

Feasibility of anammox for the treatment of sewage sludge of sewage sludge digeste supernatant: From inoculum enrichment and cultivation to process configurations and emissions

This work investigates the feasibility of fast implementation of the biological anaerobic ammonium oxidation (anammox) process for the treatment of anaerobic digester supernatants processing municipal sewage sludge. The framework is divided into three main parts (i) enrichment of anammox biomass in batch mode from various inoculums, (ii) implementation of a continuous pack-bed reactor for further enrichment of anammox bacteria, (iii) start-up of laboratory scale reactors for the treatment of biogas digester supernatants. This manuscript begins with a description of the current state of art regarding the autotrophic nitrogen removal (ANR) based on the anammox process. It is focused on physiological and engineering aspects of the anammox process to better understand both possibilities and limitations for the implementation of anammox treatment reactors. Then, a bibliometric analysis provides an overview on both academic research and industrial patents related to the field of nutrients management from anaerobic digester supernatants. It turned into a useful tool to summarize current trends, and to contextualize application of anammox. An exponential growth in documentary productivity was confirmed during the last 20 years. In this context, the anammox process has progressively been gaining importance since its discovery. As the anammox topic was initiated for the first time in our laboratory, obtaining own anammox inoculum through enrichment was chosen as the first step of the thesis. Such approach would help to develop new laboratory-scale implementation, biomolecular tools and experience on the process while producing original results. First step targeting anammox enrichment has been achieved by applying a batch methodology. Batch mode gave the opportunity to test several inoculum seeding sludge and operational conditions at the same time. Finally, the methodology proposed led to highly active anammox enrichment able to anaerobically oxidize up to 222 ± 2 mg NH_4^+ -N/L/day after a 4 months period. This time span was long enough to result in the development of tiny red granules. After the enrichment period, a continuous packed-bed up-flow reactor was chosen as breeding system for culturing anammox biomass. The use of a non-woven polyester as carrier material resulted in an efficient strategy to retain the biomass within the reactor. Under these conditions, a targeted nitrogen loading rate (NLR) of 1551 mg N/L/d was applied resulting in conversion rates of 1183 ± 100 mg N/L/d. The upflow reactor run in the laboratory for longer than 400 days providing excess sludge for further experimental research in dedicated ANR systems. Microbial analysis using next-generation sequencing revealed that both batch and continuous stages conducted to the enrichment of the anammox species *Ca. Brocadia sinica*. The anammox sludge produced in the packed-bed upflow reactor was subsequently used to start two different ANR implementations considering single- and two-stage configurations and using the sequencing batch reactor (SBR) technology. Performance of both ANR systems was assessed according to the NLR, supernatant dilution, and phosphate concentration in terms of N-conversion efficiency (NCE) and nitrous oxide (N_2O) emission. / Ce travail de thèse est focalisé sur l'étude d'un bioprocédé, nommé anammox pour « anaerobic ammonium oxydation », basé sur le métabolisme d'une bactérie éponyme découverte au début des années 90'. Ce métabolisme singulier est retrouvé parmi 6 grands genres bactériens appartenant tous au Planctomycetales. Source d'énergie pour la bactérie il repose sur la bioconversion de l'ammonium (NH_4^+) en diazote (N_2) en utilisant le nitrite (NO_2^-) comme accepteur final d'électrons. Le diazote étant un gaz inerte, le procédé anammox constitue un procédé épuratoire qui peut être appliqué à différents types d'effluents ou eaux usées et particulièrement à la fraction liquide des digestats de méthanisation comme il est fait état durant ces travaux. L'état de l'art ainsi que l'analyse bibliométrique réalisée dans le cadre de ce travail ont mis en évidence l'effort investi et l'intérêt porté au processus anammox dans le monde de la recherche académique et du développement industriel. Dans ce cadre, l'unité de recherche OPAALE d' Irstea - Rennes travaille depuis longtemps d'une part, sur la digestion anaérobie des effluents municipaux ainsi que d'élevages, et d'autre part, sur le traitement et la gestion des nutriments qui en sont issus. Il y a environ 4 ans, l'unité de recherche a décidé d'étudier la faisabilité d'utiliser le procédé anammox pour traiter la fraction liquide des digestats. Le début de ce thème de recherche correspondait aux travaux réalisés au sein ce doctorat qui constituait un nouveau sujet pour le laboratoire et nécessitait de combiner les principales compétences de l'équipe: ingénierie des procédés, simulation expérimentale et microbiologie. Les travaux menés au cours de cette thèse ont permis d'évaluer différents aspects complémentaires du processus anammox: son intérêt stratégique, sa valeur pratique et son intérêt académique. L'analyse bibliométrique s'est révélée un outil puissant pour étudier les tendances actuelles et passées dans un domaine de recherche spécifique. Au lieu de se concentrer sur le processus anammox, l'étude de ce cas a ciblé la gestion des nutriments et a fourni une vue d'ensemble plus large intégrant les processus impliqués dans des objectifs similaires. Il est fait état à la fois de la production documentaire dans le milieu académique, sous forme de publications scientifiques ainsi que dans le domaine industriel, sous forme de brevets. Un fait bien connu, mais particulièrement impressionnant lorsqu'il est mis en évidence, est l'évolution de la production documentaire en volume qui ne se contente pas de passer d'une thématique à une autre au fil des années mais qui croît de façon exponentielle. Même si cette tendance est étroitement liée au rythme accéléré de la recherche ces dernières années, elle réside également dans l'importance mondiale où se situe aujourd'hui la nécessité de se réduire la propagation et l'impact des pollutions tout en réduisant les coûts de traitement. Dans ce contexte, le processus anammox a progressivement pris de plus en plus d'importance dans la recherche académique ainsi que dans le développement industriel depuis sa découverte. En ce qui concerne le cas particulier de la France, le développement d'anammox à l'échelle industrielle est inexistant et peu de travaux académiques sont rapportés jusqu'à présent. Cette observation contraste fortement avec d'autres pays européens, comme l'Espagne ou les Pays-Bas, qui ont investi massivement dans le développement d'anammox. Même si des disparités existent dans le monde entier, il existe un intérêt mondial qui se manifeste pour la mise en place de nouvelles installations et une meilleure connaissance du processus. Les voies d'élimination autotrophique de

l'azote sont en passe de représenter un véritable changement de paradigme dans le traitement des eaux usées dans les années à venir en apportant des solutions rentables et plus respectueuses de l'environnement. Comme cette thématique de recherche a été initiée pour la première fois dans notre laboratoire, le développement de notre propre culture de bactérie anammox était nécessaire. Initialement ceci a été entrepris par un enrichissement en batch et constitue l'étape préalable à la mise en place de bioréacteurs à l'échelle de laboratoire, des outils biomoléculaires et de l'expérience tout en produisant des résultats originaux. La première étape d'enrichissement en bactéries anammox a été réalisé en appliquant une méthodologie dite en batch. Par rapport à l'enrichissement en continu, le mode discontinu, ou en batch, donne l'occasion de tester divers inoculum et conditions opérationnelles. Dans ce sens, la stratégie en batch convient très bien à la recherche dans le sens où de nombreuses variabilités peuvent être testées. De plus, cette approche nécessite moins d'équipement que des réacteurs en continus et n'a pas besoin de surveillance journalière ; cela implique moins de temps investi dans les opérations quotidiennes. Enfin, la méthodologie décrite dans le chapitre 2, plaçant la concentration en nitrite comme facteurs primordial dans le processus précoce d'enrichissement, a conduit à un enrichissement en bactéries anammox très actif allant jusqu'à 222 ± 2 mg $\text{NH}_4^+ - \text{N}/\text{L}/\text{jour}$ (TNCR: 560 mg N/L/d) après seulement une période de 4 mois. Étonnamment, cette période de temps a été suffisante pour développer des granules anammox millimétriques dans l'un des six inocula (unité de dénitrification I1 - MMBR). Cependant, une disparité très importante est apparue concernant le temps requis pour l'apparition de l'activité anammox et de son taux final après 4 mois d'enrichissement respectivement 0 à 92 jours et de 21 ± 1 à 118 ± 1 mg N/g VS/jour. Cependant une exposition précoce à de trop fortes concentrations en nitrites mène à une impossibilité d'enrichir la bactérie. En ce sens, l'approche en batch permettant de tester plusieurs inocula représentent une sécurité, car des inocula plus adaptés peuvent être secondairement sélectionnés pour poursuivre l'enrichissement en conditions continues. Parallèlement une méthodologie concernant des outils de biologie moléculaire sont venus apporter une vision plus fine à propos des modifications subies par les populations microbiennes et plus spécifiquement anammox en fonction des conditions tout au long de la période d'enrichissement. Il a été montré que même si les différences entre les populations microbiennes des différents inocula tendent à s'estomper au cours de l'enrichissement. Cependant malgré l'hétérogénéité des inocula uniquement les conditions opératoires marquent la faisabilité de l'enrichissement ainsi que le déterminisme du genre anammox sélectionné. Après cette période de pré-enrichissement, le choix d'un réacteur à flux ascendant de type piston a été effectué en tant que système de culture pour les boues anammox. L'inoculation du réacteur a été effectuée avec la boue (I1) la plus active provenant de l'enrichissement en batch. L'inoculation a été réalisée après 5 mois de pré-enrichissement. Puisque I1 a développé de petits granules et des NRR significatifs après 3 mois, l'inoculation du réacteur aurait pu être faite plus tôt. Un matériau porteur en polyester non-tissé a été utilisé afin de fournir un support matériel aux biofilm bactérien et ainsi promouvoir la rétention à l'intérieur du système. *Ca. Brocadia sinica* a été sélectionné à partir du début de l'enrichissement en batch et est restée l'espèce anammox dominante dans le bioréacteur. Même si utilisation d'un matériau support s'est avérée être un moyen efficace de retenir la biomasse dans le système, l'évaluation du régime d'écoulement a révélé que le système n'était pas un réacteur de type piston. Ceci est probablement dû à un mélange axial provoqué par la production biologique de gaz (diazote) et des écoulements préférentiels. La charge en azote appliquée dans cette étude était bien en deçà de la capacité maximale du système car la biomasse n'occupait que partiellement la surface totale du support et une grande partie du volume de travail est restée disponible pour la croissance de la biomasse. Cependant cette défaillance à assurer un écoulement en piston est susceptible de réduire l'efficacité du système, empêchant ainsi l'augmentation de la charge en azote (NLR) appliquée. Il a été possible d'obtenir un NLR allant jusqu'à 1577 mg N/L/jour. Une amélioration du régime d'écoulement sous différentes configurations de matériaux supports reste nécessaire afin d'apporter moins turbulence et à des conditions d'écoulement plus uniformes. Ces travaux ont démontré la faisabilité d'obtenir une biomasse d'anammox hautement enrichie étant prête à être utilisée à n'importe quel but après une période possiblement inférieure à 7 mois. Bien que relativement, long ce laps de temps reste relativement court du fait du faible taux de doublement de la bactérie et de l'inconvénient de démarrer à partir d'inocula non enrichis. Les méthodologies de séquençage de nouvelle génération (NGS) ont démontré leur potentialité pour l'exploration des populations microbiennes, apportant des données précieuses à toutes les étapes de l'étude. Par rapport à d'autres genres anammox, les *Ca. Brocadia* sont rapportées comme étant des microorganismes r-stratège (favorisant le taux de croissance à l'affinité au substrat) ce qui est cohérent vis-à-vis des conditions non limitantes appliquées pendant les deux phases d'enrichissement. Les communautés microbiennes ont été comparées à celles trouvées dans un réacteur anammox similaire. En dépit des variations dans les conditions de culture, en particulier en terme de température (30°C au lieu de 35°C), les deux communautés microbiennes enrichies dans ces systèmes demeurent étroitement liées. On y retrouve les mêmes groupes bactériens dominants comme Rhodocyclaceae (bactéries dénitrifiantes), Chloroflexi, et des anaérobies hétérotrophes Ignavibacteriaceae (Chlorobi). Tous ces groupes microbiens peuvent participer à l'enrichissement des bactéries anammox en construisant un biofilm protecteur à partir de l'oxygène et de la matière organique. Les boues d'anammox ainsi obtenues ont été par la suite utilisées pour inoculer des réacteurs de nitrification partielle (NP) - anammox séquentiel (SBR) en une et en deux étapes afin de réaliser le traitement de la fraction liquide d'effluents de digestion anaérobie. L'utilisation d'une biomasse sous forme de biofilm comme inoculum ne représente pas un handicap important car la fragmentation par la turbulence hydraulique a conduit à une granulation rapide de la biomasse anammox pendant les premières semaines. Pendant cette période, la rétention de la biomasse dans le système était efficace et les événements de flottaison mineurs. Le principal avantage de l'utilisation de boues pré-enrichies est sans doute le démarrage à court terme et la haute activité initiale allant de 400 à 500 mg N/L/jour dans les deux premières semaines de fonctionnement. Malgré la bonne réponse initiale des deux configurations et l'augmentation rapide de l'activité biologique des systèmes, le passage d'un effluent dilué (1 :2) à un digestat pur représentait dans ce cas une limite infranchissable quelque soit la configuration considérée. Le prétraitement du digestat à travers l'abaissement de la concentration en phosphates (PO_4^{2-}) s'est avéré insuffisant pour apporter des conditions tolérables pour les systèmes. Cela implique qu'un autre facteur n'a pas été clairement identifié malgré son implication. Le soupçon est placé à la fois sur le fer soluble et les contenus en polymères du digestat. L'analyse du fer total a révélé que la charge en fer par gramme d'azote était semblable à celle appliquée pendant la culture préalable. Cependant, cette valeur peut ne pas refléter la biodisponibilité du fer car il peut être présent en tant que précipité, en particulier à des concentrations élevées en phosphate. De plus, un travail intéressant pourrait être réalisé en ce qui concerne la sensibilité aux différents types de polymères utilisés dans les étapes de déshydratation des boues et comme anti-mousse dans les stations d'épuration. Dans notre cas, l'antimousse (Strucktol SB-2113) et un tensioactif (FLOPAM EM 640 LOB) ont été utilisés respectivement pendant la séparation liquide/solide et la NP. Jusqu'à récemment, la littérature était totalement dépourvue d'informations liées à la sensibilité des bactéries anammox aux tensioactifs. Cela peut s'expliquer par la variété des molécules trouvées sur le marché. Il a été très récemment démontré que les polymères anioniques provoquent aucun dommage à l'intégrité cellulaire, mais bloquent les enzymes cataboliques à des concentrations élevées, démontrant que davantage d'informations sur la toxicité des surfactants revêt une importance

cruciale afin d'augmenter la stabilité et les performances des installations de traitement anammox. L'inhibition de la biomasse est toujours représentée par la somme des effets inhibiteurs et des carences. L'utilisation de la précipitation P a permis de comparer l'activité spécifique de l'anammox dans des conditions continues à des concentrations faibles et élevées (10-30 contre 300 mg P/L). Le passage d'une concentration faible à une concentration élevée a entraîné une diminution très significative de l'activité anammox d'environ 48,9% et 55,7%, respectivement dans les procédés en une et en deux étapes. D'autres études ont démontré que des biomasses anammox sont capable d'opérer à des concentrations en phosphate allant jusqu'à 500 mg de P/L sans pour autant perdre en activité. Cependant, ils rapportent d'importants changements structurels au niveau de l'organisation du granule. Ceci donnerait d'avantage d'importance à des phénomènes d'acclimatation progressive de la biomasse anammox démontrant leur capacité à s'adapter à des changements de conditions. En ce sens, la haute sensibilité au phosphate dans notre système pourrait provenir du caractère immature de la biomasse utilisée et du manque de temps accordé aux bactéries anammox pour s'adapter au conditions plus défavorables que représente le traitement des effluent de digestion anaérobie . Une approche approfondie de l'exposition, semblable à celle appliquée à l'alimentation en nitrite décrite au chapitre 3, pourrait fournir des informations plus approfondies concernant la sensibilité relative lors du démarrage des systèmes et pourrait être étendue aux problèmes de toxicité du phosphate comme ceux des tensioactifs. En outre, la comparaison entre une exposition de courte durée et un test continu a révélé de grandes disparités en termes d'effets inhibiteur. La valeur d'IC50 déterminée à partir du test d'activité en batch est de 713,9 mg P-PO4²⁻/L et est semblable à d'autres valeurs rapportées dans la littérature. Cette variation par rapport à l'évaluation en conditions continues illustre le fait que l'exposition à court terme et les comportements de toxicité aigu peuvent différer fortement des réactions de la biomasse à long terme. Dans notre cas, une nette sous-estimation du potentiel d'inhibiteur du phosphate a été observée. Cependant, dans d'autres cas, une surestimation pourrait être faite, car la courte période de temps considérée, peut, ne pas permettre à la biomasse de réagir et de s'adapter face à de nouvelles conditions. Si l'évaluation en batch fournit un moyen facile de mesurer de larges échelles de concentrations ou de conditions, elles tendent à décrire aléatoirement les réactions biologiques sur le long terme ; restant en définitive la finalité recherchée et l'information la plus précieuse.

Auteurs du document : Connan, R.

Mots clés : AZOTE, PHOSPHORE, NITRITE, BOUES RESIDUAIRES, EMISSION GAZEUSE, Annomax, Azote autotrophique, Inoculum, Enrichissement, nitrogen, phosphorus, nitrites, sewage sludge, gas emission

Date : 2016

Format : text/xml

Source : 48514

Langue : Inconnu

Droits d'utilisation : Date de dépôt: 2017-04-05 - Tous les documents et informations contenus dans la base CemOA Publications sont protégés en vertu du droit de propriété intellectuelle, en particulier par le droit d'auteur. La personne consultant la base CemOA Publications peut visualiser, reproduire, ou stocker des copies des publications, à condition que l'information soit seulement pour son usage personnel et non commercial. L'utilisation des travaux universitaires est soumise à autorisation préalable de leurs auteurs. Toute information relative au signalement d'une publication contenue dans CemOA Publications doit inclure la citation bibliographique usuelle : Nom du ou des auteurs, titre et source du document, date et URL de la notice (dc_identifiant).

Télécharger les documents : <https://irsteadooc.irstea.fr/cemoa/PUB00054569>

Permalien : <https://www.documentation.eauetbiodiversite.fr/notice/feasibility-of-anammox-for-the-treatment-of-sewage-sludge-of-sewage-sludge-digeste-supernatant-from-0>

Evaluer cette notice:



Ce portail, créé et géré par l'Office International de l'Eau (OIEau), est géré avec l'appui de l'Office français de la biodiversité (OFB)

