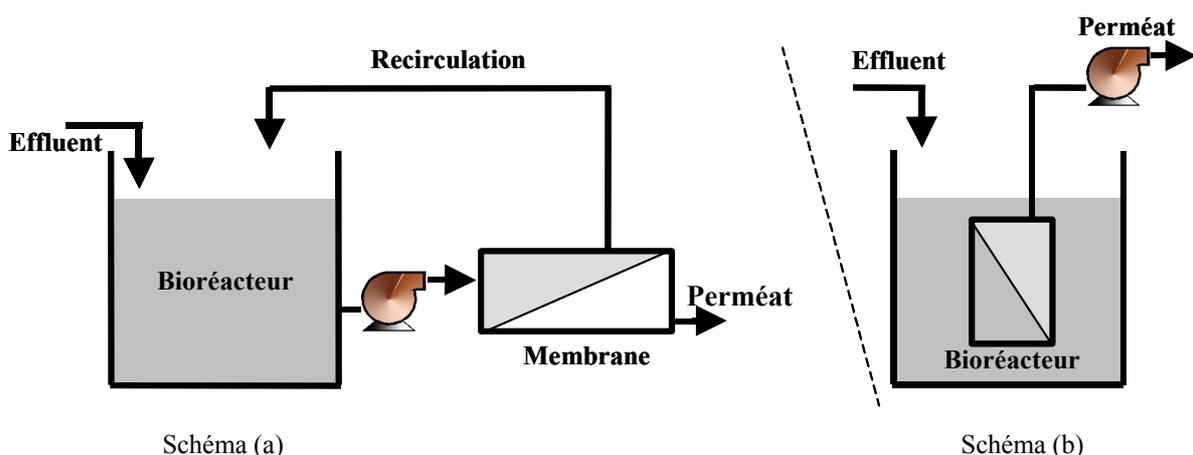


Figure A : Schéma du bioréacteur à membranes externes (a) et du bioréacteur à membranes immergées (b)

Cependant, et pour reprendre les termes parus dans une enquête effectuée par le Club Français des Membranes et l'ADEME en avril 2002, des freins et des verrous subsistent à la pénétration des technologies membranaires. Outre, des freins culturels, commerciaux et

économiques, cette enquête fait ressortir des freins liés au colmatage et à la mise en œuvre des techniques membranaires. Ce rapport dresse notamment les constats suivants :

- "besoin impératif de réaliser des essais préalables avant de valider la faisabilité d'un traitement par un BAMI et de dimensionner une installation",
- "incompréhension et difficulté de prévision du phénomène de colmatage (pas de maîtrise de la cinétique du colmatage et donc pas d'outil de prévision du colmatage) ".

En conséquence, aujourd'hui le dimensionnement, la conduite et l'optimisation de ce type de procédé sont difficiles en raison de connaissances insuffisantes sur les mécanismes de colmatage et sur le comportement biologique d'une biomasse de ce type de réacteur.

Pour progresser dans ces domaines du Génie des Procédés, il est important de mieux connaître les interactions entre le procédé, la membrane et le milieu biologique (Figure B). En effet, il semble évident que lors de la filtration d'un milieu biologique, le colmatage des membranes va dépendre, à la fois, de la membrane, du milieu biologique et des conditions opératoires adoptées.

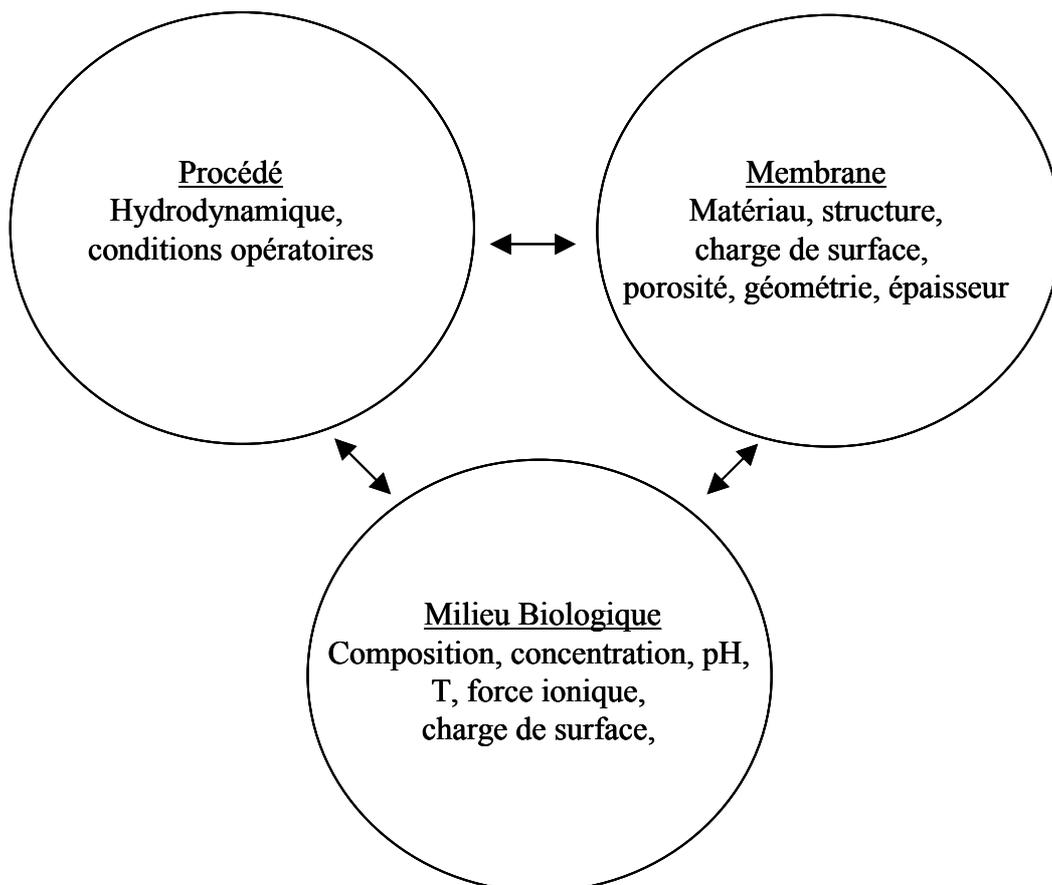


Figure B : Paramètres influençant les performances hydrauliques d'un BAM

La plupart des études réalisées ont proposé de relier la nature et l'étendue du colmatage à des critères globaux de caractérisation de la biomasse (taille des floccs, concentration en MES,

DCO, viscosité) ou à des paramètres opératoires tels que le débit d'aération, la vitesse de recirculation, le cycle de filtration.

Ce travail est focalisé sur l'étude des interactions entre une membrane et un milieu biologique dans le cadre précis d'une membrane de microfiltration fonctionnant dans un BAMI, et d'un milieu biologique caractéristique d'un traitement d'effluent domestique. Deux questions essentielles sont au cœur de ce manuscrit :

1. Comment le milieu biologique influence-t-il le comportement de la filtration et quels sont les paramètres physico-chimiques pertinents à prendre en compte pour décrire le colmatage ?
2. L'introduction d'une membrane dans le milieu biologique modifie-t-elle les caractéristiques de la boue ? et si oui lesquelles ?

Ce travail a donc pour objectif de répondre à ces deux questions. Le manuscrit qui en découle est organisé en 5 chapitres :

- Le premier chapitre recense les différents paramètres permettant de caractériser le milieu biologique et le comportement de la filtration. Ces caractéristiques ont été étudiées suivant le mode de conduite du procédé biologique et la composition de l'effluent à traiter.
- Le deuxième chapitre définit les moyens mis en œuvre dans cette étude pour pouvoir étudier les interactions entre le milieu biologique et la membrane. Le matériel et les méthodes utilisés sont donc présentés.
- Le troisième chapitre, évalue les performances d'un BAM opérant sur le long terme (320 jours de fonctionnement). L'efficacité d'épuration et la production de boues d'un BAMI sont comparées à celles du procédé conventionnel à boues activées, fonctionnant à même âge de boues. Des informations importantes sur la rétention des différents exopolymères solubles (polysaccharides, protéines et acides humiques) et sur leur accumulation dans le système seront apportées.
- Le quatrième chapitre présente les résultats expérimentaux caractérisant l'influence d'un procédé de filtration sur les propriétés du milieu biologique. Dans cette partie, les caractéristiques physico-chimiques du milieu biologique issu d'un bioréacteur à

membranes immergées sont comparées à celles d'une boue venant d'un procédé conventionnel à boues activées, les deux réacteurs étant alimentés en parallèle et fonctionnant dans les mêmes conditions. Le rôle de la membrane et de la filtration sur les propriétés physico-chimiques du fluide biologique sera donc discuté.

- Le cinquième et dernier chapitre analyse les spécificités du colmatage obtenu par un milieu biologique de type BAMI. Ici, une distinction entre colmatage à court terme et colmatage à long terme est effectuée. Il s'agit d'identifier les paramètres du milieu biologique affectant le colmatage. Le rôle d'un paramètre opératoire, l'âge de boues sera aussi étudié.

Enfin, les principaux résultats obtenus au cours de cette étude sont rassemblés dans la conclusion de ce mémoire qui ouvre la discussion sur les perspectives de ce travail.

---

# **CHAPITRE I**

## **SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

---



## I. Caractérisation des boues biologiques

Dans ce chapitre nous décrivons les caractéristiques d'un milieu biologique en vue de relier les propriétés du milieu au colmatage et aux performances épuratoires du procédé. L'objectif du chapitre IV de cette thèse sera d'étudier la composition et la structure d'une boue ainsi que les relations existant entre les composés (Figure I.1).

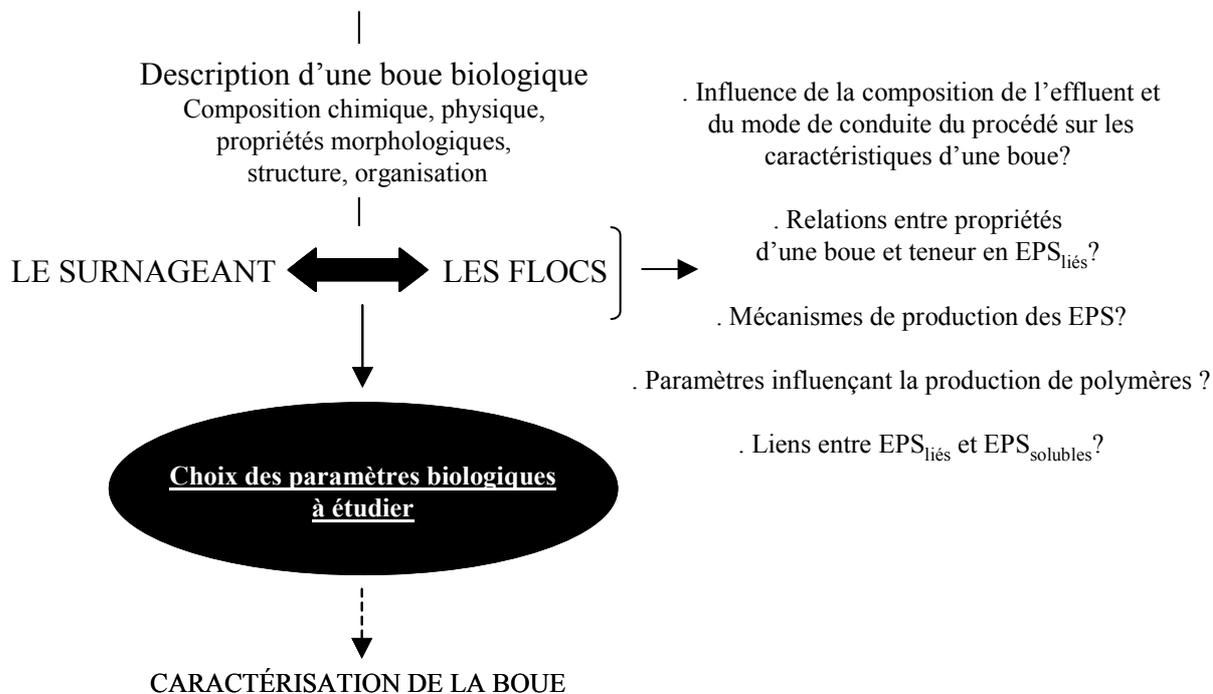


Figure I.1: Démarche adoptée pour comprendre les interactions dans un milieu biologique

La caractérisation du milieu biologique passe par la caractérisation du surnageant et des floccs. Nous allons dans ce chapitre bibliographique considérer séparément le surnageant et les floccs de la boue.

Plusieurs études montrent que les polymères présents dans les floccs et le surnageant jouent un rôle essentiel dans le comportement de la filtration (Lee et al. 2003, Nagaoka et al. 1998) et la structuration de la boue (Urbain 1992, Dignac 1998). Nous avons donc choisi d'orienter plus particulièrement la description de la boue vers les polymères du surnageant (EPS<sub>solubles</sub>) et ceux présents à l'intérieur des floccs (EPS<sub>liés</sub>). Les paramètres influençant leur sécrétion seront étudiés. Dans l'ensemble de cette étude, la terminologie EPS<sub>liés</sub> (polymères extra-cellulaires) est utilisée pour définir les exopolymères présents au sein du flocc. Les polymères du surnageant sont notés PMS (produits microbiens solubles) s'ils se réfèrent aux produits sécrétés par la biomasse ou plus généralement EPS<sub>solubles</sub>, si l'origine des polymères n'est pas spécifiée. Par exemple, si les polymères solubles comprennent des substances humiques, le terme EPS<sub>solubles</sub> sera utilisé plutôt que PMS car ces substances ne sont pas produites par les micro-organismes mais résultent en grande partie de la percolation de l'eau à travers les sols.

Enfin, l'utilisation du terme EPS, sans préciser s'il s'agit de ceux présents dans les floccs ou le surnageant, se réfère à l'ensemble des polymères du milieu biologique c'est-à-dire les EPS liés et les EPS solubles. Par ailleurs, les EPS spécifiques correspondent aux polymères (protéines, polysaccharides et substances humiques) pris séparément, alors que les EPS totaux se réfèrent à la somme de tous les EPS spécifiques.

Au terme de cette partie, l'identification des mécanismes de production des polymères permettra ensuite de lier cette production aux caractéristiques du colmatage. Enfin ce chapitre doit fournir les bases utiles à la comparaison de boues biologiques et à la compréhension des liens unissant les propriétés du milieu biologique, aux performances hydrauliques de filtration (colmatage) et épuratoires du procédé.

## **1. Caractérisation des floccs : les EPS liés**

### **a. Description de l'organisation d'un flocc**

Les boues activées sont constituées de micro-organismes (essentiellement des bactéries mais également des métazoaires, des champignons et des algues), de particules inorganiques (silicates, phosphates de calcium, oxydes de fer), de cations multivalents ainsi que de polymères exocellulaires de masse moléculaire élevée.

Les micro-organismes se trouvent majoritairement sous forme d'agrégats, appelés floccs, constitués de micro-colonies de l'ordre de 5 à 15  $\mu\text{m}$  (Li et Ganczarczyk, 1990 ; Jorand et al. 1995). Ces floccs bactériens se forment par pontage cellules-EPS-cations (pontages électrostatiques) (Urbain et al. 1992) ou par interactions physiques (Pavoni et al. 1972). Les floccs présentent une structure peu dense et hétérogène (densité comprise entre 1,02 et 1,06, d'après Dammel et Schroeder, 1991) dont la cohésion est assurée par des liaisons entre les ions et les exopolymères, ces liaisons sont de type hydrogène et de type Van Der Waals. Il existe également des interactions électrostatiques (répulsives ou attractives), hydrophobes-hydrophobes, hydrophiles-hydrophiles (Figure I.2).

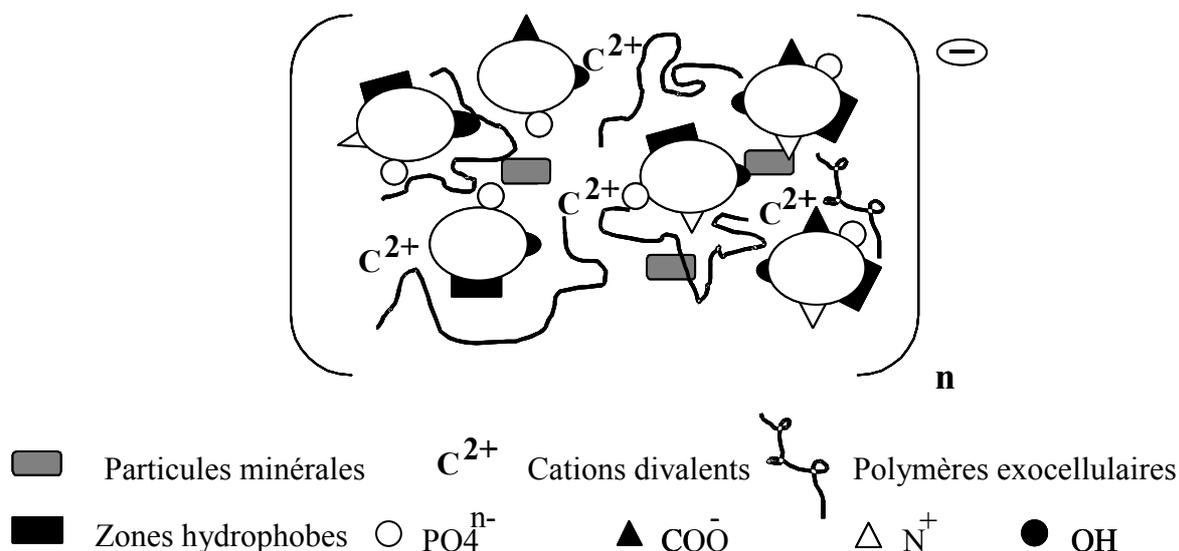


Figure I.2: Représentation schématique du floc biologique dans les boues activées

Parmi tous les composés contribuant à la structuration du floc, les exopolymères (EPS) jouent un rôle majeur.

### **b. Description des EPS liés : rôle, origine, composition**

Les EPS<sub>liés</sub> sont des composés à forte densité de charges négatives pouvant être éliminés des micro-organismes sans entraîner la rupture des cellules et sans lesquels les micro-organismes sont encore viables (Azeredo et al. 1998). Les EPS produits par des bactéries isolées forment l'enveloppe externe des cellules (Figure I.3) et peuvent se trouver sous deux formes :

- sous forme de matériel visqueux ou mucilage qui se répartit autour des cellules sans leur être attaché. La présence du mucilage dans les boues entraîne une augmentation de leur viscosité,
- sous forme de capsules ou micro-capsules qui adhèrent à la cellule bactérienne et peuvent s'étendre à l'extérieur sur 0,1  $\mu\text{m}$  à 10  $\mu\text{m}$ .

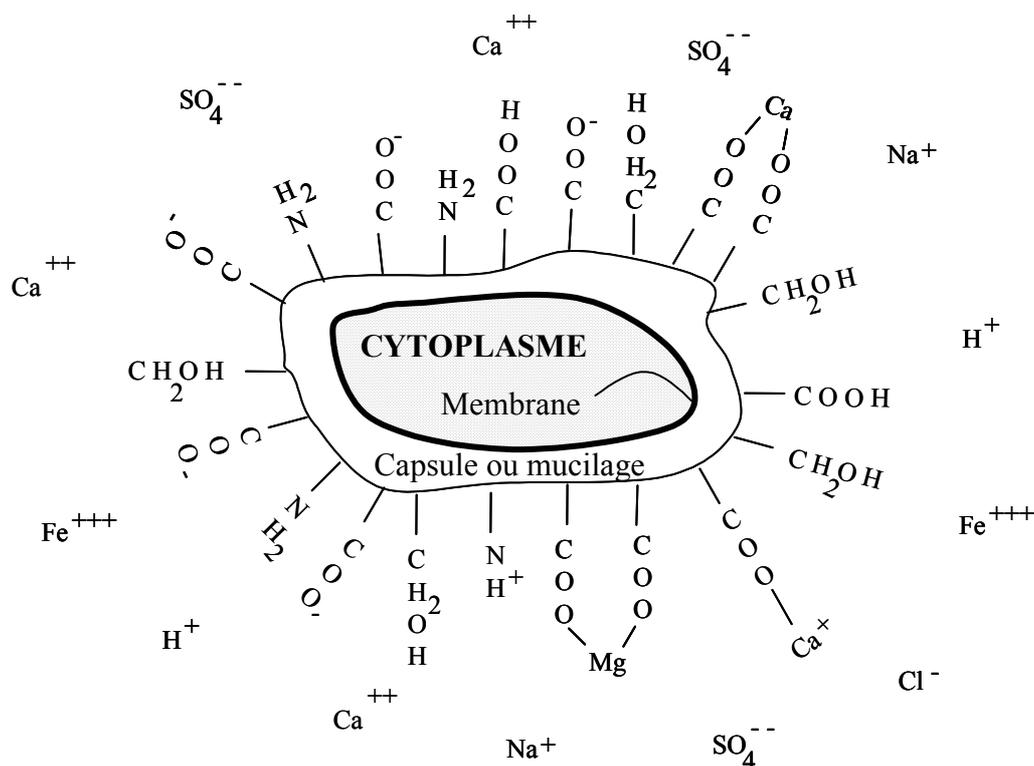


Figure I.3: Représentation schématique d'une cellule bactérienne

Les EPS représentent, avec l'eau et les micro-organismes, les composés majoritaires des boues activées (Li et Ganczarzyk 1990). Frolund et al. (1996) considèrent que les EPS peuvent représenter jusqu'à 60% (en masse) de la fraction organique d'une boue, contre 10-15% (en masse) pour les cellules microbiennes.

L'origine des EPS<sub>liés</sub> est multiple. Ils proviennent de :

- la sécrétion de composés au cours du métabolisme cellulaire,
- la perte de matériels venant de la paroi cellulaire (peptidoglycane),
- la lyse cellulaire (polymères intracellulaires),
- l'adsorption de composés apportés par les eaux usées (cellulose, acides humiques, etc...).

Dans ce dernier cas, les substances ne sont pas des molécules excrétées par les micro-organismes du procédé, mais elles sont en pratique difficilement dissociables des produits microbiens. Ainsi, l'origine différente de ces EPS<sub>liés</sub> peut se traduire par des caractéristiques et des localisations sur le floc bactérien également différentes (Nielsen et Keiding 1998). Par exemple, les polymères amenés par l'eau usée seraient faiblement liés au floc et situés en périphérie de celui-ci. Ils sont donc très sensibles aux variations de stabilité du floc.

Les EPS peuvent agir comme épurateur des eaux par fixation de cations métalliques, comme substances responsables de l'hydratation des boues (les exopolymères constituent une couche de gel très hydraté qui protège les cellules et qui rend difficile l'élimination de l'eau lors du

traitement des boues) ou comme agent flocculant des boues (Wilén et al. 2003). Cette capacité de floculation est surtout gouvernée par la charge de surface, l'hydrophobicité et la composition, plutôt que par la quantité totale d'EPS (Liao et al. 2001). Les EPS participent également à l'adhésion des cellules microbiennes sur des supports, à l'accumulation d'enzymes ou de nutriments à proximité des cellules et à la formation d'une couche protectrice des cellules contre les biocides ou autres toxiques. Par exemple, la couche d'EPS<sub>liés</sub> autour de la cellule influence significativement la diffusion de différentes molécules vers l'intérieur ou vers l'extérieur de la cellule et limite l'effet d'agents toxiques et anti-microbiens sur les cellules.

Les travaux effectués sur les exopolymères de boues activées montrent que leur extraction et quantification est délicate. Leur composition varie en fonction de l'origine et de la composition de la boue et des eaux usées (Urbain 1992 ; Bura et al. 1998 ; Durmaz et al. 2001), ainsi que des paramètres de fonctionnement du procédé d'épuration. La méthode d'extraction employée (extraction thermique, par solvant, au glutaraldéhyde, avec une résine échangeuse d'ions...) aura également une importance sur la quantité de polymères extraits et donc sur la représentativité des quantités d'exopolymères évaluées (Tableau I.1). De façon générale, la plus grande fraction de polymères observés au sein des floccs bactériens correspond aux protéines.

Tableau I.1 : Concentrations en EPS<sub>liés</sub> trouvées dans différents travaux

Références	Alimentation	Type de procédé	MES (g.L <sup>-1</sup> )	TSB (j)	TSH (h)	Protéines (mg.g <sub>MVS</sub> <sup>-1</sup> )	Polysaccharides (mg.g <sub>MVS</sub> <sup>-1</sup> )	Acides Humiques (mg.g <sub>MVS</sub> <sup>-1</sup> )	ADN (mg.g <sub>MVS</sub> <sup>-1</sup> )	Total (mg.g <sub>MVS</sub> <sup>-1</sup> )	Ratio PN/PS <sup>(g)</sup>
<u>Centrifugation</u>											
Liu (2002)	Municipale	BA	-	13	10	7,9	7,7	6,4	0,06	25,7	1,03
Liu (2002) <sup>(e)</sup>	Municipale	BA	-	13	10	12,3	15,9	10,9	0,07	49,7	0,77
<u>Extraction à la chaleur + solvant</u>											
Reid (2004)	Municipale	BAMI	18,8	35	26	34,1 <sup>(a)</sup>	9,8 <sup>(a)</sup>	-	-	-	3,5
Reid (2004)	60%Municipal + 40%laiterie	BAMI	17,9	29	26	38,8 <sup>(a)</sup>	10,9 <sup>(a)</sup>	-	-	-	3,5
Reid (2004)	Municipale	BAMI	15,07	30-50	20	39,23 <sup>(a)</sup>	8,89 <sup>(a)</sup>	-	-	-	4,41
<u>Extraction aux ultrasons</u>											
Jorand (1994)	Municipale	BA	-	-	-	239	45	-	25	319	5,31
Dignac (1998)	Municipale	BA	-	-	-	127,0	9,5	-	-	136,5	13,37
Urbain (1993)	Municipale	BA	-	-	-	6,1-97,8	3,5-15,6	-	5-17,7	15,6-131,1	3,81-27,94
<u>Extraction à l'EDTA</u>											
Liu (2002)	Municipale	BA	-	13	10	22,9	12,4	59,2	0,47	146,8	1,85
Wuertz (2001)	Municipale	-	-	-	-	30,0	4,3	-	-	34,3	6,98
Brown (1980)	Municipale	BA	-	-	-	171,7	22,4	-	6,1	200,2	7,66

Références	Alimentation	Type de procédé	MES (g.L <sup>-1</sup> )	TSB (j)	TSH (h)	Protéines (mg.g <sup>-1</sup> <sub>MVS</sub> )	Polysaccharides (mg.g <sup>-1</sup> <sub>MVS</sub> )	Acides Humiques (mg.g <sup>-1</sup> <sub>MVS</sub> )	ADN (mg.g <sup>-1</sup> <sub>MVS</sub> )	Total (mg.g <sup>-1</sup> <sub>MVS</sub> )	Ratio PN/PS <sup>(g)</sup>
<u>Extraction au glutaraldéhyde</u>											
Sponza (2003)	Industrie du vin	BA	4,5	15	1,20	70	17	-	6,2	93,2	4,12
Sponza (2003)	Papier	BA	2,5	10	1,36	40	30	-	17	87	1,33
Sponza (2003)	Textile	BA	2,1	10	1,27	39	27	-	10	76	1,44
Sponza (2003)	Pétrochimie	BA	2,4	14	1,35	42	17	-	11	70	2,47
Sponza (2003)	Municipale	BA	2,9	12	1,43	71	17	-	6,5	94,5	4,2

Extraction thermique

Lee (2003)	Synthétique	BAMI	2,8 <sup>(b)</sup>	20	7,8	29,9±2,4	32,7	-	-	-	0,91
Lee (2003)	Synthétique	BAMI	4,4	40	7,8	35,7±2,5	34	-	-	-	1,05
Lee (2003)	Synthétique	BAMI	5,5	60	7,8	35,5±2,1	29	-	-	-	1,22
Kim(1998)	Synthétique	BA	3	6-8	12-24	7,1-11,0	21,8-31,7	-	-	-	0,2-0,5
Frolund (1996)	Municipale	BA	-	7-9	-	121	8	-	-	129	15,12

Extraction NaOH

Liu (2002) <sup>(e)</sup>	Municipale	BA	-	13	10	54,6	40,5	50,4	0,35	164,9	1,35
Frolund (1996)	Municipale	BA	-	7-9	-	96	22	-	-	118	4,36
Brown (1980)	Municipale	BA	-	-	-	757,6	96,0	-	18,7	872,3	7,89

Références	Alimentation	Type de procédé	MES (g.L <sup>-1</sup> )	TSB (j)	TSH (h)	Protéines (mg.g <sup>-1</sup> <sub>MVS</sub> )	Polysaccharides (mg.g <sup>-1</sup> <sub>MVS</sub> )	Acides Humiques (mg.g <sup>-1</sup> <sub>MVS</sub> )	ADN (mg.g <sup>-1</sup> <sub>MVS</sub> )	Total (mg.g <sup>-1</sup> <sub>MVS</sub> )	Ratio PN/PS <sup>(g)</sup>
<u>Ultrasons</u>											
Liu (2002) <sup>(e)</sup>	Municipale	BA	-	13	10	20,4	28,9	18,9	0,13	77,9	0,71
Jorand (1994)	Municipale	BA	-	-	-	123	15	-	5	143	8,2
<u>Extraction par résine échangeuse de cations</u>											
Rudd (1984)	Municipale	BA	-	-	-	83-92	19,2-21,8	-	-	185,5-324	3,81-4,79
Frolund (1994)	Municipale	BA	-	-	-	64-75	6,8-8,8	-	3,2-3,3 <sup>(c)</sup>	74,1-87,3	7,27-11,03
Frolund (1995)	Municipale	BA	-	30-35	-	410-510	-	130-205	-	540-715	-
Nielsen (1996)	Municipale	BA	-	-	-	212,0	40,0	101,0	16,0	372,9	5,3
Frolund (1996)	Municipale	BA	-	7-9	-	243	48	126	6,1 <sup>(c)</sup>	423,1	5,1
Jorand (1998)	Municipale	BA	-	-	-	90,3 <sup>(a)</sup>	27,5 <sup>(a)</sup>	-	-	117,8	3,3
Jorand (1998)	Distillerie	BA	-	-	-	62,1 <sup>(a)</sup>	18,4 <sup>(a)</sup>	-	-	80,5	3,4
Dignac <sup>(d)</sup>	Municipale	BA	-	-	-	242,0	11,4	-	-	47,1	21,23
Bura (1998)	Synthétique	SBR	-	6	-	20-106	28-58	-	0,3-6,5	114,9	0,34-3,78
Wuertz (2001)	Municipale	BA	-	-	-	97,1	15,7	-	-	112,8	6,18
Martin-C (2001) <sup>(d)</sup>	Municipale	BA	-	-	-	50-51	21-24	18-20	23-25	119-123	2,08-2,43
Liao (2001)	Glucose	SBR	-	4-20	6,2	9,5-16	3,5-7,5	-	0,8-1,2	14-20	1,27-4,57

Références	Alimentation	Type de procédé	MES (g.L <sup>-1</sup> )	TSB (j)	TSH (h)	Protéines (mg.g <sub>MVS</sub> <sup>-1</sup> )	Polysaccharides (mg.g <sub>MVS</sub> <sup>-1</sup> )	Acides Humiques (mg.g <sub>MVS</sub> <sup>-1</sup> )	ADN (mg.g <sub>MVS</sub> <sup>-1</sup> )	Total (mg.g <sub>MVS</sub> <sup>-1</sup> )	Ratio PN/PS <sup>(g)</sup>
Liu (2002)	Municipale	BA	-	13	10	17,6	12,7	16,4	0,14	57,8	1,39
Durmaz (2002)	Synthétique	BA	-	8	-	6,5-6,7	2,2-2,4	-	-	-	2,7-3,0
Mikkelsen (2002)	Domestique + Industriel	BA	-	-	-	76±32 <sup>(a)</sup>	11,9±4,5 <sup>(a)</sup>	42±39 <sup>(a)</sup>	-	-	6,38
Cadore (2002)	Municipale	BA	2	-	-	27,3-131,8	12,2-38,4	6,2-25,2	-	-	2,2-4,0
Wilén (2003)	Domestique	BA	-	4	-	353	64	191	22	-	5,5
Wilén (2003)	Domestique	BA	-	18	-	254	89	127	15	-	2,8
Cho (2004)	Synthétique	BAMI	2,5	8	4,5	-	-	-	-	20-80 <sup>(f)</sup>	-
Cho (2004)	Synthétique	BAMI	4,0	20	4,5	-	-	-	-	20-50 <sup>(f)</sup>	-
Cho (2004)	Synthétique	BAMI	8,0	80	4,5	-	-	-	-	20-40 <sup>(f)</sup>	-

## Extraction par résine échangeuse de cations (suite)

<sup>(a)</sup> Exprimé en mg.g<sub>MES</sub><sup>-1</sup> <sup>(b)</sup> en g<sub>MVS</sub>.L<sup>-1</sup> <sup>(c)</sup> acide uronique <sup>(d)</sup> des ultrasons précédent l'étape de résine <sup>(e)</sup> Du formaldéhyde a été utilisé pour la fixation des cellules avant l'extraction <sup>(f)</sup> en mg<sub>COT</sub>.g<sub>MVS</sub><sup>-1</sup> <sup>(g)</sup> PN : protéines – PS : polysaccharides

La somme totale des EPS dépasse parfois la somme des polysaccharides, protéines, acides humiques et ADN car d'autres EPS ont pu être pris en compte (acide uronique, les EPS non mesurés spécifiquement).

A partir d'une analyse chimique des EPS<sub>liés</sub> plusieurs auteurs montrent que :

- les polysaccharides sont principalement constitués par des hexoses, des sucres aminés, des pentoses et des acides uroniques (Dignac 1998). Ces polymères sont principalement hydrophiles (Jorand et al. 1998),
- les protéines sont les composés majoritaires des polymères exocellulaires (Brookes et al. 2003 ; Reid et al. 2004 ; Cadoret et al. 2002 ; Dignac 1998 ; Bura et al. 1998 ; Mikkelsen et al 2002). Ce sont très souvent des polymères d'acides aminés tels que les acides aspartiques et les acides glutamiques (Dignac, 1998). Les acides aminés aromatiques ou aliphatiques de certaines protéines leur confèrent des propriétés hydrophobes (Jorand et al. 1998). Ces protéines peuvent également être des exoenzymes présentes notamment dans le liquide interstitiel des floes et servant à hydrolyser la matière organique (Durmaz et Sanin 2001),
- les acides nucléiques (ADN et ARN) constituent une minorité au sein des EPS<sub>liés</sub> ; présents en fortes quantités, ils peuvent être l'indice d'une importante lyse cellulaire, les lipides sont principalement des triglycérides et des acides gras libres insaturés intervenant dans les interactions de type hydrophobe,
- les substances humiques proviennent directement des eaux usées.

L'analyse des masses moléculaires des EPS liés aux floes montre que la distribution granulométrique des EPS<sub>liés</sub> d'une boue municipale, varie avec la concentration en MES et au cours du fonctionnement du BAM, même lorsque celui-ci est en régime établi (variation au moins hebdomadaire)(Brookes et al. 2003). Frolund et Keiding (1994) déterminent les tailles des exopolymères par séparation sur gel en HPLC (chromatographie liquide haute pression). Ils constatent que les EPS<sub>liés</sub> ont une masse moléculaire comprise entre  $10^4$  et  $2.10^6$  Da avec des proportions relatives qui varient avec le type de boue.

### **c. Paramètres influençant la production d'EPS**

Lors de la conduite d'un procédé biologique des facteurs environnementaux et opératoires vont agir sur les propriétés du milieu biologique. Les propriétés morphologiques et physiques, la composition chimique et biologique, l'état physiologique de la boue peuvent ainsi être modifiés. Ce chapitre s'attache donc à recenser quelques facteurs pouvant modifier les propriétés du milieu biologique.

### c.1 Les paramètres environnementaux

Les paramètres environnementaux étudiés ici concernent la composition de l'effluent à traiter et la concentration en oxygène dissous.

#### ● Composition de l'effluent à traiter

La composition de l'effluent à traiter (en terme de biodégradabilité du substrat mais également en terme de proportion en substrats carbonés, azotés et phosphorés) influence le type de micro-organismes présents dans le milieu biologique et les mécanismes de sécrétion des exopolymères.

Ainsi, en règle générale, les boues ont une concentration en EPS<sub>liés</sub> d'autant plus importante que les effluents ont une fraction élevée de substrats facilement biodégradables. Pour cette raison, les effluents industriels difficilement biodégradables (pétrochimie, textile...) conduisent à des teneurs plus faibles en exo-polymères (Tableau I.1). Cependant, la présence de composés inertes voire de toxines, comme c'est souvent le cas dans les effluents industriels (industrie du cuir, chimique, colorant) provoque une perte de viabilité des micro-organismes et/ou une lyse cellulaire induisant la libération d'ADN intracellulaire (Sponza 2003).

La qualité de l'alimentation en terme de biodégradabilité est donc importante mais doit également être étudiée en terme nutritionnel. En effet, une limitation en substrat provoque une modification des distributions relatives en exopolymères des floccs.

- effet du rapport DCO/NH<sub>4</sub> (Tableau I.2): lorsque ce ratio augmente, il est généralement observé une diminution de la proportion de protéines par rapport à celle des polysaccharides.

Ainsi, pour une limitation en substrat carboné (DCO/NH<sub>4</sub> < 20), la proportion de protéines augmente lorsque le rapport DCO/NH<sub>4</sub> diminue. Brown et al. (1977) rappellent que les cellules ont tendance à produire des exopolymères quand elles sont cultivées sous limitation en carbone. Lors d'une carence en substrat carboné, les cellules utilisent préférentiellement ce substrat pour subvenir à leurs besoins en énergie de maintenance. La faible quantité de substrat restant est alors utilisée pour la synthèse de polysaccharides.

Dans le cas d'une diminution de la concentration en azote, et sous limitation en azote (DCO/NH<sub>4</sub> > 20), la quantité relative de protéines diminue. Cependant, en comparant les résultats de Durmaz et Sanin (2001) et Bura et al. (1998), il apparaît que les mécanismes de production des EPS ne sont pas les mêmes dans les deux études. En effet, l'augmentation du rapport DCO/NH<sub>4</sub> se traduit par une augmentation de la concentration en polysaccharides et une diminution en protéines pour Durmaz et Sanin

(2001) alors que pour Bura et al. (1998) il n'y a que la quantité de protéines qui varie. Notons que les substrats carbonés sont différents d'une étude à l'autre.

Tableau I.2: Influence du rapport DCO/NH<sub>4</sub> sur la production des EPS<sub>liés</sub>

Références	<u>DCO/NH<sub>4</sub></u>	<i>EPS</i> <sub>protéines</sub> (mg.g <sub>MVS</sub> <sup>-1</sup> )	<i>EPS</i> <sub>polysaccharides</sub> (mg.g <sub>MVS</sub> <sup>-1</sup> )	<i>EPS</i> <sub>PN/PS</sub>
<i>Bura et al.</i> (1998)	20	85,0	28,2	3,0
	100	20,3	28,1	0,7
<i>Durmaz et Sanin</i> (2001)	5	32,0	7,7	4,3
	17,5	20,3	15,2	1,3
	40	11,8	44,2	0,2
<i>Shufang</i> (2004)	3,3	-	-	0,26
	5	-	-	0,24
	10	-	-	0,21
	20	-	-	0,19

PN : Protéines – PS : Polysaccharides

- effet du rapport DCO/P (Tableau I.3): une augmentation du ratio DCO/P provoque une diminution du rapport Protéines/Polysaccharides et une augmentation de la concentration en ADN (Bura et al. 1998). Au-delà d'un ratio DCO/P de 500 le rapport protéines/polysaccharides ne semble plus fluctuer.

Tableau I.3: Effet d'une carence en phosphore sur la production des EPS<sub>liés</sub>

Références	<u>DCO/P</u>	<i>EPS</i> <sub>protéines</sub> (mg.g <sub>MVS</sub> <sup>-1</sup> )	<i>EPS</i> <sub>polysaccharides</sub> (mg.g <sub>MVS</sub> <sup>-1</sup> )	<i>ADN</i> (mg.g <sub>MVS</sub> <sup>-1</sup> )	<i>EPS</i> <sub>PN/PS</sub>
<i>Bura (1998)</i>	100	85,0	28,2	0,52	3,0
	500	98,8	58,3	0,94	1,7
	∞	106,0	50,0	6,50	2,1

PN : Protéines – PS : Polysaccharides

Au final, il apparaît que la nature et la composition de l'effluent traité agissent sur la quantité des polymères sécrétés. Le type d'effluent traité détermine également le type de flore microbienne présent au sein des boues. Par suite, le type d'EPS produit est différent. Ainsi,

des bactéries Gram (+) ou Gram (-) du fait d'une structure membranaire différente et donc d'un métabolisme différent n'auront pas les mêmes mécanismes de production d'EPS et les mêmes exopolymères sécrétés.

Les bactéries Gram (+) ont une paroi bactérienne épaisse et homogène (10 à 80 nm) composée essentiellement de peptidoglycanes. Leurs parois sont également riches en osamines (ose dont une des fonctions hydroxyles est substituée par une fonction amine) mais pauvres en lipides. A l'inverse, la paroi bactérienne des Gram (-) est plus fine et plus complexe, riche en lipides et contient moins d'osamines ; la couche de peptidoglycanes ne dépasse pas 5 nm et est entourée d'une membrane externe. Les nutriments ou les produits microbiens doivent donc traverser la couche de peptidoglycanes (par diffusion ou sur des récepteurs) et franchir la membrane plasmique chez les bactéries Gram (+) ; la membrane externe, le peptidoglycane et la membrane plasmique chez les bactéries Gram (-).

Ainsi, la taille des polymères sécrétés par les deux types de bactéries mais également leur nature seront différentes parce que les mécanismes de transports à travers les membranes cellulaires et les membranes elles-mêmes sont différentes. Par ailleurs, la présence d'une quantité élevée de polysaccharides au sein d'un floc peut être liée à la présence de bactéries Gram (+) car leur paroi cellulaire en est riche (Sponza 2003).

**Toutefois, le type de bactéries présentes au sein des bioréacteurs à membranes reste peu étudié. Witzig et al. (2002) estiment que 10% des bactéries de la boue d'un BAMI (Age de boue infini) sont Gram (+). Cicek et al. (2001) observent également une minorité de bactéries Gram (+) dans un BAME, indépendamment de l'âge des boues compris entre 2 et 30 jours.**

#### ● La concentration en oxygène

Shin et al. (2001) comparent les performances de 3 réacteurs de type SBR. Ils montrent que pour une concentration élevée en oxygène dissous (concentration non spécifiée) la production d'EPS<sub>liés</sub> sous forme de polysaccharides augmente et celle des protéines reste inchangée avec le temps alors qu'à faible concentration en oxygène les productions en protéines et polysaccharides restent inchangées.

## c.2 Les paramètres opératoires - l'âge de boues

L'effet de l'âge des boues sur la quantité d'EPS présents au sein des floccs est controversé. La disparité des résultats provient de différences :

- dans les techniques d'extraction employées (suivant les méthodes d'extraction utilisées, la quantité extraite n'est pas représentative de celle réellement présente au sein des floccs),
- dans les méthodes de dosage (par exemple, dosage des protéines avec ou sans correction des interférences dues aux substances humiques),
- dans les conditions de culture,
- dans la composition de l'alimentation ou la gamme d'âge de boues étudiée, etc...

L'analyse du tableau I.1 montre deux types d'influence de l'âge des boues sur la composition en EPS<sub>liés</sub> :

- pas d'influence : Liao et al. (2001) ou Lee et al. (2003) n'observent aucune influence de l'âge des boues lorsque celui-ci est compris respectivement entre 4 et 20 jours et entre 20 et 60 jours,
- influence négative : Gulas et al. (1979) obtiennent une baisse de la concentration en EPS<sub>liés</sub> de 60 à 20 puis à 15 mg.g<sub>MVS</sub><sup>-1</sup> lorsque respectivement l'âge de boues augmente de 2 à 6 puis à 16 jours. Chang et Lee (1998) constatent que, dans un SBR alimenté en effluent synthétique, la concentration en EPS<sub>liés</sub> passe de 268 à 244 puis 213 mg<sub>MVS</sub>.g<sub>MES</sub><sup>-1</sup> lorsque l'âge des boues augmente de 3 à 8 puis à 33 jours. Dans un BAMI traitant de l'eau synthétique, Cho et al. (2004) observent également une baisse de la concentration en EPS<sub>liés</sub> lorsque l'âge des boues augmente de 8 à 20 jours c'est-à-dire lorsque la concentration en MES augmente. Cependant, au-delà de 20 jours d'âge de boues, la concentration en EPS<sub>liés</sub> reste pratiquement stable entre 20 et 40 mg<sub>COT</sub>.g<sub>MVS</sub><sup>-1</sup>. Ils observent également qu'à faible âge de boues (8 jours), les écarts de concentration en EPS<sub>liés</sub> sont plus élevés que pour un âge de boues supérieur.

**En définitive, aucune relation claire n'existe entre la quantité totale d'exopolymères présents au sein des floccs et l'âge de la boue.** En revanche, l'évolution des EPS<sub>liés</sub> pris individuellement (polysaccharides, protéines, substances humiques) en fonction de l'âge des boues semble suivre une tendance plus marquée. Ces résultats bibliographiques seront ultérieurement comparés avec ceux obtenus au cours des expériences réalisées durant ce travail.

**Lorsque l'âge des boues augmente, la quantité de protéines au sein des floccs a tendance à augmenter.** En effet, dans ce cas, les bactéries libèrent des protéines et de l'ADN

intracellulaires à cause de la lyse cellulaire ou de la respiration endogène. Quel que soit l'âge des boues, l'évolution de la concentration en protéines suit très souvent celle de l'ADN (Liao et al. 2001). La lyse cellulaire a lieu lors de l'augmentation de l'âge des boues mais peut également intervenir lors d'une carence en carbone par exemple. Ainsi, Lee et al. (2003) constatent une augmentation de la quantité de protéines extraites par une méthode thermique (de 29,9 à 35,5 mg<sub>protéines</sub>.g<sub>MVS</sub><sup>-1</sup>) lors de l'augmentation de l'âge des boues de 20 à 60 jours, l'activité bactérienne étant alors réduite (Tableau I.4).

Tableau I.4 : Effet de l'âge des boues sur l'activité et la quantité d'EPS<sub>liés</sub> (d'après Lee et al. 2003)

	Age des boues (j)		
	20	40	60
SOUR* (mg <sub>O2</sub> .g <sub>MVS</sub> <sup>-1</sup> .h <sup>-1</sup> )	14,6	12,4	11,7
Protéines (mg.g <sub>MVS</sub> <sup>-1</sup> )	29,9	35,7	35,5
Polysaccharides (mg.g <sub>MVS</sub> <sup>-1</sup> )	32,7	34	29
Protéines/Polysaccharides	0,9	1,0	1,2

\* Specific oxygen uptake rate-vitesse de consommation de l'oxygène

**En ce qui concerne les polysaccharides, en règle générale, une augmentation de l'âge des boues se traduit par une diminution de leur concentration (Brookes et al. 2003 ; Liao et al. 2001).** En effet, à fort âge de boues, la relativement faible quantité de substrat carboné est préférentiellement utilisée pour la synthèse cellulaire et l'énergie de maintenance. La petite quantité de substrat carboné restante ne permet qu'une production de polysaccharides minime (Durmaz et Sanin 2001 ; Liu et Fang 2003 ; Liao et al. 2001). La production de polysaccharides est d'ailleurs très dépendante de l'activité respiratoire des bactéries hétérotrophes (Shufang, 2004). Une activité élevée entraîne une production de polysaccharides élevée.

A faible âge des boues, les micro-organismes utilisent l'excès de substrat pour la synthèse des cellules et aussi pour la production de polysaccharides extracellulaires.

Dans ce cas la quantité de polysaccharides est accrue (Tableau I .5).

Tableau I.5: Effet de l'âge des boues sur la quantité d'EPS<sub>liés</sub> (d'après Liao et al. 2001)

	<i>Age des boues (j)</i>				
	4	9	12	16	20
Protéines (mg.g <sub>MVS</sub> <sup>-1</sup> )	9,7	9,7	15,5	12,8	13,1
Polysaccharides (mg.g <sub>MVS</sub> <sup>-1</sup> )	7,5	4,1	3,1	3,4	3,1
Protéines/Polysaccharides	1,3	2,4	5,0	4,2	4,2

**Liao et al. (2001) rappellent également qu'un changement d'âge de boues provoque un changement de composition de la communauté microbienne et par suite crée une modification de la composition des polymères produits.**

### **c.3 Perturbations et dysfonctionnements des réacteurs**

#### **● Effet des toxiques**

La présence occasionnelle d'agents toxiques provoque souvent la lyse des cellules et donc la libération de polymères. Ainsi, Sponza (2003) explique que la plus grande quantité d'ADN trouvé dans les floes de boues venant de l'industrie du cuir, des colorants et de la chimie dérive de la plus grande quantité de substances toxiques dans ces boues. En effet, les substances toxiques entraînent une perte de viabilité des micro-organismes puis leur lyse cellulaire. La lyse s'accompagne alors de la dégradation de l'ADN à l'intérieur des cellules. Witzig et al. (2002) pensent également qu'une plus grande sécrétion de polysaccharides pourrait avoir lieu dès que les micro-organismes sont en présence de substances inertes ou toxiques.

#### **● Moussage des boues**

Bura et al. (1998) constatent une augmentation de la concentration en polysaccharides et protéines à chaque fois qu'interviennent des problèmes de moussage et de foisonnement d'une boue activée. Ainsi, la teneur en polysaccharides passe de 6-8 mg.g<sub>MVS</sub><sup>-1</sup> lors du fonctionnement normal des installations à 11-19 mg.g<sub>MVS</sub><sup>-1</sup> lors des dysfonctionnements. Quant à la concentration en protéines, elle passe de 55-66 à 51-88 mg.g<sub>MVS</sub><sup>-1</sup>.

### d. Influence de la composition en EPS<sub>liés</sub> sur les propriétés des floccs

Les paragraphes précédents ont permis de souligner l'influence du mode de conduite et de la composition de l'effluent sur la production d'EPS. Par suite, un changement pourrait avoir lieu dans la structuration des floccs et leurs propriétés telles que la charge de surface, la taille, et la compacité. Mikkelsen et Keiding (2002) à l'aide d'une analyse multi-variable résumant l'influence que peuvent avoir les EPS<sub>liés</sub>, concentration comprise entre 0 et 260 mg.g<sub>MES</sub><sup>-1</sup>, sur les caractéristiques des floccs (Figure I.4) :

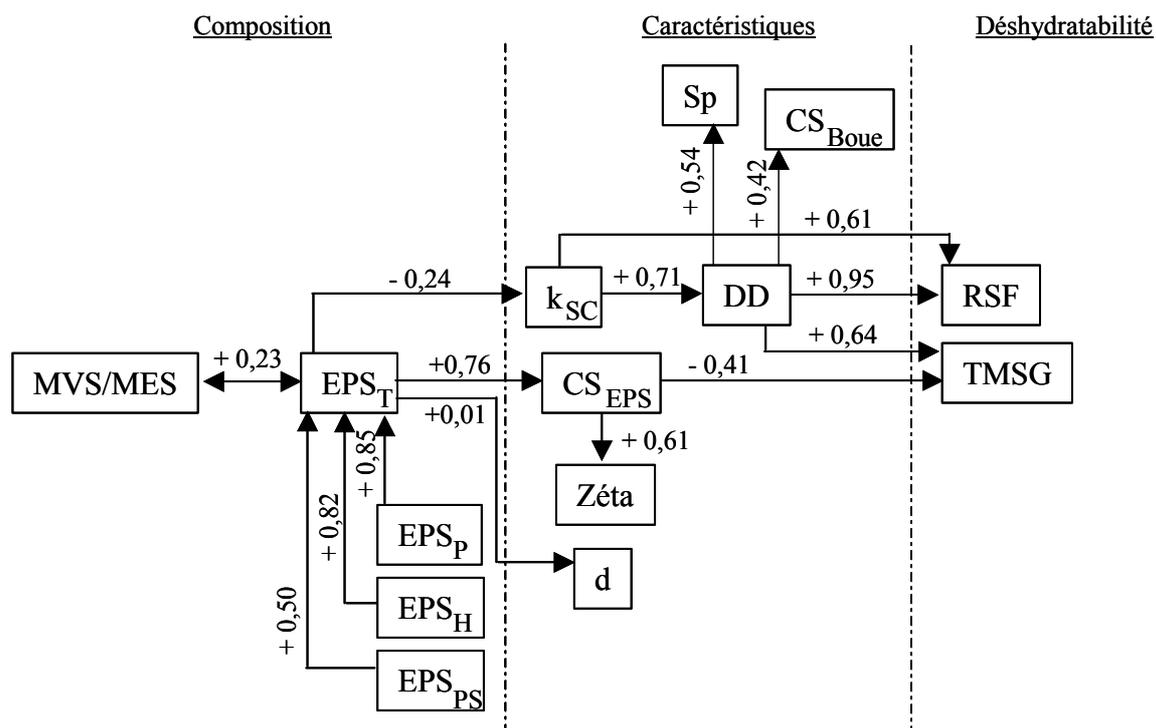


Figure I.4: Interactions entre divers paramètres de caractérisation d'une boue (Mikkelsen et Keiding 2002)

Les chiffres expriment le coefficient de corrélation liant deux paramètres

(MVS : matières volatiles en suspension ; MES : matières en suspension ; EPS<sub>T</sub> : EPS totaux ; EPS<sub>P</sub> : EPS protéines ; EPS<sub>H</sub> : EPS substances humiques ; EPS<sub>PS</sub> : EPS polysaccharides ; d : diamètre des floccs ; Zéta : potentiel zéta ; CS<sub>EPS</sub> : Charge de surface des EPS ; k<sub>SC</sub> : sensibilité au cisaillement ; DD : degré de dispersion ; TMSG : teneur en matière sèche du gâteau ; RSF : résistance spécifique à la filtration ; Sp : surface des particules ; CS<sub>boue</sub> : charge de surface des floccs)

Les résultats indiquent que la quantité d'EPS dans les floccs est le paramètre le plus important dans la structuration du flocc. Avec une augmentation de la teneur en EPS, les boues ont une plus faible sensibilité au cisaillement ainsi qu'un degré de dispersion (concentration massique des solides dispersés/quantité de solide totale) moindre. De plus, la filtrabilité des boues est améliorée (faible résistance à la filtration). Cependant la limite de cette approche est de ne pas différencier l'effet des protéines de celui des polysaccharides. De plus, une augmentation de la concentration en EPS<sub>liés</sub> augmente la charge négative des floccs. Au final, il apparaît que les exopolymères influent fortement sur les caractéristiques des floccs. Il semble donc judicieux de

les analyser en vue de caractériser les floccs dans le bioréacteur à membranes et de voir si le type de réacteur influence également les caractéristiques des floccs.

Les paragraphes qui suivent détaillent l'état des connaissances sur l'influence des EPS sur la floculation/décantation, les propriétés de surface et enfin sur la taille des floccs.

### d.1 La floculation/décantation

La bonne floculation des boues est primordiale dans les procédés conventionnels d'épuration biologique (bassin aérobie + décanteur) car elle détermine l'efficacité de la décantation. La cohésion du flocc est donc un paramètre clef de l'épuration biologique par boues activées.

La décantabilité d'une boue est généralement déterminée par des mesures d'indice de boue (IB), de masse volumique ou de dimension fractale des floccs :

-l'indice de boue (IB) représente le volume occupé par un gramme de boue après trente minutes de décantation dans une éprouvette d'un litre. Une faible valeur de l'indice de boue indique une capacité élevée à la décantation et à la compaction.

-la détermination de la masse volumique d'un flocc demeure délicate du fait de leur fragilité. Dammel et Schroeder (1991) obtiennent des valeurs de densité comprises entre 1,02 et 1,06 pour divers échantillons de boues activées.

-Li et Ganczarzyk (1989) étudient la structure fractale des floccs (capacité d'un objet à remplir l'espace). Plus la dimension fractale est faible plus l'agrégat est poreux. Ils estiment que la dimension fractale des floccs générés dans les procédés de traitement des eaux usées est comprise entre 1,4 et 2,8.

Dans ce paragraphe, la décantabilité de la boue sera surtout reliée à son indice de boue, qui demeure un paramètre très utilisé dans l'étude de la sédimentation.

Tout d'abord, il est maintenant évident que la propension à décanter d'une boue n'est pas seulement fonction de la taille des floccs (Tableau I.6).

Tableau I.6 : Décantabilité et diamètre des floccs de boues venant de différents procédés à boues activées (Sponza 2003)

<i>Industries</i>	<i>IB (mL.g<sup>-1</sup>)</i>	<i>Diamètre des floccs (μm)</i>
Papetière	138±19	36±5
Textile	140±18	140±5
Pétrochimie	132±31	125±11
Municipale	100±9	76±5
Distillerie	87±4	89±5

Ainsi, une boue venant de l'industrie pétrochimique peut moins bien décanter qu'une boue de distillerie alors que la taille des floccs est respectivement de 125  $\mu\text{m}$  et 89  $\mu\text{m}$ . Les propriétés de surface des floccs et donc la concentration en  $\text{EPS}_{\text{liés}}$  semblent mieux corrélées avec la capacité des boues à décanter. Plusieurs études aboutissent à des conclusions différentes sur le lien existant entre la quantité d' $\text{EPS}_{\text{liés}}$  et la décantation d'une boue. Les unités utilisées pour exprimer les concentrations en EPS, les méthodes d'extraction et les gammes de mesure de l'indice de Mohlman (IB) sont souvent différentes et permettent difficilement une comparaison entre les études. La figure I.5 présente quelques résultats de la littérature.

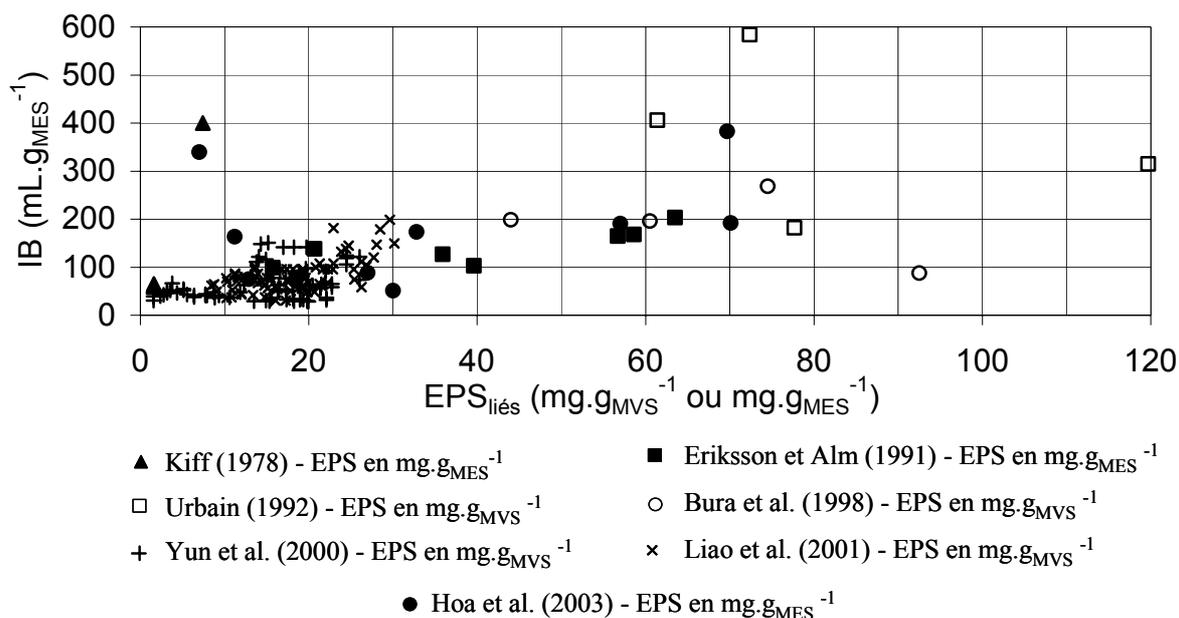


Figure I.5: Relation liant l'indice de boue et les EPS des floccs

Dans une gamme de concentration en EPS liés aux floccs comprise entre 15 et 120  $\text{mg}_{\text{EPS}}.\text{g}_{\text{MVS}}^{-1}$ , une meilleure décantation est souvent observée dès lors que la quantité d' $\text{EPS}_{\text{liés}}$  totale diminue (Urbain 1992, Hoa et al. 2003).

Cependant, en dessous de 15  $\text{mg}_{\text{EPS}}.\text{g}_{\text{MES}}^{-1}$ , la baisse de la concentration en  $\text{EPS}_{\text{liés}}$  n'influe plus sur l'indice de boue, voire dans certain cas l'augmente (Hoa et al. 2003 ; Yun et al. 2000). Cela peut être expliqué par le fait que, pour de faibles concentrations en  $\text{EPS}_{\text{liés}}$ , d'autres mécanismes de structuration du flocc interviennent et sont prépondérants pour leur décantation.

De plus, l'indice de boue semble plus lié à la quantité des EPS pris individuellement qu'à leur quantité totale. Ainsi, les teneurs en protéines et en ADN d'un flocc sont corrélées respectivement positivement et négativement avec sa décantabilité (Sponza 2003 ; Bura et al. 1998). Les protéines étant principalement hydrophobes, cela peut expliquer l'amélioration de la décantation lorsqu'elles sont présentes en grande quantité.

Urbain et al. (1993) trouvent que l'indice de boue, compris entre 69 et 315 mL.g<sub>MES</sub><sup>-1</sup>, augmente lorsque la concentration en polysaccharides augmente. Les polysaccharides étant principalement hydrophiles, une augmentation de leur concentration peut provoquer une baisse de la décantabilité des floccs.

Enfin, en comparant les boues issues d'un procédé à boues activées classique et d'un BAM, il apparaît que ces dernières décantent en général plus difficilement (Cicek et al. 1999). Il s'agit probablement d'un problème de dispersion.

### d.2 Propriétés de surface des floccs - Charge de surface et hydrophobicité

En règle générale, la charge de surface et l'hydrophobicité d'un flocc évoluent en sens inverse. Ainsi, une baisse des charges de surface entraîne une augmentation de l'hydrophobicité du flocc (Tableau I.7).

Tableau I.7: Charge de surface et hydrophobicité de boues activées

Références	Alimentation	Charge de surface (meq.g <sub>MVS</sub> <sup>-1</sup> )	Hydrophobicité (angle de contact*)
Sponza (2003)	Papeterie	-0,17 à -0,20	35 à 39
	Textile	-0,21 à -0,26	35 à 43
	Pétrochimie	-0,09 à -0,24	37 à 44
	Vin	-0,40 à -0,50	9 à 10
	Municipale	-0,57 à -0,64	6 à 8
Références	Alimentation	Charge de surface (meq.g <sub>MES</sub> <sup>-1</sup> )	Hydrophobicité relative** (%)
Bura (1998)	Pétrole	- 0,25	62,6
	potomme de terre	- 0,37	57,4
	Volaille	- 0,54	37,3
	Municipale	- 0,34	32,0

\* mesure de l'angle formé entre une goutte d'eau et le flocc : angle de contact élevé = hydrophobicité élevée ;

\*\* test d'adhésion au hydrocarbure : les cellules sont séparées dans un système biphasique eau-hydrocarbure. La mesure compare la quantité de cellule dans la phase organique à la quantité totale de cellules.

### ● Charge de surface

Les floccs et les EPS sont, en règle générale, chargés négativement. En principe, la diminution de la charge de surface du flocc facilite sa floculation et permet une meilleure décantation (Urbain et al. 1993). Cependant, des auteurs comme McKinney (1956) trouvent que la réduction de la charge négative de la surface des floccs ne provoque pas obligatoirement une amélioration de la formation du flocc. Cela montre qu'en plus de la charge de surface, d'autres paramètres jouent sur la floculation des floccs biologiques.

Certains facteurs comme l'âge ou l'origine de la boue peuvent influencer la charge de surface des floccs :

- Lee et al. (2003) constatent que la charge de surface d'un flocc augmente lorsque l'âge de boue diminue. Cependant, la charge de surface des colloïdes et des solubles (centrifugation à  $366 \text{ rad.s}^{-1}$  pendant 5 minutes), mesurée par le potentiel zêta reste constante à environ  $-10 \text{ mV}$  quelle que soit la valeur du temps de séjour des boues (entre 20 et 60 jours).
- Sponza (2003) montre que l'origine de la boue et donc le type de substrat jouent un rôle important sur les propriétés physico-chimiques de la surface des floccs. Les floccs qui se forment sur des eaux usées à forte proportion en substances organiques biodégradables (eau usée municipale) ont des charges de surface plus élevées.

### ● Hydrophobicité et angle de contact

Le flocc bactérien et les EPS possèdent à la fois des zones hydrophobes et hydrophiles. En règle générale, l'augmentation de l'hydrophobicité d'un flocc améliore la floculation (Liao et al. 2001) et la décantation (Urbain et al. 1993). Par conséquent, les carbohydrates hydrophiles des EPS<sub>liés</sub> ont un effet négatif sur la décantation (Liao et al. 2001) alors que la nature plutôt hydrophobe des protéines en fait les principales responsables de l'hydrophobicité du flocc (Lee et al. 2003 ; Sponza 2003 ; Jorand et al. 1998). Elle permet également d'améliorer la décantation (Shufang 2004).

Puisque l'hydrophobicité du flocc est en partie liée à la concentration en exopolymères cela signifie que tous les paramètres identifiés comme agissant sur la concentration en exopolymères agissent également sur l'hydrophobicité. Il est possible de citer :

- la concentration en oxygène dissous : d'après Palmgren et al. (1998) une limitation en oxygène entraîne une baisse de l'hydrophobicité de 4 espèces de bactéries des boues activées.

- le moussage des boues: Chang et Lee (1998) observent une hydrophobicité accrue pour des boues moussantes. Ils rappellent que Goddard et al. (1987) montrent qu'une boue moussante contient une plus grande quantité de lipides et de protéines.
- le métabolisme bactérien : des cellules en phase de croissance stationnaire sont souvent plus hydrophobes que celles en phase exponentielle (Allison et al. 1990, Hazen et al. 1986)
- le type de substrat : pour Jorand et al (1994) l'addition de substrat facilement assimilable tel que le glucose, ne change pas l'hydrophobicité des bactéries mais augmente la production d'EPS<sub>liés</sub> et l'indice de boue. Sponza (2003) trouve d'ailleurs que les floccs les plus hydrophiles et les plus négativement chargés sont dans les boues municipales et les boues alimentées par un effluent issu de l'industrie du vin. Ces boues sont également celles où la concentration en DCO facilement biodégradable est la plus élevée.
- le type de procédé : une croissance bactérienne au sein d'un biofilm ou en suspension induit une hydrophobicité différente de la boue. Ainsi, Martin-Cereceda et al. (2001) trouvent que l'hydrophobicité des EPS d'un biofilm présent dans un réacteur traitant de l'eau usée municipale est 2 fois supérieure à celle des EPS présents dans la boue activée. La quantité de protéines exocellulaires du biofilm est trois fois plus importante que dans la boue activée. Par ailleurs, la quantité de substances humiques et de polysaccharides extrait du biofilm est deux fois plus grande que dans la boue activée.
- une carence en substrat : en règle générale, une boue est considérée exempte de limitation nutritionnelle lorsque le ratio C/N/P est égal à 100/5/1. Une carence en carbone ou phosphore peut engendrer des différences dans les valeurs d'hydrophobicité ou de charge de surface des floccs (Tableau I.8)

Tableau I.8: Effet d'une carence en azote, carbone ou phosphore sur l'hydrophobicité et la charge de surface des floccs

Référence	$\frac{DCO}{NH_4}$	Charge de surface ( $m_{eq} \cdot g_{MVS}^{-1}$ )	Hydrophobicité relative (%)
Bura et al. (1998)	20	- 0,30	35
	100	- 0,15	47
Shufang (2004)	3,33	-	93
	5	-	80
	10	-	75
	20	-	70

Référence	<i>DCO/P</i>	Charge de surface ( $m_{eq} \cdot g_{MVS}^{-1}$ )	Hydrophobicité relative (%)
Bura et al. (1998)	100	- 0,30	35
	500	-0,13	27
	Absence de P	-0,08	n.d

Ainsi, une augmentation du rapport DCO/NH<sub>4</sub> de l'alimentation (pour DCO/NH<sub>4</sub> > 20 – carence en azote) entraîne une diminution de la charge de surface des floes et une augmentation de l'angle de contact.

Une carence accrue en carbone organique (DCO/NH<sub>4</sub> < 20) provoque une augmentation de l'hydrophobicité des floes car alors la production de polysaccharides (hydrophiles) est souvent diminuée (PN/PS augmente).

Une augmentation de la carence en phosphore (DCO/P > 100) provoque une diminution de la charge de surface et de l'hydrophobicité du floe.

Bura et al. (1998) remarquent également une corrélation forte entre la teneur en eau liée et l'hydrophobicité des floes ; une augmentation de la teneur en eau liée (de 16 à 52 g.g<sub>MVS</sub><sup>-1</sup>) correspond à une baisse de la valeur de l'angle de contact (de 47 à 27%).

### **d.3 Granulométrie**

La plupart des études menées sur la distribution de la taille des floes de boues activées s'accordent pour les décrire comme des entités dont la taille varie entre 1 à 500 µm. Les floes constituent un agrégat dynamique en perpétuelle modification de structure et de morphologie. Les polysaccharides semblent être les principaux polymères responsables de la structuration et de la stabilité du floe. Shufang (2004) montre que des granules (1 mm) contiennent au moins trois fois plus de polysaccharides que de protéines.

Des facteurs comme la facilité d'accès des nutriments, le type de substrat, les contraintes hydrodynamiques et l'âge des boues influencent la répartition granulométrique.

#### **● Substrat et accepteurs d'électrons**

L'accès aux substrats et aux réactifs, par exemple, comme les accepteurs d'électrons, prend une part importante dans la structuration et la taille des floes. Ainsi, une carence en oxygène au sein des boues provoque généralement une défloculation (Sürücü et Cetin 1989, Nielsen et al. 1996, Wilén et Balmér 1998, Wilén et al. 2000).

Plusieurs explications sont avancées :

- augmentation de la croissance des bactéries anaérobies ou facultatives avec suppression de la croissance des bactéries aérobies strictes à l'intérieur du floc (Eikelboom et Van Buijsen, 1983),
- réduction des ions  $\text{Fe}^{3+}$  par les bactéries (Caccavo et al. 1996),
- inhibition de la production d'EPS (Starkey et Karr 1984),
- hydrolyse des EPS (Nielsen et al. 1996),

Cette carence en oxygène s'accompagne généralement d'une augmentation du nombre de bactéries filamenteuses et d'une formation de floccs poreux. Par conséquent, les boues décantent moins vite (Wilén et Balmér, 1999). Cette carence peut être momentanée (séquençage de l'aération) ou prolongée dans le temps. Lors d'un séquençage de l'aération par exemple, 2H aéré/4H non-aéré (qui permet de maintenir une concentration en oxygène dissous comprise entre 0 et 4  $\text{mg.L}^{-1}$ ) Wilén et Balmér (1999) montrent que les floccs de boues activées ( $C_m=0,97 \text{ g}_{\text{DCO}} \cdot \text{g}_{\text{MES}}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$ ) présentent une taille moyenne plus élevée à la fin des phases d'aération ( $d_{50 \text{ aéré}} = 44 \text{ }\mu\text{m}$  contre  $d_{50 \text{ non-aéré}} = 31 \text{ }\mu\text{m}$  pour une répartition en volume). Par comparaison avec un réacteur fonctionnant dans les mêmes conditions opératoires mais avec une aération continue (oxygène dissous = 4  $\text{mg.L}^{-1}$ ), la distribution de taille des particules n'évolue pas durant les 8 heures d'expériences et est centrée sur 53  $\mu\text{m}$  (% en volume). Les cycles de concentration en oxygène dans les boues provoquent donc une baisse du diamètre moyen des particules.

Wilén et Balmér (1999), lors de la comparaison de deux boues dont les concentrations en oxygène dissous sont respectivement de 2 et 5  $\text{mg.L}^{-1}$  pour un même âge de boues de 5 jours observent de plus gros floccs et une turbidité du surnageant plus faible pour la boue ayant la teneur en oxygène maximale. Ceci pourrait montrer l'importance de la diffusion des réactifs ( $\text{O}_2$ ,  $\text{NO}_x$ , etc...) dans la structuration du floc.

La granulométrie peut également changer avec le métabolisme bactérien. Ainsi, l'inhibition de l'activité aérobie (conditions anaérobies, baisse de la température) ou la stimulation de l'activité anaérobie (ajout d'ions sulfures, amélioration de la réduction du fer) favorisent le détachement de bactéries et autres constituants des floccs.

#### ● Les contraintes hydrodynamiques

Les conditions hydrodynamiques qui règnent au sein des procédés agissent sur la taille des floccs. La taille moyenne des floccs résulte d'un terme de croissance, d'un terme de décès (lyse, hydrolyse et solubilisation), d'un terme d'agrégation et d'un terme de rupture. Ces deux derniers termes sont particulièrement influencés par l'hydrodynamique. On peut supposer que

les propriétés de cohésion dépendent du mode de formation du floc et que des différences majeures apparaîtront si la taille du floc résulte majoritairement de processus de floculation entre micro-flocs (après un choc hydrodynamique par exemple) ou d'une croissance de colonie bactérienne (ex : granulation). Ce dernier mécanisme sera favorisé par un fort potentiel diffusionnel (fortes teneurs en accepteurs d'électrons par exemple).

En ce qui concerne la taille des flocs dans les bioréacteurs à membranes, peu d'études sont disponibles. Zhang et al. (1997) ont obtenu une taille des flocs supérieure dans un BAM immergé par rapport à un BAM avec recirculation en boucle externe du fait des forces de cisaillement plus élevées dans la boucle externe (pompe, passage dans les circuits). Ainsi, la répartition granulométrique des flocs est en partie liée aux conditions opératoires appliquées au procédé. Zhang et al. (1997) montrent que la taille des flocs n'est pas forcément dépendante des conditions hydrodynamiques régnant au sein du bassin biologique.

#### ● Influence du temps de séjour des boues (TSB)

Il n'y a pas de liens simples entre l'âge de la boue et la taille moyenne des flocs (Tableau I.9).

Tableau I.9 : Taille moyenne des flocs suivant l'âge des boues (Huang et al. 2001)

<i>Age des boues (j)</i>	5	20	40
<i>Diamètre moyen en volume (<math>\mu\text{m}</math>)</i>	15	48	31

Lee et al. (2003) constatent une influence de l'âge des boues sur la taille des flocs d'un BAMI alimenté par la même eau usée synthétique. Les réacteurs fonctionnent dans les mêmes conditions opératoires d'aération ( $3,3 \cdot 10^{-4} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}_{\text{membrane}}$  soit  $4,7 \cdot 10^{-3} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-3}_{\text{réacteur}}$ ) et de temps de séjour hydraulique (7,8 h) mais à différents âges de boues. Ces auteurs observent que la taille moyenne des colloïdes diminue de  $0,458 \pm 0,026 \mu\text{m}$  à  $0,420 \pm 0,023 \mu\text{m}$  puis à  $0,349 \pm 0,014 \mu\text{m}$  lorsque l'âge des boues diminue de 60 à 40 puis à 20 jours. Ils attribuent cette déstructuration, au cisaillement accru des flocs par l'aération lorsque la concentration en MES diminue (c'est-à-dire lorsque l'âge des boues diminue). De plus, une répartition par masse moléculaire des composés du surnageant montre que, quel que soit l'âge des boues, l'allure bimodale de la distribution est identique (entre 3 et 100 kDa).

## 2. Les produits microbiens solubles (PMS)

### a. Description des PMS : composition, origine

Le terme de PMS correspond à tous les polymères ayant une origine microbienne et exclut dès lors les produits intermédiaires issus d'une dégradation incomplète de substrats organiques complexes (Noguera et al. 1994). Au contraire, les EPS<sub>solubles</sub> font référence à tous les polymères présents au sein de la phase liquide quelle que soit leur origine. Les polymères sont dits solubles à partir du moment où ils sont présents dans le surnageant de boue.

Les polymères solubles qui sont communément présents dans la plupart des cellules (acides nucléiques, peptidoglycanes et phospholipides) sont dégradables par beaucoup de micro-organismes, contrairement aux polymères spécifiques et peu nombreux tels que les hétéropolysaccharides extracellulaires (Hejzlar et Chudoba 1986a,b).

Les PMS constituent la majorité de la matière organique des effluents de procédés de traitement biologique (Chudoba et al. 1986 ; Noguera et al. 1994). Leur composition et leur concentration sont variables. Ils regroupent les acides humiques et fulviques, les polysaccharides, les protéines, les acides nucléiques, etc... Les polysaccharides proviennent majoritairement de la paroi cellulaire et des couches extérieures des bactéries. Les protéines correspondent à des enzymes ou du matériel intracellulaire alors que les substances humiques, considérées dans ce cas comme des EPS<sub>solubles</sub>, sont directement amenées par l'effluent d'entrée.

La quantité d'exopolymères solubles est généralement déterminée par des analyses globales (COT, DCO). Jarusutthirak et al. (2002) en fractionnant la matière organique des effluents de sortie d'une station d'épuration observent que les fractions hydrophobes (obtenue sur résine XAD-8) et transphiliques (obtenue sur résine XAD-4) sont principalement composées de substances humiques (acide humique et fulvique). La fraction transphilique est de taille plus petite que la fraction hydrophobe.

Le tableau I.10 regroupe des résultats de la littérature concernant les concentrations en exopolymères de surnageants de boues issues de BAMI.

Tableau I.10: Concentration en EPS solubles de boues de BAMI

Références	TSB	TSH	MES	PN	PS	EPS <sub>totaux</sub>	Ratio PN/PS
	(j)	(h)	(g.L <sup>-1</sup> )	(mg.L <sup>-1</sup> )			
Lee et al. (2001)	-	8	3	0,9	1,8	2,7	0,5
Brookes et al. (2003) <sup>(f)(g)</sup>	-	-	4,6-12,2	0-4,5 <sup>(a)</sup>	0,54-9,8 <sup>(a)</sup>	-	0-0,5
Shin et Kang (2003) <sup>(d)(c)</sup>	20	6	3,1-4,1	-	-	-	0,4
Shin et Kang(2003) <sup>(d)(c)</sup>	∞	6	6,5	-	-	-	<0,6
Cho et al. (2004)	8	4,5	2,5	-	-	25-30 <sup>(b)</sup>	-
Cho et al. (2004)	20	4,5	4,0	-	-	20-25 <sup>(b)</sup>	-
Cho et al. (2004)	80	4,5	8,0	-	-	10-15 <sup>(b)</sup>	-
Lesjean et al. (2004)	8	11	7,1-11,3	-	5-10	-	-
Lesjean et al. (2004)	15	11	9,4-13,9	-	2-5	-	-
Reid et al. (2004) <sup>(h)</sup>	35	26	18,8	6,57 <sup>(a)</sup>	3,25 <sup>(a)</sup>	-	2,0
Reid et al. (2004) <sup>(h)</sup>	29	26	17,9	1,32 <sup>(a)</sup>	0,56 <sup>(a)</sup>	-	2,4
Reid et al. (2004) <sup>(h)</sup>	30-50	20	15,1	5,2 <sup>(a)</sup>	0,54 <sup>(a)</sup>	-	9,6

<sup>(a)</sup> en mg.g<sub>MES</sub><sup>-1</sup> <sup>(b)</sup> en mg<sub>DCCO</sub>.L<sup>-1</sup> - <sup>(c)</sup> séparation par filtration sur 0,45µm <sup>(d)</sup> Dosage par la méthode de Lowry <sup>(e)</sup> Dosage par la méthode de Lowry modifiée <sup>(f)</sup> centrifugation 5 minutes à 5000 rpm <sup>(g)</sup> déterminé par absorbance directe <sup>(h)</sup> centrifugation 10 minutes à 5000 rpm- PN :protéines - PS :polysaccharides

Ce tableau montre que les concentrations en EPS solubles ainsi que leur proportion sont différentes d'une étude à une autre. Cela peut être expliqué par l'utilisation de méthodes de séparation du surnageant et des floccs différentes ou de techniques de dosage différentes. Il sera donc difficile par la suite de comparer nos résultats avec ceux de la littérature.

En ce qui concerne la masse moléculaire des PMS, celle-ci varie suivant le procédé biologique et le substrat utilisés, ainsi qu'avec les conditions opératoires adoptées. La masse moléculaire des PMS trouvés dans les BAM s'échelonne généralement de 0,1 à plus de 100 kDa.

Le tableau I.11 regroupe quelques résultats issus de la littérature.

Tableau I.11: Distribution des masses moléculaires (obtenue par filtration) des PMS de boues de BAM

<i>Références</i>	<i>Masse moléculaire</i>
<i>Huang et al. (2000)</i> <sup>(a)(c)</sup>	>100 kDa :16% ; 30-100kDa :9% ; 3-30kDa :23% ; <3kDa :52%
<i>Lee et al. (2003)</i> <sup>(b)(d)</sup>	> 100 kDa:31%; 30-100 kDa:8%; 3-30 kDa:32%; <3 kDa:29%
<i>Shin et Kang (2003)</i> <sup>(a)(d)</sup>	> 100 kDa:20%; 30-100 kDa:37%; 10-30 kDa:12%; 1-10kDa:18% ;<1 kDa:13%

<sup>(a)</sup> mesures effectuées par COT <sup>(b)</sup> mesures effectuées par DCO <sup>(c)</sup> centrifugation 15 minutes 4000rpm <sup>(d)</sup> filtration sur 0,45µm

La distribution de taille des molécules solubles est en général bimodale quel que soit l'âge des boues (Huang et al. 2000 ; Lee et al. 2003).

Les PMS présents au sein du surnageant des boues sont généralement constitués de composés à hautes masses moléculaires par rapport aux alimentations des procédés biologiques (< 0,5 kDa) (Barker et Stuckey 1999). Toutefois, la distribution des masses moléculaires varie au moins de façon hebdomadaire, en fonction de la concentration en MES et de l'âge des boues (Brookes et al. 2003). Ces propriétés pourront être importantes en terme de capacité de rétention des membranes et donc de nature du fluide biologique dans le BAM. En effet, dans un bioréacteur à membranes, la barrière membranaire sera susceptible de retenir les composés solubles d'autant plus facilement que leur masse moléculaire est élevée.

### **b. Mécanismes de production des PMS**

Les concentrations en PMS résultent de mécanismes de production et de dégradation, étroitement liés à la biomasse active et aux EPS<sub>liés</sub> (Figure I.6).

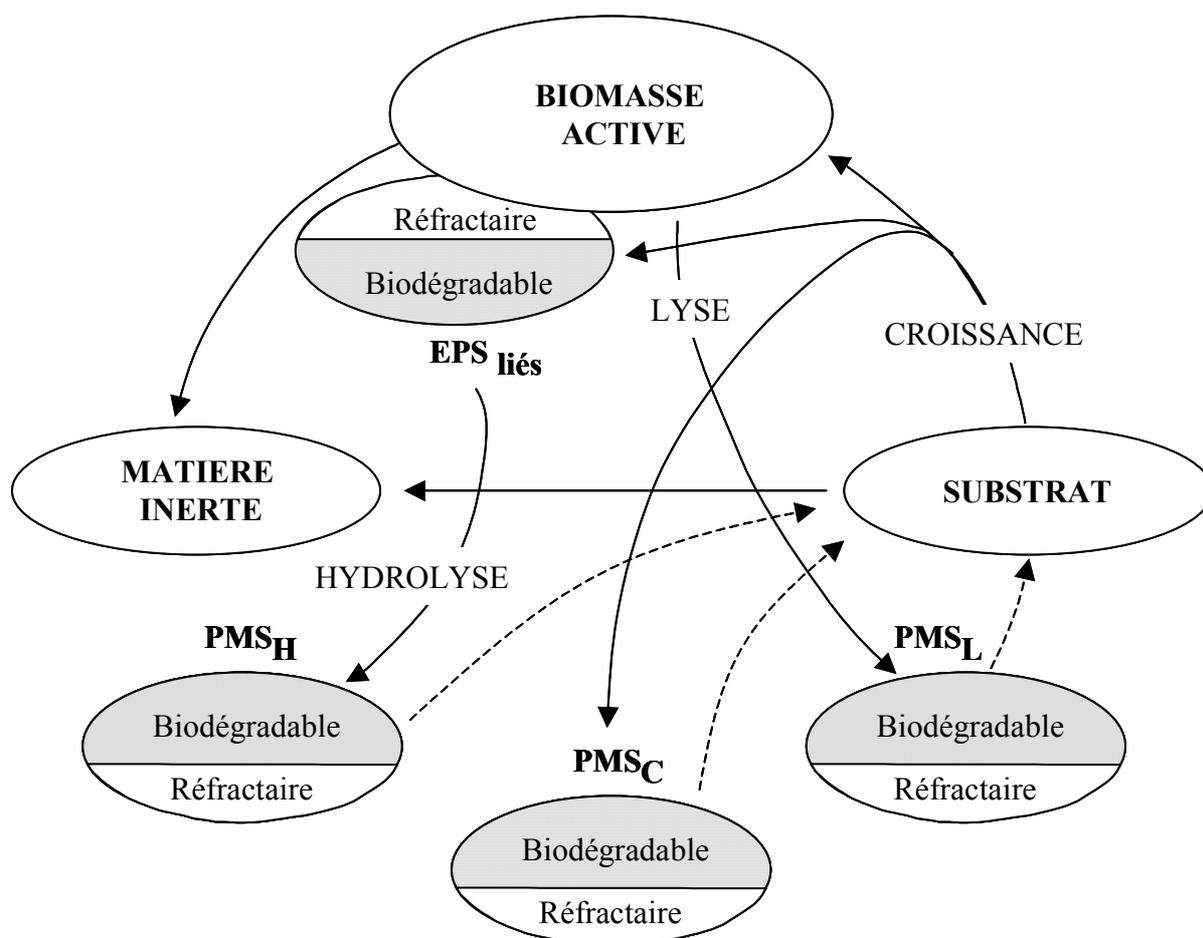


Figure I.6: Représentation schématique des interactions existant entre PMS,  $EPS_{liés}$  et biomasse d'une boue biologique

Les PMS ont trois origines majeures : la croissance cellulaire, la lyse cellulaire, l'hydrolyse des exopolymères liés. Pour commencer, la consommation d'une partie du substrat, donneur d'électrons, permet la synthèse de la biomasse active, des  $EPS_{liés}$  et des produits microbiens solubles issus de la croissance cellulaire ( $PMS_C$ ).

Comme pour toutes les catégories de produits microbiens solubles, une partie des  $PMS_C$  sera biodégradable tandis que l'autre partie sera réfractaire. Papore (1998) estime à 96% la biodégradabilité des  $PMS_C$  après 71 jours de fonctionnement d'un réacteur discontinu alimenté en glucose. Ainsi, les PMS peuvent être dégradés biologiquement même si cela requiert souvent un long temps d'acclimatation (Shin et Kang 2003). La synthèse d' $EPS_{liés}$  est fixée par la croissance de la biomasse et s'effectue proportionnellement à l'utilisation du substrat (Laspidou et Rittman 2002). Laspidou et Rittman (2002) proposent un modèle où les  $EPS_{liés}$  sont uniquement produits par la consommation du substrat. En d'autres termes, les auteurs excluent l'idée d'une polymérisation des PMS en  $EPS_{liés}$ . Par ailleurs, les  $EPS_{liés}$  sont dissous ou hydrolysés lentement par les enzymes libérées par les bactéries pour donner des produits microbiens solubles ( $PMS_H$ ). Ainsi, si l'hydrolyse des  $EPS_{liés}$  est plus lente que la lyse des cellules, une concentration élevée en  $EPS_{liés}$  est possible lorsque la concentration en

biomasse active est faible. Un lien existe donc entre concentration en EPS<sub>liés</sub> et PMS<sub>H</sub>. En revanche, Reid et al. (2004) ne trouvent aucune relation entre la totalité des EPS<sub>liés</sub> et la totalité des PMS.

Le décès puis la lyse naturelle ou provoquée de la biomasse entraînent la formation de cellules mortes résiduelles et de produits microbiens solubles (PMS<sub>L</sub>). Les PMS associés à une croissance cellulaire intense (lors d'un rapport  $S_0/X_0 > 100$ ) ou à une lyse cellulaire intense en phase de jeûne par exemple, ont généralement une masse moléculaire supérieure à 10 kDa (Hejzlar et Chudoba 1986a,b). Au final, la fraction réfractaire des boues est composée de PMS, d'EPS<sub>liés</sub>, d'une fraction inerte du substrat et de composés particuliers inertes produits par la biomasse.

Cette description des interactions entre les composants des boues permet de discerner les PMS liés à la croissance ou à l'utilisation de substrat et ceux liés au décès (lyse) ou à la déstructuration (solubilisation des EPS) de la biomasse. Ainsi, les mécanismes entraînant la production de PMS peuvent être définis selon que les PMS appartiennent à l'une ou l'autre des catégories (Barker et Stuckey 1999) :

● PMS liés à la croissance :

- L'équilibre des concentrations : les micro-organismes sécrètent des PMS pour maintenir un gradient de concentration des deux côtés de la membrane cellulaire. Un stress environnemental des micro-organismes tel qu'un changement de température ou un choc osmotique peut donc entraîner une libération de PMS.
- La croissance et le métabolisme microbien : au cours de la phase de croissance cellulaire, les micro-organismes renouvellent certains composants de la paroi cellulaire (peptidoglycane, acide teïchoïque...) et les protéines cellulaires. Ces composants sont donc dégradés puis excrétés dans le milieu. Mukai et al. (2000) montrent que, suivant l'état de la phase de croissance des micro-organismes, les caractéristiques des PMS diffèrent (Tableau I.12).

Tableau I.12 : Composition du surnageant (filtration sur filtre 0,45 µm) d'une boue activée (Mukai et al. 2000)

<i>Phase de croissance</i>	<i>Protéines<sup>(a)</sup> (mg.L<sup>-1</sup>)</i>	<i>Sucres (mg.L<sup>-1</sup>)</i>	<i>COT (mg.L<sup>-1</sup>)</i>	<i>Protéine/sucre</i>
<i>Logarithmique</i>	109,1	76,2	238,2	1,43
<i>Stationnaire</i>	53,1	36,3	39,8	1,46
<i>Décès</i>	42,5	35,9	32,6	1,18

<sup>(a)</sup> *dosage des protéines sans prendre en compte les interférences des substances humiques.*

Ainsi, la phase logarithmique de croissance est la plus riche en PMS (protéine, sucre) et en COT soluble. La perméation sur gel montre également que la masse moléculaire des PMS d'une boue activée augmente lorsque la phase de croissance passe de logarithmique à stationnaire puis de décès.

● PMS liés à la perte de viabilité de la biomasse :

- Carence ou jeûne : durant une période de carence en substrat les micro-organismes ont besoin d'énergie de maintenance. Elle peut être fournie par la respiration endogène ou l'oxydation des constituants cellulaires endogènes et des produits de stockage. Durant ce phénomène, les micro-organismes excrètent des PMS qui peuvent à leur tour servir d'énergie de maintenance lors de la respiration endogène ou du métabolisme autochtone.
- Mort et lyse cellulaire : la mort (perte de viabilité ou d'activité cellulaire) puis la lyse cellulaire (défragmentation des cellules mortes) et enfin l'hydrolyse des particules microbiennes et EPS mènent à la formation de PMS.

**c. Les paramètres influençant la production de PMS**

Certaines perturbations environnementales ou conditions opératoires vont influencer la quantité et la qualité des PMS sécrétés :

● Les paramètres environnementaux

- La présence d'une source d'énergie : une augmentation de la concentration en substrat exogène peut engendrer, en quelques minutes, l'apparition de PMS dans le milieu de culture (Jeong 1995). La production de PMS augmente généralement quand la concentration en substrat de l'influent augmente. Cela correspond à une croissance cellulaire maximale.
- MES stabilisée : une forte concentration en biomasse s'accompagne parfois d'une forte production en PMS. La vitesse de production en PMS est alors proportionnelle à la concentration en biomasse (Rittman et al. 1987; Hao et Lao 1988). Laspidou et Rittman (2002) proposent un modèle reposant plutôt sur une production de PMS dépendant de la concentration en substrat.
- Présence de toxiques : l'ajout de toxiques provoque une plus grande lyse cellulaire et une libération plus importante de PMS. Boero et al. (1991) observent une augmentation de la production de PMS lorsqu'ils remplacent le glucose par le phénol en tant que substrat. Jeong (1995) explique cette augmentation par un phénomène d'inhibition lié au substrat.

### ● Les paramètres opératoires – l'âge des boues

- Existence d'un optimum d'âge de boues ou de charge organique pour lesquels la production de PMS est minimale. Pour les systèmes aérobies, cet optimum se situerait entre 2 et 15 jours pour l'âge des boues et entre 0,3 et 1,2  $\text{g}_{\text{DCO}} \cdot \text{g}_{\text{MES}}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$  pour la charge organique (Figure I.7) (Baskir et Hansford, 1980 ; Rittmann et al. 1987 ; Hao et Lao, 1988 ; Pribyl et al ; 1997).

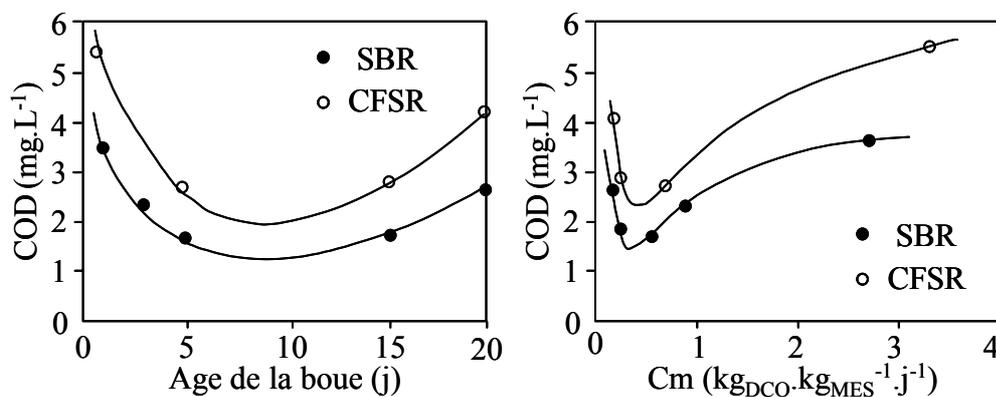


Figure I.7: Effet de l'âge des boues et de la charge organique sur la concentration en carbone organique dissous (d'après Pribyl et al. 1997)

Ainsi, Bisogni et Lawrence (1971) constatent une augmentation de la quantité de polysaccharides lorsque l'âge des boues dépasse 9 jours ; Murthy et al. (1998) constatent une augmentation des polysaccharides solubles (<3 kDa) et des protéines colloïdales (0,45  $\mu\text{m}$  – 30 kDa) quand l'âge des boues est supérieur à 10 jours. Souza Melo (1984) observe une augmentation de la concentration en acides humiques avec l'âge des boues d'un procédé à boues activées. En fait, pour une forte charge organique ou un âge de boues faible, la biomasse est incapable d'éliminer toutes les substances organiques en solution alors que pour une charge organique faible, les micro-organismes dégradent la matière organique mais libèrent des PMS (Baskir et Hansford 1980 ; Pribyl et al. 1997). En effet, les produits de la lyse cellulaire ( $\text{PMS}_L$ ) sont prédominants pour des temps de séjour des boues élevés où la croissance biologique est faible, alors que ceux associés à la réplication des cellules ( $\text{PMS}_C$ ) vont être prédominants à des faibles valeurs d'âge de boues où la croissance observée est plus importante.

## II. Etude des mécanismes de production de boues

Horan (1990) estime que le traitement des boues peut représenter 25 à 60% des coûts globaux d'une station d'épuration. Il est donc intéressant de pouvoir minimiser la production de boues dans les systèmes biologiques. Ce paragraphe a donc pour objectif principal d'analyser les mécanismes de production de boues et de comparer la production de boues d'un procédé conventionnel de traitement des eaux (BA) avec un bioréacteur à membranes (Figure I.8). Beaucoup de travaux décrivent les bioréacteurs à membranes comme des procédés permettant de réduire la production de boues. Cependant, les raisons de cette réduction sont rarement expliquées et démontrées ; les motifs possibles sont d'ailleurs nombreux tant les mécanismes de réduction de la production de boues le sont également. C'est pourquoi, dans un premier temps nous nous attachons à décrire les mécanismes de la production de boues afin ensuite d'identifier les facteurs influençant cette production.

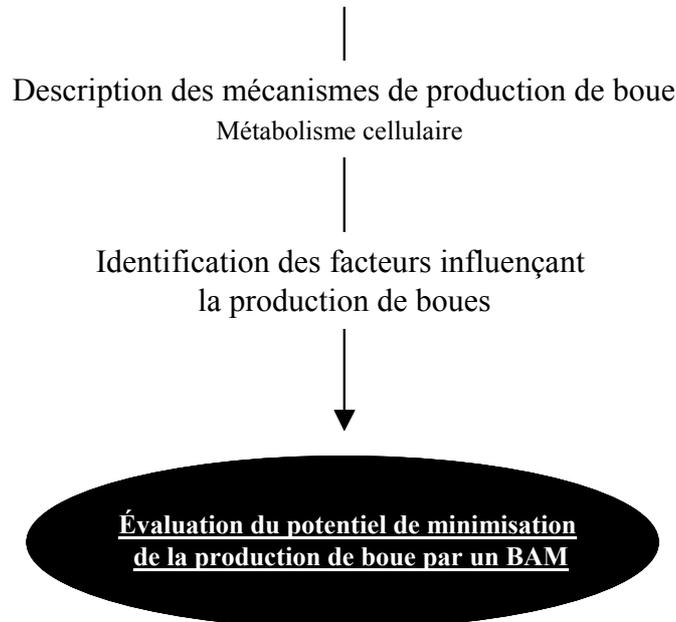


Figure I.8: Démarche adoptée pour comprendre les mécanismes de production de boues.

## 1. Production de boues et métabolisme cellulaire

Le profil classique de croissance d'une culture pure comprend généralement une phase de latence, une phase exponentielle, une phase stationnaire et une phase de déclin. Le modèle de Monod explicite une relation liant la quantité de biomasse produite (X) et la quantité de substrat utilisé (S) (Equations I.1 et I.2) :

$$X = Y_H \cdot S \quad (\text{I.1})$$

D'où :

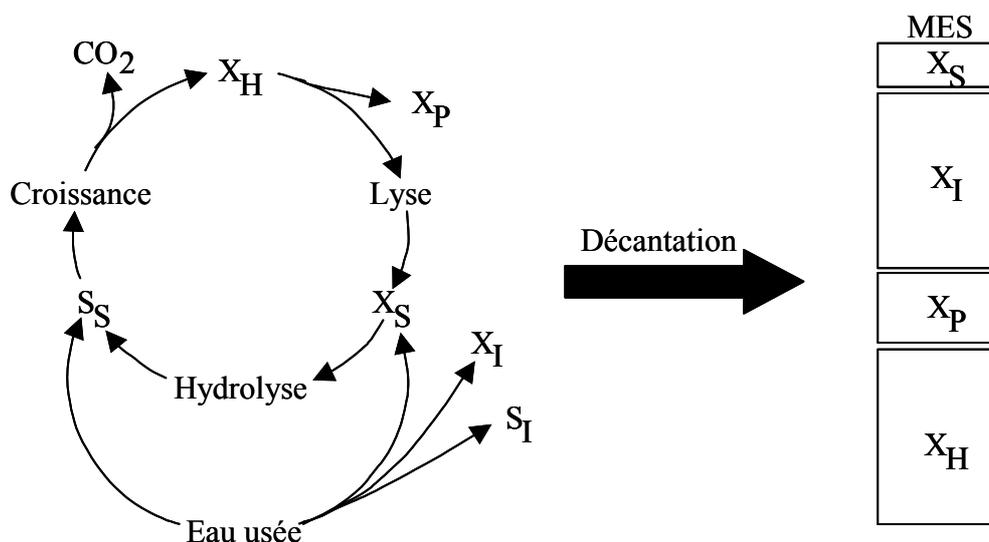
$$Y_H = - \frac{dX}{dS} \quad (\text{I.2})$$

Avec  $Y_H$  : taux de conversion intrinsèque du substrat en biomasse ( $\text{kg}_{\text{MVS}} \cdot \text{kg}_{\text{DCO}}^{-1}$ )

Cependant, ce taux de conversion reste un taux de conversion limite ou maximal et ne représente pas la production de boues d'un système ( $Y_{\text{obs}}$ ). En effet, pour calculer la production spécifique de boues, il faut prendre en compte:

- l'accumulation de matières minérales en suspension,
- l'accumulation de matières organiques non biodégradables (réfractaires),
- la production nette des micro-organismes résultant de leur croissance sur les substrats biodégradables et de leur décroissance cellulaire lors du métabolisme endogène, des processus de maintenance et de la croissance cryptique.

La figure I.9 schématise les différents processus biologiques et physiques liés à la production de boues (ASM1, Henze et al. 1986).



$X_P$  : DCO non biodégradable produite lors du processus de mort régénération     $X_H$  : Biomasse  
 $S_I$  : DCO soluble non biodégradable de l'eau usée     $S_S$  : DCO facilement biodégradable  
 $X_S$  : DCO hydrolysable     $X_I$  : DCO non biodégradable de l'eau usée

Figure I.9 : Conversion de la matière organique dans les procédés biologiques (Salhi 2003)

Les composés lentement biodégradables subissent une hydrolyse pour conduire à des substances facilement assimilables par les bactéries. Les molécules facilement biodégradables sont partiellement oxydées par les micro-organismes hétérotrophes et utilisées pour la croissance cellulaire. L'autre partie sera utilisée dans les réactions de maintenance cellulaire. Enfin, lors du décès et de la lyse cellulaire, la biomasse est partiellement oxydée et conduit également à une production de composés inertes (essentiellement particulaires). Les matières en suspension sont donc au final constituées de biomasse, de DCO hydrolysable et de DCO non biodégradable.

Dans les paragraphes suivants, les processus d'hydrolyse, de croissance et de décroissance cellulaire sont détaillés.

### **a. L'hydrolyse**

Cette réaction permet de transformer des molécules à hautes masses moléculaires (colloïdes et composés particulaires) en molécules plus simples pouvant traverser la membrane cellulaire et être assimilées par les micro-organismes. Ces substrats sont dans un premier temps adsorbés à la surface du floc bactérien puis hydrolysés par des enzymes extracellulaires et enfin assimilés. Une boue biologique étant composée d'une grande proportion de micro-organismes, les substrats hydrolysables sont totalement adsorbés. Par conséquent, l'hydrolyse est souvent l'étape limitante par rapport à l'adsorption ou à l'assimilation des composés lentement biodégradables.

La vitesse d'hydrolyse est généralement décrite par l'équation suivante :

$$\frac{dX_S}{dt} = -k_H \frac{X_S/X_H}{K_X + X_S/X_H} \cdot X_H \quad (I.3)$$

Avec  $k_H$  : constante d'hydrolyse ( $j^{-1}$ )

$K_X$  : constante de demi saturation (-)

$X_S$  : concentration en substrat hydrolysable ( $g_{DCO} \cdot L^{-1}$ )

$X_H$  : concentration en biomasse ( $g_{MVS} \cdot L^{-1}$ )

- Dans le cas où la concentration en substrat ( $X_S$ ) est nettement supérieure à celle de la biomasse ( $X_H$ ),  $X_S/X_H$  devient très supérieur à  $K_X$  et l'équation I.3 s'écrit alors :

$$\frac{dX_S}{dt} = -k_H \cdot X_H \quad (I.4)$$

La vitesse d'hydrolyse est maximale et indépendante de la concentration en substrat ( $X_S$ ). L'hydrolyse est alors considérée comme un processus limité par la surface réactionnelle.

- Dans le cas des boues activées, la concentration en substrat hydrolysable est généralement très inférieure à celle de la biomasse. Un excès d'enzymes extracellulaires est alors constaté et l'équation I.3 s'écrit :

$$\frac{dX_S}{dt} = -K_H \cdot X_S \quad (I.5)$$

La vitesse d'hydrolyse est alors indépendante de la concentration en biomasse.

### **b. La croissance cellulaire**

Les composés facilement biodégradables ( $S_S$ ) sont directement assimilés par les micro-organismes. L'oxydation du substrat (le catabolisme) permet le stockage d'énergie sous forme de molécules d'adénosine triphosphate (ATP).

L'énergie libérée sert ensuite aux réactions de synthèse cellulaire (anabolisme) et à celles de maintenance (Figure I.10)

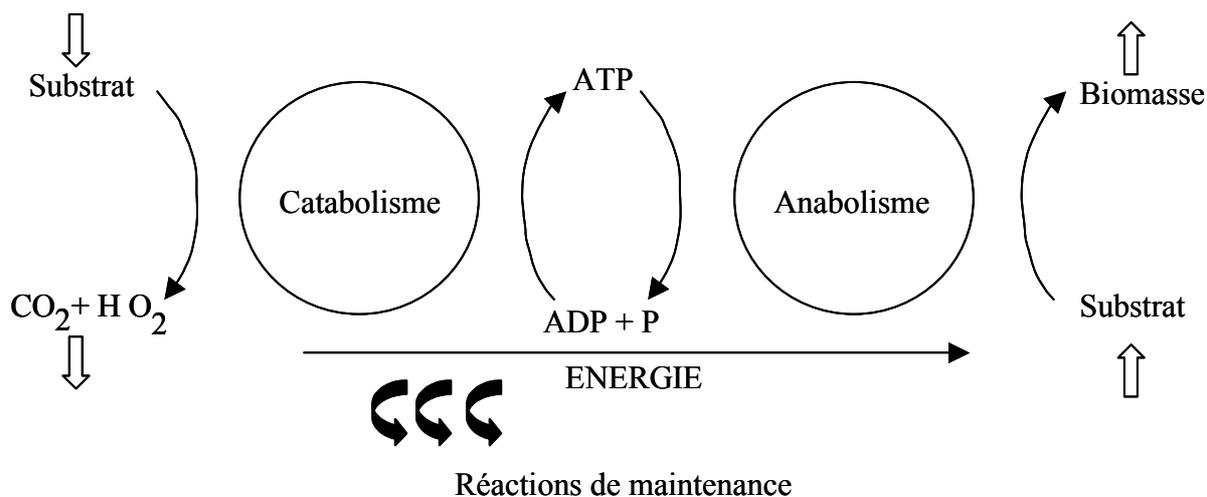


Figure I.10: Couplage énergétique entre catabolisme et anabolisme – extrait de Chudoba (1991)

Il est possible d'intervenir sur le métabolisme cellulaire afin d'obtenir un découplage énergétique en vue d'une minimisation de la production de boues. L'inhibition de la croissance (présence de toxique, forte concentration en biomasse, etc...), l'augmentation des besoins énergétiques pour la maintenance (changement des conditions osmotiques par exemple) ou des perturbations sur l'équilibre  $\text{ATP} \leftrightarrow \text{ADP}$  (passage en anaérobiose par exemple) peut avoir pour conséquence la réduction de la production de boues.

Généralement, les modèles de cinétiques de croissance cellulaire sont d'ordre 1 par rapport à la concentration en biomasse active et s'écrivent selon l'équation I.6 :

$$\frac{dX_H}{dt} = \mu_{\max} \frac{S_S}{S_S + K_S} X_H \quad (\text{I.6})$$

Avec  $K_S$  : constante de demi saturation ( $\text{g DCO.L}^{-1}$ )

$\mu_{\max}$  : taux de croissance maximal ( $\text{j}^{-1}$ )

$S_S$  : concentration en substrat facilement biodégradable ( $\text{g}_{\text{DCO}}.\text{L}^{-1}$ )

$X_H$  : concentration de la biomasse ( $\text{g}_{\text{MVS}}.\text{L}^{-1}$ )

### **c. Le métabolisme de décroissance**

Ce paragraphe regroupe trois concepts permettant d'expliquer et de décrire la diminution de production de boues : la respiration endogène, la croissance cryptique et le mécanisme de maintenance. Ces trois concepts décrivent des mécanismes qui diffèrent essentiellement par l'origine de leurs substrats. Le processus de maintenance est surtout

consommateur de substrat exogène alors que les deux autres mécanismes utilisent plutôt le substrat stocké ou libéré par les micro-organismes.

Quel que soit le métabolisme de décroissance, la vitesse de perte de concentration en biomasse active est souvent assimilée à une cinétique d'ordre un par rapport à la concentration en biomasse (Equation I.7) :

$$\frac{dX_H}{dt} = -b \cdot X_H \quad (I.7)$$

Avec  $b$  : constante de décroissance cellulaire ( $j^{-1}$ )

### c.1 Le concept de maintenance

Lors du métabolisme cellulaire, le substrat carboné (généralement le substrat initialement présent dans l'influent) est en partie consommé et fournit l'énergie (sous forme d'ATP) nécessaire aux cellules lors du catabolisme et de l'anabolisme. Le catabolisme transforme la pollution carbonée en énergie et métabolites. L'énergie sert alors à satisfaire les fonctions de maintenance cellulaire et participe à l'anabolisme de nouvelles cellules à partir des métabolites sécrétés. Les fonctions de maintenance comprennent le renouvellement du matériel cellulaire, le travail osmotique pour maintenir les gradients de concentration de part et d'autre de la cellule et la mobilité de la cellule.

Pirt (1965) propose qu'une partie du substrat carboné soit consommé pour la maintenance cellulaire et une autre utilisée pour l'anabolisme. Si tout le substrat était consommé pour l'anabolisme alors la production de boues observée serait maximale et égale au rendement réel de croissance  $Y_H$ . Pour un état stable avec une concentration donnée en biomasse, la vitesse à laquelle est consommé le substrat pour la maintenance,  $m_s$ , est supposée constante ; ainsi la production de boues observée s'exprime suivant l'équation I.8 :

$$\frac{1}{Y_{obs}} = \frac{1}{Y_H} + \frac{m_s}{\mu} \quad (I.8)$$

Avec :

$Y_{obs}$  : rendement de production de boues ( $g_{MVS} \cdot g_{DCO_{éliminée}}^{-1}$ )

$Y_H$  : rendement maximum de croissance pour le métabolisme hétérotrophe ( $g_{MVS} \cdot g_{DCO}^{-1}$ )

$m_s$  : vitesse spécifique de consommation du substrat pour la maintenance ( $g_{DCO} \cdot g_{MVS}^{-1} \cdot h^{-1}$ )

$\mu$  : vitesse spécifique de croissance ( $h^{-1}$ )

A l'état stabilisé, la vitesse spécifique de croissance peut également être exprimée en fonction de l'âge de la boue :

$$\mu = \frac{1}{\text{TSB}} \quad (\text{I.9})$$

Avec :

TSB : âge de la boue (h)

$\mu$  : vitesse spécifique de croissance ( $\text{h}^{-1}$ )

Ainsi, pour un âge de boue maximum ( $\mu$  petit) la production de boues observée est minimale. Par ailleurs, si l'apport d'énergie équivaut aux besoins en maintenance ( $S_0/X_0$  faible), la croissance nette de la biomasse tendra vers zéro.

Ainsi, Lobos et al. (2004) montrent que dans des conditions de carence en substrat ( $S_0/X_0 = 0,3$ ), les micro-organismes présents au sein d'un réacteur discontinu alimenté en acétate résident dans un état physiologique ne permettant pas la division cellulaire mais autorisant la dégradation du substrat pour satisfaire leur exigence en énergie de maintenance. Ceci correspond typiquement aux procédés où règnent une limitation par le substrat, comme dans les BAM qui fonctionnent avec des temps de séjour élevés. Strange et al. (1963) soulignent également les avantages à opérer en limitation en substrat. Ils constatent un renouvellement rapide des réserves endogènes, ainsi qu'une rapide consommation d'ATP lorsque la culture d'*Aerobacter aerogenes* est privée de substrat. Dans ce cas, le substrat est préférentiellement utilisé comme énergie de maintenance plutôt que pour la croissance cellulaire ; la quantité d'énergie restante sert alors à la biosynthèse. Par conséquent, si tout le substrat est employé pour la maintenance, la croissance cellulaire est nulle.

Avec cette même idée de découplage énergétique, Chudoba (1991) montre que l'introduction d'une zone anaérobie dans la boucle de recirculation d'un système à boue activée classique permet de réduire la production de boues de  $0,28-0,47 \text{ mg}_{\text{MES}} \cdot \text{mg}_{\text{DCOéliminée}}^{-1}$  à  $0,13-0,29 \text{ mg}_{\text{MES}} \cdot \text{mg}_{\text{DCOéliminée}}^{-1}$ . Dans ce cas, les micro-organismes génèrent de l'ATP lors de l'oxydation du substrat en phase aérobie. Lors du passage en zone anaérobie, les micro-organismes se trouvent en carence de substrat exogène et utilisent cette énergie pour la maintenance cellulaire. De retour en zone aérobie, les micro-organismes sont obligés de reconstituer leurs réserves en ATP car la synthèse cellulaire ne peut se faire sans un stock minimal. La synthèse cellulaire est alors moins importante et la production de boues moindre. Cependant, annuler la croissance de la biomasse active ne garantit pas l'absence de production de boues. Comme décrit en introduction, dans les concepts récents décrivant le comportement des boues activées (les modèles ASM1 et ASM3, basés sur les concepts de

mort régénération ou de respiration endogène), la fraction organique particulaire inerte ( $X_i$ ) joue un rôle important dans la production de boues.

La question reste posée, notamment à fort âge de boues : quelle quantité de matière particulaire organique provenant soit de l'eau usée, soit du décès bactérien, peut être considérée non biodégradable et s'accumule ainsi dans le système biologique ?

### c.2 La respiration endogène

Le métabolisme endogène correspond à l'oxydation des composants cellulaires par les micro-organismes eux-mêmes (Figure I.11). En l'absence de substrat exogène, Dawes et Ribbons (1964) montrent que le métabolisme endogène est en partie lié à la conversion de polymères de réserve intracellulaires pour assurer les besoins de maintenance.

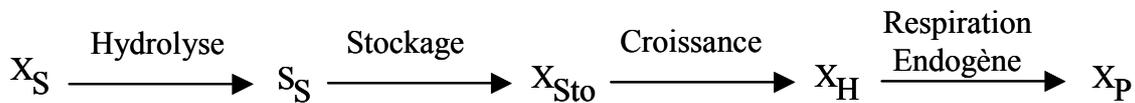


Figure I.11: Schématisation du concept de respiration endogène

Avec  $X_S$  : substrat hydrolysable

$S_S$  : substrat facilement biodégradable

$X_{Sto}$  : substrat stocké

$X_H$  : biomasse

$X_P$  : substrat non biodégradable

Une partie de la respiration endogène et de la minéralisation des boues est aussi assurée par la présence de prédateurs tels que les protozoaires.

### c.3 Le concept de mort régénération (croissance cryptique)

Ce concept correspond à la mort cellulaire (perte d'activité et diminution du nombre de cellules) et à la consommation des résidus cellulaires autochtones pour la formation de biomasse. Le substrat correspond ici à celui formé dans le procédé, il est donc différent de celui présent dans l'ERU. Dans ce cas le substrat est de nature extracellulaire (Figure I.12).

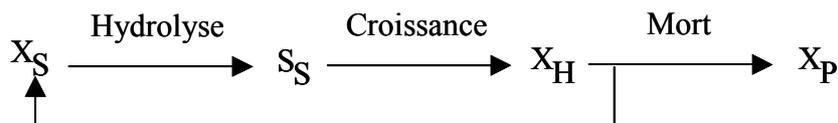


Figure I.12: Schématisation du concept de mort-régénération

Pour un même procédé biologique, cette "constante" de décès peut varier en fonction des conditions d'aération (Nowak et al. 1999). La présence de protozoaires peut également augmenter cette constante de décès (Ghyoot et Verstraete 1999).

## 2. Paramètres influant sur la production de boues

La plupart des travaux répertoriés font état d'une réduction de la production de boues lors de l'utilisation d'un BAM. Le fonctionnement des BAM à un âge de boues élevé entraîne une diminution de la production de boues. Cependant, une question importante subsiste : la réduction de la production de boues est-elle uniquement liée à l'augmentation de l'âge des boues ou y a-t-il d'autres mécanismes ayant un rôle significatif ?

Les mécanismes responsables de la réduction de production de boues ne sont pas forcément les mêmes selon le type de bioréacteur à membranes. Par exemple, dans les systèmes à filtration tangentielle les contraintes de cisaillement élevées modifient la structuration des floes, probablement leur composition et donc la production de boues. La nature des effluents (urbain, synthétique, industriel) peut également modifier considérablement les stœchiométries de production de boues. La composition microbienne des boues intervient également. Tous ces aspects sont développés dans cette partie.

### a. Effet des paramètres opératoires - l'âge des boues

Il est évident que l'augmentation du temps de séjour des boues ou la réduction de la charge massique d'un procédé provoque la réduction de la production de boues (Tableau I.13) :

Tableau I.13 : Production de boues observée pour différents âges de boues (Cicek et al. 2001)

$TSB (j)$	$Y_{obs} (g_{MVS} \cdot g_{DCO\text{éliminée}}^{-1})$
30	0,27
20	0,30
10	0,32
5	0,37
2	0,46

Les procédés membranaires sont capables de fonctionner à de forts âges de boues. Il est donc fréquent de voir des productions de boues inférieures dans les BAM par rapport aux procédés classiques (bassin biologique + décanteur). Ainsi, Rosenberger et al. (2002) ou Pollice et al. (2004) ont étudié des systèmes à rétention totale de boues traitant des eaux usées domestiques. Ils obtiennent des rendements de production de boues proches de 0 pour Rosenberger et al. (2002) et  $0,12 \text{ g}_{\text{MVS}} \cdot \text{g}_{\text{DCO}}^{-1}$  éliminée pour Pollice et al. (2004). En comparaison, un système à boues activées classique fonctionnant à faible charge produit environ  $0,15\text{-}0,3 \text{ g}_{\text{MVS}} \cdot \text{g}_{\text{DCO}}^{-1}$ . (Ekama et Marais, 1984 ; Daigger et Buttz, 1992). Stephenson et al. (2000) après une étude bibliographique concluent que peu, voire aucune boue n'est produite par un BAM dès lors que la charge massique appliquée est inférieure à  $0,01 \text{ kg}_{\text{DCO}} \cdot \text{kg}_{\text{MES}}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$ . L'âge des boues élevé entraîne une baisse importante de la fraction active de la boue et de l'activité microbienne spécifique (Lee et al. 2003). Dans ces conditions de rétention extrême il faut alors tenir compte de la biomasse inactive pour estimer la production de boues.

Toutefois, est-ce que la différence de production de boues entre les procédés biologiques tient seulement à la différence d'âge des boues ? En effet, le fait d'introduire une séparation membranaire au sein du milieu biologique pourrait-il modifier les cinétiques de production de boues ? Sur de faibles âges de boues, un bioréacteur à membranes et un procédé conventionnel à boues activées alimentés par le même effluent synthétique semblent avoir des productions de boues similaires (Figure I.13).

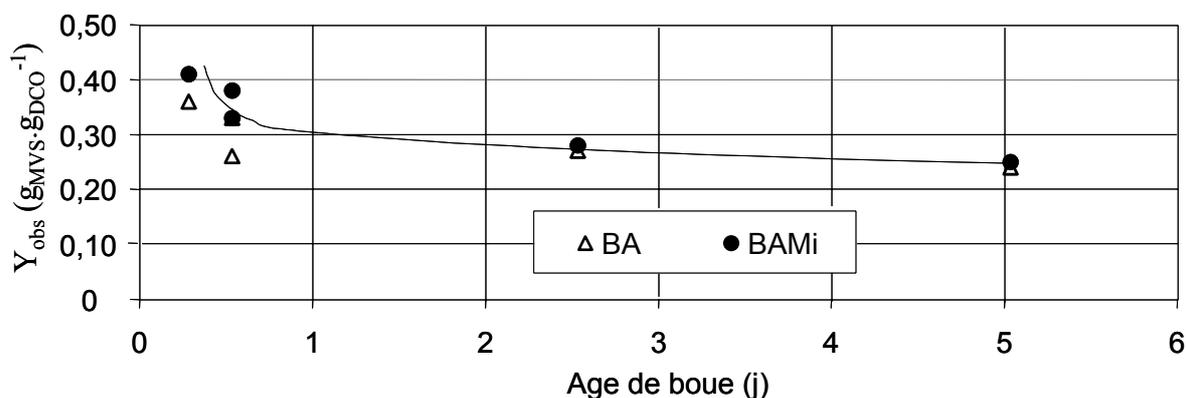


Figure I.13: Comparaison entre BA et BAM de la production de boues (Ng et Hermanowicz 2004)

Peu de travaux comparent la production de boues engendrée par des réacteurs fonctionnant dans les mêmes conditions et alimentés avec la même eau usée alors que cela est primordial, en particulier à forts âges de boues. La comparaison des travaux de la littérature montre que l'âge de boues n'est pas le seul paramètre influant sur la production de boues. Cicek et al. (1999), par exemple, obtiennent une production de boues inférieure ( $0,22 \text{ kg}_{\text{MVS}} \cdot \text{kg}_{\text{DCO}}^{-1}$ ) dans un BA d'âge des boues de 20 jours comparé à un BAME fonctionnant à 30 jours d'âge des

boues ( $0,27 \text{ kg}_{\text{MVS}}.\text{kg}_{\text{DCO}}^{-1}$ ). Le taux de décroissance dans le BAM est donc plus faible que dans le réacteur à boues activées alors qu'il fonctionne à un âge de boues plus élevé. **L'âge de boues n'est donc pas le seul paramètre influant sur la production de boues. Pour comprendre les phénomènes impliqués dans la production de boues, il faut donc également éclaircir le rôle respectif de la typologie de l'effluent, de l'écosystème biologique et de la membrane.**

### **b. Rôle joué par les micro-organismes supérieurs**

Parmi les micro-organismes supérieurs, les protozoaires sont des micro-organismes unicellulaires eucaryotes. Toutes les formes de nutrition existent chez les protozoaires. Toutefois, la majorité des espèces est hétérotrophe. Ils ingèrent la matière organique ou agissent comme prédateurs des bactéries, des algues microscopiques ou d'autres protozoaires. Pour la plupart d'entre eux, les bactéries constituent la base de la ration alimentaire. Ainsi, Luxmy et al. (2000) montrent que dans un BAM une augmentation du nombre de prédateurs correspond à une diminution du nombre de floes de  $10 \mu\text{m}$  et à une diminution de la population bactérienne de  $1 \mu\text{m}$ . En d'autres termes, les petits floes ( $<10 \mu\text{m}$ ) contenant les petites bactéries ( $1 \mu\text{m}$ ) sont les plus sujets à la prédation. Les protozoaires participent donc à la clarification de l'eau et peuvent intervenir dans la production de boues.

Ghyoot et Verstraete (1999) obtiennent une production de boues de 20 à 30% moins importante avec un réacteur configuré en BAM (réacteur bi-étagé) alors que celui-ci fonctionne à la même charge massique et au même âge de boues ( $\text{TSB}=24\text{-}25$  jours et  $C_m=0,23\text{-}0,24 \text{ g}_{\text{DCO}}.\text{g}_{\text{MES}}^{-1}.\text{j}^{-1}$ ), qu'un réacteur à boues activées bi-étagé. Cette baisse de production de boues est reliée à la présence en quantité plus importante de protozoaires et de métazoaires au sein du milieu biologique du BAM ; les phénomènes de prédation, où les bactéries actives ou inertes sont utilisées dans des réactions trophiques (comme source de nourriture) sont alors augmentés. La lyse des cellules libère le matériel intracellulaire dans le milieu biologique et fournit ainsi un substrat autochtone pour le métabolisme bactérien : la production de boues observée est alors réduite.

Ratsak et al. (1994) rapportent ainsi une baisse de production de boues de 12% à 43% lors de l'emploi de *Tetrahymena pyriformis cilié* (protozoaire) comme prédateur de *Pseudomonas fluorescens*. Cicek et al. (1999) observent une plus grande quantité de ciliées (protozoaires) et de Nématodes dans les boues venant d'un réacteur à boues activées (âge de boues de 20 jours) que dans un BAME (âge de boues de 30 jours). Au final, ils trouvent une production de boues moindre avec le réacteur à boues activées et l'expliquent par la présence en plus grand nombre de bactéries ciliées.

### c. Influence des caractéristiques de l'eau à traiter

Les caractéristiques de l'eau à traiter influencent les valeurs de production de boues. Ainsi, Ekama et Marais (1984) mettent en évidence l'importance de la teneur en matière organique particulaire dans l'eau usée sur le rendement de production de boues. Ils constatent, par exemple, que le traitement moyenne charge d'une eau usée non-décantée entraîne une production de boues de 0,8 à 1,0  $\text{mg}_{\text{MES}} \cdot \text{mg}_{\text{DBO5}}^{-1}$  contre 0,6 à 0,8  $\text{mg}_{\text{MES}} \cdot \text{mg}_{\text{DBO5}}^{-1}$  pour une eau usée décantée.

Salhi (2003), lors de la simulation d'un procédé biologique à rétention de biomasse par un modèle de mort/régénération (ASM1), a étudié l'influence de la fraction inerte des ERU ( $f_{\text{Xi}}$ ) sur la production de boues (Figure I.14).

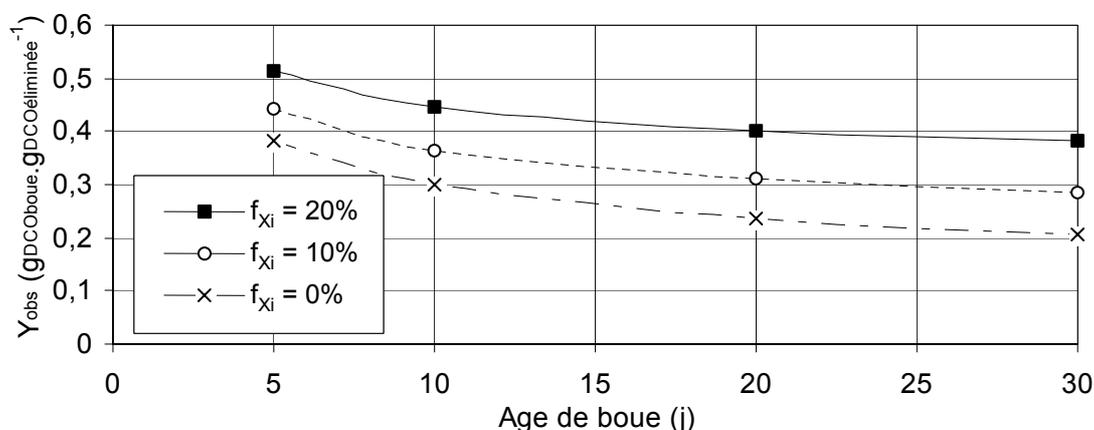


Figure I.14 : Evolution du rendement de production des boues en fonction de l'âge de boues pour différentes teneurs en matière organique inerte ( $X_i$ ) dans l'eau à traiter –  $f_{\text{Xi}} = \text{DCO}_{\text{inerteERU}} / \text{DCO}_{\text{totERU}}$

Pour un âge de boues de 12 jours, une eau contenant 20% de composés inertes ( $X_i$ ) conduit à un  $Y_{\text{obs}}$  de 0,43  $\text{g}_{\text{DCO}} \cdot \text{g}_{\text{DCO}_{\text{éliminée}}}^{-1}$  contre seulement 0,35  $\text{g}_{\text{DCO}} \cdot \text{g}_{\text{DCO}_{\text{éliminée}}}^{-1}$  si l'eau usée ne contient que 10% de  $X_i$ . Il en ressort que la production de boues dépend du type d'effluent et donc du substrat à traiter. La fraction "inerte" a notamment une influence majeure.

Concernant les matières minérales particulières, cette fraction de la boue est souvent estimée par bilan matière entre les matières minérales entrantes et celles purgées avec les boues. Ceci conduit théoriquement à une augmentation de la fraction minérale des MES avec l'âge des boues. Toutefois, Pollice et al. (2004) constatent que le rapport  $\text{MM}_{\text{entrée}} / \text{MM}_{\text{boue}}$  ( $\text{MM}$  étant les matières minérales en suspension) reste égal à 44% sur toute la durée de fonctionnement d'un BAM alimenté en eau usée municipale prédécantée. Ils concluent que la fraction de composés minéraux inertes entrant dans le réacteur ne s'accumule pas dans les boues et est probablement solubilisée en produisant des composés ayant une taille moléculaire leur

permettant de passer à travers la membrane. Rosenberger et al. (2002) constatent également un ratio MVS/MES constant et égal à 70% durant tout le fonctionnement d'un BAM.

Afin de solubiliser les matières particulières présentes dans les boues, plusieurs auteurs ont utilisé une désintégration physique ou chimique de la matière. La solubilisation de la matière organique est associée soit à une lyse cellulaire soit à une déstabilisation de la matière particulaire difficilement hydrolysable. Ainsi, des méthodes thermiques (hydrolyse), mécaniques (ultrasons, homogénéisateur à haute pression), chimiques et thermochimiques (hydrolyse avec de l'acide sulfurique ou de la soude, oxydation...) ou biologiques (hydrolyse enzymatique) ont démontré leur efficacité en matière de réduction de la production de boues (Salhi 2003). Cependant, ces méthodes engendrent parfois un coût élevé, une chute des performances d'épuration et surtout la formation de sous-produits.

#### **d. Rôle de la membrane**

La présence de la membrane permet aux BAM de fonctionner avec des âges de boues plus élevés que dans les procédés classiques d'épuration. La production de boues est donc réduite. On peut également se demander si la membrane permet de retenir des enzymes qui sont lessivées dans les procédés conventionnels. En effet, Cicek et al. (1999) observent en régime stabilisé une activité enzymatique des boues venant d'un BAME supérieure à celles des boues d'un réacteur à boues activées. Aucune activité enzymatique n'est détectée dans l'effluent du BAME contrairement à l'effluent du réacteur à boues activées. Une partie de l'activité enzymatique est donc perdue dans la fraction non décantable du réacteur à boues activées contrairement au BAME. Ces auteurs montrent que les boues du BAME dégradent la totalité des 96 substrats carbonés, contre 84% avec une boue du réacteur à boues activées. Le BAME est donc capable de dégrader une plus large variété de substrats carbonés, ce qui peut modifier les rendements de production de biomasse.

Signalons également que la membrane permet l'accumulation de substances organiques de petite taille (colloïdales et solubles) qui peuvent inhiber une partie de l'activité enzymatique de la deshydrogénase (activité déterminée par mesure de l'absorbance lors de la réduction du 2,3,5 triphényltetrazolium chloride (TTC)) (Huang et al. 2000).

### III. Caractérisation du colmatage

Ce paragraphe a pour objectif de faire le point sur l'état des connaissances sur les phénomènes de colmatage dans les bioréacteurs à membranes (Figure I.15). Pour cela, nous décrivons dans un premier temps les mécanismes de colmatage. Quels pourraient être les composés qui colmatent, dans quels cas et comment le feraient-ils ? Dans un deuxième temps, nous nous attachons à décrire l'influence de quelques paramètres sur le colmatage. Pour chaque paramètre étudié, nous décrivons sur quels mécanismes de colmatage celui-ci va agir. A terme, ce chapitre doit aider au choix des paramètres à analyser pour décrire le colmatage, ce qui fera l'objet du chapitre V de ce manuscrit, et fournir les éléments essentiels pour le caractériser.

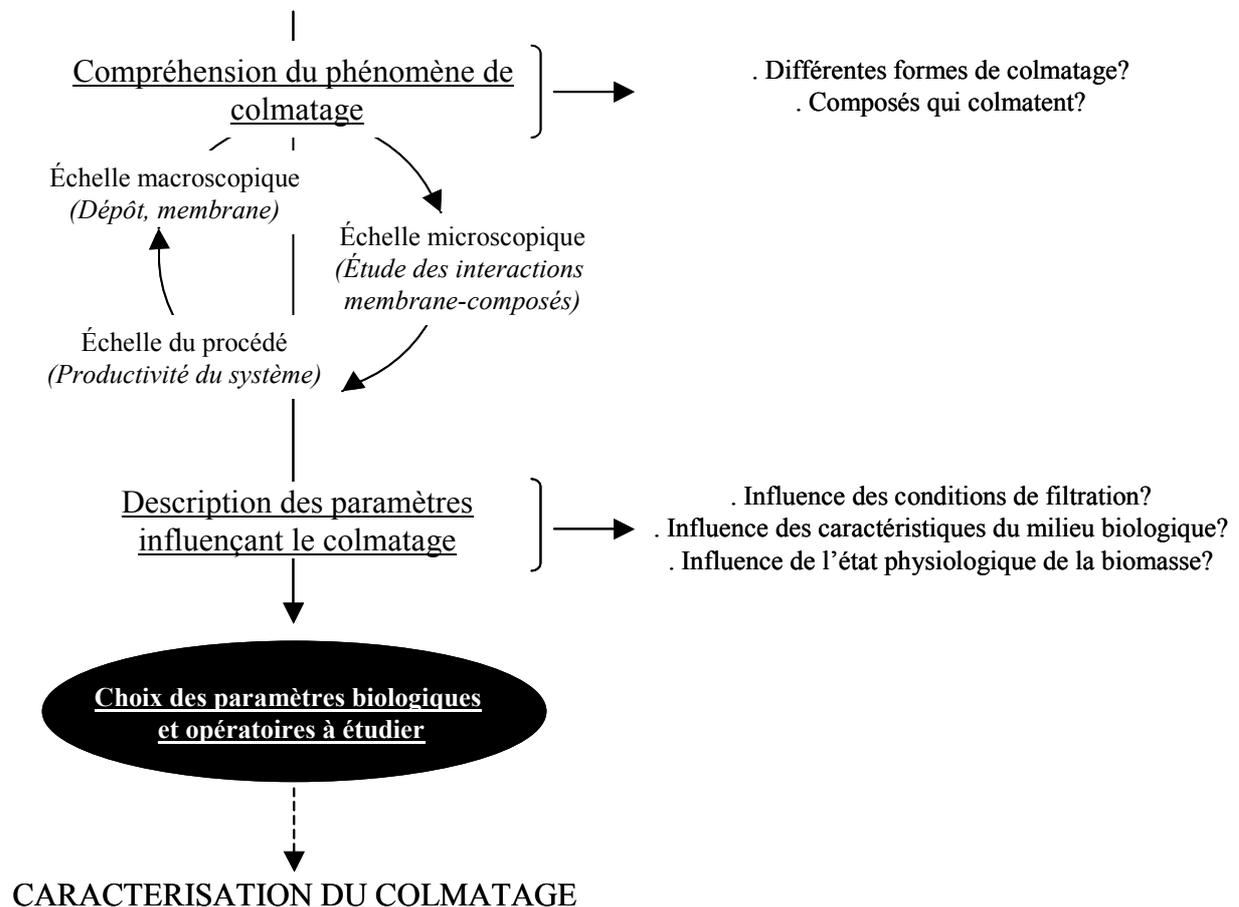


Figure I.15: Démarche suivie pour évaluer les possibilités de minimiser le colmatage

## 1. Description des mécanismes de colmatage

Les bioréacteurs à membranes les plus étudiés reposent sur l'utilisation de membranes d'ultrafiltration ou de microfiltration. La perméation est assurée en appliquant un gradient de pression de part et d'autre de la membrane. Il s'agit donc d'un procédé de filtration dit "barométrique".

Pour ces procédés, lors de la filtration d'un solvant pur (eau) le flux de perméat est relié à la pression transmembranaire (pression différentielle de part et d'autre de la membrane) par la loi de Darcy :

$$F_p = \frac{PTM}{\mu \cdot R_m} \quad (I.10)$$

Avec  $F_p$  : flux de perméat ( $m^3 \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ )

PTM : pression transmembranaire (Pa)

$\mu$  : viscosité du perméat à la température de filtration (Pa·s)

$R_m$  : résistance hydraulique de la membrane ( $m^{-1}$ )

Cependant, l'utilisation d'un milieu poreux comme les membranes est limitée par le phénomène de colmatage, en particulier pour le traitement des eaux usées. Le colmatage se traduit par une diminution du flux de perméat pour une filtration à pression constante, ou une augmentation du gradient de pression lors d'une filtration à flux de perméat constant. Lors de la filtration d'un fluide biologique, le colmatage intervient souvent dès les premières minutes de filtration (Ueda et Horan 2000) et modifie la sélectivité de la membrane. Ueda et Horan (2000) observent ainsi une augmentation rapide de l'élimination des virus (au bout de 10 min) alors que leur taille est inférieure à celle des pores de la membrane (0,2  $\mu m$  pour les virus contre 0,4  $\mu m$  pour les pores de la membrane).

Le colmatage résulte d'interactions physiques, chimiques et biologiques entre le milieu biologique et le matériau membranaire et peut être de nature inorganique (dépôt de particules, formation de struvite, de  $CaCO_3$ , de précipité de sels...) et/ou organique (biofilm, EPS...) (Judd 2004 ; Ognier et al. 2002).

Le colmatage se traduit par un écart à la linéarité entre le flux de perméat et la pression transmembranaire. La loi de Darcy n'est donc plus vérifiée. Ce phénomène est visible après les premières minutes de filtration (Figure I.16).

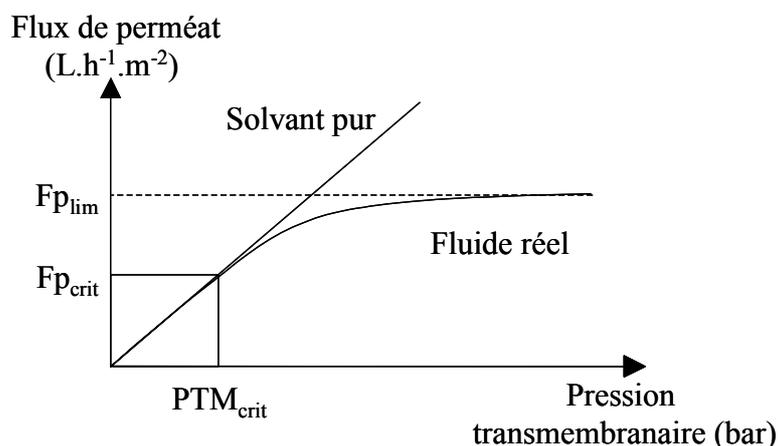


Figure I.16: Flux de perméat et pression transmembranaire pour un solvant pur et pour un fluide réel

Le comportement d'un fluide réel lors d'une ultrafiltration ou micro-filtration est donc différent d'un solvant pur. Dès qu'un fluide réel est filtré, deux valeurs de flux peuvent être définies :

- un flux limite ( $F_{p_{lim}}$ ) indépendant de la pression transmembranaire. Ce flux est le flux maximal qu'il est possible d'atteindre.
- un flux critique ( $F_{p_{crit}}$ ) correspondant au flux au delà duquel commence à apparaître le colmatage. Pour certains auteurs, le flux critique correspond au flux à partir duquel une baisse de la perméabilité des membranes est observée, c'est-à-dire le flux en dessous duquel le rapport Flux/PTM reste constant (Field et al. 1995 ; Cho et Fane 2002a,b).

Il apparaît que la notion de flux critique est différente suivant les auteurs. De plus, cette notion est critiquable dès lors que la filtration concerne des suspensions biologiques ou une filtration frontale car le colmatage est alors inévitable et le flux critique tend vers 0. La tendance actuelle est de considérer un flux soutenable, c'est-à-dire le flux qu'il est possible de maintenir au cours de la filtration, en jouant sur certains paramètres opératoires (Howell 2004).

Lors de l'apparition du colmatage, une résistance additionnelle à celle de la membrane apparaît. Le flux de perméat peut alors être décrit en utilisant le modèle des résistances en série (I.11) :

$$F_p = \frac{PTM}{\mu \cdot (R_m + R_c)} \quad (I.11)$$

Avec  $R_c$  : résistance de colmatage ( $m^{-1}$ )

Il existe différentes formes de colmatage selon la nature de la matière colmatante et son mode d'interaction avec la membrane (Figure I.17).

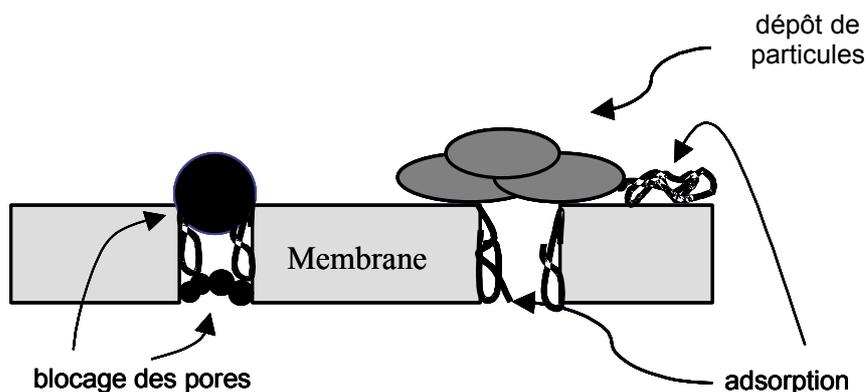


Figure I.17: Description des différents mécanismes de colmatage

Le **dépôt en surface de la membrane**: les matières en suspension au sein de la liqueur mixte (particules, bactéries, etc...) sont soumises à différentes forces entraînant leur dépôt sur la membrane ou au contraire provoquant leur rétrotransport (force de gravité, force de Van der Waals, force de convection, force de flottabilité, etc...). Le dépôt est constitué de macro-particules ou de micro-particules et peut piéger en son sein des composés solubles adsorbés ou non qui relient des particules entre elles par des interactions de type électrostatique. Des études récentes ont montré que le dépôt peut se structurer au cours de la filtration (croissance d'un biofilm, compression du dépôt, etc...)( Wiesner et al. 2004). Le dépôt forme une deuxième couche filtrante, dont la taille des pores peut être inférieure à celle de la membrane et dont la résistance s'ajoute à celle de la membrane ( $R_m$ ). Le dépôt contribue donc à la fois à limiter la perméabilité de la membrane et à augmenter la rétention de certains composés. Ainsi, Huang et al. (2000) notent la présence de substances solubles de masse molaire inférieure à 3 kDa, c'est-à-dire présentant un diamètre moléculaire entre 0,001 et 0,01  $\mu\text{m}$ , dans le surnageant des boues d'un BAM équipé de membranes de 0,1  $\mu\text{m}$  de diamètre des pores.

En filtration frontale et en l'absence de prévention contre le colmatage, la résistance à la filtration due au dépôt (exclusion stérique ou adsorption sur gâteau) est souvent supérieure à celle due à l'adsorption sur la membrane (Chang et al. 2001). Dans le cas de Chang et al. (2001), c'est-à-dire lors d'une filtration frontale d'une boue (âge de boues = 10 jours ;  $F/M = 0,19 \text{ kg}_{\text{DCO}} \cdot \text{kg}_{\text{MES}}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$ ) sous 1,4 bars, dans une cellule de filtration agitée (140 rpm), le dépôt engendre une résistance d'environ  $30 \cdot 10^{11} \text{ m}^{-1}$  contre environ  $0,4 \cdot 10^{11} \text{ m}^{-1}$  pour l'adsorption sur le matériau membranaire.

Par ailleurs, dans le cas spécifique de la filtration d'une eau usée, un dépôt de type biologique est observé. Sa force d'adhésion et sa morphologie dépendent d'un grand nombre de facteurs liés à la membrane (hydrophobicité, matériau, porosité, etc...), aux micro-organismes (espèces, hydrophobicité, phase de croissance, etc...) et aux conditions physico-chimiques et hydrodynamiques (pH, température, pression, vitesse d'écoulement, etc...). Le dépôt formé est issu de la colonisation par les micro-organismes de la surface de la membrane et provoque la formation d'un biofilm. Flemming et Schaule (1988) rappellent que même lorsqu'une cellule bactérienne est morte, elle peut adhérer au matériau membranaire. Dans ce cas, la "colonisation" de la membrane par les bactéries ne s'effectue plus grâce à la croissance bactérienne, mais par des mécanismes tels que l'adsorption.

Les espèces microbiennes du biofilm peuvent être différentes de celles de la liqueur mixte (Jinhua et al. 2004). Les micro-organismes du biofilm sécrètent des exopolymères qui tendent à structurer le dépôt et facilitent son adhésion au matériau membranaire. Ainsi, Jinhua et al. (2004) mettent en évidence la présence de l'espèce *Xanthomonas* au sein du biofilm, alors qu'elle est absente de la solution filtrée. On observe alors une production de gomme de Xanthan, polysaccharide à haute masse moléculaire responsable de la cohésion, de la structuration et de l'adhésion du biofilm. Ces exopolymères s'insèrent dans les interstices entre les particules du dépôt et augmentent sa résistance à la filtration (Hodgson et al. 1993).

Le **blocaje de pores** : il s'agit ici d'une obstruction des pores de la membrane par des espèces particulaires ou colloïdales, de façon partielle ou totale. Il peut se produire à l'intérieur des pores par des composés de taille inférieure ou voisine à celle des pores et concerne uniquement les membranes de microfiltration. Le blocage des pores dépend de la taille et de la forme relative des particules et des pores ainsi que des conditions hydrodynamiques au voisinage des pores et au sein du milieu biologique.

L'**adsorption** : elle est due aux interactions d'ordre physico-chimiques entre certaines espèces et la membrane. Elle correspond à la formation d'une ou plusieurs couches moléculaires à la surface du matériau membranaire ou sur/dans le gâteau de filtration. Il y a alors un changement de densité et de taille des pores d'où une modification du transfert de soluté au travers du milieu filtrant. Ce type de colmatage est dit irréversible car il ne peut être éliminé de la membrane par des méthodes hydrauliques. Les interactions rencontrées ici sont généralement fortes et nécessitent des lavages chimiques pour la régénération des membranes.

Les paramètres influençant l'adsorption monocouche ou multicouche correspondent généralement à ceux qui réduisent la stabilité des molécules et du matériau :

- la nature du matériau : l'adsorption des solutés sur le matériau membranaire est souvent plus importante pour une membrane hydrophobe comparée à une membrane hydrophile (Chang et al. 2001). Crozes et al. (1994), en comparant la filtration d'une solution à 30 mg.L<sup>-1</sup> de dextran avec celle d'une solution à 30 mg.L<sup>-1</sup> en acide tannique, montrent qu'une membrane hydrophobe est plus sensible à l'adsorption des composés organiques qu'une membrane hydrophile,
- la polarité des molécules : Crozes et al. (1993) observent une adsorption de T<sub>10</sub> dextran dix fois plus faible que celle d'acide tannique lorsqu'ils filtrent de telles solutions à des concentrations allant de 10 à 40 mg.L<sup>-1</sup>,
- la concentration en électrolytes : l'absence ou la trop grande concentration d'électrolytes conduit à des modifications de l'intensité de l'adsorption,
- le pH : une modification du pH de la solution change également la charge de surface des molécules et de la membrane,
- la polarisation de concentration : ce facteur déplace les équilibres d'adsorption et accélère leurs cinétiques (voir définition en fin de paragraphe).

Aux phénomènes de colmatage se superpose un autre mécanisme pouvant modifier le transfert de matière dans les membranes d'ultrafiltration. Il s'agit de la **polarisation de concentration**. Ce phénomène résulte de l'accumulation de solutés (substances dissoutes tels que des sels, des macromolécules) à la surface de la membrane induisant dès le début de la filtration un gradient de concentration entre la paroi de la membrane et la solution ; un équilibre entre l'apport de matière par le flux convectif (sous l'action du flux de perméat) et la rétrodiffusion (sous l'effet du gradient de diffusion) s'établit pour donner lieu à la polarisation de concentration. Si la concentration en soluté au voisinage de la membrane atteint la limite de solubilité, ces molécules précipitent et forment un dépôt ou un gel suivant le type de molécules. Par conséquent, tout paramètre modifiant la limite de solubilité de l'espèce (pH, température, etc...) aura une répercussion sur la polarisation de concentration.

Le colmatage est donc provoqué par différentes espèces, avec des mécanismes variés, et induit des changements importants des propriétés filtrantes de la membrane. Deux types de colmatage sont définis:

- **Colmatage réversible** : ce colmatage est éliminé par simple lavage hydraulique ou à l'air, ou par rétrolavage à l'eau (passage du fluide en sens inverse de celui

utilisé lors de la filtration) et permet surtout d'éliminer le dépôt en surface (lorsque les forces d'adhésion sont faibles) et le bouchage des pores.

- **Colmatage "irréversible"** : il ne peut être éliminé que par une modification importante des propriétés thermodynamiques du système, c'est-à-dire, un apport d'énergie chimique pour rompre les liaisons molécules adsorbées/membranes.

Il est à noter que les mécanismes de colmatage pourraient également être différenciés suivant le type d'interactions (hydrophobe, électrostatique, etc...) entre les composés et le matériau membranaire. Tsuneda et al. (2003) donnent un exemple d'interactions pouvant exister entre membrane et particules après avoir étudié les relations existantes entre les propriétés de 27 souches de bactéries hétérotrophes et leur adhésion sur des billes de verre de 0,1 mm. Même si les interactions décrites ici ne concernent pas les membranes, cet exemple permet de rendre compte du type de liens pouvant exister entre un matériau et un milieu biologique. Tsuneda et al. (2003) constatent que suivant la quantité d'EPS<sub>liés</sub> présents au sein des souches, deux modes d'interactions entre billes de verre et cellules peuvent exister :

-interactions électrostatiques : ce type d'interaction a lieu dès lors que la quantité en EPS<sub>liés</sub> est faible. Une relation linéaire est obtenue entre le potentiel zéta des cellules et le pourcentage de cellules retenues sur les billes. Les billes étant chargées négativement (-29 mV) lorsque le potentiel zéta passe de -50 à 0 mV, le pourcentage de cellules retenues par les billes passe de 10 à 50%.

-interactions polymériques : ce type d'interactions intervient surtout lorsque la quantité d'EPS est élevée (supérieure à 100 mg.g<sub>cellules</sub><sup>-1</sup>). Une forte corrélation existe entre la quantité d'hexose et de pentose, c'est-à-dire les polysaccharides, et le pourcentage de cellules adhérentes. Les polysaccharides à la surface des cellules agissent alors comme des polyélectrolytes adsorbés à la surface des cellules. Les groupements hydrophobes et polaires des EPS pourraient alors intervenir dans ce type d'interactions.

Lors de la description des interactions intervenant dans le colmatage, nous nous sommes surtout focalisés sur celles existant entre le matériau membranaire et le milieu biologique. Il faut également rappeler que ces mêmes interactions peuvent exister entre "particules" et participer à la structuration du dépôt.

## 2. Paramètres influençant le colmatage

Le colmatage est lié à un ensemble d'interactions faisant intervenir le milieu biologique (les débris cellulaires, les exopolymères, les bactéries libres, les floccs, les précipités) et la membrane (nature chimique, porosité, géométrie). L'étendue et l'intensité des interactions dépendent également des conditions opératoires de filtration et de l'hydrodynamique du système. Ce paragraphe traite donc successivement de l'influence des caractéristiques de la membrane et des conditions opératoires (partie procédé) puis de l'influence des caractéristiques du milieu biologique (partie bio-chimie) sur le colmatage.

### a. Influence des conditions de filtration

#### a.1 Nature chimique et physique de la membrane

La nature chimique du matériau membranaire ainsi que sa porosité ou sa géométrie ont une influence sur les mécanismes de colmatage.

L'hydrophobicité du matériau apparaît notamment comme un paramètre clé pour la rétention de composés et l'intensité du colmatage. Ainsi, Chang et Lee (1998) lors de la filtration à pression constante (1,4 bar) et sous agitation (140 rpm) de boues ayant des temps de séjour différents, montrent que la résistance du colmatage externe par une boue activée est liée aux propriétés de surface du matériau membranaire (filtration des boues dont la concentration en MES a été ajustée à 3,5 g.L<sup>-1</sup> – filtration jusqu'à un facteur de concentration volumique de 5) (Tableau I.14).

Tableau I.14: Lien entre résistance du gâteau et propriétés de surface d'une membrane lors de la filtration d'une boue (Chang et Lee 1998)

<i>Résistance du gâteau (*10<sup>11</sup> m<sup>-1</sup>)</i>		
<i>Age de boues (j)</i>	<i>Membrane YM30 (30 kDa)</i>	<i>Membrane PM30 (30 kDa)</i>
3	72	110
8	31	45
33	9	22

Hydrophobicité : YM30 : membrane totalement mouillée – PM30 : angle de contact de 66°

Ainsi, quel que soit l'âge des boues entre 3 et 33 jours, la résistance du gâteau de filtration est la plus élevée pour la membrane la plus hydrophobe. Chang et Lee (1998), lors de la filtration d'une boue moussante (foaming), observent également une résistance du gâteau supérieure pour la membrane la plus hydrophobe. La quantité de matière déposée et/ou la structuration du dépôt sont donc différentes suivant la nature chimique de la membrane. Augmenter le taux de rétention de composés peut entraîner une structuration différente du dépôt, en particulier dans le cas de dépôts compressibles et réciproquement, changer les caractéristiques du dépôt peut modifier le taux de rétention de certains composés. Ainsi, Chang et al (2001), avec la même cellule de filtration et les mêmes conditions opératoires que précédemment (voir ci-dessus) et des membranes de même seuil de coupure (30 kDa), constatent que lors de la filtration de boues ayant des états physiologiques différents (boue moussante, foisonnement des boues, boue en phase de croissance exponentielle, boue en phase endogène, etc...), la membrane la plus hydrophobe (angle de contact égal à  $66^\circ$ ) présente un taux de rétention de la DCO soluble supérieur à la membrane très hydrophile (lors du dépôt d'une goutte d'eau sur la membrane celle-ci est totalement mouillée).

L'hydrophobicité de la membrane peut donc modifier les performances d'un procédé membranaire et la nature chimique de la membrane peut déterminer en partie la propension d'une membrane à colmater.

La taille des pores de la membrane a également une influence sur le colmatage. En effet, le diamètre des pores de la membrane détermine le taux de rétention des composés. Ainsi, l'utilisation d'une membrane d'ultrafiltration à la place d'une membrane de microfiltration peut provoquer la rétention de plus petits composés. L'effet du diamètre des pores sur le colmatage est donc, a priori, surtout visible dans les premiers instants de la filtration car ensuite la rétention est surtout dictée par les caractéristiques du dépôt. Hong et al. (2002), lors de la filtration d'une suspension biologique avec des membranes fibres creuses en polysulfone constatent une vitesse initiale de chute du flux de perméat accrue quand le diamètre moyen des pores augmente ( $0,01\mu\text{m}$  ;  $0,1\mu\text{m}$  ;  $10\text{kDa}$  et  $30\text{kDa}$ ). Cette chute rapide est due au blocage des pores durant la phase initiale de filtration.

De même que le diamètre des pores, la configuration des membranes modifie les mécanismes de colmatage. Ainsi, Hong et al. (2002) constatent que, lors de la filtration externe/interne avec un faisceau de fibres tendues, la chute initiale du flux de perméat est plus élevée qu'avec le même faisceau où les fibres sont libres et peuvent bouger. L'utilisation d'une membrane

plane à la place d'une membrane fibre creuse entraîne également une différence de colmatage, à cause de la différence des propriétés hydrauliques au voisinage de la membrane.

En conclusion, beaucoup de facteurs liés à la nature chimique, physique de la membrane et à sa configuration influencent les mécanismes et l'intensité du colmatage. Le choix des caractéristiques de la membrane dans le but de minimiser le colmatage reste délicat. Ce choix doit se faire au cas par cas et dépend des caractéristiques du milieu biologique et des conditions opératoires adoptées.

## **a.2 Les conditions opératoires de filtration**

Pour s'opposer au colmatage, des actions curatives ou préventives doivent être effectuées. La prévention du colmatage passe notamment par le choix difficile des conditions opératoires de filtration. Loin d'être exhaustif, ce paragraphe dégage les principaux paramètres opératoires devant être optimisés ou influant sur le colmatage. L'optimisation des paramètres doit permettre d'éviter ou de retarder le colmatage tout en préservant la viabilité économique du procédé.

### **● Choix du flux de perméation**

Le choix de ce paramètre s'avère primordial pour l'optimisation du procédé (Germain et al. 2004 ; Gui et al. 2002). Il influence notamment la dynamique du colmatage à court terme et à long terme (vitesse de colmatage). Dans un BAMI, lors des phases de filtration, toute l'eau entrant dans le système est éliminée sous forme de perméat. Toutes les particules et colloïdes et une partie des composés solubles sont retenues par l'ensemble membrane + dépôt. Il y a donc lors de la filtration une accumulation de matière qui génère un colmatage croissant au cours du temps. Pour une filtration à flux constant ceci peut se traduire par une augmentation de pression transmembranaire au cours de la filtration.

Plus le flux de perméat imposé est grand, plus l'accumulation de matière est forte et donc plus le colmatage sera important, les autres conditions opératoires étant constantes.

Certains auteurs ont clairement montré que, pour un milieu biologique donné, la vitesse de colmatage augmente avec le flux de perméat (Ognier et al. 2002, Germain et al. 2004). Par exemple, Gui et al. (2002) trouvent que pour des concentrations en MES, de  $1 \text{ g.L}^{-1}$  ou de  $10 \text{ g.L}^{-1}$ , le facteur influençant le plus la vitesse de colmatage dans un BAMI traitant de l'eau usée domestique est le flux de perméat : augmenter le flux de  $3$  à  $10 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$  augmente la vitesse de colmatage. Cependant, à des flux élevés, le colmatage interne peut avoir lieu plus rapidement.

Pour de faibles flux (aux alentours de  $10 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$  dans le cas de Germain et al. 2004 avec une membrane de diamètre de pores de  $0,1 \mu\text{m}$  (Figure I.18), le transfert par convection de la biomasse vers la membrane peut dans certains cas devenir négligeable et le colmatage progressif est alors essentiellement dû aux composés solubles, aux précipités et au biofilm.

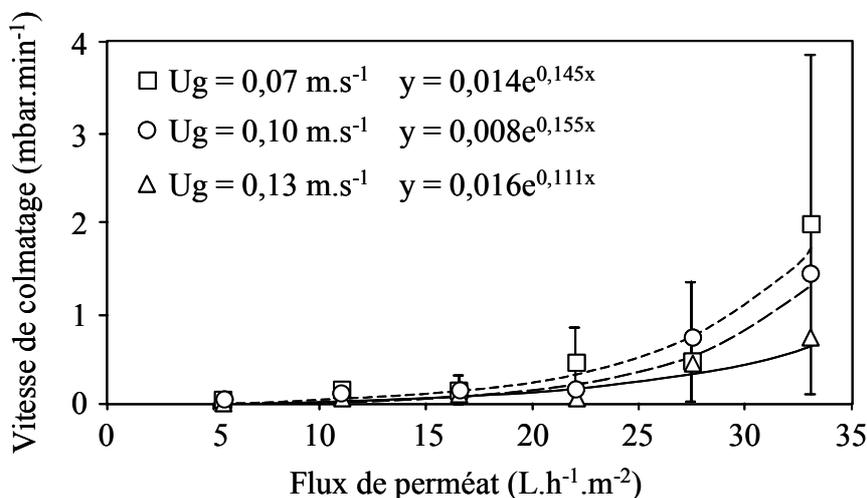


Figure I.18: Evolution de la vitesse de colmatage en fonction du flux de perméat (Germain et al. 2004)  
 –  $U_g$  : vitesse de l'air – filtration pendant 15 minutes

En outre, travailler à des flux extrêmes entraîne une perte de productivité du procédé :

- faible flux : colmatage souvent retardé mais flux global faible, donc procédé extensif,
- flux élevé : flux instantané élevé mais nécessité d'arrêts fréquents de la production pour décolmater.

Depuis quelques années, la tendance est de faire fonctionner les BAM plutôt à de faibles flux de manière à limiter le colmatage. Les conditions de perméation recherchées sont alors des conditions dites "sous-critiques". Le flux critique correspond au flux en dessous duquel aucun colmatage n'est observé.

En pratique, dans les BAM pour des eaux résiduaires urbaines les flux critiques sont très faibles (entre  $2$  et  $10 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ ) et souvent de l'ordre de grandeur de la précision sur la mesure du flux de perméat.

Germain et al. (2004) trouvent qu'au-dessus d'un flux critique ou flux transitoire (flux à partir duquel l'augmentation de la vitesse de colmatage devient exponentielle), 40% de la variation de la vitesse de colmatage est expliquée par le flux de perméat ( $F_p$  en  $\text{L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ ), la concentration en MES (MES en  $\text{g.L}^{-1}$ ), la concentration en carbohydrates des EPS<sub>liés</sub> (EPS<sub>carbohydrate</sub> en  $\text{mg.g}_{\text{MES}}^{-1}$ ) et la vitesse superficielle de l'air ( $U_g$  en  $\text{m.s}^{-1}$ ) (Equation I.12).

$$\text{Vit colmatage} = -3,26 + (0,11 F_p) + (0,09 \text{ MES}) + (0,11 \text{ EPS}_{\text{carbohydrate}}) - (8,53 U_g) \quad (\text{I.12})$$

Au-dessous de ce flux transitoire, ils n'obtiennent aucune relation entre les différents paramètres et la vitesse de colmatage. De façon générale, la connaissance des comportements pour des flux "sous-critiques, reste assez méconnue. Le flux de perméat doit être optimisé afin de maintenir en relation avec d'autres paramètres du procédé (en particulier l'aération) une productivité satisfaisante du procédé, c'est-à-dire que l'on vise maintenant à atteindre des objectifs de flux dits "soutenables".

#### ● Choix de l'intensité de l'aération

L'injection d'air sous forme de grosses bulles dans le compartiment concentrat est régulièrement employée pour limiter ou prévenir le colmatage des membranes. Cette aération agit sur le colmatage externe, c'est-à-dire sur le colmatage plutôt réversible (Hong et al. 2002). L'effet de l'aération est donc fortement corrélée avec la concentration en MES et le flux de perméat ; l'impact de l'aération augmente lorsque la concentration en MES (Gui et al. 2002) et le flux transmembranaire augmentent (Figure I.18), ces deux paramètres favorisant un colmatage par dépôt de particules.

A faible concentration en MES ( $1\text{g.L}^{-1}$  pour Gui et al. 2002) ou faible flux de perméat (entre 5 et  $10\text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$  pour Germain et al. 2004), le colmatage est surtout dû aux composés solubles, c'est-à-dire relève plutôt d'un mécanisme d'adsorption ou de blocage des pores. Par conséquent, dans ces conditions l'aération influence peu la vitesse de colmatage.

En revanche, pour des flux de perméat élevés ( $33\text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ ), Germain et al. (2004) constatent qu'augmenter la vitesse d'aération de  $0,07\text{ m.s}^{-1}$  à  $0,13\text{ m.s}^{-1}$  entraîne une baisse de la vitesse de colmatage de  $10,6\text{ kPa.h}^{-1}$  à  $1,98\text{ kPa.h}^{-1}$ . Pour leur part, Hong et al. (2002) filtrent dans un BAMI, pendant 350 minutes, une suspension biologique ( $5\text{ g}_{\text{MES}}.\text{L}^{-1}$ ) à travers une membrane fibres creuses en polysulfone ( $0,1\mu\text{m}$ ). L'augmentation du débit d'air de  $1,2\text{ m}^3.\text{m}^{-2}_{\text{membrane}}.\text{h}^{-1}$  à  $5,0\text{ m}^3.\text{m}^{-2}_{\text{membrane}}.\text{h}^{-1}$  permet de maintenir un flux de perméat à environ  $35\text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$  contre  $20\text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$  pour l'ancien débit.

Gui et al. (2002), dans un BAMI équipé de chicanes, trouvent un débit d'air optimum de  $70,6\text{ m}^3.\text{m}^{-2}_{\text{membrane}}.\text{h}^{-1}$  permettant de minimiser la vitesse de colmatage (filtration pendant 24h avec un BAMI alimenté par de l'eau usée domestique fonctionnant à  $10\text{ g}_{\text{MES}}.\text{L}^{-1}$ ). En revanche, en dessous de ce débit d'air, les forces de cisaillement et le rétrotransport des particules à la surface de la membrane diminuent et favorisent le dépôt des particules.

Cependant, une augmentation du débit d'aération, même pour de fortes concentrations en MES, n'est pas forcément synonyme d'une baisse du colmatage. En effet, le débit d'aération doit être optimisé car au-delà d'un certain niveau, qui est différent d'une installation à une autre, aucune baisse de la vitesse de colmatage n'est obtenue (Hong et al. 2002). Au contraire, au-delà d'un débit d'aération, il est parfois constaté un colmatage accru (Gui et al. 2002). Ceci peut être dû à deux phénomènes différents :

- une mauvaise répartition de l'air avec des zones d'écoulement préférentiel qui conduisent à un mauvais décolmatage d'une partie du module,
- un cassage des floes par les forces de cisaillement.

#### ● Choix du temps de filtration et de relaxation

Le fait de stopper séquentiellement la filtration (ou succion) peut ralentir le phénomène de colmatage. Le durée durant laquelle la filtration est arrêtée est appelée temps de relaxation. Les durées de relaxation et de filtration classiquement utilisées avec les BAM de traitement des eaux résiduaires urbaines varient respectivement entre 2-15 minutes et 10-45 minutes (Ahn et al. (2000), Albasi et al. (2002), Hong et al. (2002)).

Lors de l'arrêt de la filtration, certaines particules peuvent être rétrotransportées grâce au gradient de concentration ou à l'aération à la surface de la membrane. Par exemple, Hong et al. (2002), lors d'une filtration intermittente à 20 kPa (45 min de succion à 20 kPa / 15 min d'arrêt) d'une boue à  $4,0 \pm 0,2 \text{ g}_{\text{MES}} \cdot \text{L}^{-1}$ , observent une chute initiale du flux de perméation moins importante que lors de la filtration continue (les conditions opératoires sont identiques pour les deux expériences). La succion intermittente fait chuter le flux de perméat de 90 à  $40 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$  alors que la succion continue entraîne une chute de 90 à environ  $20 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ . Le flux stabilisé est d'ailleurs inférieur pour une filtration continue.

En résumé, l'augmentation du temps de filtration ou la diminution du temps de relaxation provoquent une augmentation de la vitesse de colmatage (Gui et al. 2002). Le séquençage de la filtration doit donc être optimisé. De plus, même un ratio identique entre le temps de filtration ( $t_f$ ) et le temps de relaxation ( $t_R$ ) peut conduire à des vitesses de colmatage différentes comme Ahn et Song (2000) le démontrent dans une expérience de filtration par intermittence à  $20 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ . Lors d'une première expérience, la boue a été filtrée durant 10 minutes suivies par un arrêt de la filtration durant 0,5 minute. Lors de la deuxième expérience, la boue est filtrée durant 30 minutes suivie par 2 minutes de relaxation. Au cours de ces expériences, la liqueur mixte, continuellement agitée à 350 rpm est filtrée dans un BAMI équipé de fibres creuses de microfiltration (diamètre moyen des pores de  $0,1 \mu\text{m}$ ) en

polyéthylène. Dans les 2 expériences le ratio entre le temps de relaxation ( $t_R$ ) et celui de filtration ( $t_f$ ) est égal à 0,05-0,06. Cependant, le temps de succion maximal entraîne une augmentation de la PTM plus rapide. En effet, au bout de 20 minutes de filtration, la pression transmembranaire est d'environ 80 kPa pour l'expérience avec le temps de succion maximal contre environ 15 kPa pour l'autre. Deux conclusions ressortent de ces expériences :

- le ratio  $t_R/t_f$  n'est pas le paramètre à optimiser pour limiter le colmatage.
- un temps de filtration trop long engendre probablement une restructuration du dépôt à la surface de la membrane et rend difficile son élimination.

En conclusion, afin de limiter le colmatage dans un BAM, l'utilisation d'une filtration intermittente peut être une solution partielle. Cependant, les temps de relaxation et de filtration devront être optimisés.

## **b. Influence des caractéristiques chimiques et physico-chimiques du milieu biologique**

Au-delà des conditions de filtration, les propriétés intrinsèques du milieu biologique agissent sur le colmatage. Pour preuve, Flemming et Schaule (1988) observent que les bactéries *Pseudomonas fluorescens* adhèrent plus lentement sur les membranes en polysulfone, polyamide et acétate de cellulose que *Pseudomonas vesicularis*. L'affinité entre bactéries et matériau membranaire dépend donc également de l'espèce bactérienne concernée. Par extension, elle dépend donc des caractéristiques du milieu biologique.

### **b.1 Nature et composition de l'effluent à traiter**

Le paragraphe I.I sur la caractérisation du milieu biologique montre notamment que l'origine et la composition de l'effluent à traiter influencent les propriétés des floccs. Par suite, cela influence également le colmatage. Ainsi Chang et Lee (1998) montrent qu'une boue limitée en apport en azote possède une résistance au colmatage inférieure à une boue ordinaire alors que la distribution granulométrique est quasiment la même. Ils expliquent ce résultat par les quantités différentes en EPS dans ces deux types de boues. La boue limitée en azote possède une concentration en EPS moindre par rapport à l'autre boue.

## b.2 Importance relative des matières particulaires et solubles – les produits microbiens

Lors de la filtration d'une eau usée, il est intéressant de connaître quelle fraction de la boue participe prioritairement au colmatage. En effet, savoir quel est, du surnageant ou des floccs, celui qui est le principal responsable du colmatage, permet de prédire les mécanismes de colmatage intervenant et donc d'y remédier.

Cependant, il semble difficile de connaître par avance le principal responsable du colmatage, tant les conditions opératoires des BAM et les méthodes de détermination du colmatage sont diverses. Ainsi, beaucoup d'études aboutissent à des résultats en apparence contradictoires (Tableau I.15).

Tableau I.15: Part de chaque constituant d'une boue dans la résistance du colmatage

	<i>Age de la boue (j)</i>	<i>Solubles (%)</i>	<i>Colloïdes (%)</i>	<i>Floccs (%)</i>
Bouhabila (1999)	20	26	50	24
Defrance et al. (2000)	60	5	30	65
Ognier et al. (2002)	3,5	3-15		85-97

Dans le cas de Bouhabila (1999) la fraction soluble est obtenue par addition de 250 mg.L<sup>-1</sup> d'Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> au surnageant d'une centrifugation à 4500 rpm pendant 1 minute. Dans le cas de Defrance et al. (2000), la fraction soluble est obtenue par addition de 0,4 g.L<sup>-1</sup> de FeCl<sub>3</sub> au surnageant d'une boue ayant décantée. Enfin, Ognier et al. (2002) obtiennent le surnageant des boues par centrifugation à 2 G. En outre, la définition donnée à chacune des fractions change suivant les auteurs ; les méthodes et les conditions opératoires pour déterminer la résistance au colmatage sont différentes (filtration dans une cellule de filtration ou dans un BAM, agitation du milieu biologique ou non, membranes différentes, etc...). Au final, il apparaît que la comparaison entre des expériences visant à déterminer la contribution des constituants d'une boue au colmatage s'avère très délicate. Il faut également noter qu'il est difficile d'apprécier l'intensité du colmatage due à une fraction de la boue. En effet, le colmatage fait intervenir des interactions entre composés ; c'est pourquoi la résistance à la filtration d'un constituant pris isolément n'est pas la même que celle de ce même constituant au sein de la boue. Enfin, un colmatage par les floccs semble moins problématique à l'heure actuelle car ce colmatage, principalement externe, peut être plus facilement limité.

Il semble possible de distinguer deux mécanismes de colmatage suivant la concentration en MES des boues :

- A faible concentration en MES, le principal colmatage est engendré par les composés solubles et est essentiellement dû à l'adsorption. Ainsi des auteurs comme Hong et al. (2002), filtrant des boues activées dans un BAMI (membrane en polysulfone de 0,1  $\mu\text{m}$  de diamètre de pores) opérant à 20 kPa, ne trouvent aucune relation entre MES et colmatage. En effet, l'augmentation de la concentration d'une boue, de 3,6 à 8,4  $\text{g}_{\text{MES}}.\text{L}^{-1}$ , n'entraîne pas de différence dans la chute du flux de perméat. Dans ce cas précis, le colmatage n'est visible qu'à long terme et est engendré principalement par les composés solubles.
- A concentration en MES élevée, le colmatage est principalement externe. Shimizu et al. (1996) constatent une chute importante du flux de perméat (de 8,3 à 0,8  $\text{L}.\text{h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ ) lorsque la concentration en MES passe de 5 à 20  $\text{g}.\text{L}^{-1}$  (suction à 30 kPa, débit d'air sous la membrane tubulaire de diamètre de pores égal à 0,1  $\mu\text{m}$ , de 7,2  $\text{m}^3.\text{m}^{-2}.\text{h}^{-1}$ ). De même, Gui et al. (2002) lors de la filtration d'une boue à 1  $\text{g}_{\text{MES}}.\text{L}^{-1}$  et 10  $\text{g}_{\text{MES}}.\text{L}^{-1}$  montrent que le flux critique (flux à partir duquel ils observent une augmentation soudaine de la vitesse de colmatage) passe respectivement de 8 à 5  $\text{L}.\text{h}^{-1}.\text{m}^{-2}$  (membrane en polyéthylène de diamètre de pores égal à 0,1  $\mu\text{m}$ ).

Le surnageant et les floccs participent donc tous les deux au colmatage. La prépondérance de l'une ou l'autre des fractions sur le colmatage dépendra entre autre de la concentration en MES, du flux de perméat appliqué, et des conditions opératoires du système. Parmi les composés présents à la fois dans le surnageant et dans les floccs, les exopolymères semblent jouer un rôle important sur le colmatage.

Les exopolymères facilitent l'adhésion des bactéries sur la membrane et structurent le dépôt. En effet, les micro-organismes adsorbés sur le matériau membranaire se répliquent et sécrètent des exopolymères qui lient les cellules entre elles (Lewandowski et Beyenal 2004). La résistance engendrée par ce biofilm est généralement supérieure à celle d'un dépôt sans exopolymère. En effet, Hodgson et al (1993), après traitement de bactéries à l'EDTA (l'EDTA élimine les substances extracellulaires telles que les protéines et les polysaccharides), constatent que la résistance au colmatage est inférieure à celle du dépôt de bactéries non traitées.

En ce qui concerne les EPS présents au sein des flocs de la suspension biologique, leur relation avec le colmatage semble compliquée. En effet, alors que des auteurs comme Reid et al. (2004) ou Rosenberger et al. (2002) ne trouvent aucune relation liant la filtrabilité des boues et la teneur en EPS des flocs, d'autres comme Mikkelsen et Keiding (2002) montrent par des analyses multi-variables que la filtrabilité des boues est améliorée lorsque la concentration en EPS des flocs augmente. Au final, les relations liant les EPS<sub>liés</sub> au colmatage sont assez délicates à établir. Les méthodes d'extraction, les gammes de concentration en EPS, les conditions de filtration sont différentes et ne permettent pas de déterminer de corrélations ni de règles générales.

En ce qui concerne les EPS solubles, leur participation au colmatage est également discutable. Des auteurs comme Bouhabila (1999), par comparaison de la filtrabilité d'une boue et de son surnageant, les considèrent comme les principaux responsables : pour eux, une augmentation de la teneur en polymères dans le surnageant se traduit souvent par une augmentation du pouvoir colmatant des boues. Par contre, Lee et al. (2003) ne trouvent aucun paramètre (quantité totale en EPS solubles, carbone organique dissous, angle de contact) influant sur le potentiel colmatant du surnageant, dans les conditions de filtration étudiées.

Certain auteurs relient le colmatage à des paramètres globaux de caractérisation du surnageant comme le COT (Carbone Organique Total). Huang et al. (2000) suivent l'évolution de la filtrabilité de boues prises dans un BAMI alimenté en eau usée synthétique. Deux litres de boue sont directement introduits dans un module de filtration équipé d'une membrane plane (0,1  $\mu\text{m}$  ; 0,03  $\text{m}^2$ ) puis une pression constante est appliquée sur la liqueur mixte (25 à 40 kPa). Durant les 30 minutes de filtration, le perméat est réintroduit au sein de la liqueur mixte et son débit enregistré. Le BAMI est stabilisé en biomasse avec une boue en teneur en MES constante (3 à 4  $\text{g.L}^{-1}$ ). Huang et al. (2000) observent une corrélation entre la valeur du flux de perméat quasiment stabilisé après 20 minutes de filtration, et la teneur en COT du surnageant obtenu par centrifugation à 4000 rpm pendant 15 minutes suivie par une filtration sur filtre 0,45  $\mu\text{m}$  (Figure I.19).

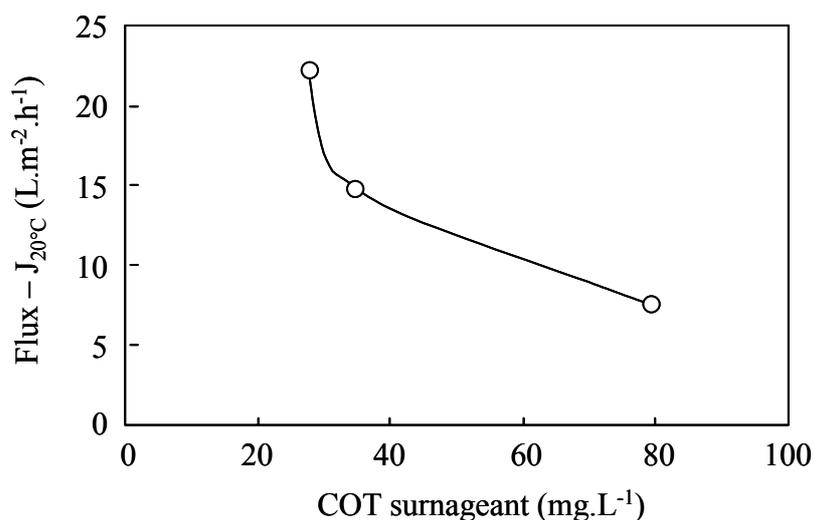
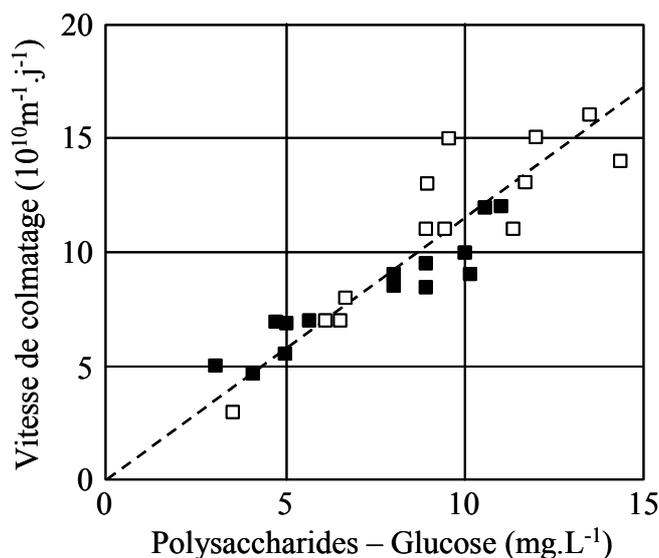


Figure I.19: Relation entre le flux stabilisé et la concentration en COT du surnageant (Huang et al. 2000)

Ces expériences montrent donc que l'accumulation de substances solubles au sein de la liqueur mixte a un effet négatif sur la perméabilité de la membrane (substances qui sont entre autre composées d'EPS solubles).

Parmi les EPS solubles, les protéines semblent jouer un rôle important. Mukaï et al. (2000) filtrent le surnageant de diverses cultures biologiques se trouvant en phase de croissance stationnaire (Boue activée, *S.natans KRN-A2*, *S.natans SY-1*). Suivant le type de culture, le surnageant est obtenu par centrifugation à 6000 ou 8000 rpm pendant 20 à 30 minutes puis filtration sur  $0,45 \mu m$ . Ils constatent que plus la rétention de protéines solubles par la membrane est élevée, plus le colmatage est important (membrane polysulfone, 50 kDa). Ainsi, le flux stabilisé obtenu lors de la filtration de la boue activée est inférieur à celui des deux autres cultures (flux de perméat relatif égal à 0,24 pour *KRN-A2*, 0,32 pour *SY-1* et 0,20 pour la boue activée). Il serait donc intéressant de savoir si cette rétention élevée des protéines est due à leur masse moléculaire et/ou à leurs propriétés de surface.

Cependant, les protéines ne sont pas les seules responsables du colmatage par les composés solubles. Pour preuve, Lesjean et al. (2004) établissent une relation linéaire liant la vitesse de colmatage dans un BAMI et la concentration en polysaccharides, mesurée en équivalent glucose, du surnageant (Figure I.20).



□ BAMI 1 (mode pré-dénitrification) ■ BAMI 2 (mode post-dénitrification)

Figure I.20: Relation entre vitesse de colmatage et concentration en polysaccharides du surnageant de boues de BAMI fonctionnant à 8 jours d'âge de boues (Lesjean et al. 2004)

Jarusutthirak et al. (2002) après filtration, à 4,8 bar pour une membrane NF (0,2 kDa) et 3,4 bar pour une membrane UF (8 kDa), de la fraction colloïdale (fraction obtenue par filtration sur membrane de dialyse de 3500 Da), puis analyse ATR-FTIR (Attenuated total reflection-Fourier transform spectroscopy) de la membrane colmatée montrent que le "gâteau/couche de gel" est principalement composé de protéines, polysaccharides et sucres aminés. Le dépôt obtenu après filtration de la fraction transphilique et hydrophobe montre également que celui-ci est composé de polysaccharides et de protéines.

### b.3 Distribution de la taille des particules et floccs

Il est certain que la taille des particules et des floccs influence les phénomènes de colmatage. Suivant la taille des particules, l'intensité de chacun des types de colmatage (blocage des pores, adsorption, dépôt) sera différente

Cicek et al. (1999) filtrent sous vide une boue venant d'un BAM externe et d'un procédé à boues activées. Les boues du BAME ont un diamètre moyen d'environ 4  $\mu\text{m}$  contre 20 à 120  $\mu\text{m}$  pour le procédé à boues activées. La résistance spécifique de ces deux boues est de  $2,4 \cdot 10^{15} \text{ m.kg}^{-1}$  pour la boue de BAM et  $2,1 \cdot 10^{12} \text{ m.kg}^{-1}$  pour la boue du réacteur à boues activées. Ces résultats montrent que la différence de filtrabilité entre les deux boues pourrait être liée à la taille des floccs. Toutefois, ces deux procédés ne fonctionnent pas au même âge de boues (30 jours pour le BAM contre 20 jours pour le procédé à boues activées conventionnel), et il est donc délicat d'attribuer uniquement la différence de résistance à la filtration à la différence de taille de particules.

Lim et Bai (2003) étudient l'influence de la taille et des caractéristiques des floccs lors de rapides tests de filtration dans un BAMI équipé de membranes fibres creuses en PVDF de 0,1  $\mu\text{m}$  de diamètre de pores. Ils comparent ainsi la filtration à pression constante d'une boue foisonnante avec une boue granulaire, issues de réacteurs alimentés en eau usée synthétique, fonctionnant à des âges de boues de 10 jours. La concentration en MES de ces boues est de 3,5  $\text{g.L}^{-1}$ . L'évolution du flux de perméat est reportée sur la figure I.21.

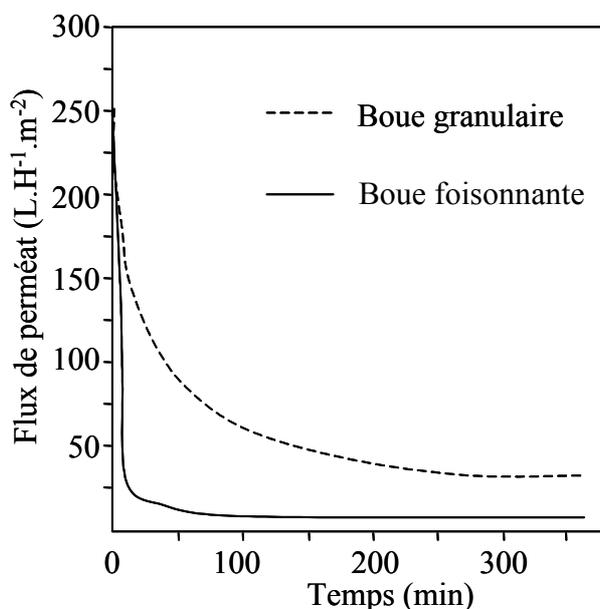


Figure I.21 : Chute du flux du perméat lors de la filtration d'une boue granulaire et d'une boue foisonnante (Lim et al. 2003).

La différence de performance de filtration de ces boues est attribuée à leur différence de distribution granulométrique. La boue foisonnante, avec une distribution granulométrique plus large (1-200  $\mu\text{m}$ ) et centrée sur environ 30  $\mu\text{m}$ , colmate beaucoup plus rapidement que la boue granulaire (distribution granulométrique entre 10 et 200  $\mu\text{m}$  centrée sur 100  $\mu\text{m}$ ). Ceci met en évidence l'intérêt potentiel des boues granulaires ou flocculées et montre clairement que les MES contribuent de manière significative au colmatage.

Enfin, Reid et al. (2004) trouvent une relation linéaire entre la perméabilité des membranes (diamètre de pores de 0,4  $\mu\text{m}$ ) et la racine carrée du diamètre moyen des floccs. Lorsque le diamètre des floccs passe de 5 à 17  $\mu\text{m}$ , la perméabilité des membranes passe de 300 à 600  $\text{L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{bar}^{-1}$ .

#### b.4 Propriétés de surface des floccs

Le colmatage résulte d'interactions entre le matériau membranaire et la matière issue du milieu biologique. Les propriétés de surface des composés présents au sein du milieu biologique vont donc agir sur les forces d'adhésion ou de répulsion entre les composés et la

membrane. Tout facteur qui modifiera les propriétés de surface des floes modifiera donc les mécanismes du colmatage.

Par exemple, la température et le pH d'une solution peuvent agir sur le colmatage puisqu'ils influencent la charge de surface des particules et leur solubilité. L'eau usée est constituée d'une multitude de composés comme par exemple les protéines. De part et d'autre du point isoélectrique, la charge de surface et la configuration de ce type de molécules changent. Les interactions électrostatiques avec la membrane vont donc être modifiées ; par suite, la structuration et le mécanisme de colmatage également.

Ainsi, Shiau et al. (2004) lors de la filtration d'une solution de protéines (sérum bovin albumine) à pH égal à 5 constatent une augmentation soudaine de la pression au bout de 7 heures de filtration alors qu'au même moment, la pression augmente progressivement avec une solution "identique" à pH égal à 7. Une observation au microscope montre qu'à pH égal à 5, le dépôt à la surface de la membrane évolue au cours du temps et forme au bout de 6 heures de filtration une couche uniforme. Le dépôt à pH égal à 5 est donc compressible. En revanche, à pH égal à 7, les photos au microscope montrent que le dépôt est en permanence formé d'agrégats. En résumé, à pH égal à 5, les protéines sont proches de leur point isoélectrique, les forces de répulsion électrostatique sont donc plus faibles qu'à pH égal à 7, le dépôt de protéines peut donc plus facilement être comprimé. Cet exemple montre donc que le pH peut influencer la structuration et la compressibilité d'un dépôt de particules car il en modifie notamment les charges de surface.

De plus, le pH, au même titre que la température peut également entraîner la dénaturation de protéines et donc modifier les mécanismes de colmatage. Il est à noter que la modification des propriétés de surface des particules par la température ou le pH aura également une implication sur les cinétiques d'adsorption des composés sur la membrane. Enfin, le pH et la température peuvent également entraîner une modification de la solubilité d'une molécule. En effet, Ognier et al. (2002) constatent que lors d'une augmentation du pH ou de la température, la pression transmembranaire augmente brutalement. Cette instabilité des performances hydrauliques s'explique par la cristallisation puis le dépôt de particules de  $\text{CaCO}_3$  à la surface de la membrane ou à l'entrée des pores. En effet, la dénitrification qui prend place au sein du réacteur biologique produit des ions carbonates ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) et hydroxydes ( $\text{OH}^-$ ) qui précipitent lors d'une augmentation du pH ou de la température. Or, la solubilité de  $\text{CaCO}_3$  diminue quand la température augmente. Cet exemple est très intéressant car il montre que lors du lavage des membranes, pour éliminer une partie du colmatage il faut trouver le couple pH-température optimal pour dissoudre les précipités. Dans le cas de Ognier et al. (2002), dès lors

que des solutions acides ou à pH sont utilisées, elles permettent la dissolution des précipités inorganiques.

Enfin, une propriété de surface comme l'hydrophobicité du floc va également jouer sur le mécanisme et l'intensité du colmatage. Une analyse statistique permet à Lee et al. (2003) de lier l'intensité du colmatage aux caractéristiques des floccs présents dans un BAMI alimenté en eau usée synthétique (membrane en polypropylène de diamètre de pores 0,4 $\mu$ m). Ils montrent que l'augmentation de la quantité de protéines extraites (de 29,9 à 35,7 mg.g<sub>MVS</sub><sup>-1</sup>), du rapport protéines extraites / carbohydrates extraits (de 0,91 à 1,22), de l'hydrophobicité (d'un angle de contact de 34,4 à 44,4°) ou de la charge de surface des floccs (de -0,43 à -0,66 méq.g<sub>MVS</sub><sup>-1</sup>), augmente la résistance de colmatage due au floccs. Comme il a été vu dans le chapitre précédent, une augmentation de la concentration en protéines dans les exopolymères des floccs a pour conséquence une augmentation de l'hydrophobicité du floc. De même, augmenter le rapport protéines/carbohydrates revient soit à augmenter la quantité de protéines, c'est-à-dire augmenter l'hydrophobicité du floc, soit diminuer la quantité de carbohydrates (hydrophiles) c'est-à-dire diminuer l'hydrophobicité du floc. En résumé, l'hydrophobicité du floc apparaît comme un paramètre important du colmatage.

En conclusion, il apparaît que les polymères solubles ou insolubles des boues interviennent soit dans la structuration du gâteau de filtration, soit lors de l'adsorption sur le matériau membranaire ou le dépôt. Leur rôle dans le colmatage reste cependant à définir et préciser.

### **c. Etat physiologique de la biomasse et charge appliquée**

#### **c.1 Viabilité et carences nutritives**

Une carence nutritive des micro-organismes influence leur capacité d'adhésion au matériau membranaire. En effet, Flemming et Schaule (1988) constatent que quel que soient le matériau membranaire et le type de cellules testées (*Ps. Vesicularis*, *Ac. Caldoacetidus*, *Staph. Warneri*), les cellules en carence nutritive montrent une plus faible tendance à adhérer à la membrane que les cellules avec une alimentation normale. Par exemple, la mise en contact durant 4h sans filtration, de *Ps. Vesicularis* avec des membranes en polysulfone, polyethersulfone, polyamide ou polyetherurée conduit à une densité de cellules sur les membranes comprise entre 10<sup>5</sup> à 7.10<sup>5</sup> cellules.cm<sup>-2</sup> pour les cultures en carence nutritive, et entre 3,7.10<sup>6</sup> et 7,6.10<sup>6</sup> cellules.cm<sup>-2</sup> lorsqu'elles sont normalement alimentées. La capacité d'adhésion à la membrane reste bien sûr dépendante du type de cellule et de matériau. De plus, les résultats de Flemming et Schaule (1988) montrent que non seulement la masse de

bactéries adsorbées est différente suivant l'état de carence nutritive de la culture, mais qu'en plus la structure du dépôt l'est également. En effet, les cultures souffrant d'une carence nutritive forment de petits agrégats à la surface des membranes alors que les cultures sans carence couvrent la totalité de la surface membranaire. Cependant, ces tests d'adhésion ont été effectués avec des cultures préalablement lavées. Les éventuels polymères solubles sont donc éliminés avant le test. Or, les polymères des floccs ou du surnageant participent au colmatage.

Il faut donc lier la phase de croissance des bactéries à la production de polymères et au colmatage. Par exemple, une croissance en phase endogène est généralement associée à une augmentation de la concentration en exopolymères des floccs (Chang et Lee 1998). Quelles sont alors les répercussions sur le colmatage ? Chang et Lee (1998) trouvent que lors de la filtration sur membrane hydrophobe (angle de contact égal à  $66^\circ$ ) d'une boue en phase de croissance endogène, la résistance du gâteau de filtration est de  $82.10^{11} \text{ m}^{-1}$  contre  $42.10^{11} \text{ m}^{-1}$  pour celle d'une boue en phase de croissance logarithmique. Ils aboutissent aux mêmes conclusions avec une membrane hydrophile. La résistance au colmatage serait donc plus élevée pour une boue en phase de croissance endogène ce qui est attribué à une quantité plus importante d'EPS<sub>liés</sub> dans cette boue.

Par ailleurs, la différence dans l'intensité du colmatage, d'une boue se présentant sous différents états de croissance, peut également dépendre du surnageant de la boue. En effet, Mukai et al. (2000), lors de la filtration du surnageant de boues activées dans une cellule de filtration à pression constante (40 kPa), montrent que la chute initiale du flux de perméat est la moins brutale pour le surnageant de la boue en phase de croissance logarithmique (par comparaison avec un surnageant de boue en phase de croissance stationnaire ou de décès). Le surnageant est obtenu par centrifugation à 6000 ou 8000 rpm pendant 20 à 30 minutes puis filtration sur membrane, 45  $\mu\text{m}$ . Le flux relatif de perméat se stabilise également à des valeurs plus élevées que pour les autres surnageants :  $F_{p \text{ stabilisé phase logarithmique}} / F_{p \text{ initial}} = 0,5$  ;  $F_{p \text{ stabilisé phase stationnaire}} / F_{p \text{ initial}} = 0,16$  ;  $F_{p \text{ stabilisé phase décès}} / F_{p \text{ initial}} = 0,20$ .

Ils montrent ainsi que suivant l'état de croissance d'une boue, la qualité de son surnageant sera différente et engendrera un colmatage spécifique. La perméation sur gel à 220 nm effectuée sur le surnageant de la boue montre que d'une phase de croissance à une autre, la distribution des masses moléculaires des composés solubles fluctue. Ainsi, lors d'une filtration, la quantité en EPS solubles mais également leur masse moléculaire interviennent dans le colmatage.

## c.2 Age de la boue

Comme il a été vu dans le chapitre sur la caractérisation du milieu biologique, l'âge d'une boue va influencer la viabilité, le taux de croissance et la production d'EPS des micro-organismes et ceci pourra affecter le colmatage.

En règle générale, pour des membranes d'ultrafiltration, l'âge de boues influence la résistance au colmatage principalement parce qu'elle influence le taux d'EPS produit dans le milieu biologique. Ainsi, Chang et Lee (1998) étudient les liens existant entre la résistance du gâteau de filtration et l'âge d'une boue, lors d'une ultrafiltration dans une cellule pressurisée à 1,4 bar (agitation de 180 rpm) (Tableau I.16).

Tableau I.16: Lien entre résistance du gâteau de filtration et âge de la boue (Chang et al. 1998)

Age de la boue (j)	Résistance du gâteau ( $*10^{11}.m^{-1}$ )			
	$EPS_{liés}$ ( $mg_{MVS}.g_{MES}^{-1}$ )**	Membrane YM30 (30 kDa) (membrane totalement mouillée)*	Membrane XM50 (50 kDa) (angle de contact de 59°)*	Membrane PM30 (30 kDa) (angle de contact de 66°)*
3	268	72	95	110
8	244	31	33	45
33	213	9	11	22

\* Hydrophobicité de la membrane déterminée par mesure de l'angle de contact entre une goutte d'eau et la surface de la membrane - \*\* extraction thermique des EPS liés (100°C, 1h)

Plus l'âge des boues augmente, plus la résistance du gâteau de filtration diminue, quelle que soit la membrane utilisée (diamètre des pores compris entre 30 et 50 kDa pour les trois membranes en cellulose YM30, copolymère acrylique XM50 ou polysulfone PM30). Passer de 3 jours à 33 jours d'âge de boues fait passer la résistance du gâteau de  $110.10^{11}$  à  $22.10^{11} m^{-1}$  pour la membrane la plus hydrophobe (mesure effectuée lorsque la filtration atteint un facteur de concentration volumique de 5).

Cependant les auteurs ne précisent pas le temps d'acclimatation de chaque boue aux nouvelles conditions opératoires. Nous ne savons donc pas si les boues ont atteint un état stable. Or, pour un âge de boues donné, les caractéristiques du milieu biologique et donc sa filtrabilité évoluent au cours du temps (Bouhabila 1999). Cela peut éventuellement expliquer que certains auteurs constatent des variations de filtrabilité d'un surnageant de boue lorsque son temps de séjour varie. Les résultats fournis par Bouhabila (1999) rejoignent ceux de Lee et al. (2003) qui utilisent un BAMI pour évaluer le rôle de chaque constituant du milieu biologique sur le colmatage des membranes. Ils diluent les boues avec leur surnageant afin de se ramener à une concentration en MES de  $3g.L^{-1}$ . Ils constatent que la résistance au colmatage du

surageant, obtenu par centrifugation à  $366 \text{ rad.s}^{-1}$  durant 5 minutes, reste identique au environ de  $3.10^{11} \text{ m}^{-1}$ , quel que soit l'âge de la boue compris entre 20 et 60 jours (Tableau I.17).

Tableau I.17 : Résistances de diverses fractions de la boue à différents temps de séjour (Lee et al. 2003)

<i>Age de boue (j)</i>	<i>Résistance (<math>\text{m}^{-1}</math>)</i>	
	<i>Surnageant</i>	<i>Boue</i>
20	$2.9 \cdot 10^{11}$	$7.9 \cdot 10^{11}$
40	$2.6 \cdot 10^{11}$	$9.2 \cdot 10^{11}$
60	$3.1 \cdot 10^{11}$	$10.8 \cdot 10^{11}$

Au contraire, plus l'âge de la boue augmente plus la résistance au colmatage due à la totalité de la boue augmente. En conclusion, la contribution relative du surnageant sur le colmatage de la membrane est plus élevée à faible temps de séjour des boues.

## IV. Conclusion

Ce chapitre bibliographique a permis de retenir les paramètres à analyser pour étudier les interactions entre une membrane et le milieu biologique lors de leur mise en œuvre pour le traitement d'eaux usées domestiques dans un système type bioréacteur à membranes immergées aéré. Dans cette étude nous allons nous focaliser sur les interactions membrane/boue dans l'objectif de déterminer comment pour un système donné (BAMI avec un type de membrane fixé) la membrane et les conditions opératoires du bioréacteur et de la filtration peuvent modifier les propriétés physico-chimiques du milieu biologique et comment, réciproquement les propriétés du milieu biologique peuvent agir sur le colmatage. Les aspects influence de la filtration sur l'activité biologique et influence de l'aération sur le colmatage ne seront pas traités dans ce manuscrit. Ils font l'objet de la thèse de Marie-Carmen Espinosa-Bouchot en cours au LIPE actuellement.

L'étude bibliographique a permis de souligner l'importance de certains paramètres :

- opératoires : âge de boues, flux de perméat, pression transmembranaire, température
- physico-chimiques du milieu biologique : concentration en MES, DCO, taille des floes, EPS liés et solubles, pH, indice de boue ou décantabilité des floes.

Une analyse quotidienne de ces paramètres sera réalisée. Cependant, pour pouvoir étudier les spécificités du milieu biologique type BAMI, il faut le comparer avec une boue de référence.

Ainsi, afin d'étudier l'influence de la membrane sur les propriétés d'une boue, le BAMI sera comparé avec un procédé à boues activées fonctionnant dans les mêmes conditions (même âge de boues et même concentration) et alimenté avec le même effluent.

Par ailleurs, l'étude bibliographique, montre que les EPS liés et solubles semblent jouer un rôle important dans le colmatage et la structuration des floes mais que les résultats obtenus dépendent fortement de la méthode d'analyse étudiée. Il est donc important qu'un protocole de détermination des EPS<sub>liés</sub> et des EPS<sub>solubles</sub> soit mis en place. Il apparaît également que les mécanismes de colmatage liés aux polymères sont encore inconnus. Plusieurs questions restent donc en suspens : quel type d'EPS agit sur le colmatage ? Est-ce que ce sont les EPS<sub>liés</sub> ou les EPS<sub>solubles</sub> qui interviennent ? S'ils interviennent, comment le font-ils ? Et enfin, est-ce que la nature chimique des exopolymères (polysaccharides, protéines, substances humiques) est un facteur important dans le colmatage ?

D'autre part, les exopolymères sont également responsables de la cohésion et de la structuration des floes et de leurs propriétés de surface. Ils ont donc un rôle majeur dans la caractérisation du milieu biologique. Cependant, l'étude bibliographique montre que les relations qui lient les exopolymères, les caractéristiques du floe et le colmatage restent floues. Quels sont les liens entre les exopolymères et le diamètre des floes ou l'indice de boues ? Lesquels de ces paramètres sont importants en terme de colmatage ? Les chapitres suivants ont pour but d'amener des éléments de réponse à ces questions.



---

## **CHAPITRE II**

### **MATERIEL ET METHODES**

---



Ce chapitre décrit les deux procédés biologiques utilisés dans cette étude (bioréacteur à membranes et procédé à boues activées) et les moyens mis en oeuvre pour analyser le colmatage et les spécificités des boues. Le matériel et les méthodes analytiques utilisés sont présentés ainsi que les caractéristiques de l'eau usée d'entrée.

## I. Description des procédés biologiques

Dans cette étude, deux procédés sont étudiés en parallèle et ont nécessité la conception et la réalisation de deux pilotes : un pilote à boues activées et un pilote de type bioréacteur à membranes immergées. Ces deux pilotes fonctionnent en parallèle avec une alimentation identique en eau résiduaire urbaine dont les caractéristiques seront détaillées au paragraphe suivant.

### 1. Le pilote à boues activées

Le pilote à boues activées (BA) est constitué d'un réacteur cylindrique (16 L), thermostaté à 20°C et d'un décanteur cylindro-conique de 2,4 L (Figure II.1).

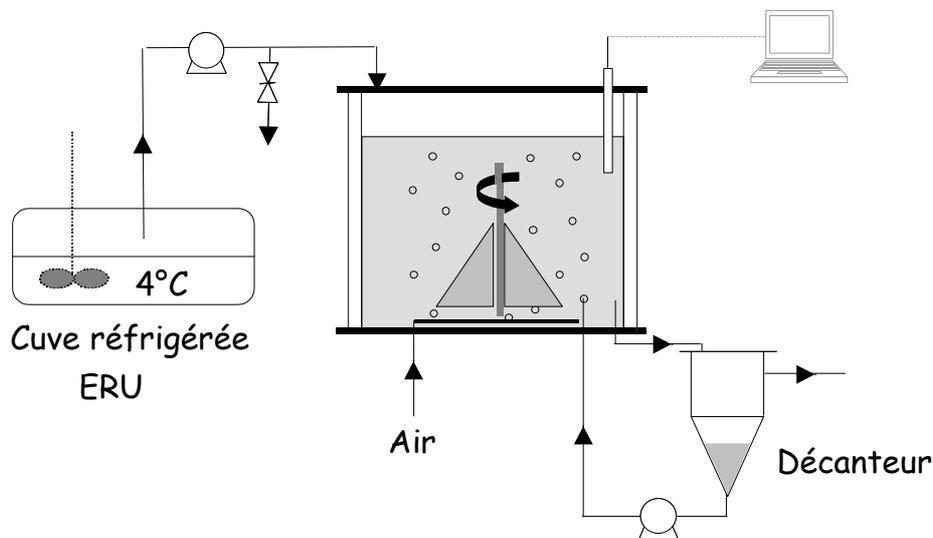


Figure II.1: Schéma du procédé à boues activées

L'alimentation du réacteur en eau résiduaire urbaine (ERU) s'effectue au moyen d'une pompe péristaltique à raison de 1 L.h<sup>-1</sup>. La surverse placée dans le réacteur permet de maintenir constant le niveau de liquide tandis que le surplus de boue alimente le décanteur. Le surnageant de décantation est éliminé par trop plein et les boues sont recirculées dans le réacteur à un débit de 1,5 L.h<sup>-1</sup>. Le maintien d'un âge de boues constant est alors assuré par une purge quotidienne des boues du réacteur.

Le milieu biologique du réacteur est agité par un agitateur à 4 pales. L'aération séquentielle (1h30 de fonctionnement puis 1h30 d'arrêt) s'effectue au moyen d'un tube percé disposé en spirale au fond du réacteur. Le débit d'aération est ajusté pour maintenir une concentration en oxygène dissous au sein des boues, comprise entre 0 et  $6 \text{ mg.L}^{-1}$ . La concentration en oxygène est nulle lorsque l'aération est stoppée et égale à  $6 \text{ mg.L}^{-1}$  lorsqu'elle fonctionne. La température, la concentration en oxygène ainsi que le pH sont enregistrés en permanence par ordinateur.

## 2. Le bioréacteur à membranes immergées (BAMI)

Le BAMI (Figure II.2) est composé d'un réacteur (16 L) thermostaté à  $20^\circ\text{C}$  dans lequel sont immergées des fibres creuses disposées sous forme de U.

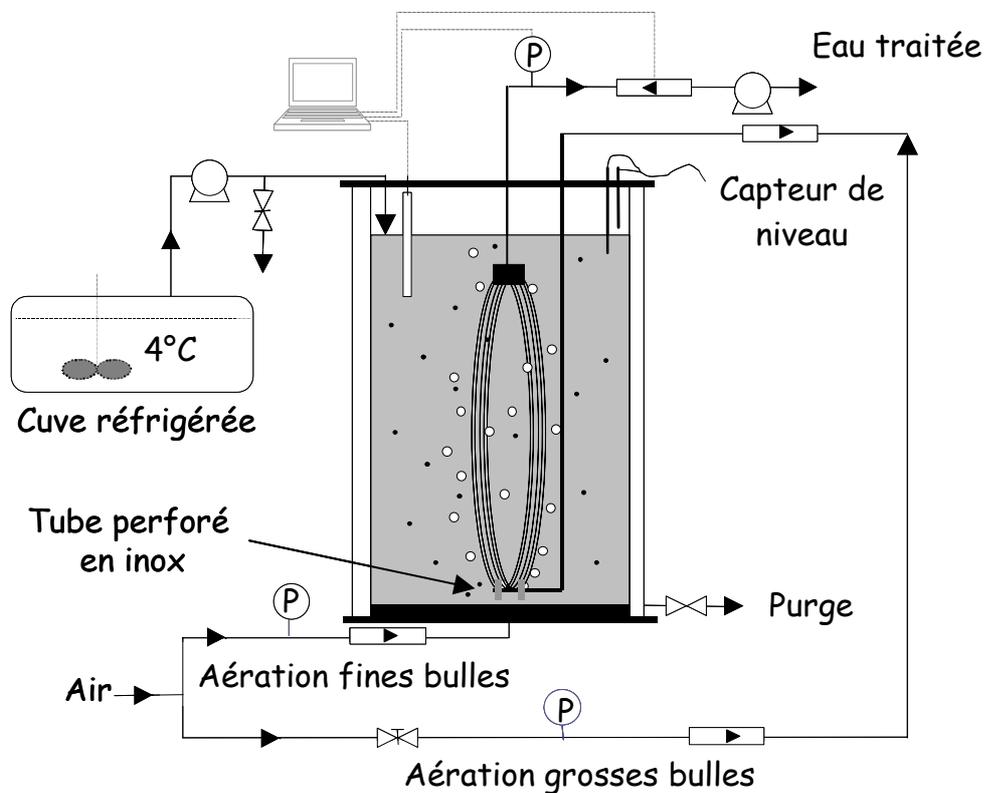


Figure II.2: Schéma de principe du BAMI

La filtration est effectuée de l'extérieur des fibres vers l'intérieur en aspirant à un débit de  $1 \text{ L.h}^{-1}$  le perméat à l'aide d'une pompe péristaltique.

L'empotage des fibres (Tableau II.1) fournies par la société Polymem est disposé au point haut du réacteur.

Tableau II.1: Caractéristiques des membranes fibres creuses du BAMI

<i>Matériau</i>	Polysulfone
<i>Perméabilité à 20°C (L.h<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup>.bar<sup>-1</sup>)</i>	200
<i>Surface membranaire (m<sup>2</sup>)</i>	0,2
<i>Diamètre des pores (µm)</i>	0,2
<i>Diamètre externe des fibres (mm)</i>	0,72
<i>Diamètre interne des fibres (mm)</i>	0,38
<i>Longueur des fibres (mm)</i>	750
<i>Nombre de fibres</i>	68

Le débit d'alimentation est régulé à partir de capteurs de niveau pour maintenir constant le volume de liquide au sein du réacteur.

Une aération séquencée (fonctionnement 1h30 / arrêt 1h30) située au bas du réacteur permet de fournir l'oxygène nécessaire aux micro-organismes. Le débit d'aération est régulé manuellement pour avoir une concentration en oxygène dissous au sein de la boue comprise entre 1 et 6 mg.L<sup>-1</sup>. La concentration est égale à environ 1 mg.L<sup>-1</sup> lors de l'arrêt de l'aération et égale à 6 mg.L<sup>-1</sup> lors de son fonctionnement. Un deuxième système d'aération est placé au bas du réacteur sous le faisceau de fibres : l'air passant au travers de deux trous perforés le long d'un tube inox (Figure II.2) permet d'obtenir en continu de grosses bulles (20 L.h<sup>-1</sup> soit 2,8.10<sup>-5</sup> m<sup>3</sup>.s<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup><sub>membrane</sub> ou 3,5.10<sup>-4</sup> m<sup>3</sup>.s<sup>-1</sup>.m<sup>-3</sup><sub>réacteur</sub>). Ces débits sont relativement faibles par rapport à ce qui est habituellement trouvé dans la littérature. Ainsi, Gander et al. (2000) mentionnent des débits de l'ordre de 6,9.10<sup>-4</sup> m<sup>3</sup>.s<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup><sub>membrane</sub> (9,5.10<sup>-3</sup> m<sup>3</sup>.s<sup>-1</sup>.m<sup>-3</sup><sub>réacteur</sub>) ou Lee et al. (2003) de 3,3.10<sup>-4</sup> m<sup>3</sup>.s<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup><sub>membrane</sub> (4,7.10<sup>-3</sup> m<sup>3</sup>.s<sup>-1</sup>.m<sup>-3</sup><sub>réacteur</sub>). Ces bulles ont pour objectif de lutter contre le colmatage en surface de la membrane.

La température, le pH, la concentration en oxygène, le débit et la pression de succion sont enregistrés en continu.

**Durant toute cette étude, le pilote a fonctionné sans aucun rétrolavage automatisé et régulier afin de pouvoir étudier les effets du colmatage sur le milieu biologique et la filtration. Le BAMI fonctionne donc en filtration frontale externe/interne avec une alimentation semi-continue d'ERU et sans rétrolavage séquentiel. De plus, les purges**

quotidiennes ont lieu lors des phases d'aération du réacteur afin d'avoir une boue homogène.

### 3. Récapitulatif des conditions opératoires

Pour les différentes périodes de fonctionnement des réacteurs, les valeurs moyennes de la charge volumique appliquée et des temps de séjour des boues sont présentées dans le tableau II.2.

Tableau II.2: Récapitulatif des conditions opératoires du BAMI et du BA à l'état stabilisé

<i>Systeme</i>	<i>Période (j)</i>		$Cv_a^*$ (kg <sub>D</sub> CO.m <sup>-3</sup> .j <sup>-1</sup> )	<i>TSB</i> ** (j)
<b>BA</b>	<u>1</u>	1-52	0,59	9,2
	<u>2</u>	128-217	0,56	32,0
	<u>3</u>	218-319	0,50	14,3
<b>BAMI</b>	<u>1</u>	1-52	0,59	9,8
	<u>2</u>	128-217	0,56	37,2
	<u>3</u>	218-282	-	160,0
		283-319	0,50	110,3
<u>4</u>	320-420	0,54	53,0	

\* $Cv_a$  : charge volumique appliquée – \*\*TSB : temps de séjour des boues

Les deux réacteurs (BA et BAMI) sont alimentés en eau résiduaire urbaine (ERU) avec le même débit (1 L.h<sup>-1</sup>). Par conséquent :

- la charge volumique appliquée ( $Cv_a$ ) est identique pour les deux réacteurs lors d'une même période de fonctionnement (Tableau II.2),
- le temps de séjour hydraulique est constant et égal à 16 h durant toute l'étude.

Par ailleurs, le BAMI et le BA sont totalement ré-ensemencés au démarrage des périodes 1 et 2, alors que la période 3 est dans la continuité de la seconde période car seul le débit de purge est modifié. Enfin, une 4<sup>ème</sup> période débute pour le BAMI, après une vidange accidentelle de 60 à 70% des boues du réacteur et son ré-ensemencement partiel avec les boues du procédé à boues activées.

Pour chaque nouvel ensemencement les boues proviennent d'une station d'épuration de Toulouse (Ginestou) dont la concentration en MES est comprise entre 2,5 et 3 g.L<sup>-1</sup>.

## II. Caractéristiques de l'eau résiduaire urbaine

L'eau résiduaire urbaine (ERU) alimentant les réacteurs est prélevée dans le réseau d'assainissement de la ville de Toulouse. L'eau collectée deux fois par semaine (le mardi et le vendredi à 9 heures) subit un dégrillage (5-8 mm environ) et une décantation statique de 30 minutes avant son stockage dans des cuves réfrigérées à 4°C. Le tableau II.3 regroupe les concentrations moyennes en MES, MVS et DCO de l'ERU durant toutes les périodes de fonctionnement des réacteurs.

Tableau II.3: Caractéristiques moyennes de l'eau usée d'entrée

<i>Périodes (J)</i>	<i>1-52</i> <i>3/06-24/07</i>	<i>128-217</i> <i>08/10-05/01</i>	<i>218-319</i> <i>06/01-16/04</i>	<i>320-420</i> <i>17/04-26/07</i>
<i>MES (mg.L<sup>-1</sup>)</i>	153±31*	160±25	212±28	182±24
<i>MVS (mg.L<sup>-1</sup>)</i>	128±29*	133±26	183±25	148±15
<i>MVS/MES</i>	0,84±0,04	0,83±0,07	0,86±0,04	0,81±0,05
<i>DCO totale (mg.L<sup>-1</sup>)</i>	395±39	377±42	335±31	361±32
<i>DCO particulaire (mg.L<sup>-1</sup>)</i>	246±39	201±21	219±39	229±33
<i>DCO soluble** (mg.L<sup>-1</sup>)</i>	149±17	176±23	116±34	132±20

\* Moyenne effectuée sur deux valeurs - \*\* Boue filtrée sur filtre 0,45 µm

Les concentrations moyennes en MES, MVS et DCO varient sensiblement d'une période de fonctionnement à une autre et au sein d'une même période. L'eau usée d'alimentation étant de l'eau usée réelle, ses caractéristiques changent suivant l'activité humaine et les saisons. Le rapport MVS/MES est égal à 0,84±0,05 sur l'ensemble de l'étude tandis que la DCO totale moyenne est de 364±59 mg.L<sup>-1</sup>. Par ailleurs, une concentration maximale en DCO ne correspond pas obligatoirement à une concentration maximale pour les MVS. Par exemple, en hiver, période du 218 au 319<sup>ème</sup> jour, la concentration en MES et MVS augmente alors que la DCO soluble ainsi que la DCO totale diminuent.

### III. Techniques analytiques mises en oeuvre

#### 1. DCO/MES/MVS

La méthode utilisée pour déterminer la DCO se réfère à la norme AFNOR NFT 90-101. Dans cette étude, la DCO totale correspond à la DCO déterminée sur l'échantillon brut alors que la DCO soluble se réfère à un échantillon préalablement filtré (GF6 Glasfaser Rundfilter chez Schleider & Schuell – filtre 0,45 µm).

La détermination des MES et MVS est réalisée suivant respectivement les normes AFNOR 90-105 et AFNOR 90-029. Si l'échantillon est un effluent de sortie de réacteur il est filtré sur filtre de 0,45 µm de diamètre moyen des pores (GF6 Glasfaser Rundfilter chez Schleider & Schuell) ; si l'échantillon est l'ERU ou la boue de réacteur, il est centrifugé pendant 15 minutes à 4200 G et 20°C.

#### 2. Indice de boue

L'indice de boue (IB) ou indice de Mohlman (IM) représente le volume occupé par une boue après 30 minutes de décantation et ramené à la concentration en MES du test (Equation II.1).

$$IB = \frac{V_{30}}{[MES]_{\text{test}}} \quad (\text{II.1})$$

Avec : IB : indice de boue (mL.g<sup>-1</sup>)

$V_{30}$  : volume du décantat après 30 minutes de décantation (mL)

$[MES]_{\text{test}}$  : concentration en MES du test (g.L<sup>-1</sup>)

Cette mesure est effectuée dans une éprouvette en verre de 1L en l'absence de vibration. La valeur de  $V_{30}$  doit être inférieure à 30% du volume initial de boue afin d'éviter toutes interactions entre particules pendant la phase de décantation (Jenkins et al. 1984). Si tel n'est pas le cas, les boues sont diluées avec le surnageant des boues. Une valeur d'indice de boues comprise entre 150 et 170 mL.g<sup>-1</sup> est considérée comme une limite maximale pouvant caractériser une bonne décantabilité (Forster 1985). Cependant, l'indice de boues est un paramètre "hybride" qui ne dépend pas que de la vitesse de chute mais caractérise aussi l'épaississement de la boue c'est-à-dire la capacité du lit de boue à se compacter (Figure II.3).

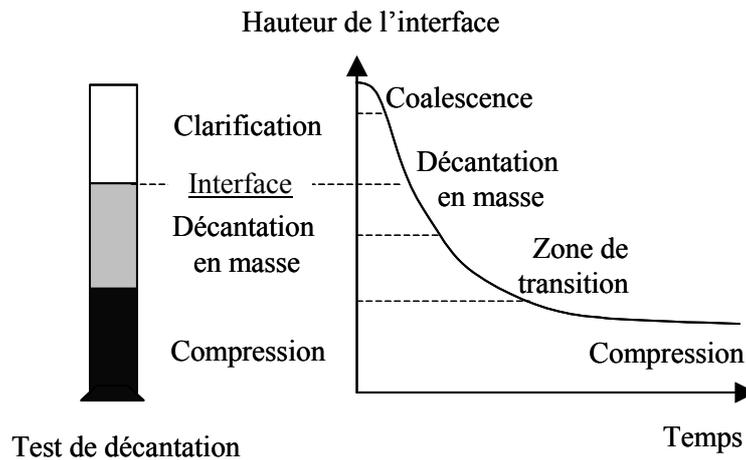


Figure II.3: Régimes de sédimentation

Quatre zones de sédimentation sont distinguées :

1. Coalescence : dans cette zone la floculation des particules prend place.
2. Décantation en masse : les floes décantent ensemble à la même vitesse, constante au cours du temps.
3. Zone de transition : la densité des floes devient importante, les floes se rencontrent lors de leur chute et ces interactions ralentissent la sédimentation des agrégats.
4. Compression : le milieu est très concentré et l'ensemble des particules se comporte comme un milieu poreux. Si la matière est compressible les boues se compactent en éliminant l'eau libre et leur concentration augmente. Cette phase caractérise donc la capacité de la boue à s'épaissir et est liée à la densité et à la déformabilité des floes.

Enfin, directement après la fin des 30 minutes du test de sédimentation, la turbidité est mesurée sur le surnageant de la décantation à l'aide du turbidimètre HACH Ratio XR Turbidimeter (Gamme de mesure 0-2000 NTU, incertitude de mesure égale à 20% sur l'échelle 0-20 NTU ou 20-200 NTU ou 200-2000 NTU).

### 3. Analyse granulométrique

La mesure de la taille des floes est déterminée avec un granulomètre Mastersizer 2000 (MALVERN Instruments SA). Cette technique repose sur la propriété des matériaux à diffracter la lumière. Toutes les particules éclairées par un faisceau laser diffractent la lumière dans toutes les directions avec une répartition d'intensité qui dépend de leur taille.

Les lois propres au phénomène de diffraction ne sont facilement applicables que dans certaines conditions :

- les particules sont sphériques, homogènes, isotropes,
- les mouvements des particules sont aléatoires,
- les particules sont suffisamment éloignées les unes des autres,
- le milieu est transparent et ne présente pas d'absorption du faisceau laser.

Dans la pratique, un échantillon de boue diluée avec l'eau de sortie des réacteurs préalablement filtrée sur  $0,2 \mu\text{m}$ , est injecté dans une cellule de mesure éclairée par un faisceau laser (Figure II.4). L'échantillon est aspiré dans la cellule de mesure grâce à une pompe péristaltique située en aval de la cellule. Les boues ne sont donc pas soumises à un cisaillement dû au pompage avant la mesure. La lumière diffractée par l'échantillon est collectée par une lentille et focalisée sur un détecteur placé dans le plan focal de cette lentille.

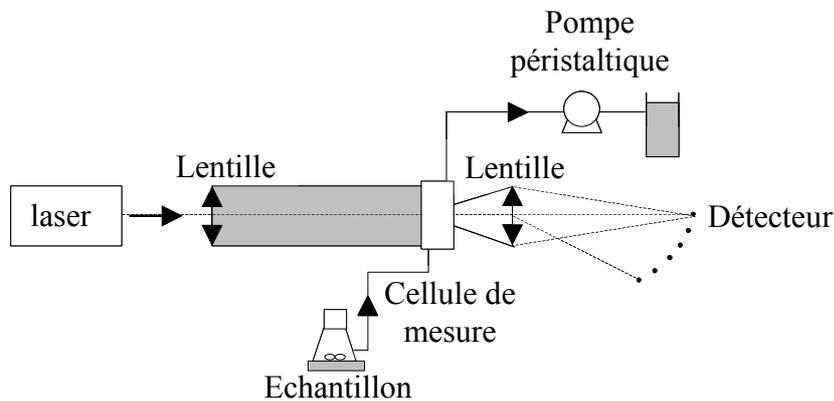


Figure II.4: Schéma de principe du granulomètre

Dans cette étude, l'indice de réfraction du dispersant est considéré égal à 1,330 et correspond à l'indice de réfraction de l'eau. Quant aux floes biologiques, ils sont constitués principalement de matière organique, c'est pourquoi l'indice de réfraction choisi ici est celui utilisé classiquement pour ces composés, soit 1,596 (Lambert S. 2000).

Pour tous les résultats fournis, au minimum 3 analyses sur le même échantillon sont effectuées. Le logiciel intégré à l'appareil (Mastersizer 2000) donne alors la distribution granulométrique en volume, en nombre ou en surface des floes en considérant les particules sphériques (Figure II.5).

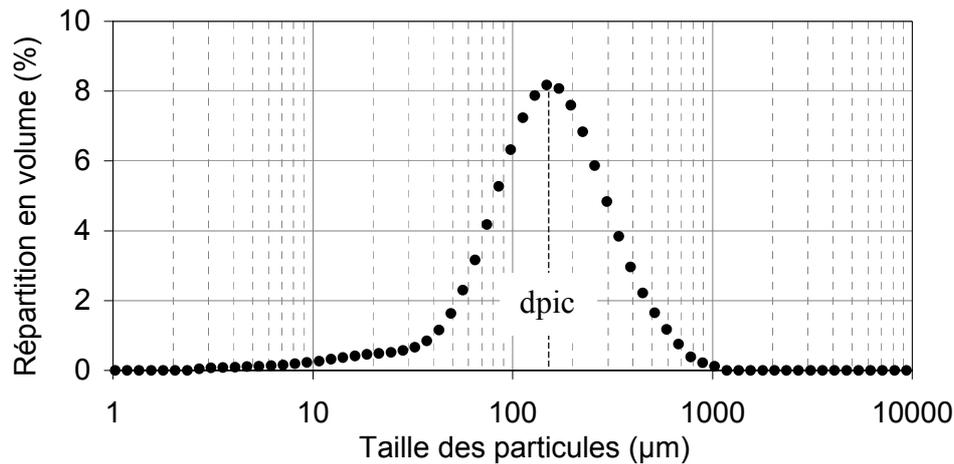


Figure II.5: Exemple de distribution granulométrique d'une boue de BA

Cette distribution permet d'évaluer le diamètre correspondant au pic de la distribution et le diamètre moyen. Les distributions granulométriques obtenues sur nos échantillons de boues étaient pratiquement toutes symétriques et unimodales. Le diamètre correspondant au maximum du pic est donc très proche du diamètre moyen des floes.

Par ailleurs, le granulomètre Mastersizer 2000 (Malvern) permet d'obtenir la dimension fractale des floes. Elle correspond à la capacité d'un objet à remplir l'espace et est classiquement comprise entre 1,7 et 2,5 pour des floes biologiques. Une dimension fractale élevée correspond à un floe compact alors qu'une faible valeur indique un floe plutôt poreux. La dimension fractale est liée à la masse de l'agrégat et à sa taille (Equation II.2).

$$M(R) \propto R^{D_f} \quad (\text{II.2})$$

Avec  $M(R)$  : masse de l'agrégat

$R$  : taille de l'agrégat

$D_f$  : dimension fractale

En pratique, lors du passage d'une solution contenant des particules à travers un faisceau lumineux, les particules dispersent la lumière. L'intensité de la lumière dispersée et les valeurs du vecteur d'onde permettent alors d'obtenir la dimension fractale (Equation II.3).

$$I(q) \propto q^{-D_f} \quad (\text{II.3})$$

Avec  $I$  : intensité dispersée

$q$  : vecteur d'onde

Le vecteur d'onde ( $q$ ) est défini d'après l'équation II.4 :

$$q = 4\pi n/\lambda \sin (\theta/2) \quad (\text{II.4})$$

Avec  $n$ : indice de réfraction du floc

$\lambda$  : longueur d'onde

$\theta$  : angle de dispersion (donné par la société Malvern)

Ainsi, la dimension fractale est obtenue en traçant l'intensité dispersée en fonction du vecteur d'onde. La pente de la courbe représente alors la dimension fractale (Figure II.6).

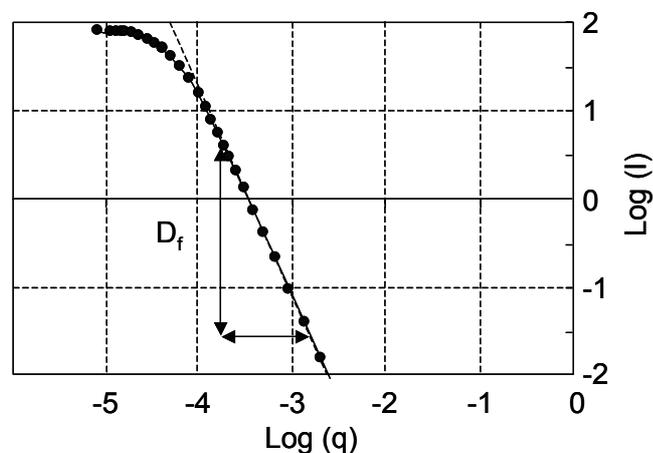


Figure II.6: Exemple de calcul de la dimension fractale

Cette méthode d'estimation de la dimension fractale est correcte pour des floes de taille inférieure à 200  $\mu\text{m}$  (Guan et al. 1998).

#### 4. Evaluation de la filtrabilité d'une boue

Le pouvoir colmatant des boues est déterminé à l'aide d'un système de filtration à membranes immergées (Figure II.7) fonctionnant avec de petits volumes d'échantillons de boues (2L).

La boue biologique introduite dans le système est aérée ( $2 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ ) au moyen d'un petit fritté situé au bas du réacteur. Le réacteur est thermostaté à la même température ( $20^\circ\text{C}$ ) que celle régnant dans le BAMI et le BA.

La succion à travers les membranes identiques à celles utilisées dans le BAMI (Tableau II.4) s'effectue à un débit constant par une pompe péristaltique.



Figure II.7: Photo du réacteur membranaire

Tableau II.4: Caractéristiques des membranes (Polymem)

<i>Matériau</i>	Polysulfone
<i>Type</i>	Fibres creuses
<i>Perméabilité à 20°C (L.h<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup>.bar<sup>-1</sup>)</i>	700
<i>Surface membranaire (m<sup>2</sup>)</i>	0,1
<i>Diamètre des pores (μm)</i>	0,2
<i>Diamètre externe des fibres (mm)</i>	0,72
<i>Diamètre interne des fibres (mm)</i>	0,38

### a. Calcul de la vitesse de colmatage

La vitesse de colmatage est évaluée en mesurant l'évolution au cours du temps de la pression transmembranaire pour différents flux de succion fixés. De façon pratique, un nouveau débit de succion est fixé toutes les 10 minutes pendant lesquelles la pression transmembranaire et la température du perméat sont relevées (Figure II.8a). A la fin des 10 minutes de filtration, le débit de succion est directement augmenté.

Le flux de perméation à 20°C est évalué par mesure du débit de perméat (Equation II.5) et en corrigeant la viscosité de l'eau en fonction de la température réelle mesurée ( $T_{\text{exp}}$ ) :

$$F_{p(20^{\circ}\text{C})} = \frac{\Delta V}{S \cdot \Delta t} * \frac{\mu_{(T_{\text{exp}})}}{\mu_{(20^{\circ}\text{C})}} \quad (\text{II.5})$$

Avec :  $F_{p(20^{\circ}\text{C})}$  : flux de perméation à 20°C ( $\text{m}^3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )

$\Delta V$  : volume de filtrat recueilli pendant le temps  $\Delta t$  ( $\text{m}^3$ )

$\Delta t$  : temps (s)

$S$  : surface de filtration ( $\text{m}^2$ )

$\mu$  : viscosité dynamique du perméat (Pa.s)

La viscosité de l'eau à une température donnée (T en °C), est évaluée en utilisant la formule II.6 (Serra 1996) :

$$\mu_{(T)} = 1,002 \exp \left[ 3,056 \frac{(20 - T)}{(T + 105)} \right] \quad (\text{II.6})$$

Ensuite, connaissant à tout moment, la valeur de la pression transmembranaire, il est possible de calculer la valeur de la résistance au colmatage en utilisant le modèle des résistances en série (Equation II.7). La résistance initiale de la membrane a été déterminée préalablement avec de l'eau ultrafiltrée.

$$F_{p(20^\circ\text{C})} = \frac{\text{PTM}}{\mu_{(20^\circ\text{C})} (R_m + R_c)} \quad (\text{II.7})$$

Avec :  $F_{p(20^\circ\text{C})}$  : flux de succion à 20°C ( $\text{m}^3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )

$\mu_{(20^\circ\text{C})}$  : viscosité dynamique du perméat à 20°C (Pa.s)

PTM : pression transmembranaire (Pa)

$R_m$  et  $R_c$  : respectivement résistance de la membrane et résistance de colmatage ( $\text{m}^{-1}$ )

Ainsi, pour chaque flux de perméat maintenu stable, une augmentation de la pression transmembranaire traduit une augmentation de la résistance de colmatage (Figure II.8b). Durant les 10 minutes de filtration à un flux donné constant, l'évolution de la résistance de colmatage peut être mesurée. La vitesse de colmatage, définie ici comme la variation de la résistance de colmatage au cours du temps, est alors calculée par extrapolation de la courbe donnant la variation de la résistance de colmatage en fonction du temps (Equation II.8):

$$V_c = \frac{dR_c}{dt} \quad (\text{II.8})$$

Avec

$V_c$  : vitesse de colmatage ( $\text{m}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ )

$R_c$  : résistance de colmatage ( $\text{m}^{-1}$ )

t : temps (h)

Durant une phase de 10 minutes de filtration, une vitesse moyenne ( $\bar{V}_C$ ) de colmatage peut être définie à partir de la résistance de colmatage en tout début du cycle (à l'instant  $t_1$ ) et de la résistance de colmatage en fin de cycle (à l'instant  $t_2$ ) (Equation II.9).

$$\bar{V}_C = \frac{\Delta R_C}{\Delta t} = \frac{R_{C2} - R_{C1}}{t_2 - t_1} \quad (\text{II.9})$$

Ceci revient à considérer que, sur des périodes de 10 minutes, la vitesse de colmatage évolue linéairement ce qui est vérifié dans de nombreux cas (Figure II.8 c).

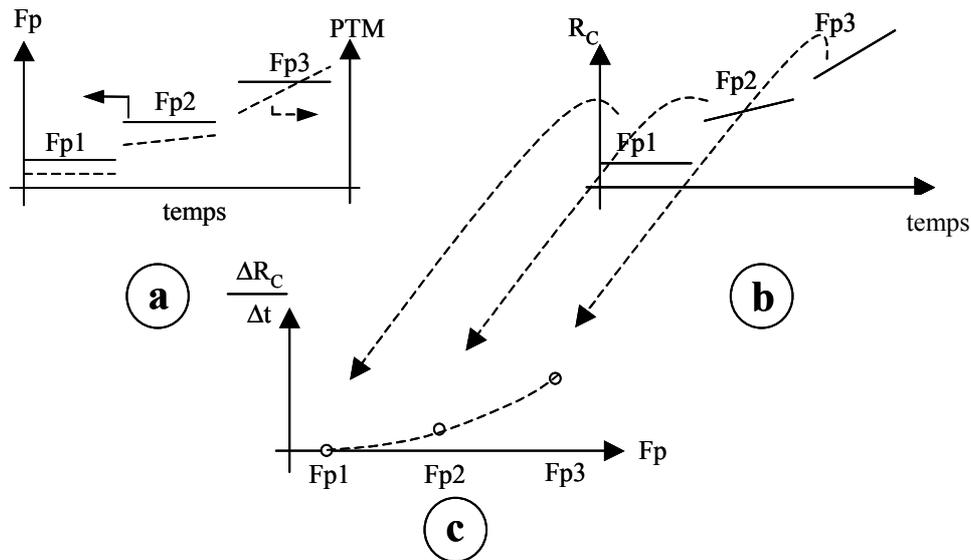


Figure II.8: Méthode de détermination du pouvoir colmatant d'une boue

Cette méthode dite "par pallier de flux" permet d'obtenir une caractéristique de la filtrabilité d'un échantillon biologique dans un système de référence. Chaque fluide pourra être caractérisé par une courbe qui présente la vitesse moyenne de colmatage en fonction du flux de perméat.

### **b. Calcul du produit $\alpha.C$**

Un modèle de filtration sur gâteau à flux constant a été utilisé afin de suivre l'évolution de la résistance du dépôt (Equation II.10):

$$dPTM = \frac{F_p \cdot \mu \cdot \alpha \cdot C}{S} \cdot dV \quad (\text{II.10})$$

Avec  $F_p$  : flux de succion ( $\text{m}^3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )

$\mu$  : viscosité dynamique du perméat (Pa.s)

$\alpha$  : résistance spécifique du gâteau ( $\text{m} \cdot \text{kg}^{-1}$ )

$C$  : quantité de matière déposée ( $\text{kg}/\text{m}^3$ )

$V$  : volume de filtrat ( $\text{m}^3$ )

$S$  : surface de filtration ( $\text{m}^2$ )

La quantité de matière déposée ( $C$ ) n'est pas connue. On fonctionne en filtration frontale, mais du fait de l'aération sous les membranes une partie des particules qui était associée au volume de boue, ne se dépose pas sur la membrane. Nous allons donc caractériser le produit  $\alpha.C$ .

En considérant  $\alpha.C$  constant sur toute la période de mesure, il est possible de déterminer la valeur du produit  $\alpha.C$  pour chaque cycle en mesurant l'évolution de la pression transmembranaire en fonction du volume filtré et en calculant la pente de la droite  $PTM = f(V)$  (Figure II.9).

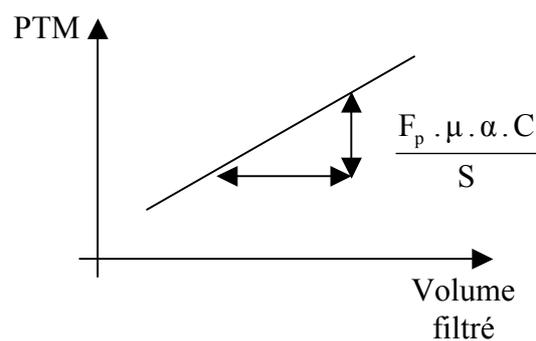


Figure II.9: Méthode de détermination du produit  $\alpha.C$

Lorsqu'un nouveau cycle commence le flux de perméat est augmenté. Le volume total de filtrat recueilli à la fin de ce cycle (i) est égal à la somme des volumes de filtrat lors des cycles précédents (1 → i-1) et du volume de filtrat pour ce cycle (i) (Equation II.11).

$$V_i = Fp_i \cdot S \cdot (\Delta t) + V_{i-1} \quad (\text{II.11})$$

Avec  $V_i$ : volume de filtrat au cycle i ( $\text{m}^3$ )

$V_{i-1}$  : volume de filtrat recueilli aux cycles précédents ( $\text{m}^3$ )

$Fp_i$  : flux de perméat au cycle i ( $\text{m}^3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )

$S$  : surface de filtration ( $\text{m}^2$ )

$\Delta t$  : durée du cycle (s)

## 5. Extraction et dosage des $\text{EPS}_{\text{liés}}$ et $\text{EPS}_{\text{solubles}}$

### a. Protocole d'extraction retenu

Le protocole développé permet de séparer les EPS présents dans les floes et ceux présents au sein du surnageant, dans l'objectif de les quantifier. Une méthode couplée sonication/résine échangeuse de cations est utilisée. Les raisons qui ont conduit à ce choix sont expliquées en annexe 1. Pour résumer, l'extraction des EPS des floes est effectuée de manière à quantifier les protéines, les polysaccharides et les substances humiques tout en évitant une lyse cellulaire.

Durant toutes les étapes d'extraction des EPS les solutions sont conservées à 4°C dans de la glace pilée, afin d'éviter une lyse cellulaire et donc un relargage de polymères intracellulaires. De même, toutes les dilutions sont effectuées avec un tampon phosphate ( $\text{Na}_3\text{PO}_4$  à 2mM,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  à 4mM,  $\text{NaCl}$  à 9mM,  $\text{KCl}$  à 1mM) de pH quasiment équivalent à celui des boues (pH=7). La pression osmotique des deux côtés des parois des cellules est ainsi similaire ce qui permet de prévenir la lyse cellulaire. Enfin, avant utilisation, la résine est préalablement lavée : 1kg de résine est placé sous agitation (180 rpm) avec 2L de tampon phosphate pendant 1 heure puis, après décantation durant 5 minutes, le surnageant est éliminé ; la résine est alors laissée 1 nuit à l'étuve à 30°C. Le protocole d'extraction est décrit à la figure II.10.

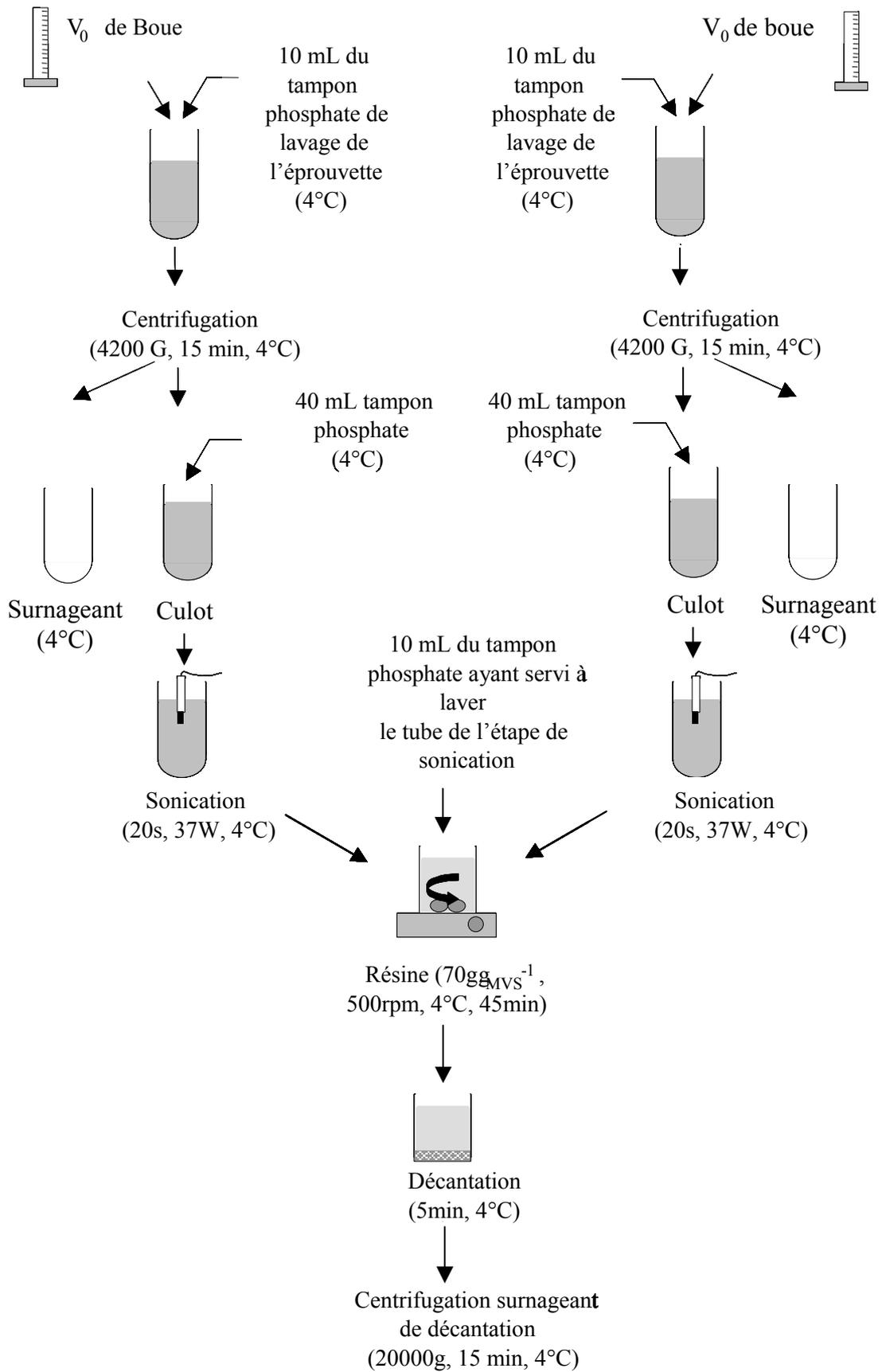


Figure II.10 : Protocole d'extraction des EPS<sub>liés</sub>

Tout d'abord un volume  $V_0$  de boue est prélevé à l'éprouvette graduée et placé dans un pot de centrifugation. Ce volume est choisi par rapport à la concentration en MVS ( $MVS_r$ ) de l'échantillon (Equation II.12) :

$$V_0 = \frac{0,1 \cdot 10^3}{MVS_r} \quad (\text{II.12})$$

Avec  $V_0$  : volume d'échantillon prélevé (mL)

$MVS_r$ : concentration en MVS de l'échantillon (la détermination des MVS nécessitant 24h la concentration prise ici est celle des boues de la veille)(g.L<sup>-1</sup>)

Ce volume est donc différent au cours de l'étude, la concentration en MVS des réacteurs fluctuant, mais permet d'avoir un volume et une concentration toujours identique à l'étape des ultrasons. L'éprouvette ayant servi au prélèvement de l'échantillon est ensuite nettoyée avec 10 mL de tampon phosphate. Les eaux de lavage sont alors ajoutées à la boue placée dans les pots de centrifugation.

Suit alors une étape de centrifugation (4200 G, 15 min, 4°C) dont le but est de séparer les exopolymères solubles présents dans le surnageant, des exopolymères liés aux floccs et présents dans le culot de centrifugation. Les exopolymères solubles sont ensuite stockés dans un flacon bouché et entouré de glace pilée pendant que l'extraction des exopolymères liés aux floccs continue.

Le culot de centrifugation est alors remis en suspension avec 40 mL de tampon phosphate. Cette nouvelle solution est ensuite passée aux ultrasons (20s, 37W, 4°C). Les conditions ont été choisies pour éviter une lyse cellulaire. Lors de cette étape il est important que le volume et la concentration en MVS de la solution soient toujours les mêmes d'une extraction à l'autre. En effet, pour pouvoir comparer les résultats entre eux, l'extraction doit toujours être menée de façon identique. Il faut donc que l'efficacité des ultrasons soit toujours la même. Pour cette raison, le volume  $V_0$  du départ est choisi de façon à garantir une concentration en MVS à l'étape des ultrasons égale à 2,5 g.L<sup>-1</sup>. Durant cette étude il était compris entre 20 et 60 mL.

Après sonication, la solution est ensuite introduite dans un bêcher entouré de glace pilée. Les 10 mL de tampon phosphate qui servent à laver le récipient ayant contenu la solution sonicée sont ajoutés dans le bêcher ainsi que 70g de résine /  $g_{MVS}$  (Dowex G50\*8, forme Na<sup>+</sup>, Merck 44445).

Le contenu du bêcher est ensuite mis sous agitation à 500 rpm pendant 45 minutes. Cette étape permet de solubiliser les EPS. La décantation (5 min à 4°C) qui suit permet de récupérer

uniquement le surnageant qui est centrifugé à 20000 G pendant 15 minutes à 4°C. Le surnageant de centrifugation contient alors les EPS qui au départ étaient liés aux agrégats biologiques.

### **b. Protocole de dosage des EPS**

En ce qui concerne le dosage des EPS, toutes les méthodes décrites ci-dessous font références à des méthodes classiques de dosages colorimétriques. Dans tous les cas, la lecture des absorbances s'effectue à l'aide d'un spectrophotomètre et les dosages sont répétés deux fois. Lorsqu'il s'agit d'une concentration en exopolymères présents dans le surnageant, celle-ci s'exprime en mg d'équivalent du produit étalon par litre d'échantillon. Pour les EPS liés, elle est exprimée en mg d'équivalent du produit étalon par gramme de MVS présent initialement dans l'échantillon.

#### **b.1 Dosage des protéines et substances humiques**

Les protéines sont dosées suivant la méthode de Lowry modifiée par Frolund (1995). Elle consiste à former un complexe entre les liaisons peptidiques et le sulfate de cuivre  $\text{CuSO}_4$ , en milieu alcalin. Ce complexe réduit alors les acides phosphomolybdiques et phosphotungstiques du réactif Phénol-Folin-Ciocalteu pour donner un second complexe de couleur bleue, mesuré au spectrophotomètre à 750 nm. Toutefois, lors de l'utilisation de cette méthode, Davis (1988) met en évidence des interférences lors de la lecture au spectrophotomètre dues aux substances humiques. Frølund et al. (1995) ont modifié alors la méthode établie par Lowry pour prendre en compte les substances humiques dans la mesure des protéines. Cette méthode est basée sur la mesure du développement de couleur en présence et en l'absence de  $\text{CuSO}_4$ .

En présence de  $\text{CuSO}_4$ , aussi bien les protéines que les substances humiques sont dosées. En l'absence de  $\text{CuSO}_4$ , le développement de couleur est dû aux composés humiques et aux acides aminés chromogènes, alors que la coloration développée par le BSA est réduite de 20% (Frolund et al 1995). A partir des absorbances lues, il est alors possible de déterminer l'absorbance des protéines et des substances humiques (Equations II.13 à II.14) :

$$\text{Abs totale avec } \text{CuSO}_4 = \text{Abs protéines} + \text{Abs substances humiques} \quad (\text{II.13})$$

$$\text{Abs totale sans } \text{CuSO}_4 = 0,2 * \text{Abs protéines} + \text{Abs substances humiques} \quad (\text{II.14})$$

Des deux premières équations, il vient :

$$\text{Abs protéines} = 1,25 * (\text{Abs totale avec CuSO}_4 - \text{Abs totale sans CuSO}_4) \quad (\text{II.15})$$

$$\text{Abs substances humiques} = \text{Abs totale sans CuSO}_4 - 0,2 * \text{Abs protéines} \quad (\text{II.16})$$

Le protocole opératoire de dosage des protéines et des substances humiques est décrit dans le tableau II.5.

Tableau II.5 : Protocole de dosage des protéines et substances humiques

<i>En présence de CuSO<sub>4</sub></i>	<i>En absence de CuSO<sub>4</sub></i>
5 mL de (F)	5 mL de (H)
+ 1 mL d'échantillon	+ 1 mL d'échantillon
Homogénéisation au vortex	Homogénéisation au vortex
Repos pendant 10 minutes à température ambiante	Repos pendant 10 minutes à température ambiante
+ 0,5 mL de (G)	+ 0,5 mL de (G)
Homogénéisation au vortex	Homogénéisation au vortex
Repos 15 min à l'obscurité	Repos 15 min à l'obscurité
Homogénéisation au vortex	Homogénéisation au vortex
Repos 15 min à l'obscurité	Repos 15 min à l'obscurité
Lecture à 750nm contre un blanc réactif (tampon phosphate)	Lecture à 750nm contre un blanc réactif (tampon phosphate)

- Avec (A): CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O (1% m/V)  
 (B): Tartrate de Potassium et de Sodium (2% m/V)  
 (C): NaOH (0,2M)  
 (D): Carbonate de Sodium (4% m/V)  
 (E): Réactif De Folin (2N)  
 (F): 49mL (D) + 49mL (C) + 1mL (A) + 1mL (B)  
 (G): (E) / 2  
 (H): 49mL (D) + 49mL (C) + 1mL eau + 1mL (B)

Les concentrations en protéines et en substances humiques sont établies à partir de gammes étalons réalisées, respectivement, avec du sérum albumine bovin (Sigma A7906) et des acides humiques (Fluka 53680).

## b.2 Dosage des polysaccharides

La méthode colorimétrique utilisée ici est celle établie par Dubois et al. (1956). L'échantillon est chauffé en présence d'acide sulfurique et de phénol. Les polysaccharides sont hydrolysés, durant le chauffage, par l'acide sulfurique puis les monosaccharides sont déshydratés par le phénol (coloration orange).

Le protocole opératoire de dosage des polysaccharides est décrit dans le tableau II.6.

Tableau II.16: Protocole de dosage des polysaccharides

<i>Polysaccharides</i>
1 mL de Phénol à 5% m/V
+ 1 mL d'échantillon
Homogénéisation au vortex
5mL d'H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> concentré
Bain marie à 100°C pendant 5 min
Repos 30 min à l'obscurité
Lecture à 492nm contre un blanc réactif (tampon phosphate)

La concentration en polysaccharides des floes est établie à partir d'une gamme étalon réalisée avec du glucose (D-glucose, anhydrique, 99%, Acros organics).

## 6. Détermination de la production de boues

La production journalière de boue ( $P_{x_{\text{jour}}}$ ) est déterminée en prenant en compte la quantité de boue purgée, l'accumulation de biomasse (MVS) au sein du réacteur biologique et la concentration en MVS en sortie (Equation II.17). La DCO éliminée quotidiennement est estimée à l'aide de l'équation II.18.

La DCO soluble de l'effluent traité correspond au perméat de l'échantillon filtré sur filtre de diamètre moyen des pores de 0,45  $\mu\text{m}$ .

$$Px_{\text{jour}} = Q_p \cdot MVS_r + V_r \cdot \Delta MVS_r + Q_s \cdot MVS_s \quad (\text{II.17})$$

$$\Delta DCO_{\text{jour}} = Q_e \cdot DCO_e - (Q_s + Q_p) \cdot DCO_{s.s} \quad (\text{II.18})$$

Avec :

- $Q_e$  : débit d'entrée ( $L \cdot j^{-1}$ )
- $Q_s$  : débit de sortie ( $L \cdot j^{-1}$ )
- $Q_p$  : débit de purge ( $L \cdot j^{-1}$ )
- $DCO_e$  : DCO totale en entrée ( $g_{DCO} \cdot L^{-1}$ )
- $DCO_{s.s}$  : DCO soluble de sortie ( $g_{DCO} \cdot L^{-1}$ )
- $\Delta MVS_r$  : variation de la concentration en matières volatiles en suspension dans le réacteur ( $g \cdot L^{-1} \cdot j^{-1}$ )
- $MVS_{r,s}$  : concentration en matières volatiles en suspension dans le réacteur ou en sortie ( $g \cdot L^{-1}$ )

Les valeurs de  $Px_{\text{jour}}$  et  $\Delta DCO_{\text{jour}}$  permettent de calculer l'élimination de DCO cumulée (Equation II.19) ainsi que la production de boue cumulée (Equation II.20).

$$\Delta DCO_{\text{cumulée}} = \sum_{\text{jour}=1}^i \Delta DCO_{\text{jour}} \quad (\text{II.19})$$

$$Px_{\text{cumulée}} = \sum_{\text{jour}=1}^i Px_{\text{jour}} \quad (\text{II.20})$$

Le rapport des pentes des droites ainsi tracées représente alors le rendement de production de boue en  $g_{MVS_{\text{produit}}} \cdot g_{DCO_{\text{éliminée}}}^{-1}$  (Figure II.11).

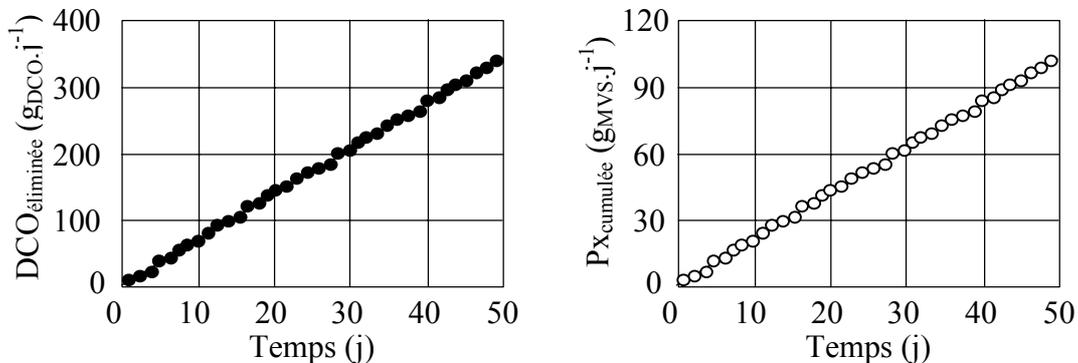


Figure II.11 : Exemple d'estimation du rendement de production de boues



---

**CHAPITRE III**

**ANALYSE COMPARATIVE D'UN  
PROCEDE BIOREACTEUR A  
MEMBRANES IMMERGEES ET D'UN  
PROCEDE A BOUES ACTIVEES**

---



L'objectif de ce chapitre est de comparer les performances obtenues avec le BAMI et le procédé à boues activées lors de leur fonctionnement à long terme, tous deux alimentés par une même eau résiduaire urbaine.

La première partie de ce chapitre permet de comparer les performances globales d'élimination de la DCO et des EPS solubles spécifiques. Elle fournira des informations sur le rôle de la membrane dans la rétention des composés solubles. La stabilité des performances ainsi que l'influence des conditions opératoires (âge des boues) sont discutés. Signalons ici que la comparaison des activités biologiques et des cinétiques de dégradation entre le BAMI et le procédé à boues activées fait l'objet d'une autre thèse réalisée au laboratoire (LIPE) par Mme Espinosa-Bouchot.

D'autre part, la deuxième partie de ce chapitre analyse le potentiel de minimisation de la production de boues par le BAMI et permettra de comparer la production de boues à celle du procédé à boues activées, et ce pour différents âges de boues.

## I. Performances d'élimination de la DCO

### 1. Performances globales

Les performances d'épuration de la DCO par les deux procédés pour différents âges de boues sont regroupées sur la figure III.1. Le calcul des performances est réalisé en considérant la DCO soluble de sortie des deux pilotes.

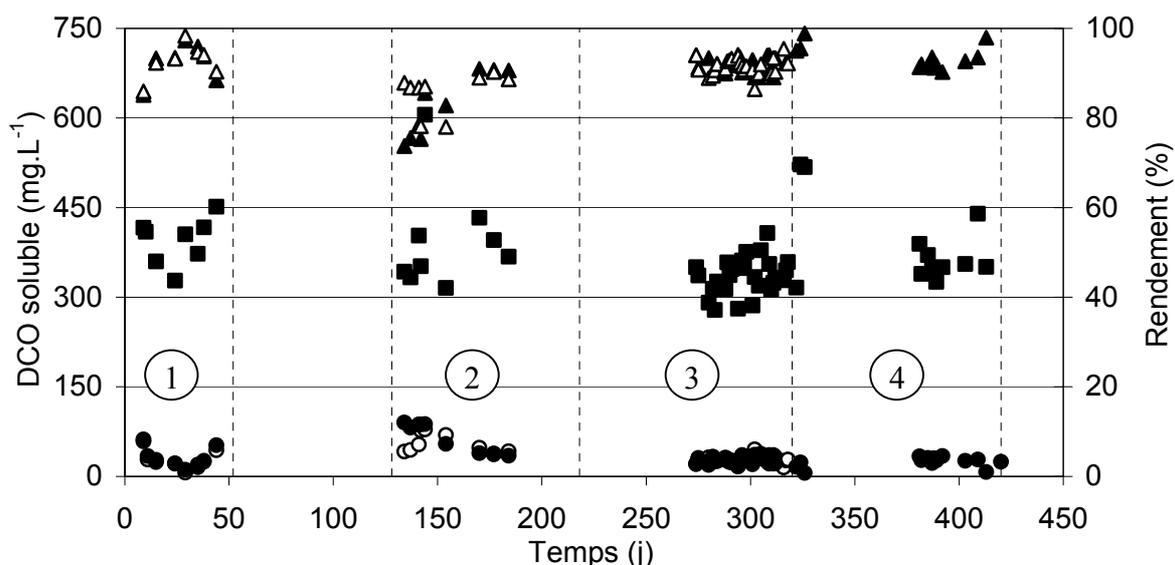


Figure III.1: Efficacité d'épuration de la DCO par les deux procédés

DCO totale ERU (■) ; DCO soluble de sortie du BAMI (●) du BA (○) ; Rendement BAMI (▲) BA (△).

BAMI (1:  $\underline{\text{TSB}}=9,8$  j / 2:  $\underline{\text{TSB}}=37,2$  j / 3:  $\underline{\text{TSB}}=160,0$  ; 110,3 j / 4:  $\underline{\text{TSB}}=53,0$  j)

BA (1:  $\underline{\text{TSB}}=9,2$  j / 2:  $\underline{\text{TSB}}=32,0$  j / 3:  $\underline{\text{TSB}}=14,3$  j)

Quelle que soit la période considérée, vis à vis des substances solubles en sortie du procédé les deux réacteurs présentent des rendements d'élimination de la DCO quasiment équivalents et en moyenne proche de 90%. Les concentrations en DCO soluble en sortie des deux procédés ne sont pas statistiquement différentes étant donné qu'elles sont majoritairement comprises entre 20 et 40 mg.L<sup>-1</sup>, gamme où l'erreur de mesure est de 20 à 25%.

Par ailleurs, pour les deux procédés, une augmentation de la pollution organique de l'eau usée, comme par exemple les 44<sup>ème</sup>, 409<sup>ème</sup> jours ou durant la période allant du 324 au 326<sup>ème</sup> jour, ne se traduit pas nécessairement par une augmentation de la DCO soluble de sortie.

Toutefois, si on intègre les matières en suspension dans ce bilan, et du fait des problèmes occasionnels survenant sur le décanteur dans le procédé à boues activées, la DCO de sortie du réacteur à boues activées est souvent supérieure à la DCO soluble de sortie alors que dans le BAMI la DCO totale reste égale à la DCO soluble (Figure III.2).

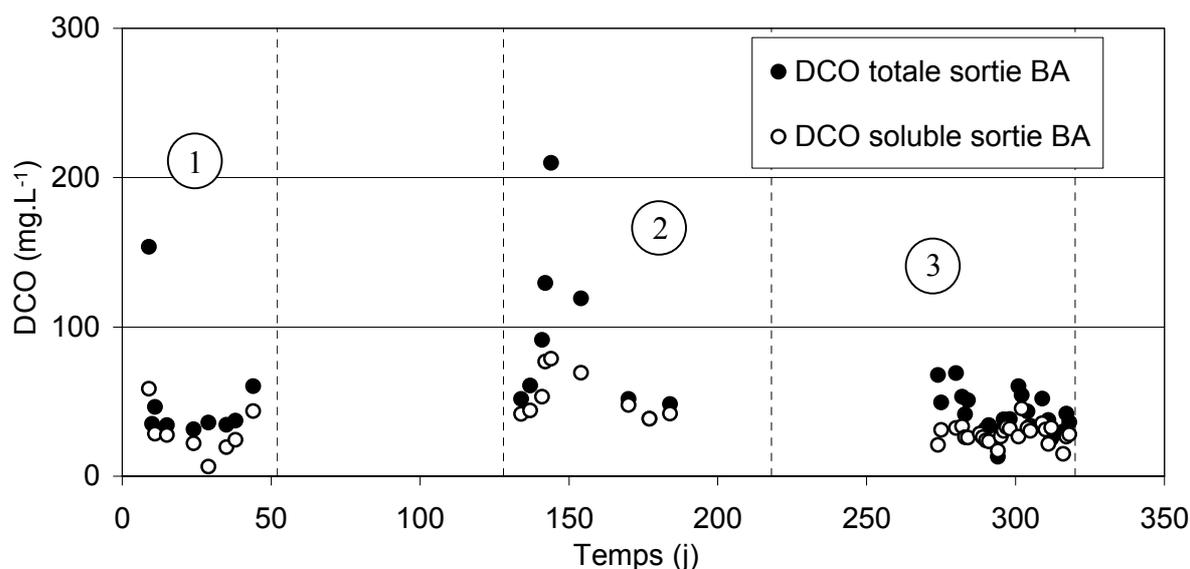


Figure III.2: Évolution de la DCO à la sortie du procédé à boues activées  
BA (1:TSB=9,2 j / 2:TSB=32,0 j / 3:TSB=14,3 j)

Dans le procédé à boues activées, la présence de DCO particulière en sortie correspond à une fuite de MES dans le surnageant du décanteur. Les dysfonctionnements de la décantation sont principalement dus à une variation du débit d'aération (chute du débit d'aération entre le 147<sup>ème</sup> et le 150<sup>ème</sup> jour) ou à l'apparition d'organismes filamenteux (entre le 274<sup>ème</sup> et le 284<sup>ème</sup> jour).

## 2. Rôle de la rétention membranaire : étude dynamique

Lors de l'utilisation du procédé à boues activées, les concentrations en composés solubles des boues sont identiques à celles en sortie du décanteur. En ce qui concerne le bioréacteur à membranes, la membrane qui retient 100% des MES, peut également retenir une partie des composés solubles et colloïdaux. Nous avons donc comparé les concentrations en composés solubles dans le surnageant et le perméat de manière à évaluer la capacité de rétention de la membrane en composés solubles (Figure III.3).

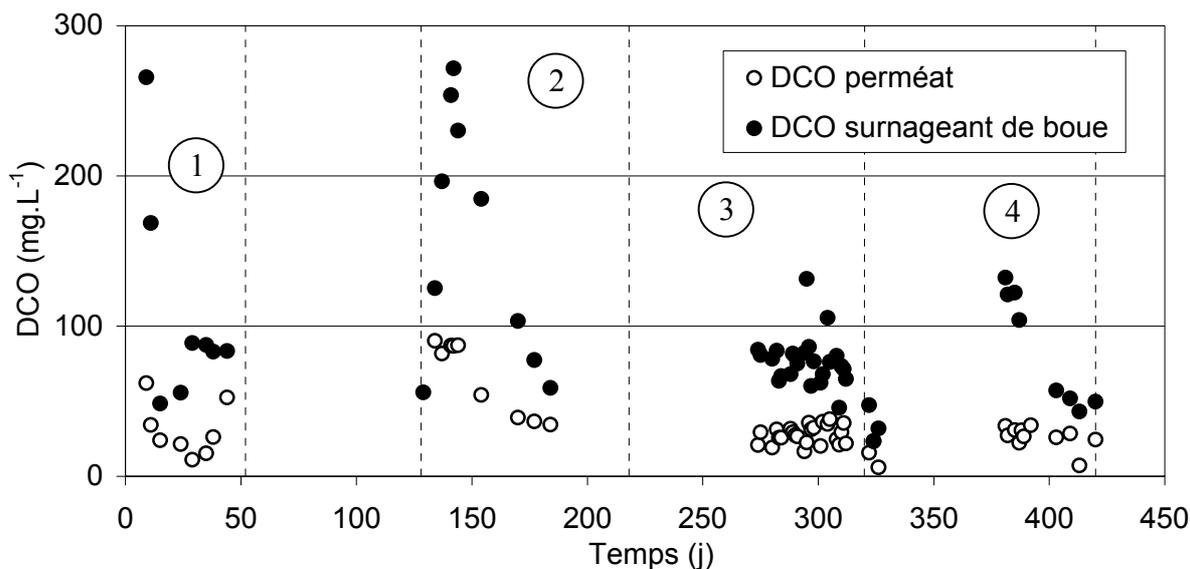


Figure III.3: Evolution de la DCO du surnageant des boues et du perméat du BAMI  
(1:  $\underline{\text{TSB}}=9,8 \text{ j}$  / 2:  $\underline{\text{TSB}}=37,2 \text{ j}$  / 3:  $\underline{\text{TSB}}=160,0 ; 110,3 \text{ j}$  / 4:  $\underline{\text{TSB}}=53,0 \text{ j}$ )

Comme le montre la figure III.3, quel que soit l'âge des boues, l'ensemble membrane + dépôt retient une partie de la DCO du surnageant (mesure effectuée sur l'échantillon de boue filtrée sur filtre  $0,45 \mu\text{m}$ ). Ce taux de rétention en DCO varie de 28 à 88%. Le BAMI atteint alors des rendements d'épuration en DCO supérieurs à 75%. La plupart des travaux montrent que les membranes utilisées en traitement des eaux usées retiennent une partie de la matière organique du surnageant (Lee et al. 2003, Huang et al. 2000, Reid et al. 2004). Ainsi, Lee et al. (2003) avec un BAMI alimenté en effluent synthétique a également montré que 73 à 79% de la DCO du surnageant (colloïdes + solubles) est retenue par la membrane colmatée (Tableau III.1). Ces résultats ont été obtenus pour une gamme d'âge de boues plus faible et pour une concentration en DCO dans le surnageant plus faible que celle que nous avons obtenue (jusqu'à  $270 \text{ mg.L}^{-1}$ ).

Tableau III.1: Rôle de la membrane dans l'épuration des composés solubles (centrifugation à  $366 \text{ rad.s}^{-1}$  pendant 5 minutes) (Lee et al. 2003)

Références	MVS ( $\text{g.L}^{-1}$ )	TSB (j)	TSH (h)	DCO ( $\text{mg.L}^{-1}$ )			Rendement (%)	
				Entrée	Surnageant	Perméat	Procédé <sup>(b)</sup>	Membrane <sup>(a)</sup>
Lee et al. (2003)	2,8	20	7,8	300	$42,3 \pm 6,3$	$11,5 \pm 3,7$	96	73
	4,4	40	7,8	300	$38,5 \pm 10,1$	$9,0 \pm 3,5$	97	77
	5,5	60	7,8	300	$35,8 \pm 11,2$	$7,6 \pm 3,8$	97	79

<sup>(a)</sup> Elimination de la DCO soluble par la membrane <sup>(b)</sup> Elimination de la DCO soluble par le système

Au final, le perméat est pratiquement exempt de matières organiques et le procédé atteint des rendements d'épuration de 90%, quel que soit l'âge des boues (Lee et al. 2003) ou quelle que soit la charge volumique ( $0,4$  à  $1,0 \text{ kg}_{\text{DCO}} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{j}^{-1}$ ) (Orantes et al. 2003).

La figure III.3 montre également qu'à chaque nouvel ensemencement du réacteur, la teneur en DCO du surnageant augmente dans un premier temps puis chute. Shin et al. (2003) observent le même type de résultats lorsqu'ils utilisent un BAM alimenté par un effluent synthétique (Figure III.4).

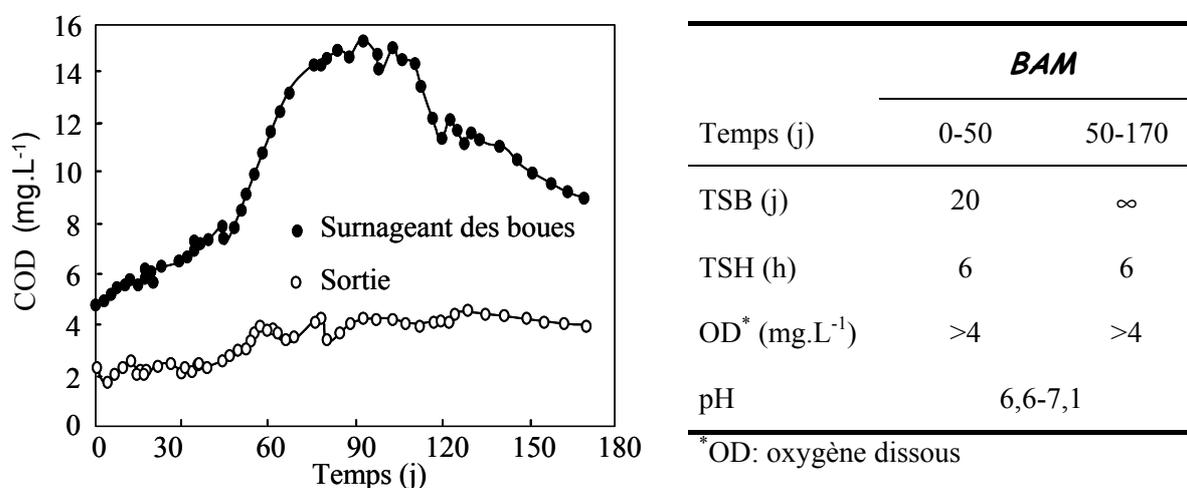


Figure III.4: Evolution de la concentration en carbone organique dissous des boues et des sorties d'un BAM (Shin et al. 2003)

Pour notre étude, lors d'un nouvel ensemencement, les molécules organiques du surnageant ont une conformation ou une masse moléculaire élevée ne leur permettant pas de traverser l'ensemble membrane+dépôt. Puis l'hydrolyse de ces composés permet leur assimilation par la biomasse et/ou leur passage à travers la membrane, ce qui provoque ensuite une diminution de leur concentration dans le surnageant.

Cette hypothèse peut s'appuyer sur les observations de Shin et al. (2003) qui ont observé lors de la chute de la concentration en carbone organique du surnageant de leur BAM, une

diminution de la masse moléculaire des composés solubles. La proportion des composés de taille supérieure à 30 kDa diminue alors que celle de taille inférieure à 10 kDa augmente.

En règle générale, les composés organiques solubles de masse moléculaire élevée correspondent aux polymères. Aussi nous avons étudié spécifiquement l'évolution dans le BAMI des concentrations en polysaccharides, protéines et DCO du surnageant pour la 4<sup>ème</sup> période (jours 320 à 420) (Figure III.5).

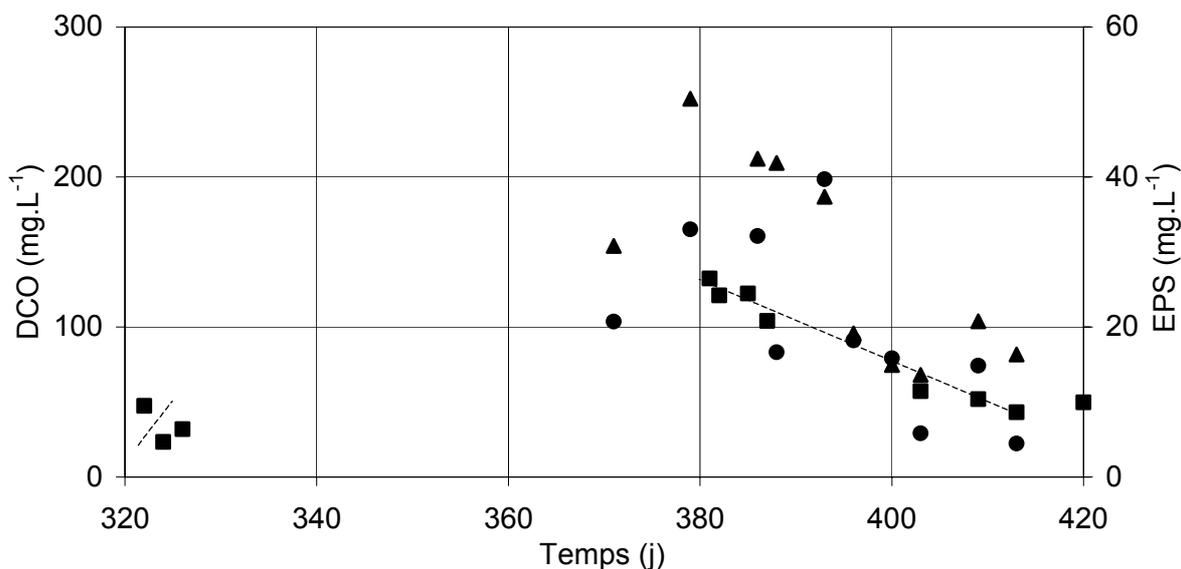


Figure III.5: Evolution de la concentration en DCO (■), protéines (●) et polysaccharides (▲) du surnageant, pour la 4<sup>ème</sup> période de fonctionnement du BAMI (TSB=53,0 j)

L'évolution de la DCO du surnageant est la même que celle des polysaccharides et des protéines solubles. Par conséquent, la membrane permet d'accumuler ces produits microbiens solubles qui sont lentement biodégradables. En revanche, aucune relation n'est trouvée entre l'évolution des substances humiques et celle de la DCO (résultats non présentés). Comme le confirmera le bilan matière effectué sur les polymères solubles (paragraphe III.3.a), les substances humiques ne sont quasiment pas retenues par la membrane et ne s'accumulent donc pas dans le bioréacteur.

Au final, l'évolution de la DCO soluble devrait donc être corrélée à la quantité de polysaccharides et de protéines (Figure III.6).

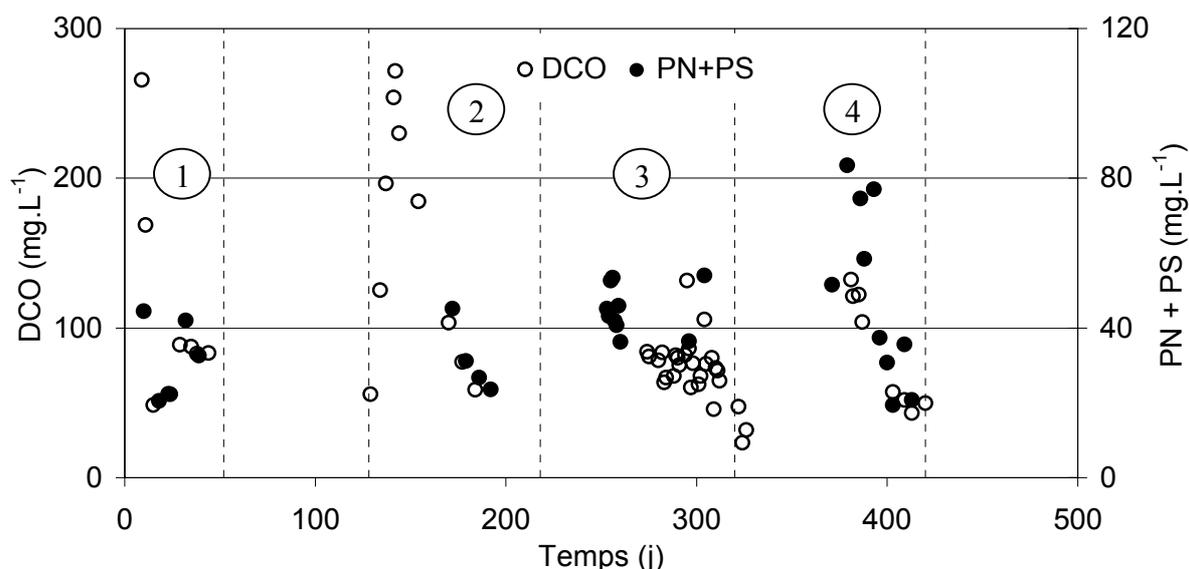


Figure III.6: Evolution de la DCO et des EPS (protéines (PN) + polysaccharides (PS)) du surnageant de BAMI (1:  $TSB=9,8$  j / 2:  $TSB=37,2$  j / 3:  $TSB=160,0 ; 110,3$  j / 4:  $TSB=53,0$  j)

Il apparaît effectivement que pour l'ensemble des expériences l'évolution de la concentration en DCO et celle représentée par la somme des protéines et des polysaccharides ont une allure similaire.

Par ailleurs, il semble que lors d'une augmentation du temps de séjour des boues (Figure III.6) le temps de stabilisation (durée entre la montée et la chute de DCO) augmente également. Hejzlar et Chudoba (1986) ou Mukai et al. (2000) constatent que les PMS associés à une lyse cellulaire intense ou un décès ont généralement une masse moléculaire élevée. Il est donc probable que ces polymères soient plus difficilement biodégradables que ceux générés durant la croissance et nécessitent un temps de dégradation plus long. Le temps de stabilisation de la DCO soluble serait donc plus élevé.

Ainsi, il apparaît clairement que la séparation membranaire permet de retenir des macromolécules et des colloïdes dont le temps de séjour peut alors être relié au temps de séjour des boues. La rétention plus importante de ces macro-molécules peut donner un avantage au bioréacteur à membrane dans l'élimination de la matière organique, voire dans la production de boues. Cela peut, par contre, être un inconvénient en terme de colmatage. Ces aspects seront discutés ultérieurement.

### 3 Etude de l'élimination des EPS solubles

#### a. Bilan matière sur le BAMI

Le suivi des concentrations en polymères solubles de l'eau usée, du surnageant des boues et de la sortie du BAMI a été effectué durant une semaine, du 253 au 260<sup>ème</sup> jour. Le pH des boues était compris entre 5,8 et 6,6. La fraction soluble correspond au surnageant de l'échantillon centrifugé pendant 15 minutes à 4°C, à une vitesse de 4200 G. Les expériences sont réalisées 35 jours après le début de la 3<sup>ème</sup> période et correspondent à un âge des boues de 160 jours. La concentration en MES durant ces analyses est comprise entre 5,6 g.L<sup>-1</sup> et 7,5 g.L<sup>-1</sup>.

Les proportions au cours du temps de chacun des polymères solubles de l'eau usée d'alimentation sont données à la figure III.7.

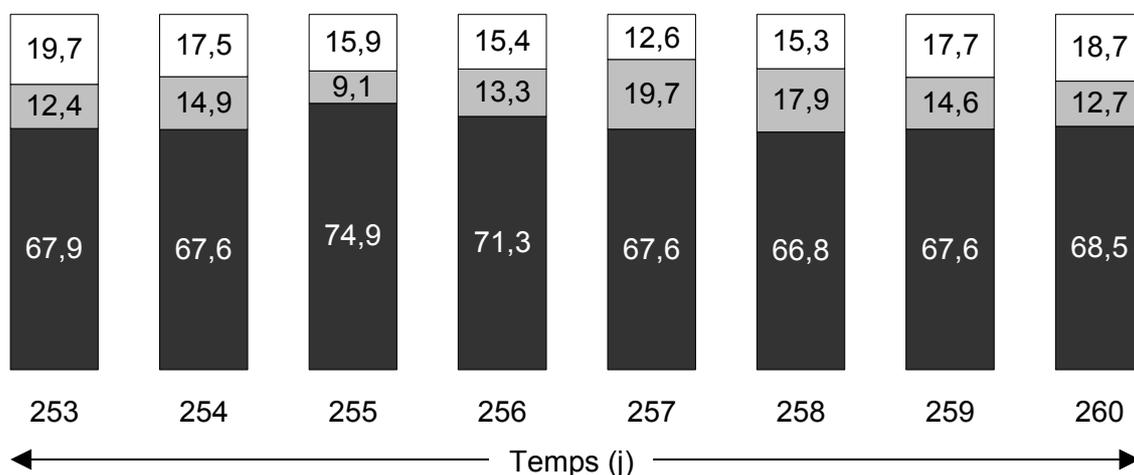


Figure III.7: Contribution (%) de chaque type de polymère dans les EPS totaux de l'ERU  
[Substances humiques (■), protéines (▒), polysaccharides (□)]

Les caractéristiques de l'eau usée d'alimentation varient au cours du temps. Ce comportement rappelle que le BAMI est alimenté avec de l'eau usée naturelle et qu'à ce titre ses caractéristiques évoluent. Par exemple, le 254<sup>ème</sup> et le 257<sup>ème</sup> jour, la concentration de chacun des polymères augmente soudainement car le jour précédent l'ERU a été renouvelée dans les cuves de stockage. Cependant, il apparaît que pour ces deux jours les proportions en chacun des polymères restent relativement constantes.

Les substances humiques constituent la majeure partie des polymères solubles de l'eau résiduaire urbaine (66,8 à 74,9% des polymères soit une concentration comprise entre 37,6 et 52,0 mg.L<sup>-1</sup>). Ils ont donc une influence prépondérante dans l'évolution de la concentration en EPS totaux.

Les protéines représentent 9,1 à 19,7 % des polymères (5,6 à 15,1 mg.L<sup>-1</sup> des exopolymères) contre 12,6 à 19,7% (8,1 à 13,0 mg.L<sup>-1</sup>) pour les polysaccharides.

En ce qui concerne le surnageant des boues du BAMI, celui-ci présente des proportions en polymères différentes de celles de l'ERU (Figure III.8).

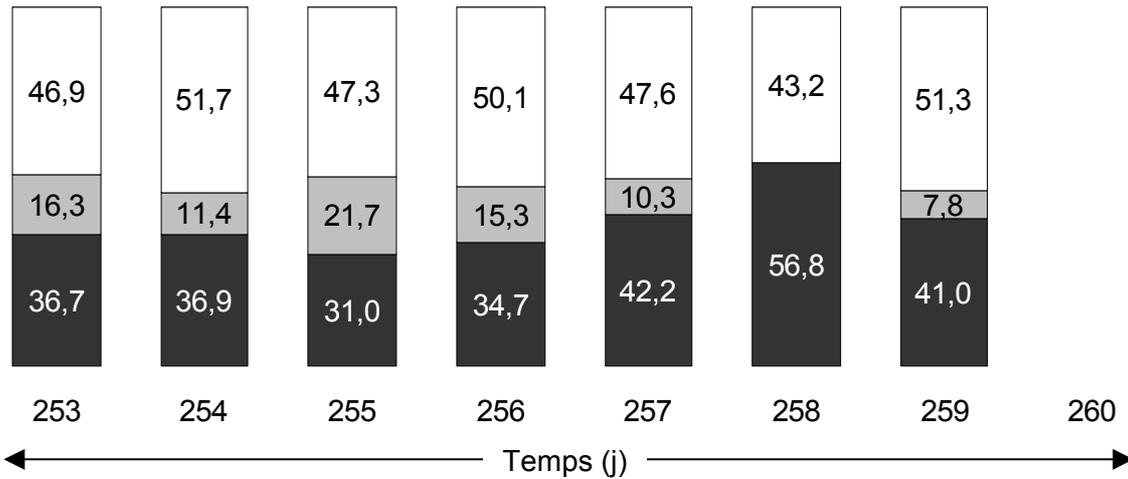


Figure III.8: Contribution (%) de chaque type d'exopolymères solubles dans les EPS totaux des boues du BAMI [Substances humiques (■), protéines (▒), polysaccharides (□)]

Dans le surnageant des boues du BAMI 31,0 à 56,8% des exopolymères (23,6 à 53,6 mg.L<sup>-1</sup>) sont des substances humiques, 0 à 21,7% (0 à 16,6 mg.L<sup>-1</sup>) des protéines et 43,2 à 51,7% (33,5 à 40,9 mg.L<sup>-1</sup>) des polysaccharides. Les polymères les plus représentés dans le surnageant de BAMI sont donc les polysaccharides puis les substances humiques.

Enfin, l'analyse des proportions en polymères du perméat est reportée à la figure III.9.

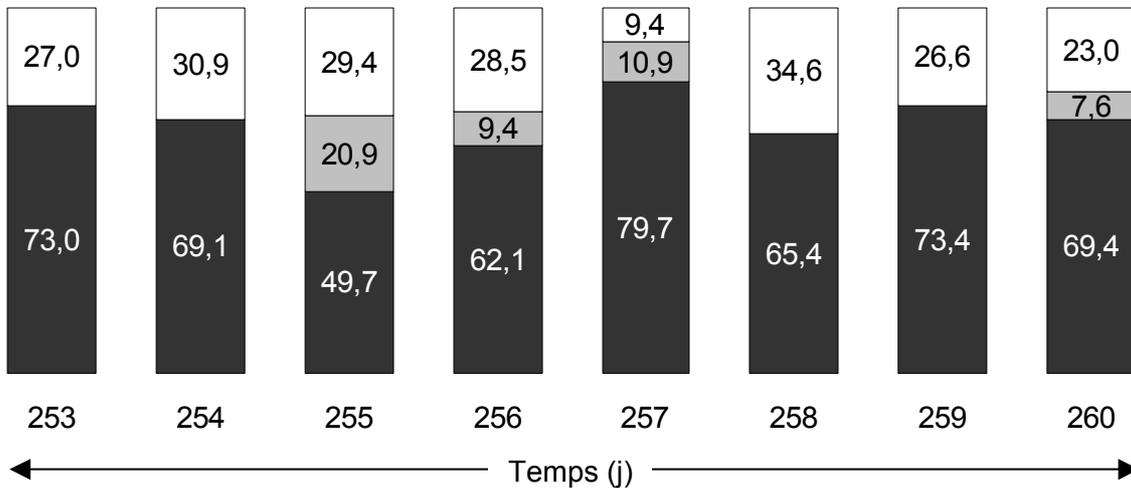


Figure III.9: Contribution (%) de chaque type de polymères dans les EPS totaux du perméat [Substances humiques (■), protéines (▒), polysaccharides (□)]

Les substances humiques sont les composés majoritaires du perméat et représentent jusqu'à 80% des polymères présents. Les protéines représentent 0 à 20,9 % (0 à 7,4 mg.L<sup>-1</sup>) des polymères contre 9,4 à 34,6 % (2,4 à 11,4 mg.L<sup>-1</sup>) pour les polysaccharides.

Il apparaît donc que les proportions en chacun des polymères varient selon le fluide analysé. Cela signifie que les concentrations changent également (Figure III.10).

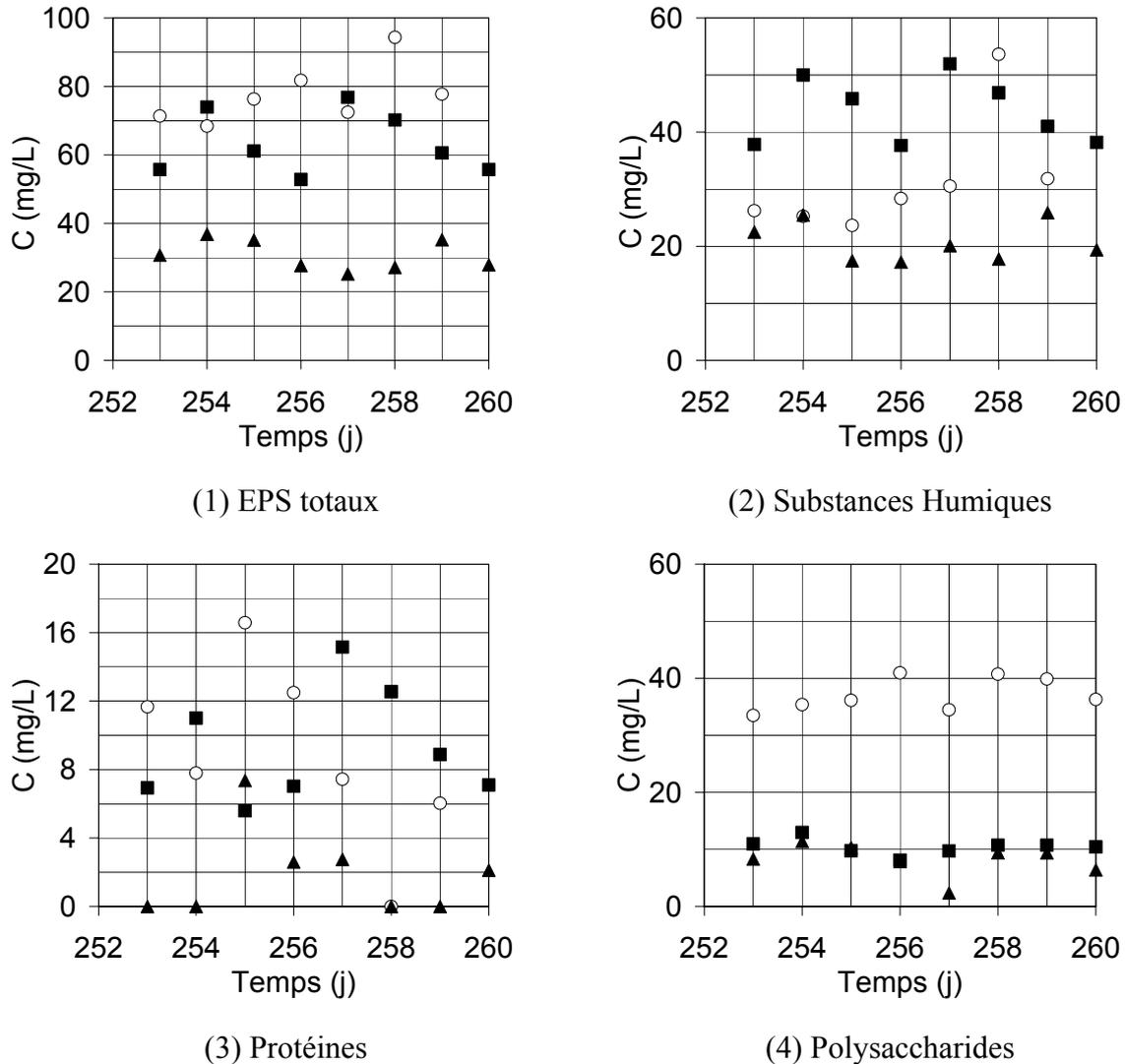


Figure III.10: Suivi de l'évolution de la concentration en EPS solubles dans l'alimentation (■), les boues (○) et la sortie (▲) du BAMI

Concernant les substances humiques, leur concentration dans l'ERU est plus élevée que dans le surnageant des boues, excepté pour le 258<sup>ème</sup> jour. Leur proportion diminue dans le surnageant des boues (de 66,8 à 74,9% dans l'ERU contre 31,0 à 56,8% dans les boues). Ces composés ne sont pas produits par les micro-organismes ; c'est pourquoi leur adsorption sur les floccs, leur élimination par la purge quotidienne du pilote et leur passage à travers la membrane conduit à la diminution de leur concentration au sein du surnageant des boues. La rétention des substances humiques par l'ensemble (membrane + colmatage) est très faible puisque leur concentration dans le surnageant et la sortie sont proches.

Les taux de rétention par la membrane de chacun des polymères sont reportés au tableau III.2.

Tableau III.2: Taux de rétention des exopolymères par la membrane

	<i>Temps (j)</i>							
	<i>253</i>	<i>254</i>	<i>255</i>	<i>256</i>	<i>257</i>	<i>258</i>	<i>259</i>	<i>260</i>
<b><i>Substances Humiques (%)</i></b>	14,3	0,0	26,2	39,3	34,2	66,9	18,8	-
<b><i>Protéines (%)</i></b>	100,0	100,0	55,6	79,2	63,0	-	100,0	-
<b><i>Polysaccharides (%)</i></b>	75,2	67,9	71,4	80,7	93,2	76,9	76,5	82,3
<b><i>EPS Totaux (%)</i></b>	56,9	46,1	54,0	66,1	65,2	71,2	54,7	-

Le taux de rétention des substances humiques par la membrane est donc d'environ 22% exception faites du 258<sup>ème</sup> jours et confirme donc le passage de ces substances à travers la membrane.

Au contraire, la concentration en protéines dans le surnageant des boues (8,9 mg.L<sup>-1</sup> en moyenne) est supérieure à leur concentration en sortie du BAMI (1,8 mg.L<sup>-1</sup>). La rétention des protéines est donc significative (83 % en moyenne). Les protéines apportées avec l'eau résiduaire urbaine et celles sécrétées par la biomasse s'accumulent donc dans le surnageant ; dans le compartiment concentrat.

Enfin, la concentration en polysaccharides dans le surnageant des boues (34 à 41 mg.L<sup>-1</sup>) est 3 à 4 fois supérieure à celle mesurée dans le perméat (10 mg.L<sup>-1</sup>). Ces résultats démontrent que l'ensemble membrane + colmatage permet la rétention importante des polysaccharides (plus de 68%). La concentration en polysaccharides dans le surnageant des boues du BAMI est également plus élevée que celle des protéines alors qu'elles étaient quasiment identiques dans l'eau usée d'entrée. Cela suggère que les polysaccharides sont majoritairement produits dans le procédé et/ou que leur dégradation dans le surnageant est plus difficile que la dégradation des protéines. Une étude menée par Stricot (2004) sur la caractérisation des mécanismes de sécrétion des produits microbiens solubles lors du stockage aérobique de boues issues d'un BAMI a montré que les cinétiques de dégradation des protéines extracellulaires sont plus rapides que celles des exopolysaccharides. Cependant, les expériences de Stricot (2004) sont réalisées sans alimentation et donc sont relativement différentes des nôtres. Dans notre cas, l'augmentation du pourcentage de polysaccharides dans le surnageant peut donc également venir de leur sécrétion accrue par les microorganismes des boues.

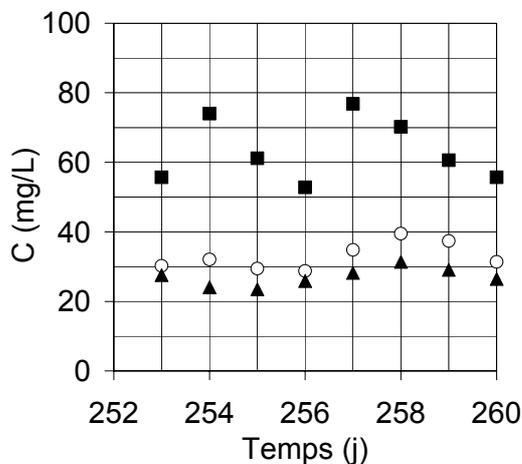
Pour résumer, les taux de rétention varient d'un polymère à l'autre et au cours du temps. Les plus forts taux de rétention sont globalement obtenus pour les protéines (55,6 à 100%) puis les polysaccharides (67,9 à 93,2%).

La forte rétention en protéines pourrait être expliquée par le fait que les protéines soient présentes sous forme colloïdale et non soluble et également par le fait que la sélectivité du procédé n'est pas due à la membrane seule mais à l'ensemble membrane + dépôt.

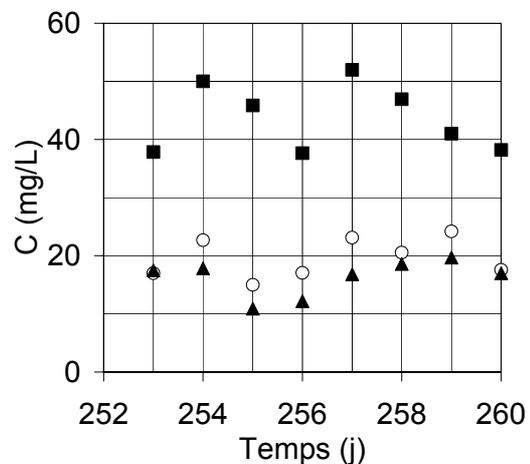
Comparativement aux concentrations mesurées dans l'ERU, celles mesurées en sortie restent relativement constantes durant la semaine d'analyse. A nouveau, le bioréacteur à membranes montre qu'il présente une grande robustesse en garantissant une qualité de l'eau traitée constante malgré des pics de charge en entrée.

### **b. Bilan matière sur le procédé à boues activées**

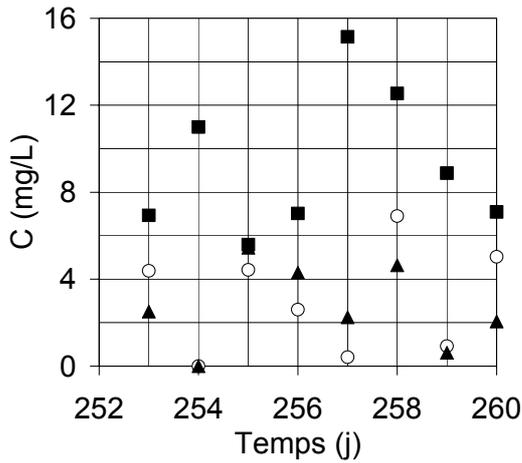
De la même façon que pour le BAMI, les exopolymères solubles du système à boues activées conventionnel ont été analysés en entrée, dans les boues et en sortie de procédé. L'âge des boues durant ces analyses étaient de 14,3 jours et la concentration en MES comprise entre 3,9 et 4,5 g.L<sup>-1</sup>.



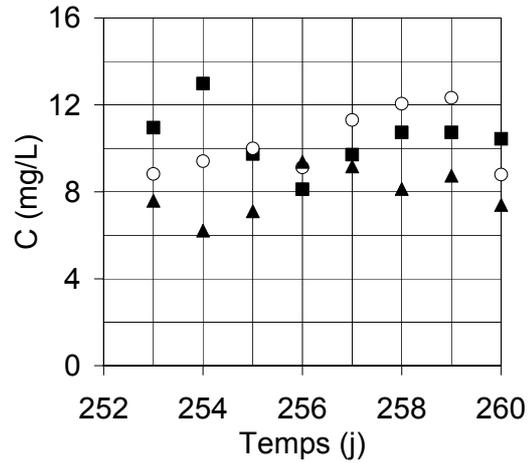
(1) EPS totaux



(2) Substances Humiques



(3) Protéines



(4) Polysaccharides

Figure III.11: Suivi de l'évolution des EPS solubles dans l'alimentation (■), les boues (○) et la sortie (▲) du BA. Les concentrations en polymères solubles de l'ERU sont les mêmes que celles obtenues pour le bioréacteur à membranes puisque ces expériences ont été réalisées les mêmes jours.

La figure III.11 montre que les concentrations en polymères du surnageant des boues sont quasiment similaires à celles de la sortie du réacteur. Ainsi, la concentration en substances humiques est de 10,9 à 24,2 mg.L<sup>-1</sup>, celle des polysaccharides de 6,2 à 12,3 mg.L<sup>-1</sup> et celle des protéines de 0 à 6,9 mg.L<sup>-1</sup>. Par conséquent, les proportions en exopolymères dans le surnageant de boue et la sortie sont quasiment similaires (Figure III.12).

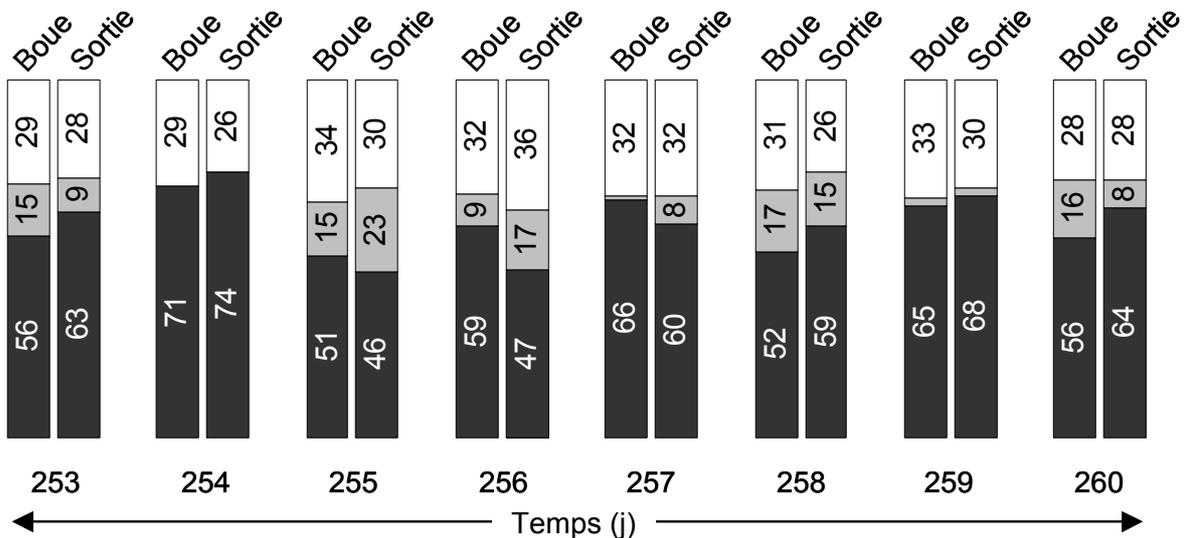


Figure 0.1: Contribution (%) de chaque polymère soluble dans les EPS totaux des boues/de la sortie du BA [Substances humiques (■), protéines (□), polysaccharides (□)]

Les écarts de concentration en polymères entre sortie et surnageant de boues sont en partie dus à l'incertitude des mesures. Par ailleurs, la centrifugation des boues engendre peut-être une libération d'exopolymères dans le surnageant due au cisaillement provoqué par l'accélération centrifuge. Dès lors, comme le montre la figure III.11, les concentrations

mesurées seraient plus élevées dans le surnageant des boues qu'en sortie de réacteur. De plus, étant donné notre méthode de séparation des floccs et des composés solubles (centrifugation) pour l'analyse des polymères du surnageant, des polymères colloïdaux peuvent être comptés comme solubles notamment dans le cas d'un échantillon de boue. Lorsque la boue arrive dans le décanteur, une partie des colloïdes peuvent décanter et entraîner une concentration plus faible en polymères dans la sortie. Par conséquent, les plus gros écarts de concentration en polymères spécifiques, entre surnageant de boue et sortie, correspondraient aux polymères de masse moléculaire la plus élevée.

Pour conclure, les concentrations moyennes obtenues sur l'ERU, les boues et les sorties de chaque pilote sont comparées (Figure III.13).

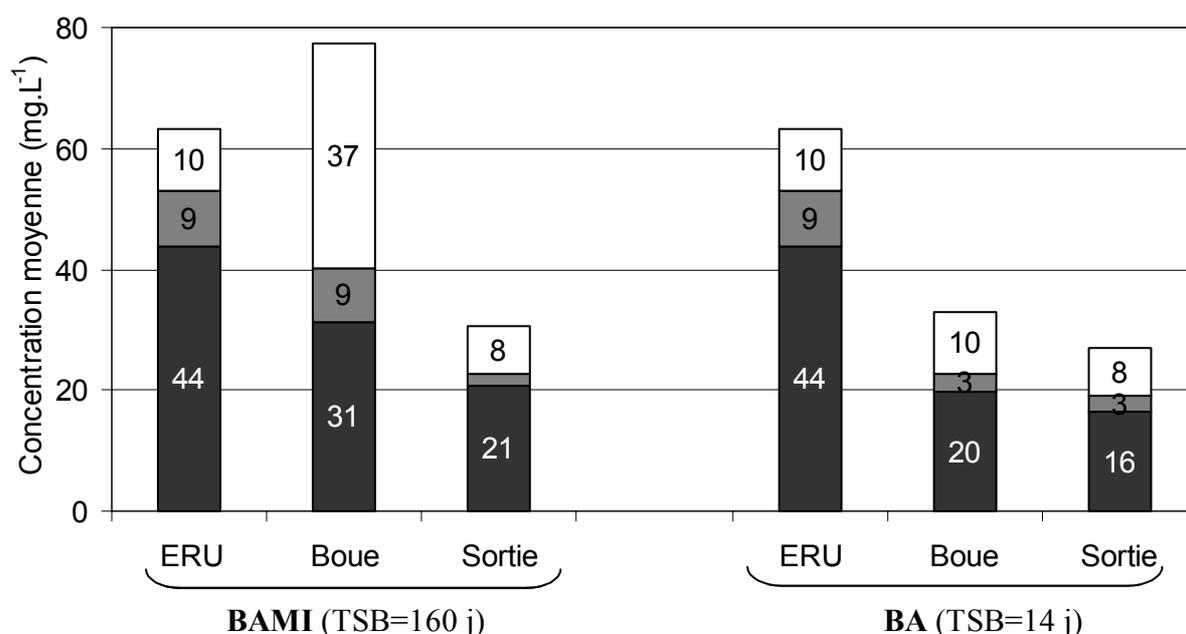


Figure III.13: Evolution des concentrations moyennes des polymères dans l'ERU, les boues et la sortie [Substances humiques (■), protéines (▒), polysaccharides (□)]

Par comparaison des analyses réalisées sur les 2 procédés, il apparaît que la concentration totale en polymères du surnageant des boues est très supérieure dans le BAMI (68,4 à 94,4 mg.L<sup>-1</sup>) par rapport à celle du BA (28,8-39,5 mg.L<sup>-1</sup>). Les concentrations en EPS en sortie des deux procédés sont très voisines. Une des spécificités du BAMI est donc que, du fait de la présence de la membrane, la nature du surnageant biologique est modifiée. Une accumulation de tous les EPS solubles est observée, par rapport au procédé à boues activées. L'accumulation la plus forte est celle des polysaccharides, ce qui est expliqué à la fois par leur forte rétention par la membrane et par la plus lente vitesse de biodégradation de ces composés par rapport notamment aux protéines. Signalons cependant que, pour cette comparaison, les

deux pilotes ne fonctionnaient pas au même âge de boues (160 jours pour le BAMI contre 14 jours pour le BA) et qu'à ce titre les cinétiques de production/dégradation des polymères étaient probablement différentes.

## **II. Etude des mécanismes de production de boues**

### **1. Comparaison des procédés et effet de l'âge des boues**

On revendique souvent dans la littérature des valeurs de production de boues inférieures pour les bioréacteurs à membranes comparées à celles des procédés classiques d'épuration. Cependant, peu de travaux comparent les productions de boues d'installations fonctionnant dans les mêmes conditions. Il est alors difficile de déterminer le mécanisme responsable de la réduction de production de boues. La revue bibliographique a permis de répertorier un grand nombre de facteurs pouvant influencer sur les mécanismes de production de boues. Ainsi, la membrane de part sa capacité à retenir toute une gamme de composés et/ou les conditions opératoires telles que le temps de séjour des boues pourraient modifier les stœchiométries fixant la production de boues.

En outre, pour comparer des rendements de production de boues entre deux systèmes, il faut se placer dans les mêmes conditions de fonctionnement. Durant les expériences présentées ici, les deux réacteurs sont alimentés en parallèle par le même effluent urbain et fonctionnent environ aux mêmes âges des boues pour les deux premières période de fonctionnement (1<sup>ère</sup> période : âge de boues de 9,2 jours pour le BA et 9,8 jours pour le BAMI ; 2<sup>ème</sup> période : âge de boues de 32,0 jours pour le BA et 37,2 jours pour le BAMI). Pour ces deux périodes 1 et 2, la figure III.14 présente la stabilisation des concentrations en MES dans les deux boues et les deux sorties de procédés.

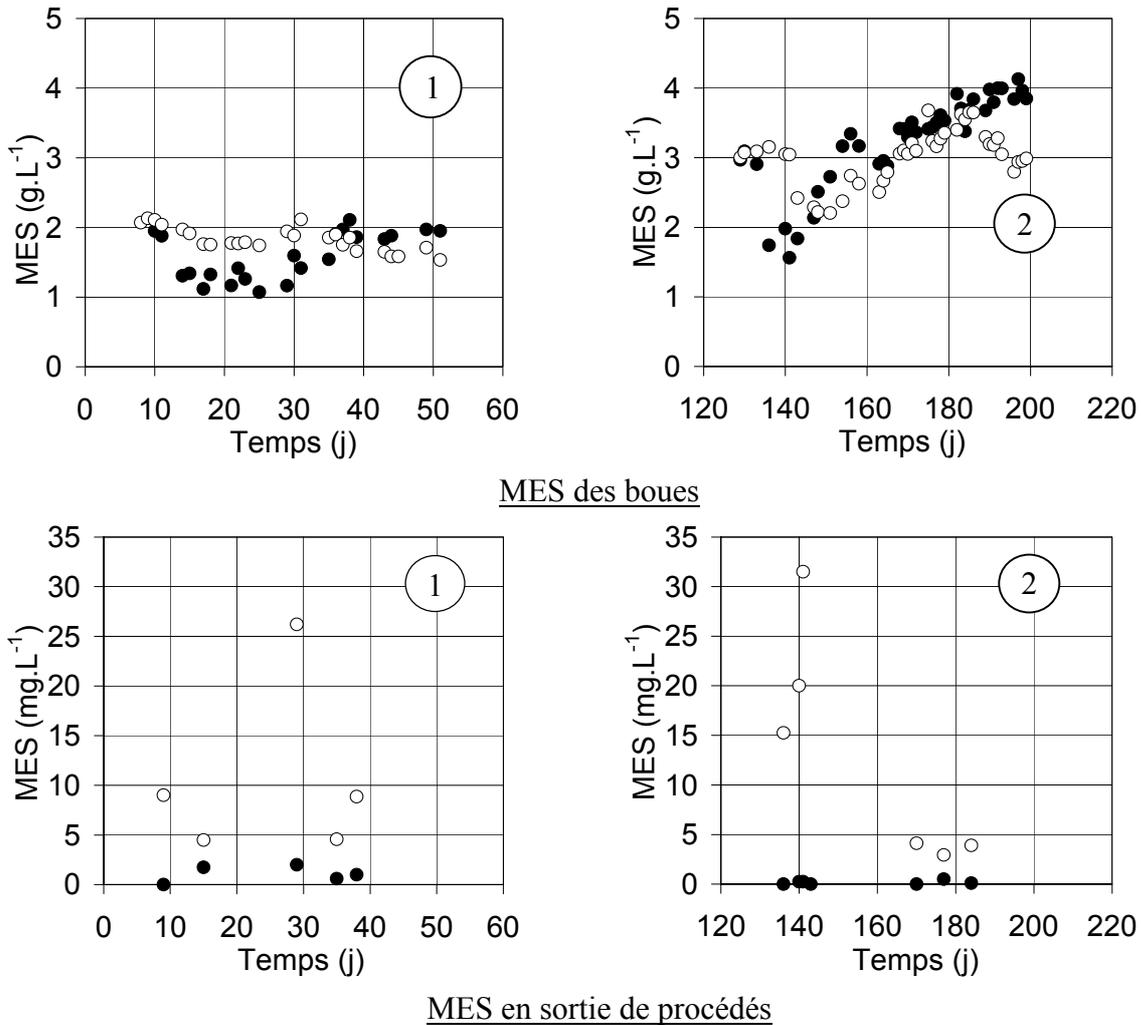


Figure III.14: Evolution des MES dans les boues et les sorties de BAMI (●) et de BA (○)  
**BAMI** (1:TSB=9,8 j / 2:TSB=37,2 j) **BA** (1:TSB=9,2 j / 2:TSB=32,0 j)

De façon similaire dans les deux procédés, des pertes de MES par débordement des boues du réacteur ont eu lieu au début de chacune de ces deux périodes. De nouvelles pertes de boues ont été observées sur le procédé à boues activées au cours de son fonctionnement, conduisant à des concentrations en MES comprises entre 2,9 et 31,5 mg.L<sup>-1</sup> en sortie du procédé. Au final, les concentrations en MES des boues se stabilisent à des concentrations légèrement plus faibles dans le procédé à boues activées. En considérant à la fois les pertes de boues en sortie, les flux de boues purgés et le terme d'accumulation dans le réacteur (Chapitre II), les productions de boues calculées pour ces deux périodes sont pour le BAMI et le BA, respectivement de 0,31 et 0,30 kg<sub>MVS</sub>.kg<sub>D<sub>CO</sub></sub><sup>-1</sup> pour la 1<sup>ère</sup> période contre 0,21 et 0,24 kg<sub>MVS</sub>.kg<sub>D<sub>CO</sub></sub><sup>-1</sup> pour la 2<sup>ème</sup> période. Les valeurs sont très proches, et démontrent donc que pour un effluent similaire et un même âge de boues, il n'y a pas de différence importante entre la production de boues d'un procédé à boues activées et un bioréacteur à membranes immergées. La capacité à réduire la production de boues d'un bioréacteur à membranes immergées est donc principalement liée à l'augmentation potentielle du temps de séjour des

boues. Sur la figure III.15 sont reportées les valeurs de production de boues concernant notre étude ainsi que celles trouvées dans la littérature.

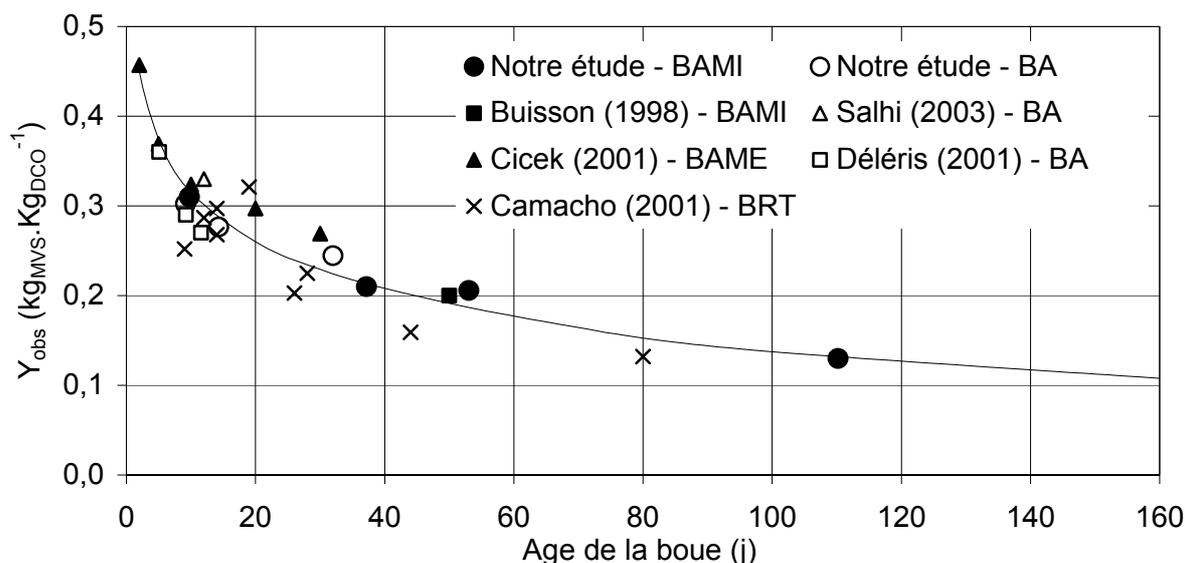


Figure III.15: Effet de l'âge des boues sur la production de boues

La figure III.15 fait ressortir que, pour de faibles valeurs de temps de séjour des boues, la production de boues est élevée. Dans ce cas, la croissance de la biomasse est maximisée et mène donc à une production de MVS proche du rendement intrinsèque classique de  $0,45 \text{ kg}_{\text{MVS}}.\text{kg}_{\text{DCO}}^{-1}$  (Metcalf & Eddy 1991). Au contraire, à des âges de boues élevés, la production de boues diminue car alors le décès cellulaire, la lyse et l'hydrolyse des macromolécules deviennent prépondérants (Chapitre I). La production de boues tend alors vers une valeur proche de  $0,1$  à  $0,12 \text{ kg}_{\text{MVS}}.\text{kg}_{\text{DCO}}^{-1}$ .

Il apparaît également que, pour un temps de séjour des boues inférieur à 40 jours, la production des boues dans le réacteur membranaire est similaire voire légèrement supérieure à celle du procédé classique. Les valeurs de production de boues légèrement plus fortes dans le système à rétention membranaire peuvent s'expliquer par une meilleure rétention des microparticules, colloïdes et macro-molécules dont la dégradation est assez lente. A faible âge de boues ces matières peuvent donc être simplement accumulées et seulement partiellement dégradées conduisant à une production de boues légèrement plus forte. Cette différence de production avec le procédé à boues activées est cependant peu significative étant données les incertitudes liés aux bilans matière.

Par ailleurs, avec une même eau usée, Salhi (2003) et Délérís (2001) obtiennent avec des procédés à boues activées, des rendements de production de boues similaires aux nôtres pour des eaux usées prélevées dans le même réseau d'assainissement toulousain et ayant subi le même protocole de prélèvement. Les valeurs de production de boues trouvées par Buisson et

al. (1998) (alimentation en eau résiduaire urbaine dégrillée) ou Cicek et al. (2001) (alimentation en eau synthétique) semblent également du même ordre de grandeur. De même Ng et al. (2004) ne constatent pas de différence de production de boues entre un BAMI et un procédé à boues activées fonctionnant de façon similaire à des âges de boues inférieurs à 5 jours.

Pour un âge de boues très élevé (110 jours) dans le BAMI, et lorsque le fonctionnement tend vers une rétention totale de la biomasse, nos résultats sont comparables à ceux de Pollice et al. (2004) qui démontrent que la production de boues tend vers  $0,12 \text{ kg}_{\text{MVS}} \cdot \text{kg}_{\text{DCO}}^{-1}$  en l'absence de purge de boues. Par ailleurs, dans le cas d'un âge des boues élevé nous avons observé qu'une population microbienne, les protozoaires notamment, pouvait se développer au sein du milieu biologique (Figure III.16).

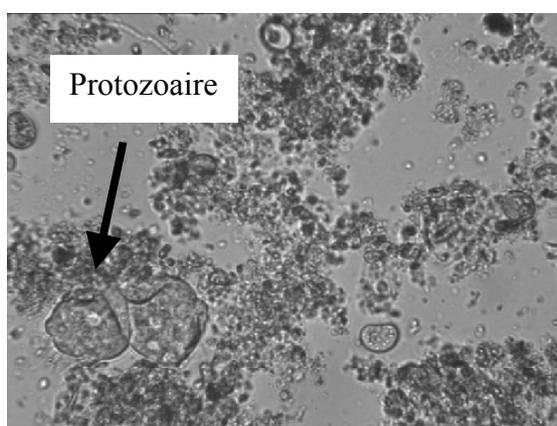


Figure III.16: Photo prise au microscope de la boue du BAMI fonctionnant à 110 jours d'âge des boues

Selon l'étude bibliographique les protozoaires pourraient jouer un rôle d'épurateur biologique et donc participer au contrôle de la production de boues.

## 2. Modélisation de la production de boue

L'influence de l'âge des boues sur la production de biomasse peut être décrite par différents modèles (Chapitre I).

Selon le modèle de Monod associé à un concept de décès cellulaire (ou d'activité endogène), le rendement de production de boues s'exprime comme indiqué à l'équation III.1 :

$$Y_{\text{obs}} = \frac{Y_{\text{H}}}{1 + k_{\text{d}} \cdot \text{TSB}} \quad (\text{III.1})$$

Avec  $Y_{\text{H}}$  : rendement intrinsèque de conversion du substrat en biomasse

$k_{\text{d}}$  : constante de décès (basé sur la diminution des MVS) ( $\text{j}^{-1}$ )

TSB : temps de séjour des boues (j)

Dans le modèle de maintenance, développé par Pirt (1965), une partie de l'énergie est utilisée pour les besoins de croissance et une autre partie pour les besoins de maintenance. Le coefficient de décroissance cellulaire est alors proportionnel au rendement de conversion et l'expression du rendement observé de production de boues devient celui de l'équation III.2 :

$$Y_{\text{obs}} = \frac{Y_H}{1 + m_s \cdot Y_H \cdot \text{TSB}} \quad (\text{III.2})$$

Avec  $m_s$  : taux spécifique de consommation du substrat pour la maintenance ( $\text{g}_{\text{DCO}} \cdot \text{g}_{\text{MVS}}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$ )

Ces deux premiers modèles sont mathématiquement très proches. En revanche le modèle de mort et régénération introduit par Dold et al. (1980) et repris dans les modèles ASM (Henze et al., 1985), fait l'hypothèse qu'une fraction de la biomasse décédée est utilisée par d'autres micro-organismes (croissance cryptique) et qu'une fraction de cette biomasse, notée  $f_p$ , est inerte et s'accumule dans la boue. Ceci conduit à une expression relativement différente de la production de boue :

$$Y_{\text{obs}} = \frac{Y_H (1 + b \cdot f_p \cdot \text{TSB})}{1 + b \cdot \text{TSB} (1 - Y_H (1 - f_p))} \quad (\text{III.3})$$

Avec  $b$  : constante de décès basée sur la biomasse active ( $\text{j}^{-1}$ )

$f_p$  : fraction de biomasse lysée non biodégradable

Pour finir, le modèle de "fraction particulaire inerte de l'eau usée" a été ajouté dans les modèles ASM. Il est alors considéré qu'une fraction de la DCO de l'eau usée est trop lentement biodégradable et peut être considérée inerte à l'échelle de temps du procédé. En association au concept de mort et régénération, ce modèle conduit à :

$$Y_{\text{obs}} = f_{\text{Xi}} + (1 - f_{\text{Xi}}) \cdot \frac{Y_H (1 + b \cdot f_p \cdot \text{TSB})}{1 + b \cdot \text{TSB} (1 - Y_H (1 - f_p))} \quad (\text{III.4})$$

Avec  $f_{\text{Xi}}$  : la fraction particulaire inerte de la DCO éliminée du procédé

Les valeurs des différentes constantes (issues de la bibliographie) utilisées pour effectuer la simulation des productions de boues sont regroupées dans le tableau III.3.

Tableau III.3: Valeurs des constantes cinétiques et stoechiométriques utilisées pour la simulation

$k_d$ :	$0,05 \text{ j}^{-1}$	Metcalf & Eddy (1991)
$Y_H$ :	$0,44 \text{ g}_{MVS} \cdot \text{g}_{DCO}^{-1}$	Metcalf & Eddy (1991)
$m_s$ :	$0,1 \text{ j}^{-1}$	-
$b$ :	$0,62 \text{ j}^{-1}$	Henze et al. (1987)
$f_p$ :	$0,08 \text{ g}_{DCO} \cdot \text{g}_{DCO}^{-1}$	Henze et al. (1987)
$f_{Xi}$ :	$0,1-0,2 \text{ g}_{DCO} \cdot \text{g}_{DCO}^{-1}$	Salhi (2003)

La plupart de ces modèles ont été développés et utilisés dans la bibliographie pour prédire les productions de boues pour des âges de boues relativement faibles (inférieurs à 20 jours). Lorsque les paramètres issus de la bibliographie sont utilisés, comme le montre la figure III.17, aucun de ces modèles ne prédit correctement la production de boues sur toute la gamme explorée et en particulier les modèles de maintenance et de respiration endogène sous-estiment la production de boue pour les âges de boues élevés.

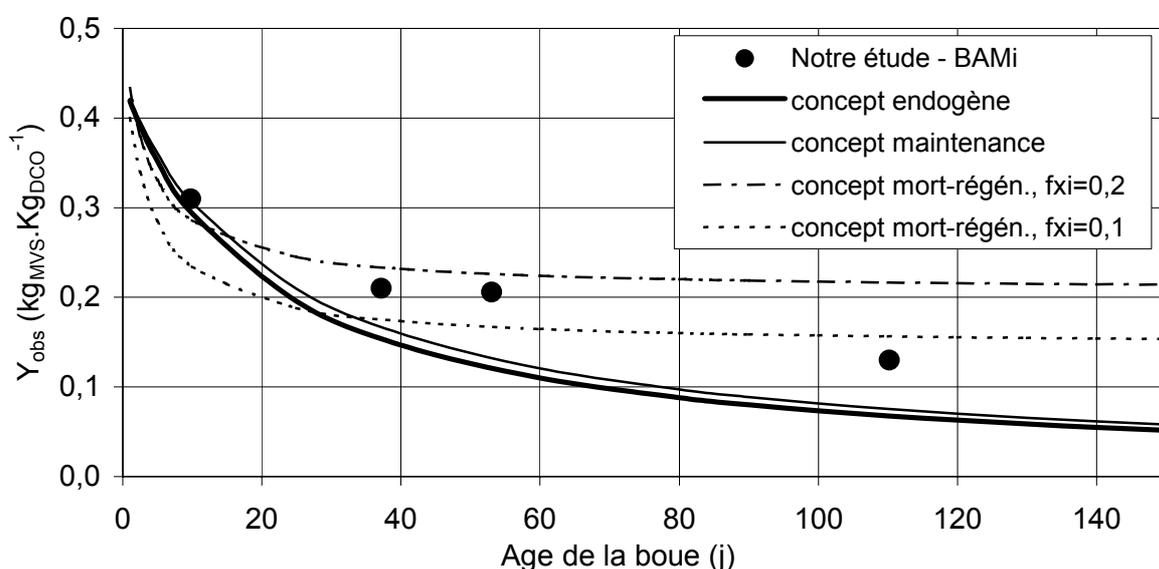


Figure III.17: Estimation de la production de boues par différents modèles

Les résultats obtenus avec le dernier modèle (modèle de mort-régénération) montrent que l'hypothèse d'une fraction inerte particulière dans l'eau résiduaire conduit à minimiser l'influence de l'âge de boues. En effet au dessus de 40 jours, selon ce modèle, l'âge de boues a une influence minimale sur le rendement de la production de boues.

Plusieurs hypothèses peuvent alors être avancées :

- la DCO particulaire considérée inerte pour des âges de boues faibles est certainement dégradée pour des âges de boues importants,
- à forts âges de boues, il peut y avoir apparition et maintien de nouvelles populations bactériennes : des micro-organismes à taux de croissance faible peuvent se développer alors qu'ils n'en avaient pas la possibilité aux faibles temps de séjour,
- le rendement intrinsèque de la biomasse ( $Y_H$ ) pourrait diminuer à forts âges de boues puisque l'état physiologique de la biomasse, voire les populations, sont différents.

Les paramètres cinétiques et stœchiométriques des 3 modèles ont été calculés afin d'ajuster les modèles aux points expérimentaux.

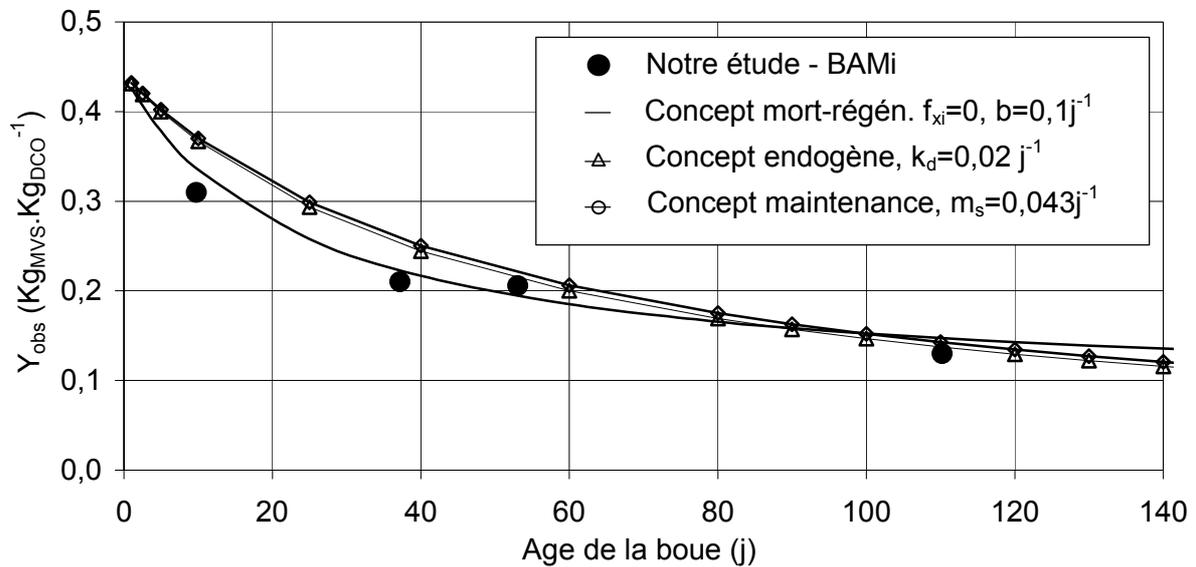


Figure III.18: Ajustement des différents modèles aux données expérimentales

Les 3 modèles ne permettent de prédire globalement les rendements de production de boues dans des gammes d'âge de boues élevés que lorsque les taux de diminution de la biomasse sont réduits par rapport à la bibliographie ( $f_{xi}=0, b=0,1 j^{-1} / k_d=0,052 j^{-1} / m_s=0,043 j^{-1}$ ).

Il n'y a donc pas de modèle permettant de décrire précisément l'ensemble des données. La prise en compte d'une fraction très lentement hydrolysable a déjà été réalisée avec succès par Nowak et al. (1999) pour utiliser les modèles ASM sur des gammes d'âge de boues plus larges et semble être l'approche la plus pertinente. Nous verrons d'ailleurs que certaines fractions de la boue comme les exo-polymères (polysaccharides notamment) ont des taux de disparition (hydrolyse) qui peuvent être plus faibles que les taux de décès de la biomasse hétérotrophe. Leur cinétique d'hydrolyse est donc probablement prépondérante à âge de boues élevé.

### III. Conclusion

Ce chapitre nous a permis de comparer le procédé à boues activées et le bioréacteur à membranes en terme d'élimination de la matière organique et de production de boues.

La séparation membranaire permet d'accumuler une partie des macro-molécules et des colloïdes tels que les polymères. A chaque nouvel ensemencement, les polysaccharides et les protéines de masse moléculaire élevée pourraient s'accumuler au sein du surnageant. Dans un deuxième temps leur concentration chute du fait de leur hydrolyse puis assimilation par la biomasse et/ou leur passage à travers la membrane. L'accumulation la plus importante concerne les polysaccharides et pourrait être expliquée par la rétention élevée de ces polymères associée à une sécrétion par la biomasse plus importante et/ou des cinétiques de dégradation de ces polymères plus lentes que pour les protéines.

La comparaison des productions de boues obtenues pour des temps de séjour des boues inférieurs à 40 jours montre une production similaire entre le BAMI et le procédé à boues activées à âge de boue identique. L'augmentation de l'âge des boues permet de minimiser la production de boues, éventuellement parce qu'à fort âge de boue des organismes tels que les protozoaires se développent. La modélisation des productions de boues avec les valeurs des constantes stœchiométriques et cinétiques de la littérature et avec des concepts de mort/régénération, de maintenance ou de d'activité endogène ne permet pas de prédire efficacement les productions de boues réelles pour les âges de boues élevés :

- les concepts de maintenance et d'activité endogène tendent à sous-estimer la production de boues,
- le concept de mort régénération tend à sur-estimer la production de boues.

Afin de développer un modèle de production de boues pouvant modéliser une large gamme d'âge de boues, il semble pertinent de prendre en compte une fraction de DCO très lentement hydrolysable.



---

## **CHAPITRE IV**

# **INFLUENCE DE LA SEPARATION MEMBRANAIRE SUR LES PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES D'UN MILIEU BIOLOGIQUE**

---



L'objectif de ce chapitre est d'étudier l'influence du mode de séparation (décantation ou séparation membranaire) et des conditions opératoires sur les caractéristiques du milieu biologique (Figure IV.1).

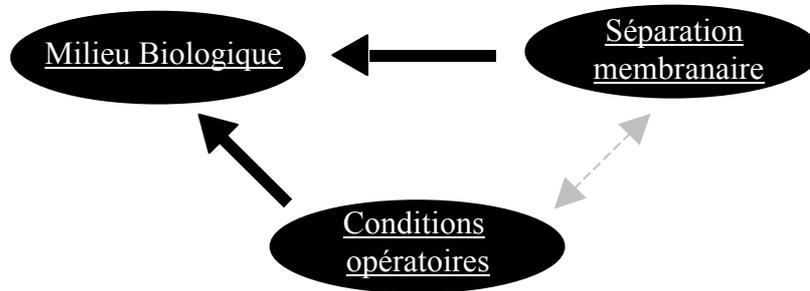


Figure IV.1: Objectif du chapitre IV

Ainsi, ce chapitre considère en particulier :

- l'influence de la méthode de séparation (décantation ou filtration membranaire), à âge de boues identique (période 1 et 2),
- l'influence d'un âge des boues élevé pour le BAMI (période 3 et 4).

Les caractéristiques des boues sont analysées à travers les spécificités du surnageant et des floes. L'étude bibliographique a mis en évidence le rôle important joué par les exopolymères dans les caractéristiques de ces deux fractions. Ce chapitre consacre donc une large place au rôle des EPS et en particulier à leur influence dans la structuration des floes (taille, forme, compacité).

## I. Evolution des matières en suspension (MES et MVS)

Au cours du fonctionnement des deux pilotes, la concentration en MES dans les boues a été suivie durant 4 périodes distinctes (Figure IV.2).

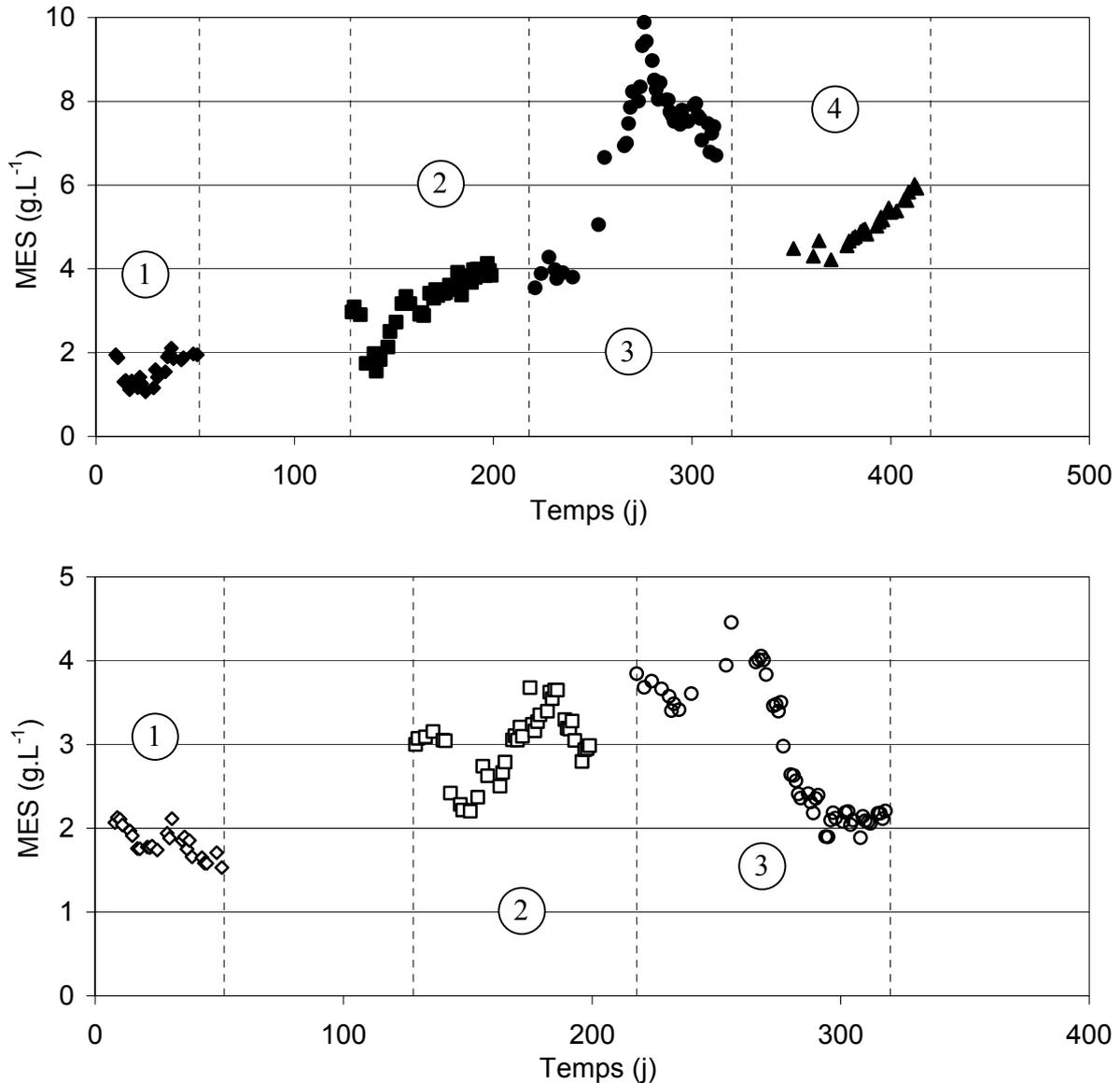


Figure IV.2: Evolution des matières en suspensions dans le BAMI (1<sup>er</sup> graphique) et le BA (2<sup>ème</sup> graphique)  
 BAMI (1:TSB=9,8 j / 2:TSB=37,2 j / 3:TSB=160,0 ; 110,3 j / 4:TSB=53,0 j)  
 BA (1:TSB=9,2 j / 2:TSB=32,0 j / 3:TSB=14,3 j)

Pour la plupart des périodes la concentration en MES évolue dans un premier temps puis se stabilise sauf pour les périodes 3 et 4 du BAMI. Il faut noter qu'habituellement un réacteur biologique atteint un régime de stabilisation après une durée de fonctionnement égale à environ 3 fois le temps de séjour des boues. Dans le cas d'un âge de boues de 53 jours voire 110 jours pour le BAMI (périodes 4 et 3), il est donc peu probable que le réacteur ait atteint un régime parfaitement stabilisé.

A chaque ensemencement des périodes 1 et 2, un moussage (BAMI) ou une mauvaise décantation (BA) sont observés, provoquant une diminution de la concentration en MES. Puis, après 20 jours d'adaptation de la biomasse aux nouvelles conditions opératoires, les concentrations des MES dans les boues augmentent et se stabilisent.

Pour le BAMI, les concentrations atteintes à la fin des périodes 1 à 4 sont respectivement d'environ 2 g.L<sup>-1</sup>, 4 g.L<sup>-1</sup>, 7,5 g.L<sup>-1</sup> et 6 g.L<sup>-1</sup>. Pour le réacteur à boues activées, les concentrations en MES à la fin des périodes 1 à 3 sont respectivement de 1,6 g.L<sup>-1</sup>, 3 g.L<sup>-1</sup> et 2 g.L<sup>-1</sup>. Par ailleurs, alors que l'âge de boues est le même pour les réacteurs durant les deux premières périodes de fonctionnement, la concentration "stabilisée" en MES, est différente et supérieure dans le BAMI. La mauvaise décantation dans le réacteur à boues activées induit une perte significative de biomasse à la fin des deux premières périodes ce qui explique la chute des MES des boues du BA et donc, globalement, l'écart de MES entre les deux réacteurs.

De plus, dans cette étude, la charge volumique étant quasiment constante, les concentrations en MES sont d'autant plus élevées que l'âge des boues est élevé, c'est-à-dire le taux de purge faible. La figure IV.3 montre les correspondances entre l'âge des boues et les concentrations en MES à la fin de chaque période. Pour chaque âge de boues, la concentration en MES évolue au cours du temps jusqu'à la valeur stabilisée.

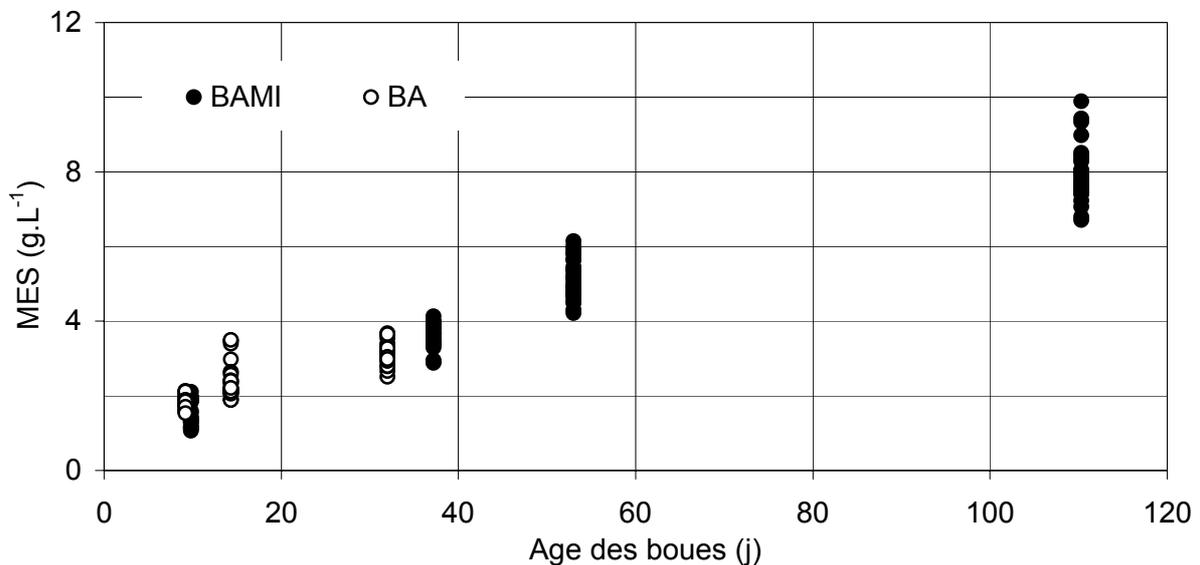


Figure IV.3: Evolution de la concentration en MES en fonction de l'âge des boues imposé

Ainsi, dans notre mode de fonctionnement, étudier l'évolution d'un paramètre en fonction de la concentration en MES revient à étudier simultanément l'influence de l'âge des boues. Par conséquent, pour des raisons de clarté, les graphiques de ce manuscrit sont souvent représentés en fonction des MES plutôt qu'en fonction de l'âge des boues.

La proportion des matières volatiles en suspension dans les boues est présentée sur la figure IV.4.

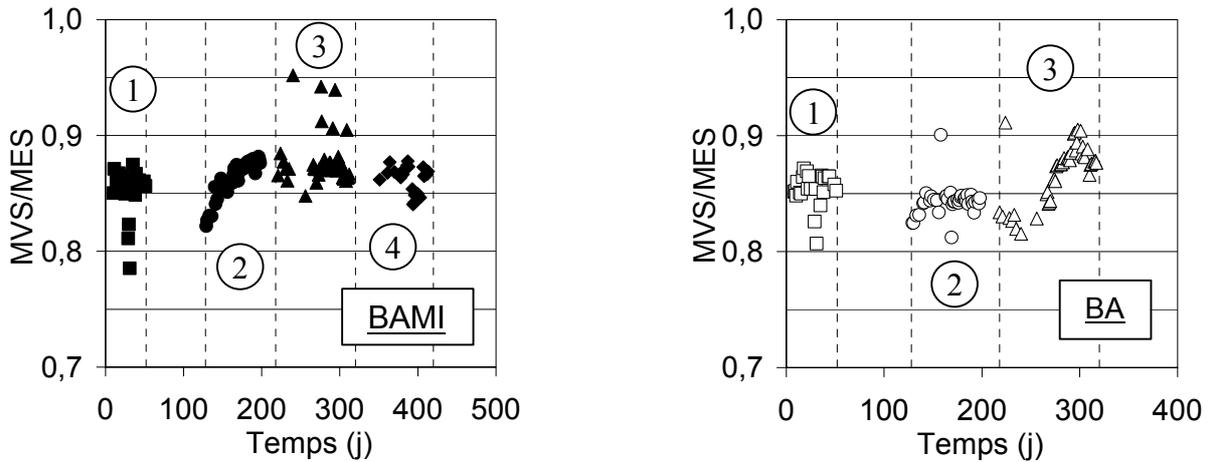


Figure IV.4: Evolution du rapport MVS/MES des boues  
 BAMI (1:  $\underline{\text{TSB}}=9,8 \text{ j}$  / 2:  $\underline{\text{TSB}}=37,2 \text{ j}$  / 3:  $\underline{\text{TSB}}=160,0 ; 110,3 \text{ j}$  / 4:  $\underline{\text{TSB}}=53,0 \text{ j}$ )  
 BA (1:  $\underline{\text{TSB}}=9,2 \text{ j}$  / 2:  $\underline{\text{TSB}}=32,0 \text{ j}$  / 3:  $\underline{\text{TSB}}=14,3 \text{ j}$ )

Les courbes montrent tout d'abord qu'il n'y a pas d'effet très important de la séparation membranaire sur la proportion de matières organiques et minérales dans les boues. Le rapport MVS/MES est compris entre 0,8 et 0,9 pour les deux systèmes. Cependant, il semble que le rapport MVS/MES des boues soit légèrement inférieur dans le procédé à boues activées lorsque l'âge des boues est important (période 2). Ceci est confirmé par la figure IV.5 qui présente le rapport MVS/MES des boues en fonction de leur concentration en MES.

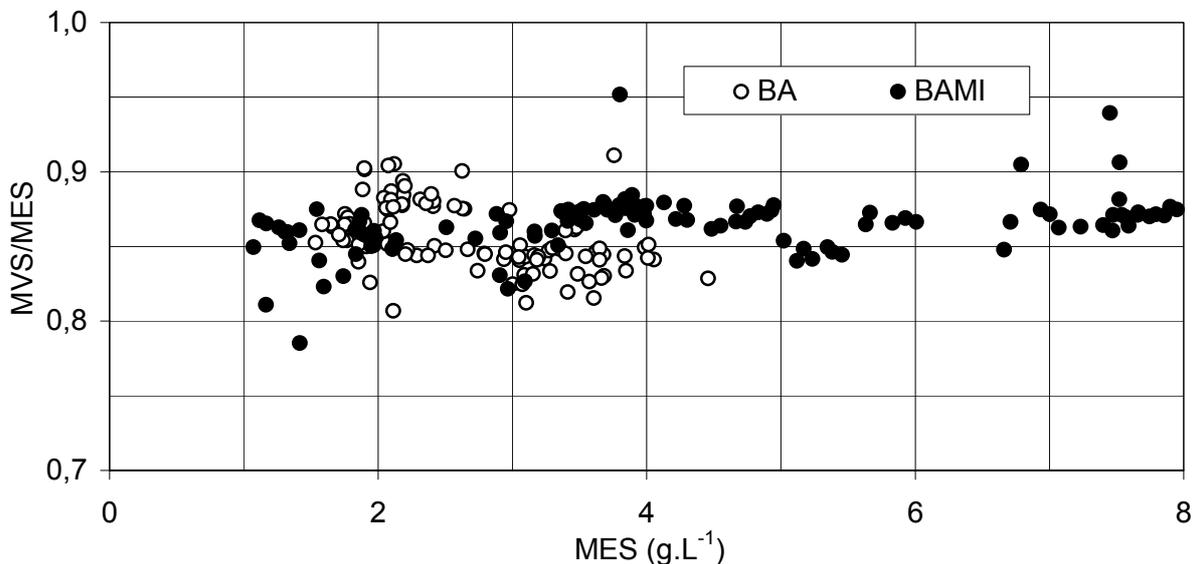


Figure IV.5: Evolution du rapport MVS/MES des boues en fonction de la concentration en MES

Cette différence peut probablement être expliquée par le fait que les pertes de boues du BA, qui sont plus importantes à forts âges de boues, sont plus chargées en matières organiques que les floccs qui décantent.

Par ailleurs, contrairement à ce qui aurait pu être attendu, la figure IV.5 montre qu'une augmentation des MES et donc de l'âge des boues n'induit pas une augmentation significative de la fraction minérale dans le BAMI. En effet, le rapport MVS/MES semble relativement constant durant toute l'étude. Pollice et al. (2004) ou Rosenberger et al. (2002) ne constatent pas non plus d'accumulation de matières inorganiques dans un BAM fonctionnant avec une quasi absence de purge. Pour le premier auteur, le rapport MVS/MES reste égal à 0,80 contre 0,75 pour le second.

Dans notre cas, la concentration en matières minérales dans les boues peut être influencée par leur concentration dans l'ERU. La figure IV.6 montre l'évolution du rapport MVS/MES de l'eau usée d'entrée.

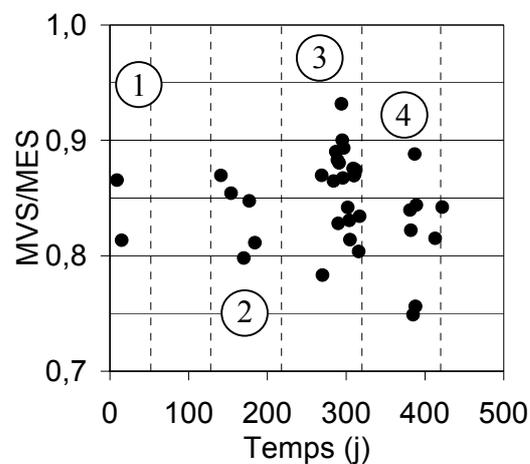


Figure IV.6: Evolution du rapport MVS/MES de l'ERU  
1: 1<sup>ère</sup> période / 2: 2<sup>ème</sup> période / 3: 3<sup>ème</sup> période / 4: 4<sup>ème</sup> période

Compte tenu de cette figure, il apparaît que le rapport MVS/MES de l'eau usée ne présente pas de différences significatives entre les différentes périodes.

Etant donné que les matières volatiles de la boue sont dégradées et minéralisées de manière plus importante à fort âge de boues, les résultats montrent donc que la fraction minérale de la boue est solubilisée et de manière plus importante lorsque le temps de séjour des boues augmente. Ceci peut être mis en relation avec un pH relativement faible 5-6 observé dans cette étude qui favorise la solubilisation des précipités classiques (carbonates, phosphates).

## II. Caractérisation des floccs

Au cours de l'étude, la composition en EPS des floccs a été déterminée dans les deux réacteurs dans l'objectif d'étudier les relations pouvant exister entre EPS<sub>liés</sub> et d'autres propriétés des floccs.

### 1. EPS des floccs

Le tableau IV.1 présente les gammes des teneurs en EPS<sub>liés</sub> obtenues pour les deux boues, toutes périodes et donc tous âges de boues confondus.

Tableau IV.1: Teneurs limites en EPS dans les floccs (mg.g<sub>MVS</sub><sup>-1</sup>)

	<i>Protéines</i>	<i>Polysaccharides</i>	<i>Substances Humiques</i>
BA	11,5-45,3	4,5-10,9	6,3-19,0
BAMI	5,5-41,3	1,9-25,1	0-16,6

Dans les deux procédés, la majorité des polymères liés aux floccs sont des protéines. Plusieurs auteurs utilisant la même technique d'extraction sur des boues urbaines aboutissent à cette même observation (Cadoret et al. 2002, Martin-C et al. 2001 ou Wilén et al. 2003). Il apparaît également que l'amplitude de variation des teneurs en polymères des floccs est la plus élevée pour les protéines.

La figure IV.7 présente, pour chaque période et pour chaque réacteur, l'évolution de la quantité d'EPS<sub>liés</sub> en fonction des concentrations stabilisées en MES. Cette représentation permet simultanément d'observer l'influence de l'âge de boues puisque celui-ci augmente avec la concentration en MES.

Sur chaque graphe sont reportés la quantité d'EPS totaux ainsi que la contribution de chacune des espèces (substances humiques, protéines, polysaccharides). Les quantités d'EPS totaux sont calculées comme la somme des teneurs en substances humiques, protéines et polysaccharides.

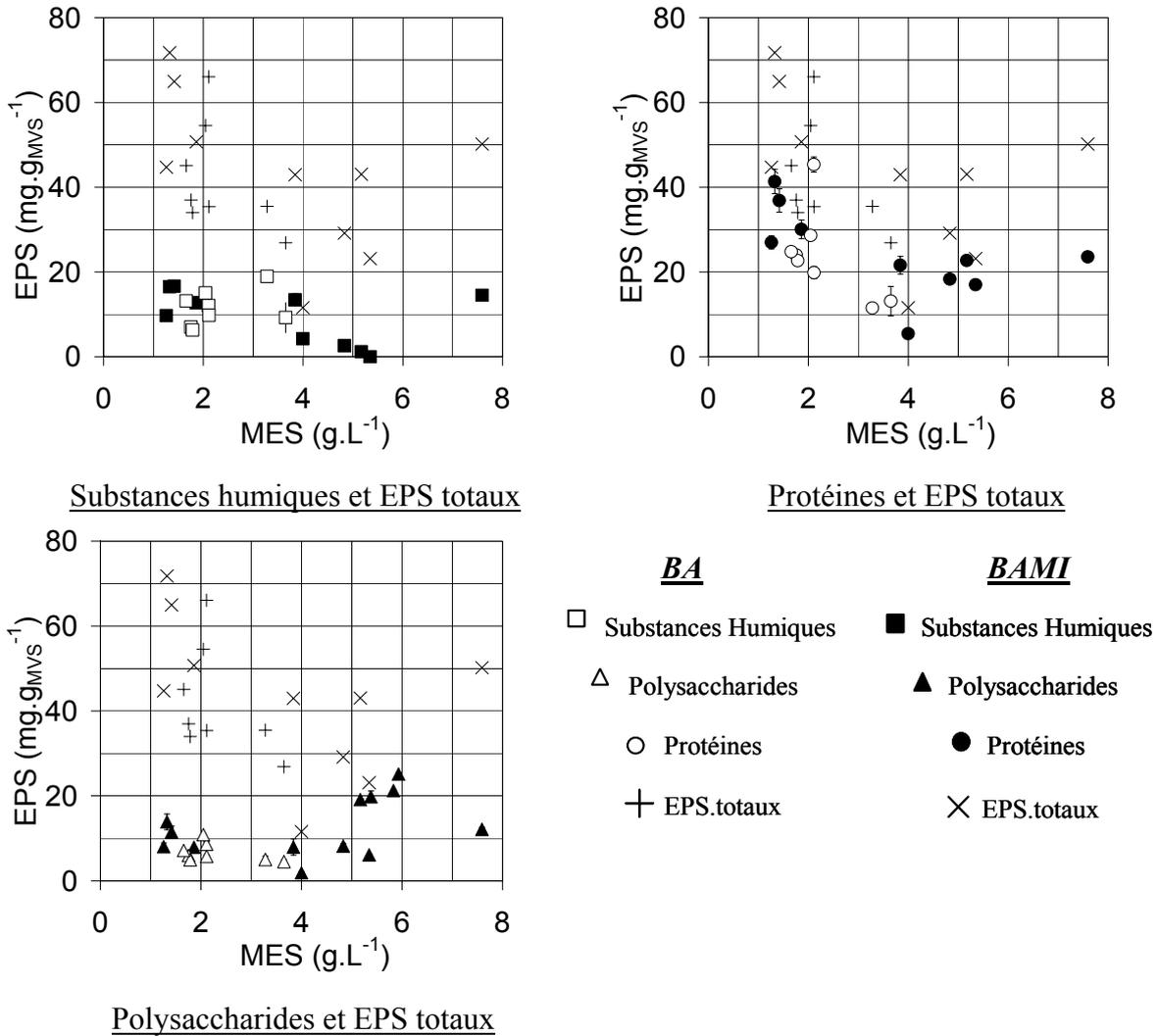


Figure IV.7: Evolution des EPS présents au sein des floecs

Par comparaison des deux procédés, il apparaît tout d'abord que les teneurs globales ou spécifiques en  $EPS_{liés}$  ne présentent pas de différences significatives entre les deux procédés étudiés. La séparation membranaire ne provoquerait donc pas de modifications importantes dans la teneur en EPS des floecs lorsque les procédés fonctionnent à des âges de boues et à des concentrations en MES similaires (ici dans la gamme 1 à 4  $g_{MES}.L^{-1}$ ).

Par ailleurs, l'observation de l'évolution globale des EPS (Figure IV.7), montre que des tendances générales, valables pour les deux procédés, se dégagent. Tout d'abord, la concentration totale en  $EPS_{liés}$  diminue de 70 à environ 35  $mg.g_{MVS}^{-1}$  lorsque la concentration en MES augmente de 1 à 6  $g.L^{-1}$  ou l'âge de boues augmente de 9 à 53 jours. Au delà de 6  $g_{MES}.L^{-1}$  le manque de données expérimentales ne permet pas de conclure de façon certaine. Cette évolution a également été remarquée par Cho et al. (2004) pour les mêmes gammes de concentration en MES que les nôtres (Figure IV.8).

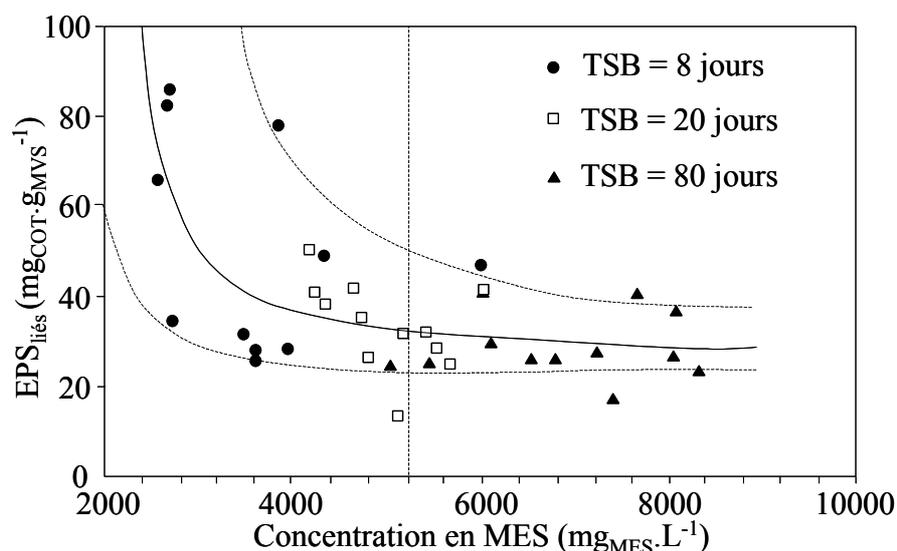


Figure IV.8: Relation entre EPS<sub>liés</sub> et MES pour différents âges de boues (TSB) (Cho et al. 2004)

Comme dans notre cas, la variabilité des concentrations en EPS<sub>liés</sub> est la plus élevée pour de faibles âges de boues.

En ce qui concerne chaque type d'EPS, comme indiqué précédemment (Tableau IV.1), leur teneur au sein du floc est variable. L'évolution de la teneur en protéines, espèce majoritaire, conditionne celle de la totalité des EPS. Une augmentation de l'âge des boues entraîne une diminution de la teneur en protéines de 40 mg.g<sub>MVS</sub><sup>-1</sup> à 20 mg.g<sub>MVS</sub><sup>-1</sup>.

Cette diminution de concentration est un peu moins marquée pour les polysaccharides et substances humiques. En effet, après une diminution apparente de la quantité de polysaccharides lorsque la concentration en MES passe de 1 à 4 g<sub>MES</sub>·L<sup>-1</sup>, il semble que leur teneur augmente pour des concentrations supérieures à 4g.L<sup>-1</sup>, c'est-à-dire pour les plus forts âges de boues.

**Ainsi, une tendance générale à la diminution des EPS avec l'augmentation de l'âge des boues est observée. Toutefois, la teneur en polysaccharides présente un comportement significativement différent de celle des protéines (Figure IV.7).**

Cela nous amène donc à étudier l'évolution du rapport protéines/polysaccharides en fonction de la concentration en MES et de l'âge des boues (Figure IV.9).

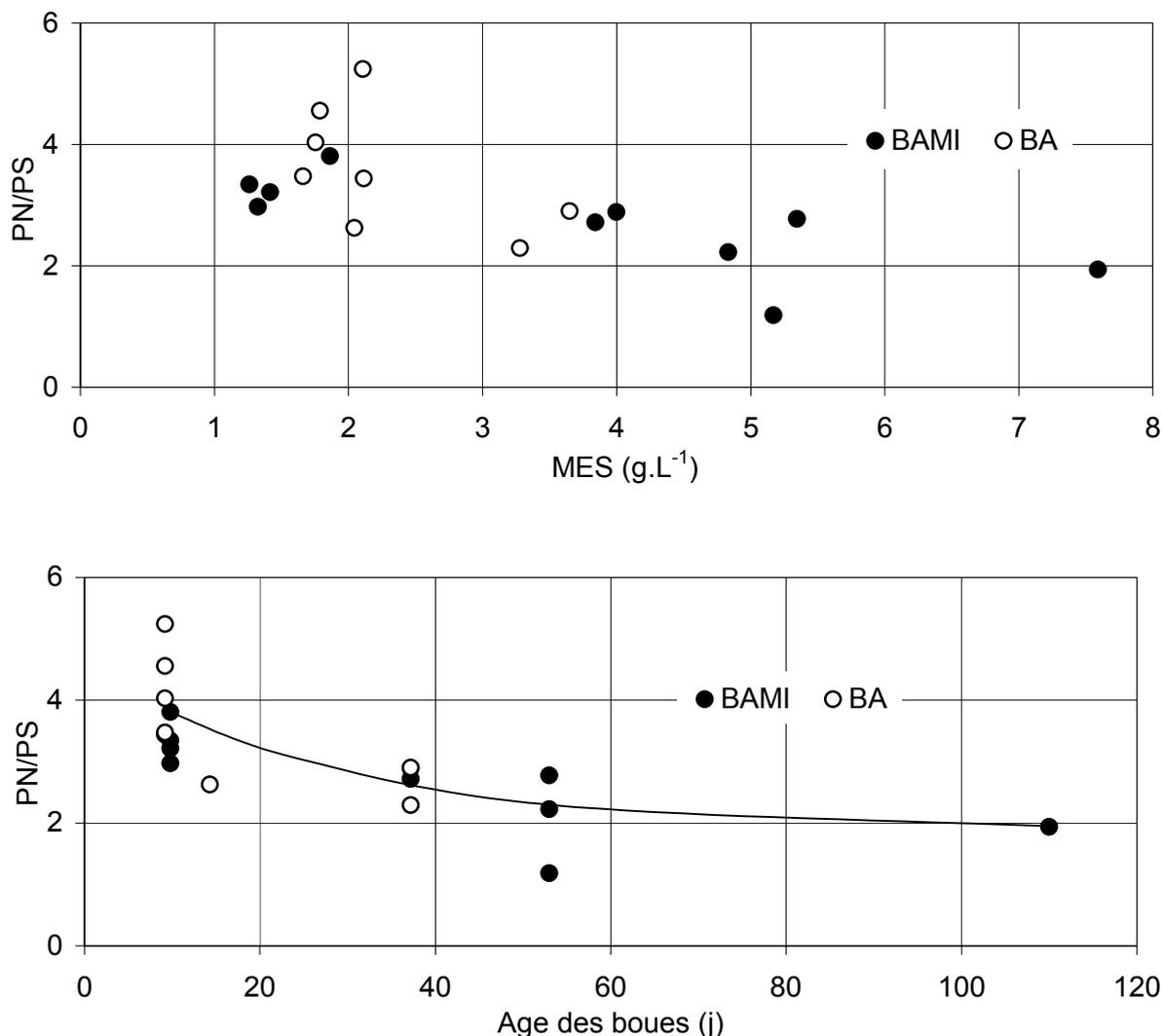


Figure IV.9: Relation entre le rapport protéines/polysaccharides (PN/PS) des floes et les MES/l'âge des boues

**Le rapport protéines (PN) sur polysaccharides (PS) des floes est en permanence supérieur à 1 et évolue en fonction de la concentration en MES et de l'âge des boues. Pour une faible concentration en MES, la quantité de protéines est très supérieure à celle des polysaccharides et constitue l'espèce majoritaire (rapport PN/PS proche de 4). A fort âge de boues ou lorsque la concentration en MES est élevée les floes évoluent vers des rapports protéines/polysaccharides inférieurs à 2.**

Ainsi, une augmentation de l'âge des boues pourrait entraîner :

1. une conversion de plus de substrat en polysaccharides et/ou moins en protéines du fait de la modification de l'état physiologique des bactéries. Ce changement pourrait notamment s'effectuer au profit de la maintenance,
2. une dégradation (hydrolyse ou solubilisation) des protéines plus rapide que celle des polysaccharides en même temps que la minéralisation de la boue.

Les résultats obtenus par Stricot (2004), qui a étudié le stockage aérobie de boues issues de BAM, confirment plutôt la deuxième hypothèse c'est-à-dire une dégradation des protéines plus rapide que celle des polysaccharides. En effet, cette étude montre que lors d'une absence d'alimentation, la quantité de protéines dans les flocs décroît plus rapidement que celle des polysaccharides. Dans ces mêmes expériences, les polysaccharides s'accumulent dans le surnageant contrairement aux protéines ce que nous avons également observé (Chapitre III). Ceci montrerait que la dégradation des exo-polysaccharides est beaucoup moins rapide que celle des protéines. Selon Stricot (2004), l'évolution des protéines dans le floc, notamment les enzymes extracellulaires (hydrolases et autres), semble suivre celle de la fraction de bactéries actives dans la boue ; diminution progressive des bactéries actives avec l'augmentation de l'âge de boues. Au contraire, la cinétique d'hydrolyse des polysaccharides semble plus lente et découplée de celle de la biomasse active globale.

Ces résultats confirment les hypothèses du modèle général de Laspidou et Rittman (2002). En effet, l'hydrolyse des exopolymères est considérée dans ce modèle comme une cinétique d'ordre 1 par rapport au substrat et indépendante de la cinétique de décès de la biomasse. Suivant les valeurs du taux d'hydrolyse et du taux de décès, ceci peut conduire à une baisse de la concentration en biomasse active plus rapide que celle en exopolymères (cas possible pour les polysaccharides), ou à des vitesses de diminution comparables entre la biomasse et les EPS (cas des protéines dans notre étude).

## 2. Evolution de la taille des flocs

La distribution de la taille des flocs a été analysée durant tout le fonctionnement des réacteurs. Le diamètre moyen ( $d_{50}$ ) en volume et en nombre est représenté aux figures IV.10 et figures IV.11 en fonction de la concentration en MES des deux boues.

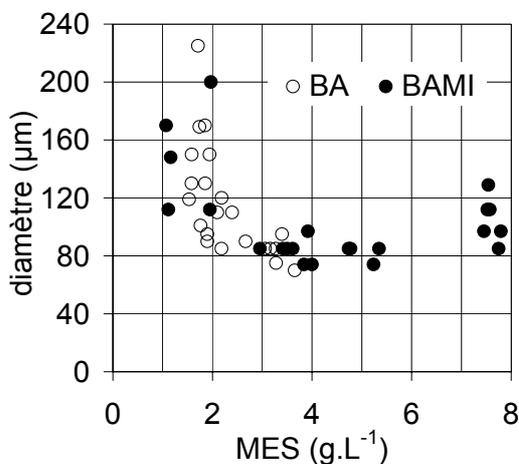


Figure IV.10: Evolution du diamètre moyen des flocs (répartition en volume) en fonction des MES

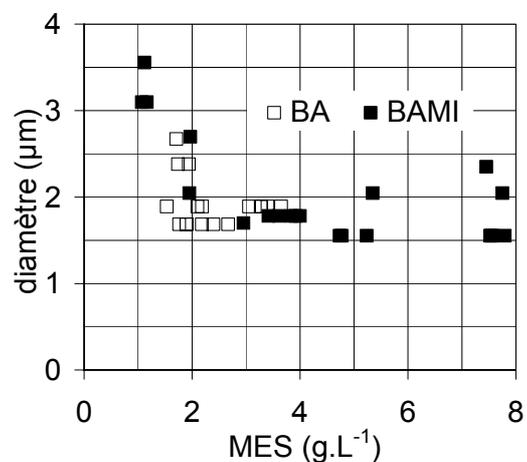


Figure IV.11: Evolution du diamètre moyen des flocs (répartition en nombre) en fonction des MES

Les figures IV.10 et figures IV.11 permettent de constater qu'il existe deux populations de particules :

- une population nombreuse de fines particules (colloïdes, bactéries libres, fines MES) de diamètre centré entre 1 et 4  $\mu\text{m}$  (visible sur la répartition en nombre).
- une population de macro-particules (diamètre moyen entre 40 et 250 $\mu\text{m}$ ) détectables sur la répartition en volume.

Pour une même concentration en MES, le diamètre moyen des fines particules et floccs est relativement proche pour les deux boues. Ce résultat est intéressant car bien que les mêmes paramètres opératoires soient fixés dans les réacteurs (âge des boues, temps de séjour hydraulique, charge organique), les conditions hydrodynamiques régnant au sein des réacteurs sont différentes. En effet, les réacteurs n'ont pas la même géométrie, le même système d'agitation, le même type d'aération. Pourtant, la taille des floccs semble relativement similaire entre les deux systèmes, à concentration en MES équivalente.

Des différences de distribution ont pu être observées uniquement sur la première période lorsque les deux procédés fonctionnaient à faible concentration en biomasse (1,5-2,0  $\text{g.L}^{-1}$ ) et au plus faible âge de boues (9,8 jours). Par exemple, la figure IV.12 montre les répartitions granulométriques obtenues pour chaque boue à la fin de la première période.

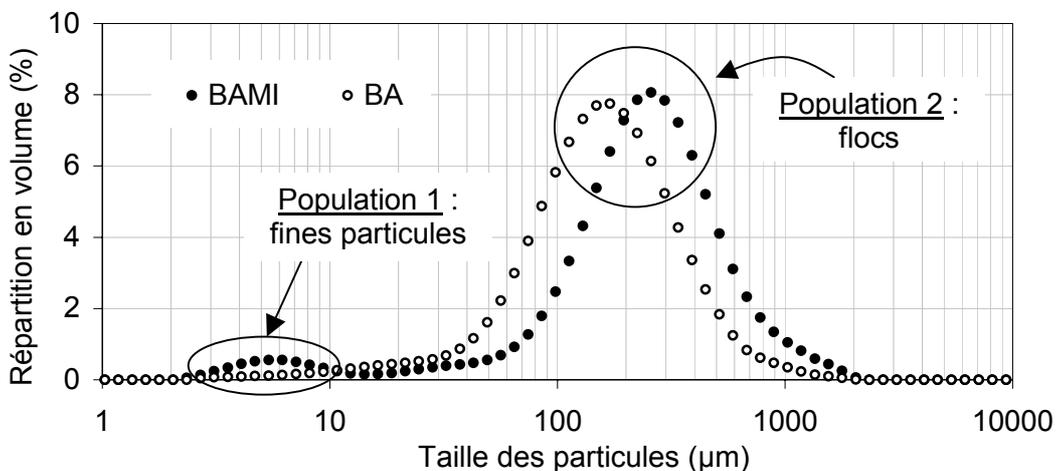


Figure IV.12: Distribution granulométrique des boues du BA et du BAMI à la fin de la 1<sup>ère</sup> période

On note, à cette période, la présence de fines particules dans le BAMI. De plus, le diamètre correspondant au maximum de la population de floccs est de 260  $\mu\text{m}$  pour le BAMI et 170  $\mu\text{m}$  pour le BA. Ceci peut s'expliquer par l'absence de pompe de recirculation dans le BAMI et des contraintes de cisaillement associées. En effet, durant une durée limitée, l'ajout sur le BAMI d'une pompe péristaltique fonctionnant au même débit que celle du procédé à boues activées a conduit à une diminution de la population maximale dans le BAMI et a abouti à une distribution semblable à celle du BA.

Toutefois, lorsque les âges de boues et concentrations en MES augmentent, les deux populations du BA et du BAMI se confondent. Au final, les graphiques des figures IV.10 et figures IV.11 présentent une allure similaire constituée de 3 phases :

Phase 1 : le diamètre moyen des floccs diminue de 225 à 80  $\mu\text{m}$  et celui des fines particules de 3,6 à 1,7  $\mu\text{m}$ , lorsque la concentration en MES augmente de 1 à 3  $\text{g.L}^{-1}$ .

Le profil de diminution du diamètre des floccs est tout à fait comparable à celui de la concentration en EPS liés qui diminue de 70 à 35  $\text{mg.g}_{\text{MVS}}^{-1}$  du fait de la diminution de la teneur en protéines et des polysaccharides. Cependant, les conditions hydrodynamiques au sein des réacteurs changent également avec la concentration en MES. En effet, pour maintenir une concentration en oxygène équivalente entre toutes les périodes, le débit d'air doit être augmenté, créant plus de turbulences dans le réacteur, ce qui peut expliquer partiellement la diminution de la taille des floccs.

Phase 2 : le diamètre des floccs reste à une valeur stable d'environ 80  $\mu\text{m}$  et celui des fines particules à environ 1,7  $\mu\text{m}$  pour une concentration en MES comprise entre 3 et 5,5  $\text{g.L}^{-1}$ . Dans le même temps, la concentration en EPS liés reste également constante à environ 35  $\text{mg.g}_{\text{MVS}}^{-1}$ .

Phase 3 : le diamètre des floccs augmente de 80 à environ 95  $\mu\text{m}$  et les fines particules de 1,7 à 2,0  $\mu\text{m}$  lorsque la concentration en MES augmente de 5,5 à 7,8  $\text{g.L}^{-1}$ . Bien que dans ce cas une seule mesure ait été effectuée, la concentration en EPS liés augmente alors de 35 à 50  $\text{mg.g}_{\text{MVS}}^{-1}$ .

Pour résumer, à faible concentration en MES (1 à 3  $\text{g.L}^{-1}$ ) lorsque le rapport substrat/micro-organismes est plus élevé, les microorganismes sont plus favorablement en phase de croissance et produisent des EPS, principalement des protéines selon les mesures réalisées, mais également des polysaccharides. Ces polymères peuvent servir d'agent flocculant et induire une élévation de la taille des floccs lorsqu'ils sont présents en forte quantité. Ainsi, lorsque l'âge des boues augmente de 10 à 53 jours et la concentration en MES de 1 à 5  $\text{g.L}^{-1}$ , la diminution de la teneur en protéines et polysaccharides peut expliquer la diminution de la taille des floccs.

Pour de forts âges de boues, 110 jours dans notre cas, les micro-organismes ont un métabolisme principalement endogène; l'augmentation de la teneur en polysaccharides, la libération de produits issus de la lyse cellulaire associées à une plus forte densité cellulaire conduisent alors peut-être à une refloculation et une augmentation de la taille des floccs.

Pour conclure, la taille moyenne des floccs ne peut être reliée à un seul paramètre puisqu'elle résulte d'un équilibre complexe entre :

- des forces de cohésion résultant de la teneur en différents exopolymères,
- d'une probabilité de rencontre qui augmente avec la concentration en MES des boues,
- des contraintes hydrodynamiques qui varient avec l'augmentation du débit d'air, la variation de la viscosité du milieu.

Pour savoir si l'augmentation de la quantité de polymères au sein des floccs s'accompagne d'une évolution de la densité des floccs, la valeur de la dimension fractale des floccs a été déterminée. Celle-ci est présentée en fonction de la concentration en MES des floccs (Figure IV.13). La dimension fractale mesure la capacité d'un objet à remplir l'espace. Ainsi, plus la dimension fractale est élevée et plus le flocc est dense.

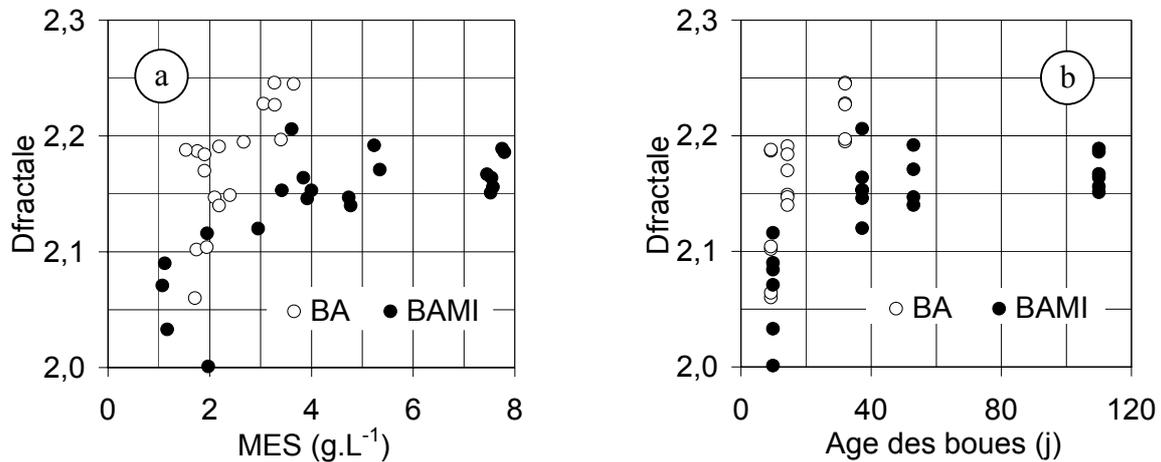


Figure IV.13: Evolution de la dimension fractale des floccs en fonction de la concentration en MES (graphique a) et de l'âge des boues (graphique b).

Il apparaît que l'augmentation de la concentration en MES s'accompagne d'une augmentation de la dimension fractale de 2,05 à 2,18 et donc de la densité des floccs. Cette variation est significative si l'on en croit les domaines de variations de la dimension fractale rapportés dans la littérature : 1,7 à 2,5 pour des floccs biologiques selon Waite (1999). De plus, le profil de variation de la dimension fractale présente une forte variation entre 1 et 3 g<sub>MES</sub>.L<sup>-1</sup> tout comme les EPS<sub>liés</sub> ou le diamètre moyen des floccs.

Au final, en regroupant les résultats sur les EPS liés et ceux de la dimension fractale, il apparaît que l'augmentation des MES et de l'âge des boues sont synonymes d'une diminution de la taille des floccs et simultanément d'une densification qui peut être liée à la diminution de la teneur en EPS<sub>liés</sub>. Ces évolutions de la structure des floccs seront à rapprocher des résultats de filtration, ce qui fait l'objet du chapitre V.

Les figures IV.13 a et b montrent également que le procédé à boues activées présente des floccs dont la dimension fractale est plus grande que ceux du BAMI. Pour un même diamètre de particules, les floccs les plus denses ont une meilleure aptitude à la décantation et restent donc au sein du procédé à boues activées. Au contraire, les floccs les moins denses ont du mal à décanter et pourraient être évacués en surverse de décanteur.

### 3. Décantabilité et épaissement de la boue

Les figures IV.14 et figures IV.15 montrent respectivement l'évolution de l'indice de boues (IB) et de la turbidité du surnageant après 30 minutes de décantation en fonction de la concentration en MES des boues. La teneur en  $EPS_{liés}$  n'a pu être tracée en fonction de l'indice de boues car le nombre d'analyses effectuées le même jour, c'est-à-dire sur exactement la même boue, est insuffisant.

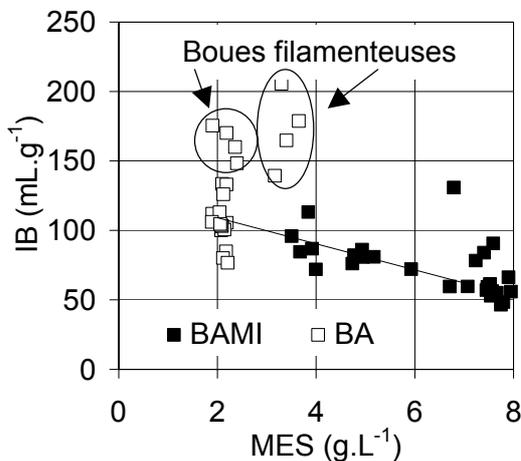


Figure IV.14: Evolution de la décantabilité des boues

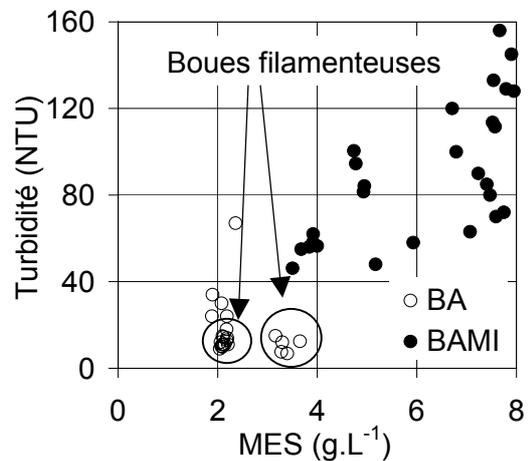


Figure IV.15: Evolution de la turbidité du surnageant de boues après 30 minutes de décantation.

La figure IV.14 montre que l'indice de boues diminue avec l'augmentation de la concentration en MES de 2 à 8 g.L<sup>-1</sup> selon une loi quasiment linéaire (s'il est fait abstraction des échantillons présentant des boues filamenteuses) :

$$IB \text{ (mL.g}^{-1}\text{)} = - 6,52 \text{ MES (g.L}^{-1}\text{)} + 114$$

Il faut noter qu'au cours du fonctionnement des réacteurs, la présence de boues filamenteuses n'a été remarquée que sur le réacteur à boues activées. La diminution de l'indice de boues, soit le volume occupé par un gramme de boue, traduit la densification des floccs et conduit à une meilleure aptitude à l'épaississement.

En ce qui concerne la turbidité du surnageant des boues ayant décantées durant 30 minutes, elle augmente lorsque la concentration en MES augmente. Ainsi, l'augmentation de l'âge des

boues conduit à de faibles tailles de floccs et à un surnageant de décantation de moins bonne qualité. Le nombre de microflocs ayant des difficultés à décanter augmente donc dans le BAMI lorsque l'âge des boues augmente.

La décantation ne permet probablement pas d'éliminer les micro-floccs inférieurs à 50  $\mu\text{m}$  ainsi que les colloïdes, contrairement à la centrifugation ou la filtration. C'est d'ailleurs pourquoi il est difficile de faire des comparaisons entre la turbidité du surnageant de décantation, la DCO du perméat de filtration sur 0,45  $\mu\text{m}$  (DCO "soluble") ou EPS du surnageant de centrifugation à 4200 G (EPS "solubles").

Pour conclure sur les caractéristiques des floccs, il apparaît que l'augmentation de l'âge des boues se traduit par une diminution de la production d'EPS<sub>liés</sub>. Simultanément la taille de l'agrégat biologique diminue (Figure IV.10) mais gagne en compacité (Figure IV.13). En effet, le passage d'une concentration en MES de 1 à 6  $\text{g.L}^{-1}$  provoque une augmentation de la dimension fractale de 2,05 à environ 2,18 traduisant ainsi une baisse de la porosité du flocc. Liu et Fang (2002) constatent également une baisse de la porosité des floccs avec la diminution de la quantité d'exopolymères liés. La porosité plus élevée des floccs comparée à celle de granules est associée selon ces auteurs à une quantité plus élevée d'exopolymères au sein des floccs. Par ailleurs, nos résultats montrent que lorsque le diamètre des floccs diminue, la qualité du surnageant de décantation diminue également. On peut donc penser que la diminution du diamètre moyen des floccs lorsque l'âge des boues augmente est due à une défloculation partielle qui induit une augmentation du nombre de colloïdes dans le surnageant. Dépassé un temps de séjour des boues (110 jours dans notre cas) et pour une forte densité cellulaire, une refloculation est observée qui pourrait être associée à une augmentation des EPS<sub>liés</sub>.

### **III. Caractérisation du surnageant des boues**

Ce paragraphe permet l'étude de l'influence de la séparation membranaire sur les caractéristiques du surnageant du milieu biologique. Les grandeurs étudiées ici concernent la DCO et les exopolymères du surnageant qui par convention seront dites "solubles". La DCO soluble est obtenue par filtration sur membrane 0,45  $\mu\text{m}$  ; la concentration en EPS du surnageant par centrifugation à 4200 G pendant 15 minutes. Ces échantillons peuvent donc encore contenir des matières colloïdales.

Comme il a été vu dans le chapitre III, la séparation membranaire retient peu de substances humiques mais retient des protéines et des polysaccharides dans le surnageant de la boue. Ces composés s'accumulent transitoirement puis leur concentration diminue progressivement. Il est alors intéressant d'analyser les caractéristiques du milieu après cette phase dynamique. La

figure IV.16 présente les concentrations en EPS solubles obtenues après une période de stabilisation.

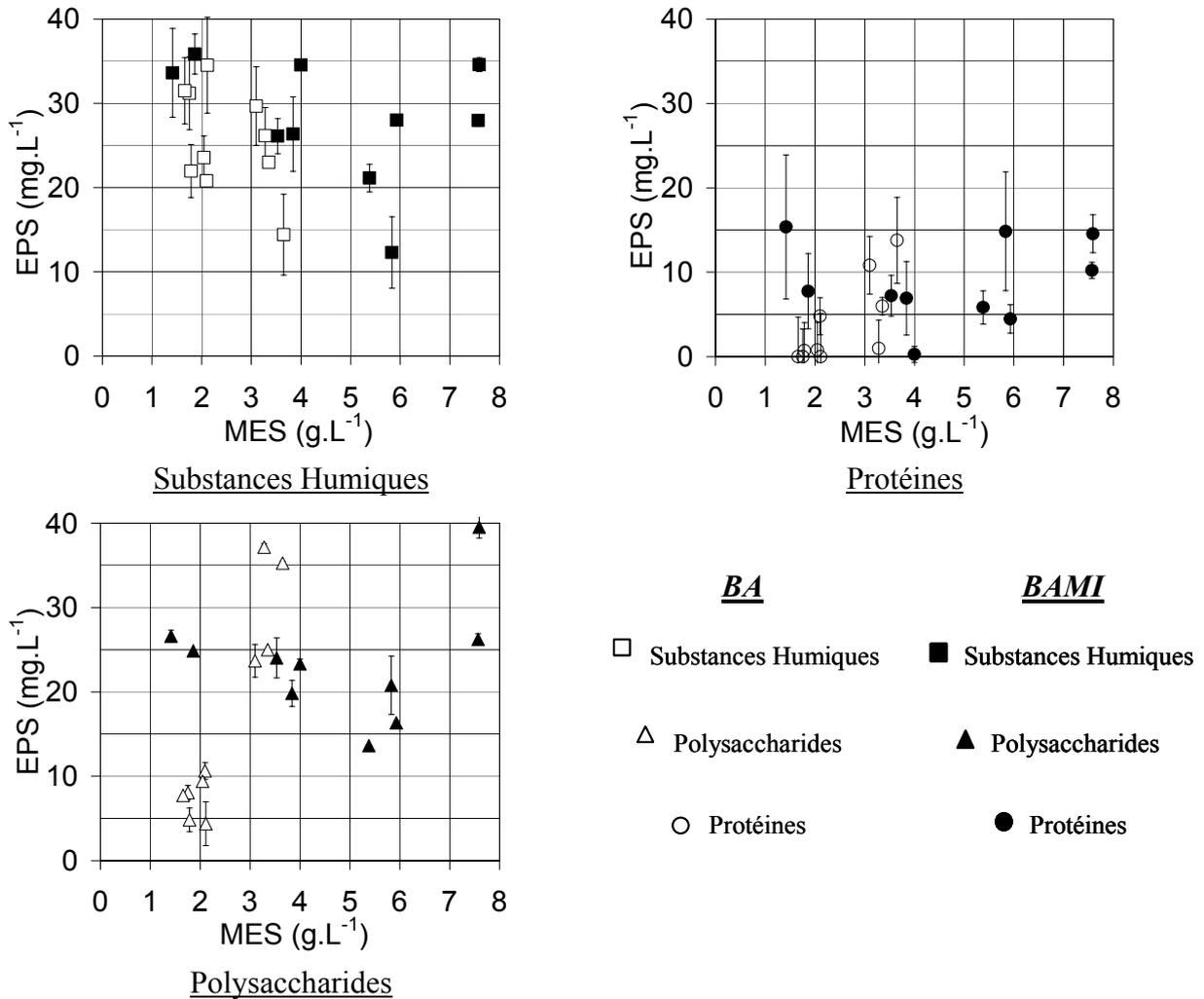


Figure IV.16: Relation entre EPS spécifiques des surnageants et concentrations en MES stabilisées

Quel que soit le procédé étudié, les substances humiques représentent les principaux exopolymères du surnageant (12 à 35 mg.L<sup>-1</sup>). Contrairement aux polysaccharides et aux protéines, les substances humiques proviennent exclusivement des eaux usées. C'est donc pour cette raison que ces substances sont en très faibles concentrations dans les floes alors qu'elles constituent le groupe majoritaire des EPS<sub>solubles</sub>.

Après stabilisation, les protéines constituent le groupe minoritaire des exopolymères du surnageant (0 à 16 mg.L<sup>-1</sup>). Il est difficile de comparer leurs concentrations à celles trouvées dans d'autres travaux. En effet, la plupart des études surestiment leur concentration car elles ne tiennent pas compte des interférences, dues aux substances humiques, lors de la mesure d'absorbance. De plus, les méthodes de séparation des composés solubles ne sont pas identiques et peuvent mener à des biais dans l'interprétation des résultats.

Enfin, la concentration en polysaccharides varie de 4 à 39 mg.L<sup>-1</sup> avec une amplitude de variation plus élevée dans le surnageant du procédé à boues activées. Ces valeurs restent dans les gammes de concentrations observées dans d'autres études. En effet, Lesjean et al. (2004), dans un BAMI alimenté en eau usée municipale fonctionnant à 8 jours d'âge de boues trouvent une concentration en polysaccharides comprise entre 2 et 17 mg<sub>éq-glucose</sub>.L<sup>-1</sup> contre 4,3 à 26,6 mg<sub>éq-glucose</sub>.L<sup>-1</sup> pour la première période de cette étude, c'est-à-dire 9 jours d'âge des boues. Malgré les caractéristiques des ERU et les conditions opératoires probablement différentes, Lesjean et al. (2004) travaillant notamment avec des bassins anoxies, aérobies et anaérobies placés en série, ces valeurs sont du même ordre de grandeur que les nôtres.

**La comparaison des deux procédés montre également que les concentrations en polysaccharides et protéines sont nettement plus faibles dans les boues du BA par rapport au BAMI lorsqu'ils fonctionnent à faibles concentrations en MES et âges de boues. En effet, pour une concentration en MES comprise entre 1 et 2,5 g.L<sup>-1</sup>, la concentration en polysaccharides est d'environ 5 à 10 mg.L<sup>-1</sup> dans le surnageant du procédé à boues activées contre environ 25 mg.L<sup>-1</sup> dans celui du BAMI. Lorsque la concentration en MES augmente (supérieure à 3 g.L<sup>-1</sup>), les concentrations en protéines et polysaccharides augmentent dans le BA et se confondent aux valeurs mesurées dans le BAMI.**

Il faut noter que les résultats obtenus sur la boue du procédé à boues activées semblent reproductibles car des concentrations équivalentes en polysaccharides et protéines ont été obtenues pour la période d'âge de boues de 9,2 jours et 14,3 jours.

L'évolution de la concentration en EPS totaux avec l'âge des boues présente également des évolutions similaires à celles des exopolymères spécifiques. La figure IV.17 illustre cette évolution dans le surnageant du BAMI. Les concentrations en matière organique correspondent à la moyenne des concentrations obtenues à la fin de chaque période de fonctionnement à un âge de boues donné.

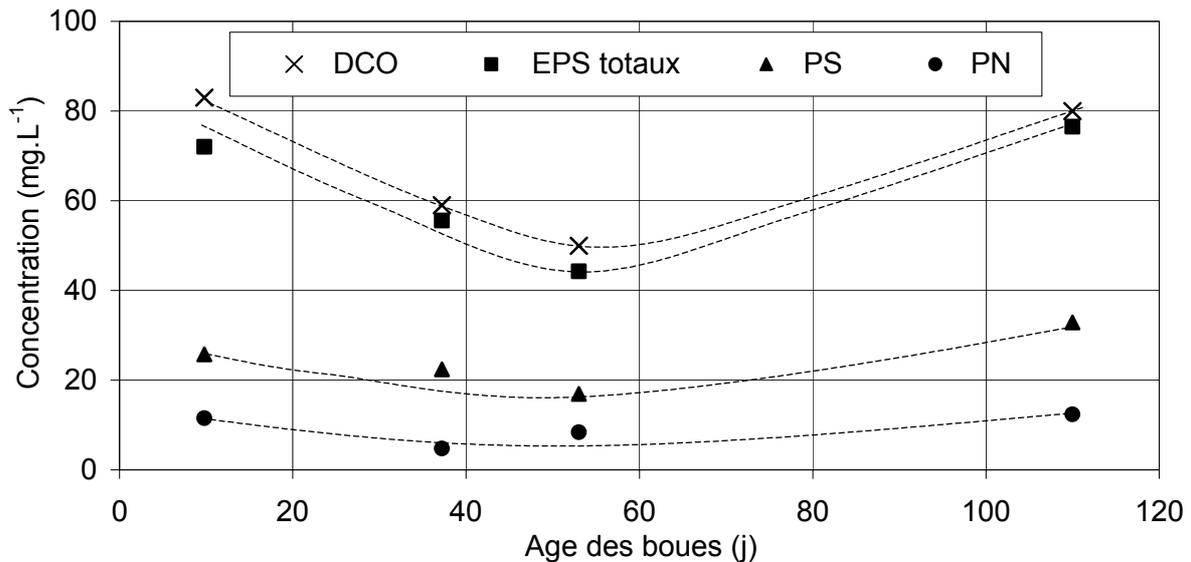


Figure IV.17: Evolution de la concentration en DCO, EPS totaux, Polysaccharides (PS) et Protéines (PN) du surnageant de BAMI en fonction de l'âge des boues (concentration prise une fois stabilisation)

Pour de faibles âges de boues (inférieurs à 53 jours) : les concentrations en exopolymères spécifiques (protéines et polysaccharides) diminuent lorsque l'âge des boues augmente entraînant une diminution de la concentration en DCO de 83 à 50 mg.L<sup>-1</sup>, et des EPS totaux de 72 à 44 mg.L<sup>-1</sup>. Il semble assez logique qu'un temps de séjour des boues élevé permette une épuration biologique plus poussée car alors le temps de contact entre la matière organique retenue par la membrane et la biomasse est plus long. La matière organique lentement biodégradable peut alors être dégradée.

Pour des âges de boues élevés (supérieurs à 53 jours) : lorsque l'âge des boues augmente de 53 à 110 jours, la concentration en polysaccharides augmente de 17 à 33 mg.L<sup>-1</sup> pendant que simultanément la concentration en protéines augmente de 8 à 12 mg.L<sup>-1</sup>. Par conséquent, la concentration en EPS totaux augmente de 44 à 77 mg.L<sup>-1</sup>, celle de la DCO de 50 à 80 mg.L<sup>-1</sup>. Les résultats concernant les EPS à 110 jours d'âge de boues sont toutefois à interpréter avec précaution car le bioréacteur à membranes n'est probablement pas en régime parfaitement stabilisé. Cependant, à de forts âges des boues (supérieurs à 53 jours) les micro-organismes pourraient avoir un métabolisme principalement endogène qui provoque la lyse cellulaire et donc la libération et l'accumulation d'EPS plus difficilement biodégradables. Une partie de ces EPS serait adsorbée au floc ou participerait aux pontages entre cellules et une autre partie serait hydrolysée et solubilisée dans le milieu.

De plus, globalement, les variations en EPS et DCO suivent les mêmes évolutions. Les polymères constituent une partie de la matière organique du milieu et à ce titre sont inclus

dans la mesure de la DCO soluble. La concentration en EPS solubles est représentée en fonction de celle de la DCO (Figure IV.18).

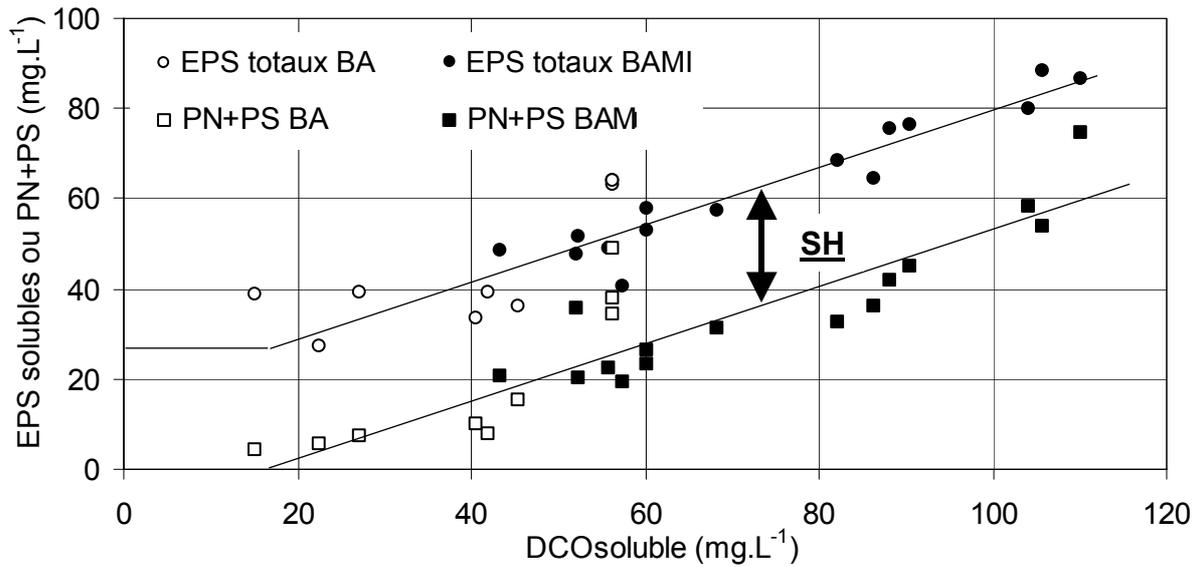


Figure IV.18: Relation entre EPS totaux, protéines + polysaccharides et DCO du surnageant (Concentrations prises sur la totalité du fonctionnement des réacteurs)

Pour des concentrations en DCO inférieures à 40 mg.L<sup>-1</sup>, les concentrations en polysaccharides et protéines sont pratiquement nulles alors que celle des substances humiques est d'environ 30 à 40 mg.L<sup>-1</sup>. Puisque les polysaccharides et les protéines sont quasiment absentes à ces concentrations en DCO, cela signifie que 25 à 40 mg.L<sup>-1</sup> de substances humiques représentent environ 15 à 30 mg<sub>DCO</sub>.L<sup>-1</sup>, si toutefois la DCO n'est composée que de substances humiques.

Pour des concentrations en DCO supérieures à 40 mg.L<sup>-1</sup> une relation linéaire entre les EPS et la DCO du surnageant est observée qui intègre à la fois les données du procédé à boues activées et du BAMI (IV.1) :

$$EPS_{\text{Totaux.solubles}} = 0,73 \cdot DCO_{\text{Soluble}} + 16 \quad (\text{IV.1})$$

Dans ce cas, l'évolution de la concentration en DCO suit celle des polysaccharides et des protéines. L'écart de concentration entre les EPS totaux et la concentration des protéines et des polysaccharides est constitué par les substances humiques. En accord avec les résultats précédemment trouvés (Figure IV.16), il apparaît que cet écart reste constant ( $\approx 30 \text{ mg.L}^{-1}$ ) quelle que soit la concentration en DCO dans le surnageant de BAMI. Les substances humiques constitueraient donc un talon de DCO difficilement dégradable pratiquement pas retenu par la membrane (chapitre III).

## IV. Conclusion et discussion

Ce chapitre a permis d'étudier l'influence de la séparation membranaire sur les caractéristiques de la boue biologique après stabilisation des réacteurs BA et BAMI.

La séparation membranaire semble peu influencer les caractéristiques des floccs puisque l'évolution générale des paramètres étudiés est similaire entre le BAMI et le procédé à boues activées. En revanche, une modification de l'âge des boues (les forts âges de boues étant obtenus avec le BAMI) entraîne un changement des propriétés des floccs. Deux phases différentes sont distinguées :

1. l'augmentation de l'âge de boues de 9 à 53 jours entraîne une diminution de la teneur en EPS<sub>liés</sub> (70 à 35 mg.g<sub>MVS</sub><sup>-1</sup>) et de la taille des floccs (200 à 80 µm). Lors de l'augmentation de l'âge des boues, la quantité d'EPS<sub>liés</sub> diminue provoquant une défloculation. Par conséquent, la turbidité du surnageant augmente et la taille des agrégats diminue. La compressibilité de la boue est diminuée et la densité des floccs accrue,
2. l'augmentation de l'âge des boues de 53 à 110 jours entraîne une augmentation de la teneur en EPS<sub>liés</sub> et donc de la taille des agrégats. Cette augmentation de la quantité d'EPS<sub>liés</sub> pourrait alors être due à une augmentation de la lyse cellulaire et à une libération de substances favorisant la floculation.

L'influence de la séparation membranaire sur les caractéristiques du surnageant a également été étudiée. La membrane permet la rétention des composés du surnageant et notamment de certains exopolymères comme les protéines et les polysaccharides. Les différences entre les deux procédés sont plus marquées pour de faibles âges de boues. La concentration en polysaccharides et à un degré moindre en protéines, est inférieure dans le procédé à boues activées. En revanche, les substances humiques ne semblent pas dégradées ou retenues par la membrane et restent à une concentration relativement constante quel que soit l'âge des boues. L'augmentation de l'âge des boues de 9 à 53 jours entraîne une diminution de la concentration en polysaccharides (25 à 15 mg.L<sup>-1</sup>) et protéines (10 à 5 mg.L<sup>-1</sup>). Puis, au-delà de 53 jours d'âge de boues, les concentrations en polysaccharides et protéines augmentent et atteignent respectivement 12 et 33 mg.L<sup>-1</sup>.

Par ailleurs, abstraction faites des substances humiques, les protéines sont les produits microbien majoritaires des floccs (11,5 à 45,3 mg.g<sub>MVS</sub><sup>-1</sup>) alors que ce sont les polysaccharides

qui composent majoritairement le surnageant. Nous pouvons donc nous interroger sur les mécanismes de dégradation et de production de ces exopolymères (Figure IV.19)

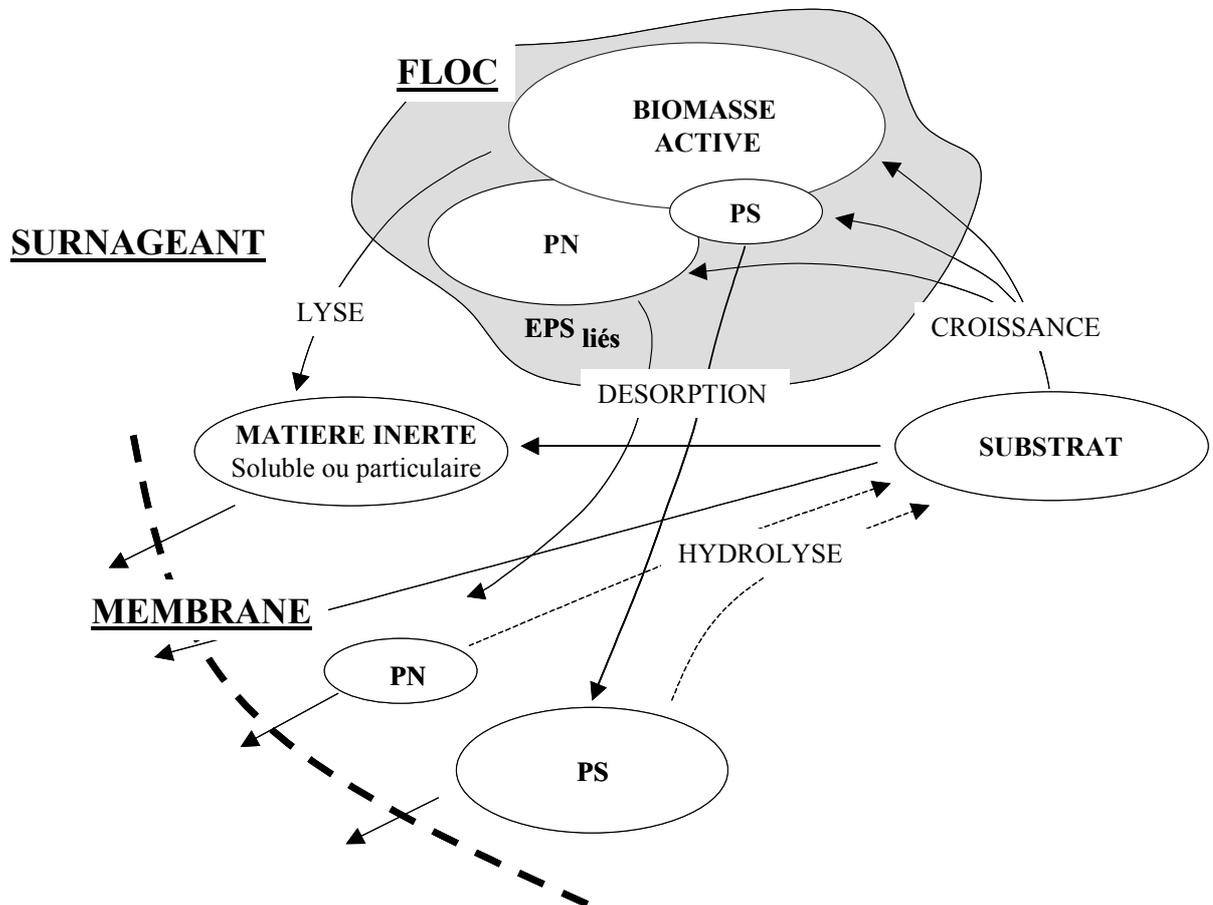


Figure IV.19: Etude des mécanismes d'élimination et de production des EPS des boues

Rappelons tout d'abord qu'une boue biologique est un milieu complexe dont les caractéristiques résultent d'un état d'équilibre. A ce titre il faut prendre en compte l'ensemble des mécanismes de dégradation/production/accumulation pour pouvoir expliquer les teneurs en chacun des polymères de la boue.

Dans notre cas, les protéines constituent les polymères majeurs des floes et leur proportion tend à diminuer à mesure que l'âge des boues augmente (PN/PS diminue). La production de protéines, notamment les enzymes, pourrait donc être liée à la concentration en biomasse active des boues. Ainsi, à faible âge des boues la croissance des micro-organismes est facilitée et engendrerait une augmentation de la teneur en protéines des floes. Cette hypothèse est également celle avancée par Stricot (2004). Au-delà d'un âge de boues donné, certains auteurs (Durmaz et Sanin 2001, Liu et Fang 2003, Liao et al. 2001) supposent que les substrats

organiques, alors en faible quantité par rapport à celle des micro-organismes, seraient principalement utilisée pour la maintenance cellulaire. Cette situation devrait réduire la production de polysaccharides et conduire à une augmentation du rapport PN/PS mais le phénomène contraire a été observé dans notre étude. Signalons également que le phénomène de lyse cellulaire devient plus important à forts âges de boues et donc qu'elle influencera également les proportions en chacun des polymères des floccs et du surnageant. Ainsi, la proportion en chacun des polymères dans les floccs est en partie liée à leurs cinétiques de production.

Cependant, le taux de polymères dans les floccs n'est pas lié seulement à leur cinétique de production mais également à leur capacité à s'adsorber et à désorber. Une désorption rapide d'un type de polymères doit mener à une baisse de la teneur en ce polymère dans les floccs et à une augmentation dans le surnageant. Les cinétiques de désorption/adsorption seront modifiées avec la température, le pH, probablement la concentration en biomasse, la taille des floccs, etc... et dépendront de la localisation et du type de polymères.

Les concentrations en polymères du surnageant et des floccs sont en partie liées aux cinétiques de désorption et d'hydrolyse. Il est difficile de savoir si l'hydrolyse des EPS a lieu principalement dans le flocc ou dans le surnageant. La plupart des études concernant l'hydrolyse ont été réalisées sur des biomasses issues de boues activées. Elles démontrent que les enzymes hydrolysantes sont principalement localisées à proximité des agrégats bactériens, mais dans le cas du bioréacteur à membranes ceci n'est pas prouvé. Par exemple, la concentration élevée en polysaccharides dans le surnageant pourrait tenir à des cinétiques d'hydrolyse plus lentes pour ces polymères que pour les protéines ou à une désorption plus rapide.

Enfin, la membrane joue également un rôle clé dans l'accumulation des polymères solubles car elle présente des taux de rétention différents pour chacun des polymères (Chapitre III). Le taux de rétention varie également suivant les caractéristiques du milieu filtrant et les conditions opératoires et donc entraînera une accumulation sélective des polymères. Par exemple, une modification de l'âge des boues change la quantité mais également la masse moléculaire des polymères et donc modifiera les cinétiques d'hydrolyse ainsi que les taux de rétention.

Pour conclure, il apparaît donc que la membrane influence significativement les caractéristiques d'une boue biologique en permettant l'accumulation de composés, mais que

ces modifications sont largement influencées par l'âge des boues. Parce qu'elle autorise également de travailler à des âges de boues élevés, la séparation membranaire conduit à des milieux plus concentrés sélectivement en exopolymères et nécessite que l'on s'intéresse plus largement aux phénomènes d'hydrolyse lente de ces macro-molécules. Par ailleurs, opérer à un âge de boues élevé va se traduire par une différence de structure (taille, densité, compressibilité) des floccs et donc de leur filtrabilité.



---

## **CHAPITRE V**

# **ANALYSE DU COLMATAGE PAR UN MILIEU BIOLOGIQUE DANS UN BAMI**

---



L'objectif de ce chapitre est d'étudier et de comprendre l'évolution du colmatage dans le BAMI fonctionnant sans rétrolavages séquentiels avec un simple système d'insufflation d'air sous forme de grosses bulles (Figure V.1). Il s'agit de fournir des informations pour lier l'évolution du colmatage à celle du milieu biologique, pour des conditions opératoires fixées.

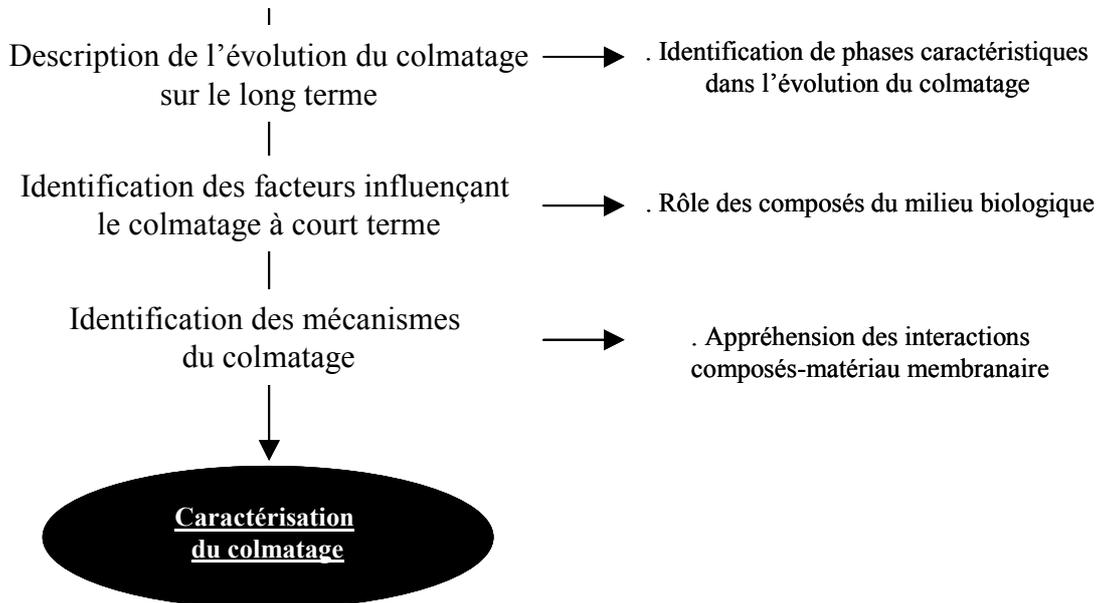


Figure V.1: Démarche adoptée dans la caractérisation du colmatage par un milieu biologique dans un BAMI

Nous allons dans un premier temps analyser le colmatage (en terme de dérive de pression transmembranaire) et sa dynamique sur le long terme. Nous étudierons ensuite sa réversibilité par des méthodes hydrauliques ou chimiques et enfin nous utiliserons la méthode des incréments de flux de perméat pour caractériser la vitesse de colmatage à court terme et à flux sur-critique afin de la relier aux propriétés du fluide biologique.

## I. Identification des paramètres influençant le colmatage à long terme

Le bioréacteur à membranes a fonctionné sous un flux de perméat constant de  $5 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$  pendant 4 périodes réparties sur une durée de 420 jours. Ce flux de perméation a été choisi pour éviter un colmatage trop rapide des membranes. Il a ensuite été maintenu à cette valeur quel que soit le temps de séjour des boues afin d'étudier l'influence d'autres conditions opératoires et des caractéristiques du milieu biologique sur la filtration.

## 1. Evolution de la pression transmembranaire au cours du temps

Il est important de rappeler ici que le BAMI a fonctionné en l'absence de rétrolavages ou de phases de relaxation. La seule méthode utilisée pour limiter le colmatage a été l'aération grosses bulles. Au cours de cette étude toutes les membranes utilisées pour le BAMI étaient en polysulfone et avaient les mêmes caractéristiques (voir chapitre II).

La figure V.2 montre l'évolution de la pression transmembranaire au cours de la filtration à long terme lors des 4 périodes de fonctionnement du BAMI. Sur une durée totale de 420 jours, le BAMI a fonctionné pendant 340 jours.

Nous allons dans un premier temps présenter l'historique du fonctionnement, en précisant les événements particuliers (lavages) intervenus lors de ce fonctionnement. Nous dégagerons ensuite des tendances générales sur le colmatage à long terme.

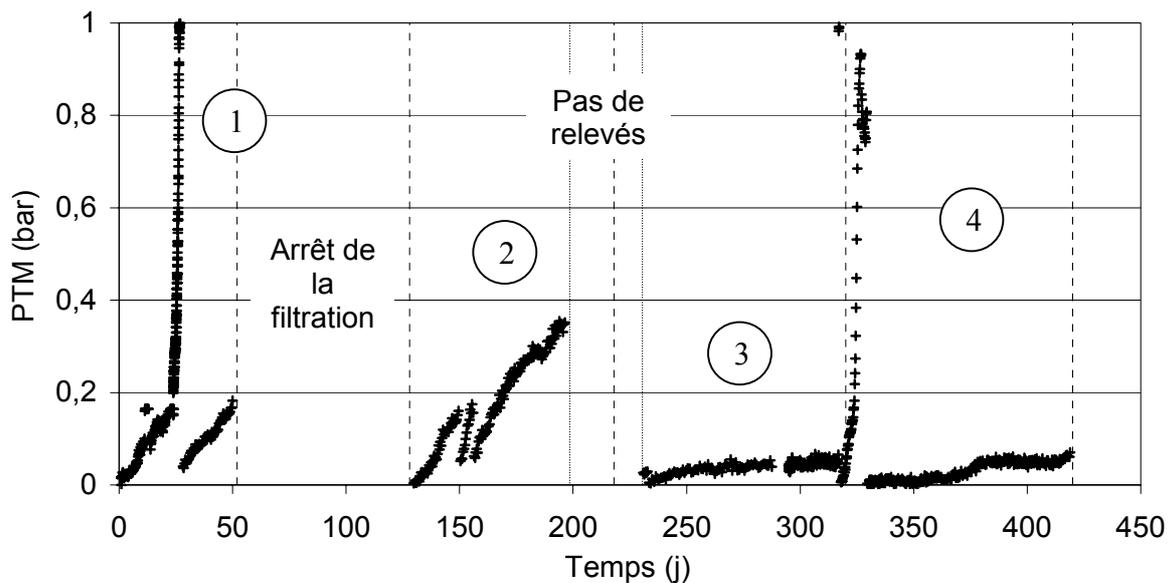


Figure V.2: Evolution de la pression transmembranaire au cours du fonctionnement du BAMI  
(1: TSB=9,8 j / 2: TSB=37,2 j / 3: TSB=160,0 ; 110,3 j / 4: TSB=53,0 j)

### 1<sup>ère</sup> période de fonctionnement :

Pendant la première période (TSB = 9,8 jours) la pression transmembranaire augmente lentement ( $0,04 \text{ kPa}\cdot\text{h}^{-1}$ ) pendant 24 jours puis, à partir du 24<sup>ème</sup> jour une dérive brutale de la pression transmembranaire est observée ( $1,20 \text{ kPa}\cdot\text{h}^{-1}$ ). Un lavage de la membrane est alors effectué le 27<sup>ème</sup> jour sur le faisceau de fibres extrait du bioréacteur. Durant le lavage pratiqué à l'extérieur du BAMI, tout le milieu biologique reste dans le BAMI et l'aération est maintenue constante. Il n'y a donc pas de baisse du niveau de liquide au sein du réacteur d'où l'arrêt de la régulation du niveau et par suite celui de l'alimentation en ERU.

Le lavage du 27<sup>ème</sup> jour a consisté à :

- une élimination de la gangue de boue à l'aide d'une projection d'eau pressurisée le long de la membrane,
- un rétrolavage à l'eau ultrafiltrée pendant 15 minutes à 1,5 bars,
- une perméation externe/interne pendant 30 minutes d'une solution à 1 g.L<sup>-1</sup> de chlore actif.

Bien que cette procédure de lavage n'ait pas permis de récupérer la perméabilité initiale de la membrane (seule 66 % de la perméabilité initiale a été récupérée), le faisceau de fibres a été réintroduit dans le BAMI dès la fin de la journée afin de ne pas trop perturber la biomasse et la filtration s'est poursuivie dans les mêmes conditions que précédemment. Pendant les 24 jours suivants la pression transmembranaire a recommencé à monter lentement (0,03 kPa.h<sup>-1</sup>). Cette dérive est voisine de celle qui avait été observée dans la phase de démarrage de la période 1. Au 52<sup>ème</sup> jour de fonctionnement, le BAMI a été vidangé et arrêté jusqu'au 128<sup>ème</sup> jour.

### 2<sup>ème</sup> période de fonctionnement :

La 2<sup>ème</sup> période de fonctionnement (TSB = 37,2 jours) a débuté avec la membrane lavée, avec une perméabilité égale à la perméabilité initiale soit 200 L.h<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup>.bar<sup>-1</sup>. Au début de cette période de fonctionnement la pression transmembranaire a augmenté à raison de 0,03 kPa.h<sup>-1</sup> jusqu'au 150<sup>ème</sup> jour. Un décolmatage des membranes a alors été effectué. Comme lors de la première période, la membrane a été lavée à l'extérieur du BAMI alors que celui-ci n'était pas alimenté en ERU. Une succession de rétrolavages au chlore (1 g.L<sup>-1</sup>) à l'acide oxalique (5 g.L<sup>-1</sup>) et à la soude (4 g.L<sup>-1</sup>) ont été effectués sur des durées de 15 minutes à 1,5 bars afin de récupérer une partie de la perméabilité de la membrane (perméabilité à la fin des rétrolavages égale à 143 L.h<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup>.bar<sup>-1</sup> soit 71% de la perméabilité initiale). Lors de la reprise de la filtration, la valeur de la pression transmembranaire était de 0,05 bar puis elle a augmenté à raison de 0,1 kPa.h<sup>-1</sup> durant 6 jours. De nouveaux rétrolavages chimiques à l'extérieur du BAMI ont alors été effectués :

- élimination de la gangue de boue,
- rétrolavage de deux fois 15 minutes à 1,5 bars avec du chlore à 1 g.L<sup>-1</sup>,
- rétrolavage 15 minutes à 1,5 bars à la soude (4 g.L<sup>-1</sup>).

Le faisceau de fibres a été réintroduit dans le réacteur dans la journée même et la filtration à 5 L.h<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup> a été poursuivie. Durant 40 jours la dérive de pression était de l'ordre de 0,03 kPa.h<sup>-1</sup>. Le 197<sup>ème</sup> jour le faisceau de fibres colmatées a directement été remplacé par un faisceau neuf identique au précédent (même perméabilité, matériau et diamètre moyen des

pores). Le lavage des membranes colmatées a consisté à éliminer la gangue de boue, puis à effectuer 6 rétrolavages à l'eau (1,5 bars, 15 minutes chacun) et enfin des lavages chimiques à l'acide oxalique (5 g.L<sup>-1</sup>) et à l'ultrasil (6 g.L<sup>-1</sup>). L'analyse de l'efficacité de ces décolmatages sera présentée au paragraphe II de ce chapitre.

### 3<sup>ème</sup> période de fonctionnement :

Après une période sans relevé de la pression transmembranaire, le faisceau de fibres colmatées a été remplacé le 218<sup>ème</sup> jour par un faisceau régénéré et la 3<sup>ème</sup> période de fonctionnement a commencé avec ce faisceau (TSB= 160 jours). La dérive de pression au cours de cette 3<sup>ème</sup> période est en moyenne de 0,002 kPa.h<sup>-1</sup>.

### 4<sup>ème</sup> période de fonctionnement :

Enfin, le 320<sup>ème</sup> jour, suite à un lessivage de la boue dû à son moussage nous avons vidangé 60 à 70% du milieu biologique et le faisceau de fibres a été remplacé. Le BAMI a alors été complété à 16 litres avec la boue du procédé à boues activées. La 4<sup>ème</sup> période a commencé avec un âge de boues fixé à 53 jours. Après une montée soudaine de la pression transmembranaire de l'ordre de 1,04 kPa.h<sup>-1</sup>, le faisceau de fibres a été remplacé par un faisceau complètement régénéré et la pression transmembranaire a évolué lentement à une vitesse de l'ordre de 0,003 kPa.h<sup>-1</sup>.

**Un premier résultat très intéressant est que le BAMI a pu fonctionner sur des durées relativement longues, (plus de 90 jours de filtration durant les 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> périodes) sans rétrolavages séquentiels, avec uniquement une aération grosses bulles continue et un faible flux de perméat. Seuls quelques lavages hydrauliques et chimiques ponctuels ont dû être pratiqués pendant les 340 jours de fonctionnement (au total 8 lavages). Il est donc tout à fait envisageable de faire fonctionner un BAMI sans rétrolavages séquentiels à un flux de 5 L.h<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup>.**

Un second résultat concerne l'évolution de la vitesse de colmatage, définie ici comme la variation de la pression transmembranaire par unité de temps. Cette vitesse varie suivant la période d'étude, c'est à dire suivant le temps de séjour de la boue. Le tableau V.1 présente les dérives de pressions observées après une régénération des membranes ou un remplacement du faisceau de fibres.

Tableau V.1:Récapitulatif des valeurs de dérive de pression durant le fonctionnement du BAM

<i>Période</i>	<i>Age des boues (j)</i>	<i>Temps après régénération ou remplacement du faisceau de membrane (j)</i>	<i>dPTM/dt (kPa.h<sup>-1</sup>)</i>
1	9,8	1-23	0,04
		24-27	1,20
		1-24	0,03
2	37,2	1-22	0,03
		1-6	0,1
		1-41	0,03
3	160,0-110,3	1-101	0,002
4	53,0	1-9	1,04
		1-91	0,003

Deux types différents d'évolution de la pression transmembranaire sont observés : une évolution lente ( $dPTM/dt < 0,1 \text{ kPa.h}^{-1}$ ) et une autre très rapide ( $dPTM/dt > 1 \text{ kPa.h}^{-1}$ ). Pour la 1<sup>ère</sup> période de fonctionnement, ces deux phases sont successives.

L'ordre de grandeur de la dérive lente de pression est de  $0,001$  à  $0,1 \text{ kPa.h}^{-1}$  et correspond aux valeurs trouvées par d'autres auteurs pour un BAM fonctionnant sur du long terme à des flux sous-critiques. Par exemple, Cho et al. (2002) et Ognier et al. (2004) observent respectivement une vitesse de colmatage de l'ordre de  $0,025 \text{ kPa.h}^{-1}$  et  $0,07 \text{ kPa.h}^{-1}$  lors de la montée progressive de la pression transmembranaire.

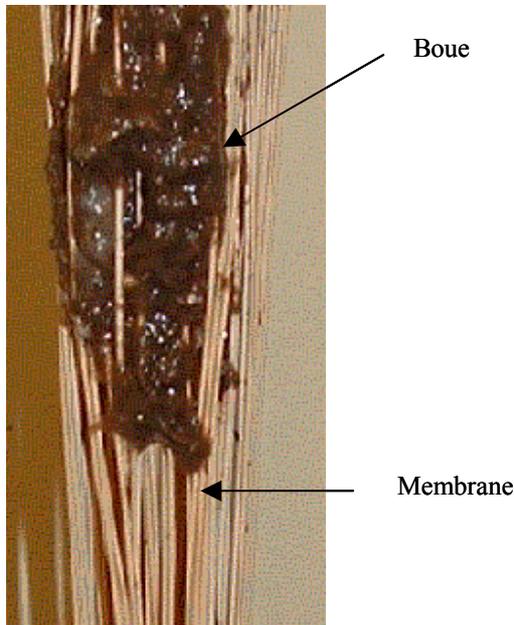
Lors de la montée brutale, des valeurs de  $1,2 \text{ kPa.h}^{-1}$  et  $1,0 \text{ kPa.h}^{-1}$  sont respectivement obtenues pour les périodes 1 et 4.

Dans la suite de ce chapitre, nous allons examiner les causes possibles des modifications de la vitesse de colmatage. Nous allons en particulier examiner si elles peuvent être dues à une variation de certaines caractéristiques du milieu biologique. L'analyse des caractéristiques de la boue et du milieu filtrant doit donc permettre l'identification des facteurs et des composés impliqués dans le colmatage. Nous allons successivement nous intéresser à l'état du faisceau de fibres puis à l'évolution de certaines propriétés du milieu biologique (MES, DCO, EPS<sub>solubles</sub>) en lien avec la variation de pression transmembranaire.

## 2. Observation du faisceau de fibres - colmatage du faisceau

Lors du fonctionnement du BAMI, la prévention du colmatage externe a été effectuée au moyen d'une aération grosses bulles à un flux de  $2,8 \cdot 10^{-5} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}_{\text{membrane}}$  soit  $3,5 \cdot 10^{-4} \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-3}_{\text{réacteur}}$ . L'objectif de cette aération était de limiter le dépôt de particules à la surface des membranes. A l'heure actuelle, des questions subsistent pour savoir quel est entre le mouvement des fibres ou le taux de cisaillement généré près des parois membranaires, le phénomène participant principalement à la prévention du colmatage.

Dans le fonctionnement réel du BAMI, on observe, comme le montre la photo ci-dessous, un colmatage du faisceau de fibres lui-même : une gangue de boue se forme autour des fibres creuses. Cette gangue pourrait adhérer aux fibres grâce aux EPS du surnageant et ceux



secrétés par les microorganismes du biofilm. Ce dernier type d'exopolymères est d'ailleurs loin d'être négligeable, puisque Martin-Cereceda et al. (2001) obtiennent une quantité de protéines dans un biofilm développé sur un support non poreux, trois fois supérieur à celle dans la boue activée.

La photo a été prise le 150<sup>ème</sup> jour c'est-à-dire 22 jours après le début de la deuxième période de fonctionnement du BAMI, alors que la pression transmembranaire était de 0,19 bars dans la première phase de colmatage (dérive

lente de PTM). Chaque fois que le faisceau de fibres a été sorti du réacteur pour être lavé, que l'augmentation soudaine de la pression transmembranaire ait eu lieu ou non, le faisceau avait cette apparence. Cette observation souligne le fait que l'aération grosses bulles de notre système permet peut être de limiter le dépôt de fines particules à la surface de la membrane (à vérifier), mais ne permet pas d'éviter la formation d'un biofilm ou d'une gangue de boue qui viennent agglomérer les fibres entre elles et colmater le faisceau en profondeur. Cette gangue est répartie de façon hétérogène sur toute la longueur du faisceau de fibres. Par exemple, à l'œil nu, aucun biofilm n'est visible aux extrémités des fibres. Dans les premiers instants de la filtration les fibres peuvent bouger indépendamment les unes des autres puisque la gangue de boue n'est pas encore formée. Cependant, par la suite l'apparition de la gangue alourdit le faisceau et limite le mouvement individuel des fibres. Seul est alors permis le mouvement de l'amas de fibres.

Ainsi, pour un même débit d'aération sous le faisceau, l'effet hydrodynamique change au cours de la filtration et devient très différent de celui qui serait observé avec des fluides non biologiques. Les taux de cisaillement à la surface de la membrane sont peut être conservés (sauf si la gangue de boue modifie la répartition des bulles et leur taille), mais probablement pas l'amplitude du mouvement des fibres. L'analyse des phénomènes est donc complexe quand on s'intéresse à la mise en œuvre du décolmatage à l'air pour des fluides biologiques réels.

Nous verrons au paragraphe II la contribution au colmatage de cette gangue de boue.

### 3. Influence des caractéristiques du milieu biologique

Comme nous l'avons vu au chapitre IV, le milieu biologique évolue au cours du temps même lorsque les conditions opératoires (âge des boues, flux de perméat, aération) sont maintenues constantes.

Nous avons dans un premier temps recherché s'il pouvait y avoir un lien entre les évolutions de la pression transmembranaire et des variations de propriétés de la fraction particulaire du milieu biologique. Nous avons donc analysé l'évolution des performances hydrauliques du BAMI en relation avec celle des MES et du diamètre des particules et des floccs. La figure V.3 présente les résultats obtenus pour les MES.

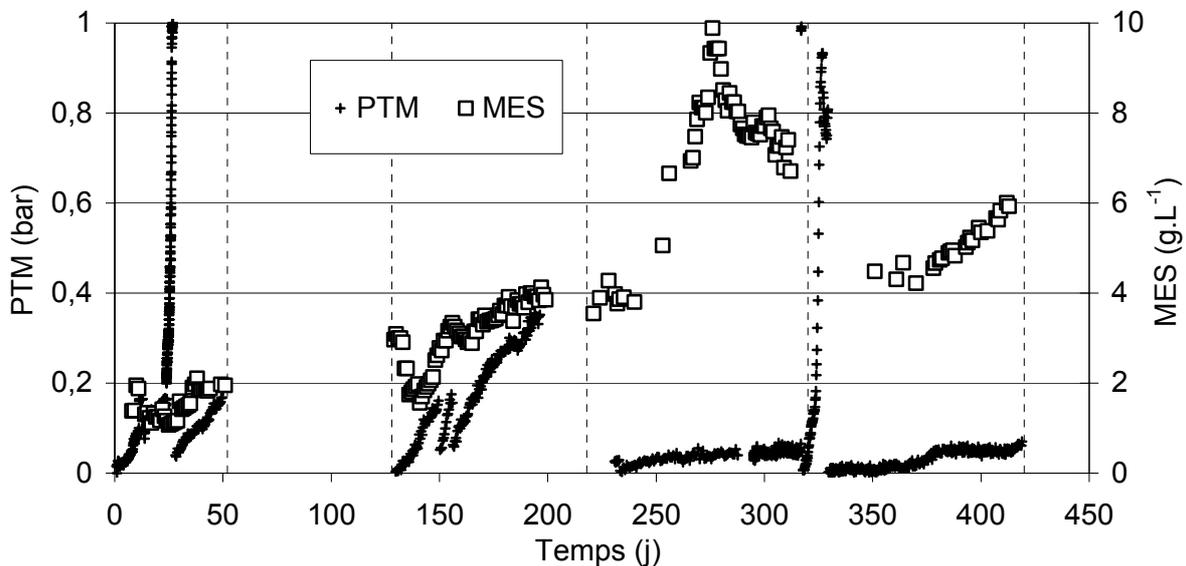


Figure V.3: Evolution de la pression transmembranaire et des MES au cours du temps

Aucune relation directe ne lie les matières en suspensions de la boue et la pression transmembranaire. En effet, alors que la concentration en MES augmente puis diminue très significativement durant la 3<sup>ème</sup> période, aucune modification significative de la vitesse de colmatage n'est observée. La qualité des matières en suspensions a certainement plus d'impact sur le colmatage à long terme que leur quantité. Nous avons vu notamment que les

teneurs en EPS des floccs et le rapport PN/PS diminuent durant les périodes 3 et 4 (âge de boues élevé). Or il faut se rappeler que la revue bibliographique de ce manuscrit a permis de montrer que les propriétés de surface telles que l'hydrophobicité ou la charge de surface ont souvent un rôle dans le colmatage et que les teneurs en EPS liés et le rapport PN/PS influence les propriétés d'adhésion. Ces caractéristiques ont pu jouer un rôle dans l'établissement de la gangue de boue.

Au cours de cette étude, aucune relation précise n'a été trouvée entre l'évolution de la pression transmembranaire et l'indice de boues ou la concentration en EPS des floccs (résultats non présentés). Notons toutefois que peu de valeurs expérimentales étaient disponibles pour pouvoir conclure définitivement.

Nous avons également caractérisé l'évolution du diamètre des floccs et des particules des deux boues. Chaque fois qu'une analyse granulométrique a été effectuée sur la boue du BAMI, les pressions transmembranaires correspondantes à ce jour ont été relevées. Il est alors possible de calculer la dérive de pression transmembranaire sur cette journée. Les figures V.4 et figures V.5 présentent la dérive de pression transmembranaire en fonction des diamètres moyens des floccs.

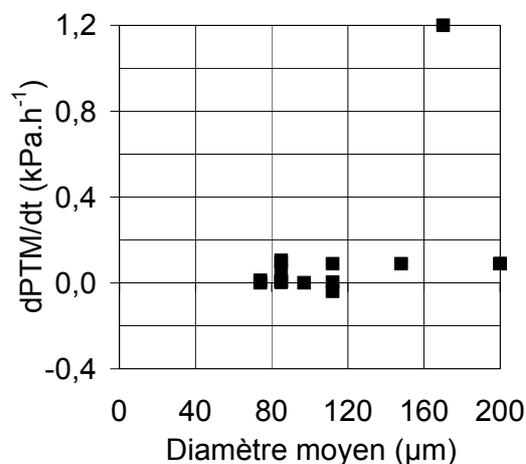


Figure V.4: Evolution de la vitesse de colmatage en fonction du diamètre moyen (répartition en volume) des particules

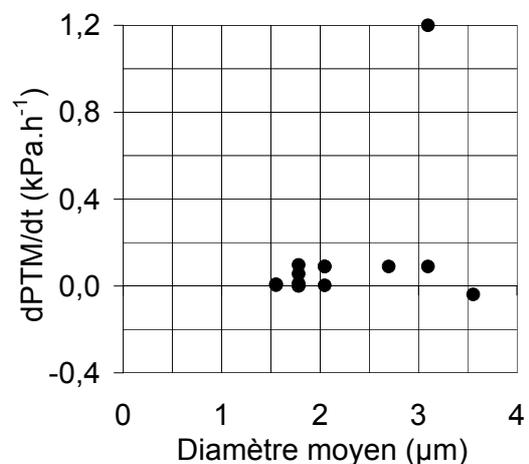


Figure V.5: Evolution de la vitesse de colmatage en fonction du diamètre moyen (répartition en nombre) des particules

Toutes les valeurs du diamètre moyen des floccs ou particules correspondent à une dérive de la pression transmembranaire inférieure à  $0,1 \text{ kPa.h}^{-1}$ , excepté pour le diamètre de  $170 \text{ μm}$  (répartition en volume).

Plusieurs valeurs de dérive de pression transmembranaire correspondent à un diamètre moyen compris entre  $50$  et  $160 \text{ μm}$  pour la distribution en volume ou entre  $1,5$  et  $3 \text{ μm}$  pour la répartition en nombre. Ainsi pour cette gamme de diamètre, s'il existe un lien entre vitesse de

colmatage et diamètre des floccs, il est peu significatif. Pour un diamètre moyen des floccs de 110  $\mu\text{m}$ , il est même observé une légère chute de la pression transmembranaire.

Pour des valeurs supérieures à 160  $\mu\text{m}$  (3  $\mu\text{m}$  pour la distribution en nombre) il est délicat de se prononcer sur l'influence du diamètre des floccs sur la vitesse de colmatage car pour un diamètre de 170  $\mu\text{m}$  (3,1  $\mu\text{m}$  pour la distribution en nombre) la dérive de pression transmembranaire est très élevée puis au-delà chute à une vitesse de colmatage plus faible.

Nous nous sommes également intéressés au rôle de la fraction soluble des boues à travers des analyses de DCO et d'EPS du surnageant des boues (Figure V.6).

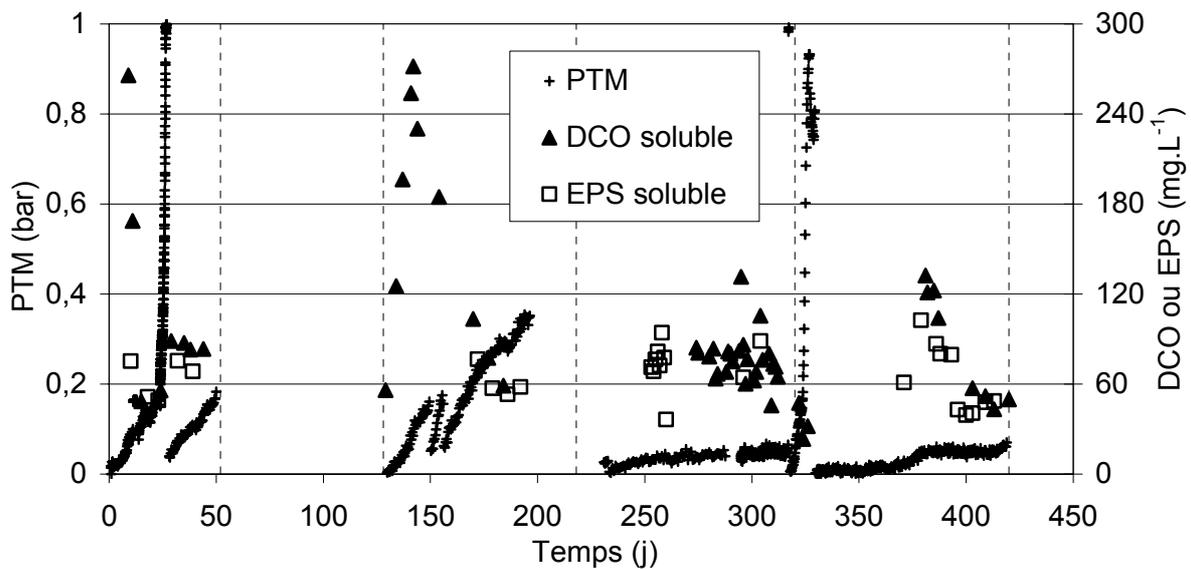


Figure V.6: Evolution de la pression transmembranaire, de la DCO et des EPS solubles au cours du fonctionnement du BAMI

Comme il a été vu au chapitre III, à chaque nouvel ensemencement du BAMI (1<sup>er</sup>, 128<sup>ème</sup> et 320<sup>ème</sup> jour), il y a tout d'abord accumulation de la matière organique soluble sous la forme d'EPS ou de DCO, avant que celle-ci soit dégradée. Durant les deux premières périodes (du 1<sup>er</sup> au 197<sup>ème</sup> jour) de fonctionnement du BAMI, la vitesse de colmatage est la plus élevée et correspond également à des concentrations en DCO et EPS solubles maximales. La brève augmentation de la pression entre le 380 et 390<sup>ème</sup> jour pourrait ainsi être expliquée par l'accumulation de composés solubles au sein du milieu biologique et donc peut être sur/dans le matériau membranaire et sur/dans le dépôt de particules. La montée progressive de la pression transmembranaire pourrait donc être liée à la concentration en EPS et DCO du surnageant. Rosenberger et Kraume (2002) ont observé un lien entre EPS du surnageant et vitesse de colmatage où l'augmentation des EPS du surnageant entraîne l'augmentation de la vitesse de colmatage.

La nature chimique de chacun des polymères est différente et peut donc entraîner une participation différente au colmatage. Nous avons donc étudié l'évolution de la dérive de pression transmembranaire en fonction de la concentration en exopolymères solubles spécifiques (Figure V.7).

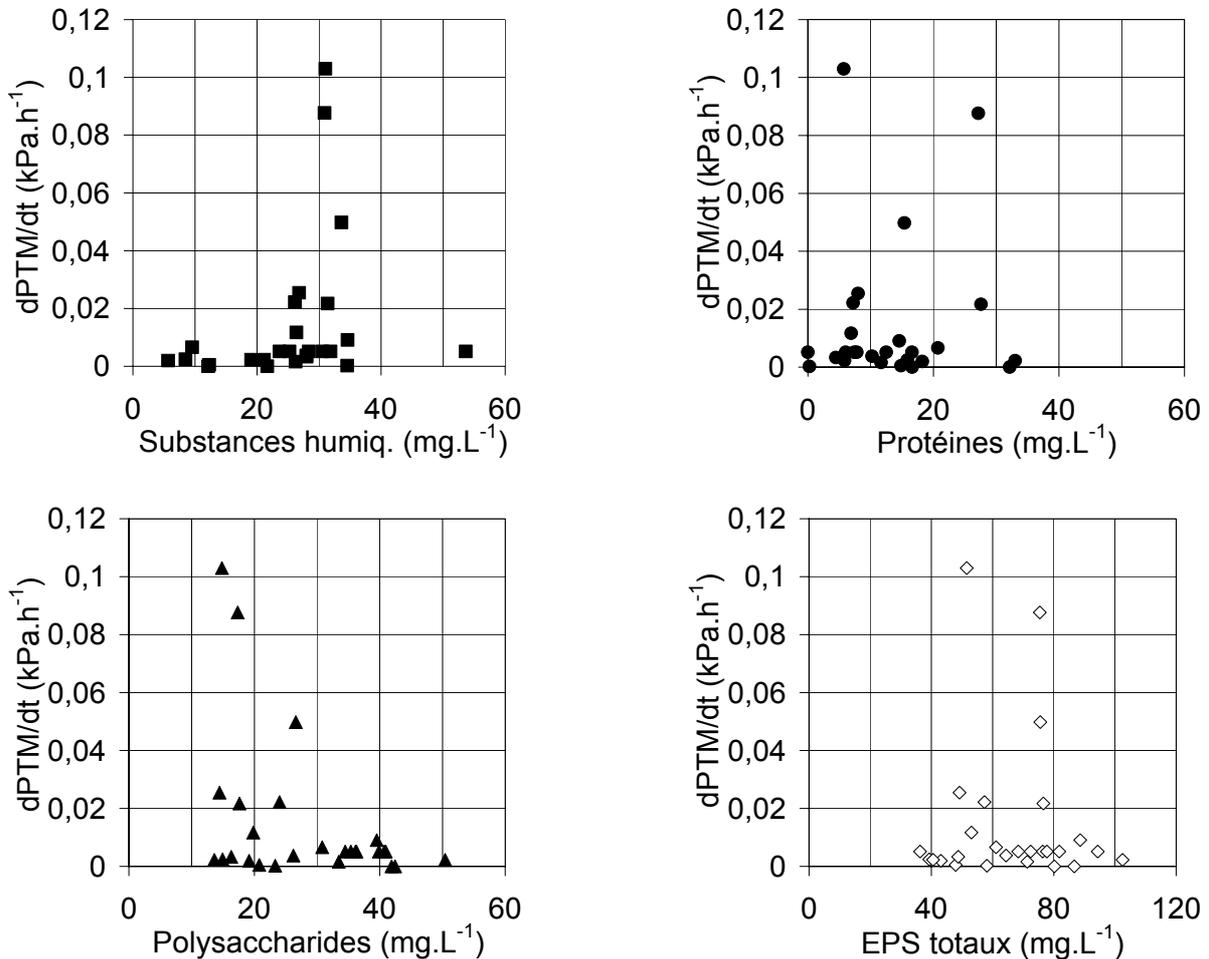


Figure V.7: Suivi de la PTM en fonction des EPS totaux, protéines, polysaccharides et substances humiques solubles lors du fonctionnement à long terme du BAMI

Toutes les dérivées de pression transmembranaire des graphiques correspondent à une montée progressive de la pression transmembranaire. En effet, aucune analyse des EPS solubles n'a été effectuée lors d'une montée brutale de la pression transmembranaire.

Les graphiques de la figure V.7 ne permettent pas de dégager de relation précise entre EPS solubles et dérive de pression transmembranaire dans la gamme de concentration considérée. En effet, pour des concentrations données en EPS du surnageant plusieurs valeurs de dérive de pression transmembranaire sont obtenues. Dans ces conditions, il est difficile de conclure.

Le chapitre III a permis de souligner le rôle de la membrane dans la rétention et l'accumulation de protéines et polysaccharides dans le surnageant. Il a aussi permis de montrer que les EPS solubles qui s'accumulent de manière temporaire sont progressivement

biodégradés. En particulier sur les deux dernières périodes à forts âges de boues, les concentrations en EPS solubles étaient stables et relativement faibles (peu d'accumulation temporaire) et le colmatage était également très faible.

Cependant le manque de données représentatives sur toutes les périodes de fonctionnement du BAMI et en particulier aux fortes vitesses de colmatage ne permet pas de dégager une relation simple entre les EPS du surnageant et la vitesse de colmatage à long terme. Par ailleurs, la vitesse de colmatage dépend de l'historique de la membrane et pas seulement d'un paramètre pris instantanément.

Au cours de la revue bibliographique, nous avons mis en évidence que des variations de température ou de pH peuvent entraîner des changements dans les cinétiques de production des EPS. Elles peuvent également avoir un effet sur leur solubilité et leur adsorption sur les floccs ou le matériau membranaire. Dans notre cas, le réacteur biologique est maintenu à une température constante de 20°C alors que le pH n'est pas régulé. Nous avons donc voulu connaître l'implication du pH sur le colmatage. L'évolution de la pression transmembranaire en fonction du pH est présentée à la figure V.8.

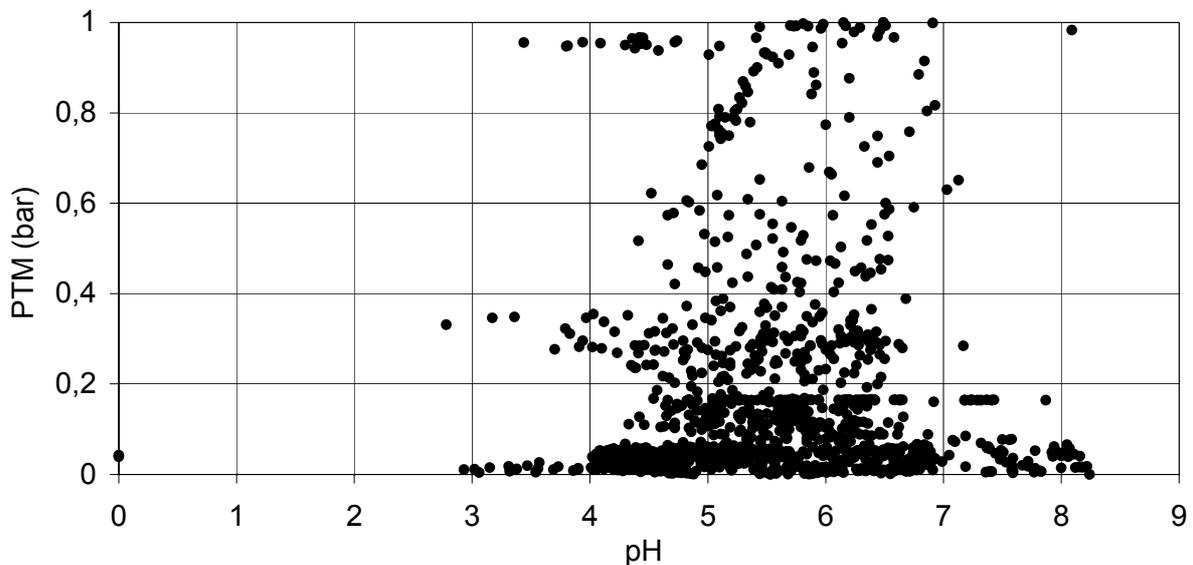


Figure V.8: Evolution de la pression transmembranaire (PTM) en fonction du pH dans le BAMI

Il n'apparaît pas de relation évidente entre le pH et la pression transmembranaire. On observe que les fluctuations de pH sont très importantes : au cours du temps le pH a varié entre 2,7 et 8,2. Les fluctuations des concentrations en EPS solubles et en particulier en protéines, s'accompagnent de fluctuations de pH. Certaines conditions de pH pourraient permettre la précipitation de composés solubles (carbonates, protéines, etc...), voire favoriser la création d'un gel de protéines. A concentration identique en protéines, les phénomènes mis en jeu peuvent donc être très différents selon la gamme de pH concernée. Ceci peut expliquer qu'on

ne trouve sur l'ensemble des données sur le long terme aucun lien entre concentration en EPS et dérive de pression.

Pour résumer sur cette partie, il apparaît que la vitesse de colmatage est la plus faible pour les 3<sup>ème</sup> et 4<sup>ème</sup> périodes de fonctionnement du BAMI, c'est-à-dire pour les forts âges de boues (53-110 jours). Nous avons donc cherché à expliquer ce fait en analysant les caractéristiques des boues au cours du fonctionnement du BAMI. Nous avons tout d'abord constaté qu'il n'existe pas d'effet significatif de la concentration en MES sur la dynamique du colmatage. Aucun lien direct n'a été mis en évidence entre la taille des floccs et la vitesse de colmatage. Le colmatage est d'autant plus faible que les molécules accumulées dans le surnageant sont dégradables et dégradées. Ceci explique l'intérêt de travailler à fort âges de boues. En revanche aucune relation directe et simple n'a été établie entre dérive de pression transmembranaire et teneurs en différentes substances solubles. Cela peut être lié au manque de données aux périodes très colmatantes et/ou aux fortes variations de pH qui modifient la proportion soluble/colloïde des EPS.

A ce stade de notre étude, nos résultats nous orienteraient plus vers une implication des EPS du surnageant dans le colmatage à long terme. Leur précipitation, leur dépôt et/ou adsorption sur ou dans le matériau membranaire pourraient contribuer à l'augmentation de la vitesse de colmatage.

## **II. Réversibilité du colmatage**

Après une période de fonctionnement, le faisceau de fibres a été extrait du BAMI afin d'étudier la réversibilité du colmatage. Le faisceau colmaté a été introduit dans un système de filtration équipé d'une pompe volumétrique permettant la succion/rétrolavage à des débits élevés. Ainsi, directement après le prélèvement du faisceau colmaté, sa perméabilité à l'eau pure (eau ultrafiltrée) a été mesurée puis des séquences de lavages hydrauliques ou chimiques ont été pratiquées. Après chaque séquence, la perméabilité à l'eau pure des membranes a été déterminée.

Suivant cette technique, une succession de lavages a été réalisée sur le faisceau colmaté au 197<sup>ème</sup> jour de fonctionnement du BAMI (TSB=37,2 jours) alors que la montée de la pression transmembranaire était encore progressive.

Les opérations suivantes ont été effectuées :

Lavage 1 : élimination de la gangue de boue par passage d'un jet d'eau pressurisé le long des membranes,

Lavage 2-7 : rétrolavage à l'eau ultrafiltrée durant 15 minutes à 1,5 bars

Lavage 8 : succession de rétrolavages chimiques à 1,5 bar pendant 15 minutes (ultrasil 6 g.L<sup>-1</sup>, acide oxalique 5 g.L<sup>-1</sup>).

Après mesure de la perméabilité ( $L_p$ ) et connaissant la résistance initiale de la membrane ( $2,0 \cdot 10^{12} \text{ m}^{-1}$ ), la résistance du colmatage résiduel après chaque lavage peut être déterminée en utilisant le modèle des résistances en série (Equation V.1) :

$$L_p = \frac{1}{\mu \cdot (R_m + R_c)} \quad (\text{V.1})$$

Avec  $L_p$  : perméabilité de la membrane colmatée ( $\text{m}^3 \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{Pa}^{-1}$ )

$R_c$  : résistance de colmatage ( $\text{m}^{-1}$ )

$R_m$  : résistance hydraulique de la membrane ( $\text{m}^{-1}$ )

$\mu$  : viscosité dynamique du perméat à la température de filtration ( $\text{Pa} \cdot \text{s}$ )

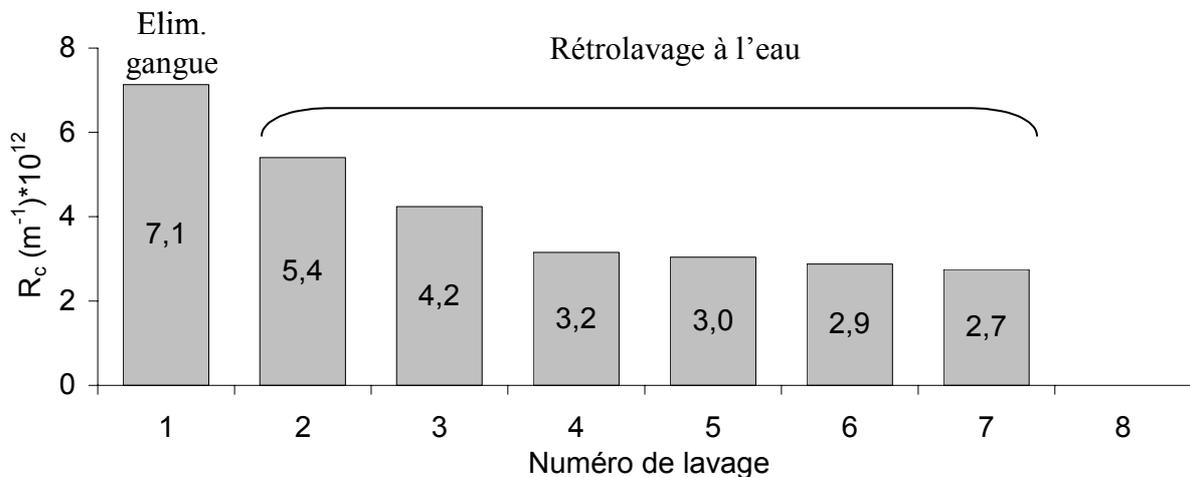


Figure V.9: Efficacité du lavage des membranes

Ainsi, le 197<sup>ème</sup> jour de fonctionnement du BAMI, la résistance due au colmatage total était d'environ  $1,6 \cdot 10^{13} \text{ m}^{-1}$ . Cette valeur de résistance est certainement inférieure à la résistance existant dans le BAMI, car en sortant le faisceau du réacteur il y a sûrement un changement de structure et une perte de matière. Cependant, cela montre que la résistance de colmatage est bien supérieure à celle de la membrane ( $2,0 \cdot 10^{12} \text{ m}^{-1}$ ).

L'élimination de la gangue de boue par rinçage permet de supprimer 56% de la résistance due au colmatage (passage de  $1,6 \cdot 10^{13}$  à  $7,1 \cdot 10^{12} \text{ m}^{-1}$ ). Les rétrolavages successifs à l'eau ultrafiltrée permettent d'améliorer la perméabilité et de supprimer 61% de la résistance de

colmatage restante. Le colmatage restant correspond donc au colmatage irréversible hydrauliquement. Ainsi, la résistance due au colmatage réversible est estimée à environ  $1,3 \cdot 10^{13}$  contre  $2,7 \cdot 10^{12} \text{ m}^{-1}$  pour le colmatage irréversible.

La série de rétrolavages chimiques effectués par la suite (lavage n°8) permet de récupérer la totalité de la perméabilité de la membrane.

**Pour conclure, la résistance de colmatage totale ( $1,6 \cdot 10^{13} \text{ m}^{-1}$ ) de la membrane au 197<sup>ème</sup> jour peut être décomposée en :**

- . 56% gangue (colmatage en profondeur du faisceau de fibres)**
- . 27% autre colmatage réversible**
- . 17 % adsorption**

**Ces résultats mettent en évidence le rôle important de la gangue de boue dans la limitation au transfert de matière. Cette gangue est facilement éliminable à l'échelle du laboratoire par des méthodes hydrauliques simples. Un enjeu du développement de BAMIs industriels sera de concevoir des systèmes limitant la formation de cette gangue. Par ailleurs, le colmatage par dépôt particulaire en surface et à l'intérieur des pores de la membrane amène une contribution significative au colmatage. Le rôle des fines particules, bactéries libres et polymères colloïdaux dans ce colmatage reste à préciser.**

### **III. Identification des paramètres influençant le colmatage à court terme**

Le but de ce paragraphe est d'étudier l'influence des caractéristiques d'un milieu biologique sur les performances d'une filtration de courte durée. Il s'agit de déterminer le pouvoir colmatant d'une boue afin d'identifier les composés et les mécanismes participant au colmatage. La méthode adoptée est celle de la filtration par incrémentation du pas de flux ("flux-step"). Cette méthode est décrite dans la partie matériel et méthodes de ce manuscrit. Au cours du fonctionnement du procédé à boues activées et du BAMI, des échantillons de boues ont été prélevés et introduits dans un système de filtration annexe identique au BAMI. La vitesse de colmatage ( $dR_c/dt$ ), pour chaque échantillon et chaque flux de perméat est alors déterminée. Un exemple obtenu sur différentes boues est présenté figure V.10.

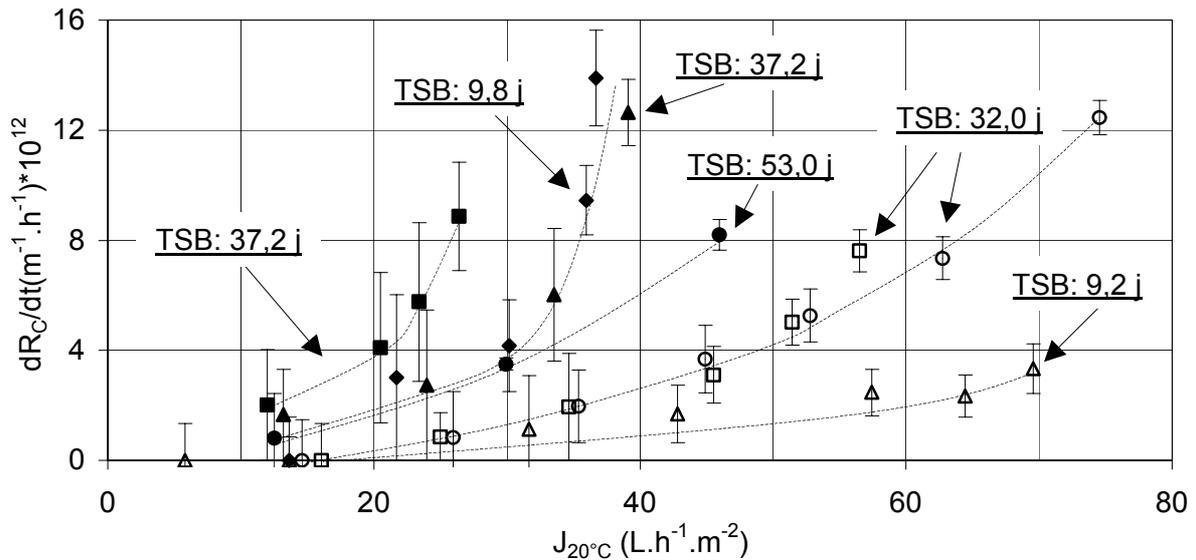


Figure V.10: Analyse du pouvoir colmatant des boues  
Formes noires : boues du BAMI / Formes blanches : boues du BA

Il apparaît tout d'abord que la notion de flux critique est difficile à mettre en évidence dans ce type de bioréacteur fonctionnant en filtration frontale. En effet, il existe, notamment pour la boue du BA des flux de perméat pour lesquels la vitesse apparente du colmatage est nulle. Cependant, l'incertitude sur ces faibles vitesses de colmatage est grande. De plus, même si une aération est placée sous les membranes, le transfert de particules et solutés vers la paroi membranaire a toujours lieu. Pour ces raisons, aucun flux critique ne peut être observable dans ces expériences.

On observe ensuite que l'évolution de la vitesse de colmatage est similaire pour tous les échantillons filtrés. Dans un premier temps, la vitesse de colmatage augmente progressivement puis elle s'accélère.

Pour des flux de perméat inférieurs à  $20 L.h^{-1}.m^{-2}$ , le pouvoir colmatant des différentes boues est quasiment le même. En d'autres termes, lors du fonctionnement d'un BAMI à de faibles flux de perméat, les concentrations de la boue influent très peu sur le colmatage à court terme. Il y a d'ailleurs pas ou peu de colmatage à court terme dans ce cas.

Pour des flux de perméat supérieurs à  $20 L.h^{-1}.m^{-2}$ , les boues présentent un comportement à la filtration différent. **On constate systématiquement que, quelles que soient les conditions opératoires, les boues issues du BAMI présentent une vitesse de colmatage supérieure aux boues issues d'un système à boues activées.**

## 1. Colmatage à court terme à âge de boues faible (9 jours)

Des expériences ont été réalisées afin de déterminer le pouvoir colmatant de boues issues des deux bioréacteurs fonctionnant au même âge de boues de 9-10 jours et de concentration en MES quasiment égale (MES=1,9 g.L<sup>-1</sup> pour le BAMI contre 1,5 g.L<sup>-1</sup> pour le BA). Les boues introduites dans le système de filtration décrit au chapitre II, ont été filtrées successivement en suivant la méthode d'incrémentation du flux de perméat. L'évolution de la vitesse de colmatage pour les deux boues en fonction du flux de perméat imposé est reportée à la figure V.11.

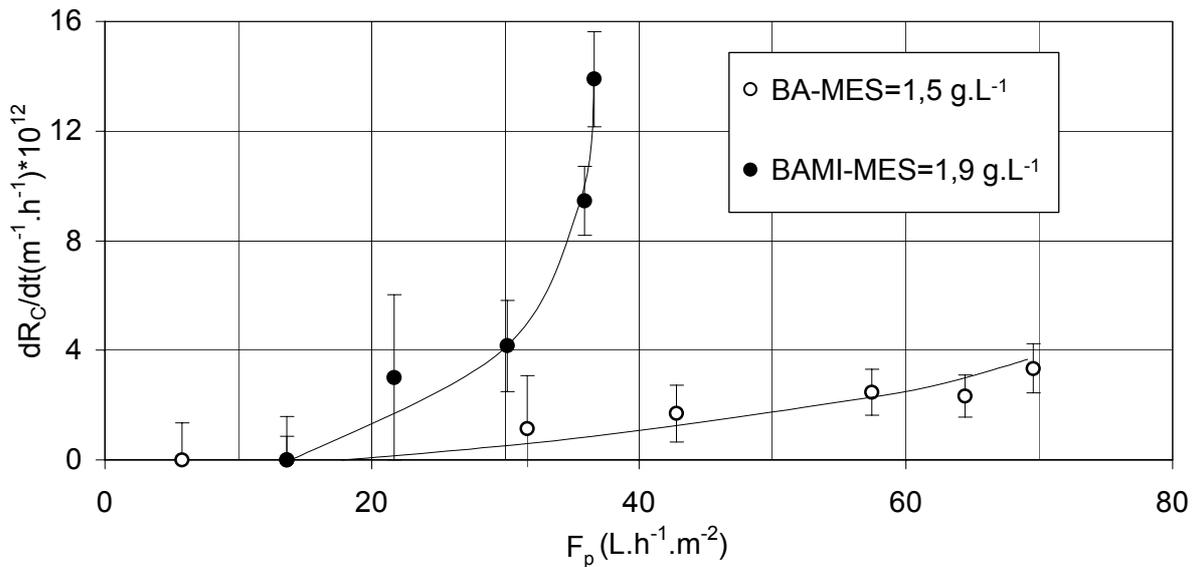


Figure V.11: Comparaison du pouvoir colmatant d'une boue de BAMI et de BA fonctionnant respectivement à 9,8 et 9,2 jours.

On observe que, quel que soit le flux de perméat appliqué et pour une concentration en MES quasiment similaire, la vitesse de colmatage est supérieure dans le BAMI. Par exemple, pour un flux de perméat de 30 L.h<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup> la vitesse de colmatage est d'environ 4.10<sup>12</sup> m<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup> pour la boue de BAMI alors qu'elle est inférieure à 1.10<sup>12</sup> m<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup> pour celle du BA.

Pour comprendre la différence de comportement entre ces deux boues en terme de colmatage à court terme, nous avons comparé les propriétés des boues. Dans un premier temps, les distributions granulométriques des deux boues sont présentées (Figure V.12).

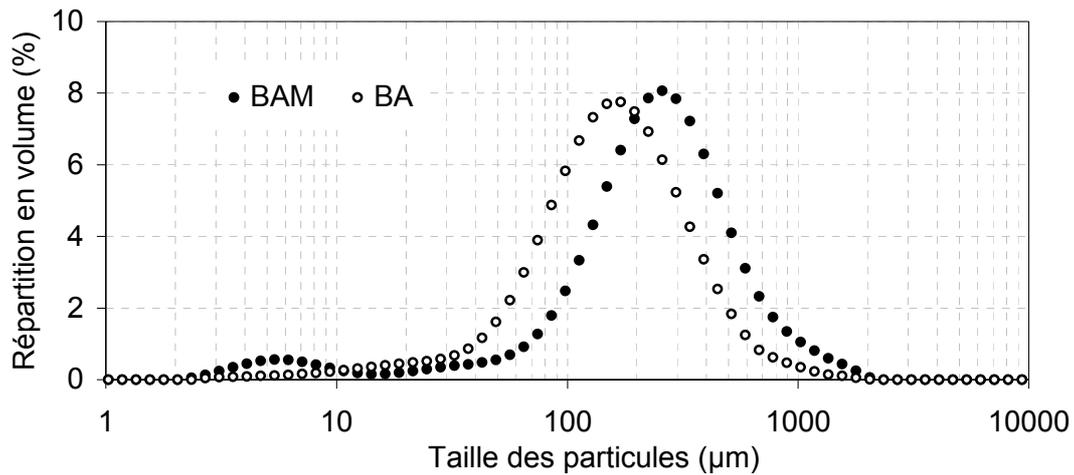
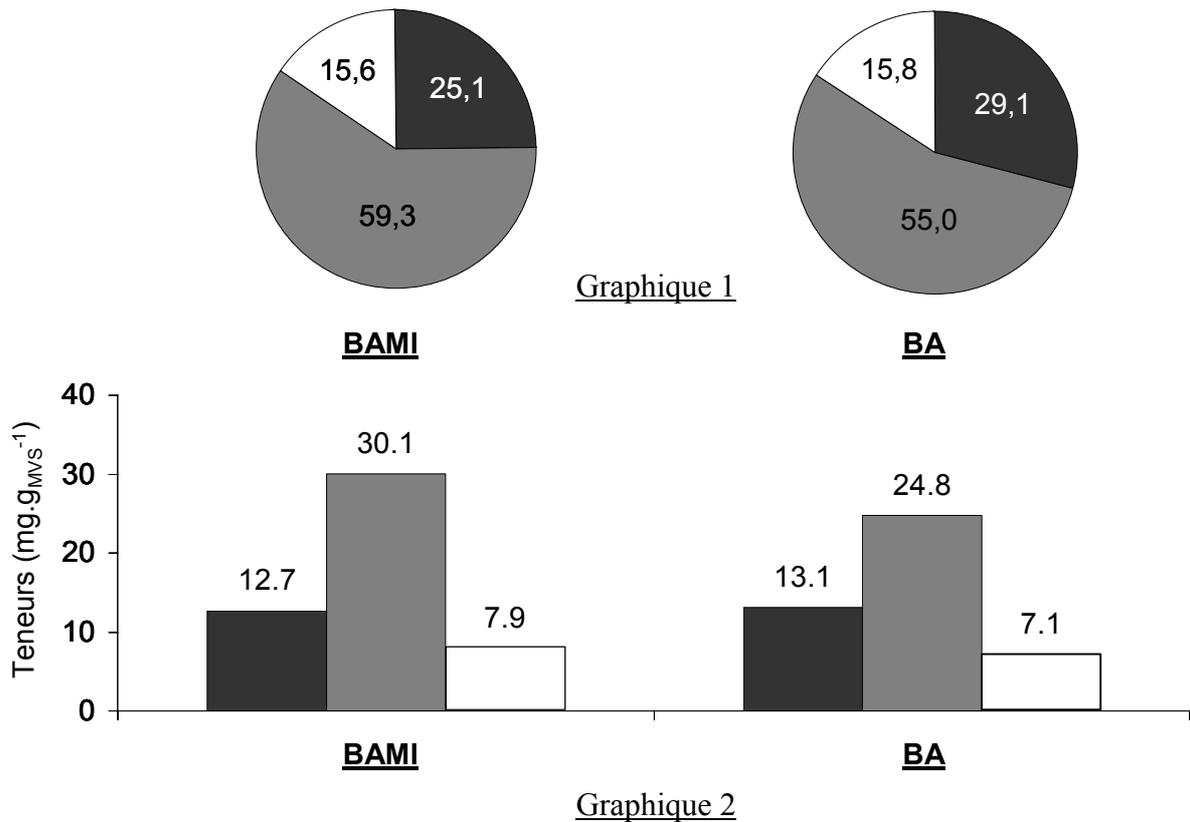


Figure V.12: Distributions granulométriques des boues du BAMI et du BA de l'expérience de filtrabilité (TSB : 9,2-9,8 j)

Il apparaît que, pour cet âge de boue, une des différences essentielles dans la structure particulaire du milieu biologique est la forme de la distribution. En effet, alors que pour le procédé à boues activées la distribution est unimodale avec une population de floccs centrée sur 160  $\mu\text{m}$ , celle du BAMI est bimodale avec une population de floccs centrée sur environ 260  $\mu\text{m}$  et une deuxième population de fines particules centrée sur environ 6  $\mu\text{m}$ . Les membranes utilisées ici ont un diamètre moyen des pores de 0,2  $\mu\text{m}$  c'est pourquoi les fines particules peuvent contribuer au colmatage par dépôt externe et interne pour celles ayant un diamètre inférieur à 0,2  $\mu\text{m}$ . Ainsi, pour ces faibles valeurs de MES, la différence de comportement des deux boues à la filtration pourrait en partie être expliquée par la présence de fines particules (bactéries libres, colloïdes minéraux et organiques) dans les boues du BAMI. A concentration en MES équivalente, les structures des dépôts de particules constitués à partir des deux boues seront différentes.

De plus on observe une légère différence dans la dimension fractale des floccs issus des deux réacteurs. Les floccs du procédé à boues activées présentent une dimension fractale de 2,10 alors que ceux du BAMI ont une dimension fractale de 2,00. Ces derniers sont donc légèrement moins denses et plus déformables ce qui peut contribuer à augmenter la résistance et la compressibilité de leur dépôt.

Les boues ont également été caractérisées par leur teneur en exopolymères dans les floccs (Figure V.13).



FigureV.13: Proportions (graphique 1) et teneurs (graphique 2) en EPS<sub>liés</sub> des floccs de BAMI et de BA de l'expérience de filtrabilité (TSB : 9,2-9,8 j)  
Substances humiques (■), protéines (▣), polysaccharides (□).

Les teneurs en exopolymères dans les floccs et donc leurs proportions sont quasiment similaires pour les deux boues (incertitude de mesure estimée à 15% de la valeur). Les exopolymères des floccs de BAMI et du procédé à boues activées sont principalement constitués de protéines, puisqu'elles représentent environ 57% des exopolymères présents.

Les concentrations en EPS<sub>liés</sub> étant quasiment similaires, il ne semble pas que les différences de colmatage à court terme observées soient liées aux exopolymères des floccs.

Les concentrations en exopolymères des deux surnageants ont également été analysées (Figure V.14).

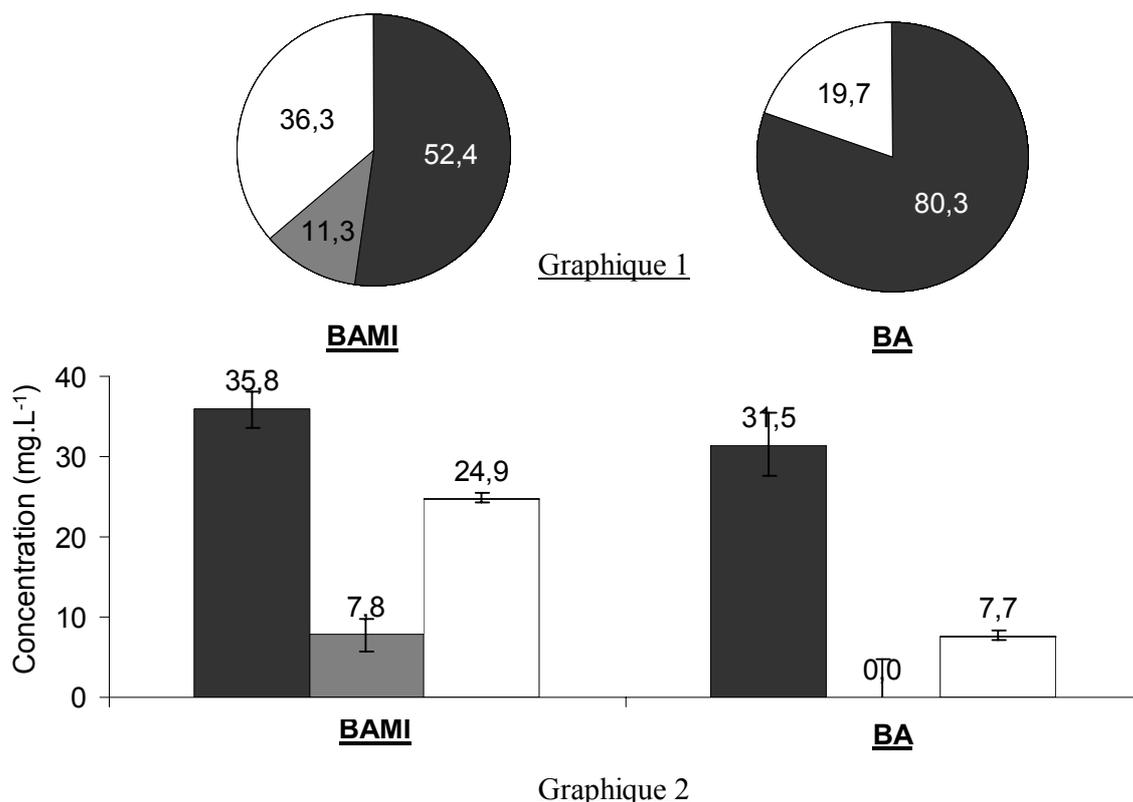


Figure V.14: Proportions (graphique 1) et concentrations (graphique 2) en EPS des surnageants de boues de BAMI et de BA de l'expérience de filtrabilité (TSB : 9,2-9,8 j)  
Substances humiques (■), protéines (□), polysaccharides (▣).

Les surnageants des deux boues présentent des différences significatives de concentrations en exopolymères. Le surnageant de la boue de BAMI est beaucoup plus concentré en exopolymères solubles et colloïdaux que celui du procédé à boues activées. La concentration en substances humiques est quasiment similaire dans les deux surnageants (31 à 36 mg.L<sup>-1</sup>). Ces substances constituent 52% des exopolymères dans le cas du BAMI, contre 80% dans le cas du procédé à boues activées. La différence majeure entre les deux boues est due aux concentrations plus élevées en protéines et polysaccharides dans le BAMI. La concentration en polysaccharides est de 24,9 mg.L<sup>-1</sup> dans le surnageant du BAMI et de 7,7 mg.L<sup>-1</sup> dans le surnageant du procédé à boues activées. En ce qui concerne les protéines, elles sont inexistantes dans le surnageant du procédé à boues activées alors que 7,8 mg.L<sup>-1</sup> composent celui du BAMI. Ainsi les protéines et les polysaccharides colloïdaux et solubles pourraient participer à la différence de comportement à la filtration des deux boues. Ces composés peuvent notamment intervenir dans la structuration du gâteau de filtration, former un gel à la surface des membranes ou s'adsorber sur le matériau membranaire.

Ces expériences de filtrabilité des boues de faibles temps de séjour (9-10 jours) et de même concentration en MES montrent donc que plusieurs paramètres pourraient influencer le comportement d'une filtration à court terme :

- la taille des floccs,
- l'existence d'une population de fines particules,
- la concentration en EPS du surnageant et notamment celle des protéines et des polysaccharides.

Signalons que les paramètres étudiés ici pour la caractérisation des boues ne représentent qu'une faible part des facteurs pouvant influencer le colmatage. Outre les paramètres opératoires, la synthèse bibliographique a permis de mettre en évidence l'importance des propriétés de surface (hydrophobicité, charge de surface) des floccs et colloïdes dans le colmatage.

## 2. Influence des propriétés du fluide biologique sur le colmatage à court terme

On peut ensuite se demander, de manière générale, quand l'âge de boues varie quelles sont alors les caractéristiques des boues menant à une différenciation de leur filtrabilité à court terme? Ainsi, les matières en suspension et les EPS du surnageant ont été analysés pour les boues filtrées. Pour un flux donné (Figure V.10), il est possible de connaître pour chaque boue et donc pour une caractéristique donnée (DCO ou EPS) la valeur de la vitesse de colmatage. Au final, nous pouvons tracer une courbe donnant la vitesse de colmatage en fonction d'un paramètre caractéristique des boues. La figure V.15 présente la vitesse de colmatage obtenue pour toutes les boues analysées (boues activées et boues du BAMI) en fonction de leur concentration en MES, lorsque le flux de perméat est de 30 et 40 L.h<sup>-1</sup>.m<sup>-2</sup>.

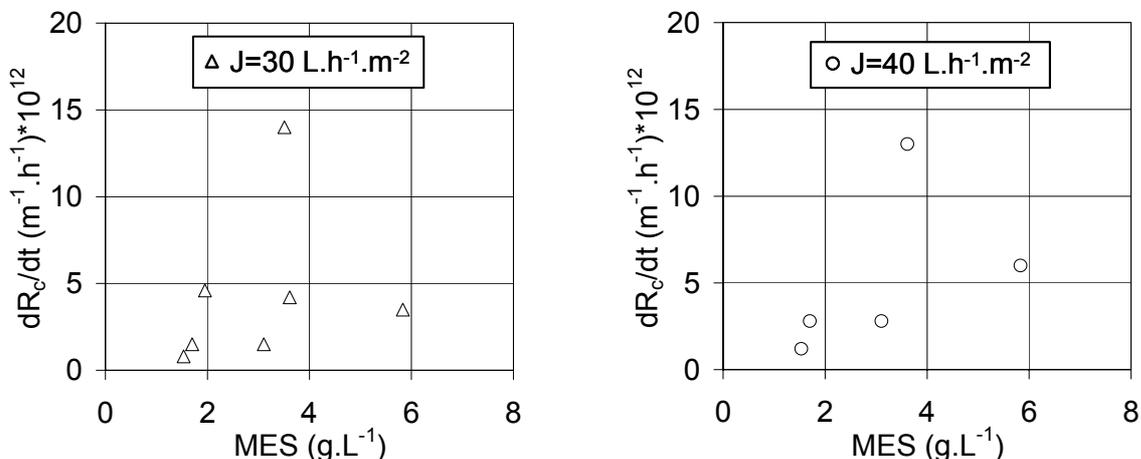


Figure V.15: Evolution des vitesses de colmatage en fonction de la concentration en MES des boues

Au vu des graphiques de la figure V.15, dans la gamme de concentrations de notre étude, entre 1,5 et 5,8  $\text{g}_{\text{MES}}.\text{L}^{-1}$ , on ne peut dégager une relation reliant de manière univoque les MES (et donc l'âge de boues) à la vitesse de colmatage. Une augmentation de la concentration en MES ne s'accompagne pas systématiquement d'une augmentation de la vitesse de colmatage. Pour un flux de  $40 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$ , la vitesse de colmatage est d'environ  $6,0.10^{12} \text{ m}^{-1}.\text{h}^{-1}$ , alors qu'elle est de  $13,0.10^{12} \text{ m}^{-1}.\text{h}^{-1}$  pour respectivement une concentration en MES de  $5,83 \text{ g.L}^{-1}$  et  $3,61 \text{ g.L}^{-1}$ .

De tous les points expérimentaux de la figure V.15 les deux valeurs de vitesse de colmatage élevée ( $13.10^{12} \text{ m}^{-1}.\text{h}^{-1}$  avec un pH compris entre 4,2-4,8 et  $14.10^{12} \text{ m}^{-1}.\text{h}^{-1}$  avec un pH compris entre 4,4-5,0) correspondent aux valeurs les plus élevées de la concentration en exopolymères du surnageant (respectivement 57 et 77  $\text{mg.L}^{-1}$ ). Mis à part ces deux points qui correspondent à deux échantillons différents, la vitesse de colmatage semblerait augmenter avec la concentration en MES (entre 1,5 et 5,8  $\text{g}_{\text{MES}}.\text{L}^{-1}$ ).

Les exopolymères du surnageant pourraient donc être responsables de différences de comportements à la filtration entre deux boues. Nous nous sommes alors intéressés à relier les propriétés du surnageant des boues (EPSsolubles spécifiques) avec leur filtrabilité. Des résultats intéressants sont obtenus pour les protéines et les polysaccharides des surnageants (Figure V.16 et Figure V.17). Rappelons que les surnageants ont été obtenus après centrifugation des boues à 4200 G pendant 15 minutes. Ils contiennent des éléments solubles des boues mais également la fraction colloïdale.

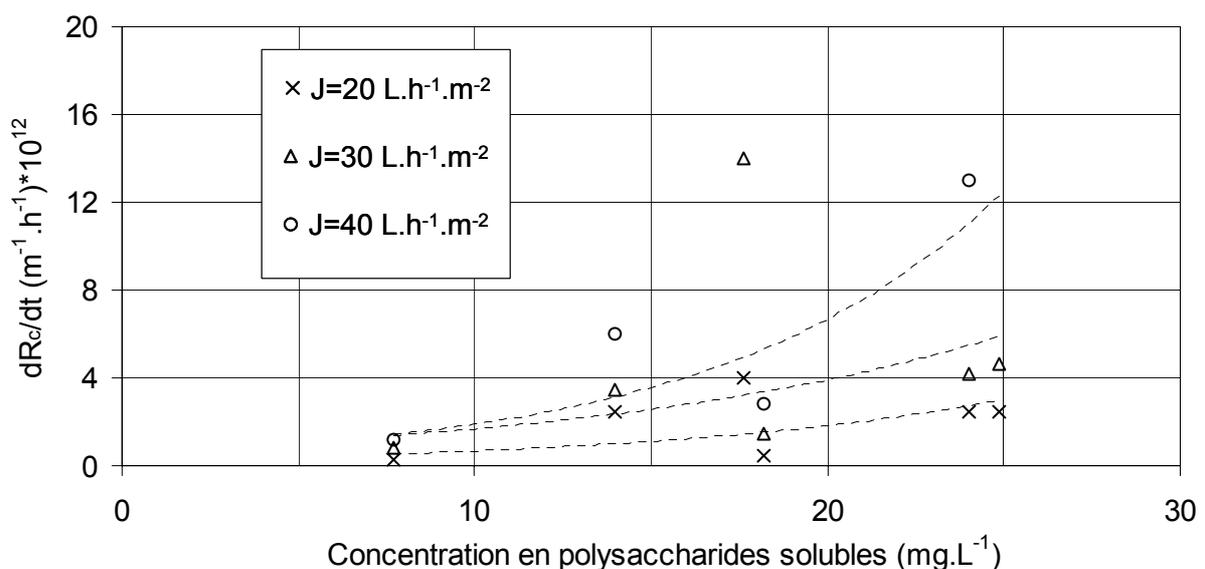


Figure V.16: Vitesse de colmatage en fonction de la concentration en polysaccharides des surnageants de BAMI et de BA

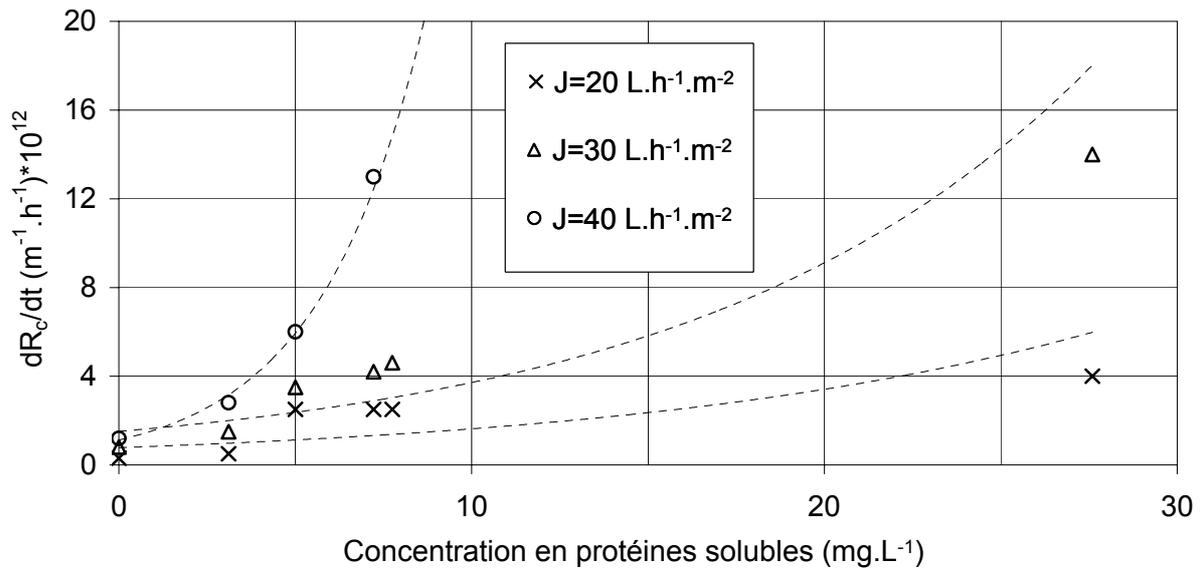


Figure V.17: Vitesse de colmatage en fonction de la concentration en protéines des surnageants de BAMI et de BA

Il apparaît que, pour un flux de perméat donné, la vitesse de colmatage augmente avec la concentration en protéines ou polysaccharides du surnageant (les caractéristiques des boues telles que le diamètre des floes, la dimension fractale, la teneur en EPS ...etc sont probablement différentes d'un point à un autre). Cette augmentation est d'autant plus marquée que le flux de perméat est élevé. Ainsi, travailler à un flux de perméat de  $40 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$  entraîne une vitesse de colmatage de  $13.10^{12} \text{ m}^{-1}.\text{h}^{-1}$ , si la concentration en protéines du surnageant est de  $7 \text{ mg.L}^{-1}$ . Pour un flux de  $20 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$  la vitesse de colmatage est de  $2.10^{12} \text{ m}^{-1}.\text{h}^{-1}$  à cette même concentration en protéines. On observe également que la vitesse de colmatage est plus sensible et mieux corrélée à la concentration en protéines qu'à celles en polysaccharides. Mukaï et al. (2000) constatent que plus la rétention de protéines solubles est élevée, plus le colmatage est important. Dans notre cas, les concentrations en protéines et polysaccharides du surnageant sont déterminées sur la boue centrifugée à  $4200 \text{ G}$  pendant 15 minutes. Les concentrations en protéines et polysaccharides correspondent donc certainement aux composés solubles et colloïdaux. Ainsi, ces exopolymères, associés aux MES ou de façon isolée, peuvent former un dépôt, voire un gel à la surface de la membrane.

L'étude de la compressibilité du dépôt a donc été menée en déterminant la valeur du produit  $\alpha.C$  pour les différents flux de filtration ( $\alpha$  : résistance spécifique du dépôt ;  $C$  : quantité de matière déposée à la surface de la membrane par unité de volume). A chaque changement de flux, la première valeur de la pression transmembranaire est relevée et notée  $PTM_0$ . Ainsi, il est possible d'étudier l'évolution du produit  $\alpha.C$  en fonction des différentes valeurs de  $PTM_0$  (Figure V.18).

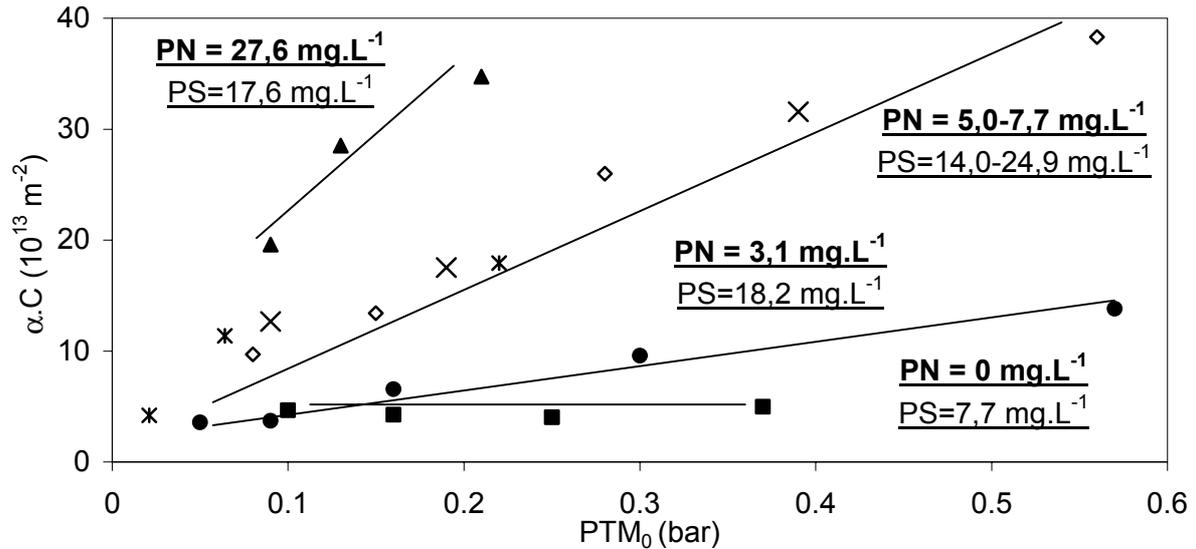


Figure V.18: Evolution du produit  $\alpha.C$  en fonction de la pression transmembranaire pour les boues du BA et du BAM

La figure V.18 montre que l'influence des polysaccharides est peu visible sur la valeur du produit  $\alpha.C$ . En revanche, le dépôt généré par chaque boue a un comportement différent à la filtration en fonction de sa teneur en protéines. L'effet d'une augmentation de pression se traduit différemment selon la concentration en protéines du surnageant.

Pour une concentration en protéines nulle, la résistance du dépôt est indépendante de la pression transmembranaire, dans la gamme de pression étudiée (entre 0,1 et 0,4 bar). Le dépôt est donc incompressible.

Pour une faible concentration en protéines (inférieure à 3,1 mg.L<sup>-1</sup>), on voit que la différence de comportement à la filtration entre des boues sera visible à partir de pressions supérieures à environ 0,15 bar.

Quand la concentration en protéines est supérieure à 5 mg.L<sup>-1</sup>, l'augmentation, même minimale de la pression transmembranaire entraîne une augmentation du produit  $\alpha.C$ , c'est-à-dire de la quantité de matière (protéines) déposée sur la membrane et/ou de la résistance spécifique du gâteau de filtration :

- dans le cas où l'augmentation de la quantité de matière déposée dépend de la quantité de protéines, cela signifie que les protéines sont sous forme particulaire et qu'elles contribuent à la fois au colmatage interne et en surface. Ce dépôt favorise alors la rétention des floes, bactéries et autres MES.

- dans le cas où l'augmentation du produit  $\alpha.C$  dépend essentiellement de l'augmentation de la résistance spécifique au colmatage alors  $\alpha$  augmente avec la pression transmembranaire et cela signifie que le dépôt est compressible et que la

compressibilité dépend de la concentration en protéines. Les protéines peuvent influencer la structuration et la compressibilité du dépôt soit parce qu'elles sont elles mêmes sous forme colloïdale soit parce qu'elles pourraient générer des pontages entre substances colloïdales. En forte concentration et/ou pour de fortes pressions transmembranaires elles créeraient un dépôt voire un gel compressible.

De plus, la figure V.18 montre que pour une pression transmembranaire donnée, une augmentation de la quantité de protéines dans le surnageant provoque une augmentation de la quantité déposée et/ou de la résistance spécifique. Ces résultats particulièrement originaux sont importants, car ils mettent en évidence un lien entre la composition du surnageant et des propriétés structurelles du dépôt colmatant.

Enfin, sur la figure V.18 nous avons indiqué également la concentration en polysaccharides du surnageant des boues. Il apparaît que, pour une pression transmembranaire donnée, le produit  $\alpha.C$  augmente lorsque le rapport protéines/polysaccharides augmente de 0 à 1,6. Il faut se rappeler que les protéines sont majoritairement hydrophobes contrairement aux polysaccharides qui sont plutôt hydrophiles. Ainsi, la structuration du dépôt pourrait également être liée à la proportion en chacun de ces composés et non pas uniquement liée à la concentration en protéines.

Les exopolymères du surnageant de boue jouent un rôle dans le colmatage à court terme. Ces résultats rejoignent ceux de Bouhabila (1999) qui a étudié, suivant l'âge des boues, la résistance spécifique du surnageant (obtenu par centrifugation à 4500 tr/min pendant 1 minute) de boues issues d'un BAMI alimenté en eau usée domestique. Il a filtré uniquement le surnageant de boue (filtration frontale), sur membrane plane en polysulfone de diamètre de pores égal à 0,1  $\mu\text{m}$  et sous 1 bar (Figure V.19).

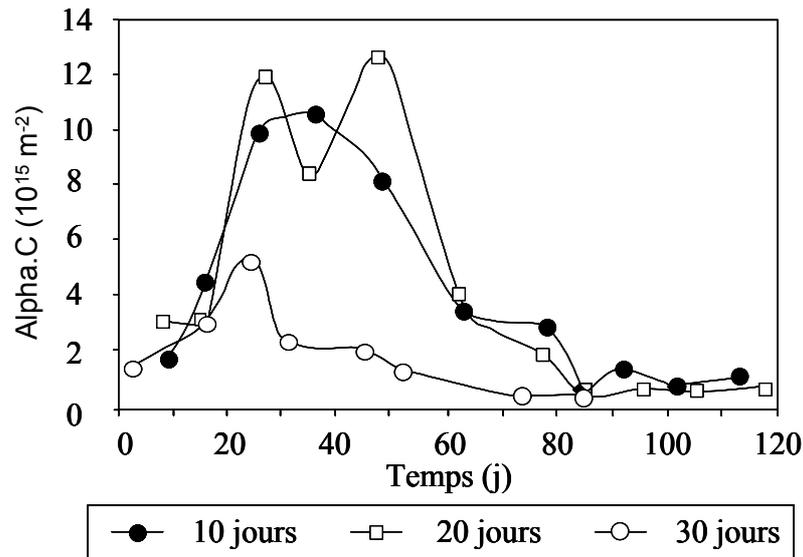


Figure V.19: Suivi de la filtrabilité " $\alpha$  C" du surnageant de boues pour 3 temps de séjour des boues (Bouhabila 1999)

Les courbes de la figure V.19 montrent que suivant l'âge des boues la valeur du produit  $\alpha.C$ , c'est-à-dire la résistance spécifique du dépôt multipliée par la quantité de matière déposée à la surface de la membrane, est différente. Pour un âge de boues élevé la résistance du dépôt de filtration est la plus faible. D'après nos résultats, un âge de boues élevé correspond, entre autre, à la concentration en exopolymères du surnageant la plus faible (Chapitre IV). En d'autres termes, les résultats de Bouhabila (1999) confirmeraient que l'intensité du colmatage dépendrait en partie de la concentration en exopolymères du surnageant.

Par ailleurs, la figure V.19 montre également que pour un âge de boues fixé, le produit  $\alpha.C$  évolue au cours du temps. Pour l'étude de Bouhabila (1999) le produit  $\alpha.C$  augmente dans les 30 premiers jours de fonctionnement du BAMI, puis chute. Cette évolution du produit  $\alpha.C$  rappelle celle de la concentration en EPS de nos surnageants de BAMI pour des boues nouvellementensemencées (Chapitre III) et appuie le fait que les EPS du surnageant soient impliqués dans le colmatage à court terme.

Ainsi, à travers nos résultats et ceux de la littérature, il apparaît clairement que les EPS du surnageant interviennent fortement dans le colmatage et notamment les polysaccharides et les protéines qui pourraient participer à la structuration du dépôt, en plus de leur contribution déjà connue à l'adsorption.

## IV. Mécanismes de colmatage par un milieu biologique dans un BAMI

Au cours de ce travail, nous avons tout d'abord étudié le colmatage prenant place sur de longues durées de filtration et correspondant à une filtration à un flux soutenable. Parallèlement, une étude sur le pouvoir colmatant à court terme des boues issues du procédé à boues activées et du BAMI a été menée. L'objectif de ce travail était d'identifier les composés et les mécanismes responsables d'un type de colmatage. Les observations faites durant cette étude permettent de proposer des mécanismes de colmatage jouant un rôle important lors d'une filtration d'un milieu biologique dans un BAMI :

1. la formation d'une gangue de boue qui colmate le faisceau de fibres en profondeur et atténue les effets de l'aération sur le colmatage des membranes,
2. l'adsorption et/ou la formation d'un gel contenant des protéines,
3. le colmatage interne et en surface par des mécanismes réversibles hydrauliquement (sans liens forts entre la matière et la membrane)

Nous proposons de considérer chacun de ces mécanismes et de discuter pour chacun d'entre-eux des propriétés du fluide biologique intervenant dans ce mécanisme, en examinant la contribution de la fraction particulaire (flocs + fines particules) et des composés dissous.

Nous allons également discuter pour chacun de ces mécanismes de leur contribution possible à la dérive de pression lors d'un fonctionnement sur du long terme.

La gangue de boue : ce phénomène a été observé lors du colmatage sur du long terme. Il est essentiellement dû à un amas de flocs. Les protéines et polysaccharides peuvent contribuer à structurer cet amas.

Le développement de cette gangue est un phénomène plutôt progressif et a donc une influence lors de la filtration sur de longues durées. Outre son implication dans la montée progressive de la pression transmembranaire, on pourrait émettre l'hypothèse que cette gangue puisse également être responsable du changement soudain de la dérive de pression. En effet, à partir d'une pression limite, cette gangue pourrait se comprimer et augmenter la résistance au transfert de matière de la périphérie vers le centre du faisceau et donc la résistance totale. Afin d'estimer la validité de cette hypothèse, nous avons utilisé la membrane colmatée du

197<sup>ème</sup> jour pour filtrer à différents flux de l'eau ultrafiltrée par paliers de 20 secondes. La figure V.20 montre la progression de la pression transmembranaire pour les différents flux de perméat fixés.

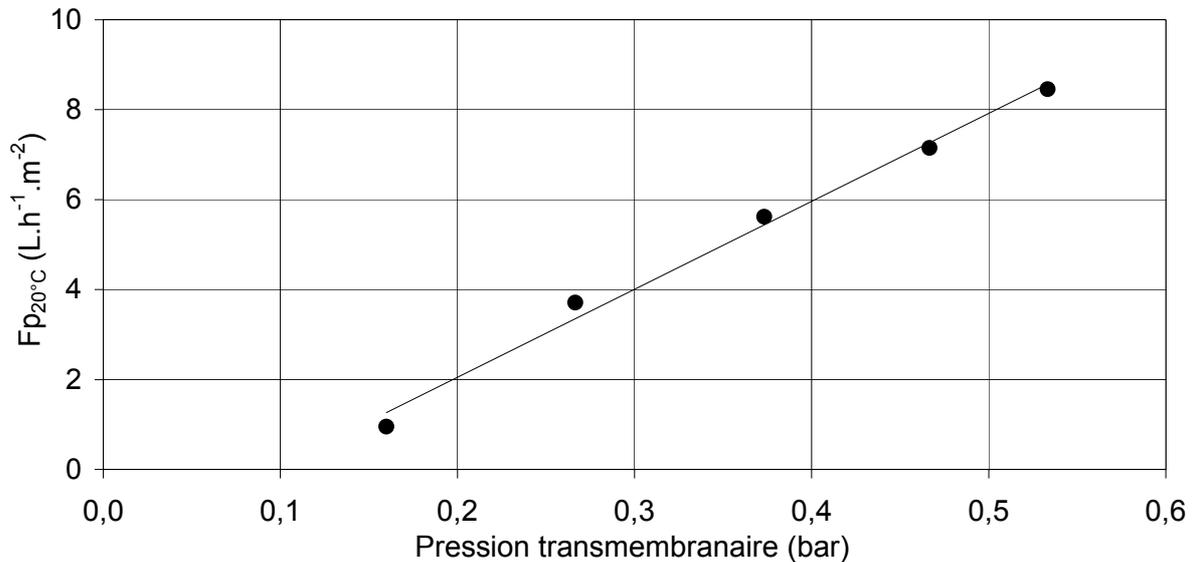


Figure V.20: Evolution de la pression transmembranaire pour différents flux de perméat fixés

Il apparaît que pour des pressions transmembranaires comprises entre 0,15 et 0,55 bars, la linéarité entre flux de perméat et pression transmembranaire est établie sur toute la gamme de flux. Cette expérience ne permet donc pas de confirmer l'hypothèse d'une compression rapide (en 20 secondes) de la gangue pour cette gamme de pressions. Il est toutefois difficile de conclure sur la compressibilité du dépôt à de fortes pressions transmembranaires dans la mesure où la gangue pourrait présenter une compressibilité pour des durées plus longues d'application de la pression. Enfin, lors de l'introduction de la membrane colmatée dans le système utilisé pour le lavage de la membrane, une partie de l'enveloppe entourant les fibres a forcément été perdue ou s'est structurée différemment.

Pour pouvoir conclure définitivement sur le rôle de la compressibilité de la gangue de boue sur la dérive rapide de pression, il faudrait pouvoir pratiquer cette expérience in situ, sans extraire le faisceau de fibres, après vidange du réacteur (pour pouvoir filtrer de l'eau pure non colmatante) et pour des durées plus longues d'application de la pression. Cette opération ne peut être réalisée qu'à l'arrêt définitif du réacteur.

L'adsorption : C'est un phénomène qui intervient généralement pour de longs temps de filtration. Dans notre étude, ce phénomène a été mis en évidence :

- lors de l'étude de la réversibilité du colmatage. Au 197<sup>ème</sup> jour de fonctionnement du BAMI, l'ensemble du colmatage irréversible représentait 17% du colmatage total.

- lors de la filtration sur de courtes durées de filtration. L'utilisation d'agents chimiques pour la régénération du faisceau de fibres était nécessaire après chaque expérience de filtration. Lors des expériences de détermination du pouvoir colmatant d'une boue par incrémentation du flux de perméat, les premiers flux de filtration c'est-à-dire les plus faibles, n'engendraient aucune dérive de pression. Le colmatage intervenait donc après 20 à 30 minutes de filtration pendant lesquelles de l'adsorption peut avoir lieu.

Certains auteurs comme Ognier et al. (2004) modélisent la montée progressive de la pression transmembranaire par un phénomène de colmatage interne des pores. Selon eux, l'adsorption ou le blocage des pores de la membrane par l'adsorption de composés solubles entraîneraient une valeur du flux local au voisinage d'un pore supérieure à son flux critique. Ainsi, bien que le flux global de filtration resterait constant, à certains endroits de la membrane le flux de filtration dépasserait le flux critique du pore. Il en découlerait un colmatage accru se traduisant par l'apparition d'un dépôt à certains endroits de la membrane et au final une vitesse globale de colmatage accélérée.

Dans notre cas, cette explication de la montée progressive de la pression transmembranaire n'a pu être vérifiée. En effet aucune relation n'a pu être mise en évidence entre la concentration en composés solubles (DCO, EPS) et l'évolution à long terme de la pression transmembranaire. Par contre, nous avons mis en évidence l'influence probable de certains EPS (protéines et polysaccharides) accumulés dans le surnageant et biodégradables à forts âges de boues. Le phénomène d'adsorption peut donc être préférentiellement attribué aux polysaccharides et aux protéines. De plus, nous avons montré que d'autres phénomènes peuvent contribuer à la lente dérive de pression : le dépôt interne et externe de fines particules et des floccs ou la formation d'une gangue de boue sont également à prendre en considération.

Le colmatage interne et en surface : Ce type de colmatage est réversible hydrauliquement. L'étude de la réversibilité du colmatage a montré que la gangue de boue et le colmatage réversible autre, comptent respectivement pour 56 % et 27 % de la résistance totale au colmatage. La part prise par le colmatage réversible lié au dépôt interne et externe est donc significative. Les fines particules minérales et organiques ainsi que les floccs pourraient participer à ce dépôt.

L'influence du diamètre des fines particules et colloïdes sur ce type de colmatage reste à préciser. Cependant au travers des expériences de filtrabilité des boues du procédé à boues activées et du BAMI de temps séjour similaire, il apparaît que les vitesses de colmatage les

plus élevées correspondent aux boues ayant des diamètres de fines particules les plus faibles (centrés sur 1 à 10  $\mu\text{m}$ ). Ces composés pourraient former un dépôt à l'intérieur des pores de la membrane ou à la surface du matériau membranaire. Le blocage des pores de la membrane de microfiltration pourrait également prendre place.

En ce qui concerne l'influence des floes, il apparaît que pour les dimensions fractales les plus faibles, la vitesse de colmatage est la plus forte, c'est-à-dire pour les boues du BAMI. Ainsi, filtrer une boue contenant des floes de faible dimension fractale pourrait entraîner une augmentation de la capacité du dépôt à se comprimer et donc une augmentation de la vitesse de colmatage quand la pression augmente. La compressibilité pourrait également évoluer au cours du temps en fonction des conditions de pH, de température, de l'influence de l'aération sur la structuration du dépôt, etc...

La compressibilité du dépôt serait également liée à la concentration en protéines. En effet, les expériences de filtration à court terme ont montré l'importance des protéines du surnageant sur le colmatage dû au dépôt. Pour une pression donnée, l'augmentation de la concentration en protéines du surnageant entraîne une augmentation du produit  $\alpha.C$ . A l'inverse, pour une concentration en protéines donnée, l'augmentation de la pression transmembranaire entraîne une augmentation du produit  $\alpha.C$  ( $\alpha$  : résistance spécifique du dépôt/gel,  $C$  : quantité de matière déposée sur la membrane). Les protéines pourraient donc soit s'accumuler sous forme de gel compressible soit structurer différemment le dépôt à la surface de la membrane, par exemple, en créant des liaisons entre les floes. Cette structure serait alors beaucoup plus déformable que l'empilement de floes seuls.

Ainsi, les protéines peuvent être associées aux floes et jouer un rôle dans la compressibilité du dépôt. Elles pourraient également former un gel à la surface du matériau membranaire lorsqu'elles sont localement en forte concentration ou que le pH ou la température varient. Rappelons que pour les réacteurs de cette étude, de très fortes variations de pH ont été notées lors des expériences sur le long terme. Shiau et al. (2004), lors de la filtration d'une solution de protéines ont montré que l'augmentation soudaine de la résistance de colmatage est due à la compression du dépôt de filtration. La montée soudaine de la résistance de colmatage intervient plus tôt lorsque la pression appliquée à la filtration ou la concentration en protéines sont plus élevées. Ces résultats bibliographiques confirment qu'un dépôt de protéines est compressible et que des paramètres comme la pression appliquée ou la concentration en protéines modifient sa compressibilité. Les montées rapides de la vitesse de colmatage lors

des expériences sur le long terme pourraient donc être dues en partie à cette compressibilité du dépôt en présence de protéines.

La montée rapide interviendrait donc dès lors qu'une pression minimale serait atteinte et que la concentration en protéines en solution serait suffisamment élevée. Suivant cette hypothèse, la valeur de la pression minimale correspondant au point d'inflexion des courbes  $PTM=f(t)$  dépend de la concentration en protéines. Plus la concentration en protéines est élevée, plus l'augmentation de vitesse de colmatage serait élevée.

En conclusion sur les deux phases de vitesse de colmatage on peut considérer que :

- la phase de dérive lente correspond à l'adsorption de protéines et polysaccharides, au dépôt de floccs en surface et de fines particules en surface et dans les pores,
- la phase de dérive rapide pourrait être due
  - . à la compressibilité de la gangue de boue (hypothèse peu probable, à vérifier),
  - . à une compressibilité des floccs déformables,
  - . à une compressibilité du dépôt en liaison avec la présence de protéines et/ou à la compressibilité d'un gel de protéines.

## V. Conclusion

Lors de cette étude nous avons analysé le colmatage par un milieu biologique dans un BAMI. Les principaux mécanismes de colmatage ont été décrits et commentés.

Lors de la filtration sur du long terme deux phases d'évolution de la pression transmembranaire ont pu être mises en évidence. Une phase de montée progressive de la pression transmembranaire et une phase d'augmentation soudaine. Les mécanismes prépondérants dans le colmatage sont probablement différents au cours de ces deux phases. Alors que la montée lente de la pression transmembranaire pourrait être régie par le dépôt de particules, l'adsorption de composés solubles et colloïdaux ainsi que par la formation d'une gangue de boue, la montée rapide pourrait être due à une restructuration et à une compression du dépôt. Ce dépôt est formé par les floccs, les colloïdes notamment organiques et les fines particules (Figure V.21)

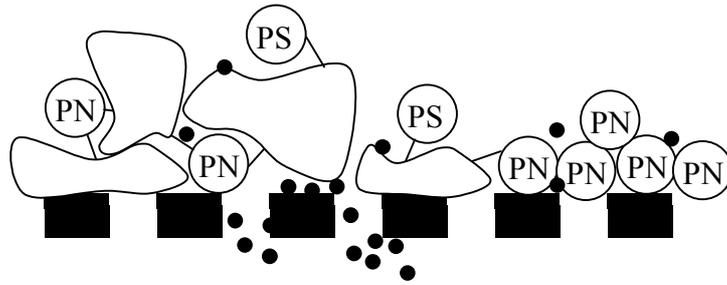


Figure V.21: Schématisation du colmatage des membranes par un milieu biologique

La résistance à la filtration de ce dépôt va dépendre de :

- la déformabilité des floes à la pression en lien avec leur forme, taille et rigidité,
- la présence de fines particules qui peuvent s'insérer dans les interstices du dépôt et le structurer différemment,
- les forces d'interactions entre les floes. Les protéines et les polysaccharides peuvent créer des pontages entre floes et augmenter la compressibilité du dépôt.

Le dépôt peut également contenir des protéines sous forme de gel. Il se structure alors différemment notamment suivant la concentration en protéines ou la pression transmembranaire appliquée.

Pour conclure, il apparaît que les phénomènes participant à la limitation du flux de perméat sont complexes et font intervenir des mécanismes complémentaires. Cette étude a permis de montrer qu'il existe un lien étroit entre les caractéristiques du milieu biologique et en particulier la teneur en protéines et les propriétés du colmatage.



---

## **CONCLUSION**

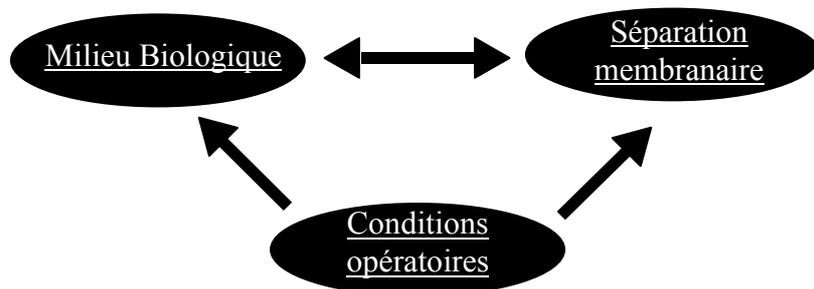
---



A l'heure actuelle, un des procédés les plus utilisés en matière d'épuration des eaux résiduaires urbaines est le système à boues activées. Il doit maintenant faire face à de nouvelles exigences et notamment être capable de traiter plus, mieux, sans agrandissement des installations existantes. Face à ces nouveaux besoins ce procédé s'avère quelques fois inadapté. Les bioréacteurs à membranes constituent une alternative intéressante pour la dépollution des eaux et connaissent un développement important, en particulier les bioréacteurs à membranes immergées.

Cependant, le dimensionnement, la conduite et l'optimisation des bioréacteurs à membranes restent encore problématiques en raison de connaissances insuffisantes sur les mécanismes de colmatage.

L'objectif de ce travail était de caractériser les interactions entre les spécificités physico-chimiques d'un milieu biologique typique d'un BAMI et la séparation membranaire. Pour cela, le bioréacteur à membranes a été comparé avec un procédé à boues activées fonctionnant dans les mêmes conditions et alimenté par la même eau résiduaire urbaine. Parallèlement, une étude spécifique de l'influence du temps de séjour des boues, a été menée.



Description de la démarche adoptée au cours de cette étude

Les principales conclusions de cette étude sont synthétisées ci-dessous.

#### Influence de la séparation membranaire et du temps de séjour des boues sur les propriétés du milieu biologique :

Il est tout d'abord apparu que la filtration induit des modifications dans les caractéristiques du milieu biologique et notamment celles des surnageants des boues. La séparation membranaire permet d'accumuler certains exopolymères du surnageant, notamment les protéines et les polysaccharides. Ainsi, à chaque nouvel ensemencement du BAMI, les polymères s'accumulent au sein du surnageant puis sont biodégradés. Après stabilisation des MES, les protéines (0-16 mg.L<sup>-1</sup>) constituent le groupe minoritaire du surnageant alors que les

substances humiques sont à hauteur de 12 à 35 mg.L<sup>-1</sup> et les polysaccharides entre 4 et 40 mg.L<sup>-1</sup>.

L'influence du temps de séjour est différente pour le surnageant de BAMI et celui du procédé à boues activées.

Pour le BAMI, les concentrations en polysaccharides et protéines diminuent lorsque l'âge des boues augmente de 9,8 à 53,0 jours, puis augmente au-delà de 53 jours d'âge de boues.

Pour le procédé à boues activées les concentrations en polysaccharides sont faibles (5 à 10 mg.L<sup>-1</sup>) aux âges de boues les plus faibles (9,2 à 14,3 jours) puis augmentent à des valeurs quasiment similaires à celles du BAMI lorsque l'âge de boue augmente à 32 jours.

En ce qui concerne les flocs, aucune différence importante n'a été observée entre les flocs issus des deux procédés pour les mêmes temps de séjours des boues. Le diamètre des flocs ( $80 \mu\text{m} < d_{50} < 200 \mu\text{m}$ ), la teneur en protéines ( $5,5 \text{ mg.g}_{\text{MVS}}^{-1} < \text{teneur en protéines} < 45,3 \text{ mg.g}_{\text{MVS}}^{-1}$ ) en polysaccharides ( $1,9 \text{ mg.g}_{\text{MVS}}^{-1} < \text{teneur en polysaccharides} < 25,1 \text{ mg.g}_{\text{MVS}}^{-1}$ ), l'indice des boues ( $50 \text{ mL.g}^{-1} < \text{IB} < 110 \text{ mL.g}^{-1}$ ), la dimension fractale ( $2 < D_f < 2,2$ ) sont identiques dans les deux réacteurs.

En revanche, l'âge des boues influe sur les caractéristiques des flocs. L'augmentation de l'âge des boues dans le BAMI de 9,2 à 110 jours se traduit par :

- une diminution du rapport protéines/polysaccharides (4 à 2) et de l'indice de boue ( $100 \text{ à } 70 \text{ mL.g}^{-1}$ ),
- une augmentation de la dimension fractale (2 à 2,2), et de la turbidité du surnageant après 30 minutes de décantation (110 à 160 NTU).

L'évolution du diamètre des flocs semble suivre celle de la teneur globale en EPS<sub>liés</sub> :

- une augmentation de l'âge de boues de 9 à 53 jours entraîne une diminution de la teneur en EPS<sub>liés</sub> ( $70 \text{ à } 35 \text{ mg.g}_{\text{MVS}}^{-1}$ ) et de la taille des flocs ( $200 \text{ à } 80 \mu\text{m}$ ),
- au-delà de 53 jours d'âge de boues, le diamètre des flocs et à priori les teneurs en exopolymères augmentent.

En revanche, l'évolution de la totalité des EPS des flocs n'est pas liée de façon simple aux EPS spécifiques. En effet, lorsque l'âge des boues augmente, le rapport protéines/polysaccharides diminue. Ainsi, la teneur en protéines semble corrélée à celle de la fraction de bactéries actives alors que la cinétique d'hydrolyse des polysaccharides semble plus lente et indépendante de la biomasse active.

Enfin ce travail a permis de préciser les potentialités du BAMI en matière de production de boues. Peu de différences ont été constatées entre les deux procédés lorsqu'ils fonctionnent aux mêmes âges de boues inférieurs à 37 jours. La capacité à réduire la production de boues d'un BAMI est liée à son aptitude à pouvoir opérer à de forts âges de boues. Par ailleurs, les modèles classiques de modélisation de la production de boues s'avèrent inefficaces pour prédire la production de boues pour des BAMI évoluant dans une large gamme de temps de séjour des boues.

#### Influence des caractéristiques du milieu biologique et des conditions opératoires sur la séparation membranaire

Les analyses menées sur le BAMI ont permis l'étude des mécanismes de colmatage à long terme. Deux phases distinctes d'évolution de la vitesse de colmatage ont été observées :

- une phase de montée progressive de la pression transmembranaire probablement due à l'adsorption, à la formation d'une gangue de boue et au dépôt de protéines et de polysaccharides colloïdaux et solubles,
- une phase d'accélération de la vitesse de colmatage qui pourrait être due à la restructuration/compressibilité du dépôt en lien avec la présence de protéines.

Parallèlement, une étude du colmatage à court terme a été menée afin d'identifier les paramètres pouvant influencer ce type de colmatage. A de faibles flux, les caractéristiques de la boue influent peu sur la vitesse de colmatage. Pour des flux supérieurs à une valeur limite de l'ordre de  $20 \text{ L.h}^{-1}.\text{m}^{-2}$  et pour des concentrations en MES comprises entre 1,5 et  $5,8 \text{ g}_{\text{MES}}.\text{L}^{-1}$ , la concentration en polymères solubles, la présence de fines particules (colloïdes organiques, bactéries libres et MES minérales) et la déformabilité des floes semblent jouer un rôle prépondérant dans le colmatage. Un des résultats particulièrement intéressant est le rôle joué par les protéines dans la structuration du dépôt. Pour de fortes concentrations en protéines et/ou des pressions transmembranaires élevées la résistance du dépôt augmente par augmentation de la quantité de matière déposée et/ou de la compressibilité du dépôt. Deux hypothèses peuvent expliquer que la compressibilité du dépôt augmente avec la concentration en protéines :

- Quand la concentration locale en protéines au voisinage de la membrane ou du dépôt augmente du fait de la rétention par la membrane, les protéines peuvent former un gel uniforme ou entre floes.
- Les protéines pourraient également contribuer à modifier la structuration du dépôt en formant des liens entre floes.

Suite à cette étude, plusieurs domaines restent à explorer et permettraient une compréhension plus claire des phénomènes rencontrés dans un BAMI. Les études suivantes pourraient être menées :

- une analyse multi-variable des paramètres pouvant influencer la dynamique du colmatage. Dans ce cadre une attention plus particulière devra être portée aux paramètres tels que les fines particules, les protéines et le pH. Il faudrait en particulier différencier les fractions particulaires et solubles des EPS et des protéines.
- une analyse des polymères du surnageant afin d'identifier précisément les polymères présents dans le surnageant et leur masse moléculaire. Ces analyses permettraient de préciser les effets d'un changement de température, de pH sur la solubilité des polymères mais également de relier la masse moléculaire des polymères au colmatage,
- une modélisation du comportement de la biomasse par des logiciels de simulation dynamique tel que GPS-X pour prédire les cinétiques de biodégradation et de production de boues, en intégrant les mécanismes de production et d'hydrolyse des exopolymères.

Cette étude permet de dégager des enjeux importants pour l'amélioration des BAMI et des pistes pour des développements futurs :

- contrôler et limiter la formation de la gangue de boue en travaillant sur la conception du faisceau de fibres et sur l'hydrodynamique au sein des réacteurs,
- limiter le rôle joué par les protéines solubles sur le colmatage. Il y a plusieurs stratégies possibles :
  - . maintenir les protéines sous forme soluble en contrôlant les propriétés de la solution (régulation de pH, température),
  - . améliorer la biodégradabilité des protéines et/ou limiter leur production
  - . déplacer le problème en favorisant le dépôt de protéines dans d'autres zones du réacteur, par exemple en favorisant leur adsorption sur des supports ou en les intégrant plus dans les floes, par des processus de floculation. Cette dernière méthode aurait l'avantage de faire diminuer en même temps la population de fines particules libres, responsables du colmatage interne des membranes.

---

---

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

---

---



Ahn K.-H., Song K.-G. (2000) Application of microfiltration with a novel fouling control method for reuse of wastewater from a large-scale resort complex, *Desalination*, 129, 207-216

Albasi C., Bessière Y., Desclaux S., Remigy J.C. (2002) Filtration of biological sludge by immersed hollow-fiber membranes : influence of initial permeability choice of operating conditions, *Desalination*, 146, 427-431

Allison D.G., Evans D.J., Brown M.R.W., Gilbert P. (1990) Possible involvement of the division cycle in dispersal *Escherichia coli* from biofilms, *J. Bacteriol.*, 172, 3, 1667-1669

Anderson G.K., Saw C.B., Fernades M.I.A.P. (1986) Applications of porous membranes for biomass retention in biological wastewater treatment processes, *Process Biochemistry*, 21, 174-182

Azeredo J., Oliveira R., Lazarova V. (1998) A new method for extraction of exopolymers from activated sludges, *Water Science and Technology*, 37, (4-5), 367-370

Barker D.J., Stuckey D.C. (1999) A review of soluble microbial products (SMP) in wastewater treatment systems, *Water Research*, 33, 14, 3063-3082

Baskir C.I., Hansford G.S. (1980) Product formation in the continuous culture of microbial populations grown on carbohydrates, *Biotech. Bioeng.* XXII, 1857-1875

Biggs C.A., Lant P.A. (2000) Activated sludge flocculation: on-line determination of floc size and the effect of shear, *Water Research*, 34, 9, 2542-2550

Bisogni J., Lawrence A.W. (1971) Relationships between biological solids retention time and settling characteristics of activated sludge, *Water Research*, 5, 9, 753-763

Boero V.J.; Eckenfelder W.W.; Bowers A.R. (1991) Soluble microbial product formation in biologicals systems, *Water Science and Technology*, 23, 1067-1076

Bouhabila E.H. (1999) Epuration d'eaux usées par bioréacteur aéré à membranes immergées, Thèse INSA Toulouse, Spécialité Génie des Procédés

Bradford M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254

Brookes A., Judd S.J., Reid E., Germain E., Smith S., Alvarez H., LeClech P., Stephenson T., Turra E., Jefferson B. (2003) Characterization and impact of biomass foulants in membrane bioreactors. In Proc IMSTEC 2003, Sydney.

Brown C.M., Ellwood D.C., Hunter J.R. (1977) Growth of bacteria at surfaces: influence of nutrient limitation, *FEMS Microbiol. Lett.*, 163-166

Brown M.J., Lester J.N. (1980) Comparison of bacterial extracellular polymer extraction methods, *Appl. Environ. Microbiol.*, 40, 2, 179-185

Bruus J.H., Nielsen P.H., Keiding K. (1992) On the stability of activated sludge flocs with implications to dewatering, *Water Research*, 26, 12, 1597-1604

Buitron M.G. (1993) Biodégradation de composés xénobiotiques par un procédé discontinue de type SBR, Thèse INSA Toulouse, n°254

Bura R., Cheung M., Liao B., Finlayson J., Lee B.C., Droppo I.G., Leppard G.G., Liss S.N. (1998) Composition of extracellular polymeric substances in the activated sludge floc matrix, *Water Science and Technology*, 37, 4-5, 325-333

Caccavo F., Frolund B., Van Ommen K.F., Nielsen P.H. (1996) Deflocculation of activated sludge by the dissimilatory Fe(III)-reduction bacterium *Shewanella Alga BrY.*, *Appl. Environ. Microbiol.*, 62, 4, 1487-1490

- Cadoret A., Conrad A., Block J.-C. (2002) Availability of low and high molecular weight substrates to extracellular enzymes in whole and dispersed activated sludges, *Enzyme and Microbial Technology*, 31, 179-186
- Chang I.-S., Lee C.-H. (1998) Membrane filtration characteristics in membrane-coupled activated sludge system\_effect of physiological states of activated sludge on membrane fouling, *Desalination*, 120, 221-223
- Chang I.-S., Bag S.-O., Lee C.-H. (2001) Effects of membrane fouling on solute rejection during membrane filtration of activated sludge, *Process Biochemistry*, 36, 855-860
- Cho et Fane (2002a) Fouling transients in nominally sub-critical flux operation of a membrane bioreactor, *Journal of Membrane Science*, 209, 391-403
- Cho et Fane (2002b) Fouling phenomena in a MBR – TMP transients and the role of EPS, Congrès IWA Mülheim an der Ruhr, Allemagne
- Cho J., Song K.G., Yun H., Ahn K.H., Kim J.Y., Chung T.H. (2004) Quantitative analysis of biological effect on Membrane fouling in submerged membrane bioreactor, *Specialized Conference on Water Environment-Membrane Technology*, Seoul, Corée
- Chudoba J. (1985) Quantitative estimation in COD units of refractory organic compounds produced by activated sludge microorganisms, *Water Research*, 19, 1, 37-44
- Chudoba J., Hejzlar J., Doležal M., (1986) Microbial polymers in the aquatic environment—III : Isolation from river, potable and underground water and analysis, *Water Research*, 20, 10, 1223-1227
- Chudoba P. (1991) Etude et intérêt du découplage énergétique dans les processus s'épuration des eaux par voie biologique, Procédé OSA, Thèse INSA Toulouse, Doctorat ingenierie du traitement et de l'épuration des eaux.
- Cicek N., Franco J. P., Suidan M. T., Urbain V., Manem J., (1999) Characterization and comparison of a membrane bioreactor and a conventional activated-sludge system in the treatment of wastewater containing high-molecular-weight compounds, *Water Environment Research*, 71, n°1
- Cicek N., Macomber J., Davel J., Suidan M.T., Audic J., Genestet P. (2001) Effect of solids retention time on the performance and biological characteristics of a membrane bioreactor, *Water Science and Technology*, 43(11), 43-50 108
- Clarke A.R., Forster C.F. (1982) Biopolymer yields from activated sludge and their relation to the operation of treatment plant, *Biotechnol. Let.*, 4, 10, 655-660
- Conrad A. (2000) Activités enzymatiques extracellulaires au sein des agrégats biologiques issus des stations d'épuration à boues activées, Rapport de DEA Chimie et Microbiologie de l'Eau, LCPE-Equipe Santé Environnement, UMR 7564 CNRS-UHP Nancy
- Costerton J.W., Lewandowski Z., De Beer D., Caldwell D., Korber D., James G. (1994) Biofilms, the customized microniche, *J. Bacteriol.*, 176, 2137-2142
- Côté P., Buisson H., Praderie M., (1998) Immersed membranes activated sludge process applied to the treatment of municipal wastewater, *Water science and technology*, 38, 437-442
- Crozes G. (1994) Contribution à l'étude du colmatage irréversible en ultrafiltration appliqué au traitement d'eau potable, Thèse soutenue à l'Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse, Spécialité Ingénierie du Traitement et de l'Épuration des Eaux
- D**aigger G.T., Buttz J.A. (1992) Upgrading wastewater treatments plants, *Ed Water Quality Management Library*, 2, 134-141
- Dammel E.E., Schroeder E.D. (1991) Density of activated sludge solids. *Water SCI. Technol.*, 43, 3, 27-33
- Davis E.M. (1988) Protein assays : a review of common techniques, *Am. Biotechnol. Lab.*, 7, 28-37
- Dawes E.A., Ribbons D.W. (1964) Some aspects of the endogenous metabolism of bacteria, *Bacteriol. Rev.*, 28, 126-149

Defrance L., Jaffrin M.-Y., Gupta B., Paullier P., Geaugey V. (2000) Contribution of various constituents of activated sludge to membrane bioreactor fouling, *Bioresource Technology*, 73, 105-112

Dignac M.-F. (1998) Caractérisation chimique de la matière organique au cours du traitement des eaux usées par boues activées, Thèse soutenue à l'Université de Paris VI, Spécialité Océanologie, Météorologie et Environnement

Dold P.L., Ekama G.A., Marais G.v.R. (1980) A general model for the activated sludge process, *Prog. Wat. Tech.*, 12, (6), 68-69

Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F. (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances, *Analytical Chemistry*, 28, 350-356

Durmaz B., Sanin F.D. (2001) Effect of carbon to nitrogen ratio on the composition of microbial extracellular polymers in activated sludge, *Water Science and Technology*, 44, 10, 221-229

**E**ikelboom D.H., Van Buijsen H.J.J (1983) Microscopic sludge investigation manual, TNO Research Institute for Environmental Hygiene, Delft, Netherlands

Ekama G.A., Marais G.v.R. (1984) Theory, design and operation of nutrient removal activated sludge processes, Collaborative information document of the Water Research Commission-South Africa

Eriksson L., Alm B. (1991) Study of flocculation mechanisms by observing effects of a complexing agent on activated sludge properties, *Water Science and Technology*, 24, 7, 21-28

**F**ield R.W., Wu D., Howell J.A., Gupta B.B. (1995) Critical flux concept for microfiltration fouling, *Journal of membrane science*, 100, 259-272

Flemming H.-C., Schaule G. (1988) Biofouling on membranes - A microbiological approach, *Desalination*, 70, 95-119

Forster C.F. (1976) Bioflocculation in the activated sludge process, *Water S.A.*, 2, 119-125

Frolund B., Keiding K. (1994) A comparative study of biopolymers from a conventional and advanced activated sludge treatment plant, *Water Sci. Technol.*, 29, 7, 137-141

Frolund B., Griebe T., Nielsen P.H. (1995) Enzymatic activity in the activated sludge floc matrix, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 43, 755-761

Frolund B., Palmgren R., Nielsen P.H. (1996) Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin, *Water Research*, 30, (8), 1749-1758

**G**ehr R., Henry J.G. (1983) Removal of extracellular material; techniques and pitfalls, *Water Research*, 17, 12, 1743-1748

Germain E., Stephenson T., Pearce P. (2004) MBR biomass characteristics and membrane aeration: their influence on membrane fouling; *World Filtration Congress 9*, Nouvelle Orléan

Goddard A.J., Foster C.F. (1987) *Microbios*, 50, 29

Goodwin J.A.S., Forster C.F. (1985) A further examination into the composition of activated sludge surfaces in relation to their settlement characteristics, *Water Research*, 19, 527-533

Ghyoot W., Verstraete W. (1999) Reduced sludge production in a two-stage membrane-assisted bioreactor, *Water Research*, 34, 1, 205-215

Guan J., Waite T.D., Amal R. (1998) Rapid structure characterization of bacterial aggregates, *Environ. Sci. Technol.*, 32, 3735-3742

Gui P., Huang X., Chen Y., Qian Y. (2002) Effect of operational parameters on sludge accumulation on membrane surfaces in a submerged membrane bioreactor, *Desalination*, 151, 185-194

Gulas V., Bond M., Benefield L. (1979) Use of exocellular polymers for thickening and dewatering activated sludge, *J. Wat. Pollut. Contrl. Fed.*, 51, 798-807

**H**ao et O.J., Lao A.O. (1988) Kinetics of microbial by-product formation in chemostat pure cultures, *J. Environ. Eng. Div. ASCE*, 114, 5, 1097-1115

Hazen K.C., Plotkin B.J., Klimas D.M. (1986) Influence of growth conditions on cell surface hydrophobicity of *Candida albicans* and *Candida glabrata*, *Infect. Immunol.*, 54, 1, 269-271

Hejzlar J., Chudoba J. (1986a) Microbial polymers in the aquatic environment—I : Production by activated sludge microorganisms under different conditions, *Water Research*, 20, 10, 1209-1216

Hejzlar J., Chudoba J. (1986b) Microbial polymers in the aquatic environment—II : Isolation from biologically non-purified and purified municipal waste water and analysis, *Water Research*, 20, 10, 1217-1221

Henze, M., Gujer, W., Mino, T., Loosdrecht M. (1986). Activated sludge model No. 1. IAWPRC, Scientific technical report No. 1

Henze M., Grady C.P.L., Gujer W., Marais G.v.R., Matsuo T. (1987) Activated sludge model n°1, IAWPRC Scientific and Technical Report n°1

Higgins M.J., Novak J.T. (1997) The effect of cations on the settling and dewatering of activated sludge: laboratory results, *Water Environ. Res.*, 69, 2, 215-224

Hoa P.T., Nair L., Visvanathan C. (2003) The effects of nutrients on extracellular polymeric substance production and its influence on sludge properties, *Water SA*, 29, 4

Marshall K.C. (1993) Cake resistance and solute rejection in bacterial microfiltration: the role of the extracellular matrix, *Journal of Membrane Science*, 79, 35-53

Hong S.P., Bae T.H., Tak T.M., Hong S., Randall A. (2002) Fouling control in activated sludge submerged hollow fiber membrane bioreactors, *Desalination*, 143, 219-228

Horan N.J. (1990) *Biological Wastewater Treatment Systems*, Ed. Wiley, Chichester, UK

Howell J. (2004) A critique of critical flux, critical concentrations, critical Peclet numbers and critical pressure, conférence plénière, Congrès WEMT (Water Environment-Membrane Technology), Séoul

Huang X., Liu R., Qian Y. (2000) Behaviour of soluble microbial products in a membrane bioreactor, *Process Biochemistry*, 36, 401-406

Huang X., Gui P., Qian Y. (2001) Effect of sludge retention time on microbial behaviour in a submerged membrane bioreactor, *Process Biochemistry*, 1001-1006

**J**ahn A., Nielsen P.H. (1995) Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) from biofilms using a cation exchange resin, *Water Science and Technology*, 32, 8, 157-164

Jahn A., Nielsen P.H. (1998) Cell biomass and exopolymer composition in sewer biofilms, *Water Science and Technology*, 37, (1), 17-24

Jarusutthirak C., Amy G., Croué J.-P. (2002) Fouling characteristics of wastewater effluent organic matter (EfOM) isolates on NF and UF membranes, *Desalination*, 145, 247-255

Jefferson B., Brookes A., Le Clech P., Judd S.J. (2004) Methods for understanding organic fouling in MBRs, *Water Science and Technology*, 49, 2, 237-244

Jeong Y.D. (1995) Caractérisation des matières organiques réfractaires dans les effluents traités par voie biologique, thèse pour l'obtention du doctorat en ingénierie du traitement et de l'épuration des eaux, INSA Toulouse

Jinhua P., Fukushi K., Yamamoto K. (2004) Structure of microbial communities on membrane surface in a submerged membrane bioreactor, *Water Environment-Membrane Technology*, Congrès Séoul

Jorand F., Guicherd P., Urbain V., Manem J., Block J.-C. (1994) Hydrophobicity of activated sludge flocs and laboratory-grown bacteria, *Water Science and Technology*, 30, 11, 211-218

Jorand F., Zartarian F., Thomas F., Block J.-C., Bottero J.-Y., Villemin G., Urbain V., Manem J. (1995) Chemical and structural (2D) linkage between bacteria within activated sludge flocs, *Water Research*, 29, 7, 1639-1647

Jorand F., Boué-Bign F., Block J.-C., Urbain V. (1998) Hydrophobic/hydrophilic properties of activated sludge exopolymeric substances, *Water Science and Technology*, 37, 4-5, 307-315

Judd S. (2004) A review of fouling of membrane bioreactors in sewage treatment, *Water Science and Technology*, 49, 2, 229-235

Kiff R.J. (1978) A study of factors affecting bioflocculation in the activated sludge process, *Wat. Pollut. Control*, 77, 464-470

Kim J.-S., Lee C.-H., Chun H.-D. (1998) Comparison of ultrafiltration characteristics between activated sludge and BAC sludge, *Water Research*, 32, 11, 3443-3451

Kim J.-S., Lee C.-H., Chang I.-S. (2001) Effect of pump shear on the performance of a crossflow membrane bioreactor, *Water Research*, 35, 9, 2137-2144

King R.O., Forster C.F. (1990) Effects of sonication on activated sludge, *Enzyme Microb. Technol.*, 12, 109-115

Koehler L.H. (1952) Differentiation of Carbohydrates by Anthrone reaction rate and color intensity, *Analytical Chemistry*, 24, 10, 1576-1579

Lambert S. (2000) Etude structurale des agrégats bactériens: conséquences sur l'activité biologique et la décantation, Thèse à l'Université de Droit d'Economie et des Sciences d'Aix-Marseille 3, Spécialité Géosciences de l'Environnement

Lapidou C.S., Rittmann B.E. (2002) Non-steady state modeling of extracellular polymeric substances, soluble microbial products, and active and inert biomass, *Water Research*, 36, 8, 1983-1992

Lee W., Kang S., Shin H. (2003) Sludge characteristics and their contribution to microfiltration in submerged membrane bioreactors, *Journal of Membrane Science*, 216, 217-227

Lee J.C., Kim J.S., Kang I.J., Cho M.H., Park P.K., Lee C.H. (2001) Potential and limitations of alum or zeolite addition to improve the performance of a submerged membrane bioreactor, *Water Science and Technology*, 43, 11, 59-66

Lee J., Ahn W.-Y., Lee C.-H. (2001) Comparaison of the filtration characteristics between attached and suspended growth microorganisms in submerged membrane bioreactor, *Water Research*, 35, 10, 2435-2445

Lesjean B., Rosenberger S., Laabs C., Jekel M., Gnirss R., Amy G. (2004) Correlation between membrane fouling and soluble/colloidal substances in membrane bioreactors for municipal wastewater treatment, *Water Environment-Membrane Technology*, Congrès Séoul

Lewandowski Z., Beyenal H. (2004) Biofilms: their structure, activity, and effect on membrane filtration, *Water Environment-Membrane Technology*, Congrès Séoul

Li D.-H., Ganczarczyk J.J. (1989) Fractal geometry of particles aggregates generated in water and wastewater treatment process, *Environ. Sci. Technol.*, 23, 1385-1389

- Li D.-H., Ganczarczyk J.J. (1990) Structure of activated sludge flocs, *Biotechnology and Bioengineering*, 35, 57-65
- Liao B.Q., Allen D.G., Droppo I.G., Leppard G.G., Liss S.N. (2001) Surface properties of sludge and their role in bioflocculation and settleability, *Water Research*, 35, 2, 339-350
- Lim A.L., Bai R. (2003) Membrane fouling and cleaning in microfiltration of activated sludge wastewater, *Journal of Membrane Science*, 216, 279-290
- Liu H; Fang H.H.P (2002) Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) of sludges, *Journal of Biotechnology*, 95, 3, 49-256
- Liu H; Fang H.H.P (2003) Influences of extracellular polymeric substances (EPS) on Flocculation, settling, and dewatering of activated sludge, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 33, 3, 237-273
- Lobos J., Wisniewski C., Heran M., Grasmick A. (2004) Effects of starvation conditions on biomass behaviour for minimization of sludge production in membrane bioreactors, *Water Environment-Membrane Technology, Congrès Séoul*
- Low E.L., Chase H.A. (1999) The effect of maintenance energy requirements on biomass production during wastewater treatment, *Water Research*, 33, 3, 847-853
- Luxmy B.S., Nakajima F., Yamamoto K. (2000) Predator grazing effect on bacterial size distribution and floc size variation in membrane-separation activated sludge, *Water Science and Technology*, 42, 3-4, 211-217
- M**artin-Cereceda M., Jorand F., Guinea A., Block J.-C. (2001) Characterization of extracellular polymeric substances in rotating biological contactors and activated sludge flocs, *Environmental Technology*, 22, 951-959
- McKinney R.E. (1956) *Biological flocculation, Biological Treatment of Sewage and Industrial Wastes*, 1, Rheinhold Publishing Co., New York, 82-84
- Metcalf & Eddy (1991) *Wastewater Engineering, Treatment, Disposal, Reuse*. 3<sup>rd</sup> Ed., McGraw-Hill, New-York
- Mikkelsen L.H., Keiding K. (2002) Physico-chemical characteristics of full scale sewage sludges with implications to dewatering, *Water research*, 36, 2451-2462
- Mukai T., Takimoto K., Kohno T., Okada M. (2000) Ultrafiltration behaviour of extracellular and metabolic products in activated sludge system with UF separation process, *Water Research*, 34, 3, 902-908
- Murthy S.N., Novak J.T., Haas R.D.D. (1998) Monitoring cations to predict and improve activated sludge settling and dewatering properties of industrial wastewaters, *Water Science and Technology*, 38, 3, 19-126
- Murthy S.N., Novak J.T. (1999) Factors affecting floc properties during aerobic digestion: implications for dewatering, *Water Environ. Res.* 71, 2, 197-202
- N**agaoka H., Ueda S., Miya A. (1996) Influence of bacterial extracellular polymers on the membrane separation activated sludge process, *Water Science and Technology*, 34, 9, 165-172
- Nagaoka H., Yamanishi S., Miya A. (1998) Modelling of bio fouling by extra cellular polymers in a membrane separation activated system, *Water Science and Technology*, 38, 4-5, 497-504
- Ng H.Y., Hermanowicz S.W. (2004) Membrane bioreactor at short mean cell residence times – a new mode of operation, *Water Environment-Membrane Technology, Congrès Séoul*
- Nielsen P.H., Frolund B., Keiding K. (1996) Changes in the composition of extracellular polymeric substances in activated sludge during anaerobic storage, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 44, 6, 823-830
- Nielsen P.H., Keiding K. (1998) Disintegration of activated sludge flocs in presence of sulphide, *Water Research*, 32, Issue 2, 313-320

Noguera M.A., Chuliá S., D'ocón M.P. (1994) The effect of EDTA on contractile responses of guinea-pig trachea in calcium-free medium and on the recovery of the contractile responses in calcium-containing solution, *General Pharmacology: The Vascular System*, 25, 1, 115-122

Novak J.T., Haugan B.E. (1981) Polymer extraction from activated sludge, *J. Water Pollut. Control Fed.* 53, 9, 1420-1424

Nowak O., Svardal K., Franz A., Kühn V. (1999) Degradation of particulate organic matter, A comparison of different model concepts, *Water Science and Technology*, 39, 1, 119-127

**O**gnier S., Wisniewski C., Grasmick A. (2002) Characterisation and modelling of fouling in membrane bioreactors, *Desalination*, 146, 141-147

Ognier S., Wisniewski C., Grasmick A. (2004) Membrane bioreactor fouling in sub-critical filtration conditions: a local critical flux concept, *Journal of Membrane Science*, 229, 171-177

Orantes J.C., Wisniewski C., Héran M., Grasmick A. (2004) Performance of an immersed membrane bioreactor with total solids retention, *World Filtration Congress 9, Nouvelle Orléan*

**P**almgren R., Jorand F., Nielsen P.H., Block J.C. (1998) Influence of oxygen limitation on the cell surface properties of bacteria from activated sludge, *Water Science and Technology*, 37, 4-5, 349-352

Papore L. (1998) Etude de la production des produits microbiens solubles excrétés par des boues activées lors de la dégradation du glucose en milieu inhibiteur, DEA écologie des systèmes aquatiques continentaux, Université Paul Sabatier

Park Chul (2002) Cations and activated sludge floc structure, Master of Science in Environmental Engineering, Blacksburg, Virginie

Pavoni J. L., Tenney M.W., Echelberger W.F. (1972) Bacterial exocellular polymers and biological flocculation, *J. Water Pollut. Control. Fed.*, 44, 3, 414-431

Pirt S.J. (1965) The maintenance energy of bacteria growing cultures, *Proc. R. Soc., Series B23*, 224-231

Platt R.M., Geesey G.G., Davis J.D., White D.C. (1985) Isolation and partial chemical analysis of firmly bound exopolysaccharide from adherent cells of a freshwater sediment bacterium, *Can. J. Microbiol.*, 31, 675-680

Pollice A., Laera G., Blonda M. (2004) Biomass growth and activity in a membrane bioreactor with complete sludge retention, *Water Research*, 38, 1799-1808

Praderie M. (1996) Contribution à l'étude du traitement des eaux résiduaires urbaines par boues activées à membranes immergées (Procédé BAMI), Thèse à INP Toulouse, Spécialité Génie des Procédés

Pribyl M., Tucek F., Wilderer P.A., Wanner J. (1997) Amount and nature of soluble refractory organics produced by activated sludge micro-organisms in sequencing batch and continuous flow reactors, *Water Science and Technology*, 35, 1, 27-34

**R**atsak C.H., Kooi B.W., Van Verseveld H.W. (1994) Biomass reduction and mineralization increase due to the ciliate *Tetrahymena Pyriformis* grazing on the bacterium *Pseudomonas fluorescens*, *Water Science and Technology*, 29, 7, 119-128

Raunkjaer K., Hvitved-Jacobsen T., Nielsen P.H. (1994) Measurement of pools of protein, carbohydrate and lipid in domestic wastewater, *Water Research*, 28, 2, 251-262

Reid E., Judd S., Churchouse S. (2004) Fouling in membrane bioreactors, *World Filtration Congress 9, Nouvelle Orléan*

Rittman B.E., Bae W., Namkung E., Lu C.J., (1987) A critical evaluation of microbial product formation in biological processes, *Water Science and Technology*, 19, 517-528

Rosenberger S., Krüger U., Witzig R., Manz W., Szewzyk U., Kraume M. (2002) Performance of a bioreactor with submerged membranes for aerobic treatment of municipal waste water, *Water Research*, 36, 413-420

Rudd T., Sterritt R.M., Lester J.N. (1984) Complexation of heavy metals by extracellular polymers in the activated sludge process, *J. Water Pollut. Control Fed.*, 56, 12, 1260-1268

Salhi M. (2003) Procédés couplés boues activées-ozonation pour la réduction de la production de boues: étude, modélisation et intégration dans la filière de traitement de l'eau ; Thèse soutenue à l'INSA Toulouse ; Spécialité Génie des Procédés de l'Environnement

Schmidt J.E. Ahring B.K., (1994) Extracellular polymers in granular sludge from different upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 42, 457-462

Serra C. (1996) Ultrafiltration frontale par fibres creuses : dimensionnement des modules et simulation du procédé en clarification des eaux, Toulouse (France) thèse de doctorat de l'université Paul Sabatier ? Spécialité Génie des procédés

Shiau J.S., Tang C.-H., Lin T.-Y., Wang D.-M, (2004) Role of compression of protein aggregates in the development of filtration resistance during microfiltration, In *Proc IMSTEC 2003*, Sydney.

Shim J.K., Yoo I.-K., Lee Y.M. (2002) Design and operation considerations for wastewater treatment using a flat submerged membrane bioreactor, *Process Biochemistry*, 38, 279-285

Shin H.S., Kang S.T., Nam S.Y. (2001) Effect of carbohydrate and protein in the EPS on sludge settling characteristics, *Water Science and Technology*, 43, 6, 193-196

Shin H.S., Kang S.T. (2003) Characteristics and fates of soluble microbial products in ceramic membrane bioreactor at various sludge retention times, *Water Research*, 37, 121-127

Shufang Y. (2004) Development of aerobic granules for simultaneous organic carbon and nitrogen removal. PhD thesis, School of civil and environmental engineering nanyang technological university

Shimizu Y., Okuno Y.-I., Uryu K., Ohtsubo S., Watanabe A. (1996) Filtration characteristics of hollow fiber microfiltration membranes used in membrane bioreactor for domestic wastewater treatment, *Water Research*, 30, 10, 2385-2392

Smith P.K., Krohn R.I., Hermanson G.T., Mallia G.T., Gartner F.H., Provenzano M.D., Fujimoto E.K., Gorke N.M., Olson B.J., Klenk D.C. (1985) Measurement of protein using Bicinchoninic Acid, *Ana. Biochem.*, 150, 76-85

Sollfrank U., Kappeler J., Gujer W. (1992) Temperature effects on wastewater characterization and the release of soluble inert organic material, *Water Sci. and Technol.*, 25, 6, 33-41

Sousa Melo H. (1984) Contribution à la modélisation des processus de traitement biologique des effluents, Etude des inhibiteurs, Thèse de doctorat

Sponza D.T., (2003) Investigation of extracellular polymer substances (EPS) and physicochemical properties of different activated sludge flocs under steady-state conditions, *Enzyme and Microbial Technology*, 32, 375-385

Starkey J.E., Karr J.E. (1984) Effect of low dissolved oxygen concentration on effluent turbidity, *J. Water Pollut. Control Fed.*, 56, 7, 837-843

Stephenson T., Judd S., Jefferson B., Brindle K. (2000) *Membrane Bioreactors for Wastewater Treatment*, IWA Publishing

Strange R.E., Wade H.E., Dark F.A. (1963) Effect of starvation on adenosine triphosphate concentration in *Aerobacter aerogenes*, *Nature*, 199, 55

Stricot M. (2004) Caractérisation des mécanismes de sécrétion des produits microbiens solubles dans les boues issues de bioréacteurs à membranes, DEA Chimie et Microbiologie de l'Eau, Universités de Nancy, Pau et Poitiers

Sürücü G., Cetin F.D. (1989) Effect of temperature, pH, and DO concentration on filterability and compressibility of activated sludge, *Water Research*, 23, 11, 1389-1395

Tixier N., (2003) Approche des propriétés rhéologiques de suspensions biologiques floculées, Thèse soutenue à l'Université des Sciences et Techniques de Limoges, Discipline Chimie et Microbiologie de l'Eau.

Tsuneda S., Aikawa H., Hayashi H., Yuasa A., Hirata A. (2003) Extracellular polymeric substances responsible for bacterial adhesion onto surface, *FEMS Microbiology Letters*, 223, 287-292

Ueda T., Horan N. (2000) Fate of indigenous bacteriophage in a membrane bioreactor, *Water Research*, 37, 7, 2151-2159

Urbain V. (1992) Caractérisation physico-chimique des boues activées en relation avec leur propriété de décantation, Thèse soutenue à l'Université de Nancy 1, Mention Chimie et Microbiologie de l'Eau

Urbain V., Block J.-C., Manem J. (1993) Biofloculation in activated sludge: an analytic approach, *Water Research*, 27, 5, 829-838

Van Limbergen H., Top E.M., Verstraete W., (1998) Bioaugmentation in activated sludge : current features and future perspectives, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 50, 1, 16-23

Van Loosdrecht M.C.M., Henze M. (1999) Maintenance, endogeneous respiration, lysis decay and predation, *Water Science and Technology*, 39, 1, 107-117

Waite T.D. (1999) Measurement and implications of floc structure in water and wastewater treatment, *Colloids and surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 151, 27-41

Wiesner M.R. (2004) Processes of particle deposition in membrane operation and fabrication, Congrès WEMT (Water Environment – Membrane Technology), Séoul

Wilén B.M., Balmér P. (1998) Short term effects of dissolved oxygen concentration on the turbidity of the supernatant of activated sludge, *Water Research*, 38, 3, 25-33

Wilén B.M., Balmér P. (1999) The effect of dissolved oxygen concentration on the structure, size and size distribution of activated sludge flocs, *Water Research*, 33,2, 391-400

Wilén B.M., Keiding K., Nielsen P.H. (2000) Anaerobic deflocculation and aerobic reflocculation of activated sludge, *Water Research*, 34, 16, 3933-3942

Wilén B.M., Jin B., Lant P. (2003) The influence of key chemical constituents in activated sludge on surface and flocculating properties, *Water Research*, 37, 9, 2127-2139

Wisniewski C., Leon Cruz A., Grasmick A., (2000) Critical particle size in membrane bioreactors. Case of a denitrifying bacterial suspension. *Journal of Membrane Science*, 178, 141-150.

Witzig R., Manz W., Rosenberg S., Krüger U., Kraume M., Szewzyk U. (2002) Microbiological aspects of a bioreactor with submerged membranes for aerobic treatment of municipal wastewater, *Water Research*, 36, 394-402

Wuertz S., Spaeth R., Hinderberger A., Griebbe T., Flemming H.-C., Wilderer P.A. (2001) A new method for extraction of extracellular polymeric substances from biofilms and activated sludge suitable for direct quantification of sorbed metals, *Water Science and Technology*, 43, 6, 25-31

Xing C.H., Tardieu E., Qiang Y., Wen Y.H. (2000) Ultrafiltration membrane bioreactor for urban wastewater reclamation, *Journal of Membrane Science*, 177, 73-82

Xing C.H., Qian Y., Wen X.H., WU W.Z., Sun D. (2001) Physical and biological characteristics of a tangential-flow MBR for municipal wastewater treatment, *Journal of Membrane Science*. 191, 31-42

Yamamoto K., Hiasa M., Mahmood T., Matsuo T. (1989) Direct solid-liquid separation using hollow fiber membrane in an activated sludge aeration tank, *Water Science and Technology*, 21, 43-54

Yoon S.-H. (2004) The optimum operational of membrane bioreactor (MBR): cost estimation of aeration and sludge treatment; *Water Research*, 38, 37-46

Yun Z., Jo W, Yi Y., Choi S., Min K. (2000) Effects of sludge settling characteristics in the BNR system, *Water Science and Technology*, 42,3-4, 283-288

Zhang B., Yamamoto K., Ohgaki S., Kamiko N. (1997) Floc size distribution and bacterial activities in membrane separation activated sludge processes for small-scale wastewater treatment/reclamation, *Water Science and Technology*, 35, 6, 37-44

---

**ANNEXE I**

**CHOIX DE LA METHODE  
D'EXTRACTION ET DE DOSAGE  
DES EPS**

---



## I. Choix de la méthode d'extraction des EPS<sub>liés</sub>

Les résultats fournis au tableau I.1, et notamment les travaux de Liu et Fang (2002) réalisés sur une même boue, montrent clairement que la méthode d'extraction adoptée influence les résultats. Ainsi, l'extraction au formaldéhyde-NaOH et celle à l'EDTA produisent respectivement 165 et 147 mgEPS.g<sub>MVS</sub><sup>-1</sup> contre 26 à 78 mgEPS.g<sub>MVS</sub><sup>-1</sup> pour les extractions au formaldéhyde-ultrason, centrifugation-formaldéhyde, centrifugation seule et la résine échangeuse de cations.

Ainsi, le choix de la technique d'extraction apparaît important dans l'étude des EPS<sub>liés</sub> et fait l'objet du paragraphe suivant. La méthode d'extraction devra permettre un bon rendement d'extraction sans lyse ou rupture des cellules ainsi qu'une bonne reproductibilité des résultats. Une fois cette méthode choisie, les paramètres opératoires seront à optimiser. Cependant avant l'extraction proprement dite, la boue doit subir un prétraitement.

### 1. Le Prétraitement

Le prétraitement consiste en un échantillonnage, une homogénéisation et un lavage de la boue :

- L'échantillonnage : afin d'effectuer un échantillonnage représentatif de la liqueur mixte du bioréacteur, il est recommandé de transporter, stocker et extraire la boue à 0-4°C pour éviter toute activité enzymatique. Congeler les échantillons n'est généralement pas conseillé car la décongélation entraîne la rupture des cellules.
- L'homogénéisation : cette étape détermine l'efficacité et la reproductibilité de l'extraction des EPS. En effet, l'efficacité des ultrasons ou d'une résine échangeuse d'ions sera différente suivant l'hétérogénéité de l'échantillon. Cette homogénéisation ne doit pas engendrer de rupture des cellules c'est pourquoi elle est souvent réalisée par retournement d'une éprouvette remplie de boue.
- L'étape de lavage : elle doit permettre l'élimination des EPS solubles et de la matière organique dissoute ou peu liée aux floccs. Ce lavage s'effectue avec une solution tampon de même force ionique que celle de l'échantillon afin de ne pas désorber des EPS liés aux floccs et de ne pas rompre les cellules.

## 2. L'extraction des EPS

Aucune procédure d'extraction n'est aujourd'hui standardisée car les paramètres garantissant un rendement d'extraction maximal ne sont pas extrapolables à une autre boue. Cette étape doit permettre la dispersion des floccs par destruction des liaisons entre micro-organismes et polymères. Les méthodes d'extraction aujourd'hui employées sont soit physiques, soit chimiques soit physiques et chimiques. Certaines techniques d'extraction, sont à proscrire car elles entraînent une lyse cellulaire.

De plus, il est à noter que tous les exopolymères ne possèdent pas la même facilité d'extraction (Jahn et Nielsen, 1998). Ainsi, quelque soit la méthode d'extraction utilisée, elle ne permettra pas de récupérer, en même temps, la totalité des exopolymères. Par exemple, Jahn et Nielsen (1998), lors d'une extraction avec une résine Dowex, montrent qu'avec cette méthode, appliquée à des biofilms alimentés en eau usée domestique, les substances humiques sont extraites plus facilement que les protéines qui, à leur tour, sont plus facilement extraites que les polysaccharides. Dignac et al. (1998) comparent la quantité d'EPS extraite par deux procédés : la sonication seule et la sonication couplée à une résine échangeuse d'ions. Ils trouvent que la méthode couplée extrait 100% d'EPS protéinique et 20% d'EPS polysaccharidiques en plus par rapport à une extraction uniquement avec les ultrasons. Higgins et Novak (1997) et Murthy et Novak (1999) trouvent également que l'ajout de cations à une boue augmente la quantité d'EPS<sub>liés</sub> sous forme de protéine sans changer notablement celle des polysaccharides. Ces résultats montrent que les cations se lient plutôt avec les protéines qu'avec les polysaccharides, et que chaque méthode d'extraction, extrait préférentiellement un certain type de polymère. Le couplage de méthodes d'extraction peut donc s'avérer judicieux afin d'augmenter l'efficacité d'une extraction.

### a. Méthodes physiques d'extraction des EPS

Généralement le rendement d'une extraction ayant recours à des procédés physiques demeure inférieur à celui utilisant des techniques combinant les méthodes physiques et chimiques. Les méthodes physiques d'extraction (centrifugation, sonication, traitement thermique) impliquent un cisaillement de la matière. Par conséquent une lyse cellulaire (Azeredo et al. (1998) - extraction par sonication ; Gehr et Henry, (1983) - extraction à la vapeur d'eau), une dénaturation des protéines (Gehr et Henry, (1983) - extraction à la vapeur d'eau) et/ou une mauvaise reproductibilité des résultats sont observés (Gehr et Henry, 1983 ; Goodwin et Forster, 1985 ; Clarke et Forster, 1982 ; Schmidt et Ahring, 1994 lors d'extraction à la vapeur d'eau).

Parmi les méthodes physiques, la centrifugation seule ou couplée à la sonication apparaît comme être la technique la plus adaptée pour l'extraction des EPS. Gehr et Henry, (1983) lors de l'extraction par centrifugation seule observent une bonne reproductibilité et une faible contamination par des composés intracellulaires. Toutefois, lorsque cette méthode est appliquée seule, celle-ci reste inefficace pour extraire les EPS fortement liés au floc (*Novak et al., 1981 ; Frolund et al., 1996*). La centrifugation est donc surtout utilisée après l'extraction pour séparer les EPS des autres cellules et particules (Urbain et al., 1993 ; Jorand et al., 1995 ; King et Forster, 1990 ; Brown et Lester, 1980). Ce couplage permet d'obtenir de forts rendements d'extraction avec une destruction de la structure du floc sans rupture des cellules (Urbain et al., 1993 - sonication à 50W). Cependant, Brown et Lester (1980) obtiennent de faibles rendements d'extraction lorsqu'ils l'utilisent à une puissance de sonication de 20W. En outre, l'efficacité de cette méthode d'extraction dépend fortement des conditions opératoires et de la nature des floes.

### **b. Méthodes chimiques d'extraction des EPS**

Les EPS sont libérés au contact d'un produit chimique. Les agents chimiques utilisés sont :

- des bases : hydroxyde de sodium ou d'ammonium. L'addition d'une base provoque l'ionisation des groupes carboxyliques des protéines et des polysaccharides qui ont leurs points isoélectriques généralement en dessous de pH 4-6.

Il se produit alors une forte répulsion entre EPS et une meilleure solubilisation des composés. Cette méthode permet l'extraction d'une grande quantité d'EPS (Dignac, 1998) mais provoque bien souvent la détérioration des cellules.

- des acides : acide trichloroacétique ou acide sulfurique. Les ions  $\text{Ca}^{++}$  du floc sont remplacés par des ions  $\text{H}^+$  lorsque l'on abaisse le pH.

- des agents chélatants (éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) ou éthylène glycol – bis- N,N-tetraacetic acid (EGTA)) ajoutés aux boues permet de libérer les cations  $\text{Ca}^{++}$ , responsables de liaisons entre EPS (Bruus et al., 1992). Liu et Fang (2003) notent que les cations des floes sont probablement retenus par ces agents chélatants ce qui provoque l'affaiblissement des structures du floc. Cette méthode permet d'obtenir des rendements d'extraction très élevés (Dignac, 1998). Cependant, l'ajout d'EDTA à la boue risque de supprimer les ions divalents constitutifs de la paroi des cellules et conduit alors à la libération de matériels cellulaires. Cette méthode s'avère également inappropriée si par la suite le dosage des protéines est souhaité car l'EDTA perturbe l'analyse.

- des résines échangeuses de cations (résine Dowex). L'addition de résines permet le remplacement des ions divalents responsables des ponts entre chaînes polymériques par des ions monovalents ou d'autres ions divalents ayant moins d'affinité avec les exopolymères (Bruus et al., 1992).
- glutaraldéhyde : cette petite molécule (masse molaire  $100 \text{ g.mol}^{-1}$ ) est utilisée pour éliminer les substances qui entourent les bactéries avant leur observation microscopique. Dignac (1998) note que le glutaraldéhyde est sélectif pour les polysaccharides et plus particulièrement pour les polysaccharides contenant du glucose. De plus, une comparaison entre extraction aux ultrasons (37W, 1 min) et au glutaraldéhyde (3 et 10% avec des boues à 12 et 6 gMES.L<sup>-1</sup>) montre une meilleure efficacité d'extraction avec les ultrasons (Dignac 1998).

### **c. Méthodes couplées d'extraction des EPS (Physique/Physique ou Chimique/Physique)**

La combinaison d'un procédé physique et d'un procédé chimique permet d'obtenir une extraction plus reproductible et plus efficace. Par exemple, Frolund et al. (1996) ou Jahn et Nielsen (1996), utilisent avec succès une méthode faisant intervenir une résine échangeuse de cations précédée d'une phase de sonication. Cette méthode permet d'obtenir de bons rendements d'extraction (Dignac, 1998 ; Jahn et Nielsen, 1995) et ne rencontre aucun problème d'interférences lors des analyses colorimétriques (Conrad et al., 2000 ; Jahn et al., 1995 ; Frolund et al., 1996). Plusieurs auteurs notent également l'absence de lyse cellulaire (Conrad et al., 2000 ; Jahn et al., 1995 ; Frolund et al., 1996 ; Dignac, 1998).

### **d. Comparaison des méthodes d'extraction des EPS**

Jahn et Nielsen (1999) synthétisent plusieurs résultats d'efficacité d'extraction des EPS dans le tableau annexe I.1.

Tableau annexe I.1: Composition en EPS et efficacité de plusieurs méthodes d'extraction

Méthodes	Protéines	ADN	Carbohydrates	Unités	Rendement d'extraction <sup>(1)</sup>	Références
Sonication <sup>(2)</sup> Centrifugation	279.9	67.34	60.54	mg.L <sup>-1</sup>	10 %	Urbain et al. 1993
Chauffage <sup>(2)</sup> 80°C	121	n.d <sup>(5)</sup>	8	mg.g <sub>MVS</sub> <sup>-1</sup>	9 %	Frolund et al. 1996
Vapeur <sup>(2)</sup> 10 min	77.1	3.7	15.8	mg.g <sub>MES</sub> <sup>-1</sup>	10 %	Brown et al. 1980
NaOH <sup>(2)</sup> (pH 11)	96	n.d <sup>(5)</sup>	22	mg.g <sub>MVS</sub> <sup>-1</sup>	8 %	Frolund et al. 1996
EDTA <sup>(3)</sup>	94	19	110	mg.L <sup>-1</sup>	3 %	Platt et al. 1985
Dowex/ Cisaillement <sup>(2)</sup>	243	n.d <sup>(5)</sup>	48	mg.g <sub>MVS</sub> <sup>-1</sup>	27 %	Frolund et al. 1996
Dowex/ Cisaillement <sup>(3)</sup>	154	12	12	mg.g <sub>COT</sub> <sup>-1</sup>	15 %	Jahn et Nielsen 1995
Dowex/ Cisaillement <sup>(4)</sup>	214	15	56	mg.g <sub>COT</sub> <sup>-1</sup>	11 %	Jahn et Nielsen 1995

<sup>(1)</sup> exprimé en carbone organique extrait sur carbone organique total - <sup>(2)</sup> procédé appliqué à des boues activées <sup>(3)</sup> procédé appliqué sur un biofilm - <sup>(4)</sup> procédé appliqué sur une culture de *Pseudomonas putida* - <sup>(5)</sup> n.d = non déterminé

Au vu de ce tableau et des conclusions retranscrites au paragraphe précédent, la méthode alliant une résine échangeuse d'ions précédée par une étape d'ultrasons semble offrir le meilleur rendement d'extraction tout en assurant l'absence de lyse cellulaire. Cette technique est donc choisie et sera optimisée pour être appliquée à nos boues.

Cependant, comme le rappelle Jahn et Nielsen (1998), cette méthode, mais également toutes les autres méthodes utilisées à ce jour, ne permet pas d'extraire les exopolymères hautement hydrophobes.

### **e. Optimisation de l'extraction par résine échangeuse de cations**

L'extraction par résine, permet l'échange des cations divalents du flocs par les ions Na<sup>+</sup> de la résine et affaiblit ainsi la cohésion du floc pour libérer les EPS<sub>liés</sub> dans le milieu sous forme soluble :

- Higgins et Novak (1997) et Murthy et Novak (1999) constatent que l'ajout de 10 meq.L<sup>-1</sup> d'ions monovalents dans une boue activées réduit la concentration de protéines sous forme EPS<sub>liés</sub>. Le remplacement des ions divalents par les ions monovalents affaiblit la structure du floc et le désintègre.
- Bruus et al (1992) trouvent également que l'ajout d'ions monovalents sous forme de Na<sup>+</sup> et K<sup>+</sup> à une boue épaissie provoque la libération d'ions Ca<sup>2+</sup> et l'augmentation de sa turbidité.

Ce paragraphe reporte des résultats de la littérature concernant l'optimisation des paramètres opératoires lors de l'extraction par résine échangeuse d'ions.

#### ● Effet du stockage des échantillons

Lorsqu'un échantillon de boue est prélevée, il est évident qu'il doit être représentatif de la liqueur mixte contenue dans le réacteur. Bura et al. (1998) montrent que stocker une boue à 4°C pendant plus de 10 jours mène à une perte très importante d'EPS (Tableau annexe I.2).

Tableau annexe I.2 : Effet du nombre de jours de stockage d'une boue sur la récupération des EPS extraits par résine échangeuse d'ions

Composés	% de récupération		
	<u>1 jours à 4°C</u>	<u>10 jours à 4°C</u>	<u>1 mois à -20°C</u>
Protéines	99,1	72,2	69,1
Carbohydrates	91,1	60,6	49,4
ADN	90,7	44,4	37,7

#### ● Importance de l'ordre des étapes d'extraction

Il est souvent mentionné dans la littérature une phase de sonication avant l'extraction à la résine Dowex. La sonication détruit toutes les liaisons dont l'énergie est inférieure à l'énergie fournie par les ultrasons puis la résine permet d'éliminer les cations multivalents et de détruire les liaisons électrostatiques. Dignac (1998) s'est intéressé à l'importance de l'ordre de ces deux étapes sur l'efficacité d'extraction des exopolymères. La mise en contact, pendant une heure, de la boue avec la résine Dowex peut se faire indifféremment avant ou après la sonication (37W): les quantités de carbone extraites sont identiques (15,3 g de COT extrait / 100 g de MVS et 15,9 g de COT extrait / 100 g de MVS). Une phase de mise à l'équilibre, c'est à dire un temps de contact suffisamment long entre la résine et la boue, permet de passer de 9 g de COT extrait / 100 g de MVS, pour un temps de contact de 1 minute, à plus de 15 g de COT extrait / 100 g de MVS pour un temps de contact de 1 heure.

### ● Influence de la concentration de la boue

Dignac (1998) étudie l'influence de la concentration de la boue lors de l'extraction par sonication et résine échangeuse de cations. La quantité de polymères extraite ne varie pas de manière significative si la concentration de la boue passe de 1 à 3 g de MVS.L<sup>-1</sup>.

### ● Influence de la quantité de la résine Dowex

Jahn et Nielsen (1995), montrent qu'afin d'avoir le meilleur rendement d'extraction possible il est nécessaire de déterminer la quantité optimale de résine à introduire. Ainsi, lors de l'extraction des EPS contenus dans un biofilm, ils déterminent les conditions optimales d'extraction à environ 240 g de Dowex par gramme de COT introduit (l'agitation de 40 mL du mélange résine-échantillon est fixé à 600rpm pendant 2H).

Durmaz et al. (2001) évaluent la quantité optimale de résine à introduire à 100 grammes de résine par gramme de matière volatile présent dans la boue.

D'après Frolund et al., (1996) le rendement d'extraction des protéines et des carbohydrates demeure quasiment constant lorsque la quantité de résine introduite se situe entre 60 et 80 grammes par gramme de MVS.

### ● Influence du temps d'extraction

Le temps d'extraction joue un rôle également primordial sur le rendement d'extraction des exopolymères. Ainsi Jahn et Nielsen (1995) extraient une quantité croissante d'exopolymères (Protéines, substances humique et COT) à mesure que le temps d'extraction augmente. Cependant, ils remarquent que le nombre de cellules viables décroît avec l'augmentation du temps d'extraction. Ils déterminent alors un temps optimal d'extraction de 1 à 2H.

Frolund et al. (1995), lors de l'utilisation d'une résine échangeuse de cations, démontrent également qu'après 2 heures d'extraction, l'activité enzymatique de la G6PDH (Glucose-6-phosphate déshydrogénase) augmente fortement, signe d'une lyse cellulaire.

Dignac (1998) compare le rendement d'extraction en COT lorsque la résine est mise en contact de la boue durant 1H ou 2H. Elle conclue qu'une extraction à la résine Dowex de 2H (7-8 g de COT/100 g de MVS) est légèrement plus efficace qu'une extraction de 1H (9 g de COT/100 g de MVS) mais que pour éviter une destruction des cellules ou une évolution de la matière organique une extraction courte était préférable.

### ● Influence de la vitesse d'agitation

Jahn et Nielsen (1995) déterminent une vitesse optimale d'agitation du mélange résine-boue de 600 rpm. Cette vitesse est déterminée lors de l'étude de la quantité de carbohydrates et de protéines extraits par rapport à la vitesse d'agitation des pâles lorsque la quantité de résine introduite est de  $272 \text{ g.g}_{\text{COT}}^{-1}$  et que le temps d'agitation est de 2H.

Frolund et al., (1996) ne constatent quasiment pas de variation de rendement d'extraction des protéines et des carbohydrates lorsque l'intensité d'agitation est comprise entre 600 et 800 rpm.

### ● Effet de la température

La température agit sur les liaisons de faibles énergies et doit donc être gardée la plus constante possible tout le long du processus d'extraction. De plus, une faible température évite la poursuite du métabolisme bactérien. De ce fait, lors de la sonication, les pots de centrifugation contenant la boue sont placés dans de la glace pillée pour prévenir l'échauffement de l'échantillon.

## **II. Choix de la méthode de dosage des polymères**

Cette revue bibliographique présente diverses techniques colorimétriques utilisées pour le dosage des exopolymères contenus dans les eaux résiduaires. Le rendement, la reproductibilité, la fiabilité et l'exactitude des résultats fournis par chacune des méthodes sont abordés dans ce chapitre.

### **1. Méthodes de dosage des protéines**

#### **a. Méthode au bleu de Coomassie**

Lors de ce dosage le Bleu de Coomassie G-250 réagit avec les groupes acides et aromatiques des protéines pour former un complexe dont l'absorbance est déterminée à 595nm. Par comparaison avec l'absorbance du colorant seul, à 465nm, la quantité de protéines contenues dans l'échantillon est déterminée.

Bradford (1976) est le premier à utiliser cette technique et remarque que celle-ci est moins sujette aux interférences que la méthode de Lowry. De plus, lors d'expériences réalisées en triplicat, sur du sérum albumine bovin, il obtient une déviation standard de 1,2%, montrant ainsi la bonne reproductibilité de la méthode. Le développement de la coloration due au complexe colorant-protéine est d'ailleurs obtenue au bout de 2 min et reste stable ( $\pm 4\%$ ) durant 1 heure. De plus, cette méthode s'avère 4 fois plus sensible que la méthode de Lowry

(Bradford 1976) mais tend à surestimer la teneur en protéine des échantillons (Frolund 1996 ou Durmaz et al 2001).

Quelques interférences surviennent lors de l'utilisation de tampon fortement alcalin comme par exemple durant la préparation de l'échantillon, mais également, lorsque des détergents (Triton X-100, Sulfate de sodium dodécyl) ou des composés tels que l'EDTA, le 2-mercaptoethanol, le phénol sont présents dans l'échantillon à analyser. De plus, cette méthode présente une sensibilité différente suivant le type de protéines à doser Bradford (1976). De plus, cette méthode n'est utilisable que pour des protéines de grandes tailles ( 8 à 9 liaisons peptidiques) alors que l'on peut doser les dipeptides avec la méthode de Lowry (Raunkjær et al., 1994).

Raunkjær et al. (1994) utilisent cette technique pour les eaux usées domestiques d'Aalborg et trouvent que cette méthode permet de doser jusqu'à  $15 \text{ mg.L}^{-1}$  de protéines dissoutes lorsqu'ils utilisent du sérum albumine bovin comme standard; Au delà de cette concentration, la linéarité entre la concentration en protéine et l'absorbance n'est plus établie. Ils montrent également que le choix de l'étalon standard influence le résultat des concentrations en protéines. Ainsi, avec la Gamma globuline bovine (BGG) comme standard la concentration en protéines est de 47 à 62% plus grande qu'avec du sérum albumine bovin (BSA).

### **b. Méthode au phénol Folin-Ciocalteu ou méthode de Lowry**

Les liaisons peptidiques des protéines forment des complexes avec le sulfate de cuivre  $\text{CuSO}_4$ , en milieu alcalin. Ce complexe réduit alors les acides phosphomolybdiques et phosphotungstiques du réactif Phénol-Folin-Ciocalteu pour donner un second complexe de couleur bleue, mesuré au spectrophotomètre à 750 nm.

Raunkjær et al. (1994), lors de l'utilisation de cette méthode, montrent que les détergents ou les acides gras présents dans les eaux domestiques ne nuisent pas au dosage des protéines. Cependant, les travaux de Davis (1988) mettent en évidence des interférences causées par les substances humiques. Frølund et al. (1995) modifièrent alors la méthode établie par Lowry pour prendre en compte l'effet des substances humiques.

De plus, Raunkjær et al. (1994) montrent qu'avec le Gamma globuline bovin (BGG) ou le sérum albumine bovin (BSA) comme standard, les résultats obtenus sont similaires. Ainsi, la coloration développée lors du dosage ne dépend pas du type de protéines : la sensibilité de la méthode est la même quelque soit le type de protéine à doser.

Du point de vue reproductibilité Raunkjær et al. (1994), suite à une analyse effectuée sur 7 réplicats d'eaux usées domestiques, notent une déviation sur leurs résultats de l'ordre de

3.8%. Toujours d'après l'étude menée par Raunkjær et al. (1994), la méthode de Lowry permet d'obtenir des concentrations en protéines 4 à 6 fois plus grande qu'avec la méthode de Bradford (Raunkjær et al., 1994 ; Durmaz et al., 2001).

### **c. Méthode BCA**

Smith et al. (1985) proposent une méthode basée sur la méthode de Lowry mais en remplaçant le réactif Phénol-Folin-Ciocalteu par de l'acide bicinchonique (BCA). Ce réactif s'avère être plus stable et plus sensible que le réactif de Lowry et la méthode généralement plus tolérante aux substances interférentes. En contrepartie cette méthode devient inutilisable dès que l'échantillon à analyser contient des sucres réduits (Smith et al., 1985).

En utilisant cette méthode, Raunkjær et al. (1994) montrent que la présence de  $13\text{mg.L}^{-1}$  de glucose dans un échantillon d'eau usée domestique sont détectés comme étant  $30\text{mg.L}^{-1}$  de protéine. Cette méthode n'est donc pas envisageable sur des eaux usées.

*Au vu de ces résultats, la méthode que nous allons retenir pour doser les protéines contenues dans les eaux usées domestiques sera celle de Lowry modifiée par Frølund et al. (1995).*

## **2. Méthode de dosage des polysaccharides**

Toutes les méthodes colorimétriques de mesure des carbohydrates nécessitent d'une part le chauffage de l'échantillon en présence d'acide sulfurique concentré et d'autre part l'addition d'anthrone ou de phénol pour développer la coloration. Dans un premier temps, les polysaccharides sont hydrolysés, durant le chauffage, par l'acide sulfurique puis les monosaccharides sont déshydratés soit par l'anthrone (coloration verte) soit par le phénol (coloration orange).

### **a. Méthode à l'anthrone**

Koehler (1952) note que tous les sucres ne donnent pas la même intensité de coloration (les hexoses développent une couleur plus intense que les pentoses et les heptoses).

En ce qui concerne les interférences, les composés tels que les graisses, les protéines ne semblent pas nuire au dosage des sucres (Raunkjær et al., 1994).

Par ailleurs, cette méthode donne des résultats reproductibles. Pour exemple, Raunkjær et al. (1994) constatent 2 à 4,8% de déviation relative sur les résultats des 7 expériences réalisées avec des eaux usées domestiques d'Aalborg.

## **b. Méthode au Phénol**

La méthode au phénol ou méthode de Dubois (1956) possède une très grande spécificité et permet d'obtenir des colorations d'une même intensité quel que soit le sucre dosé.

Brown et Lester (1980), dans leurs expériences sur une culture bactérienne pure (*K. aerogenes*) trouvent que les rendements obtenus avec la méthode de Dubois sont supérieurs à ceux obtenus avec la méthode à l'anthrone.

Cette méthode, semble toutefois donner des résultats peu reproductibles puisque Raunkjær et al. (1994) trouvent jusqu'à 50% de déviation relative sur leurs résultats. Ces auteurs conseillent alors de chauffer l'échantillon durant un temps fixe.

En analysant les concentrations en polysaccharides des EPS liés de 14 échantillons de boues, Brown et Lester (1980) trouvent que la méthode de dosage à l'acide sulfurique-phénol donne en moyenne des concentrations 24% supérieures à celles avec la méthode à l'anthrone. Cette conclusion rejoint celle de Frolund et al. (1996) qui mesurent une concentration en polysaccharides de  $47 \pm 7 \text{ mg.g}_{\text{MVS}}^{-1}$  avec un dosage avec le réactif phénol-acide sulfurique contre  $41 \pm 3 \text{ mg.g}_{\text{MVS}}^{-1}$  avec la méthode à l'anthrone.

**Au final, la méthode de Dubois modifiée par Frolund a été choisie pour toutes les expériences concernant l'étude sur nos réacteurs. Les mêmes conditions expérimentales entre chaque expériences seront fixées (notamment un temps de chauffe similaire pour toutes les expériences).**