



**HAL**  
open science

# Etude des émissions de bioaérosols par les bioprocédés : Application aux biofiltres

Rémi Soret

► **To cite this version:**

Rémi Soret. Etude des émissions de bioaérosols par les bioprocédés : Application aux biofiltres. Autre. IMT - MINES ALES - IMT - Mines Alès Ecole Mines - Télécom, 2019. Français. NNT : 2019EMAL0004 . tel-03917111

**HAL Id: tel-03917111**

**<https://theses.hal.science/tel-03917111v1>**

Submitted on 1 Jan 2023

**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.

# THÈSE POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR D'IMT MINES ALÈS

En Génie des Procédés

École doctorale : Risques et Société

Unité de recherche : Laboratoire du Génie de l'Environnement Industriel

Dans le cadre d'une convention CFR : CMI Europe-Environnement

## Etude des émissions de micro-organismes par les bioprocédés : Application aux biofiltres

Présentée par Rémi SORET

Le 08 Juillet 2019

Sous la direction de Pr. Jean-Louis Fanlo

### Devant le jury composé de

<b>M. Pierre LE CLOIREC, Professeur</b>	Ecole Nationale Supérieure de Chimie, Rennes, France	<b>Rapporteur</b>
<b>M. Albert SUBRENAT, Maitre-Assistant</b>	IMT Atlantique, Nantes, France	<b>Rapporteur</b>
<b>Mme. Corinne LE GAL LA SALLE, Professeur</b>	Université de Nîmes, Nîmes, France	<b>Examinatrice, Présidente</b>
<b>M. Philippe GEIGER</b>	CMI Europe – Environnement, Aspach-le-Haut, France	<b>Invité</b>
<b>Mme. Sandrine BAYLE, Maitre-Assistant</b>	IMT Mines Alès, Alès, France	<b>Encadrante de thèse</b>
<b>M. Jean-Louis FANLO, Professeur</b>	IMT Mines Alès, Alès, France	<b>Directeur de thèse</b>

*Ce que d'autres, mieux doués, peuvent faire au premier essai, il le fera au centième ;*

*Ce que d'autres peuvent faire au dixième essai, il le fera au millième.*

*Sans doute, celui qui tiendra cette conduite, fut-il ignorant, deviendra éclairé ;*

*Fut-il faible, il deviendra fort.*

Confucius

# Remerciements

J'aimerais remercier les membres de mon jury pour avoir accepté de juger ce travail de thèse. J'adresse mes remerciements à Monsieur le Professeur Pierre LE CLOIREC et au Dr Albert SUBRENAT pour avoir accepté d'être les rapporteurs de ce travail. Je remercie également Madame la Professeur Corinne LE GAL LA SALLE d'avoir représenté l'Ecole Doctorale Risques & Sociétés et présidé ce jury. Mes remerciements s'adressent aussi aux membres de mon comité de thèse : Dr Axelle CADIERE et Monsieur le Professeur Jean-Philippe DELGENES qui ont évalué et orienté cette thèse tout au long de ces années.

Cette thèse a été réalisée en collaboration avec l'entreprise CMI Europe – Environnement dans le cadre d'une thèse CFR, et j'aimerais remercier Monsieur Philippe GEIGER, Directeur des Procédés & Innovation, pour avoir permis à ce projet de voir le jour.

Ces travaux ont été accueillis et réalisés au sein du Laboratoire LGEI de l'Ecole des Mines d'Alès dont je souhaite remercier la directrice Madame la Professeur Anne JOHANNET, l'ensemble du personnel et en particulier merci à Monsieur le Professeur Miguel Lopez Ferber pour les aides ponctuelles mais tellement significatives apportées tout au long de cette thèse, merci à Mumu et à Sylvie pour la gentillesse, la bonne humeur et tous les coups de main apportés. Merci à Cathy et Dédé d'avoir été des piliers sur lesquels l'aspect administratif de cette thèse s'est soutenu ainsi que pour toute leur gentillesse.

L'équipe Odeurs & COV a été le foyer de ce projet tout au long de ces années, et j'aimerais en remercier chaleureusement tous les membres. Merci à toi Luc, le Maître des Biofiltres et de tant d'autres choses, merci pour tout le travail que nous avons réalisé conjointement et toute l'aide et conseils que tu as apportés qui ont permis à ce projet de s'épanouir. Merci à Stéphane pour tous les conseils sur les COV et merci à Marion pour tout l'aide et la maîtrise des appareils d'analyse qui ont été indispensables à ces travaux. Merci aussi à Jean-Michel et merci à Mathilde pour la gentillesse, les conseils et toutes les bonnes odeurs que j'ai pu renifler (oui je suis toujours bon public !). Et pour finir un immense merci à Jannick, maître des arcanes de la Biomol, d'avoir été un guide inestimable dans les territoires reculés du labo de microbiologie.

J'aimerais adresser tous mes plus sincères et chaleureux remerciement à mon directeur de thèse, Monsieur le Professeur Jean-Louis Fanlo pour avoir été la figure bienveillante à la tête de cette thèse, et pour toute la confiance et le soutien qu'il m'a apporté toutes ces années. Et bien sûr les Sangria partagées à La Corogne resteront un souvenir inoubliable !

Et enfin j'aimerais remercier tout particulièrement et avec toute l'affection possible Sandrine Bayle, encadrante de cette thèse, dont la force de travail, l'expertise, le suivi réalisé sur ce projet et tous les conseils prodigués ont été les facteurs majeurs de la réussite de ce travail doctoral. Merci d'avoir été là et de n'avoir rien lâché jusqu'au bout, merci d'y avoir toujours cru jusqu'à la fin, merci infiniment pour tout.

Ces années à Alès ont aussi été l'occasion de rencontrer de nombreux doctorants que j'aimerais remercier d'avoir égayé les pauses et repas d'une bonne ambiance communicative ! Merci à Brahim d'avoir été le « doctorant de proximité » pour partager nos bons moments et nos coups durs. Merci à Valentin (Docteur Ledoux !) pour sa joie et bonne humeur perpétuelle. Merci à Erwan pour les discussions passionnantes et tous les bons conseils. Merci à Yannick pour les débats et le Taekwondo ! Merci à Michaël pour l'immense accomplissement de nous avoir tous rassemblés et soudés, nous permettant de tous nous connaître et de nouer des liens. Merci à Adrien pour les discussion geek tout au long des pauses de midi. Merci à Pascale, Perrine, Takoua et Yao pour tous les bons moments. Merci à Emilie, Thibault, Pauline, Aurélie et Thomas pour la bonne humeur lors des pauses partagées et merci à tous les autres !

À mes amis de toujours : Jérémy, Damien, Chris, Romain et JB. Merci infiniment à vous, vous donnez à ma vie tout son sens !

À ma Maman, d'avoir toujours été là pour moi, d'avoir toujours cru en moi et de m'avoir élevé jusqu'à l'homme que je suis aujourd'hui.

Merci.

# Sommaire

<b>Chapitre 1 : Synthèse bibliographique .....</b>	<b>16</b>
1.1. Les bioaérosols : la microbiologie de l'air. ....	17
1.1.1. Définition des aérosols et des bioaérosols.....	17
1.1.2. L'air, un milieu hostile aux micro-organismes.....	17
1.1.2.2. <i>Etat des micro-organismes</i> .....	18
1.1.3. L'aérosolisation des micro-organismes.....	19
1.1.1. Communauté microbienne de l'air.....	25
1.1.2. Impact sanitaire lié à l'exposition aux bioaérosols.....	26
1.1.3. Réglementations.....	31
1.2. Echantillonnage et analyse des aérosols microbiens : enjeux et comparaison. ....	31
1.2.1. Généralités et enjeux de la collecte des bioaérosols microbiens .....	32
1.2.2. Les principaux moyens de collecte .....	35
1.2.3. Comparaison des moyens de collecte .....	49
1.2.4. Techniques d'analyse .....	57
1.3. Le paradoxe des procédés biologiques : un service utile mais une source d'émissions de bioaérosols.....	63
1.3.1. Les procédés de traitement : la physique, chimie et biologie au service de l'environnement	63
1.3.2. Les émissions de micro-organismes : une problématique qui prend de l'ampleur. ....	65
Implication de la synthèse bibliographique et stratégie de recherche .....	81
<b>Chapitre 2 : Emissions de micro-organismes par un biofiltre en conditions stables et lors de perturbations.....</b>	<b>84</b>
<b>Introduction .....</b>	<b>85</b>
<b>Organisation du chapitre.....</b>	<b>87</b>
<b>Article : “Investigation of Removal Capacities of Biofilters for Airborne Viable Micro-Organisms” .....</b>	<b>88</b>
<b>Éléments supplémentaires de discussion : Etude des particules totales .....</b>	<b>101</b>
2. Matériel et méthode .....	102
3. Résultats .....	103
3.1. Evaluation des particules totales par OPC.....	103

3.1.1.	Etat stationnaire .....	103
3.1.2.	Impacts de l'arrêt de la tour d'humidification. ....	104
3.1.3.	Aspect cinétique .....	106
3.2.	Etude des particules totales par filtration.....	107
3.3.	Discussions .....	108
4.	Synthèse .....	109
<b>Evaluation of viable particles emissions from biofilters: influence of seasons and environmental parameters.....</b>		<b>110</b>
<b>Conclusion du chapitre .....</b>		<b>122</b>
<b>Chapitre 3 : Etude de l'état transitoire et caractérisation mathématique du biofiltre.....</b>		<b>125</b>
<b>Introduction .....</b>		<b>126</b>
<b>Organisation du chapitre.....</b>		<b>127</b>
<b>Influence of gas velocity on the removal capacities of biofilters for airborne viable particles.....</b>		<b>128</b>
1.	Introduction.....	129
2.	Materials and methods .....	131
3.	Results and discussion.....	134
<b>Removal capacities of biofilters for airborne viable particles: response to gas velocity impulse and concentration augmentation.....</b>		<b>159</b>
1.	Introduction.....	160
2.	Materials and methods .....	161
3.	Results and discussion.....	163
<b>Éléments supplémentaires de discussion .....</b>		<b>177</b>
<b>Conclusion du chapitre .....</b>		<b>178</b>
<b>Conclusion générale .....</b>		<b>181</b>
	Résumé.....	218
	Abstract.....	218

# Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Différents mécanismes d'aérosolisation des micro-organismes depuis les liquides (Wilson <i>et al.</i> , 2015).....	20
<b>Figure 2.</b> Distance parcourue potentielle et temps de séjour potentiel des bioaérosols (Prussin <i>et al.</i> , 2014).....	22
<b>Figure 3.</b> Variation des émissions de bactéries dans la colonne d'air ( $10^6$ .m <sup>-2</sup> ) sur la surface terrestre (Burrows, Butler, <i>et al.</i> , 2009).....	23
<b>Figure 4.</b> Niveau de pénétration des particules fines aéroportées dans les voies respiratoires en fonction de leur diamètre ( <a href="https://micronairblue.com/fr/particules-fines">https://micronairblue.com/fr/particules-fines</a> ). ....	26
<b>Figure 5.</b> Les 10 principales causes de morts dans le monde en 2016 (Organisation Mondiale de la Santé : <a href="http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/">http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/</a> ).....	30
<b>Figure 6.</b> Représentation d'une chambre de soufflerie pour la détermination des efficacités.....	34
<b>Figure 7.</b> Schéma de la séparation des particules par impaction (Renoux et Boulaud, 1998). ....	36
<b>Figure 8.</b> Impacteur Andersen (ANDERSEN, 1958). ....	38
<b>Figure 9.</b> Représentation schématique des paramètres principaux régissant la récolte des impacteurs.....	40
<b>Figure 10.</b> Réaction de polymérisation en chaine (Alberts, 2004).....	61
<b>Figure 11.</b> Faisabilité économique des différents procédés en fonction du débit d'air à traiter et de la concentration en polluant (Herman <i>et al.</i> 1998).....	64
<b>Figure 12.</b> Phases du compostage caractérisées par la cinétique de température interne (Oudart, 2013).....	66
<b>Figure 13.</b> Schéma des différentes étapes de fonctionnement d'une station d'épuration (STEP) ( <a href="http://www.services.eaufrance.fr/gestion/services/eau-potable-assainissement/-assainissement-collectif#">http://www.services.eaufrance.fr/gestion/services/eau-potable-assainissement/-assainissement-collectif#</a> ). ....	69
<b>Figure 14.</b> Les 20 genres bactériens les plus identifiés dans l'air au-dessus du bassin d'activation (Li <i>et al.</i> , 2016).....	71
<b>Figure 15.</b> Schéma de principe d'un biofiltre (Rondeau, 2013). ....	72

<b>Figure 16.</b> Schéma de principe d'un biolaveur de gaz (Pré <i>et al.</i> , 2004).....	79
<b>Figure 17.</b> Concentrations en particules totales en fonction de leur granulométrie, durant l'état stationnaire à l'entrée du pilote, en sortie de la tour d'humidification (tour d'humidification) et en sortie du pilote. ....	103
<b>Figure 18.</b> Concentration des PT en fonction de leur granulométrie lors des arrêts et reprise de la tour d'humidification. a) Arrêt de la tour. b) Reprise de fonctionnement de la tour.....	105
<b>Figure 19.</b> Abattements en PT du pilote dans son ensemble jusqu'à 50h après l'arrêt de la tour d'humidification. ....	107
<b>Figure 20.</b> Biofiltration unit with the particle sampling points. 1: ambient air. 2: Gas outlet.....	113
<b>Figure 21.</b> Inlet and outlet biofilter's concentrations of viable particles over a 247 days period. Inlet and outlet mean concentrations are represented for each season. ....	114
<b>Figure 22.</b> The Boxplot of inlet and outlet concentrations of viable particles in the biofiltration pilot unit by season. Different letters indicate statistical differences between the samples.....	115
<b>Figure 23.</b> The outlet concentration depending on the inlet concentration. A linear regression curve was added.....	118
<b>Figure 24.</b> The biofilter removal efficiency in viable particles and ambient air temperature during the test period, organized by seasons.....	118
<b>Figure 25.</b> The Boxplot of RE <sub>vp</sub> classified by season. Different letters indicate statistical differences between the samples ( $p < 0.05$ )......	119
<b>Figure 26.</b> Biofiltration units with representation of particle sampling points. 1: inlet. 2: Gas outlet. ....	132
<b>Figure 27.</b> RE <sub>vp</sub> of the perturbed and control biofilters during the study of the influence of gas velocity. Back diamonds: perturbed biofilter. Gray square: control biofilter. Left vertical bar: velocity increased from 30 to 100 m.h <sup>-1</sup> for perturbed biofilter. Right vertical bar: velocity decrease from 100 to 30 m.h <sup>-1</sup> for perturbed biofilter. ....	135
<b>Figure 28.</b> RE <sub>vp</sub> of the control biofilter and the test biofilter. Gray curve: control biofilter. Black curve: perturbed biofilter. Left vertical bar: gas velocity increased from 30 to 200 m.h <sup>-1</sup> for the perturbed biofilter. Right vertical bar: gas velocity decreased from 200 to 30 m.h <sup>-1</sup> for the perturbed biofilter.....	136

**Figure 29.** Removal efficiency of the test biofilter for cultivable micro-organisms measured by impaction on the two targeted flora (n = 3, 10 dishes per measurement). ..... 137

**Figure 30.** Augmentation of the impaction phenomenon when the gas velocity is increased. Black points: micro-organisms. Gray circles: packing bed particles. Black lines: airflow. .... 139

**Figure 31.** Left: The bacterial outlet concentration as a function of the gas velocity at  $C_i = 1500$  and  $2500 \text{ m}^{-3}$  (Directly gathered from (Ottengraf and Konings, 1991)). Right: Outlet concentration as a function of the gas velocity (drawn curves has been computed according to Eq. 13 with this study's parameters :  $k_e a_s = 1102 \text{ m}^{-4}$ ;  $\epsilon = 0.3$ ;  $\rho_m = 10^3 \text{ kg.m}^{-3}$ ;  $d_m = 4 \cdot 10^{-6} \text{ m}$ ;  $d_c = 10 \cdot 10^{-3} \text{ m}$ ;  $\mu = 1.8 \cdot 10^{-5} \text{ Pa.s}$ ). Gray curve: Obtained using the impaction results with a  $C_i = 240 \text{ UFC}$ . Black curve: Obtained using the BioTrak results with a  $C_i = 3000 \text{ VP} \cdot \text{m}^{-3}$  (usual value of inlet VP concentration). The bars represent the respective inlet concentrations; Before crossing the curve : enrichment ; After crossing the curve : impoverishment. .... 142

**Figure 32.** a) Outlet VP concentration as a function of the gas velocity, with variations of the  $K_e \cdot a_s$  parameter (curves computed from Eq. 13, same parameters than Figure 31 except for  $K_e \cdot a_s$ ). b) Outlet concentration as a function of gas velocity with variations on the void fraction  $\epsilon$ . c) Outlet concentration as a function of gas velocity with variations on the diameter of the capturing particles (packing bed particles) (curves computed from Eq. 13, same parameters than for Figure 31 except for  $\epsilon$  and  $d_c$  respectively). .... 143

**Figure 33.** Outlet VP concentration through time before and after gas velocity augmentation ( $30 \rightarrow 200 \text{ m.h}^{-1}$ ). The gray vertical bar represents the moment the gas velocity is increased. .... 145

**Figure 34.** Outlet VP concentration through time before and after gas velocity diminution ( $200 \rightarrow 30 \text{ m.h}^{-1}$ ). The gray vertical bar represents the moment the gas velocity is increased. .... 146

**Figure 35.** Outlet VP concentration through time before and after gas velocity increasement ( $30 \rightarrow 200 \text{ m.h}^{-1}$ ). The gray curve represents the model and is obtained using Eq. 27. .... 150

**Figure 36.** Outlet VP concentration through time before and after gas velocity diminution ( $200 \rightarrow 30 \text{ m.h}^{-1}$ ). The gray curve represents the model and is obtained using Eq. 27. .... 150

**Figure 37.** Different possibilities for the phenomena inside biofilters. Left: 2 discontinuous phenomena. Middle: 2 continuous phenomena. Right: 1 continuous phenomenon. .... 152

<b>Figure 38.</b> Response toward a gas velocity perturbation of the previous three theoretical systems. a) Theoretical gas velocity perturbation (increase). $t = 0$ correspond to the moment of the perturbation. b) Response of the 2 discontinuous phenomena system. c) Response to the 2 continuous phenomena system. d) Response of the 1 continuous phenomenon system.....	153
<b>Figure 39.</b> Biofilter response through time to positive gas velocity impulses (centered around the perturbation). a) Variation of the outlet TP concentration. b) Variation of the outlet VP concentration. ....	163
<b>Figure 40.</b> Biofilter response through time to negative gas velocity impulse (centered around the perturbation). a) Variation of the outlet TP concentration. b) Variation of the outlet VP concentration. ....	165
<b>Figure 41.</b> Outlet VP concentrations through time before and after the velocity impulses. The gray curves represent the model and are obtained using Eq. 35. a) Response positive impulse. b) Response to the negative impulse. ....	169
<b>Figure 42.</b> Variation of different parameters for the previous model. a) Variations of the gain A. b) Variations $RE_{vp}$ k. c) Variation of the time constant $\tau$ . ....	170
<b>Figure 43.</b> Biofilter response through time to VP concentration augmentation. a) Inlet TP concentration before and after the perturbation. b) Variation of the outlet TP concentration of diameter superior to $0.5 \mu\text{m}$ . c) Inlet VP concentration before and after the perturbation. d) Variation of the outlet VP concentration of diameter superior to $0.5 \mu\text{m}$ . Gray bar represents the moment of the perturbation.....	172
<b>Figure 44.</b> Biofilter response through time to viable particle concentration augmentation. The vertical bar represents the moment of the perturbation. The grey curve represents the model and was obtained using Eq. 44 ( $A = 2300 \text{ VP} \cdot \text{m}^{-3}$ , $k = 0.8$ , $V = 0.071 \text{ m}^3$ and $Q = 0.033 \text{ m}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ )....	175
<b>Figure 45.</b> Concentration en particules totales en fonction de la vitesse de passage de gaz. Les résultats présentés correspondent à moyenne $\pm$ écart-type. La droite et l'équation théoriques ont été obtenues grâce à une régression linéaire. ....	177
<b>Figure 46.</b> Principe de la caractérisation mathématique à l'aide d'étude cinétique. $C_i$ : concentration d'entrée du biofiltre. $C_o$ : concentration de sortie. a) Principe de la mesure de l'abattement. b) Principe des études cinétiques. c) Caractérisation du biofiltre. ....	183

# Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Impact sur la santé des différents bioaérosols (d'après (Douwes <i>et al.</i> , 2003)).....	28
<b>Tableau 2.</b> Types de maladies respiratoires allergiques et non allergiques causées par les bioaérosols (d'après (Douwes <i>et al.</i> , 2003)). .....	28
<b>Tableau 3.</b> Exemple de maladies infectieuses pouvant être causées par des bioaérosols (d'après (Douwes <i>et al.</i> , 2003; Fung and Hughson, 2003)). .....	29
<b>Tableau 4.</b> Micro-organismes utilisés pour l'évaluation des performances des biocollecteurs en chambre de soufflerie avec leurs principales caractéristiques. ....	50
<b>Tableau 5.</b> Récapitulatif des caractéristiques des méthodes de collecte des bioaérosols.....	51
<b>Tableau 6.</b> Avantages et désavantages des méthodes de collectes, à partir de (Ghosh, Lal and Srivastava, 2015). .....	56
<b>Tableau 7.</b> Différentes techniques d'analyses des micro-organismes (selon (Ghosh, Lal and Srivastava, 2015)). .....	57
<b>Tableau 8.</b> Concentrations des principaux micro-organismes détectés dans les bioaérosols issus du compostage (Wéry, 2014). ....	67
<b>Tableau 9.</b> Concentrations en sortie de biofiltre pour les différentes catégories de micro-organismes étudiées. ....	74
<b>Tableau 10.</b> Efficacité d'abattement (RE) et techniques de collectes utilisées. ....	75
<b>Tableau 11.</b> Ratios des concentrations mesurés entre les différents points de l'unité de biofiltration pilote. ....	106
<b>Table 1.</b> Reported bioaerosol concentrations for implemented biofilters in different industrial sectors. ....	116
<b>Table 2.</b> Physico-chemical properties of the packing bed material (sawmill wood chips). ....	131
<b>Table 3.</b> Average removal efficiency of the biofilters and delta between them during the increased velocity period. ....	136
<b>Table 4.</b> Inlet and outlet concentrations of bioaerosols classified by phenotypes, and associated RE. ....	155
<b>Table 5.</b> Sum up of the particle concentrations behaviors during the perturbation, for positive and negative impulses. ....	167



# Introduction générale

Un volume d'environ 14 m<sup>3</sup> d'air transite dans nos poumons chaque jour, et fait de ce milieu celui qui est le plus en contact avec l'homme (Moletta, 2005). Sa composition chimique ne change globalement pas (78 % de diazote, 21 % de dioxygène et quelques 1 % de gaz rares). Cependant, ce milieu est enrichi par divers éléments tels que des gaz (monoxyde de carbone, ozone, oxydes d'azote, etc.) et des particules (poussières, cendres, pollens, micro-organismes).

Les micro-organismes présents dans l'air sont appelés aérosols microbiens et font partie des « bioaérosols », terme regroupant tous les aérosols d'origine biologique (micro-organismes, pollen, endotoxines, etc.). Ces éléments s'aérosolisent à partir de sources naturelles comme le sol, des étendus d'eau (étangs, rivières, océans), la végétation ou bien de sources anthropiques telles que l'agriculture, l'élevage, l'industrie ou les procédés de dépollution (Gilbert and Duchaine, 2009). A partir de ces sources, ils se dispersent parfois sur de sur de longues distances (Kellogg and Griffin, 2006).

L'impact sur la santé de ces bioaérosols est de mieux en mieux cerné. En plus des infections telles que la tuberculose, l'anthrax et la grippe dues à des agents pathogènes, les effets délétères des bioaérosols sur l'appareil respiratoire (irritation, obstruction des voies respiratoires, maladies cardio-vasculaires) sont induits par des organismes non pathogènes voire des fragments d'organismes (Walser *et al.*, 2015). Ainsi, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) recommande des concentrations maximales de 300 CFU .m<sup>-3</sup> dans l'air intérieur (World Health Organization, 2016; Esquivel-Gonzalez *et al.*, 2017) et des législations se mettent en place pour l'air intérieur comme sur les sites de traitements des déchets (British Government, 2018).

L'évaluation des sources potentielles est devenue primordiale. A ce titre, les émissions potentielles des procédés biologiques de dépollution sont mises en lumière. Les procédés biologiques sont mis en place pour le traitement d'une pollution chimique et ils offrent des performances des coûts de fonctionnement intéressants (Cabrol, 2010). Néanmoins, ces procédés mettent en œuvre un milieu microbien et par conséquent peuvent engendrer une émission.

Au sein de ces procédés biologiques de traitement de l'air, le biofiltre est un des moyens les plus utilisés pour la remédiation de la pollution odorante et des composés organiques volatils (COV). Il se compose d'un garnissage qui accueille la microflore apte à réaliser la dégradation et au travers duquel le passage de l'effluent pollué est forcé. Les interrogations précédentes s'appliquent alors entièrement aux biofiltres.

C'est pourquoi ce travail de thèse est centré sur l'étude des émissions de micro-organismes depuis les procédés biologiques. Il souhaite, dans le premier chapitre replacer la problématique des bioaérosols émis par les procédés biologiques de dépollution dans son contexte en répondant aux questions suivantes : Comment collecter et analyser les bioaérosols ? Quels moyens de collecte sont les plus appropriés ? Ensuite concernant les procédés biologiques, quelle est la concentration de micro-organismes émise dans l'air depuis ces procédés ? Quelles sont les étapes les plus émettrices ? Quelle est l'influence des paramètres opératoires sur ces émissions ? L'analyse des données de la littérature permet de relever les manques et des contradictions dans les données, notamment au niveau des procédés de traitement des effluents gazeux. L'influence des paramètres opératoires régissant le fonctionnement des biofiltres nécessite d'être plus approfondi. (Fletcher *et al.*, 2014).

Ainsi, le travail expérimental, présenté dans les 2 chapitres suivants, est focalisé sur ce procédé et souhaite apporter des connaissances sur les capacités d'un biofiltre à émettre ou à filtrer les micro-organismes de l'air sur de longues périodes de fonctionnement. Mais également sur l'influence des paramètres opératoires sur cette capacité. De plus le comportement du procédé en régime transitoire vis-à-vis de ces émissions sera approché ainsi que sa caractérisation mathématique.

Le deuxième chapitre s'attache à analyser les émissions en micro-organismes de biofiltres pilotes opérés en conditions stationnaires sur le long terme grâce au suivi régulier des concentrations en entrée et en sortie des particules viables. Puis, l'influence de paramètres opératoires est observée. Le premier objectif de ce chapitre est au travers de deux articles et d'éléments supplémentaires de connaître les capacités de rétention et/ ou d'émission d'un biofiltre face à une augmentation de l'âge du biofilm, ou des variations saisonnières. Le second objectif est d'évaluer l'influence de paramètres opératoires comme la présence en polluant chimique et l'humidité du garnissage.

Le troisième chapitre regarde l'influence du régime transitoire du biofiltre sur ses émissions de bioaérosols, et utilise ces données pour caractériser mathématiquement les phénomènes internes conduisant à l'émission de micro-organismes dans l'air depuis le procédé. Ce chapitre se structure en deux articles que nous souhaitons soumettre prochainement.

# Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

## Table des matières

<b>Chapitre 1 : Synthèse bibliographique .....</b>	<b>16</b>
1.1. Les bioaérosols : la microbiologie de l'air .....	17
1.1.1. Définition des aérosols et des bioaérosols.....	17
1.1.2. L'air, un milieu hostile aux micro-organismes.....	17
1.1.2.2. <i>Etat des micro-organismes</i> .....	18
1.1.3. L'aérosolisation des micro-organismes .....	19
1.1.1. Communauté microbienne de l'air .....	25
1.1.2. Impact sanitaire lié à l'exposition aux bioaérosols.....	26
1.1.3. Réglementations .....	31
1.2. Echantillonnage et analyse des aérosols microbiens : enjeux et comparaison.....	31
1.2.1. Généralités et enjeux de la collecte des bioaérosols microbiens .....	32
1.2.2. Les principaux moyens de collecte.....	35
1.2.3. Comparaison des moyens de collecte.....	49
1.2.4. Techniques d'analyse .....	57
1.3. Le paradoxe des procédés biologiques : un service utile mais une source d'émissions de bioaérosols. 63	
1.3.1. Les procédés de traitement : la physique, chimie et biologie au service de l'environnement .....	63
1.3.2. Les émissions de micro-organismes : une problématique qui prend de l'ampleur. ....	65
Implication de la synthèse bibliographique et stratégie de recherche .....	81

# 1.1. Les bioaérosols : la microbiologie de l'air.

## 1.1.1. Définition des aérosols et des bioaérosols

La norme NF X 43-001 (1982) définit un aérosol comme toute particule solide ou liquide en suspension dans un milieu gazeux (AFNOR, 1982) et ayant une vitesse de sédimentation maximale inférieure à  $25 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$  (Courtois, Cadou and INRS, 2008). Les bioaérosols sont des particules aéroportées d'origine biologique, qui comprennent des micro-organismes vivants ou morts, ainsi que des fragments cellulaires (endotoxines, glucanes etc.), et des virus (Fracchia et al. 2006; Peccia & Hernandez 2006).

La part des aérosols biologiques dans les aérosols totaux est variable et comprise entre 0,01 et 80% (Gonzalez Herrera, 2014). Si les aérosols ont des diamètres aérodynamiques s'échelonnant de  $0,005 \mu\text{m}$  à  $100 \mu\text{m}$ , la gamme de diamètres des bioaérosols est plus restreinte, généralement comprise entre  $0,02 \mu\text{m}$  et  $100 \mu\text{m}$ . Dans ce travail, l'accent sera mis sur la microflore aéroportée, composée des bactéries et champignons possédant un diamètre aérodynamique de  $0,5$  à  $10 \mu\text{m}$  (Li et al., 2011).

## 1.1.2. L'air, un milieu hostile aux micro-organismes

### 1.1.2.1. Les stress environnementaux

L'air n'est pas un milieu favorable aux micro-organismes, il ne favorise pas leur développement, et est généralement hostile (Cox, 1989). En effet, lorsqu'ils sont aérosolisés, les micro-organismes sont confrontés à des conditions environnementales pouvant altérer leur viabilité. Trois types de stress sont généralement recensés :

- Le stress chimique, par exemple celui causé par l'ozone. L'ozone affecte la cultivabilité des bactéries et champignons et inactive les virus (Peccia and Hernandez, 2006).
- Le stress climatique (Jones and Harrison, 2004). La température et l'humidité relative sont les principaux facteurs affectant les concentrations en aérosols microbiens. La température terrestre moyenne est de  $15 \text{ }^\circ\text{C}$  au sol, mais peut atteindre  $-50 \text{ }^\circ\text{C}$  à une altitude de  $10 \text{ km}$ .

Plus elle diminue, plus les concentrations en bactéries (Bovallius *et al.*, 1978; Lighthart *et al.*, 2004; Harrison *et al.*, 2005) et en champignons (Katial *et al.*, 1997; Burch and Levetin, 2002; Adhikari *et al.*, 2006) diminuent. L'humidité relative conditionne le stress hydrique imposé aux micro-organismes. La survie des microorganismes face aux modifications de ces facteurs est très variable : certains sont très sensibles (ex : *Pseudomonas*, microorganismes dit « sensibles » en général), d'autres plus résistants (ex : champignons, *Bacillus*, microorganismes dit « résistants » en général) (Israeli, Shaffer and Lighthart, 1993; Peccia *et al.*, 2001; Yao and Mainelis, 2006b; Chataigné, 2007) .

- Le stress physique : Les radiations atmosphériques, principalement représentées par les rayons ultraviolets. Ils génèrent des cassures au sein du matériel génétique des micro-organismes (Moletta, 2005) ce qui induit une perte de viabilité (Tong and Lightharp, 1997). D'autres radiations présentes dans l'atmosphère (ex : radiations  $\gamma$ ) sont également susceptibles d'affecter la viabilité des micro-organismes.

#### 1.1.2.2. *Etat des micro-organismes*

L'air impose donc de multiples stress aux micro-organismes, qui peuvent affecter leur état physiologique (Estrillore *et al.*, 2016). Ainsi les cellules retrouvées dans l'air seront vivantes à mortes, en passant par la présence de forme de résistances.

La viabilité des cellules microbiennes peut être définie soit comme la capacité de cette cellule à former une progéniture soit comme le maintien de l'homéostasie cellulaire (Cangelosi and Meschke, 2014). Une cellule perd sa viabilité lorsqu'elle perd ces capacités. D'un point de vue technique, la distinction de ces deux états n'est pas aisée. La viabilité a été approchée par différentes voies : la cultivabilité, le maintien de l'intégrité cellulaire ou le maintien de l'activité cellulaire (Keer and Birch, 2003).

La cultivabilité d'un micro-organisme permet d'approcher la capacité de multiplication d'une cellule par la croissance sur un milieu adapté (Oliver, 2005). Cependant, les milieux développés ne permettent pas de mettre en culture la totalité des microorganismes, certains ayant des exigences particulières. De plus, les organismes capables uniquement de maintenir l'homéostasie cellulaire sont des organismes appelés plus couramment « viable mais non cultivable » (VBNC) (Xu *et al.*, 1982). L'état VBNC est généralement atteint par un micro-organisme en réponse à un stress : température, exposition aux UV ou ozone, manque d'éléments nutritifs, etc. (Oliver, 2005).

Selon Amann et al. 1995, seul 0,01 à 10% de la microflore des écosystèmes est cultivable, entraînant ainsi une mauvaise estimation de la communauté par méthodes culturales. Peccia & Hernandez 2006 estiment que seulement 1% des micro-organismes dans l'air sont cultivables.

Les spores sont des cellules spécialisées formées par des espèces de bactéries et de champignons lorsque les conditions environnementales sont défavorables. Ces cellules montrent une résistance accrue à divers facteurs de stress, comme la température, l'absence de nutriments ou la dessiccation (Alonso, Bejot and Forterre, 2018). La spore est donc une forme microbienne adaptée à la survie dans l'atmosphère, ce qui peut permettre leur dissémination sur de longues distances (Kellogg and Griffin, 2006).

### 1.1.3. L'aérosolisation des micro-organismes

Les bioaérosols sont présents dans l'air sur toute la surface du globe et jusqu'à plusieurs kilomètres du sol. Les microorganismes présents dans l'air proviennent de réservoirs, à partir desquels ils s'aérosolisent de façon active ou passive pour former les aérosols biogéniques primaires (PBA).

L'aérosolisation d'un micro-organisme est définie comme le transfert des microorganismes d'une phase liquide (plan d'eau, rivière, océan) ou solide (terre, roche, feuilles) vers une phase gazeuse (ici, l'air). Des phénomènes physiques générant du mouvement ou de l'agitation dans la phase solide ou liquide sont à l'origine de ce phénomène (vent, agitation mécanique, bullage des liquides, marche d'une personne sur le sol, etc.). Les quatre réservoirs naturels émetteurs de microorganismes sont le sol, l'eau, les surfaces diverses (feuilles des plantes, bâtiments, etc.) et les animaux. Les mécanismes responsables de l'émission ne sont pas similaires pour ces différents réservoirs.

#### 1.1.3.1. L'aérosolisation depuis le sol

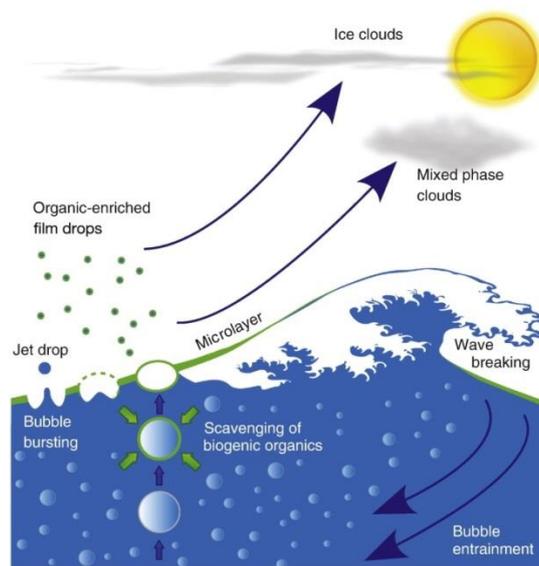
L'érosion éolienne est le phénomène principal provoquant l'aérosolisation depuis le sol, et est causé en majeure partie par le vent. Les particules ayant un diamètre inférieur ou égal à 75  $\mu\text{m}$  commencent à s'aérosoliser pour une vitesse de vent supérieure à 0,2  $\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$  (Grini, Zender and Colarco, 2002). Ainsi, une faible agitation ou mouvement d'air suffit donc à aérosoliser la majorité des bioaérosols selon deux mécanismes : la saltation et la suspension. La saltation est le transport horizontal des particules sur le sol, sous l'effet du vent (Grini, Zender and Colarco, 2002). Ainsi, en fonction du diamètre des particules, les comportements suivants sont observés :

- Les particules de diamètres importants ( $d_{\text{median}} = 14,2 \mu\text{m}$ ) se déplacent horizontalement en roulant sous l'effet du vent mais restent au sol, selon le mécanisme appelé reptation.
- Les particules de diamètre intermédiaire ( $d_{\text{median}} = 6,7 \mu\text{m}$ ) se déplacent horizontalement mais les obstacles les font décoller. Le vent les transporte alors jusqu'à une distance d'environ un mètre avant que la gravité ne les fasse retomber.
- Les particules de petit diamètre ( $d_{\text{median}} = 1,5 \mu\text{m}$ ) décollent sous l'effet du vent et se font aérosoliser dans le flux d'air, où elles resteront en suspension sous forme d'aérosols.

Le sol est un important réservoir de micro-organismes pouvant s'aérosoliser. Sa population bactérienne a été estimée à  $2,6 \times 10^{29}$  cellules (Whitman, Coleman and Wiebe, 1998). En prenant les champignons comme marqueur, Elbert et al. 2007 ont déterminé un taux d'émission annuel de  $5 \times 10^7$  t de spores dans l'atmosphère provenant des terres émergées.

#### 1.1.3.2. L'aérosolisation depuis les liquides

L'aérosolisation des micro-organismes depuis une phase aqueuse est un phénomène important dans la nature conduisant à des émissions annuelles importantes d'aérosols organiques de tailles inférieures au micromètre ( $10 \pm 5 \text{ Tg} \cdot \text{an}^{-1}$ , Wilson *et al.*, 2015).



**Figure 1. Différents mécanismes d'aérosolisation des micro-organismes depuis les liquides (Wilson *et al.*, 2015).**

Dans les milieux liquides naturels, l'envol est régi par des effets d'agitation mécanique (vagues) et du vent (Figure 1). Un vent de vitesse supérieure à  $5 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$  suffit à aérosoliser des microgouttelettes d'eau (taille moyenne de  $100 \mu\text{m}$ ) (Lewis and Schwartz, 2004) contenant des micro-organismes (Lighthart *et al.*, 2004; Mouli, Mohan and Reddy, 2005). De plus, l'agitation mécanique produite par les gouttelettes d'eau heurtant la surface du liquide aérosolise aussi les micro-organismes et correspond au phénomène appelé jet drop (Blanchard and Syzdek, 1982; Modini, Harris and Ristovski, 2010; Wilson *et al.*, 2015). Le film drop intervient lors de l'éclatement de bulles à la surface, qui projette des micro-organismes dans l'air par effet mécanique, qui se font ensuite aérosoliser. Les concentrations bactériennes de l'océan dépendent de la profondeur étudiée. Ainsi pour les premiers 200 m de profondeur, la concentration est estimée à  $5 \times 10^5$  cellules  $\cdot \text{ml}^{-1}$  et la population globale à  $3,6 \times 10^{28}$  cellules. En dessous de 200 m, la population est estimée à  $6,5 \times 10^{28}$  cellules et la concentration à  $5 \times 10^4$  cellules  $\cdot \text{ml}^{-1}$  (Whitman, Coleman and Wiebe, 1998). Le taux d'émission de spores en provenance des océans est de  $1 \times 10^7 \text{ t} / \text{an}$ , soit inférieur d'un facteur 5 à celui des terres émergées (Elbert, Taylor and Andreae, 2007).

#### 1.1.3.3. *L'aérosolisation depuis des surfaces*

Les micro-organismes s'aérosolisent également à partir d'autres surfaces telles que les feuilles des végétaux ou la peau des animaux sous l'action du vent, d'un déplacement. La surface des feuilles et autres parties aériennes de l'ensemble des végétaux de la planète est appelé phyllosphère. Sa surface est estimée à  $5.1 \times 10^8 \text{ km}^2$  comportant une communauté bactérienne estimée à  $10^{26}$  cellules ( $10^6 - 10^7$  bactéries  $\cdot \text{cm}^{-2}$ ) (Vorholt, 2012). La phyllosphère pourrait représenter une importante source de bioaérosols en parallèle du sol et des océans.

#### 1.1.3.4. *L'aérosolisation active*

L'aérosolisation n'est pas seulement le résultat d'actions externes, dans certains cas les organismes eux-mêmes peuvent entraîner une aérosolisation. C'est le cas pour l'émission de pollens ou de spores de champignons par exemple. De plus, les animaux, êtres humains compris, sont aussi sources d'aérosolisation de micro-organismes, principalement à travers leur système respiratoire (respiration, toux, etc.). Des mécanismes actifs comme l'éternuement expulsent des bioaérosols dans l'atmosphère. Les humains transportent en moyenne  $10^{12}$  micro-organismes sur leur peau et  $10^{14}$  dans leur système digestif.

En moyenne,  $9 \times 10^5$  bioaérosols (particules biologiques fluorescentes) par heure sont émis d'une personne assise et  $6 \times 10^6$  bioaérosols par heure d'une personne en marche (Bhangar *et al.*, 2015).

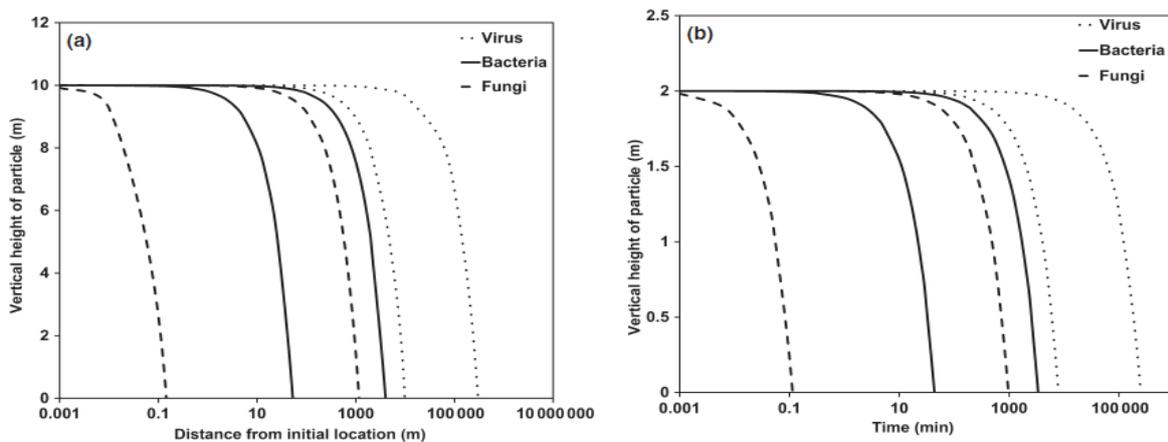
### 1.1.3.5. Le comportement des bioaérosols dans l'air

Le temps de séjour des micro-organismes dans l'air dépend de leur vitesse de sédimentation définie par l'équation de Stokes en régime laminaire :

$$U_g = \frac{g(\rho_p - \rho_f)d_g^2}{18\eta} \quad (\text{Eq. 1})$$

Avec  $U_g$  la vitesse limite de chute ( $\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ ),  $g$  l'accélération de la pesanteur ( $\text{m} \cdot \text{s}^{-2}$ ),  $\rho_p$  et  $\rho_f$  les masses volumiques de la particule et du fluide ( $\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$ ),  $d$  le diamètre de la particule (m) et  $\eta$  la viscosité dynamique du fluide ( $\text{Pa} \cdot \text{s}$ ).

Cette vitesse définit donc à la fois le temps que mettra la particule à atteindre le sol mais aussi la distance que cette dernière pourra potentiellement parcourir avant cette sédimentation (Figure 2).



**Figure 2. Distance parcourue potentielle et temps de séjour potentiel des bioaérosols (Prussin *et al.*, 2014).**

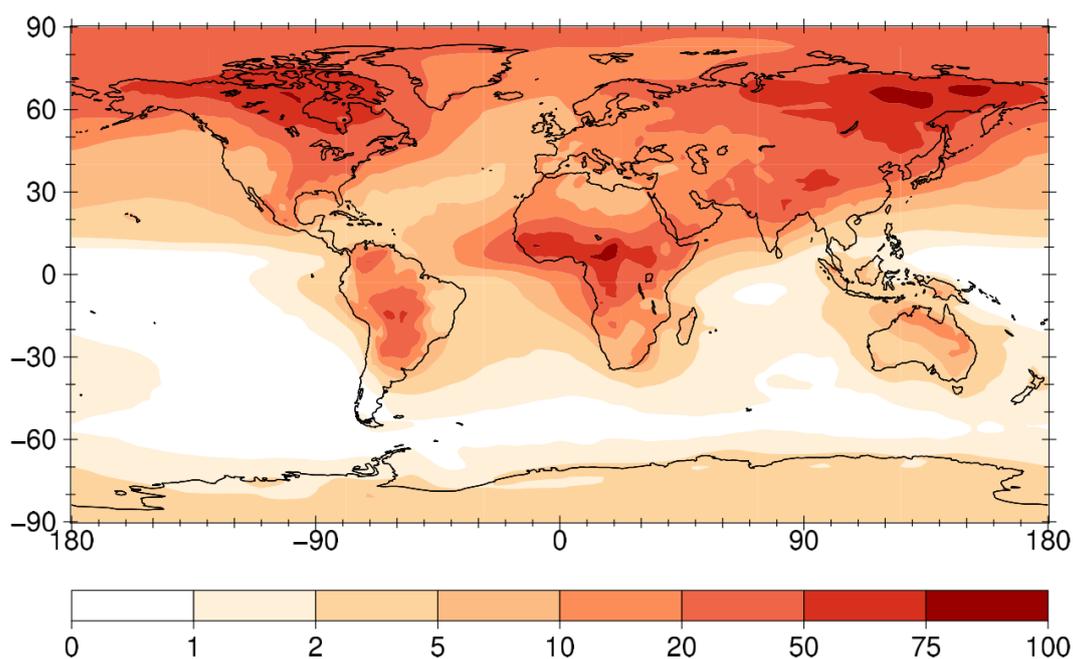
Prussin *et al.*, 2014 ont déterminé que les bactéries, champignons et virus pouvaient se déplacer sur des milliers de mètres et pouvaient rester en suspension de quelques minutes (champignons) à plusieurs heures (bactéries) voire des jours (virus). Le temps de séjour atmosphérique moyen des traceurs bactériens ( $1\mu\text{m}$ ) est de 3,4 jours d'après Burrows *et al.*, 2009a.

### 1.1.4. Bioaérosols à l'état naturel

L'ensemble des environnements naturels émet donc des bioaérosols. Néanmoins, la nature n'est pas leur seule source : les activités anthropiques, telles que l'agriculture ou l'industrie, émettent-elles aussi des micro-organismes. Cette partie s'intéressera donc à décrire ces différentes sources naturelles et anthropiques.

#### 1.1.4.1. Les environnements naturels

Des bioaérosols sont émis par l'ensemble de la surface terrestre. Les concentrations en micro-organismes mesurées dans l'air au-dessus de différents environnements terrestres varient en fonction des auteurs : entre  $10^2$  (Delaunay, 1997; Bungler *et al.*, 2000; Hours, 2003) et  $10^5$  UFC .m<sup>-3</sup> dans l'air (Lighthart and Shaffer, 1994; Shaffer and Lighthart, 1997; Tong and Lighthart, 1999; Tilley, Ho and Eamus, 2001; Bauer, Kasper-Giebl, *et al.*, 2002; Harrison *et al.*, 2005; Griffin, Westphal and Gray, 2006; Burrows, Elbert, *et al.*, 2009).



**Figure 3. Variation des émissions de bactéries dans la colonne d'air ( $10^6 \cdot \text{m}^{-2}$ ) sur la surface terrestre (Burrows, Butler, *et al.*, 2009).**

Burrow *et al.*, 2009 ont estimé les émissions de bactéries de la surface de la planète entre 0 et  $100 \times 10^6$  bactéries .m<sup>-2</sup> (Figure 3).

Ces émissions semblent supérieures aux concentrations mesurées au-dessus de ces derniers, et pourraient impliquer qu'un nombre important de micro-organismes s'aérosolisent mais que seule une partie survie assez longtemps pour être mesurée (concentration). Le flux d'émissions des spores fongiques a été estimé à 200 spores  $\cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$  sur l'ensemble de la planète (Elbert, Taylor and Andreae, 2007).

Ainsi, une microflore sera naturellement présente dans l'air. Elle est régulièrement appelée le bruit de fond dans les études.

#### 1.1.4.2. *Les sources anthropiques*

Les activités humaines sont source de bioaérosols (Gilbert and Duchaine, 2009). Ainsi, les concentrations mesurées, en air intérieur comme extérieur en milieu anthropisé, sont souvent plus importantes que les concentrations naturellement retrouvées (Gilbert and Duchaine, 2009). Les activités agricoles, industrielles et le traitement des déchets sont dans ce cas-là.

##### 1.1.4.2.1. L'agriculture

Les activités agricoles entraînent de nombreux déplacements de matières organiques chargées en micro-organismes (sols, végétaux, fumier...) ou la présence d'animaux qui induisent une émission de micro-organismes. Ainsi, les concentrations en bioaérosols mesurées dans les zones agricoles sont supérieures au bruit de fond (Gilbert & Duchaine 2009, Mackiewicz et al, 2015), Ainsi, les concentrations en bioaérosols dans l'agriculture peuvent donc être jusqu'à 3 ordres de grandeur plus élevées que celles retrouvées naturellement. Concernant les bioaérosols bactériens, les activités de traitement et transformation des végétaux induisent des concentrations allant de  $10^2$  à  $10^6$  UFC  $\cdot m^{-3}$ , et sont moins émettrices que les activités animales (élevages, etc.) qui peuvent générer jusqu'à  $10^8$  UFC  $\cdot m^{-3}$  (Gilbert & Duchaine 2009 ). La situation est inverse pour les bioaérosols fongiques, l'élevage conduisant à des concentrations de  $10^2$  à  $10^4$  UFC  $\cdot m^{-3}$  tandis que les activités sur les végétaux génèrent de  $10^4$  à  $10^9$  UFC  $\cdot m^{-3}$ .

##### 1.1.4.2.2. L'industrie

Les activités industrielles génèrent des bioaérosols lors de différents procédés de transformation (Gilbert and Duchaine, 2009). Comme pour l'agriculture, les concentrations sont fonction de l'industrie étudiée.

Les deux industries émettant le plus de micro-organismes sont les industries textiles ( $10^5$  et  $10^4$  UFC  $\cdot m^{-3}$  pour les bactéries et champignons respectivement) et les scieries ( $10^4$  (bact.) et  $10^6$  (champ.) UFC  $\cdot m^{-3}$ ). A l'inverse, les aciéries semblent émettre le moins de bioaérosols ( $10^1 - 10^2$  UFC  $\cdot m^{-3}$  (bactéries)). De façon similaire à l'agriculture, il semble que plus l'industrie utilise une matière première végétale brute, plus elle émet des bioaérosols (scieries, usines textiles). Concernant les activités animales comme les abattoirs, les concentrations semblent réduites par rapports aux activités agricoles ( $10^3$  UFC  $\cdot m^{-3}$  pour les bactéries (Paba *et al.*, 2014) et jusqu'à  $10^2$  UFC  $\cdot m^{-3}$  pour les champignons (Viegas *et al.*, 2016)).

#### 1.1.4.2.3. Le traitement des déchets

Le traitement des déchets repose sur des procédés de dépollution qui manipulent et agitent des matières chargées en micro-organismes (boues d'épuration, eaux usées d'égout, bassins biologiques des biolaveurs de gaz, garnissage des biofiltres, etc.). Les émissions de ces procédés seront détaillées dans une partie propre (cf. Chap. 1.3).

### 1.1.1. Communauté microbienne de l'air

La diversité des espèces microbienne de l'air sera présentée dans cette partie. Plusieurs inventaires de la flore aéroportée de l'atmosphère ont été réalisés par méthodes culturales et moléculaires. Les concentrations varient entre  $10^2$  et  $10^5$  UFC  $\cdot m^{-3}$  en moyenne (voir 1.1.4.1. Les environnements naturels). La composition de cette flore est variable : Esquivel *et al.*, 2017 ont estimé que l'air était composé à 79% de bactéries et 21% de champignons, contre 40% de bactéries et 60% de champignons pour Małecka-Adamowicz *et al.*, 2007. Griffin *et al.*, 2003 ont déterminés que la communauté bactérienne était composée majoritairement de bactéries Gram +. Les principaux genres identifiés par culture sont *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Bacillus*, et *Pseudomonas* pour les bactéries, et *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* et *Penicillium* pour les champignons (Le Goff, 2010). Plusieurs inventaires moléculaires ont été réalisés aussi bien en air extérieur qu'intérieur (Radosevich *et al.*, 2002; Angenent *et al.*, 2005; Maron *et al.*, 2005; Paez-Rubio *et al.*, 2005; Brodie *et al.*, 2007; DeSantis *et al.*, 2007; Després, Nowoisky and Klose, 2007; Pitkäranta *et al.*, 2008; Polymenakou *et al.*, 2008; Tringe *et al.*, 2008; Fierer *et al.*, 2008; Bowers *et al.*, 2009; Frohlich-Nowoisky *et al.*, 2009; Fahlgren *et al.*, 2010), laissant apparaitre que l'air est majoritairement composé des phyla *Proteobacteria*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* et *Bacteroidetes*, avec une majorité de *Proteobacteria*. Pour les champignons, les phyla majoritaires sont *Ascomycota* et *Basidiomycota*.

## 1.1.2. Impact sanitaire lié à l'exposition aux bioaérosols

Bien que l'homme soit exposé aux bioaérosols depuis toujours, ces derniers ont un impact sanitaire reconnu (Douwes *et al.*, 2003).

### 1.1.2.1. Influence de la granulométrie

La granulométrie des aérosols influe sur leur pénétration au sein de l'organisme via les voies respiratoires (Anderson, Thundiyil and Stolbach, 2012; Kim, Kabir and Kabir, 2015). Les aérosols sont classés en 3 catégories selon leur diamètre : les PM<sub>10</sub>, les PM<sub>2.5</sub> et les PM<sub>1</sub>.

Les PM<sub>10</sub>, dites particules grossières respirables, rassemblent toutes les particules aérosolisées de diamètre 10  $\mu\text{m}$  ou inférieur. Les particules de 5 à 10  $\mu\text{m}$  de diamètre pénètrent jusqu'au nasopharynx tandis que celles de 3 à 5  $\mu\text{m}$  atteignent la trachée (Figure 4). Les PM<sub>2.5</sub> ou particules fines respirables, regroupent toutes les particules de diamètre 2,5  $\mu\text{m}$  ou inférieur. Elles pénètrent plus profondément, les particules de diamètre 2 à 3  $\mu\text{m}$  peuvent se retrouver dans les bronches, et celles de 1 à 2  $\mu\text{m}$  dans les bronchioles. Les PM<sub>1</sub> regroupent les particules très fines, ultra fines et les nanoparticules respirables, de diamètre 1  $\mu\text{m}$  ou inférieur. Ces particules atteignent les alvéoles pulmonaires et les tissus respiratoires.

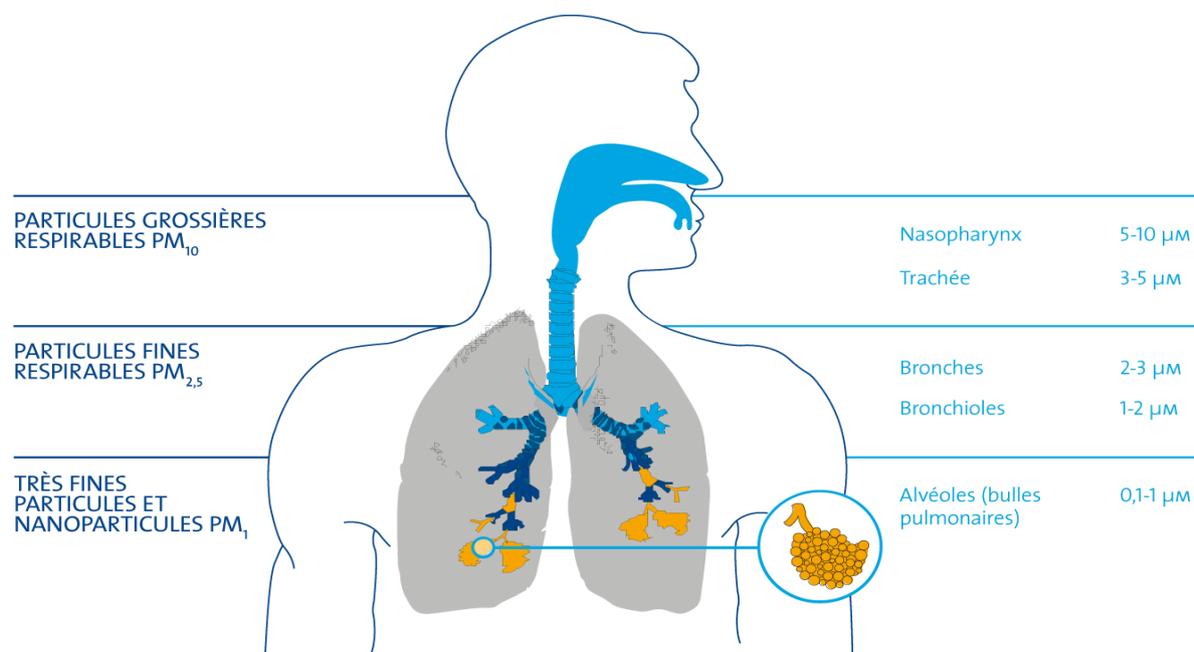


Figure 4. Niveau de pénétration des particules fines aéroportées dans les voies respiratoires en fonction de leur diamètre (<https://micronairblue.com/fr/particules-fines>).

L'impact sanitaire de ces particules va de la simple irritation pouvant induire des complications telles l'asthme, ou une diminution des capacités respiratoires, etc. (Anderson, Thundiyil and Stolbach, 2012) à des effets sur les fonctions cardiovasculaires (Kim, Kabir and Kabir, 2015). Les particules les plus fines atteignant les alvéoles pulmonaires affectent l'échange des gaz dans les poumons. Celles rejoignant la circulation sanguine se dispersent dans l'organisme et peuvent causer de sévères complications cardio-vasculaires (Kim, Kabir and Kabir, 2015).

L'exposition à ces particules a des effets sur la santé aussi bien à court terme (irritation, inflammation, etc.) qu'à long terme (cancer, etc.). Il y a 25 ans, une hausse de 30% de la mortalité dans les villes les plus polluées en PM10 et inférieures était révélée, principalement due au cancer des poumons et à des maladies cardio-respiratoires (Dockery *et al.*, 1993; Pope *et al.*, 1995). Chaque augmentation de  $10 \mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$  des PM2.5 conduit à une augmentation de 9% de la mortalité, de 18% de la mortalité des maladies cardiovasculaire ischémiques, et de 13% de la mortalité des complications cardiaques telles que l'arythmie et les crises cardiaques (Pope *et al.*, 2002, 2004). Aujourd'hui, 3% des morts dues aux maladies cardiopulmonaires et 5% de celles dues au cancer des poumons peuvent être attribuées aux particules respirables (Fang *et al.*, 2013; Kim, Kabir and Kabir, 2015). Il est important de rappeler que la gamme de diamètre micro-organismes libre dans l'air va de 0,5 à 10  $\mu\text{m}$  en moyenne (Li *et al.*, 2011), ce qui les catégorise comme des PM10 et inférieures.

#### 1.1.2.2. *L'impact des bioaérosols*

De nombreuses catégories socio-professionnelles sont confrontées à des expositions de microorganismes aéroportés : agriculteurs (Basinas *et al.*, 2015; Tarigan *et al.*, 2017; Douglas *et al.*, 2018), personnels de soins (Lavoie *et al.*, 2015), personnels du traitement des déchets (Van Kampen *et al.*, 2016; Dubuis *et al.*, 2017), voire personnels construisant des parcs d'énergies solaires (Wilken *et al.*, 2015). Górný mentionne que 151 catégories socio-professionnelles réparties dans 22 branches industrielles seraient concernées par la problématique des bioaérosols (Górný, 2016). L'exposition de personnes à de fortes concentrations en bioaérosols a mis en exergue leur impact sanitaire (Walser *et al.*, 2015). Des diminutions significatives des fonctions respiratoires, (asthme ou d'inflammation) ont été trouvées au sein de l'industrie de la transformation du bois (Mandryk, Alwis and Hocking, 2000; Schlünssen *et al.*, 2011), des élevages de volailles (Rimac *et al.*, 2010; Sabino *et al.*, 2012) ou du traitement des déchets domestiques (Heldal *et al.*, 2003) ou organiques (Compostages, Douwes *et al.* 2000).

**Tableau 1. Impact sur la santé des différents bioaérosols (d'après (Douwes *et al.*, 2003)).**

Agent	Infection	Maladies respiratoires	
		Non allergiques	Allergiques
Bactéries	*	*	
Endotoxines		*	
Peptidoglycanes		*	
Champignons	*	*	*
Mycotoxines		*	
$\beta(1,3)$ -glucanes		*	
Enzymes microbienne			*
Virus	*		

Les affections causées par ces contaminants sont souvent proches de celles dues aux particules. Cependant, l'exposition aux bioaérosols est généralement associée à 3 types de maladie (Tableau 1) : les maladies infectieuses, les maladies respiratoires (de type allergique ou non) et les cancers (Douwes *et al.*, 2003; Kim, Kabir and Jahan, 2017).

Le Tableau 1 récapitule les principaux impacts sur la santé des différents bioaérosols. Les micro-organismes entiers (bactéries, champignons) et les virus peuvent provoquer les maladies infectieuses. Les fragments d'organismes ont également un impact sanitaire. Les composés cellulaires tels que les endotoxines, les peptidoglycanes, les mycotoxines et les  $\beta(1,3)$ -glucanes peuvent causer des maladies respiratoires allergiques ou non.

**Tableau 2. Types de maladies respiratoires allergiques et non allergiques causées par les bioaérosols (d'après (Douwes *et al.*, 2003)).**

Non allergiques	Allergiques
Asthme non allergiques	Asthme allergique
Rhinite non allergique / irritations des membranes muqueuses (IMM).	Rhinite allergique
Bronchite chronique	Pneumopathie d'hypersensibilité (PH) / alvéolite allergique extrinsèque (AAE) / poumon de l'agriculteur
Obstruction chronique des voies respiratoires	
Syndrome de la poussière organique	
Cancer	

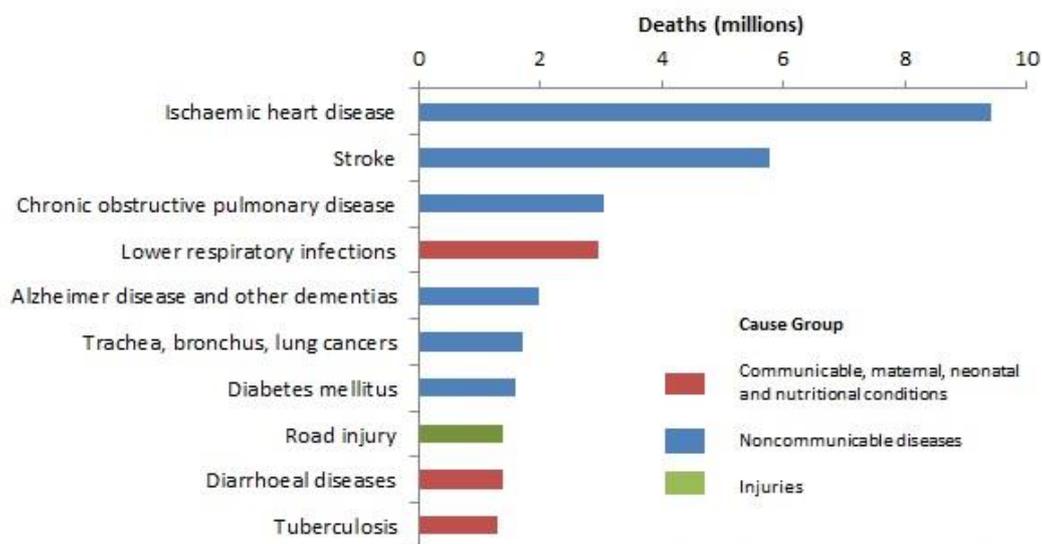
Pour mieux appréhender les maladies respiratoires pouvant être induites par les bioaérosols, le Tableau 2 reprend les principaux exemples : asthme, rhinite, bronchite chronique et des obstructions des voies respiratoires. Cependant, après avoir développé une réaction d'hypersensibilisation, toute exposition, même à de faible quantité d'allergènes, entraîne de sévères réactions (Douwes *et al.*, 2003).

Des exemples de maladies infectieuses transmises par voies aériennes sont présentés dans le Tableau 3. Les infections se développent après exposition aux agents infectieux. L'air est un vecteur de micro-organismes et dont certains sont pathogènes (Van Leuken *et al.*, 2016). Les voies respiratoires sont un point d'entrée courant pour nombre d'entre eux (Douwes *et al.*, 2003; Kim, Kabir and Jahan, 2017). De nombreux virus se transmettent aussi de façon aéroportée (Eames *et al.*, 2009).

**Tableau 3. Exemple de maladies infectieuses pouvant être causées par des bioaérosols (d'après (Douwes *et al.*, 2003; Fung and Hughson, 2003)).**

Bactérie	Maladie	Virus	Maladie	Champignons	Maladie
<i>Bordetella pertussis</i>	Coqueluche	Adenovirus	Infection respiratoires	<i>Aspergillus fumigatus</i>	Aspergillose
<i>Yersinia pestis</i>	Peste pneumonique	Herpesvirus	Varicelle		
<i>Staphylococcus aureus</i>	Infection de la plaie	Poxvirus	Petite vérole	Champignons divers	Histoplasmose
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Tuberculose	Togavirus	Rubéole		Coccidioïdomycose
<i>Legionella pneumophila</i>	Légionellose	Orthomyxovirus	Grippe		Cryptococcose
<i>Bacillus anthracis</i>	Anthrax	Paramyxovirus	Rougeole, Oreillons		
<i>Coxiella burnetii</i>	Fièvre Q	Rhabdovirus	Maladie de Newcastle		

## Top 10 global causes of deaths, 2016



Source: Global Health Estimates 2016: Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2016. Geneva, World Health Organization; 2018.

**Figure 5. Les 10 principales causes de morts dans le monde en 2016 (Organisation Mondiale de la Santé : <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/>).**

Plusieurs maladies pouvant être causées par les bioaérosols figurent dans les 10 maladies les plus mortelles au monde listées par l’OMS en 2016 (Figure 5). La cardiopathie ischémique, les infections des voies respiratoires basses, la maladie d’obstruction pulmonaire chronique et le cancer des poumons et voies respiratoires figurent en 1<sup>ère</sup>, 3<sup>ème</sup>, 4<sup>ème</sup> et 5<sup>ème</sup> place respectivement. La tuberculose est la 9<sup>ème</sup> cause, et première maladie infectieuse la plus mortelle au monde. Cette maladie se transmet d’homme à homme par voie aérienne uniquement.

Au fil des études sur les émissions de bioaérosols par des procédés (biologiques ou physico-chimiques), deux micro-organismes suscitent un intérêt particulier : *A. fumigatus* et *Legionella pneumophila*. Pour *A. fumigatus*, il est supposé que la raison en est sa banalité dans les environnements terrestres, sa dispersion aéroportée et sa dangerosité. En effet, *A. fumigatus* peut provoquer l’aspergillose invasive dont les symptômes sont « toux, fièvres, douleurs thoraciques et difficultés respiratoires » chez les patients immunodéprimés, et « est la seconde cause de mortalité par infection fongiques à l’hôpital » (Institut Pasteur, 2018a).

*Legionella pneumophila* est aussi souvent recherchée dans l’air des milieux industriels utilisant de l’eau chaude (tours aéro-réfrigérantes (Walser *et al.*, 2013), etc.).

Cette bactérie se développe dans les environnements aqueux chauds (température optimale de développement de 42°C (Konishi *et al.*, 2006)) et peut entraîner une légionellose (Institut Pasteur, 2018b), une infection bactérienne grave des voies respiratoires, nécessitant l'hospitalisation immédiate (99% des cas) et ayant un taux de mortalité jusqu'à 40% (Bartram *et al.*, 2008).

### **1.1.3. Réglementations**

Au contraire des aérosols, peu de réglementations existent au niveau européen ou mondial concernant les bioaérosols. Les réglementations existantes concernent l'air intérieur (concentration dans les immeubles d'habitation et la gestion des déchets). Seules ces dernières seront développées.

#### *1.1.3.1. Réglementations sur les bioaérosols*

Au niveau européen, la Directive 2000 / 54 / EC établit les règles pour la protection des employés vis-à-vis des risques relatifs à l'exposition à des agents biologiques au travail (European Council, 2000). Elle peut s'appliquer aux bioaérosols sans aucune indication particulière les mentionnant. Des règles concernant ces derniers commencent à être mises en application depuis récemment dans certains pays de l'Union Européenne (Górny, 2016). Notamment, l'Angleterre a légiféré pour le contrôle des concentrations en bioaérosols en 2018 (British Government, 2018), à travers la Directive M9 : RPS 209. Cette directive implique le contrôle des émissions en bioaérosols de toutes usines traitant des déchets biologiques, avec une emphase particulière sur celles se trouvant à moins de 250 mètres d'un « récepteur sensible », en d'autres termes une zone où des gens vivent ou travaillent plus de 6h par jour. Ce contrôle implique des mesures de concentrations par la technique de l'impingement (Environment Agency (UK), 2018).

## **1.2. Echantillonnage et analyse des aérosols microbiens : enjeux et comparaison.**

La détermination de la composition qualitative (diversité) et quantitative (quantité) des microorganismes présents dans l'air représente un enjeu au niveau sanitaire et repose sur plusieurs challenges techniques. Cette partie aura pour but de présenter les différents principes de collecte des bioaérosols disponibles à l'heure actuelle, de les comparer et de présenter les méthodes d'analyses disponibles pour les dénombrer.

## 1.2.1. Généralités et enjeux de la collecte des bioaérosols microbiens

### 1.2.1.1. Définition et enjeux de l'échantillonnage

L'échantillonnage des bioaérosols microbiens représente la collecte des bactéries et champignons présents dans un volume d'air donné. (Cox et al., 1995a ; Kulkarni et al., 2011). Ainsi, l'objectif de cette étape est une capture des micro-organismes représentative de l'air étudié. (MARPLE et al., 1976 ; Marple et al., 1993 ; Cox et al., 1995a ; Hinds, 1999 ; Marple et al., 2011). Cependant, l'Air est un écosystème particulier et les difficultés rencontrées lors de cette étape sont multiples :

- La taille des micro-organismes comprise entre 0,5 et 10  $\mu\text{m}$  est une contrainte majeure pour leur capture (Marple, Rubow and Olson, 1993; Cox and Wathes, 1995a; Hinds, 1999; Li *et al.*, 2011).
- La concentration seuil en micro-organismes (bactéries et champignons) dans l'air se situe entre  $10^2$  et  $10^5$  UFC  $\cdot\text{m}^{-3}$  (Burrows, Elbert, *et al.*, 2009), contre  $10^8$   $\cdot\text{L}^{-1}$  dans l'eau (Whitman et al, 1998). Face à ces faibles concentrations, une étape de concentration des microorganismes est nécessaire.
- Lors de la phase de capture, la survie des micro-organismes peut être influencée par la méthode de collecte (Yao & Mainelis, 2006a).

Ainsi, la collecte est réalisée à l'aide d'appareils appelés biocollecteurs ou encore échantillonneurs de bioaérosols. Ils fonctionnent tous selon un même principe de base. Un volume d'air, défini par le débit d'aspiration et le temps d'échantillonnage, est aspiré au travers de l'appareil. Les micro-organismes présents vont être piégés et concentrés selon un mode propre à chaque technique de collecte (boîte de Pétri, liquide de collecte, filtre...). Les micro-organismes ainsi capturés peuvent être analysés (Hinds, 1999 ; Marple et al., 2011).

#### 1.2.1.1.1. Caractérisation des biocollecteurs

Les performances de collecte des micro-organismes influent sur la représentativité de l'échantillon que ce soit du point de vue quantitatif (sous-évaluation de la concentration réelle) ou du point de vue qualitatif (Yao & Mainelis, 2006a ; Stewart et al., 1995)). Classiquement trois paramètres caractérisent ces performances : l'efficacité de capture, l'efficacité biologique et le seuil de coupure (Thompson et al. 1994; Norme NF EN 13098; Norme NF EN 14698-1).

Face à la multiplicité des systèmes de collectes sur le marché ou en cours de développement (Ghosh, Lal and Srivastava, 2015; Therkorn, Thomas, Calderón, *et al.*, 2017; Therkorn, Thomas, Scheinbeim, *et al.*, 2017; Han, Thomas and Mainelis, 2018), il est important de caractériser leurs performances de collecte.

#### Efficacité de capture :

L'efficacité de capture ( $E_c$ ) correspond à la capacité de l'appareil à retenir les micro-organismes. Elle est définie par le nombre de micro-organismes capturés par le collecteur sur le total de micro-organismes présents dans le volume d'air étudié (Norme NF EN 14698-1; Yao & Mainelis 2006b). L'équation donnant l'efficacité de capture est :

$$E_c = \left( \frac{C_{\text{capturé}}}{C_{\text{entrée}}} \right) \times 100 \quad (\text{Eq. 2})$$

Avec :

- $E_c$  : l'efficacité de capture exprimée en %.
- $C_{\text{capturé}}$  : la concentration en micro-organismes retenus lors de la collecte (nb microorganismes .m<sup>-3</sup>).
- $C_{\text{entrée}}$  : la concentration en micro-organismes dans l'air d'entrée (nb microorganismes.m<sup>-3</sup>).

#### Efficacité biologique :

L'efficacité biologique ( $E_b$ ) correspond à la capacité de l'impacteur à préserver la viabilité des micro-organismes après leur capture. Elle est définie par le nombre de micro-organismes viables dénombrés dans l'échantillon divisé par le nombre de micro-organismes viables capturés par l'appareil.

L'efficacité biologique est définie en généralisant l'équation de Mainelis, 1999 :

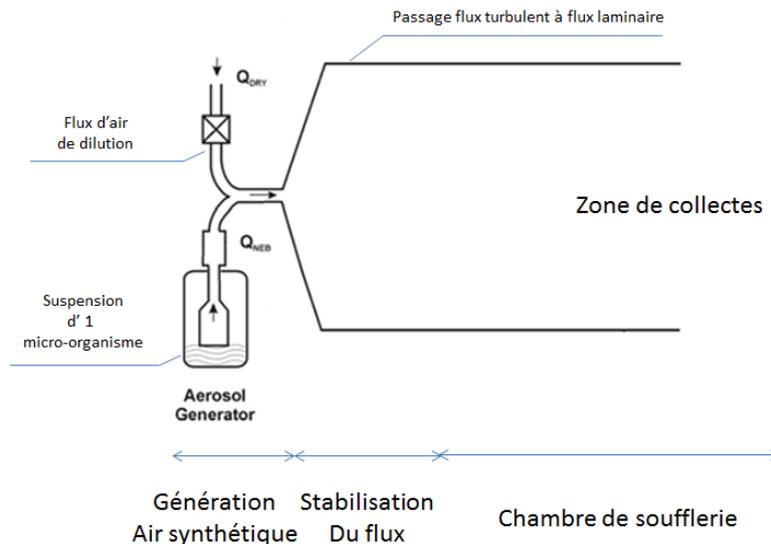
$$E_b = \frac{N_{\text{viable échantillon}}}{N_{\text{viable capturé}}} * 100 \quad (\text{Eq. 3})$$

Où :

- $E_b$  : l'efficacité biologique exprimée en %.
- $N_{\text{viable échantillon}}$  : le nombre d'organismes vivants dénombrés dans l'échantillon.
- $N_{\text{viable capturé}}$  : le nombre de micro-organismes viables capturés.

Afin de calculer ces efficacités, il est nécessaire d'utiliser une chambre de soufflerie (Yao & Mainelis 2006b, Norme NF EN 14698-1, Figure 6).

Dans ces dispositifs, un effluent gazeux synthétique contrôlé contenant un microorganisme spécifique à une concentration connue est généré. Les micro-organismes sont tout d'abord aérosolisés, puis l'air généré est dilué pour contrôler l'humidité. Le design du dispositif assure l'obtention d'un flux laminaire, dans la zone de collecte des micro-organismes.



**Figure 6. Représentation d'une chambre de soufflerie pour la détermination des efficacités.**

Généralement, un compteur de particules est utilisé afin de déterminer les concentrations en entrée et en sortie du biocollecteur. Ainsi, l'efficacité de capture du collecteur peut être déterminée par l'équation (Yao and Mainelis, 2006b) :

$$E_c = \left( 1 - \frac{C_{sortie}}{C_{entrée}} \right) \times 100 \quad (\text{Eq. 4})$$

Avec :

$C_{sortie}$  : la concentration en micro-organismes dans l'air en aval du biocollecteur (nb particules  $\cdot m^{-3}$ ).

Expérimentalement,  $E_b$  est déterminée grâce à l'équation suivante :

$$E_b = \frac{C_{viable}}{(E_c \times C_{entrée} \times F_{viable})} \quad (\text{Eq. 5})$$

Où :

- $C_{viable}$  : la concentration en micro-organismes viables dans l'échantillon.
- $E_c$  : l'efficacité de capture du moyen de collecte.
- $C_{centrée}$  : la concentration en micro-organismes en amont du moyen de collecte.

$F_{viable}$  est défini comme étant (Mainelis, 1999) :

$$F_{viable} = \frac{N_{viable}}{N_{totale}} \quad (\text{Eq. 6})$$

Avec :

- $N_{viable}$  : le nombre de micro-organismes viables dans la suspension du générateur d'aérosols.
- $N_{totale}$  : le nombre total de micro-organismes présents dans cette suspension.

Il est important lors de ces déterminations de considérer les microorganismes pouvant se fixer sur la structure interne de l'appareil. Yao & Mainelis 2006b ont montré que l'efficacité de capture évaluée à 95% pour une particule de diamètre de 5  $\mu\text{m}$  était en réalité de 60% après prise en compte de ce facteur.

Efficacité totale :

L'efficacité totale lors de la mesure des particules viables, peut être définie grâce à l'équation suivante :

$$E_{totale} = E_c \times E_b \quad (\text{Eq. 7})$$

Diamètre de coupure :

Le diamètre de coupure D50 est défini comme étant le diamètre aérodynamique des particules pour lequel l'efficacité de capture du biocollecteur vaut 50% (Yao and Mainelis, 2006b). Le diamètre de coupure est déterminé pour un biocollecteur grâce à la courbe représentant l'efficacité de capture en fonction du diamètre aérodynamique de la particule.

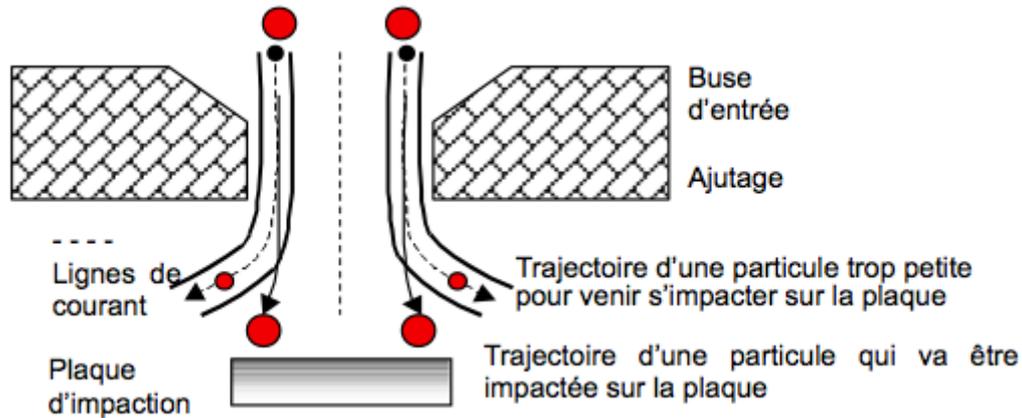
## 1.2.2. Les principaux moyens de collecte

Les biocollecteurs fonctionnent selon différents principes physiques de collecte : l'impact pour l'impaction sur milieu solide ou liquide, la filtration ou bien la précipitation électrostatique.

### 1.2.2.1. Impaction en milieu solide

#### 1.2.2.1.1. Principe

La capture des micro-organismes par la méthode d'impaction est basée sur leurs propriétés aérodynamiques (masse volumique et diamètre aérodynamique) et leur support de récolte qui est généralement une gélose (Figure 7).



**Figure 7. Schéma de la séparation des particules par impaction (Renoux et Boulaud, 1998).**

La séparation des particules est engendrée par l'accélération du flux d'air et la déviation de la trajectoire. Les particules accélèrent proportionnellement au flux et à leurs caractéristiques physiques, celles présentant une trop grande inertie sont soustraites du flux d'air lors de la déviation et s'impacte sur la plaque de collection.

L'air contenant les micro-organismes est aspiré par le dispositif de pompage de l'appareil au travers des canaux de la buse d'impaction. Le passage au travers de ces canaux entraîne une diminution du diamètre de passage du flux d'air et donc une accélération de ce dernier selon la loi :

$$v = \frac{Q}{S} \quad (\text{Eq. 8})$$

Avec :

- Q : le débit ( $\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ ),
- v : la vitesse du flux ( $\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ ).
- S : la surface en coupe de la colonne d'air aspirée ( $\text{m}^2$ ).

Les micro-organismes en suspension dans l'air possèdent une quantité de mouvement définie par l'équation :

$$q = \frac{1}{6} (\rho_p) \pi v D^3 \quad (\text{Eq. 9})$$

Avec :

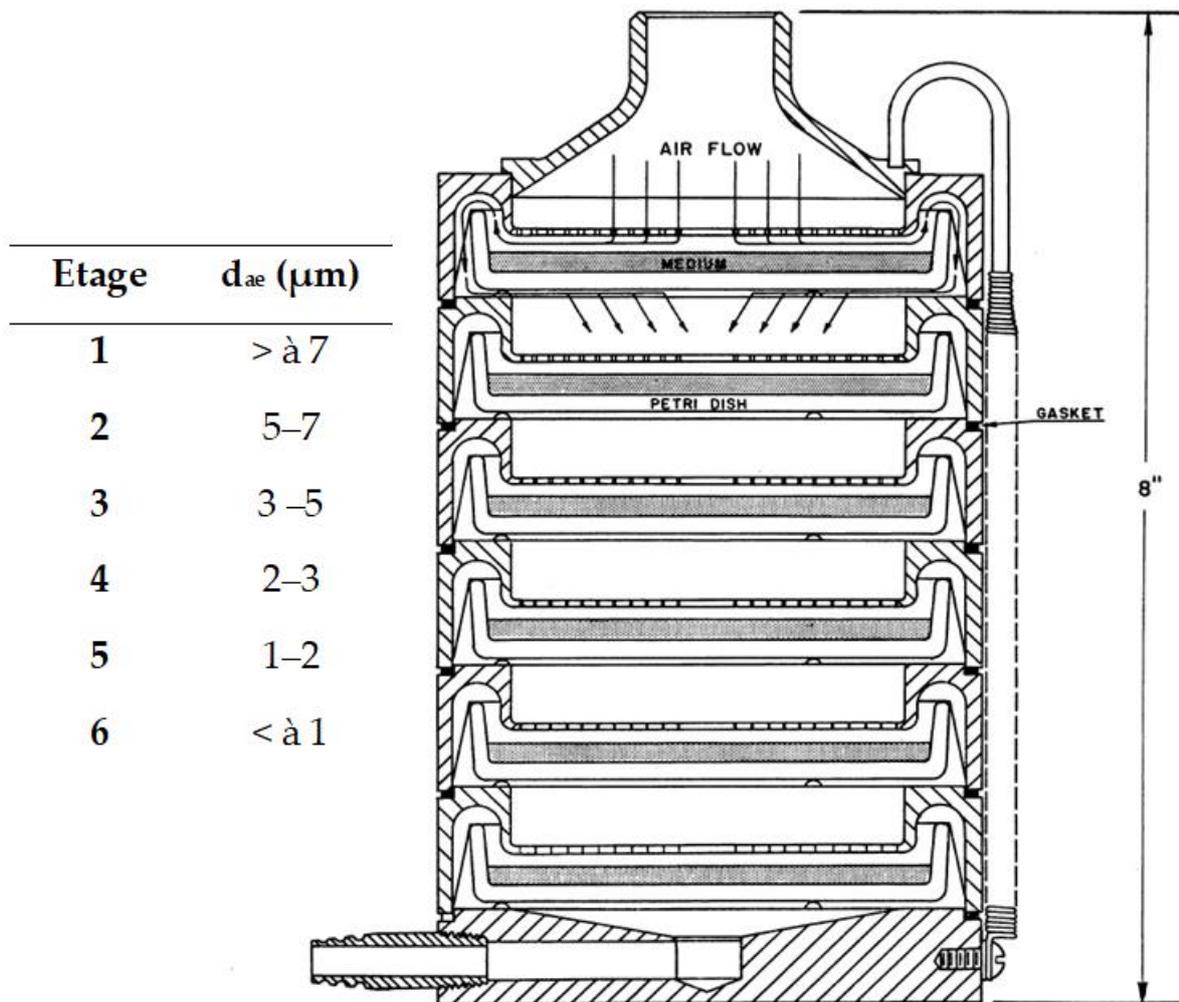
- $q$  : la quantité de mouvement ( $\text{kg} \cdot \text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ ),
- $\rho_p$  : la masse volumique de la particule ( $\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$ ),
- $D$  : le diamètre aérodynamique de la particule (m).

Pour une même vitesse de flux, l'inertie d'un micro-organisme sera d'autant plus importante que son diamètre aérodynamique est important (MARTINON, 1991). A la sortie de la buse d'impaction, le diamètre de passage de l'air s'élargit brusquement, ce qui provoque une décélération du flux d'air. Ce dernier va alors contourner l'obstacle représenté par le milieu gélosé.

Les particules ayant un diamètre aérodynamique et donc une inertie trop importante ne pourront suivre le flux d'air, dévieront de sa trajectoire et s'impacteront sur le milieu. Les particules plus fines resteront soumises à la viscosité du flux, poursuivront leur chemin et ne seront pas récoltées. (Andersen, 1958; Virgil and Willeke, 1976; Martinon, 1991; Cox and Wathes, 1995a).

Il est possible d'adjoindre des étages de séparations supplémentaires, en réduisant progressivement les largeurs des buses d'impaction, accélérant progressivement le flux d'air. Cela permet l'impaction de particules de plus petit diamètre aérodynamique.

Ainsi, les particules récoltées sont séparées en fonction de leur granulométrie. Le dispositif d'impacteur en cascades mis au point par Andersen, 1958 (Figure 8) comporte 6 étages. Chaque étage correspond à un niveau de l'arbre thoracique (Figure 4). De plus, l'adjonction d'étages supplémentaires améliore les efficacités de capture et biologique de l'appareil (Li, 1999). Néanmoins, sa taille et son poids le rendent difficilement utilisable sur le terrain (Nesa et al. 2001 ; Yao & Mainelis 2006b). Afin de faciliter les prélèvements sur le terrain, une nouvelle génération d'impacteurs a été développée comportant un seul étage et généralement un débit d'une centaine de litres par minute (Nesa et al., 2001).



**Figure 8. Impacteur Andersen (ANDERSEN, 1958).**

Paramètres principaux :

Trois paramètres principaux conditionnent les efficacités de capture et biologique des impacteurs (Marple et al., 1976 ; Kwon et al., 2002 ; Therkorn et al., 2013). Ils sont représentés sur la Figure 9 :

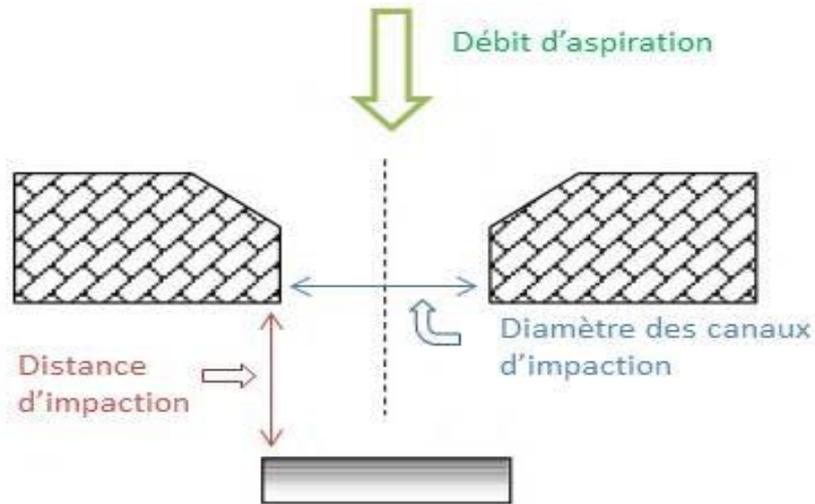
- Les canaux de la buse d'impaction (diamètre, le nombre et la position) régulent la vitesse du flux d'air, la différence de pression entre l'intérieur et l'extérieur de l'appareil. Chaque modèle possède une valeur propre pour ces deux valeurs, suivant leur design (Marple et al., 1976 ; Kwon et al., 2002). Par exemple, l'impacteur MAS-100 (EMD Chemicals, Inc., Gibbstown, NJ) possède 400 canaux d'impaction de diamètre 0,7 mm, alors que l'impacteur SMA (Veltek Associates, Inc, Phoenixville, PA) possède 12 canaux de diamètre 6,3 mm (Yao & Mainelis 2006b). Ils régissent la vitesse du flux d'air et donc celle des micro-organismes.

Une vitesse trop faible ne permettra pas au micro-organisme de s'impacter, tandis qu'une vitesse trop forte favorisera les phénomènes de rebond et d'éclatement du micro-organisme (Marple et al., 1976 ; Marple et al., 1993 ; Cox et al., 1995a ; Hinds, 1999 ; Kwon et al., 2002).

De plus, ils déterminent conjointement au débit d'aspiration la différence de pression entre l'air extérieur (à l'entrée de la buse d'impaction) et l'air intérieur (dans la chambre d'impaction).

Enfin, la position des canaux d'impaction détermine la distribution des micro-organismes sur le milieu gélosé. Une répartition homogène des canaux sur la buse d'impaction engendre une distribution homogène des micro-organismes sur le milieu gélosé. Ceci limite les phénomènes de recouvrement des colonies et augmente donc l'efficacité biologique (Marple et al., 1976 ; Chen et al., 1998 ; Kwon et al., 2002)

- La distance d'impaction représente la distance entre la sortie du canal d'impaction et la surface du milieu gélosé. Elle correspond à la distance pendant laquelle les micro-organismes vont décélérer. Une distance d'impaction trop importante peut induire une perte de vitesse conséquente, rendant impossible la fixation du micro-organisme sur le milieu gélosé. A l'inverse, une faible distance d'impaction peut signifier une trop grande vitesse à l'impact et favoriser l'éclatement ou d'autres facteurs de mort ou de perte de cultivabilité (Stewart et al. 1995 ; Therkorn et al., 2013).
- Le débit d'aspiration représente la quantité d'air passant à l'intérieur des canaux d'impaction. Conjointement aux paramètres précédents, ce débit influe sur la vitesse d'impaction, les différences de pression et la dessiccation des micro-organismes sur le milieu gélosé (Marple et al., 1976 ; Marple et al., 1993 ; Cox et al., 1995a ; Hinds, 1999 ; Kwon et al., 2002 ; Therkorn & Mainelis, 2013) .



**Figure 9. Représentation schématique des paramètres principaux régissant la récolte des impacteurs.**

L'adéquation entre ces paramètres est primordiale pour la conception d'un impacteur car ils influencent les efficacités de capture et biologique (Marple et al., 1976 ; Grinshpun et al. 1994 ; Kwon et al. 2002 ; Therkorn & Mainelis 2013). Pour la conception d'un impacteur, la maîtrise de ces paramètres représente donc un compromis qui doit être adapté aux dimensions physiques de l'appareil. C'est pourquoi ces paramètres varient fortement d'un dispositif disponible sur le marché à l'autre. Marple et Willeke, 1976 ont décrit mathématiquement la relation entre le diamètre de coupure ( $d_{50}$ ), le nombre et la taille des canaux ainsi que le débit. Yao & Mainelis 2006b ont ainsi déterminé théoriquement les D50 des impacteurs testés.

Principaux phénomènes engendrant une perte de micro-organismes :

Outre la non-impaction sur le milieu gélosé, trois phénomènes engendrent les pertes de micro-organismes : le stress dû à l'impact, les phénomènes de rebond et de ré-aérosolisation des micro-organismes et la dessiccation.

**Stress dû à l'impact :**

A l'échelle des micro-organismes, la surface du milieu gélosé peut présenter des anfractuosités et pics. Le stress dû à l'impact est causé par le choc et à l'augmentation de pression en un point de la cellule (Stewart *et al.*, 1995). L'intensité de ce choc est régie par la vitesse d'impaction. La résistance des micro-organismes au choc est variable (Stewart *et al.*, 1995).

Un stress trop important peut entraîner des blessures structurelles (rupture de sa paroi externe) ou des blessures métaboliques. Le micro-organisme pourra soit récupérer de ces blessures et se développer, ou alors ces dernières entraîneront sa mort (Stewart *et al.*, 1995).

#### **Rebond et ré-aérosolisation :**

Lors de l'impact du micro-organisme sur la gélose, ce dernier peut rebondir sur le milieu s'il possède une vitesse trop importante (Marple *et al.*, 2011). Le micro-organisme se retrouve de nouveau dans le milieu aérien avec une très faible vitesse. Il peut donc être ré-emporté par le flux d'air. C'est le phénomène de ré-aérosolisation.

#### **Dessiccation :**

La dessiccation correspond à l'assèchement du micro-organisme conduisant à sa mort. Ce phénomène d'assèchement est dû au passage de l'air aspiré à la surface du milieu gélosé et entre donc au contact des micro-organismes fixés (Mainelis *et al.*, 2010). Cette dessiccation peut provoquer leur mort si le débit et/ou le temps de prélèvement sont trop élevés. Mainelis *et al.*, 2010 ont observé une diminution de plus de 50% du nombre de CFU collecté en passant d'un temps de prélèvement de 2 minutes à 5 minutes, et ce pour les principaux impacteurs présents sur le marché (impacteurs BioCulture, MAS-100, Microflow, MilliporeAirTester, RCS High Flow, SAS Super 180 et SMA MicroPortable).

### *1.2.2.2. Impaction en milieu liquide (ou Impingement)*

#### **1.2.2.2.1. Principe**

L'impingement est une technique de collecte des micro-organismes dans l'air par impaction dite « en milieu liquide ». Deux types d'impingement existent : l'impingement par barbotage et l'impingement cyclonique. Cette technique permet l'utilisation des techniques culturales ou des techniques moléculaires pour l'analyse de l'échantillon.

#### **Impingement par barbotage :**

L'impingement par barbotage est la première mise en œuvre et commercialisée. Il est représenté principalement par le modèle d'impinger AGI-30 (Ace glass Inc., Vineland, USA).

L'air est aspiré par un dispositif de pompage et dirigé dans le canal central de l'appareil. Ce canal est plongé dans un liquide dit de collecte et ayant pour fonction de retenir les micro-organismes. Le flux d'air traverse alors ce liquide sous forme de bulles ou de canaux d'air avant de ressortir par le haut de l'appareil, « épuré ».

Le liquide de collecte est ensuite récupéré pour être analysé (Cox et al., 1995a). Contrairement à l'impaction en milieu solide, l'aérodynamisme de la particule n'a pas d'importance.

#### **Impingement cyclonique :**

Historiquement, l'impingement cyclonique a été développé dans l'idée de maximiser l'efficacité totale de la technique par rapport à l'impingement par barbotage (Willeke et al. 1998 ; Lin et al. 1999 ; X. Lin et al. 2000 ; Riemenschneider et al. 2010 ; Han & Mainelis, 2012). Willeke *et al.*, 1998 ont mis en évidence une efficacité de capture pour l'impingement cyclonique 30% supérieure à celle de l'impingement par barbotage (80% contre 50%) pour des particules de diamètre 0,3  $\mu\text{m}$ .

Un flux d'air chargé en micro-organismes est mis en mouvement par un dispositif de pompage. Ce flux est accéléré au niveau de la buse d'aspiration du fait du rétrécissement de la surface en coupe du canal (Eq. 8). La buse d'aspiration permet une arrivée tangentielle du flux d'air sur la paroi circulaire de l'enceinte de collecte. Sous l'effet de la courbure de cette paroi, l'air va obtenir un mouvement rotatif semblable à celui d'un cyclone (Willeke, Lin and Grinshpun, 1998). Le liquide de collecte présent à l'intérieur l'enceinte est entraîné par le mouvement rotatif du flux d'air, conduisant à son étalement sur les parois (sous forme d'un film). Les micro-organismes présents dans le flux d'air suivent ce mouvement rotatif. Le débit de prélèvement va déterminer la vitesse d'entrée des micro-organismes dans l'enceinte de collecte, et donc leur vitesse de rotation ainsi que leur inertie (Eq. 9). (Willeke et al., 1998 ; Lin et al., 1999 ; Lin et al., 2000). Cette dernière va altérer leur trajectoire et entraîner leur projection contre la paroi de l'enceinte de collecte, et leur impaction dans le film de liquide et leur capture. Les micro-organismes capturés tombent au fond de l'enceinte.

#### Paramètres principaux :

##### **Impingement par barbotage :**

L'impingement par barbotage possède trois paramètres principaux régissant les efficacités de capture et biologique : le débit d'aspiration, le temps de prélèvement et la nature du liquide de collecte.

Le débit d'aspiration régit les phénomènes d'agitation et d'évaporation du liquide de collecte. L'air traversant le liquide sous forme de bulle ou de canaux, l'augmentation du débit de prélèvement entraîne l'augmentation de son agitation.

Cette agitation couplée à l'éclatement des bulles favorise la saturation de l'air en eau et entraîne donc l'évaporation du liquide de collecte (Grinshpun et al. 1997 ; Willeke et al. 1998 ; Lin et al. 1997 ; Lin et al. 1999 ; W.-H. Lin 1999a ; Lin et al. 2000 ; Agranovski et al. 2002 ; Riemenschneider et al. 2010).

Conjointement au débit d'aspiration, le temps de prélèvement influe sur le volume de liquide perdu (Willeke et al. 1998 ; Lin et al. 2000). Willeke *et al.*, 1998 ont trouvé pour l'AGI-30 une perte de 90% du volume de liquide de collecte au bout d'1h45 de prélèvement, associée à une diminution de l'efficacité de capture de 50%.

La nature du liquide influe sur l'efficacité biologique de l'impinger car elle permet aux micro-organismes de conserver leur viabilité lors de la collecte (Lin *et al.*, 1999). Le liquide doit permettre aux micro-organismes de récupérer au maximum des stress imposés par la collecte (X. Lin et al. 1997 ; Willeke et al. 1998 ; W.-H. Lin 1999a ; X. Lin et al. 1999 ; X. Lin et al. 2000). La préservation biologique se fait en ajoutant au liquide de collecte des éléments chimiques tel que du phosphate ou des huiles minérales, qui améliorent la préservation des micro-organismes dans le liquide lors de temps de collecte longs et donc leur récupération une fois étalé sur milieu de culture (Lin *et al.*, 1999).

#### **Impingement cyclonique :**

Les paramètres principaux de l'impingement cyclonique sont les mêmes que ceux du barbotage : le débit, le temps de prélèvement et la nature de liquide de collecte. Néanmoins des différences apparaissent par rapport au barbotage, pour les 2 premiers paramètres.

Dans le cas de l'impingement cyclonique, le passage du flux d'air est le moteur du mouvement rotatif du liquide et régit l'efficacité de capture de l'appareil (Willeke et al. 1998 ; Lin et al. 1999 ; X. Lin et al. 2000 ; Riemenschneider et al. 2010 ; Han & Mainelis, 2012). Comparé au barbotage, l'agitation résultant de ce mouvement rotatif est plus douce (Willeke et al., 1998 ; Lin et al., 1999 ; Lin et al., 2000), et l'intensité d'évaporation est légèrement plus faible (Willeke, Lin and Grinshpun, 1998), mais il y a toujours des phénomènes de ré-aérosolisation des micro-organismes (Willeke et al. 1998 ; Han & Mainelis 2012).

#### Principaux phénomènes engendrant une perte de micro-organismes :

De la même façon que pour l'impaction, plusieurs facteurs entraînent la perte et le non-dénombrement de certains micro-organismes collectés par impingement.

### **Stress hydrique et mécanique :**

Le passage d'air sous forme de bulles lors de la collecte par barbotage et le phénomène d'évaporation entraînent la superposition de deux phases (liquide et gazeuse) qui engendrent l'agitation du liquide. Un micro-organisme capturé peut passer d'une phase à l'autre alternativement, engendrant des stress hydriques (X. Lin et al., 1999 ; W.-H. Lin, 1999a ; X. Lin et al., 2000).

Cette agitation peut aussi créer des stress mécaniques sous la forme de chocs, de cisaillements, contre les parois ou entre les micro-organismes (Grinshpun et al., 1997 ; X. Lin et al., 1997 ; Willeke et al. 1998 ; X. Lin et al. 1999 ; W.-H. Lin, 1999a ; X. Lin et al. 2000 ; Agranovski et al., 2002 ; Riemenschneider et al. 2010 ; Han & Mainelis, 2012).

### **Perte de micro-organismes sur les parois internes :**

Un autre facteur de perte de micro-organismes est le dépôt de ces derniers sur les parois internes de l'appareil, conduisant à leur non-collection par le liquide (Han and Mainelis, 2012).

### **Ré-aérosolisation des micro-organismes :**

La ré-aérosolisation d'un micro-organisme collecté peut survenir à trois moments différents : lors de l'évaporation du liquide le contenant, lors de l'éclatement d'une bulle et lors d'un dépôt sur les parois (Grinshpun et al., 1997 ; Willeke et al. 1998 ; X. Lin et al., 1997 ; X. Lin et al. 1999 ; W.-H. Lin, 1999a ; X. Lin et al. 2000 ; Agranovski et al., 2002 ; Riemenschneider et al. 2010 ; Han & Mainelis, 2012). La principale cause de la ré-aérosolisation en impingement par barbotage est l'éclatement des bulles à la surface (22,5 % de perte interne). En impingement cyclonique, c'est l'évaporation du film d'eau sur la paroi (entre 30 et 38% de perte interne) (Han & Mainelis, 2012).

#### *1.2.2.3. Filtration*

##### *1.2.2.3.1. Principe*

La filtration est une méthode de collecte des bioaérosols basée sur l'utilisation d'un filtre possédant un diamètre de pores inférieurs aux diamètres des micro-organismes (Cox et al., 1995). La quantité de micro-organismes collectés sur le filtre augmente avec le temps de prélèvement, conduisant à la formation d'un gâteau de filtration (Cox et al., 1995).

Deux types de filtration sont utilisées: la filtration avec filtre standard en cellulose ou polycarbonate (Burton et al., 2007) et la filtration avec filtre gélatine (Palmgren et al., 1986 ; Crook 1995 ; Lin et al., 1999b) qui apporterait une protection contre la dessiccation. L'analyse peut être conduite par méthodes culturales ou moléculaires.

#### Paramètres principaux et phénomènes engendrant une perte de micro-organismes :

Trois paramètres principaux régissent la collecte des bioaérosols par filtration : le débit d'aspiration, le temps de prélèvement et le diamètre des pores.

##### **Débit d'aspiration et cisaillement :**

Le débit d'aspiration est un des deux paramètres jouant sur les facteurs aérodynamiques du prélèvement. Il régit le volume d'air prélevé et la force du plaquage des micro-organismes sur la structure du filtre (Cox et Wathes, 1995a).

La force de plaquage peut engendrer des contraintes de type cisaillement sur la structure du micro-organisme collecté pouvant conduire à son éclatement, et affecte donc l'efficacité biologique de l'appareil. Le phénomène est amplifié si le micro-organisme n'est pas sur une surface plane, comme une fibre ou le bord d'un pore, car cela engendre des zones de contrainte plus réduite et facilite l'éclatement (Cox and Wathes, 1995a).

##### **Temps de prélèvement et dessiccation :**

Le temps d'échantillonnage régit le volume d'air prélevé et le phénomène de dessiccation. Ainsi, il influe sur l'efficacité biologique (Mainelis *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2001; Durand *et al.*, 2002; Mainelis, Willeke, Baron, *et al.*, 2002; Mainelis and Tabayoyong, 2010). La dessiccation peut ici aussi causer le dessèchement et donc la mort des micro-organismes collectés sur la structure de ce filtre (diminution du ratio de concentration de 0,64 pour 2 min d'exposition à un flux d'air, à 0,04 pour 30 min d'exposition (Mainelis and Tabayoyong, 2010)).

##### **Diamètre des pores :**

Le diamètre des pores détermine le diamètre des particules retenues sur le filtre, et joue donc directement sur l'efficacité de capture du biocollecteur. Le diamètre moyen des bioaérosols étant de 2 à 8  $\mu\text{m}$  (Li *et al.*, 2011), un filtre avec un diamètre de pore de 0,1  $\mu\text{m}$  permet de collecter l'ensemble des bioaérosols.

#### 1.2.2.4. Précipitation électrostatique

##### 1.2.2.4.1. Principe

Cette technique de collecte est encore peu présente sur le marché, la majorité des précipitateurs utilisés lors des études sont des prototypes. Néanmoins cette technique offre des performances de collecte élevées, la rendant très intéressante. La précipitation électrostatique s'appuie sur la charge électrique portée par les micro-organismes aéroportés et d'un champ électrique pour faire sédimenter et capturer les micro-organismes soit sur un milieu gélosé (Mainelis 1999 ; Mainelis et al., 2002 ; Yao & Mainelis 2006b) soit dans un liquide de collecte (Han & Mainelis 2008 ; Yao et al., 2009 ; Roux et al., 2013 ; Han et al. , 2015).

Trois grandes familles de précipitateurs électrostatiques sont distinguées : les précipitateurs sans charge préalable (Yao and Mainelis, 2006c), à chargement corona (Sharma et al., 2007 ; Roux et al., 2013 ; Park et al., 2015) et à ionisation (Berry 1941 ; Mainelis et al., 2002). Leur fonctionnement est identique pour les trois familles, seul change le mode de chargement préalable des micro-organismes.

Le champ électrique permettant la récolte est créé à l'aide de deux électrodes métalliques placées à l'intérieur de la structure du biocollecteur. Le champ électrique doit être suffisamment fort pour la collecte des bioaérosols et implique l'application d'une tension de plusieurs milliers de volts (Mainelis et al., 2002 ; Yao & Mainelis 2006b). Lors du fonctionnement du précipitateur, un flux d'air est mis en mouvement par un dispositif de pompage et arrive dans la section de charge (dans un précipitateur avec chargement) ou directement dans la zone du champ électrique (dans le cas d'un précipitateur sans chargement préalable). Une fois dans le champ électrique, les micro-organismes vont précipiter vers l'électrode inverse à leur charge et être collectés sur le média approprié.

##### Les différents types de chargement

##### **Précipitateur électrostatique sans chargement préalable :**

Dans ce type de précipitateur, la collecte est réalisée en utilisant la charge naturelle des micro-organismes. Cette charge est principalement négative et suffisante pour réaliser la collecte avec une grande efficacité (Yao and Mainelis, 2006c). Néanmoins, tous les micro-organismes dans le milieu aérien ne possèdent pas une charge négative (Mainelis et al., 2002).

Lors du prélèvement, les micro-organismes vont être attirés vers l'électrode de polarité inverse à leur charge. Ainsi dans ce dispositif, la collecte des microorganismes sera effectuée au niveau des deux électrodes (positive et négative, Yao & Mainelis 2006c).

#### **Précipitateur électrostatique avec chargement préalable :**

Les précipitateurs électrostatiques à chargement préalable sont la première technologie de précipitateurs créés (Berry 1941 ; Gerone et al. 1966 ; Decker et al., 1968 ; Mainelis 1999 ; Mainelis et al., 2002a ; Mainelis et al., 2002b). Leur principe est de conférer aux micro-organismes une charge électrostatique avant leur entrée dans le champ électrique, de façon à améliorer leur collecte. Il existe à l'heure actuelle deux méthodes de chargement des micro-organismes : la méthode par décharge corona et la méthode par ionisation (Mainelis 1999 ; Mainelis et al., 2002).

La décharge corona est généralement réalisée par le biais d'une grille composée de couples fil conducteur et fil neutre. Le fil conducteur est alimenté par un courant de faible ampérage et de forte tension, entraînant la génération d'un champ électrique entre ce dernier et le fil neutre.

Lorsque la force du champ électrique dépasse une valeur seuil appelée valeur critique, le fluide est transformé en plasma conducteur (ionisation de l'air). Les charges électriques produites par le fil conducteur se propagent d'ions à ions ou électrons libres (décharge), en un phénomène de cascade créant un courant à travers le plasma (Tilmatine, 2010).

La grille de décharge corona est placée en entrée du biocollecteur (Sharma et al., 2007 ; Roux et al., 2013 ; Park et al., 2015). Le micro-organisme traversant le plasma, va être heurté par une charge négative sous la forme d'un ion chargé négativement ou d'un électron, et va acquérir cette charge. Puis à l'intérieur du champ de précipitation, le micro-organisme va précipiter vers l'électrode positive ou le media de collecte a été installé. Cependant, cette méthode peut engendrer la mort des micro-organismes car de l'ozone et de l'oxyde d'azote sont également produits (Cox 1987 ; Mainelis 1999).

Afin de pallier les problèmes engendrés par la décharge corona, la méthode de chargement par ionisation fut mise au point. Elle n'engendre pas de destruction des micro-organismes et améliore donc l'efficacité biologique du biocollecteur (Mainelis, 1999). Cette méthode repose sur l'utilisation d'ionisateurs disposés dans la section de chargement. Les ionisateurs sont placés de telle façon à ce que leurs aiguilles, source de l'ionisation, soient dirigées vers l'intérieur de la section de chargement. La face opposée aux aiguilles est recouverte d'une couche métallique et reliée à la terre (Mainelis et al., 2002a).

Le phénomène d'ionisation consiste en la production d'ions électriquement chargés en bout des aiguilles des ionisateurs et leur propulsion vers la surface neutre opposée sous l'effet d'une force électrique. Ainsi, un écran d'ions électriquement chargés est placé sur le chemin du micro-organisme, sans présence de plasma ou de courant de décharge. Le choc avec un ion confère sa charge au microorganisme qui sera collecté sur l'électrode opposée à sa charge. Les ions générés peuvent être chargés positivement ou négativement. La polarité de la charge conférée aux micro-organismes dans la section de chargement définit l'électrode sur laquelle ils seront collectés dans la section de précipitation (Mainelis et al., 2002).

#### Paramètres opératoires principaux :

Trois paramètres influencent la précipitation électrostatique : le débit d'aspiration, la force du champ électrique et la polarité du couple courant de la section de chargement / courant dans l'électrode.

#### **Débit d'aspiration :**

Le débit d'aspiration régit le temps de passage du micro-organisme dans la section de précipitation. Ce temps est corrélé à l'efficacité de capture (Yao and Mainelis, 2006c). En effet, la force du champ électrique fait dévier le micro-organisme de sa trajectoire qui se dirige vers l'électrode. Cependant, un délai existe entre le moment où le micro-organisme entre dans le champ et la déviation nécessaire à sa collecte (Yao and Mainelis, 2006c). Un débit trop important, empêchera le micro-organisme d'être collecté car il sera sorti de la zone de récolte. Plus le débit de prélèvement augmente, plus l'efficacité totale de collecte diminue. Une diminution de cette efficacité de 75 à 25% a été déterminée lorsque le débit augmente de 1,2 à 10 L .min<sup>-1</sup> (Yao and Mainelis, 2006c).

#### **Force du champ électrique :**

La force du champ électrique régit l'intensité avec laquelle le micro-organisme est repoussé de l'électrode correspondant à sa charge et est attiré vers l'autre. Cette force influe donc sur la vitesse de précipitation du micro-organisme, mais définit l'intensité minimale de la charge électrostatique portée par le micro-organisme que le champ pourra affecter (plus le champ est puissant, plus il pourra affecter des micro-organismes faiblement chargés). Elle est donc un des principaux facteurs régissant l'efficacité de collecte totale des micro-organismes. Plus la force du champ augmente, plus l'efficacité de capture augmente (Mainelis et al. 2002a).

Le champ électrique n'influe pas sur la viabilité du micro-organisme, même pour une force de 10 kV .cm<sup>-1</sup> (Yao et al. 2005).

#### **Polarité du couple courant de chargement / courant dans l'électrode :**

Dans les précipitateurs électrostatiques à chargement préalable, la polarité du couple courant de chargement / courant dans l'électrode joue un rôle important.

A l'état naturel, les micro-organismes aéroportés portent en majorité des charges négatives, ainsi un champ négatif les repousse et un champ positif les attire (Mainelis et al., 2002b ; Yao & Mainelis 2006b).

(Mainelis et al., 2002b ; Yao & Mainelis 2006b) considéraient que la meilleure configuration pour la récupération des bioaérosols était une polarité du chargement et une polarité de l'électrode de même signe négatif (« - / - »), qui entraînait une Ec de 80% (Mainelis, Willeke, Adhikari, *et al.*, 2002). (Yao and Mainelis, 2006c) ont néanmoins montré que le chargement préalable était redondant si la force du champ électrique de capture était augmentée à 10 kV .cm<sup>-1</sup>. Cette force de champ n'affecte pas la viabilité des micro-organismes capturés et conduit à des Ec de l'ordre de 90%.

#### Principaux facteurs engendrant une perte de micro-organismes :

La précipitation électrostatique se caractérise par l'absence des phénomènes de perte de micro-organismes collectés présentés dans les parties précédentes (impaction, impingement, etc.), ce qui explique en partie les hautes efficacités totales de collecte que cette méthode est capable d'atteindre (Mainelis, 1999). La seule exception est le chargement préalable par décharge corona pouvant engendrer une destruction des micro-organismes (Cox 1987 ; Mainelis 1999).

### **1.2.3. Comparaison des moyens de collecte**

Face à la multitude de biocollecteurs et de facteurs régissant la collecte, il est nécessaire de comparer ces dispositifs afin de choisir le plus adapté en fonction de la problématique. Les études comparatives sont nombreuses dans la littérature. Elles sont effectuées par 2 voies : en conditions réelles ou en chambre de soufflerie.

Les études en conditions réelles mettent en évidence les différences d'appréciation d'une même flore par divers biocollecteurs, soit en ciblant la flore totale (Madsen et al., 2008) soit une / des espèce(s) spécifique(s) (Verhoeff *et al.*, 1990), en un lieu donné.

Les lieux sont variés tant en terme de localisation que de densité microbienne : lieux de stockage de fruits (Chang et al., 2009), élevage de porcs (Thorne et al., 1992), procédés biologiques de dépollution (STEP ( Brandi et al., 2000, Ranalli et al., 2000), stations de traitement (Heinonen-Tanski et al., 2009, Haas et al. 2010), biolaveur de gaz (Schlegelmilch et al., 2005), usines de traitement de pulpes (Blatny *et al.*, 2011) ou encore en milieu hospitalier (Nesa *et al.*, 2001; Chang, Chou and Hung, 2010). Le critère de sélection retenu ici sera qu'un biocollecteur permettant d'obtenir la plus forte concentration en bioaérosols possèdera une meilleure performance.

Les études en chambre de soufflerie permettent généralement la définition des efficacités des biocollecteurs (Yao & Mainelis, 2006b ; Seshadri et al., 2009). L'utilisation de système de génération d'aérosols comportant des micro-organismes connus couplés à une chambre de soufflerie pilote permet l'obtention de ces caractéristiques (Stewart *et al.*, 1995; Yao and Mainelis, 2006a) (Figure 6). Le nombre de souches impliquées dans ces études est variable. La norme NF ISO 14698 ne mentionne qu'une souche, alors que Yao & Mainelis 2006a utilisent 6 souches pour représenter une large variabilité de micro-organismes (Tableau 4).

**Tableau 4. Micro-organismes utilisés pour l'évaluation des performances des biocollecteurs en chambre de soufflerie avec leurs principales caractéristiques.**

Nom	D <sub>ae</sub>	Sensibilité	Gram	
<i>P. fluorescens</i> (ATCC 13525)	0,61 µm	+++	-	Yao & Mainelis 2006a
<i>E. coli</i> (ATCC 11775)	0,78 µm	+++	-	Yao & Mainelis 2006a
<i>B. subtilis</i> (ATCC 9372)	0,86 µm	---	+	Yao & Mainelis 2006a
<i>NCTC 10073 (= DSM 2277)</i>				NF ISO 14698
<i>C. cladosporioides</i> (ATCC 11278)	2,53 µm	ND	NA	Yao & Mainelis 2006a
<i>A. versicolor</i> (ATCC 26644)	2,89 µm	ND	NA	Yao & Mainelis 2006a
<i>P. melinii</i> (ATCC 10469)	3,14 µm	ND	NA	Yao & Mainelis 2006a
<i>C. famata</i>	2,44 µm	ND	NA	Lin 1999a; Lin 1999b
<i>P. citrinum</i> (CCRC 33168)	2,32 µm	ND	NA	Lin 1999a; Lin 1999b

La sensibilité représente ici la résistance ou la susceptibilité du micro-organisme à l'aérosolisation et aux stress induit par le milieu aérien. Les « + » représentent une sensibilité et les « - » une résistance. ND : Non-définie. NA : Non-applicable.

Les études comparant les biocollecteurs sont uniquement réalisées sur l'aspect quantitatif, à notre connaissance aucune ne porte sur l'aspect qualitatif (structure de la communauté). Les concentrations sont généralement exprimées en UFC .m<sup>-3</sup> car obtenues après par culture sur boîtes.

Au travers des données de la littérature en chambre de soufflerie, il apparaît que les biocollecteurs possèdent des performances variables en fonction de leur principe de collecte. Ces données sont récapitulées dans le Tableau 5.

L'impingement montre des Ec de 20 à 90% pour les bactéries, qui sont donc bien supérieures à celles de l'impaction (0 – 30% pour les bactéries) à l'exception de celles du collecteur BioStage (marque, 40 – 80%). La précipitation électrostatique démontre toujours les efficacités les plus importantes (> 90%), tandis que celle de la filtration restent variables (0 – 100%). Concernant les Eb et les diamètres de coupure, ils sont équivalents pour les différentes techniques (à l'exception de l'Eb de la filtration).

**Tableau 5. Récapitulatif des caractéristiques des méthodes de collecte des bioaérosols.**

Méthode	Efficacité de capture	Efficacité biologique	Diamètre de coupure	Références
<b>Impaction</b>	Bactéries : 0% - 30% (BioStage 40% – 80%) Champignons : 0% - 90%	30% - 70 %	0,65 µm- 8,8 µm	1
<b>Impingement</b>	Bactéries : 20% - 90% Champignons : 70% - 90%	30% - 80%	0,3 µm	2
<b>Filtration</b>	Bactéries : 0% - 100% Champignons : 0% - 100%	< 10%	< 0,60 µm	3
<b>Précipitation électrostatique</b>	Bactéries : > 90% Champignons : > 90%	> 90%	Non applicable	4

1 : (Thompson *et al.*, 1994; Brandi, Sisti and Amagliani, 2000; Nesa *et al.*, 2001; Yao and Mainelis, 2006a, 2006b, 2007b). ; 2 : (Willeke et al. 1998; Lin et al. 2000; Van Droogenbroeck et al. 2009; Chang et al. 2010; Chang & Chou 2011; C. W. Chang & Chou 2011; Chang & Hung 2012; Langer et al. 2012) ; 3 : (Thorne *et al.*, 1992; Ranalli, Principi and Sorlini, 2000; Nesa *et al.*, 2001; Predicala *et al.*, 2002; Engelhart *et al.*, 2007; Yao and Mainelis, 2007a; Van Droogenbroeck *et al.*, 2009; Zhao *et al.*, 2010) ; 4 : (Mainelis, Adhikari, *et al.*, 2002; Mainelis, Willeke, Adhikari, *et al.*, 2002; Mainelis, Willeke, Baron, *et al.*, 2002; Yao and Mainelis, 2006c; Kumar Sharma, Wallin and Alstrup Jensen, 2007; Han and Mainelis, 2008; Roux *et al.*, 2013; Park *et al.*, 2015).

Quelques nuances et remarques sont à apporter à ces données et vont être détaillées.

### 1.2.3.1. Variabilité sous-jacente pour un même principe de collecte

De nombreux impacteurs sont disponibles sur le marché. Les études indiquent une disparité des performances de collecte suivant le modèle (Brandi et al. 2000, Nesa et al. 2001, Yao & Mainelis 2007). Yao & Mainelis 2006 ont comparé un large panel d'impacteurs représentatifs du marché. Ainsi certains impacteurs sont « performants », et ont des performances globalement égales : BioStage (SKC Inc., Eighty Four, PA), MAS-100 (EMD Chemicals Inc., Gibbstown, NJ) et le RCS High Flow (Biotest Diagnostics Corp., Denville, NJ.). D'autres sont clairement inférieurs et offrent des performances faibles pour la capture des bactéries et champignons, par exemple les impacteurs Millipore Air Tester (Millipore Corp., Billerica, MA) et SMA MicroPortable (Veltek Associates, Inc, Phoenixville, PA).

Ces différences reposent sur  $E_c$  différentes. Pour *E. coli* ( $d_{ae} = 0,78 \mu\text{m}$ ), le BioStage a une  $E_c$  supérieure à 80% alors que le MAS-100 et RCS High Flow possèdent une efficacité de 20%, et qu'elle est inférieure à 5% pour les autres impacteurs (Yao and Mainelis, 2006a). La caractérisation des D50 présente de façon plus claire ces disparités (Yao and Mainelis, 2006b).

Les impacteurs les moins efficaces ont des D50 élevés, le SMA par exemple a un diamètre de coupure supérieur à  $10 \mu\text{m}$  tandis que les modèles d'impacteurs « performants » comme le BioStage, MAS-100 et SAS Super 180 possèdent un D50 de  $0,65 \mu\text{m}$ ,  $1,7 \mu\text{m}$  et  $2,1 \mu\text{m}$  respectivement. Une seule étude s'intéresse à l'efficacité biologique des impacteurs. Pour les 3 dispositifs de études MAS-100, Andersen 1-STG (équivalent au BioSampler) et Burkard (Burkard, Hertfordshire, England) (Thompson et al., 1994) . Cette étude montre une  $E_b$  plus importante pour l'impacteur Andersen 1-STG que pour le MAS-100 et le Burkard.

Les principaux modèles d'impinger étudiés dans la littérature sont l'impinger AGI-30 (Ace Glass Inc., Vineland, NJ), le BioSampler (SKC Inc., Eighty Four, PA) et le  $\mu$ Coriolis (Bertin Technologies, Aix-en-Provence, France). Des différences d'efficacité de collecte apparaissent entre les différents systèmes en fonction du diamètre aérodynamique des particules ciblées. La plus grande disparité dans les efficacités apparait pour les particules de petite taille ( $d_{ae} = 0,3$  à  $2,5 \mu\text{m}$ ). Pour tous les diamètres, le BioSampler est plus performant que l'AGI-30 lui-même supérieur au  $\mu$ Coriolis (Willeke et al. 1998; Lin et al. 2000; Langer et al. 2012). Ces différences s'estompent pour des particules de plus gros diamètre, l'efficacité de collecte du  $\mu$ Coriolis augmentant jusqu'à 92% pour des particules de diamètre  $10 \mu\text{m}$  (Carvalho *et al.*, 2008). La préservation de la viabilité montre la supériorité du BioSampler ( $E_b = 95 \%$ ) sur l'AGI-30 ( $E_b = 60\%$ ) (Lin *et al.*, 2000).

#### 1.2.3.2. *Influence de la composition microbienne de l'air*

Alors que les résultats obtenus en chambre de tests montrent d'importantes différences d'efficacité entre les impacteurs en milieux liquide et solide (Lin et al., 2000 ; Yao & Mainelis, 2006a), les résultats des prélèvements en air réel montrent une égalité globale des performances entre les deux techniques quels que soient les appareils utilisés (Andersen, AGI-30, MAS-100, BioSampler,  $\mu$ Coriolis, etc.) (Thorne *et al.*, 1992; Haas *et al.*, 2010; Blatny *et al.*, 2011). La sensibilité spécifique des micro-organismes à la collecte (résistance aux chocs de l'impaction, aux stress du barbotage ou du mouvement cyclonique, à la dessiccation, au cisaillement, etc.) (Stewart *et al.*, 1995) pourrait être une des explications de ce phénomène.

Cependant, l'intérêt de la méthode par impingement face à l'impaction solide augmente dans des milieux saturés (Haas *et al.*, 2010). Lorsque la concentration en bioaérosols dépasse une valeur limite, fixée à  $10^4$  UFC.m<sup>-3</sup>, la collecte par impaction conduit à une saturation de la boîte de Pétri. Les phénomènes de recouvrement rendent un comptage impossible. L'impingement est alors recommandé.

#### 1.2.3.3. *Influence de l'espèce cible*

La méthode de collecte la plus performantes changent en fonction de l'espèce ciblée lors de la collecte de bactéries spécifiques comme *Chlamydophila psittaci* (Van Droogenbroeck et al., 2009) ou *Legionella pneumophila* (Breiman et al., 1990 ; Chang et al. 2010 ; Chang et al., 2011 ; Chang et al., 2012), et de champignons (Lugauskas et al., 2004).

#### 1.2.3.4. *Les récents développements*

La filtration a souvent été associée aux techniques par culture et a révélé de faibles performances (Thorne *et al.*, 1992; Ranalli, Principi and Sorlini, 2000; Nesa *et al.*, 2001; Predicala *et al.*, 2002; Engelhart *et al.*, 2007; Yao and Mainelis, 2007a; Van Droogenbroeck *et al.*, 2009; Zhao *et al.*, 2010). Une des explications est que la filtration impose d'importants stress aux micro-organismes, principalement via la dessiccation et le cisaillement. Seuls les micro-organismes les plus robustes, notamment les champignons, peuvent être cultivés par la suite. Le Sartorius MD8 (filtration sur gélose) semble être l'unique système de filtration équivalent à l'impingement (Zhao *et al.*, 2011) et aux impacteurs (Ranalli, Principi and Sorlini, 2000) dont le MAS-100 (Engelhart *et al.*, 2007) vis-à-vis de la culture.

Malgré de faible Eb de la filtration, elle peut présenter des Ec proches de 100% en fonction de la taille des pores pour la majorité des particules, même celles de petits diamètres (Burton, Grinshpun and Reponen, 2007). De plus, la filtration permet théoriquement des temps de prélèvement très supérieurs à ceux des autres techniques (ordre de grandeur en jours comparé aux minutes pour l'impaction / impingement), permettant ainsi une forte concentration de l'échantillon. C'est pourquoi cette méthode est très favorisée pour les prélèvements en vue d'analyses moléculaires, et de nombreux protocoles voient le jour à cette fin (Jiang *et al.*, 2015).

Une autre voie en fort développement est la technique des précipitateurs électrostatiques. Malgré une multitude de designs différents testés dans la littérature (Kumar Sharma, Wallin and Alstrup Jensen, 2007; Han and Mainelis, 2008; Roux *et al.*, 2013; Park *et al.*, 2015), les résultats montrent une claire supériorité des précipitateurs électrostatiques sur les techniques de l'impaction. Cela est particulièrement vrai pour les modèles présentant les plus grandes efficacités, c'est-à-dire les précipitateurs électrostatiques sans chargement préalable (Yao and Mainelis, 2006c). Un précipitateur peut récupérer une concentration jusqu'à 20 fois plus importante que celle du BioStage, lié notamment à des Ec deux fois supérieures en chambre de test (Mainelis, Willeke, Adhikari, *et al.*, 2002; Yao and Mainelis, 2006a).

Aucune étude à ce jour ne compare les précipitateurs aux impingers. Un des arguments les plus souvent formulés contre les précipitateurs électrostatiques est leur faible débit d'aspiration (1,2 L .min<sup>-1</sup>) qui ne permet pas d'échantillonner de grandes quantités d'air (Ghosh *et al.* 2015). Ce faible débit d'échantillonnage est problématique pour les analyses biomoléculaires qui nécessitent de concentrer fortement les micro-organismes dans l'échantillon pour maximiser la récupération d'ADN. Les précipitateurs semblent plus orientés vers les techniques par culture que les techniques biomoléculaires.

#### 1.2.3.5. Critères de praticité, analyses possibles et cout de l'analyse

Outre les critères de performances, d'autres éléments sont à prendre en considération lors du choix d'un biocollecteur, telle la praticité, les analyses associées et les coûts.

Le concept de praticité est introduit par les 8 critères définis par Nesa *et al.*, 2001 : disponibilité commerciale, principe de collecte, coût de chaque analyse d'air, présence ou absence d'une batterie offrant une heure d'autonomie minimum, débit d'air de 100 L .min<sup>-1</sup>, poids, simplicité d'utilisation sous diverses conditions et coût de l'appareil.

En pondérant ces points, les techniques n'apparaissent pas égales. La majorité des impacteurs disponibles sur le marché ont été conçus pour une utilisation sur le terrain, et disposent de système de pompage intégré, de batteries et d'un corps robuste. Alors que les impingeurs tels que l'AGI-30 et le BioSampler sont dotés d'une structure en verre et ne disposent pas de pompage intégré, rendant leur utilisation sur le terrain moins pratique. De même, la praticité de la filtration et de la précipitation électrostatique diminue du fait de l'absence de système intégré.

Le type d'analyse qui peut être réalisé suite aux prélèvements par les différentes techniques devient le critère majeur faisant relativiser la praticité sur le terrain (Burton, Grinshpun and Reponen, 2007; Jiang *et al.*, 2015). L'impaction est quasiment uniquement orientée vers la culture sur boîte. Bien que des nouveaux modèles de précipitateurs électrostatiques aient été développés pour permettre la collecte des bioaérosols dans du liquide (Han and Mainelis, 2008), la technique continue d'utiliser majoritairement l'analyse par culture (Roux *et al.*, 2013).

Les techniques de l'impingement et de la filtration sont alors très utilisées pour leur ouverture vers les analyses biomoléculaires. Pour ce type d'analyse, la filtration offre de meilleurs résultats de par sa capacité à fortement concentrer l'échantillon en bioaérosols, plus fortement que l'impingement. Le coût de la collecte et de l'analyse est au final relativement équivalent entre toutes les techniques, à part d'utiliser des modèles particuliers imposant des coûts élevés.

Ces informations ont pour but d'orienter les premiers choix à faire avant l'acquisition d'un biocollecteur. Par exemple, si un dénombrement par culture est suffisant pour l'étude visée (sans problématique des milieux saturés) alors l'impaction offre certainement la meilleure rentabilité. Une étude visant des analyses biomoléculaires s'orientera logiquement vers la filtration ou l'impingement. Les dilemmes devront donc se résoudre par pondération de ces points.

La comparaison des moyens de collecte offre donc une masse d'information conséquente. Par souci de simplicité, les points principaux sont récapitulés dans le Tableau 6.

**Tableau 6. Avantages et désavantages des méthodes de collectes, à partir de (Ghosh, Lal and Srivastava, 2015).**

	<b>Avantages</b>	<b>Inconvénients</b>
<b>Impaction</b>	<p>Méthode simple, économique, fiable et très utilisée dans la littérature.</p> <p>Manipulations post-échantillonnages réduites.</p> <p>Appareils facilement utilisables sur le terrain : robustes, légers, peu encombrants, batteries, etc.</p> <p>Nombreux modèles disponibles sur le marché.</p>	<p>Méthodes par culture.</p> <p>Problématique des milieux saturés.</p> <p>Echantillonnage affecté par le vent.</p> <p>Performances de collectes fonction de l'appareil.</p>
<b>Impingement</b>	<p>Méthode simple, économique, fiable et très utilisée dans la littérature.</p> <p>Utilisable en milieu très concentré</p> <p>Réduit les pertes dues à des phénomènes physiques (dessiccation, impact, etc) (= Eb impinger &gt; Eb impaction en chambre de test).</p> <p>Pas de restriction vis-à-vis des méthodes d'analyses pouvant être utilisées sur les échantillons.</p> <p>Conservations des échantillons.</p>	<p>Opérations post-échantillonnage nécessaire pour les analyses par cultures et analyses biomoléculaires.</p> <p>Stérilisation du collecteur nécessaire entre chaque prélèvement.</p> <p>Evaporation du liquide de collecte peut conduire à une perte de micro-organismes.</p> <p>Majorité des appareils difficilement utilisable sur le terrain : pompe externe, structure en verre, poids, pas de batterie, plusieurs pièces à transporter, etc.</p> <p>Peu de modèles différents étudiés dans la littérature.</p>
<b>Filtration</b>	<p><b>Filtres seuls :</b> Diamètre de coupure extrêmement bas, possibilité théorique de capturer tous les micro-organismes. Grande efficacité de capture.</p> <p>Pas de restriction vis-à-vis des méthodes d'analyses pouvant être utilisées sur les échantillons.</p> <p>Pas de problématique des milieux saturés.</p> <p><b>Sartorius MD8 :</b> Performances égales aux impacteurs et impingers.</p> <p>Filtre gélatine facilite les analyses biomoléculaires et par culture.</p> <p>Appareil compact et facilement utilisable sur le terrain.</p> <p>Facilité d'utilisation.</p> <p>Pas de problématique des milieux saturés.</p>	<p><b>Filtres seuls :</b> Efficacités variables, dépendent des micro-organismes collectés.</p> <p>Très faibles efficacités biologiques.</p> <p>Montage maison.</p> <p>Difficulté d'utilisation sur le terrain : nécessité d'une pompe indépendante.</p> <p><b>Sartorius MD8 :</b> Fonctionne avec des filtres vendus par le fabriquant : coût de la collecte très élevé.</p>
<b>Précipitation électrostatique</b>	<p>Ec et Eb &gt; 90 %.</p> <p>Pas de restriction vis-à-vis des méthodes d'analyses pouvant être utilisées sur les échantillons.</p> <p>Peut être équipé de boîte de Pétri ou de liquide de collecte.</p> <p>Non sujet au diamètre de coupure.</p> <p>Pas de problématique des milieux saturés.</p>	<p>Montage maison.</p> <p>Majorité des modèles nécessitent une pompe externe.</p> <p>Efficacités fortement dépendantes de la force du champ électrostatique et du débit d'aspiration.</p>

**Tableau 7. Différentes techniques d'analyses des micro-organismes (selon (Ghosh, Lal and Srivastava, 2015)).**

<b>Méthodes culturelles</b>	<b>Méthodes non-culturelles</b>
Dénombrement sur boîte ou MPN Nombre le plus probable	Microscopie à épifluorescence
Microscopie classique	Techniques PCR
MALDI-TOF	Cytométrie à flux
LIBS	Métagénome et séquençage
	DGGE
	Marqueurs biologiques
	Fluorescence induite par laser (LIF)
	ATP - métrie

### **1.2.4. Techniques d'analyse**

Après collecte des micro-organismes à l'aide des biocollecteurs, différentes techniques peuvent être utilisées pour analyser les échantillons. Ces techniques ont pour but de dénombrer les micro-organismes prélevés et / ou d'analyser la structure de la communauté.

Elles se divisent en deux catégories principales : les méthodes culturelles, les méthodes non-culturelles (non-basées sur la culture des micro-organismes), dont les méthodes de microbiologies rapides (RMM) font partie (Tableau 7). Ces techniques ne sont en réalité pas spécifiques aux bioaérosols, elles sont utilisées pour étudier la microflore dans les autres écosystèmes. Ainsi plusieurs reviews présentent ces techniques et leur orientation pour l'analyse de l'air (Ghosh, Lal and Srivastava, 2015). Cette partie se focalisera sur les techniques disponibles au laboratoire d'accueil de ce travail de thèse. Elle détaillera donc les techniques par culture, la microscopie, la technique du LIF et la technique moléculaire de la qPCR.

#### *1.2.4.1. Les techniques par culture*

Les méthodes d'analyse des micro-organismes par culture furent les premières méthodes utilisées en microbiologie. Il s'agit à l'heure actuelle de la principale méthode d'étude des micro-organismes aéroportés.

Elles sont réalisées à partir de prélèvements effectués à l'aide de différents biocollecteurs. Elles se basent sur la capacité de certains micro-organismes à croître sur des milieux adaptés.

Elles permettent d'isoler et de caractériser des micro-organismes dans les échantillons étudiés. Pour l'étude des bioaérosols, il existe des milieux non-sélectifs permettant de récolter un ensemble d'espèces tel que la flore totale (Yao and Mainelis, 2007a), les bactéries mésophiles (Ibanga *et al.*, 2018), la flore fongique (Yao and Mainelis, 2007a), et des milieux sélectifs permettant de cibler des microorganismes spécifiques, par exemple des organismes potentiellement pathogènes comme avec le milieu BCYE pour *L. pneumophila* (Chang, Chou and Hung, 2010).

Dans le cadre de la recherche de la flore totale, les milieux permettant la croissance multi espèces les plus souvent utilisés sont le milieu TSA (tryptic soy agar), le milieu PCA (casein soy peptone agar) (L. Fracchia *et al.*, 2006) ou encore le milieu Nutrient Agar (Pahari *et al.*, 2016). La recherche de la flore fongique est réalisée en utilisant des milieux adaptés aux champignons, comme les milieux MEA (malt extract agar) (Wu, Su and Ho, 2000), DG-18 (dichloran glycerol-18) (Wu, Su and Ho, 2000), PDA (potatoes dextrose agar) (Griffin, Westphal and Gray, 2006) ou encore Sabouraud (SDA) (Yao and Mainelis, 2007a).

Le dénombrement des micro-organismes de l'air sur boîte de Pétri s'effectue par comptage des colonies présentes à sa surface. Chaque colonie est comptée comme une unité formant colonies (UFC). Les concentrations sont exprimées en UFC .m<sup>-3</sup>.

L'identification des micro-organismes par méthodes culturales est généralement peu usitée aujourd'hui du fait de son côté laborieux. Les identifications de souches sont basées sur des méthodes moléculaires comme l'analyse chromatographique des protéines (MALDI TOF) ou séquençage de l'ADN.

#### 1.2.4.2. Méthodes par microscopie

La microscopie est une méthode optique permettant le dénombrement des micro-organismes présents dans un échantillon (Taatjes and Roth, 2015; Muthukrishnan *et al.*, 2017). L'analyse peut être réalisée à l'aide de lame de numération cellulaire, cependant assez peu usitée. Cependant, c'est la méthode d'identification des pollens et spores de champignon par le réseau RNSA.

Certaines techniques microscopiques présentent des avantages importants par rapport aux techniques culturales (Esquivel-Gonzalez *et al.*, 2017).

Les techniques mises en œuvre dans la littérature introduisent un marquage et une détection de fluorescence, comme par exemple la microscopie à épifluorescence (Esquivel-Gonzalez *et al.*, 2017). Ainsi, les cellules marquées et visibles ont des caractéristiques identifiées, comme la viabilité par exemple.

Le système LIVE/DEAD BacLight permet de différencier les bactéries vivantes, ayant une paroi cellulaire intacte, des bactéries mortes à l'aide de deux fluorochromes (Sahu, Grimberg and Holsen, 2005), indépendamment de leur cultivabilité. Esquivel-Gonzalez *et al.*, 2017 ont caractérisé par cette méthode les bactéries Gram + ; Gram – et champignons totaux de différents échantillons.

#### 1.2.4.3. *Compteur de particules à épifluorescence*

Les temps d'analyses liées aux méthodes culturales et des méthodes microscopiques, ont conduit au développement de techniques dites rapides : les Rapid Microbiological Methods (RMM). Ces techniques ont pour but de fournir plus rapidement des résultats, notamment lorsqu'elles sont utilisées sur le terrain. Une de ces techniques est la Fluorescence Induite par Lumière / Laser (LIF : Laser / Light-induced Fluorescence) (Savage *et al.*, 2017). La technique LIF utilise un ou plusieurs lasers aux spectres d'émission allant de 355 à 405 nm permettant d'induire la fluorescence de certaines molécules dont le Tryptophane, le NADH et la Flavine qui sont associées à la viabilité. Ainsi, l'émission de fluorescence permet la discrimination des particules viables des autres (organiques ou inorganiques), de les mesurer et de les compter.

Le compteur de particules totales et viables BioTrak® (TSI, Shoreview, USA) repose sur cette technologie et son utilisation comme méthode alternative de microbiologie a été validée par plusieurs organismes (Parenteral Drug Association (PDA), 2000; European Pharmacopoeia, 2006; USP, 2013, 2015). Dans l'ensemble des particules viables, des particules comme les pollens peuvent aussi être analysées. Le compteur BioTrak dispose d'une technologie double canaux et d'algorithmes permettant de traiter automatiquement les données et de focaliser le compte uniquement sur les micro-organismes, excluant notamment les pollens. Les concentrations obtenues par l'appareil représentent donc les micro-organismes viables aéroportés uniquement (TSI, 2016). Le diamètre de coupure et l'efficacité de capture de l'appareil sont automatiquement pris en compte pour délivrer un résultat plus précis (TSI, 2014).

#### 1.2.4.4. Méthodes moléculaires

Les techniques moléculaires sont des techniques microbiologiques se focalisant sur des molécules chimiques présentes au sein des micro-organismes, comme l'ADN, l'ARN les protéines ou encore l'ATP. Elles permettent de dénombrer et/ou identifier les micro-organismes (Bouchez *et al.*, 2016). Elles rendent possible le dénombrement de micro-organismes impossibles à analyser par méthodes culturales.

Ceci permet d'analyser une flore plus large que les seuls 0,01 à 10% atteignables par culture (Amann, Ludwig and Schleifer, 1995). Cette partie se focalisera sur la technique de la qPCR et détaillera la première étape de la procédure, l'extraction d'ADN, ainsi que la réaction de polymérase.

##### 1.2.4.4.1. Extraction d'ADN

Lors d'analyses orientées sur la molécule d'ADN, l'extraction de l'ADN est la première étape à réaliser. De nombreuses méthodes existent pour récupérer l'ADN, et sont généralement spécifiques de l'environnement étudié (Terrat *et al.*, 2015). La partie délicate est, comme souligné précédemment, la faible concentration en microorganismes dans l'air entraînant l'allongement du temps de prélèvement. Les protocoles jusque-là développés sont généralement repris pour éviter toute perte d'ADN (Jiang *et al.*, 2015).

De façon générale, l'extraction d'ADN se déroule en 3 étapes.

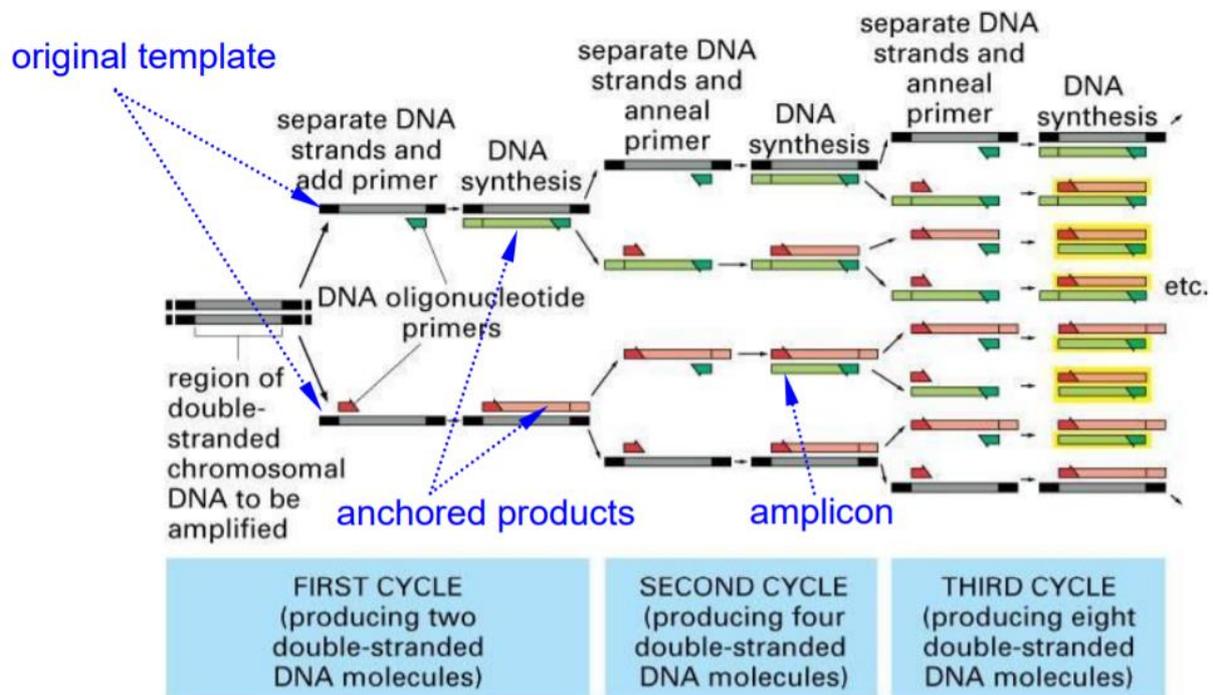
Tout d'abord la paroi cellulaire est lysée, puis l'ADN est purifié afin d'éliminer les protéines et autres impuretés. Cette étape est souvent réalisée à l'aide de colonne de silice. Enfin, l'ADN est élué. Il est nécessaire d'optimiser minutieusement toutes les étapes de l'extraction afin de maximiser la quantité récupérée. Un des moyens de minimiser ce besoin d'optimisation est de prélever de grandes quantités d'air (de l'ordre de 1500 m<sup>-3</sup>), ce qui n'est pas réalisable pour la majorité des biocollecteurs (Radosevich *et al.*, 2002).

##### 1.2.4.4.2. La PCR quantitative (qPCR)

La PCR (pour Polymerase Chain Reaction) quantitative (ou en temps réel) est une technique permettant de dénombrer les cellules originellement présentes dans l'échantillon étudié. Pour détailler cette technique, nous verrons ici ses deux aspects principaux : la réaction de PCR, et l'aspect quantification en temps réel.

#### 1.2.4.4.2.1. La réaction de polymérase en chaîne (PCR)

La PCR est une technique d'amplification de l'ADN *in vitro* permettant de cibler une séquence d'ADN choisie (appelée cible) et de l'amplifier pour obtenir un très grand nombre de copies (Poitras and Houde, 2002; Ifremer, 2009). Pour ce faire la technique utilise des amorces, soit des morceaux d'ADN, spécifiques à la séquence choisie.



**Figure 10. Réaction de polymérisation en chaîne (Alberts, 2004).**

La PCR se compose de trois étapes : la dénaturation, l'hybridation et l'élongation (Figure 10). Elles sont contrôlées par la température. La dénaturation consiste à séparer les deux brins de l'ADN et à activer l'enzyme de type Taq polymérase par augmentation de la température à 94°C. La seconde étape, l'hybridation, permet de fixer les amorces sur les séquences d'ADN choisies. Enfin lors de l'étape d'élongation, la Taq polymérase va synthétiser un nouveau brin d'ADN à l'aide des désoxyribonucléotides (A, T, C et G) libres dans le milieu.

Au final, et après le cycle d'amplification, se trouve deux nouveaux brins d'ADN contenant la séquence cible là où il n'y en avait originellement qu'un seul. A chaque nouveau cycle, chacun de ces amplicons formera deux nouveaux brins. Ainsi, n cycles d'amplification produisent  $2^n$  copies de l'amplicon.

Une des séquences d'ADN étudiée pour les bactéries est la séquence de l'ADN ribosomique 16S (Yoo *et al.*, 2017). Ce gène est commun aux espèces bactériennes et permet leur identification. Pour la flore eucaryote, l'ADNr 18S est généralement choisi.

#### 1.2.4.4.2.2. La quantification en temps réel

La PCR ne donne pas en soit d'informations sur la communauté bactérienne présente initialement dans l'échantillon, elle ne permet que l'amplification de la séquence d'ADN ciblée.

Le suivi en temps réel de l'augmentation de la quantité d'amplicon dans le milieu réactionnel lors de la PCR en présence d'une gamme étalon permet lui de connaître la quantité initiale d'ADN initialement présent. Cette technique est appelée PCR quantitative (qPCR) (appelée aussi PCR en temps réel).

Pour suivre l'évolution de la quantité d'amplicon, des marquages fluorescents sont utilisés soit sous formes de colorant se fixant à l'ADN double brin (SYBRGreen), soit fixés à une sonde (Poitras and Houde, 2002; Ifremer, 2009).

Lors de la PCR, chaque amplicon se dédouble pour former deux nouveaux amplicons (croissance d'ordre  $2^n$ ). La quantité de brins d'ADN présent initialement est donc reliée mathématiquement au nombre de cycles et à l'intensité de la fluorescence (Poitras and Houde, 2002; Institut Cochin, 2018). Plus la quantité de brins d'ADN présente initialement est importante, moins le nombre de cycles nécessaire pour atteindre une valeur de fluorescence seuil sera grand. Ainsi en présence d'une gamme étalon, la quantification de l'ADN initialement présent est possible.

## **1.3. Le paradoxe des procédés biologiques : un service utile mais une source d'émissions de bioaérosols.**

### **1.3.1. Les procédés de traitement : la physique, chimie et biologie au service de l'environnement**

Toute activité humaine est productrice de déchets. D'après le code de l'environnement (art. L541-1), les déchets sont « tout résidu d'un processus de production, de transformation ou d'utilisation, toute substance, matériau, produit ou plus généralement tout bien, meuble abandonné ou que son détenteur destine à l'abandon ». Ces déchets peuvent donc être solides (ordures ménagères, sol pollué...), liquides (eaux usées, huiles...) ou gazeux (air pollué...). Les déchets ménagers et les eaux usées sont les exemples les plus connus de la population. Un aspect moins évident pour la population est la production de déchets industriels. Dans le cadre de production industrielle, le terme effluent est souvent utilisé. Selon le Centre National de Ressources Textuelles et Lexicales (CNRTL), un effluent désigne tout « produit de déchet de toute nature sortant d'une installation de traitement (effluents gazeux, liquides) ». Ce terme rajoute uniquement l'idée de flux de matière au terme de déchet.

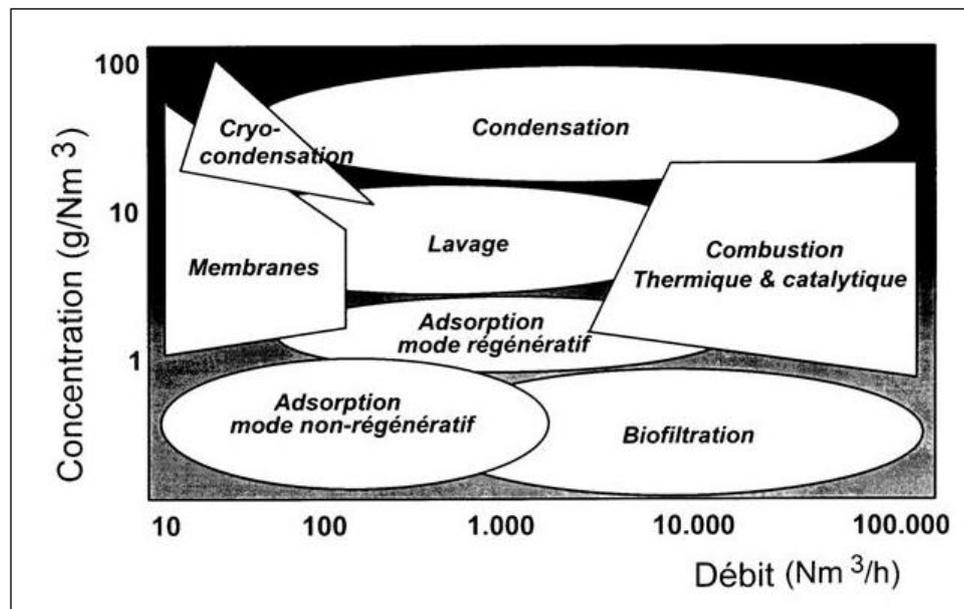
Pour limiter les émissions de composés polluants, des procédés de traitement sont mis en place. Ces procédés permettent de séparer, récupérer, stocker voire détruire les polluants présents dans les déchets. Ces procédés sont classiquement divisés en deux catégories : les procédés physico-chimiques et les procédés biologiques.

Les procédés physico-chimiques se basent sur des principes issus de ces deux disciplines pour réaliser les transformations de la matière. Dans le cadre du traitement des déchets, de multiples procédés existent dont les plus connus sont l'extraction, la filtration et l'incinération (Commission européenne, 2006).

Les procédés biologiques utilisent généralement des micro-organismes pour réaliser une dégradation des molécules polluantes organiques résultant en la production de biomasse, de molécules tels que CH<sub>4</sub> et CO<sub>2</sub> (pour la dégradation anaérobie) (Rondeau, 2013). La phase de dégradation permet aux micro-organismes de réaliser sa phase de croissance.

Ces procédés induisent généralement une destruction du polluant et donc un avantage indéniable sur les procédés physico-chimiques qui ne permettent communément que transformation ou déplacement de la pollution.

Des procédés biologiques existent pour les trois catégories de déchets : liquides (traitement par boues activées), solides (compostage, etc.) et gazeux (biofiltration, biolavage, etc.). Ces procédés seront détaillés plus loin (cf. partie 1.3.2.).



**Figure 11. Faisabilité économique des différents procédés en fonction du débit d'air à traiter et de la concentration en polluant (Herman et al. 1998)**

Dans le cadre du traitement de l'air, les procédés biologiques ne sont généralement utilisés que dans des situations industrielles particulières. Ils sont adaptés à traiter d'importants débits d'effluent ( $> 1000 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ ) avec des concentrations en polluant faibles ( $< 1 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}$ ), et sont compétitifs face aux autres procédés sous ces conditions (Figure 11). De plus, ils permettent de traiter une large gamme de COV (Aizpuru *et al.*, 2001; Iranpour *et al.*, 2005; Haque, De Visscher and Sen, 2012) et de NOx (Jin, Veiga and Kennes, 2005; Niu and Leung, 2010). Dans ce cadre, ils offrent alors de nombreux avantages technico-économiques : coûts d'entretien et de maintenance faibles, utilisation robuste, efficacités importantes (jusqu'à  $> 90\%$ ), etc.

## **1.3.2. Les émissions de micro-organismes : une problématique qui prend de l'ampleur.**

### *1.3.2.1. La problématique et le questionnement émergent*

De par leurs performances et leurs coûts intéressants, l'utilisation industrielle des bioprocédés de traitement s'est développée ces dernières années (Fanlo, 2005). En France, la majorité des eaux usées municipales sont traitées dans des stations d'épuration comportant des procédés biologiques (bassin de clarification, etc.) (20 271 stations recensées en 2013 (Dequesne and Bréjoux, 2016)). Le nombre d'unité de biofiltration augmente dans le monde pour traiter les effluents gazeux (Malhautier *et al.*, 2005), tout comme celles de production de biogaz par digestion / méthanisation (Weiland, 2010). Des recherches sont aussi en cours pour valoriser les produits issues des procédés biologiques, comme par exemple la réutilisation des usées traitées (Carré, 2017) .

Parallèlement à ce développement, les connaissances sur l'impact sanitaire et environnemental des bioaérosols augmentent, entraînant des questionnements sur nos modes de gestion des déchets et leurs conséquences, notamment les émissions potentielles de micro-organismes. En effet, lors de leur mise en œuvre, ces procédés mettent fréquemment en mouvement la microflore présente en leur sein soit dans un besoin d'homogénéisation soit pour favoriser l'oxygénation et par extension la dégradation. De plus, cette agitation peut être liée à des phénomènes passifs comme le vent, ou actifs comme le retournement des andains de compostage ou l'introduction d'air dans les bassins biologiques.

Les procédés biologiques n'ont pas tous fait l'objet de la même attention vis-à-vis de leurs potentielles émissions de bioaérosols. Les données seront présentées, si elles sont disponibles, comme suit : présentation générale du procédé, localisation de la source (activité, ou procédé le plus émissif), les caractéristiques de l'émission (identification et quantité, présence éventuelle de microorganismes pathogènes, exposition à ces derniers) et les moyens de limitation de cette exposition. Seules des concentrations sont mentionnées, très peu de données concernant les flux d'émission sont disponibles.

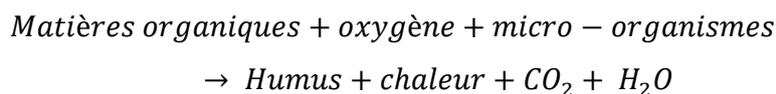
### *1.3.2.2. Le compostage*

Le compostage est un procédé de transformation aérobie des déchets organiques fermentescibles en un produit putrescible réutilisable comme engrais d'agriculture, réalisée par des micro-organismes en présence d'eau et d'oxygène (Le Goff, 2010; ADEME, 2015).

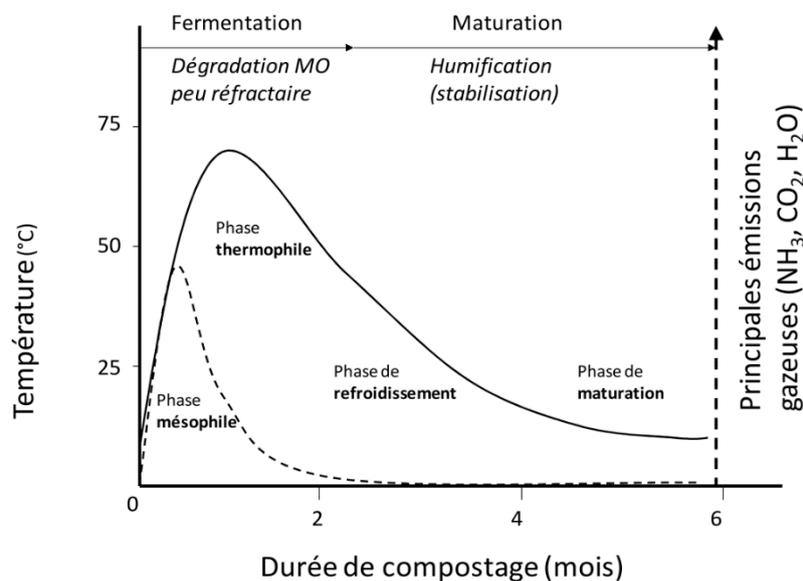
Environ 6,2 millions de tonnes de déchets organiques (déchets verts, boues d'épuration et fraction organique des ordures ménagères résiduelles) produisent 2,1 millions de tonnes de composts annuellement en France (ADEME, 2015).

### 1.3.2.2.1. Principe

Le compostage met en jeu plusieurs réactions conduisant à la dégradation aérobie de matières organiques fraîches, dont le bilan peut être écrit tel que (ENSEEIH, 2018a) :



Ce processus de dégradation se réalise en 4 phases : la phase initiale dite phase mésophile lors de laquelle le processus de dégradation s'enclenche (montée en température) ; la phase thermophile dans laquelle les processus de dégradation sont au plus fort ; et enfin les phases de refroidissement et de maturation qui conduisent à la transformation des matières en humus (Figure 12).



**Figure 12. Phases du compostage caractérisées par la cinétique de température interne** (Oudart, 2013).

La dégradation est réalisée principalement par des bactéries filamenteuses : les actinomycètes, des bactéries mésophiles et thermophiles, et des champignons thermophiles (ENSEEIH, 2018b), en adéquation avec les températures importantes (jusqu'à 75°C) présentes. L'ensemble des déchets organiques mis en compostage est colonisé par des micro-organismes.

Les concentrations sont de  $10^7$  UFC.g<sup>-1</sup> de compost pour les actinomycètes thermophiles et de  $10^5$  UFC .g<sup>-1</sup> pour les champignons thermophiles (Duquenne *et al.*, 2012). Au cours des phases « thermophile » et de « maturation », des retournements (mélanges mécaniques) assurent l’homogénéité macroscopique du produit final, le compost.

### 1.3.2.2.2. Bioaérosols émis

L’activité de compostage émet de micro-organismes dans l’air. Le compost en cours de maturation entraîne l’émission passive des micro-organismes, un phénomène illustré plusieurs fois par des études réalisées à l’aide de biocollecteurs différents et d’analyse par culture ou bien biomoléculaires (Haumacher, Philipp and Böhm, 2005; L. Fracchia *et al.*, 2006; Taha *et al.*, 2006; Grisoli *et al.*, 2009; Schlosser *et al.*, 2009, 2012; Galès *et al.*, 2015; Pearson *et al.*, 2015; Pahari *et al.*, 2016). Les microorganismes sont particulièrement émis pendant les phases de retournement d’andain en extérieur et d’aération en air intérieur (Duquenne *et al.*, 2012).

**Tableau 8. Concentrations des principaux micro-organismes détectés dans les bioaérosols issus du compostage (Wéry, 2014).**

Microbial group	Technique	Background levels <sup>a</sup>	Concentrations in aerosols from composting facilities <sup>b</sup>
		UFC, gene copies, or cells/m <sup>3</sup>	UFC, gene copies, or cells/m <sup>3</sup>
Mesophilic bacteria	Culture	$1.6 \pm 1.2 \times 10^3$ <i>n</i> = 13	$10^2$ – $10^8$
Total bacteria	Epifluorescence microscopy (DAPI)	$2.5 \pm 6.9 \times 10^6$ <i>n</i> = 16	$10^5$ – $6.5 \times 10^9$
Viable bacteria	Solid-phase cytometry	$2.3 \pm 1.9 \times 10^3$ <i>n</i> = 16	$9 \times 10^4$ – $2 \times 10^8$
Gram-negative bacteria	Culture		$10$ – $8 \times 10^5$
Thermophilic bacteria	Culture	$10$ – $1.6 \times 10^3$	$3 \times 10^1$ – $10^9$
Thermophilic actinomycetes	Culture		$10^2$ – $4 \times 10^7$
Molds	Culture	$1.1 \pm 0.8 \times 10^3$ <i>n</i> = 13	$10^1$ – $10^7$
<i>Aspergillus</i> spp.			$9 \times 10^2$ – $7 \times 10^4$
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Culture	<80	< $10^2$ – $4 \times 10^7$
<i>Saccharopolyspora rectivirgula</i>	qPCR		$10^2$ – $1.5 \times 10^7$
<i>Saccharopolyspora rectivirgula</i> and <i>rel.</i> <sup>c</sup>	qPCR	$1.9 \pm 2.3 \times 10^3$ <i>n</i> = 16	$5 \times 10^3$ – $4 \times 10^7$
NC38, phylotype affiliated to the <i>Thermoactinomyces</i> spp.	qPCR	$0.9 \pm 1.4 \times 10^3$ <i>n</i> = 16	$2 \times 10^3$ – $2 \times 10^6$
EQ05, phylotype affiliated to <i>Thermomyces</i>	qPCR	$0.7 \pm 1.9 \times 10^5$ <i>n</i> = 16	$10^4$ – $5 \times 10^8$
<i>Thermoactinomyces vulgaris</i>	qPCR		$3 \times 10^2$ – $3 \times 10^6$

<sup>a</sup> concentration in air collected in unaffected areas (samples collected upwind or in natural environments).

<sup>b</sup> concentration in air from composting sites during activities causing bioaerosol emissions; concentrations are expressed as Unit Forming Colonies/m<sup>3</sup> for culture, as gene copies/m<sup>3</sup> for qPCR, and as cells/m<sup>3</sup> for epifluorescence microscopy and cytometry.

<sup>c</sup> The qPCR system targets partial 16S rDNA sequences from *Saccharopolyspora rectivirgula* and from phylotypes dominating 16S rDNA molecular inventories in aerosol emitted on composting facilities, and having a close phylogenetic positioning to *S. rectivirgula*.

Le Tableau 8 récapitule les concentrations en micro-organismes détectés dans les bioaérosols issus du compostage et retrouvées dans la littérature. Elles ont été obtenues à l’aide de techniques différentes.

Le comptage à l'aide de la microscopie à épifluorescence montre un maximum de  $10^9$  cellules  $\cdot m^{-3}$  pour les bactéries totales, et jusqu'à  $10^8$  bactéries viables  $\cdot m^{-3}$  (Tableau 8) à l'aide de la cytométrie. Enfin, les qPCR réalisées sur des phylotypes ou des espèces particulières montraient de  $10^2$  à  $10^8$  copies  $\cdot m^{-3}$  (Tableau 8). Ces valeurs sont 1000 fois supérieures aux concentrations d'un air du milieu naturel. Une étude plus récente confirme ce constat (Pahari *et al.*, 2016). L'homogénéité de ces résultats obtenus à l'aide de différentes techniques de collecte et d'analyse renforce l'idée que l'activité de compostage est émettrice de bioaérosols.

L'analyse de la communauté présente montre une richesse en espèces importante (Wéry, 2014). Les phyla bactériens dominants sont les Firmicutes avec en particulier les genres *Bacillus*, *Ureibacillus* et *Geobacillus*; le phylum *Actinobacteria* avec pour genre majoritaire les *Saccharopolyspora*; et les phyla  $\alpha$ -*Proteobacteria* (genre majoritaire : *Sphingomonas* sp.),  $\gamma$ -*Proteobacteria* (*Pseudomonas* sp.),  $\beta$ -*Proteobacteria* (*Delftia*) et *Bacteroidetes* (*Flavobacteriaceae* sp.) (Wéry, 2014). Concernant les champignons, les phyla dominants identifiés étaient les *Ascomycota* (*Aspergillus* sp.), *Basidiomycota* (*Dichostereum* sp.), *Mucoromycotina* (*Mucor*), *Entomophthoromycotina* (*Furia*) et les *Zygomycetes* (*Conidiobolus*). Ces genres dominants ont été retrouvés par culture et outils moléculaires.

Les concentrations élevées trouvées dans l'air peuvent conduire à certaines pathologies respiratoires telles que des irritations des voies respiratoires et des bronchites chroniques, dans le domaines du compostage (Bünger *et al.*, 2000; Van Kampen *et al.*, 2016) comme dans d'autres (agriculture, (Pearson *et al.*, 2015)). De plus, certains microorganismes ayant un potentiel impact sanitaire sont retrouvés comme les *Actinobacteria* (Wéry, 2014), *Mycobacterium* ( $3,1 \times 10^4$  génome  $\cdot m^{-3}$ ) et *Legionella pneumophila* ( $1,9 \times 10^5$  génome  $\cdot m^{-3}$ ) (Bonifait *et al.*, 2017).

Le Goff *et al.*, 2011, 2012 ont mis au point des biomarqueurs spécifiques de l'air contaminé par des usines industrielles de compostage (Le Goff *et al.*, 2011, 2012). Ces indicateurs microbiens appartiennent aux genres *Saccharopolyspora*, *Thermoactinomycetaceae* et aux champignons *Thermomyces*. Leur présence indique que l'air étudié a été contaminé par du compostage, ce qui offre entre autres des possibilités d'étude de dispersion de micro-organismes émis lors de ce procédé biologique.

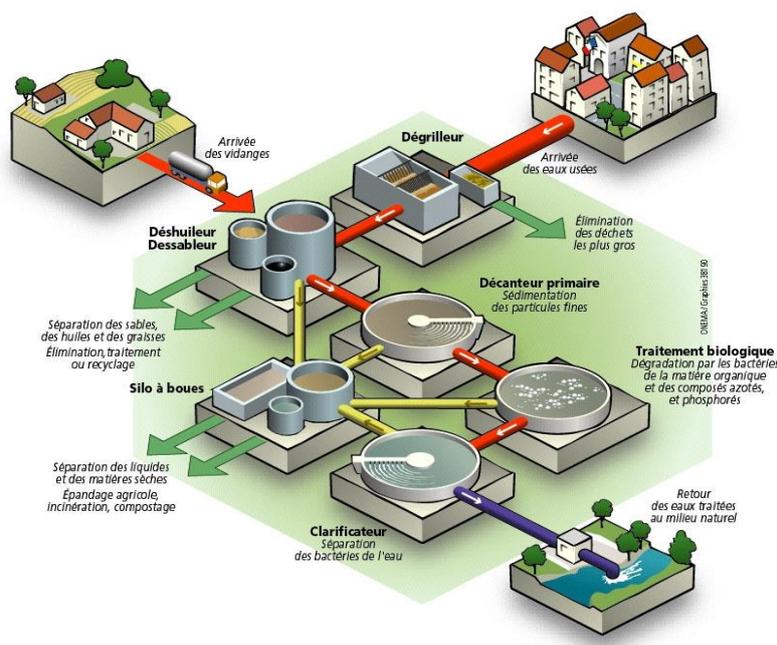
### 1.3.2.3. Les stations d'épuration

Les stations d'épuration (STEP) ayant des bassins biologiques sont couramment retrouvées dans les filières de traitement des eaux usées domestiques et industrielles.

En France, elles représentent le principal procédé de traitement des eaux avant rejet dans l'environnement naturel (Dequesne and Bréjoux, 2016).

### 1.3.2.3.1. Principe

Le traitement des eaux usées est réalisé par une association de plusieurs procédés unitaires appelée filière de traitement (Figure 13). Les premières étapes du traitement, le pré-traitement et le traitement primaire, sont basées sur des principes physiques. Le prétraitement, réalisé classiquement par un dégrilleur, permet l'élimination des déchets les plus volumineux (morceaux de bois, chiffons, plastique, etc.). Un déshuileur et un dessableur permettent le retrait des sables, des huiles et des graisses. Si la pollution particulaire est importante, une étape de décantation primaire peut être effectuée. Cette étape permet de séparer les particules (boues) du flux d'eau par gravité. Ces boues sont envoyées dans un traitement sur site permettant de les assécher avant de les valoriser dans divers domaines (épandage, compostages, etc.) (Figure 13).



**Figure 13. Schéma des différentes étapes de fonctionnement d'une station d'épuration (STEP)** (<http://www.services.eaufrance.fr/gestion/services/eau-potable-assainissement/l-assainissement-collectif#>).

La pollution dissoute est généralement éliminée par voie biologique, dans le cadre du traitement des eaux domestiques.

Une réaction de biodégradation aérobie des matières organiques et des composés azotés / phosphorés est effectuée. Afin de maximiser le rendement de la réaction, de l'air est injecté dans le milieu réactionnel par bullage et / ou par brassage mécanique.

La dégradation des polluants par la microflore permet une croissance bactérienne. A l'issue du traitement, il est nécessaire de retirer cette biomasse grâce à une étape de clarification. L'eau épurée est ensuite retournée au milieu naturel.

De nombreuses actions mécaniques sont donc effectuées le long de la filière de traitement. Le dégrillage, le transport des boues par vis sans fin, le raclage et le brassage des bassins sont autant d'agitation mécaniques effectuées sur des milieux fortement chargés en micro-organismes, qui peuvent donc être émis dans l'atmosphère (INRS, 2013).

#### 1.3.2.3.2. Bioaérosols émis

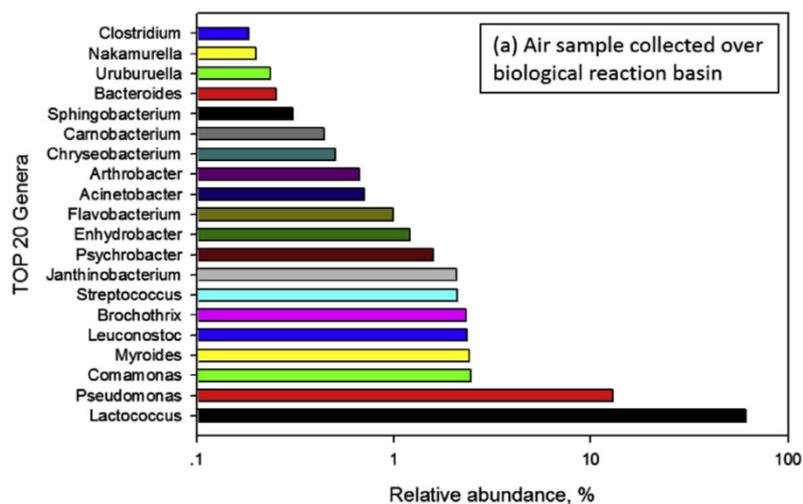
La question de l'émission de bioaérosols depuis les STEP est étudiée depuis longtemps (Fannin, Vana and Jakubowski, 1985). En terme quantitatif, les concentrations en aérosols bactériens retrouvées dans les STEP varient de  $10^1$  à  $5 \times 10^4$  CFU .m<sup>-3</sup>, tandis que les concentrations fongiques varient de  $10^2$  à  $10^4$  CFU .m<sup>-3</sup> (Brandi, Sisti and Amagliani, 2000; Carducci *et al.*, 2000; Ranalli, Principi and Sorlini, 2000; Letizia Fracchia *et al.*, 2006; Karra and Katsivela, 2007; Grisoli *et al.*, 2009; Korzeniewska *et al.*, 2009; Teixeira *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2016). Ces variations peuvent s'expliquer par plusieurs facteurs : la quantité de déchets traitée au moment du prélèvement (Brandi, Sisti and Amagliani, 2000), les techniques de collecte et d'analyse utilisées, la saison (Letizia Fracchia *et al.*, 2006), etc. L'étape de traitement sur laquelle les prélèvements sont réalisés influe aussi sur les concentrations obtenues : Karra *et al.* ont déterminé une diminution de 97 % du total de bactéries mésophiles, 100 % du total de bactéries coliformes et 96% du total de champignons entre les étapes de pré-traitement et le traitement biologique (Karra and Katsivela, 2007).

Plusieurs auteurs ont néanmoins déterminé que l'impact de la STEP, ne dépassait pas l'usine de traitement. Les concentrations retrouvées autour de la STEP n'étant pas plus élevées que ce soit à une distance de 40 à 100 m (Grisoli *et al.*, 2009; Teixeira *et al.*, 2013) ou bien 200 m à 10 km (Li *et al.*, 2016). La conception des installations joue également un rôle dans la quantité de bioaérosols émise, particulièrement en cas de brassage mécanique (Pascual *et al.*, 2003). Le type de système d'aération joue un rôle sur les concentrations retrouvées sur sites (Brandi, Sisti and Amagliani, 2000; Bauer, Fuerhacker, *et al.*, 2002).

Fracchia *et al.* ont déterminé que la nébulisation et l'aération mécanique des eaux usées, résultant en l'envoi de gouttelettes d'eau dans l'atmosphère, était une source importante (Fracchia *et al.* 2006). Sanchez-Monedero *et al.* ont mesuré des concentrations de 450 à 4580 UFC .m<sup>-3</sup> sur des systèmes d'aération mécanique (rotors horizontaux et turbines de surface) et des concentrations de 22 à 57 UFC .m<sup>-3</sup> pour système de type diffuseurs d'air. Ces dernières n'étaient pas différentes des niveaux naturels (Sánchez-Monedero *et al.*, 2008).

Pour limiter l'impact des STEP, certains procédés sont réalisés à l'intérieur des bâtiments. Cependant, la maintenance du système de ventilation devient important pour éviter l'exposition des employés comme le souligne (Teixeira *et al.*, 2013).

La diversité microbienne impliquée dans l'ensemble du procédé de la STEP est variée et dépend en majorité des polluants traités (Korzeniewska, 2011). Cette diversité se répercute sur la diversité microbienne dans l'aérosol (Figure 14).



**Figure 14.** Les 20 genres bactériens les plus identifiés dans l'air au-dessus du bassin d'activation (Li *et al.*, 2016).

Les inventaires moléculaires les plus récents ont pu déterminer les 20 genres bactériens les plus présents dans les bioaérosols émis (Figure 14). En première position figurait *Lactococcus*, suivi de *Pseudomonas* et *Comamonas* (Li *et al.*, 2016). Les 20 genres les plus identifiés dans les échantillons d'air étaient très différents de ceux identifiés dans les échantillons d'eau du même bassin d'activation (Li *et al.*, 2016).

Concernant les champignons, un inventaire a montré un nombre important de genres fongiques identifiés, parmi lesquels *Absidia*, *Actinomucor*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cunninghamella*, *Chrysosporium*, *Chaetonium*, *Botrytis*, etc. (Korzeniewska *et al.*, 2009).

Bien que les STEP n'impactent pas les centres d'habitations voisines, ces concentrations et cette diversité pourraient signifier la présence d'un risque pour la santé pour les ouvriers y travaillant (Grisoli *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2016). En France, un rapport de l'INRS préconise l'adoption de mesures de préventions générales contre le risque biologique que peuvent poser les bioaérosols (INRS, 2013). Il recommande notamment l'implantation de protection collectives, comme le capotage des opérations les plus émettrices de bioaérosols en locaux fermés et la facilité d'entretien des circuits de ventilation ; ou bien l'utilisation de protections personnelles (gants, lunettes et masques de protection respiratoires) ainsi que la sensibilisation du personnel à la problématique des bioaérosols.

#### 1.3.2.4. Les biofiltres de traitement de l'air

Le biofiltre fait l'objet d'un grand nombre d'applications industrielles du fait de sa facilité de mise en œuvre et des coûts de fonctionnement réduits (Fanlo, 2005). Le biofiltre est principalement utilisé pour le traitement des odeurs et des COV, et est notamment utilisé couramment dans les installations précédemment présentées telles que les STEP, les usines de compostage.

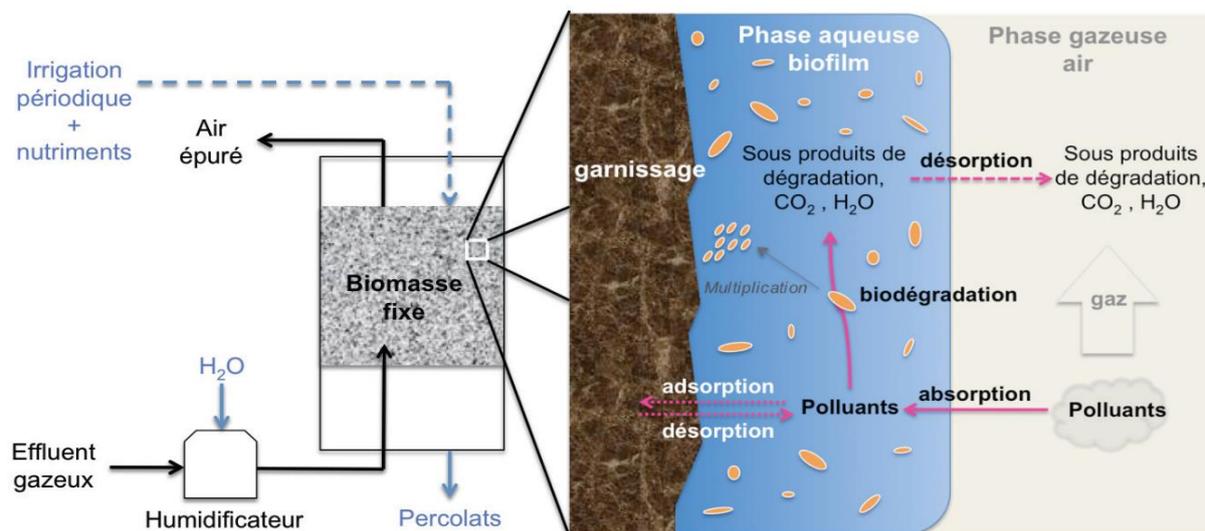


Figure 15. Schéma de principe d'un biofiltre (Rondeau, 2013).

#### 1.3.2.4.1. Principe

Le biofiltre est composé d'un matériau support appelé garnissage sur lequel croît et vit une microflore apte à dégrader une pollution contenue dans un effluent gazeux (Figure 15).

Le garnissage peut être composé de divers matériaux (copeaux de bois, anneaux en plastique, pierres de lave, etc.) mais se présente toujours sous la forme d'un lit poreux composé de particules de tailles homogènes. Le garnissage est constamment saturé d'eau (arrosage), de façon à créer le milieu propice à la formation du biofilm dans lequel vivent les micro-organismes. Ce garnissage peut être contenu dans une cuve donnant directement sur l'air extérieur (biofiltre ouvert), ou bien dans une colonne (biofiltre fermé). L'effluent gazeux à traiter est forcé à travers le garnissage et s'écoule le long des canaux interstitiels.

La dégradation du polluant s'effectue selon un mécanisme en 4 étapes :

- L'absorption du polluant de la phase gazeuse à la phase liquide.
- L'absorption des molécules polluantes par les micro-organismes.
- Les réactions de biodégradation.
- La résorption des sous-produits de la phase liquide dans la phase gazeuse.

L'effluent épuré est évacué jusqu'à l'atmosphère (cas courant) ou vers d'autres procédés d'épuration (cas rare, ex : laveur de gaz).

#### 1.3.2.4.2. Bioaérosols émis

Le procédé de biofiltration met en contact un flux d'air et une communauté microbienne, entraînant des questionnements sur leurs émissions dans l'atmosphère.

Les études des émissions de bioaérosols par un biofiltre reposent principalement sur la détermination des concentrations aériennes des micro-organismes. Les principaux résultats sont présentés dans le Tableau 9.

Ces études, mettant en œuvre des techniques de collecte diverses : impaction, filtration et impingement s'étalent sur une période de 17 ans (2001 – 2018). En sortie de biofiltres, des microorganismes sont retrouvés. Les résultats montrent des concentrations allant de  $10^2$  à  $10^5$  UFC .m<sup>-3</sup> pour les champignons totaux, de  $10^1$  à  $10^3$  UFC .m<sup>-3</sup> pour *A. fumigatus*, de  $10^2$  jusqu'à  $10^7$  UFC .m<sup>-3</sup> pour les bactéries totales, de  $10^2$  à  $10^6$  UFC .m<sup>-3</sup> pour les bactéries Gram + / - et de  $10^3$  à  $10^6$  pour les bactéries mésophiles.

Plus rarement, d'autres catégories apparaissent aussi dans la littérature. Ainsi, des concentrations de  $10^3$  à  $10^5$  UFC .m<sup>-3</sup> ont été trouvées pour les champignons mésophiles (Seedorf and Hartung, 2002; Haumacher, Philipp and Böhm, 2005), et de  $10^1$  à  $10^3$  UFC .m<sup>-3</sup> pour les champignons thermophiles (Schlegelmilch et al. 2005; Haumacher et al. 2005). Les bactéries thermophiles ont aussi été déterminées à une concentration de  $10^3$  à  $10^4$  UFC .m<sup>-3</sup> (Schlegelmilch et al. 2005).

**Tableau 9. Concentrations en sortie de biofiltre pour les différentes catégories de micro-organismes étudiées.**

	Concentrations en UFC .m <sup>-3</sup>				
	Champ. totaux	A. <i>fumigatus</i>	Bact. totales	Bact. Gram - / Gram +	Bact. mésophiles
(Ibanga <i>et al.</i> , 2018) (1)	$10^2 - 10^4$	$10^2 - 10^3$		$10^2 - 10^4 / -$	$10^3 - 10^4$
(Sanchez-Monedero, Stentiford and Mondini, 2003) (1)		$10^2 - 10^3$			$10^3 - 10^4$
(Tymczynyna <i>et al.</i> , 2011) (2)	$10^4$		$8,3 \times 10^6$	$10^4 - 10^5 / 10^4 - 10^6$	
(Zhao <i>et al.</i> , 2010) (1)(2)			$10^4 - 10^5$		
(Chmielowiec-Korzeniowska <i>et al.</i> , 2007) (2)			$10^2 - 10^3$	$10^2 - 10^3 / 10^2 - 10^3$	$10^2 - 10^3$
(Haumacher, Philipp and Böhm, 2005) (2) (3)		$10^1 - 10^3$			$10^3 - 10^6$
(Schlegelmilch et al. 2005) (2) (3)	$10^2 - 10^3$		$10^3$		$10^3 - 10^4$
(Martens et al. 2001) (3)	$10^4 - 10^5$		$10^2 - 10^5$		
(Seedorf and Hartung, 2002) (3)			$10^6 - 10^7$		
<b>Consensus</b>	$10^2 - 10^5$	$10^1 - 10^3$	$10^2 - 10^7$	$10^2 - 10^6$	$10^3 - 10^6$

(1) Impaction. (2) Filtration. (3) Impingement.

Néanmoins, les méthodes culturales sont aujourd'hui considérées comme manquant de représentativité (Fletcher *et al.*, 2014; Esquivel-Gonzalez *et al.*, 2017). D'autres méthodes ont donc été utilisées pour caractériser ces émissions. Ho et al. 2008 ont utilisé la technique FISH et déterminé des concentrations en sortie de biofiltre de  $10^4$  Total Microbial Cells (TMC) .m<sup>-3</sup> pour la flore bactérienne totale.

Esquivel-Gonzalez et al. 2017 ont utilisé la microscopie à épifluorescence pour déterminer une concentration émise de  $10^5$  à  $10^8$  cellules .m<sup>-3</sup>, qui était composée à 45% de bactéries Gram -, à 28% de bactéries Gram + et à 27% de champignons.

#### 1.3.2.4.3. Abatement en bioaérosols

Compte tenu de sa structure (un lit filtrant de type filtration en profondeur), les capacités du biofiltre en termes de rétention des micro-organismes dans l'air le traversant se sont rapidement posées. Le Tableau 10 récapitule les différents abattements obtenus par méthodes culturales et les différentes méthodes de collecte utilisées. Un consensus a été établi que les biofiltres réduisaient de 30 à 98% la quantité de bactéries et de 49 à 100% la quantité de champignons dans le flux d'air les traversant (Seedorf and Hartung, 1999, 2002; W Martens *et al.*, 2001; Sanchez-Monedero, Stentiford and Mondini, 2003; Haumacher, Philipp and Böhm, 2005; Schlegelmilch *et al.*, 2005; Chmielowiec-Korzeniowska *et al.*, 2007; Ho *et al.*, 2008; Zhao *et al.*, 2010; Tymczynna *et al.*, 2011; Ibanga *et al.*, 2018).

**Tableau 10. Efficacité d'abattement (RE) et techniques de collectes utilisées.**

	RE <sub>min</sub> (%)	RE <sub>max</sub> (%)	Technique de collecte
(Ibanga <i>et al.</i> , 2018)	51	88	Impaction (Andersen 6-étages)
(Sanchez-Monedero, Stentiford and Mondini, 2003)	40	99	Impaction (Andersen 6-étages)
(Tymczynna <i>et al.</i> , 2011)	70	99	Impingement (GilAir 5 air sampling device)
(Zhao <i>et al.</i> , 2010)	46	96	Impaction (Andersen 6-étages) et filtration (Airport MD8)
(Haumacher, Philipp and Böhm, 2005)	> 90	100	Filtration et impingement
(Schlegelmilch <i>et al.</i> 2005)	21	90	Impingement (AGI-30) et filtration (filtre polycarbonate)
(Martens <i>et al.</i> 2001)	25	90	Filtration (filtre polycarbonate)
(Seedorf and Hartung, 2002)	73	100	Impingement (AGI-30)
(Ho <i>et al.</i> , 2008)	89	98	Impingement. Analyses : Technique FISH

Globalement les efficacités minimums supérieures à 50 %, et maximales proches de 100 % ont été obtenues. Seules deux études (Schlegelmilch et al. 2005; Martens et al. 2001) montrent des efficacités inférieures à 30 %.

L'application de méthodes moléculaire montre des résultats similaires avec 89% d'abattement avec la technique FISH, confirmant le consensus précédent (Ho *et al.*, 2008). Cependant, ce consensus est majoritairement obtenu sur des valeurs ponctuelles. (Esquivel-Gonzalez *et al.*, 2017) ont utilisé la microscopie à épifluorescence sur une période de 240 jours. Néanmoins, il est difficile de déterminer si leurs résultats montrent un abattement positif ou négatif. En effet les concentrations d'entrée ne sont pas systématiquement mesurées et celles présentent sont constamment inférieures aux concentrations de sortie. Néanmoins, cette technique peut inclure des micro-organismes non-viables, Des études supplémentaires sont donc nécessaires pour préciser l'abattement à long terme de la contamination aéroportée par le biofiltre.

Ottengraf & Konings, 1991 ont proposé une description mécanistique des phénomènes physiques à l'origine de l'abattement des biofiltres en bioaérosols. Ils ont suggéré que 2 mécanismes étaient impliqués. Le premier étant le phénomène d'impaction : une particule suit le flux d'air au travers des canaux interstitiels et acquiert ainsi de l'énergie cinétique. Si la tortuosité ou son énergie est trop élevée, elle peut sortir du flux d'air et percuter le biofilm. Elle s'absorbe alors dans ce dernier et est retenue. D'après les auteurs, ce phénomène est contrebalancé par le phénomène d'émission : une particule s'aérosolise depuis le biofilm et atteint la sortie du biofiltre. L'équilibre entre les deux, principalement régi par la vitesse du gaz, définit si le biofiltre est filtre ou émetteur de bioaérosols.

Le phénomène d'impaction pourrait expliquer que les abattements semblent être reliés à la flore testée. Par exemple, (Ibanga *et al.*, 2018) ont déterminé des RE de 65 à 88 % pour la flore fongique et de -4 à 86 % pour les bactéries Gram -. Les différences de diamètres aérodynamiques entre les microflore (0,5 – 4  $\mu\text{m}$  pour les bactéries et 2 – 10  $\mu\text{m}$  pour les champignons (Li *et al.*, 2011)) expliquent ce phénomène : les particules de plus gros diamètres sont plus facilement filtrées (Ottengraf and Konings, 1991). Le phénomène d'émission à partir du biofiltre est très peu caractérisé. Plus particulièrement, la diversité microbienne dans l'effluent de sortie est encore très peu étudiée à l'heure actuelle.

Une étude par méthode culturale s'est intéressée à la composition de la microflore en sortie du biofiltre, sans néanmoins montrer de grandes différences entre l'entrée et la sortie (Tymczyna *et al.*, 2011).

#### 1.3.2.4.4. Influence des paramètres opératoires

Plusieurs paramètres influencent les efficacités d'abattement des biofiltres pour les bioaérosols, notamment la vitesse superficielle de passage de gaz et le type de matériau du garnissage.

La vitesse superficielle de passage de gaz dans le garnissage a été étudiée, mais les résultats sont divergents. Sanchez-Monedero *et al.*, 2003 ont déterminé une relation linéaire entre la vitesse superficielle de passage de gaz et l'abattement des bactéries mésophiles. Ainsi l'augmentation de la vitesse entre 1,5 et 3m/min entraîne une diminution de l'abattement. Au contraire, Ottengraf & Konings, 1991 ont modélisé une influence positive de la vitesse sur l'abattement. Enfin Schlegelmilch *et al.*, 2005 ont indiqué que la vitesse du gaz avait un effet positif sur l'abattement mais de faible intensité (Schlegelmilch *et al.* 2005).

Le matériau de garnissage possède aussi une influence importante sur les émissions de bioaérosols et les efficacités d'abattement (Schlegelmilch *et al.* 2005; Fletcher *et al.* 2014). Ainsi les matériaux offrant une surface spécifique plus importante et structurée semblent être plus efficaces pour l'abattement des bioaérosols mais l'étude n'a porté que sur 4 garnissages (Schlegelmilch *et al.* 2005).

Ainsi, un consensus indique que les paramètres clés de l'abattement en bioaérosols des biofiltres est l'impingement des micro-organismes dans le biofilm. La vitesse du gaz, la taille des particules du garnissage et le diamètre aérodynamique des bioaérosols en sont les facteurs clés (Ottengraf and Konings, 1991; Fletcher *et al.*, 2014).

#### 1.3.2.4.5. Recommandations dans l'étude des émissions des bioaérosols des biofiltres

L'utilisation des biofiltres pour le traitement des bioaérosols conjointement au traitement des odeurs a fait l'objet d'un rapport. Ce dernier souligne de nombreux points manquants et problématiques dans l'étude de biofiltre dans la remédiation des bioaérosols (Fletcher *et al.* 2014). Ces éléments s'ajoutent à ceux précédemment évoqués.

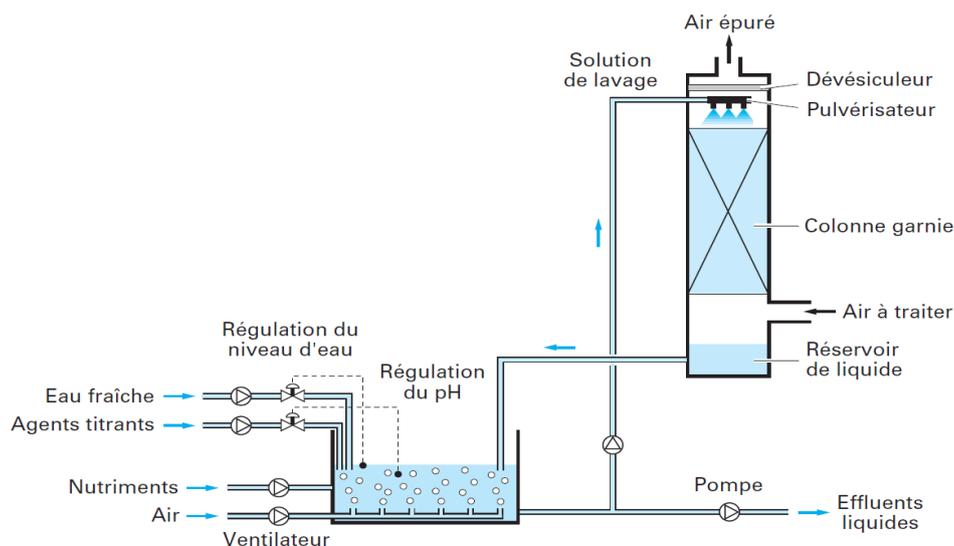
Les critiques soulignent le manque d'études face à la multitude de biofiltres existants (biofiltre ouvert/fermé, en cuve ou en colonne, le matériau de garnissage, etc.) et la diversité des points de prélèvement (sous bâche, à l'intérieur des gaines d'alimentation, à côté de la sortie du biofiltre, etc.). Les méthodes de collectes utilisées varient aussi. Ainsi, des incertitudes persistent sur l'interprétation des données qui sont finalement peu nombreuses. La variabilité est-elle liée au procédé ou aux méthodes analytiques ?

Un autre point important est que la majorité des résultats provient de prélèvements ponctuels en sortie des biofiltres. Ainsi, le suivi de l'état stationnaire sur une longue période est encore peu disponible (à l'exception de Esquivel-Gonzalez *et al.*, 2017 et Ibanga *et al.*, 2018).

Cependant, en prolongeant cette réflexion, la survenue de perturbation n'est pas étudiée. Corrélativement, l'état transitoire ne l'est pas non plus. De plus, des divergences dans les données concernant l'influence de la vitesse superficielle de passage de gaz sont présentes. Un autre aspect analysé au fil de la littérature et laissé de côté pour l'instant est l'aspect microbiologique. Ainsi, la possible influence de facteurs physiologiques sur l'aérosolisation des micro-organismes n'est pas abordée, comme par exemple la nécessité de maintenir un environnement propice au développement des micro-organismes à l'intérieur du biofiltre (apport de nourriture, maintien de la quantité d'eau apportée et du biofilm, etc.). Dans leur rapport, Fletcher *et al.*, 2014 font certaines recommandations pour pallier à ces manques d'informations avec notamment l'utilisation de biofiltres pilotes sur lesquels un suivi plus régulier sans variation de méthodologie pourra être effectué afin de caractériser l'état stationnaire des biofiltres concernant l'abattement en bioaérosols. De plus sur ces systèmes, l'influence des paramètres opératoires sur les efficacités d'abattement pourra être exploré. Fletcher *et al.* indiquent que la vitesse de passage de gaz, l'influence de l'humidification du garnissage et la nature du matériau du garnissage devront être étudiées en particulier.

#### 1.3.2.5. *Les laveurs de gaz*

Les laveurs de gaz sont un procédé d'épuration de l'air de molécules polluantes. Ils sont principalement utilisés en milieu industriel pour dépolluer des effluents gazeux. Les laveurs de gaz existent en deux versions : les laveurs physico-chimiques, et les laveurs biologiques. Cette partie sera focalisée sur les laveurs biologiques et leurs émissions de bioaérosols.



**Figure 16.** Schéma de principe d'un biolaveur de gaz (Pré *et al.*, 2004).

#### 1.3.2.5.1. Principe

Le biolaveur est un procédé de traitement d'effluent gazeux dans lequel la phase aqueuse est mobile et la biomasse libre (Figure 16). Le transfert des polluants dans la phase aqueuse est réalisé à l'aide d'un contacteur gaz-liquide (colonne d'absorption). Les molécules polluantes présentes dans l'air et ayant une forte solubilité vont s'absorber dans la solution. L'air épuré ressort ensuite de la colonne. La solution de lavage chargée en pollution s'écoule par gravité et est dirigée vers un réacteur biologique. La communauté microbienne présente va dégrader les polluants en aérobiose (Pré *et al.*, 2004). La solution ainsi régénérée est réutilisée dans le biolaveur (INRS, 2006). La solution de lavage contient des microorganismes. Dans le contacteur, les gouttelettes peuvent être entraînées par le flux d'air et donc être émises à l'extérieur.

#### 1.3.2.5.2. Bioaérosols émis

Actuellement, seules 3 études concernent les émissions des biolaveurs (Aarnink *et al.* 2005; Aarnink *et al.* 2011, Schlegelmilch *et al.* 2005). Au contraire de leur variante physico-chimique (Chang *et al.*, 2009; Aarnink *et al.*, 2011; Taylor and Zhao, 2013), les biolaveurs émettent des bioaérosols.

Les concentrations des bactéries totales et de la flore fongique en sortie sont plus élevées qu'en entrée (Aarnink *et al.* 2005; Aarnink *et al.* 2011, Schlegelmilch *et al.* 2005) (excepté pour la flore thermophile d'après (Schlegelmilch *et al.* 2005)). Des microorganismes sont émis par les biolaveurs.

Il est important de noter que les biolaveurs sont généralement intégrés dans une filière de traitement comme par exemple l'association laveur physico-chimique puis un biolaveur. Une réduction de la quantité de micro-organismes (jusqu'à 99%) en sortie de ces filières est généralement retrouvée (Schlegelmilch et al. 2005; Zhao et al. 2008; Zhao et al. 2010; Hartung et al. 2011). Ce résultat est à nuancer, l'abattement du laveur physico-chimique vis-à-vis des microorganismes aéroportés est de 99% (Chang *et al.*, 2009; Aarnink *et al.*, 2011; Taylor and Zhao, 2013). Ainsi il est difficile de savoir si les micro-organismes en sortie de filière proviennent de l'entrée de la filière ou sont des microorganismes émis par le biolaveur.

# Implication de la synthèse bibliographique et stratégie de recherche

Bien que naturellement présent dans l'atmosphère, des bioaérosols sont émis lors d'activités anthropiques notamment lors de la gestion des déchets. Cette action met régulièrement en œuvre des micro-organismes pour réduire à moindre coût la pollution à l'aide des procédés biologiques. Lors du fonctionnement de ces derniers, ces micro-organismes peuvent être aérosolisés soit lors de phases d'agitation (retournement pour le compostage, injection d'air dans les bassins d'oxydation ou de système de raclage dans les STEP), soit par le passage du flux d'air à proximité d'un biofilm (dans le cas du traitement des effluents gazeux).

La thématique de l'étude des émissions de bioaérosols des procédés biologiques a démarré depuis des années, et il apparaît que les filières de traitement biologique des eaux et du compostage sont relativement bien étudiées sur ce point. Au contraire, des manques de connaissances apparaissent pour les procédés de traitement de l'air. La biofiltration d'effluent gazeux utilisée sur site pour réduire la pollution chimique des effluents gazeux semble être également une solution de remédiation des contaminants biologiques aéroportés.

Cependant, les études réalisées sur les biofiltres présentent des manques : analyse ponctuelle, influence des paramètres opératoires, non-homogénéité des designs des biofiltres étudiés et des méthodes utilisées, etc. Il est nécessaire d'approfondir nos connaissances sur ce système, car des questions restent sur la possible génération d'une pollution biologique aéroportée.

La synthèse bibliographique a fait apparaître des questionnements auxquels ces travaux de thèse souhaitent apporter des éléments de réponse :

- Le biofiltre agit-il comme un émetteur de micro-organismes ou bien comme un filtre à bioaérosols lors de son fonctionnement en état stationnaire ?
- Quelle est l'influence des paramètres opératoires sur ces émissions en état stationnaire ?
- Comment se comporte le biofiltre en état transitoire vis-à-vis des émissions de bioaérosols ?
- Est-il possible de caractériser mathématiquement les phénomènes en jeu au sein du biofiltre, au travers de modélisations ?

Pour répondre à ces questions, un travail sur des biofiltres pilotes de taille semi-industrielle a été choisi. Cette solution permet de répondre à un maximum de critères de qualité émis par Fletcher *et al.*, 2014 à savoir : homogénéité des designs, maîtrise des paramètres, mise en place d'une méthode répétable pour la mesure des bioaérosols, taille représentative de la réalité industrielle, etc.

Plusieurs techniques d'analyses étaient possibles pour suivre les bioaérosols. Le choix s'est arrêté sur l'analyse des particules viables via la technique LIF mise en œuvre dans le compteur BioTrak®. Il s'agit d'une méthode RMM, autrement dit elle permet un suivi quasiment en temps réel des concentrations et permettra le suivi des émissions de particules viables des bioprocédés. Ce choix permet également de s'affranchir des inconvénients des méthodes par culture et des méthodes moléculaires. Il est important de noter que cette méthode n'a encore jamais été utilisée dans ce type de travail.



# Chapitre 2 : Emissions de micro-organismes par un biofiltre en conditions stables et lors de perturbations

## Table des matières

<b>Chapitre 2 : Emissions de micro-organismes par un biofiltre en conditions stables et lors de perturbations .....</b>	<b>84</b>
<b>Introduction .....</b>	<b>85</b>
<b>Organisation du chapitre.....</b>	<b>87</b>
<b>Article : “Investigation of Removal Capacities of Biofilters for Airborne Viable Micro-Organisms”.....</b>	<b>88</b>
<b>Eléments supplémentaires de discussion : Etude des particules totales .....</b>	<b>101</b>
2. Matériel et méthode.....	102
3. Résultats.....	103
3.1. Evaluation des particules totales par OPC.....	103
3.1.1. Etat stationnaire .....	103
3.1.2. Impacts de l’arrêt de la tour d’humidification. ....	104
3.1.3. Aspect cinétique .....	106
3.2. Etude des particules totales par filtration.....	107
3.3. Discussions .....	108
4. Synthèse.....	109
<b>Evaluation of viable particles emissions from biofilters: influence of seasons and environmental parameters. ....</b>	<b>110</b>
<b>Conclusion du chapitre.....</b>	<b>122</b>

# Introduction

Les récentes connaissances de l'impact sanitaire des bioaérosols (voir chapitre I.X) entraînent des questionnements sur leur émission notamment au niveau des procédés de dépollution des effluents solides, liquide et gazeux par voie biologique. Dans le cadre du traitement des effluents gazeux, les informations relatives aux émissions par le biofiltre de bioaérosols sont incomplètes (voir chapitre 1X). Dans ce chapitre, les émissions en bioaérosols de biofiltres en conditions opératoires stables sur des périodes de durée différentes (44 jours et 247 jours) et lors de perturbations liées à l'humidification et à l'alimentation en polluant chimique ont été suivies.

Les émissions de bioaérosols par les biofiltres sont étudiées depuis environ 30 ans. Les capacités épuratoires des biofiltres pour les micro-organismes ont été mises en évidence à de nombreuses reprises, ces derniers étant capables de réduire la quantité de bioaérosols dans l'effluent les traversant de 13 à 95% (Frederickson *et al.*, 2013; Fletcher *et al.*, 2014).

Néanmoins, la compréhension de la variabilité des résultats est actuellement impossible pour plusieurs raisons : la diversité et les biais des méthodes de collecte et d'analyse, de même que la diversité du procédé étudié (Fletcher *et al.*, 2014).

La représentativité des méthodes utilisées pour étudier les bioaérosols peut être remise en question. Les biocollecteurs choisis sont généralement par impaction couplés aux méthodes d'analyse par culture. Ces méthodes possèdent des efficacités relativement faibles (voir chapitre I.X, (Amann, Ludwig and Schleifer, 1995)). Aussi, les méthodes de prélèvements varient d'une étude à l'autre (type de biocollecteurs, prélèvement à 30 cm de la sortie du biofiltre (Sanchez-Monedero, Stentiford and Mondini, 2003), prélèvement directement dans la gaine de sortie ou bien avec la « méthode de la bâche » (Fletcher *et al.*, 2014), etc)

Ces méthodes reposent sur des prélèvements ponctuels de biofiltres industriels sans informations sur les conditions de fonctionnement du procédé. Les prélèvements ponctuels sont uniquement représentatifs d'un temps donné.

L'absence de données sur le régime de fonctionnement empêche la compréhension des variations rencontrées dans la littérature. De plus, en milieu industriel, les conditions de fonctionnement des biofiltres ne sont généralement pas stables (Kraakman, 2003; Cabrol, 2010).

Enfin, l'appellation « biofiltre » regroupe une grande diversité en termes de design et de fonctionnement (biofiltres ouverts / fermés, en colonne ou en bacs, type de garnissage, paramètres opératoires, etc). Les études réalisées sont peu renseignées sur ces paramètres et sont encore en nombre insuffisant pour que des conclusions puissent être émises.

Des auteurs ont choisi d'autres voies d'analyses pour s'affranchir de biais, notamment en utilisant des techniques non-basées sur la culture des micro-organismes (la technique FISH (Ho *et al.*, 2008), la microscopie à épifluorescence (Esquivel-Gonzalez *et al.*, 2017)) afin d'être plus représentatif de l'ensemble de la flore aéroportée. Les travaux de ce chapitre s'inscrivent dans cette continuité, avec la mise en place d'une nouvelle stratégie expérimentale afin de caractériser les émissions d'un biofiltre dont les paramètres opératoires sont contrôlés.

# Organisation du chapitre

Une nouvelle stratégie de recherche pour l'évaluation des émissions de micro-organismes des biofiltres a été mise en œuvre afin de répondre à un maximum de critères soulevés par (Fletcher *et al.*, 2014). Elle se base notamment sur le recours à un Compteur de Particules Totales et Viabiles pour évaluer la microflore aéroportée viable, en s'affranchissant des biais de la culture et permettant d'obtenir des résultats rapidement (temps d'analyse de 1 à 2 minutes). Une unité pilote de biofiltration de taille semi-industrielle (1000 L) et des points de prélèvements fixes ont été utilisés afin de répondre aux exigences de design et de répétabilité des prélèvements de (Fletcher *et al.*, 2014).

Le questionnement principal auquel ce chapitre souhaite répondre est : Le biofiltre en conditions opératoires stables est-il un émetteur de particules viables ou bien un filtre pour ces particules ? »

Ce chapitre se structure autour de deux articles, le premier publié dans Int. J. Environ. Res. Public Health 2018 et le second soumis à Journal of Environmental Management. Dans le premier article, un suivi des émissions en particules viables a été réalisé sur le biofiltre pilote en conditions opératoires stables. Ces dernières incluaient une alternance de période « alimentation en polluant » / « famine » correspondant aux conditions industrielles. Puis l'influence de deux paramètres opératoires : l'alimentation en polluant et l'humidification de l'effluent est observée via l'application de perturbations. Ainsi, pour l'influence de l'alimentation, des périodes de famines de durée variables (2 à 90 jours) ont été appliquées au biofiltre. L'influence de l'humidification en polluant a été caractérisée par des périodes d'arrêts de la tour d'humidification.

Pour compléter ces données, des éléments relatifs aux particules totales sont proposés pour les mêmes conditions de fonctionnement du procédé que dans l'article 1.

Ces particules correspondent à toutes particules solide / liquide, inorganique / organique de diamètre compris entre 0,5 et 25  $\mu\text{m}$ , émises par le biofiltre. En effet, ces particules ont un impact sanitaire non-négligeable (Melse, Ogink and Rulkens, 2009). Lors du second article, les émissions ainsi que la charge microbienne ont été évaluées sur 247 jours via une étude de la saisonnalité. L'influence statistique des saisons sur les concentrations d'entrée et de sortie, ainsi que les capacités émettrices / épuratoires du biofiltre pour les particules viables a été déterminée.



Article

# Investigation of Removal Capacities of Biofilters for Airborne Viable Micro-Organisms

Rémi Soret <sup>1</sup>, Jean-Louis Fanlo <sup>1</sup>, Luc Malhautier <sup>1</sup>, Philippe Geiger <sup>2</sup> and Sandrine Bayle <sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> LGEI, IMT Mines Ales, University of Montpellier, 30100 Ales, France; remi.soret@mines-ales.fr (R.S.); jean-louis.fanlo@mines-ales.fr (J.-L.F.); luc.malhautier@mines-ales.fr (L.M.)

<sup>2</sup> CMI Europe-Environnement, 1 rue des Pins, Parc d'Activités du Pays de Thann, 68700 Aspach-Michelbach, France; philippe.geiger@cmigroupe.com

\* Correspondence: sandrine.bayle@mines-ales.fr; Tel.: +33-046-678-2708

Received: 24 January 2018; Accepted: 1 March 2018; Published: 19 March 2018

**Abstract:** New emerging issues appears regarding the possible aerosolization of micro-organisms from biofilters to the ambient air. Traditional bioaerosol sampling and cultural methods used in literature offer relative efficiencies. In this study, a new method revolving around a particle counter capable of detecting total and viable particles in real time was used. This counter (BioTrak 9510-BD) uses laser-induced fluorescence (LIF) technology to determine the biological nature of the particle. The concentration of viable particles was measured on two semi-industrial pilot scale biofilters in order to estimate the Removal Efficiency in viable particles ( $RE_{vp}$ ) in stable conditions and to examine the influence of pollutant feeding and relative humidification of the gaseous effluent on the  $RE_{vp}$ . The  $RE_{vp}$  of biofilters reached near 80% and highlighted both the stability of that removal and the statistical equivalence between two identical biofilters. Pollutant deprivation periods of 12 h, 48 h and 30 days were shown to have no influence on the biofilters' removal capacity, demonstrating the robustness and adaptation capacities of the flora. In contrast, a 90-day famine period turned the biofilters into emitters of viable particles. Finally, the humidification of the effluent was shown to negatively influence the removal capacity for viable particles, as drying off the air was shown to increase the  $RE_{vp}$  from 60 to 85%.

**Keywords:** biofiltration; bioaerosols; BioTrak; fluorescence; operating parameters

## 1. Introduction

Air pollution control has been a concern for many years. To preserve air quality and limit emissions of chemical pollutants, several laws have been established at national, European and international scales. For example, the regulations toward air pollution control tightened over the last years for Volatile Organic Compounds (VOCs) and odors (Directive 2008/50/EC). To comply with those regulations, biological processes such as biofilters have been implemented for the treatment of gaseous effluents in a wide range of environments like manufacturing industries (paper industries, chemical industries, etc.), wastewater treatment plants, biogas production units (methanization) or composting plants [1]. Biofilters are one of the best available techniques [1,2]. They are appropriate for treating gaseous stream with high flow rate at low concentration of pollutants. They offer a sustainable and eco-friendly solution for air pollution control, with low maintenance costs. For all those reasons, their implementation at industrial scale grew exponentially in recent decades. However, as biofilters are biological systems themselves, further focus has been set on the question of if they act as additional sources of airborne microorganisms. Hence, the dispersion of microorganisms from gas biofilters and their health consequences for workers and residents are the subject of discussions. During the biofiltration process, gaseous effluent is forced through a packing bed material colonized by a microbial flora which enables the degradation of the pollutant [3].

This biological mechanism leads to interrogations about the possible aerosolization of micro-organisms from the biofilm to the gaseous effluent and their diffusion in the atmosphere [4–6]. Some studies demonstrate adverse health effects from occupational exposure to bioaerosols produced during biological process functioning [7]. These questions have led to the publication of Directive 2000/54/EC by the European Parliament on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work. The British Government recently emitted a new regulation enforcing the monitoring of bioaerosols in biological waste treatment plants [8]. In ambient air, the World Health Organization (WHO) indicated that the exposure limit value (ELV) of bioaerosol in ambient air should be lower than  $300 \text{ CFU}\cdot\text{m}^{-3}$  [9].

Moreover, the inlet gaseous influent can contain a large amount of micro-organisms or some pathogenic micro-organisms according to the industrial activity (rendering, biogas production . . . ). A few studies investigated those questions by using generally classical microbiological methods [6]. However, it is well known that these methods are rather laborious (depending on the culturability of microorganisms) and time consuming (from 2 to 10 days) [10]. Moreover, Amann et al. [11] reported that the percentage of cultivable micro-organisms in an environment represent only from 0.01 to 10% of the total microbial flora. Cultivable cells only represent 4 to 30% of the total biomass in gas biofilters [12,13]. Furthermore, the collection methods and growth media used to study emissions of micro-organisms from gas biofilters were variable.

The profusion of approaches has made it difficult to compare results [6,9,14–20]. To overcome these problems, new approaches called rapid microbiological methods (RMM) appeared. Among them, methods to determine the number of microorganisms via evaluation of microbial viability have been developed [21]. One of those emerging techniques is based on laser/light-induced fluorescence (LIF) which is used by commercially available devices such as the BioTrak<sup>®</sup> counter. The counter's utilization has been validated by the USFDA [22] and its performances as an alternative method of microbiology have been validated in accordance with USP Validation of Alternative Microbial Methods (USP <1223> [23], USP <1116> [24]), the European Pharmacopoeia (Ph. Eur. Chapter 5.1.6 [25]) and the Parenteral Drug Association (PDA Technical Report 33 [26]). This device allows an easy and fast monitoring of total viable airborne flora with a cut-off size of  $2 \mu\text{m}$  [27], which is relevant to the 2–10  $\mu\text{m}$  aerodynamic diameter range where the majority of bioaerosol can be found [28]. In their review, Fletcher et al. [6] highlighted the need for regular monitoring of bioaerosol emissions from biofilters during steady state operation by using a standardized and repeatable measurement method. Moreover, it is also of great importance to examine the influence of operating parameters on the potential emission of microorganisms.

They also emphasized the use of a parameters controlled biofiltration pilot unit to eliminate the high variability of industrial field sampling. The BioTrak counter could be an efficient tool for that purpose. The first goal of this study is then to determine the  $RE_{vp}$  of a biofiltration pilot unit at steady state by monitoring its emissions of viable particles. The second goal is to investigate the influence of operating parameters on the  $RE_{vp}$  via controlled perturbations. The influence of two operating parameters such as pollutant feeding and humidity of the effluent has been presented here.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Optical Total and Viable Particles Counter BioTrak<sup>®</sup>

The main device used in this study is the Optical Total and Viable Particles Counter BioTrak<sup>®</sup> (BioTrak 9510-BD, TSI, Shoreview, MN, USA). The counter is composed of two distinct stages. The first one hosts an Optical Particles Counter (OPC). This counter uses laser diffraction to measure and count every solid particle, including inorganic and organic particles, in the diameter range from 0.5 to 25  $\mu\text{m}$ . Among these particles, viable particles are then determined by auto fluorescent detection.

For this detection, the particles go through a cyclonic concentrator which reduces the airflow while maintaining the majority of the particles inside, to then reach the second stage.

This corresponds to the viability detector which uses laser-induced fluorescence to discriminate the viable particles in the total exiting the concentrator. For this, two 405 nm wave length lasers enable the fluorescence of the NADH, Flavin and tryptophan molecules associated with viability.

This device allows the real-time monitoring of the viable airborne flora. The sampling flowrate is  $28.3 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ . Measurements using the BioTrak counter consisted of 15 cycles: a measurement of 1 min followed by a pause of 30 s.

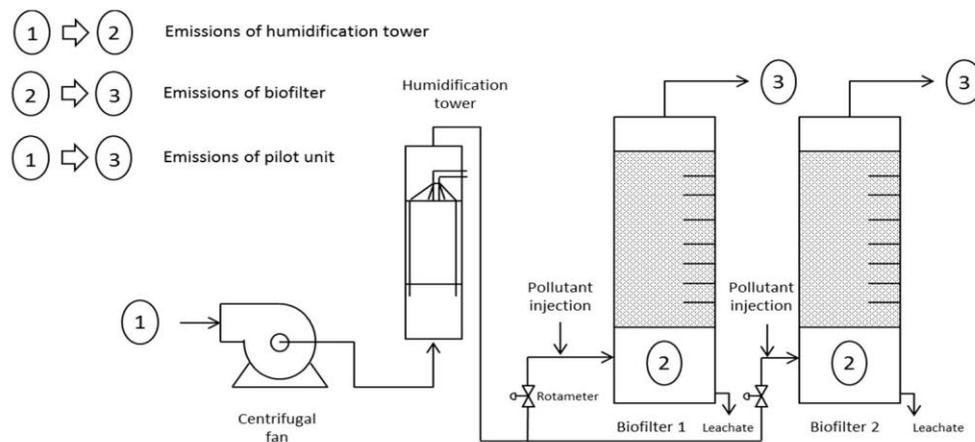
## 2.2. Pilot Scale Biofiltration Unit

The unit is composed of 2 major parts: the gaseous effluent generation and the two biofiltration units in parallel (Figure 1).

A synthetic gaseous effluent containing a carbon concentration of around  $7.5 \text{ g}\cdot\text{carbon}\cdot\text{m}^{-3}$  air at a flow rate of  $20 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$  was created by injecting SP95 petrol into compressed air stream prior to reaching the carrier effluent. The carrier effluent is composed of ambient air aspired by a centrifugal air fan and going through a humidification tower to reach maximum water saturation (95%) before being distributed among the biofilters, in an upward flow mode, at a flow rate of  $2 \text{ m}^{-3}\cdot\text{air}\cdot\text{h}^{-1}$  and an inlet VOCs concentration of  $1 \text{ g}\cdot\text{carbon}\cdot\text{m}^{-3}$ . Biofiltration columns are identical PVC columns of 3 m in height and 30 cm in diameter and packed with sawmilled wooden chips with an average size of 10 mm up to 1 m height. Both were operated in parallel during all experiments. A 50 cm head space at the top of each column contained the humidification system. A 55 cm bottom section is designed for gas velocity homogenization prior to entering the packing bed, as well as for leachate recovery. In order to maintain the humidity of the packing bed material, the biofilters were watered with standard water at a flow of  $15 \text{ L}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{day}^{-1}$ .

The biofilters were inoculated by placing the packing bed material inside sewage sludge coming from the local wastewater treatment plant for 24 h. Ambient temperature was controlled in the laboratory test hall assuring a minimum temperature of  $15 \text{ }^\circ\text{C}$ . The inlet stream load was of  $360 \text{ g}$  of pollutant per cubic meter of packing bed per day ( $360 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{day}^{-1}$ ).

For this study, the supply of pollutant followed an alternation of 12 h of feeding followed by 12 h of deprivity for 5 days (Monday to Friday), then a period of complete deprivation for 2 days (Saturday and Sunday). This set up was chosen to represent typical full-scale biofilters operation in the oil industry (refining, storage, treatment of petroleum wastes). The average pollutant removal efficiency during this study was of 30%.



**Figure 1.** Schema diagram of experimental design with particles sampling points. 1: Ambient air. 2: Gas homogenization area. 3: Gas outlet.

### 2.3. Experimental Design

#### 2.3.1. Sampling Points

A schematic representation of the sampling points used is presented in Figure 1.

The first sampling point corresponded to the ambient air. It was placed approximately at 1.5 m from the floor and 1.5 m from the fan aspiration to ensure isolation and representativeness of the samplings. The second sampling location was inside the gas homogenization area and was sampled through the leachate outlet.

The third sampling point corresponds to the air exiting the biofilter, and was sampled directly inside the head space at the top of the column within a space located at 10 cm from the packing material. The  $RE_{VP}$  of the pilot unit as a whole, of the humidification tower, and of the biofilter could be estimated by comparing the sampling results of points 1 and 3; points 1 and 2; points 2 and 3 respectively.

The results are expressed as removal efficiency of viable particles ( $RE_{VP}$ ). The  $RE_{VP}$  is calculated as follows:

$$RE_{VP} (\%) = \left( \frac{C_{input} - C_{output}}{C_{input}} \right) \times 100 \quad (1)$$

where  $C_{input}$  corresponds to ambient air concentration ( $VP \cdot m^{-3}$ ) and  $C_{output}$  to outlet gas concentration ( $VP \cdot m^{-3}$ ).

#### 2.3.2. $RE_{VP}$ at Steady State

The emissions of viable particles of biofilters at steady state were investigated and the  $RE_{VP}$  determined during 44 days for both columns operating with strictly identical conditions. Two measurements per day were conducted to take into account both daily variations and pollutant feeding alternation. The first measurement was performed in the morning and the second one in the afternoon.

#### 2.3.3. Pollutant Feeding

The influence of pollutant feeding was studied by depriving the biofilters of any pollutant for controlled periods of time while maintaining the same airflow. The first starvation period represented the alternation of pollutant feeding at steady state, thus deprivation periods of 12 and 48 h. The second starvation period was of 90 days and started after a 3 months period of steady state. Following this starvation period, the biofilters were put back in steady state operations for 15 days. The final starvation period took place afterward and lasted 30 days. During feast conditions, both biofilters were fed with basal VOCs concentration ( $360 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ ). Each famine period was only applied when all biofilters experienced steady state.

#### 2.3.4. Gas Humidification/Moistening

The influence of the air moisture content was examined by shutting down the humidification tower of the pilot unit for up to 50 h. No further time was added in order to preserve the biofilm on the packing bed material.

A complementary analysis of the quantity of water in the air was performed during this period. Both air temperature and relative humidity were determined by using a temperature and hygrometry probe (KIMO instruments, Montpon Ménésterol, France), and the quantity of airborne water was computed with data from a Mollier diagram. Measurements were carried out in the ambient air, at the bottom and at the top of the biofilter to estimate the emitted quantity of water for each section of the experimental design by using a water mass balance.

The determination of viable particle quantities in the air using the BioTrak counter was simultaneously performed, thus allowing the specific isolation of the share of the biofilter itself in the removal efficiency of the total pilot unit.

#### 2.4. Statistical Analysis

Different statistical tests were used during this study. Analysis of variance was used in priority. For non-normally distributed variables, data were compared with Wilcoxon test. ANOVA was used to analyze steady state and humidification studies' data. Wilcoxon test was used for the pollutant deprivation study. The equivalence one-sided test (TOST) was used to determine the statistical equivalence between both biofilter columns. All analyses were performed using the statistic software R. The chosen level of risk was 5%, a result was thus considered statistically significant with a  $p$ -value  $< 0.05$ .

### 3. Results and Discussion

#### 3.1. Steady State

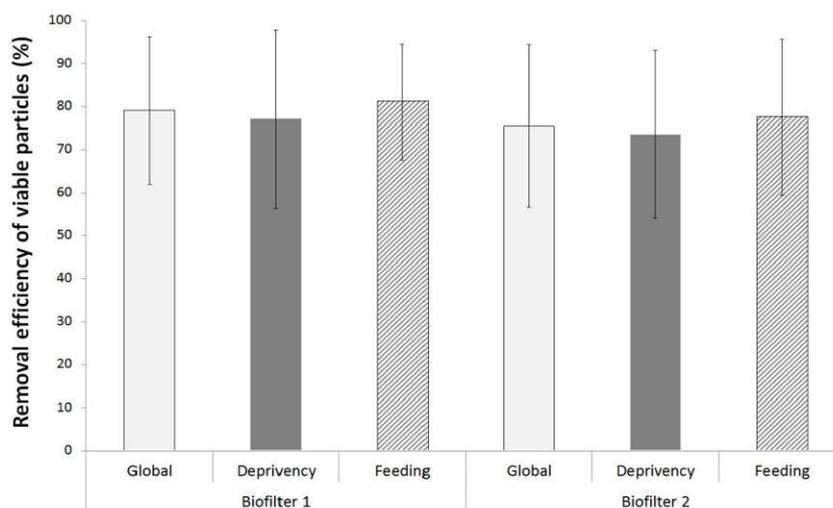
Viable particles' concentrations (VP concentration) were monitored at steady state for a period of 44 days for both biofilters. The variation of the inlet VP concentration in the entire study (steady state, influence of pollutant and influence of humidity included) was limited to around 1 log maximum, ranging from 900 to 12,000 VP·m<sup>-3</sup>. The median inlet concentration was calculated as being 3200 VP·m<sup>-3</sup> and the mean concentration was  $3800 \pm 2400$  VP·m<sup>-3</sup> which highlighted the stability of the concentration throughout the study. The outlet VP concentration during the steady state study ranged from 270 to 3700 VP·m<sup>-3</sup> with a mean concentration of  $950 \pm 750$  VP·m<sup>-3</sup> for BF1. The concentration ranged from 20 to 2600 with a mean concentration of  $970 \pm 750$  VP·m<sup>-3</sup> for BF2. On average, the emissions were also lower than what reported in the literature [5,29–37]. However, the majority of these studies revolved around field sampling on on-site biofilters in highly contaminated environments. However, these results are higher than the WHO recommendation for bioaerosol concentration (300 UFC·m<sup>-3</sup>) [9].

The small variation in VP concentrations in inlet effluent ensured the representativeness of the RE range variations. This parameter was therefore chosen to monitor changes in biofilter removal capacities of VP. RE<sub>vp</sub> values are presented in Figure 2. The RE<sub>vp</sub> were of  $79 \pm 17\%$  and  $76 \pm 19\%$  for biofilter 1 (BF1) and biofilter 2 (BF2) respectively.

These values were in agreement with microbial RE values which have been reported by different authors for bacterial and fungal communities: from 30–98% for bacteria [5,29–37], and from 49–100% for total fungi [5,29–33,37]. It is important to underline that these previous works were performed using on-site industrial biofilters. Hence, design characteristics, operating parameters and packing bed materials of these biofilters differed from one another. Furthermore, results were gathered using different sampling devices and sampling methods. The observed seemingly high variability among all these data is then due to both biofilter design and operation, and microbial particles sampling and counting. It should also be noted that those results (except for [35]) were obtained through culturable methods with significant delays. It is also well known that these methods involve challenges for the representation of airborne microorganisms [10]. According to Amann et al. [11], these studies could have overlooked up to 90% of the total airborne microbial flora. The BioTrak technology has been chosen to overcome the cultivability of micro-organisms and to improve the microflora representation.

A few studies have implanted culture independent methods to observe airborne micro-organisms from biofilter. Epifluorescence Microscopy and FISH analysis have been used by Esquivel-Gonzalez et al., 2017 [9] and Ho et al., 2008 [35] respectively. Esquivel-Gonzalez et al., 2017 have found a weak emission from their biofilters (average inlet concentration:  $3 \times 10^7$  cells·m<sup>-3</sup> air and average outlet concentration:  $3.8 \times 10^7$  cells·m<sup>-3</sup>·air). Using the FISH technique, HO et al., 2008 found a RE for total micro-organisms of 90% and 98% which is concordant with our results.

Epifluorescence Microscopy include in their quantification non-viable cells or microbial fragments in the count (Esquivel-Gonzalez et al., 2017). Comparison of the target to be measured could explain the variation in the results. Culture methods highlight viable and cultivable micro-organisms population, BioTrak targets the viable micro-organisms, EM detects total cells (viable, dead and fragments) and FISH detects the DNA. There is a need to explore further the differences in measurement of different technologies.



**Figure 2.**  $RE_{vp}$  for both biofilters during the pollutant alternation of deprivity and feeding periods ( $n_{deprivity} = 25/\text{bars}$ ,  $n_{feeding} = 27/\text{bars}$ ).

Statistical analysis showed no difference between the feeding and deprivity periods ( $p = 0.3$ ). Both 12 and 48 h of deprivity period included in the normal operation feeding scheme had no effect upon the  $RE_{vp}$  levels emitted by biofilters (Figure 2). Moreover, no statistical difference has been detected on  $RE_{vp}$  between both biofilters ( $p > 0.8$ ).

The equivalence test demonstrated that both biofilters, identical in term of designs and operating conditions, presented equivalent removal efficiency for viable particles ( $p < 0.05$ ).

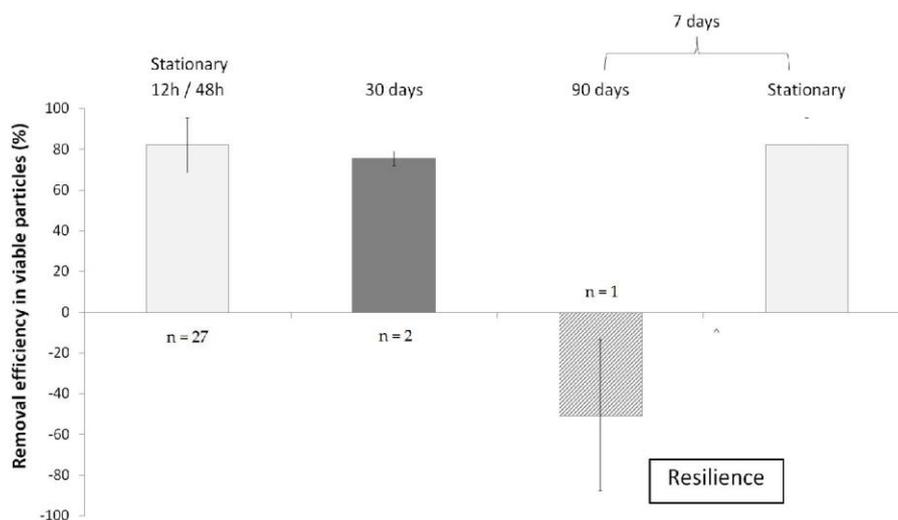
### 3.2. Pollutant Feeding

Viable particles concentrations have been monitored to test the ecosystem resistance to a famine period. Both biofilters have been submitted to different famine periods (12 h/48 h, 30 days, and 90 days).

The  $RE_{vp}$  have been calculated and summarized in Figure 3. In stable operating conditions (12 h/48 h famine periods) identical efficacy of  $79 \pm 17\%$  have been observed (Section 3.1). Two deprivation periods of 30 days have been performed, the mean outlet VP concentration was  $960 \pm 700 \text{ VP}\cdot\text{m}^{-3}$ . The average  $RE_{vp}$  was of  $76 \pm 4\%$ .

During the 30 days period, the outlet concentration was remarkably similar to the steady state ones, showing no modification of the  $RE_{vp}$ . During the 90 days deprivation period, the mean inlet concentration was  $2700 \pm 1500 \text{ VP}\cdot\text{m}^{-3}$ . The data showed a negative average removal efficiency of  $-51 \pm 37\%$  during this period. The outlet concentration was significantly higher and highlighted the microbial aerosolization. After the seven day recovery period, the average concentration went back to  $1000 \pm 640 \text{ VP}\cdot\text{m}^{-3}$  and ranged from 570 to  $1500 \text{ VP}\cdot\text{m}^{-3}$ . The concentration after the seven day recovery period also underscored the resilience of the system as it went back to steady state equivalent level.

None of the 12 h, 48 h and 30 days deprivation periods had an influence on the levels of the  $RE_{VP}$  ( $p < 0.01$ ). Biofilter turned into an emitter of viable particles with a negative average  $RE_{VP}$  ( $p < 0.001$ ) after 90 days of pollutant deprivation. When both biofilters were re-supplied with pollutants, a single period of seven days was required to reverse the phenomenon back to steady state, with an average efficiency level similar to that obtained before the 90-day famine period.



**Figure 3.**  $RE_{VP}$  during the different deprivity periods (12 h/48 h, 30 and 90 days). The time required to recover the  $RE_{VP}$  at steady state is of seven days.

Those results highlighted several phenomena.

The robustness of biofiltration toward short-term famine, (12–48 h and 30-day periods) could supposedly come from the ability of the microbial flora to use the substrate as a source of energy, which is an already reported phenomenon [38–42]. When the concentration of pollutant severely dropped during the deprivation period, the biofilter's microflora was able to slow down its metabolism and triggered a famine adaptation mechanism. It is probable that both carbon and energy sources were supplied by the packing material to compensate for the lack of pollutant.

Then, the microbial community organization was not disturbed for at least 30 days, as seen here, with no modification on the level of viable particles within the aerosol and the  $RE_{VP}$ .

However, after a longer famine period (90 days) microbial emission was observed, as around  $50 \pm 37\%$  more micro-organisms exited the biofilter than entered it. All  $RE_{VP}$  values remained under 0% thus further highlighting the aerosolization of viable particles. This period seemed to be sufficient to overcome the adaptation mechanism of the microbial community. As the environmental conditions for microbial growth were unfavorable, the microflora developed a strategy of conservation (migration strategy) to find another suitable environment.

When both biofilters were re-supplied with a polluted gaseous effluent, a rapid return (one week) to the steady state  $RE_{VP}$  was observed. The pollutant removal efficiency also took one week to return to pre-disturbance level (data not shown). This highlighted the resilience of biofilters toward long term famine. The possible explanation is that the renewed access to food stopped the migration survival mechanism of the microbial flora.

The results seemed to highlight the robustness of biofilters in terms of viable particles removal and that the biofilters and the associated microflora could survive long-term famine periods (at least 30 days).

### 3.3. Influence of the Effluent Humidification

The measurements at the foot and the top of the biofilter allowed for the specific isolation of the biofilter column and showed that it possessed an average removal efficiency of  $90 \pm 4\%$ . During the test period with the humidification tower working, the inlet concentration was of  $2900 \pm 1500 \text{ VP}\cdot\text{m}^{-3}$  ( $n = 6$ ), while the inlet concentration was of  $2400 \pm 400 \text{ VP}\cdot\text{m}^{-3}$  ( $n = 3$ ) without humidification. The levels of the inlet concentrations were thus similar in both cases. As seen in the steady state study, this difference in the concentrations range could not explain the drastic difference between the  $\text{RE}_{\text{VP}}$  with air humidification and the  $\text{RE}_{\text{VP}}$  without humidification. The difference in the  $\text{RE}_{\text{VP}}$  thus could not be imputed to a drastic difference of the inlet concentration but to the removal of air moisture. In the same way, the mean outlet VP concentration were of  $1200 \pm 420 \text{ VP}\cdot\text{m}^{-3}$  during humidification and  $300 \pm 160 \text{ VP}\cdot\text{m}^{-3}$  without, which highlighted the augmentation of the  $\text{RE}_{\text{VP}}$  due to air moisture removal. In addition, these results demonstrate that the biofilter is the main part of the  $\text{RE}_{\text{VP}}$ , thus confirming the biofilter ability to remove viable particles.

The  $\text{RE}_{\text{VP}}$  levels have been obtained with a pilot unit containing a humidification tower before the biofilter (Figure 1). To further investigate the particles retention of the biofilter itself, the determination of particle concentration between the tower and biofilter was attempted. However, the air humidity in this area prohibited the use of counter. Consequently, the humidification tower was stopped for up to 50 h which allowed to investigate of the biofilter  $\text{RE}_{\text{VP}}$  itself.

When the humidification tower was working, the quantity of water delivered to the gas was estimated at  $18 \text{ g}\cdot\text{h}^{-1}$  Table 1a. At the same time, the humidity content in the gas at both inlet and outlet of the column was similar which emphasized the stability of the moisture of the packing bed through time.

The quantity of water at the outlet of the biofilter itself has been determined after the humidification tower has been stopped (Table 1b). The obtained values seem to highlight the drying of the packing bed material (the quantity of water at the biofilter outlet was of  $22.5 \text{ g}\cdot\text{h}^{-1}$  and of  $15 \text{ g}\cdot\text{h}^{-1}$  at 22 and 46 h respectively).

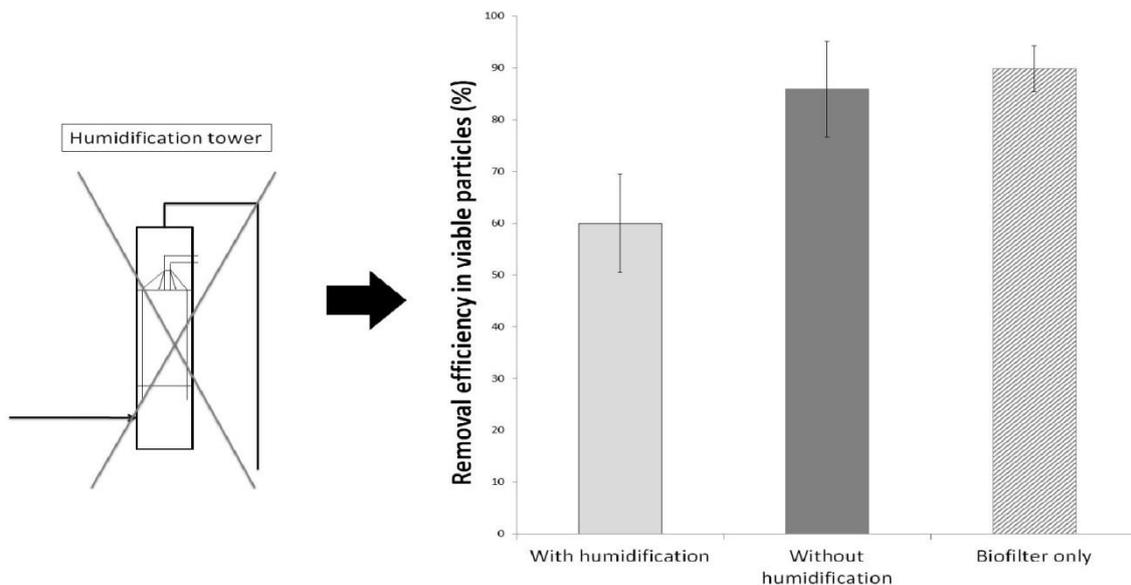
**Table 1.** (a) Air temperature and relative humidity at the different localizations in the pilot unit, airborne water concentration calculated using Mollier diagram and airborne water flow corresponding to the airflow ( $2 \text{ m}^3\cdot\text{h}^{-1}$ ). (b) Quantity of water exiting the biofilter through time after the tower stoppage, calculated using airborne water mass balance between the bottom and the top of the biofilter.

(a)	T (°C)	HR (%)	$C_{\text{eau}}$ ( $\text{g}_{\text{eau}}\cdot\text{kg}_{\text{air}}^{-1}$ )	$Q_{\text{eau}}$ ( $\text{g}\cdot\text{h}^{-1}$ )
Ambiant air	20	55	8	19
Tower exit	21.5	95	15	37
Biofilter exit	21.5	95	15	37
(b)	Time		Biofilter	
	3 h		$22 \text{ g}\cdot\text{h}^{-1}$	
	22 h		$23 \text{ g}\cdot\text{h}^{-1}$	
	46 h		$15 \text{ g}\cdot\text{h}^{-1}$	

The levels of  $\text{RE}_{\text{VP}}$  of the pilot unit with or without humidification as well as the  $\text{RE}_{\text{VP}}$  of biofilter itself are presented in Figure 4. Those results exhibited an average  $\text{RE}_{\text{VP}}$  of  $60 \pm 9\%$  during normal operation with humidification for the pilot unit in totality. After 46 h without air moistening, the average  $\text{RE}_{\text{VP}}$  increased to an average of  $86 \pm 9\%$  which is statistically different to when the gaseous effluent is moistened ( $p < 0.03$ ).

When the packing bed material dried, the  $\text{RE}_{\text{VP}}$  increased drastically. The absence of water saturation of the packing bed seemed to decrease the crossing of the biofilter by the microbial flora, or its aerosolization.

Vergara-Fernandez et al., 2012 [43] have reported an opposite result: a decrease of fungal spores' concentration concomitant with an increase of packing material. This opposite result could be explained by several factors. Actually, the scale up effect of the biofilter (1000 L for us against 0.5 L) must be taken into account, as the scale-up effects inherent to a 2000% augmentation in volume can drastically change the results. Biofilter used in this study is packed with a consortium while a mono specie biofilter was used by Vergara-Fernandez et al., 2012, which directly affected the diversity of the bioaerosols emitted. Sporulation effects had a major influence on the results. The humidity increase may have altered the sporulation. Finally, the method of detection could have influence the result. Here, culture independent method is used. Further studies are necessary on the influence of humidity in order to get a clear picture.



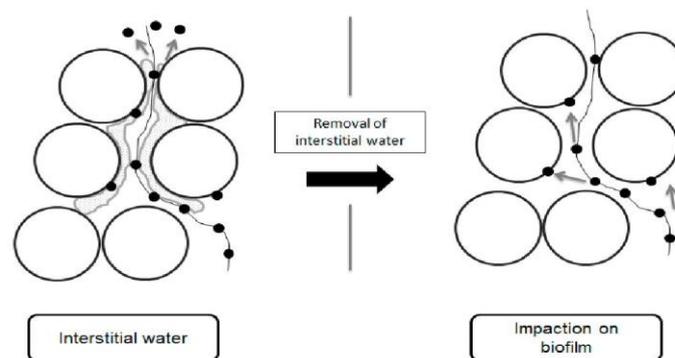
**Figure 4.**  $RE_{vp}$  during normal operation humidification and after 46 h without humidification. “With humidification” and “Without humidification” correspond to the evaluation of viable particles counts by using one and three sampling points. “Biofilter only” corresponds to the evaluation of viable particles counts by using sampling points 2 and 3 ( $n = 2$ ).

This phenomenon could be explained as follows. The first assumption could be linked to the loss of cell viability when the air humidity ratio is reduced, thus resulting in a higher death rate among the microbial flora and the increase of the  $RE_{vp}$ .

However, the same concentration of viable particles was found at the fan aspiration and at the bottom of the biofilter when the air humidification was stopped, hence demonstrating a  $RE_{vp}$  of 0% in the humidification tower. These results lead to think another explicative phenomenon is possible.

This second phenomenon could be due to the increase of the impaction phenomenon when the interstitial channels dry out (Figure 5). In normal water-saturated operation, the gaseous effluent travels through the packing bed material and passes near or through the interstitial water, creating turbulences, bubbles and agitation in the water. The impaction of micro-organisms into a collection liquid has been studied through the impingement technology, including the re-aerosolization mechanisms [20,44]. Even inside specifically designed collection devices, a consequent amount of liquid-impacted micro-organisms are re-aerosolized due to the effects of the airflow on the water. It is then possible that the interstitial water act as a collection liquid when the air passes near, with a consequent amount of micro-organisms re-aerosolized from it which then reached the outlet effluent.

When the relative humidity of air is reduced, the passage of water-unsaturated air stream through a water saturated packing bed induces the volatilization of water molecules from interstitial water to restore liquid gas equilibrium. Consequently, the biofilm becomes thinner. The diffuse water phase diminishes, and the water level comes closer to the poly-saccharides structures of the biofilm [45–49]. The micro-organisms have easier access to the complex microscopic surface of the wooden chips. The re-aerosolization phenomenon is then reduced inducing the augmentation of the  $RE_{vp}$ .



**Figure 5.** Explaining mechanism: disappearance of interstitial water and enhancement of the impaction phenomenon.

The relative humidity of both gaseous effluent and packing bed are then important parameters to ensure pollutant degradation and airborne viable particles removal capacities of biofilters.

Moreover, these results highlight the opposition between the best conditions for viable particles removal and for pollutant removal, as already highlighted by Fletcher et al. [6]. However, further tests are needed to confirm these results by exploring the composition of microbial communities notably using biomolecular tools.

#### 4. Conclusions

This study brings new insight on viable particle emissions by biofilters. It has been highlighted that biofilters act as filters for viable micro-organisms. With stable conditions, a high and stable  $RE_{vp}$  was maintained around 77% for both biofilters and enlightened the statistical equivalence between the two identical biofilters. Furthermore, this effect was linked to the biofilter itself and not to the humidification tower. The robustness of biofilters has been emphasized: a long pollutant deprivation period was required to largely reduce the viable particle  $RE_{vp}$ , thus showing the resistance and resilience of the microbial flora toward short term famine. Moreover, it has been stressed that interstitial water can negatively affect the  $RE_{vp}$ . Consequently, it was demonstrated that the operating parameters can influence the  $RE_{vp}$ .

Moreover, these results highlighted how the best operating conditions for airborne viable particles control are opposed to the best pollutant degradation conditions. This could indicate that if viable particles removal also becomes a focus, a compromise and balance should be reached in order to maximize both the pollutant and the  $RE_{vp}$  but with the inability to reach the highest possible level for each.

**Acknowledgments:** We thank CMI Europe-Environment and IMT Mines Ales for funding this study as part of R. Soret Ph.D. program. This work was supported by the French Agency for Environmental and Energy Management (ADEME; grant agreement 1506C0053).

**Author Contributions:** Rémi Soret, Sandrine Bayle, Luc Malhautier, Philippe Geiger and Jean-Louis Fanlo conceived and designed the experiments; Rémi Soret performed the experiments; Rémi Soret, Sandrine Bayle, Luc Malhautier, Philippe Geiger and Jean-Louis Fanlo analyzed the data; Rémi Soret wrote the paper.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Brinkmann, T.; Giner Santonja, G.; Yükseler, H.; Roudier, S.; Delgado Sancho, L. *Best Available Techniques (BAT) Reference Document for Common Waste Water and Waste Gas Treatment/Management Systems in the Chemical Sector*; EUR 28112; Publications Office of the European Union: Luxembourg, 2016; ISBN 9789279619960.
2. European IPPC Bureau. *Reference Document on the Best Available Techniques for Waste Treatments Industries*; European IPPC: Seville, Spain, 2006; p. 592.
3. Swanson, W.J.; Loehr, R.C. Biofiltration: Fundamentals, design and operations, and applications. *J. Environ. Eng.* **1997**, *123*, 538–546. [[CrossRef](#)]
4. Ottengraf, S.P.P.; Konings, J.H.G. Emission of microorganisms from biofilters. *Bioprocess Eng.* **1991**, *7*, 89–96. [[CrossRef](#)]
5. Sanchez-Monedero, M.A.; Stentiford, E.I.; Mondini, C. Biofiltration at composting facilities: Effectiveness for bioaerosol control. *Environ. Sci. Technol.* **2003**, *37*, 4299–4303. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Fletcher, L.A.; Jones, N.; Warren, L.; Stentiford, E.I. *Understanding Biofilter Performance and Determining Emission Concentrations under Operational Conditions*; Final Report Project Number ER36; University of Leeds: Leeds, UK, 2014.
7. Pearson, C.; Littlewood, E.; Douglas, P.; Robertson, S.; Gant, T.W.; Hansell, A.L. Exposures and health outcomes in relation to bioaerosol emissions from composting facilities: A systematic review of occupational and community studies. *J. Toxicol. Environ. Health* **2015**, *18*, 43–69. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. British Government Bioaerosol Monitoring at Regulated Facilities-Use of M9: RPS 209-GOV.UK. Available online: <https://www.gov.uk/government/publications/bioaerosol-monitoring-at-regulated-facilities-use-of-%0Am9-rps-209/bioaerosol-monitoring-at-regulated-facilities-use-of-m9-rps-209%0A> (accessed on 26 February 2018).
9. Esquivel-Gonzalez, S.; Aizpuru, A.; Patrón-Soberano, A.; Arriaga, S. Characterization of bioaerosol emissions from two biofilters during treatment of toluene vapours using epifluorescence microscopy. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **2017**, *123*, 78–86. [[CrossRef](#)]
10. Ghosh, B.; Lal, H.; Srivastava, A. Review of bioaerosols in indoor environment with special reference to sampling, analysis and control mechanisms. *Environ. Int.* **2015**, *85*, 254–272. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Amann, R.I.; Ludwig, W.; Schleifer, K.H. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol. Rev.* **1995**, *59*, 143–169. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Tresse, O.; Lescob, S.; Rho, D. Dynamics of living and dead bacterial cells within a mixed-species biofilm during toluene degradation in a biotrickling filter. *J. Appl. Microbiol.* **2003**, *94*, 849–855. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Khammar, N.; Malhautier, L.; Degrange, V.; Lensi, R.; Godon, J.J.; Fanlo, J.L. Link between spatial structure of microbial communities and degradation of a complex mixture of volatile organic compounds in peat biofilters. *J. Appl. Microbiol.* **2005**, *98*, 476–490. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Yao, M.; Mainelis, G. Effect of physical and biological parameters on enumeration of bioaerosols by portable microbial impactors. *J. Aerosol Sci.* **2006**, *37*, 1467–1483. [[CrossRef](#)]
15. Yao, M.; Mainelis, G. Investigation of Cut-Off Sizes and Collection Efficiencies of Portable Microbial Samplers. *Aerosol Sci. Technol.* **2006**, *40*, 595–606. [[CrossRef](#)]
16. Yao, M.; Mainelis, G. Analysis of portable impactor performance for enumeration of viable bioaerosols. *J. Occup. Environ. Hyg.* **2007**, *4*, 514–524. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Yao, M.; Mainelis, G. Use of portable microbial samplers for estimating inhalation exposure to viable biological agents. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* **2007**, *17*, 31–38. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Therkorn, J.H.; Mainelis, G. Effect of Agar Plate Volume on Accuracy of Culturable Bioaerosol Impactors. *Aerosol Sci. Technol.* **2013**, *47*, 1353–1362. [[CrossRef](#)]
19. Mainelis, G.; Tabayoyong, M. The Effect of Sampling Time on the Overall Performance of Portable Microbial Impactors. *Aerosol Sci. Technol.* **2010**, *44*, 75–82. [[CrossRef](#)]
20. Han, T.; Mainelis, G. Investigation of inherent and latent internal losses in liquid-based bioaerosol samplers. *J. Aerosol Sci.* **2012**, *45*, 58–68. [[CrossRef](#)]
21. Savage, N.; Krentz, C.; Könnemann, T.; Han, T.T.; Mainelis, G.; Pöhlker, C.; Huffman, J.A. Systematic Characterization and Fluorescence Threshold Strategies for the Wideband Integrated Bioaerosol Sensor (WIBS) Using Size-Resolved Biological and Interfering Particles. *Atmos. Meas. Tech.* **2017**, *10*, 4279–4302. [[CrossRef](#)]

22. Kirschman, D.; Lloyd, B. *Ultraviolet In-Room Air Disinfection and Recirculation Greatly Reduces Viable Airborne Particle Concentrations in the Operating Room Setting*; Aerobiotix, Inc.: West Carrollton, OH, USA, 2014.
23. United States Pharmacopeial Convention USP. 2015. <1223> *Validation of Alternative Microbiological Methods*; United States Pharmacopeial Convention: Rockville, MD, USA, 2015.
24. United States Pharmacopeial Convention USP. *General Chapter <1116> Microbiological Control and Monitoring of Aseptic Processing Environments*; United States Pharmacopeial Convention: Rockville, MD, USA, 2013; pp. 784–794.
25. European Pharmacopoeia 5.1.6. *Alternative Methods for Control of Microbiological Quality. Eur. Pharmacopoeia 2006, 5.5, 4131–4142*; European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare: Strasbourg, France, 2006.
26. Parenteral Drug Association (PDA). Technical Report 33: Evaluation, Validation and Implementation of Alternative and Rapid Microbiological Methods. *J. Pharm. Sci. Technol.* **2013**, *54*, 1–39.
27. TSI BioTrak<sup>®</sup> Real-Time Viable Particle Counter Sample and Collection Efficiency; Application Note CC-104; TSI Incorporated: Shoreview, MN, USA, 2014; pp. 1–7.
28. Li, M.; Qi, J.; Zhang, H.; Huang, S.; Li, L.; Gao, D. Concentration and size distribution of bioaerosols in an outdoor environment in the Qingdao coastal region. *Sci. Total Environ.* **2011**, *409*, 3812–3819. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Seedorf, J.; Hartung, J. Reduction efficiencies of a biofilter and a bio-scrubber as bio-aerosols in two piggeries. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* **1999**, *112*, 444–447. [[PubMed](#)]
30. Martens, W.; Martinec, M.; Zapirain, R.; Stark, M.; Hartung, E.; Palmgren, U. Reduction potential of microbial, odour and ammonia emissions from a pig facility by biofilters. *Int. J. Hyg. Environ. Health* **2001**, *203*, 335–345. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. Seedorf, J.; Hartung, J. Reduction efficiency of a container-based biofilter for bioaerosols from a broiler house. *Anim. Prod. Aust.* **2002**, *24*, 205–208.
32. Schlegelmilch, M.; Herold, T.; Streese, J.; Hensel, A.; Stegmann, R. The potential to reduce emissions of airborne microorganisms by means of biological waste gas treatment systems. *Waste Manag.* **2005**, *25*, 955–964. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Haumacher, R.; Philipp, W.; Böhm, R. Bioaerosols from composting-quantitative measurements on biofilters and non-thermal plasma technology. *ISAH* **2005**, *2*, 276–278.
34. Chmielowiec-Korzeniowska, A.; Tymczyna, L.; Skórska, C.; Sitkowska, J.; Cholewa, G.; Dutkiewicz, J. Efficacy of a novel biofilter in hatchery sanitation: I. Removal of airborne bacteria, dust and endotoxin. *Ann. Agric. Environ. Med.* **2007**, *14*, 141–150. [[CrossRef](#)]
35. Ho, K.L.; Chung, Y.C.; Lin, Y.H.; Tseng, C.P. Microbial populations analysis and field application of biofilter for the removal of volatile-sulfur compounds from swine wastewater treatment system. *J. Hazard. Mater.* **2008**, *152*, 580–588. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Zhao, Y.; Aarnink, A.J.A.; De Jong, M.C.M.; Ogink, N.W.M.; Koerkamp, P.G. Effectiveness of multi-stage scrubbers in reducing emissions of air pollutants from pig houses. *Trans. ASABE* **2011**, *54*, 285–293. [[CrossRef](#)]
37. Tymczyna, L.; Chmielowiec-Korzeniowska, A.; Raczyńska, J.; Drabik, A. Removal of microbial contaminants from pig house air using biofilter organic media. *Ann. Anim. Sci.* **2011**, *11*, 453–464.
38. Song, J.H.; Kinney, K.A. Effect of vapor-phase bioreactor operation on biomass accumulation, distribution, and activity: Linking biofilm properties to bioreactor performance. *Biotechnol. Bioeng.* **2000**, *68*, 508–516. [[CrossRef](#)]
39. Irvine, R.L.; Moe, W.M. Period biofilter operation for enhanced performance during unsteady-state loading conditions. *Water Sci. Technol.* **2001**, *43*, 231–239. [[PubMed](#)]
40. Wright, W.F. Transient response of vapor-phase biofilters. *Chem. Eng. J.* **2005**, *113*, 161–173. [[CrossRef](#)]
41. Cabrol, L. Evaluation de la Robustesse dun Système de Biofiltration d'Effluent de Compostage. Ph.D. Thesis, University of Montpellier II, Montpellier, France, 2010.
42. Cabrol, L.; Malhautier, L. Integrating microbial ecology in bioprocess understanding: The case of gas biofiltration. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2011**, *90*, 837–849. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Vergara-Fernández, A.; Salgado-Ísmodes, V.; Pino, M.; Hernández, S.; Revah, S. Temperature and moisture effect on spore emission in the fungal biofiltration of hydrophobic VOCs. *J. Environ. Sci. Health Part A* **2012**, *47*, 605–613. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

44. Grinshpun, S.A.; Willeke, K.; Ulevicius, V.; Juozaitis, A.; Terzieva, S.; Donnelly, J.; Stelma, G.N.; Brenner, K.P. Effect of impaction, bounce and re-aerosolization on the collection efficiency of impingers. *Aerosol Sci. Technol.* **1997**, *26*, 326–342. [[CrossRef](#)]
45. Costerton, J.W.; Geesey, G.G.; Cheng, K.J. How bacteria stick. *Sci. Am.* **1978**, *238*, 86–95. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Costerton, J.W.; Lewandowski, Z.; DeBeer, D.; Caldwell, D.; Korber, D.; James, G. Biofilms, the customized microniche. *J. Bacteriol.* **1994**, *176*, 2137–2142. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Watnick, P.; Kolter, R. Biofilm, city of microbes. *J. Bacteriol.* **2000**, *182*, 2675–2679. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Heydorn, A.; Heydorn, A.; Nielsen, A.T.; Nielsen, A.T.; Hentzer, M.; Hentzer, M. Quantification of biofilm structures by the novel computer program. *Image Process.* **2000**, 2395–2407. [[CrossRef](#)]
49. Bridier, A.; Le Coq, D.; Dubois-Brissonnet, F.; Thomas, V.; Aymerich, S.; Briandet, R. The spatial architecture of *Bacillus subtilis* biofilms deciphered using a surface-associated model and in situ imaging. *PLoS ONE* **2011**, *6*, e16177. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



© 2018 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

# Éléments supplémentaires de discussion :

## Etude des particules totales

Les bioaérosols ne constituent que la fraction d'origine biologique des particules atmosphériques. Les Particules Totales en Suspension (TSP, Total Suspended Particulates) regroupent l'ensemble des particules en suspension dans l'air, quelles que soient leur taille ou leur composition (solide, liquide, inorganique, organique, etc) (CITEPA, 2017). Généralement, le suivi des TSP est effectué grâce au suivi de catégories particulières : les Matière Particulaires (PM pour *Particulate Matter* en anglais), définies en fonction de leur taille et communément appelées PM10, PM2.5 et PM1 (cf. chapitre 1) qui ont un impact sanitaire connu.

Pour réduire l'impact sanitaire, des législations existent concernant les concentrations en PM10 et inférieur dans l'air et l'exposition de la population à ces dernières. L'union Européenne a établie des valeurs limite d'exposition annuelle et sur 24h pour les PM10 de 40 et 50  $\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$ , respectivement (European Environment Agency, 1999). Pour les PM2.5, la valeur limite d'exposition annuelle est fixée à 25  $\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$  (European Environmental Agency, 2008). La législation établie par l'OMS est plus stricte, imposant une limite annuelle de 10  $\mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$  (World Health Organization, 2005).

Dans ce contexte, étudier les émissions des particules totales par les biofiltres est important pour déterminer si le procédé filtre ou émet ces particules. Des microparticules pourraient-elles s'aérosoliser depuis le garnissage du biofiltre ? Les particules présentes dans l'effluent d'entrée traversent-elles le biofiltre pour se retrouver dans l'atmosphère ?

Dans ce but, les émissions de particules inorganiques et organiques de diamètre inférieur ou égal à 25  $\mu\text{m}$  ont été suivies en état stationnaire sur le pilote de biofiltration d'échelle semi-industriel. L'influence de l'humidification de l'effluent sur les émissions de particules totales (PT) a été étudiée par arrêt de la tour d'humidification, de la même façon que pour les particules viables.

## 2. Matériel et méthode

### 2.1. Conditions expérimentales

Le montage expérimental est constitué du pilote de biofiltration et les points de prélèvements sont identiques à ceux utilisés précédemment (Soret *et al.*, 2018). Les concentrations en PT dans l'air d'entrée, en sortie de la tour d'humidification et en sortie de biofiltre ont été mesurées.

Deux périodes d'arrêt de la tour ont été réalisées, avec une période de remise en fonctionnement de la tour entre les arrêts. Les concentrations en PT ont été mesurées en conditions opératoires stables, lors du 1<sup>er</sup> arrêt, lors de la reprise de l'humidification et lors du second arrêt.

Le premier arrêt a durée 25h. Lors du second arrêt, les concentrations de particules ont été mesurées 5h après l'arrêt, 25h après et 50h après afin d'apprécier un aspect cinétique. La durée maximale des arrêts était de 50h afin de préserver le biofilm et la flore microbienne.

### 2.2. Etude des particules totales par OPC

L'appareil utilisé est d'un compteur optique de particules (BioTrak) selon la norme FD CEN /TR 16013-2. Les résultats sont présentés à l'aide de 6 canaux de diamètres différents : 0,5 à 0,7  $\mu\text{m}$  – 0,7 à 1  $\mu\text{m}$  – 1 à 3  $\mu\text{m}$  – 3 à 5  $\mu\text{m}$  – 7 à 10  $\mu\text{m}$  - 10 à 25  $\mu\text{m}$ .

### 2.3. Etude des particules totales par filtration

Les points de prélèvements utilisés sont les points 1 et 3 illustrés précédemment (Soret *et al.*, 2018), correspondant à l'entrée du pilote et la sortie des biofiltres. Les conditions de prélèvement sont similaires à celles décrites pour l'OPC (Entrée : 1,5 m par rapport au ventilateur, Sortie : distance de 15 cm entre le filtre et le garnissage). Des mesures gravimétriques complémentaires selon la norme NF / EN 12341, ont été réalisées. L'objectif était de déterminer les concentrations en PT durant l'état stationnaire avec la tour d'humidification en fonctionnement. L'échantillonnage a été réalisé par filtration à l'aide de pompes à air KNF Neuberger modèle N035.1.2AN.18 (KNF Neuberger, Haut-Rhin, France) et de filtres en fibre de verre (diamètre 47mm, diamètre de pores 0,1  $\mu\text{m}$ ) (Whatman Fischer Sci, New Hampshire, États-Unis). La filtration a duré 72h à un débit de  $Q = 12 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$  (contrôlé par rotamètre à air).

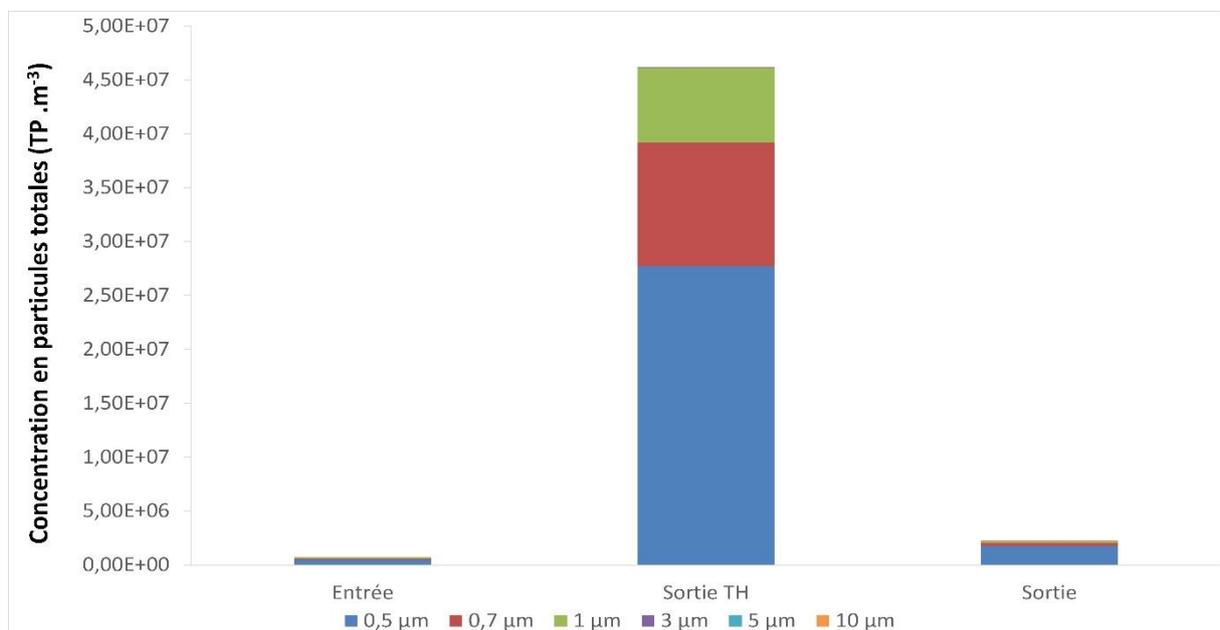
Le poids des filtres a été déterminé avant et après prélèvement à l'aide d'une balance de précision (précision au 1/10 de milligramme) (AG204, Mettler Toledo, Yvelines, France).

### 3. Résultats

#### 3.1. Evaluation des particules totales par OPC

##### 3.1.1. Etat stationnaire

Les concentrations et la distribution granulométriques des PT ont été suivies en entrée, en sortie de la tour d'humidification et en sortie du biofiltre, en condition stable de fonctionnement (état stationnaire) et sont représentées sur la Figure 17. La concentration dans l'air d'entrée était de  $7,0 \times 10^5$  PT .m<sup>-3</sup>. En sortie de la tour d'humidification, la concentration était 64 fois supérieure à celle d'entrée avec une valeur de  $4,5 \times 10^7$  PT .m<sup>-3</sup>. Les concentrations des particules de diamètre 0,5, 0,7 et 1 µm ont subi la plus forte augmentation avec respectivement un facteur de 60, 110 et 55. Les concentrations des particules de diamètre 3 à 10 µm sont restées relativement constantes.



**Figure 17. Concentrations en particules totales en fonction de leur granulométrie, durant l'état stationnaire à l'entrée du pilote, en sortie de la tour d'humidification (tour d'humidification) et en sortie du pilote.**

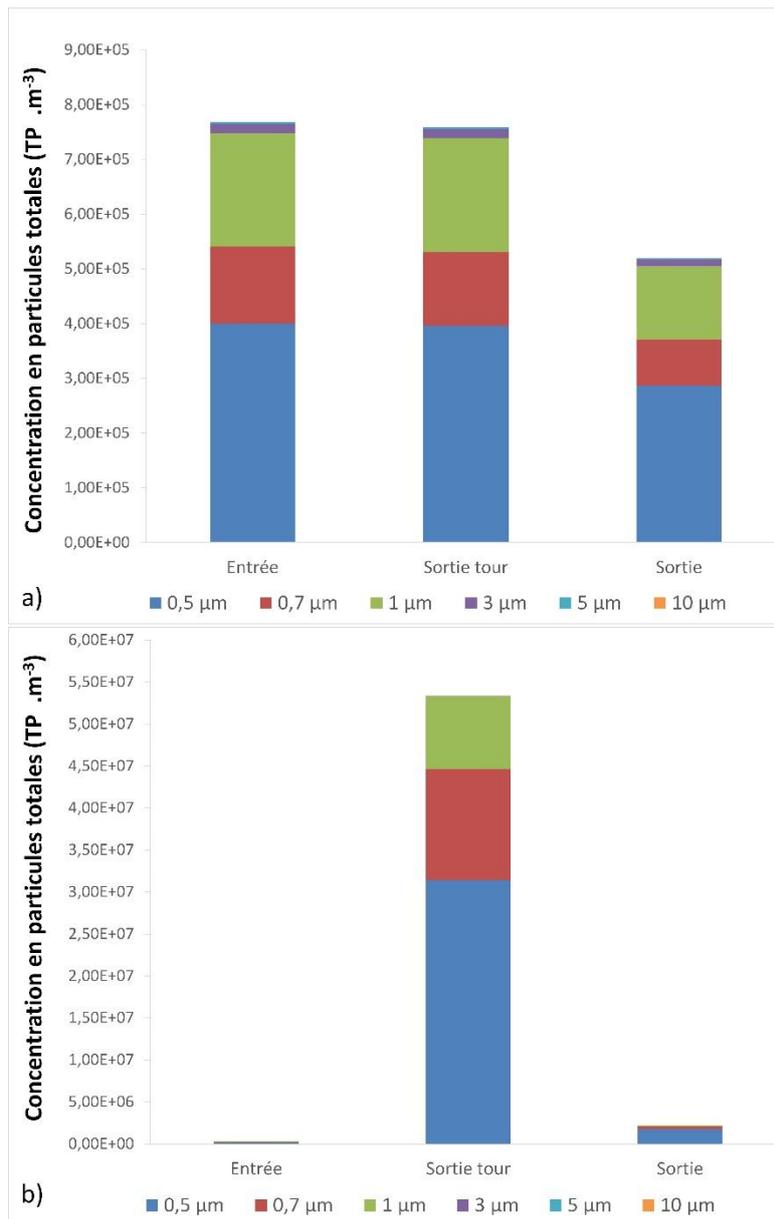
La concentration en sortie du pilote a été réduite d'un facteur 20 pour atteindre  $2,3 \times 10^6$  PT .m<sup>-3</sup>. Les particules des canaux 0,5 ; 0,7 et 1 µm subissent les plus forts abattements avec une réduction respective d'un facteur 16, 35, et 45. La concentration des particules de diamètres 3 µm diminue d'un facteur 7. A l'inverse, les concentrations des particules de diamètre 5 et 10 µm sont restées stables ou ont augmentées (x 1,2 et x 7 respectivement).

La concentration en PT est fortement augmentée par la tour d'humidification, avec un apport majoritaire de particules de diamètre 0,5 ; 0,7 et 1  $\mu\text{m}$ . La concentration en sortie du biofiltre est réduite mais reste supérieure à celle d'entrée, indiquant une émission de particules totales en état stationnaire.

### 3.1.2. Impacts de l'arrêt de la tour d'humidification.

Pour étudier l'impact de l'humidification sur les concentrations en PT, des arrêts de la tour d'humidification ont été réalisés. Les concentrations en PT lors des arrêts et la reprise de fonctionnement de la tour sont présentées dans la (Figure 18) et l'évaluation des ratios de concentrations sur le tableau 11. Lors de l'arrêt (Figure 18a), la situation est différente de l'état stationnaire. La concentration d'entrée ( $4,8 \times 10^5 \text{ PT} \cdot \text{m}^{-3}$ ) était équivalente à celle durant cet état, mais la concentration en sortie de tour d'humidification ( $3,6 \times 10^5 \text{ PT} \cdot \text{m}^{-3}$ ) est équivalente à celle d'entrée. La concentration de sortie de pilote était inférieure à celle d'entrée ( $4,0 \times 10^5 \text{ PT} \cdot \text{m}^{-3}$ ), démontrant une rétention de PT par l'ensemble du pilote. De façon similaire à précédemment, les particules de diamètres 0,5 à 1  $\mu\text{m}$  étaient majoritaires tout au long de l'étude. La concentration des particules de diamètre 0,5  $\mu\text{m}$  était de  $2,1 \times 10^5 \pm 1,3 \times 10^4 \text{ PT} \cdot \text{m}^{-3}$ , soit une variation de 7%.

La concentration des particules de 0,7  $\mu\text{m}$  était de  $7,3 \times 10^4 \pm 1,1 \times 10^4 \text{ PT} \cdot \text{m}^{-3}$  (15% de variation), et de  $1,2 \times 10^5 \pm 2,8 \times 10^4 \text{ PT} \cdot \text{m}^{-3}$  (24% de variation) pour les particules 1  $\mu\text{m}$ . Les particules de diamètre 3  $\mu\text{m}$ , 5  $\mu\text{m}$  et 10  $\mu\text{m}$  présentent des concentrations inférieures, respectivement de l'ordre de  $1 \times 10^4 \text{ PT} \cdot \text{m}^{-3}$ ,  $10^3 \text{ PT} \cdot \text{m}^{-3}$  et  $10^2 \text{ PT} \cdot \text{m}^{-3}$ . Leurs concentrations sont restées relativement constantes en tout point du procédé.



**Figure 18. Concentration des PT en fonction de leur granulométrie lors des arrêts et reprise de la tour d'humidification. a) Arrêt de la tour. b) Reprise de fonctionnement de la tour.**

Lors de la remise en fonctionnement de la tour (Figure 18b), la situation est redevenue identique à l'état stationnaire. La concentration d'entrée du pilote était toujours équivalente ( $3,2 \times 10^5 \text{PT} \cdot \text{m}^{-3}$ ), et la tour d'humidification a surchargé le flux en particules (concentration de  $5,3 \times 10^7 \text{PT} \cdot \text{m}^{-3}$ ). En sortie du pilote, la concentration a été réduite ( $2,2 \times 10^6 \text{TP} \cdot \text{m}^{-3}$ ) mais est restée supérieure à celle d'entrée d'où une émission des particules totales. La concentration en particules  $0,5 \mu\text{m}$  était 10 fois supérieure en sortie qu'en entrée, 5 fois pour les particules  $0,7 \mu\text{m}$  et 2 fois pour les particules  $1 \mu\text{m}$  tandis que les concentrations des particules de plus gros diamètres sont restées équivalentes.

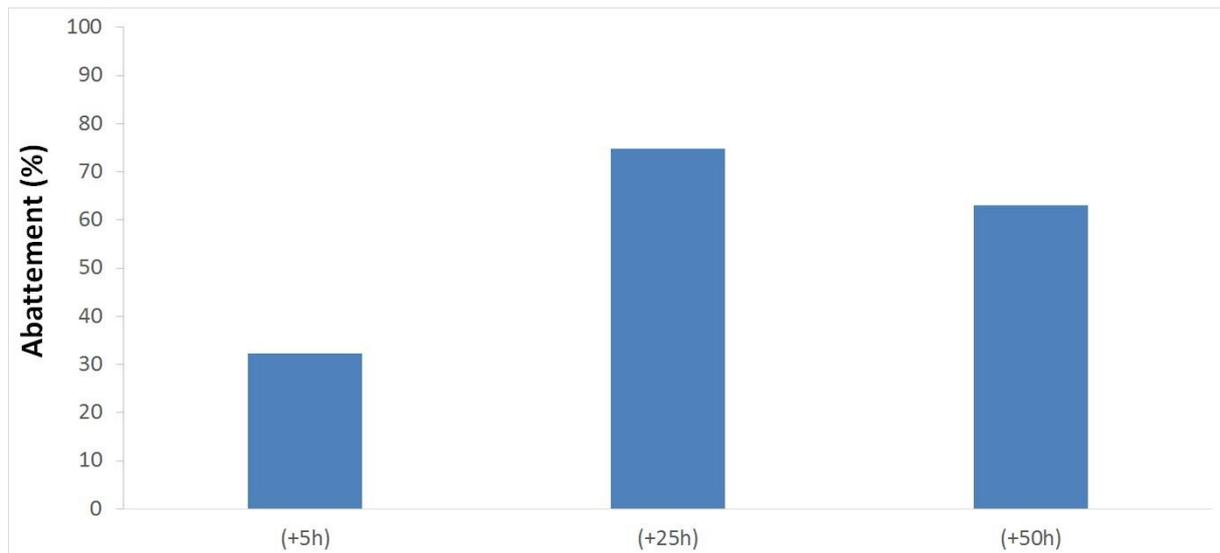
**Tableau 11. Ratios des concentrations mesurés entre les différents points de l'unité de biofiltration pilote.**

	<b>Total</b>	<b>Tour</b>	<b>Biofiltre</b>
<b>Points mesurés</b>	Entrée - sortie	Entrée - percolât	Percolât - sortie
<b>Etat stationnaire</b>	3,21	66,34	0,05
<b>Arrêts</b>	0,25	0,95	0,26

Ainsi, ces résultats mettent en évidence une surcharge de particules principalement de diamètre 0,5 à 1  $\mu\text{m}$  due au fonctionnement de la tour d'humidification. Les ratios entre les concentrations totales mesurées aux différents points de l'unité pilote offrent un autre aperçu de ce phénomène (Tableau 11). En état stationnaire, il apparaît un ratio de 66 pour la tour d'humidification (correspondant à une émission de 6500 %) qui conduit à un ratio de 3,20 pour l'unité total (émission de 220 %). Lors des arrêts, un ratio de 0,95 pour la tour (abattement de 5 %) et de 0,25 pour l'unité total (abattement de 75 %) sont au contraire présent. Dans les deux cas, le biofiltre en lui-même permet de réduire cet important afflux de particules jusqu'à un niveau de l'ordre de grandeur de l'entrée. Les abattements du biofiltre lors du fonctionnement et de l'arrêt de la tour d'humidification sont respectivement de 95 et 74 %.

### 3.1.3. Aspect cinétique

Dans l'étude d'une perturbation, il est intéressant de suivre la réponse du système et sa cinétique d'adaptation. Les arrêts de la tour d'humidification pouvant être définis comme des chocs hydriques, la réponse dans le temps du biofiltre a été monitorée jusqu'à 50h après la perturbation est représentée par le suivi des abattements en PT car les concentrations en entrée étaient stables tout au long de l'étude (Figure 19).



**Figure 19. Abattements en PT du pilote dans son ensemble jusqu'à 50h après l'arrêt de la tour d'humidification.**

Les résultats montrent l'adaptation du système total. Lors de l'état stationnaire, les concentrations en PT n'étaient pas abattues, mais des PT étaient émises (220 % d'émission). Cinq heures après l'arrêt de la tour d'humidification, un abattement a été observé (30%). Puis, l'abattement évolue car à  $t = +25h$  l'abattement était de 74 % et de 65% à  $t = +50h$ . La perturbation est un choc hydrique, un arrêt de l'apport d'eau au flux d'air. La conséquence de cet arrêt est donc un assèchement du garnissage, qui augmente graduellement dans le temps (Vasseur, 2014). Cet aspect a été vu précédemment dans la table 1 (Chap. 2 partie 1 : (Soret *et al.*, 2018)). Une cinétique commune semble exister entre l'assèchement du pilote (une perturbation physique) et l'augmentation de l'abattement en PT, et le système répond de manière linéaire à la perturbation.

### 3.2. Etude des particules totales par filtration

Pour vérifier les capacités de remédiation du biofiltre, une méthode alternative de mesure des PT a été mise en place : la filtration lors du fonctionnement de la tour d'humidification. La concentration massique déterminée en entrée du pilote était de  $8 \mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$ , et les concentrations en sortie de BF1 et BF2 étaient de 5,6 et  $3,4 \mu\text{g} \cdot \text{m}^{-3}$  respectivement soit un abattement de 27% et de 55%. La variation observée sur ces valeurs est probablement liée à l'erreur de la mesure. Néanmoins ces abattements permettent de confirmer que le biofiltre réduit la quantité de PT et filtre les particules.

### 3.3. Discussions

Les analyses précédentes ont mis en évidence plusieurs éléments :

- La surcharge de l'effluent en PT de diamètre 0,5, 0,7 et 1  $\mu\text{m}$  provenant de la tour d'humidification en fonctionnement.
- Une émission de PT par le pilote dans sa totalité lors du fonctionnement de la tour, avec une granulométrie des particules majoritairement dans les classes 0,5, 0,7 et 1  $\mu\text{m}$ .
- Les abattements en PT du pilote lors des arrêts de la tour d'humidification, avec une réduction majoritairement des particules de classes 0,5, 0,7 et 1  $\mu\text{m}$ .
- Le biofiltre seul est l'élément principal permettant la réduction de la concentration des particules.
- Une cinétique d'adaptation du pilote aux chocs hydrauliques cohérente avec un séchage du garnissage.
- Des abattements en PT lors du fonctionnement de la tour par une méthode de gravimétrie permettant d'éliminer l'eau de l'échantillon.

Aussi, il semble que les particules apportées par la tour d'humidification sont des microgouttelettes d'eau.

Lors de son fonctionnement, la tour d'humidification apporte de l'eau à l'effluent de façon à augmenter son humidité relative. Cet apport résulte en un mélange d'une phase liquide (eau) et d'une phase gazeuse (air), créant ainsi une émulsion. A l'intérieur de cette dernière, l'eau se trouve sous forme de microgouttelettes. Les microgouttelettes d'une émulsion conventionnelle ont une granulométrie de l'ordre de 0,1 à 1  $\mu\text{m}$  de diamètre (Doumeix, 2011; Dupasquier *et al.*, 2018).

La tour d'humidification est présente afin de saturer l'air en humidité de façon à éviter l'assèchement du garnissage et préserver le biofilm. La capture de l'eau présente dans le flux d'air permet de maintenir cet équilibre. Les concentrations réduites en sortie du biofiltre sont donc cohérentes avec l'hypothèse des gouttelettes.

Lors de l'arrêt de la tour d'humidification, les concentrations en sortie du biofiltre sont réduites mais restent du même ordre de grandeur à celle de l'entrée, ce qui est aussi cohérent avec l'hypothèse.

Après la stabilisation du pilote face au choc hydrique (second arrêt)), l'abattement en PT du pilote étaient de 75%. Concernant le biofiltre seul, son abattement était de 74%. Ces valeurs sont équivalentes aux valeurs de l'abattement en particules viables dans les mêmes conditions. De plus, ces résultats montrent que le biofiltre seul est la principale source de l'abattement aussi pour les PT.

#### **4. Synthèse**

Cette étude sur les PT a permis de montrer que la tour d'humidification entraînait une production de microgouttelette d'eau. En l'absence de cette production, le pilote de biofiltration permettait de réduire la concentration des PT entrant dans le pilote de 75%. Cette valeur est équivalente à celle obtenue pour les particules viables.

# Evaluation of viable particles emissions from biofilters: influence of seasons and environmental parameters.

Rémi Soret <sup>1</sup>, Jean-Louis Fanlo <sup>1</sup>, Luc Malhautier <sup>1</sup>, Philippe Geiger <sup>2</sup> and Sandrine Bayle <sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> LGEI, IMT Mines Ales, University of Montpellier, Ales, 30100, France; remi.soret@mines-ales.fr (R.S.); jean-louis.fanlo@mines-ales.fr (J-L.F.); luc.malhautier@mines-ales.fr (L.M.); [sandrine.bayle@mines-ales.fr](mailto:sandrine.bayle@mines-ales.fr) (S.B.)

<sup>2</sup> CMI Europe-Environnement, 1 rue des Pins - Parc d'Activités du Pays de Thann, 68700 Aspach-Michelbach, France; philippe.geiger@cmigroupe.com (P.G.)

\* Correspondence: [sandrine.bayle@mines-ales.fr](mailto:sandrine.bayle@mines-ales.fr)

Received: date; Accepted: date; Published: date

**Abstract:** Evaluations by culture methods or molecular methods have shown that biofilters are capable of eliminating airborne biological contamination. However, the load on industrial sites undergoes great variations. Seasons could be one cause for these variations. In this study, the effects of airborne micro-organisms load were investigated through a seasonality study on a semi-industrial biofilter. The monitoring was conducted over a period of 247 days starting from early winter to late summer. The average Removal Efficiency of viable particles ( $RE_{vp}$ ) reached 72% on the test period. The seasons influence the inlet concentration while the outlet concentration did not seem to be affected. A strong correlation and covariance were found between the inlet and outlet concentrations, as well as a covariance between the inlet concentration and the  $RE_{vp}$ . To explain the relationships, the impact of the temperature has been tested. However, no influence on the VP concentrations or the  $RE_{vp}$  has been highlighted.

**Keywords:** biofiltration; bioaerosols; viable particles; removal efficiency; seasonality; environmental factors.

## 1. Introduction

Biofilters are considered among the Best Available Techniques (BAT) to treat VOCs and inorganic compounds in high flowrate gaseous effluent at low concentration (Brinkmann et al. 2016; European IPPC Bureau 2006; Malhautier et al., 2005). In addition to the chemical pollutants degradation, the potentialities of biofilters to remove bioaerosols have been also investigated over the recent years (Frederickson *et al.*, 2013; Fletcher *et al.*, 2014). Removal Efficiencies (RE) of cultivable bioaerosols ranged from 30% to 98% for bacteria and 49 to 100% for total fungi (Sanchez-Monedero et al. 2003; Chmielowiec-Korzeniowska et al. 2007; Ho et al. 2008; Zhao et al. 2010; Tymczyna et al. 2011). A high RE level of total cells has been retrieved with the molecular methods. Ho et al. 2008 measured 90% by using the FISH technique and Soret et al. 2018 found 76% by using the real time counter of viable particles. These capacities could prove themselves important in the near future as the legislation on bioaerosols level control is rapidly developing. In Europe, the Directive 2000/54/EC requires the protection of the involved workers exposed to biological agents. It recently started to be put in application by some countries (Górny 2016 ; British Government 2018). Biofilters are currently implemented in many industrial sites to control odor and VOC emissions (Malhautier *et al.*, 2005), then making them, simultaneously, the most cost-effective process for controlling bioaerosols.

Microorganisms entering biofilters come from two sources: the ambient air and the industrial activity (Sanchez-Monedero, Stentiford and Mondini, 2003). Bioaerosols are ubiquitous in the air, they are aerosolized from biome through natural phenomena like saltation (Grini, Zender and Colarco, 2002), or spore emissions (Elbert, Taylor and Andreae, 2007). However, emission related to anthropogenic activities has also been observed. Process operations like the aeration of activated sludge systems within wastewater treatment plants (Sánchez-Monedero *et al.*, 2008) or turning over compost windrows (Le Goff *et al.*, 2011, 2012) lead to bioaerosols release.

Consequently, bioaerosols concentrations are highly variable. Moreover, multiple factors affected the survival of airborne microorganisms like temperature, sunlight, etc. (Shaffer and Lighthart, 1997; Harrison *et al.*, 2005). Moreover, micro-organisms concentrations in gas effluents vary according to daily variations of industrial activities. On top of these, seasonal variations can also affect airborne microorganism concentrations (Huang et al. 2002; Liao & Luo 2005; Nehme et al. 2008; Bowers et al. 2012, Healy et al. 2014;).

Biofilters are thus subjected to fluctuating bioaerosols concentrations. Currently, there are few data available to know the impact of these variations on the biofilter functioning. Furthermore, the investigation on the bioaerosols removal inside biofilters on the very long term is still scarce (Fletcher *et al.*, 2014). The goal of this work was to evaluate the impact of seasonal changes on the biofilters' removal capacities for bioaerosols. For this purpose, the concentrations of viable particles entering and leaving a laboratory pilot unit of biofiltration, used for the treatment of volatile organic compounds at a steady state, were monitored over a period of 247 days.

The first part of this work focuses on the effects of day-to-day and seasons variations on the inlet and outlet viable particles emissions. The second part investigates the effects of both seasons and temperature on the removal efficiency of viable particles ( $RE_{vp}$ ), as well as their link with the inlet and outlet VP concentrations.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Experimental set up

The experimental set up has been previously described (Soret *et al.*, 2018). A semi-industrial scale biofiltration pilot unit (Figure 20) named BF1 was monitored.

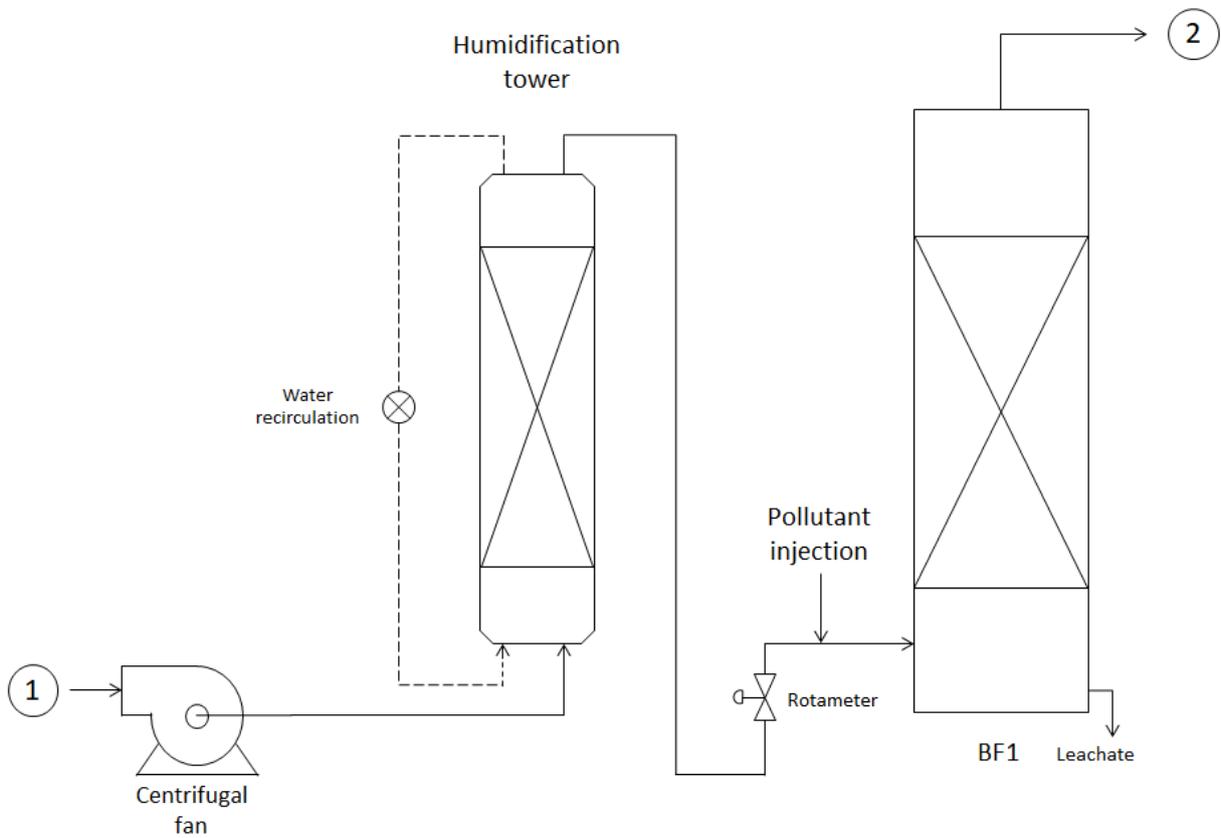
The biofiltration column was composed of a PVC column of 3 meters in height and 30 cm in inner diameter. The used packing bed was sawmill wood chips with an average size of 10 mm. The column was operated in an upward flow mode using a flowrate of  $2 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$  and the gaseous effluent was previously humidified (relative humidity of 95%) by water scrubbing. The dynamic generation system allowed to maintain stable target concentrations of  $1 \text{ g C m}^{-3}$  (<10% standard deviation). The inlet stream load was of  $360 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3}_{\text{packing bed}} \cdot \text{day}^{-1}$ . The sawmill wood chips were periodically humidified with  $15 \text{ L water} \cdot \text{m}^{-3}_{\text{packing bed}} \cdot \text{day}^{-1}$ . The average pollutant removal efficiency during this study was 30%. The functioning conditions have been maintained for 247 days. The temperature was measured using a temperature probe (KIMO instruments, Montpon-Ménéstérol, France). During a long-term period (9 months) the Viable Particles (VPs) have been enumerated at 2 sampling points (Figure 20).

Some Bioaerosol concentrations have been monitored by measuring the Viable Particles (VPs) with BioTrak<sup>®</sup> Counter (TSI, Shoreview, USA). This solution helped get rid of the bias associated to the traditional methods (Amann, Ludwig and Schleifer, 1995; Yao and Mainelis, 2006a, 2006b, 2007a; Therkorn and Mainelis, 2013).

VPs were enumerated by using two 405 nm wavelength lasers to enable the fluorescence of the NADH, Flavin and Tryptophan molecules associated with viability. The measurements were carried out at the same time of the day to prevent daily variations. The Removal efficiency (RE) of the viable particles has been calculated as follows:

$$RE (\%) = \left( \frac{c_1 - c_2}{c_1} \right) \times 100 \quad (\text{Eq. 10})$$

Where  $C_1$  corresponds to the ambient air concentration (VPs.m<sup>-3</sup>) and  $C_2$  corresponds to the outlet gas concentration (VPs.m<sup>-3</sup>).



**Figure 20. Biofiltration unit with the particle sampling points. 1: ambient air. 2: Gas outlet.**

## 2.2. Statistical analysis

The analysis of the variance test (ANOVA) was used to investigate the influence of seasons and other parameters (temperature, statistical links between the concentrations, etc.) on the levels of inlet and outlet concentrations as well as the  $RE_{vp}$ . The correlations, variance and co-variance were studied using the adequate tests.

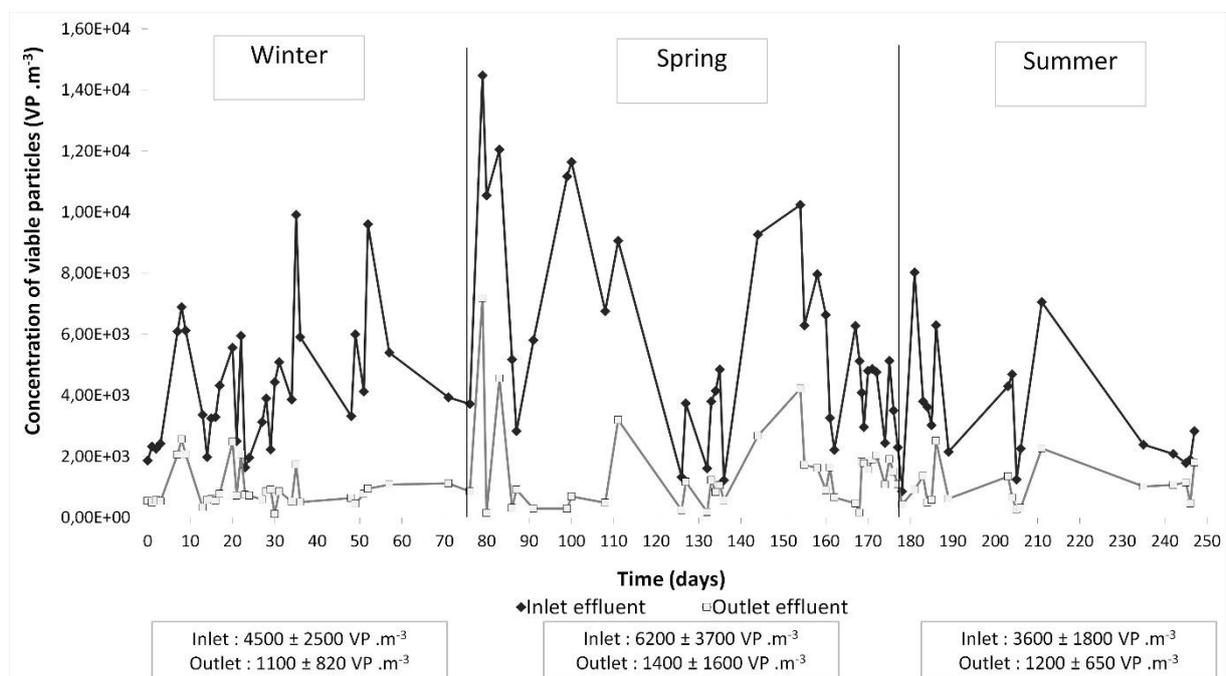
All the analyses were performed using the statistics software R. The chosen level of risk was 5%, a result was thus considered statistically significant with a  $p$ -value  $< 0.05$ .

### 3. Results and discussion

#### 3.1. The influence of season on the inlet and outlet concentrations

##### 3.1.1. Inlet and outlet concentrations

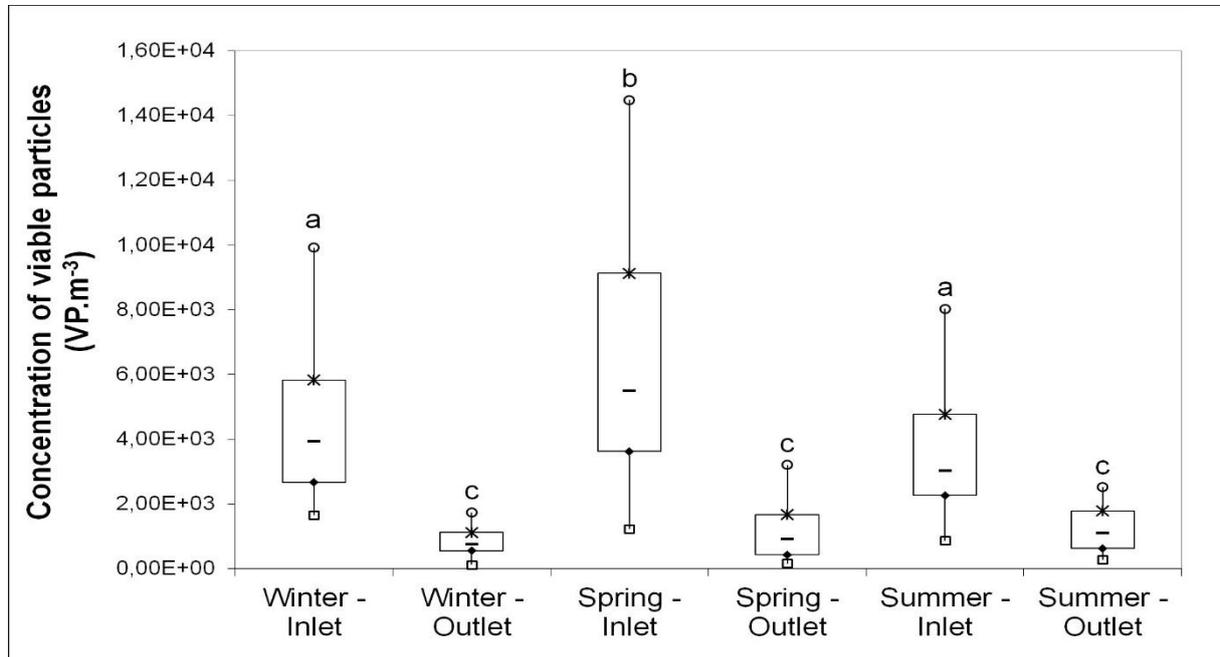
The behavior of the biofilters toward the bioaerosols removal on the long term, with a special attention to the seasonal aspect, was examined. The concentration of viable particles was then determined in the ambient air near the fan and at the biofilter outlet for a 247 days period (Figure 20).



**Figure 21. Inlet and outlet biofilter's concentrations of viable particles over a 247 days period. Inlet and outlet mean concentrations are represented for each season.**

These data have been measured during the winter, spring and summer as mentioned on Figure 21. Over the whole period, the inlet concentration ranged from a minimum of  $8.6 \times 10^2$  viable particles  $\cdot \text{m}^{-3}_{\text{air}}$  ( $\text{VP} \cdot \text{m}^{-3}$ ) to a maximum of  $1.5 \times 10^4 \text{VP} \cdot \text{m}^{-3}$ , with a mean concentration of  $(4.8 \pm 3.0) \times 10^3 \text{VP} \cdot \text{m}^{-3}$ . The outlet concentration ranged from  $110 \text{VP} \cdot \text{m}^{-3}$  to  $7200 \text{VP} \cdot \text{m}^{-3}$ , with a mean concentration of  $1200 \pm 1100 \text{VP} \cdot \text{m}^{-3}$ . The median for each season are presented on the Figure 22.

Seasonal variations of inlet viable particles concentration have been observed in this study (Figure 21, Figure 22). The mean VP concentrations are ranged from  $(3.6 \pm 1.8) \times 10^3$  VP.m<sup>-3</sup> in summer to  $(6.2 \pm 3.7) \times 10^3$  VP .m<sup>-3</sup> in winter.



**Figure 22. The Boxplot of inlet and outlet concentrations of viable particles in the biofiltration pilot unit by season. Different letters indicate statistical differences between the samples.**

Airborne microorganism concentrations usually range from  $10^2$  to  $10^3$  CFU .m<sup>-3</sup> for the outdoor air (Bunger et al. 2000; Delaunay 1997; Hours 2003 ; Hryhorczuk et al. 2001) and for the indoor air (Ghosh, Lal and Srivastava, 2015). However in industrial applications, the biofilters are subjected to extensively different inlet concentrations based on the industrial sector (Table 1), ranging from  $10^3$  to  $10^7$  CFU .m<sup>-3</sup>, whereas the outlet concentrations vary extensively from  $10^2$  to  $10^5$  CFU .m<sup>-3</sup>. The present measured concentrations are thus in a middle ground between the outdoor air and the industrial air, which could offer relevance for the study of both.

### 3.1.1. The influence of the season on the inlet concentration

The results presented in Table 1 showed that the spring season held both the highest mean concentration ( $6178$  VP .m<sup>-3</sup>) and variability ( $3687$  VP .m<sup>-3</sup>). The spring variability was approximately twice the summer variability and 1.5 times the winter variability.

**Table 1. Reported bioaerosol concentrations for implemented biofilters in different industrial sectors.**

Activities	Inlet concentration of biofilter (CFU/m <sup>3</sup> )		Outlet concentration of biofilter (CFU/m <sup>3</sup> )		References
	<i>Bacteria</i>	<i>Fungi</i>	<i>Bacteria</i>	<i>Fungi</i>	
Boiler houses	10 <sup>6</sup> to 10 <sup>7</sup>	10 <sup>3</sup> to 10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>3</sup>	Seedorf & Hartung 2002
Pig house	10 <sup>3</sup> to 10 <sup>6</sup>	10 <sup>3</sup> to 10 <sup>5</sup>	10 <sup>2</sup> to 10 <sup>4</sup> 10 <sup>5</sup> TBC .m <sup>-3</sup>	10 <sup>1</sup> to 10 <sup>4</sup> 10 <sup>4</sup> TFC	Zhao et al. 2010; Tymczyna et al. 2011 Martens et al. 2001;
Hatchery sanitation	10 <sup>3</sup> to 10 <sup>6</sup>		10 <sup>2</sup> to 10 <sup>3</sup>		Chmielowiec-Korzeniowska et al. 2007
Swine WWTP	10 <sup>5</sup> to 10 <sup>6</sup>		10 <sup>4</sup>		Ho et al., 2008
Composting plant	10 <sup>3</sup> to 10 <sup>7</sup>	10 <sup>5</sup> to 10 <sup>6</sup>	10 <sup>3</sup> to 10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup> to 10 <sup>3</sup> 10 <sup>2</sup> to 10 <sup>3</sup> ( <i>A. fumigatus</i> )	(Haumacher, Philipp and Böhm, 2005; Schlegelmilch et al., 2005). Sanchez-Monedero et al., 2003

The ANOVA test allowed to show a global influence of the seasons on the inlet concentration (p-value = 0.004). The VP concentrations during winter and summer periods were shown to be non-statistically different (p = 0.2). Whereas, the VP concentration in spring time was statistically higher than the concentrations of both winter and summer times (p = 0.022 and p = 0.001 respectively). This result seems to be not surprising as annual peak of both airborne bacteria and fungi concentrations has been observed during spring and autumn (Jones & Harrison 2004; Lighthart 1997; Herrero et al. 2006; Bowers et al. 2012) in the northern hemisphere.

However this could change for the regions subjected to a tropical or a desertic climate for example (Ponce-Caballero *et al.*, 2013).

### 3.1.2. The Influence of a season on the outlet concentration

The influences of the seasons on the outlet concentration (p-value = 0.44) have been analysed. Whereas, all the seasons were statistically non-different from each other (winter – spring: p = 0.21, winter – summer: p = 0.67, spring – summer: p = 0.44). Esquivel-Gonzalez *et al.* 2017 have monitored a biofilter for 238 days period and have not highlighted any seasonal aspects.

### 3.1.3. The Inlet-outlet concentrations relationships

Over the whole test period, the inlet concentration has an impact on the level of the outlet concentration (ANOVA, p-value < 0.00001), and a correlation was found between both (p-value < 0.00001). This revealed that the level of the inlet concentration actually influenced the level of the outlet concentration. Moreover, a covariance (cov =  $1.9 \times 10^6$ ) is observed between the both concentrations, which means that both values increase and decrease following the same pattern at the same time.

Ottengraf & Konings, 1991 stated that the outlet bioaerosol emissions of the biofilters are influenced by two phenomena: the impaction and the emission. The impaction is the capture of micro-organisms on the packing bed. The emission phenomenon is the constant, species-dependent aerosolization of micro-organisms from the biofilm. The outlet concentration of the bioaerosols is a combination of the micro-organisms crossing the packed bed without impaction, and those aerosolized from the biofilm. In the absence of particles in the inlet effluent, an assessment of the emission is possible.

The outlet concentration of VP (C<sub>2</sub>) was plotted against the inlet concentration (C<sub>1</sub>) (Figure 23). The extrapolation of the regression line to C<sub>1</sub> = 0 provides C<sub>2</sub> = 207 VP .m<sup>-3</sup>. The correlation factor is only 0.30 though, making this result relative. It however can give the general idea that the emission rate is low compared to the concentration of microorganisms crossing the biofilter without impaction.

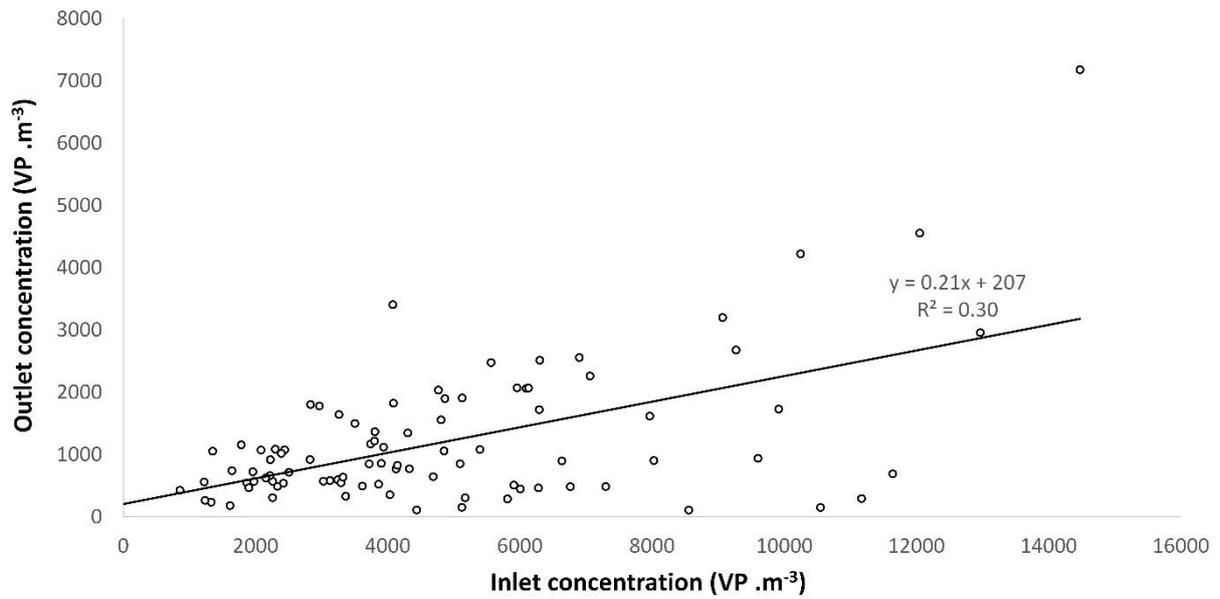


Figure 23. The outlet concentration depending on the inlet concentration. A linear regression curve was added.

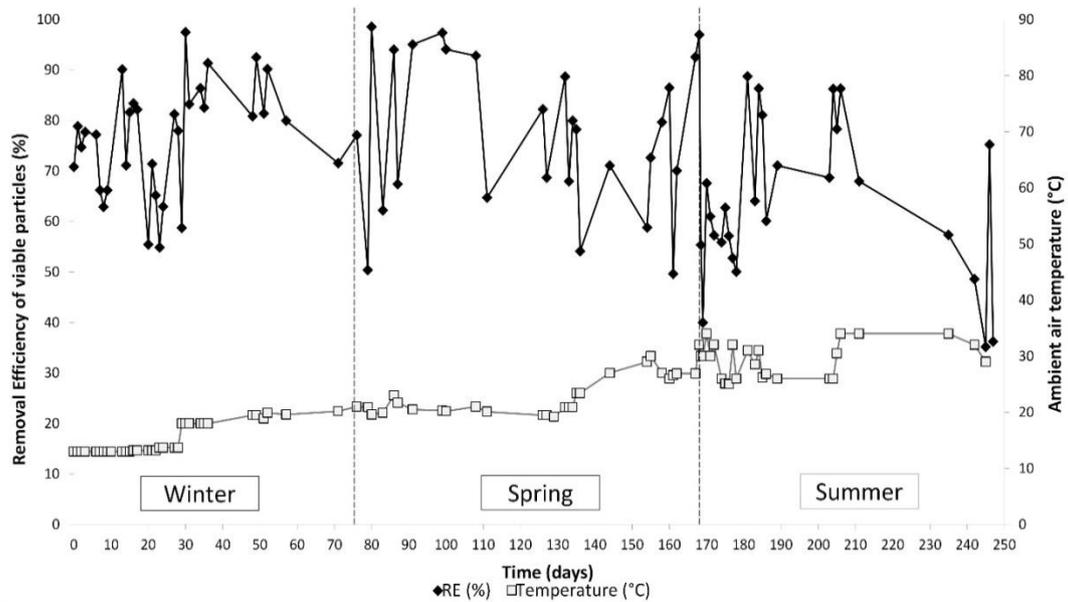


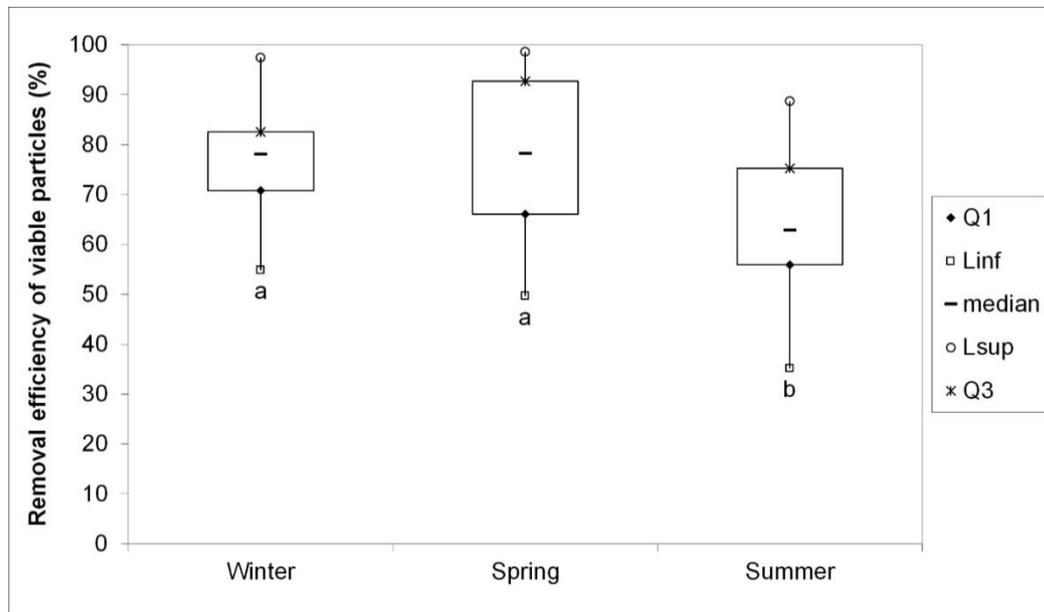
Figure 24. The biofilter removal efficiency in viable particles and ambient air temperature during the test period, organized by seasons.

### 3.2. The influence of inlet - outlet concentrations, seasons and environmental parameters on the Removal Efficiency of viable particles

#### 3.2.1. The Influence of seasons and temperature on the $RE_{vp}$

### 3.2.1.1. The Influence of seasons

The  $RE_{vp}$  of the biofilter toward viable particles is computed using the previous measured inlet and outlet concentrations (Figure 24). The mean  $RE_{vp}$  reaches  $72 \pm 17\%$  during the whole period. The average  $RE_{vp}$  is 75% during the spring and winter, and 64% during the summer (Figure 25).



**Figure 25. The Boxplot of  $RE_{vp}$  classified by season. Different letters indicate statistical differences between the samples ( $p < 0.05$ ).**

The tested biofilter then demonstrated an important bioaerosol  $RE_{vp}$  over the period of 247 days, as presented before. Furthermore, these results are consistent with those of Sanchez-Monedero *et al.*, 2003 relating to mesophilic bacteria and for 12-month-old biofilters, which were the closest parameters to the ones tested here.

Over the period, the  $RE_{vp}$  showed a high variability during all the seasons. The variability represented 20% of the  $RE_{vp}$  value for both winter and spring, and 24% of the value for the  $RE_{vp}$  during the summer. Interestingly enough, the variability of the inlet concentrations were 51%, 56% and 60% respectively for winter, spring and summer. The  $RE_{vp}$  thus remained more stable than the inlet concentration, supporting the idea that the biofilter smoothed the highly variable inlet concentration.

The statistical analysis of the data showed a global influence of the seasons over the test period ( $p$ -value = 0.019). Season by season analysis showed that winter and spring were statistically non-different from each other ( $p$ -value = 0.92), but summer was statistically lower than the other two ( $p$ -value = 0.012 for winter and 0.014 for spring; Figure 25). Interestingly enough, the inlet concentration during the winter was statistically different from the one in spring and statistically the same as the one during the summer. The  $RE_{vp}$  analysis thus exhibited the opposite: a statistical difference for winter and summer, and no difference for winter and spring.

Also, all the outlet concentrations were statistically the same. The influence of the season on the  $RE_{vp}$  then could not be linked to the VP concentrations levels. The biofilter was resistant toward the modification of the inlet concentration.

#### 3.2.1.2. The Influence of the temperature on the inlet / outlet concentrations and the $RE_{vp}$

The influence of the temperature on the  $RE_{vp}$  inside the lab has been evaluated (Figure 24). The statistical analysis indicated that the temperature has no influence on the inlet concentration ( $p$ -value = 0.75), the outlet concentration ( $p$ -value = 0.52) and the  $RE_{vp}$  ( $p$ -value = 0.07). Furthermore, no correlation was found between the temperature and those parameters. The temperature, which is associated with the suitability of the airborne environment for bioaerosols, is one of the parameters governing the survivability of the airborne micro-organisms. Its non-influence on the inlet and outlet concentrations could suggest that the VP concentration augmentation is more tied to others season-based phenomenon.

Several authors highlighted the modification of the airborne microbial communities with the season. Spring is associated with an increase of the airborne fungal concentration compared to winter (Liao et al. 2004; and Manninen et al. 2014). Whereas the summer is favorable to the microbial activity of most bacteria (Zhong *et al.*, 2016). The variation in the composition of the airborne microflora can influence the  $RE_{vp}$  because the aerodynamic diameters of the bacteria are smaller than those of the fungi. The retention by impaction of the fungi is facilitated by their size. The relationship between the temperature (season), the microbial community diversity, the micro-organisms' size and the  $RE_{vp}$  could be an interesting lead for future researches.

#### **4. Conclusion**

This study has highlighted the fact that the bioaerosol removal efficiency of the pilot unit of biofiltration is 72% for 247 days, despite the fluctuations of the inlet airborne concentration of microorganisms, so confirming its removal capacities on the long term. It has been shown that the seasons have a strong influence on the inlet concentration, and this work reveals that spring has a statistically higher concentration of viable particles than both winter and summer ones. The inlet and outlet concentration were linked by a positive covariance.

The influence of the seasons on the  $RE_{vp}$  also showed that other unknown environmental parameters could influence the removal capacities of biofilters through the year, and the ambient air temperature was not one of them. This work strengthens the use of gas biofilters as a mean to control viable particles concentration in the effluent air and highlighted those removal capacities on the long term.

# Conclusion du chapitre

L'objectif de ce chapitre était de déterminer les capacités de rétention ou d'émission des particules par un procédé de biofiltration sur des périodes longues, par un suivi régulier des concentrations en particules viables et totales en entrée et en sortie de biofiltre.

La stratégie adoptée a vu la mise en œuvre d'un pilote de biofiltration en conditions contrôlées sur une période de 247 jours. Pour étudier la microflore, le choix a été fait de se concentrer sur les particules viables. Cette stratégie permet de soutenir les critiques émises par (Fletcher *et al.*, 2014), à savoir plus de précision, de répétabilité, de fiabilité dans les mesures en s'affranchissant des biais rencontrés par les biocollecteurs traditionnels et les méthodes d'analyse par culture.

En conditions stables de fonctionnement, le biofiltre était capable de réduire la quantité de micro-organismes dans l'effluent d'entrée de  $76 \pm 19\%$  sur une période de 44 jours, avec des conditions similaires à l'échelle industrielle. Cependant le pilote était émetteur de PT. Pour approfondir cet aspect, une étude de l'influence de l'humidité a été entreprise via l'arrêt de la tour d'humidification. Elle a permis de montrer que, cette dernière engendrait la production de microgouttelettes d'eau dans l'air. En absence de ces microgouttelettes, les performances épuratoires des PT étaient similaires à celles obtenues pour les PV.

L'étude des arrêts de l'alimentation en polluant a montré que la rétention des particules restait stationnaire lors de périodes de carence de 12h, 48h et 30 jours. Cette résistance suggère l'existence de mécanismes d'adaptation de la microflore, cette dernière se tournant vers le substrat comme source d'énergie à défaut de polluant. Les performances du biofiltre se sont écroulées lors de l'application de 90 jours de famine. Le biofiltre est alors devenu émetteur de particules viables.

L'explication pourrait tenir en l'existence d'un mécanisme de survie de la microflore, cette dernière s'aérosolisant pour tenter de fuir un milieu désormais impropre à sa survie. Sept jours après la réintroduction de l'alimentation, les performances de rétention de particules avaient retrouvé leur état initial illustrant la résilience du système pour l'épuration des bioaérosols.

L'étude de l'influence de l'humidification a démontré une augmentation rapide des efficacités d'abattement en PV lors de l'arrêt de la tour d'humidification, certainement grâce à une meilleure fixation des micro-organismes sur le biofilm.

L'influence des saisons sur les capacités de rétention du biofiltre a par la suite été explorée grâce à un suivi sur 247 jours. En accord avec la littérature, la concentration en particules viables dans l'air d'entrée du biofiltre varie en fonction des saisons. La concentration en sortie est néanmoins restée indépendante de la saison, illustrant la capacité du biofiltre à maintenir ses performances épuratoires pour les PV malgré les changements. Ceci s'est répercuté sur ses efficacités épuratoires pour les particules viables, qui n'ont été que peu affectées par les saisons et non-affectées par la variation de la température ambiante.



# Chapitre 3 : Etude de l'état transitoire et caractérisation mathématique du biofiltre.

## Table des matières

<b>Chapitre 3</b> .....	<b>125</b>
<b>Etude de l'état transitoire et caractérisation mathématique du biofiltre</b> .....	<b>125</b>
<b>Introduction</b> .....	<b>126</b>
<b>Organisation du chapitre</b> .....	<b>127</b>
<b>Influence of gas velocity on the removal capacities of biofilters for airborne viable particles</b> .....	<b>128</b>
1. Introduction .....	129
2. Materials and methods .....	131
3. Results and discussion .....	134
<b>Removal capacities of biofilters for airborne viable particles: response to gas velocity impulse and concentration augmentation</b> .....	<b>159</b>
1. Introduction .....	160
2. Materials and methods .....	161
3. Results and discussion .....	163
<b>Eléments supplémentaires de discussion</b> .....	<b>177</b>
<b>Conclusion du chapitre</b> .....	<b>178</b>

# Introduction

Les biofiltres installés pour traiter une pollution chimique possèdent des capacités d'épuration des particules viables. Une valeur moyenne d'abattement de ces dernières de 76 % sur une période de 247 jours a été obtenue (chapitre 3). Cette capacité est conservée lors de l'application de perturbations telles qu'une variation de la charge en particules viables, des conditions environnementales (température), ou de l'humidité de l'effluent d'entrée. L'application de perturbations pour éprouver les capacités d'un procédé de traitement est une méthode largement répandue dans la littérature car cette stratégie peut permettre de souligner la robustesse de ces procédés. De plus, ces variations sont représentatives des conditions en milieu industriel (Cabrol, 2010). Les paramètres les plus souvent étudiés sont les variations de l'alimentation et les variations de vitesses de passage de gaz correspondant respectivement à des variations de charge et de débits. Les perturbations sur une période plus ou moins longue allant de quelques minutes à plusieurs jours (Wright, 2005, Cabrol, 2010).

L'influence de la vitesse de passage de gaz sur les émissions de micro-organismes par des biofiltres a été étudiée pour la première fois en 1991 par Ottengraf & Konings. Ils ont montré que les concentrations en micro-organismes en sortie de biofiltre tendaient à diminuer lorsque la vitesse de passage de l'effluent à traiter augmentait. A partir d'une réflexion basée sur la dynamique des fluides et le comportement des particules en suspension, ils ont établi un modèle microscopique décrivant l'évolution de la concentration en sortie en fonction de la vitesse du gaz. Cependant, des résultats présentant des divergences ont été présentés par Sanchez-Monedero et al. 2003.

Ainsi, dans ce chapitre, l'étude de l'impact des perturbations sur les émissions de particules viables va être poursuivie en se focalisant sur la vitesse de passage de gaz et la charge en particules viables grâce à l'application de variations cinétiques (de type augmentation et impulsions de Dirac). Une attention toute particulière a été portée à la cinétique de réponse du procédé immédiatement après la modification des conditions opératoires.

# Organisation du chapitre

Ce chapitre s'organise autour de deux articles en préparation pour publication.

Dans le premier article, l'influence de l'augmentation de la vitesse de passage du gaz pendant plusieurs jours sur les émissions de particules viables a été observée. Ainsi, la vitesse a varié de 30 à 100 m.h<sup>-1</sup> suivie d'un retour à la vitesse initiale et de 30 à 200 m.h<sup>-1</sup>. Les résultats obtenus ont été confrontés au modèle proposé par Ottengraf & Konings en 1991. La réponse immédiate du système, en termes de concentration en particules viables, lors du passage de la vitesse du gaz de 30 à 200 m .h<sup>-1</sup> a été mesurée en continu. Une modélisation de type boîte noire a été entreprise afin de lier mathématiquement l'entrée et la sortie du système. Pour compléter ces résultats, la composition de la microflore en entrée et en sortie de biofiltre a été analysée par une étude de phénotypes et liée à la réponse du système précédemment mise en évidence.

Le second article est consacré en partie à des variations de la vitesse mais sous la forme d'impulsions. Des impulsions positives (30 à 100 m .h<sup>-1</sup>) et négatives (30 à 0 m .h<sup>-1</sup>) de la vitesse de passage d'une durée de 1 minute ont été appliquées au système. La réponse de ce dernier à ces perturbations a été déterminée par suivi de la concentration en particules viables de sortie en continu. La possibilité d'établir un modèle boîte noire décrivant cette réponse a par la suite été explorée à partir des résultats. La suite de l'étude a consisté en l'application d'une augmentation de la concentration d'entrée en particules viables sur le système. A l'aide d'une démarche équivalente à précédemment, une modélisation de la réponse du système est proposée.

Enfin, des éléments supplémentaires de discussion préciseront le lien entre vitesse de passage de gaz et concentration en particules totales en sortie du biofiltre.

# Influence of gas velocity on the removal capacities of biofilters for airborne viable particles

Rémi Soret <sup>1</sup>, Jean-Louis Fanlo <sup>1</sup>, Luc Malhautier <sup>1</sup>, Philippe Geiger <sup>2</sup> and Sandrine Bayle <sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> LGEI, IMT Mines Ales, University of Montpellier, Ales, 30100, France; remi.soret@mines-ales.fr (R.S.); jean-louis.fanlo@mines-ales.fr (J-L.F.); luc.malhautier@mines-ales.fr (L.M.); [sandrine.bayle@mines-ales.fr](mailto:sandrine.bayle@mines-ales.fr) (S.B.)

<sup>2</sup> CMI Europe-Environnement, 1 rue des Pins - Parc d'Activités du Pays de Thann, 68700 Aspach-Michelbach, France; philippe.geiger@cmigroupe.com (P.G.)

\* Correspondence: [sandrine.bayle@mines-ales.fr](mailto:sandrine.bayle@mines-ales.fr)

Received: date; Accepted: date; Published: date

**Abstract:** Studies on bioaerosol emissions from biofilters present punctual values without information about the reactor parameter functioning. Thus, it is difficult to understand the differences in the results. The superficial gas velocity is one of the major parameters influencing biofilters' state. The removal efficiency in viable particles ( $RE_{vp}$ ) has been measured at 30, 100  $m \cdot h^{-1}$  and 200  $m \cdot h^{-1}$ . The  $RE_{vp}$  jumped from 60% to 90% with the velocity increasement. These results have been compared to a previous microscopic mathematical model developed. Then, a system dynamic approach is applied to study more precisely the influence of gas velocity. The results showed the instantaneous adaptive behavior of the biofilter to the new gas velocity. From the data, a new macroscopic model through black box modelization has been established. The model mathematically describes the response of the system to the augmentation or diminution of the gas velocity. The model indicated that biofilters can be considered as first order linear systems. It predicts both biofilters' behavior and the post-perturbation outlet viable particles concentration with a similarity of 95%. The results of the kinetic studies suggested that the majority of micro-organisms outing the biofilter were those which entered through the inlet. The outlet microbial community was investigated via a phenotype study to confirm. 15 and 11 phenotypes were found in the inlet stream for respectively total flora and total fungi, respectively. The same phylotype number was found in the outlet. The bioaerosols concentration for all phenotypes were reduced by the biofilter (around 90% to 100%) and none new phenotype was added through aerosolization from the packing bed.

**Keywords:** Biofiltration; Bioaerosols; BioTrack; Gas Velocity, Modelization.

## 1. Introduction

In face of the growing concern of air chemical pollutants, biofiltration is currently used by a large broad of industries, according to the characteristics of the polluted gas to be treated in terms of flow rate and pollutants concentration (Fanlo, 2005; European IPPC Bureau, 2006; Brinkmann *et al.*, 2016). In this biological process, contaminated air is forced through a packed-bed bioreactor. The contaminants are firstly transferred from the gas to the liquid phase and microbial oxidation occurs within a biofilm which grows at the outer surface of the packing material (Swanson and Loehr, 1997; Malhautier *et al.*, 2005). Thus, the purified air emerges from the process. Biofiltration can treat efficiently a wide variety of gas pollutants, which are usually separated according to their organic or inorganic nature (Muñoz *et al.*, 2015). However, the opportunity for micro-organisms to be released in gas outlet is increasingly considered (Ottengraf and Konings, 1991; Fletcher *et al.*, 2014; Esquivel-Gonzalez *et al.*, 2017). The presence of micro-organisms within the chemically-cleaned gas has been effectively reported by previous works (Sanchez-monedero *et al.*, 2003; Schlegelmilch *et al.*, 2005). Biofilter's ability to control airborne microorganisms has been then evaluated by culture methods (for a review see (Fletcher *et al.*, 2014)) or uncultured methods (Ho *et al.*, 2008; Esquivel-Gonzalez *et al.*, 2017; Soret *et al.*, 2018). The obtained data revealed that biofilters hold a removal efficiency (RE) between 50 and 100% for cultivable (Fletcher *et al.*, 2014), and an around 80% for viable particles (RE<sub>vp</sub>) (Soret *et al.* 2018).

In the context of chemically polluted gas treatment, previous studies demonstrated how operating parameters can influence the removal capacities of biofilters for pollutant (Song and Kinney, 2000; Irvine and Moe, 2001; Wright, 2005; Cabrol, 2010; Cabrol and Malhautier, 2011).

Moreover, in industry, it is common to encounter fluctuating activity such as flow rate and gas stream composition (Cabrol & Malhautier 2011). These variations lead the biofilters being operated under transient regime which can affect their chemical removal performance. A parallel could be made for viable particles. However, studies about the viable particles dynamic during biofilters' transient state are lacking/very scarce.

Some authors suggest a relationship between airborne viable particles emissions and process operating parameters (Fletcher *et al.*, 2014). At industrial scale, biofilters function at different empty bed gas velocities, which have been shown to influence their removal efficiency for bioaerosols (Ottengraf and Konings, 1991; Sanchez-Monedero, Stentiford and Mondini, 2003).

Results from these studies shown different conclusions about the influence of gas velocities (positive influence, negative influence). However, these data were collected on different industrial scale biofilters with varying design and operating parameters, inducing unknown variability on the results' representativity. Ottengraf & Konings, 1991 suggested a theoretical microscopic model explaining the biofilter outlet concentration as a function of air velocity. This model is based on fluid mechanics and explains both behavior of micro-organisms in the airflow and capture on the packing bed particles.

The goal of this work is to study the gas velocity impact on airborne viable particles emissions from a perfectly controlled biofilter. A non-culture based method able to represent biofilters' viable particles removal capacities was used (Soret *et al.*, 2018) and combined with traditional impaction techniques. On a semi-industrial scale biofiltration pilot unit, three gas velocities (30 m.h<sup>-1</sup>, 100 m.h<sup>-1</sup> and 200 m.h<sup>-1</sup>) have been applied. The Removal Efficiency of viable particles (RE<sub>vp</sub>) and of cultivable particles were monitored, and the data were then used to analyze Ottengraf & Konings' model.

Moreover, the transient state following changes in gas velocity was investigated by on-line monitoring of the outlet concentration of viable particles. From these results, a black-box modelization (macroscopic) was proposed by looking only to the outside variables without consideration to inside parameters (Magarotto, 2004; Michigan, 2007; Seborg *et al.*, 2010; Petit and Rouchon, 2015). Its goal is to provide information and a better comprehension of the intrinsic parameters of the biofilter leading to bioaerosols retention. Finally, the kinetic studies gave significant insight on the diversity of the biofilter outlet. This diversity was lastly investigated via a phenotype study. A special emphasis was put on determining whether the outing micro-organisms entered inside the system through the inlet or were aerosolized from the packing bed.

## 2. Materials and methods

### 4.1. Biofilter set-up and sampling strategy

#### 4.1.1. Biofilter set-up

**Table 2. Physico-chemical properties of the packing bed material (sawmill wood chips).**

Sawmill Wood Chips	
Mean diameter $d_c$ (mm)	$10 \pm 0.2$
Void fraction of humid material $\epsilon$ (%)	$60 \pm 3$
Bulk density ( $\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$ )	$220 \pm 8$
Specific surface area ( $\text{m}^2 \cdot \text{m}^{-3}$ )	$1101 \pm 168$
Water-holding capacity ( $\text{m}^3 \text{H}_2\text{O} \cdot \text{m}^{-3}$ material)	$0.2 \pm 0.01$
pH	$6 \pm 0.1$

The unit is composed of two biofiltration pilot-units in parallel (Figure 1). The pilot-unit characteristics were fully described elsewhere (Soret *et al.*, 2018). A synthetic gaseous effluent containing a carbon concentration of around  $7.5 \text{ g carbon} \cdot \text{m}^{-3}$  air at a flow rate of  $20 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$  was generated by volatilizing liquid VOCs into compressed air. This gaseous effluent was then diluted in ambient air aspired by a centrifugal air fan and going through a humidification tower to reach maximum water saturation (95%). Finally, both biofilters were fed by a polluted gas with a total flow rate was of  $2 \text{ m}^{-3} \text{ air} \cdot \text{h}^{-1}$  and an inlet VOCs concentration of  $1 \text{ g carbon} \cdot \text{m}^{-3}$ . Biofiltration columns were packed with sawmilled wooden chips with an average size of 10 mm up to 1 m height. The characteristics are presented in Table 2. The average chemical pollutant removal efficiency during this study was of 30%. For the purpose of this study, the first biofilter was named BF1 and used as the reference biofilter. No gas velocity variation was applied to this biofilter. The second, named BF2, was used as the test biofilter and thus underwent the modification of the gas velocity.

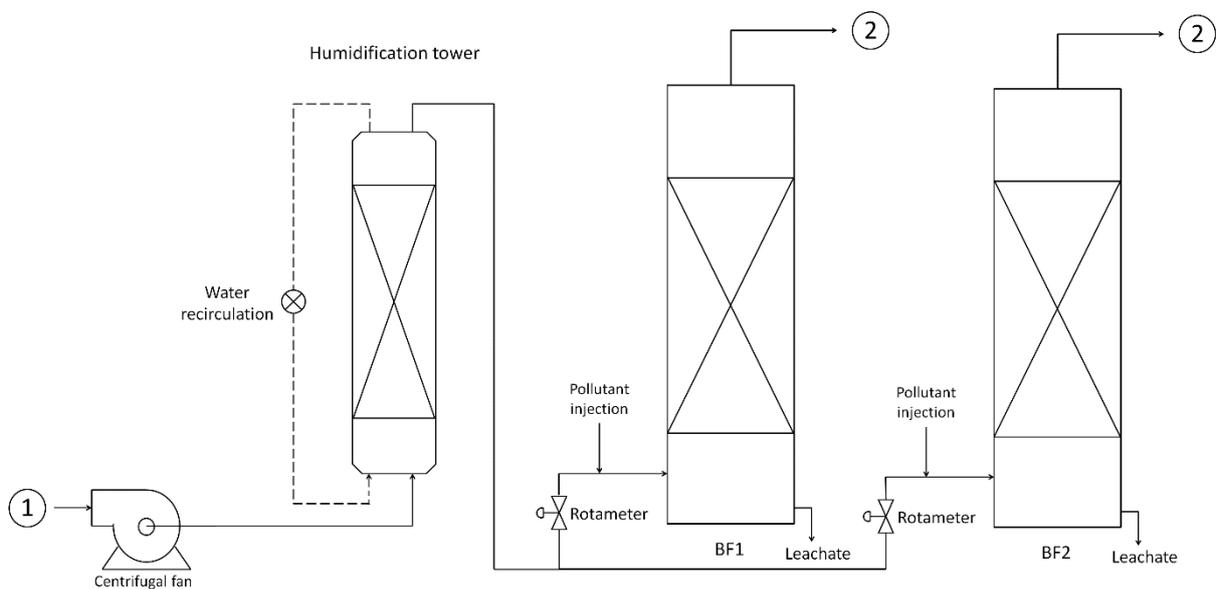
#### 4.1.2. Sampling strategy

Micro-organisms were measured in 2 sampling points presented in Figure 26. The first sampling point corresponded to the ambient air. It was placed approximately 1.5m from the floor and 1.5m from the fan aspiration to ensure isolation and representativeness of the samples.

The second sampling point corresponds to the air exiting the biofilter and was sampled directly inside the biofilter's outlet 10 cm on top of the packing bed material. The results are expressed as  $RE_{vp}$  when studying viable particles or RE when studying impaction results and stand for the biofiltration pilot unit in totality. The removal efficiency is calculated as follow:

$$RE (\%) = \left( \frac{C_{input} - C_{output}}{C_{input}} \right) \times 100 \quad (\text{Eq. 11})$$

Where C input corresponds to ambient air concentration (particles.m<sup>-3</sup> or UFC.m<sup>-3</sup>) and C output to outlet gas concentration (particles.m<sup>-3</sup> or UFC.m<sup>-3</sup>).



**Figure 26. Biofiltration units with representation of particle sampling points. 1: inlet. 2: Gas outlet.**

#### 4.2. Microbiological analysis

Micro-organisms have been monitored using two approaches.

The BioTrak<sup>®</sup> counter (TSI, Shoreview, MN, USA) was used to estimate the emissions of VP from the biofilters. It was previously described (Soret *et al.*, 2018).. Briefly, this counter uses laser diffraction to measure and count every solid particle, including inorganic and organic particles, in the diameter range from 0.5 to 25 μm. Among these particles, VP are then determined by laser induced fluorescent (LIF) emissions.

This device allows the real-time monitoring of the viable airborne flora. The sampling flowrate is  $28.3 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ . Measurements using the BioTrak counter consisted of 15 cycles: a measurement of 1 min followed by a pause of 20 seconds. The airborne concentration of cultivable microorganisms was also assessed using an impaction method. A single stage multinozzle impactor Stream'Air was used (AC-SPerhi, Saint Laurent des Arbres, France). Samples were performed at a flow rate of  $200 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$  for 2 min. The media used were the R2A media and the Sabouraud media for total flora and total fungi, respectively. After sampling, the Petri dishes were placed in an incubator at  $25^\circ\text{C}$  for 72h (bacteria) or 96 h (fungi). After incubation, the concentrations were gathered using standard plate-count method and the removal efficiency of cultivable microorganisms were estimated using (Eq. 11).

The microorganisms were classified in different phenotypes by visual observation over the following criteria: shape (circular, irregular, star-shaped, invasive, etc.), relief (domed or flat, in concentric waves, etc.), the outline (regular or irregular edges), size (punctual, small, large colonies, etc.), surface (smooth or rough), color and texture (spongy, firm, etc.). The number of colonies for each phenotype were counted using standard plate count methods on all dishes for each sampling point and then reported as a concentration ( $\text{UFC}\cdot\text{m}^{-3}$ ). The RE for each phenotype were calculated using (Eq. 11).

### 4.3. Experimental design

#### 4.3.1. Influence of gas velocity

Previous works demonstrated the equivalence between both pilot-scale biofilters (Soret *et al.*, 2018). This equivalence was used to create a control / test experimental set up. The control biofilter (BF1) was kept at the standard gas velocity of  $U_{\text{standard}} = 30 \text{ m}\cdot\text{h}^{-1}$  (corresponding to an airflow of  $Q_{\text{base}} = 2 \text{ m}^3\cdot\text{h}^{-1}$ ) while the perturbed biofilter (BF2) was brought at a velocity of either  $U_{\text{test1}} = 100 \text{ m}\cdot\text{h}^{-1}$  (corresponding to an airflow of  $Q_1 = 7 \text{ m}^3\cdot\text{h}^{-1}$ ) or  $U_{\text{test2}} = 200 \text{ m}\cdot\text{h}^{-1}$  (corresponding to an airflow of  $Q_2 = 14 \text{ m}^3\cdot\text{h}^{-1}$ ). The total test period was of 500 hours for  $U_{\text{test1}}$  and 250 hours for  $U_{\text{test2}}$ . During the perturbation period, all other operating parameters were kept strictly the same.

#### 4.3.2. System dynamic approach of the response of the biofilter

The outlet concentration of the biofilter was then monitored for 1 hour before performing the perturbations.

The system dynamic approach to study the response of the biofilter toward the gas velocity perturbation was realized using on-line monitoring of the outlet VP concentration (point 2). The BioTrak counter was first used to analyze the ambient air at sampling location 1. The post perturbation outlet concentration was then measured for two hours. The inlet concentration was analyzed again after the perturbation period to compare to pre-experiment level.

#### *4.4. Statistical analysis*

The data was analyzed using the method described by (Soret *et al.*, 2018). Two statistical tests were used: the ANOVA test and the Wilcoxon test. The chosen level of risk was 5%, a result was thus considered statistically significant with a  $p$ -value  $< 0.05$ .

### **3. Results and discussion**

#### *5.1. Inlet concentrations of viable particles*

To interpret the data based on  $RE_{vp}$ , it is necessary to ensure the stability of the inlet particle concentration (variation  $< 1$  log). During the experiments with gas velocity  $u_{test1} = 100 \text{ m.h}^{-1}$ , the average inlet concentration was of  $4200 \pm 3100$  Viable Particles  $\cdot \text{m}^{-3}$  (VP  $\cdot \text{m}^{-3}$ ). During the experiments with  $u_{test2} = 200 \text{ m.h}^{-1}$ , the average inlet concentration was of  $2750 \pm 1800$  VP  $\cdot \text{m}^{-3}$ . Finally, the average inlet concentration was of  $2900 \pm 1500$  VP  $\cdot \text{m}^{-3}$  during the on-line monitoring tests. During each type of experiment, the inlet concentration hence stayed stable enough (variation  $< 1$  log) to appreciate the influence of the parameter. Furthermore, the average concentrations on the whole study stayed close enough to compare the influence of parameters to each other's. The following highlighted phenomena thus couldn't be imputed to great variations of inlet concentrations.

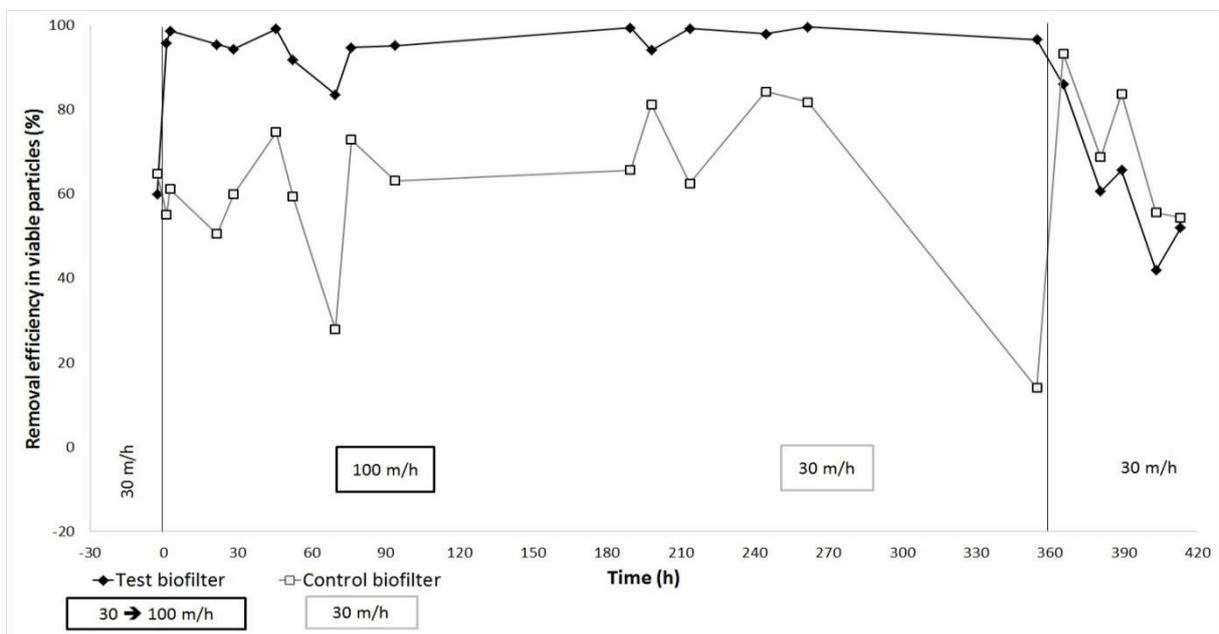
#### *1.1. Influence of the gas velocity*

##### 3.1.4. Viable particles measurements

To investigate the influence of gas velocity on viable particles emissions, two gas velocities were tested. The control biofilter (BF1) has a constant velocity ( $30 \text{ m.h}^{-1}$ ). For the perturbed biofilter (BF2), the gas velocity increased from  $30$  to  $100 \text{ m.h}^{-1}$ .

Three periods are presented in figure 27: the first period when both reactors operate at ( $30 \text{ m}\cdot\text{h}^{-1}$ ); the second one, between both vertical bars, when the velocity of BF2 was to  $100 \text{ m}\cdot\text{h}^{-1}$  and the third one when the velocity of BF2 was decreased to  $30 \text{ m}\cdot\text{h}^{-1}$ . During the first period, the reactors had a  $\text{RE}_{\text{vp}}$  of  $79\% \pm 20\%$  for BF1 and of  $60\% \pm 0.7\%$  for BF2.

When the gas velocity was increased for BF2, a clear separation between the  $\text{RE}_{\text{vp}}$  of BF2 and BF1 occurred. The  $\text{RE}_{\text{vp}}$  of BF2 increased to an average of  $96\% \pm 4\%$  and remained almost stable, while the  $\text{RE}_{\text{vp}}$  of the BF1 stayed lower at an average of  $61\% \pm 20\%$ . During all the perturbation period, the level of BF1 stayed below the level of BF2 with an average difference of 35%.



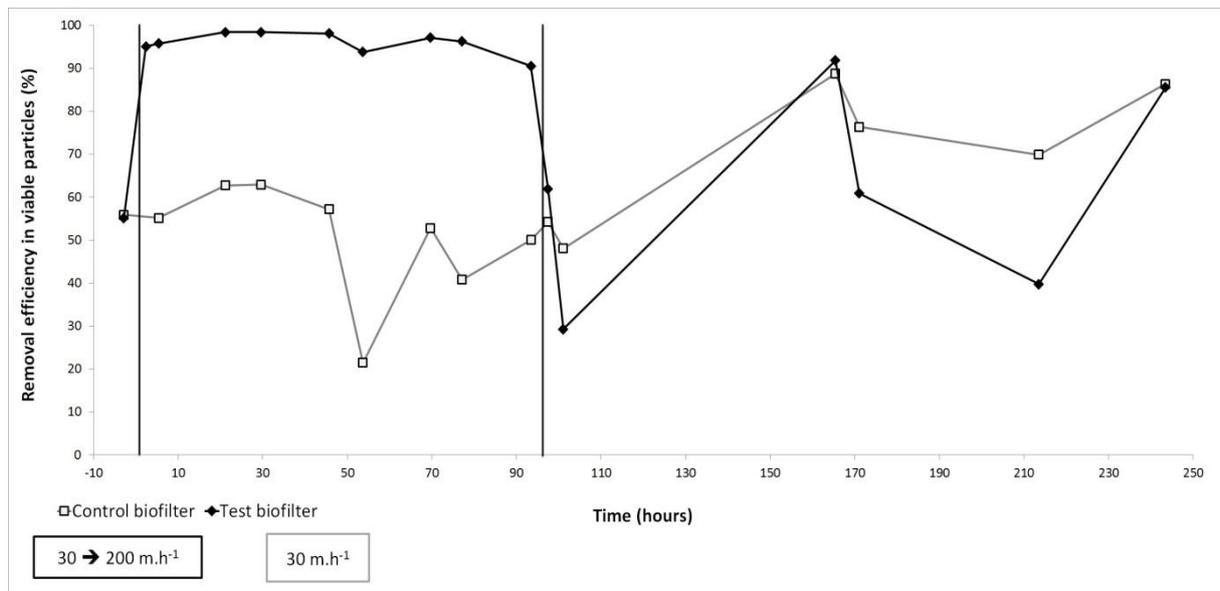
**Figure 27.  $\text{RE}_{\text{vp}}$  of the perturbed and control biofilters during the study of the influence of gas velocity. Back diamonds: perturbed biofilter. Gray square: control biofilter. Left vertical bar: velocity increased from 30 to  $100 \text{ m}\cdot\text{h}^{-1}$  for perturbed biofilter. Right vertical bar: velocity decrease from 100 to  $30 \text{ m}\cdot\text{h}^{-1}$  for perturbed biofilter.**

When the gas velocity was decreased from  $100 \text{ m}\cdot\text{h}^{-1}$ , both biofilters underwent a rapid decrease in removal efficiency values following a similar pattern to match at an identical  $\text{RE}_{\text{vp}}$  around 60%.

**Table 3. Average removal efficiency of the biofilters and delta between them during the increased velocity period.**

Repetition	RE <sub>vp</sub> (%)	RE <sub>vp</sub> (%)	Delta
	Test biofilter	Control biofilter	
1	98%	75%	22%
2	90%	69%	21%
3	96%	61%	35%

This perturbation was repeated 3 times. Similar results were obtained for all experiments (Table 3). Difference between control and perturbed biofilters was between 20 and 35%. So, the gas velocity had a strong positive influence on the RE<sub>vp</sub>.



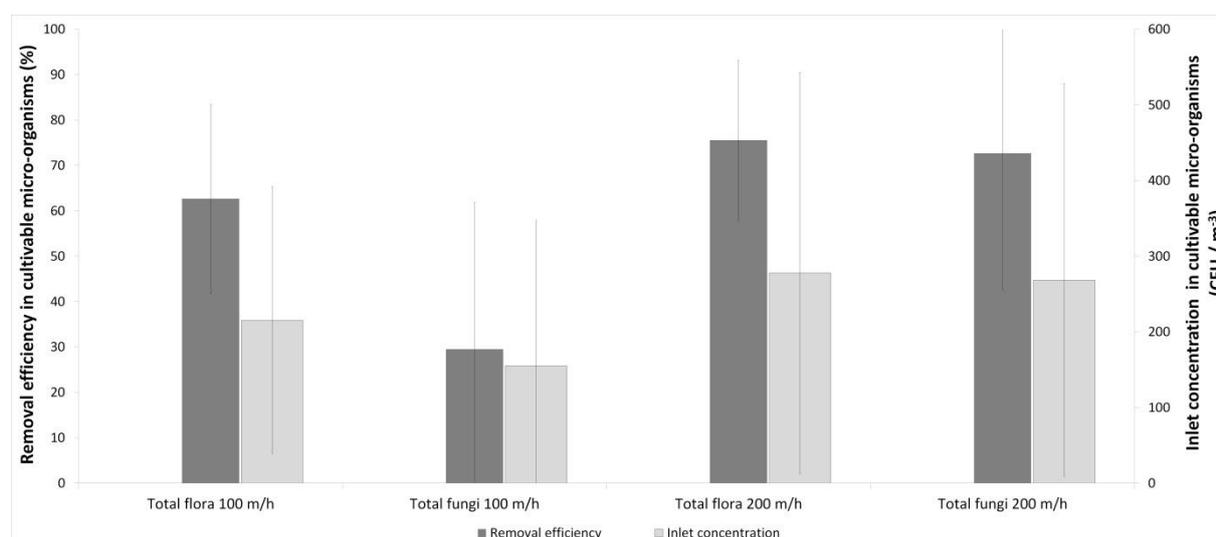
**Figure 28. RE<sub>vp</sub> of the control biofilter and the test biofilter. Gray curve: control biofilter. Black curve: perturbed biofilter. Left vertical bar: gas velocity increased from 30 to 200 m.h<sup>-1</sup> for the perturbed biofilter. Right vertical bar: gas velocity decreased from 200 to 30 m.h<sup>-1</sup> for the perturbed biofilter.**

Results corresponding to the second perturbation  $u_{test2} = 200 \text{ m.h}^{-1}$  are presented in Figure 28. The perturbation started out right after both biofilters presented identical RE<sub>vp</sub> of 55% with a gas velocity at 30 m.h<sup>-1</sup>. Immediately after the increase of gas velocity, the RE<sub>vp</sub> of BF2 jumped from 55 to 95% and effectively remained stable at an average level of  $96\% \pm 2.6\%$ .

A clear separation occurred between BF2 and BF1, as BF1 stayed at an average level of  $50\% \pm 14\%$  during all the perturbation period. When the gas velocity decreased, the  $RE_{vp}$  of BF2 dropped to initial level. Following the perturbation period, both biofilters showed a very similar but variable behavior:  $RE_{vp}$  at an average level of  $62\% \pm 25\%$  and  $71\% \pm 17\%$  for BF2 and BF1 respectively. During all the perturbation period, the  $RE_{vp}$  level of BF1 remains lower than the  $RE_{vp}$  level of BF2 with an average difference of 46%. The results show that biofilters have a top-of-the-range  $RE_{vp}$  for a gas velocity usually used in industrial conditions. They also display that biofilters has an adaptative behavior toward gas velocity change, entering a new stationary state after the perturbation (gas velocity independent of time, outlet concentration stable through time as defined in (Soret *et al.*, 2018)). This further highlights the difference between chemical pollutant abatement and bioaerosol retention. The removal of contaminants is generally affected by the gas velocity (Cabrol, 2010; Cabrol and Malhautier, 2011).

### 3.1.5. Cultivable bioaerosol measurements

Increasing the gas velocity allowed to use more traditional bioaerosol sampling techniques. The results of the impaction measurements are presented in Figure 29. The results showed that the test biofilter, possessed for total flora a  $RE = 63\% \pm 21\%$  at a velocity of  $100 \text{ m}\cdot\text{h}^{-1}$  and  $76\% \pm 18\%$  at  $200 \text{ m}\cdot\text{h}^{-1}$ . For total fungi at  $100 \text{ m}\cdot\text{h}^{-1}$ ,  $RE = 30\% \pm 32\%$  and  $RE = 73\% \pm 30\%$  at velocity of  $200 \text{ m}\cdot\text{h}^{-1}$ .



**Figure 29. Removal efficiency of the test biofilter for cultivable micro-organisms measured by impaction on the two targeted flora (n = 3, 10 dishes per measurement).**

These values highlighted the improvement of elimination with the gas velocity. This allows to draw the same conclusions than for VP. The BioTrak counter presents the results in different channels (0.5-0.7  $\mu\text{m}$ ; 0.7-1  $\mu\text{m}$ ; 1-3  $\mu\text{m}$ ; 3-5  $\mu\text{m}$ ; 5-10  $\mu\text{m}$ ; 10-25  $\mu\text{m}$ ; >25  $\mu\text{m}$ ) which are concordant with bioaerosol aerodynamic diameters (0.5-2  $\mu\text{m}$  for bacteria and 2-8  $\mu\text{m}$  for fungi, (Li *et al.*, 2011)). No abatement difference was found as a function of channels with the counter.

Multiple factors could explain these differences: low inlet cultivable bioaerosols concentration, species' specificity, etc. Another important point is the inferiority of the two total fungi RE compared to the total flora RE, which is in average in contradiction with literature (Seedorf & Hartung 1999; Martens *et al.* 2001; Seedorf & Hartung 2002; Sanchez-Monedero *et al.* 2003; Schlegelmilch *et al.* 2005; Haumacher *et al.* 2005; Chmielowiec-Korzeniowska *et al.* 2007; Ho *et al.* 2008; Zhao *et al.* 2010; Tymczyna *et al.* 2011). Furthermore, the larger airborne particles are, the easier their impaction on the filter bed easier due to fluid dynamic law, explaining the better RE for them. Smaller particles have more chances to cross through the filter bed un-impacted, thus resulting in a higher outlet concentration.

Airborne fungi should thus be more easily impacted on the filter bed than airborne bacteria, which is not the case here. These results are perhaps affected by the high variability related to the measurement. To limit the variability a large sample (n = 10 Petri dishes per sample) has been undertaken. This goes in agreement with (Fletcher *et al.*, 2014) conclusions about the variability of cultural methods and the need for a more precise and standardized method to evaluate bioaerosols concentration.

#### 3.1.6. Previous modelization

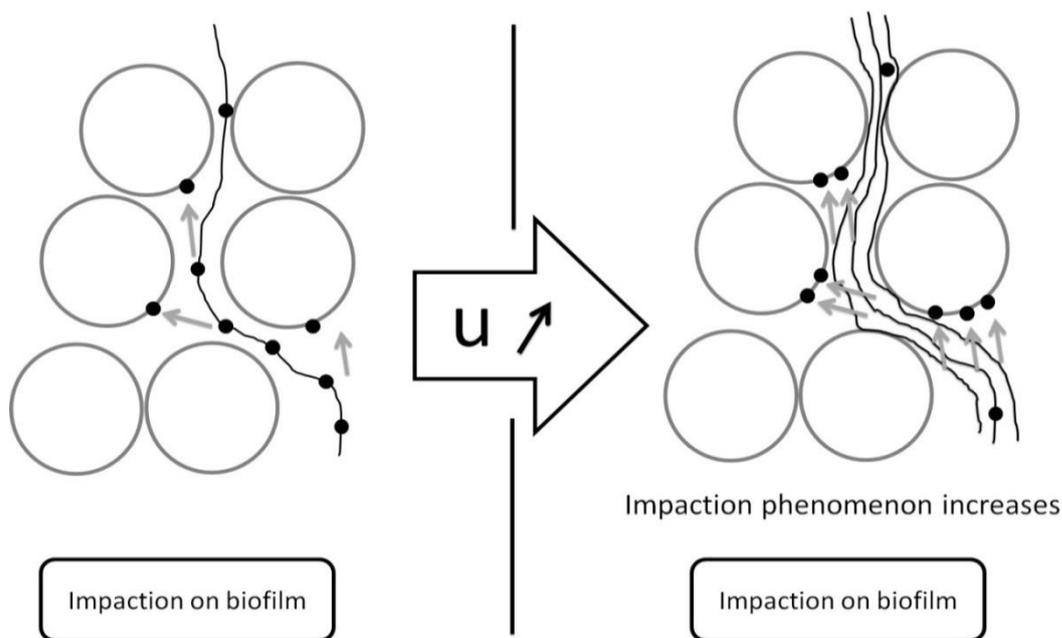
Ottengraf & Konings, 1991 and Sanchez-Monedero *et al.* 2003 have previously investigated the influence of gas velocity on bioaerosols control. Sanchez-Monedero *et al.*, 2003 produced a mathematical correlation between the inlet and outlet concentrations in cultivable mesophilic bacteria, expressed via the equation:

$$C_{g,out} = (0.21 \pm 0.05)C_{g,in} \quad (\text{Eq. 12})$$

where  $C_{g,out}$  and  $C_{g,in}$  are the bioaerosol concentrations after and before the biofilter, respectively (Sanchez-Monedero, Stentiford and Mondini, 2003). However, this equation doesn't fit the experimental data presented in this study.

The differences could be due to the targeted microbial populations (all viable micro-organisms instead of only viable and cultivable micro-organisms), the number of replicate (high variability could be induced by  $n = 3$  Petri dishes per sample only), operating conditions of the biofilter interms of packing material, the gas characteristics (nature and concentration of pollutants).

Ottengraf & Konings, 1991 stated that the removal efficiency for bioaerosols in the biofilter is composed of two phenomena: the impaction of micro-organisms onto the packing bed material thus reducing the outlet bioaerosol concentration, and the aerosolization of micro-organisms from the biofilms thus increasing the outlet bioaerosol concentration.



**Figure 30. Augmentation of the impaction phenomenon when the gas velocity is increased. Black points: micro-organisms. Gray circles: packing bed particles. Black lines: airflow.**

(Ottengraf and Konings, 1991) estimated that the aerosolization rate of micro-organisms from the packing bed is independent of the gas velocity and dependent of biological factors such as the micro-organism species. The capture mechanism / impaction phenomenon, as opposed, is velocity dependent and is enhanced as the gas velocity increases (Ottengraf and Konings, 1991). A schematic representation of this phenomenon is proposed in Figure 30.

Micro-organisms within the airflow and travelling through the packing material have a kinetic energy proportional to the gas velocity. When the gas velocity increases, the kinetic energy makes them unable to follow the tortuosity of the interstitial channels.

The kinetic energy then tends to push the micro-organisms out of the streamlines and a large fraction impact on the packing particles. The outlet concentration is then reduced.

Sanchez-Monedro *et al.*, 2003 were unable to find a correlation between the RE for *A. fumigatus* and the superficial gas velocity of the effluent, because the RE of all gas velocity are close to 100%. Whereas a correlation was found for mesophilic bacteria and the superficial gas velocity with  $R^2 = 0.92$ . Sanchez-Monedro's studied plants II (gas velocity = 1.67 m .min<sup>-1</sup>), V (2.91 m .min<sup>-1</sup>) and VII (0.62 m .min<sup>-1</sup>) were similar to the superficial gas velocities presented previously ( $u_{test1} = 1.64$  m .min<sup>-1</sup>,  $u_{test2} = 3.28$  m .min<sup>-1</sup> and  $u_{standard} = 0.5$  m .min<sup>-1</sup>). The results show a diminution of the RE as the velocity increase, which is opposed to this work's findings.

The reason is unknown but it could be supposed these results were influenced by the difference of design between the plants' biofilters (the packing bed materials), the method of analysis (distance between the packing bed and Andersen Sampler, measurement error), and perhaps the targeted flora (cultivable micro-organisms). Moreover, RE values of the Plant V's was very different from other RE values and could drastically alter the conclusions on superficial gas velocity.

Ottengraf & Konings, 1991 proposed a model to explain their results and showed the relation between the capture mechanisms, the emissions mechanisms, the outlet concentration, the gas velocity and the characteristics of the packing material in the form of the equation:

$$C_e = \left( C_i - \frac{k_e a_s u}{k_c} \right) \exp \left( - \frac{k_c H}{u} \right) + \frac{k_e a_s u}{k_c} \quad (\text{Eq. 13})$$

With:

- $C_e$ : the outlet concentration (UFC.m<sup>-3</sup>).
- $C_i$ : the inlet concentration (UFC.m<sup>-3</sup>).
- $k_e$ : emission rate constant per unit of bed volume (m<sup>-3</sup>).
- $a_s$ : specific area of the packing material (m<sup>-1</sup>).
- $u$ : superficial gas velocity (m.s<sup>-1</sup>).
- $k_c$ : capture constant per unit of bed volume (s<sup>-1</sup>).
- $H$ : height of the filter bed (m).

The capture constant  $K_c$  is defined by the following equation:

$$K_c = \frac{3(1-\varepsilon)}{2 d_c} \frac{u}{\left(1 + \frac{0.06\varepsilon}{S_t}\right)^3} \quad (\text{Eq. 14})$$

With:

- $\varepsilon$ : The void fraction / porosity (%).
- $d_c$ : diameter of capturing particles (m).
- $S_t$ : The Stokes number.

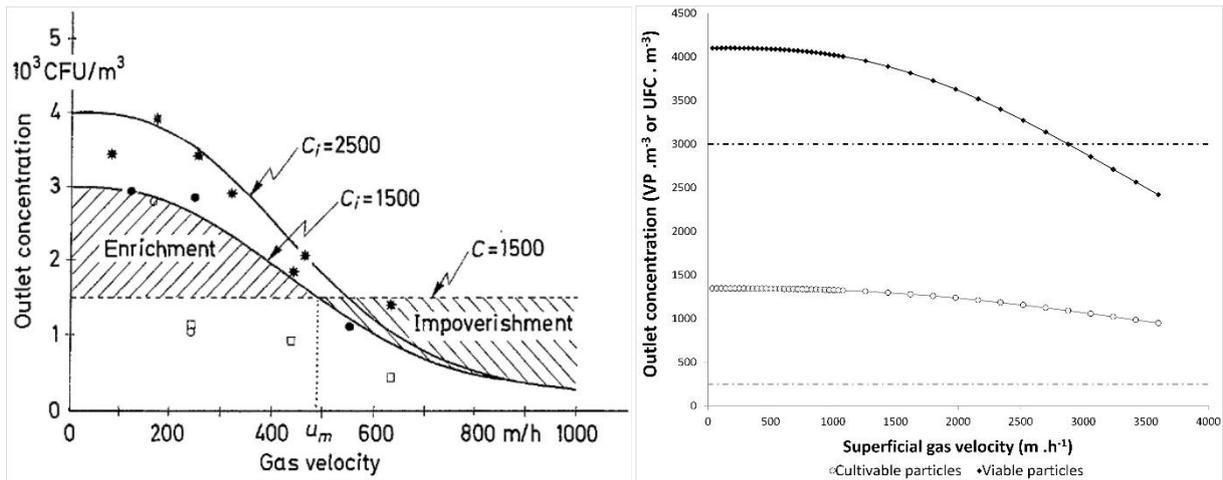
The Stokes number is defined as:

$$S_t = \frac{\rho_m u d_m^2}{9 \mu d_c} \quad (\text{Eq. 15})$$

With:

- $d_m$ : diameter of captured particle (m).
- $\rho_m$ : density of captured particle ( $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$ ).
- $\mu$ : dynamic gas phase viscosity ( $\text{Pa}\cdot\text{s}$ ).

This model predicts the existence of a gas velocity  $u_m$  as seen on Figure 31. Before  $u_m$  the emission rate (velocity independent) is superior to the capture rate (velocity dependent). The outlet gas stream is thus enriched with micro-organisms from the packing bed. After  $u_m$  the capture rate is superior to the emission rate, the outlet gas stream is thus impoverished in micro-organisms and the RE increases as the velocity increases. Ottengraf & Konings, 1991 estimated that  $u_m = 500 \text{ m}\cdot\text{h}^{-1}$  for their biofilter.



**Figure 31. Left: The bacterial outlet concentration as a function of the gas velocity at  $C_i = 1500$  and  $2500 \text{ m}^{-3}$  (Directly gathered from (Ottengraf and Konings, 1991)). Right: Outlet concentration as a function of the gas velocity (drawn curves has been computed according to Eq. 13 with this study's parameters :  $k_e a_s = 1102 \text{ m}^{-4}$ ;  $\varepsilon = 0.3$ ;  $\rho_m = 10^3 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$ ;  $d_m = 4 \cdot 10^{-6} \text{ m}$ ;  $d_c = 10 \cdot 10^{-3} \text{ m}$ ;  $\mu = 1.8 \cdot 10^{-5} \text{ Pa} \cdot \text{s}$ ). Gray curve: Obtained using the impaction results with a  $C_i = 240 \text{ UFC}$ . Black curve: Obtained using the BioTrak results with a  $C_i = 3000 \text{ VP} \cdot \text{m}^{-3}$  (usual value of inlet VP concentration). The bars represent the respective inlet concentrations; Before crossing the curve : enrichment ; After crossing the curve : impoverishment.**

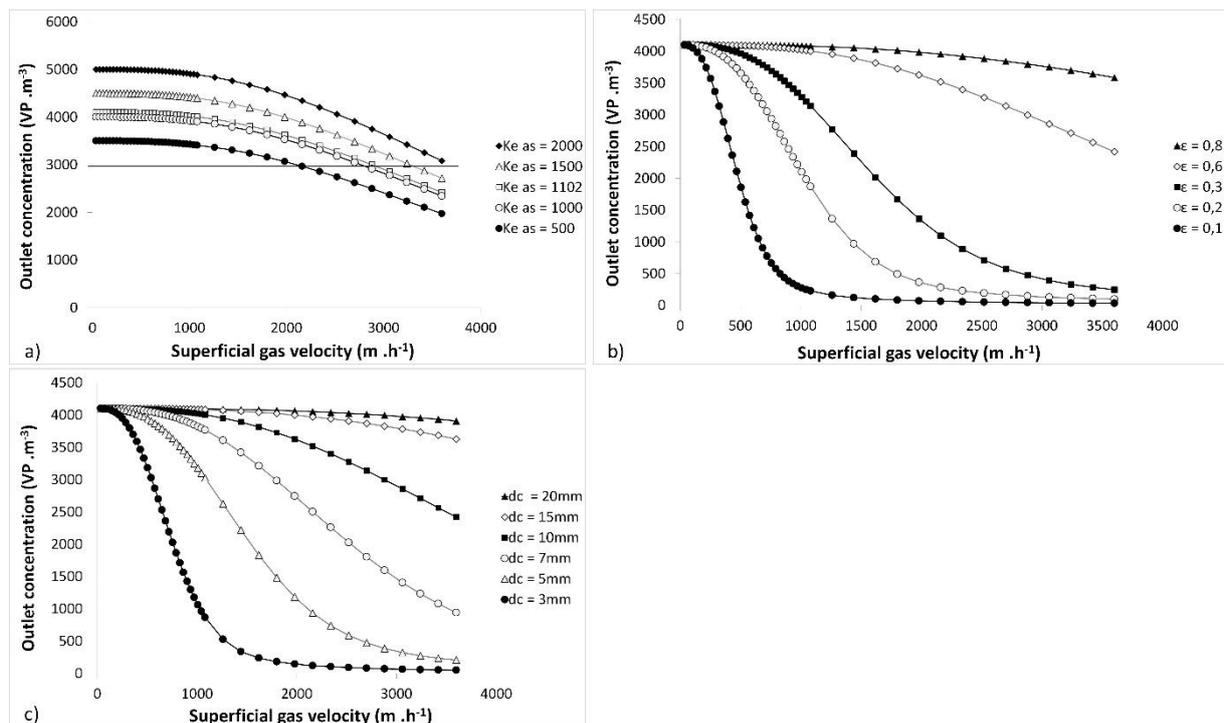
Their model has been tested with the operating conditions of the present study and the results are presented in Figure 31.

For the VP,  $u_m$  reached  $2800 \text{ m} \cdot \text{h}^{-1}$ . For the cultivable particles,  $u_m$  wasn't estimable using the curve. The showed  $u_m$  were incoherent in both cases, impossible to apply in industrial conditions. The previously obtained results demonstrated that biofilters possessed a positive  $RE_{vp}$  which increased with the gas velocity for the 30 to 100 or 200  $\text{m} \cdot \text{h}^{-1}$  range.

This model cannot represent correctly the data of the present study and is in direct opposition to previous conclusions. Furthermore, the inlet concentrations presented by (Ottengraf and Konings, 1991) ( $1500$  and  $2500 \text{ UFC} \cdot \text{m}^{-3}$ ) are included between the values used in the present study ( $240$  and  $3000 \text{ (UFC or VP)} \cdot \text{m}^{-3}$ ).

It is then probable that the modelization differences when using Ottengraf & Konings's data and this study's data are explained by the intrinsic parameters such as the packing material characteristics (diameter, porosity, ...). Variations on the parameters of (Eq. 13) were realized to investigate their influence on the enrichment / impoverishment zones Figure 32.

Variations on the constant  $K_{e,a_s}$ , which represents the rate of the emission phenomenon per unit of specific surface area, show only little influence on the model and the enrichment/impoverishment zones, as they only shift the curves up or down. To further investigate, variations on the physico-chemical parameters of the packing material  $\epsilon$  the void fraction and  $d_c$  the diameter of the packing particles were tested. Although the lower values (0.1 to 0.3) mostly represent theoretical values, 0.4 to 0.8 values represent industrial reality (Lava rocks  $\epsilon = 0.39$ , coconuts fibers  $\epsilon = 0.81$  (Malhautier *et al.*, 2017), highflows rings  $\epsilon = 0.88$  (Malhautier, Renner and Fanlo, 2010)). The results are presented in Figure 32.



**Figure 32. a) Outlet VP concentration as a function of the gas velocity, with variations of the  $K_{e,a_s}$  parameter (curves computed from Eq. 13, same parameters than Figure 31 except for  $K_{e,a_s}$ ). b) Outlet concentration as a function of gas velocity with variations on the void fraction  $\epsilon$ . c) Outlet concentration as a function of gas velocity with variations on the diameter of the capturing particles (packing bed particles) (curves computed from Eq. 13, same parameters than for Figure 31 except for  $\epsilon$  and  $d_c$  respectively).**

Both parameters greatly influence the model and strongly modify the enrichment / impoverishment zones, with a slightly more pronounced influence for  $\epsilon$ . Furthermore it appears that combination of both  $\epsilon$  and  $d_c$  is required for the gas velocity to stay on (Ottengraf and Konings, 1991) range and not go into aberrant value.

From Figure 32 can be estimated that the model maximum combination of acceptable values are  $\epsilon = 0,3$  and  $d_c = 5$  mm, as superior values lead to aberrant  $u_m$ . One possible critic is that this model lacks data to be used as an empirical model. Other empirical models like Comiti's model for pressure drop (Comiti, 1987; Comiti and Renaud, 1989), investigated dozens of different packing-bed materials with different physico-chemical properties to obtain a wide range of data on which fit the curves and modelize the equations. This type of protocole should be mimetize to create an empirical model explaining gas velocity influence from an aerodynamical point of view which would be adaptable to every kind of packing bed material.

### *3.2. System Dynamic approach and study of transitory state*

Ottengraf & Konings' model is a microscopic model. Although being the goal of any modelization, a microscopic model requires intimate knowledge of the intrinsic phenomena, which we don't have for biofilters. A system dynamic approach was thus undertaken to study the transitory state of biofilters consecutive to a gas velocity perturbation and explore the possibility of a black-box type (macroscopic) modelization.

#### *3.2.1. Biofilters' responses toward gas velocity perturbations*

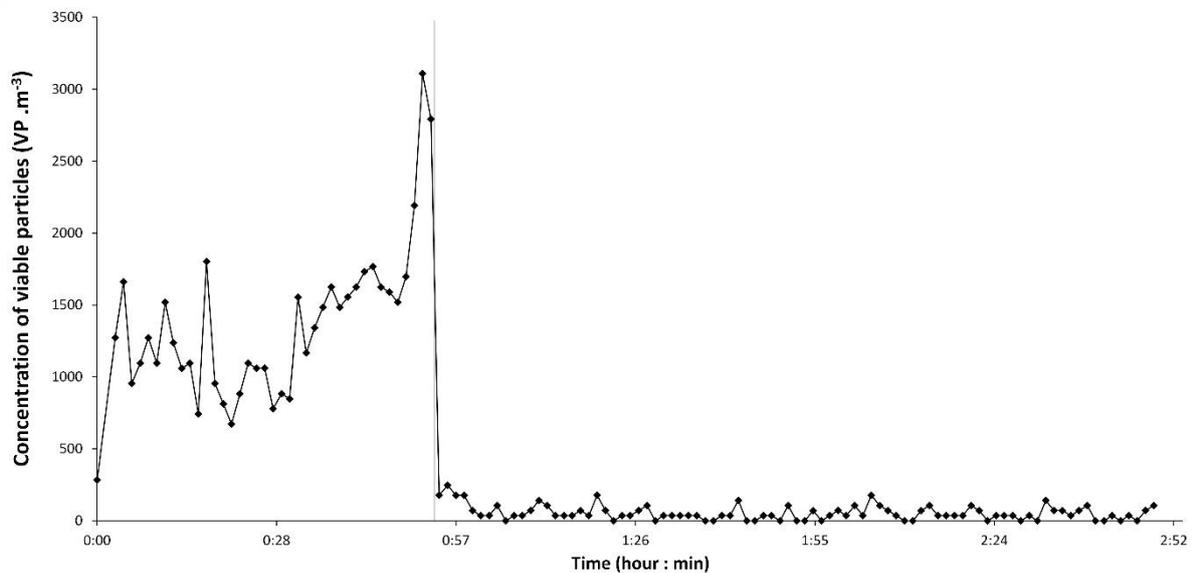
On-line monitoring of the outlet concentration was conducted to study the behavior of a biofilter to a gas velocity perturbation. Two perturbations were studied: positive perturbation corresponding to the increasement of gas velocity (from 30 to 200 m.h<sup>-1</sup>), and negative perturbation corresponding to its diminution.

The outlet concentration profile before and after the positive perturbation is represented in Figure 33. The average pre-perturbation concentration reached  $1350 \pm 515$  VP.m<sup>-3</sup> and a post-perturbation of  $58 \pm 53$  VP.m<sup>-3</sup>. When the perturbation was applied, the outlet concentration dropped drastically from a value of 2792 VP.m<sup>-3</sup> to 177 in VP.m<sup>-3</sup> in 1:20 min, corresponding to the time lapse between two BioTrak measurements. The outlet concentration then stayed stable at that level for the rest of the experiment, without any tendency to return to previous level.

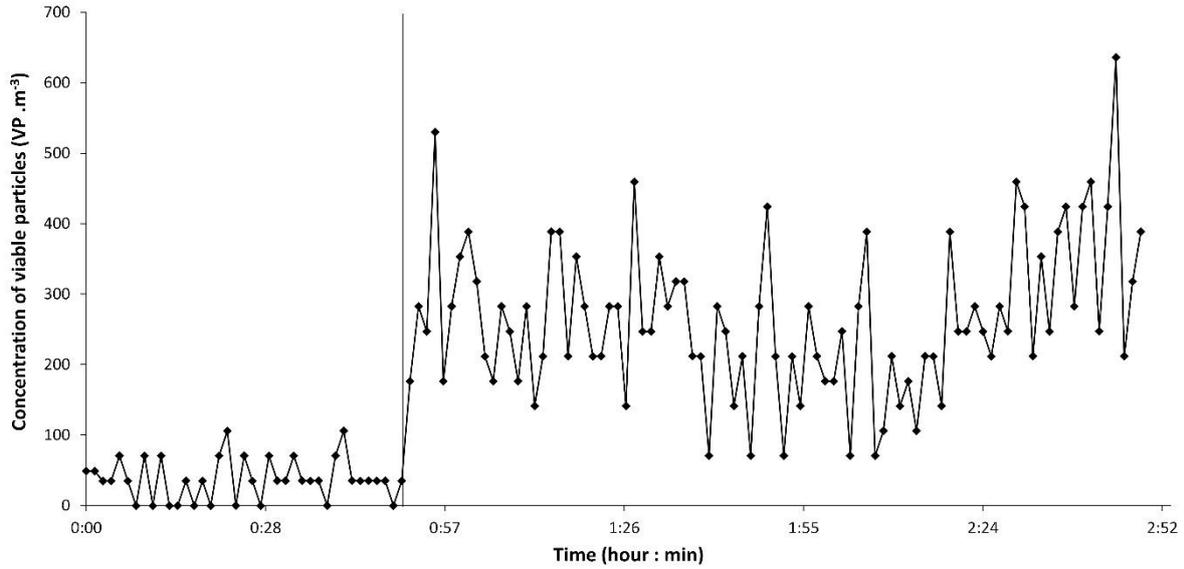
An inverted profile was found for the negative perturbation (Figure 34) representing the diminution of gas velocity from 200 to 30 m.h<sup>-1</sup>. The outlet pre-perturbation concentration was at an average level of 114 ± 98 VP.m<sup>-3</sup> while the post-perturbation concentration was at an average of 647 ± 186 VP.m<sup>-3</sup>.

The same instantaneous behavior at the moment of the perturbation was found for the concentration, which increased from 0 to 318 in 1:20 min then to 848 in 1:20 more minutes. The post-perturbation concentration then remains stable and at the same level for the rest of the experiment.

Those results highlighted several phenomena. It seems that the biofilter didn't hold a kinetic aspect toward transitory state. Variation of particle concentration occur in 1:20min or 2:40, this demonstrating the instantaneous adaptation behavior of the biofilter toward the perturbation. These results gave a more precise insight of the adaptive behavior of biofilters toward the gas velocity augmentation. The kinetic approach demonstrated the non-existence of any resistance from the biofilter to the perturbation but rather its immediate adaptation.



**Figure 33. Outlet VP concentration through time before and after gas velocity augmentation (30 -> 200 m.h<sup>-1</sup>). The gray vertical bar represents the moment the gas velocity is increased.**



**Figure 34. Outlet VP concentration through time before and after gas velocity diminution (200 - > 30 m.h<sup>-1</sup>). The gray vertical bar represents the moment the gas velocity is increased.**

Furthermore, the post-perturbation level remained stable up to the end of the experiment. The previous gas velocity study showed that this level also remained stable for up to 2 weeks, with no signs of a tendency to return to pre-perturbation level. This allows to conclude that the transitory state is nearly non-existent for biofilters toward gas velocity perturbation and that the biofilter adapts almost immediately to the new gas velocity with the corresponding  $RE_{vp}$  by reaching a new stationary state. This indicates that at any given time during stationary state, even after an airflow perturbation, the outlet VP concentration can be estimated using the following equation describing the stationary state:

$$C_o(0) = C_i(0) - k(u) C_i(0) \quad (\text{Eq. 16})$$

With  $C_o(0)$  the outlet VP concentration ( $VP \cdot m^{-3}$ ),  $C_i(0)$  the inlet concentration ( $VP \cdot m^{-3}$ ) and  $k(u)$  the removal coefficient which is a function of the gas velocity and calculated using the equation:

$$k(u) = \frac{RE}{100} = \frac{C_i(0) - C_o(0)}{C_i(0)} \quad (\text{Eq. 17})$$

(Eq. 16) is basically the Mass Balance Equation (MBE) during stationary state for the VP. It describes well experimental data, given the knowledge of the  $RE_{vp}$  at that gas velocity. It also demonstrates the stability of the outlet concentration level through time.

As with any stationary state MBE, (Eq. 16) is of “Black Box” type. It doesn’t consider the physico-chemical properties of the biofilter but instead only look at inlet and outlet variables. This theoretically enhances its ability to be transposable to other biofilters. But further testing on different biofilters with different physico-chemical properties using the same method would be needed to determine if this model can be considered as valid for every biofilter.

However this result is of critical importance. The MBE opens the possibility to consider the biofilter as a linear system, meaning the outlet is mathematically linked to the inlet. Doing so allows to modelize the biofilter using “Black Box” modelization techniques. The obtained equations will describe the answer of the system to a perturbation and allow to estimate the post-perturbation stationary state with only the knowledge of pre-perturbation stationary state.

### 3.2.2. Mathematical Black Box modelization of biofilter’s response

For the removal of VP, previous results allowed to consider the biofilter as a first-order linear system of the reactor type which reaction consists of the  $RE_{vp}$  alone. As showed in the (Eq. 16), the stationary state (with  $u$  constant) can be described from the  $RE_{vp}$  equation and modeled as:

$$C_o(0) = C_i(0) - k C_i(0) \quad (\text{Eq. 18})$$

By reasoning in particles flow with the equations:

$$Q_{pi} = Q_v \times C_i$$

$$Q_{po} = Q_v \times C_o \quad (\text{Eq. 19})$$

With  $Q_{pi}$  being the inlet VP flow ( $VP \cdot \text{min}^{-1}$ ),  $Q_{po}$  the outlet VP flow ( $VP \cdot \text{min}^{-1}$ ) and  $Q_v$  the airflow ( $m^3 \cdot \text{min}^{-1}$ ).

The mass balance equation describing the system at any given time  $t$  is then:

$$Q_{pi}(t) - kQ_{pi}(t) = Q_{po}(t) + \frac{d Q_{po}(t)}{dt} \quad (\text{Eq. 20})$$

By defining the gap variable to steady state as:

$$\begin{aligned} \widehat{Q}_{pi}(t) &= Q_{pi}(t) - Q_{pi}(0) \\ \widehat{Q}_{po}(t) &= Q_{po}(t) - Q_{po}(0) \end{aligned} \quad (\text{Eq. 21})$$

The mass balance equation becomes:

$$\widehat{Q}_{pi}(t) = \tau \widehat{Q}_{po}(t) - \tau \frac{d \widehat{Q}_{po}(t)}{dt} \quad (\text{Eq. 22})$$

With:

$$\tau = \frac{1}{1-k} \quad (\text{Eq. 23})$$

By using the Laplace transform, is it possible to obtain the transfer function as:

$$\frac{\widehat{Q}_{po}(s)}{\widehat{Q}_{pi}(s)} = \frac{1}{\tau + \tau s} \quad (\text{Eq. 24})$$

With  $s$  being the variable in the Laplace space. As the perturbation can be modeled as a step, it is possible to establish that:

$$\widehat{Q}_{po}(s) = \frac{A}{\tau} \left( \frac{1}{s(1+s)} \right) \quad (\text{Eq. 25})$$

With A being the gain (VP.min<sup>-1</sup>). By applying the reversed Laplace Transform, the equation becomes:

$$C_o(t) = \left(\frac{1}{Q_v(0)}\right) \left(\frac{A}{1-k(0)}\right) (1 - e^{-t}) + C_o(0) \quad (\text{Eq. 26})$$

For the model to fit experimental data, a corrective factor must be applied to obtain the final equation as:

$$C_o(t) = \left(\frac{-1}{Q_v(0)}\right) \left(\frac{A}{1-k(0)}\right) (1 - e^{-t}) + C_o(0) \quad (\text{Eq. 27})$$

The model presented here fits experimental data well, both for the positive (Figure 35) or the negative perturbation (Figure 36). For the positive perturbation, the model starts from the stationary state average outlet concentration of 1350 VP.m<sup>-3</sup> then rapidly decreases to the post-perturbation level of 100 VP.m<sup>-3</sup>. The rate of that decrease matches the experimental data with an error of only 0.65%.

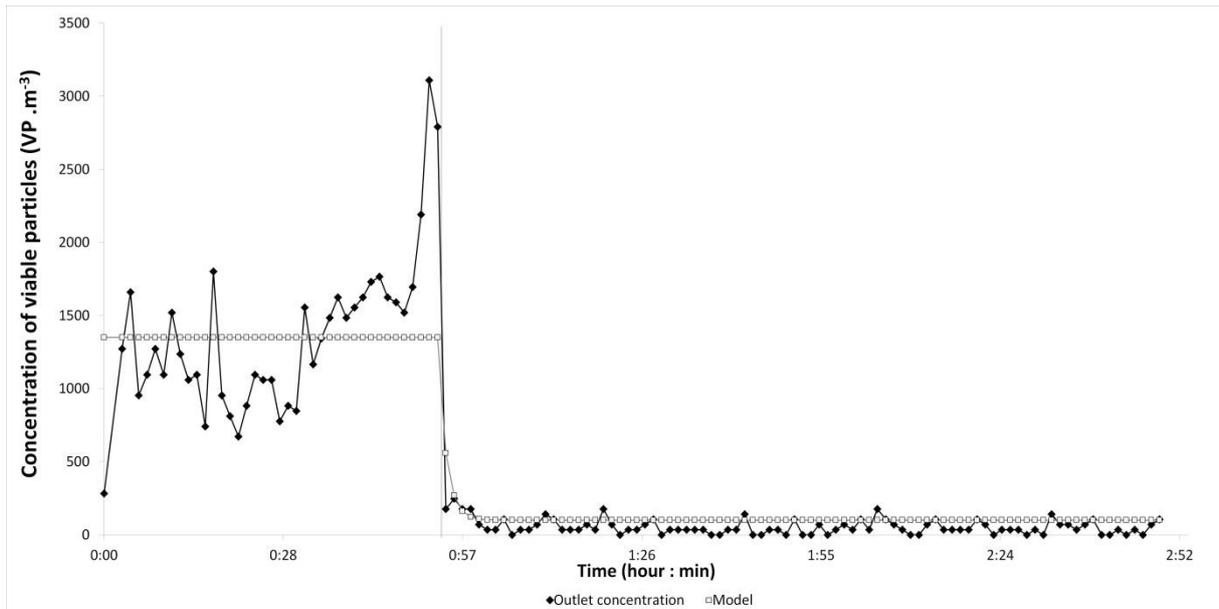
For the negative perturbation, the model starts from the average pre-perturbation level of 49 VP.m<sup>-3</sup> to then rapidly reach the post-perturbation level of 283 VP.m<sup>-3</sup>. For that perturbation, the rate of increase matches the experimental one with no error. The time  $t_r$  response of the system was calculated as:

$$C_o(t_r) = 0.95 AK \quad (\text{Eq. 28})$$

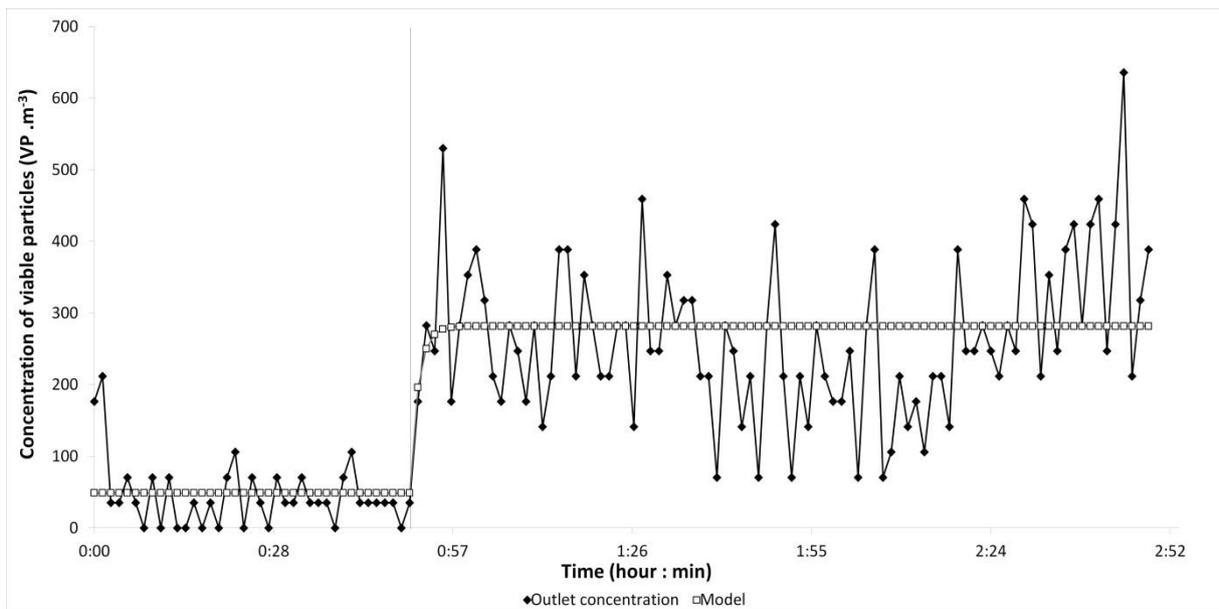
And determined at  $t_r = 3$  min, which matches the experimental data and is inferior to the total residence time in the pilot unit (4 min 30 sec).

The model thus gives a realistic estimation of the post-perturbation outlet concentration. It is then possible to use it for the estimation of the post-perturbation  $RE_{vp}$ , using the equation:

$$k(t) = \frac{RE(t)}{100} = \left(\frac{C_i - C_o(t)}{C_i}\right) \quad (\text{Eq. 29})$$



**Figure 35. Outlet VP concentration through time before and after gas velocity increase (30  $\rightarrow$  200  $\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$ ). The gray curve represents the model and is obtained using Eq. 27.**



**Figure 36. Outlet VP concentration through time before and after gas velocity diminution (200  $\rightarrow$  30  $\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$ ). The gray curve represents the model and is obtained using Eq. 27.**

By knowing the conditions of the stationary state, being the inlet concentration  $C_i(0)$ , the outlet concentration  $C_o(0)$  and the  $RE_{vp}(0)$ , the model is able to provide a kinetic description of the biofilter's behavior toward a gas velocity perturbation. It provides information on the time responses  $t_r$  as well as the post-perturbation stationary state (mean VP concentration and  $RE_{vp}$ ).

Whereas being a black box model and thus more easily transposable than microscopic models, this modelization holds limits as it was obtained using only two identical biofilters holding the same type of packing-bed material. To further enhance the precision of the model, same experiments should be realized using the same method on different biofilters.

This information holds many advantages on a practical aspect. For industrial applications, it could help define security and operation limits of use, as well as safety protocols to deal with unwanted perturbations.

The biofilter can be modeled from a first-order linear system. It supports the thesis that a biofilter act as a depth filter for bioaerosols, also indicates that physical aspects are preponderant, the emission of micro-organisms from biofilm are in the minority

### *3.1. Consequences on the diversity inside biofilter's outlet*

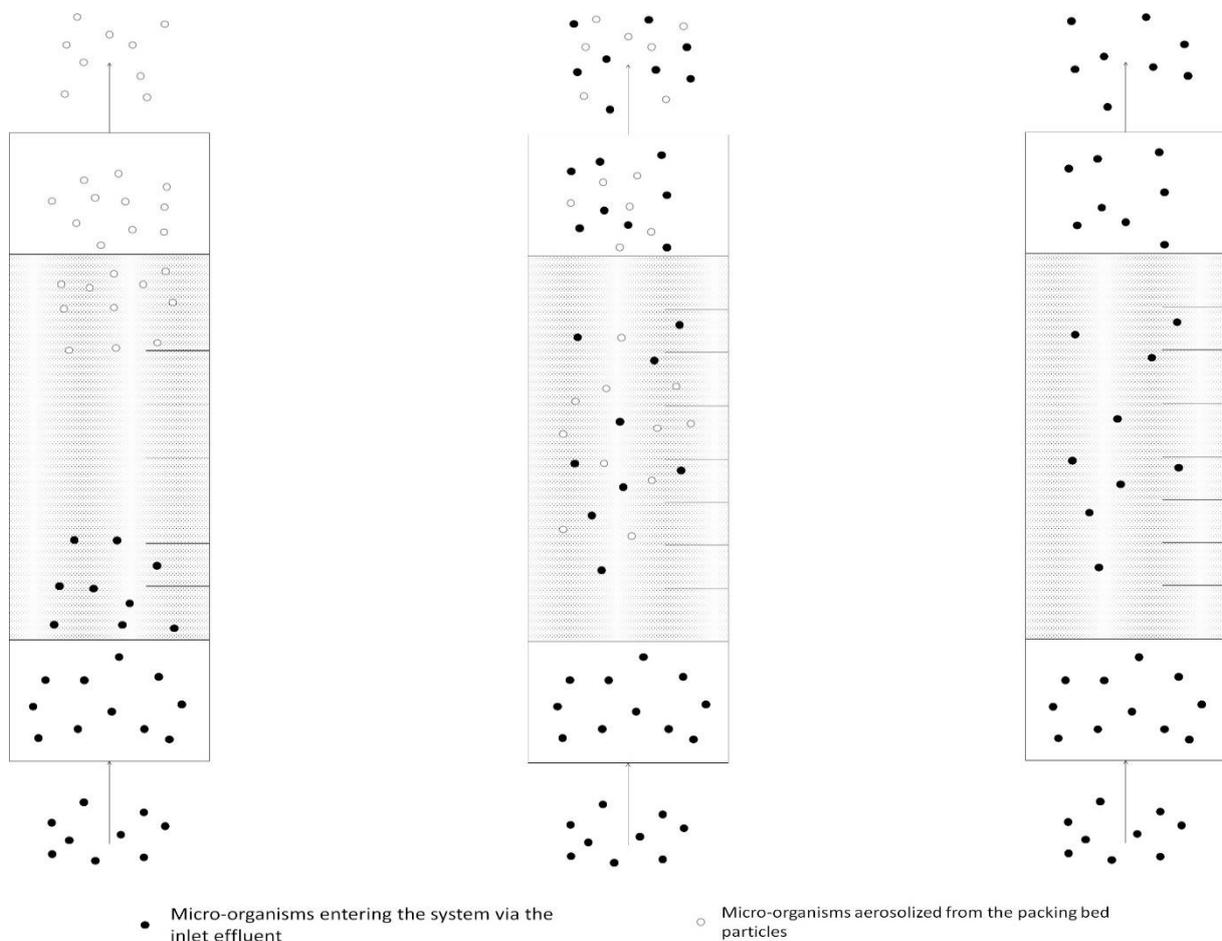
#### *3.1.1. Different possible phenomena inside the biofilter*

From a systemic point of view, micro-organisms exiting the biofilter via the outlet effluent can only come from two sources: either they enter the system through the inlet effluent or they come from the packing bed material via aerosolization. A certain number of difficulties are associated to the aerosolization of micro-organisms from the packing bed.

The major one is that, literature-wise, the micro-organisms present in the treated air are often known, while the ones present on the packing bed and exiting via aerosolization are often not. Some studies investigated the outlet diversity (Haumacher, Philipp and Böhm, 2005; Schlegelmilch *et al.*, 2005; Ho *et al.*, 2008; Tymczyna *et al.*, 2011; Esquivel-Gonzalez *et al.*, 2017). But even with important removal capacities of biofilters concentration-wise, little is known to the health hazards associated with those packing bed micro-organisms, which could be important even at low concentration.

The previous experiments on biofilters' behavior toward a gas velocity perturbation actually give insight on the subject. The two bioaerosol sources (inlet and packing bed) induce the existence of 3 behaviors (Figure 37). By generalizing at maximum, biofilters' behavior toward bioaerosols could be based on 2 discontinuous phenomena, 2 continuous phenomena or 1 continuous phenomenon.

In the 2 discontinuous phenomena system, all the inlet VP are captured on the packing bed through the impaction phenomenon. At the same time, the emission phenomenon exclusively governs the outlet VP concentration and diversity, resulting in the outlet diversity being composed only of micro-organisms aerosolized from the packing bed. To assure the steady state behavior, the emission rate must thus be equal to lower than microbial growth rate on the packing bed. The 2 phenomena thus don't influence each other's. The impaction phenomenon remained velocity-based while the emission phenomenon remains specie-based.



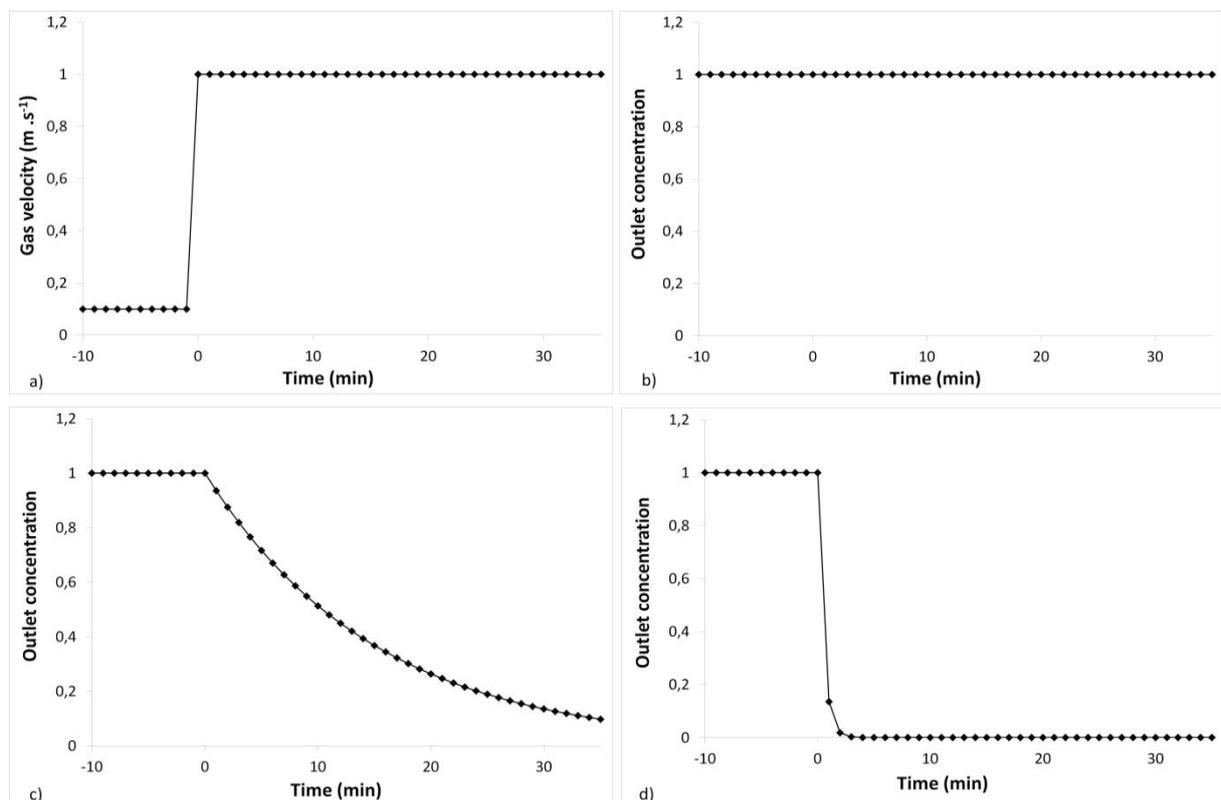
**Figure 37. Different possibilities for the phenomena inside biofilters. Left: 2 discontinuous phenomena. Middle: 2 continuous phenomena. Right: 1 continuous phenomenon.**

In the 2 continuous phenomena system, the inlet VP are either captured on the packing bed or able to cross the biofilter to reach the outlet. At the same time, micro-organisms are emitted from the packing bed through the emission phenomenon.

The outlet diversity is thus composed of both inlet micro-organisms that have crossed the biofilter and micro-organisms aerosolized from the packing bed. Since (Ottengraf and Konings, 1991), biofilters were thought to be of this type for micro-organisms removal/emissions. In the 1 phenomenon system, the outlet VP concentration and diversity are governed exclusively by the impaction phenomenon. The inlet VP are thus either captured on the packing bed or cross the biofilter, and the outlet is entirely composed of them. No micro-organisms are emitted from the packing bed particles.

### 3.1.2. Response of the different systems to a gas velocity perturbation

The three theoretical systems won't have the same response to a gas velocity perturbation (Figure 38). In the 2 discontinuous phenomena system, the outlet microbial composition is not affected by gas velocity changes.



**Figure 38. Response toward a gas velocity perturbation of the previous three theoretical systems. a) Theoretical gas velocity perturbation (increase). t = 0 correspond to the moment of the perturbation. b) Response of the 2 discontinuous phenomena system. c) Response to the 2 continuous phenomena system. d) Response of the 1 continuous phenomenon system.**

The emission phenomenon is velocity-independent and its rate is determined by specie factors (affinity with the media, the pollutant, etc.). Hence the outlet concentration won't be affected by the perturbation and will remain at the same level. In the 2 continuous phenomena system, a delay would occur and the outlet concentration would gradually reach its new level after a certain period of time. This delay is either due to the re-aerosolization of the impacted micro-organisms (unfitted for the environment), or aerosolization of micro-organisms already present on the packing bed.

This re-aerosolization is governed by transfer phenomena (diffusion in liquid phase to reach the interface, transfer from liquid to gaseous phase, affinity to liquid or gaseous environment, etc) which are mainly specie-based. In a modelization of black-box type, those transfer phenomena transcript in mathematical terms delaying the answer of the system to a perturbation. The outlet concentration then reaches its new level only gradually.

In the 1 continuous phenomenon system, the response of the biofilter is entirely physic-based through the impaction phenomenon. The outlet concentration would immediately adapt to the perturbation as no transfer phenomenon would delay the adaptation. The outlet diversity would be composed only of inlet VP in different proportion as the impaction phenomenon is size-based, the smaller particles would more easily cross the biofilter.

### 3.1.3. Investigation of the inlet and outlet microbial diversity

To study the validity of previous conclusions, the diversity of the biofilter emissions was investigated via a phenotype study of the inlet and outlet bioaerosols. The goal was to determine if micro-organisms non-present in the inlet airflow could be found in the outlet one, indicating their aerosolization from the packing bed material. The results of the samplings are presented in (Table 4).

For the total flora, the results showed 15 different phenotypes (description not included) with an inlet concentration ranging from 1 UFC .m<sup>-3</sup> for phenotype 5 to 145 UFC .m<sup>-3</sup> for phenotype 2. The concentrations of all the phenotypes were effectively reduced in the outlet effluent, with a RE ranging from 57 to 100%. The total inlet and outlet concentrations were of 407 UFC .m<sup>-3</sup> and 32 UFC .m<sup>-3</sup> respectively, resulting in a total RE of 92%. Those numbers are in agreements with previous results.

For the total fungal flora, 11 different phenotypes were found, with an inlet concentration ranging from 2 UFC .m<sup>-3</sup> for phenotype 10 to 143 UFC .m<sup>-3</sup> for phenotype 2. As for the total flora, all the phenotypes' concentrations were reduced in the outlet with a RE between 25 and 100%. The total inlet concentration was of 328 UFC .m<sup>-3</sup>, the total outlet concentration of 26 UFC .m<sup>-3</sup> and the total RE of also 92%. Those numbers are high, especially for the RE, but still in agreement with previous results (cf. 3.1.4. Measurement of viable particles).

They show that each phenotype is associated with its own RE which could be explained by differences in aerodynamic diameter between these groups. The biofilter performed remarkably well to reduce the concentrations, as for total flora only one RE is under 70% and for total fungi, only 2 while the rest were close to 100%. The most important result is that none non-present phenotype in the inlet effluent was found in the outlet effluent. The outlet composition in microbial species was the same as the inlet's one, efficiently showing that no "packing-bed only" micro-organisms were aerosolized from inside the biofilter.

**Table 4. Inlet and outlet concentrations of bioaerosols classified by phenotypes, and associated RE.**

Phenotype	Total flora			Phenotype	Total Fungi		
	Inlet concentration (UFC .m <sup>-3</sup> )	Outlet concentration (UFC .m <sup>-3</sup> )	RE bioaerosol (%)		Inlet concentration (UFC .m <sup>-3</sup> )	Outlet concentration (UFC .m <sup>-3</sup> )	RE bioaerosol (%)
A1	31,25	1	97	B1	4	0	100
A2	145	4	97	A2	143	8	94
A3	13,75	2	85	A3	32	7	78
A4	3,75	1	73	B4	45	1	98
A5	1,25	0	100	B5	26	0	100
A6	48,75	5	90	A6	13	0	100
A7	17,5	1	94	B7	44	1	98
A8	8,75	0	100	B8	9	5	44
A9	18,75	8	57	B9	6	1	83
A10	12,5	2	84	B10	2	0	100
A11	11,25	0	100	B11	4	3	25
A12	58,75	2	97				
A13	6,25	0	100				
A14	8,75	1	89				
A15	21,25	5	76				
<b>Total</b>	<b>407.5</b>	<b>32</b>	<b>92</b>	<b>Total</b>	<b>328</b>	<b>26</b>	<b>92</b>

The studies that investigated the diversity of biofilters' outlet effluent presented their results either in total count (UFC or cells .m<sup>-3</sup>) or in proportion (%). Concerning the Total Count, (Haumacher, Philipp and Böhm, 2005) and (Schlegelmilch *et al.*, 2005) showed a reduction of the total count of mesophilic bacteria, aerobic spore-forming bacteria, thermophilic *Actinomycetes*, thermophilic bacteria, mesophilic fungi, thermophilic fungi and *Aspergillus fumigatus* between the inlet and the outlet.

However, these results don't give precise information on whether the outlet's micro-organism comes from the inlet or are aerosolized from the packing-bed. (Tymczyna *et al.*, 2011) used different media to target different microbial genus. In function of the medium the results are opposite, highlighting the impact and emission phenomena. The proportions of the different species' groups composing the inlet and outlet effluents were also shown as results in different studies (Ho *et al.*, 2008; Esquivel-Gonzalez *et al.*, 2017). Those proportions differed between the inlet and the outlet, some groups becoming more present and others less. However, these differences could be more logically explained by different removal efficiencies associated to the different groups than by aerosolization of micro-organisms from the packing bed. As view previously, the RE is majorly governed by the impaction phenomenon, which is size-dependent. A group with a larger aerodynamic diameter associated to a RE of 80% could be less preponderant in the outlet than a group with a lower diameter associated to a RE of 30%, thus changing the proportions.

As shown, the literature offers no precise information the flow rate of aerosolization of micro-organisms from the packing bed. However, more hints exist showing that the microbial community in the outlet seems to be determined by the one in the inlet in majority, with little to no additions of micro-organisms from the packing bed, meaning that the impaction phenomenon is preponderant over the emission mechanism.

This study's results essentially suggest that biofilters are 1 continuous phenomenon systems for VP removal through the impaction phenomenon. This would also hint that biofilters are only seldomly subjected to packing bed aerosolization, following the literature's conclusions. These results were however obtained using culture-based microbiology methods, and thus can only represent the viable and cultivable (which represent only 0.1 to 10% of the total microbial flora (Amann, Ludwig and Schleifer, 1995)).

The microbial community should be studied using molecular techniques like high throughput sequencing. This technique should allow to detect and to identify at the genus level of a much more microorganisms.

#### **4. Conclusion**

This study was able to bring new insight on the influence of gas velocity on the removal capacities of biofilters, as well as their behavior toward a gas velocity perturbation. The first part of the study demonstrated that biofilters holds no resistance, resilience nor robustness toward a gas velocity modification, but rather show an adaptive behavior, reaching quickly a new stationary state and staying at it seemingly forever.

For both velocities tested, the  $RE_{vp}$  level of the tested biofilter jumped from around 60% to around 90%, demonstrating the positive influence of gas velocity on the removal capacities. This approach also permitted to analyze the previous model proposed by (Ottengraf and Konings, 1991) and proposed critics on their conclusions.

The second part of this work demonstrated the instantaneous adaptive behavior of biofilters toward gas velocity perturbations. It also indicated that biofilters could be considered as a first order linear system governed by mathematical expressions, and opened the possibility of black box type modelization of the answer of the system to a perturbation. For gas velocity perturbation, a model was obtained which is able to estimate the post-perturbation stationary state as well as the kinetic of the adaptive behavior while only knowing pre-perturbation parameters. This works could provide guidance for industrial operations as well as scientific studies, and the method could be replicated to study biofilters' answer to other type of perturbation. It thus would be possible at term to calculate in advance the answer of the biofilters to any perturbations, thus facilitating the establishment of safety protocols for example. It is to be pointed out though that more researches are needed, especially on different biofilters with different packing-bed materials, to validate this model for any biofilter.

From these results, it can be estimated that the higher the gas velocity is, the higher the  $RE_{vp}$ . This highlight the opposition between the best conditions for bioaerosols removal and for pollutant removal, as already highlighted by (Fletcher *et al.*, 2014). In pollutant focused operation, the lesser the gas velocity is, the greater the pollutant removal efficiency.

This could mean that if bioaerosols removal also becomes a focus, a compromise and balance should be reached in order to maximize both the pollutant and bioaerosol removal efficiency but with the inability to reach the highest possible level for each.

From a systematic point of view, these results also indicate that the biofilter is a 1 continuous phenomenon system and that the micro-organisms found in the outlet came only from the inlet, with little to no aerosolization of micro-organisms from the packing bed. The microbial diversity in both the biofilter inlet and outlet's effluents was investigated through a phenotype study, which confirmed previous statement. The results showed that the outlet's diversity was equal to the inlet one, with greatly reduced concentrations. This could indicate that the biofilter itself do not add packing-bed's micro-organisms to the outlet effluent and that the dangerousness of biofilters' emissions is at maximum equal to the treated air's one.

# Removal capacities of biofilters for airborne viable particles: response to gas velocity impulse and concentration augmentation.

Rémi Soret <sup>1</sup>, Jean-Louis Fanlo <sup>1</sup>, Luc Malhautier <sup>1</sup>, Phillipe Geiger <sup>2</sup> and Sandrine Bayle <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institut Mines Télécom - Ecole des Mines d'Alès; remi.soret@mines-ales.fr, sandrine.bayle@mines-ales.fr, luc.malhautier@mines-ales.fr, jean-louis.fanlo@mines-ales.fr.

<sup>2</sup> CMI Europe-Environnement.

Corresponding author: [Sandrine.bayle@mines-ales.fr](mailto:Sandrine.bayle@mines-ales.fr)

**Abstract:** Interrogations emerged on biofilters utilization about the possible aerosolization of micro-organisms from the packing bed to the surrounding air. Previous works have determined that biofilters possess removal capacities for airborne viable particles (VP) in steady state. To further investigate, this work focused on the study of the transitory state, through two perturbations: gas velocity impulses and the augmentation of the viable particle concentration. The gas velocity impulses showed the adaptive behavior of the biofilter toward the perturbation: the outlet viable particle concentration followed the impulses instantly before going back to stationary state. From these data, a new model describing the response of the system to such perturbations was created using a black box type modelization. The model fits the data with 95% similarity and reinforces the idea that biofilters acts as linear first order system, as well as confirm their adaptive behavior toward physical perturbations. The augmentation of the viable particle concentration showed a longer adaptation time, but globally followed an augmentation trend before stabilizing in a new stationary state. A model was established using the same methodology as before to describe the response. The model accurately predicts the adaptation time needed for the system and can give good estimation of the future stationary state. This conclusion confirms the biofilter as a 1<sup>st</sup> order linear system, which offers important industrial meanings.

**Keywords:** Biofiltration; Bioaerosols; BioTrack; Fluorescence; Operating Parameters, Gas Velocity, Modelization.

## 1. Introduction

Biofilters are part of the best available techniques for treating gaseous stream with high flow rate at low concentration of pollutants (European IPPC Bureau, 2006; Brinkmann *et al.*, 2016). As so, their implementation on multiple types of industries (petrochemical, paper industries, chemical industries ...) as well as in the waste treatment sectors increased exponentially over the recent years (Fanlo, 2005). Along with this development emerged new interrogations regarding the possible health issues associated with biofiltration (Ottengraf and Konings, 1991; Sanchez-Monedero, Stentiford and Mondini, 2003; Fletcher *et al.*, 2014), especially concerning the possible aerosolization of micro-organisms from the packing bed to the atmosphere.

Different authors investigated these issues and demonstrated the removal capacities of biofilters for bioaerosols using culture-based techniques (Seedorf & Hartung 1999; Martens *et al.* 2001; Seedorf & Hartung 2002; Sanchez-Monedero *et al.* 2003; Schlegelmilch *et al.* 2005; Haumacher *et al.* 2005; Chmielowiec-Korzeniowska *et al.* 2007; Zhao *et al.* 2010; Tymczyna *et al.* 2011) or or non-culture based techniques (Ho *et al.* 2008; Esquivel-Gonzalez *et al.* 2017; Soret *et al.* 2018). These results indicated that biofilters seems to act as depth filters for airborne micro-organisms. However, these results are empirical: the Removal Efficiency represents an observation of the inlet and outlet concentrations through a chosen amount of time. The observed biofilter's compartment is estimated to continue given the operating conditions doesn't change. As so, the study of the stationnary state which results in the calculation of the  $RE_{vp}$  doesn't hold any characterisation values for the phenomena happening inside the biofilter and resulting in the bioaerosol removal. The biofilter remains a black-box which only the inlet and outlet variable are observable. One way to learn more about these inside phenomena is to determine the mathematical equation linking the inlet and outlet variables through a kinetic study.

Previous work (cf. Chap 4. : partie 1) have found that the biofilter has good chances to perform as a reactor which reaction can be described by the following mass balance equation:

$$Q_{pi}(t) - kQ_{pi}(t) = Q_{po}(t) + \frac{d Q_{po}(t)}{dt} \quad (\text{Eq. 30})$$

With  $Q_{pi}$  and  $Q_{po}$  the inlet and outlet particles flow (Viable Particles (VP)  $\cdot \text{min}^{-1}$ ), and  $k$  the removal coefficient (dimensionless). The equation was studied under a transitory state induced by gas velocity augmentations / diminutions, and a modelization confirmed the robustness of the equation under such state.

Conditions in industrial applications are rarely stable and often fluctuate, which leads process to operate regularly under transitory state (Kraakman, 2003). Concerning air treatment process, one of the major parameters that could lead to transitory state is the gas velocity. These changes in operating conditions can take place in the form of impulses. The transitory state induced by these impulses could be different from the one by the augmentations. This work will then focus on the effects of such impulses. However, other parameters than gas velocity could disrupt the functioning of biofilters. In biofilters' traditional treatment applications of chemical pollutants, variation of the inlet load also occurs such as during composting air treatment (Kraakman, 2003; Cabrol, 2010). Toward airborne micro-organisms removal, this would correspond to variations of the inlet viable particles concentration (VP concentration), which importantly vary day by day through the year (cf. Chap 3: partie 3). To study the associated transitory state, artificial augmentations of the inlet VP concentration were applied to the biofilters and the process' response was monitored through time.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Experimental set-up and sampling strategy

The experiments were carried on a semi-industrial scale biofiltration pilot unit (Figure 20), which was fully detailed elsewhere (Soret *et al.*, 2018).

The biofiltration column was filled with 1 meter of sawmilled wood chips with an average size of 10 mm. The column was operated in an upward flow mode using a flowrate of  $2 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$  which contains 1 g carbon.  $\text{m}^{-3}$  of VOCs. The inlet stream load was of 360 g of pollutant per cubic meter of packing bed per  $\text{day}^{-1}$  ( $360 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{day}^{-1}$ ). The average pollutant removal efficiency during this study was of 30%.

The emissions of VP from the biofilter were estimated using the sampling points presented in Figure 20 (cf. Chap 3. Partie 1). The sampling points were detailed elsewhere (Soret *et al.*, 2018). the results are expressed as removal efficiency (RE).

## 2.2. Microbiological analysis

The Optical Total and Viable Particles Counter BioTrak® (TSI, Shoreview, USA), have been used. This counter used laser diffraction to measure and counts particles with a diameter greater than 0.5µm. Then used two 405 nm wave length lasers to enable the fluorescence of the NADH, Flavin and tryptophan molecules associated with viability to discriminate and count the VP in the sampled air. During this work, measurement cycle was composed of 1 min of sampling followed by 20 seconds of pause. The inlet VP concentration has been measured in the inlet effluent at the beginning and the end of the experiment to obtain the pre and post-experiment level. Before each perturbation, the outlet concentration was measured for 1 hour to monitor the steady state. After the concentration augmentation, the outlet concentration was monitored for 30 minutes. After the gas velocity impulse, it was followed for 3 hours (the results will present only 1 hours and 1h30 of monitoring to center the graphs around the perturbation for readability).

## 2.3. Experimental design:

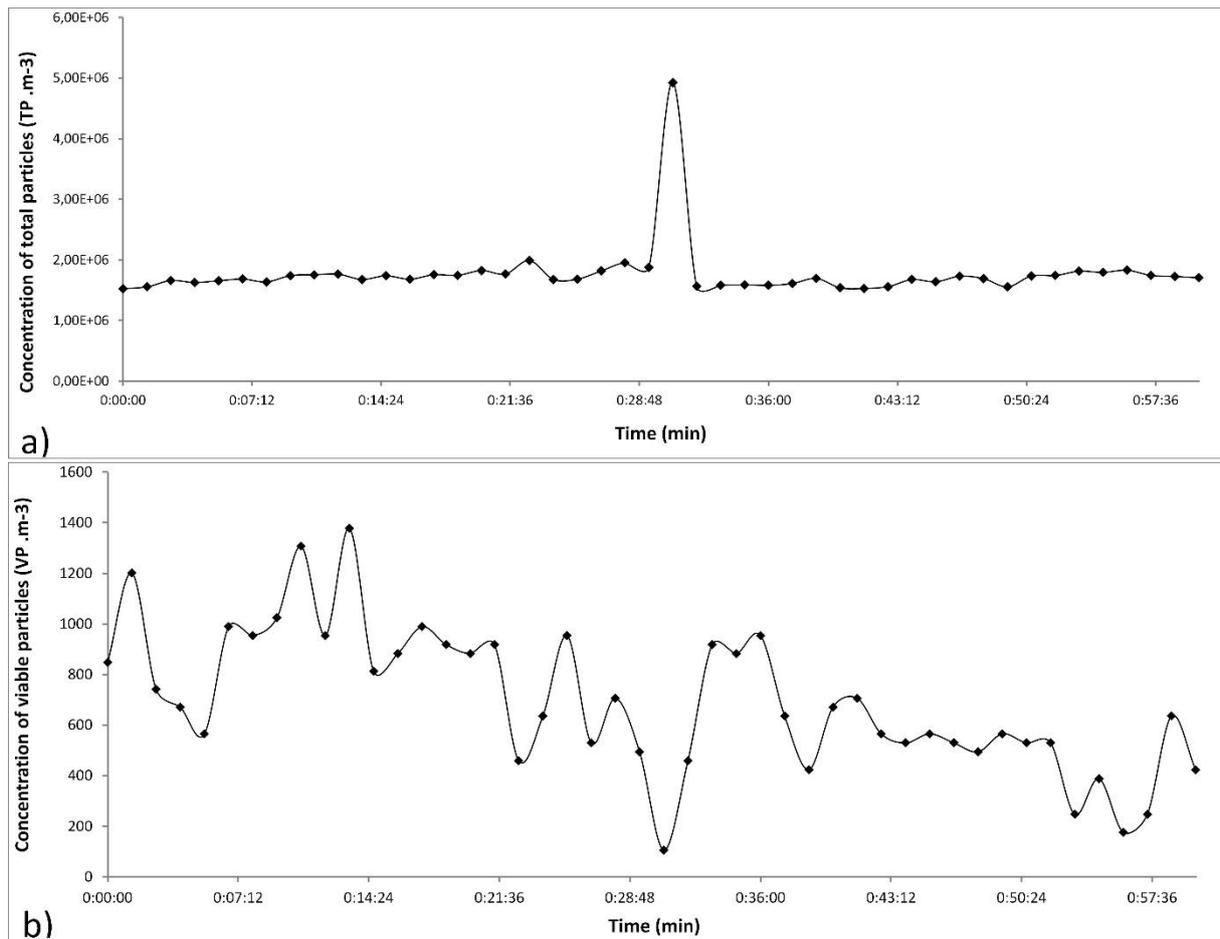
### 2.3.1. Gas velocity impulses

Positive impulses corresponded to a gas velocity augmentation from 30 m .h<sup>-1</sup> to 100 m .h<sup>-1</sup> during 1 min. Negative impulses corresponded to the gas velocity stoppage (30 -> 0 m .h<sup>-1</sup>) for 1 min.

The flow was then re-opened for the gas velocity to reach back to 30 m .h<sup>-1</sup> in a controlled way (using a rotameter fixed at 2 m<sup>3</sup>.h<sup>-1</sup> which correspond to a gas velocity of 30 m .h<sup>-1</sup>).

### 2.3.2. Viable particle concentrations augmentation

The inlet VP concentration was increased using more concentrated outside air at the moment of the perturbation. This new concentration was measured about 30 minutes after the perturbation to compare it with the pre-perturbation inlet concentration.



**Figure 39. Biofilter response through time to positive gas velocity impulses (centered around the perturbation). a) Variation of the outlet TP concentration. b) Variation of the outlet VP concentration.**

### 3. Results and discussion

#### 3.1. System response to gas velocity impulses

##### 3.1.1. Positive impulses

Positive gas velocity impulses were imposed on the system to further study the transitory state of biofilters toward bioaerosols removal. The results of the positive gas velocity impulses are presented in Figure 39 and concern both the total particles (TP) and the VP (centered on the perturbation).

For total particles (TP), the curve was similar (Figure 39a) with a sudden emission of particles at the time of the disturbance, then the particle level returns over a short period to its initial level. The outlet mean concentration pre and post perturbation was of  $(1.7 \pm 0.1) \times 10^6$  TP  $\cdot m^{-3}$ . The perturbations affected the TP concentration. During the impulse, the concentration went from  $1.9 \times 10^6$  TP  $\cdot m^{-3}$  to  $4.9 \times 10^6$  TP  $\cdot m^{-3}$ , which represented an augmentation of 262% of the value, and return to  $1.6 \times 10^6$  TP  $\cdot m^{-3}$  in a response time  $t_r \approx 1$  min 20 sec. The phenomenon is transitory and the response to the variation is rapid, highlighting the resilience of the system and its immediate adaptation capacities. As so, no kinetic and lasting effects of the perturbation through time were apparent.

Previous works (cf. Chap 3 : partie 2) have demonstrated that the majority of the TP emissions during steady state with the humidification tower working consist of water droplets with diameter ranging from 0.1 to 1  $\mu m$  in diameter. This could explain the immediate aspect of the adaptation and the linear relation between the TP concentration and the gas velocity. For the VP concentration, the curve showed a high variability which was consistent with previous results (cf. Chap. 3 : partie 3). The outlet mean concentration pre and post perturbation was of  $698 \pm 272$  VP  $\cdot m^{-3}$  which represented a variation of 39%. The perturbation effects on the VP were less visible due to the variability of the concentration, but still present. The curve suffered a drop at  $t = 0$  the moment of the perturbation, to reach a value around 0.

Previous work demonstrated that increasing the gas velocity inside the biofilter induced a diminution of the VP concentration (cf. Chap. 4 : partie 1). During the experiment, the concentration dropped from the mean concentration of 698 VP  $\cdot m^{-3}$  to 106 VP  $\cdot m^{-3}$  in 1 min 20 seconds, which represented a loss of 85% of the value.

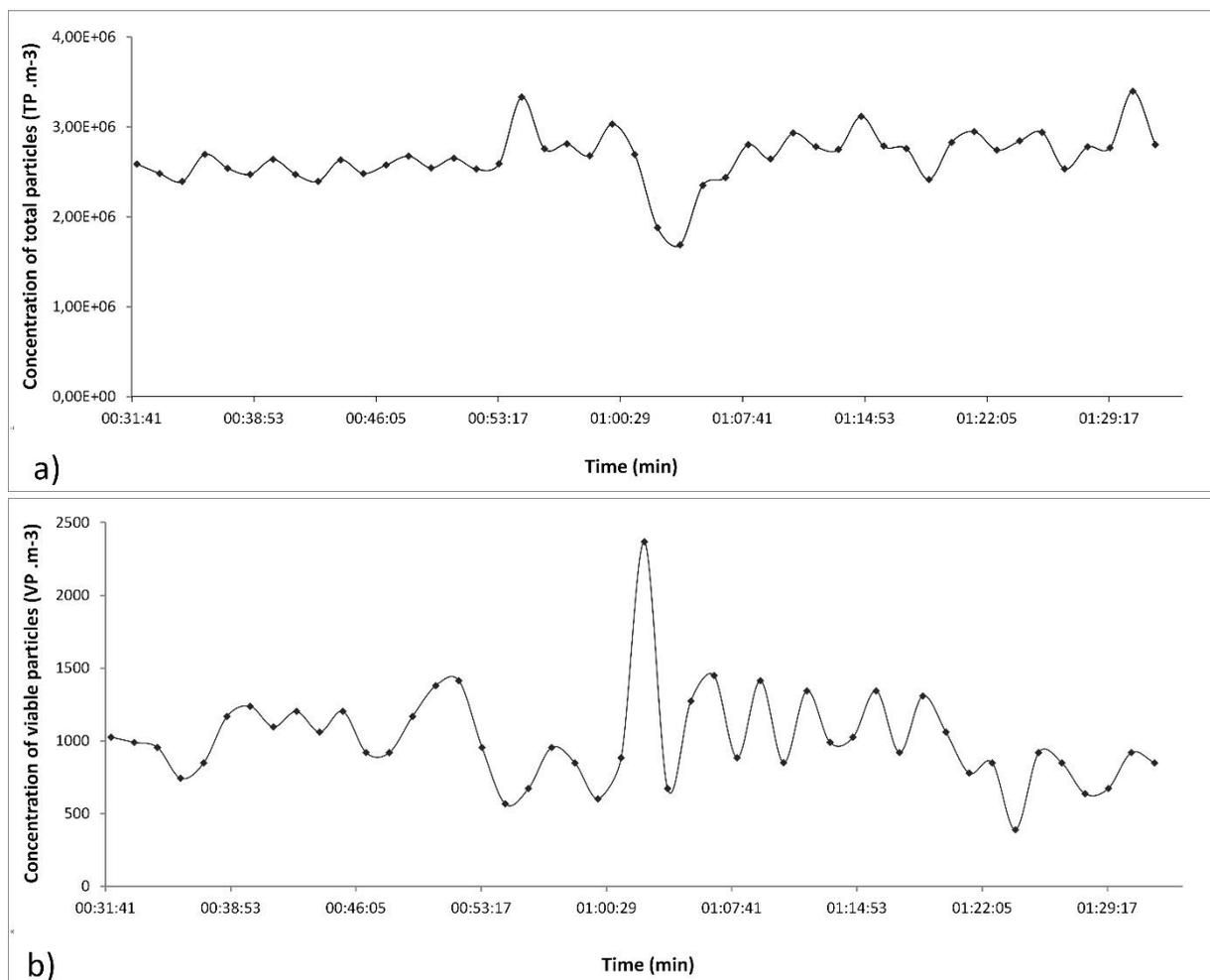
After 1 min 20 sec, the concentration went back to a value of 459 VP  $\cdot m^{-3}$  allowing to estimate the  $t_r$  as being equal or inferior to 1 min 20 sec. The immediate response of the system to gas velocity modifications is highlighted. Instant adaptation of the process to the operating parameter pulses, enhancing the linear link between the VP concentration and the gas velocity.

From those data, it appeared that the TP and VP concentrations were affected by the perturbation. The immediate adaptation of the system to the new gas velocity demonstrated that biofilters hold little to no transitory state for both VP and TP emissions ( $t_r$  equal or similar to the time of measurement). No lasting effects of the perturbation on the stationary state behavior were visible.

### 3.2.3. Negative impulses

To complete previous results, the biofilter was also subjected to negative gas velocity impulses (Figure 40).

For TP, the curve was stable through time before and after the perturbation. It showed a sudden drop in the emitted TP concentration at the moment of the perturbation but then returned to previous level rapidly. The outlet mean concentration pre and post perturbation was of  $(2.70 \pm 0.27) \times 10^6$  TP .m<sup>-3</sup>.



**Figure 40. Biofilter response through time to negative gas velocity impulse (centered around the perturbation). a) Variation of the outlet TP concentration. b) Variation of the outlet VP concentration.**

For the VP, the curve once again showed an important variability but still highlighted the effects of the perturbation. The outlet mean concentration pre and post perturbation was of  $980 \pm 250$  VP .m<sup>-3</sup> which represented a variation of 26%.

The same way than for positive impulses, both concentrations were affected by the perturbation in a similar though opposed manner. The TP concentration suffered a drop of 30% of the value at the moment of the perturbation. The curve reached its lowest point in 2 min 40 sec, then returned to previous level with a  $t_r = 1$  min 20 sec. It then remained at this level for the rest of the experiment.

The effects of the perturbation on the VP concentration were more pronounced, even when accounting the variability of the concentration. A clear and punctual concentration peak could be observed at the moment of the perturbations. At the moment of the perturbation, the concentration increased from the mean value of 980 VP .m<sup>-3</sup> to 2368 VP .m<sup>-3</sup> (240% increasement) in only 1 min 20 sec, then went back to previous level in the same time ( $t_r$  estimated as 1 min 20 sec).

In the continuity to the previous experiment, these data showed the immediate response and adaptation of the system toward the gas velocity perturbation. Once again, this suggested the inexistence of a transitory state, the adaptive behavior and the great robustness and resilience of the system toward the perturbations for both types (positive and negative).

These findings support previous results who determined that the biofilter acts as a linear first order system toward VP emissions, while enlarging it to the TP also (cf. Chap. 4 : partie 1). In our condition, the occurrence of brief velocity changes (positive or negative) does not seem to lead to any change in particle emissions in the long term, indicating that the two types of perturbation had little to no lasting effects.

This result could bear importance for industrial uses. Martinon, 1991 demonstrated the existence of a particles stall in industrial particles filter when the gas velocity was stopped then reignite, thus a lasting kinetic effect of a negative impulse (Martinon, 1991). Under a similar perturbation (negative impulse), the TP concentration emitted from the biofilter decreased before immediately returning to stationary state's level (no lasting effects).

The VP concentration increased though, but due to the gas velocity diminution and returned to stationary state immediately after (no lasting effects). The biofilter thus seems to possess the qualities of a depth filters for VP, while not having this particular drawback (affected by negative impulse).

#### 3.2.4. Opposition TP / VP and positive / negative impulses

An interesting opposition between the TP and VP particles concentration, during positive and negative impulses, emerged from previous results (Table 5).

**Table 5. Sum up of the particle concentrations behaviors during the perturbation, for positive and negative impulses.**

	TP concentration	VP concentration
<b>Positive impulse</b>	↗	↘
<b>Negative impulse</b>	↘	↗

During the positive impulse, the TP concentration increased at the moment of the perturbation while the VP concentration decreased. During the negative impulse, the opposite was true: the TP concentration decreased while the VP increased.

On one hand, previous work has determined that the majority of the TP emitted from biofilters during stationary state were micro-droplets of water ranging from 0.5 to 1  $\mu\text{m}$  of diameter in average (cf. Chap. 3: partie 2). It's then possible that the link between the gas velocity and the TP concentration comes from the emission of water droplets from the biofilm. The more important is the gas velocity, the more important are the shear forces of the air on the biofilm's water and so the more important is the pullout. This could explain why the TP concentration increases when the velocity increase, and vice-versa. On the other hand, previous work has indicated that the major mechanism governing the capture of VP in biofilters seems to be the impaction phenomenon (cf. Chap. 3: part 2).

This impaction phenomenon is also linked to the gas velocity: when the velocity increase, the impaction increase (cf. Chap 4: partie 1). This would explain why the VP concentration decreases when the velocity increases.

Those phenomena offer a reasonable explanation on why the behavior of the TP and VP concentrations are opposed during the impulses.

### 3.3. Mathematical modelization of the system response toward gas velocity impulse

The mass balance equation characterizing the transformation happening inside the biofilter toward bioaerosols removal (Eq. 30) has been used to modelize the answer of the biofilter to the gas velocity impulses. To adapt the model, the firsts steps are the same than in previous work (cf. Chap 4.: partie 1) up until the transfer function:

$$\frac{\widehat{Q_{po}(s)}}{\widehat{Q_{pi}(s)}} = \frac{1}{\tau + \tau s} \quad (\text{Eq. 31})$$

With  $Q_{pi}$  the inlet viable particle flow (VP .m<sup>-3</sup>) and  $Q_{po}$  the outlet viable particle flow (VP .m<sup>-3</sup>). The same as for gas velocity augmentation, a corrective factor of (-  $\tau^2$ ) must be applied for the model to fit the experimental data. The transfer function thus becomes:

$$\frac{\widehat{Q_{po}(s)}}{\widehat{Q_{pi}(s)}} = -\tau \frac{1}{1+s} \quad (\text{Eq. 32})$$

The perturbation consists in a Dirac impulse with an intensity of A, and is represented by the equation:

$$\widehat{Q_{pi}(s)} = A \quad (\text{Eq. 33})$$

With A the gain in viable particle concentrations (VP .m<sup>-3</sup>). The model equation thus becomes:

$$\widehat{Q_{po}(s)} = -A \tau \frac{1}{1+s} \quad (\text{Eq. 34})$$

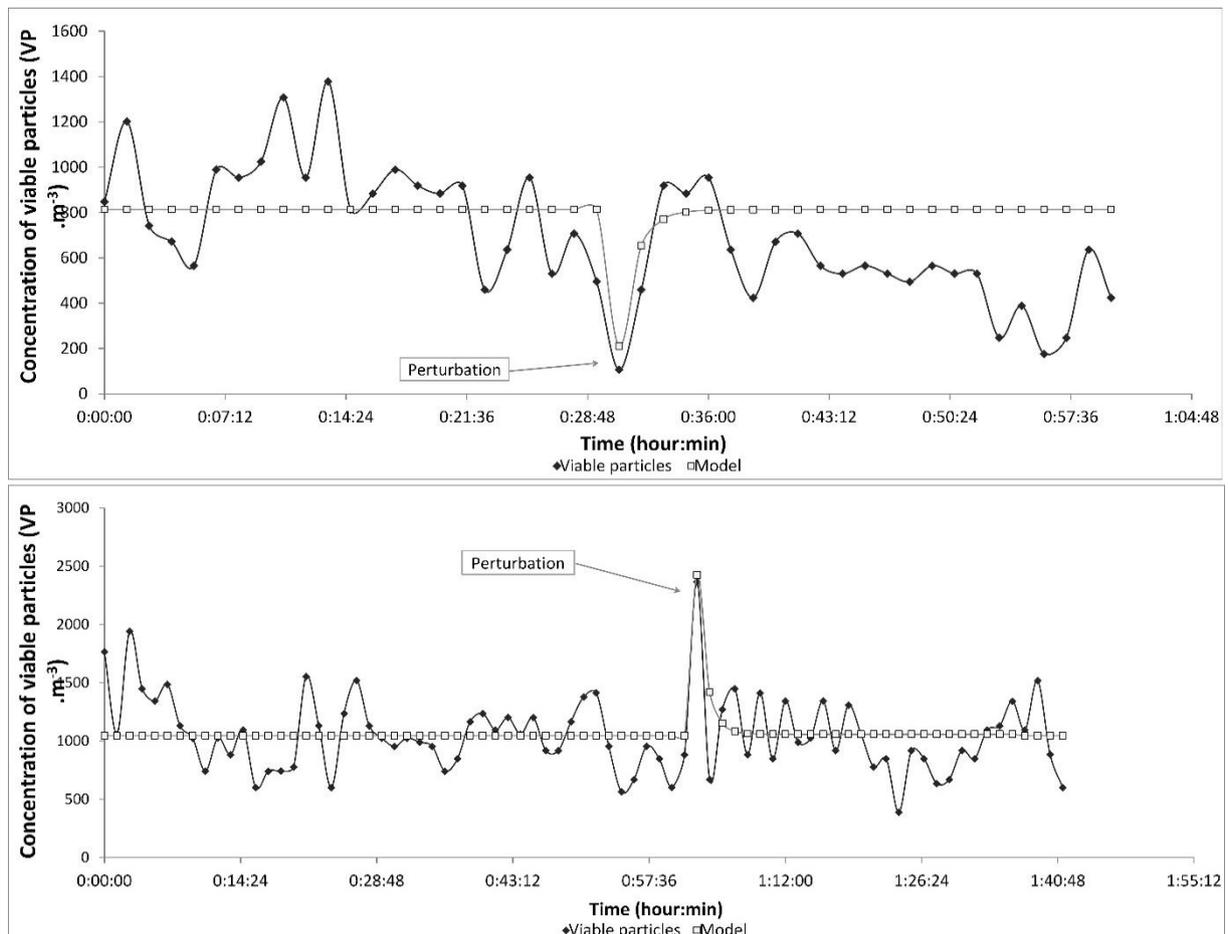
By applying the reversed Laplace Transform and coming back to normal variables, as well as coming back to particles concentrations, the equation becomes:

$$C_o(t) = \left( \frac{-1}{Q_v(0)} \right) \left( \frac{A}{1-k(0)} \right) (e^{-t}) + C_o(0) \quad (\text{Eq. 35})$$

With  $Q_v(0)$  the volumetric flow at steady state,  $k(0)$  the removal efficiency factor ( $RE_{vp}/100$ ) at steady state and  $C_o$  the outlet VP concentration ( $VP \cdot m^{-3}$ ).

For the positive impulse, the model estimated the lowest point of the drop at 201  $VP \cdot m^{-3}$  for an experimental concentration of 106  $VP \cdot m^{-3}$  (50% similarity) (Figure 41).

For the negative impulse, the model estimated a peak at 2426  $VP \cdot m^{-3}$  for an experimental concentration of 2368  $VP \cdot m^{-3}$  which represented a similarity of 98%. The model generally fitted the experimental data and represented the effect of the perturbations well, both on the positives and negative impulses.

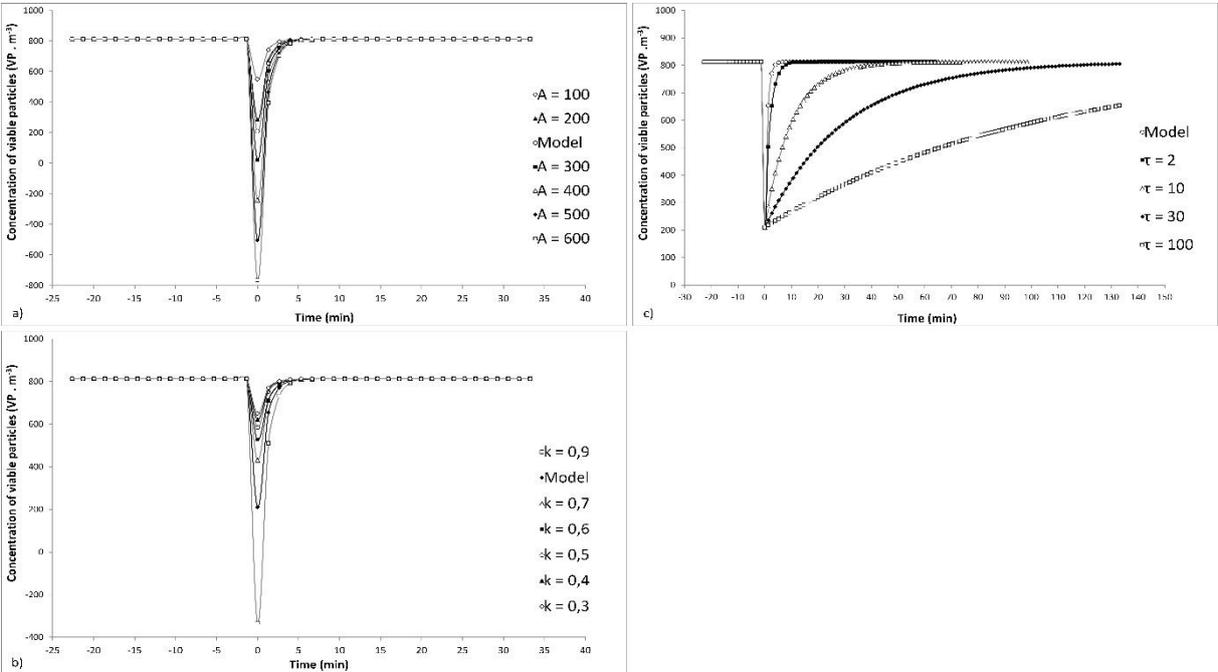


**Figure 41. Outlet VP concentrations through time before and after the velocity impulses. The gray curves represent the model and are obtained using Eq. 35. a) Response positive impulse. b) Response to the negative impulse.**

Both the data and the model possessed equivalent  $t_r$  of around 2 min, which highlighted the immediate adaptation of the system. Globally, the model is able to represent the response of the biofilter to gas velocity impulses. Many conclusions are possible on these observations.

The first one is that the biofilter behavior toward velocity impulses can be accurately represented by first order black box modelling, even though empirical. These results sustain our previous hypothesis that biofilters act as linear first order systems for VP removal (cf. Chap 4.: partie 1). The second is that the model confirms the inexistence of a transitory state for gas velocity modifications.

The third conclusion is that these findings confirm the impaction phenomenon put in evidence by previous work ((Ottengraf and Konings, 1991); (Soret *et al.*, 2018)). The total residence time inside the pilot unit, from the fan aspiration to the outlet of the biofilter, was evaluated to  $t_s = 4:30$  min. In each experiment, the concentration increased and decreased back to the stationary state, within a time shorter than the  $t_s$ . The instantaneous aspects of the biofilter’s adaptation tended to attribute them to the physical impaction phenomenon. Those results also showed that biofilters possess a predictable compartment toward their removal capacities for VP, which present an interest for industrial uses.



**Figure 42. Variation of different parameters for the previous model. a) Variations of the gain A. b) Variations  $RE_{vp}$  k. c) Variation of the time constant  $\tau$ .**

### 3.4. Variation on the model and validation

The general equation of the previous model could be expressed as:

$$C_o(t) = \left(\frac{-1}{Q_v(0)}\right) \left(\frac{A}{1-k}\right) \left(e^{-\frac{t}{\tau}}\right) + C_o(0) \quad (\text{Eq. 36})$$

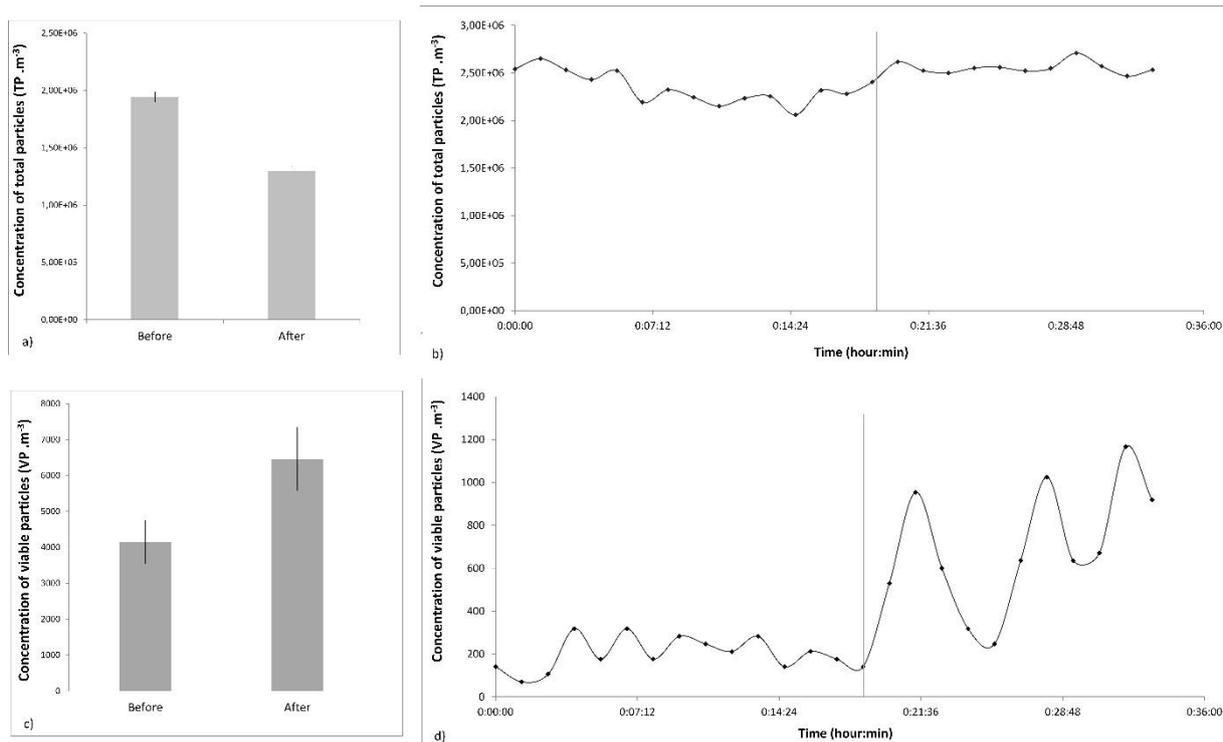
$\tau$  corresponds to the time constant (no units). From the experimental data, the values used for the previous model were  $A = 229 \text{ VP} \cdot \text{m}^{-3}$ ,  $k = 0.81$  and  $\tau = 1$ . In order to validate the model, variations on the different parameters (the static gain  $A$ , the  $RE_{vp}$  parameter  $k$  and the time constant  $\tau$ ) were performed. The results are presented in Figure 42.

The parameters greatly influence the shape of the model, and thus its representativeness of the experimental data. Both the parameters  $A$  and  $k$  influence the intensity of the drop. The parameter  $A$  linearly increase the intensity of the drop, the outlet concentration reaching a minimum of  $-770 \text{ VP} \cdot \text{m}^{-3}$  for a gain  $A = 600 \text{ VP} \cdot \text{m}^{-3}$  (for the gain  $A = 229 \text{ VP} \cdot \text{m}^{-3}$  it reached  $210 \text{ VP} \cdot \text{m}^{-3}$ ).

The parameter  $k$  however induces an exponential drop of the value, the outlet concentration reaching a minimum of  $-330 \text{ VP} \cdot \text{m}^{-3}$  for  $k = 0.3$ .

Of course, negative emissions would be impossible for the system, which reinforce the idea that these parameters' values are not due to hazard but to the fact that the system is linear and of 1<sup>st</sup> order, thus mathematically modelizable.

The parameter  $\tau$  instead governs the temporal component of the model, and the time needed to reach back pre-perturbation level. For  $\tau = 1$  this time is of 4 min while for  $\tau = 30$  this time increase to 100 min.



**Figure 43. Biofilter response through time to VP concentration augmentation. a) Inlet TP concentration before and after the perturbation. b) Variation of the outlet TP concentration of diameter superior to  $0.5 \mu\text{m}$ . c) Inlet VP concentration before and after the perturbation. d) Variation of the outlet VP concentration of diameter superior to  $0.5 \mu\text{m}$ . Gray bar represents the moment of the perturbation.**

The temporal components governing the adaptation of the system and its response to the perturbation, the conclusions could have drastically changed if the system held a time constant. As shown here, variations on the parameters thus greatly influence the shape of the model, and thus it's similarities with the experimental data. In spite of that, the mathematical modelization determined a time constant  $\tau = 1$  and the experimental data induced perfect values for the gain A and the  $RE_{vp}$  factor k.

All of this led the model to have 98% similarity with the experimental data, further demonstrating that the biofilter's response is not random but rather mathematical with the exact value the experimental data induced to the system.

### 3.1. Augmentation of the viable particles concentration

In order to complete the comprehension of the transitory state of biofilters, the pilot unit was subjected to a VP concentration augmentation, and its response monitored through time. The results are presented in Figure 43.

The perturbation didn't seem to affect the TP concentration, as the curve remained stable through time.

Before the perturbation, the average TP concentration was of  $2.34 \times 10^6 \pm 1.7 \times 10^5 \text{ TP.m}^{-3}$ . After the perturbation, the average concentration was of  $2.56 \times 10^6 \text{ TP.m}^{-3} \pm 6.43 \times 10^4 \text{ TP.m}^{-3}$ . No kinetic, lasting effect occurred after the perturbation.

The VP concentration was more affected by the perturbation. The concentration immediately increased after the perturbation, keeping a sinusoidal shape as before the perturbation (supposedly due to a physical phenomenon like concentration pulses due to the humidification tower), going from an average of  $200 \pm 76 \text{ VP.m}^{-3}$  (38% variation) to an average of  $700 \text{ VP.m}^{-3} \pm 289 \text{ VP.m}^{-3}$  (41% variation). The concentration thus clearly increased after the perturbation while keeping the same variation percentage, attributing the augmentation to the perturbation, and acquired an upward trend.

Figure 43 also reports the variation of the inlet concentrations before and after the experiment. The initial inlet TP concentration was of  $1.94 \times 10^6 \text{ TP.m}^{-3}$  and dropped to  $1.30 \times 10^6 \text{ TP.m}^{-3}$  after the experiment (33% drops).

While the initial inlet VP concentration was of  $4200 \text{ VP.m}^{-3}$  and increased to  $6500 \text{ VP.m}^{-3}$  after the experiment (153% increases). The perturbation thus successfully increased the inlet VP concentration while not drastically changing the TP concentration. The data showed that the TP emissions and the VP emissions of biofilters are clearly separated, and that those two aspects are not linearly linked. The kinetic effects of the perturbation on the VP were clearly visible. On contrary to previously, there was no immediate adaptation of the biofilter to the new state. The biofilter instead gradually adapted itself through the remaining 15 minutes of the experiment while not reaching a new stationary state. This could indicate the existence of a transitory state for biofilters toward variations of the inlet VP concentrations. Further testing would be needed to investigate this transitory state.

### 3.2. Mathematical modelization of the system response toward the concentration augmentation

A similar methodology as before has been applied to study the response of the biofilter to the augmentation of the VP concentration. The mass balance equation (Eq. 30) was adapted to take the VP concentration as the only variables, thus becoming:

$$Q_v C_i(t) - k V C_i(t) = Q_v C_o(t) + V \frac{d C_o(t)}{dt} \quad (\text{Eq. 37})$$

With  $C_i(t)$  the inlet VP concentration (VP .m<sup>-3</sup>),  $C_o(t)$  the outlet VP concentration (VP .m<sup>-3</sup>),  $V$  the packing bed volume (m<sup>3</sup>) and  $Q_v$  the volumetric flow (m<sup>3</sup> .min<sup>-1</sup>). By defining the slack variables, the equation becomes:

$$\widehat{C_i(t)} = \frac{Q_v}{Q_v - k V} \widehat{C_o(t)} + \frac{V}{Q_v - k V} \frac{d \widehat{C_o(t)}}{dt} \quad (\text{Eq. 38})$$

Using the Laplace transformation, it becomes:

$$\widehat{C_i(s)} = \frac{Q_v}{Q_v - k V} \widehat{C_o(s)} + \frac{V s}{Q_v - k V} \widehat{C_o(s)} \quad (\text{Eq. 39})$$

This transformation allows to define the transfer function as:

$$\frac{\widehat{C_o(s)}}{\widehat{C_i(s)}} = \left( \frac{Q_v - k V}{Q_v} \right) \left( \frac{1}{1 + \frac{V}{Q_v} s} \right) \quad (\text{Eq. 40})$$

As the perturbation is an augmentation,  $C_i(s)$  can be modeled as:

$$\widehat{C_i(s)} = \frac{A}{s} \quad (\text{Eq. 41})$$

Which allows to define:

$$\widehat{C_o(s)} = A \left( \frac{Q_v - k V}{Q_v} \right) \left( \frac{1}{\left(1 + \frac{V}{Q_v} s\right) s} \right) \quad (\text{Eq. 42})$$

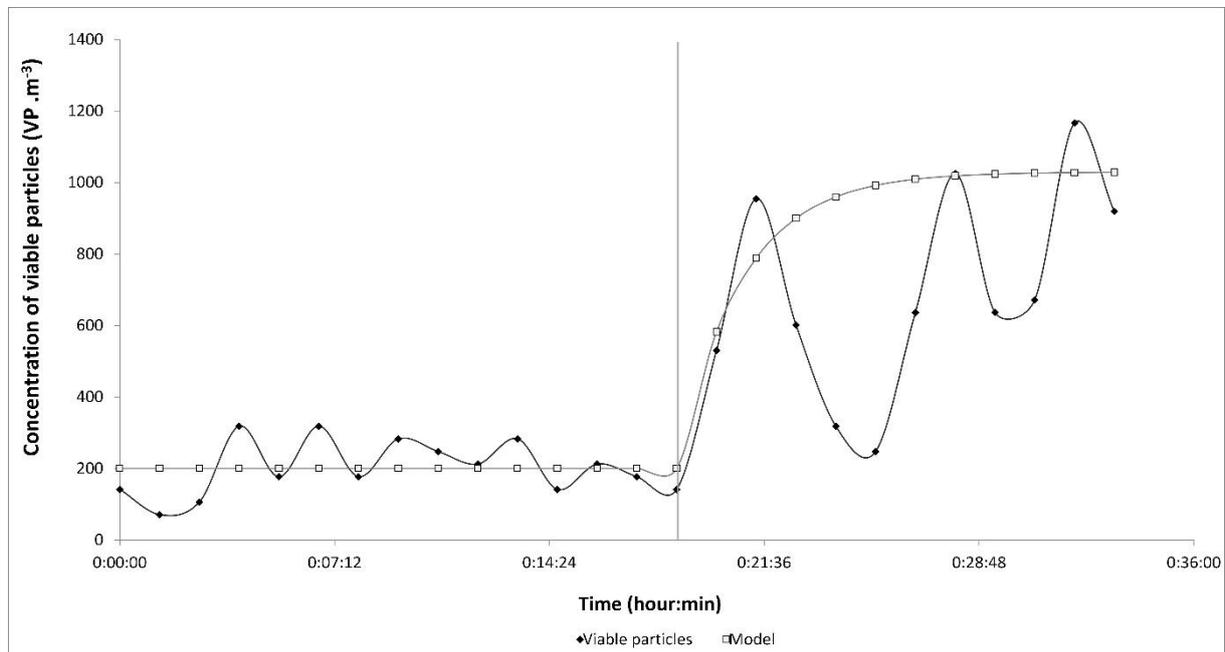
By reversing the Laplace transformation, the model thus becomes:

$$C_o(t) = A \left(1 - \frac{kV}{Q_v}\right) \left(1 - e^{-\frac{Q_v}{V}t}\right) + C_o(0) \quad (\text{Eq. 43})$$

For the model to fit the experimental data more closely, a corrective factor of  $(-1/2)$  must be added to the model:

$$C_o(t) = \left(-\frac{A}{2}\right) \left(1 - \frac{k(0)V}{Q_v(0)}\right) \left(1 - e^{-\frac{Q_v(0)}{V}t}\right) + C_o(0) \quad (\text{Eq. 44})$$

A discrepancy exists between the model and the experimental data (Figure 44). The model was able to represent the beginning of the system response with a similarity of 91%, but soon started to diverge as the experimental data behaved like a sinusoidal curve. However, the experimental curve once reached back the model in one point. This highlighted that the experimental curve trend followed the model even the sinusoidal behavior considered. Even though this behavior, the experimental curve followed an upward trend close to an exponential tendency.



**Figure 44. Biofilter response through time to viable particle concentration augmentation. The vertical bar represents the moment of the perturbation. The grey curve represents the model and was obtained using Eq. 44 ( $A = 2300 \text{ VP} \cdot \text{m}^{-3}$ ,  $k = 0.8$ ,  $V = 0.071 \text{ m}^3$  and  $Q = 0.033 \text{ m}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ ).**

Hence, it is possible to estimate that the curve would have end up stabilizing around the model. Further testing will be necessary to validate this assessment. These results highlighted the differences between the previous physical perturbations (gas velocity augmentation / impulses) and the VP concentration augmentation. In contrary to previous experiments, a clear adaptation time represented by a  $t_r > 20$  min was visible. This was due to the insertion of the factors being the volumetric gas flow ( $Q_v$ ) and the packing bed volume ( $V$ ) inside the equation, as the particle concentrations  $C_i$  and  $C_o$  were taken as variables, as opposed to the previous particle flows  $Q_{pi}$  and  $Q_{po}$ . Even so, the adaptation of a system to a perturbation over an equivalent period of time, while following a sinusoidal trend, is not uncommon in process engineering.

Concerning the augmentation of the VP concentration, the modelization successfully described the trend of the biofilter and demonstrated that the system is linear and of 1<sup>st</sup> order. Biofilters were thus described as such linear system over three different physical perturbations (velocity augmentation / impulses and VP concentration augmentation), which strongly suggest that the process is a linear 1<sup>st</sup> order system for all physical perturbations.

This classification would hold great importance for industrial use. As the name suggest, a 1<sup>st</sup> order linear system for physical parameters will always respond linearly to all physical parameters. This ensures linear, stable industrial uses and prevents aberrant and abnormal response of the process when in stationary state, ensuring safe industrial application. This classification could thus represent a step on an industrial use of biofilters for bioaerosol removal.

#### **4. Conclusion**

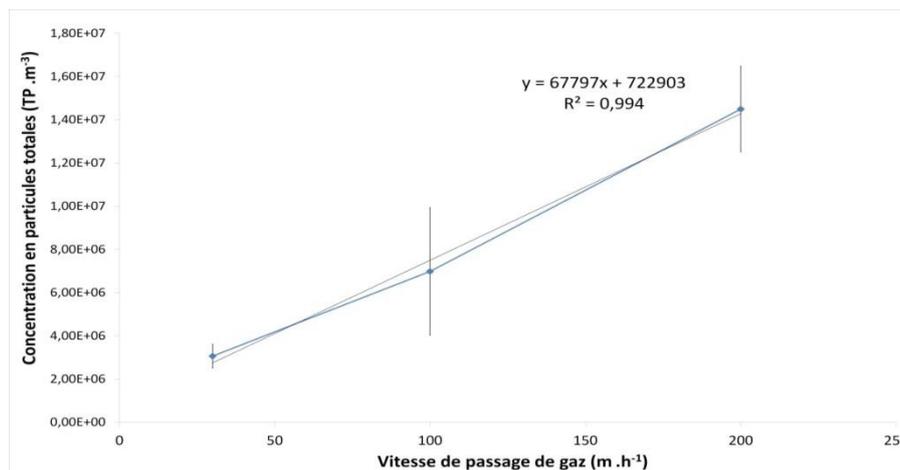
This work was able to give a better understanding of biofilters compartment toward bioaerosol removal through the study of the both perturbations (velocity impulse and VP concentration augmentation). It confirmed previous studies on the influence of gas velocity and the system's response to physical perturbations, and provided a mathematical model describing the answer to velocity impulses. This work also demonstrated that biofilters are 1<sup>st</sup> order linear system toward the VP concentration, and provided a model which described the adaptation of the system to augmentation of this concentration. Combined to previous work, the study of three different perturbations (velocity augmentation / impulses and VP concentration augmentation) described the biofilter as a 1<sup>st</sup> order linear system, which bear significant industrial importance. These results sustain the idea of using biofilters as a mean for bioaerosol controls, and give more tools for the design, prediction and control of their compartment.

# Éléments supplémentaires de discussion

## 1. Lien entre vitesse de passage de gaz et concentration en particules totales

**Introduction.** Les résultats précédents ont démontré les liens intéressants entre vitesse de passage de gaz et concentrations en particules viables. L'étude des impulsions de vitesse de passage de gaz a aussi mis en évidence l'adaptation immédiate, aussi bien positive que négative, de la concentration en particules totales face aux perturbations cinétiques. Cet aspect immédiat a fait apparaître la possibilité d'un lien linéaire entre cette vitesse et la concentration en particules totales. L'objectif de cette sous-partie est d'étudier ce lien.

**Matériel et méthode.** Un échantillon de taille  $n = 200$  prélèvements a été étudié pour chaque vitesse de passage de gaz. Ces résultats ont été obtenus en état stationnaire selon la même méthode que précédemment.



**Figure 45.** Concentration en particules totales en fonction de la vitesse de passage de gaz. Les résultats présentés correspondent à moyenne  $\pm$  écart-type. La droite et l'équation théoriques ont été obtenues grâce à une régression linéaire.

**Résultats.** Pour une vitesse de passage de  $u_1 = 30 \text{ m} \cdot \text{h}^{-1}$  (correspondant à un débit volumique de  $Q_v = 2 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ ), la moyenne des concentrations de l'échantillon était de  $(3,1 \pm 0,6) \times 10^6$  particules totales par  $\text{m}^3$  (TP.m<sup>-3</sup>). Cette dernière était de  $(7,0 \pm 3,0) \times 10^6$  TP.m<sup>-3</sup> pour la vitesse  $u_2 = 100 \text{ m} \cdot \text{h}^{-1}$  (correspondant à  $Q_v = 7 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ ) et de  $(1,5 \pm 0,2) \times 10^7$  TP.m<sup>-3</sup> pour la vitesse  $u_3 = 200 \text{ m} \cdot \text{h}^{-1}$  (correspondant à  $Q_v = 14 \text{ m}^3 \cdot \text{h}^{-1}$ ).

Le tracé de la courbe des concentrations en particules totales en fonction des vitesses de passages de gaz semble faire apparaître un lien linéaire ces deux valeurs (Figure 45). La régression linéaire détermine une droite d'équation de type  $y = ax + b$  avec un  $R^2 = 0,994$ , ce qui indiquerait une relation proportionnelle entre la vitesse de passage et la concentration en particules totales. La variabilité des concentrations à  $u_2$  et  $u_3$  impose néanmoins une prudence quant à cette conclusion.

Malgré cette variabilité, un tel résultat reste logique et s'explique par la quantité de gouttelettes d'eau apportée par la tour d'humidification en fonctionnement (cf X.x. Etude des particules totales). En effet, la tour apporte constamment de l'eau en excès et sature l'air en humidité par passage à contre-courant. L'excès d'eau est volatilisé sous forme de gouttelettes de diamètre 0,1 à 1  $\mu\text{m}$  à cause des phénomènes de turbulence. Ces turbulences s'intensifient de façon proportionnelle avec l'augmentation de la vitesse de passage de l'effluent, conduisant au lien linéaire entre ces deux valeurs. L'inverse est alors aussi vrai, une diminution de la vitesse conduit à une diminution des turbulences et donc de la concentration.

### **Conclusion.**

La concentration en particules totales semble être liée linéairement à la vitesse de passage de gaz. Ce lien peut s'expliquer par l'augmentation des phénomènes de turbulence lors de l'augmentation de la vitesse (et inversement) durant le passage à contre-courant du flux d'air et de l'eau au sein de la tour d'humidification. La quantité de gouttelettes d'eau volatilisées dans le flux augmente alors linéairement. Cette conclusion explique l'aspect immédiat de l'adaptation du biofiltre aux perturbations de vitesse de passage de gaz vis-à-vis des particules totales.

## **Conclusion du chapitre**

L'objectif principal de ce chapitre était de d'étudier le comportement du biofiltre, afin de déterminer si ses capacités épuratoires étaient un effet bénéfique parallèle et peut être due au hasard, ou si le biofiltre pouvait être considéré comme un véritable procédé d'épuration des bioaérosols. La méthode choisie a été l'étude du régime transitoire découlant de perturbations principalement axées autour de la vitesse de passage de gaz. L'objectif était de déterminer si la relation reliant l'entrée et la sortie du biofiltre en régime transitoire, la relation du  $RE_{vp}$ , était valide et robuste en régime transitoire.

L'étude de régime stationnaire post-augmentation, avec maintien de la nouvelle vitesse de passage jusqu'à 2 semaines, a démontré l'effet bénéfique de la vitesse de passage de gaz sur les efficacités. Le nouveau régime stationnaire du biofiltre perturbé (vitesse de passage augmenté) possédait plus de stabilité et des efficacités d'épuration supérieures au biofiltre de référence (vitesse de passage inchangée). Les deux vitesses de passage testées (100 et 200 m .h<sup>-1</sup> contre une vitesse de base de 30 m .h<sup>-1</sup>) ont montré les mêmes résultats, indiquant qu'aucun phénomène d'arrachage n'était présent pour des gammes de vitesses proches des applications industrielles. Ces données ont permis d'étudier en profondeur le modèle proposé par Ottengraf & Konings, 1991 et ont montré que ce modèle ne pouvait être valide pour nos résultats. Les variations sur les paramètres de ce modèle ont aussi suggéré qu'il n'était applicable que pour les biofiltres aux dimensionnements équivalents à celui d'Ottengraf & Konings.

Le travail s'est alors concentré sur le suivi de la réponse immédiate du biofiltre face aux augmentations / diminutions de la vitesse de passage de gaz. L'intérêt était double : analyser le comportement immédiat du biofiltre, mais aussi étudier une possible modélisation de ce comportement. Les résultats ont montré la non-existence d'un régime transitoire associé aux augmentations / diminutions.

Au contraire le biofiltre s'adaptait immédiatement (temps de réponse  $\approx$  1-2 min) à la nouvelle vitesse et les efficacités / concentrations en sortie évoluaient tout aussi rapidement : lors des augmentations les efficacités augmentaient et donc les concentrations diminuaient. Lors des diminutions l'inverse était vrai.

Ces données ont permis une analyse selon une approche de type dynamique des systèmes. Une modélisation de type boîte noire a été établie conduisant à un modèle mathématique reliant l'entrée et la sortie du système et décrivant la réponse à la perturbation avec une similarité de 95%. Ce modèle a permis d'une part de valider la non-existence d'un régime transitoire et les capacités adaptative immédiate du biofiltre, démontrant que le système se comportait non pas au hasard mais suivant un comportement mathématique. D'autre part le modèle a suggéré que le biofiltre était très proche d'être un système linéaire d'ordre 1, ce qui offre d'importantes implications pour le milieu industriel. Et enfin, cette étude mathématique a suggéré la robustesse lors du régime transitoire de l'équation du  $RE_{vp}$  reliant l'entrée et la sortie en régime stationnaire, ce qui implique que les capacités d'épuration ne seraient pas dues au hasard mais que le biofiltre serait bien un procédé d'épuration à part entière.

Afin d'affiner ce résultat, l'étude du régime transitoire s'est poursuivie avec deux nouveaux types de perturbation : des impulsions de vitesse de passage, et des augmentations de la concentration d'entrée en particules viables. De la même façon que précédemment, les impulsions de vitesse ont démontré l'adaptation immédiate du système à la perturbation, et donc aucun hystérésis ou effet cinétique durant dans le temps. Lors des impulsions positives, la concentration en particules viables en sortie diminuait puis ré-augmentait en même temps que la vitesse. L'inverse s'est vérifié lors des impulsions négatives. Un nouveau modèle mathématique a été établi permettant de modéliser la réponse du biofiltre aux impulsions de vitesses, et a permis de confirmer les conclusions précédentes.

L'étude des augmentations de la concentration d'entrée en particules viables a démontré des temps d'adaptation plus long ( $t_r \approx 20$  min), la sortie du biofiltre augmentant graduellement jusqu'à ce qu'il semblât être une stabilisation autour d'un nouveau régime stationnaire. De nouveau, une approche mathématique de type boîte noire a débouché sur un modèle décrivant cette réponse et ce temps d'adaptation. Cela a permis de confirmer qu'un autre type de perturbation (autre que sur la vitesse) débouchait sur une réponse linéaire et modélisable mathématiquement. De plus, la non présence cette fois-ci d'un facteur correctif fait du modèle un modèle mathématique et non empirique, ce qui permet d'affirmer que le biofiltre est bien un système linéaire d'ordre 1 concernant l'augmentation de la concentration en particule. Trois études sur trois types de perturbations physiques différentes ont suggéré ou démontré l'aspect linéaire du comportement et de la réponse du biofiltre, ce qui implique de fortes probabilités que le procédé soit un système linéaire d'ordre 1 pour toutes perturbations de type physiques.

# Conclusion générale

L'impact sanitaire des bioaérosols est aujourd'hui reconnu. En effet, le dépôt des particules peut affecter l'Homme, les animaux et les plantes de manière directe (par inhalation, contact ou absorption) ou indirecte (par ingestion de denrées contaminées) et ainsi induire des infections (aux niveaux des voies respiratoires) ou des maladies non infectieuses (allergies, l'asthme, broncho-pathologie chronique obstructive - BPCO). Ces affections sont dues soit à des organismes vivants (infection), soit à des fragments de micro-organismes tels que les endotoxines ou  $\beta$ -glucanes (toxique, inflammatoire).

Les biofiltres sont des procédés biologiques de plus en plus implantés en milieu industriels afin de répondre à la réglementation relative aux émissions de composés chimiques et d'odeurs. Cependant, une émission de bioaérosols est possible de par leur principe de fonctionnement.

Ottengraph & Konnings, 1991 ont défini trois mécanismes expliquant les émissions des micro-organismes. Le mécanisme de capture des micro-organismes basé sur le phénomène d'impaction, les micro-organismes traversant le matériau de garnissage et le relargage dues aux micro-organismes se détachant du biofilm. La possibilité de réduire la pollution biologique aéroportée grâce à la biofiltration a été régulièrement soulevé au fil des ans par différents auteurs (Fletcher *et al.*, 2014).

Afin de valider le potentiel de remédiation de la contamination aéroportée par les biofiltres, deux approches complémentaires ont été mises en œuvre lors de ce travail de thèse. La première est descriptive et repose sur le suivi des concentrations en entrée et en sortie de deux biofiltres de taille semi-industrielle (Soret *et al.*, 2018), la seconde est prédictive et induit la caractérisation mathématique des phénomènes se déroulant dans la colonne de biofiltration (Figure 35, Figure 36).

Lors de cette étude un soin particulier a été apportée aux remarques méthodologiques énoncées par Fletcher *et al.*, 2014. Un pilote comprenant 2 colonnes de biofiltration a été mis en place. Les concentrations des micro-organismes en entrée et en sortie ont été suivies par une méthode originale basée sur la mesure de particules viables. Cette méthode permet un suivi temps réel des concentrations.

Le biofiltre justifiait un abattement en particules viables d'environ 70% sur une période minimum de 250 jours, semblant suggérer qu'il agit comme un filtre en profondeur pour les particules viables. Le phénomène d'émission à partir du biofilm estimé comme probablement minime a été évalué pour la première fois lors de ce travail à  $C = 207 \text{ VP} \cdot \text{m}^{-3}$ .

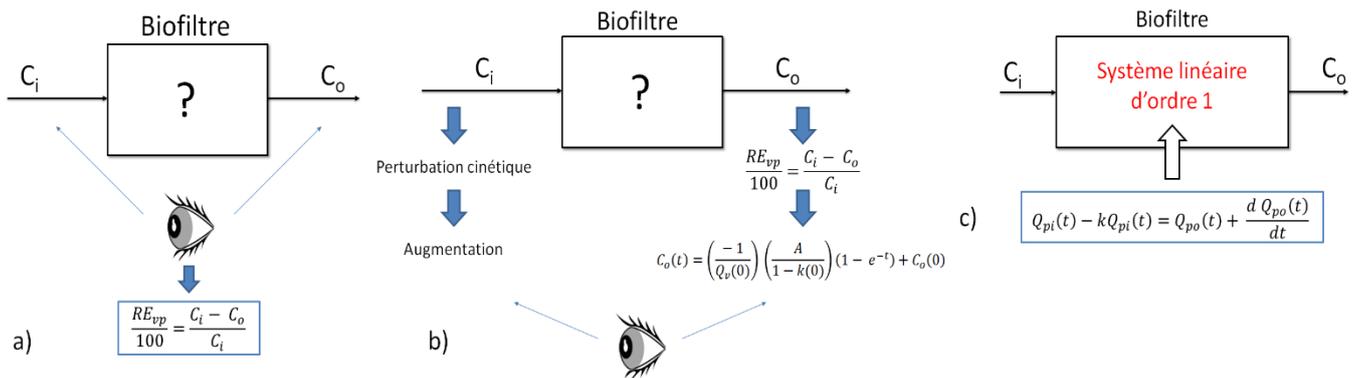
L'influence d'un panel de paramètres opératoires a été étudiée afin de cerner les limites du système, soit l'alimentation en polluant chimique, l'humidification du garnissage, la charge biologique arrivant dans le pilote et le débit de l'effluent gazeux. Les variations sur les paramètres opératoires ont eu des répercussions différentes notamment au niveau des temps de réponse.

- L'arrêt de l'alimentation en polluant chimique n'a induit aucune variation significative jusqu'à une durée d'environ 90 jours. Après 90 jours, une décharge de la flore microbienne a pu être observée.
- La diminution du taux d'humidité de l'effluent conduit immédiatement à une augmentation de la rétention des particules viables.
- La variation de la vitesse de passage de gaz a démontré une influence positive de la vitesse sur l'abattement des particules viables, probablement par augmentation du phénomène d'impaction.
- L'augmentation de la charge microbiologique en entrée du système a montré une adaptation système cohérente avec un filtre en profondeur, la concentration en sortie augmentant graduellement jusqu'à se stabiliser autour d'un nouvel état stationnaire.

Ainsi, dans les conditions mises en œuvre, l'abattement des particules viables est obtenu dans une gamme de conditions opératoires assez large, montrant la robustesse du système.

La différence dans le délai de réponse suite aux variations des paramètres opératoires est probablement liée aux mécanismes sous-jacents. L'arrêt de l'alimentation en polluant implique probablement une perturbation sur la composante microbiologique du biofiltre. L'adaptation de cette dernière induit des temps de réponses longs (Cabrol, 2010). L'émission de micro-organismes après 90 jours de famine représente alors la réponse du système et son temps de réponse, le biofiltre ayant été résistant à la perturbation pour des périodes plus courtes. Ainsi, le biofiltre semble réagir comme un procédé biologique (temps de réponse long, perte d'efficacité, résilience) lors des perturbations sur sa composante microbiologique (influence du polluant).

Au contraire, des perturbations physiques (humidité, vitesse de passage de gaz, concentration d'entrée) induisent un comportement similaire à un procédé physico-chimique (temps de réponses court, voire suivi instantané de la cinétique de perturbation / adaptation instantanée, résistance, résilience, etc.). Cela suggère que le biofiltre se comporte comme un assemblage d'un procédé physique et d'un procédé biologique vis-à-vis des bioaérosols.



**Figure 46. Principe de la caractérisation mathématique à l'aide d'étude cinétique.  $C_i$  : concentration d'entrée du biofiltre.  $C_o$  : concentration de sortie. a) Principe de la mesure de l'abattement. b) Principe des études cinétiques. c) Caractérisation du biofiltre.**

Le principal paramètre descriptif observé dans ce travail était l'abattement obtenu à partir des concentrations d'entrée et de sortie. Par conséquent, le système reste de type boîte noire, aucune information n'étant disponible sur les phénomènes en jeu au sein du biofiltre, ou sur leur caractérisation mathématique (Figure 46a.). Pour obtenir cette dernière, des études cinétiques ont été utilisées. Ceci représente une utilisation originale de ces méthodes, inverse à leur objectif habituel. Elles sont principalement utilisées pour modéliser la réponse d'un procédé déjà connu mathématiquement, via une équation de bilan massique. Ici, le suivi de la réponse associée à une modélisation a permis la caractérisation de ce système inconnu.

Ainsi, une hypothèse sur l'équation mathématique décrivant les phénomènes internes au biofiltre (sous la forme d'une équation de bilan massique) a été émise suite à l'observation en temps réel de la concentration en sortie sur le pilote consécutivement à une perturbation sur un des paramètres (Figure 46b.). Puis, une application mathématique est entreprise pour obtenir une équation donnant la concentration de sortie en fonction du temps et de paramètres opératoires (débit, volume, etc.) obtenus lors de l'état stationnaire.

L'équation est alors comparée aux données mesurées expérimentalement pour vérifier qu'elle décrit bien leur l'évolution au cours du temps. Si l'équation est validée, elle permet de caractériser mathématiquement l'intérieur de la boîte noire, soit l'ensemble des phénomènes internes conduisant à réduction de la concentration en bioaérosols (Figure 46c.). Dans notre cas, des facteurs correctifs ont dû être appliqués aux équations cinétiques trouvées. L'équation de bilan massique définie comme hypothèse de base ne peut caractériser l'intérieur de la boîte noire. Néanmoins, les facteurs utilisés sont restés de 1<sup>er</sup> ordre et ne changent donc pas l'ordre des équations. Ainsi le biofiltre a été défini comme un système linéaire de 1<sup>er</sup> ordre pour l'abattement des particules viables. De plus ces éléments sont cohérents avec une filtration de type filtre en profondeur.

L'une des applications des études cinétiques est le calcul du gain prédictif permettant d'estimer la réponse théorique du procédé quelle que soit la perturbation. Disposer de la caractérisation mathématique du procédé présente plusieurs avantages :

Permet le passage d'un contrôle / gestion du procédé basé sur l'expérience à un contrôle / gestion méthodique et mathématique. Ce type de contrôle est autrement plus puissant, car il permet une prédiction du comportement du procédé notamment en dehors du régime stationnaire. Un système linéaire d'ordre 1 possèdera toujours un comportement linéaire et régulier face aux perturbations et non un comportement erratique, exceptionnel voire catastrophique dans les limites de ses conditions d'opérations (explosion, fluidisation du lit, défaillance critique, etc.). Ainsi, la connaissance de la concentration d'entrée entraîne la possibilité de prédire la concentration de sortie pour toutes perturbations appliquées sur un paramètre étudié. Ce résultat permet une gestion des émissions par les industriels et est nécessaire pour l'implantation du procédé dans une chaîne de traitement.

Ces travaux ouvrent un premier chemin vers la généralisation des résultats (obtenus sur une installation en particulier) à l'ensemble des biofiltres. Lorsque le flux d'air chargé en bioaérosols traverse le garnissage, les phénomènes étudiés entrent en jeu et conduisent à la réduction des concentrations. L'équation cinétique sanctionnant l'ensemble des phénomènes internes au biofiltre n'intègre que trois paramètres opératoires macroscopiques (le débit, le volume du garnissage et la concentration d'entrée), mais aucun paramètre microscopique spécifique au matériau de garnissage (diamètre des particules, porosité, etc.) facilitant le transfert aux autres biofiltres.

Ainsi, cette étude a permis de mettre en exergue les capacités de remédiation de la pollution biologique aéroportée et la robustesse des biofiltres grâce à un comportement globalement équivalent à un filtre à particule en profondeur. Cependant, ce travail présente certaines limites, il est important de noter que l'arrêt de l'alimentation de 90 jours n'a été réalisé qu'une seule fois et devrait être répétée et que le biofilm présent sur le garnissage est peu développé.

Plusieurs perspectives de recherches sont ouvertes par ce travail de thèse, le biofiltre n'étant pas encore entièrement caractérisé comme procédé d'épuration des bioaérosols. Deux voies sont à poursuivre : un aspect physico-chimique et un aspect microbiologique.

Du point de vue de l'abattement par des mécanismes physiques, l'influence de plusieurs paramètres opératoires reste à étudier comme l'importance de la taille du biofilm, des caractéristiques du garnissage, l'influence du temps de passage. Au niveau des caractéristiques du garnissage plusieurs questions se posent telles que l'influence de la nature du matériau, sa granulométrie, la taille des canaux interstitiels ou encore la hauteur du lit.

A travers les recherches effectuées durant cette thèse, il est apparu que l'épuration des bioaérosols par le biofiltre semble majoritairement basée sur des phénomènes physiques. Néanmoins, maintenir un environnement interne favorable à la survie et au développement des micro-organismes semble être une condition à l'utilisation du procédé pour l'épuration des particules viables, possiblement en limitant l'émission de micro-organismes depuis le garnissage. Au cours de ce travail, aucune donnée n'a été fournie concernant les micro-organismes relargués par le biofiltre notamment après 90 jours de famine. Ce relargage de micro-organismes était-il lié à des bioaérosols ne s'impactant pas ou bien à la migration de la microflore déjà présente ? Ainsi, deux questions restent ouvertes :

La présence d'une microflore impacte-t-elle la rétention des particules et par extension quelle est l'influence de la taille du biofilm ? Le relargage de micro-organismes après la famine longue a été attribué à l'épuisement de tous les mécanismes de survie disponibles aux micro-organismes. Ces informations suggèrent que dans un milieu devenu non-propice à leur développement, les micro-organismes finissent par migrer. Est-ce que cette hypothèse est vraie ? Si le garnissage est colonisé par une flore pathogène a-t-elle plus tendance à être émise par le biofiltre ? Notamment dans le cas d'une colonisation du garnissage par des pathogènes comme *Legionella* qui peut se développer sur un garnissage alimenté par un effluent chaud et humide.



# Références bibliographiques

Aarnink, A. J. A. *et al.* (2005) 'Systems for eliminating pathogens from exhaust air of animal houses', *Livestock Environment VII, Proceedings of the Seventh International Symposium, 18-20 May, Beijing, China, 2005*(701), pp. 239–244.

Aarnink, A. J. A. *et al.* (2011) 'SCRUBBER CAPABILITIES TO REMOVE AIRBORNE MICROORGANISMS AND OTHER AERIAL POLLUTANTS FROM THE EXHAUST AIR OF ANIMAL HOUSES', *Structures & Environment Division of ASABE*, 54(2), pp. 1921–1930.

ADEME (2015) *Le compostage : ce qu'il faut retenir.*

Adhikari, A. *et al.* (2006) 'Correlation of ambient inhalable bioaerosols with particulate matter and ozone : A two-year study', 140, pp. 16–28. doi: 10.1016/j.envpol.2005.07.004.

AFNOR (1982) *Norme NF X 43-001.*

AFNOR (2000) *Norme NF EN 13098.* France.

AFNOR (2004) *Norme NF EN 14698-1.* France.

Agranovski, I. E. *et al.* (2002) 'Collection of Airborne Microorganisms into Liquid by Bubbling through Porous Medium', *Aerosol Science and Technology*, 36(4), pp. 502–509. doi: 10.1080/027868202753571322.

Aizpuru, A. *et al.* (2001) 'Biofiltration of a Mixture of Volatile Organic Emissions', *Journal of the Air & Waste Management Association*, 2247. doi: 10.1080/10473289.2001.10464388.

Alberts, B. (2004) *Essential Cell Biology. 2/e.* Edited by Garland Science.

Alonso, J., Bejot, J. and Forterre, P. (2018) 'Bactéries', *Encyclopædia Universalis*, pp. 1–11.

Amann, R. I., Ludwig, W. and Schleifer, K. H. (1995) 'Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation . Phylogenetic Identification and In Situ Detection of Individual Microbial Cells without Cultivation', *Microbiological reviews*, 59(1), pp. 143–169. doi: 10.1016/j.jip.2007.09.009.

Andersen, A. A. (1958) 'New sampler for the collection, sizing, and enumeration of viable airborne particles', (904).

Anderson, J. O., Thundiyil, J. G. and Stolbach, A. (2012) 'Clearing the Air: A Review of the Effects of Particulate Matter Air Pollution on Human Health', *Journal of Medical Toxicology*, 8(2), pp. 166–175. doi: 10.1007/s13181-011-0203-1.

Angenent, L. T. *et al.* (2005) 'Molecular identification of potential pathogens in water and air of a hospital therapy pool', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(13), pp. 4860–4865. doi: 10.1073/pnas.0501235102.

Bartram, J. *et al.* (2008) 'Legionella and the Prevention of Legionellosis', *Emerging Infectious Diseases*, 14(6), pp. 1006a – 1006. doi: 10.3201/eid1406.080345.

Basinas, I. *et al.* (2015) 'A comprehensive review of levels and determinants of personal exposure to dust and endotoxin in livestock farming', *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*, 25(2), pp. 123–137. doi: 10.1038/jes.2013.83.

Bauer, H., Fuerhacker, M., *et al.* (2002) 'Bacteria and fungi in aerosols generated by two different types of wastewater treatment plants', *Water Research*, 36(16), pp. 3965–3970. doi: 10.1016/S0043-1354(02)00121-5.

Bauer, H., Kasper-Giebl, A., *et al.* (2002) 'The contribution of bacteria and fungal spores to the organic carbon content of cloud water, precipitation and aerosols', *Atmospheric Research*, 64(1–4), pp. 109–119. doi: 10.1016/S0169-8095(02)00084-4.

Berry, C. M. (1941) 'An Electrostatic Method for Collecting Bacteria from Air', *Public Health Reports (1896-1970)*, pp. 2044–2051.

Bhangar, S. *et al.* (2015) 'Chamber bioaerosol study : human emissions of size-resolved fluorescent biological aerosol particles', *Indoor Air*, 26, pp. 193–206. doi: 10.1111/ina.12195.

Blanchard, D. C. and Syzdek, L. D. (1982) 'Water-to-air transfer and enrichment of bacteria in drops from bursting bubbles', *Applied and Environmental Microbiology*, 43(5), pp. 1001–1005.

Blatny, J. M. *et al.* (2011) 'Airborne Legionella bacteria from pulp waste treatment plant: Aerosol particles characterized as aggregates and their potential hazard', *Aerobiologia*, 27(2), pp. 147–162. doi: 10.1007/s10453-010-9184-9.

Bonifait, L. *et al.* (2017) 'Workers' exposure to bioaerosols from three different types of composting facilities', *Journal of occupational and environmental hygiene*, 14(10), pp. 815–822. doi: 10.1080/15459624.2017.1335054.

Bouchez, T. *et al.* (2016) 'Molecular microbiology methods for environmental diagnosis', *Environmental Chemistry Letters*. Springer International Publishing, 14(4), pp. 423–441. doi: 10.1007/s10311-016-0581-3.

Bovallius, A. K. E. *et al.* (1978) 'Three-Year Investigation of the Natural Airborne Bacterial Flora at Four Localities in Sweden', 35(5), pp. 847–852.

Bowers, R. M. *et al.* (2009) 'Characterization of airborne microbial communities at a high-elevation site and their potential to act as atmospheric ice nuclei', *Applied and Environmental Microbiology*, 75(15), pp. 5121–5130. doi: 10.1128/AEM.00447-09.

Bowers, R. M. *et al.* (2011) 'Spatial variability in airborne bacterial communities across land-use types and their relationship to the bacterial communities of potential source environments', *ISME Journal*. Nature Publishing Group, 5(4), pp. 601–612. doi: 10.1038/ismej.2010.167.

Bowers, R. M. *et al.* (2012) 'Seasonal variability in airborne bacterial communities at a high-elevation site', *Atmospheric Environment*. Elsevier, 50, pp. 41–49. doi: 10.1016/j.atmosenv.2012.01.005.

Bowers, R. M. *et al.* (2013) 'Seasonal Variability in Bacterial and Fungal Diversity of the Near-Surface Atmosphere', *Environmental Science and Technology*, 47, pp. 12097–12106. doi: 10.1021/es402970s.

Brandi, G., Sisti, M. and Amagliani, G. (2000) 'Evaluation of the environmental impact of microbial aerosols generated by wastewater treatment plants utilizing different aeration systems', *Journal of Applied Microbiology*, 88(5), pp. 845–852. doi: 10.1046/j.1365-2672.2000.01024.x.

Breiman, R. F. *et al.* (1990) 'Role of air sampling in investigation of an outbreak of legionnaires' disease associated with exposure to aerosols from an evaporative condenser.', *The Journal of infectious diseases*, 161(6), pp. 1257–1261.

Brinkmann, T. *et al.* (2016) *Best Available Techniques (BAT) Reference Document for Common Waste Water and Waste Gas Treatment/Management Systems in the Chemical Sector*. EUR 28112. Luxembourg: Publications Office of the European Union. doi: 10.2791/37535.

British Government (2018) *Bioaerosol monitoring at regulated facilities - use of M9: RPS 209 - GOV.UK*.

Brodie, E. L. *et al.* (2007) 'Urban aerosols harbor diverse and dynamic bacterial populations', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(1), pp. 299–304. doi: 10.1073/pnas.0608255104.

Bunger, J. *et al.* (2000) 'Specific IgG antibodies against actinomycetes and moulds as biomarkers of exposure to bioaerosols', *Arbeitsmedizin sozialmedizin umweltmedizin*. GENTNER VERLAG, 35(6), pp. 270–274.

Bünger, J. *et al.* (2000) 'Health complaints and immunological markers of exposure to bioaerosols among biowaste collectors and compost workers.', *Occupational and environmental medicine*, 57(7), pp. 458–64. doi: 10.1136/oem.57.7.458.

Burch, M. and Levetin, E. (2002) 'Effects of meteorological conditions on spore plumes', *Int J Biometeorol*, 46, pp. 107–117. doi: 10.1007/s00484-002-0127-1.

Burrows, S. M., Elbert, W., *et al.* (2009) 'Bacteria in the global atmosphere - Part 1: Review and synthesis of literature data for different ecosystems', *Atmospheric Chemistry and Physics*, 9(23), pp. 9263–9280. doi: 10.5194/acp-9-9263-2009.

Burrows, S. M., Butler, T., *et al.* (2009) 'Bacteria in the global atmosphere – Part 2: Modeling of emissions and transport between different ecosystems', *Atmospheric Chemistry and Physics*, 9, pp. 9281–9297. doi: 10.5194/acp-9-9263-2009.

Burton, N. C., Grinshpun, S. A. and Reponen, T. (2007) 'Physical collection efficiency of filter materials for bacteria and viruses', *Annals of Occupational Hygiene*, 51(2), pp. 143–151. doi: 10.1093/annhyg/mel073.

Cabrol, L. (2010) 'Evaluation de la robustesse d ' un système de biofiltration d ' effluent de compostage', *Thèse*.

Cabrol, L. and Malhautier, L. (2011) 'Integrating microbial ecology in bioprocess understanding: The case of gas biofiltration', *Applied Microbiology and Biotechnology*, 90(3), pp. 837–849. doi: 10.1007/s00253-011-3191-9.

Cangelosi, G. A. and Meschke, J. S. (2014) 'Dead or alive: Molecular assessment of microbial viability', *Applied and Environmental Microbiology*, 80(19), pp. 5884–5891. doi: 10.1128/AEM.01763-14.

Carducci, a. *et al.* (2000) 'Assessing airborne biological hazard from urban wastewater treatment', *Water Research*, 34(4), pp. 1173–1178. doi: 10.1016/S0043-1354(99)00264-X.

Carré, E. (2017) *Qualité biologique des eaux usées traitées en vue de la réutilisation*. Université de Lyon - Ecole des Mines de Saint-Etienne.

Carvalho, E. *et al.* (2008) 'Performance of the Coriolis air sampler, a high-volume aerosol-collection system for quantification of airborne spores and pollen grains', *Aerobiologia*, 24(4), pp. 191–201. doi: 10.1007/s10453-008-9098-y.

Chang, C.-W. and Hung, P.-Y. (2012) 'Methods for Detection and Quantification of Airborne Legionellae Around Cooling Towers', *Aerosol Science and Technology*, 46(4), pp. 369–379. doi: 10.1080/02786826.2011.633583.

Chang, Ching Wen and Chou, F. C. (2011) 'Assessment of bioaerosol sampling techniques for viable Legionella pneumophila by ethidium monoazide quantitative PCR', *Aerosol Science and Technology*, 45(3), pp. 343–351. doi: 10.1080/02786826.2010.537400.

Chang, C. W. and Chou, F. C. (2011) 'Methodologies for quantifying culturable, viable, and total Legionella pneumophila in indoor air', *Indoor Air*, 21(4), pp. 291–299. doi: 10.1111/j.1600-0668.2010.00701.x.

Chang, C. W., Chou, F. C. and Hung, P. Y. (2010) 'Evaluation of bioaerosol sampling techniques for Legionella pneumophila coupled with culture assay and quantitative PCR', *Journal of Aerosol Science*. Elsevier, 41(12), pp. 1055–1065. doi: 10.1016/j.jaerosci.2010.09.002.

Chang, T.-H. *et al.* (2009) 'Removal of ethylene and bioaerosol by chlorine dioxide using a chemical scrubbing system in a fruit and vegetable storage facility.', *Journal of environmental science and health. Part A, Toxic/hazardous substances & environmental engineering*, 44(3), pp. 258–264. doi: 10.1080/10934520802597861.

Chataigné, G. (2007) *Détermination structurale des lipopolysaccharides de surface chez Sinorhizobium*. Université Paul Sabatier Toulouse 3.

Chen, C. *et al.* (1998) 'A Comparison of Sampling Methods for Airborne Bacteria: A Study of the Error Due to the Masking Effect', 4878(7), pp. 501–510.

Chmielowiec-Korzeniowska, A. *et al.* (2007) 'Efficacy of a novel biofilter in hatchery sanitation: I. Removal of airborne bacteria, dust and endotoxin', *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 14(1), pp. 141–150. doi: 10.1001/jama.1890.02410010013001.

CITEPA (2017) *Particules en suspension*. Available at: <https://www.citepa.org/fr/air-et-climat/polluants/poussieres-en-suspension>.

Comiti, J. (1987) 'Contribution à la modélisation des lits fixes: application aux lits de particules parallélépipédiques: dégradation d'énergie, dispersion axiale, transfert de matière'. Grenoble INPG.

Comiti, J. and Renaud, M. (1989) 'A new model for determining mean structure parameters of fixed beds from pressure drop measurements: application to beds packed with parallelepipedal particles', *Chemical Engineering Science*, 44(7), pp. 1539–1545. doi: 10.1016/0009-2509(89)80031-4.

Commission européenne (2006) *Traitement des déchets, Journal de la communauté européenne*.

Courtois, B., Cadou and INRS (2008) 'Valeurs limites d' exposition professionnelle aux agents chimiques en France', *Aide-mémoire technique*.

Cox, C. S. (1987) 'Aerobiological pathway of microorganisms [1987]', *Wiley Interscience*, Chichester(England), pp. 218–229.

Cox, C. S. (1989) 'Airborne bacteria and viruses', *Science Progress (1933- )*. Temporary Publisher, 73(4 (292)), pp. 469–499.

Cox, C. S. and Wathes, C. M. (1995a) *Bioaerosols Handbook*.

Cox, C. S. and Wathes, C. M. (1995b) 'Non-inertial samplers: Filtration', in *Bioaerosols Handbook*.

Crook, B. (1995) 'Non-inertial samplers: biological perspectives.', *Bioaerosols Handbook*, pp. 269–283.

Decker, H. M., Buchanan, L. M., and Frisque, D. E. (1968) 'Advances in large-volume air sampling', *Contamination Control*, 8, pp. 13–20.

Delaunay, N. (1997) 'Une approche du risque microbiologique aéroporté dans une station de compostage industriel d'ordures ménagères'.

Dequesne, J. and Bréjoux, E. (2016) *Observatoire des services publics d'eau et d'assainissement*.

DeSantis, T. Z. *et al.* (2007) 'High-density universal 16S rRNA microarray analysis reveals broader diversity than typical clone library when sampling the environment', *Microbial Ecology*, 53(3), pp. 371–383. doi: 10.1007/s00248-006-9134-9.

Després, V., Nowoisky, J. and Klose, M. (2007) 'Characterization of primary biogenic aerosol particles in urban, rural, and high-alpine air by DNA sequence and restriction fragment analysis of ribosomal RNA genes', *Biogeosciences*, 4, pp. 1127–1141. doi: 10.5194/bg-4-1127-2007.

Dockery, D. W. *et al.* (1993) 'An Association between Air Pollution and Mortality in Fine Particulate Air Pollution and Mortality in 20 U.S. Cities, 1987 – 1994', *New England Journal of Medicine*, 329(24), pp. 1753–1759.

Douglas, P. *et al.* (2018) 'A systematic review of the public health risks of bioaerosols from intensive farming', *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. Elsevier, 221(2), pp. 134–173. doi: 10.1016/j.ijheh.2017.10.019.

Doumeix, O. (2011) 'Les émulsions', *Opérations Unitaires En Génie Biologique*, p. 21.

Douwes, J. *et al.* (2000) 'Upper airway inflammation assessed by nasal lavage in compost workers: A relation with bio-aerosol exposure', *American Journal of Industrial Medicine*, 37(5), pp. 459–468. doi: 10.1002/(SICI)1097-0274(200005)37:5<459::AID-AJIM2>3.0.CO;2-J.

Douwes, J. *et al.* (2003) 'Bioaerosol health effects and exposure assessment: Progress and prospects', *Annals of Occupational Hygiene*, 47(3), pp. 187–200. doi: 10.1093/annhyg/meg032.

Van Droogenbroeck, C. *et al.* (2009) 'Evaluation of bioaerosol sampling techniques for the detection of *Chlamydomonas psittaci* in contaminated air', *Veterinary Microbiology*, 135(1–2), pp. 31–37. doi: 10.1016/j.vetmic.2008.09.042.

Dubuis, M. E. *et al.* (2017) 'Bioaerosols concentrations in working areas in biomethanization facilities', *Journal of the Air and Waste Management Association*, 67(11), pp. 1258–1271. doi: 10.1080/10962247.2017.1356762.

- Dupasquier, M.-L. *et al.* (2018) *Caractérisation des émulsions*. Available at: [http://ressources.unisciel.fr/formulation\\_cosmetique/co/1-2.html](http://ressources.unisciel.fr/formulation_cosmetique/co/1-2.html) (Accessed: 18 April 2018).
- Duquenne, P. *et al.* (2012) 'Documentation of bioaerosol concentrations in an indoor composting facility in France', *Journal of Environmental Monitoring*, 14(2), p. 409. doi: 10.1039/c2em10714g.
- Durand, K. T. H. *et al.* (2002) 'Effect of sampling time on the culturability of airborne fungi and bacteria sampled by filtration', *Annals of Occupational Hygiene*, 46(1), pp. 113–118. doi: 10.1093/annhyg/mef007.
- Eames, I. *et al.* (2009) 'Airborne transmission of disease in hospitals', (October).
- Elbert, W., Taylor, P. E. and Andreae, M. O. (2007) 'Contribution of fungi to primary biogenic aerosols in the atmosphere : wet and dry discharged spores, carbohydrates, and inorganic ions', pp. 4569–4588.
- Engelhart, S. *et al.* (2007) 'Air sampling of *Aspergillus fumigatus* and other thermotolerant fungi: Comparative performance of the Sartorius MD8 airport and the Merck MAS-100 portable bioaerosol sampler', *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 210(6), pp. 733–739. doi: 10.1016/j.ijheh.2006.10.001.
- ENSEEIHT (2018a) *Du compostage au compost : Processus et procédé*. Available at: <http://hmf.enseeiht.fr/travaux/CD0910/bei/beiere/groupe1/node/51.html> (Accessed: 25 September 2018).
- ENSEEIHT (2018b) *Présentation des processus de compostage mis en jeu*. Available at: <http://hmf.enseeiht.fr/travaux/bei/beiere/content/2015/presentation-des-processus-de-compostage-mis-en-jeu> (Accessed: 25 September 2018).
- Environment Agency (UK) (2018) 'Environmental monitoring of bioaerosols at regulated facilities', *Technical guide note*, (July).
- Esquivel-Gonzalez, S. *et al.* (2017) 'Characterization of bioaerosol emissions from two biofilters during treatment of toluene vapours using epifluorescence microscopy', *International Biodeterioration and Biodegradation*, 123, pp. 78–86. doi: 10.1016/j.ibiod.2017.06.007.

European Council (2000) 'Directive 2000/54/EC', *Official Journal of the European Communities*, 3.

European Environment Agency (1999) *Council Directive 1999/30/EC of 22 April 1999*.

European Environmental Agency (2008) 'Directive 2008/50/EC of the European Parliament and of the Council of 21 May 2008 on ambient air quality and cleaner air for Europe'.

European IPPC Bureau (2006) 'Reference document on the Best Available Techniques for Waste Treatments Industries', *European Commission*, (August), p. 592.

European Pharmacopoeia (2006) '5.1.6. Alternative Methods for Control of Microbiological Quality', *European Pharmacopoeia*, 5.5(October), pp. 4131–4142.

Fahlgren, C. *et al.* (2010) 'Annual variations in the diversity, viability, and origin of airborne bacteria', *Applied and Environmental Microbiology*, 76(9), pp. 3015–3025. doi: 10.1128/AEM.02092-09.

Fang, Y. *et al.* (2013) 'Air pollution and associated human mortality: The role of air pollutant emissions, climate change and methane concentration increases from the preindustrial period to present', *Atmospheric Chemistry and Physics*, 13(3), pp. 1377–1394. doi: 10.5194/acp-13-1377-2013.

Fanlo, J. L. (2005) 'Les procédés de traitement des émissions odorantes', in *Pollutions olfactives : Origine, Législation, Analyse, Traitement*. Ed. Dunod. L'Usine Nouvelle, Environnement et Sécurité, p. 388.

Fannin, K. F., Vana, S. C. and Jakubowski, W. (1985) 'Effect of an Activated Sludge Wastewater Treatment Plant on Ambient Air Densities of Aerosols Containing Bacteria and Viruses', 49(5), pp. 1191–1196.

Fierer, N. *et al.* (2008) 'Short-term temporal variability in airborne bacterial and fungal populations', *Applied and Environmental Microbiology*, 74(1), pp. 200–207. doi: 10.1128/AEM.01467-07.

Fletcher, L. A. *et al.* (2014) 'Understanding biofilter performance and determining emission concentrations under operational conditions', *Final Report – Project Number ER36*, (June).

- Fracchia, Letizia *et al.* (2006) 'Site-related airborne biological hazard and seasonal variations in two wastewater treatment plants', *Water Research*, 40(10), pp. 1985–1994. doi: 10.1016/j.watres.2006.03.016.
- Fracchia, L. *et al.* (2006) 'The assessment of airborne bacterial contamination in three composting plants revealed site-related biological hazard and seasonal variations', *Journal of Applied Microbiology*, 100(5), pp. 973–984. doi: 10.1111/j.1365-2672.2006.02846.x.
- Frederickson, J. *et al.* (2013) *Evidence : Biofilter performance and operation as related to commercial composting*.
- Frohlich-Nowoisky, J. *et al.* (2009) 'High diversity of fungi in air particulate matter', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(31), pp. 12814–12819. doi: 10.1073/pnas.0811003106.
- Fung, F. and Hughson, W. G. (2003) 'Health Effects of Indoor Fungal Bioaerosol Exposure Health Effects of Indoor Fungal Bioaerosol Exposure', *Applied Occupational and Environmental Hygiene*, 18, pp. 535–544. doi: 10.1080/10473220301451.
- Galès, A. *et al.* (2015) 'Predominance of single bacterial cells in composting bioaerosols', *Atmospheric Environment*, 107, pp. 225–232. doi: 10.1016/j.atmosenv.2015.02.035.
- Gerone, P. J. *et al.* (1966) 'Assessment of experimental and natural viral aerosols.', *Bacteriological reviews*, 30(3), pp. 576–588.
- Ghosh, B., Lal, H. and Srivastava, A. (2015) 'Review of bioaerosols in indoor environment with special reference to sampling, analysis and control mechanisms', *Environment International*, 85(January), pp. 254–272. doi: 10.1016/j.envint.2015.09.018.
- Gilbert, Y. and Duchaine, C. (2009) 'Bioaerosols in industrial environments: a review', *Canadian Journal of Civil Engineering*, 36(12), pp. 1873–1886. doi: 10.1139/L09-117.
- Le Goff, O. (2010) *Identification et dispersion des bioaérosols générés lors du compostage*.
- Le Goff, O. *et al.* (2011) 'New specific indicators for qPCR monitoring of airborne microorganisms emitted by composting plants', *Atmospheric Environment*. Elsevier Ltd, 45(30), pp. 5342–5350. doi: 10.1016/j.atmosenv.2011.06.052.

Le Goff, O. *et al.* (2012) 'A new combination of microbial indicators for monitoring composting bioaerosols', *Atmospheric Environment*. Elsevier Ltd, 61, pp. 428–433. doi: 10.1016/j.atmosenv.2012.07.081.

Górny, R. L. (2016) *Bioaerosols and OSH*. Available at: [https://oshwiki.eu/wiki/Bioaerosols\\_and\\_OSH#Legislative\\_aspects](https://oshwiki.eu/wiki/Bioaerosols_and_OSH#Legislative_aspects) (Accessed: 20 July 2018).

Griffin, D. W. *et al.* (2003) 'Atmospheric microbiology in the northern Caribbean during African dust events Atmospheric microbiology in the northern Caribbean during African dust events', *Aerobiologia*, 19, pp. 143–157. doi: 10.1023/B.

Griffin, D. W., Westphal, D. L. and Gray, M. A. (2006) 'Airborne microorganisms in the African desert dust corridor over the mid-Atlantic ridge, Ocean Drilling Program, Leg 209', *Aerobiologia*, 22(3), pp. 211–226. doi: 10.1007/s10453-006-9033-z.

Grimi, A., Zender, C. S. and Colarco, P. R. (2002) 'Saltation Sandblasting behavior during mineral dust aerosol production', 29(18), pp. 1995–1998. doi: 10.1029/2002GL015248.

Grinshpun, S. A. *et al.* (1994) 'Inlet characteristics of bioaerosol samplers', *Journal of aerosol science*, 25(8), pp. 1503–1522. doi: 10.1016/0021-8502(94)90221-6.

Grinshpun, S. A. *et al.* (1997) 'Effect of impaction, bounce and reaerosolization on the collection efficiency of impingers', *Aerosol Science and Technology*, 26(4), pp. 326–342. doi: 10.1080/02786829708965434.

Grisoli, P. *et al.* (2009) 'Assessment of airborne microorganism contamination in an industrial area characterized by an open composting facility and a wastewater treatment plant', *Environmental Research*, 109(2), pp. 135–142. doi: 10.1016/j.envres.2008.11.001.

Haas, D. *et al.* (2010) 'Exposure to bioaerosol from sewage systems', *Water, Air, and Soil Pollution*, 207(1–4), pp. 49–56. doi: 10.1007/s11270-009-0118-5.

Han, T., Fennell, D. and Mainelis, G. (2015) 'Development and Optimization of the Electrostatic Precipitator with Superhydrophobic Surface (EPSS) Mark II for Collection of Bioaerosols', *Aerosol Science and Technology*, 49(4), pp. 210–219. doi: 10.1080/02786826.2015.1017040.

Han, T. and Mainelis, G. (2008) 'Design and development of an electrostatic sampler for bioaerosols with high concentration rate', *Journal of Aerosol Science*, 39(12), pp. 1066–1078. doi: 10.1016/j.jaerosci.2008.07.009.

- Han, T. and Mainelis, G. (2012) 'Investigation of inherent and latent internal losses in liquid-based bioaerosol samplers', *Journal of Aerosol Science*. Elsevier, 45, pp. 58–68. doi: 10.1016/j.jaerosci.2011.11.001.
- Han, T. T., Thomas, N. M. and Mainelis, G. (2018) 'Performance of personal electrostatic bioaerosol sampler (PEBS) when collecting airborne microorganisms', *Journal of Aerosol Science*. Elsevier Ltd, 124(July), pp. 54–67. doi: 10.1016/j.jaerosci.2018.07.004.
- Haque, F., De Visscher, A. and Sen, A. (2012) 'Critical Reviews in Environmental Science and Technology Biofiltration for BTEX Removal', *Environmental Science and Technology*, 42, pp. 2648–2692. doi: 10.1080/10643389.2011.592764.
- Harrison, R. M. *et al.* (2005) 'Climate factors influencing bacterial count in background air samples', pp. 167–178. doi: 10.1007/s00484-004-0225-3.
- Hartung, J., Stratmann-Selke, J. and Clauss, M. (2011) 'Efficiency of a bioscrubber/biofilter combination to reduce air pollutants from exhaust air of a piggery-techniques, efficiency, costs', *Engineers Australia*. Society for Engineering in Agriculture Conference: Diverse Challenges, Innovative Solutions, pp. 226–235.
- Haumacher, R., Philipp, W. and Böhm, R. (2005) 'Bioaerosols from composting - quantitative measurements on biofilters and non-thermal plasma technology', *Isah 2005*, 2, pp. 276–278.
- Healy, D. A. *et al.* (2014) 'Ambient measurements of biological aerosol particles near Killarney, Ireland: A comparison between real-time fluorescence and microscopy techniques', *Atmospheric Chemistry and Physics*, 14(15), pp. 8055–8069. doi: 10.5194/acp-14-8055-2014.
- Heinonen-Tanski, H., Reponen, T. and Koivunen, J. (2009) 'Airborne enteric coliphages and bacteria in sewage treatment plants', *Water Research*. Elsevier Ltd, 43(9), pp. 2558–2566. doi: 10.1016/j.watres.2009.03.006.
- Heldal, K. K. *et al.* (2003) 'Upper airway inflammation in waste handlers exposed to bioaerosols', *Occupational and Environmental Medicine*, 60(6), pp. 444–450. doi: 10.1136/oem.60.6.444.
- Herrero, A. D. *et al.* (2006) 'Study of airborne fungal spores in Madrid, Spain', *Aerobiologia*, 22(2), pp. 135–142. doi: 10.1007/s10453-006-9025-z.

Hinds, W. C. (1999) *Aerosol Technology: Properties, Behavior, and Measurement of Airborne Particles*. New York: John Wiley & Sons, Inc.

Ho, K. L. *et al.* (2008) 'Microbial populations analysis and field application of biofilter for the removal of volatile-sulfur compounds from swine wastewater treatment system', *Journal of Hazardous Materials*, 152(2), pp. 580–588. doi: 10.1016/j.jhazmat.2007.07.021.

Hours, M. (2003) 'Etat des connaissances sur les micro-organismes dans la filière déchets'.

Hryhorczuk, D. *et al.* (2001) 'Bioaerosol emissions from a suburban yard waste composting facility', *Wiadomosci Parazytologiczne*, 8(October), pp. 177–185.

Huang, C. Y. *et al.* (2002) 'The seasonal distribution of bioaerosols in municipal landfill sites: A 3-yr study', *Atmospheric Environment*, 36(27), pp. 4385–4395. doi: 10.1016/S1352-2310(02)00322-9.

Ibanga, I. E. *et al.* (2018) 'Pilot-scale biofiltration at a materials recovery facility : The impact on bioaerosol control', *Waste Management*. Elsevier Ltd, 80, pp. 154–167. doi: 10.1016/j.wasman.2018.09.010.

Ifremer (2009) 'Principe de l'amplification par PCR', *Bibliomer*, pp. 1–4.

INRS (2006) *ED 4265 Oxydation biologique*.

INRS (2013) *Station d'épuration des eaux usées : Prévention des risques biologiques*.

Institut Cochin (2018) *Introduction a la PCR quantitative en temps réel*. Available at: [https://www.institutcochin.fr/core\\_facilities/genome-sequencing-studies/pcr-quantitative/la-theorie-de-la-pcr-quantitative/files/Introduction-a-la-PCR-quantitative.pdf](https://www.institutcochin.fr/core_facilities/genome-sequencing-studies/pcr-quantitative/la-theorie-de-la-pcr-quantitative/files/Introduction-a-la-PCR-quantitative.pdf) (Accessed: 20 September 2018).

Institut Pasteur (2018a) *Aspergillose*. Available at: <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/aspergillose> (Accessed: 21 September 2018).

Institut Pasteur (2018b) *Légionellose*. Available at: <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/legionellose> (Accessed: 21 September 2018).

Iranpour, R. *et al.* (2005) 'Literature review of air pollution control biofilters and biotrickling filters for odor and volatile organic compound removal', *Environmental Progress*, 24(3), pp. 254–267. doi: 10.1002/ep.10077.

- Irvine, R. L. and Moe, W. M. (2001) 'Period biofilter operation for enhanced performance during unsteady-state loading conditions', *Water Science and Technology*, 43(3), pp. 231–239.
- Israeli, E., Shaffer, B. T. and Lighthart, B. (1993) 'Protection of freeze-dried escherichia coli by trehalose upon exposure to environmental conditions.', *Cryobiology*, (30), pp. 519–523.
- Jiang, W. *et al.* (2015) 'Optimized DNA extraction and metagenomic sequencing of airborne microbial communities', *Nature Protocols*. Nature Publishing Group, 10(5), pp. 768–779. doi: 10.1038/nprot.2015.046.
- Jin, Y., Veiga, M. C. and Kennes, C. (2005) 'Bioprocesses for the removal of nitrogen oxides from polluted air Keywords ':', *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 80(5), pp. 483–494. doi: 10.1002/jctb.1260.
- Jones, A. M. and Harrison, R. M. (2004) 'The effects of meteorological factors on atmospheric bioaerosol concentrations - A review', *Science of the Total Environment*, 326(1–3), pp. 151–180. doi: 10.1016/j.scitotenv.2003.11.021.
- Van Kampen, V. *et al.* (2016) 'Effects of bioaerosol exposure on respiratory health in compost workers: A 13-year follow-up study', *Occupational and Environmental Medicine*, 73(12), pp. 829–837. doi: 10.1136/oemed-2016-103692.
- Karra, S. and Katsivela, E. (2007) 'Microorganisms in bioaerosol emissions from wastewater treatment plants during summer at a Mediterranean site', *Water Research*, 41(6), pp. 1355–1365. doi: 10.1016/j.watres.2006.12.014.
- Katial, R. K. *et al.* (1997) 'Atmospheric mold spore counts in relation to meteorological parameters', pp. 17–22.
- Keer, J. T. and Birch, L. (2003) 'Molecular methods for the assessment of bacterial viability', *Journal of Microbiological Methods*, 53(2), pp. 175–183. doi: 10.1016/S0167-7012(03)00025-3.
- Kellogg, C. A. and Griffin, D. W. (2006) 'Aerobiology and the global transport of desert dust', *Trends in Ecology and Evolution*, 21(11), pp. 638–644. doi: 10.1016/j.tree.2006.07.004.
- Kim, K. H., Kabir, E. and Kabir, S. (2015) 'A review on the human health impact of airborne particulate matter', *Environment International*. Elsevier Ltd, 74(January), pp. 136–143. doi: 10.1016/j.envint.2014.10.005.

- Kim, K., Kabir, E. and Jahan, S. A. (2017) 'Airborne bioaerosols and their impact on human health', *Journal of Environmental Sciences*, 7, pp. 1–13. doi: 10.1016/j.jes.2017.08.027.
- Konishi, T. *et al.* (2006) 'Influence of temperature on growth of *Legionella pneumophila* biofilm determined by precise temperature gradient incubator', *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101(6), pp. 478–484. doi: 10.1263/jbb.101.478.
- Korzeniewska, E. *et al.* (2009) 'Determination of emitted airborne microorganisms from a BIO-PAK wastewater treatment plant', *Water Research*, 43(11), pp. 2841–2851. doi: 10.1016/j.watres.2009.03.050.
- Korzeniewska, E. (2011) 'Emission of bacteria and fungi in the air from wastewater treatment plants—a review', *Frontiers in Bioscience S*, 3, pp. 393–407.
- Kraakman, N. J. R. B. (2003) 'Robustness of a full-scale biological system treating industrial CS<sub>2</sub> emissions', *Environmental Progress*, 22(2), pp. 79–85. doi: 10.1002/ep.670220209.
- Kulkarni, P., Baron, P. A. and Willeke, K. (eds) (2011) *Aerosol Measurement*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Kumar Sharma, A., Wallin, H. and Alstrup Jensen, K. (2007) 'High volume electrostatic field-sampler for collection of fine particle bulk samples', *Atmospheric Environment*, 41(2), pp. 369–381. doi: 10.1016/j.atmosenv.2006.07.034.
- Kwon, S. B., Kim, M. C. and Lee, K. W. (2002) 'Effects of jet configuration on the performance of multi-nozzle impactors', *Journal of Aerosol Science*, 33(6), pp. 859–869. doi: 10.1016/S0021-8502(02)00040-X.
- Langer, V. *et al.* (2012) 'Rapid quantification of bioaerosols containing *L. pneumophila* by Coriolis air sampler and chemiluminescence antibody microarrays', *Journal of Aerosol Science*. Elsevier, 48, pp. 46–55. doi: 10.1016/j.jaerosci.2012.02.001.
- Lavoie, J. *et al.* (2015) 'Evaluation of bioaerosol exposures during hospital bronchoscopy examinations', *Environmental Science: Processes & Impacts*, 1. doi: 10.1093/oxfordhb/9780199941339.013.3.
- Van Leuken, J. P. G. *et al.* (2016) 'Atmospheric dispersion modelling of bioaerosols that are pathogenic to humans and livestock - A review to inform risk assessment studies', *Microbial Risk Analysis*. Elsevier Ltd., 1, pp. 19–39. doi: 10.1016/j.mran.2015.07.002.

Lewis, E. R. and Schwartz, S. E. (2004) *Sea Salt Aerosol Production: Mechanisms, Methods, Measurements and Models - A Critical Review* *Ernie*. Edited by American Geophysical Union. Washington: AGU Books Board.

Li, C.-S. (1999) 'Sampling Performance of Impactors for Bacterial Bioaerosols', *Aerosol Science & Technology*, 30(3), pp. 280–287. doi: 10.1080/027868299304633.

Li, J. *et al.* (2016) 'Bioaerosol emissions and detection of airborne antibiotic resistance genes from a wastewater treatment plant', *Atmospheric Environment*, 124. doi: 10.1016/j.atmosenv.2015.06.030.

Li, M. *et al.* (2011) 'Concentration and size distribution of bioaerosols in an outdoor environment in the Qingdao coastal region', *Science of the Total Environment*. Elsevier B.V., 409(19), pp. 3812–3819. doi: 10.1016/j.scitotenv.2011.06.001.

Liao, C. M. *et al.* (2004) 'Temporal/seasonal variations of size-dependent airborne fungi indoor/outdoor relationships for a wind-induced naturally ventilated airspace', *Atmospheric Environment*, 38(26), pp. 4415–4419. doi: 10.1016/j.atmosenv.2004.04.029.

Liao, C. M. and Luo, W. C. (2005) 'Use of temporal/seasonal- and size-dependent bioaerosol data to characterize the contribution of outdoor fungi to residential exposures', *Science of the Total Environment*, 347(1–3), pp. 78–97. doi: 10.1016/j.scitotenv.2004.12.036.

Lighthart, B. (1997) 'Ecology of bacteria in the alfresco atmosphere', *FEMS microbiology ecology*, 23(FEMS Microbiology Ecology 23), pp. 263–274.

Lighthart, B. *et al.* (2004) *Meteorological variables associated with population density of culturable atmospheric bacteria at a summer site in the mid-willamette river valley, oregon*.

Lighthart, B. and Shaffer, B. T. (1994) 'Bacterial flux from chaparral into the atmosphere in mid-summer at a high desert location', *Atmospheric Environment*, 28(7), pp. 1267–1274. doi: 10.1016/1352-2310(94)90273-9.

Lin, W.-H. (1999a) 'Collection efficiency and culturability of impingement into a liquid for bioaerosols of fungal spores and yeast cells', *Aerosol Science and Technology*, 30(2), pp. 109–118. doi: 10.1080/027868299304714.

- Lin, W.-H. (1999b) 'Evaluation of Impingement and Filtration Methods for Yeast Bioaerosol Sampling', *Aerosol Science and Technology*, 30(2), pp. 119–126. doi: 10.1080/027868299304723.
- Lin, W.-H. and Li, C.-S. (1998) 'The Effect of Sampling Time and Flow Rates on the Bioefficiency of Three Fungal Spore Sampling Methods', *Aerosol Science and Technology*, 28(6), pp. 511–522. doi: 10.1080/02786829808965542.
- Lin, X. *et al.* (1997) 'Effect of Sampling Time on the Collection Efficiency of All-Glass Impingers', *American Industrial Hygiene Association Journal*, Volume 58(Issue 7), pp. 480–488.
- Lin, X. *et al.* (1999) 'Long-term sampling of airborne bacteria and fungi into a non-evaporating liquid', *Atmospheric Environment*, 33(26), pp. 4291–4298. doi: 10.1016/S1352-2310(99)00169-7.
- Lin, X. *et al.* (2000) 'Survival of Airborne Microorganisms During Swirling Aerosol Collection', *Aerosol Science and Technology*, 32(3), pp. 184–196. doi: 10.1080/027868200303722.
- Lugauskas, A., Krikštaponis, A. and Šveistyte, L. (2004) 'Airborne fungi in industrial environments - Potential agents of respiratory diseases', *Annals of Agriculture and Environmental Medicine*, 11(1), pp. 19–25. doi: 1119 [pii] ET - 2004/07/09.
- Madsen, a. M. and Sharma, a. K. (2008) 'Sampling of high amounts of bioaerosols using a high-volume electrostatic field sampler', *Annals of Occupational Hygiene*, 52(3), pp. 167–176. doi: 10.1093/annhyg/men004.
- Magarotto, E. (2004) 'Cours de Régulation'. Available at: [https://magarotto.users.greyc.fr/pdf/Final-CM\\_Regul.pdf](https://magarotto.users.greyc.fr/pdf/Final-CM_Regul.pdf).
- Mainelis, G. (1999) 'Collection of Airborne Microorganisms by Electrostatic Precipitation', *Aerosol Science and Technology*, 30(2), pp. 127–144. doi: 10.1080/027868299304732.
- Mainelis, G. *et al.* (2001) 'Electrical charges on airborne microorganisms', *Journal of Aerosol Science*, 32(9), pp. 1087–1110. doi: 10.1016/S0021-8502(01)00039-8.
- Mainelis, G., Adhikari, A., *et al.* (2002) 'Collection of airborne microorganisms by a new electrostatic precipitator', *Journal of Aerosol Science*, 33(10), pp. 1417–1432. doi: 10.1016/S0021-8502(02)00091-5.

- Mainelis, G., Willeke, K., Adhikari, A., *et al.* (2002) 'Design and Collection Efficiency of a New Electrostatic Precipitator for Bioaerosol Collection', *Aerosol Science and Technology*, 36(11), pp. 1073–1085. doi: 10.1080/02786820290092212.
- Mainelis, G., Willeke, K., Baron, P., *et al.* (2002) 'Induction Charging and Electrostatic Classification of Micrometer-Size Particles for Investigating the Electrobiological Properties of Airborne Microorganisms', *Aerosol Science and Technology*, 36(December 2013), pp. 479–491. doi: 10.1080/027868202753571304.
- Mainelis, G. and Tabayoyong, M. (2010) 'The Effect of Sampling Time on the Overall Performance of Portable Microbial Impactors', *Aerosol Science and Technology*, 44(1), pp. 75–82. doi: 10.1080/02786820903390372.
- Małacka-Adamowicz, M., Kaczanowska, J. and Donderski, W. (2007) 'The Impact of a Landfill Site in Żółwin – Wypaleniska on the Microbiological Quality of the Air', *Polish J. of Environ.*, (January).
- Malhautier, L. *et al.* (2005) 'Biofiltration of volatile organic compounds', *Applied Microbiology and Biotechnology*, 68(1), pp. 16–22. doi: 10.1007/s00253-005-1960-z.
- Malhautier, L. *et al.* (2017) 'Influence of key physicochemical and hydrodynamic specifications of three packing materials on both performance and bacterial community structure of gas-biofilters', *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 92(9), pp. 2317–2324. doi: 10.1002/jctb.5230.
- Malhautier, L., Renner, C. and Fanlo, J. L. (2010) 'Physicochemical and hydrodynamic characterisation of various packing materials for biofiltration', pp. 1–9.
- Mandryk, J., Alwis, K. U. and Hocking, A. D. (2000) 'Effects of Personal Exposures on Pulmonary Function and Work-related Symptoms Among Sawmill', *Ann. occup. Hyg.*, 44(4), pp. 281–289.
- Manninen, H. E. *et al.* (2014) 'Patterns in airborne pollen and other primary biological aerosol particles (PBAP), and their contribution to aerosol mass and number in a boreal forest', *Boreal Environment Research*, 19(September), pp. 383–405.
- Maron, P. A. *et al.* (2005) 'Assessing genetic structure and diversity of airborne bacterial communities by DNA fingerprinting and 16S rDNA clone library', *Atmospheric Environment*, 39(20), pp. 3687–3695. doi: 10.1016/j.atmosenv.2005.03.002.

- Marple, V. A. and Olson, B. A. (2011) 'Sampling and Measurement Using Inertial, Gravitational, Centrifugal and Thermal Techniques', in Baron, P. A., Willeke, K., and Kulkarni, P. (eds) *Aerosol Measurement: Principles, Techniques and Applications*. New York: John Wiley.
- Marple, V., Rubow, K. L. and Olson, B. (1993) 'Inertial, Gravitational, Centrifugal, and Thermal Collection Techniques', in *Aerosol Measurement: principles, techniques, and applications*, pp. 209–229.
- Martens, W *et al.* (2001) 'Reduction potential of microbial, odour and ammonia emissions from a pig facility by biofilters.', *International journal of hygiene and environmental health*, 203(4), pp. 335–345. doi: 10.1078/1438-4639-00035.
- Martens, Wolfram *et al.* (2001) 'Reduction potential of microbial , odour and ammonia emissions from a pig facility by biofilters', *Int. J. Hyg. Environ. Health*, 345, pp. 335–345.
- Martinon, L. (1991) *Etude des emissions de poussières atmosphériques d'un incinérateur d'ordures ménagères. Caractérisation chimique et granulométrique. Etude des retombées*.
- Melse, R. W., Ogink, N. W. M. and Rulkens, W. H. (2009) *Air Treatment Techniques for Abatement of Emissions from Intensive Livestock Production*, *The Open Agriculture Journal*. doi: 10.2174/1874331500903010006.
- Michigan, U. of (2007) 'Chemical Process Dynamics and Controls Book I', p. 764.
- Modini, R. L., Harris, B. and Ristovski, Z. D. (2010) 'The organic fraction of bubble-generated, accumulation mode Sea Spray Aerosol (SSA)', *Atmospheric Chemistry and Physics*, 10(6), pp. 2867–2877. doi: 10.5194/acp-10-2867-2010.
- Moletta, M. (2005) 'Caractérisation de la diversité microbienne aéroportée des biogaz', *Sciences-New York*.
- Mouli, P. C., Mohan, S. V. and Reddy, S. J. (2005) 'Assessment of microbial (bacteria) concentrations of ambient air at semi-arid urban region: influence of meteorological factors.', *Appl. Ecol. Environ. Res.*, 3(2), pp. 139–149.
- Muñoz, R. *et al.* (2015) 'Biological technologies for the treatment of atmospheric pollutants', *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 95(10), pp. 950–967. doi: 10.1080/03067319.2015.1055471.

- Muthukrishnan, T. *et al.* (2017) 'Evaluating the Reliability of Counting Bacteria Using Epifluorescence Microscopy', *Journal of Marine Science and Engineering*, 5(1), p. 4. doi: 10.3390/jmse5010004.
- Nehme, B. *et al.* (2008) 'Culture-independent approach of the bacterial bioaerosol diversity in the standard swine confinement buildings, and assessment of the seasonal effect', *Environmental Microbiology*, 10(3), pp. 665–675. doi: 10.1111/j.1462-2920.2007.01489.x.
- Nesa, D. *et al.* (2001) 'Comparative performance of impactor air samplers for quantification of fungal contamination', *Journal of Hospital Infection*, 47(2), pp. 149–155. doi: 10.1053/jhin.2000.0883.
- Niu, H. and Leung, D. Y. C. (2010) 'A review on the removal of nitrogen oxides from polluted flow by bioreactors', *Environmental Reviews*, 18, pp. 175–189. doi: 10.1139/A10-007.
- Oliver, J. D. (2005) 'The viable but nonculturable state in bacteria.', *Journal of microbiology (Seoul, Korea)*, 43 Spec No(February), pp. 93–100. doi: 2134 [pii].
- Ottengraf, S. P. P. and Konings, J. H. G. (1991) 'Emission of Microorganisms From Biofilters', *Bioprocess Engineering*, 7(1–2), pp. 89–96.
- Oudart, D. (2013) 'Modélisation de la stabilisation de la matière organique et des émissions gazeuses au cours du compostage d'effluents d'élevage Didier Oudart To cite this version : HAL Id : tel-00935691'.
- Paba, E. *et al.* (2014) 'Exposure to airborne culturable microorganisms and endotoxin in two Italian poultry slaughterhouses', *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 11(7), pp. 469–478. doi: 10.1080/15459624.2013.877141.
- Paez-Rubio, T. *et al.* (2005) 'Source bioaerosol concentration and rRNA gene-based identification of microorganisms aerosolized at a flood irrigation wastewater reuse site', *Applied and Environmental Microbiology*, 71(2), pp. 804–810. doi: 10.1128/AEM.71.2.804-810.2005.
- Pahari, A. K. *et al.* (2016) 'Emission of bacterial bioaerosols from a composting facility in Maharashtra, India', *Waste Management*. Elsevier Ltd, 53, pp. 22–31. doi: 10.1016/j.wasman.2016.04.027.

Palmgren, U. *et al.* (1986) 'Collection of airborne micro-organisms on Nuclepore filters, estimation and analysis--CAMNEA method.', *The Journal of applied bacteriology*, 61(5), pp. 401–406. doi: 10.1111/j.1365-2672.1986.tb04303.x.

Parenteral Drug Association (PDA) (2000) 'TR33 - Evaluation, Validation and Implementation of New Microbiological Testing Methods', *PDA J Pharm Sci Technol*, 54(3).

Park, J.-W. *et al.* (2015) 'Fast Monitoring of Indoor Bioaerosol Concentrations with ATP Bioluminescence Assay Using an Electrostatic Rod-Type Sampler', *Plos One*, 10(5), p. e0125251. doi: 10.1371/journal.pone.0125251.

Pascual, L. *et al.* (2003) 'Bioaerosol emission from wastewater treatment plants', *Aerobiologia*, 19(3–4), pp. 261–270. doi: 10.1023/B:AERO.0000006598.45757.7f.

Pearson, C. *et al.* (2015) 'Exposures and health outcomes in relation to bioaerosol emissions from composting facilities: a systematic review of occupational and community studies.', *Journal of toxicology and environmental health. Part B, Critical reviews*. Taylor & Francis, 18(1), pp. 43–69. doi: 10.1080/10937404.2015.1009961.

Peccia, J. *et al.* (2001) 'Effects of Relative Humidity on the Ultraviolet Induced Inactivation of Airborne Bacteria', *Aerosol Science & Technology I*, 35, pp. 728–740. doi: 10.1080/02786820152546770.

Peccia, J. and Hernandez, M. (2006) 'Incorporating polymerase chain reaction-based identification, population characterization, and quantification of microorganisms into aerosol science: A review', *Atmospheric Environment*, 40(21), pp. 3941–3961. doi: 10.1016/j.atmosenv.2006.02.029.

Petit, N. and Rouchon, P. (2015) 'Automatique Dynamique et contrôle des systèmes'.

Pitkäranta, M. *et al.* (2008) 'Analysis of fungal flora in indoor dust by ribosomal DNA sequence analysis, quantitative PCR, and culture', *Applied and Environmental Microbiology*, 74(1), pp. 233–244. doi: 10.1128/AEM.00692-07.

Poitras, E. and Houde, A. (2002) 'La PCR en temps réel: principes et applications', *Reviews in Biology and Biotechnology*, 2(2), pp. 2–11.

- Polymenakou, P. N. *et al.* (2008) 'Particle size distribution of airborne microorganisms and pathogens during an intense African dust event in the eastern Mediterranean', *Environmental Health Perspectives*, 116(3), pp. 292–296. doi: 10.1289/ehp.10684.
- Ponce-Caballero, C. *et al.* (2013) 'Seasonal variation of airborne fungal propagules indoor and outdoor of domestic environments in Mérida, Mexico', *Atmosfera*, 26(3), pp. 369–377. doi: 10.1016/S0187-6236(13)71083-X.
- Pope, C. A. *et al.* (2002) 'Lung Cancer, Cardiopulmonary Mortality, and Long-term Exposure to Fine Particulate Air Pollution', *The Journal of the American Medical Association*, 287(9), pp. 1132–1141. doi: 10.1001/jama.287.9.1132.
- Pope, C. A. *et al.* (2004) 'Cardiovascular Mortality and Long-Term Exposure to Particulate Air Pollution: Epidemiological Evidence of General Pathophysiological Pathways of Disease', *Circulation*, 109(1), pp. 71–77. doi: 10.1161/01.CIR.0000108927.80044.7F.
- Pope, C. A. I. *et al.* (1995) 'Particulate Air Pollution as a Predictor of Mortality in a Prospective Study of U.S. Adults', *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 151, pp. 669–674. doi: 10.1164/ajrccm/151.3\_Pt\_1.669.
- Pré, P. *et al.* (2004) *Bioprocédés en traitement de l'air - Mise en œuvre*.
- Predicala, B. Z. *et al.* (2002) 'Assessment of bioaerosols in swine barns by filtration and impaction', *Current Microbiology*, 44(2), pp. 136–140. doi: 10.1007/s00284-001-0064-y.
- Prussin, A. J. *et al.* (2014) 'Monitoring the Long-Distance Transport of *Fusarium graminearum* from Field-Scale Sources of Inoculum', *Plant Disease*, 98(4), pp. 504–511. doi: 10.1094/PDIS-06-13-0664-RE.
- Radosevich, J. L. *et al.* (2002) 'Development of a high-volume aerosol collection system for the identification of air-borne micro-organisms', *Letters in Applied Microbiology*, 34(3), pp. 162–167. doi: 10.1046/j.1472-765x.2002.01048.x.
- Ranalli, G., Principi, P. and Sorlini, C. (2000) 'Bacterial aerosol emission from wastewater treatment plants: Culture methods and bio-molecular tools', *Aerobiologia*, 16(1), pp. 39–46. doi: 10.1023/A:1007656414770.

- Riemenschneider, L. *et al.* (2010) 'Characterization of reaerosolization from impingers in an effort to improve airborne virus sampling', *Journal of Applied Microbiology*, 108(1), pp. 315–324. doi: 10.1111/j.1365-2672.2009.04425.x.
- Rimac, D. *et al.* (2010) 'Exposure to poultry dust and health effects in poultry workers: Impact of mould and mite allergens', *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 83(1), pp. 9–19. doi: 10.1007/s00420-009-0487-5.
- Rondeau, A. (2013) *Compréhension du fonctionnement biologique et physico-chimique d'un biofiltre végétalisé pour le traitement de polluants atmosphériques urbains gazeux* To cite this version : HAL Id : tel-01266052. Université Claude Bernard - Lyon I.
- Roux, J.-M. *et al.* (2013) 'Investigation of a New Electrostatic Sampler for Concentrating Biological and Non-Biological Aerosol Particles', *Aerosol Science and Technology*, 47(5), pp. 463–471. doi: 10.1080/02786826.2013.763896.
- Sabino, R. *et al.* (2012) 'Occupational exposure to aspergillus by swine and poultry farm workers in portugal', *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues*, 75(22–23), pp. 1381–1391. doi: 10.1080/15287394.2012.721170.
- Sahu, A., Grimberg, S. J. and Holsen, T. M. (2005) 'A static water surface sampler to measure bioaerosol deposition and characterize microbial community diversity', *Journal of Aerosol Science*, 36(5–6), pp. 639–650. doi: 10.1016/j.jaerosci.2004.10.001.
- Sánchez-Monedero, M. a. *et al.* (2008) 'Effect of the aeration system on the levels of airborne microorganisms generated at wastewater treatment plants', *Water Research*, 42(14), pp. 3739–3744. doi: 10.1016/j.watres.2008.06.028.
- Sanchez-Monedero, M. A., Stentiford, E. I. and Mondini, C. (2003) 'Biofiltration at composting facilities: Effectiveness for bioaerosol control', *Environmental Science and Technology*, 37(18), pp. 4299–4303. doi: 10.1021/es0202309.
- Savage, N. *et al.* (2017) 'Systematic Characterization and Fluorescence Threshold Strategies for the Wideband Integrated Bioaerosol Sensor (WIBS) Using Size-Resolved Biological and Interfering Particles', *Atmospheric Measurement Techniques*, (June), pp. 1–41.

Schlegelmilch, M. *et al.* (2005) 'The potential to reduce emissions of airborne microorganisms by means of biological waste gas treatment systems', *Waste Management*, 25(9), pp. 955–964. doi: 10.1016/j.wasman.2005.07.012.

Schlegelmilch, M., Herold, T. and Stegmann, R. (2005) 'The potential to reduce emissions of airborne microorganisms by means of biological waste gas treatment systems', *Waste Management*, 25, pp. 955–964. doi: 10.1016/j.wasman.2005.07.012.

Schlosser, O. *et al.* (2009) 'Bioaerosol in composting facilities: occupational health risk assessment.', *Water environment research : a research publication of the Water Environment Federation*, 81(9), pp. 866–877. doi: 10.2175/106143009x407258.

Schlosser, O. *et al.* (2012) 'Protection of the vehicle cab environment against bacteria, fungi and endotoxins in composting facilities', *Waste Management*. Elsevier Ltd, 32(6), pp. 1106–1115. doi: 10.1016/j.wasman.2012.01.013.

Schlünssen, V. *et al.* (2011) 'Does the use of biofuels affect respiratory health among male Danish energy plant workers?', *Occupational and Environmental Medicine*, 68(7), pp. 467–473. doi: 10.1136/oem.2009.054403.

Seborg, D. E. *et al.* (2010) 'Process Dynamics and Control', p. 732.

Seedorf, J. and Hartung, J. (1999) 'Reduction efficiencies of a biofilter and a bio-scrubber as bio-aerosols in two piggeries', *Berliner und Munchener tierarztliche Wochenschrift*, 112(12), p. 444–447.

Seedorf, J. and Hartung, J. (2002) 'Reduction efficiency of a container-based biofilter for bioaerosols from a broiler house', *Animal Production Australia*, 24(2001), pp. 205–208.

Seshadri, S. *et al.* (2009) 'Application of ATP bioluminescence method to characterize performance of bioaerosol sampling devices', *Journal of Aerosol Science*, 40(2), pp. 113–121. doi: 10.1016/j.jaerosci.2008.10.002.

Shaffer, B. T. and Lighthart, B. (1997) 'Survey of Culturable Airborne Bacteria at Four Diverse Locations in Oregon: Urban, Rural, Forest, and Coastal', pp. 167–177.

- Song, J. H. and Kinney, K. A. (2000) 'Effect of vapor-phase bioreactor operation on biomass accumulation, distribution, and activity: Linking biofilm properties to bioreactor performance', *Biotechnology and Bioengineering*, 68(5), pp. 508–516. doi: 10.1002/(SICI)1097-0290(20000605)68:5<508::AID-BIT4>3.0.CO;2-P.
- Soret, R. *et al.* (2018) 'Investigation of Removal Capacities of Biofilters for Airborne Viable Micro-Organisms', *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(3), p. 551.
- Stewart, S. L. *et al.* (1995) 'Effect of impact stress on microbial recovery on an agar surface', *Applied and Environmental Microbiology*, 61(4), pp. 1232–1239.
- Swanson, W. J. and Loehr, R. C. (1997) 'Biofiltration: fundamentals, design and operations, and applications.', *J Environ Eng*, 123, pp. 538–546. doi: 10.1061/(ASCE)0733-9372(1997)123:6(538).
- Taatjes, D. J. and Roth, J. (2015) *Cell imaging Techniques, Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*. doi: 10.1007/978-1-4939-1164-6\_6.
- Taha, M. P. M. *et al.* (2006) 'Bioaerosol releases from compost facilities : Evaluating passive and active source terms at a green waste facility for improved risk assessments', 40, pp. 1159–1169. doi: 10.1016/j.atmosenv.2005.11.010.
- Tarigan, Y. G. *et al.* (2017) 'Fungal bioaerosol exposure and its effects on the health of mushroom and vegetable farm workers in Taiwan', *Aerosol and Air Quality Research*, 17(8), pp. 2064–2075. doi: 10.4209/aaqr.2016.09.0401.
- Taylor, P. and Zhao, Y. (2013) 'Inactivation of airborne *Enterococcus faecalis* and infectious bursal disease virus using a pilot-scale ultraviolet photocatalytic oxidation scrubber', *Journal of the Air & Waste Management Association*, pp. 38–46. doi: 10.1080/10962247.2013.831800.
- Teixeira, J. V. *et al.* (2013) 'Assessment of indoor airborne contamination in a wastewater treatment plant', *Environmental Monitoring and Assessment*, 185(1), pp. 59–72. doi: 10.1007/s10661-012-2533-0.

- Terrat, S. *et al.* (2015) 'Meta-barcoded evaluation of the ISO standard 11063 DNA extraction procedure to characterize soil bacterial and fungal community diversity and composition', *Microbial Biotechnology*, 8(1), pp. 131–142. doi: 10.1111/1751-7915.12162.
- Therkorn, J., Thomas, N., Calderón, L., *et al.* (2017) 'Design and development of a passive bioaerosol sampler using polarized ferroelectric polymer film', *Journal of Aerosol Science*. Elsevier, 105(November 2016), pp. 128–144. doi: 10.1016/j.jaerosci.2016.12.002.
- Therkorn, J., Thomas, N., Scheinbeim, J., *et al.* (2017) 'Field performance of a novel passive bioaerosol sampler using polarized ferroelectric polymer films', *Aerosol Science and Technology*. Taylor & Francis, 51(7), pp. 787–800. doi: 10.1080/02786826.2017.1316830.
- Therkorn, J. H. and Mainelis, G. (2013) 'Effect of Agar Plate Volume on Accuracy of Culturable Bioaerosol Impactors', *Aerosol Science and Technology*, 47(12), pp. 1353–1362. doi: 10.1080/02786826.2013.842954.
- Thompson, M. W. *et al.* (1994) 'METHOD AND TEST SYSTEM FOR EVALUATION OF BIOAEROSOL SAMPLERS', *Science*, 25(8), pp. 1579–1593.
- Thorne, P. S. *et al.* (1992) 'Comparison of bioaerosol sampling methods in barns housing swine', *Applied and Environmental Microbiology*, 58(8), pp. 2543–2551.
- Tilley, R. I., Ho, J. and Eamus, D. (2001) 'Background Bioaerosols and Aerosols at Two Sites in Northern Australia: Preliminary Measurements', *Departement of defence*, p. 99. doi: 10.1016/0022-460X(71)90105-2.
- Tilmatine, A. (2010) 'Decharge couronne', *Cours Décharge Couronne*, pp. 1–7.
- Tong, Y. and Lightharp, B. (1997) 'Research Note Solar Radiation Is Shown to Select for Pigmented Bacteria in the Ambient Outdoor Atmosphere', *Photochemistry and Photobiology*, 65, pp. 103–106.
- Tong, Y. and Lighthart, B. (1999) 'Diurnal distribution of total and culturable atmospheric bacteria at a rural site', *Aerosol Science and Technology*, 30(2), pp. 246–254. doi: 10.1080/027868299304822.
- Tringe, S. G. *et al.* (2008) 'The airborne metagenome in an indoor urban environment', *PLoS ONE*, 3(4). doi: 10.1371/journal.pone.0001862.

TSI (2014) 'BioTrak® real-time viable particle counter sample and collection efficiency', *Application note CC-104*, pp. 1–7. Available at: <http://www.tsi.com/Forms/BioTrak-Application-Note-Sample-Collection-Efficiency.aspx>.

TSI (2016) 'Microbial intervention-free continuous & monitoring', *TSI website*.

Tymczynna, L. *et al.* (2011) 'Removal of microbial contaminants from pig house air using biofilter organic media', *Annals of Animal Science*, 11(3), pp. 453–464.

USP (2013) 'USP General Chapter <1116> Microbiological Control and Monitoring of Aseptic Processing environments, 2013', 17(2), pp. 784–794.

USP (2015) *USP. 2015. <1223> Validation of Alternative Microbiological Methods*. Rockville, Maryland, USA: United States Pharmacopeial Convention.

Vasseur, J. (2014) 'Séchage : principes et calcul d'appareils - Séchage convectif par air chaud (partie 1)', *Techniques de l'Ingénieur*, 33(0).

Verhoeff, a P. *et al.* (1990) 'Enumeration and identification of airborne viable mould propagules in houses. A field comparison of selected techniques.', *Allergy*, 45(4), pp. 275–284.

Viegas, C. *et al.* (2016) 'Slaughterhouses fungal burden assessment: A contribution for the pursuit of a better assessment strategy', *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 13(3), pp. 1–11. doi: 10.3390/ijerph13030297.

Virgil, A. M. and Willeke, K. (1976) 'Impactor design', *Atmospheric Environment (1967)*, 17(5), p. 1029. doi: 10.1016/0004-6981(83)90258-5.

Vorholt, J. A. (2012) 'Microbial life in the phyllosphere', *Nature Publishing Group. Nature Publishing Group*, 10(12), pp. 828–840. doi: 10.1038/nrmicro2910.

Walser, S. M. *et al.* (2013) 'Assessing the environmental health relevance of cooling towers - A systematic review of legionellosis outbreaks', *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. Elsevier GmbH., 217(2–3), pp. 145–154. doi: 10.1016/j.ijheh.2013.08.002.

Walser, S. M. *et al.* (2015) 'Evaluation of exposure-response relationships for health effects of microbial bioaerosols - A systematic review', *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. Elsevier GmbH., 218(7), pp. 577–589. doi: 10.1016/j.ijheh.2015.07.004.

- Wang, Z. *et al.* (2001) 'Effect of sampling time and air humidity on the bioefficiency of filter samplers for bioaerosol collection', *Journal of Aerosol Science*, 32(5), pp. 661–674. doi: 10.1016/S0021-8502(00)00108-7.
- Weiland, P. (2010) 'Biogas production: Current state and perspectives', *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(4), pp. 849–860. doi: 10.1007/s00253-009-2246-7.
- Wéry, N. (2014) 'Bioaerosols from composting facilities: a review', *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 4(April), pp. 1–9. doi: 10.3389/fcimb.2014.00042.
- Whitman, W. B., Coleman, D. C. and Wiebe, W. J. (1998) 'Prokaryotes: the unseen majority', *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95(12), pp. 6578–6583. doi: 10.1073/pnas.95.12.6578.
- Wilken, J. A. *et al.* (2015) 'Coccidioidomycosis among workers constructing solar power farms, California, USA, 2011–2014', *Emerging Infectious Diseases*, 21(11), pp. 1997–2005. doi: 10.3201/eid2111.150129.
- Willeke, K., Lin, X. and Grinshpun, S. a. (1998) 'Improved Aerosol Collection by Combined Impaction and Centrifugal Motion', *Aerosol Science and Technology*, 28(February 2012), pp. 439–456. doi: 10.1080/02786829808965536.
- Wilson, T. W. *et al.* (2015) 'A marine biogenic source of atmospheric ice-nucleating particles', *Nature*, 525(7568), pp. 234–238. doi: 10.1038/nature14986.
- World Health Organization (2005) *Air Quality Guidelines, WHO Regional Office publication.*
- World Health Organization (2016) *WHO.* Available at: <http://www.who.int>.
- Wright, W. F. (2005) 'Transient response of vapor-phase biofilters', *Chemical Engineering Journal*, 113(2–3), pp. 161–173. doi: 10.1016/j.cej.2005.04.009.
- Wu, P. C., Su, H. J. and Ho, H. M. (2000) 'A comparison of sampling media for environmental viable fungi collected in a hospital environment.', *Environmental research*, 82(3), pp. 253–257. doi: 10.1006/enrs.1999.4017.
- Xu, H. S. *et al.* (1982) 'Survival and viability of nonculturable *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae* in the estuarine and marine environment', *Microbial Ecology*, 8(4), pp. 313–323. doi: 10.1007/BF02010671.

- Yao, M. *et al.* (2009) 'Comparison of electrostatic collection and liquid impinging methods when collecting airborne house dust allergens, endotoxin and (1,3)- $\beta$ -D-glucans', *Journal of Aerosol Science*, 40(6), pp. 492–502. doi: 10.1016/j.jaerosci.2009.02.002.
- Yao, M. and Mainelis, G. (2006a) 'Effect of physical and biological parameters on enumeration of bioaerosols by portable microbial impactors', *Journal of Aerosol Science*, 37(11), pp. 1467–1483. doi: 10.1016/j.jaerosci.2006.06.005.
- Yao, M. and Mainelis, G. (2006b) 'Investigation of Cut-Off Sizes and Collection Efficiencies of Portable Microbial Samplers', *Aerosol Science and Technology*, 40(8), pp. 595–606. doi: 10.1080/02786820600729146.
- Yao, M. and Mainelis, G. (2006c) 'Utilization of natural electrical charges on airborne microorganisms for their collection by electrostatic means', *Journal of Aerosol Science*, 37(4), pp. 513–527. doi: 10.1016/j.jaerosci.2005.05.006.
- Yao, M. and Mainelis, G. (2007a) 'Analysis of portable impactor performance for enumeration of viable bioaerosols.', *Journal of occupational and environmental hygiene*, 4(7), pp. 514–524. doi: 10.1080/15459620701407388.
- Yao, M. and Mainelis, G. (2007b) 'Use of portable microbial samplers for estimating inhalation exposure to viable biological agents.', *Journal of exposure science & environmental epidemiology*, 17(1), pp. 31–38. doi: 10.1038/sj.jes.7500517.
- Yoo, K. *et al.* (2017) 'Molecular approaches for the detection and monitoring of microbial communities in bioaerosols: A review', *Journal of Environmental Sciences (China)*. Elsevier B.V., 51, pp. 234–247. doi: 10.1016/j.jes.2016.07.002.
- Zhao, Y. *et al.* (2008) 'Removal Efficiency of Dust and Bacteria by Multi-Stage Air Scrubbers in Pig Houses', (701), pp. 139–145.
- Zhao, Y. *et al.* (2010) 'Effectiveness of multi-stage scrubbers in reducing emissions of air pollutants from pig houses', *Transactions of the ASABE*. American Society of Agricultural Engineers, 54(1), pp. 285–293.
- Zhao, Y. *et al.* (2011) 'Investigation of the Efficiencies of Bioaerosol Samplers for Collecting Aerosolized Bacteria Using a Fluorescent Tracer. II: Sampling Efficiency and Half-Life Time', *Aerosol Science and Technology*, 45(3), pp. 432–442. doi: 10.1080/02786826.2010.543197.

Zhong, X. *et al.* (2016) 'Seasonal distribution of microbial activity in bioaerosols in the outdoor environment of the Qingdao coastal region', *Atmospheric Environment*. Elsevier Ltd, 140, pp. 506–513. doi: 10.1016/j.atmosenv.2016.06.034.

## Résumé

Les procédés biologiques sont parmi les techniques les plus efficaces pour traiter les pollutions organiques dans l'eau (STEP), l'air (Biofiltre, Biolaveur) et les solides (compostage). Leur utilisation s'est développée ces dernières années. Parallèlement, de nouvelles interrogations ont émergé concernant leurs possibles émissions de micro-organismes dans l'air. Dans le cadre du traitement de la pollution chimique de l'air les procédés de biofiltration sont de plus en plus utilisés de par leur relative simplicité et coût d'utilisation. Cependant, l'analyse de la littérature permet de souligner de nombreux manques dans les connaissances concernant leur émission de microorganismes.

L'objectif de ce travail de thèse est d'apporter des éléments de connaissances supplémentaires en regardant l'influence des paramètres opératoires sur les émissions de microorganismes. Pour ce travail une unité pilote impliquant 2 colonnes de biofiltration a été mise en œuvre. De plus, une méthode innovante pour caractériser les émissions a été utilisée. Ainsi, les particules viables ont été suivies grâce au compteur BioTrak. Cet appareil permet un suivi quasiment en temps réel du nombre de particules. Les capacités épuratoires des biofiltres pour les particules viables (PV) ont été démontrées en conditions stationnaires avec une visualisation sur l'effet de la saison. Une efficacité d'abattement en PV de  $72 \pm 17\%$  a été obtenue sur une période de 247 jours. Cette valeur a été maintenue lors des changements de saison et malgré des concentrations d'entrée fluctuantes. Ces performances ont également été constantes, lors de périodes d'arrêt de l'alimentation en polluants chimique de 12h, 48h et 30 jours (résistance du biofiltre). Une émission de particules viables a été relevée après 90 jours sans alimentation en polluant chimique. Des modifications de paramètres opératoires ont été opérées. L'influence positive sur les capacités épuratoires de l'arrêt de l'humidification de l'effluent a été montrée. Une approche cinétique a été utilisée pour caractériser le biofiltre à l'aide de perturbations sur la vitesse de passage de gaz et la concentration d'entrée en PV. En définissant le biofiltre comme un réacteur d'ordre 1 dont la réaction est l'abattement en particules, les résultats montrent que sa réponse est modélisable mathématiquement. Cela a permis de définir le biofiltre comme un système linéaire d'ordre 1, ce qui permet de mieux appréhender à l'avenir les réponses de ce dernier face à des perturbations.

## Abstract

Biological processes are among the most effective techniques for treating organic pollution in water (STEP), air (biofilters, bioscrubbers) and solids (composting). Their use has grown in recent years. At the same time, new questions have emerged concerning their possible emissions of micro-organisms into the air. As part of the treatment of chemical air pollution biofiltration processes are increasingly used by their relative simplicity and cost of use. However, the analysis of the literature allows to point out numerous gaps in the knowledge concerning their emission of microorganisms.

The aim of this thesis is to provide additional knowledge by looking at the influence of operating parameters on the emission of microorganisms. For this work, a pilot unit involving 2 biofiltration columns was implemented. In addition, an innovative method for characterizing emissions was used. Thus, the viable particles were monitored using the BioTrak counter. This device allows a near real-time tracking of the number of particles. The retention capabilities of biofilters for viable particles (PV) have been demonstrated under stationary conditions with visualization of the effect of the season. A PV removal efficiency of  $72 \pm 17\%$  was obtained over a period of 247 days. This value has been maintained during seasonal changes and despite fluctuating entry levels. These performances were also constant during periods of stopping the supply of chemical pollutants of 12h, 48h and 30 days (resistance of the biofilter). A viable particle emission was detected after 90 days without chemical pollutant feed. Changes in operating parameters have been made. The positive influence of the stoppage of the effluent's humidification on the removal capacities has been shown. A kinetic approach was used to characterize the biofilter using perturbations in gas flow rate and PV inlet concentration. By defining the biofilter as a first-order reactor whose reaction is the removal efficiency of PV, the results show that its response can be modeled mathematically. This allow to define the biofilter as a first-order linear system, which makes it possible to better understand the latter's responses to disturbances in the future.