

Dénitrification dans les réacteurs de méthanisation

Nicolas Bernet,

INRA, UR050, Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement

et

René Moletta, ESIGEC Université de Savoie

Au cours de la digestion anaérobie d'effluents riches en azote organique, celui-ci est principalement réduit sous forme ammoniacale. Un post-traitement peut alors être nécessaire pour éliminer cet azote de l'effluent méthanisé avant rejet. Le procédé le plus utilisée est la nitrification-dénitrification biologique. Cependant, si le rapport C/N de l'effluent méthanisé est insuffisant, l'apport d'une source de carbone exogène peut s'avérer nécessaire à l'obtention d'une dénitrification complète, ce processus étant réalisé par des bactéries hétérotrophes.

Une configuration alternative à ce schéma, dans laquelle la dénitrification s'effectue dans le réacteur de méthanisation, a été proposée il y a plus de quinze ans (Kuroda *et al.*, 1988; Hanaki et Polprasert, 1989;

Akunna *et al.*, 1992; Garuti *et al.*, 1992). Dans cette configuration, l'effluent méthanisé est envoyé dans un réacteur aérobie qui assure la nitrification de l'azote ammoniacal et la finition du traitement du carbone. La sortie de ce réacteur riche en nitrate est renvoyée dans le digesteur dans lequel le carbone apporté par l'eau usée est d'abord utilisé pour la dénitrification, le carbone restant étant ensuite converti en biogaz.

La réalisation d'un tel système se trouve confrontée à deux difficultés:

- La réduction des nitrates dans un écosystème anaérobie peut conduire dans certaines conditions à la formation d'azote ammoniacal au lieu de l'azote moléculaire N_2 . Cette voie de réduction est considérée par certains auteurs comme prédominante dans les réacteurs de méthanisation (Tiedje,

1998),

- l'introduction de nitrate dans un écosystème anaérobie entraîne un arrêt de l'activité méthanogène jusqu'à réduction complète des oxydes d'azote présents dans le milieu (NO_3^- , NO_2^- , N_2O) (Balderston et Payne (1976).

Avant d'envisager la mise en œuvre de ce procédé, la faisabilité de l'approche proposée est à étudier par rapport à ces deux aspects.

Réduction des oxydes d'azote dans les digesteurs anaérobies

Dans les digesteurs anaérobies, la dénitrification est en compétition avec une autre voie de réduction du nitrate: la réduction dissimilatrice du nitrate/nitrite en ammonium (en anglais DNRA) ou nitrammonifica-

tion (Tiedje, 1988). Cette voie métabolique est à proscrire car elle restitue l'azote ammoniacal initial au lieu de l'éliminer sous forme de N_2 .

Des expériences réalisées dans un chémostat alimenté en glucose et en nitrate (ou nitrite) ont permis de montrer que la répartition entre nitrammonification et dénitrification dépendait du rapport DCO/N- ($NO_2 + NO_3$) de l'alimentation. La nitrammonification prédomine lorsque le rapport DCO/N- ($NO_2 + NO_3$) est élevé et elle diminue quand ce rapport baisse (Akunna *et al.*, 1992). La production de méthane diminue proportionnellement à la quantité de carbone utilisée par les bactéries réduisant le nitrate.

La nature de la source de carbone est également un paramètre important: en présence de substrats fermentescibles comme le glucose ou le glycérol, les oxydes d'azote seront principalement ammonifiés. En présence d'acides organiques (lactique, acétique), la dénitrification sera le processus majeur de réduction (Akunna *et al.*, 1993). En effet, les microorganismes fermentaires sont responsables de la nitrammonification. Ils réduisent le nitrate en ammonium en fermentant les substrats organiques fermentescibles. Les produits de fermentation (acides organiques, alcools) peuvent ensuite être utilisés par les bactéries dénitrifiantes s'il reste du nitrate/nitrite dans le milieu, c'est-à-dire si le rapport DCO/N- NO_x initial était faible. En revanche, si le milieu contient des substrats organiques non fermentescible (acides organiques ou alcools), la dénitrification sera la seule voie de réduction des oxydes d'azote.

Effet des oxydes d'azote sur les archae méthanogènes

L'effet du nitrate et de ses produits de réduction, nitrite et protoxyde d'azote (N_2O) sur la méthanogenèse acétoclaste d'une souche de *Methanosarcina mazei* a été étudié (Clarens *et al.*, 1998). Alors que 0,5 mg $N-NO_2 \cdot l^{-1}$ and 0,8 % de N_2O dans la phase gazeuse inhibaient totalement la méthanogenèse, 1 g $N-NO_3 \cdot l^{-1}$ ne provoquait qu'une inhibition de 83 %. Des expériences en co-culture ont ensuite montré que *M. mazei*, cultivée en présence de nitrate, produisait du méthane à partir d'acétate jusqu'à l'introduction dans le milieu d'une souche dénitrifiante de *Pseudomonas stutzeri* catalysant la réduction du nitrate. L'ajout de la bactérie dénitrifiante se

traduit par l'apparition rapide de nitrite, puis d'oxyde nitreux, issus de la réduction du nitrate par cette souche. Ce résultat suggère que la méthanogenèse de *M. mazei* a été inhibée par l'activité dénitrifiante et la production de produits de réduction du nitrate (nitrite et protoxyde d'azote) plutôt que par le nitrate lui-même ou la compétition pour l'acétate entre les dénitrifiants et les méthanogènes.

L'effet de l'addition de nitrate sur la digestion anaérobie d'un effluent industriel riche en sulfate a également été étudié en cultures discontinues (Percheron *et al.*, 1999). Dans ce cas, la dénitrification a été précédée d'une longue phase de latence, sans doute due à la concentration élevée du milieu en sulfure, composé inhibiteur. Durant cette phase de latence, la production de méthane n'a pas été affectée par la présence de nitrate en concentration élevée (500 mg $N-NO_3 \cdot l^{-1}$). En revanche, elle s'est arrêtée dès le démarrage de la dénitrification qui s'est accompagnée d'une augmentation du potentiel d'oxydoréduction et d'une accumulation transitoire de nitrite, deux éléments expliquant l'inhibition de la méthanogenèse.

Dans tous les cas, la production de méthane ne commence qu'après consommation totale des oxydes d'azote qui permet de lever l'inhibition réversible de la méthanogenèse par ces composés.

Conséquences des interactions observées sur la conduite des procédés

En raison de l'effet inhibiteur de la dénitrification sur la méthanogenèse, il apparaît nécessaire de séparer ces deux processus dans le réacteur anaérobie. Cette séparation peut être soit spatiale dans un système alimenté en continu (réacteur piston ou réacteur à biofilm), soit dans le temps dans un système alimenté en mode discontinu (SBR).

Dans le premier cas, la création de macro-et/ou de micro-environnements à l'intérieur du réacteur ou du biofilm permettent aux différentes populations de se développer dans les zones présentant les conditions favorables à leur activité métabolique (présence ou absence d'oxydes d'azote). Cette configuration a été mise en œuvre dans un réacteur à lit fixe à flux piston alimenté par un effluent synthétique contenant du glucose comme source de carbone (Akunna *et*

al., 1994b). Elle a également été validée dans des réacteurs à biomasse fixée alimentés en vinasse de distillerie complémentée en nitrate.

Dans le second cas, un procédé couplant deux SBR, anaérobie et aérobie, alimenté avec la fraction soluble d'un lisier de porcs, a été étudié à l'échelle du laboratoire. L'analyse des cycles du réacteur anaérobie met en évidence une dénitrification rapide suivi de la méthanisation du carbone organique restant. Des performances d'élimination respectives du COT et du NTK de 81 à 91 % et 85 à 91 % ont été obtenues. De plus, le procédé permet une dilution de l'alimentation par la recirculation de l'effluent nitrifié, ce qui réduit la concentration de composés inhibiteurs comme l'ammoniac (Bernet *et al.*, 2000).

D'autres travaux mettant en œuvre des configurations similaires, utilisant principalement une séparation spatiale et une alimentation en continu (Kuroda *et al.*, 1988; Hanaki et Polprasert, 1989; Garuti *et al.*, 1992; Akunna *et al.*, 1994b; Tilche *et al.*, 1994; Lin et Chen, 1995; Hendriksen et Ahring, 1996a; Chen *et al.*, 1997; Fang et Zhou, 1999; Im *et al.*, 2001; Mosquera-Corral *et al.*, 2001; Huang *et al.*, 2005), mais également parfois des systèmes discontinus (Hendriksen et Ahring, 1996b; Bernet *et al.*, 2000, 2001).

Cette stratégie peut être également envisagée pour la gestion des installations de stockage de déchets ménagers et assimilés (ISDMA) dans lesquelles la recirculation du lixiviat permet d'accélérer la stabilisation du massif de déchet en augmentant la teneur en eau, facteur limitant du système. Afin d'éviter de recirculer un lixiviat riche en ammoniac pouvant inhiber le processus de méthanisation, il est possible de nitrifier le lixiviat avant recirculation et utiliser le massif de déchet comme bioréacteur de dénitrification et de méthanisation (Vigneron *et al.*, 2005).

Afin de réduire la consommation de carbone pour la dénitrification et ainsi augmenter la production de méthane, il est possible de réaliser une nitrification partielle jusqu'au stade nitrite et recycler un effluent contenant du nitrite dans le digesteur.

On réduit la consommation d'oxygène dans le réacteur aérobie (25 %) et les besoins en carbone de la dénitrification (40 %) (Turk et Mavinic, 1986). Cette nitrification partielle peut être obtenue à travers la conduite du

procédé de nitrification et le contrôle de certains paramètres tels que le pH, la température ou la concentration en oxygène dissous (Philips *et al.*, 2002).

Conclusions

Le procédé proposé permet d'éliminer la matière organique et l'azote d'effluents concentrés. La configuration assure une optimisation optimale du carbone organique disponible qui est d'abord utilisé par la dénitrification, l'excès étant ensuite converti en biogaz.

Ce dispositif est adapté au traitement d'effluents d'effluents concentrés (effluents industriels, effluents d'élevage, lixiviats) caractérisés par un rapport C/N faible ou contenant majoritairement des substrats organiques non fermentescibles. Dans le cas contraire, une simple pré-fermentation permet de donner à l'effluent des caractéristiques plus favorables. La mise en œuvre des processus de dénitrification et méthanisation dans le même réacteur nécessite une séparation des deux réactions, dans le temps ou dans l'espace. ■

INRA, UR050,

Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement, Avenue des Etangs, 11100 Narbonne.

E-mail : bernet@ensam.inra.fr.

ESIGEC Université de Savoie,

Campus scientifique Savoie Technolac, 73376 Le Bourget du Lac.

E-mail Rene.Moletta@univ-savoie.fr.

Références bibliographiques

- Akunna J. C., Bizeau C. et Moletta R. (1992). Denitrification in anaerobic digesters : possibilities and influence of wastewater COD/N/NOx ratio. *Environ. Technol.*, 13, 825-836.
- Akunna J. C., Bizeau C. et Moletta R. (1993). Nitrate and nitrite reductions with anaerobic sludge using various carbon sources - glucose, glycerol, acetic acid, lactic acid and methanol. *Wat. Res.*, 27(8), 1303-1312.
- Akunna J. C., Bizeau C. et Moletta R. (1994a). Nitrate reduction by anaerobic sludge using glucose at various nitrate concentrations - ammonification, denitrification and methanogenic activities. *Environ. Technol.*, 15, 41-49.
- Akunna J. C., Bizeau C., Moletta R., Bernet N. et Héduit A. (1994b). Combined organic carbon and complete nitrogen removal using anaerobic and aerobic upflow filters. *Wat. Sci. Tech.*, 30(12), 297-306.
- Balderston W.L. et Payne W.J. (1976). Inhibition of methanogenesis in salt sediments and whole-cell suspensions of methanogenic bacteria by nitrogen oxides. *Appl. Environ. Microbiol.*, 32(2), 264-269.
- Bernet N., Delgenès N., Akunna J. C., Delgenès J. P. et Moletta R. (2000). Combined anaerobic-aerobic SBR for the treatment of piggery wastewater. *Wat. Res.*, 34(2), 611-619.
- Bernet N., Delgenès N., Delgenès J. P. et Moletta R. (2001). SBR as a relevant technology to combine anaerobic digestion and denitrification in a single reactor. *Wat. Sci. Tech.* 43(3), 209-214.
- Chen K. C., Lin Y. F. et Hwang J. Y. (1997). Performance of a continuous stirred tank reactor with immobilized denitrifiers and methanogens. *Wat. Environ. Res.*, 69(2), 233-239.
- Clarens M., Bernet N., Delgenès J. P. et Moletta R. (1998). Effects of nitrogen oxides and denitrification by *Pseudomonas stutzeri* on acetotrophic methanogenesis by *Methanosarcina mazei*. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 25(3), 271-276.
- Fang, H. H. P. et Zhou, G. M. (1999) Interactions of methanogens and denitrifiers in degradation of phenols. *J. Environ. Eng.*, 125(1), 57-63.
- Garuti G., Dohanyos M. et Tilche A. (1992a). Anaerobic-aerobic combined process for the treatment of sewage with nutrient removal : the ANANOX process. *Wat. Sci. Tech.*, 25(7), 383-394.
- Hanaki K. et Polprasert C. (1989). Contribution of methanogenesis to denitrification with an upflow filter. *J. Wat. Poll. Control Fed.*, 61(9), 1604-1611.
- Hendriksen H. V. et Ahring B. K. (1996a). Integrated removal of nitrate and carbon in an upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor : operating performance. *Wat. Res.*, 30(6), 1451-1458.
- Hendriksen H. V. et Ahring B. K. (1996b). Combined removal of nitrate and carbon in granular sludge : substrate competition and activities. *Antonie van Leeuwenhoek*, 69(1), 33-39.
- Huang J.S., Wu C.S., et Chen C.M. (2005). Microbial activity in a combined UASB-activated sludge reactor system" *Chemosphere*, 61(7), 1032-1041.
- Im, J.H., Woo, H.J., Choi, M.W., Han, K.B. et Kim, C.W. (2001). Simultaneous organic and nitrogen removal from municipal landfill leachate using an anaerobic-aerobic system. *Wat. Res.*, 35(10), 2403-2410.
- Kuroda M., Shima H. et Sakakibara Y. (1988). A study on simultaneous treatment of organic matter and nitrate with a biofilm consisting of methane fermentative bacteria and denitrifying bacteria. *Proc. of Environ. & Sani. Eng. Research*, 24, 231.
- Lacalle M.L., Villaverde S., Fdz-Polanco F., et Garcia-Encina, P.A. (2001). Combined anaerobic/aerobic (UASB plus UBAF) system for organic matter and nitrogen removal from a high strength industrial wastewater. *Wat. Sci. Tech.*, 44(4), 255-262.
- Lin Y. F. et Chen K. C. (1995). Denitrification and methanogenesis in a co-immobilized mixed culture system. *Wat. Res.*, 29(1), 35-43.
- Mosquera-Corral A., Sanchez M., Campos J. L., Mendez R. et Lema J. M. (2001). Simultaneous methanogenesis and denitrification of pretreated effluents from a fish canning industry. *Wat. Res.*, 35(2), 411-418.
- Percheron G., Bernet N. et Moletta R. (1999). Interactions between methanogenic and nitrate reducing bacteria during the anaerobic digestion of an industrial sulfate rich wastewater. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 29(4), 341-350.
- Philips S., Laanbroek H.J. et Verstraete W. (2002). Origin, causes and effects of increased nitrite concentrations in aquatic environments. *Rev. Environ. Sci. Bio/Technol.*, 1, 115-141.
- Tiedje J.M. (1988). Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. Dans «Biology of Anaerobic Microorganisms », A. J. B. Zehnder, ed., John Wiley and sons, New York, 179-244.
- Tilche A., Bortone G., Fomer G., Indulti M., Stante L. et Tesini O. (1994). Combination of anaerobic digestion and denitrification in a hybrid upflow anaerobic filter integrated in a nutrient removal treatment plant. *Wat. Sci. Tech.*, 30(12), 405-414.
- Turk, O., and Mavinic, D. S. (1986). Preliminary assesment of a shortcut in nitrogen removal from wastewater. *Can. J. Civil Eng.*, 13, 600-605.
- Vigneron V., Bouchez T., Bureau C., Maily N., Mazeas L., Duquennoy C., Audic J.M., Hébé I. et Bernet N. (2005). Leachate pre-treatment strategies before recirculation in landfill bioreactors. *Wat. Sci. Technol.*, 52(1-2), 289-297.