



HAL
open science

Influence des interactions biomasse/hydrodynamique sur la croissance d'un biofilm bactérien dans un biofiltre granulaire

Seyed Mohsen Karrabi, Christophe Morra, Philippe Séchet, Christian Geindreau, Jean M. F. Martins, Alain H Cartellier

► To cite this version:

Seyed Mohsen Karrabi, Christophe Morra, Philippe Séchet, Christian Geindreau, Jean M. F. Martins, et al.. Influence des interactions biomasse/hydrodynamique sur la croissance d'un biofilm bactérien dans un biofiltre granulaire. Congrès Français de Mécanique, Aug 2007, Grenoble, France. hal-00270862

HAL Id: hal-00270862

<https://hal.science/hal-00270862v1>

Submitted on 9 Mar 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

Influence des interactions biomasse/hydrodynamique sur la croissance d'un biofilm bactérien dans un biofiltre granulaire

M. Karrabi², Morra Ch.¹, P. Séchet², C. Geindreau³, J. Martins¹ and A. Cartellier²

⁽¹⁾ LTHE, ⁽²⁾ LEGI, ⁽³⁾ L3S-R
Rue de la Piscine, Domaine Universitaire, Saint Martin d'Hères
philipe.sechet@hmg.inpg.fr

Résumé :

Cet article présente un pilote expérimental de biofiltration et une méthodologie permettant d'inférer des processus liés à la croissance bactérienne et au biocolmatage à partir de mesures globales. On montre qu'il est possible de relier l'évolution de la chute de pression à l'intérieur du biofiltre, à des paramètres plus locaux, difficiles à mesurer en continu (en particulier des profils de porosité et de concentration en biomasse). Ces mesures sur pilote seront utilisées pour tester des modèles de simulation de biofiltres basés sur une compréhension et une modélisation des processus physiques en présence à l'échelle des pores.

Abstract :

This paper presents a pilot for wastewater biofiltration and a methodology allowing the description of processes linked to biomass growth from global measurements. It is shown how this strategy can be used to estimate from pressure drop measurements the porosity and the biofilm fraction along the column versus time. These measurements will be used to valid macroscopic modelling for bioreactor based on upscaling techniques.

Mots-clefs :

biofilm, biofiltration ; couplages hydrodynamique-biomasse ;

1 Introduction

L'étude du développement de biofilms dans des milieux poreux couvre de nombreux domaines d'applications allant de l'environnement aux applications médicales. La croissance d'un biofilm est un processus complexe qui implique des écoulements de fluide, du transfert de masse et des transformations biologiques. Depuis plus de deux décennies, beaucoup de travaux ont été effectués afin de modéliser le développement et la morphologie de biofilm sur des substrats plans ou sphériques (Picioreanu *et al* 2003). Dans la plupart de ces travaux, le biofilm est regardé comme un continuum, i.e. qu'il est décrit par des équations de conservation.

Afin de décrire le comportement d'un bioréacteur, il n'est pas possible de simuler tous les processus physiques se produisant à l'échelle du pore en employant les modèles ci-dessus. Pour surmonter ces difficultés, une approche continue (à l'échelle de Darcy) est habituellement préférée (Taylor *et al*, 1990). Cette approche consiste en la détermination d'une description macroscopique continue du milieu poreux, afin de définir des paramètres effectifs moyens. Deux méthodologies sont possibles pour établir cette description macroscopique. La première consiste à écrire la description équivalente directement à l'échelle macroscopique. La seconde consiste à dériver le modèle continu à partir de la description des processus à l'échelle microscopique (échelle des hétérogénéités) en employant une technique de passage micro-

macro échelle (Wood et al, 2002). Dans les deux cas, les prévisions des modèles doivent être comparées aux propriétés effectives mesurées sur de vrais réacteurs afin de valider la modélisation à l'échelle des pores. Cet article présente certains résultats préliminaires obtenus avec cette stratégie de modélisation. L'accent est mis en particulier sur des mesures effectuées à l'échelle d'un pilote expérimental.

Dans une première partie, une installation expérimentale partagée par 3 laboratoires de Grenoble est présentée : cette plateforme est organisée autour d'un bioréacteur pilote qui sera complètement décrit. Dans une deuxième partie, les paramètres mesurés et les protocoles d'analyse sont présentés. Enfin, quelques résultats seront détaillés et discutés, en particulier, la mesure du profil de pression qui peut être une source d'information très utile pour prédire l'évolution de la répartition de biomasse dans le réacteur et à terme son colmatage.

2. Matériel et méthodes

2.1 Description de la plate-forme expérimentale

2.1.1 Pilote expérimental

La figure 1 décrit schématiquement le dispositif expérimental utilisé dans ce travail. Le système est principalement basé sur une colonne en PVC de hauteur 0.57 m et de diamètre 0.15 m, soit un volume total de 0.01m³. La colonne est remplie de Biolite®, billes d'argile expansée de 4 millimètres de diamètre provenant d'un Biofor™ (Degrémont), afin de constituer un lit fixe granulaire. Cette Biolite® est maintenue entre deux grilles. Le lit fixe (biofiltre) est alimenté en nutriments par l'intermédiaire de deux pompes péristaltiques (Masterflex). La pompe principale est reliée en amont à un réservoir de 0.4m³ contenant de l'eau maintenue à une température constante de 30°C par un bain thermostaté. Afin de maintenir une concentration constante en oxygène dissous en entrée de colonne, ce réservoir est aéré en utilisant un diaphragme relié à un réseau d'air comprimé. La deuxième pompe péristaltique permet d'injecter les nutriments nécessaires au développement et à la croissance des micro-organismes. Cette pompe est reliée à un réservoir de nutriment de 22 L.

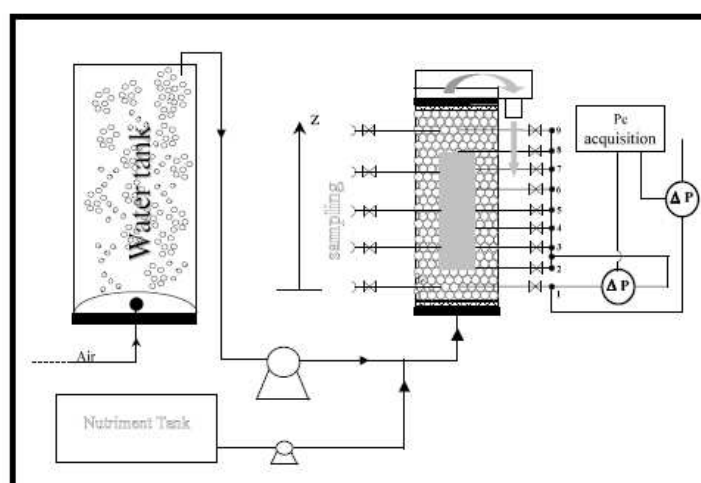


FIG 1 : pilote expérimental

2.1.2 Instrumentation

Afin de suivre les évolutions temporelles et spatiales des transformations biologiques du polluant organique modèle dans la colonne (qui est ici le phénol, contaminant fréquent dans les procédés industriels), le biofiltre est équipé de deux dispositifs d'échantillonnage sur la hauteur de la colonne. Un premier support de prélèvement comprenant 5 piquages permet le prélèvement de la solution circulante. Le deuxième support composé de 9 ports d'échantillonnage permet la mesure de la pression absolue ainsi que la pression relative le long de la colonne grâce à un capteur de pression Druck® (mb 0-100). La référence de pression est prise sur le port n°1 en bas du réacteur.

2.1.3 Souche bactérienne

La souche bactérienne utilisée est *Pseudomonas putida*. C'est un organisme mésophile, aérobic et autotrophe bien connu pour ses capacités de dégradation d'une grande variété de composés aromatiques (qui peuvent être considérés comme dangereux, les phénols par exemple). En plus de cette capacité à minéraliser les composés organiques, cette bactérie a tendance à former facilement un biofilm sur toute surface.

2.2. Protocoles standards de manipulation

Les protocoles complets ont déjà été décrits par Karrabi *et al* (2006) et nous ne donneront donc que les informations principales. Une évaluation de la porosité initiale Φ_0 est effectuée par drainage de la colonne. Une mesure de la perméabilité initiale K_0 est effectuée en début de l'expérience et basée sur la loi de Darcy. Le protocole de colonisation du biofiltre exige des étapes préliminaires (3 cultures successives) ayant pour but d'adapter physiologiquement le micro-organisme au substrat à dégrader (Karrabi *et al*, 2006). Le biofiltre est ensuite colonisé en faisant circuler en boucle fermée une culture de 15L à travers la colonne pendant 24 h à un débit de 5 Lh⁻¹. Au bout de cette durée, on considère que la matrice granulaire contenue dans la colonne est correctement colonisée par les micro-organismes (ce qui est vérifié par microscopie optique).

Dans ce travail, les deux paramètres de contrôle dans ce travail sont la concentration en substrat à l'entrée du biofiltre et le débit (Q_v). L'abattement de la concentration en phénol et la consommation d'oxygène sont mesurées par prélèvement d'échantillons au niveau de chaque piquage. La perte de pression entre les piquages 1 et 9 (cf figure 1) est mesurée en continu grâce au système d'acquisition FieldPoint© connecté à un PC et piloté par programme sous Labview©. De plus, un profil complet de la pression le long de la colonne est mesuré manuellement et quotidiennement.

Quand la colonne a atteint son état d'équilibre, la pression globale ne varie plus et on considère que le biofilm est arrivé à maturité. La colonne est alors vidée : la colonne est divisée en 6 couches et la Biolite® de chaque couche est récupérée. Les billes de chaque couches sont alors lavées afin de récupérer toute la biomasse accrochée à la surface. L'analyse consiste en une mesure des protéines liées aux bactéries et aux EPS, ainsi qu'à une mesure de matières sèches (Karrabi *et al*, 2006).

3. Exemple de résultats

L'idée de base de ces manipulations est de pouvoir déduire les paramètres de croissance bactérienne à partir de ces mesures globales. Ces résultats seront ensuite utilisés pour tenter de valider des modèles continus des processus de l'échelle du pore à l'échelle macro. Une donnée très importante concerne l'évolution de la perméabilité avec la porosité du milieu, qui permet de

suivre le colmatage du biofiltre. Les données présentées ci-dessous sont extraites d'un essai effectué dans les conditions suivantes : $Q_v = 5$ l/h, $C_{\text{phéno}_l\text{entrée}} = 200$ mg/l, $C_{\text{O}_2\text{entrée}} = 6$ mg/l

3.1 Méthodologie

La connaissance des profils de pression permet l'accès à la perméabilité $K(z,t)$ via la loi de Darcy (on suppose que la production d'EPS n'affecte pas la viscosité du liquide). En ce qui concerne l'évolution de la porosité, la méthodologie suivie étant destructive, il n'est possible d'accéder au profil de concentration de biomasse qu'en fin d'expérimentation, lorsque l'état stationnaire est atteint. Les profils de concentration (rapportés au volume de la tranche) des protéines $C_{\text{protéines}}(z,t_{\text{final}})$ des cellules et des EPS ainsi que de matière sèche $C_{\text{MS}}(z,t_{\text{final}})$ sont mesurés. La porosité est alors déduite du profil de concentration par :

$$\Phi_{\text{rel}}(z,t_{\text{final}}) = \Phi(z,t_{\text{final}}) / \Phi_0 = 1 - f_x(z,t_{\text{final}})$$

où f_x est la fraction volumique de biomasse déduite des mesures de $C_{\text{protéines}}$ et C_{MS} . Les profils $K(z,t_{\text{final}})$ et $\Phi(z,t_{\text{final}})$ permettent alors de dériver une loi $K(\Phi)$. Cette loi étant connue, les profils $\Phi(z,t)$, $f_x(z,t)$, $C_{\text{MS}}(z,t)$ peuvent être déduits pour tous les autres temps à partir des profils de pression.

3.2 résultats

Les figures 1 et 2 présentent les profils de pression obtenus lors d'une expérience type ainsi que les profils de porosités déduits par la méthode présentée ci-dessus.

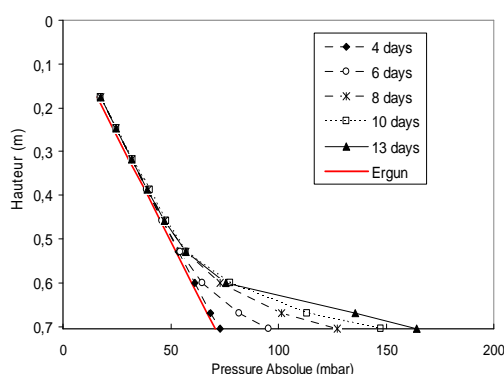


FIG. 2 : Evolution des profils de pression dans le biofiltre au cours du temps

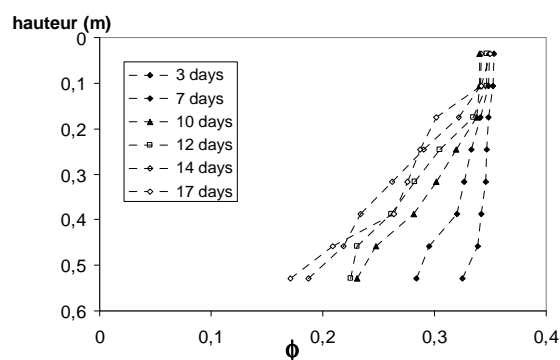


FIG. 3 : Evolution des profils de porosité dans le biofiltre au cours du temps

Ces courbes montrent le colmatage progressif du filtre et l'on peut suivre de manière temporelle et spatiale l'évolution du front de colmatage et du contenu en biomasse du filtre. Ces courbes permettent de déduire une loi de dévolution de la perméabilité relative $K_{\text{rel}} = K/K_0$ avec la porosité relative $\Phi_{\text{rel}} = \Phi/\Phi_0$ (Figure 4)

Ces évolutions expérimentales et les mesures globales associées (pression, contenu en matière sèche mais aussi d'autres quantités comme les concentrations des divers substrats) seront alors comparées avec des prédictions basées sur des modèles à petite échelle. Il est à noter que les expérimentations présentées ici ont été effectuées plusieurs fois pour les mêmes conditions opératoires et les résultats présentés sont reproductibles en terme de loi $K(\Phi)$. Les résultats présentent de nettes différences avec certains modèles classiques comme par exemple le modèle de Clément (1996)

La figure 5 présente des mesures de traçage effectuée dans la colonne au cours d'expérimentations similaires, dans les mêmes conditions opératoires. Ces courbes montrent de manière manifeste un décalage du pic de concentration vers la gauche au cours du temps, c'est-à-dire une diminution du temps de séjour dans la colonne lié à l'augmentation de la vitesse interstitielle. Moyennant certaines hypothèses (nombre de Peclet faible, position du front de colmatage), il est possible, de déduire du pic de concentration, le temps convectif de séjour moyen dans la partie colmatée et d'accéder à une porosité moyenne. Le profil de porosité étant connu d'autre part en appliquant la méthodologie présentée en 3-1, par intégration spatiale, on peut aussi calculer la porosité moyenne dans la partie colmatée. Les deux techniques donnent des résultats cohérents entre elles en terme de porosité ce qui corrobore les résultats présentés ici.

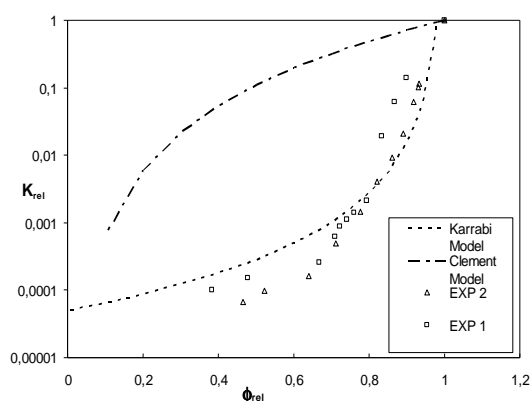


FIG. 4 : Evolution de la perméabilité relative K_{rel} avec la porosité relative $\Phi_{rel}=\Phi/\Phi_0$

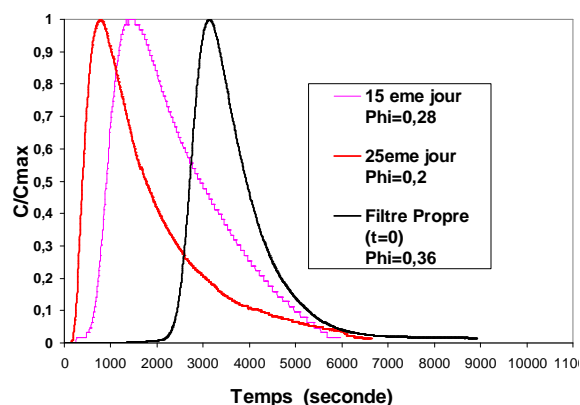


FIG.5 : courbe de traçage ($Q_v=5$ l/h, $C_{phénol}=200$ ppm)

3.2 Lien avec la modélisation

A l'échelle microscopique, i.e. des pores, le milieu poreux peut être vu comme un milieu constitué de trois phases : le squelette solide supposé indéformable, le biofilm fixé sur le squelette solide et la phase fluide. L'écoulement du fluide Newtonien est généralement supposé lent et permanent, il est décrit par les équations de Navier Stokes. Le transport du soluté (phénol) s'effectue par convection, diffusion dans la phase liquide et par diffusion réaction (loi de Monod) dans le biofilm. La croissance du biofilm est décrite par un terme de réaction (Monod). Avec ces hypothèses, Chen Charpentier (1999) a proposé de décrire à l'échelle du réacteur, i.e. à l'échelle de Darcy, l'ensemble de ces phénomènes physiques par le modèle macroscopique suivant : l'écoulement est décrit par la loi de Darcy, le transport du phénol est décrit par une équation de convection-dispersion-réaction. La croissance du biofilm est décrit un terme de réaction similaire à celui de l'échelle microscopique. Cette description macroscopique comprend plusieurs paramètres effectifs (tenseur de perméabilité, tenseur de dispersion...) qui dépendent des propriétés physiques des différentes phases à l'échelle microscopique mais aussi de la microstructure 3D du milieu poreux : support solide, forme et répartition du biofilm au sein du milieu granulaire. Cette microstructure, ainsi que son évolution au cours du temps est actuellement difficilement accessible. A tout instant, elle dépend fortement de la déformation, de la croissance et du détachement partiel du biofilm, qui varient en fonction des conditions hydrodynamiques. Le protocole expérimental présenté dans cet article permet actuellement de quantifier la répartition moyenne (fraction volumique) du biofilm. Des hypothèses sur la répartition du biofilm à l'échelle de pores doivent pour l'instant être formulées, si l'on souhaite

estimer numériquement les paramètres effectifs en résolvant, sur des Volumes Élémentaires Représentatifs, les problèmes aux limites issus de processus d'homogénéisation, i.e. de changements d'échelle (Wood et al. 2002).

4. Conclusions

Ce travail expérimental présente le développement d'un réacteur biologique à l'échelle pilote. On montre que par des mesures globales, il est possible de relier l'évolution de la chute de pression à l'intérieur du biofiltre, à des paramètres plus locaux, difficiles à mesurer en continu (en particulier des profils de porosité et de concentration en biomasse). Ces mesures sur pilote seront utilisées pour tester des modèles de simulation de biofiltres basés sur une compréhension et une modélisation des processus à l'échelle des pores.

Un point important concerne le calcul de la perméabilité et de la porosité. Pour l'instant nous n'avons pas considéré de modifications de la viscosité ou de la rhéologie de la phase mobile par la production des EPS notamment. D'autre part, la relation concentration en matière sèche et volume d'occupation des pores n'est pas triviale. Cette relation dépend en effet de très nombreux facteurs liés à la structuration locale du biofilm selon les conditions opératoires (état physiologique des cellules, ration EPS/cellules, structuration géométrique ...) D'une manière générale, ces deux problématiques sont liées aux couplages entre l'hydrodynamique (et les mécanismes de transferts qui en résultent) et la structuration du biofilm. Cette partie fait aussi partie intégrante du projet et est en cours de développement (études sur micro-cellule)

Dans les expérimentations présentées ici, l'oxygène est pré-dissous à l'amont, afin de séparer les effets du aux bio-colmatage des effets dus à l'écoulement du gaz dans le lit fixe. Le système biologique est donc dans un état très contraint. Une partie, complémentaire, de ce projet est consacrée aux écoulements gaz-liquide sous forme dispersée dans un lit granulaire. Des résultats concernant la perte de pression due a des effets diphasiques sont déjà disponibles dans (Bordas *et al.*, 2006). La perspective à court terme est de coupler les deux études, notamment en effectuant des expérimentations avec une oxygénation utilisant un système de génération de microbulles.

Références :

- Bordas M.L., Cartellier A., Séchet. Ph, Boyer Ch (2006) .Bubbly flow through fixed beds: micro-scale experiments in the dilute regime and modelling, *AICHE J.*, **52**, n°11, pp.3722-3743
- Chen-Charpentier B. (1999) Numerical simulation of biofilm growth in porous media, *Journal of Computational and Applied Mathematics*, **103**,55-66
- Clement T, B. Hooker and R. Skeen (1996), Macroscopic models for predicting changes in saturated porous media properties caused by microbial growth, *Ground water*, **34**.
- Karrabi M., Morra C., Séchet P., Florensa I., Geindreau C., Martins J., Cartellier A.. Experimental investigation of biofilm growth and hydrodynamic/biomass interaction in a granular bioreactor – CHISA- 27-30 august 2006, Prague, Czech Republic
- Piciooreanu C., (2000) Multidimensionnal modeling of biofilm structure, PhD Thésis, Delft University, The Netherland
- Taylor S.W and Jaffé P.R (1990) Biofilm growth and the related changes in the physical properties of a porous medium. 2. Permeability. *Water Ressource Research*, **26**
- Wood B., Quintard M., Golfier F., Whitaker S. Biofilms in porous media : Development of macroscopic transport equations via volume averaging with closure, In Hassanizadeh et al., 2002. *Computational Methods in Water Resources*, **2**, Elsevier, Amsterdam. pp. 1195-1202