

**Record Number:**

**Author, Monographic:** Couillard, D./Mercier, G./Tyagi, R. D.

**Author Role:**

**Title, Monographic:** Étude sur la solubilisation biologique des métaux lourds des boues anaérobies d'épuration pour fin de valorisation agricole. Tome I - Problématique des métaux lourds dans les boues résiduaires et revue de littérature sur les méthodes d'enlèvement de ces métaux

**Translated Title:**

**Reprint Status:**

**Edition:**

**Author, Subsidiary:**

**Author Role:**

**Place of Publication:** Québec

**Publisher Name:** INRS-Eau

**Date of Publication:** 1988

**Original Publication Date:** Novembre 1988

**Volume Identification:**

**Extent of Work:** vi, 328

**Packaging Method:** pages incluant un annexe

**Series Editor:**

**Series Editor Role:**

**Series Title:** INRS-Eau, Rapport de recherche

**Series Volume ID:** 262

**Location/URL:**

**ISBN:** 2-89146-259-9

**Notes:** Rapport annuel 1988-1989

**Abstract:** Rapport rédigé pour le Centre québécois de valorisation de la biomasse (CQVB)  
Avec R263 et R264 et R265

50.00\$

**Call Number:** R000262

**Keywords:** rapport/ ok/ dl

Tome I: Problématique des métaux lourds dans les boues résiduaires et revue de littérature sur les méthodes d'enlèvement de ces métaux

ÉTUDE SUR LA SOLUBILISATION BIOLOGIQUE  
DES MÉTAUX LOURDS DES BOUES ANAÉROBIES  
D'ÉPURATION POUR FIN DE VALORISATION AGRICOLE

Rapport scientifique No 262

Présenté au

Centre Québécois de Valorisation de la Biomasse

par

Couillard, Denis  
Mercier, Guy  
Tyagi, Rajeshwar Dayal

Institut national de la recherche scientifique (INRS-Eau)  
Université du Québec  
2700, rue Einstein - C.P. 7500  
Sainte-Foy (Québec)  
G1V 4C7

Novembre 1988

ÉTUDE SUR LA SOLUBILISATION BIOLOGIQUE  
DES MÉTAUX LOURDS DES BOUES ANAÉROBIES  
D'ÉPURATION POUR FIN DE VALORISATION AGRICOLE

Tome I: Problématique des métaux lourds dans les boues résiduaires et revue de littérature sur les méthodes d'enlèvement de ces métaux

Rapport scientifique No 262

Présenté au

Centre Québécois de Valorisation de la Biomasse

par

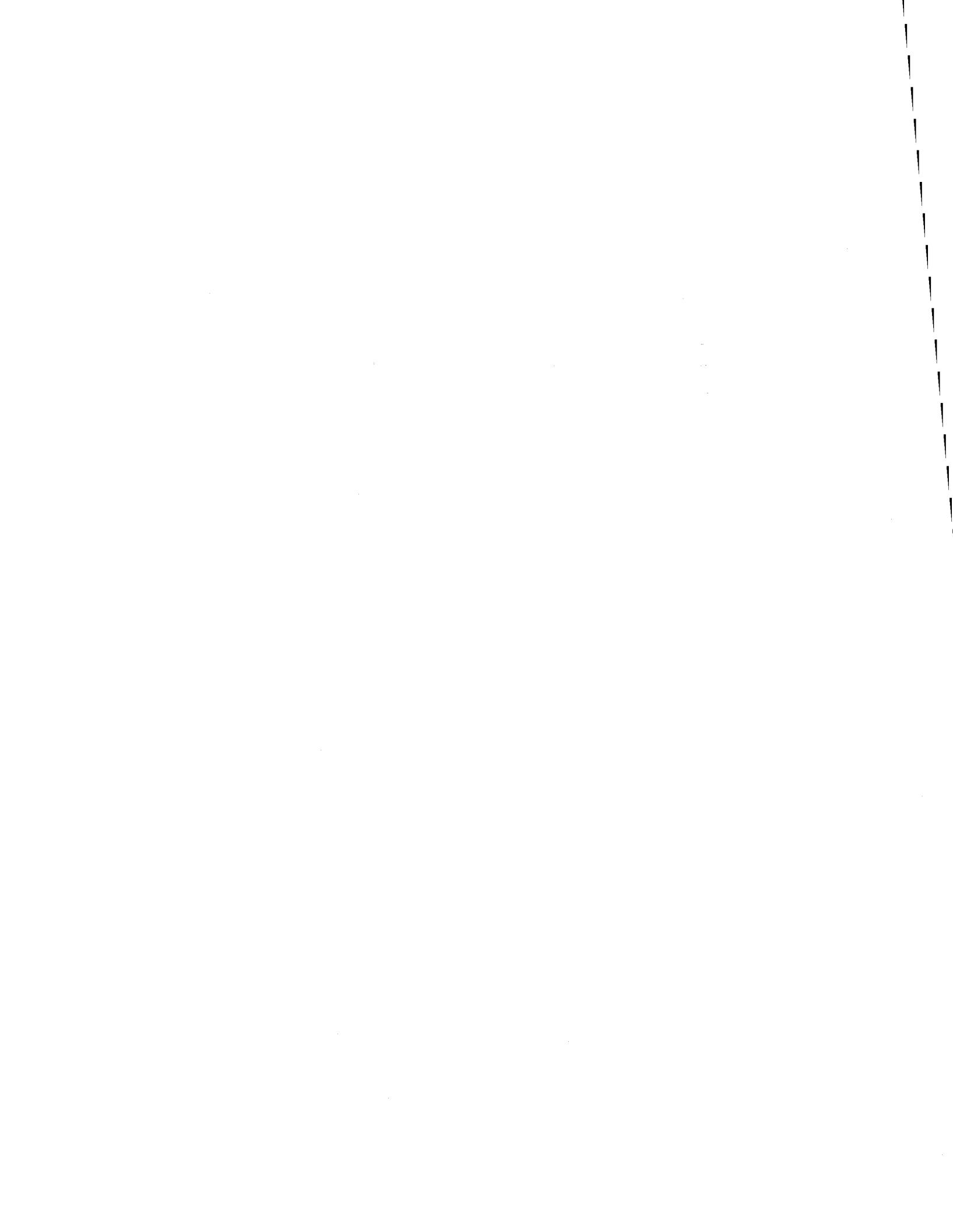
Couillard, Denis

Mercier, Guy

Tyagi, Rajeshwar Dayal

Institut national de la recherche scientifique (INRS-Eau)  
Université du Québec  
2700, rue Einstein - C.P. 7500  
Sainte-Foy (Québec)  
G1V 4C7

Novembre 1988



## **REMERCIEMENTS**

Les auteurs adressent leurs remerciements au Conseil de Recherche en Sciences Naturelles et en Génie du Canada (subvention OGP0004984 et OGP0006514), au ministère de l'Éducation du Québec (subvention 89-EQ-3029), aux programmes de développements académiques du réseau de l'Université du Québec, au programme de recherche en conservation du sol et de l'eau de l'entente auxiliaire Canada-Québec sur le développement agro-alimentaire et aux programmes d'emploi pour étudiants d'été (DEFI-87, DEFI-88, bourse du 1er cycle CRSNG) qui ont financé la moitié des dépenses reliées au projet. L'autre partie des dépenses a été supportée par le Centre Québécois de Valorisation de la Biomasse (CQVB).

## PARTICIPANTS À L'ÉTUDE

COUILLARD, D.	Professeur - génie chimique (01-07-87 au - )*
TYAGI, R.D.	Professeur - génie chimique (01-07-87 au - )
JAIN, D.K.	Associé de recherche - microbiologie (11-04-88 au 11-11-88)
TRAN, F.	Associé de recherche - génie chimique (01-07-87 au 31-08-88)
GARIÉPY, S.	Assistant de recherche - génie rural (14-09-87 au 30-06-88)
MERCIER, G.	Assistant de recherche - chimiste (01-08-88 au - )
DUBREUIL, B.	Professionnel responsable du laboratoire (**)
BÉLANGER, D.	Technicien - génie chimique (07-01-88 au 31-03-88)
BELOUADI, C.	Technicien - chimie (01-07-87 au 31-12-87)
BERTHIAUME, F.	Technicien - environnement (27-06-88 au 06-09-88)
CHARTIER, M.	Technicienne - chimie (09-05-88 au 09-09-88****)
DUSSAULT, S.	Technicienne (**) .
FOURNIER, F.	Technicien - assainissement (06-09-88 au - )
GEOFFROY, M.	Technicienne (**) .
GOUVEIA, S.	Technicienne - biochimie (16-05-88 au 09-09-88*****)
MARTINEAU, B.	Technicienne - biologie (01-07-87 au 31-12-87)
PARENT, A.	Technicien (**) .
VEILLEUX, B.	Technicien de laboratoire (**)
WAGNER, E.	Technicien - assainissement (08-02-88 au 15-07-88)

- 
- \* Période de la participation au projet (souvent à temps partiel). Un tiret signifie que la personne participe encore au projet.
  - \*\* Techniciens spécialisés employés pendant une période limitée pour effectuer certaines analyses spécialisées ou pour opérer des appareils sophistiqués.
  - \*\*\* Du 26-10-87 au 15-12-88 et du 12-09-88 au 03-11-88 à raison de 3 jours/semaine.
  - \*\*\*\* Du 12-09-88 au 16-12-88 à raison de 1 journée/semaine.

## RÉSUMÉ

La disposition des boues résiduaires de l'épuration des eaux municipales cause un problème de taille. Une des solutions est d'en faire l'épandage agricole, car les boues constituent un excellent engrais et amendeur de sol. Cependant une revue de la littérature montre que plus de 50% des boues résiduaires contiennent trop de métaux lourds pour l'épandage agricole. L'extraction chimique étant coûteuse, le procédé de solubilisation biologique à l'aide des thiobacilles a été envisagée étant donné que les boues anaérobies contiennent beaucoup de métaux sous forme de sulfure.

La principale espèce est Thiobacillus ferrooxidans qui est apte à se nourrir du fer ferreux et des composés de soufre réduits. La solubilisation biologique des métaux peut se faire selon deux mécanismes: les mécanismes direct et indirect. Les principaux facteurs affectant la croissance des organismes sont le pH, le type de substrat, le potentiel rédox, la température, la concentration en oxygène, l'agitation, le dioxyde de carbone et la suffisance de nutriments.

Les temps de réactions avec Thiobacillus ferrooxidans se situent aux environs de 7 à 10 jours dans des réacteurs en cuvée. Dans un réacteur en continu (CSTR) un temps de réaction de 5 jours a été obtenu. Cependant les études de bioréacteurs sont rares et la recherche à ce niveau s'avère essentielle si la mise à l'échelle du procédé est envisagée.

## TABLE DES MATIÈRES

	Page
INTRODUCTION .....	1
CHAPITRE 1 - PROBLÉMATIQUE .....	5
CHAPITRE 2 - REVUE DE LITTÉRATURE SUR L'ENLÈVEMENT DES MÉTAUX DES BOUES D'ÉPURATION .....	20
2.1 Composition métallique des boues résiduaires .....	21
2.2 Spéciation des métaux dans les boues anaérobies .....	22
2.3 Processus chimique versus processus biologique pour solubiliser les métaux .....	27
2.4 Les micro-organismes de la solubilisation bactérienne des métaux .....	28
2.4.1 Mécanismes de la solubilisation bactérienne des métaux .....	33
2.5 Les facteurs affectant la croissance de ces micro-organismes	37
2.5.1 Type de substrat .....	37
2.5.2 Le dioxyde de carbone .....	40
2.5.3 Oxygène et potentiel d'oxydo-réduction (POR) .....	41
2.5.4 Pourcentage de solides et diamètre des particules de substrat .....	42
2.5.5 Température et pH optimum .....	43
2.5.6 Agitation et coefficient volumétrique de transfert d'oxygène .....	45
2.5.7 Nutriments requis .....	47
2.6 Expériences antérieures d'extraction bactérienne des métaux dans les boues digérées en anaérobiose .....	47
2.7 Types de réacteurs .....	54
CONCLUSION .....	60
RÉFÉRENCES .....	62
ANNEXES: Publications de l'INRS-Eau sur la valorisation des boues d'épuration .....	90

## LISTE DES TABLEAUX

	Page
Tableau 1.1 : Concentrations maximales permisibles de métaux lourds ( $\text{mg kg}^{-1}$ boue sèche) dans les boues considérées acceptables pour épandage sur les terres agricoles .....	9
Tableau 1.2 : Normes de la CEE relatives aux teneurs de métaux tolérées pour l'épandage agricole .....	10
Tableau 1.3 : Charges maximales admissibles en métaux lourds (en $\text{kg/ha}$ ) pour les terres agricoles .....	14
Tableau 1.4 : Contenu en métaux lourds dans les boues résiduaires purement domestiques en $\text{mg kg}^{-1}$ sec .....	17
Tableau 1.5 : Contenu en solides totaux (ST) et en nutriments dans les boues de 34 villes du Québec .....	18
Tableau 1.6 : Contenu en composés potentiellement toxiques dans les boues résiduaires de 34 villes du Québec .....	19
Tableau 2.1 : Concentrations de divers métaux dans les boues résiduaires aux États-Unis et au Québec .....	22
Tableau 2.2 : Spéciation des principaux métaux lourds dans les boues anaérobies selon divers auteurs .....	26
Tableau 2.3 : Micro-organismes acidophiles ayant un potentiel pour la solubilisation bactérienne des métaux .....	34
Tableau 2.4 : Paramètres cinétiques de <u><i>Thiobacillus ferrooxidans</i></u> sur divers substrats .....	38
Tableau 2.5 : Normes ontariennes pour l'épandage agricole des boues ..	51

## LISTE DES FIGURES

	Page
Figure 2.1 : Diagramme d'équilibre pour divers métaux dans les boues anaérobies .....	25
Figure 2.2 : Effet de la concentration en solides des boues sur le pourcentage de solubilisation des métaux .....	44
Figure 2.3 : Effet de la température sur la solubilisation du cadmium dans les boues de Toronto .....	44
Figure 2.4 : Solubilisation du zinc dans les boues digérées anaérobies .....	53
Figure 2.5 : Taux de solubilisation en fonction des temps en fournée .....	55
Figure 2.6 : Schéma du procédé choisi pour la désulfuration du charbon .....	55
Figure 2.7 : Bioréacteur à ascension pneumatique .....	59

## **INTRODUCTION**



## **INTRODUCTION**

### **But de l'étude**

Le but global de cette étude vise à l'obtention d'un procédé optimal de valorisation agricole des boues d'épuration par enlèvement biologique des métaux lourds. Cette première phase du projet s'est attaquée au cas des boues anaérobies d'épuration, car la connaissance scientifique sur la solubilisation biologique des métaux lourds dans les boues d'épuration se limitait à ce genre de boue. En fait, il semble qu'il n'y a que ce type de boues d'épuration qui contient naturellement assez de sulfures pour développer un procédé applicable sans ajout de substrat extérieur.

### **Cadre de l'étude**

Avec le programme d'assainissement des eaux du Québec et la construction de nombreux systèmes d'épuration des eaux résiduaires (Couillard, 1988a; Couillard et al., 1986; Crowley et al., 1986), la production de boues d'épuration croît à un rythme très rapide (Couillard, 1989a; 1988b). Les divers modes de gestion de ces boues sont l'enfouissement sanitaire, l'épandage agricole et sylvicole (Couillard, 1989b; 1989c; Couillard et Grenier, 1987; Grenier et Couillard, 1987), l'incinération ou le rejet en mer qui est une solution inacceptable qui de toute façon est peu applicable au Québec. L'enfouissement sanitaire nécessite la disponibilité de sites appropriés de plus en plus rares, il y a aussi les risques de contamination des nappes souterraines et la valeur de la biomasse des boues est perdue. L'épandage agricole est plus économique que

l'incinération qui est une méthode destructrice et potentiellement polluante (Couillard et al., 1987).

Cependant, plus de 50% des boues contiennent trop de métaux lourds pour être épandues. Cette étude vise donc à enlever à peu de frais les métaux de ces boues (Tyagi et Couillard, 1989). Le procédé étudié est un procédé biologique utilisant des micro-organismes aptes à solubiliser les métaux par production biologique d'acide sulfurique. L'étude de divers types de réacteurs et des paramètres de contrôle du procédé sont les principales préoccupations de ce projet et ce en vue de l'évaluation du potentiel économique du procédé.

#### **Cheminement général**

Le présent rapport portant sur la solubilisation biologique des métaux lourds des boues d'épuration anaérobies pour fin de valorisation agricole, comprend quatre tome qui, en ordre chronologique, permettent de suivre l'évolution du projet de recherche.

Tome I: Problématique des métaux lourds dans les boues résiduaires et revue de littérature sur les méthodes d'enlèvement de ces métaux.

Tome II: Étude du procédé de solubilisation des métaux avec du sulfate ferreux de qualité laboratoire comme substrat.

Tome III: Recherche d'un substrat économique pour la solubilisation des métaux lourds dans les boues résiduaires.

Tome IV: Étude du procédé de solubilisation des métaux avec du sulfate ferreux résiduaire de raffinage des métaux.

Dans le tome I, la problématique des métaux dans les boues résiduaires est détaillée. Par la suite, une revue de littérature portant sur les micro-organismes ayant un potentiel pour la solubilisation bactérienne des métaux et sur les méthodes d'extraction chimiques et biologiques de solubilisation des métaux lourds dans les boues permet de faire le point au début du présent projet de recherche.

Le tome II comprend les résultats de la première étude du procédé de solubilisation bactérienne des métaux dans les boues résiduaires réalisée en réacteurs en continu avec et sans recyclage. Même si l'étude de la littérature reproduite dans le tome I démontre que, théoriquement, les boues anaérobies d'épuration contiennent naturellement assez de sulfures pour développer un procédé applicable sans ajout de substrat extérieur, les premiers essais en réacteurs ont vite montré qu'il fallait ajouter une certaine quantité de substrat pour assurer la croissance bactérienne si on désirait obtenir un procédé potentiellement rentable en réduisant le temps de séjour dans le réacteur. Les essais ont été faits avec un substrat (sulfate ferreux) de qualité laboratoire. Les quantités de substrat alors utilisées étaient minimes étant donné le fort coût du sulfate ferreux de laboratoire (16\$/kg). Ce tome permet de cerner les paramètres importants pour le procédé. Cette partie de l'étude a permis d'identifier que l'adaptation des micro-organismes à un substrat plus économique était absolument indispensable à l'économie du procédé.

Le tome III comprend les résultats d'une étude comparative de divers substrats économiques pouvant influencer la cinétique du procédé de solubilisation bactérienne des métaux lourds et par ricochet l'économie du procédé. En effet, les résultats des premières études sur le procédé avaient permis d'identifier qu'il fallait réduire au minimum les coûts en matières premières (substrat) si on désirait minimiser les coûts d'opération du procédé à grande échelle et obtenir un procédé économiquement viable. Cette partie de l'étude a permis d'évaluer un résidu minier (pyrite et pyrrhotine) de la compagnie d'Aldermac, un résidu liquide d'acide. Ces expériences ont permis de choisir le substrat adéquat au niveau du rendement et du coût.

Le tome IV est l'étude comparative de deux types de réacteurs, chacun ayant été retenu pour leurs avantages. Il s'agit d'un simple réacteur aéré et agité qui est un type de réacteur très économique et d'un bioréacteur à ascension pneumatique connu pour son excellent transfert d'oxygène. Chacun des réacteurs a été opéré à 4 temps de séjour hydraulique différents. De plus, ce tome comprend un bilan sur les métaux, la recherche d'une quantité minimale d'acide pour la préacidification, des mesures sur les teneurs en nutriments, des essais de filtrabilité de la boue traitée et de neutralisation du surnageant acide contenant les métaux. Tous ces travaux permettent d'évaluer la faisabilité du procédé à l'échelle pilote.

## **CHAPITRE 1**

### **Problématique**

Dans une usine municipale d'épuration des eaux usées, les principaux métaux lourds (cadmium, cuivre, zinc, plomb, mercure, chrome et nickel étant les principaux) se concentrent dans les boues des décanteurs primaires et secondaires (Stephenson et Lester, 1987a; 1987b; Nelson, 1986; Stoveland et al., 1979; Cheng et al., 1975; Oliver et Coscove, 1974). Les métaux insolubles précipitent partiellement lors de la décantation primaire (Sterrit et Lester, 1984) alors que dans les systèmes à boues activées, l'interaction des métaux solubles et insolubles avec le floc biologique mène à l'adsorption passive des métaux sur les cellules (Stephenson et Lester, 1987a; 1987b). Il y a aussi formation de complexe avec les polymères extracellulaires (Brown et Lester, 1979). L'emprisonnement physique des métaux dans le biofloc peut aussi se produire (Stephenson et Lester, 1987b).

Selon Stephenson et Lester (1987a), les métaux les moins solubles se retrouvent en plus grandes quantités dans les boues, soient le cadmium, le chrome, le cuivre, le plomb et le zinc. Plus de 75% de ces métaux présents dans l'eau à traiter se concentrent dans les boues. Le cobalt, le molybdène et le nickel étant beaucoup plus solubles, ils sont retirés de l'eau à traiter, avec un pourcentage inférieur à 40%.

Le traitement et la disposition finale des boues d'épuration représentent un coût majeur du traitement des eaux usées. Selon certains auteurs, ce coût peut représenter jusqu'à 50% du coût total de la dépollution des eaux (Couillard, 1988; Davis, 1986; Lester et al., 1983). Le volume des boues représente approximativement 1% du volume des eaux usées traitées (Davis, 1986). De plus, les boues contiennent entre 1 et 7% de solides (Lester et al., 1983).

Les modes de disposition des boues sont peu nombreux et présentent de gros inconvénients. L'incinération est coûteuse (Davis, 1987) et pollue l'air (Scheltinga, 1987). Avec ce mode de disposition, les métaux se retrouvent dans les cendres qu'il faut enfouir sécuritairement. L'enfouissement sanitaire est de plus en plus difficile à cause du manque de sites appropriés tandis que le rejet en mer cause de sérieux problèmes environnementaux (Lester et al., 1983). Finalement, l'épandage sur les terres agricoles des boues digérées s'avère souvent la solution la plus économique (Davis, 1987; 1986), et l'intérêt pour ceci est toujours d'actualité (Nicholson; 1988). Au Québec, l'épandage n'est autorisé que si les boues ont été stabilisées par digestion aérobiose, anaérobiose ou par la chaux, ou si l'âge des boues est au moins de 20 jours (Flynn et al., 1987; 1986).

La pollution de l'environnement par les métaux est de plus en plus préoccupante, surtout pour ce qui est du Pb, Cd, Hg et As (Nriagu, 1988). La plupart des métaux lourds sont toxiques et c'est pourquoi ils sont une source d'inquiétude s'ils sont présents en trop grande concentration dans les boues résiduaires (Scheltinga, 1987; Tjell, 1986, Sommers et Nelson 1981). Le cuivre, le nickel, le zinc sont phytotoxiques (Webber, 1986; Davis et Carlton-Smith, 1984; Beckett et Davis, 1982; Bingham et al., 1979). Ils ont donc pour effet de diminuer la croissance et le rendement des plantes au delà d'une concentration donnée. Les seuils phytotoxiques à ne pas dépasser dans le sol sont de  $105 \text{ mg Cu kg}^{-1}$  de sol,  $319 \text{ mg Zn kg}^{-1}$  de sol et  $221 \text{ mg Ni kg}^{-1}$  de sol à pH 7.0. Il est ici très important de spécifier que le nickel peut être jusqu'à 8 fois plus toxique à pH légèrement acide (pH 5 à 6). Mitchell et al. (1978) trouvèrent un seuil phytotoxique de 200 mg Ni/kg (20% de réduction de rendement des plantes) à pH 7.5 pour le blé alors qu'il suffit de 100 mg Ni

$\text{kg}^{-1}$  de sol pour le même effet à pH 5.7. La différence pour la laitue est encore plus grande avec 200 mg Ni  $\text{kg}^{-1}$  de sol à pH 7.5 et 50 mg Ni  $\text{kg}^{-1}$  de sol à pH 5.7. Bingham et al. (1979) observèrent le même genre d'effet du pH sur la phytotoxicité. Au Québec, l'absence de norme sur la concentration maximale de cuivre à ne pas dépasser dans le sol est une lacune. Webber et al. (1984) concluent que le cuivre et le nickel ont respectivement 2 et 8 fois la toxicité du zinc. Le cadmium est zootoxique pour les mammifères et l'humain car lorsqu'il est régulièrement ingéré, il s'accumule dans les reins et les endommage (Nriagu, 1988; Environnement Canada, 1985; Lester et al., 1983, Ryan et al., 1982, Naylor et Loehr, 1981; Vesilind, 1980). Il s'accumule dans les végétaux et dans la chaîne alimentaire. Ce phénomène se produit à des concentrations de cadmium dans le sol qui sont beaucoup plus faibles que celles causant la phytotoxicité du cadmium (Environnement Canada, 1985; Bingham et al., 1979). Pour ces raisons, le cadmium est le métal le plus redouté. Ce qui est visible dans les faibles valeurs de cadmium tolérées dans les boues pour épandage agricole (Tableau 1.1). Les canadiens ingèrent déjà par leur nourriture de 50 à 90  $\mu\text{g}$  de Cd par jour, alors que la limite suggérée par l'organisation mondiale de la santé (OMS) est de 71  $\mu\text{g}$  de Cd par jour (Webber, 1986). Les autorités canadiennes doivent donc être très vigilantes pour ce qui est de l'accumulation de ce métal dans les sols via les boues résiduaires. Webber et al. (1984) concluent que le cadmium doit servir de base à l'élaboration des normes concernant la concentration maximale de métaux acceptables dans les boues servant à l'épandage sur des sols agricoles. En 1986, Webber, dans un rapport synthèse, suggère d'augmenter la norme canadienne au niveau de celle des Etats-Unis pour le cadmium ( $4 \text{ kg Cd ha}^{-1}$  (Cdn) vs 5 à 20  $\text{Kg Cd ha}^{-1}$  selon la capacité d'échange cationique du sol). Ceci semble peu justifiable étant donné la forte ingestion de cadmium que subissent déjà les

Tableau 1.1: Concentrations maximales tolérables de métaux lourds ( $\text{mg kg}^{-1}$  boue sèche) dans les boues étant considérées acceptables pour épandage sur les terres agricoles (Tiré de Webber et al., 1984 et modifié)

Elément	Québec***	Belgique	Canada	Danemark	Finlande	France	Allemagne de l'ouest	Pays-Bas	Norvège	Suède	Suisse	Tous les pays	CEE Directive		
												Gamme	Mediane	R*	M**
As	20	10	75				10					10-75	10		
Cd	15	10	20	8	30	20	20	5	10	15	30	8-30	7	20	40
Co	100	20	150		100				20	50	100	20-150	75		
Cr	1000	500			1000	1000	1200	500	200	1000	1000	200-1200	1000		
Cu	1000	500			3000	1000	1200	600	1500	3000	1000	500-3000	1100	1000	1750
Hg	10	10	5	6	25	10	25	5	7	8	10	5-25	10	16	25
Mn	1500	500			3000				500			500-3000	500		
Mo	25		20									20		20	
Ni	180	100	180	30	500	200	200	100	100	500	200	30-500	200	300	400
Pb	500	300	500	400	1200	800	1200	300	300	300	1000	300-1200	500	750	1200
Se	25	25	14			100						14-100	25		
Zn	2500	2000	1850		3000	3000	3000	3000	3000	10000	1000	1000-10000	3000	2500	4000

\* R : recommandé selon Davis (1987)

\*\* M : maximale selon Davis (1987)

\*\*\* : selon Flynn et al. (1987)

canadiens. Surtout que les américains ont diminué la charge de cadmium qui était de 5 à 20 kg Cd ha<sup>-1</sup> selon la capacité d'échange cationique du sol à des valeurs de 2 à 4.5 kg Cd ha<sup>-1</sup> pour les états du nord-est (Tjell, 1986).

L'accumulation du manganèse, du fer, du zinc et du cadmium par les plantes a déjà été prouvé (Scheltinga, 1987). Selon Davis (1984), le mercure, le plomb et le chrome sont moins disponibles pour l'assimilation par les plantes étant donné qu'ils sont présents sous formes insolubles. À l'opposé, le cadmium, le nickel, le zinc et le cuivre sont plus dangereux, étant plus solubles et donc plus disponibles pour l'assimilation par les plantes. Cette solubilité inquiète scientifiques et gestionnaires (Davis, 1986; Tjell, 1986; Lester et al., 1983, Sposito, 1981), car elle rend probable la contamination des nappes d'eau souterraines dans les cas d'épandage agricole ou d'enfouissement sanitaire.

Avec les problèmes associés aux métaux contenus dans les boues, on pourrait se demander: pourquoi envisager leur épandage sur des terres destinées à l'agriculture. La réponse est que les boues constituent un excellent engrais à cause des propriétés suivantes (Davis, 1987):

- la composition typique des boues d'épuration est 4.1% d'azote, 1.4% de phosphore et 0.3% de potassium sur la base du pourcentage de solides secs;
- les boues aident à maintenir les éléments nutritifs dans le sol;
- elles contribuent à des apports en matière organique et en éléments nutritifs; surtout si elles sont très concentrées en solides;

- elles améliorent la structure et la consistance du sol;
- elles augmentent la capacité de rétention d'eau du sol;

Les boues constituent donc autant un amendeur de sol qu'un engrais pour celui-ci.

Au Royaume-Uni 39% des boues municipales sont utilisées en agriculture (Davis, 1987); (44% selon Lake et al., 1984), la concentration moyenne en cadmium de toutes les boues est de  $29.9 \text{ mg Cd Kg}^{-1}$  boues sèches. Aux États-Unis la concentration médiane en cadmium est de  $16 \text{ mg Cd Kg}^{-1}$  (moyenne =  $110 \text{ mg Cd Kg}^{-1}$  selon Sommers, 1977) boues sèches (Davis, 1986). La norme aux Pays-Bas est de  $5 \text{ mg Cd Kg}^{-1}$  boues sèches; aux États-Unis, elle est de  $25 \text{ mg Cd Kg}^{-1}$  boues sèches (Tjell, 1986), alors qu'au Royaume-Uni elle est de  $20 \text{ mg Cd Kg}^{-1}$  boues sèches (Davis, 1987).

Ces quelques chiffres montrent une très grande variabilité dans les normes. Cette situation est corroborée par le tableau 1.1 qui présente les normes de différents pays du monde (Webber et al., 1984), alors que le tableau 1.2 nous résume les normes qui ont été votées pour être appliquées dans la CEE en 1989; elle serviront de base minimale pour les pays de la Communauté Économique Européenne (CEE) (Davis, 1987). La concentration maximale de métaux tolérable dans le sol peut être contrôlée par la charge annuelle maximale acceptable pour le sol ou par la concentration maximale acceptable dans les boues. La norme pour le chrome n'est pas encore déterminée mais devrait l'être sous peu. Selon Davis (1987), ces normes sont compatibles avec les normes britanniques

Tableau 1.2: Normes de la CEE relatives aux teneurs de métaux tolérées pour l'épandage agricole

Métal	Sol (mg kg <sup>-1</sup> sec)	Boue (mg kg <sup>-1</sup> sec)	Quantité annuelle (kg ha <sup>-1</sup> an <sup>-1</sup> )
Cadmium	1-3	20-40	0.15
Cuivre	50-140	1000-1750	12
Nickel	30-75	300-400	3
Zinc	150-300	2500-4000	30
Plomb	50-300	750-1200	15
Mercure	1-1.5	16-25	0.1

Tiré de Davis, 1987

actuelles. Mais si l'on regarde la norme des Pays-Bas (tableau 1.1), on s'aperçoit que la norme de base pour la CEE est beaucoup moins sévère.

Aux États-Unis (EPA, 1984), au Canada (Environnement Canada, 1985), ainsi qu'au Québec, jusqu'en 1986, le pH minimal du sol requis pour faire l'épandage agricole était de 6.5. Au Québec, les sols sont généralement acides (4.5 à 6.0) Flynn et al. (1987). Le ministère de l'Environnement du Québec a donc récemment décidé d'abaisser le seuil minimal pour épandage agricole des boues résiduaires à un pH de 6. Ce choix est peut-être un peu risqué puisque la solubilité du Cd augmente avec la diminution du pH (Environnement Canada, 1985) et que selon Hinesly et al. (1977) le pH optimal pour absorption et la translocation du cadmium vers les grains de maïs est de 6. De plus, la toxicité du nickel augmente considérablement à un pH légèrement acide comme il a déjà été mentionné.

Une distinction importante doit être faite entre les trois types de normes. Il y a les normes sur le contenu en métaux dans les boues (tableau 1.1 et 1.2), les normes sur la charge totale (sur plusieurs années) de métaux pouvant être appliquée (tableau 1.3). Finalement, il y a la concentration maximale du métal à ne pas dépasser dans le sol qui est de  $3.5 \text{ mg Cd kg}^{-1}$  de sol au Royaume-Uni, de 1 à 3 pour la CEE de 3 pour la République fédérale allemande (RFA) (Tjell, 1986) et de  $2 \text{ mg Cd kg}^{-1}$  de sol au Québec (Flynn et al., 1987; 1986).

Au tableau 1.3, on constate que les pays Scandinaves sont beaucoup plus strictes pour la charge de cadmium applicable ( $0.075 \text{ à } 0.2 \text{ kg Cd ha}^{-1}$ ). À l'autre extrémité on retrouve les États-Unis et la RFA.

Tableau 1.3 (Tiré de Webber, 1986)

**Charges maximales admissibles en métaux lourds (en kg/ha) pour les terres agricoles**

Autorité	Cd	Zn	Cu	Ni	Pb	Cr	Mn	Mo	Co	As	Se	Hg	B
Alberta	0,8	150	100	12	50	50	-	-	-	-	-	0,2	5
	1,1	200	150	19	75	75	-	-	-	-	-	0,4	7,5
	1,5	300	200	25	100	100	-	-	-	-	-	0,5	10
Colombie-Britannique	4,0	200	-	36	100	-	-	4	30	15	2,8	1,0	-
Ontario	1,6	300	150	32	90	210	-	4	30	14	2,4	0,8	-
Canada	4,0	370	-	36	100	-	-	4	30	15	2,8	1,0	-
Danemark	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Finlande	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
France	5,4	750	210	60	210	360	-	-	-	-	-	2,7	-
Allemagne	8,4	750	210	60	210	210	-	-	-	-	-	5,7	-
Pays-Bas	2,0	400	120	20	100	100	-	-	-	2	-	2,0	-
Norvège	0,2	60	30	2	6	4	10	-	0,4	-	5	0,14	-
Suède	0,075	50	15	2,5	1,5	5	-	-	0,25	-	-	0,04	-
Royaume-Uni	5	560	280	70	1 000	1 000	-	4	-	10	-	2,0	4,5
États-Unis	5*	250	125	50	500	-	-	-	-	-	-	-	-
	10	500	250	100	1 000	-	-	-	-	-	-	-	-
	20	1 000	500	200	2 000	-	-	-	-	-	-	-	-
Gamme	0,1	60	30	2	6	4	-	-	0,4	2	2,4	0,14	4,5
Médiane	à 20	à 1 000	à 500	à 200	à 2 000	à 1 000	-	-	à 30	à 15	à 5	à 5,7	à 10
	3	500	210	60	210	210	-	4	-	10	-	2	-
Québec**	Kg/ha	4	370	--	36	100	--	--	4	30	15	2,8	1
	mg Kg <sup>-1</sup> de sol		185	--	18	50			2	15	7,5	1,6	0,5

\* Pour le Nord-est des États-Unis, la charge maximale a été abaissée de 2 à 4.5 kg/ha selon le type de sol (Tjell, 1986).

\*\* Selon Flynn et al. (1987, 1986)

Lester et al. (1983) évaluent entre 82-85%, le pourcentage des boues qui ne respectent pas la norme pour l'équivalent zinc ( $Zn + 2 Cu + 8 Ni < 250 \mu\text{g/g}$  de sol) au Royaume-Uni. En Ontario, Wong & Henry (1984b) estiment que 50% des boues ne respectent pas les normes ontariennes; alors qu'aux États-Unis, Wozniak et Huang (1982) ont évalué que de 50 à 60% des boues dépassent les normes proposées par l'EPA. Finalement, Tjell (1986) conclut que presque tous les intervenants sont d'accord sur le fait qu'il y a de gros problèmes potentiels de toxicité, et que, les normes pour le cadmium tendront à être de plus en plus sévères.

Le contrôle à la source des métaux, a été étudié. Mais il est difficile et coûteux à appliquer, car il nécessite de connaître et de contrôler la pollution générée par chaque pollueur industriel. Tjell (1986) conclut que même s'il est possible de diminuer le contenu en métaux des boues par la surveillance des industries, il demeure qu'une bonne partie des boues est toujours contaminée. Le même auteur conclut qu'il est probablement plus coûteux de procéder au contrôle à la source des métaux lourds que d'utiliser les modes les plus dispendieux d'élimination des boues résiduaires, ce qui rend peu intéressant le contrôle à la source.

La contribution de métaux lourds des résidences et des eaux de ruissellement a été évaluée par Klein et al. (1974) pour la ville de New-York. Il est étonnant de constater que 49% du Cd, 47% du Cu et 42% du Zn proviennent des résidences. Les eaux de ruissellement urbain contribuent pour 31% du Zn et 14% du Cu alors que 20% de ce dernier élément provient du système d'approvisionnement en eau potable. Seul le chrome (52%) et le nickel (65%) proviennent majoritairement des industries. Förstner et Wittmann (1979)

réétudièrent les données de Klein et al. (1974) et conclurent de plus que le ruissellement urbain est une source majeure de plomb et de zinc. Wozniak et Huang (1982) estiment qu'une grande partie des métaux provient des résidences et du ruissellement urbain et que la concentration des métaux croît avec la population d'une ville. Ces auteurs indiquent que 80% des boues pourraient ainsi dépasser les normes de l'EPA. Le tableau 1.4 donne la concentration en métaux de boues résiduaires purement domestiques selon Tjell (1986) et Davis (1987).

Même si ces boues respectent la plupart des normes, il n'en demeure pas moins que les systèmes d'égoûts purement domestiques sont rares au Québec. Le tableau 1.5 donne la concentration en éléments nutritifs des boues de 34 villes du Québec en 1988 (St-Yves et Beaulieu, 1988) alors que le tableau 1.6 présente la concentration des divers contaminants (métaux + métalloïdes + BPC) dans les mêmes boues. Même si les résultats ne sont que préliminaires, il est facile d'y voir que 18 villes sur 34 (52.9%) dépassent la norme obligatoire pour au moins un des contaminants, ces boues ne sont donc pas aptes à être épandues sur les sols agricoles. Les BPC ne semblent pas poser de problèmes ce qui est confirmé par une autre étude (Webber et Lesage, 1988). Le cuivre est l'élément le plus problématique dans ce tableau, le manganèse et le bore suivent en ordre d'importance. Un cas problème de mercure et un autre de molybdène sont observables. Finalement les boues de Victoriaville contiennent du cadmium en quantité appréciable en dépassant la norme recommandée tout en respectant la norme obligatoire pour cet élément zootoxique. La seule option pour les boues qui dépassent la concentration maximale tolérable pour l'épandage agricole des boues d'épuration est la décontamination à la station d'épuration.

Tableau 1.4 Contenu en métaux lourds dans les boues résiduaires purement domestiques en  $\text{mg kg}^{-1}$  sec.

	Tjell (1986)	Davis (1987)
Cd	3	5
Cu	200	380
Ni	25	30
Zn	700	515
Cr	50	50
Pb	100	120

Tableau 1.5: Contenu en solides totaux (ST) et en nutriments dans les boues de 34 villes du Québec (Source: St-Yves et Beaulieu, 1988)

MUNICIPALITÉ	ST mg/L	NIK mg/kg m.s.	NH <sub>4</sub> mg/kg m.s.	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/kg m.s.	P tot mg/kg m.s.	K mg/kg m.s.	Ca mg/kg m.s.	Mg mg/kg m.s.
Ascot Corner (BD)	49 000	72 400	17 900	2.1	1 455	572	3 190	1 515
Aubert-Gallion (BA RBS)	19 100	26 600	3 270	429	15 460	2 762	10 910	2 311
Ayer's Cliff (BA)	33 000	58 300	12 700	2.6	980	1 493	1 223	1 180
Beauceville (BA Fo)	24 100	34 630	8 130	353	18 210	3 956	11 880	4 345
Beauharnois (BA Fo)	6 600	51 061	1 515	127.3	13 435	7 400	20 800	8 200
Black-Lake (BA RbS)	12 000	40 140	12 000	840	16 980	7 478	10 330	17 200
Campbell's Bay (BD)	10 600	27 736		849	101.9	3 563	1 500	5 500
Chapeau (BD)	24 400	29 385	2 869	109.8	4 266	1 400	8 500	2 500
Communauté régionale outaouais (BA)	7 000	82 000	24 286	154.3	28 953	7 600	38 600	6 100
Cowansville (BA Fo)	41 000	27 500	19 300	4.6	5 265	2 650	1 120	1 565
Farnham (BA Fo)	61 000	14 500	8 800	4.5	2 265	2 855	2 199	1 125
Granby (BA)	31 000	47 600	15 100	16.1	3 585	7 741	1 250	1 685
Jonquière (BA Fo)	20 800	40 270	9 760	567	24 630	8 654	13 280	4 240
Lac-Mégantic (BA AP)	19 500	56 960	14 370	785	18 840	15 550	12 820	6 827
Magog (BA Fo)	52 000	45 200	25 000	12.1	3 755	3 120	351	1 314
Mont-Rolland (BA)	11 400	17 895		728	126.3	15 470	8 500	6 500
Mont-Tremblant (BD)	27 800	19 353	1 727	79.9	16 363	1 600	14 500	1 500
Notre Dame des Pins (BD)	24 700	26 450	2 840	96.4	12 850	1 023	14 200	2 597
Notre-Dame-du-Lac (BA)	22 800	28 530	4 280	260	16 310	2 073	13 270	4 942
Rock Forest (BA)	44 000	76 700	16 500	6.9	4 750	4 332	610	1 602
Rock Island (BA)	19 000	121 000	13 200	2.1	4 897	2 159	450	836
Salaberry de Valleyfield (BA)	19 000	104 947	3 158	31.6	14 265	8 400	29 100	9 500
Ste-Agathe-des-Monts (BA)	12 500	44 320	3 200	33.6	16 529	9 200	13 200	4 800
Ste-Hélène-de-Bagot (BD)	32 000	67 200	46 900	9.8	1 163	1 630	1 477	996
Ste-Madeleine (BA)	5 000	105 000	32 400	80	5 764	7 679	1 964	3 089
Ste-Mélanie (BA)	3 600	53 360	15 570	943	11 980	6 641	16 490	3 731
St-Bernard (BA AP)	6 200	35 000	3 470	2 415	34 300	5 485	42 310	5 771
St-Gabriel-de- Brandon (BA Fo)	18 000	47 980	15 770	237	13 750	5 240	12 230	3 012
St-Hyacinthe (BA)	38 000	63 800	42 800	8.5	4 847	4 471	1 935	1 917
St-Jean-Baptiste-de- Rouville (BA Fo)	10 800	40 185	1 204	50	16 127	7 800	16 800	4 900
St-Jovite (BA)	4 100	139 268	2 927	141.5	18 465	5 800	18 500	4 00
St-Placide (BD)	18 600	21 237	2 688	318.3	4 731	1 600	23 600	4 800
Val-D'or (BA Fo)	28 700	47 000	12 370	476	17 960	5 407	16 240	3 869
Victoriaville (BA)	39 700	45 890	11 600	379	23 680	7 516	21 140	3 726

Types de traitement

BA : Boues activées

BD : Bio-disques

BA AP : Boues activées Aération prolongée

BA Fo : Boues activées Fosses d'oxydation

BA RBS: Boues activées Réacteur biologique séquentiel

Note: Prise d'un seul échantillon dans chaque cas

M.S. = matière sèche

Tableau 1.6: Contenu en composés potentiellement toxiques dans les boues résiduaires de 34 villes du Québec (Source St-Yves et Beaulieu, 1988)

MUNICIPALITÉ	As mg/kg m.s.	B mg/kg m.s.	Cd mg/kg m.s.	Co mg/kg m.s.	Cr mg/kg m.s.	Cu mg/kg m.s.	Mn mg/kg m.s.	Hg mg/kg m.s.	Mo mg/kg m.s.	Ni mg/kg m.s.	Pb mg/kg m.s.	Se mg/kg m.s.	Zn mg/kg m.s.	BPC
Ascot Corner (BD)	20	29	5.11	2.92	17	421	239	0.068	19.5	12	52	<0.1	1 195	<0.05
Aubert-Gallion (BA RBS)	4.9	114	4.7	4.6	50.2	468	192	0.64	9.8	16.2	102	0.1	555	<0.002
*Ayer's Cliff (BA)	1.6	28	0.85	6.44	9.4	708	2 820	0.12	5.31	19.7	0.94	<0.1	390	<0.05
*Beauceville (BA Fo)	4.9	244	5.2	9.1	52.8	371	793	2.24	6.6	22.7	108	0.2	1 765	<0.002
*Beauharnois (BA Fo)	1.4	32	3.7	8.8	29.9	274	3 645	12.2	25	29.9	136	3.1	58.3	<0.5
*Black-Lake (BA RBS)	4.6	255	5.9	11.1	214	1 518	318	1.89	12.9	80	172	0.1	493	<0.004
Campbell's Bay (BD)	0.8	<2	3.3	<5	32.3	950	158	4.2	<25	22.4	191	0.98	1 042	<0.02
Chapeau (BD)	0.3	<2	2.3	<5	21.7	747	231	0.5	<25	17.1	130	1.5	517	<0.1
Communauté régionale outaouais (BA)	1.1	<2	<2	6.9	22.5	411	940	1.4	<25	27.4	127	1.4	470	<0.5
*Cowansville (BA Fo)	0.99	33	1.8	11.3	58	1 020	5 510	0.257	10	25.4	70	<0.1	445	<0.05
*Farnham (BA Fo)	0.55	40	1.76	413	161	1 056	3 116	0.343	5.60	10.6	3.52	<0.1	464	<0.05
*Granby (BA)	1.72	32	0.88	6.14	34.4	816	1 740	0.2	15.4	15.7	5.9	<0.1	178	<0.05
*Jonquière (BA Fo)	1.8	225	5	8.7	55.4	352	121	3.8	8.4	19.7	153	0.1	393	<0.002
*Lac-Mégantic (BA AP)	3.5	260	2.2	6.3	26.3	704	1 302	1.25	5	19.6	68.3	<0.1	262	<0.002
Magog (BA Fo)	1.41	34	1.41	3.12	17.7	323	229	0.565	5.88	19.3	12.5	<0.2	173	<0.05
Mont-Rolland (BA)	0.3	<2	<2	<5	20.5	693	398	0.8	<25	19.2	107	0.6	385	<0.05
*Mont-Tremblant (BD)	0.3	<2	3.2	<5	20.4	1 654	102	3.4	<25	15.9	107	1.1	840	<0.1
*Notre Dame des Pins (BD)	14.5	134	5	12.1	28.6	461	2 566	1.31	9	20.6	61.9	1.8	778	<0.002
Notre-Dame-du-Lac (BA)	3.8	184	5.1	12	56	424	339	2.88	9.8	30.5	107	0.3	693	<0.002
Rock Forest (BA)	2.02	31	5.07	2.21	13.1	836	256	0.905	10	22.5	2.35	<0.1	1 197	<0.05
*Rock Island (BA)	0.61	31	1.4	8.33	107	1 478	347	0.854	94	17	13.4	<0.2	444	<0.05
*Salaberry de Valleyfield (BA)	0.4	<2	3.9	7.8	41.9	1 107	1 230	1.5	<25	25.1	123	3.3	548	<0.2
*Ste-Agathe-des-Monts (BA)	0.28	<2	<2	<5	12.3	1 134	382	1.5	<25	14.8	394	0.4	628	<0.2
Ste-Hélène-de-Bagot (BD)	0.47	35	1.64	1.03	6.56	328	70	0.102	10	8.44	0.94	<0.1	506	<0.05
Ste-Madeleine (BA)	0.01	59	2.91	3	12.4	455	839	0.165	18.8	15.3	28.2	<0.2	413	<0.05
Ste-Mélanie (BA)	2	91.7	5.9	5.6	47.2	521	73.4	1.25	13.8	12.3	150	0.1	369	<0.008
*St-Bernard (BA AP)	6.6	189	5.5	13.2	32.1	454	2 996	1.86	28.9	19	103	0.2	882	<0.006
St-Gabriel-de- Brandon (BA Fo)	0.8	185	3.0	4	147	182	353	1.98	10.8	11.8	91.3	0.1	336	<0.002
St-Hyacinthe (BA)	0.59	31	1.62	3.58	19.6	314	348	0.075	16.3	10.3	31.4	<0.1	339	<0.05
St-Jean-Baptiste-de- Rouville (BA Fo)	0.3	<2	<2	<5	15.8	298	368	0.8	<25	16.4	31.6	1.2	447	<0.2
*St-Jovite (BA)	0.5	<2	<2	<5	24.7	1 089	2 046	1.1	<25	19.8	155	0.8	627	<0.5
*St-Placide (BD)	1.5	<2	4.5	<5	20.3	773	149	1.7	45	21.3	208	2.4	1 021	<0.2
Val-D'or (BA Fo)	3.3	74.2	5.6	12.9	52.5	766	1 315	1.81	10.7	27	144	0.4	642	<0.003
*Victoriaville (BA)	3.8	77.2	11.2	4.7	33.7	650	2 251	1.32	12.2	17.3	148	0.4	718	<0.001

Types de traitement

BA : Boues activées

BD : Bio-disques

BA AP : Boues activées Aération prolongée

BA Fo : Boues activées Fosses d'oxydation

BA RBS: Boues activées Réacteur biologique séquentiel

Notes

Souligné = Dépasse la norme obligatoire

Prise d'un seul échantillon dans chaque cas

18 villes sur 34 dépassent les normes obligatoires pour un toxique au moins

\* Municipalité qui dépassent la norme obligatoire pour un ou plusieurs toxiques

## **CHAPITRE 2**

**Revue de littérature sur l'enlèvement des métaux des boues d'épuration**

## 2.1 COMPOSITION MÉTALLIQUE DES BOUES RÉSIDUAIRES

Sommers (1977) a évalué la concentration en métaux de 250 échantillons de boues venant de 150 stations différentes. St-Yves (1985) a effectué le même genre de travail au Québec ce qui est résumé dans le mémoire de Giroux (1986).

Après un premier examen du tableau 2.1, on constate que les valeurs pour le Québec sont beaucoup plus faibles, ceci est dû au fait que la plupart des stations traitent des effluents de municipalités rurales (Giroux, 1986). (Le tableau 1.6 démontre que 52.9% des boues dépassent les normes obligatoires pour un élément toxique au moins). Cependant avec l'ajout de municipalités plus importantes (St-Yves et Beaulieu, 1988), il y a augmentation des concentrations moyennes pour le cuivre et le zinc. Le manganèse semble aussi être présent en grande quantité.

Aux États-Unis, la gamme des concentrations est très large. Les moyennes sont beaucoup plus fortes que les médianes, spécialement pour le cadmium. En fait, environ 47% des boues aux États-unis dépassaient la valeur médiane de  $16 \text{ mg Cd kg}^{-1}$  (Sommers, 1977) alors que la norme américaine pour le Cd est de  $25 \text{ mg kg}^{-1}$  (Tjell, 1986).

## 2.2 SPÉCIATION DES MÉTAUX DANS LES BOUES ANAÉROBIES

Avant de discuter du procédé de solubilisation bactérienne des métaux, il est important d'étudier les formes sous lesquelles ceux-ci existent dans les boues anaérobies. En général les ions métalliques libres sont assez rares dans les

Tableau 2.1: Concentrations de divers métaux dans les boues résiduaires aux États-Unis et au Québec

	E.U.*			Québec		
	Gamme	Médiane	Moyenne	Moyenne Giroux 1986	St-Yves et Beaulieu 1988	
Pb	13 - 19 700	500	1 360	180.4	98.2	
Zn	101 - 27 800	1 740	2 790	526.9	594.5	
Cu	84 - 10 400	850	1 210	551.8	698.7	
Ni	2 - 3 520	82	320	35.6	20.7	
Cd	3 - 3 410	16	110	9.9	4.2	
Cr	10 - 99 000	890	2 620	913.0**	44.53	
Mn					1 111.2	

\* Sommers, 1977

\*\* Concentration probablement due à une contamination industrielle

boues (Sterrit et Lester, 1984), les formes inorganiques insolubles et les complexes avec la matière organique représentent les formes dominantes.

Les conditions réductrices qui prévalent lors de la digestion anaérobiose des boues forment des sulfures métalliques (Hayes et Theis, 1978; Mosey, 1976) qui sont extrêmement insolubles (Lester et al., 1983). La seule exception est celle du chrome qui forme plutôt un hydroxyde insoluble (Theis et Hayes, 1980). Tous semblent d'accord pour prédire que le cuivre est présent sous forme de sulfure cuivreux ( $Cu_2S$ ) (Legret et al., 1987, 1983; Theis et Hayes, 1980; Stover et al., 1976). Globalement Hayes et Theis (1978) concluent que Cu, Zn, Pb, Cd et Ni sont à peu près à 70% sous forme de sulfure et à environ 30% sous forme intracellulaire. Alors que 40% du Cr se retrouve sous forme  $Cr(OH)_3$  et plus de 60% sous forme intracellulaire.

Plus récemment Alibhai et al. (1985) ont conclu que la formation de complexes avec la surface des cellules (probablement les groupements - SH des protéines) entre en compétition avec la précipitation sous forme de sulfure pour Cu, Zn, Pb, Cd, Ni et Hg et sous forme d'hydroxyde pour Cr. Ainsi il semble que le zinc est principalement lié à la matière organique (Gould et Genetelli, 1978; Stover et al., 1976). Pour le cadmium le consensus n'est pas établi puisque Stover et al. (1976) et Legret et al. (1983) ont trouvé la classe carbonatée plus importante que la classe des sulfures pour cet élément.

Le nickel suscite moins de controverses et il est le seul à pouvoir être présent sous formes solubles en quantités appréciables (Legret et al., 1983; Hayes et Theis, 1978). Le plomb cause encore moins d'incertitude car il est très peu soluble et bien fixé dans les boues par des mécanismes de

précipitation ( $\text{PbS}$ ) et de complexation avec la matière organique. Finalement le fer se retrouve sous formes de précipités de  $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2$  ou de  $\text{FeS}$ , ou encore, lié à la matière organique.

La figure 2.1 représente les conditions d'équilibre calculées par Theis et Hayes (1980) pour un type de boues anaérobies. On peut y remarquer la zone d'équilibre de ce type de boues anaérobies et on voit bien selon cette figure sous quelles formes existent les divers métaux. La figure 2.1 démontre que la solubilité d'un métal dépend autant du potentiel rédox ( $\text{Eh}$ ) que du pH. À remarquer que le cuivre nécessite un potentiel rédox plus élevé que les autres métaux pour être soluble ( $\text{Cu}^{+2}$ ). Le tableau 2.2 résume les diverses opinions des scientifiques sur la spéciation des métaux dans les boues anaérobies.

Il ne faut surtout pas oublier que dans les boues anaérobies (solides totaux aux environs de 3%), la matière organique est très abondante et que la stabilité des complexes organométalliques selon la série d'Irving-Williams (Irving et Williams, 1948) suit l'ordre suivant:



On devra donc s'attendre à avoir plus de difficultés à solubiliser le plomb et le cuivre. En étudiant les résultats des essais qui ont été faits par acidification chimique, on s'aperçoit vite que ces deux métaux sont en fait pratiquement non solubilisés. Finalement, Legret et al. (1987) concluent que dans le milieu naturel, mis à part le plomb, tous les métaux lourds sont potentiellement relargables, le cadmium et surtout le nickel étant les plus mobiles.

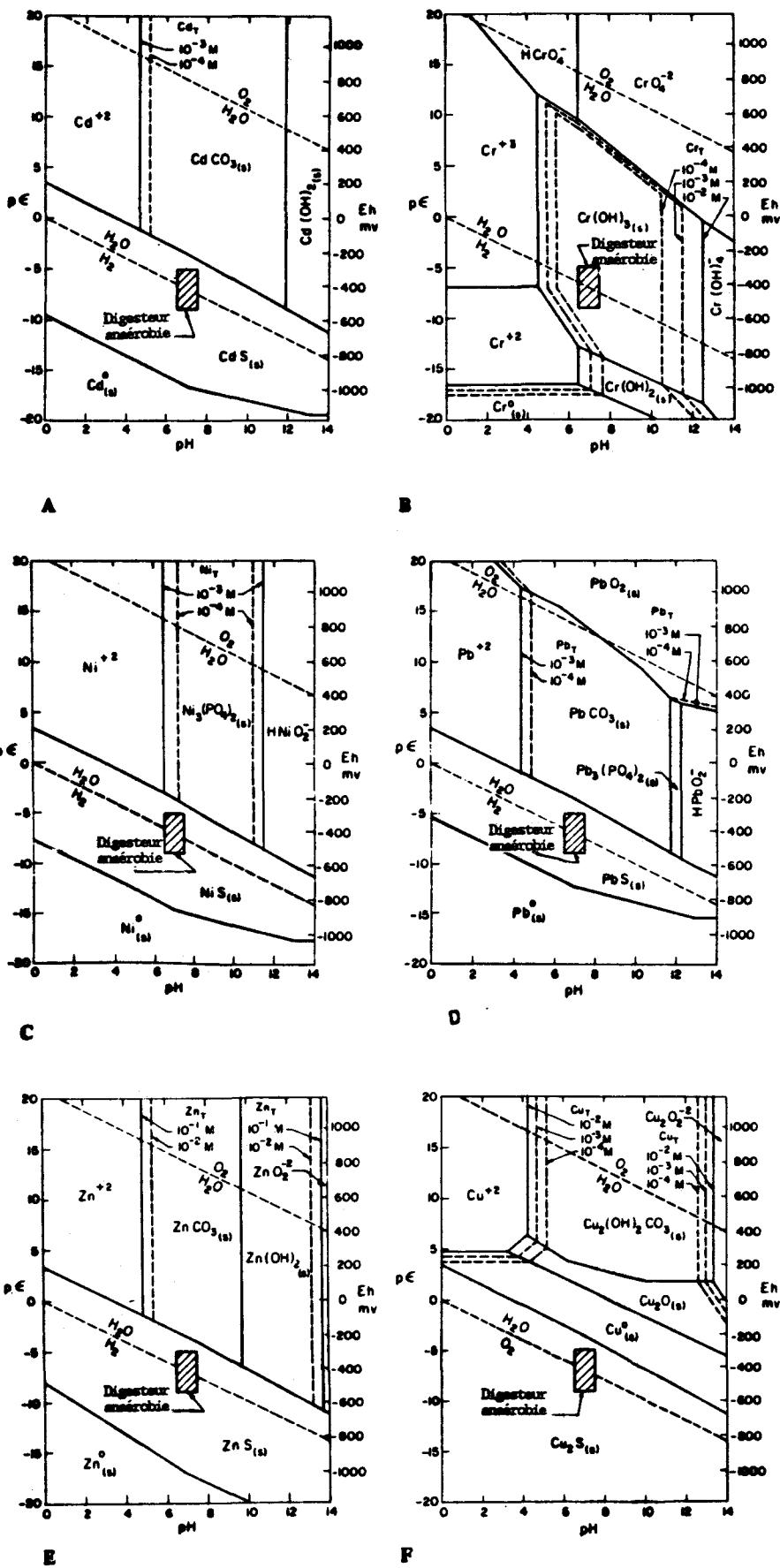


Figure 2.1: Diagrammes d'équilibre pour divers métaux dans les boues anaérobies. Les ligands sont  $\text{C}_T = \text{P}_T = \text{S}_T = 10^{-2} \text{M}$  (A) Cd, (B) Cr, (C) Ni, (D) Pb, (E) Zn, (F) Cu (De Theis & Hayes, 1980)

Tableau 2.2: Spéciation des principaux métaux lourds dans les boues anaérobies selon divers auteurs.

ELEMENT	HAYES & THEIS 1978	STOVER ET AL. 1976	LEGRET ET AL. 1983
Cu	Cu <sub>2</sub> S > INTRACEL.	Cu <sub>2</sub> S > CARBONATE	Cu <sub>2</sub> S > CARBONATE + Cu-org.
Ni	NiS > INTRACEL.	CARB. > ORG. > EX .	Ni-ORG.+ NiS
Zn	ZnS > INTRACEL.	Zn-org > CARB.	CARB. > OXY. + HYD
Pb	PbS > INTRACEL.	CARB. > ORG. > PbS	PbS IMMOBILE
Cd	CdS > INTRACEL.	CARB. > CdS > ORG.	CARB. > CdO
Cr	Cr(OH) <sub>3</sub> > INTRACEL.	-----	-----

LÉGENDE: INTRACEL.: INTRACELLULAIRE  
CARB.: CARBONATE  
ORG.: LIÉ A LA MATIÈRE ORGANIQUE  
EX.: ÉCHANGEABLE  
OXY.: OXYDE  
HYD : HYDROXYDE

## 2.3 PROCESSUS CHIMIQUE VERSUS PROCESSUS BIOLOGIQUE POUR SOLUBILISER LES MÉTAUX

Plusieurs tentatives de solubilisation chimique des métaux ont été étudiées (Kiff et al., 1983; Wozniak et Huang, 1982; Jenkins et al., 1981; Cornwell et al., 1980; Oliver et Carey, 1976; Bloomfield et Pruden, 1975; Olver et al., 1975; Scott et Horlings, 1975). La plupart du temps, ces méthodes sont inefficaces pour solubiliser le plomb et le cuivre; ce dernier est problématique pour ce qui a trait à la toxicité des boues, sa teneur étant souvent au-dessus des normes fixées. De plus, ce sont des méthodes coûteuses car elles requièrent de grandes quantités d'acide, soit de 0.5 à 0.8 g H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/g boues sèches (Tyagi et Couillard, 1987a; Wong et Henry, 1983; Schöborn et Hartmann, 1978; Oliver et Carey, 1976). Ces méthodes nécessitent souvent la dilution des boues pour obtenir de bons rendements et en plus, elles exigent de grandes quantités de chaux à la fin du traitement, afin de neutraliser l'acide pour précipiter les métaux.

Des résultats plus probants ont été obtenus par Hayes et al. (1980) qui atteignent de bons rendements de solubilisation pour les métaux. (Cd = 95, Cu: 61%, Ni=81%, Zn=99%, Pb=55%, Cr=29%). Par contre, leur méthode nécessite que la boue soit préalablement digérée à 55°C ("Aerobic Autoheated Thermophilic Digester") et que l'acidification soit faite à la même température ce qui donne au procédé un avantage au niveau de la solubilité des sels mais peut par contre coûter fort cher à réaliser. De plus, dans ce cas, le coût de l'acide (HCl) est important. Ce point sera étudié à la fin de ce mémoire lors des comparaisons économiques des divers procédés.

La tentative la plus récente est celle de Logan et Feltz (1985) qui ont procédé à l'extraction des métaux avec HCl (pH = 2) sur des boues anaérobies qui étaient préalablement aérées pendant 2 semaines. Ce procédé solubilise 76% du Cd et plus de 70% du Zn, Ni, Ca et Mn, mais n'enlève que 25% du cuivre et moins de 5% du Pb. Même si les quantités d'acide requises sont diminuées dues à la longue aération, la quantité de chaux requise est élevée. Les principaux désavantages de cette approche sont le long temps requis pour l'aération et la faible extraction du cuivre et du plomb. Les aspects économiques de cette approche seront étudiés à la fin de ce mémoire.

#### 2.4 LES MICRO-ORGANISMES DE LA SOLUBILISATION BACTÉRIENNE DES MÉTAUX

Le micro-organisme le plus utilisé dans la solubilisation des métaux par les bactéries est sans contredit Thiobacillus ferrooxidans, découvert par Colmer et ses associés (Colmer et al., 1950; Colmer et Hinkle, 1947).

Cette bactérie qui appartient au genre Thiobacille, est un organisme chemoautotrophe, c'est-à-dire qu'elle tire son énergie métabolique de substances chimiques. Dans le cas du Thiobacillus ferrooxidans, ce sont les formes réduites du soufre inorganique et le fer ferreux qui sont utilisés (Harrison, 1984; Ingledew, 1982; Lundgren et Silver, 1980, Guay et al., 1976). Une boue anaérobie peut donc, en théorie, supporter la vie de ce micro-organisme car le fer est sous forme ferreux et les sulfures y sont abondants.

Le fait d'être apte à tirer son énergie vitale de la simple oxydation de Fe (II) à Fe (III) est un phénomène très rare. Ingledew (1982) commente en ces termes cette capacité étonnante:

"The latter life style, growth on Fe (II) oxidation represents one of the narrowest thermodynamic limits for which growth is known to occur..."

Harrison (1982) a recensé 23 souches différentes de cette bactérie qu'il qualifie d'aérobie et d'acidophile strictes (Harrison, 1984; Ingledew, 1982). Thiobacillus ferrooxidans est une bactérie mésophile à gram négatif (Vishniac, 1974), qui se présente sous forme de bâtonnet de dimension 0.5 à 0.8  $\mu\text{m}$  X 1.0 - 2.0  $\mu\text{m}$  (Bosecker et Kursten, 1978).

Selon certains auteurs (Corbett et Ingledew, 1987; Sugio et al., 1985; Goodman et al., 1983) elle peut aussi vivre en milieu anaérobiose. Il est à noter que les bactéries Ferrobacillus ferrooxidans et Ferrobacillus sulfooxidans ont été reconnues en 1972, comme étant de la même espèce, étant des souches différentes de Thiobacillus ferrooxidans, (Kelly et Tuovinen, 1972).

La seule source de carbone de cette bactérie est le dioxyde de carbone (Harrison, 1984; Guay et al., 1976). Elle assimile l'azote sous forme d'ions ammonium (Harrison, 1982). Mackintosh (1978) a démontré qu'elle était apte à fixer l'azote atmosphérique ( $\text{N}_2$ ).

Quelques auteurs (Ingledew, 1982; Le Roux et al., 1978) croient que T. ferrooxidans peut se nourrir de matière organique; mais ceci est contredit par Harrison (1984). En effet, ce dernier attribue cette hétérotrophisme à la

contamination de la souche pseudo pure par des hétérotrophes acidophiles tels Thiobacillus acidophilus ou Acidiphillum cryptum.

Les nutriments essentiels à cette bactérie sont l'azote, le phosphate, le sulfate à 2 g L<sup>-1</sup> (Tuovinen et al., 1971a) et le magnésium (II). Le nitrate est inhibiteurs à 0.05%, le chlorure, le fructose, le lactose, l'extrait de viande, le peptone et le tryptone, le sont à 0.5% (Tuovinen et al., 1971a). L'argent ionique à 10<sup>-9</sup>M est inhibiteur lorsque T. ferrooxidans croît sur FeSO<sub>4</sub> (Norris et Kelly, 1978b). Le cinnabre (HgS) est inhibiteur lorsqu'il est présent à plus de 10% mais a peu d'effet à une concentration de 1% (Baldi et Olson, 1987). Néanmoins, dans la plupart des cas, des souches résistantes se développent. Certains anions, surtout sous leurs formes protonées, tels le HCl, le HNO<sub>3</sub>, et les acides organiques sont toxiques s'ils sont en quantités appréciables. En effet, ces molécules traversent alors la membrane et vont acidifier le cytosol qui est normalement à pH 7 (Alexander et al., 1987; Ingledew, 1982).

Dans certains cas, un substrat (Fe(II), S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>) peut devenir inhibiteur à la croissance, lorsque le substrat principal est différent. C'est ainsi que 10 mM de thiosulfate ou autre forme réduite du soufre inhibe la croissance de T. ferrooxidans sur le sulfate ferreux à pH 1.5 (Hurtado et al., 1987). À l'opposé Hazeu et al. (1986) ont observé que 75 mM de Fe(II) ou Fe(III), diminuait la croissance de T. ferrooxidans sur le thiosulfate d'environ 30%.

La résistance de cette bactérie aux métaux lourds est grande; il lui est, en effet, possible d'oxyder le fer en présence d'une concentration inférieure à 0.15 M de zinc, 0.17 M de nickel, 0.16 M de cuivre, 0.17 M de cobalt, 0.18 M de

manganèse et 0.37 M d'aluminium (Hutchins et al., 1986). Le plus toxique des éléments est l'ion molybdate qui est léthal à 5 mg/l pour T. ferrooxidans. L'ion molybdate a une structure très semblable à l'ion sulfate, il le remplace donc dans les mécanismes enzymatiques de la bactérie, ce qui l'empoisonne (Tuovinen et Kelly, 1974b). L'uranium, les anions d'arsenic, de sélénium et de tellure sont inhibiteurs dans des gammes de concentrations de 0.8 à 3 mM. Finalement, la croissance sur le thiosulfate est beaucoup plus sensible à l'inhibition par les métaux (Tuovinen et al., 1971b).

Le potentiel d'oxydo-réduction ou potentiel rédox (POR) du système ferreux-ferrique est de + 747 mV à 25°C (Lundgren et Silver, 1980). Cependant, les valeurs expérimentales oscillent entre + 220 mV et 540 mV (Brierley, 1978), lorsque les sulfures métalliques servent comme substrat. Dans les boues, le potentiel rédox doit se situer aux environs de ces valeurs pour qu'il y ait solubilisation des métaux.

Il est faux de prétendre à l'utilisation de cultures pures lors de la solubilisation bactérienne des métaux dans les boues municipales. Lors de la désulfuration du charbon, il y a présence de Thiobacillus thiooxidans pouvant aussi oxyder les composés réduits des minéraux du soufre, mais pas le fer.

Thiobacillus acidophilus oxyde la matière organique et les formes réduites du soufre (Harrison, 1984). Acidiphillum cryptum oxyde la matière organique seulement. Ces deux dernières espèces de bactéries qui sont hétérotrophes sont nécessaires à T. ferrooxidans, car elles se nourrissent des pyruvates qui sont ses déchets métaboliques et qui peuvent inhiber sa propre croissance (Harrison, 1984).

Thiobacillus acidophilus a la forme d'un court bâtonnet, est gram négatif, non sporulante et est souvent visible sous forme de paire non détachée (Guay et Silver, 1975a). Elle croît à des pH de 1.5 à 6.0 avec un optimum de croissance à pH 3.0. Le chlorure de sodium à plus de 0.5% inhibe sa croissance (Guay et Silver, 1975a). Acidiphillum cryptum se distingue par son étrange mobilité car elle tourne en rond sur elle-même tout en restant au même point (Harrison, 1984).

Une autre bactérie importante est Leptospirillum ferrooxidans qui a une morphologie particulière, soit une forme en L ou de court serpent avec un long flagelle qui lui donne une très grande mobilité (Hutchins et al., 1986). Cette bactérie oxyde le fer (II) mais non le soufre (Norris, 1983; Norris et Kelly, 1978a; Balashova et al., 1974). Elle est aussi gram négatif, acidophile et mésophile en plus de se développer par chemoautotrophisme. En 1982, des recherches ont démontré qu'elle oxyde la pyrite en culture pure (Norris, 1983) et qu'elle peut indirectement solubiliser d'autres sulfures métalliques contenant des concentrations minimes de fer.

La plupart de ces bactéries sont probablement présentes lors de la solubilisation des métaux par les bactéries et ce, même si l'inoculum contient seulement T. ferrooxidans. Hutchins et al. (1986) parlent de présence dans le sol de ces diverses bactéries, il y a donc de grandes chances de les retrouver dans les boues municipales.

Récemment, des recherches ont été entreprises avec des bactéries thermophiles tel Sulfolobus acidocaldarius que Kargi et Robinson (1982a, 1982b) utilisent

expérimentalement à 75°C pour la désulfuration du charbon. Murr et Mehta (1982) ont aussi travaillé avec une espèce de bactérie thermophile à 55°C.

Quelques méthodes de recensement de Thiobacillus ferrooxidans ont été développées jusqu'à maintenant. Harrison (1984) a développé une méthode sur gel de silice et sulfate ferreux. Encore plus récemment, Butler et Kempton (1987) ont réussi à améliorer grandement la méthode, réduisant les difficultés ainsi que la période d'incubation, qui est maintenant de 7 à 14 jours. Néanmoins, les premiers travaux de ce genre ont été entrepris par Tuovinen et Kelly (1973) sur gel d'agar. D'autres méthodes directes de compte avec un hematymètre ou une chambre de compte Petroff-Hausser sont aussi efficacement utilisées (Sugio et al., 1986; Lacey et Lawson, 1970). Ceci étant possible car seul les bactéries acidophiles résistent aux pH où croissent ces bactéries. Le compte est cependant un compte total d'acidophiles.

Le tableau 2.3 présente un résumé des diverses bactéries et de leurs caractéristiques.

#### 2.4.1 Mécanismes de la solubilisation bactérienne des métaux:

Dans la littérature, il est généralement accepté que la solubilisation bactérienne des métaux s'opère à l'aide de deux mécanismes. Le premier, le mécanisme direct solubilise les sulfures de métaux (MS) et la pyrite en sulfate tel que décrit dans les équations 1 et 2 (Hutchins et al., 1986; Torma, 1986; Lundgren et Silver, 1980):

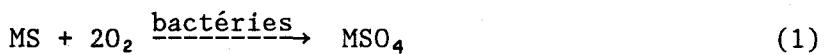
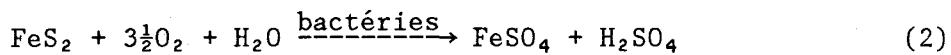


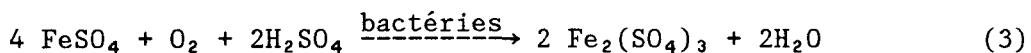
Tableau 2.3: Micro-organismes acidophiles ayant un potentiel pour la solubilisation bactérienne des métaux.

Espèce	Substrats utilisables	Caractéristiques générales	pH de croissance pH optimum	Température de (°C) croissance et optimale
<u><i>Thiobacillus ferrooxidans</i></u>	Sulfures de métaux Sulfate ferreux Pyrite Thiosulfate Tétrathionate Soufre élémentaire	Aérobie Bâtonnet 0.5 à 0.8µm x 1.0 à 2.0µm Gram négatif Non sporulante Mobile En paire ou simple Chemoautotrophe	1.0 à 5.0 optimum ≈ 2.3	10 à 40 optimum ≈ 32°C
<u><i>Thiobacillus thiooxidans</i></u>	Sulfures de métaux Soufre élémentaire Thiosulfate Tétrathionate	Aérobie stricte Bâtonnet 0.5µm x 1.0 à 2.0µm Gram négatif Parfois mobile Simple, en paire ou courte chaîne Chemoautotrophe	0.5 à 6.0 optimum 2.0 à 3.5	10 à 37 optimum 28 à 30
<u><i>Leptospirillum ferrooxidans</i></u>	Sulfate ferreux Pyrite Sulfures de métaux	Aérobie Bâtonnet en L Avec flagelle Gram négatif Très mobile Chemoautotrophe	≈ 2.0	Mésophile
<u><i>Thiobacillus acidophilus</i></u>	Thiosulfate Tétrathionate Tritionate Soufre élémentaire Matière organique	Aérobie Bâtonnet 0.5 à 0.8µm x 1.0 à 1.5 µm Mobile Souvent en paire Autotrophe facultatif	1.5 à 6.0 optimum ≈ 3.0	Mésophile optimum 25 à 30
<u><i>Acidiphillum cryptum</i></u>	Glucose Extrait de levure Matière organique	Aérobie Bâtonnet Chemoorganotrophe	2.0 à 6.0	Mésophile
<u><i>Sulfolobus acidocaldarius*</i></u>	Sulfate ferreux Pyrite Soufre élémentaire Thiosulfate Tétrathionate Hydrogène sulfureux Sulfures de métaux Composés organiques soufrés simple	Aérobie Sphère lobée 0.8 à 1.0µm de dia. Gram négatif Non sporulante Autotrophe facultatif	0.9 à 5.8 optimum sur S° 2 à 3	55 à 85 optimum 70 à 75

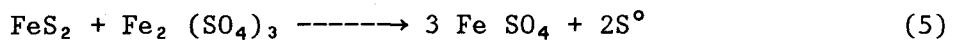
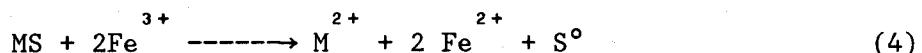
\* pas présente dans les boues



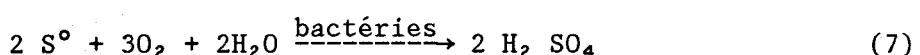
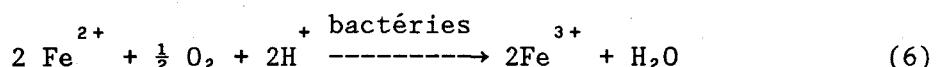
Bosecker et Kürsten (1978) indiquent qu'il a été démontré que ce mécanisme peut solubiliser les sulfures de nickel (NiS), de cobalt (CoS), de zinc (ZnS), de molybdène (MoS), de plomb (PbS), d'antimoine (Sb<sub>2</sub>S<sub>3</sub>) et de cuivre (Cu<sub>2</sub>S et CuS). Si le sulfate ferreux est utilisé comme substrat, il est aussi directement oxydé selon l'équation 3 (Bosecker et Kursten, 1978):



Dans le second mécanisme, qui est qualifié d'indirect, les ions ferriques générés par l'oxydation du fer ferreux, réagissent avec les sulfures de métaux pour produire du Fe(II) et du soufre élémentaire. Ces réactions, étant purement chimiques, n'impliquent pas directement les micro-organismes. Les équations 4 et 5 nous décrivent ces mécanismes:

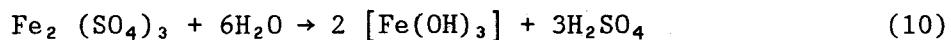
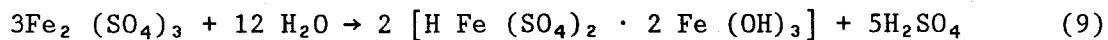
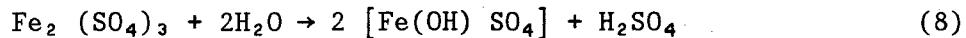


Puis dans une étape subséquente, les ions ferriques sont regénérés par l'oxydation microbienne du Fe(II) et le soufre élémentaire est aussi oxydé en sulfate, selon les équations 6 et 7:

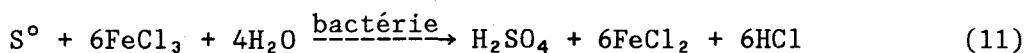


Le fer ferrique est donc prêt à poursuivre le cycle de l'oxydation des sulfures métalliques selon les équations 4 et 5. L'acide sulfurique produit dans les équations 2 et 7 contribue à abaisser le pH et donc, à solubiliser les métaux.

La concentration optimale de fer est de 0.004 à 0.010 M. Au-delà de cette concentration, il y a formation de la jarosite, un précipité jaune aussi appelé "yellow boy". Ce précipité est formé par l'hydrolyse du sulfate ferrique (Guay et Silver, 1981; Guay et al., 1976) selon les réactions 8, 9 et 10:



Sugio et al. (1985) suggèrent les réactions 11 et 12 pour expliquer l'oxydation anaérobie du soufre:



Ceci résume les principales réactions d'oxydo-réduction de la solubilisation bactérienne des métaux.

## 2.5 LES FACTEURS AFFECTANT LA CROISSANCE DE CES MICRO-ORGANISMES

### 2.5.1 Type de substrat

Plusieurs produits peuvent servir de substrat pour les diverses espèces de micro-organismes capables de solubiliser les métaux, le tableau 1.4 les identifie et présente les paramètres cinétiques de croissance estimés par de nombreux auteurs. Wong et Henry (1984b) n'ont pas ajouté de substrat additionnel lors de la solubilisation bactérienne des métaux dans les boues anaérobies d'une usine de Toronto. Cependant, ces boues contenaient de très fortes teneurs en métaux, surtout en fer (31 150 mg/Kg boues sèches). Dans les boues anaérobies, le fer est principalement sous forme de sulfures (Legret et al., 1983; Hayes et Theis, 1978) et de carbonates ferreux (Legret et al., 1983; Stover et al., 1976) qui servent de substrat aux micro-organismes. Cependant, de si fortes concentrations de métaux sont exceptionnelles. Dans notre cas, il faut ajouter un substrat artificiel pour obtenir une solubilisation rapide des métaux, qui est dépendante de la croissance importante des micro-organismes.

Le tableau 2.4 reproduit les paramètres cinétiques de Thiobacillus ferrooxidans sur divers substrats. Les taux spécifiques de croissances ont été calculés par le modèle de Monod (1949):

$$\mu = \frac{\mu_m S}{K_s + S} \quad (13)$$

$$\text{où } \mu = \frac{1}{X} \frac{dX}{dt} \quad (14)$$

Tableau 2.4: Paramètres cinétiques de Thiobacillus ferrooxidans sur divers substrats.

Substrat	Référence	Taux spécifique de croissance $\mu$ en $h^{-1}$	Taux maximum de croissance spécifique $\mu_m$ en $h^{-1}$	Constante de demi-saturation $K_s$ en mM	Rendement bactérien $Y_{SX}$ en $g_{pd\ sec}$ $K_g$ bactérie $K_g$ substrat
FeSO <sub>4</sub>	Lacey et Lawson (1970)	-	0.20 à 30°C	36	
FeSO <sub>4</sub>	Tuovinen et Kelly (1974a)	-	-	-	0.002(CSTR)*
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	Chang et Myerson (1982)	-	0.1085 à 28°C	2.5	
FeSO <sub>4</sub>	Godard et al. (1987)	-	0.1580 à 30°C	-	0.017(RRIP)**
FeSO <sub>4</sub>	Kelly et Jones (1978)	-	0.143	-	0.002(CSTR)
FeSO <sub>4</sub>	Takamori et al. (1983)	0.16 à 0.31	-	-	- (CSTR)
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	Yunker et Radovich (1986)		-	-	0.048(ELECTROLYTIC)
FeS <sub>2</sub>	Myerson et Kline (1984)	0.023 - 0.073	-	-	- (CSTR)
	Huber et al. (1984b)	0.060	-	-	0.044 et 0.066 (F)***
	Hoffman et al. (1981)	-	0.22	2.41	0.075 (F)
	Chang et Myerson (1982)	-	0.07 à 0.22	-	0.070 (F)
CuFeS <sub>2</sub>	Mishra et al. (1986)	0.08	-	-	-
ZnS	Gormely et al. (1975)	-	>0.1038	-	0.070 (CSTR)
ZnS	Sanmugasunderam et al. (1980)	-	0.015 à 0.025	-	-
PbS	Tomisuka et Yagisawa (1978)	-	0.10	-	-
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Tuovinen et Kelly (1974a)	0.018 à 0.043	0.043	-	0.037 (F)
	Bounds et Colmer (1972)	-	-	20 à 50	-
	Eccleston et Kelly (1978)	-	-	1.2 à 25	0.047 (F)
	Hazeu et al. (1986)	-	-	0.005 à 0.025	0.034 (CSTR)
S°	Espejo et Romero (1987)	0.021	-	-	-
K <sub>2</sub> S <sub>4</sub> O <sub>6</sub>	Tuovinen et Kelly (1974a)	-	0.050	-	0.032 (F)
	Eccleston et Kelly (1978)	0.092	-	0.13 à 8.33	0.041 (F)
	Hazeu et al. (1986)	-	-	0.004 à 0.025	0.034 (F)

\* CSTR = Réacteur en continu bien mélangé

\*\* Réacteur à recyclage interne pneumatique ("AIRLIFT")

\*\*\* F = Fournée

avec  $\mu$  = taux spécifique de croissance en  $\text{h}^{-1}$

$\mu_m$  = taux spécifique maximum de croissance en  $\text{h}^{-1}$

$S$  = concentration de substrat en mM

$K_s$  = concentration du substrat qui correspond à un  $\mu$  égal à la moitié de  $\mu_m$

$X$  = concentration des micro-organismes en g/l ou ind/ml

$t$  = temps en  $\text{h}^{-1}$

L'équation du rendement bactérien est:

$$Y_{SX} = \frac{dX}{dS} \quad (15)$$

L'étude du tableau 2.4 montre que les meilleurs taux maximums de croissance ont été obtenus en utilisant le sulfate ferreux et la pyrite. On obtient 0.1085 à 0.22  $\text{h}^{-1}$  contrairement à une gamme de 0.018 à 0.092 pour les diverses formes du soufre. Le rendement ( $Y_{SX}$ ) est cependant beaucoup plus important lorsque la pyrite est utilisée comparativement au sulfate ferreux, et ce même si la pyrite est insoluble, donc moins accessible pour les micro-organismes. Le désavantage que la pyrite soit insoluble, est compensé par le fait que dans celle-ci, T. ferrooxidans, utilise encore plus le sulfure que le fer, dû à sa très grande affinité pour les sulfures (Hazeu et al., 1986). Le sulfate dans  $\text{FeSO}_4$  n'est pas un substrat car le soufre y est déjà à son état d'oxydation le plus élevé.

Les formes minérales réduites du soufre comme le thiosulfate, le tétrathionate ont des taux spécifiques de croissance beaucoup plus faibles. Ceci est probablement dû au fait que ces produits sont peu stables en milieu acide et

qu'ils se décomposent. Ces produits de décomposition sont des polythionates ( $\text{HS}_x\text{O}_3$ ), des radicaux de soufre ( $\text{SO}_5^\bullet$ ,  $\text{SO}_3^\bullet$ ), des superoxydes ( $\text{O}_2^\bullet$ ) et hydroperoxyde tel que  $\text{HO}_2^\bullet$  (Hurtado *et al.*, 1987). Ce sont donc tous des agents chimiques très agressifs et ils endommagent les membranes bactériennes. En fait, la croissance de T. ferrooxidans ne peut être démarrée à un pH inférieur à 3.5 sur ce substrat. Par contre, le rendement bactérien sur ces produits du soufre est supérieur à celui sur le sulfate ferreux et 2 fois moindre que sur la pyrite.

La pyrite et le sulfate ferreux sont ceux qui semblent le plus prometteur car ils occasionnent un fort taux de croissance, ce qui permet de diminuer le temps de réaction et le volume des réacteurs. Le coût de chacun des différents substrats sera sans doute le facteur déterminant. De ce point de vue, la pyrite semble grandement favorisée, car elle est un résidu fréquent dans les mines. En dernier lieu, il est intéressant de noter les hauts rendements que Yunker et Radovich (1986) ont obtenus en réduisant électrolytiquement les ions ferriques produits par les bactéries en solution.

### 2.5.2 Le dioxyde de carbone

Le dioxyde de carbone est la seule source de carbone que T. ferrooxidans utilise. Plusieurs auteurs (Goodman *et al.*, 1983; Takamori *et al.*, 1983; Kargi, 1982; Hoffmann *et al.*, 1981; Torma *et al.*, 1972) ont démontré qu'en aérant avec de l'air enrichi en  $\text{CO}_2$  le rendement de la solubilisation était augmenté. Cependant, toutes ces expériences ont été faites avec des minérais géologiques ou avec des produits minéraux, donc pauvre en matière organique.

### 2.5.3 Oxygène et potentiel d'oxydo-réduction (POR)

Très peu de chercheurs se sont penchés sur l'importance exacte de ce paramètre. Guay et al. (1975b) ont conclu que l'efficacité de la solubilisation de l'uranium par T. ferrooxidans dépendait de la disponibilité de l'oxygène et que dans la phase exponentielle de croissance, la concentration de  $O_2$  s'abaissait de 7 ppm à 3 ppm. Ceci suggère que ce serait le facteur limitant lors de cette phase de croissance. La concentration d'oxygène est aussi fortement corrélée au potentiel d'oxydo-réduction que l'on doit maintenir à des valeurs plus élevées que +250 mV pour solubiliser significativement le cuivre (Wong et Henry, 1983).

Sur la figure 2.1a (Theis et Hayes, 1980; Hayes et Theis, 1978), on constate que le POR des boues anaérobies se situe entre -500 et -200 mV. Lorsqu'on élève le POR à +100 mV (par aération ou autres procédés chimiques) et que l'on abaisse le pH à moins de 4, le cadmium se solubilise sous forme  $Cd^{+2}$ , alors que si le POR demeure dans les valeurs négatives à pH 4, on ne peut le solubiliser car il est sous forme  $CdS(s)$ . Une bonne stratégie pour solubiliser les métaux requiert donc un bon ajustement du pH et du POR. Ceci peut être fait par oxydation chimique ou biologique. Chimiquement, on peut utiliser l'air ou un autre agent oxydant. L'aération à elle seule est trop lente. Les oxydants chimiques sont coûteux et oxydent la matière organique, ce qui change les caractéristiques des boues et réduit ses propriétés fertilisantes et d'amendement pour les sols. L'augmentation du potentiel rédox est beaucoup plus rapide et économique avec le procédé biologique (Tyagi et Couillard, 1987a).

Dans le cas de la désulfurisation du charbon avec T. ferrooxidans, Bos et al. (1986) ont conclu que cette bactérie a une très grande affinité pour l'oxygène. En fait, un pourcentage de saturation en oxygène de 2.5% est suffisant pour ces micro-organismes dans la phase stationnaire. Cependant, il semble plus raisonnable d'avoir au moins 35% de saturation en oxygène pour éviter que celui-ci limite la croissance. Finalement, l'importance du POR est clairement visible dans les diagrammes d'équilibre des boues anaérobies types; ceux-ci ont été calculés par Theis et Hayes (1980) et sont présentés à la figure 2.1.

#### 2.5.4 Pourcentage de solides et diamètre des particules de substrat

Le diamètre des particules de substrat a été identifié par plusieurs chercheurs comme un paramètre important. En le diminuant, ce qui augmente la surface de contact, on augmente le taux de solubilisation bactérienne des métaux (Myerson et Kline, 1984; Andrews et Maczuga, 1982; Hoffman et al., 1981; Guay et al., 1976). Guay et al. (1976) ont trouvé qu'un diamètre de 0.030 mm était optimal lors de la solubilisation de l'uranium. Il est évident qu'il n'est pas question de diamètre des particules lorsque le substrat est soluble comme dans le cas du sulfate ferreux ( $\text{FeSO}_4$ ), du thiosulfate ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) ou du tétrathionate ( $\text{K}_2\text{S}_4\text{O}_6$ ).

Cependant, le pourcentage de solides totaux est de grande importance dans la solubilisation bactérienne des métaux dans les boues. Tyagi et Couillard (1987a; 1987b) ont su démontrer lors d'expériences en fournée que la solubilisation des métaux étudiés diminuait avec l'augmentation du contenu en solides des boues. Ceci peut être dû à une diminution du transfert du substrat, des gaz ( $\text{O}_2$ ,  $\text{CO}_2$ ) et des métabolites qui diminuerait l'activité

bactérienne. Une augmentation du % de solides a aussi pour effet d'augmenter l'adsorption et la complexation des métaux sur la surface des particules (Tyagi et Couillard, 1987a). La figure 2.2 démontre bien cette diminution du % de solubilisation en fonction de l'augmentation du % de solides.

#### 2.5.5 Température et pH optimum

Le tableau 2.3 mentionne que l'optimum de température pour T. ferrooxidans se situe entre 32 et 35°C, alors que l'optimum de pH est aux environs de 2.3. Selon Torma (1986), la température minimale devrait être d'environ 15°C étant donné que T. ferrooxidans est mésophile.

En fait, Wong et Henry (1984b) ont obtenu une baisse de solubilisation de 30% pour Cd, Ni et Zn, à 10°C comparativement à 25°C. La figure 2.3 présente ce résultat pour le Cd. Le coefficient de température  $Q_{10}$  peut être calculé selon l'équation (Guay et al., 1975b):

$$Q_{10} = \left( \frac{V_2}{V_1} \right)^{\left( \frac{10}{T_2 - T_1} \right)} \quad (16)$$

$V_1$  et  $V_2$  sont les vitesses d'oxydation des métaux en mg de métal par litre par jour à des températures  $T_1$  et  $T_2$  en °K.

Tyagi et Couillard (1988a) ont calculé un  $Q_{10}$  de 2.24 dans le cas de la croissance de T. ferrooxidans dans les boues anaérobies.

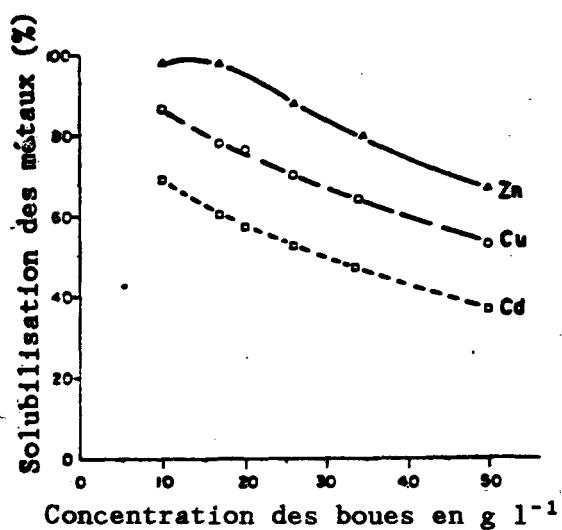


Figure 2.2: Effet de la concentration en solides des boues sur le pourcentage de solubilisation des métaux (Tiré de Tyagi et Couillard, 1987a)

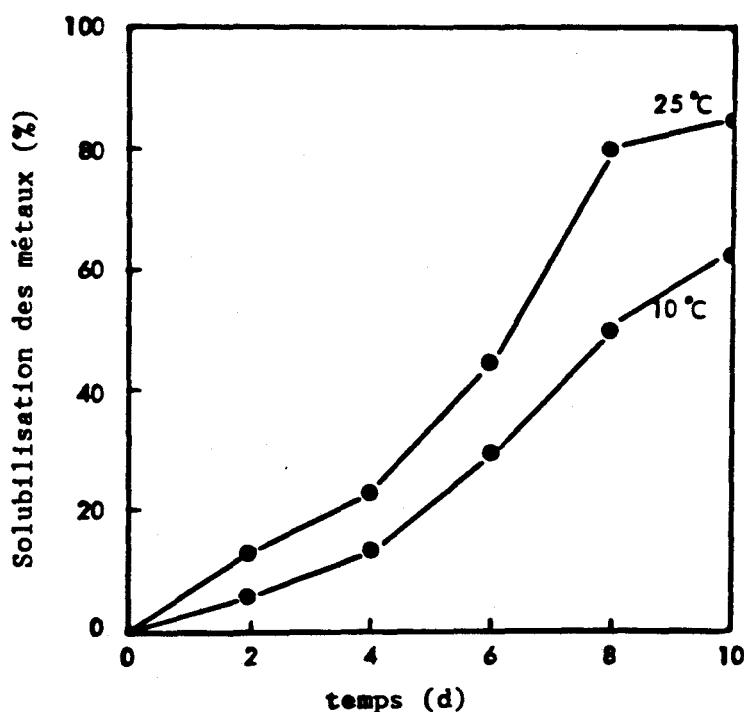


Figure 2.3: Effet de la température sur la solubilisation du cadmium dans les boues de Toronto (Tiré de Wong et Henry 1984b)

Dans une plus haute gamme de température, Guay et al. (1975b) ont calculé des taux de solubilisation de  $7.45 \text{ mole l}^{-1}\text{h}^{-1}$  et  $12.60 \text{ moles l}^{-1}\text{h}^{-1}$  à des températures de 23 et  $32^\circ\text{C}$ . Ceci résulte donc en un coefficient de température  $Q_{10}$  de 1.8, ce qui signifie qu'une augmentation de  $10^\circ\text{C}$  augmente la solubilisation par un facteur de 1.8 entre ces deux températures. Un autre auteur (Torma et al., 1970) a calculé un  $Q_{10}$  de 2.05, lors d'une augmentation de température de 25 à  $35^\circ\text{C}$ , durant la solubilisation du mineraï de sulfure de zinc.

Dans les expériences de biohydrométallurgie, le pH est généralement maintenu à 2.3 à l'aide d'ajouts d'acide ou de base (Guay et al., 1975b; Torma et al., 1972). Dans le cas de la solubilisation des métaux dans les boues, toute l'économie du procédé est basée sur la quantité minimale d'acide requise. Donc pour être économiquement efficace, on abaisse le moins possible le pH à l'aide d'acide sulfurique, puis les bactéries oxydent le fer et les sulfures de métaux l'abaisseront davantage. À date, le pH le plus haut qui semble acceptable pour une croissance efficace des bactéries semble être autour de pH 4 (Wong et Henry, 1984b). Après cet ajustement de pH, le temps de résidence des boues dans le réacteur est ajusté de façon à obtenir un pH et une solubilisation efficace des métaux. Cette façon de fonctionner permet une consommation minimale d'acide sulfurique.

#### 2.5.6 Agitation et coefficient volumétrique de transfert d'oxygène

Le rôle de l'agitation et du coefficient volumétrique de transfert d'oxygène ont été peu étudiés avec Thiobacillus ferrooxidans. Guay et Silver (1977) ont expérimenté des vitesses d'agitation de 300 à 800 rpm. Ils observèrent que le

taux de solubilisation de l'uranium augmentait avec l'augmentation de l'agitation. À l'opposé Wong et Henry (1984a) ont conclu qu'une agitation légère était plus efficace qu'une agitation trop violente. Par contre, l'agitation en plus de l'aération améliorait le rendement par rapport à celui obtenu avec une simple aération.

Le coefficient volumétrique de transfert d'oxygène ( $K_L a$ ) est plus adéquat à décrire l'importance réelle de l'aération combinée à l'agitation. Il est en fait la mesure directe de l'oxygène qui entre en solution; s'il est élevé, il assure donc que les bactéries aient amplement d'oxygène à leur disposition. Il se définit comme suit (Pirt, 1975):

$$\frac{dC}{dt} = K_L a (C_s - C) \quad (17)$$

où:  $C_s$  = concentration d'oxygène à saturation  $\text{mg L}^{-1}$

$C$  = concentration d'oxygène dans le réacteur  $\text{mg L}^{-1}$

$K_L a$  = coefficient volumétrique de transfert d'oxygène  $\text{h}^{-1}$

$t$  = temps en heures

À remarquer que  $K_L a$  n'est pas fonction que des micro-organismes. Il est plutôt relié aux conditions physiques du système, soit l'aération, l'agitation et la géométrie du réacteur. Guay et al. (1975b; 1977) ont observé une augmentation du taux de solubilisation ( $9.60$  et  $12.60$  mM uranium  $\text{L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) lors d'une augmentation du  $K_L a$  de  $8.72 \text{ h}^{-1}$  à  $46.85 \text{ h}^{-1}$  qui correspondait à des vitesses d'agitation de  $300$  rpm et  $800$  rpm. On voit donc l'importance de maximiser le  $K_L a$  à l'aide de l'agitation et de l'aération.

#### 2.5.7 Nutriments requis

La section 2.4 mentionne que Thiobacillus ferrooxidans requiert 2 g L<sup>-1</sup> de sulfate et entre 2 et 12 mg L<sup>-1</sup> de magnésium (McCready et al., 1986; Tuovinen et al., 1971a) en plus de l'ion ammonium et du phosphate à 9.6 mg L<sup>-1</sup>. Les boues résiduaires du Québec (Flynn et al., 1984) contiennent 30.5 mg Mg L<sup>-1</sup>, 118 mg PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> L<sup>-1</sup> et 193 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup> L<sup>-1</sup>. En comparant ces chiffres de composition des boues avec ceux représentant les nutriments requis, on constate qu'il y a amplement de phosphate, de magnésium et d'ions ammonium.

Le sulfate est ajouté lors de la pré-acidification à l'acide sulfurique. Le sodium, le potassium et le calcium sont jugés en quantités suffisantes dans le charbon par Kos et al. (1983) pour procéder à la désulfuration biologique de celui-ci et il est connu que c'est un milieu faible en minéraux. Ces éléments sont en grandes concentrations dans les boues (Na = 154 mg L<sup>-1</sup>, K: 48 mg L<sup>-1</sup>, Ca = 164 mg L<sup>-1</sup> pour les boues résiduaires du Québec (Flynn et al., 1984), il n'y a donc certainement pas de carence de ceux-ci.

#### 2.6 EXPÉRIENCES ANTÉRIEURES D'EXTRACTION BACTÉRIENNE DES MÉTAUX DANS LES BOUES DIGÉRÉES EN ANAÉROBIOSE

La solubilisation bactérienne des métaux pour fin d'extraction n'est étudiée que depuis peu de temps en relation avec les boues d'épuration. Ceci implique donc que la littérature sur ce sujet est très limitée. Les premiers à avoir fait des expériences sur les boues anaérobies avec les thiobacilles furent Schönborn et Hartmann (1978). Ils réalisèrent des expériences en erlenmeyers à 30°C, et furent capables de solubiliser les métaux des boues anaérobies

auxquelles on a ajouté 1% de FeS et 0.5% de CuS, pour des essais avec des boues contenant jusqu'à 4% de solides en suspension avec Thiobacillus ferrooxidans. Ils purent aussi démontrer qu'une culture mixte de T. ferrooxidans et de T. thiooxidans donnait de meilleurs résultats qu'une culture pure, s'ils ajoutaient en plus 1% de soufre. Ce faisant, ils pouvaient aller jusqu'à des concentrations en solides de 5%. Le pH le plus élevé permettant la croissance fut 4.9; au-delà de cette valeur il n'y a pas eu de croissance et le pH augmente après la pré-acidification faite à l'acide sulfurique. Les bactéries ont, comme dans toutes les études sur ce sujet, dû subir une adaptation aux boues avant l'expérimentation. Le temps de réaction nécessaire était alors de 26 à 31 jours pour avoir une solubilisation maximale.

Plus récemment, Wong et Henry (1984a; 1984b; 1983) ont travaillé sur les boues anaérobies de la station d'épuration de Humber Plant à Toronto. Ces boues contiennent de très fortes concentrations de métaux soit 41 880, 10 060, 1 835 et 130 mg Kg<sup>-1</sup> pour le Fe, Zn, Cu et Cd et ceci avec 3.84% de solides totaux. Leurs essais étaient faits en fournée après avoir préalablement aéré les boues pour deux jours et les avoir acidifiées à pH 4 avec l'acide sulfurique (HCl et HNO<sub>3</sub> sont toxiques pour T. ferrooxidans). Ils démarraient ainsi avec un POR de -216 mV (après aération). Il est important de bien comprendre que le principal avantage de l'extraction bactérienne vient du fait qu'on économise sur l'acide en amenant le pH à 4 comparé à 2 avec les procédés à l'acide. Ainsi, ils utilisèrent environ 0.15g H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/g boues sèches comparé à 0.5 à 0.8g H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/g boues sèches pour les procédés à l'acide. Ils obtinrent les résultats de solubilisation suivants en 8 à 10 jours à 20-25°C alors que le pH diminuait jusqu'à pH 3.2

Pb < Cu < Ni < Zn  $\approx$  Cd

0% 65% 78% 87% 86%

À remarquer que le cuivre est solubilisé, ce qui n'était pas le cas avec les procédés à l'acide. Un fait noté également par Wong et Henry (1983) est que la stabilité des complexes organométalliques de Irving Williams est exactement l'inverse soit:

Pb > Cu > Ni > Co > Zn > Cd

Cela semble vouloir démontrer que la formation de complexes avec la matière organique est importante et qu'elle est prépondérante pour Pb et Cu (Wong et Henry, 1983) qui sont très difficiles à solubiliser.

Ces mêmes auteurs ont aussi étudié l'effet de la température sur la solubilisation du Cd, en opérant à 10 et 25°C. Ils conclurent à une augmentation de 30% de l'efficacité pour 25°C comparé à 10°C. Ces mêmes auteurs étudièrent aussi l'influence du pH initial pour débuter la solubilisation bactérienne. Ils vinrent à la conclusion qu'un pH de 6 ne permettait pas le début de la croissance et qu'un pH 4 était adéquat (Wong et Henry, 1984b). Ils évaluèrent qu'une aération de  $50 \text{ cm}^3 \text{ l}^{-1} \text{ min}^{-1}$  était suffisante. Un aspect assez particulier de leur recherche portait sur la diminution du nombre de bactéries hétérotrophes que causait la solubilisation bactérienne. Avant traitement, les boues contenaient  $2.2 \times 10^9$  bactéries hétérotrophes  $\text{ml}^{-1}$ ; après elles ne comptaient plus que  $1.8 \times 10^8$  bactéries hétérotrophes  $\text{ml}^{-1}$ . Ceci est dû au milieu qui devient trop acide pour le

développement des bactéries hétérotrophes. C'est donc dire que ce procédé agit comme inhibiteur des bactéries hétérotrophes, donc de pathogènes potentiels. Le procédé détruit aussi les bactéries nitrifiantes et décomposeurs. Les boues gardent finalement une bonne valeur agricole (Wong et Henry, 1984b). Le procédé réussit à décontaminer des boues lourdement polluées par les métaux lourds, pour qu'elles puissent satisfaire les normes ontariennes pour l'épandage agricole. Le tableau 2.5 donne les résultats de cette expérience vis-à-vis de la norme ontarienne.

Calmano et al. (1985) ont travaillé sur la décontamination des boues de dragage des sédiments qui provenaient du port de Hambourg. Ce qui est d'intérêt dans leur travail avec les thiobacilles est le fait qu'ils ont utilisé l'acide sulfureux pour acidifier la boue à pH 5. Une aération subséquente abaissait le pH à 4 car l'acide sulfureux était oxydé en acide sulfurique. Ceci peut représenter une façon d'économiser sur l'achat d'acide. Ces mêmes auteurs estiment que la solubilisation bactérienne ne requiert que 10% de l'acide requis par un procédé chimique pour arriver au même résultat. Ils conclurent que dans leur cas, une inoculation avec Thiobacillus thiooxidans seul était plus efficace. Ceci est en complète opposition avec plusieurs autres auteurs. Dungan et Apel (1978) qui travaillèrent sur la désulfuration du charbon, et Norris et Kelly (1978a), viennent tous deux à la conclusion que des cultures mixtes sont plus efficaces. Tyagi et Couillard (1987b) concluent qu'une culture mixte de Thiobacillus thiooxidans et Thiobacillus ferrooxidans est plus efficace dans la solubilisation bactérienne des métaux des boues anaérobies d'épuration. Néanmoins, Calmano et al. (1985) obtinrent de très bons taux de solubilisation après 16 jours en fournée ( $\text{Co}=98\%$ ,  $\text{Zn}=95\%$ ,  $\text{Mn}=91\%$ ,

Tableau 2.5: Normes ontariennes pour l'épandage agricole des boues

Rapport minimal*		Rapport avant l'extraction bactérienne	Ratio après l'extraction bactérienne
	$\frac{[\text{NH}_4^+ - \text{N} + \text{NO}_3^- - \text{N}]}{\text{métal}}$	$\frac{[\text{NH}_4^+ - \text{N} + \text{NO}_3^- - \text{N}]}{\text{métal}}$	$\frac{[\text{NH}_4^+ - \text{N} + \text{NO}_3^- - \text{N}]}{\text{métal}}$
Cadmium	500	118	940
Cuivre	10	8	31
Nickel	40	30	147
Plomb	15	22	26
Zinc	4	1.5	13

\* Un rapport égal ou supérieur est requis pour l'épandage agricole.

Cu=84%, Ni=66%, Cr=45%, Fe=27%, Pb=17%). La solubilisation augmenta avec la diminution du pH et du pourcentage de solides totaux.

Une seule utilisation du thiosulfate comme substrat a été expérimentée et rapportée dans la littérature jusqu'à maintenant. Il s'agit de la tentative de Kreye et al. (1973) qui, faisant face à une eau industrielle fortement chargée en thiosulfate, décidèrent d'utiliser les thiobacilles pour enlever le thiosulfate. Ce n'est pas, spécifiquement, une expérience de solubilisation des métaux. C'est cependant le seul exemple où des boues activées furent complètement transformées en un réacteur où proliféraient les thiobacilles. C'est ainsi qu'en 8 jours, le pH passa de 8.3 à 2.7 et que le thiosulfate fut éliminé. Cependant, la matière organique ne l'était plus car les hétérotrophes disparurent massivement, démontrant une fois encore, le caractère bactéricide des thiobacilles faces aux hétérotrophes.

À l'INRS-Eau, des essais de solubilisation bactérienne des métaux sont en cours depuis quelques années. Jusqu'à maintenant, Tyagi et Couillard (1988b, 1987a, 1987b) ont travaillé sur des boues anaérobies de la station d'épuration de Valcartier. Cette boue présente des concentrations en métaux beaucoup plus faibles que celles de Toronto, mais elle ne respecte toutefois pas les normes québécoises pour l'épandage sur des terres agricoles (Tyagi et Couillard, 1987b) en ce qui concerne le Cu, le Pb et le Ni. Cette boue contenait moins de sulfure et de Fe(II), donc moins de substrat pour les thiobacilles que la boue de Toronto, on aurait donc pu s'attendre à de moins bons résultats. Malgré cela, les auteurs obtinrent une solubilisation pour Zn, Cu, Pb, Cd, de 96%, 75%, 55% et 50% en 10 à 12 jours (en fournée). La figure 2.4 donne un exemple de résultat pour Zn en fournée. C'est la première fois qu'une si forte

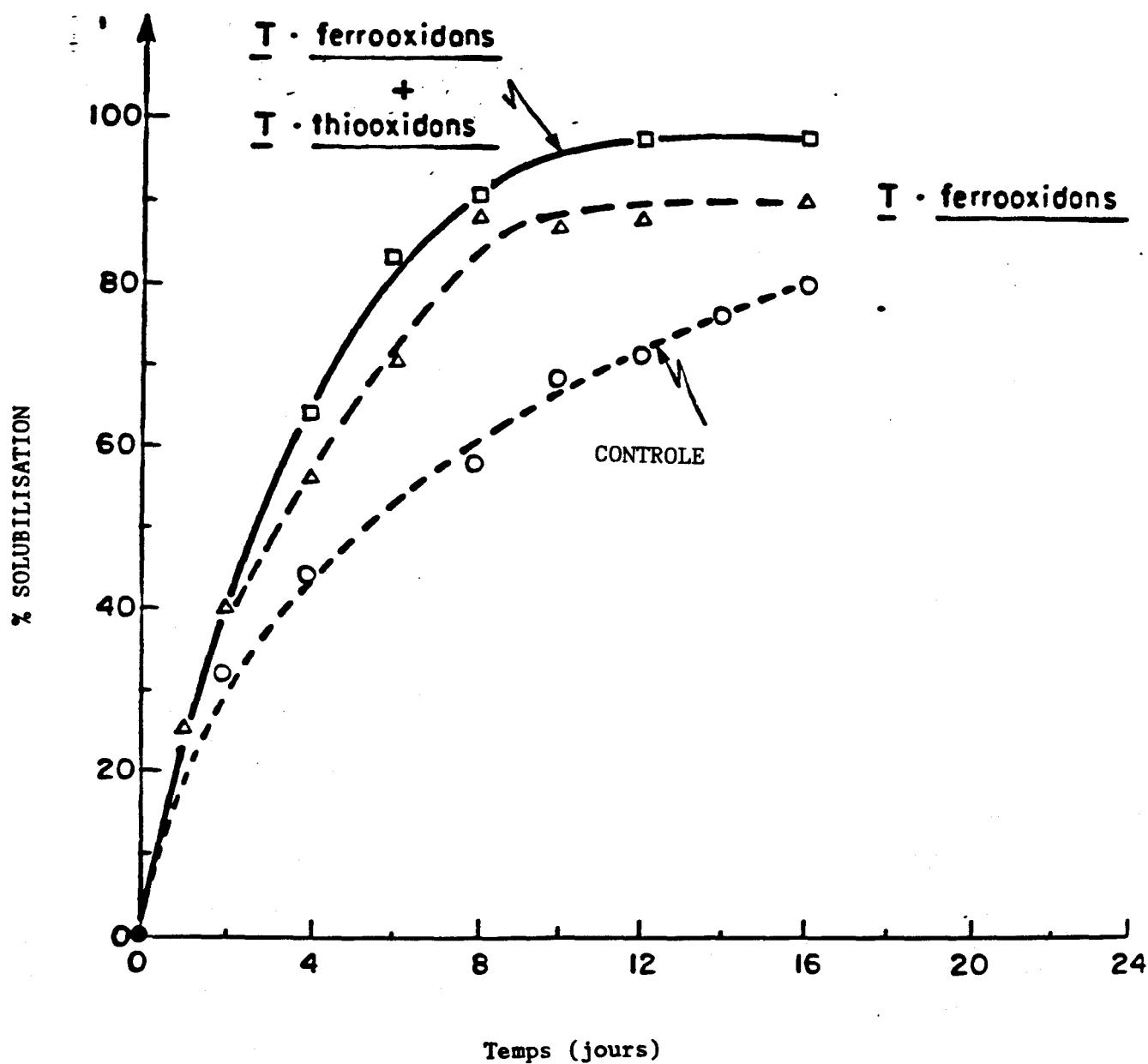


Figure 2.4: Solubilisation du zinc dans les boues digérées anaérobies  
(Tiré de Tyagi et Couillard, 1987b)

solubilisation du plomb est obtenue. Les taux de solubilisation s'établissent dans l'ordre suivant: Cu > Zn > Pb > Cd (voir figure 2.5). Comme il a été mentionné précédemment, un plus fort taux de solubilisation fut observé lorsque T. thiooxidans et T. ferrooxidans sont inoculés ensemble comparativement à T. ferrooxidans seul.

En réacteur bien mélangé, en continu, (CSTR = continuous stirred tank reactor), un temps de résidence de la boue dans le réacteur entre 3.3 et 5 jours était optimal pour maximiser le taux de solubilisation du plomb (Tyagi et Couillard, non publié). En continu, une concentration acceptable de Cu dans les boues était atteinte en 5 jours alors qu'en fournée, on n'atteint ce résultat (74% d'enlèvement) qu'en sept jours.

## 2.7 TYPES DE RÉACTEURS

Dans le but d'obtenir un procédé rapide et économique, il est important d'étudier divers types de réacteurs afin de faire un choix approprié. Un simple réacteur en continu est sensible aux chocs toxiques et/ou hydrauliques de par sa faible inertie face aux changements (Couillard, 1988). Dans ce genre de bioréacteur, le fonctionnement à faibles taux de résidence, peut mener à un manque de biomasse dû à une croissance bactérienne trop faible. Cependant, un réacteur en continu est généralement plus efficace au niveau du temps nécessaire pour opérer la réaction qu'un simple réacteur en fournée tel qu'utilisé par Wong et Henry (1983, 1984a, 1984b).

Dans la littérature, très peu d'auteurs étudient les divers types de réacteurs utilisables pour la solubilisation des métaux dans les boues de stations

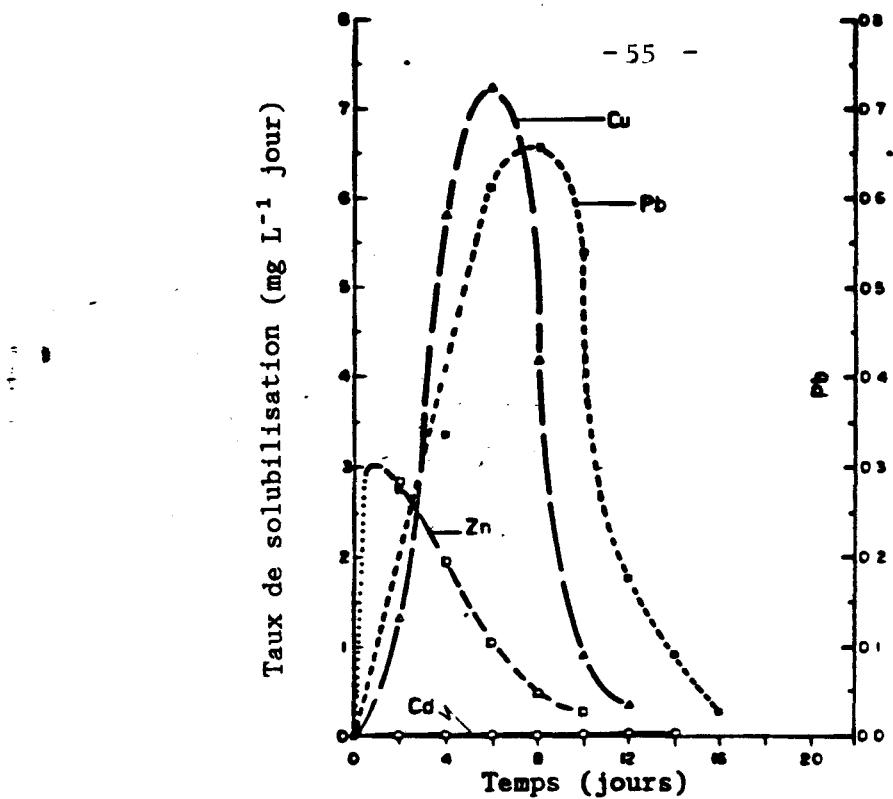


Figure 2.5: Taux de solubilisation en fonction des temps en fournée.  
(Tiré de Tyagi et Couillard, 1987b)

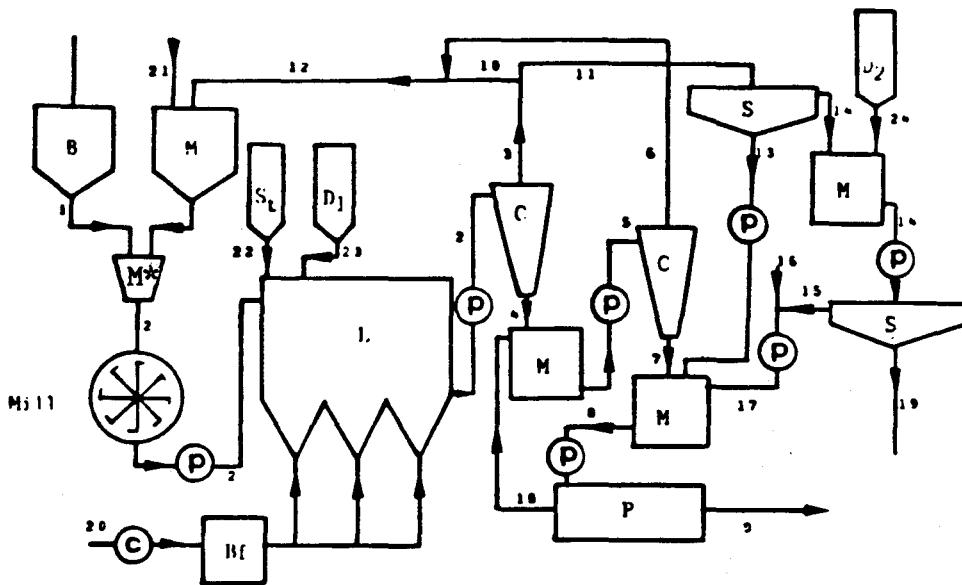


Figure 2.6: Schéma du procédé choisi pour la désulfuration du charbon  
(Tiré de Bos et al., 1986)

d'épuration. Cependant, quelques études, faites avec les mêmes micro-organismes, portent sur la désulfuration du charbon.

Dans le charbon, le soufre existe surtout sous forme de pyrite, qui est un excellent substrat pour les thiobacilles. Des tentatives de désulfuration du charbon dans des colonnes ont donné de mauvais résultats car le temps requis se chiffrait en année (Tillet et Myerson, 1987). Aux Pays-Bas, un vaste projet sur l'étude de la désulfuration biologique du charbon a été entrepris. Cette étude (Bos et al., 1986; Huber et al., 1984a) a mené à la conclusion qu'un système consistant en un réacteur fortement mélangé suivi d'un réacteur à écoulement en piston était la configuration la plus appropriée. Les deux réacteurs étant agités par aération pour éviter les problèmes de corrosion des agitateurs, maximiser l'aération et faciliter un redémarrage des opérations qui est plus facile avec une agitation à l'air.

Dans le réacteur bien mélangé, (M\* sur figure 2.6) le charbon est mélangé avec la partie recyclée (bactérie + eau + charbon). C'est là où la croissance bactérienne se fait. Le temps de résidence du réacteur est de 24 heures ( $\mu = 0.053 \text{ h}^{-1}$ ). Dans le réacteur avec écoulement en piston (L sur figure 2.6) (faiblement aéré) se produit la réaction du premier ordre (équation 18) de la désulfuration qui requiert peu d'agitation.



Cette deuxième partie du procédé nécessite un temps de résidence minimal de 4 jours. Bos et al. (1986) contrôlent le pH entre 1.8 et 2.5. Avec cette

configuration, ils obtiennent un enlèvement de 90% de la pyrite en 9 jours. D'un point de vue pratique, les auteurs estiment qu'une suite de 10 réacteurs mélangés en cascade peut enlever 90% de pyrite en 11 jours. L'étude économique du procédé a prouvé que ce système était économiquement viable pour la désulfuration du charbon à un coût de 17 à 61 DF1\*/t de charbon (7 à 21 \$ CAN/t) dépendamment de la grosseur de l'installation. La figure 2.6 reproduit le schéma de ce procédé.

Un autre type de réacteurs est étudié dans le cas du charbon. Il s'agit du bioréacteur à ascension pneumatique (BAP ou "airlift") qui est très efficace par rapport au transfert d'oxygène donc potentiellement prometteur pour la croissance des bactéries. Tran et Gannon (1981) ont réalisé la digestion aérobie de boue d'épuration à des vitesses 4 fois supérieures aux réacteurs conventionnels. Ce résultat est explicable par la très grande efficacité du transfert d'oxygène qui est de 90% dans ce type de réacteur alors qu'il n'est que de 4 à 20% dans les digesteurs ordinaires. De plus, ces réacteurs "BAP" peuvent accepter de fortes charges organiques et de fortes teneurs en solides. De plus, le haut transfert d'oxygène de ces réacteurs minimise le coût énergétique de l'aération. Godard et al. (1987) ont étudié la croissance de T. ferrooxidans dans un "BAP" et ont obtenu de très bons résultats (voir tableau 2.4). Kargi et Cervoni (1983) ont aussi utilisé un réacteur de ce type avec la bactérie thermophile, Sulfolobus acidocaldarius à 70°C pour des expériences sur la désulfuration du charbon. En 10 jours (dont 4 jours de latence) il réussirent à enlever 30% du soufre pyritique.

---

\* DF1: Florins néerlandais.

Cependant, les recherches les plus élaborées ont été réalisées par Beyer et al. (1986; 1987). Ils ont obtenu 95% d'enlèvement de la pyrite dans le charbon après 8 jours avec un pourcentage de solides de 20% dans leur "BAP" modifié en arrondissant le fond et en transformant la géométrie du réacteur ainsi que la distribution de l'air.

Les conditions étaient les suivantes: diamètre des particules de charbon < 0.5 mm, volume du réacteur = 4 l, pH initial = 1.9-2.2, aération 1 volume d'air/volume réacteur/min., T=30°C, souche=T. ferrooxidans BF 219, contenu en soufre du charbon=1.3 à 5.7%. Avec les réacteurs conventionnels, le temps de séjour était environ de 25 jours pour le même genre de résultats. Avec leur "BAP" modifié, ils furent même apte à garder en vie les bactéries pendant 22 jours à une concentration de solides de 50%. Ce genre de réacteur semble donc très prometteur au niveau de la performance. La figure 2.7 présente un schéma d'un "BAP" à boucle interne. Ce genre de réacteur est présentement à l'étude à l'INRS-Eau pour solubiliser les métaux dans les boues d'épuration (Tyagi et Couillard, 1989).

Récemment, Nakamura et al. (1986) ont expérimenté un réacteur à disque biologiques rotatifs pour décontaminer les eaux de drainage d'une mine avec T. ferrooxidans. Les conclusions de leurs travaux sont:

- le taux d'oxydation de Fe(II) ( $140 \text{ mg L}^{-1}$ ) est indépendant du pH dans la gamme de pH de 1.0 à 2.6 et de la température entre 10 et 40°C;
- le taux d'oxydation était multiplié par 4 en augmentant la vitesse périphérique des disques biologiques de  $4.7$  à  $28.2 \text{ m min}^{-1}$ .

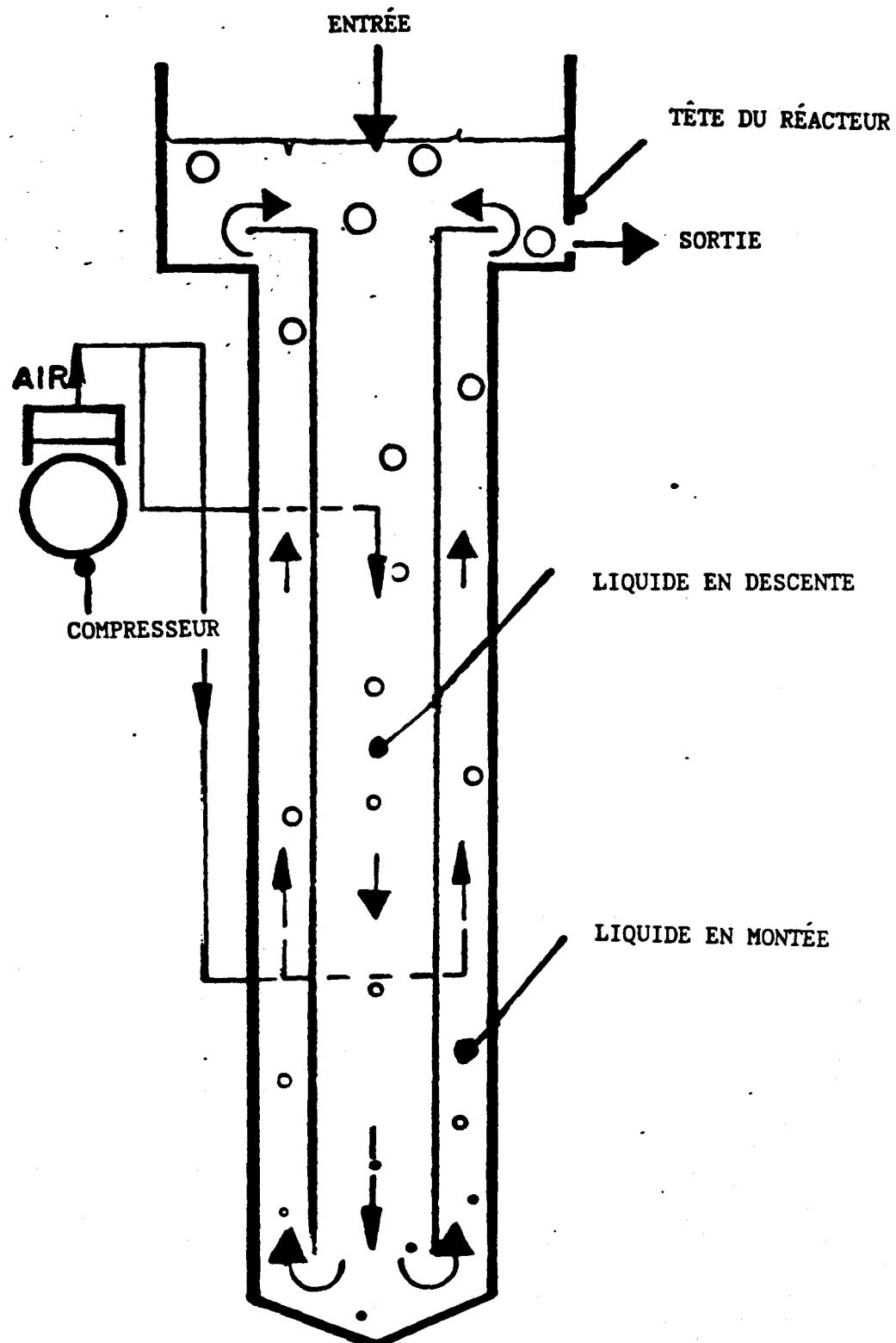


Figure 2.7 Bioréacteur à ascension pneumatique (BAP ou "airlift").

## **Conclusion**

## CONCLUSION

Dans ce premier tome, il a été clairement démontré que plus de 50% des boues nécessitent l'enlèvement des métaux si on veut les épandre sur les terres agricoles. Les procédés chimiques s'avérant trop coûteux, le procédé biologique semble favorisé.

Très peu de littérature discute vraiment de la solubilisation biologique des métaux lourds dans les boues. Cependant, la littérature abonde dans le domaine de la biohydrométallurgie qui utilise les mêmes organismes dans une matrice très différente car beaucoup plus minérale. Cette littérature a donc été soigneusement étudiée ce qui a permis de mieux connaître les micro-organismes concernés. De plus, l'étude de la solubilisation chimique des métaux dans les boues a permis de cerner les paramètres importants pour la solubilisation des métaux. À l'heure actuelle, les essais avec les boues se limitent à des réacteurs en cuvée, ce qui n'est pas un type idéal de réacteur pour une efficacité optimale. La présente étude tendra à réduire les temps de réaction en étudiant différents types de réacteurs et les divers paramètres d'importance, puis à évaluer de façon préliminaire la faisabilité économique du procédé biologique.

## **RÉFÉRENCES**

REFÉRENCES

ALEXANDER, B., LEACH, S. and INGLEDEW, J.W. (1987).

The relationship between chemiosmotic parameters and sensitivity to anions and organic acids in the acidophile Thiobacillus ferrooxidans. Journal of General Microbiology, 133: 1171-1179.

ALIBHAI, K.R.K., MEHROTRA, I. and FORSTER, C.F. (1985).

Heavy metal binding to digested sludge. Water Research, 19(12): 1483-1488.

ANDREWS, G.E. and MACZUGA, J. (1982).

Bacterial coal desulfurization, Biotechnology Bioengineering Symposium, 12: 337-348.

BALASHOVA, V.V., VEDENINA, I.Y., MARKOSYAN, G.E. and ZAVARZIN, G.A. (1974).

The auxotrophic growth of Leptospirillum ferrooxidans, Microbiology, 43(4): 581-585, Eng. 491-494.

BALDI, F. and OLSON, G.J. (1987).

Effects of cinnabar on pyrite oxidation by Thiobacillus ferrooxidans and cinnabar mobilization by a Mercury-resistant strain. Applied and Environmental Microbiology, 53: 772-776.

BECKETT, P.H.T. and DAVIS, R.D. (1982).

Heavy metals in sludge-are their effects additive? Water Pollution Control, 81: 112-119.

BEYER, M., EBNER, H.G. and KLEIN, J. (1986).

Bacterial desulfurization of german hard coal. Process Metallurgy, 4: 151-163.

BEYER, M., EBNER, H.G., ASSENMACHER, H. and FRIGGE, J. (1987).

Elemental sulfur in microbiologically desulphurized coals. Fuel, 66: 551-555.

BINGHAM, F.T., PAGE, A.L., MITCHELL, G.A. and STRONG, J.E. (1979).

Effects of liming an acid soil amended with sewage sludge enriched with Cd, Cu, Ni and Zn on yield and Cd content of wheat grain. Journal of Environmental Quality, 8(2): 202-207.

BLOOMFIELD, C. and PRUDEN, G. (1975).

The effects of aerobic and anaerobic incubation on the extractabilities of heavy metals in digested sewage sludge. Environmental Pollution, 8: 217-232.

BOS, P., HUBER, T.F., KOS, C.H., RAS, C. and KUENEN, J.G. (1986).

A dutch feasibility study of microbial coal desulphurization. Process Metallurgy, 4: 129-150.

BOSECKER, K. and KURSTEN, M. (1978).

Recovery of metallic raw materials by microbial leaching. Process Biochemistry, 13(2): 2-4.

BOUNDS, H.C. and COLMER, A.R. (1972).

Comparison of the kinetics of thiosulfate oxidation by three iron-sulfur oxidizers. Canadian Journal of Microbiology, 18: 735-740.

BRIERLEY, C.L. (1978).

Bacterial leaching. CRC Critical Reviews in Microbiology, 6: 207-262.

BROWN, M.J. and LESTER, J.N. (1979).

Metal removal in activated sludge: the role of extracellular polymers.

Water Research, 13: 817-837.

BUTLER, B. and KEMPTON, A. (1987).

Growth of T. ferrooxidans on solid media containing heterotrophic bacteria.

Journal of Industrial Microbiology, 2: 41-45.

CALMANO, W., AHLF, W. and FÖRSTNER, U. (1985).

Heavy metal removal from contaminated sludges with dissolved sulfur dioxide in combination with bacterial leaching, Proceedings of the 5th International Conference on Heavy Metals in the Environment, Athens, CEP Consultants, Edinburg, 952-955.

CHANG, Y.C. and MYERSON, A.S. (1982).

Growth model of the continuous bacterial leaching of iron pyrite by Thiobacillus ferrooxidans, Biotechnology and Bioengineering, 24: 889-902.

CHENG, M.H., PATTERSON, J.W. and MINEAR, R.A. (1975).

Heavy metals uptake by activated sludge, Journal of Water Pollution Control  
Fédération, 47(2): 362-376.

COLMER, A.R. and HINKLE, M.E. (1947).

The role of microorganism in acid mine drainage. Science, 106: 253-256.

COLMER, A.R., HINKLE, M.E. and TEMPLE, K.L. (1950).

An iron oxidizing bacterium from the acid drainage of some bituminous coal  
mines. Journal Bacteriology, 59: 317-328.

CORBETT, C.M. and INGLEDEW, J.W. (1987).

Is  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$  cycling an intermediate in sulphur oxidation by  $\text{Fe}^{2+}$  grown  
Thiobacillus ferrooxidans? FEMS Microbiology Letters, 41: 1-6.

CORNWELL, D.A., WESTERMOFF, G.P. and CLINE, G.C. (1980).

Batch feasibility testing of heavy metals removal from wastewater sludge  
with liquid ion exchange. Dans: Proceedings of Mid Atlantic Waste  
Conference, 12 TM Bucknell University, Lewisburg P.A., July 13-15,  
pp. 111-119.

COUILLARD, D. (1989a).

Élimination des boues résiduaires urbaines par la fertilisation sylvicole.  
Canadian Journal of Civil Engineering, soumis pour publication.

COUILLARD, D. (1989b).

Forest management: trees response to wastewater sludge fertilization.  
Journal of Environmental Management, accepté pour publication.

COUILLARD, D. (1989c).

Dynamics of municipal wastewater sludges on forest land. Journal of Environmental Systems, accepté pour publication.

COUILLARD, D. (1988a).

A framework for technological choice (a technology assessment: methodology for the choice of wastewater treatment facilities. Journal of Environmental Systems, 18(1): 51-70.

COUILLARD, D. (1988b).

Étude de quelques indices de croissance du Larix laricina fertilisé par des boues anaérobies. Environmental Technology Letters, 9(3): 191-206.

COUILLARD, D. et GRENIER, Y. (1987).

Alternative à la gestion des boues résiduaires municipales: recyclage en sylviculture. Sciences et Techniques de l'eau, 20(3): 215-221.

COUILLARD, D., LÉGARÉ, P. et POULIN, R. (1987).

Étude de valorisation agricole des boues provenant des stations d'épuration des eaux de la Communauté urbaine de Québec. (Étude exécutée en collaboration avec le Groupe Poulin, Thériault ltée et le consortium PCRB). INRS-Eau rapport scientifique no 244, 142 pp. 6 annexes. (Pour la Communauté urbaine de Québec et le ministère de l'Environnement du Québec).

COUILLARD, D., CROWLEY, M. and SASSEVILLE, J.L. (1986).

Technological public choice in practice: the case of wastewater treatment facilities. *Journal of Environmental Management*, 22(2): 133-146.

CROWLEY, M., SASSEVILLE, J.L. et COUILLARD, D. (1986).

L'importance accordée à l'évaluation technologique dans l'assainissement des eaux usées municipales au Québec. *Revue Internationale des Sciences de l'Eau*, 2(2): 49-57.

DAVIS, R.D. and CARLTON-SMITH, C.H. (1984).

An investigation into the phytotoxicity of zinc, copper and nickel using sewage sludge of controlled metal content. *Environmental Pollution*, B8: 163-185.

DAVIS, R.D. (1984).

Environmental effects of sludge, Dans: *Processing and use of sewage sludge*. P. L'Hermite et H. Ott (eds), D. Reidel Publishing Co., The Netherlands, 349-357.

DAVIS, R.D. (1986).

Cadmium in sludges used as fertilizer. *Experientia Supplementum*, 50: 55-65.

DAVIS, R.D. (1987).

Use of sewage sludge on land in the United Kingdom. *Water Science and Technology*, 19(8): 1-8.

DUNGAN, P.R. and APEL, W.A. (1978).

Microbial desulfurization of coal. Dans: Metallurgical applications of bacterial leachings and related microbiological phenomena, A. E. Torma, L.E. Murr and J.A. Brierley (eds), Academic press, New York, 223-250.

ECCLESTON, M. and KELLY, D.P. (1978).

Oxidation kinetics and chemostat growth kinetics of Thiobacillus ferrooxidans on tetrathionate and thiosulfate. Journal of Bacteriology, 134: 718-727.

ENVIRONNEMENT CANADA (1985).

L'épandage des eaux usées traitées et des boues d'épuration d'origine urbaine. Direction générale des programmes de protection de l'environnement, SPE6-EP-84-1, Ottawa, pp. 62-167.

EPA (1984).

Environmental regulations and technology. Use and disposal of municipal wastewater sludge. United states Environmental Protection Agency. EPA-625/10-84-003, 76 pages.

ESPEJO, R. and ROMERO, P. (1987).

Growth of thiobacillus ferrooxidans on elemental sulfur. Applied and Environmental Microbiology, 53(8): 1907-1912.

FLYNN, F., JALBERT, J.M., ROBERT, R., ST-YVES, A., TERREAULT, J.A. et TRUDEL, G. (1984).

Rapport sur la qualité des boues des stations d'épuration et autres boues. Ministère de l'Environnement du Québec, 74 pages.

FLYNN, F., JALBERT, J.M., ROBERT, R., ST-YVES, A., TERREAULT, J.A. et TRUDEL, G. (1986).

La valorisation agricole des boues de stations d'épuration. Ministère de l'Environnement du Québec, 47 pages.

FLYNN, F., JALBERT, J.M., ROBERT, R., ST-YVES, A., TERREAULT, J.A. et TRUDEL, G. (1987).

Valorisation agricole des boues de stations d'épuration des eaux usées municipales, Guide de bonnes pratiques. Ministère de l'Environnement du Québec, 60 pages.

FÖRSTNER, U. and WITTMANN, G.T.W. (1979).

Toxic Metals. Dans: Metal pollution in the aquatic environment. Springer-Verlag (ed), Berlin Heidelberg New York, pp. 3-68.

GIROUX, I. (1986).

Evaluation des sites pour l'épandage des boues d'usine d'épuration. Mémoire de maîtrise ès Sciences de l'eau, INRS-Eau, Université du Québec, 171 pages.

GODARD, F., KLVANA, D., CHAVARIE, C., ANDRÉ, G., KARAMANEV, D. et JOLICOEUR, M. (1987).

Cinétique d'oxydation du fer ferreux par Thiobacillus ferrooxidans. Dans: Proceedings of the 37th Canadian Chemical Engineering Conference, Montréal, 18-22 Mai: 329-331.

GOODMAN, A.E., BABIJ, T. and RITCHIE, A.I.M. (1983).

Leaching of a sulfide ore by Thiobacillus ferrooxidans under anaerobic conditions. Dans: Recent progress in biohydrometallurgy. A.E. Torma et G. Rossi (eds), Cagliari, Italy: 361-376.

GORMELY, L.S.; DUNCAN, D.W., BRANION, R.M.R. and PINDER, K.L. (1975).

Continuous culture of Thiobacillus ferrooxidans on a Zn sulfide concentrate. Biotechnology Bioengineering, 17: 31-49.

GOULD, M. and GENEITELLI, E.J. (1978).

Heavy metal complexation behaviour in anaerobically digested sludges. Water Research, 12: 505-512.

GRENIER, Y. et COUILLARD, D. (1987). Le recyclage des boues d'usine d'épuration des eaux en fertilisation forestière. Journal GEOS, 16(2): 22-26.

GUAY, R. and SILVER, M. (1975a).

Thiobacillus acidophilus sp. nov., isolation and some physiological characteristics. Canadian Journal of Microbiology, 21: 281-288.

GUAY, R., TORMA, A.E. et SILVER, M. (1975b).

Oxydation de l'ion ferreux et mise en solution de l'uranium d'un minerai par Thiobacillus ferrooxidans. Annales de Microbiologie, 126B: 209-219.

GUAY, R., SILVER, M. and TORMA, A.E. (1976).

Microbiological leaching of a low-grade uranium ore by Thiobacillus ferrooxidans, European Journal of Microbiology, 3: 157-167.

GUAY, R. and SILVER, M. (1977).

Ferrous iron oxidation and uranium extraction by Thiobacillus ferrooxidans. Biotechnology and Bioengineering, 19: 727-740.

GUAY, R. and SILVER, M. (1981).

Uranium biohydrometallurgy. Process Biochemistry, 16(1): 8-11.

HARRISON, A.P. Jr (1982).

Genomic and physiological diversity amongst strains of Thiobacillus ferrooxidans and genomic comparison with Thiobacillus thiooxidans, Archives Microbiology, 131: 68-76.

HARRISON, A.P. Jr (1984).

The acidophilic Thiobacilli and other acidophilic bacteria that share their habitat. Annual Review Microbiology, 38: 265-292.

HAYES, T.D. and THEIS, T.L. (1978).

The distribution of heavy metals in anaerobic digestion. Journal of Water Pollution Control Federation, 50: 61-72.

HAYES, T.D., JEWELL, W.J. and KABRICK, R.M. (1980).

Heavy metal removal from sludges using combined biological/chemical treatment. Dans: Proceedings of the 34th Conference on Industrial Waste, Purdue University, Lafayette Indiana: 529-543.

HAZEU, W., BIJLEVELD, W., GROTHUIS, J.T.C., KAKES, E. and KUENEN, J.G. (1986).

Kinetics and energetics of reduced sulfur oxidation by chemostat culture of Thiobacillus ferrooxidans. Antonie van Leeuwenhoek, 52: 507-518.

HINESLY, T.D., JONES, R.L., ZIEGLER, E.L. and TYLER, J.J. (1977).

Effects of annual and accumulative applications of sewage sludge on assimilation of zinc and cadmium by corn (*Zea mays L.*). Environmental Sciences & Technology, 11(2): 182-188.

HOFFMAN, M.R., FAUST, B.C., PANDA, F.A., KOO, H.H. and TSUCHIYA, H. (1981).

Kinetics of the removal of iron pyrite from coal by microbial catalysis. Applied and Environmental Microbiology, 42(2): 259-271.

HUBER, T.F., KOSSEN, N.W.F., BOS, P. and KUENEN, J.G. (1984a).

Design and scale up of a reactor for microbial desulphurization of coal: a regime analysis. Dans: Innovations in biotechnology, E.H. Houwink and R.R. van der Merr (eds). Elsevier Sciences Publishers, Amsterdam; 179-189.

HUBER, T.F., RAS, C. and KOSSEN, N.W.F. (1984b).

Design and scale up of a reactor for the microbial desulphurization of coal:  
a kinetic model for bacterial growth and pyrite oxidation. Dans:  
Proceedings Third European Conference on Biotechnology, 3: 151-159.

HURTADO, J.E., TSAI, Y.L. and TUOVINEN, O.H. (1987).

Effects of oxyanions of sulfur on Thiobacillus ferrooxidans: ferrous ion  
oxidation, oxygen uptake and cytochrome reduction. Current Microbiology,  
15: 111-113.

HUTCHINS, S.R., DAVIDSON, M.S., BRIERLEY, J.A. and BRIERLEY, C.L. (1986).

Microorganisms in reclamation of metals. Annual Review of Microbiology.  
40: 311-336.

INGLEDEW, J.W. (1982).

Thiobacillus ferrooxidans, the bioenergetics of an acidophilic  
chemolithotroph. Biochimica et Biophysica Acta, 683: 89-117.

IRVING, H. and WILLIAMS, J.P. (1948).

Order of stability of metal complexes. Nature, 162: 746-747.

JENKINS, R.L., SCHEYBELER, B.J., SMITH, M.L., BAIRD, R., LO, M.P. and HAUG,  
R.T. (1981).

Metals removal and recovery from municipal sludge. Journal of Water  
Pollution Control Federation, 53(1): 25-32.

KARGI, F. and ROBINSON, J.M. (1982a).

Removal of sulfur compounds from coal by the thermophilic organism Sulfolobus Acidocaldarius. Applied and Environmental Microbiology, 44(4): 878-883.

KARGI, F. and ROBINSON, J.M. (1982b).

Microbial desulfurization of coal by thermophilic microorganism Sulfolobus acidocaldarius. Biotechnology and Bioengineering, 24: 2115-2121.

KARGI, F. (1982).

Enhancement of microbial removal of pyritic sulfur from coal using concentrated cell suspension of T. ferrooxidans and an external carbon dioxide supply. Biotechnology and Bioengineering, 24: 749-752.

KARGI, F. and CERVONI, D. (1983).

An airlift-recycle fermenter for microbial desulfurization of coal. Biotechnology letters, 5(1): 33-38.

KELLY, D.P.; TUOVINEN, O.H. (1972).

Recommendation that the names Ferrobacillus ferrooxidans Leathen and Braley and Ferrobacillus sulfooxidans Kinsel be recognized as synonyms of Thiobacillus ferrooxidans Temple and Colmer. International Journal of Systematic Bacteriology, 22: 170-172.

KELLY, D.P. and JONES, C.A. (1978).

Factors affecting metabolism and ferrous iron oxidation in suspensions and batch cultures of Thiobacillus ferrooxidans: relevance to ferric iron leach

solution regeneration. Dans: Metallurgical applications of bacterial leaching and related microbiological phenomena. A.E. Torma, L.E. Murr and J.A. Brierley (eds), Academic Press, New York, 19-44.

KIFF, R.J., CHEUNG, Y.H. and BROWN, S. (1983).

Heavy metal removal from sewage sludges, factors governing detoxification process efficiency. Dans: Proceedings of the 3th Conference on Heavy Metals in the Environment, Heidelberg, CEP Consultants, Edinburgh: 401-404.

KLEIN, L.A., MARTIN, L., NORMAN, N. and KIRSCHNER, S.L. (1974).

Sources of metals in New York city wastewater, Journal of Water Pollution Control Federation, 46(12): 2653-2662.

KOS, C.H., BIJLEVELD, W., GROTEHUIST, T., BOS, P.; KUENEN, J.G. and PORTER, R.P.B. (1983).

Composition of mineral salts medium for microbial desulphurization of coal. Dans: Recent progress in biohydrometallurgy. A.E. Torma and G. Rossi (eds), Cagliari, Italy, 479-490.

KREYE, W.C., KING, P.H. and RANDALL, C.W. (1973).

Biological treatment of high thiosulfate industrial wastewater. Dans: Proceedings of the 28th Conference on Industrial Waste, Purdue University, Lafayette, Indiana: 537-547.

LACEY, D.T. and LAWSON, F. (1970).

Kinetics of the liquid-phase oxidation of acid ferrous sulfate by the bacterium Thiobacillus ferrooxidans, Biotechnology and Bioengineering, 12: 29-50.

LAKE, D.L., KIRK, P.W.W. and LESTER, J.N. (1984).

Fractionation, characterization, and speciation of heavy metals in sewage sludge and sludge-amended soils: a review. Journal of Environmental Quality, 13: 175-183.

LEGRET, M., DIVET, L. et MARCHANDISE, P. (1987).

Mobilité et extraction des métaux lourds associés aux boues de stations d'épuration. Water Research, 21(5): 541-547.

LEGRET, M., DEMARE, D. and MARCHANDISE, P. (1983).

Speciation of heavy metals in sewage sludge, Dans: Proceedings of the 3th International Conference of Heavy Metals in the Environment. Heidelberg, CEP Consultants, Edinburgh: 350-353.

Le ROUX, N.W., WAKERLEY, D.S. and PERRY, V.P. (1978).

Leaching of minerals using bacteria other than Thiobacilli, Dans: Métallurgical application of bacterial leaching and related microbiological phenomena, A.E. Torma, L.E. Murr and J.A. Brierley (eds), Academic Press, New York: 167-191.

LESTER, J.N., STERRIT, R.M. and KIRK, P.W.W. (1983).

Significance and behaviour of heavy metals in waste water treatment process.

II. Sludge treatment and disposal. The Science of the Total Environment, 30: 45-83.

LOGAN, T.J. and FELTZ, R.E. (1985).

Effect of aeration, cadmium concentration and solids content on acid extraction of cadmium from a municipal wastewater sludge. Journal of Water Pollution Control Federation, 57(5): 406-412.

LUNDGREN, D.G. and SILVER, M. (1980).

Ore leaching by bacteria. Annual Review of Microbiology, 34: 263-283.

MACKINTOSH, M. (1978).

Nitrogen fixation by Thiobacillus ferrooxidans, Journal of General Microbiology, 105: 215-218.

McCREADY, R.G.L., WADDEN, D. and MARCHBANK, A. (1986).

Nutrient requirement for the in-place leaching of uranium by Thiobacillus ferrooxidans. Hydrometallurgy, 17: 61-71.

MISHRA, A.K., MAHAPATRA, S.S.R. and ROY, P. (1986).

Factors affecting the growth and chalcopyrite oxydation by Thiobacillus ferrooxidans. Proceedings Indian National Science Academy, B52(4): 519-524.

MITCHELL, G.A., BINGHAM, F.T. and PAGE, A.L. (1978).

Yield and metal composition of lettuce and wheat grown on soils amended with sewage sludge enriched with cadmium, copper, nickel and zinc. Journal of Environmental Quality, 7(2): 165-178.

MONOD, J. (1949).

The growth of bacterial cultures. Annual Review of Microbiology, 3: 371-393.

MOSEY, F.E. (1976).

Assessment of the maximum concentration of heavy metals in crude sewage which will not inhibit the anaerobic digestion of sludge. Water Pollution Control, 75: 10-20.

MURR, L.E. and MEHTA, A.P. (1982).

Coal desulphurization by leaching involving acidophilic and thermophilic microorganisms. Biotechnology and Bioengineering, 24: 743-748.

MYERSON, A.S. and KLINE, P.C. (1984).

Continuous bacterial coal desulfurization employing Thiobacillus ferrooxidans. Biotechnology and Bioengineering, 24: 92-99.

NAKAMURA, K., NOIKE, T. and MATSUMOTO, J. (1986).

Effect of operation conditions on biological Fe<sup>2+</sup> oxidation with rotating biological contactors. Water Research, 20(1): 73-77.

NAYLOR, L.M. and LOEHR, R.C. (1981).

Increase in dietary cadmium as a result of application of sewage sludge to agricultural land. Environmental Science & Technology, 15(8): 881-886.

NELSON, P.O. (1986).

Studies of the uptake of heavy metals by activated sludge. Dans: Proceedings of the International symposium on metal speciations, separations and recovery. Chicago (juillet-août, 1986), Industrial Waste Elimination Research Center, pp. VIII-69-VIII-76.

NICHOLSON, J.P. (1988).

What are we doing with sludge? Pollution Engineering, 20(3): 14.

NORRIS, P.R. and KELLY, D.P. (1978a).

Dissolution of pyrite by pure and mixed culture of some acidophilic bacteria. FEMS Microbiology Letters, 4: 143-146.

NORRIS, P.R. and KELLY, D.P. (1978b).

Toxic metals in leaching systems. Dans: Metallurgical applications of bacterial leachings and related microbiological phenomena. A.E. Torma, L.E. Murr and J.A. Brierley (eds). Academic Press, New York: 83-102.

NORRIS, P.R. (1983).

Iron and mineral oxidation with Leptospirillum like bacteria. Dans: Recent progress in biohydrometallurgy, A.E. Torma and G. Rossi (eds). Cagliari, Italy, 83-95.

NRIAGU, J.O. (1988).

A silent epidemic of environmental poisoning? Environmental Pollution, 50: 139-161.

OLIVER, B.G. and COSGROVE, E.G. (1974).

The efficiency of heavy metal removal by a conventional activated sludge treatment plant. Water Research, 8: 869-874.

OLIVER, B.G. and CAREY, J.H. (1976).

Acid solubilisation of sewage sludge and ash constituents for possible recovery. Water Research, 10: 1077-1081.

OLVER, J.W., KREYE, W.C. and KING, P.H. (1975).

Heavy metal release by chlorine oxidation of sludge. Journal of Water Pollution Control Federation, 47(10): 2490-2497.

PIRT, S.J. (1975).

Principles of microbe and cell cultivations, John Wiley & Sons (eds), New York, 274 pp.

RYAN, J.A., PAHREN, H.R. and LUCAS, J.B. (1982).

Controlling cadmium in the human food chain: a review and rational based on health effects. Environmental Research, 28: 251-302.

SANMUGASUNDERAM, S., DUNCAN, D.W. and BRANION, R.M.R. (1980).

Novel reactor configuration for small microbial leaching, Dans: Advances in biotechnology, Vol. 1, Scientific and Engineering principles, M. Moo Young, C.W. Robinson and C. Vézina (eds), Pergamon Press, N.Y., pp. 595-600.

SCHELTINGA, H.M.J. (1987).

Sludge in agriculture: the european approach. Water Science & Technology, 19(8): 9-18.

SCHÖNBORN, W. and HARTMANN, H. (1978).

Bacterial leaching of metals from sewage sludge. European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology, 5: 305-313.

SCOTT, D.S. and HORLINGS, H. (1975).

Removal of phosphates and metals from sewage sludges. Environmental Science and Technology, 9(9): 849-855.

SOMMERS, L.E. and NELSON, D.W. (1981).

Monitoring the response of soils and crops to sludge applications. Dans: Sludge and its ultimate disposal. J.A. Borchardt, W.J. Redman, G.E. Jones and R.T. Sprague (eds), Ann Arbor Science Publishers, Ann. Arbor, Michigan, pp. 217-240.

SOMMERS, L.E. (1977).

Chemical composition of sewage sludges and analysis of their potential use as fertilizers. Journal of Environmental Quality, 6(2): 225-232.

SPOSITO, G. (1981).

Trace metals in contaminated waters. Environmental Science and Technology, 15(4): 396-403.

STEPHENSON, T. and LESTER, J.N. (1987a).

Heavy metal removal during the activated sludge process. I. Extent of soluble and insoluble metal removal mechanisms; The Science of the Total Environment, 63: 199-214.

STEPHENSON, T., LESTER, J.N. (1987b).

Heavy metal removal during the activated sludge process. II. Insoluble metal removal mechanisms, The Science of the Total Environment, 63: 215-230.

STERRIT, R.M. and LESTER, J.N. (1984).

Significance and behaviour of heavy metals in waste water treatment processes. III. Speciations in waste waters and related complex matrices, The Science of the Total Environment, 34: 117-141.

STOVELAND, S., ASTRUC, M., LESTER, J.N. and PERRY, R. (1979).

The balance of heavy metals through a sewage treatment works. II. Chromium, nickel and zinc. The Science of the Total Environment, 12: 25-34.

STOVER, R.C., SOMMERS, L.E. and SILVIERA, D.J. (1976).

Evaluation of metals in wastewater sludge. Journal of Water Pollution Control Federation. 48(9): 2165-2175.

ST-YVES, A. et BEAULIEU, R. (1988).

Caractérisation des boues de 34 stations d'épuration des eaux usées municipales, Ministère de l'Environnement du Québec, Québec.

ST-YVES, A. (1985).

La bonne pratique de la valorisation agricole des boues. Assises annuelles de l'AQTE, 1985. 14 pages.

SUGIO, T., DOMATSU, C., MUNAKATA, O., TANO, T. and IMAI, K. (1985).

Role of a ferric iron-reducing system in sulfur oxidation of Thiobacillus ferrooxidans. Applied and Environmental Microbiology. 49(6): 1401-1406.

SUGIO, T., MIZUNASHI, W., TANO, T. and IMAI, K. (1986).

Inhibition site of cupric ions on the growth of Thiobacillus ferrooxidans on sulfur-salts medium. Agricultural biology and Chemistry, 50(11): 2917-2918.

TAKAMORI, T., KAKUTA, H. and SUMIYA, M. (1983).

Some properties of Thiobacillus ferrooxidans and applications of the properties to improvement of the rate of sulfide mineral leaching. Dans: Recent progress in biohydrometallurgy A.E. Torma and G. Rossi (eds), Cagliari, Italy, 679:690.

THEIS, T.L. and HAYES, T.D. (1980).

Chemistry of heavy metals in anaerobic digestion. Dans: Chemistry of wastewater technology. Alan J. Rubin (ed.). Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor, 403-419.

TILLET, D.M. and MYERSON, A.S. (1987).

The removal of pyritic sulfur from coal employing Thiobacillus ferrooxidans in a packed column reactor. Biotechnology and Bioengineering, 29: 146-150.

TJELL, J.C. (1986).

Trace metal regulations for sludge utilization in agriculture; a critical review. Communauté Européenne, EUR 10361; 348-361.

TOMISUKA, N. and YAGISAWA, M. (1978).

Optimum conditions for leaching of uranium and oxidation of lead sulfide with Thiobacillus ferrooxidans and recovery of metals from bacterial leaching solutions with sulfate reducing bacteria, Dans: Metallurgical applications of bacterial leaching and related microbiological phenomena, A.E. Torma, L.E. Murr and J.A. Brierley (eds), Academic Press, New York: 321-344.

TORMA, A.E., WALDEN, C.C. and BRANION, R.M.R. (1970).

Microbial leaching of a zinc sulfide concentrate. Biotechnology and Bioengineering, 12: 501-517.

TORMA, A.E., WALDEN, C.C., DUNCAN, D.W. and BRANION, R.M.R. (1972).

The effect of carbon dioxide and particle surface area on the microbiological leaching of a zinc sulfide concentrate. Biotechnology and Bioengineering, 14: 777-786.

TORMA, A.E. (1986).

Biohydrometallurgy as an emerging technology. Biotechnology and Bioengineering Symposium, No. 16: 49-63.

TRAN, F. and GANNON, D. (1981).

Deep shaft high rate aerobic digestion laboratory and pilot plant performance. Water Pollution Research Journal of Canada. 16: 71-89.

TUOVINEN, O.H., NIEMELÄ, S.I. and GYLLENBERG, H.G. (1971a).

Effect of mineral nutrients and organic substances on the development of Thiobacillus ferrooxidans. Biotechnology and Bioengineering, 13: 517-527.

TUOVINEN, O.H., NIEMELÄ, S.I. and GYLLENBERG, H.G. (1971b).

Tolerance of Thiobacillus ferrooxidans to some metals. Antonie van Leeuwenhoek, 37: 489-496.

TUOVINEN, O.H. and KELLY, D.P. (1973).

Studies on the growth of Thiobacillus ferrooxidans. Archives Microbiology, 88: 285-298.

TUOVINEN, O.H. and KELLY, D.P. (1974a).

Studies on the growth of Thiobacillus ferrooxidans. Archives Microbiology, 98: 351-364.

TUOVINEN, O.H. and KELLY, D.P. (1974b).

Studies on the growth of Thiobacillus ferrooxidans. Archives Microbiology, 95: 53-164.

TYAGI, R.D. and D. COUILLARD (1989).

Bacterial leaching of metals from sludges. In: Sewage and wastewater treatment. Library of Pollution Control Technology - Hazardous/Solids Wastes, Gulf Publishing Co. Houston, Texas.

TYAGI, R.D.; COUILLARD, D. and TRAN, F. (1988b).

Heavy metals removal from anaerobically digested sludge by chemical and microbiological methods. Environmental Pollution. 50: 295-316.

TYAGI, R.D.; COUILLARD, D. (1987a).

Comparison of chemical and microbiological processes to remove heavy metals from anaerobically digested sludge. Dans: Proceedings of the International Symposium on small systems for water supply and waste water disposal, National University of Singapore, 2-4 July 1987: 435-448.

TYAGI, R.D. and COUILLARD, D. (1987b).

Bacterial leaching of metal from digested sewage sludge. Process biochemistry, 22(4): 114-117.

VESILIND, P.A. (1980).

Ultimate disposal on land, Dans: Treatment and disposal of wastewater sludges, Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor, 265-289.

VISHNIAC, W.V. (1974).

Bergey's manual of determinative bacteriology. R.E. Buchanan et N.E. Gibbons (eds), Williams & Wilkins Co., Baltimore: 456-464.

WEBBER, M.D. and LESAGE, S. (1988).

Organic contaminants in Canadian municipal sludges. Soumis à Canadian Journal of Soil Sciences.

WEBBER, M.D., KLOKE, A. and TJELL, J.C. (1984).

A review of current sludge use guidelines for the control fo heavy metal contamination in soils. Dans: Processing and use of sewage sludge. P. L'Hermite et H. Ott (eds), D. Reidel Publishing Co., The Netherlands, pp. 371-386.

WEBBER, M.D. (1986).

Épandage des boues d'épuration sur les terres agricoles - une évaluation. Environnement Canada et Agriculture Canada, Comité d'experts sur la gestion des sols et de l'eau. Burlington (Ontario), 42 pages.

WONG, L. and HENRY, J.G. (1983).

Bacterial leaching of heavy metals from anaerobically digested sewage sludges. Water Pollution Research Journal of Canada, 18: 151-162.

WONG, L. and HENRY, J.G. (1984a).

Biological removal and chemical recovery of metals from sludge. Dans: Proceedings of the 39th Industrial Waste Conference, Purdue University, Lafayette, Indiana: 515-520.

WONG, L. and HENRY, J.G. (1984b).

Decontaminating biological sludge for agricultural use. Water Science and Technology, 17: 575-586.

WOZNIAK, D.J. and HUANG, J.Y.C. (1982).

Variables affecting metals removal from sludge. Journal of Water Pollution Control Federation, 54(12): 1574-1580.

YUNKER, S.B. and RADOVICH, J.M. (1986).

Enhancement of growth and ferrous iron oxidation rates of T. ferrooxidans by electrochemical reduction of ferric iron. Biotechnology and Bioengineering, 28: 1867-1875.



**ANNEXE**

Publications de l'INRS-Eau sur la valorisation des boues d'épuration

ANNEXES

**ÉLIMINATION DES BOUES RÉSIDUAIRES URBAINES  
PAR LA FERTILISATION SYLVICOLE**

Rapport scientifique no 262

par

Denis Couillard

Institut National de la Recherche Scientifique (INRS-Eau)

Université du Québec

C.P. 7500 - 2700, rue Einstein

Sainte-Foy (Québec)

G1V 4C7

Soumis pour publication

au

Canadian Journal of Civil Engineering

Janvier 1988



## RÉSUMÉ

Pour s'attaquer au problème de la pollution de l'eau, les gouvernements ont initiés des programmes d'assainissement des eaux usées. L'objectif de cette intervention est fort louable, mais sa contrepartie inévitable est la génération de boues résiduaires. Celles-ci peuvent être considérées comme un déchet. Si elles sont enfouies, incinérées ou rejetées à la mer, le problème n'est pas réglé mais simplement déplacé. De plus, c'est une perte de matière potentiellement utilisable. La seule avenue prometteuse concernant les boues résiduaires est leur recyclage dont une des voies les plus encourageantes est leur valorisation agricole ou sylvicole. Cette étude démontre que les boues résiduaires d'usines d'épuration des eaux usées peuvent constituer un excellent fertilisant forestier, ce qui augmente les rendements de production de matières ligneuses et offre en même temps un moyen pour écouler ce produit. La fertilisation du mélèze laricin (Larix laricina) en serres avec de la boue anaérobiose provenant de l'usine d'épuration des eaux usées de Valcartier (Québec, Canada) a permis des rendements de hauteurs et de diamètres atteignant respectivement 300% et 210% supérieures aux témoins.

Mots-clés: gestion, recyclage, boues résiduaires, boues anaérobies, fertilisation, pollution de l'eau, sylviculture.



## INTRODUCTION

Depuis quelques années, les gouvernements ont investi beaucoup pour l'épuration des eaux usées avant leur rejet dans les cours d'eau (Couillard et al., 1986; Crowley et al., 1986; Gouvernement du Québec, 1986). Cependant, l'implantation d'usines d'épuration a fait apparaître un nouveau problème, celui de la disposition des boues. En effet, les usines d'épuration produisent une grande quantité de boues dont on ne sait pas encore comment disposer car, ces sous-produits risquent de devenir à leur tour une source de pollution. Les principaux procédés actuellement utilisés pour disposer des boues sont l'incinération, le rejet en mer ou dans un cours d'eau, l'enfouissement sanitaire et la fertilisation agricole ou forestière.

L'incinération provoque la destruction de toute la partie organique des boues mais, elle génère aussi des résidus (les cendres) dont il faut disposer. Par ailleurs, à cause du coût important du procédé, l'incinération est généralement réservée aux grandes stations d'épuration (EPA, 1984; Vergès, 1984). Le rejet en mer ou dans un cours d'eau est un procédé qui compte sur l'effet de dilution du sous-produit et sur la propriété d'auto-épuration du milieu. Cependant, cette pratique ne fait que déplacer le problème et va à l'encontre de l'objectif d'assainissement pour lequel les usines d'épuration ont été créées (St-Yves, 1985).

L'enfouissement sanitaire est le procédé le plus utilisé actuellement (Vergès, 1984). Pratiqué dans le respect des normes de sécurité établies, il peut constituer un bon moyen de disposition des boues. Toutefois, ce procédé ne reconnaît aucune valeur aux boues (Tétreault, 1985) et le sol ne sert que de

simple réservoir. Par ailleurs, les sites adéquats pour l'enfouissement deviennent de plus en plus rares (St-Yves, 1985).

Contrairement aux autres procédés, la valorisation agricole ou forestière reconnaît aux boues une certaine valeur fertilisante en raison de leur contenu en azote et en phosphore, éléments généralement utilisés pour l'amendement des sols. Le sol est utilisé pour sa capacité à filtrer les boues et à en recycler les différents éléments constituants. L'utilisation des boues pour la fertilisation du sol apparaît donc comme une possibilité intéressante pour la disposition des boues d'usines d'épuration.

L'objectif général de cet article, cherche à renforcer l'idée que les boues résiduaires ne doivent plus être considérées comme un déchet, mais comme une matière première potentiellement utilisable par son recyclage comme fertilisant forestier. Les objectifs particuliers ont comme buts de vérifier si les boues d'usines d'épuration des eaux usées peuvent constituer un bon fertilisant pour le mélèze laricin (L. laricina) et si la croissance sur un sol très pauvre (sable) peut être améliorée.

#### PROBLÉMATIQUE DES BOUES D'ÉPURATION AU QUÉBEC

D'après Vergès (1984), la valeur moyenne de production de boues est de 50 grammes de matière sèche par personne par jour, ce qui représente un volume de 1 à 2 litres des boues liquides par personne par jour. À l'échelle du Québec, si on admet que 5 200 000 personnes, soit 85% de la population, peuvent être raccordés à des stations d'épuration, on peut estimer que le programme d'assainissement des eaux usées (Couillard et al., 1986; Gouvernement du

Québec, 1984) va conduire à la production annuelle de 95 000 tonnes de matières sèches, ce qui équivaut à un volume de boues liquides de 1 900 000 m<sup>3</sup>/an à une concentration de 5%. On constate dès lors l'ampleur de la situation.

La composition des boues varie de façon importante en fonction de l'origine des eaux usées arrivant à la station d'épuration. Ces eaux usées peuvent être d'origine domestique, industrielle ou commerciale, ou provenir du ruissellement urbain. La composition des boues varie, donc en fonction de la part respective de chacun de ces apports.

Les tableaux 1, 2 et 3 donnent la composition des boues pour les États-Unis, l'Ontario et le Québec. Dans le tableau 1, les données des États-Unis sont tirées des travaux de Sommers (1977). Les valeurs ont été obtenues à partir de 250 échantillons de boues provenant de 150 installations de traitements dans 8 états du nord et de l'est des États-Unis. Les données pour le Québec proviennent des travaux de St-Yves (1985). Les valeurs, obtenues par l'analyse des boues de 80 stations d'épuration du Québec dont la plupart se situent en milieu rural, montrent qu'à l'exception du manganèse, les boues du Québec sont généralement moins chargées en métaux que celles des États-Unis. La valeur des paramètres est cependant très variable.

Le tableau 2 tiré des analyses faites par le ministère de l'Environnement de l'Ontario sur plusieurs municipalités ontariennes, montre que la composition des boues peut varier de façon importante d'une station d'épuration à l'autre (Ontario ministry of the Environment, 1977). Pour les boues de l'Ontario, ceci est particulièrement évident pour le Cl, le Cr et le Co. Le tableau 3 donne les valeurs de quelques composantes des boues anaérobies de la station

TABLEAU 1  
Composition moyenne des boues du Québec et des États-Unis

	E.U. %	Québec %		E.U. mg/kg	Québec mg/kg	
C tot.	33,5	31,4	(40)*	Mn	260	755,8 (74)
N tot.	3,9	5,1	(76)	B	33	92,1 (42)
P tot.	5,7	1,9	(81)	As	10	2,5 (46)
K	0,5	0,21	(72)	Mo	30	12,1 (39)
Ca	4,9	2,1	(68)	Hg	5	2,2 (66)
Mg	0,5	0,45	(67)	Pb	500	180,4 (72)
Na	0,6	0,43	(68)	Zn	1 740	526,9 (74)
Se	1,1	0,002	(38)	Cu	850	551,8 (73)
Ba	0,02	0,03	(71)	Ni	82	35,6 (70)
Fe	1,1	1,7	(68)	Cd	16	9,9 (44)
Al	0,4	1,1	(71)	Cr	890	913,0 (72)

\* nombre de stations d'épuration

**TABLEAU 2**

Composition des boues d'épuration des eaux usées de plusieurs municipalités ontariennes

Constituant	Nombre de Municipalités	Teneur		
		Médiane	Gamme	
<b>En fonction de la masse humide</b>				
Matières solides totales (%)	15	3,5	2,0	à 6,0
Matières volatiles (% des M.S.T.)	15	51	35	à 65
pH	11	7,5	7,2	à 7,8
Alcalinité sous forme de CaCO <sub>3</sub> (mg/l)	11	4 800	200	à 7 600
Azote total Kjeldahl (mg/l)	16	1 950	1 300	à 2 900
Azote ammoniacal (mg/l)	16	740	270	à 1 100
<b>En fonction de la masse sèche</b>				
P (g/kg)	15	24	14	à 57
K (g/kg)	10	0,09	0,04	à 0,16
Ca (g/kg)	11	44	26	à 67
Mg (g/kg)	13	6,8	3,1	à 11
Fe (g/kg)	15	51	14	à 110
Al (g/kg)	12	9,6	4,1	à 61
Na (g/kg)	10	0,16	0,07	à 0,42
Cl (g/kg)	11	7,1	1,67	à 190
Cd (mg/kg)	17	10	5,0	à 260
Zn (mg/kg)	17	1 600	400	à 5 130
Cu (mg/kg)	17	970	280	à 2 570
Ni (mg/kg)	17	120	23	à 410
Pb (mg/kg)	17	375	200	à 1 280
Cr (mg/kg)	16	530	100	à 9 740
Mn (mg/kg)	15	320	170	à 2 090
Co (mg/kg)	16	9,0	1,00	à 42
Mo (mg/kg)	12	12	7,0	à 97
Hg (µg/kg)	13	2,1	0,43	à 4,7

**TABLEAU 3**

Composition des boues anaérobies de la station d'épuration de Valcartier

Paramètres	83-08-17	83-10-18	84-09-25	85-05-31	
Matière totale	29 952	18 800	9 000	—	mg/L
Matière totale volatile	20 519	14 702	3 100	—	mg/L
Matière dissoute	952	1 000	855	—	mg/L
Matière dissoute volatile	519	502	230	—	mg/L
pH	7,3	5,5	7,7	7,3	—
NIK (Azote total)	39 997	37 160	42 000	21 000	mg/kg N
N-NH <sub>4</sub> (Azote ammoniacal)	24 142	8 087	770	—	mg/kg N
N-NO <sub>3</sub> + NO <sub>2</sub> (Nitrates + Nitrites)	32,7	27,1	≤ 0,5	—	mg/kg N
Phosphore total inorganique	—	—	—	—	mg/kg P
Phosphore total	6 191	5 515	10 500	12 500	mg/kg P
Aluminium	9 682	7 196	13 000	12 300	mg/kg Al
Arsenic	1,25	3,59	≤ 5	—	mg/kg As
Baryum	339	341	600	310	mg/kg Ba
Bore*	115,2	57,9	20	—	mg/kg B
Cadmium**	9,7	9,5	≤ 10	8	mg/kg Cd
Mercure	7,3	2,7	7,7	—	mg/kg Hg
Molybdène	13,6	9,5	≤ 20	≤ 2	mg/kg Mo
Nickel	22,3	10,4	20	—	mg/kg Ni
Plomb	465	312	680	650	mg/kg Pb
Potassium	1 771	1 624	880	1 900	mg/kg K
Sodium	1 740	2 307	1 500	1 700	mg/kg Na
Calcium	22 035	16 056	33 000	21 000	mg/kg Ca
Chrome	72,6	48,3	80	100	mg/kg Cr
Cuivre	2 327	203	2 900	2 200	mg/kg Cu
Fer	9 138	5 200	15 000	16 000	mg/kg Fe
Magnésium	1 950	1 363	2 500	3 200	mg/kg Mg
Manganèse	277	75,4	200	490	mg/kg Mn
Zinc	639	492	950	990	mg/kg Zn
Sélénium	0,58	1,8	≤ 5	—	mg/kg Se

\* Limite de détection de 45 mg/kg sur la fraction solide. Comme tous les résultats obtenus dans la fraction solide sont inférieurs à la limite de détection, les concentrations réelles sont donc comprises entre la valeur inscrite au tableau et cette valeur moins 45 mg/kg.

\*\* Tous les résultats inférieurs à 10 mg/kg de matière en suspension ou inférieurs à environ 7,5 mg/kg de matière sèche totale.

d'épuration de Valcartier. Ces valeurs ont été obtenues par l'analyse de 4 échantillons prélevés à des moments différents. Les deux séries de 1983 proviennent du ministère de l'Environnement du Québec (1984), celle du 25 septembre 1984 provient de Grenier (1985), tandis que celle du 31 mai 1985 provient de Subirana (1985). On constate que non seulement la composition peut varier d'une station à l'autre, mais varie aussi dans le temps pour une même station. La composition du 25 septembre 1984 est celle de la boue utilisée dans les essais décrits dans la section: MATÉRIEL ET MÉTHODES.

Le carbone compose généralement la plus grande partie de la fraction solide des boues, soit environ 31,5 à 33,5% de la masse totale des boues (Sommers, 1977, St-Yves, 1985). Les boues contiennent surtout du carbone organique qui provient des huiles, graisses, cires et polysaccharides, etc.; mais elles contiennent aussi du carbone minéral sous forme de carbonate de calcium, de carbonate de magnésium ou d'autres métaux (Pommel, 1979). L'azote constitue 3,9% des boues américaines (Sommers, 1977) et 3,6% des boues québécoises (St-Yves, 1985). Il peut être présent sous forme organique ou inorganique (Webber, 1984). L'azote organique est constitué d'une partie facilement minéralisable et d'une partie stable qui se minéralise lentement. La fraction inorganique apparaît sous forme d'ammonium ( $\text{NH}_4$ ) ou de nitrate ( $\text{NO}_3$ ) (Haith, 1983).

Les données sur le phosphore varient beaucoup d'une source à l'autre. Par exemple, d'après Sommers (1977), il représente 5,7% de la masse des boues tandis que St-Yves (1985) indique une valeur de 1,1%. D'après Sommers et al. (1976), 64 à 84% du phosphore total des boues se trouve sous forme minérale; vraisemblablement adsorbé sur des hydroxydes et oxydes de fer, d'aluminium ou

de calcium (Gupta, 1976). Environ 40% du phosphore total apparaît sous forme organique, principalement sous forme de phosphate d'inositol (Cosgrove, 1973).

Les boues peuvent aussi contenir des cations échangeables et autres micro-éléments: K, Ca, Mg, Na, Cl, etc. Le calcium est un élément qui se retrouve en teneur assez élevée dans les boues (Pommel, 1979). D'après le tableau 2, les quantités en g/kg de masse sèche, sont par ordre d'importance de 44 pour le Ca, de 6,8 pour le Mg, de 0,16 pour le Na et de 0,09 pour le K. Ces chiffres représentent respectivement 4,4% pour le Ca, 0,68% pour le Mg, 0,016% pour le Na et 0,009% pour le K. Au Québec, les proportions moyennes de ces éléments dans les boues sont de 2,1% pour le Ca, de 0,43% pour le Na, de 0,45% pour le Mg et de 0,2% pour le K.

Les boues peuvent aussi contenir des métaux lourds: cadmium, zinc, cuivre, nickel, plomb, mercure, fer, aluminium, etc. Le tableau 4 montre l'origine probable de certains métaux contenus dans les boues (Juste, 1976). Ils peuvent provenir des canalisations d'eau, des eaux de ruissellement en milieu urbain (Couture et al., 1981; Couillard, 1982a), des produits pharmaceutiques, des industries de traitement et de placage des métaux, etc. Bien qu'au total, les métaux ne constituent qu'une petite fraction des boues solides, généralement moins de 1% du poids-sec (Chang et al., 1984), les concentrations présentes sont supérieures à celles qui prévalent normalement dans le sol. Pour les boues québécoises, les concentrations moyennes (en mg/kg de masse sèche) sont en général de 10 pour le Cd, de 526 pour le Zn, de 466 pour le Ca, de 35,6 pour le Ni, de 180 pour le Pb et de 2,2 pour le Hg.

TABLEAU 4

Origine probable des éléments traces contenus en quantité anormale dans certaines boues

---

Cuivre	Canalisation d'eau; fabrication de fils électriques, radiateurs d'automobiles, bain-marie, appareils de cuisson...
Plomb	Canalisation d'eau; fabrication de bacs de batteries; peintures, additifs pour l'essence; lavage des rues (dans le cas des réseaux unitaires).
Zinc	Produits pharmaceutiques ou cosmétiques, conduites d'eau, lavage des toits par l'eau de pluie (dans le cas des réseaux unitaires).
Bore	Détergents et lessives; industries du verre, des ciments, faïences, porcelaines, émaux, des semi-conducteurs et lubrifiants.
Mercure	Produits pharmaceutiques ou cosmétiques, production et utilisation d'antifongiques; fabrication d'appareils électriques; production électrolytique du chlore et de la soude; fabrication de peintures, pâte à papier; fabrication de chlorure de vinyle et d'uréthane.
Cadmium	Industries de traitement de surface des métaux et de la stabilisation des matières plastiques; fabrication des accumulateurs et des radiateurs d'automobiles; fabrication du caoutchouc; électrophorèse.
Nickel	Fabrication d'aciers et d'alliages spéciaux de recouvrement de surfaces métalliques par électrolyse, hydrogénéation des huiles et substances organiques; fabrication de peintures, laques, produits cosmétiques.
Chrome	Tannerie; fabrication d'alliages spéciaux; industries de traitement de surface.

---

Les boues sont aussi susceptibles de contenir certains produits organiques synthétiques sur lesquels on ne possède généralement que peu d'informations. Environnement Canada (1983) a dressé une liste des produits chimiques toxiques suspects et d'intérêt prioritaire comprenant 150 composés ou groupes de composés. Parmi ceux-ci, les HPA (hydrocarbures polyaromatiques) les BPC (biphényles polychlorés) et les phtalates sont les polluants synthétiques les plus susceptibles de s'accumuler dans les boues lors du traitement des eaux usées (Couillard, 1982b, 1982c; 1983). Le tableau 5 effectué à partir de l'analyse de 13 boues montre la fréquence d'apparition de certains composés organiques toxiques dans les boues canadiennes.

#### MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'expérience a porté sur la fertilisation de semis de mélèze laricin (Larix laricina Du Roi K. Koch) avec différentes doses et fréquences de boues secondaires anaérobies provenant de l'usine de Valcartier, Québec (Canada). La composition de la boue est reproduite au tableau 3 sous la colonne 25-09-84. L'expérience a été menée sous serres pendant 17 semaines. Un éclairage artificiel fonctionnant 16 heures par jour et un dispositif d'arrosage par gicleurs fonctionnant quelques minutes par jour ont été maintenus tout au long de l'expérience.

Le médium de culture utilisé était du sable pur dont la composition chimique, déterminée selon les méthodes du Comité Canadien de Pédologie (1978), est présentée au tableau 6. Sa pauvreté en éléments nutritifs (traces de N organique, 13 mg K-éch/kg, 6 mg Mg-éch/kg, etc.) et en carbone organique (0,05%) est notable comparativement aux valeurs retrouvées dans un sol de

TABLEAU 5

Fréquence d'apparition des composés organiques toxiques dans les boues d'épuration au Canada

(Environnement Canada, 1983)

Composé	Fréquence d'apparition à la teneur mentionnée *		
	≥ 1 mg/kg	≥ 10 mg/kg	≥ 100 mg/kg
Phtalate de bis(éthylhexyle-2)	92	92	31
N-nitrosodiphénylamine	54	15	0
Pyrène	38	15	15
Di-n-oxyphthalate	31	0	0
Fluorène	23	15	15
Anthracène	23	15	15
Naphtalène	23	15	0
Benzo-a-pyrène	23	15	0
Dichloro-2,4 phénol	15	0	0
Chrysène	15	15	0
Pentachlorophénol	8	0	0
Hexachlorobenzène	8	0	0

\* Données établies à partir de l'analyse de 13 boues.

TABLEAU 6

Moyennes des analyses chimiques du sable utilisé dans l'expérience et d'un sol de pépinière (en mg/kg)<sup>1</sup>

	Azote				Phosphore				Cations échangeables							
	$\text{NH}_4^+$		minéral	organique	total		échangeable		K	Mg	Ca	Cu	Fe	Mn	Zn	Al
	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>														
Sable	1,7	0,4	2,1	traces	998	411	13	6	449	traces	73	9,3	0,9	354		
Sol de pépinière	5,1	23,7	28,8	1 700	1 276	761	104	78	1 229	0,7	189	28,1	4,1	3 169		

Cations totaux									
	K	Mg	Ca	Cu	Fe	Mn	Zn	Al	%
Sable	393	1 123	4 248	Traces	16 244	267	38	2 639	0,05 7,21
Sol de pépinière	559	825	2 732	Traces	28 513	433	47	8 595	3,05 5,49

<sup>1</sup>: sauf en % pour le C.O. et les unités de pH.

pépinière (Duchesnay) également fournies dans le tableau 6. Ce sable a été placé dans des pots de 5 litres comprenant une ouverture dans le fond pour évacuer le surplus d'eau.

Les quantités de boues appliquées variaient de 605 kg/ha à 10 890 kg/ha (base sèche), ce qui correspondait à 25 kg N/ha (une application de 25 kg N/ha au début) et 450 kg N/ha (neuf applications de 50 kg N/ha, soit une application par 2 semaines). Les traitements avec 17 applications demandaient une intervention par semaine, alors que ceux avec cinq applications en demandaient une par 4 semaines. Un résumé de ces traitements est présenté dans le tableau 7. Les applications de boue liquide (9 000 mg/L) ont été faites en surface, sauf pour deux traitements où elle fut incorporée aux 10 premiers cm de sable. La plus grande partie de l'azote contenu dans la boue (4,2% des solides totaux) était sous forme organique. Elle contenait aussi 1,05% de phosphore et 0,08% de potassium (base sèche). Le dispositif expérimental comprenait aussi un traitement-témoin qui n'a reçu aucune fertilisation, mais qui a évolué dans les mêmes conditions que les traitements fertilisés.

L'expérience était composée de 16 traitements avec quatre répétitions chacun. Initialement, 40 graines avaient été déposées par pot, puis recouvertes de silice pour minimiser leur déplacement lors de l'arrosage et de la fertilisation. Le taux de germination a été d'environ 80%. Par la suite, des semis sont morts de la fonte et d'autres ont été sacrifiés pour arriver à un nombre final de 15 plants par pots, quoique certains pots en avaient moins que 15.

TABLEAU 7

Résultats des moyennes de hauteur, diamètre et biomasse à la fin de l'expérience (119 jours)

Traitement de boue (kg N ha <sup>-1</sup> )		Hauteur	Diamètre	Masse des racines	Masse des tiges
		(mm)	(mm)	(mg)	(mg)
Témoin	0	27,9 a <sup>1</sup>	0,58 a	6,5 a	17,6 a
Su, 1x 25	= 25	46,1 a	0,77 abc	13,4 abc	38,3 ab
Su, 1x 50	= 50	43,6 a	0,73 ab	9,8 ab	33,8 ab
En, 1x 50	= 50	42,2 a	0,77 abc	10,5 ab	37,3 ab
Su, 2x 25	= 50	59,4 ab	0,85 abc	13,9 abc	53,5 ab
Su, 2x 50	= 100	63,2 ab	0,95 abc	12,2 ab	62,3 ab
Su, 17x 6,25 = 106		110,1 abc	1,43 abcde	26,1 def	149,3 cdef
Su, 1x125	= 125	58,9 ab	0,91 abc	13,8 abc	56,1 ab
En, 1x125	= 125	63,1 ab	1,07 abc	18,5 bcde	87,6 bc
Su, 5x 25	= 125	80,9 abc	1,10 abcd	17,5 bcde	90,6 bcd
Su, 17x 12,5 = 213		125,3 abc	1,66 bcde	31,4 f	200,4 f
Su, 9x 25	= 225	122,5 abc	1,62 abcde	27,6 ef	190,6 f
Su, 2x125	= 250	82,5 abc	1,15 abcd	15,7 abcd	92,2 bcd
Su, 5x 50	= 250	112,0 abc	1,48 abcde	23,9 cdef	155,0 def
Su, 17x 25	= 425	124,9 abc	1,80 cde	30,8 f	218,5 f
Su, 9x 50	= 450	114,7 abc	1,60 abcde	24,8 def	176,2 f

<sup>1</sup>: Dans une même colonne, les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes à P = 0,05 (Test de Duncan)

Su = boue appliquée en surface

En = boue enfouie dans 10 cm de sable

Les mesures de hauteur et de diamètre ont été prises sur chaque semis respectivement avec une règle graduée en mm et avec un microdendromètre d'une précision de 0,01 mm. Pour déterminer les masses, les racines ont été séparées des tiges (les tiges comprenant les aiguilles) et ces parties ont été regroupées par traitement et par répétition. Les lots ont été séchés au four et pesés. Le résultat a ensuite été divisé par le nombre de plants constituant le lot pour obtenir le poids moyen d'un semis.

#### RÉSULTATS ET DISCUSSION

Le tableau 7 présente les moyennes de hauteur, de diamètre et de biomasse à la fin de l'expérience. Les traitements sont identifiés avec deux lettres suivies de trois nombres. Les lettres "Su" signifient que la boue a été appliquée en surface et les lettres "En" que la boue a été enfouie. Le premier nombre représente le nombre d'applications de boue; le second, la charge en azote (en  $\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ ) appliquée à chaque fois; le troisième est le produit ou la charge cumulée (en  $\text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ ). Globalement, les résultats obtenus peuvent être reliés à l'interaction entre les quantités appliquées de boue (ou d'azote qu'elle contient) et le nombre d'applications qui a servi à cumuler ces quantités totales. Les figures 1 à 4 reprennent ces résultats en les séparant par variable mesurée, en fonction de la charge totale d'azote reçue avec les applications de boue. Les chiffres accolés à chaque point représentent le nombre requis d'applications pour cumuler la charge totale et les parenthèses indiquent que la boue a été enfouie.

Les traitements qui ont reçu le plus grand nombre d'applications de boue, soit 17 fois, se classent les plus productifs. Pour deux résultats parmi ceux-là,

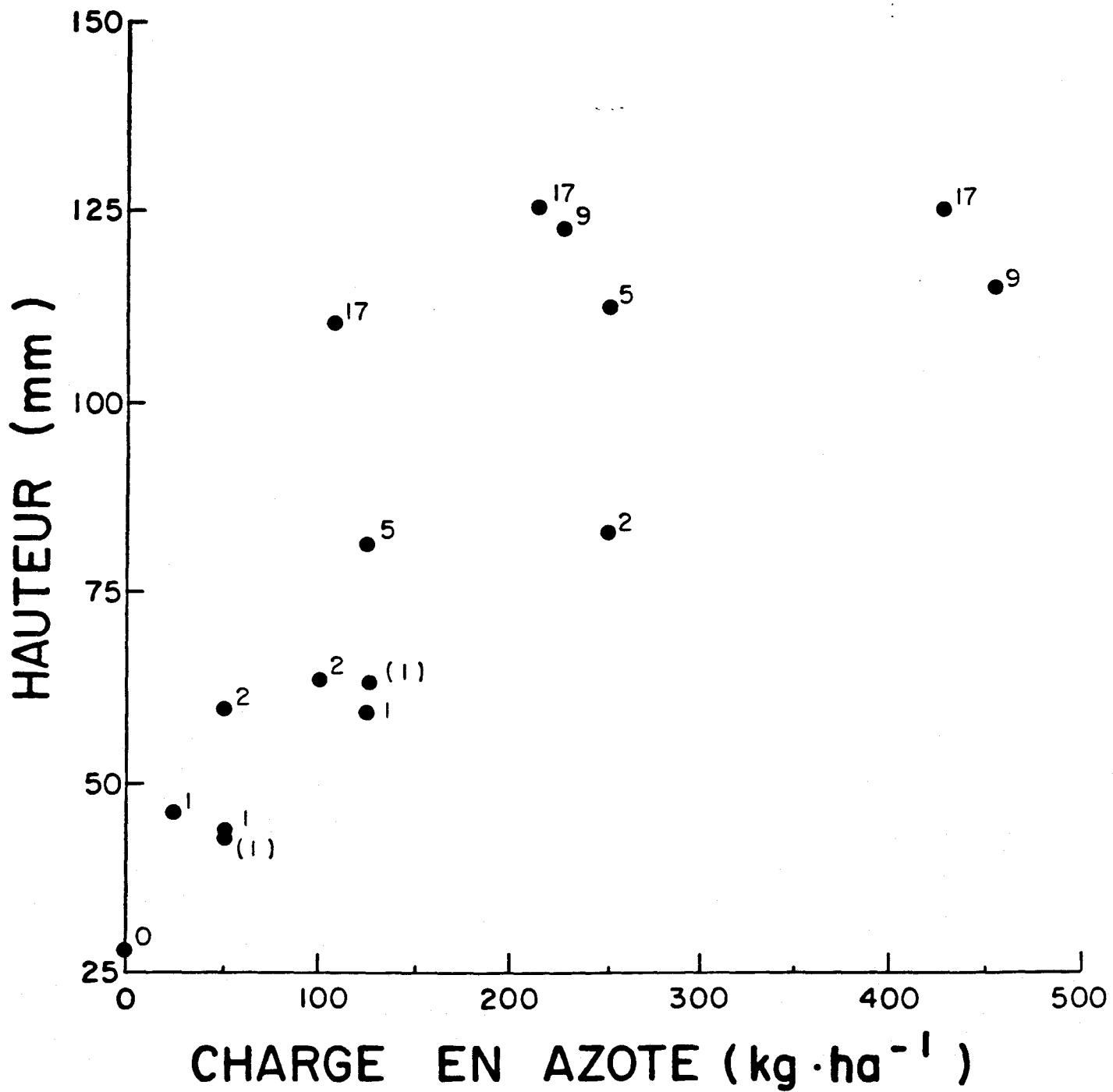


Figure 1: Croissance en hauteur en fonction de la charge cumulative d'azote.

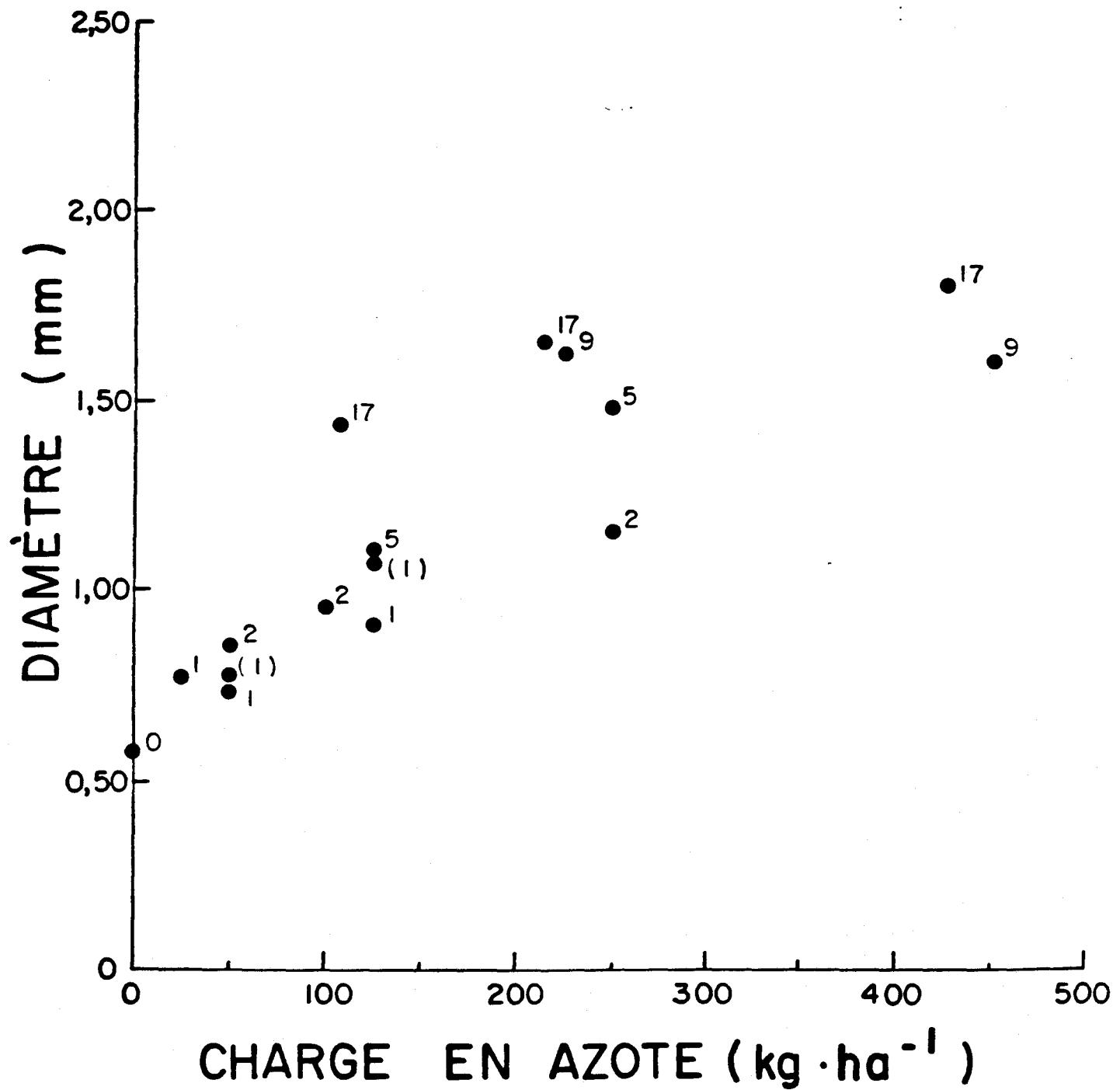


Figure 2: Croissance en diamètre en fonction de la charge cumulative d'azote.

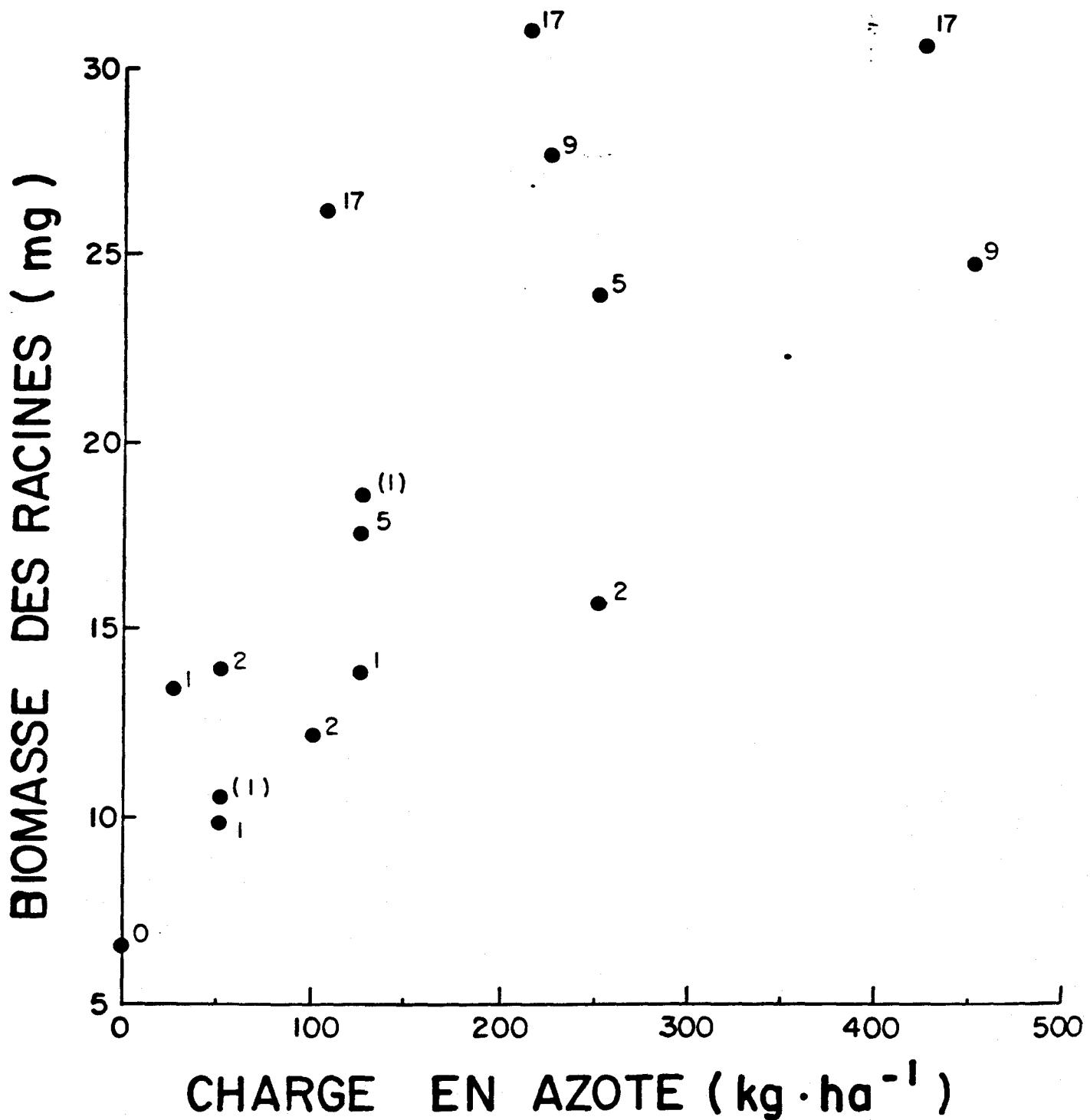


Figure 3: Production de biomasse de racines en fonction de la charge cumulative d'azote.

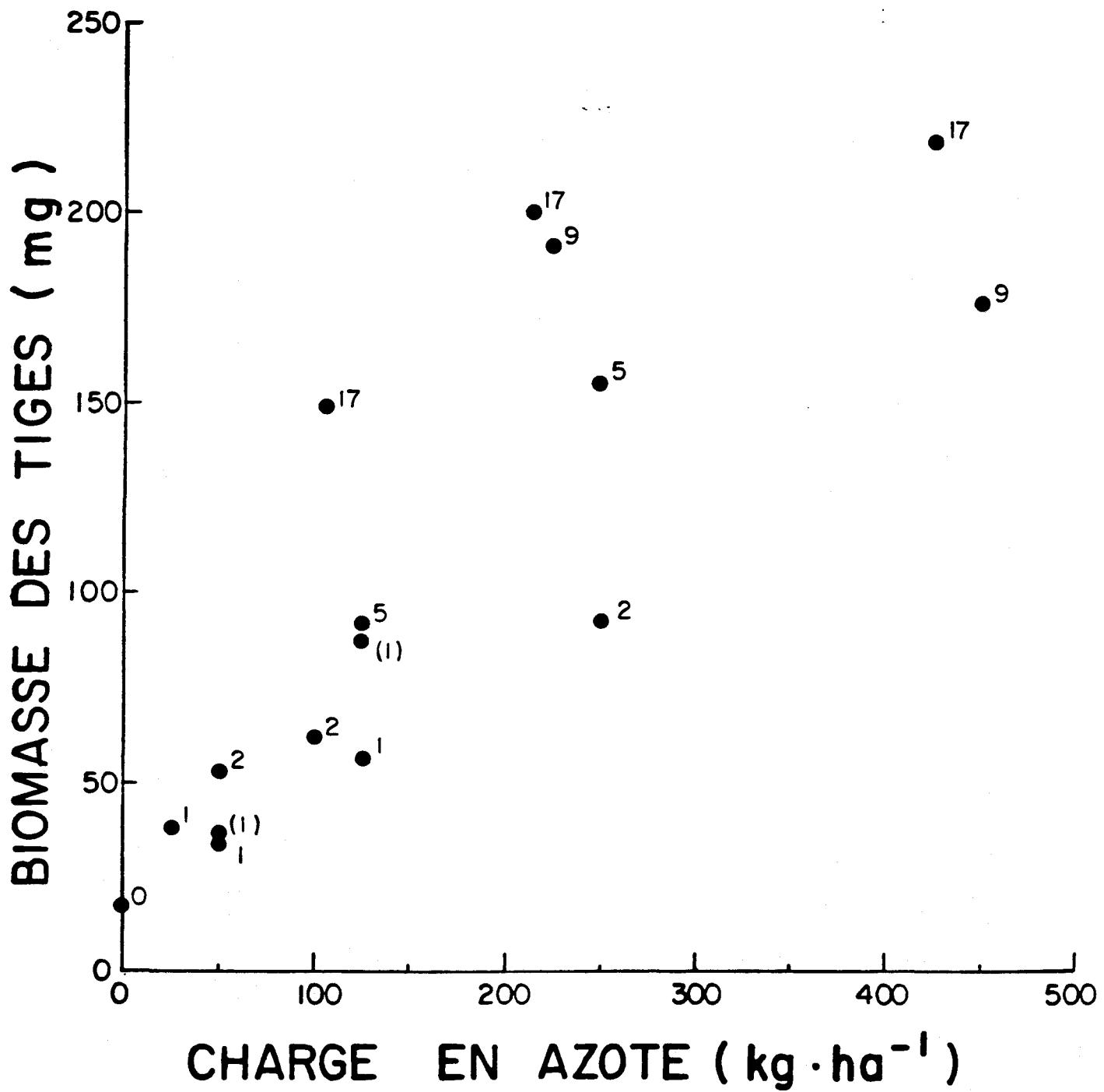


Figure 4: Production de biomasse de tiges en fonction de la charge cumulative d'azote.

soit les traitements Su,  $17 \times 12,5 = 213$  et Su,  $17 \times 25 = 425$ , il n'y a pratiquement pas de différence entre eux pour la hauteur avec 125,3 mm contre 124,8 mm respectivement. Pour le diamètre, le traitement Su,  $17 \times 25 = 213$  affiche un résultat meilleur que le traitement Su,  $17 \times 25 = 425$  avec 1,80 mm contre 1,66 mm respectivement. Cela se traduit par une biomasse plus importante. En effet, le traitement Su,  $17 \times 25 = 425$  a produit la plus grande biomasse des tiges avec une moyenne de 218,5 mg par semis. Cependant, concernant la biomasse des racines, le traitement Su,  $17 \times 12,5 = 213$  a donné une production meilleure que le traitement Su,  $17 \times 25 = 425$  avec 31,4 mg de moyenne contre 30,8 mg.

Le traitement Su,  $17 \times 6,25 = 106$  affiche une bonne productivité. En le comparant avec le Su,  $2 \times 50 = 100$ , donc des doses presque égales, le rendement est de 110,1 mm contre 63,2 mm pour la hauteur, 1,43 mm contre 0,95 mm pour le diamètre, 26,1 mg contre 12,2 mg pour la masse des racines et 149,3 mg contre 62,3 mg pour la masse des tiges. Cela suggère que la fréquence des applications entre en jeu pour obtenir de bons rendements, peut-être dû à une meilleure mise à disposition des plants des éléments nutritifs.

Les traitements avec neuf applications sont au deuxième rang de productivité, mais la petite dose de ces traitements (Su,  $9 \times 25 = 225$ ) a mieux réussi que la grande dose (Su,  $9 \times 50 = 450$ ) pour toutes les variables étudiées. Les résultats sont de 122,5 mm contre 114,7 mm pour la hauteur, 1,62 mm contre 1,60 mm pour le diamètre, 27,6 mg contre 29,8 mg pour la masse des racines et 190,6 mg contre 176,2 mg pour la masse des tiges. Devant cette relation inverse du rendement en fonction de la dose totale, on peut se demander si une application de 50 kg N/ha à toutes les deux semaines réduirait l'absorption des éléments

nutritifs, donc de la croissance, en étant au-dessus des besoins de consommation de cette culture.

Le traitement Su,  $5 \times 50 = 250$  offre des résultats intéressants parce qu'il se classe parmi le groupe des traitements les plus productifs et a nécessité moins d'applications et moins de boue en tout. À dose égale à chaque application, il a performé presque aussi bien que le traitement Su,  $9 \times 50 = 450$ , avec 112,0 mm contre 114,7 mm pour la hauteur, 1,48 mm contre 1,60 mm pour le diamètre, 23,9 mg contre 24,8 mg pour la masse des racines et 155,0 mg contre 176,2 mg pour la masse des tiges, en demandant deux fois moins d'interventions. Le laps de temps (4 semaines) entre chaque intervention était peut-être suffisant pour permettre l'application de 50 kg N/ha chaque fois, sans réduire la croissance, tel qu'observé avec le traitement Su,  $9 \times 50 = 450$  qui a été comparé à Su,  $9 \times 25 = 225$ . Le traitement Su,  $5 \times 50 = 250$  a aussi mieux réussi que le traitement Su,  $2 \times 125 = 250$  avec 112,0 mm contre 82,5 mm pour la hauteur, 1,48 mm contre 1,15 mm pour le diamètre, 23,9 mg contre 15,7 mg pour la masse des racines et 155,0 mg contre 92,2 mg pour la masse des tiges.

Les traitements ayant reçu une ou deux applications démontrent que les quantités totales de boue (ou d'azote) épandues ne sont pas suffisantes pour amener des rendements intéressants, sauf pour le traitement Su,  $17 \times 6,25 = 106$  qui affiche une bonne croissance, tel que déjà discuté. Par contre, ici encore les traitements avec applications multiples donnent de meilleurs rendements que les traitements avec moins d'applications, menant à des doses cumulatives égales. Ainsi, le traitement Su,  $5 \times 25 = 125$  a mieux réussi que le traitement Su,  $1 \times 125 = 125$  avec 80,9 mm contre 58,9 mm pour la hauteur, 1,10 mm contre 0,91 mm pour le diamètre, 17,5 mg contre 13,8 mg pour la masse des racines et

90,6 mg contre 56,1 mg pour la masse des tiges. Le traitement Su, 2 x 25 = 50 a mieux réussi que le traitement Su, 1 x 50 = 50 avec 59,4 mm contre 43,6 mm pour la hauteur, 0,85 mm contre 0,73 mm pour le diamètre, 13,9 mg contre 9,8 mg pour la masse des racines et 53,5 mg contre 33,8 mg pour la masse des tiges.

Finalement, des comparaisons peuvent être établies entre quatre traitements, pris deux à deux, où la boue a été enfouie ou seulement épandue en surface. À dose et fréquence égales, l'enfouissement offre un léger avantage, mais ne peut pas être répété sans risquer l'endommagement des racines. Ainsi, le traitement En, 1 x 125 = 125 a réussi mieux que le traitement Su, 1 x 125 = 125 avec 63,1 mm contre 58,9 mm pour la hauteur, 1,07 mm contre 0,91 mm pour le diamètre, 18,5 mg contre 13,8 mg pour la masse racinaire et 87,6 mg contre 56,1 mg pour la masse des tiges. Le traitement En, 1 x 50 = 50 est légèrement plus productif que le traitement Su, 1 x 50 = 50, sauf pour la croissance en hauteur qui amène une petite inversion avec 42,2 mm contre 43,6 mm; les autres résultats sont de 0,77 mm contre 0,73 mm pour le diamètre, 10,5 mg contre 9,8 mg pour la masse des racines et 37,3 mg contre 33,8 mg pour la masse des tiges. La meilleure croissance des traitements avec enfouissement serait attribuable à une meilleure disponibilité des éléments nutritifs. En effet, à la fin de l'expérience, de la boue était encore présente à la surface des traitements où l'enfouissement n'avait pas été exécuté, en proportion approximative avec les quantités de boues épandues. L'azote contenu dans cette boue n'est pas disponible pour les semis.

D'autres études se rapprochent de la nôtre. Ainsi, Fiskell et al. (1982) rapportent que des pins "loblolly" (Pinus taeda L.) ayant reçu une application unique de 400 kg N/ha (8 000 kg/ha de boue à 5% N) ont affiché une croissance

supplémentaire en hauteur de 205% sur les témoins après 10 mois. La dose unique qui fut appliquée et qui se rapprochait le plus de cette charge est 125 kg N/ha (Su,  $1 \times 125 = 125$ ). La croissance en hauteur de ce traitement est supérieure de 111% sur le témoin, tandis que celle du traitement Su,  $2 \times 125 = 250$  dépasse ce même témoin de près de 200%. Le meilleur rendement en hauteur a été obtenu avec le traitement  $17 \times 12,5 = 213$  où la croissance supplémentaire en hauteur est près de 350% supérieure sur le témoin.

Berry et Marx (1980) ont appliqué 692 kg N/ha (34 000 kg/ha de boue à un peu plus de 2% N) à un peuplement de pins "loblolly" (P. taeda). Après 3 ans, les arbres fertilisés avaient des diamètres plus gros que les arbres-témoins, les dépassant par 240%. Dans notre cas, les traitements Su,  $1 \times 125 = 125$  et Su,  $2 \times 125 = 250$  ont 57% et 98% de croissance supplémentaire comparativement aux témoins. Le meilleur résultat a été obtenu avec le traitement Su,  $17 \times 25 = 425$  qui affiche 210% de croissance supplémentaire en diamètre sur le témoin.

Ainsi, malgré des charges en azote plus faibles et une durée d'expérience plus courte, nos résultats sont comparables avec ceux disponibles dans la littérature.

#### **CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS**

L'expérience élaborée permet de vérifier que la boue anérobie de l'usine d'épuration de Valcartier peut améliorer un substrat de croissance pauvre, le sable, et favoriser la croissance du mélèze laricin (L. laricina). Pour le temps écoulé, les rendements obtenus augmentent jusqu'à une charge cumulative

d'environ 225 kg N/ha, au-delà de laquelle les augmentations ne sont pas importantes. Les applications répétées s'avèrent plus profitables que les applications uniques, probablement dû à une meilleure disponibilité des éléments nutritifs pour les semis. De plus, malgré les faibles charges utilisées dans les traitements où la boue a été enfouie, cette opération semble produire plus de matière que le simple épandage.

Les semis de mélèze laricin (L. laricina) cultivés en serres réagissent donc bien à la fertilisation par les boues et il est permis de croire qu'il n'en serait pas autrement sur le terrain avec des arbres plus âgés. La production de boue pourrait ainsi être écoulée dans une plantation située près de l'usine ou dans une pépinière forestière.

D'autres chercheurs, dont quelques-uns ont déjà été cités, ont démontré que des boues d'autres provenances pouvaient améliorer la croissance d'autres essences forestières. Notre étude va dans le même sens.

Puisque la mise en place des usines d'épuration des eaux usées génère un nouveau produit, les boues résiduaires, leur gestion a été anticipée ici. Leur recyclage apparaît comme la solution la plus rationnelle, car d'une part, la ressource est optimisée et d'autre part, un débouché définit lui est trouvé.

#### REMERCIEMENTS

L'auteur adresse ses remerciements à madame I. Giroux et à monsieur Y. Grenier pour les recherches initiales qui ont servi à écrire cet article. Il remercie également le Conseil de Recherches en Sciences Naturelles et en Génie du Canada

CRSNG (subvention A-3711), le service de la recherche et du développement du ministère de l'Énergie et des Ressources (Terres et Forêts) du Québec ainsi que le ministère de l'Environnement du Québec pour leur participation financière et technique.

RÉFÉRENCES

BERRY, C.R. et MARX. D.H. (1980). Significance of various soil amendments to borrow pit reclamation with loblolly pine and fescue. *Reclamation Review.* 3: 87-94.

CHANG, A.C., J.E. WARNEKE, A.L. PAGE et L.J. LUND (1984). Accumulation of heavy metals in sewage sludge-treated soils. *Journal of Environmental Quality.* 13: 8-91.

COMITÉ CANADIEN DE PÉDOLOGIE. (1978). *Manuel de méthodes d'échantillonnage et d'analyses de sols.* 2<sup>e</sup> édition, préparée par le sous-comité des méthodes d'analyses sous la direction de J.A. McKeague, éditeur, 250 pages.

COSGROVE, D.J. (1973). Inositol polyphosphates in activated sludges. *Journal of Environmental Quality.* 2: 483-484.

COUILLARD, D. (1982a). Toxicité des eaux de ruissellement de la fonte de neige en milieu urbain. *Water Research.* 16(7): 1197-1205.

COUILLARD, D. (1982b). Évaluation des teneurs en composés organochlorés dans le fleuve, l'estuaire et le golfe Saint-Laurent, Canada. *Environmental Pollution, série B.* 3(4): 239-270.

COUILLARD, D. (1982c). Géologie et géochimie du fleuve, de l'estuaire et du golfe Saint-Laurent (Canada). Canadian Journal of Earth Sciences, 19(7): 1492-1506.

COUILLARD, D. (1983). PCB et pesticides organochlorés dans le système Saint-Laurent. Canadian Journal of Water Resources. 8(2): 32-64.

COUILLARD, D., M. CROWLEY et J.L. SASSEVILLE (1986). Technological public choice in practice: the case of wastewater treatment facilities. Journal of Environmental Management. 22(3): 160-178.

COUTURE, P., D. COUILLARD et G. CROTEAU (1981). Un test biologique pour caractériser la toxicité des eaux usées. Environmental Pollution, Série B. 2(3): 217-222.

CROWLEY, M., J.L. SASSEVILLE et D. COUILLARD (1986). L'importance accordée à l'évaluation technologique dans l'assainissement des eaux municipales au Québec. Revue Internationale des Sciences de l'Eau, 2(2): 49-57.

ENVIRONNEMENT CANADA (1983). Toxics screening studies at municipal sewage treatment plants 1979-1981. Environmental protection service summary report. Préparé en décembre 1982, par la division concernant les municipalités. Direction de la dépollution et du contrôle. Direction générale des eaux. Ottawa.

EPA (1984). Environmental regulations and technology: use and disposal of municipal wastewater sludge. EPA 625/10-84-003, 76 pages.

FISKELL, J.G.A., MARTIN, F.G., PRITCHETT, W.L. et MAFTOUN, M. (1982). Effects of cadmium levels and sludges on loblolly pine seedlings. Soils and Crop Science Society of Florida Proc. Vol. 41, Soil. Sci. Dept. Univ. of Florida, Gainesville, pp. 163-168.

GRENIER, Y. (1985). La valorisation des boues d'usine d'épuration des eaux en fertilisation forestière. Thèse de maîtrise, INRS-Eau, Université du Québec, 290 pages.

GOUVERNEMENT DU QUÉBEC (1986). Rapport du groupe de travail sur le Programme d'assainissement des eaux du Québec. Ministère de l'Environnement, Québec, 49 pages, 8 annexes.

GOUVERNEMENT DU QUÉBEC (1984). Bilan du programme de l'assainissement des eaux. Allocution du Ministre de l'Environnement, M.A. Ouellette, lors du Colloque de l'Union des municipalités du Québec sur l'assainissement des eaux au Québec. Montréal, le 7 septembre 1984, 14 pages. Ministère de l'Environnement du Québec, Québec, Canada.

GUPTA, S.K. (1976). Phosphate removal in systems  $H_2PO_4^-$  -  $\alpha$  -  $FeO(OH)$  and  $H_3PO_4$  -  $FeCl_3$ , characteristics of sludge phosphate. Faculty of Natural Science. Université de Berne, Suisse. 138 pages.

HAITH, D.A. (1983). Planning model for land application of sewage sludge. A.S.C.E., Journal of the Environmental Engineering Division, 109: 66-81.

JUSTE, C. (1976). Valorisation des boues résiduaires. Cours international I.R.C.H.A., 30/11-3/12/1976, Paris I.R.C.H.A., Vert-le-Petit, France, 31 pages.

MINISTÈRE DE L'ENVIRONNEMENT DU QUÉBEC (1984). Rapport sur la qualité des boues des stations d'épuration et autres boues du Québec. 74 pages.

ONTARIO MINISTRY OF THE ENVIRONMENT (1977). Plant operating summary, Water pollution control projects. Toronto, Ontario.

POMMEL, B. (1979). La valorisation agricole des déchets: 2) les boues résiduaires urbaines. Ministère de l'Agriculture, INRA, Station agronomique de Bordeaux, France. 70 pages.

ST-YVES, A. (1985). La bonne pratique de la valorisation agricole des boues, Assises annuelles de l'AQTE, 1985. 14 pages.

SOMMERS, L.E., D.W. NELSON et K.J. YOST (1976). Variable nature of chemical composition of sewage sludge. Journal of Environmental Quality. 5: 303-306.

SOMMERS, L.E. (1977). Chemical composition of sewage sludge and analysis of their potentiel use as fertilizer. Journal of Environmental Quality. 6: 225-232.

SUBIRANA, L. (1985). Le traitement des eaux usées et la forêt au Québec. Action des boues domestiques sur la germination des semis forestiers.

Rapport de stage de fin d'études, INRS-Eau, rapport interne no 96,  
Université du Québec, Québec, 94 pages, 1 annexe.

TÉTREAULT, R. (1985). Orientation du ministère de l'Environnement du Québec  
face à la gestion des boues provenant de l'épuration des eaux usées.  
Conférence de l'A.Q.T.E., Montréal, 1985. 7 pages.

VERGÈS, G. (1984). La disposition des boues des stations d'épuration, colloque  
sur l'assainissement des eaux, U.M.Q., septembre 1984, 11 pages.

WEBBER, M.D. (1984). Épandage des boues résiduaires sur les sols: une  
évaluation. Comité d'experts sur l'aménagement du sol et de l'eau,  
Environnement et agriculture Canada, Ottawa, Canada. 45 pages.

DYNAMICS OF MUNICIPAL WASTEWATER SLUDGES ON FOREST LAND

by

Denis Couillard

Institut National de la Recherche Scientifique (INRS-Eau)

Université du Québec

C.P. 7500 - 2700, rue Einstein

Sainte-Foy (Québec)

G1V 4C7

Submitted for publication

in

Journal of Environmental Systems

January, 1988

**ABSTRACT**

Forest land application of municipal wastewater sludge enhances the production of lignocellulosic materials and represents a promising sludge management alternative to disposal in the environment. This research project had two objectives: upgrading, or recycling, residual sludge produced by water-treatment plants, and increasing silvicultural yields through fertilization. An experiment in greenhouses has been conducted for a period of over four months. Varying amounts of anaerobic sludge were used as fertilizer to grow larches in sand. The experiment proved conclusively that sludge from water-purification plants can be put to good use in forest fertilization.

## INTRODUCTION

In any industrialized society, individuals can obtain consumer goods that make life more pleasant and comfortable. Improvements in living conditions over those of our forefathers have their cost with increased amounts of waste in various forms - liquid, solid and gas [1-3]. Unfortunately, all such waste materials pollute the environment. Recently, a general awakening to the situation and a willingness to improve it has fostered the desire to preserve a healthy, unblemished environment, while maintaining our lifestyle and consumption level [4, 5].

The fight against pollution is expensive and is not always justifiable economically. With waste recovery, however, costs can be assigned to a new form of production - recycling of waste materials. Water is considered a consumer product which, after being used for residential and industrial purposes, is contaminated and unfit for reuse. The simplest and fastest solution is to return used water to the natural environment (lake or river). This has resulted in substantial environmental deterioration, making bodies of water unfit for consumption and eventually unusable for recreational purposes. The situation has become intolerable, and some administrators have decided to correct the problem [6, 7].

Sewage treatment plants discharge waste material called sludge, which can pollute the environment unless recycled. This article describes the possible management of sludge and its use as a fertilizer [8-10]. A market must be found to support recycling. This may be through improvements in agriculture or, more preferably, forestry. Although levels of contamination by pathogenic

organisms (Table 1) are minimal when sludge is stabilized, it does contain heavy metals (Table 2) and synthetic compounds (Table 3). Since forestry products do not enter the human food chain, the risks associated with this stabilization are avoided [11-17].

Two objectives guided the research project. The first was the useful application (or recycling) of sludge produced by sewage treatment plants, and the second was the increase in forest yield through fertilization [18].

#### EXPERIMENTAL PHASE

The research involved an experimental application in a greenhouse, in which tamarack trees (Larix laricina) were grown in sand fertilized with different quantities of anaerobic sludge (Fig. 1). The experiment was conclusive: sludge from a sewage treatment plant can be used profitably in forest fertilization.

For 119 days, we grew tamaracks in sand. The crop was fertilized with varying quantities of anaerobic sludge from the Valcartier military base plant near Québec City. The composition of the anaerobic sludge is shown in Table 4. The sludge was applied to the surface for the first 14 treatments after the seeds had been sown (Fig. 2). In treatments 19 and 20, it was buried in 10 cm of sand before the seeds were sown. The different treatments were based on nitrogen content.

Table 1: Organisms susceptible to contaminate urban wastewater and sludge in Canada [20-24].

Organisms	Disease	Host
<b>BACTERIA</b>		
<u>Clostridium</u>	Gas gangrene, tetanus, botulism, food poisoning	Animals, fish
<u>Escherichia coli</u> (enteropathogenic types)	Gastroenteritis	Man, domestic animals
<u>Leptospira</u>	Leptospirosis	Man, domestic and wild animals
<u>Mycobacterium</u>	Tuberculosis, skin granuloma	Man, domestic and wild animals
<u>Pseudomonas</u>	Local infection	Man
<u>Salmonella</u> (1 700 types)	Typhoid fever, paratyphoid fever, enteritis, salmonellosis, food poisoning	Man, domestic and wild animals, birds
<u>Shigella</u>	Shigellosis (dysentery)	Man
<u>Yersinia enterocolitica</u>	Epidemic gastroenteritis	Man, domestic and wild animals, lower animals.
<b>HELMINTHS</b>		
Cestodes (Tapeworms)		
<u>Echinococcus granulosus</u> (dog tapeworm)	Unilocular echinococcosis	Dog
<u>Echinococcus multilocularis</u>	Alveolar hydatid disease	Dog, carnivores
<u>Hymenolepis nana</u> (dwarf tapeworm)	Taeniasis	Man, rat
<u>Taenia saginata</u> (Beef tapeworm)	Taeniasis	Man
<u>Taenia solium</u> (Pork tapeworm)	Taeniasis	Man

Table 1: Organisms susceptible to contaminate urban wastewater and sludge in Canada [20-24] (cont'd)

Organisms	Disease	Host
HELMINTHS (CONT'D)		
Nematodes (Roundworms)		
<u>Ancylostoma briziliense</u> (cat hookworm)	Cutaneous larva migrans	Cat
<u>Ancylostoma canium</u>	Cutaneous larva migrans	Dog
<u>Ancylostoma duodenale</u>	Ancylostomiasis	Man
<u>Ascaris lumbricoides</u>	Ascariasis	Man, swine?
<u>Enterobius vermicularis</u> (pinworm)	Enterobiasis	Man
<u>Necator americanus</u>	Necatoriasis	Man
<u>Strongyloides stercoralis</u>	Strongyloidiasis	Man, dog
<u>Toxocara canis</u>	Visceral larva migrans	Carnivores
<u>Toxocara cati</u> (cat roundworm)	Visceral larva migrans	Carnivores
<u>Trichurus trichiura</u> (whipworm)	Trichuriasis	Man
PROTOZOA		
<u>Balantidium coli</u>	Balantidiasis	Man, swine
<u>Entamoeba histolytica</u>	Amoebiasis	Man
<u>Giardia lamblia</u>	Giardiasis	Man, domestic and wild animals

Table 1: Organisms susceptible to contaminate urban wastewater and sludge in Canada [20-24] (cont'd and end)

Organisms	Disease	Host
<b>VIRUSES</b>		
Adenovirus (more than 30 types)	Respiratory disease, eye infections	Man
<b>Enteroviruses</b>		
Coxsackievirus A	Herpangia, respiratory disease, meningitis, fever	Man
Coxsackievirus B (6 types)	Myocarditis, congenital heart anomalies, rash, fever, meningitis	Man
New enteroviruses (4 types)	Meningitis, encephalitis, Man respiratory disease, acute hemorrhagic conjunctivitis, fever	
Polioviruses (3 types)	Paralysis, meningitis, fever	Man
Gastroenteritis virus type agents, (2 types)	Norwalk epidemic, vomiting and diarrhea, fever	Man
Hepatitis A	Infectious hepatitis	Man, other primates
Parvovirus (adeno-associated virus, 3 types)	Associated with respiratory disease in children; etiology not clearly established	Man
Reovirus (3 types)	Not clearly established	
Rotavirus (Reoviridae family)	Epidemic vomiting and diarrhea, mainly of children	Man, domestic animals

Table 2: Comparison of wastewater sludges composition in Québec and in the U.S.A.

Element	Québec	U.S.A.	Units
C org. total	31,5	31,0	%
N total	5,1	3,9	%
$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ - N	6 055	6 540	mg/kg
NO <sub>3</sub> + NO <sub>2</sub> - N	1 565	490	mg/kg
P total	2,0	2,5	%
K	0,2	0,4	%
Na	0,4	0,6	%
Ca	2,0	4,9	%
Mg	0,45	0,54	%
Ba	0,04	0,06	%
Fe	1,8	1,3	%
Al	1,1	1,2	%
Pb	180	1 360	mg/kg
Zn	526	2 790	mg/kg
Cu	551	1 210	mg/kg
Ni	36	320	mg/kg
Cd	≤ 10	110	mg/kg
Cr	53	2 620	mg/kg
Mn	701	380	mg/kg
B	≤ 125	77	mg/kg
As	5	43	mg/kg
Mo	12	28	mg/kg
Hg	2	733	mg/kg

Table 3: Occurrence of toxic organics compounds in wastewater treatment sludge in Canada [25].

Compound	Percent occurrence at stated concentrations (13 sludges surveyed)		
	≥ 1 mg/kg	≥ 10 mg/kg	≥ 100 mg/kg
Anthracene	23	15	15
Benzo-a-pyrene	23	15	0
Bis (2 ethyl-hexyl) phthalate	92	92	31
Chrysene	15	15	0
Di-n-octylphthalate	31	0	0
Fluorene	23	15	15
Hexachlorobenzene	8	0	0
Naphthalene	23	15	0
N-Nitrosodiphenylamine	54	15	0
Pentachlorophenol	8	0	0
Pyrene	38	15	15
2,4 Dichlorophenol	15	0	0

Table 4: Analysis of the anaerobic sludge used in the experiment

Parameter	Concentrations	Units
Total solids	9 000	mg/L
Total volatile solids	3 100	mg/L
Dissolved solids	855	mg/L
Dissolved volatile solids	230	mg/L
pH	7,7	---
NTK (Total nitrogen)	42 000	mg/kg N
N-NH <sub>4</sub> (Ammonia nitrogen)	770	mg/kg N
N-NO <sub>3</sub> +NO <sub>2</sub> (Nitrates+Nitrites)	≤ 0,5	mg/kg N
Total inorganic phosphorus	---	mg/kg P
Total phosphorus	10 500	mg/kg P
Aluminium	13 000	mg/kg Al
Arsenic	≤ 5	mg/kg As
Baryum	600	mg/kg Ba
Bore (1)	20	mg/kg B
Cadmium (2)	≤ 10	mg/kg Cd
Mercury	7,7	mg/kg Hg
Molybdenum	≤ 20	mg/kg Mo
Nickel	20	mg/kg Ni
Lead	680	mg/kg Pb
Potassium	880	mg/kg K
Sodium	1 500	mg/kg Na
Calcium	33 000	mg/kg Ca
Chromium	80	mg/kg Cr
Copper	2 900	mg/kg Cu
Iron	15 000	mg/kg Fe
Magnesium	2 500	mg/kg Mg
Manganese	200	mg/kg Mn
Zinc	950	mg/kg Zn
Selenium	≤ 5	mg/kg Se

- 1) Limit of detection of 45 mg/kg on solids fraction. As all obtained data in the solids fraction are below, the limit of detection actual concentrations are then between the range of the data shown on the table and the same data minus 45 mg/kg.
- 2) All data below 10 mg/kg of suspended solids or below 7.5 mg/kg of total dry solids.

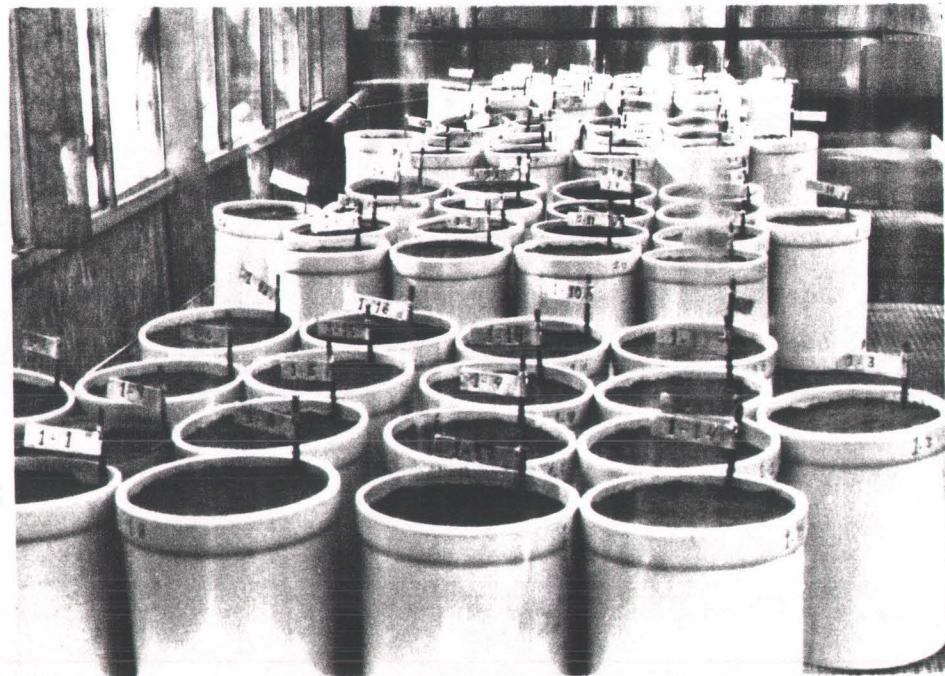


Figure 1: All the pots in the greenhouse.



Figure 2: Application of sludge.

The tamarack plants' height was measured several times during the experiment (Table 5). At the end, the diameter of the stump and the dry biomass were also measured.

#### RESULTS AND DISCUSSION

The graphs (Figs 3 to 7) show changes in growth height from the start until the end of the experiment (119 days). Improvement varied in proportion to the number of applications and the total amount of sludge applied (Table 5). Despite slight differences, treatments 14 and 15 were better than treatment 13 (Figs 7 and 8). Several applications gave better results than a single application. For example, treatment 9 was better than 7, while 8 (Figs 5 and 9) was better than 4 (Figs 4 and 10). Upward growth is especially important: the higher the trees grow, the sooner they can compete with weeds [19].

Treatments which received 17 successive applications of sludge gave the best results, except for treatment 13 (Figs 7 and 8) . The average diameter of the tamaracks was larger with nine applications of sludge than with five. Treatments receiving only one or two applications were similar (Fig 11); the trees were smaller than those that received several applications. Buried sludge applications were found to be slightly better than their counterparts fertilized at the surface.

A measurement for the stem biomass including the leaves is valuable because it provides a more complete picture of experimental results (Figs 4 to 7). Besides incorporating the stems' height and diameter, it is the ideal parameter for fibre production, in representing total matter produced.

Table 5: Results on average growth height at various time and average diameters and leave's mass at the end of the experiment (119 days)

Treatment number	Final characteristics				H after 69 days <sup>4</sup> (mm)	H after 105 days <sup>5</sup> (mm)	H after 119 days (mm)	$\bar{\varnothing}$ after 119 days (mm)	Leave's mass average after 119 days (mg)
1	Sa			0	30,8	33,6	27,9	0,58	17,6
2	B, Sa, Su,	1 <sup>1</sup> x 25 <sup>2</sup>	= 25 <sup>3</sup>		34,5	46,1	46,1	0,77	38,3
3	B, Sa, Su,	1 x 50	= 50		33,1	44,5	43,6	0,73	33,8
4	B, Sa, Su,	1 x 125	= 125		38,9	55,1	58,9	0,91	56,1
5	B, Sa, Su,	2 x 25	= 50		35,3	53,7	59,4	0,85	53,5
6	B, Sa, Su,	2 x 50	= 100		35,4	55,4	63,2	0,95	62,3
7	B, Sa, Su,	2 x 125	= 250		39,6	67,5	82,5	1,15	92,2
8	B, Sa, Su,	5 x 25	= 125		36,9	65,5	80,9	1,10	90,6
9	B, Sa, Su,	5 x 50	= 250		42,8	86,0	112,0	1,48	155,0
10	Fc, Sa, Su,	17 x 25	= 425		58,2	125,5	162,7	2,26	365,0
11	B, Sa, Su,	9 x 25	= 225		47,2	92,2	122,5	1,62	190,6
12	B, Sa, Su,	9 x 50	= 450		44,3	90,1	114,7	1,60	176,2
13	B, Sa, Su,	17 x 6,25	= 106		45,8	83,4	110,1	1,43	149,3
14	B, Sa, Su,	17 x 12,5	= 213		46,8	96,5	125,3	1,66	200,4
15	B, Sa, Su,	17 x 25	= 425		46,2	98,3	124,9	1,80	218,5
16	B, Sp, Su,	1 x 125	= 125		41,7	79,4	104,7	1,46	165,4
17	B, Sp, Su,	5 x 25	= 125		42,6	97,3	124,2	1,64	213,6
18	Fc, Sa, Su,	17 x 12,5	= 213		59,4	121,7	153,7	2,14	338,1
19	B, Sa, En,	1 x 50	= 50		34,9	41,0	42,2	0,77	37,3
20	B, Sa, En,	1 x 125	= 125		40,2	52,7	63,1	1,07	87,6

<sup>3</sup> = kg N/ha

<sup>4</sup> = after 71 days for treatments 19 and 20  
<sup>5</sup> = after 95 days for treatments 19 and 20

<sup>1</sup> : Number of applications

<sup>2</sup> : amount of sludges

H = average height

$\bar{\varnothing}$  = average diameter

B = sludge treatment

Fc = chemical fertilizer treatment

Sa = treatments on sand

Sp = treatments on seed-bed soil

Su = sludge applied on surface

En = sludge buried under 10 cm of sand

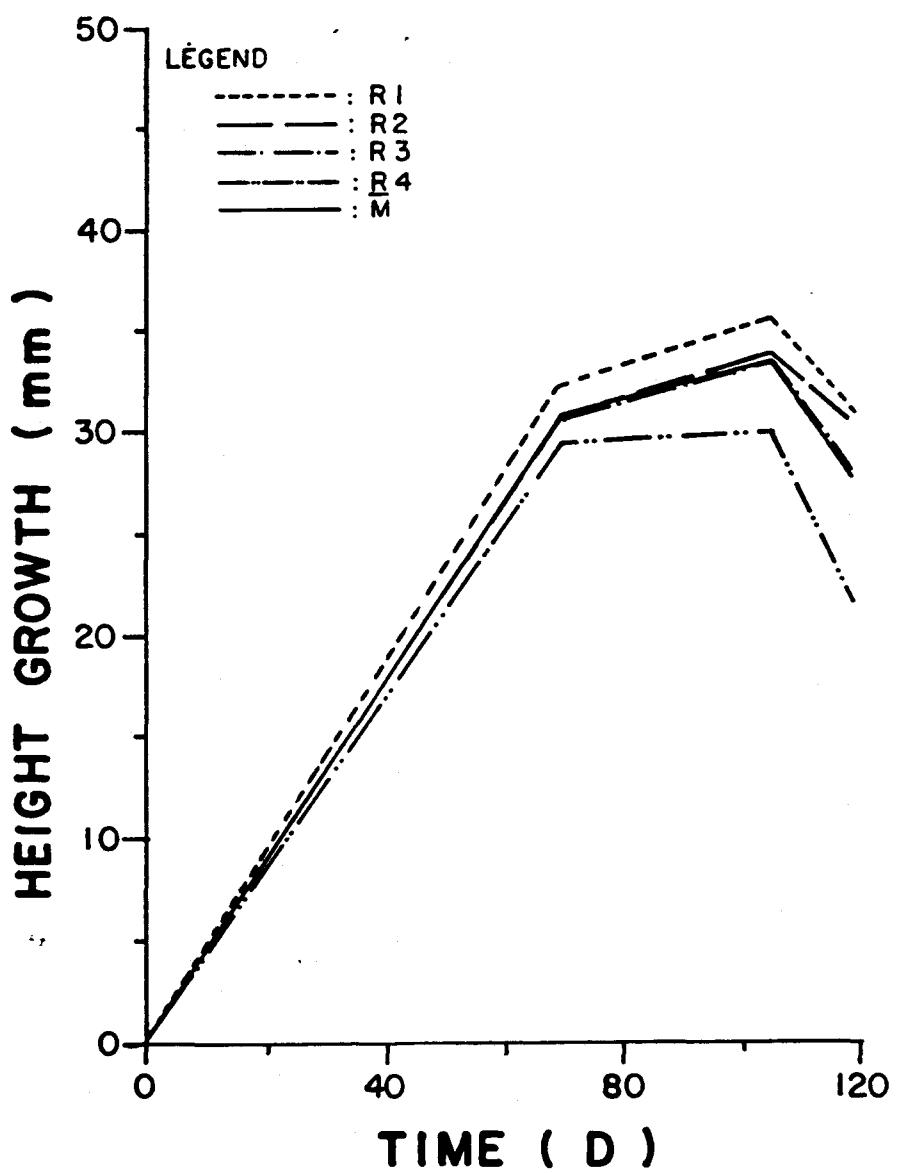


Figure 3: Changes in height growth over time by repeating treatment 1.

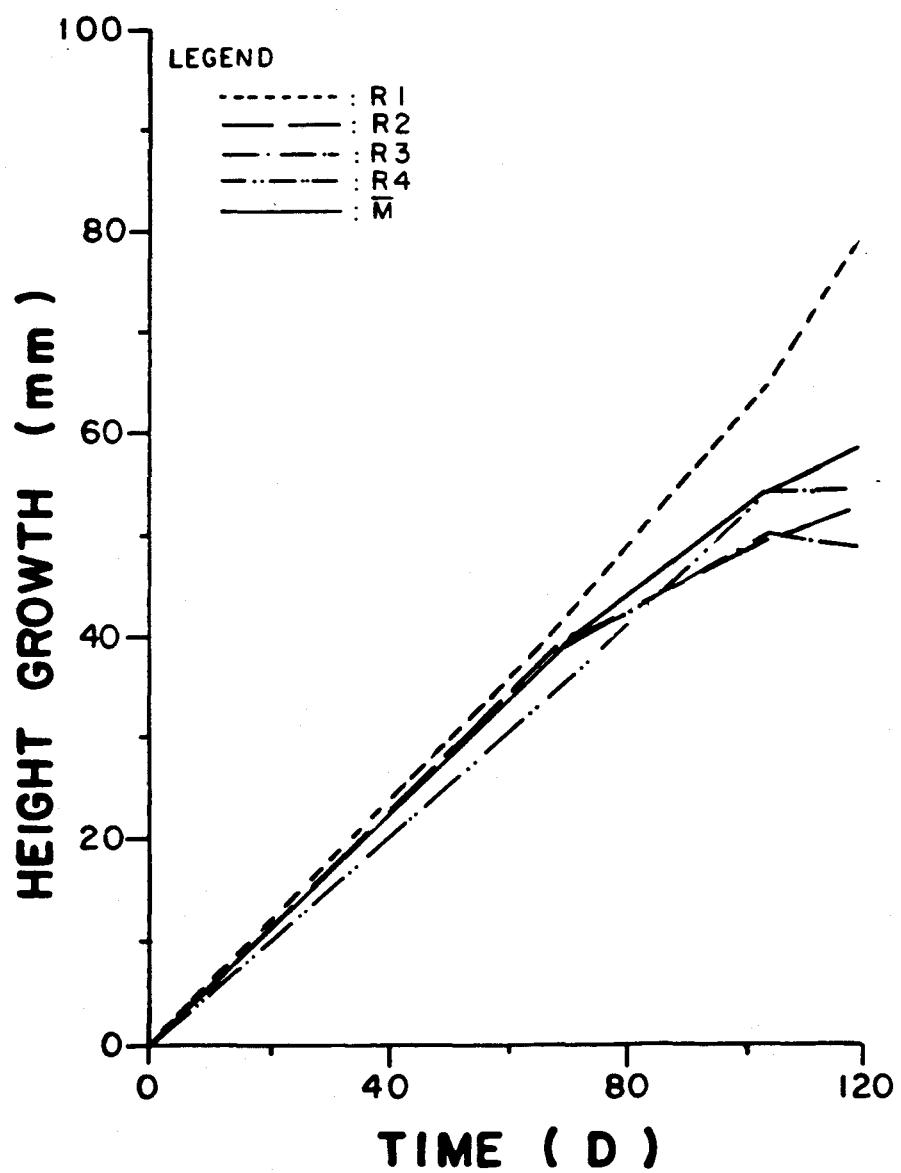


Figure 4: Changes in height growth over time by repeating treatment 4.

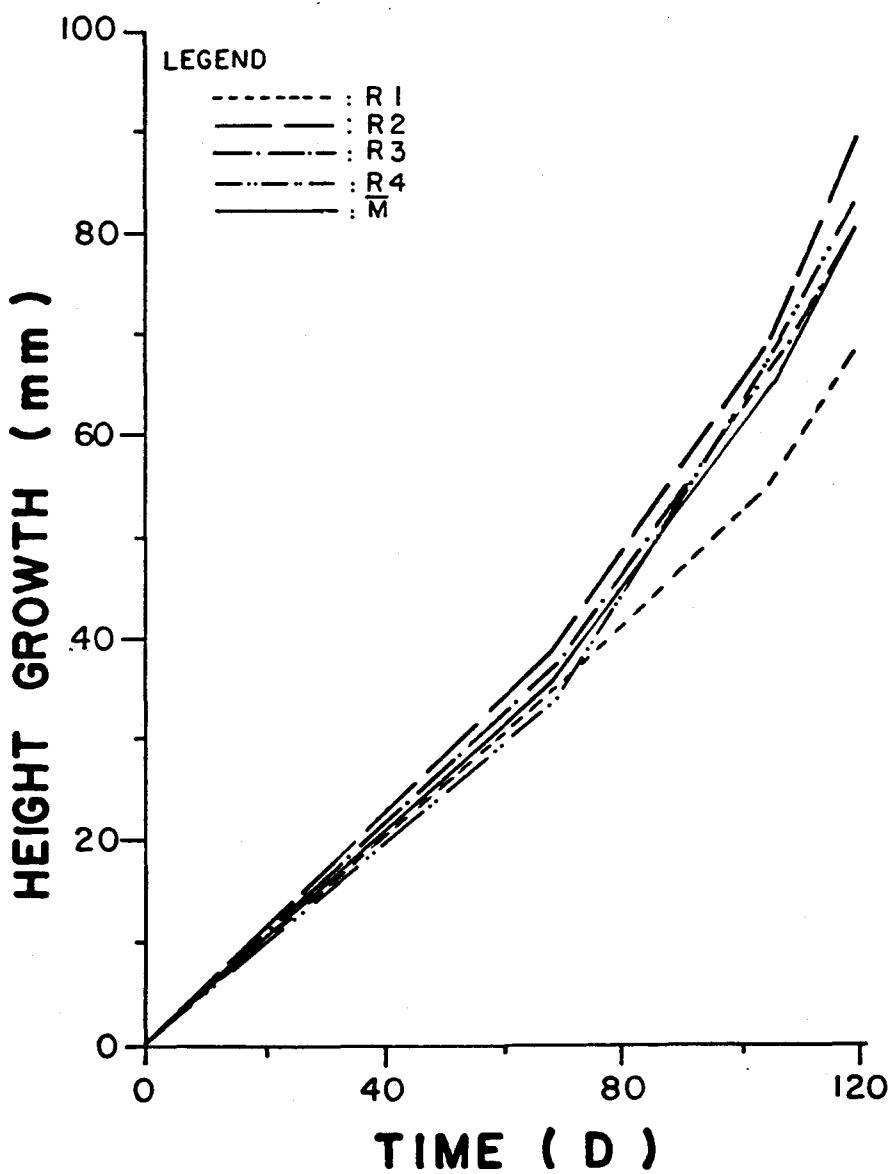


Figure 5: Changes in height growth over time by repeating treatment 8.

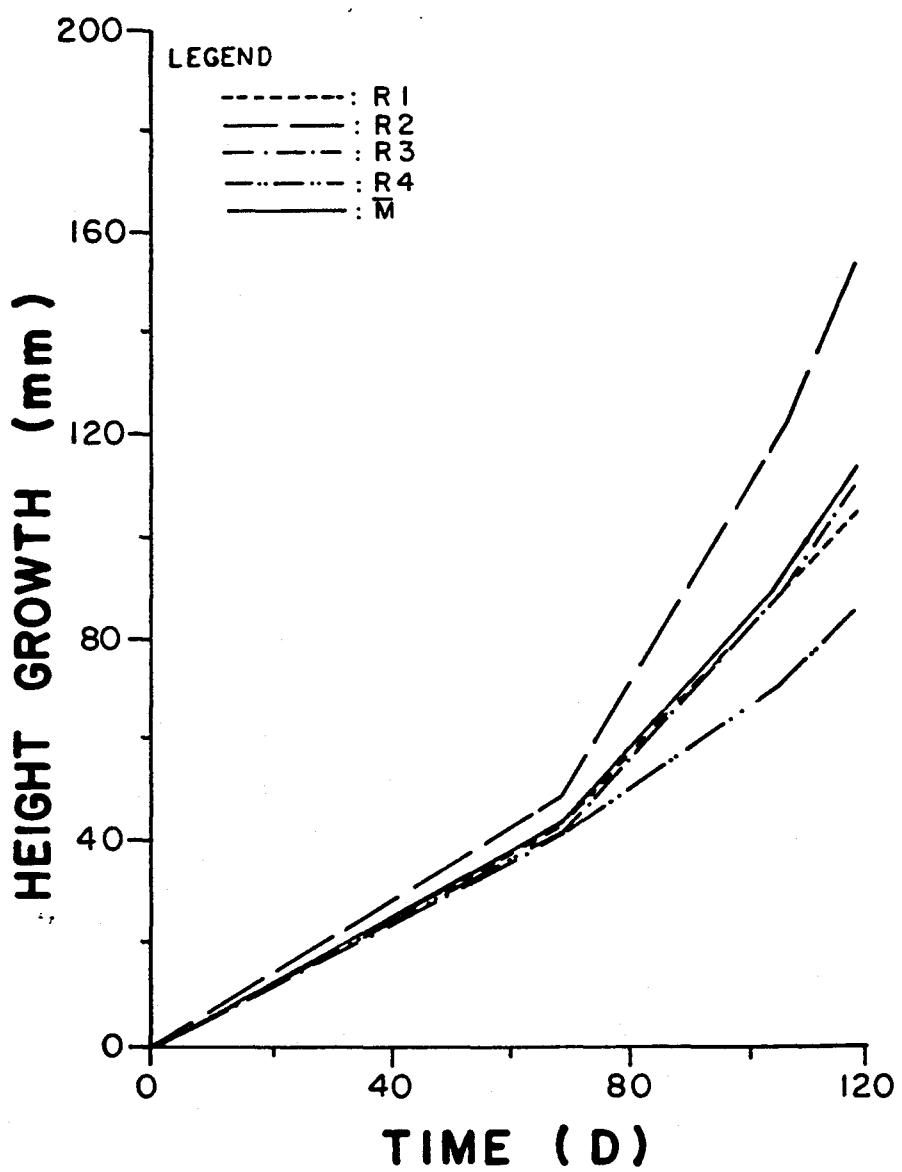


Figure 6: Changes in height growth over time by repeating treatment 12.

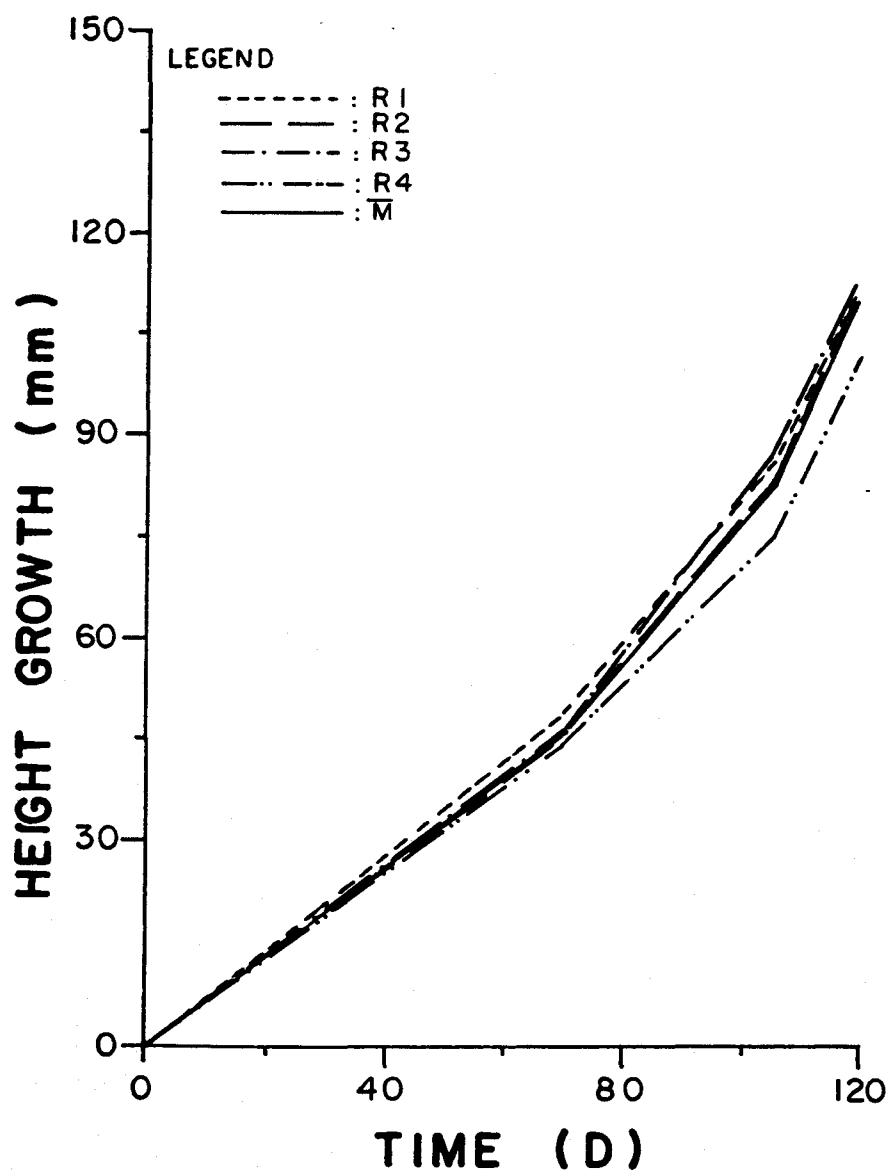


Figure 7: Changes in height growth over time by repeating treatment 13.

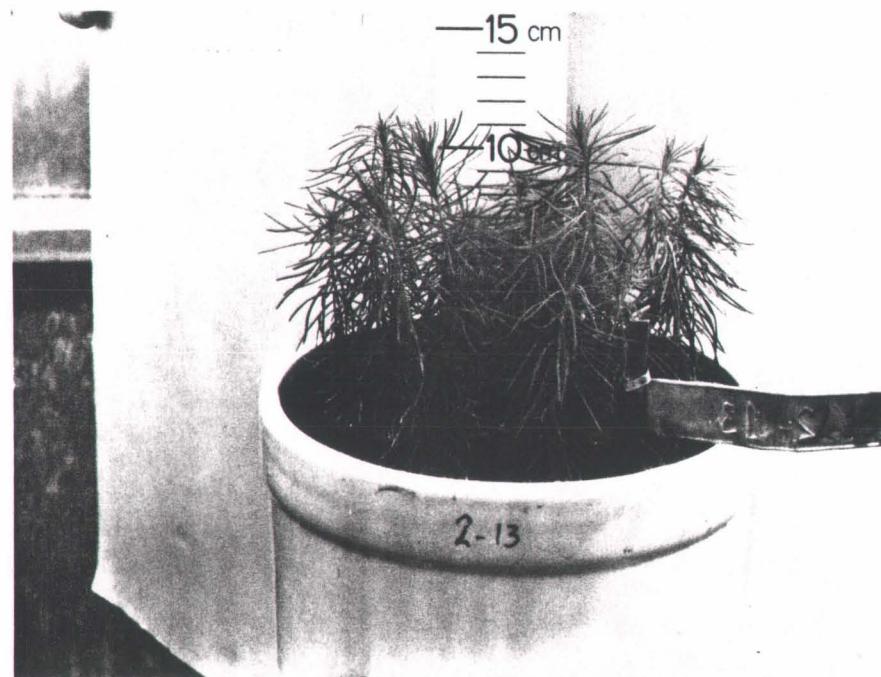


Figure 8: Second repetition of treatment 13 after 119 days of growth.

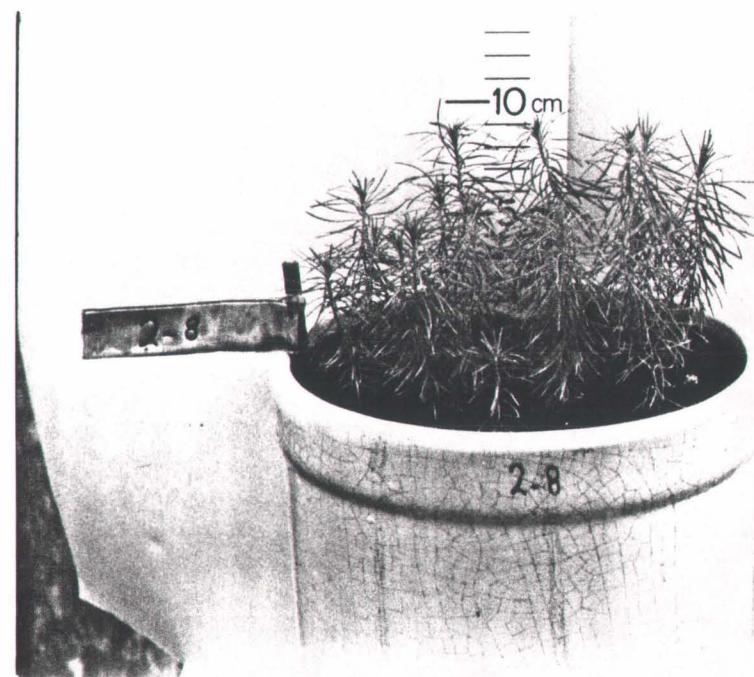


Figure 9: Second repetition of treatment 8 after 119 days of growth.

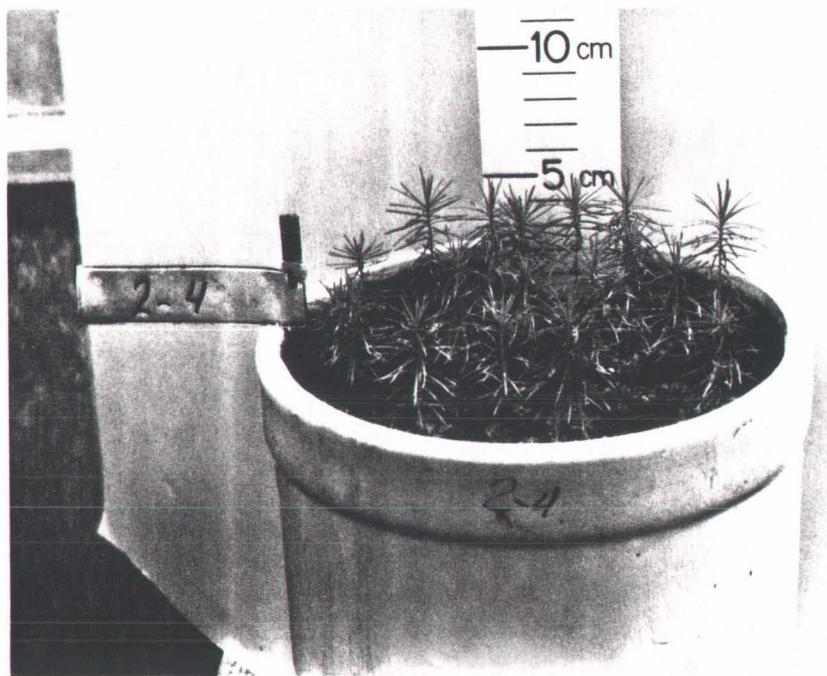


Figure 10: Second repetition of treatment 4 after 119 days of growth.



Figure 11: Second repetition of treatment 1 after 119 days of growth.

Treatments resulting in less mass involved only one application of sludge. However, total nitrogen, combined with the number of applications, seemed to have an effect. For example, a rate of 125 kg N/ha was better than rates of 50 kg N/ha and 25 kg N/ha. Also, for the rate of 125 kg N/ha, five applications of 25 kg N/ha each (treatment 8: Fig 9) produced more biomass than a single application of 125 kg N/ha (treatments 4 (Fig 10) and 20).

Treatments that received 9 and 17 applications involved the largest amount of sludge overall and gave the best results, except in treatments 11 and 12, for which the opposite was the case (Figs 12, 13, 14 and 15 consecutively).

#### CONCLUSION

We conclude that sludge is a good forestry fertilizer for improving a substrata for growing tamarack. Although the experiment was conducted in a greenhouse, it is likely that similar results would be obtained in the field.

It is difficult to determine the ideal quantity and number of applications. We may conclude from the experimental results that, for a given total amount applied, biomass production is greater with repeated applications than with a single massive application (treatment 9 is better than treatment 7 and 8 is better than 4). However, the costs of several applications are higher. In addition, for a given number of applications, larger amounts of sludge produce better results (treatment 15 is better than 14, which is better than 13).

The results also indicate that more applications of a small amount give better results than fewer applications of larger quantities (treatment 14 is better

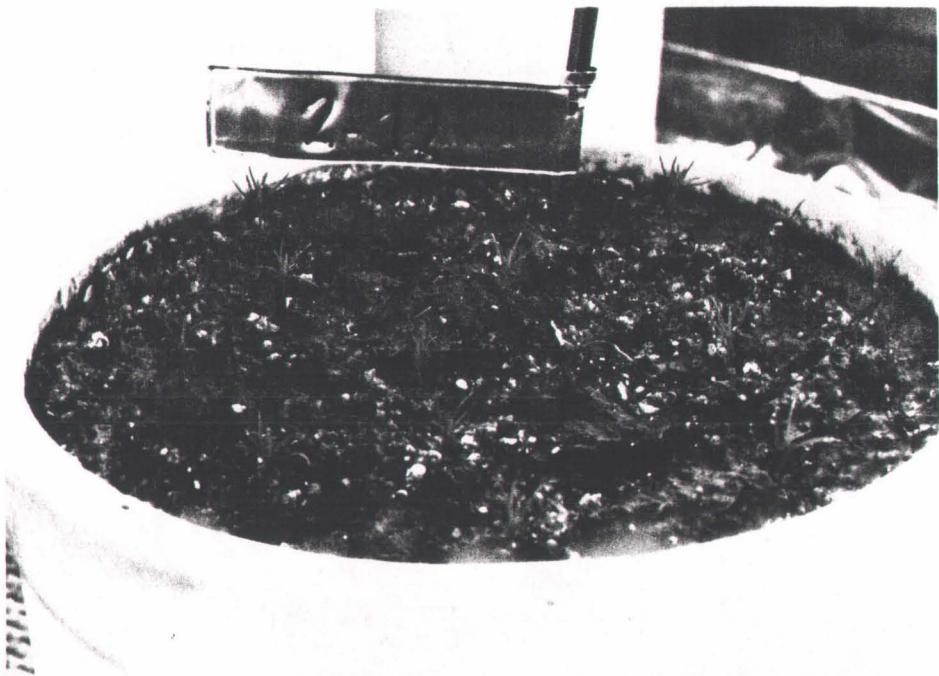


Figure 12: Second repetition of treatment 12 after 25 days of growth.

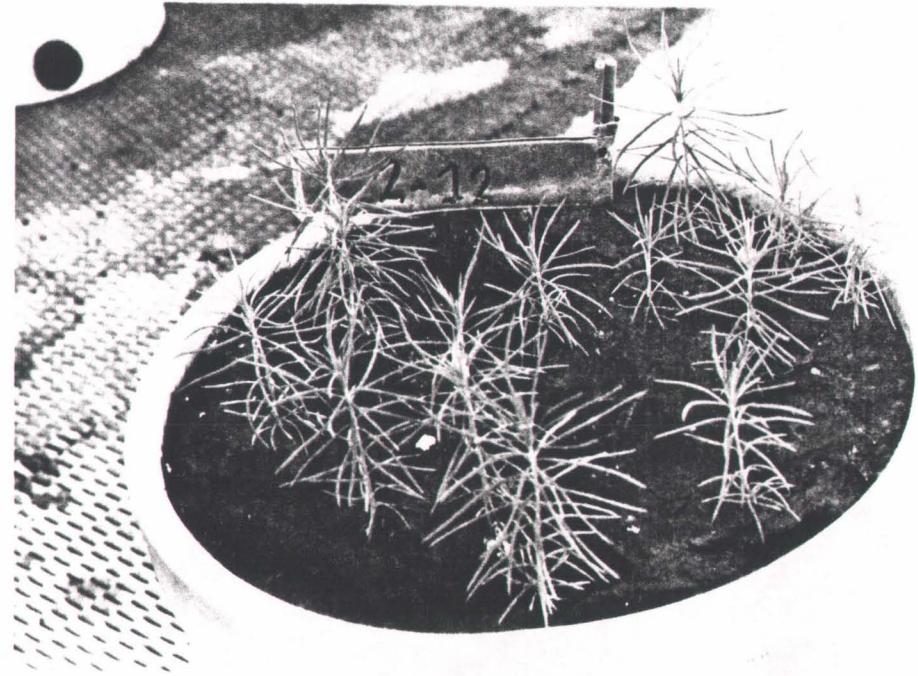


Figure 13: Second repetition of treatment 12 after 69 days of growth.

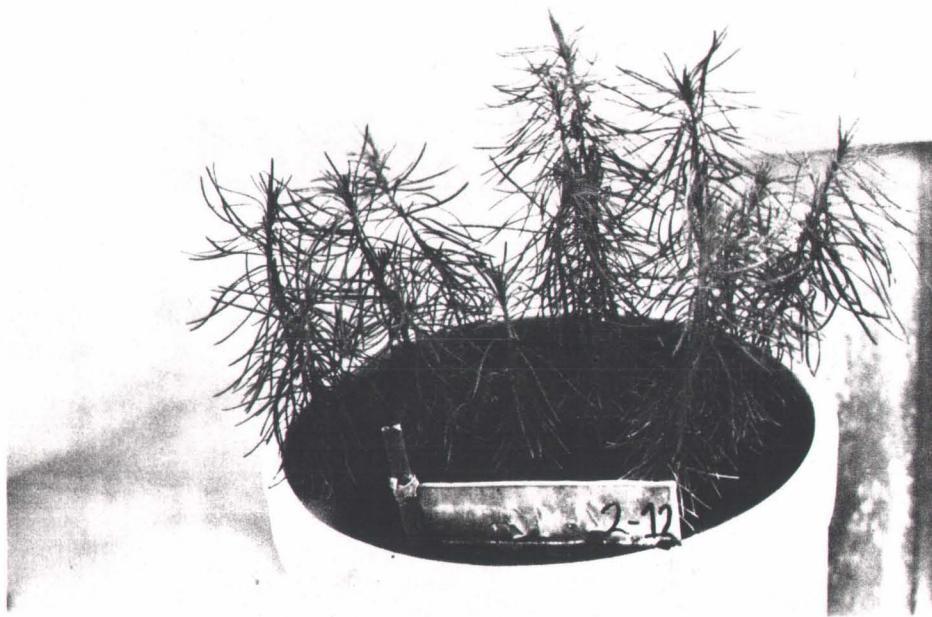


Figure 14: Second repetition of treatment 12 after 105 days of growth.

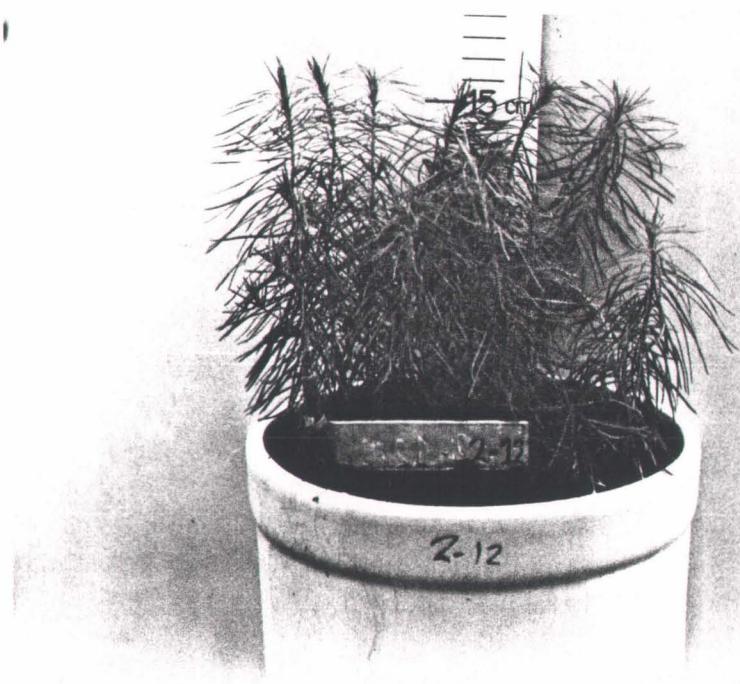


Figure 15: Second repetition of treatment 12 after 119 days of growth.



Figure 16: All the pots at the end of the experiment.

than treatment 12). Treatment 13 is an exception because its rate of 6.25 kg N/ha per week never produced the best results.

It would be interesting to study the behavior of a treatment involving one massive application of 425 or 450 kg N/ha in order to compare it with treatments receiving this quantity cumulatively. Finally, we cannot say whether burying the sludge is preferable to surface fertilization because differences in the results were not great enough.

This experiment, done in greenhouse conditions, indicates that more biomass is produced when sludge is used as fertilizer. Since sludge must be disposed of somewhere, it is logical that we should try to recycle it.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

The author wishes to thank Y. Grenier for the initial research for this article. Also, this study was made possible through funds from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (grant A-3711), the Ministère de l'Éducation of the Province of Québec (grants FCAR 87-AS-2462 et FCAR 89-EQ-3029), the Programme de développements académiques du réseau de l'Université du Québec and the Research Service (Lands and Forests) of the Québec Department of Energy and Ressources.

#### BIBLIOGRAPHY

- [1] D. COUILLARD, Use of Red Mud, a Residue of Alumina Production by the Bayer Process, in Water Treatment, The Science of the Total Environment, 25, pp. 181-191, 1982.

- [2] D. COUILLARD, Déphosphatation ( $\text{PO}_4$ ) des Eaux à l'aide de Déchets provenant des Industries de la Réduction de l'Aluminium. Eau du Québec, 16:1, pp. 34-38, 1983.
- [3] D. COUILLARD et R.D. TYAGI, Traitement du Phosphore ( $\text{PO}_4$ ) des Eaux Usées à l'aide des Résidus de l'Extraction Alcaline de la Bauxite. Tribune du Cebedeau, 507:39, pp. 3-14, 1986.
- [4] D. COUILLARD, The Man-habitat System and Multi-use Projects: Description and Representation. Journal Environmental Systems, 11:2, pp. 175-186, 1982.
- [5] D. COUILLARD, Quality of life: the Importance of Man-Environment Relations and a Tentative Conceptual Model. Journal Environmental Systems. 12:2, pp. 163-185, 1983.
- [6] D. COUILLARD, M. CROWLEY and J.L. SASSEVILLE, Technological Public Choice in Practice: the Case of Wastewater Treatment Facilities, Journal Environmental Management, 22:2, pp. 133-146, 1985.
- [7] M. CROWLEY, J.L. SASSEVILLE et D. COUILLARD, L'Importance accordée à l'Évaluation Technologique dans l'Assainissement des Eaux Municipales au Québec. Revue Internationale des Sciences de l'Eau, 2:2, pp. 49-57, 1986.

- [8] ENVIRONNEMENT CANADA, L'Épandage des Eaux Usées Traitées et des Boues d'Épuration d'Origine Urbaine. Service de la Protection de l'Environnement, guide SPE 6-EP-84-1, 190 pages, 1985.
- [9] EPA, Sludge Treatment and Disposal. Process design manual. EPA-625/1-79-011, 952 pages, 1979.
- [10] Y. GRENIER, La Valorisation des Boues d'Usine d'Épuration des Eaux en Fertilisation Forestière. INRS-Eau, Université du Québec, Master thesis, 290 pages, 1985.
- [11] M.S. McMINTOSH, J.E. FOSS, D.C. WOLF, K.R. BRANDT and R. DARMODY, Effect of Composted Municipal Sewage Sludge on Growth and Elemental Composition of White Pine and Hybrid Polar. Journal Environmental Quality, 13, pp. 60-62, 1984.
- [12] EPA, Land Application of Municipal Sludge. Process design manual. EPA-625/1-83-016, 466 pages, 1983.
- [13] J.G.A. FISKELL, F.G. MARTIN, W.L. PRITCHETT and M. MAFTOUN, Effects of Cadmium Levels and Sludges on Loblolly Pine Seedlings. Soils and Crop Science Society of Florida Proceedings. Vol. 41, Soil and Science Dept. University of Florida, Gainesville, pp. 163-168, 1982.
- [14] H. RIEKERK, How Much Sewage Nitrogen on Forest Soils? A Case History. BioCycle, 23:1, pp. 53-56, 1982.

- [15] F. Le TACON, J. GARBAYE et A. CLEMENT, Possibilité d'Utilisation des Boues Résiduaires de Stations d'Épuration Urbaines en Sylviculture: Effet sur les Sols et les Eaux de Drainage. Proceedings of the First European Symposium on the Treatment and Use of Sewage Sludge, Cadarache 13-15 february 1979. Edited by D. Alexandre and H. Ott, pp. 291-308, 1979.
- [16] B. POMMEL, La Valorisation Agricole des Déchets: 2) Les Boues Résiduaires Urbaines. Ministère de l'Agriculture. Institut National de la Recherche Agronomique (INRA). Station d'agronomie de Bordeaux, 70 pages, 1970.
- [17] R.C. SIDLE and L.T. KARDOS, Transport of heavy metals in a sludge-treated forested area. Journal Environmental Quality, 6, pp. 431-437, 1977.
- [18] D. COUILLARD et Y. GRENIER, Alternative à la Gestion des Boues Résiduaires Municipales: Recyclage en Sylviculture. Sciences et Techniques de l'Eau, 20:3, pp. 215-220, 1987.
- [19] S.G. ARCHIE and M. SMITH, Survival and Growth of Plantations in Sludge-Treated Soils and Older Forest Growth Study. In Municipal Sludge Application to Pacific Northwest Forest Lands. Edited by C.S. Bledsoe, University of Washington, College of forest resources, pp. 105-113, 1981.
- [20] E.G. CARRINGTON, The contribution of sewage sludges to the dissemination of pathogenic microorganisms in the environment. Water Research Centre Technical Report TR 71, Stevenage, England, 1978.

- [21] ANONYME, Sludge disposal by landspreading techniques. Edited by S. Torry, Noyes Data Corporation, Park Ridge, New York, 1979.
- [22] WHO SCIENTIFIC GROUP, Human viruses in water, wastewater and soil. World Health Organization, Technical Report Series 639, Geneva, Switzerland, 1979.
- [23] J.M. ROBINSON, Sludge application to land-health implications. In: Sludge disposal on land-its future in British Columbia (Canada). A technology transfer seminar held April 16, 1980, Vancouver, British Columbia, Canada, 1980.
- [24] OMOE, Yersinia enterocolitica in recreational lakes and sewage systems. Laboratory Services Branch, Ontario Ministry of the Environment, Toronto, Ontario, 1980.
- [25] ENVIRONMENT CANADA, Toxics screening studies at municipal sewage treatment plants 1979-1981. Environmental Protection Services Summary Report, Prepared december 1982 by Municipal Division, Abatement and Compliance Branch, Water Pollution Control Directorate, Ottawa, Canada, 1983.

Direct reprint requests to:  
Professor Denis Couillard  
Université du Québec, INRS-Eau  
2700, rue Einstein - C.P. 7500  
Sainte-Foy (Québec)  
G1V 4C7  
Canada

COMPARISON OF CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL PROCESSES TO REMOVE  
HEAVY METALS FROM ANAEROBICALLY DIGESTED SLUDGE ;

R.D. Tyagi and D. Couillard

Institut National de la Recherche Scientifique (INRS-Eau)  
Université du Québec  
INRS-Eau  
2700, rue Einstein - C.P. 7500  
Sainte-Foy (Québec) CANADA  
G1V 4C7  
Tél.: (418) 654-2617

ABSTRACT

The removal of heavy metals from anaerobically digested sludge was studied by the chemical treatment and microbial leaching processes. The removal of the metals was found to be dependent upon sludge solid concentration and pH. In the microbial processes mixed culture gave 10% better solubilization of metals than in single culture. The cost of sludge treatment in terms of chemicals was found to be lower in the microbial process than in the chemical process.

KEYWORDS

Heavy metals, microbial leaching, digested sludge, metal removal, metal solubilization, metal sulphide, Thiobacillus ferrooxidans, Thiobacillus thiooxidans, municipal sludge, sewage sludge.

INTRODUCTION

The heavy metal content of the sewage sludge is one of the detrimental factors in the final disposal of municipal sludge. The heavy metal content of sewage sludge is about 0.5 to 2% on a dry weight basis (Wong and Henry, 1984). The potential health hazard associated with metal loaded sludges is the metals uptake by aquatic life and plants and subsequent accumulation of metals in the food chain via plant and animals. The reduction of heavy metals in sewage sludge can be achieved either by source control of discharge to sewer systems or by removing metals from sludge. In source control, the major difficulty is identification of the sources. Moreover, even with complete elimination of toxic metals from all industrial discharges to sewers, the problem remains because of the metal content of domestic wastewaters. Several chemical methods for solubilization of heavy metals from sewage sludge have been suggested (Scott and Horlings, 1979; Bloomfield and Pruden, 1975; Oliver *et al.*, 1975; Cornwell *et al.*, 1980,

Hayes *et al.*, 1980; Wozniak and Huang, 1982; Jenkins *et al.*, 1981; McNulty *et al.*, 1977). In spite of good metal extraction achieved in the acid treatment method, the factors such as cost, operational difficulties, large acid requirements (0.5 to 0.89 g of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/g of dry weight of sludge) and large amount of lime required at the end of the treatment have made practical application of these methods unattractive.

The solubility of metals is governed primarily by pH but other factors are also important. These factors include the oxidation reduction potential (ORP) of the sludge, the concentration of metals and ligands (negative ions or uncharged molecules). Theis and Hayes (1978) observed that mere lowering of pH for anaerobic sludge did not result in a shift of metal sulphides to the soluble ions form unless acidification was preceeded by a rise in the sludge ORP. Therefore, the solubilization strategy requires optimum adjustment of pH and ORP of the sludge so that the chemical equilibria will be shifted in favour of dissolved metallic ion formation. The ORP of anaerobic sludge can be raised either by means of chemical oxidation or by biological oxidation. Chemical oxidation can be achieved with the aeration or by the addition of an oxidizing agent. With aeration, the rate of oxidation is very slow. High cost and change in characteristics of the sludge in terms of its fertilizer value and soil conditioner are the prohibitive factors with the use of chemical oxidizing agents.

The metal sulphides in digested sludge can be oxidized to soluble metal sulphates through microbial leaching which also raises the ORP. This technique is used to dissolve mineral sulphides to sulphates in mines.

#### BACTERIAL LEACHING MECHANISMS

The two microbial species associated with the bacterial leaching process are Thiobacillus thiooxidans and Thiobacillus ferrooxidans. Both the organisms are aerobic and grow under severe autotrophic conditions. Carbon requirements are fulfilled by CO<sub>2</sub> from the atmosphere and the energy required for the fixation of CO<sub>2</sub> is derived from the oxidation of sulphur and reduced sulphur compounds to sulphate through either one of two processes (see below) (Lundgren and Silver, 1980).

The T. ferrooxidans is morphologically similar to T. thiooxidans and both are found in heap and dump leaching in mines. The fundamental difference between the two species is generally recognized to be the inability of T. thiooxidans to oxidize ferrous iron and insoluble heavy metal sulphides.

The objective of the present investigation was to compare the microbial leaching process and acidification process to remove the heavy metals from anaerobically digested sludge.

#### MATERIALS AND METHODS

a) Acid Treatment Process: All anaerobically digested sludge samples were obtained from the anaerobic treatment unit of a wastewater plant in Valcartier (Québec, Canada). The metal concentration of the sludge samples varied depending on the sampling dates. Copper and lead were the metals of greatest importance as their concentrations were above that recommended for sludge application to the land. The composition of important metals in the sludge which was used in these experiments is shown in Table 1. Prior to acidification treatment, soluble metal concentrations within the liquid portion of the sludges were low ( $\leq 0.1 \text{ mg/l}$ ).

TABLE 1: METAL COMPOSITION IN THE SLUDGE AND THEIR RECOMMENDED LEVEL

METAL	COMPOSITION (mg/kg of dry sludge)	RECOMMENDED CONCN. IN SLUDGE (mg/kg of dry sludge) (Flynn et al., 1984)
Cd	10	10
Pb	465	300
Cu	2 300	600
Zn	640	1 750

To avoid excessive chemical transformations within the sludge samples because of prolonged storage, the experiments were initiated within the shortest possible time after obtaining the samples from the wastewater treatment plant.

For dilution of samples to the desired solids concentration, twice distilled deionized water was added as necessary. Thicker sludge samples than those obtained from the plant were prepared by centrifuging the sludge. The solids concentration in the sludge as obtained from wastewater treatment plant was  $14 \text{ to } 17 \text{ g.l}^{-1}$ . All materials coming in contact with the sludge were glass or plastic, thoroughly washed and rinsed with a 1:1 nitric acid-water mixture, followed by washings with twice distilled deionized water.

Analytical grade sulphuric acid was diluted with twice distilled deionized water to adjust its normality to 1N and was used to acidify the sludge samples throughout the experiments. The use of sulphuric acid is advantageous (compared to hydrochloric and nitric acids) because of its low cost and improved filterability of leach mixture (Scott and Horlings, 1979). Past research has also indicated that when compared under identical conditions of sludge, pH and time, the efficiencies of hydrochloric; nitric and sulphuric acids for solubilization of sludge heavy metals were very similar (Oliver and Carey, 1976; Scott and Horlings, 1979; Hayes *et al.*, 1980).

All metal solubilization tests were performed in 500 ml Erlenmeyer flasks with stirring provided by a Gallenkamp shaker at 250 rpm. The shaker speed was kept constant throughout the course of these studies. The acid treatment experiments were carried out at room temperature (22°C). Duplicate acidification trials were performed with 200 ml of sludge in each flask at different pH and solids concentrations. The content of each flask was adjusted to the desired level and pH was monitored during the experiments. Additional acid was added as necessary to maintain the pH of the sludge within 0.1 pH units of the desired value. Sludge samples were taken for heavy metal solubilization analysis immediately before and after acidification and at regular time intervals.

Samples were centrifuged to separate the solids and liquid. Solubilized metals were analysed in the liquid portion.

b) Microbiological process:

Microorganisms

The microorganisms, Thiobacillus ferrooxidans (ATCC 19859) and Thiobacillus thiooxidans (ATCC 19377) used in these studies were obtained from American Type of Culture Collection.

Medium

T. ferrooxidans cells were maintained in 9k medium (Lacy and Lawson, 1970) with 14.74% FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O as the energy source at pH 2.5. T. thiooxidans cells were also maintained in 9k medium with 5 g/l Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> in place of ferrous sulphate at pH 4.0 (Andrews and Maczuga, 1982). Both the organisms were grown at 24°C on a gyratory shaker at 125 rpm. The cells were transferred twice a week to 10 ml fresh medium and routinely gave a cell count in the range of 10<sup>5</sup> - 10<sup>6</sup>/ml. The culture was adapted to the anaerobically digested sludge medium.

c) Inoculum:

Inoculum was prepared by growing sludge adapted cells in 500 ml Erlenmeyer flasks containing 100 ml of the medium sludge at pH 3.0 and 28°C. The flasks were agitated at 250 rpm using a gyratory incubator shaker apparatus model 26, (New Brunswick Scientific). For the mixed culture experiment T. thiooxidans and T. ferrooxidans were grown separately in 500 ml flasks and were mixed in equal volumes before inoculation. This mixture of cells was then used to inoculate the bioreactor. A 10% volume of inoculum was used in all experiments.

d) Experimental:

Leaching experiments were carried out at room temperature (23 = 25°C) in 5 l laboratory reactors fitted with an air sparger made of sintered glass. The air was sparged at a rate of 0.5 volume/volume/minute. The initial pH was adjusted to 4.0 (with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). The contents of the bioreactor were well mixed with a mechanical agitator. A control run without T. thiooxidans and T. ferrooxidans was also carried out in order to compare the results. Ten ml samples were drawn each day in order to analyse the solubilized metals. Samples were also drawn immediately after acidifying the sludge to pH 4.0. Unsterile sludge with a concentration of 30 g.l<sup>-1</sup> (dry weight basis) was used.

e) Analytical

The samples were centrifuged at 10 000 rpm for 20 minutes and metals in the supernatant were determined by atomic absorption spectrophotometry according to Standard Methods for Examination of Water and Wastewaters (1980). Absorption calibration curves for each metal were determined using standardized metal solutions prepared following "Standard Methods" procedure. Metal solutions for analysis were diluted following the procedures outlined in "Standard Methods" and were performed in the linear range of the calibration curve.

The sulphur content of the sludge was estimated as per Standard Methods and sulphate concentration in the sludge was measured by turbidimetric method (Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, 1980).

## RESULTS AND DISCUSSION

a) Acid treatment process

Metal removal from the sludge solids was found to be dependent upon pH, solids concentration, specific types of metals and length of acidification time. Solubilization rates and ultimate removal efficiencies for all metals increased with time and decreasing pH and solids concentration.

The maximum removal rate of zinc was almost attained within the first three hours at pH 2.5 or lower. However, removal at the slow rate continued until the end of experiment. The time required for maximum removal increased to 20 hours at pH 3.5 and 30 hours at pH 4.0. These time durations may be considered optimal for the removal of zinc from sludge solids, for each of the respective pH values (Fig. 1).

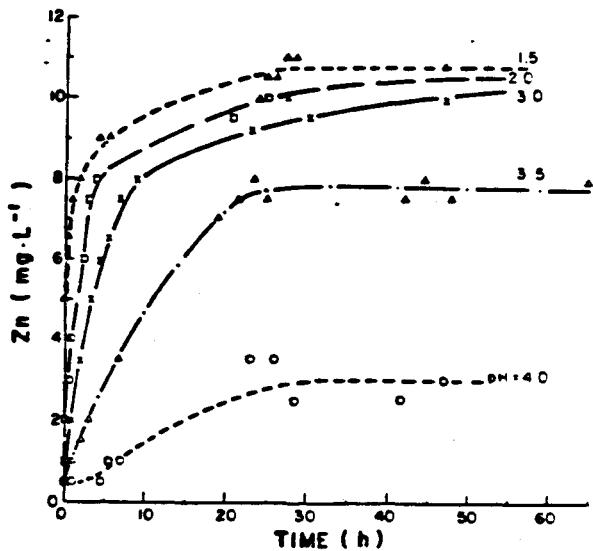


Fig. 1. Solubilization of zinc at different pH (sludge concn. = 21 g/l).

Solid concentration effects on lead removal were most evident of all metal solubilization investigated at pH 1.5 and 2.0 (Fig. 2). Maximum lead removal was 86% at pH 1.5 and solid concentration 0.5%. The maximum lead removal decreased with increased solids concentration and pH.

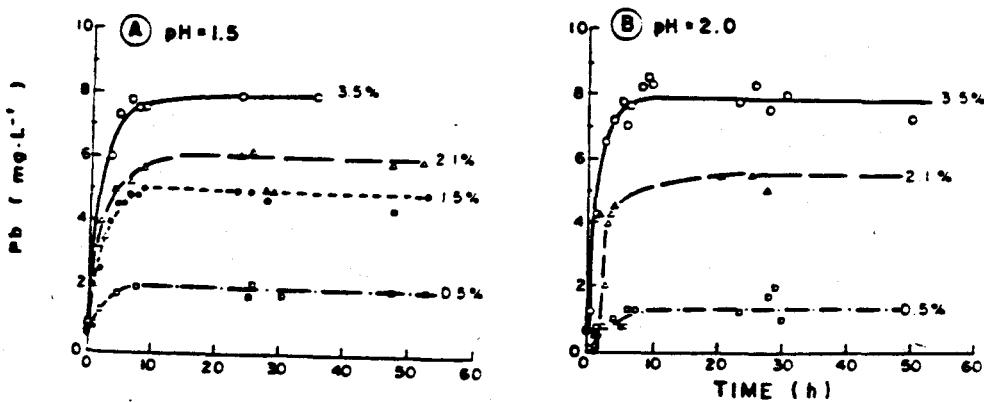


Fig. 2. Solubilization of lead from anaerobically digested sludge.

The pattern of copper solubilization with respect to time was somewhat different from the pattern of lead and zinc. Copper was not solubilized until 2 hours after acid addition at pH 1.5 (Fig. 3). As the pH was increased the lag time for copper solubilization was increased. At pH 3.0, copper in solution was not observed until 10 hours. At pH 3.5 the copper concentration in solution was less than 1 mg/l until 50 hours (not shown in the Fig. 1). Similar results have been reported by Wozniak and Huang (1982) on secondary activated sludge. They found that Cr, Ni, Zn were removed in large amounts immediately after acid addition. But initial removal of Cd, Cu and Pb usually represented less than 10% of the maximum value under given conditions of pH and solids concentration. The effects of solids concentration on metal solubilization were also more pronounced for copper than for zinc and lead. These observations reflect the nature of the form of copper in the sludge. Low solubility of copper in the sludge may be due to an organic complex. The strong affinity of copper for the organics of sludge was demonstrated by Cheng *et al.* (1973). The strong complexing power of Cu relative to other metals has been demonstrated using amino diacetic acid, a chemical structure similar to the complexing sites of waste proteinaceous matter in the sludge.

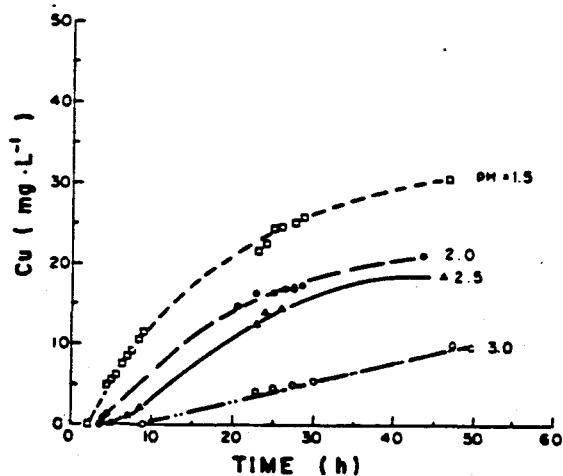


Fig. 3. Solubilization of copper at different pH. (sludge concn. = 21 g/l)

The variation of maximum solubilization of different metals as a function of pH is illustrated in Fig. 4.

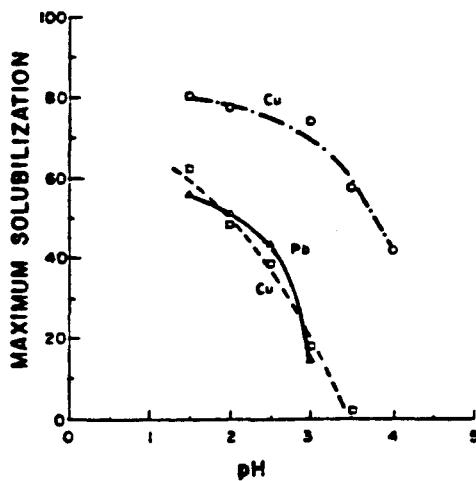


Fig. 4. Variation of maximum solubilization at different pH.

#### Microbiological Process

The results of pH variation during batch experiments are shown in Fig. 5. Initially pH tends to become constant and then decreases gradually. The initial sulphur content of the sludge was found to be 19.8 g/kg of sludge on dry weight basis.

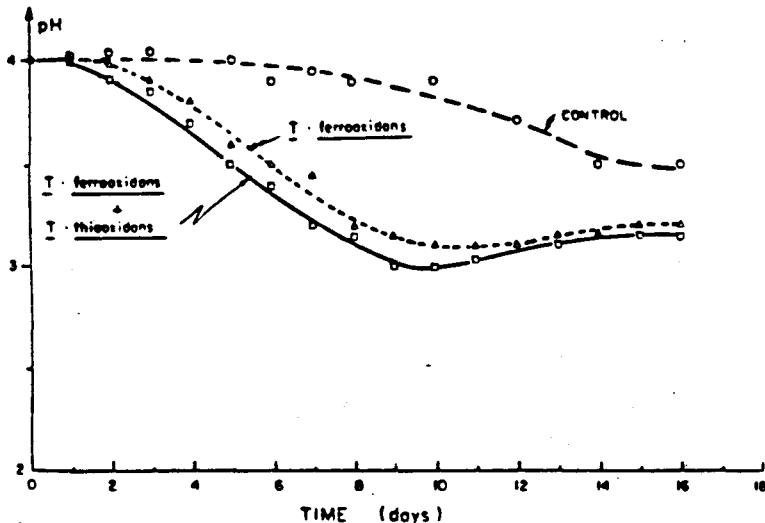


Fig. 5. Variation of pH during bacterial leaching in batch culture.

The variation of sulphate concentration during batch experiments is shown in Fig. 6. There was a net increase in sulphate concentration during microbial leaching and the final level of sulphate concentration was dependent on the pH at the end of each

run. The decrease in pH, therefore can be attributed to the oxidation of sulphides to sulphates and thereby generation of acid.

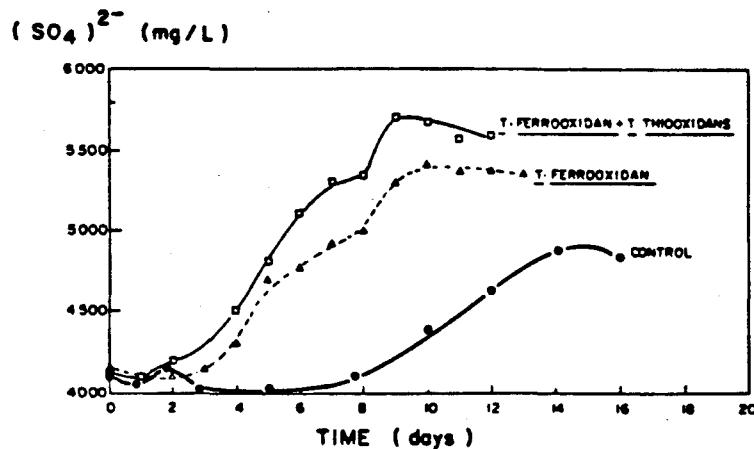


Fig. 6. Change of sulphate concentration during microbial leaching of sludge.

A slight increase in initial pH was observed in the control run. The pH fell much faster in the reactor inoculated with T. ferrooxidans than in the control run because the mineral sulphides were oxidized more rapidly in the presence of these bacteria. The rate of pH fall was further increased when the mixed culture of T. ferrooxidans and T. thiooxidans was used. The final pH dropped to a level of 3.0, 3.1 and 3.5 in the mixed culture, T. ferrooxidans culture and control run respectively. The time required to achieve this in three cases was observed to be 9, 10 and 15 days respectively.

The percent solubilization of copper during microbial leaching is shown in Figure 7. No metal solubilization was observed during pH adjustment of the sludge. It took about 9 days before measurable copper concentration was detected in soluble form. The increase in metal solubilization was followed with the decrease in pH of the culture medium. The maximum solubilization occurred between the 10<sup>th</sup> and the 12<sup>th</sup> day of the batch culture. Similar observations were obtained with respect to each of the metals tested. The rate of metal removal was minimum in the control run and maximum in the mixed culture experiment. The yield of metal solubilization was about 10% higher in the mixed culture as compared to that of single culture of T. ferrooxidans.

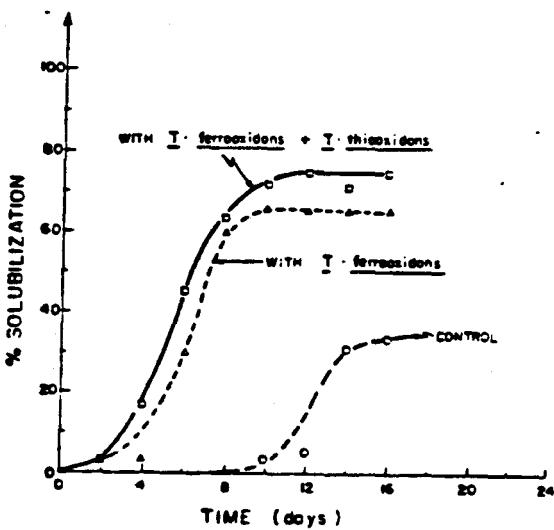


Fig. 7. Solubilization of copper from anaerobically digested sludge.

The metal solubilization was also tested at different concentrations of sludge solids using *T. ferrooxidans* alone (Fig. 8). The metal solubilization was found to decrease with solids concentration irrespective of the metal. Solids concentration affects bacterial leaching in several ways. Mass transfer and dispersion limitation may reduce the activity of leaching bacteria. Sludge solids concentration may also hinder the transfer and dispersion of leaching bacteria and their substrates (ferrous iron and reduced inorganic sulphur) and hence may hinder the bacterial growth. Metals may also become more readily adsorbed or complexed by the solids particles at increased solids concentration.

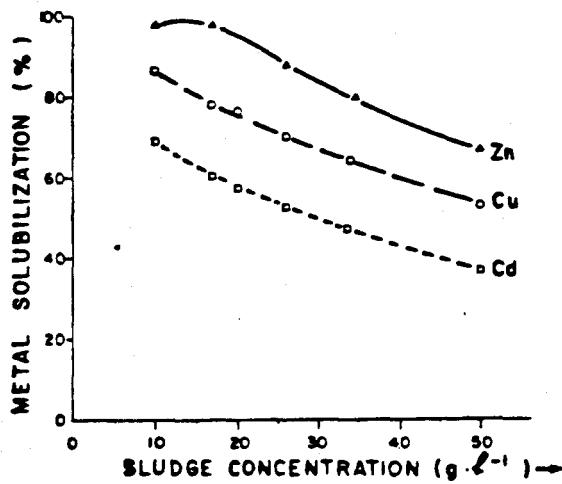


Fig. 8. Variation of metal solubilization with sludge concentration.

The acid requirements depend upon the pH and the solids concentration. The amount of acid required per unit weight of sludge solids treated (acidification efficiency) is presented in Figure 9. This amount has been calculated from the total quantity of a quantity of acid added until the pH was constant.

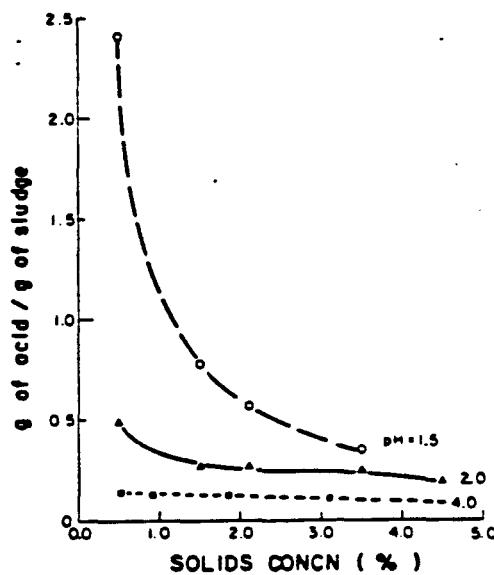


Fig. 9. Acid requirement per unit weight of sludge.

For a given pH, Figure 9, indicates that the amount of acid required generally decreased with the sludge solids concentration. The decrease in acid requirement was much larger at pH 1.5 when the solids concentration was increased from 0.5% to 3.5%. The increase was much less at pH 2.0 in the similar range of solids concentration. The comparison of acid requirement observed by various workers is presented in Table 2. The metals were recovered from the leachate by the addition of lime. The lime dosage to precipitate 95% of metals was found to be 1.3 gm of lime per litre of leachate or 0.0736 gm of lime per gm of dry sludge solids. The lime requirements are compared with different workers in Table 2.

A cost comparison of chemicals requirement in terms of acid and lime is also presented in Table 2. A cost figure of 52.7 \$ per metric ton sulphuric acid and 44.0 \$ per dry metric ton of lime was used. In terms of acid cost the microbial process is most economical followed by hot acid treatment process. However, hot-acid process is associated with the disadvantages like solubilization of nitrogen, phosphorus and organic content of the sludge to varying degrees.

TABLE 2: ACID REQUIREMENT PER UNIT WEIGHT OF SLUDGE OBSERVED BY VARIOUS WORKERS

TYPE OF SLUDGE/ PROCESS	ACID REQUIREMENTS Equivalent of H <sup>+</sup> per gm of dry sludge)	LIME REQUIREMENT gm of lime per gm of dry sludge)	ACID COST (\$ per dry metric ton)	LIME COST \$ per metric ton)	TOTAL CHEMICAL (\$/ton)	REFERENCES
Primary sludge (acid treatment process)	0.0102	--	25.88	--	--	Jenkins et al. (1981)
Primary digested sludge	0.01435	0.5	37.08	64.1	81.18	Jenkins et al. (1981)
Digested sludge (microbial leaching)	0.0034	0.0736	8.55	6.5 - 7.5	15.0	This work
Digested sludge (acid treatment)	0.0122	31.42	--	--	--	This work
Primary and waste activated sludge (hot acid process)	14.7	--	--	--	--	Salotto (1982)

## CONCLUSIONS

Efficiency of metal removal depends upon pH, sludge solids concentration and length of acidification time. Metals can be removed by microbial leaching. Mixed culture gave better solubilization. The efficiency of metal solubilization was found in the order of: Zn > Cu > Pb > Cd. The copper was reduced to recommended level in 10 to 12 days. The cost of sludge treatment in terms of chemicals was found to be lowered by 80% in microbial leaching.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This research was made possible through grants from Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (grants A 3711 and A 4984), the Ministère de l'Education of the Province of Québec (grand FCAR 87-AS-2462) and the Programmes de développements académiques du réseau de l'Université du Québec (Québec).

REFERENCES

- Andrews, G.F. and J. Maczuga (1982). Biotechnol. Bioeng., 12, 337-348.
- Bloomfield, C. and G. Pruden (1975). Environmental Pollut., 8, 217-232.
- Cheng, M.H., J.W. Patterson and R.A. Minear (1973). Investigation of heavy metals sludges complexation constants by cation exchange. Proc. Am. Chem. Soc. Cong., Chicago, Ill., Environ. Chem. Div., 13(2), 14-24.
- Cornwell, D.A., G.P. Westermoff and G.C. Cline (1980). Batch feasibility testing of heavy metals removal from wastewater sludge with liquid ion exchange. Proc. Mid Atlantic Waste Conf. 12TM Bucknell Univ., Lewisburg, P.A., July 13-15, pp 111-119.
- Flynn, F., J.M. Jalbert, J. Robert, A. St-Yves, A. Terrault and G. Trudel (1984). Rapport sur la qualité des boues des stations d'épuration et autres boues. Gouvernement du Québec, Ministère de l'Environnement, Août.
- Hayes, T.D., W.J. Jewell and R.M. Kabrick (1980). Heavy metals removal from sludges using combined biological/chemical treatment. Proc. 34th Ind. Waste Conf., Purdue Univ., West Lafayette, Indiana, 529-543.
- Jenkins, R.L., J.S. Benjamin, L.S. Marvin, B. Rodger, M.P. Lo and R.T. Huang (1981). J. Water Pollut. Control Fed., 53(1), 25-32.
- Lacy, D.T. and F. Lawson (1970). Biotechnol. Bioeng., 22, 29-50.
- Lundgren, D.G. and M. Silver (1980). Ann. Rev. Microbiol., 34, 263.
- McNulty, K.J., A.T. Malarkey, R.L. Goldsmith and M.A. Fermont (1977). Development of a new process for sludge conditioning. National Conf. on Composting of Municipal Residue and Sludge, Rockville, Md., August 23-25.
- Oliver, J.W., W.C. Kreye and P.M. King (1975). J. Water Pollut. Control Fed., 47, 2490-2497.
- Oliver, B.G. and J.H. Carey (1976). Water Res., 10, 1077-1081.
- Salotto, B.V. (1982). Environment Protection Agency. EPA-GO-52-82-014.
- Scott, D.S. and H. Horlings (1979). Environmental Sci. and Technol. 9(9), 849-855.
- Standard Methods for Examination of Water and Wastewater (1980). 15th Ed., Am. Public Health Assoc., Washington, D.C.
- Theis, T.L. and T.D. Hayes (1978). Chemistry of Waste Water Technology. A.J. Rubins (Ed.). Ann Arbor Science Publishers Inc. Ann Arbor, MI, 403-419.
- Torma, A.E. (1986). Biotechnol. Bioeng. Symp., 16, 49-63.
- Wang, L. and J.G. Henry (1984). Biological Removal and Chemical Recovery of Metals from Sludges. Proc. 39th Ind. Waste Conf., Purdue Univ., West Lafayette, Indiana, pp. 515-520.
- Wozniak, D.J. and J.Y.C. Huang (1982). J. Water Pollut. Control Fed. 54, 1574-1580.

## ÉTUDE DE QUELQUES INDICES DE CROISSANCE DU *LARIX LARICINA* FERTILISÉ PAR DES BOUES ANAEROBIES

Denis Couillard

Institut National de la Recherche Scientifique, INRS-Eau (Université du Québec), 2700, rue Einstein, C.P. 7500, Sainte-Foy, Québec, Canada, G1V 4C7

(Received 23 July 1987; in final form 23 December 1987)

### RÉSUMÉ

Une revue de littérature permet de constater que les boues de station d'épuration des eaux pourraient avantageusement être employées comme fertilisant forestier. En effet, leur utilisation augmente les quantités de matière ligneuse produite, au même titre que le font les engrains chimiques. En plus, les effets adverses ne sont pas importants. En seconde partie, des semis de mélèze laricin (*Larix laricina*) en serres ont crû sur du sable. Ils ont été fertilisés avec différentes doses et fréquences de boue digérée anaérobie. Cet essai est concluant et est en accord avec la théorie, soit une augmentation des rendements avec la fertilisation par les boues résiduaires.

**Mots-clés:** Aménagement forestier intensif, Boues résiduaires, Fertilisation forestière, Mélèze laricin, Recyclage.

### ABSTRACT

The litterature review concludes that wastewater sludge can be used with efficiency in forest fertilization. Their utilization gives better yields, in the same manner as do chemical fertilizers. Also, negative effects are negligible. In the second part, larches (*Larix laricina*) were grown on sand in greenhouse. They were fertilized with different quantities and frequencies of anaerobic sludge. That experience is positive, and agrees with theory, that better yields are obtained using wastewater sludges as fertilizers.

**Title:** Growth indices of *Larix laricina* fertilized with anaerobic sludge.

**Key words:** Forest fertilization, Intensive forest management, Larch, Recycling, Wastewater sludge.

## PROBLÉMATIQUE DES BOUES D'ÉPURATION

### Production estimée dans l'avenir immédiat

Les stations qui traitent les eaux usées permettent le rejet, dans le milieu, d'une eau de qualité acceptable, mais produisent un résidu appelé boue résiduaire, ou boue. La quantité de boue produite dépend des traitements qu'on fait subir aux eaux usées et de la population qui est desservie par la station d'épuration. En général, les auteurs s'accordent à dire que la production quotidienne est d'environ 1000 kg de boue sèche par 10 000 habitants [1-4]. Il faut cependant noter que ce n'est pas toute la population qui est reliée à un système de collecte des eaux usées.

Ainsi, la production de boues était estimée à 550 000 tonnes ( $5,5 \times 10^8$  kg) par année en France en 1979 [5], à  $5,4 \times 10^6$  tonnes ( $5,4 \times 10^9$  kg) par année dans la Communauté Economique Européenne en 1982 [6], à  $1,3 \times 10^6$  tonnes ( $1,3 \times 10^9$  kg) par année en Italie et au Royaume-Uni en 1981 et à  $1,7 \times 10^6$  tonnes ( $1,7 \times 10^9$  kg) par année en Allemagne en 1981 [7]. Aux Etats-Unis, la production de boue était estimée à  $4,5 \times 10^6$  tonnes ( $4,5 \times 10^9$  kg) en 1983; elle devrait être de  $6 \times 10^6$  tonnes ( $6 \times 10^9$  kg) en 1985 et de  $9 \times 10^6$  tonnes ( $9 \times 10^9$  kg) en 1990 [6-8]. Au Canada, 58% des eaux usées municipales étaient traitées en 1984, mais seulement 10% au Québec [9]. Avec le programme d'assainissement des eaux du Gouvernement du Québec [10, 11], il est prévu que les traitements toucheront 85% de la population vers la fin du siècle. La production devrait donc être près de 200 000 tonnes ( $2 \times 10^8$  kg) de boues sèches annuellement.

### Solutions envisagées pour leur élimination

L'élimination et le traitement des boues résiduaires accaparent jusqu'à 50% des coûts de fonctionnement d'une station d'épuration des eaux [7] et représentent l'un des plus grands problèmes auquel les ingénieurs sanitaires doivent faire face aujourd'hui [12].

Globalement, peu de solutions peuvent être qualifiées de finales pour l'élimination des boues d'épuration. Au Royaume-Uni, 67% des boues produites sont déposées sur les terres (2/3 en valorisation agricole et 1/3 en revalorisation de sites et en remplissage), 29% sont déversées en mer et 4% incinérées [7]. Ces trois solutions sont à peu près les seules utilisées pour disposer des boues résiduaires [13]. Le déversement en mer et la mise en décharge sont à la fois un déplacement des problèmes de pollution et une perte de matériel potentiellement réutilisable ou recyclable. Tant qu'à l'incinération, les coûts du combustible nécessaire pour brûler les boues remettent ce mode de disposition en question.

Ainsi, puisqu'il en coûte si cher pour détruire les boues, on a songé à les valoriser car l'épandage pour le recyclage est en général plus économique que l'élimination [1, 14]. Le recyclage des boues est favorisé aux Etats-Unis; en 1979, 31% des boues produites dans ce pays étaient épandues sur les sols [15]. Cette quantité était de 44% au Royaume-Uni [6]. La valorisation agricole des boues est également retenue au Québec comme avenue privilégiée pour leur gestion [9].

Les préoccupations pour la conservation de l'énergie ont changé la philosophie de la disposition des boues résiduaires en une d'utilisation [16]. L'application des boues sur les sols apparaît donc comme l'une des options les plus écologiques et économiquement rentables [4]. Les boues doivent être considérées comme une matière première qui peut être utilisée. En s'en servant comme fertilisant forestier, deux objectifs sont atteints: soit l'utilisation d'un produit actuellement vu comme

indésirable et la production de plus de matière ligneuse. De plus, le tout s'inscrit bien dans le nouveau courant de pensée qui dirige notre société vers le recyclage et la récupération [17-19].

#### Composition moyenne des boues

La quantité d'éléments nutritifs ou de métaux qui se retrouvent dans les boues varie d'une station d'épuration à l'autre et varie même à l'intérieur d'une même station dans le temps. Le tableau 1 présente, à titre d'exemple, trois analyses de la boue digérée en anaérobiose de l'usine de Valcartier (les valeurs du 25 septembre 1984 étant celles de la boue utilisée pour l'expérience décrite dans la section: MATÉRIEL ET MÉTHODES) et deux analyses de la boue anaérobiose de la station d'épuration de la C.R.O. (Communauté Régionale de l'Outaouais), [20].

On constate d'abord des différences dans la composition des boues entre les usines. Par exemple, on retrouve 9 000 mg/l de matière totale dans l'analyse du 25 septembre 1984 pour la station de Valcartier contre 39 400 mg/l pour l'analyse du 25 octobre 1983 à l'usine de la C.R.O. et 4,2% contre 7,7% respectivement pour l'azote total. On retrouve également des variations importantes dans le temps pour des analyses à une même station. Par exemple, pour Valcartier, la valeur du cuivre passe de 203 mg/kg pour l'analyse du 18 octobre 1983 à 2 900 mg/kg pour celle du 25 septembre 1984. De telles variations se retrouvent aussi pour la station de la C.R.O. Pour le potassium, il passe de 1 865 mg/kg pour l'analyse du 25 octobre 1983 à 6 407 pour celle du 15 novembre 1983. Devant cette grande variabilité, il pourrait être nécessaire de faire une analyse de chaque boue avant de l'utiliser comme amendement au sol ou engrais.

Le tableau 2 présente une analyse comparative des boues du Québec avec celles des États-Unis. Les données du Québec sont une moyenne de 23 à 25 stations d'épuration. En général, on constate que les boues du Québec sont moins riches en métaux (incluant les toxiques) que celles des États-Unis, sauf pour le manganèse (Mn) où on retrouve 701 mg/kg pour le Québec contre 380 mg/kg pour les États-Unis. On constate aussi que les boues du Québec contiennent 5,1% d'azote, 2,0% de phosphore et 0,2% de potassium. Ces valeurs et l'absence d'une trop forte contamination par les métaux constituent leur valeur fertilisante. Il serait donc possible et avantageux de les utiliser comme engrais forestier.

L'avantage principal de la valorisation sylvicole sur la valorisation agricole est que la matière ligneuse produite ne fait pas partie de la chaîne alimentaire humaine. Les risques associés à la transmission de pathogènes ou d'agents toxiques (métaux et composés synthétiques) sont donc écartés, ce qui n'est pas le cas si les boues sont utilisées pour produire des biens destinés directement ou indirectement à l'alimentation humaine [2, 22, 23]. Le problème de la gestion des boues résiduaires et les besoins de plus de matière ligneuse près des centres de transformation et de consommation se font sentir actuellement. Donc, étant animé par le désir de réaliser le maximum de recyclage, il paraît naturel de vérifier si les objectifs de la gestion des boues résiduaires et de l'augmentation des rendements des forêts sont conciliables. L'objectif de cette étude était de vérifier de quelle façon le mélèze laricin (Larix laricina Du Roi K. Koch) réagit à la fertilisation par les boues résiduaires lorsqu'il croît sur du sable pur.

#### **AUGMENTATION DES RENDEMENTS DUS À LA FERTILISATION**

À l'opposé des cultures agronomiques, la fertilisation de forêts naturelles ou artificielles n'est pas essentielle en soi pour leur croissance. Généralement, les surfaces boisées ne sont pas fertilisées [24]. Cependant, la production de matière ligneuse est augmentée quand cette activité est pratiquée [25, 26]. Les engrais

Tableau 1: Cinq analyses de boues anaérobies de 2 usines à différents temps.

Table 1 : Five analysis of anaerobic sludges at different time from two plants.

USINE		VALCARTIER			C.R.O.		
Paramètre	Date	83-08-17	83-10-18	84-09-25	83-10-25	83-11-15	Unités
Matière totale	29 952	18 800	9 000	39 040	10 550	mg/L	
Matière totale volatile	20 519	14 702	3 100	19 967	4 592	mg/L	
Matière dissoute	952	1 000	855	1 140	1 110	mg/L	
Matière dissoute volatile	519	502	230	467	472	mg/L	
pH	7,3	5,5	7,7	7,5	7,5	---	
NTK (Azote total)	39 997	37 160	42 000	38 573	77 035	mg/kg	N
N-NH <sub>4</sub> (Azote ammoniacal)	24 142	8 087	770	17 585	68 535	mg/kg	N
N-NO <sub>3</sub> +NO <sub>2</sub> (Nitrates+Nitrites)	32,7	27,1	≤ 0,5	43,1	22,6	mg/kg	N
Phosphore total inorganique	---	---	---	3 662	---	mg/kg	P
Phosphore total	6 191	5 515	10 500	13 837	3 136	mg/kg	P
Aluminium	9 682	7 196	13 000	41 744	35 791	mg/kg	Al
Arsenic	1,25	3,59	≤ 5	17,5	4,47	mg/kg	As
Baryum	339	341	600	456	506	mg/kg	Ba
Bore (1)	115,2	57,9	20	51,1	54,2	mg/kg	B
Cadmium (2)	9,7	9,5	≤ 10	9,7	8,9	mg/kg	Cd
Mercure	7,3	2,7	7,7	2,7	3,0	mg/kg	Hg
Molybdène	13,6	9,5	≤ 20	27,2	22,4	mg/kg	Mo
Nickel	22,3	10,4	20	19,4	22,4	mg/kg	Ni
Plomb	465	312	680	243	242	mg/kg	Pb
Potassium	1 771	1 624	880	2 788	7 648	mg/kg	K
Sodium	1 740	2 307	1 500	1 865	6 407	mg/kg	Na
Calcium	22 035	16 056	33 000	34 652	43 302	mg/kg	Ca
Chrome	72,6	48,3	80	97,1	80,5	mg/kg	Cr
Cuivre	2 327	203	2 900	427	409	mg/kg	Cu
Fer	9 138	5 200	15 000	14 716	14 828	mg/kg	Fe
Magnésium	1 950	1 363	2 500	4 319	7 318	mg/kg	Mg
Maganèse	277	75,4	200	417	626	mg/kg	Mn
Zinc	639	492	950	476	488	mg/kg	Zn
Sélénium	0,58	1,8	≤ 5	2,3	1,8	mg/kg	Se

- 1) Limite de détection de 45 mg/kg sur la fraction solide. Comme tous les résultats obtenus dans la fraction solide sont inférieurs à la limite de détection, les concentrations réelles sont donc comprises entre la valeur inscrite au tableau et cette valeur moins 45 mg/kg.
- 2) Tous les résultats inférieurs à 10 mg/kg de matière en suspension ou inférieure à environ 7,5 mg/kg de matière sèche totale

(Tiré de: Gouvernement du Québec [20] sauf pour l'analyse du 25 septembre 1984 de Valcartier, exécutée spécialement pour notre étude par le laboratoire du MENVIQ).

Tableau 2: Analyse comparative des boues d'épuration du Québec [20, 21] avec celles des États-Unis (EPA) [22].

Table 2 : Comparison of wastewater sludges composition in Québec [20, 21] and in the U.S.A. [22].

Lieu Élément	Québec	États-Unis	Unités
C org. total	31,5	31,0	%
N total	5,1	3,9	%
$\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ - N	6 055	6 540	mg/kg
P total	1 565	490	mg/kg
K	2,0	2,5	%
Na	0,2	0,4	%
Ca	0,4	0,6	%
Mg	2,0	4,9	%
Ba	0,45	0,54	%
Fe	0,04	0,06	%
Al	1,8	1,3	%
Pb	1,1	1,2	%
Zn	180	1 360	mg/kg
Cu	526	2 790	mg/kg
Ni	551	1 210	mg/kg
Cd	36	320	mg/kg
Cr	$\leq 10$	110	mg/kg
Mn	53	2 620	mg/kg
B	701	380	mg/kg
As	$\leq 125$	77	mg/kg
Mo	5	43	mg/kg
Hg	12	28	mg/kg
	2	733	mg/kg

accélèrent la croissance chez la plupart des espèces forestières [27, 28]. Ainsi, la fertilisation pourrait être un outil adéquat lorsqu'on désire retirer plus de ressources du milieu sans devoir agrandir le territoire d'exploitation, ou encore pour la production de biomasse en courtes rotations, ce qui exige des engrais [29, 30]. De plus, l'intensité croissante des récoltes, en arbres entiers par exemple, signifie nécessairement un plus grand enlèvement des éléments nutritifs du site [31, 32].

Les forêts croissant sur les sols les plus pauvres sont les plus susceptibles de réagir positivement à la fertilisation [33]. Le facteur important à considérer est l'écart qui existe entre le capital en éléments nutritifs présents et assimilables dans le sol et ce qui est ajouté artificiellement en engrais chimiques ou organiques.

#### Augmentation des rendements avec des engrais chimiques

De nombreuses expériences de fertilisation forestière ont été tentées de par le monde et les résultats sont positifs: une production (mètres cubes à l'hectare) plus élevée est obtenue sur les parcelles fertilisées que sur celles qui ne le sont pas. L'azote a été identifié comme l'élément nutritif le plus souvent déficient [28]. Donc, c'est surtout avec des engrais riches en azote que les expériences ont été menées: par exemple de l'urée ou du nitrate d'ammonium [34].

Gagnon [35] rapporte que des sapinières ont été fertilisées à l'urée à des doses de 112, 224 et 336 kg N/ha et que la dose de 224 kg N/ha donne les meilleurs résultats dans ces peuplements. À cette dose, il observe des augmentations de l'accroissement annuel moyen en diamètre allant jusqu'à 3,7% après 4 ans; cette augmentation pourrait atteindre 10% après 10 ans si le rythme se maintenait. Cette augmentation de diamètre de 10% représente une augmentation de volume de bois de près de 30%. Il rapporte aussi que l'effet de l'urée se répercute sur plusieurs années et que l'optimum n'a pas nécessairement été atteint.

Roberge et al. [33] donnent suite à cette étude et rapportent des résultats après 10 ans. Les parcelles fertilisées avec 112 kg N/ha ont donné un volume économiquement exploitable supérieur de 21 m<sup>3</sup>/ha par rapport aux parcelles témoins, tandis que pour les doses de 224 kg N/ha et 336 kg N/ha, ces volumes sont respectivement supérieurs de 19 et 26 m<sup>3</sup>/ha. Le gain de croissance attribuable à la fertilisation azotée représente 25% pour le traitement de 112 kg N/ha, 23% pour celui de 224 kg N/ha et 26% pour celui de 336 kg N/ha. Ce dernier pourcentage de croissance se rapproche assez bien de la valeur de 30% prédicta par Gagnon [35]. Selon ces auteurs, la quantité optimale d'azote à ajouter à ces sapinières pour avoir une augmentation maximale, en volume économiquement exploitable, serait inférieure à 224 kg N/ha.

Veilleux et Sheedy [36] rapportent des résultats positifs sur la fertilisation de sapinières en Gaspésie. Ainsi, avec une dose de 112 kg N/ha sous forme d'urée, ils obtiennent des augmentations moyennes de surface terrière de 0,8 m<sup>2</sup>/ha et 5,8 m<sup>3</sup>/ha pour le volume total après 5 ans. Ces valeurs passent à 1,2 m<sup>2</sup>/ha et 8,7 m<sup>3</sup>/ha respectivement quand la dose d'azote est portée à 224 kg N/ha incluant un ajout de 112 kg K/ha sous forme de KCl. Des valeurs intermédiaires de 1,0 m<sup>2</sup>/ha et 7,4 m<sup>3</sup>/ha sont rapportées avec des doses de 224 kg N/ha sous forme d'urée. Sheedy [37] rapporte des résultats semblables pour des stations de pins gris (*Pinus divaricata* (Ait.) Dumont) fertilisées avec 150 kg N/ha sous forme d'urée. Après 5 ans, la hauteur des arbres fertilisés était supérieure de 21% sur celle des témoins et le diamètre moyen était supérieur de 30%.

Ces quelques expériences permettent de constater l'effet positif des engrais minéraux sur les augmentations en hauteur et diamètre qui se traduisent par des augmentations en volume de matière ligneuse. La fertilisation chimique est donc un traitement

sylvicole qui permet de récupérer plus de bois par hectare par rapport à une forêt qui se développe naturellement.

#### Augmentation des rendements avec des boues résiduaires

Il ne se fait pas beaucoup de travaux à grande échelle aux États-Unis [22] et relativement peu de recherches ont été faites sur l'application de boues résiduaires dans les forêts [24]. Cependant, les quelques expériences dont les résultats sont disponibles sont encourageantes.

En Caroline du Sud, Berry et Marx [38] ont épandu des boues digérées anaérobies dans une ancienne carrière où les horizons de surface avaient été enlevés. La quantité de boue appliquée était de l'ordre de 34 000 kg/ha (base sèche). Son contenu en azote était d'environ 2%, de 1% pour le phosphore et de 0,5% pour le potassium. Des pins "loblolly" (*Pinus taeda* L. et *P. elliotti* Engelm.) avaient été plantés sur ce site. Après 3 ans, les arbres fertilisés avaient une hauteur supérieure de 250% sur les arbres témoins et cette augmentation était de 240% pour le diamètre au collet. Pour le volume des semis, les arbres fertilisés étaient 24 fois plus gros que les arbres témoins.

En Floride, Fiskell et al. [39] ont fertilisé des pins "loblolly" (*Pinus taeda* L.) croissant sur des sols sableux acides avec des boues digérées anaérobies provenant de Gainesville (Floride) et Chicago (Illinois). Utilisant la boue de Chicago, qui contenait 5% d'azote et 2,2% de phosphore, la croissance en hauteur a été supérieure de 192% avec la dose de 4 t/ha (4 000 kg/ha), de 250% avec la dose de 8 t/ha (8 000 kg/ha) et de 185% pour la dose de 16 t/ha (16 000 kg/ha) comparativement aux arbres témoins après 10 mois de croissance. Pour la boue de Gainesville, qui contenait 2,6% d'azote et 2,1% de phosphore, la croissance en hauteur a été supérieure de 130% pour la dose de 4 t/ha (4 000 kg/ha), de 141% pour la dose de 8 t/ha (8 000 kg/ha) et de 220% pour la dose de 16 t/ha (16 000 kg/ha) après 10 mois de croissance.

Au Michigan, Brockway [40] a fertilisé une plantation de pins blancs (*Pinus strobus* L.) avec des boues digérées anaérobies. La boue contenait 6% d'azote, 7% de phosphore et 0,15% de potassium. Pour la dose de 4,8 t/ha (4 800 kg/ha), le diamètre à hauteur de poitrine était de 11% supérieur à celui du témoin après 2 mois de croissance et 20% supérieur après 14 mois. Pour la dose de 19,3 t/ha (19 300 kg/ha), le diamètre était, après 2 mois, supérieur de 39% par rapport à celui du témoin et cette différence est portée à 47% après 14 mois de croissance.

Au Maryland, McIntosh et al. [41] ont fertilisé des peupliers hybrides (*Populus deltoides* spp. et *P. angulata* x *P. trichocarpa*) avec des boues compostées contenant 1,36% d'azote, 2,6% de phosphore et 0,18% de potassium. Après 3 ans, la hauteur des arbres était supérieure de 207% par rapport aux témoins pour la dose de 300 t/ha (300 000 kg/ha) et de 190% pour la dose de 150 t/ha (150 000 kg/ha).

Au Québec, Gagnon [27, 42] a appliqué 560 kg/ha de boue digérée anaérobies (base sèche) dans une plantation d'épinette blanche (*Picea glauca* (Moench) Voss.) de 10 ans établie sur un sol sablonneux de faible fertilité. Le contenu en azote de cette boue était d'environ 1,5%. La croissance en hauteur des arbres fertilisés a dépassé celle des témoins de 7% après 1 an, de 13% après 2 ans, de 20% après 3 ans, de 30% après 4 ans et de 38% après 6 ans.

#### MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'expérimentation a porté sur la fertilisation de mélèze laricin (*Larix laricina* Du Roi K. Koch) avec différentes doses et fréquences de boues secondaires anaérobies

provenant de l'usine de Valcartier, Québec, Canada. Les semis, qui avaient été partis de la graine, ont crû sur du sable (dont la composition chimique est donnée au tableau 3) pendant 17 semaines (119 jours). L'expérimentation s'est déroulée en chambre climatisée. La culture recevait 16 heures d'éclairement par jour et un dispositif d'arrosage par gicleurs fonctionnant quelques minutes par jour a été maintenu tout au long de l'essai.

Les quantités de boues appliquées variaient de 605 kg/ha à 10 890 kg/ha (base sèche), ce qui correspondait à 25 kg N/ha (1 application de 25 kg N/ha) et 450 kg N/ha (9 applications de 50 kg N/ha). Un résumé de ces traitements est présenté dans le tableau 4. Les applications de boue liquide (9 000 mg/L) ont été faites en surface, sauf pour les traitements 19 et 20 où la boue a été enfouie dans les 10 premiers cm de sable. La plus grande partie de l'azote contenu dans la boue (4,2% des solides totaux) était sous forme organique. Elle contenait aussi 1,05% de phosphore et 0,08% de potassium (base sèche). De plus, le dispositif expérimental comprenait un traitement témoin qui n'a reçu aucune fertilisation, mais qui a évolué dans les mêmes conditions que les traitements fertilisés.

Les mesures des hauteurs ont été prises avec une règle graduée en millimètres et celles des diamètres avec un microdendromètre d'une précision de 0,01 mm. Pour déterminer les masses, les racines ont été séparées des tiges et ces parties ont été regroupées par traitement et par répétition. Elles ont été séchées au four et pesées séparément. Le résultat a ensuite été divisé par le nombre de plants constituant le lot.

#### RÉSULTATS ET DISCUSSION

Le tableau 4 présente les mesures des hauteurs, des diamètres et de la biomasse à la fin de l'expérience.

##### Croissance en hauteur

Pour l'analyse de la variance, le test de F est très significatif entre les traitements et non significatif entre les répétitions. Cependant, le test de Duncan ne révèle pas de différences significatives entre les traitements de boue.

Les traitements qui ont reçu des applications répétées de boue se classent les meilleurs. Par contre, la quantité de boue ne semble pas faire de différence, du moins pour les fortes doses. Les traitements 14 et 15 ont reçu chacun 17 applications de boue, le traitement 15 recevant 2 fois plus de boue que le traitement 14. Malgré cela, ils affichent des résultats égaux, soit 125 mm. Par contre, le traitement 13 a reçu 2 fois moins de boue que le traitement 14 et 4 fois moins que le traitement 15. N'ayant que 15 mm de moins en hauteur que les traitements 14 et 15, une si légère différence ne justifie peut-être pas d'appliquer le double ou le quadruple de boue.

Les traitements 3 et 19 peuvent être comparés entre eux. Ils ont reçu chacun une dose de 50 kg N/ha et présentent les mêmes hauteurs. Puisque le traitement 3 a reçu sa boue en surface, tandis que celle du traitement 19 fut enfouie, on peut conclure que cette dernière opération est superflue. La même conclusion s'applique pour les traitements 4 et 20 qui ont reçu chacun 125 kg N/ha dans les mêmes conditions que les traitements 3 et 19. Par contre, le traitement 20 est meilleur que le traitement 19 et le 4 est meilleur que le 3.

Pour les traitements qui ont eu une seule application, les résultats sont en général proportionnels à la dose de boue, sauf pour le traitement 2 qui affiche un meilleur résultat que les traitements 3 et 19. Pour les traitements qui ont eu 2 ou 5

Tableau 3: Moyenne des analyses chimiques du sable et du sol de pépinière utilisés dans l'expérience (en  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ).<sup>1</sup>

ÉLÉMENT	SABLE	ÉLÉMENT	SABLE
N-org <sup>+</sup>	traces	Cu-tot.	traces
N-NH <sub>4</sub> <sup>-</sup>	1,7	Cu-éch.	traces
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> <sup>2</sup>	0,4	Fe-tot.	16 224
P-tot. <sup>2</sup>	998	Fe-éch.	73
P-éch.	411	Mn-tot.	267
K-tot.	393	Mn-éch.	9,3
K-éch.	13	Zn-tot.	38
Mg-tot.	1 123	Zn-éch.	0,9
Mg-éch.	6	Al-tot.	2639
Ca-tot.	4 248	Al-éch.	354
Ca-éch.	449	C-org.	0,05
		pH	7,21

<sup>1</sup> Sauf en % pour le C org. et les unités de pH.

<sup>2</sup> Respectivement total et échangeable.

applications, les résultats sont proportionnels à la dose totale. Pour les traitements qui ont eu 9 applications, la plus petite dose a mieux réussi qu'une grande. Pour les traitements qui ont eu 17 applications, la dose ne semble d'importance.

Ainsi, pour la croissance en hauteur, les meilleurs résultats ont été obtenu plus grand nombre d'applications de boues, sans égard à la dose. D'un autre pour les applications moins fréquentes, les meilleures croissances sont proportionnelles à la dose totale. Cette croissance en hauteur est particulièrement importante, parce que plus les arbres grandiront vite et plus ils pourront compétitionner avec les mauvaises herbes.

#### Croissance en diamètre

Pour l'analyse de la variance, le test de F est très significatif entre les traitements et non significatif entre les répétitions.

Le test de Duncan montre plus de différences significatives pour les diamètres pour les hauteurs finales. Les moyennes sont classées dans 5 groupes. Les traitements qui ont reçu de la boue 17 fois sont ceux qui présentent les meilleurs résultats, (sauf pour le traitement 13). Les traitements qui ont reçu de la

Tableau 4: Résultats des moyennes de croissance pour la hauteur, le diamètre et la biomasse à la fin de l'expérience (119 jours)

Table 4 : Mean growth results for height, diameter and biomass at the end of experiment (119 days)

Numéro de traitement Treatment number	Caractéristiques finales Final characteristics		Hauteur Height	Diamètre (mm)	Masse racinaire Root biomass (mg)	Masse des tiges Stem biomass (mg)
				(mm)		
1	Témoin	0	27,9 a <sup>2</sup>	0,58 a	6,5 a	17,6 a
2	Su, 1x 25 = 25 <sup>1</sup>	25 <sup>1</sup>	46,1 a	0,77 abc	13,4 abc	38,3 ab
3	Su, 1x 50 = 50	50	43,6 a	0,73 ab	9,8 ab	33,8 ab
4	Su, 1x125 = 125	125	58,9 ab	0,91 abc	13,8 abc	56,1 ab
5	Su, 2x 25 = 50	50	59,4 ab	0,85 abc	13,9 abc	53,5 ab
6	Su, 2x 50 = 100	100	63,2 ab	0,95 abc	12,2 ab	62,3 ab
7	Su, 2x125 = 250	250	82,5 abc	1,15 abcd	15,7 abcd	92,2 bcd
8	Su, 5x 25 = 125	125	80,9 abc	1,10 abcd	17,5 bcde	90,6 bcd
9	Su, 5x 50 = 250	250	112,0 abc	1,48 abcde	23,9 cdef	155,0 def
11	Su, 9x 25 = 225	225	122,5 abc	1,62 abcde	27,6 ef	190,6 f
12	Su, 9x 50 = 450	450	114,7 abc	1,60 abcde	24,8 def	176,2 f
13	Su, 17x 6,25 = 106	106	110,1 abc	1,43 abcde	26,1 def	149,3 cdef
14	Su, 17x 12,5 = 213	213	125,3 abc	1,66 bcde	31,4 f	200,4 f
15	Su, 17x 25 = 425	425	124,9 abc	1,80 cde	30,8 f	218,5 f
19	En, 1x 50 = 50	50	42,2 a	0,77 abc	10,5 ab	37,3 ab
20	En, 1x125 = 125	125	63,1 ab	1,07 abc	18,5 bcde	87,6 bc

1 = kg N/ha

<sup>2</sup>: Dans une même colonne, les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes à P = 0,05 (Test de Duncan)

In a column, means followed by the same letter are not significantly different at P = 0,05 (Duncan's test)

Su = boue appliquée en surface (sludge surface applied)

En = boue enfouie dans 10 cm de sable (sludge 10 cm buried)

fois ont des diamètres moyens plus gros que ceux qui ont reçu 5 applications. Les traitements qui ont reçu 1 ou 2 applications montrent peu de différences entre eux et sont plus petits que les traitements avec plusieurs applications.

Les traitements avec boue enfouie présentent des résultats légèrement meilleurs, à dose égale, que leurs équivalents fertilisés en surface.

### Biomasse

La biomasse est divisée en deux parties: il y a la biomasse souterraine, qui comprend les racines et la biomasse aérienne, qui comprend les tiges et les feuilles, regroupées sous le vocable "tige".

#### Biomasse des racines

Pour l'analyse de la variance, le test de F est très significatif entre les traitements et significatif entre les répétitions. Les moyennes des répétitions 2 et 3 sont plus élevées que celles des répétitions 1 et 4.

Il y a 6 groupes dans cette section du tableau 4. Ce sont les applications répétées qui affichent les meilleurs résultats, mais la dose appliquée à chaque fois pour des traitements ayant reçu le même nombre d'applications ne semble pas avoir d'importance. La même observation s'applique pour les traitements ayant reçu 1, 2 ou 5 applications.

#### Biomasse des tiges

La biomasse des tiges est une mesure qui est particulièrement intéressante car elle permet de constater plus complètement les résultats d'un essai. Non seulement intègre-t-elle la hauteur et le diamètre des tiges, mais c'est de plus la valeur qui est finalement recherchée lors de la production de fibres, puisqu'elle donne la matière totale produite.

Pour l'analyse de la variance, le test de F est très significatif entre les traitements et non significatif entre les répétitions.

On constate la présence de 6 groupes. Les traitements ayant les plus petites masses sont ceux qui ont reçu une seule application de boue. Par contre, la dose totale d'azote combinée au nombre d'applications semble avoir un effet. C'est ainsi que la dose de 125 kg N/ha est meilleure que les doses de 50 kg N/ha et 25 kg N/ha. De plus, à l'intérieur de la dose de 125 kg N/ha, 5 applications de 25 kg N/ha ont produit plus de biomasse qu'une seule application de 125 kg N/ha.

Parmi les traitements ayant reçu le plus d'applications (groupe f), ce sont ceux qui ont reçu plus de boue en tout qui présentent les meilleurs résultats, sauf pour les traitements 11 et 12 où c'est l'inverse.

Bref, à la fin de l'expérimentation, les semis ayant reçu les plus grandes quantités de boues présentaient les meilleurs résultats de croissance. C'est le traitement 15 (425 kg N/ha, soit 17 x 25 kg N/ha) qui a présenté les meilleures performances. Comparativement au traitement témoin, les résultats étaient supérieurs de 350% pour la hauteur, de 210% pour le diamètre, de 375% pour la masse racinaire et de 1 140% pour la masse des tiges. Même pour le traitement 2 (25 kg N/ha soit la plus petite quantité de boue appliquée), la croissance est meilleure que pour le traitement témoin. Le tableau 5 présente une comparaison des résultats obtenus avec ceux disponibles dans la littérature.

Tableau 5: Résumé de quelques rendements en hauteur et en diamètre pour des arbres fertilisés avec des boues

Table 5 : Summary of height and diameter results for some trees fertilized with sludge.

Espèce Species	Quantité de boue appliquée Quantity of applied sludge	Contenu en azote Nitrogen content	Quantité d'azote appliquée Nitrogen applied	Croissance supplémentaire observée		Durée de l'expérience Length of experiment	Références References
				Hauteur	Diamètre		
				Height	Diameter		
	kg/ha	%	kg/ha				
Picea glauca	560	1,5	8,4	7 20	— —	1 an 3 ans	27,42
Pinus taeda	34 000	2,0	680	250	240	3 ans	38
Pinus taeda	8 000 4 000	5,0 2,6	400 104	205 130	— —	10 mois 10 mois	39
Pinus strobus	4 800 19 300	6,0 6,0	288 1 158	— —	20 47	14 mois 14 mois	40
Peupliers hybrides	150 000	1,36	2 040	190	—	3 ans	41
Larix laricina	10 285 605	4,2 4,2	425 25	350 65	210 31	4 mois 4 mois	Cette étude This study

### CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

La boue utilisée dans cette expérience de 4 mois en serres a permis à des semis de mélèze laricin (*L. laricina*) de croître sur du sable.

Pour une même dose totale, la production de biomasse est plus grande avec des applications répétées comparativement à une application massive (le traitement 9 est meilleur que le traitement 7 et le 8 est meilleur que le 4). De plus, pour un même nombre d'applications, les doses plus grandes produisent de meilleurs résultats (le traitement 15 est meilleur que le 14, lui-même meilleur que le 13). Les résultats indiquent aussi qu'un plus grand nombre d'applications avec des petites doses à chaque fois est meilleur qu'un plus petit nombre d'applications avec des doses plus grandes (le traitement 14 est meilleur que le traitement 12). Le traitement 13 est une exception car cette dose de 6,25 kg N/ha par semaine ne produit jamais les meilleurs résultats, possiblement parce que la quantité d'éléments ajoutés n'était pas suffisante.

Bien que les résultats ont été obtenus en chambre de croissance, des applications sur le terrain pourraient être envisagées. Ainsi, des utilisateurs de boues pourraient être les pépinières forestières tant privées que d'état. Les boues résiduaires pourraient remplacer, en partie, les fertilisants chimiques et les amendements apportés à ces sols. Une autre alternative serait l'aménagement intensif de forêts naturelles ou artificielles près des usines de traitement des eaux usées. Connaissant la production des boues résiduaires, la surface de terrain requise pour l'absorber peut être déterminée en tenant compte des besoins des arbres en éléments nutritifs et des durées de rotation. L'implantation de forêts artificielles pourrait aussi se faire le long des autoroutes. Finalement, les activités de recherche devraient permettre d'identifier d'autres marchés pour les boues résiduaires. La gestion intégrée du territoire est l'avenue qui semble la plus prometteuse et le recyclage des boues d'usine d'épuration des eaux constitue un moyen d'y parvenir. Cette solution est la seule option qui ne fait pas que déplacer le problème de la pollution, mais le règle.

### REMERCIEMENTS

Le Conseil de recherche en sciences naturelles et en génie du Canada (subvention CRSNG A-3711), le service de la recherche du ministère de l'Énergie et des Ressources (Terres et Forêts) du Québec ainsi que le ministère de l'Environnement du Québec sont remerciés pour leur participation financière et technique.

### RÉFÉRENCES

1. ENVIRONNEMENT CANADA, L'épandage des eaux usées traitées et des boues d'épuration d'origine urbaine. Service de la protection de l'environnement, guide SPE 6-EP-84-1, 1985, 190 pages.
2. M.D. WEBBER, Épandage des boues résiduaires sur les sols: une évaluation. Agriculture Canada, direction générale de la recherche, 1984, 45 pages.
3. J.W. HORNBECK, M.T. KOTERBA and R.S. PIERCE, Sludge application to a northern hardwood forest in New-Hampshire potential for dual benefits? In: Utilisation of municipal sewage effluent and sludge on forest and disturbed land. Édité par W.E. Sopper et S.N. Kerr. Pennsylvania State University Press, 1979, 137-143.
4. B.R. SABEY and W.E. HART, Land application of sewage sludge: 1. Effect on growth and chemical composition of plants. J. Environmental Quality, 1975, 4: 252-256.

5. B. POMMEL, Comparaison de l'utilisation par le maïs du phosphore des boues résiduaires ou du phosphate monocalcique pour différents niveaux de zinc et de fer dans le substrat. *Annales Agronomie*, 1979, 30: 443-453.
6. D.L. LAKE, P.W.W. KIRK and J.N. LESTER, Fractionation, characterization and speciation of heavy metals in sewage sludge and sludge-amended soils: a review. *J. Environmental Quality*, 1984, 13: 175-183.
7. J.N. LESTER, R.M. STERRITT and P.W.W. KIRK, Significance and behaviour of heavy metals in waste water treatment processes: II, Sludge treatment and disposal. *The Science of the Total Environment*, 1983, 30: 45-83.
8. T.L. THEIS and L.E. PADGETT, Factors affecting the release of trace metals from municipal sludge ashes. *J. Water Pollution Control Federation*, 1983, 55: 1271-1279.
9. GOUVERNEMENT DU QUÉBEC, Bilan du programme de l'assainissement des eaux. Allocution du ministre de l'Environnement, M. Adrien Ouellette lors du colloque de l'Union des municipalités du Québec sur l'assainissement des eaux. Montréal, le 7 septembre 1984, 14 pages.
10. D. COUILLARD, M. CROWLEY and J.L. SASSEVILLE, Technological public choice in practice: the case of wastewater treatment facilities. *J. Environmental Management*, 1986, 22(2): 133-146.
11. M. CROWLEY, J.L. SASSEVILLE et D. COUILLARD, L'importance accordée à l'évaluation technologique dans l'assainissement des eaux usées municipales au Québec. *Revue Internationale des Sciences de l'Eau*, 1986, 2(2): 49-57.
12. N.L. HECHT, D.S. DUVALL and A.S. RASHIDI, Characterization and utilization of municipal and utility sludges and ashes. Vol. II: municipal sludges, rapport EPA-670/2-75-033b, 1975, 231 pages.
13. U. MÖLLER, German practice in land disposal of sludge including legislation and health aspects, *Water Sciences Technology*, 1983, 15: 115-183.
14. A. BALDWIN, T.A. BROWN, P.H.T. BECKETT and G.E.P. ELLIOTT, The forms of combination of Cu and Zn indigested sewage sludge, *Water Research*, 1983, 17(12): 1935-1944.
15. EPA, Sludge treatment and disposal. Process design manual. Center for Environmental Research Information, Cincinnati, EPA-625/1-79-011, 1979, 952 pages.
16. N.W. SCHMIDTKE, Trends in organic sludge utilization. In: *Waste treatment and utilization*. Édité par M. Moo Young and G.J. Farquhar. Proc. Univ. of Waterloo, Ontario, Pergamon Press, 1978, pp. 53-78.
17. Y. GRENIER, D. COUILLARD et J.M. VEILLEUX, Valorisation des boues d'usine d'épuration des eaux en fertilisation forestière, Communication présentée au 53<sup>e</sup> Congrès de l'ACFAS, volume 52-53, 1985, p. 128.
18. D. COUILLARD, Qualiy of life: the importance of man-environment relations and a tentative conceptual model. *J. Environmental Systems*, 1983, 12(2): 163-185.

19. D. COUILLARD, The man-habitat system and multi-use projects: description and representation. *J. Environmental Systems*, 1982, 11(2): 175-186.
20. GOUVERNEMENT DU QUÉBEC, Rapport sur la qualité des boues des stations d'épuration et autres boues, Ministère de l'Environnement du Québec, 1984, 74 pages.
21. A. ST-YVES, La valorisation agricole de résidus organiques: les boues de station d'épuration, comptes-rendus du colloque "Amendement des sols, perspectives d'avenir", Institut de Technologie Agro-alimentaire de St-Hyacinthe, 12 nov. 1986, pp. 85-109.
22. EPA, Land application of municipal sludge. Process design manual. Center for Environmental Research Information, Cincinnati, EPA-625/1-83-016, 1983, 466 pages.
23. Y. GRENIER, La valorisation des boues d'usine d'épuration des eaux en fertilisation forestière. INRS-Eau. Thèse de maîtrise, 1985, 290 pages.
24. R.W. CRITES, Land use of wastewater and sludge. *Environmental Sciences Technology*, 1984, 18(5): 140A à 147A.
25. D.W. COLE, Mineral cycling in forest ecosystems of the Pacific Northwest. In *Proc. Forest fertilization conference*. Édité par S.P. Gessel, R.M. Kenady and W.A. Atkinson. Univ. of Washington, 1981, pp. 29-36.
26. I.K. MORRISON, Mineral nutrition of conifers with special reference to nutrient status interpretation: a review of literature. Service Canadien des forêts, Centre de recherches forestières des Grands-Lacs. Publication no. 1343, 1974, 74 pages.
27. J.D. GAGNON, Results of fertilizer experiments in Quebec. Proc. of a workshop on forest fertilization in Canada. Sault-Sainte-Marie, Ontario. Édité par Environnement Canada, Service des forêts, 1974, pp. 83-91.
28. P.E. VÉZINA et M.R. ROBERGE, Comment aménager nos forêts. Les Presses de l'Université Laval, 1981, 273 pages.
29. T.J. BLAKE and W.E. RAITENEN, A summary of factors influencing coppicing. International Energy Agency, Programme of research, development and demonstration on forestry energy. National Swedish Board for Energy Source Development, Stockholm. Rapport no NE1981:22, 1981, 24 pages.
30. H.G. MILLER, Wood energy plantations: diagnosis of nutrient deficiencies and the prescription of fertilizer applications in biomass production. Édité par International Energy Agreement - Forestry Energy Agency. Rapport no.3, Programme Group "B", 1983, 20 pages.
31. J.W. HORNBECK and W. KROPELIN, Nutrient removal and leaching from a whole-tree harvest of northern hardwoods. *J. Environmental Quality*, 1982, 11: 309-316.
32. J.H. PATRICK and D.W. SMITH, Forest management and nutrient cycling in eastern hardwoods. N.E. Forest Exp. Stn., Upper Darby, PA. (USDA Forest Serv. Res. Paper NE-324), 1975, 12 pages.

33. M.R. ROBERGE, J.D. GAGNON et C.H. UNG, Essai d'un dosage d'azote dans trois sapinières de 60 ans au Québec: résultats de 10 ans. *Canadian J. Forestry Research*, 1980, 10: 470-475.
34. GROUPE DE RECHERCHES INTERDISCIPLINAIRES EN FERTILISATION DES FORÊTS, Essai opérationnel de fertilisation aérienne de peuplements de pin gris dans la Mauricie. Rapport d'étape 1974-1976, mémoire no. 41, Service de la Recherche, Direction générale des forêts, Ministère des Terres et Forêts, 1977, 137 pages.
35. J.D. GAGNON, Effets de la fertilisation azotée sur la croissance en rayon du sapin baumier. Édité par Environnement Canada, Centre de recherches forestières des Laurentides, Québec. Rapport Q-F-X-38, 1973, 24 pages.
36. J.M. VEILLEUX et G. SHEEDY, Projet interprovincial de fertilisation des forêts naturelles: 1. Effets de la fertilisation sur quelques caractéristiques de sept sapinières en Gaspésie. Gouvernement du Québec, ministère des Terres et Forêts, Direction générale des forêts, Service de la recherche. Mémoire no. 45, 1978, 63 pages.
37. G. SHEEDY, Essai de fertilisation dans une jeune plantation de pin gris; résultats de cinq ans. Gouvernement du Québec, ministère de l'Energie et des Ressources, Service de la recherche (Terres et Forêts). Mémoire no. 83, 1982, 32 pages.
38. C.R. BERRY and D.X. MARX, Significance of various soil amendments to borrow pit reclamation with loblolly pine and fescue. *Reclamation Review.*, 1980, 3: 87-94.
39. J.G.A. FISKELL, F.G. MARTIN, W.L. PRITCHETT and M. MAFTOUN, Effects of cadmium levels and sludges on loblolly pine seedlings. *Soils and Crop Science Society of Florida Proc.* Vol. 41, Soil. Sci. Dept. Univ. of Florida, Gainesville, 1982, pp. 163-168.
40. D.G. BROCKWAY, Forest floor, soil and vegetation responses to sludge fertilization in red and white pine plantations. *Soils Sciences Society American J.*, 1983, 47: 776-784.
41. M.S. McINTOSH, J.E. FOSS, D.C. WOLF, K.R. BRANDT and R. DARMODY, Effect of composted municipal sewage sludge on growth and elemental composition of white pine and hybrid polar. *J. Environmental Quality*, 1984, 13: 60-62.
42. J.D. GAGNON, Les égouts domestiques: un engrais valable en foresterie. Édité par Environnement Canada, Centre de recherches forestières des Laurentides, Québec. Rapport Q-F-X-30, 1972, 13 pages.

# BACTERIAL LEACHING OF METALS FROM DIGESTED SEWAGE SLUDGE

By R.D. TYAGI and D. COUILLARD

Université du Québec, INRS-Eau, C.P. 7500, 2700 rue Einstein, Sainte-Foy, (Québec), Canada G1V 4C7.  
Telephone: (418) 654-2617.

## SYNOPSIS

Bacterial leaching of heavy metals from anaerobically digested sludge was studied in batch system using mixed culture of *Thiobacillus ferrooxidans* and *Thiobacillus thiooxidans*. The leaching was carried out in five litre bioreactor at 24°C and pH 4.0. Mixed culture gave better solubilization rate compared to that for single culture. The maximum metal solubilization observed in mixed culture for Zn, Cu, Pb, and Cd was in the order of 96%, 75%, 55%, and 50% respectively in 10 to 12 days. The rate of solubilization in the order of Cu > Pb > Zn > Cd was observed. The recommended level of Cu in sludge (74% removal) was obtained in seven days.

## Introduction

The heavy metal content of sewage sludge is about 0.5 to 2% on a dry weight basis<sup>1,2</sup> and in some cases extremely high concentrations of 4% w/w of chromium, copper, lead, and zinc have been recorded.<sup>3</sup> Potential health hazards associated with metal loaded sludges are the metals uptake by the aquatic life and the plants and subsequent accumulation of the metals in the food chain via the plants and the animals.<sup>4-12</sup> The metals which are leached from the polluted soils may also be mobilized into the surface and the groundwaters.<sup>13</sup> The metal content of the sludge also governs its application to agricultural land (Table 1).

The heavy metals can be removed from sewage sludge by acidifying the sludge with the mineral acids.<sup>15-24</sup> However, acidification processes are associated with the consumption of large amounts of acid (0.5 to 0.89 g of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> g<sup>-1</sup> of dry weight of sludge) and at the end of treatment a large amount of lime is also needed to raise the pH of the sludge to neutral.

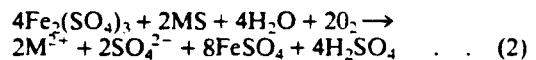
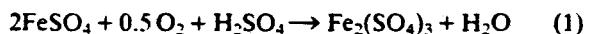
During anaerobic digestion the metal solubility is reduced because of the formation of metal sulphide via the hydrogen sulphide/sulphide interaction and via the reduction of amino acids the cysteine and the methionine.<sup>25,26</sup> Since most of the heavy metals in an anaerobically-digested sewage sludge exist

in the reduced and insoluble sulphide form, it would seem that the bacterial leaching could be used to extract the metals from the sludge. Currently, bacterial leaching is used to extract copper and uranium from low grade ores in industrial heap, dump, and *in situ* leach processes.<sup>27</sup> Copper can be economically recovered by bacterial leaching from low-grade ores or mine wastes containing less than 0.3% copper.<sup>28</sup> The application of biotechnological principles in the extraction of metals have been described by Torma.<sup>27</sup>

## Biochemical Steps in Microbial Leaching

The two microbial species associated with the leaching process are *Thiobacillus thiooxidans* and *Thiobacillus ferrooxidans*. Both the organisms are aerobic and grow under severe autotrophic conditions. Carbon requirements are fulfilled by CO<sub>2</sub> from the atmosphere and the energy required for the fixation of CO<sub>2</sub> is derived from the oxidation of the sulphur and the reduced sulphur compounds to sulphate either by the indirect (equations 1-2) process<sup>28-32</sup> or by the direct process (equation 3).

### *T. ferrooxidans*



### *T. ferrooxidans*



Reaction 1 takes place enzymatically under the active participation of *Thiobacillus*, whereas reaction 2 takes place only chemically without any participation of bacteria. A cyclic process between reactions 1 and 2 results in more and more solubilization of the metals. Formation of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> during the process further enhances the overall efficiency. Mineral leaching by *T. ferrooxidans* has been suggested to be enhanced by *T. thiooxidans*.<sup>33,34</sup>

Bacterial leaching of heavy metals from anaerobically digested sludge has been investigated by Wong and Henry<sup>35</sup> and showed 80-90% removal of Cd, Zn, and Ni and 60-70% removal of Cu in 12 to 14 days time in batch culture. The pH was lowered during bacterial leaching by oxidizing the insoluble metal sulphides to soluble metal sulphates.<sup>35</sup> The capability of *T. thiooxidans* to oxidize the added sulphur in digested sludge was tested<sup>36</sup> and resulted in a decrease of pH from 5.5 to 1.0 in 32 days. The metals sulphides were solubilized as a result of acidification. Mixed culture of *T. thiooxidans* and *T. ferrooxidans* in the presence of 7% sulphur in the sludge, resulted in more metal solubilization than *T. ferrooxidans* alone.<sup>31</sup> *T. thiooxidans* was found to be present in the uninoculated control preparations which showed acidification, and this acidification led to the formation of metal sulphates.<sup>31</sup>

Table 1: Metal Compositions in the Sludge and Their Recommended Levels.<sup>14</sup>

Metal	Composition (mg kg <sup>-1</sup> dry sludge)	Recommended conc. in sludge (mg/kg)	Removal required (%)	Maximum recommended conc. on land (kg per hectare)
Al	9682	---	---	---
As	2.0	10	---	15.0
Ba	340	---	---	---
B	110	100	---	5.0
Co	---	---	---	30.0
Cd	10	10	---	3.0
Hg	7.3	5	34	1.0
Mo	13.6	20	---	4.0
Ni	221	100	---	70.0
Pb	465	300	35.48	90.0
K	1770	---	---	---
Na	1740	---	---	---
Ca	22000	---	---	---
Cr	73	500	---	200
Cu	2300	600	74	200
Fe	9000	---	---	---
Mg	1950	---	---	---
Mn	280	500	---	70
Zn	640	1750	---	300
Se	1.0	14	---	2.8

--- = Recommended metal concentration is not available.

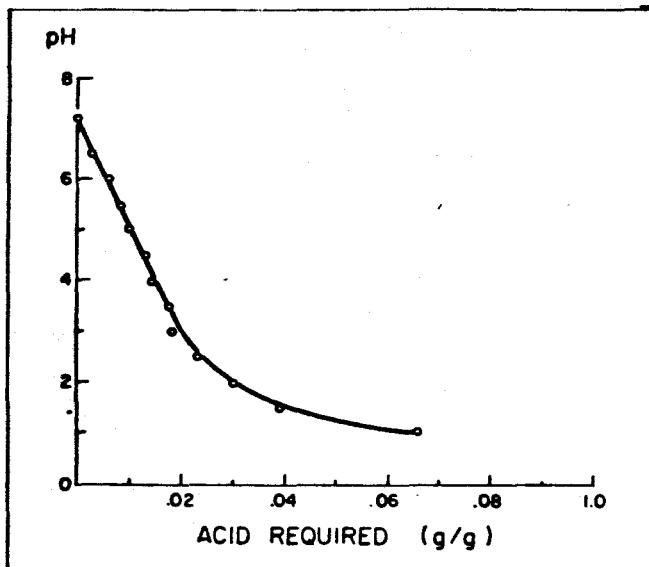


Figure 1: Acid requirements to adjust the pH of anaerobically digested sludge.

The objectives of the present investigations are to establish the role of mixed culture of *T. thiooxidans* and *T. ferrooxidans* in the leaching of metals from anaerobically digested sludge.

### Materials and Methods

#### Micro-organisms

The micro-organisms *Thiobacillus ferrooxidans* (ATCC 19859) and *Thiobacillus thiooxidans* (ATCC 19377) used in these studies were obtained from the American Type of Culture Collection.

#### Medium

*T. ferrooxidans* cells were maintained in 9K medium<sup>37</sup> with 14.74% FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O as energy source at pH 2.5. *T. thiooxidans* cells were also maintained in 9K medium with 5 g l<sup>-1</sup> Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> in place of ferrous sulphate at pH 4.0. Both organisms were grown at 24°C on a gyratory shaker at 125 rpm. The cells were transferred twice a week to 10 ml fresh medium and routinely gave a cell count in the range of 10<sup>5</sup>–10<sup>6</sup> ml<sup>-1</sup>. The culture was adapted to the anaerobically digested sludge medium and was carried out by adding 5 ml of sludge to 500 ml of bacterial culture each day over a period of 20 days. The sludge was obtained from anaerobic treatment unit of wastewater treatment plant in Valcartier (Québec) and the metal composition of the sludge is shown in Table 1.

#### Inoculum

Inoculum was prepared by growing sludge adapted cells in 500 ml Erlenmeyer flasks containing 100 ml of the medium sludge at pH 3.0 and 28°C. The flasks were aerated with air and agitated at 250 rpm using a Gyrotary Incubator Shaker apparatus model 26, from the New Brunswick Scientific Co., Inc., N.J. A 10% inoculum volume was used. For mixed culture experiments *T. thiooxidans* and *T. ferrooxidans* were grown separately in 500 ml shake flasks and were mixed in equal volume before inoculation. This mixture of cells was then used to inoculate the bioreactor. A 10% volume of inoculum was used in all batch experiments.

#### Batch experiments

Leaching experiments were carried out at room temperature (24°C) in 5 l laboratory reactors fitted with an air sparger made of sintered glass. The air was sparged at a rate of 0.5 vvm. The initial pH was adjusted to 4.0 (with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). The contents of the bioreactor were well mixed with a mechanical agitator. A control run without *T. ferrooxidans* and *T. thiooxidans* was also conducted in order to compare the results. Samples of 10

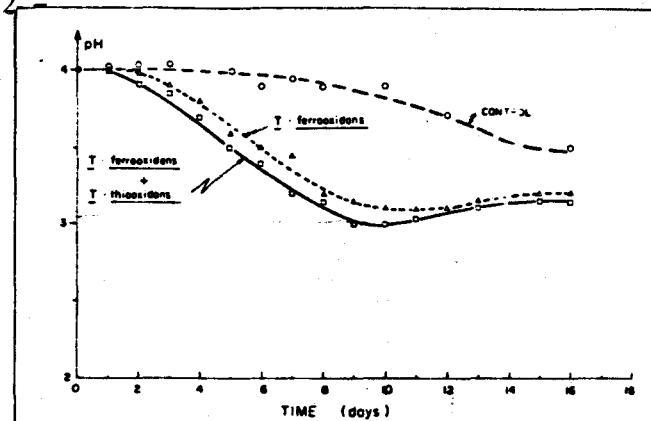


Figure 2: Variation of pH during bacterial leaching in batch culture.

Table 2: Change in Sulphate Concentration during Microbial Leaching.

	Sulphate Concentration in Supernatant (mg l <sup>-1</sup> )			Final pH
	Before adjusting pH of sludge	After adjusting pH of sludge to 4	At the end of batch run	
Control	53.38	4200.0	4860	3.5
<i>T. ferrooxidans</i>	53.38	4261.2	5400	3.1
<i>T. ferrooxidans</i> + <i>T. thiooxidans</i>	53.38	4250.4	5700	3.0

ml each were drawn each day in order to analyse the solubilized metals. Samples were also drawn immediately after acidifying the sludge to pH 4.0. Some 30 g l<sup>-1</sup> (dry weight basis) of unsterilized sludge was used during batch experiments.

#### Analytical methods

The samples were centrifuged at 10 000 rpm for 20 minutes and the metals in the supernatant were determined by the atomic absorption spectrophotometry according to the standard methods of analysis.<sup>38</sup> The sulphur content of the sludge was estimated as per standard methods<sup>39</sup> and the sulphate concentration in the sludge was measured by turbidimetric method.<sup>38</sup>

### Results and Discussion

The acid requirements to adjust the pH of the sludge (obtained from Valcartier plant) were determined and the amount of sulphuric acid required for various pH is shown in Figure 1. The amount of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> required to lower the pH from 7.2 (initial pH of the sludge) to 4.0 is 0.145 gram per gram dry weight of the sludge. Below pH 3.0, the acid requirements increased exponentially.

The results of pH variation during batch experiments are shown in Figure 2. Initially the pH tends to become constant and it then decreases gradually. The initial sulphur content of the sludge was found to be 19.8 g per kg of sludge on dry weight basis. The initial sulphate concentration in the supernatant after centrifugation of sludge was found to be 53 mg l<sup>-1</sup>. There was a net increase in the sulphate concentration (Table 2) during microbial leaching and the final level of sulphate concentration was dependent on the pH at the end of each run. This is also in agreement with the observation of various workers for bacterial leaching of metals from anaerobically digested sludge using *T. ferrooxidans*.<sup>35,36</sup> The decrease in pH, therefore can be attributed to the oxidation of sulphides to sulphates and thereby generation of acid according to equation

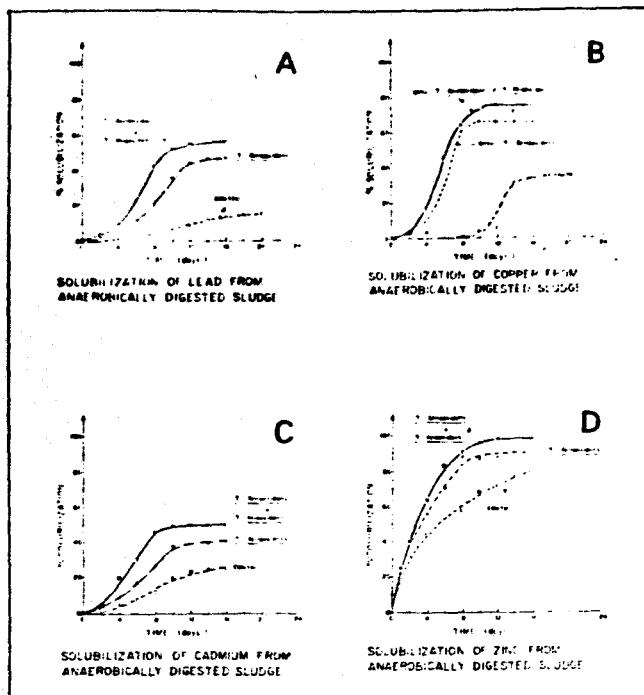


Figure 3: Solubilization curves of metals from anaerobically digested sludge.

2. A slight increase in initial pH was observed in the control run. The pH fell much faster in the reactor inoculated with *T. ferrooxidans* than in the control run because the mineral sulphides were oxidized more rapidly in presence of these bacteria. The rate of pH fall was further increased when mixed culture of *T. ferrooxidans* and *T. thiooxidans* was used.

Rapid decrease of pH in the mixed culture may be due to the oxidation of sulphur (formed during lag phase) to sulphate by *T. thiooxidans*.<sup>34</sup> *T. ferrooxidans* needs an adaptation time before it could oxidize the elemental sulphur furnishing hydrogen ions.<sup>41</sup> The final pH dropped to a level of 3.0, 3.1, and 3.5 in the mixed culture, *T. ferrooxidans* culture and the control run respectively. The time required to achieve this in three cases was observed to be 9, 10, and 15 days respectively. The initial constant level of pH is in contrast to the findings of Wong and Henry<sup>35</sup> who reported an initial increase in pH and then a gradual decrease during microbial leaching of anaerobically digested sludge with *T. ferrooxidans* only.

The per cent solubilization of various metals in the sludge (Zn, Cd, Cu, and Pb) in comparison to the control, the single and the mixed culture are shown in Figure 3. It is interesting to note that no metal solubilization was observed during pH adjustment of the sludge. According to Wozniak and Huang<sup>24</sup> the metal solubilization during pH adjustment depends upon the sludge concentration and the pH. These authors observed 65% solubilization of Cd immediately after acid addition to sludge at pH 1.5 and 0.5% solids. Increasing the solids concentration from 0.5% to 2.4% and pH from 1.5 to 3.0, Cd solubilization was not observed during acid addition.

Similar results were observed by these authors on copper solubilization. Cu was not solubilized at pH 2.0 and 3.0 during acid addition at any solid concentration. Generally, with lower pH and lower solids concentration of sludge, larger quantities of metals were solubilized during acidification.<sup>24</sup> Inorganic precipitates or weakly held chelates are thought to react with acid and therefore attain solubilization equilibrium much more rapidly at lower pH and lower solids concentration.<sup>24</sup> Therefore, relatively high solids concentration (3%) and high initial pH (4.0) during these experiments could be the possible reason for insolubility of metals during acidification. The increase in metal solubilization was followed with the decrease in pH of the culture medium. The maximum solubilization occurred between tenth and twelfth day of the batch culture. This observation was consistent for all the metals.

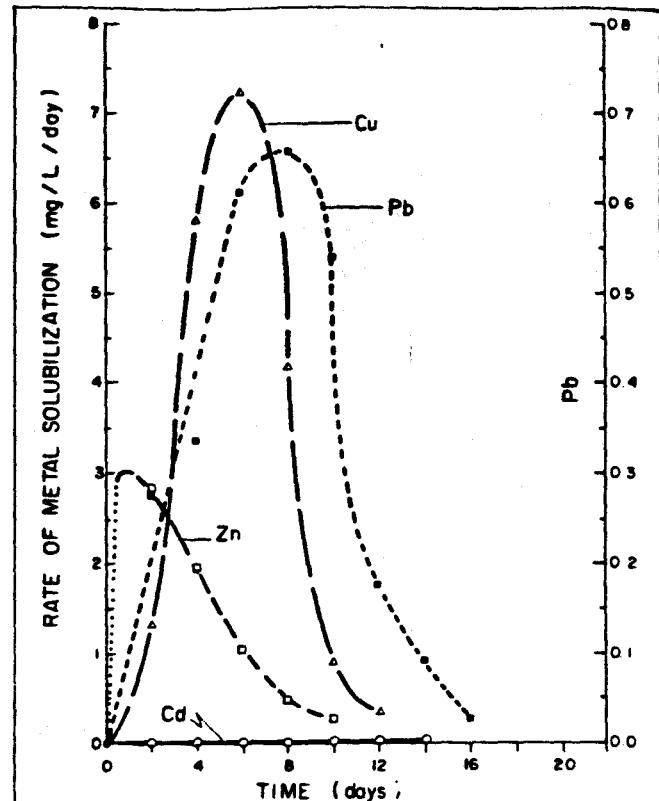


Figure 4: Point solubilization rate in a batch culture.

Table 3: Overall Rate of Metal Solubilization in Mixed Cultures (Batch Results).

Metal	Rate of Solubilization		
	Control (mg l⁻¹ day⁻¹)	<i>T. ferrooxidans</i> (mg l⁻¹ day⁻¹)	Mixed culture (mg l⁻¹ day⁻¹)
Cu	1.34	4.48	5.37
Zn	0.96	1.08	1.55
Pb	0.1216	0.304	0.391
Cd	0.0077	0.0118	0.0151

The rate of metal removal was minimum in the control run and maximum in the mixed culture experiment. The yield of metal solubilization was about 10% higher in mixed culture as compared to that of single culture of *T. ferrooxidans*. The maximum metal solubilization observed in the mixed culture of Zn, Cu, Pb, and Cd was in the order of 96%, 75%, 55%, and 50% respectively and 80%, 35%, 15%, 25% respectively in the control run. Analysis of the metals Fe, Ni, and Cr were also made but their solubilization was found to be negligible. The initial concentration of these metals in the sludge was found well below the limits permitted by the regulations. The metals which are above the limit are Cu and Pb.

96% removal of Cu during mixed culture brings its concentration below the required limit. Some control run displayed a typical growth curve profile for the metal solubilization (Figure 3). This may be due to the presence of *T. thiooxidans* in the control runs as unsterilized sludge was used in all the experiments. *T. thiooxidans* was found to be present in anaerobically digested sludge and has shown acidification due to the formation of metal sulphates.<sup>31</sup> However, no attempt was made to investigate the presence of *T. thiooxidans* in uninoculated sludge during these investigations.

The rate of metal solubilization (point solubilization) in mixed culture was calculated by differentiating the metal concentration versus time (Figure 4). The overall rate of metal solubilization was also calculated by dividing the metal concentration at the end of run with total time (Table 3). The

maximum rate of solubilization is obtained for metal Cu in mixed culture followed by Zn and Pb. The lowest rate was observed for Cd. The rate of metal dissolution during the microbial leaching seems to be related to the initial concentration of metal in the sludge. Higher concentration of metal in the sludge gives higher metal dissolution rate. In case of Pb in spite of the large initial concentration (465 mg kg<sup>-1</sup> of sludge) the low rate of solubilization can be attributed to the low solubility constant of Pb. However, strong complexation tendency of Pb with the organic matter may also play an important role in solubilization of Pb. The stability of organo-metal complexes follow the Irving-Williams Series:<sup>23</sup> Pb ≥ Cu ≥ Ni ≥ Co ≥ Zn ≥ Cd in order of strong complexation.

The Irving-Williams Series describes the relative orders of metal-organic chelate bond strengths. The greater the organic-metal bond strength, the less soluble the complex. The removal of metals from the sludge by acidifying to pH as low as 2.0 and 1.5 have shown that the metal removal efficiency follows this series.<sup>24</sup> As might be expected, the order of metal solubilization in these experiments was Pb ≤ Cu ≤ Zn. Therefore, due to strong complex formation of Pb with the organic matter might have reduced the Pb availability for microbial leaching.

The metal solubilization efficiencies obtained during these results are comparable with the metal solubilization efficiencies obtained using acid treatment process. The requirement of acid in acid treatment process varies from 0.3 to 0.8 g of acid per gram of dry sludge.<sup>19,21,23</sup> Whereas the acid requirements in the present process is 0.145 g of acid per gram of sludge. Therefore the acid requirement in microbial leaching are reduced at least by three times. Similarly lime requirements will also be reduced to neutralize the sludge (to raise the pH 7.0 from 3.0 in the present process than from 1.5–2.0 in acid treatment process).

### Conclusions

Metals from digested sewage sludge can be removed by bacterial leaching to provide decontaminated sludge.

Mixed culture enhances the rate of leaching.

The acid and alkali requirements in microbial leaching process are much lower than in chemical methods.

### Acknowledgements

Sincere thanks are due to Prof. Roger Guay for reading the manuscript and providing useful suggestions. This research was made possible through grants from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada, grants A-3711 and A-4984 and FCAR Québec.

### References

- <sup>1</sup> Department of the Environment and National Water Council. *Report of the Subcommittee on the Disposal of Sewage to Land*. Standing Technical Committee Report No. 20, 1981. (London: HMSO.)
- <sup>2</sup> Henry, J.G., and Wong, L. *Paper presented at 39th Purdue Univ. Ind. Waste Conf.*, 9 May, 1984, p.515. West Lafayette, Indiana.
- <sup>3</sup> Lester, J.M., Sterritt, R.M., and Kirk, P.W. *Science of Total Environ.*, 1983, **30**, 45.
- <sup>4</sup> Suttle, N.F., Alloway, B.J., and Thornton, I. *J. Agr. Sci., Camb.*, 1975, **84**, 249.
- <sup>5</sup> Fujita, M., and Hashizume, K. *Water Res.*, 1975, **9**, 889.
- <sup>6</sup> Burkett, R.D. *Phycol.*, 1975, **1**, 55.
- <sup>7</sup> Gryzhankova. *Oceanology*, 1973, **13**, 206.
- <sup>8</sup> Wettern, M., Lorch, D.W., and Weber, A. *Arch. Hydrobiol.*, 1976, **3**, 267.
- <sup>9</sup> Trollope, D.R., and Evans, B. *Environ. Pollut.*, 1976, **11**, 109.
- <sup>10</sup> Stokes, P.M., Hutchinson, T., and Krauter, K. *Can. J. Bot.*, 1973, **51**, 2155.
- <sup>11</sup> Defilippis, L.F., and Pallaghy, C.K. *Pflanzenphysiol.*, 1976, **3**, 197.
- <sup>12</sup> Kneip, T.J., and Lauer, G.J. *Prog. Ann. Chem.*, 1973, **5**, 43.
- <sup>13</sup> Forstner, V., and Wittnam, G.T.W. *'Metal Pollution in Aquatic Environments'*, 1979. (Weinheim: Springer Verlag.)
- <sup>14</sup> Flynn, F., Albert, J.M., Robert, J., St-Yves, A., Terrault, A., and Trudel, G. *Rapport sur la qualité des boues des stations d'épuration et autres boues*. 1984. (Gouvernement du Québec: Ministère de l'Environnement.)
- <sup>15</sup> Scott, D.S., and Horlings, M. *Environ. Sci. Technol.*, 1975, **9**, 849.
- <sup>16</sup> Bloomfield, G., and Pruden, G. *Environ. Pollut.*, 1975, **8**, 217.
- <sup>17</sup> Oliver, J.W., Kreye, W.C., and King, P.H.J. *Water Pollut. Control Fed.*, 1975, **47**, 2490.
- <sup>18</sup> Oliver, B.G., and Carey, J.H. *Water Res.*, 1976, **10**, 1077.
- <sup>19</sup> Hayes, T.D., Jewel, W.J., and Kabrick, R.M. in *Proc. 34th Purdue Univ. Ind. Waste Conf.*, 1979. (Ann Arbor, MI: Ann Arbor Science Publishing.)
- <sup>20</sup> Cornwell, D.A., Westenhof, G.P., and Cline, G.C. in *Proc. Am. Soc. Civ. Engrs. Environ. Engng. Div. Conf.*, 1980. (New York: American Society of Civil Engineers.)
- <sup>21</sup> Jenkins, R.J., Baird, R., Lo, M.P., and Hang, R.T. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 1982, **54**, 1574.
- <sup>22</sup> Wozniak, D.J., and Huang, J.Y.C. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 1982, **54**, 1574.
- <sup>23</sup> Scott, D.S., and Horlings, M. *Environ. Sci. Technol.*, 1975, **9**, 849.
- <sup>24</sup> Wozniak, D.J., and Huang, J.Y.C. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 1982, **54**, 1574.
- <sup>25</sup> Mosey, F.E., Swanick, J.D., and Hughes, D.A. *Water Poll. Control*, 1971, **70**, 668.
- <sup>26</sup> Mosey, F.E. *Water Poll. Control*, 1976, **75**, 10.
- <sup>27</sup> Torma, A.E. in *Biotechnol. Bioeng. Symp. No. 16*, 1986, p.49.
- <sup>28</sup> Leathen, W.W., Kinsel, N.A., and Braley, S.A. *J. Bacteriol.*, 1956, **72**, 700.
- <sup>29</sup> Beck, J.V. *Biotechnol. Bioeng.*, 1967, **9**, 487.
- <sup>30</sup> Trudinger, P.A. *Adv. Microbiol. Physiol.*, 1969, **3**, 111.
- <sup>31</sup> Tuovinen, O.H., and Kelly, D.P. *Zts. allg. Mikrobiol.*, 1972, **12**, 311.
- <sup>32</sup> Torma, A.E. *Adv. Biochem. Engng.*, 1977, **6**, 1.
- <sup>33</sup> Khalid, A.M., and Ralph, B.J. in Schwartz, W. (Ed.), *'Conference on bacterial leaching'*, 1977, p. 165. GBF Monograph No. 4. (Weinheim: Verlag Chemie.)
- <sup>34</sup> Karavadko, G.I., and Moshniakova, S.A. *Mikrobiologiya*, 1974, **43**, 156.
- <sup>35</sup> Wong, L., and Henry, J. *J. Water Poll. Res.*, 1983, **18**, 151.
- <sup>36</sup> Schönborn, W., and Hartman, H. *J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1978, **5**, 305.
- <sup>37</sup> Lacey, D.T., and Lawson, F. *Biotechnol. Bioeng.*, 1970, **29**, 12.
- <sup>38</sup> American Public Health Association.
- <sup>39</sup> Torma, A.E. *Rev. Canadienne de Biol.*, 1971, **30**, 209.
- <sup>40</sup> Andrews, G.F., and MacJuga, J. in *Proc. Biotechnol. Bioeng. Symp. No. 12/1982*, p.337.

Received 5 February, 1987; revised manuscript received 3 June, 1987.

*Environmental Pollution* 50 (1988) 295-316

## **Heavy Metals Removal from Anaerobically Digested Sludge by Chemical and Microbiological Methods**

R. D. Tyagi, D. Couillard & F. Tran

Institut national de la recherche scientifique (INRS-Eau), Université du Québec, INRS-Eau,  
2700, rue Einstein, CP 7500, Sainte-Foy, Québec, Canada G1V 4C7

(Received 21 May 1987; accepted 27 August 1987)

### **ABSTRACT**

*The metal removal from anaerobically digested sludge was studied by chemical treatment and microbial leaching processes in laboratory reactors. The removal of metals increased with decreased sludge solid concentration and pH. In the acid treatment process, a pH of 1.5 was required to reduce the copper concentration in the sludge to an acceptable level. In the microbial processes mixed culture gave 10% better solubilisation of metals than in single culture. The acid requirement was lower for the microbial process. The cost of sludge treatment in terms of chemicals was found to be decreased by 80% in microbial leaching.*

### **INTRODUCTION**

As utilisation of municipal sewage sludges on agricultural land has greatly increased, the concern for potential contamination of the food chain by toxic trace elements in the sludge has also grown.

Sludges contain variable concentrations of many trace elements including cadmium, copper, zinc and lead which may be potentially phytotoxic or pose a threat to the animal or human food chain (Logan & Chaney, 1983). The heavy metal content of sewage sludge is about 0.5% to 2% on a dry weight basis (Wong & Henry, 1984). However, in some cases, extremely high concentrations of 4% w/w of chromium, copper, lead and zinc have been

295

*Environ. Pollut.* 0269-7491/88/\$03.50 © 1988 Elsevier Applied Science Publishers Ltd, England. Printed in Great Britain

reported (Lester *et al.*, 1983). The reduction of heavy metals in sewage sludge can be achieved either by source control of discharge to sewer systems or by removing metals from sludge. In source control, the major difficulty is identification of the sources. Moreover, even with complete elimination of toxic metals from all industrial discharges to sewers, the problem remains because of the metal content of domestic wastewaters. Several chemical methods for solubilisation of heavy metals from sewage sludge have been suggested (Bloomfield & Pruden, 1975; Olver *et al.*, 1975; McNulty *et al.*, 1977; Scott & Horlings, 1979; Cornwell *et al.*, 1980; Hayes *et al.*, 1980; Jenkins *et al.*, 1981; Wozniak & Huang, 1982).

Metal extraction using ethylene diamine tetracetic acid (EDTA), a strong chelating agent, showed high removal efficiencies of Cd, Pb, and Cu (Jenkins *et al.*, 1981). Corresponding removal efficiencies for Fe, Ni and Cr were lowered using EDTA. Hayes *et al.* (1980) developed an acid extraction process for sludge metals using aerobic autoheated thermophilic digestion (AATD). The AATD is an experimental process using aerobic conditions to produce sufficient biological activity to maintain thermophilic conditions. In general, efficiencies of metal removal were higher for the AATD process than for raw sludge or anaerobically digested sludge. These authors also observed that, in general, the various sludges acidified with hydrochloric acid exhibited heavy metal solubilisation efficiencies comparable to those produced with nitric acid addition.

In spite of good metal extraction achieved in the acid treatment method, the factors such as cost, operational difficulties, large acid requirements (0.5 to 0.89 g of  $H_2SO_4\text{ g}^{-1}$  of dry weight of sludge) and large amount of lime required at the end of the treatment have made practical application of these methods unattractive.

The literature on metal solubilisation indicates that different sewage sludges (primary, activated sludge and digested sludge), when subjected to different treatment conditions, showed different metal solubilisation efficiency. Difference in metal solubilisation efficiencies may be largely explained in terms of inorganic species predominance under certain anaerobic and aerobic conditions (Hayes & Theis, 1978). During anaerobic digestion, heavy metal chemistry is controlled not only by the solubility of inorganic precipitates but also by sorption and subsequent incorporation of metals into digester biomass. There is evidence which suggests that heavy metals associated with the organic fraction of sludge are less available to the disposal environment than inorganic precipitates (Leeper, 1972; Chaney, 1973). Particularly in cases of acid environments, precipitates could be expected to be solubilised rapidly. For metals which are organically bound, however, a prolonged exposure under more extreme acid conditions would be required to bring about removal and recovery of heavy metals. According

to Theis & Hayes (1978), the sulphides of the metals, except for chromium, exert primary inorganic solubility control, in anaerobically digested sludge.

Chromium which is controlled by chrome (III) hydroxide, is not known to form a stable sulphide. Hayes *et al.* (1980) also observed that solubilisation of chromium was found to be unchanged with respect to AATD, raw sludge or anaerobically digested sludge and was attributed to the predominant presence of chromium as trivalent hydroxide precipitate in these three kinds of sludges. For copper, equilibrium considerations indicate that cuprous sulphide ( $Cu_2S$ ) controls the solubility of this metal. All other metals (Cd, Ni, Pb and Zn) would be expected to form simple sulphides (Theis & Hayes, 1978).

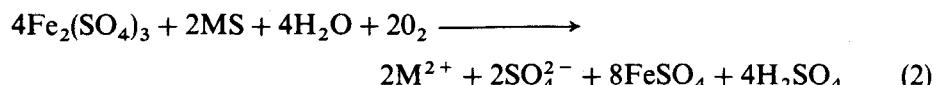
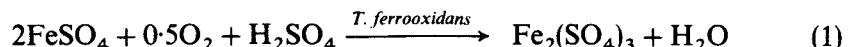
The solubility of metals is governed primarily by pH but other factors are also important. These factors include the oxidation reduction potential (ORP) of the sludge, the concentration of metals and ligands (negative ions or uncharged molecules). Theis & Hayes (1978) observed that mere lowering of pH for anaerobic sludge did not result in a shift of metal sulphides to the soluble ions form unless acidification was preceded by a rise in the sludge ORP. However, instant solubilisation of a few metals (Zn for example) has been observed by merely lowering the pH and without raising ORP.

The ORP of anaerobically digested sludge is of the order of  $-300$  to  $-520$  mV. At elevated ORP values above  $+100$  mV, it was predicted that a shift to the divalent cadmium ion could be achieved by lowering the pH below 4 (Theis & Hayes, 1978; Hayes *et al.*, 1980). So solubilisation strategy requires optimum adjustment of pH and ORP of the sludge so that the chemical equilibria will be shifted in favour of dissolved metallic ion formation. The ORP of anaerobic sludge can be raised either by means of chemical oxidation or by biological oxidation. Chemical oxidation can be achieved with aeration or by the addition of an oxidising agent. With aeration, the rate of oxidation is very slow. High cost and change in characteristics of sludge in terms of its fertiliser value and soil conditioner are the prohibitive factors with the use of chemical oxidising agents. Hayes *et al.* (1980) raised the ORP through aerobic biological treatment prior to acidification and achieved considerably better metal solubilisation.

The metal sulphides in digested sludge can be oxidised to soluble metal sulphates through microbial leaching which raises the ORP. This technique is used to dissolve mineral sulphides to sulphates in mines.

The two microbial species associated with microbial leaching are *Thiobacillus thiooxidans* and *Thiobacillus ferrooxidans*. These organisms are autotrophs. They require  $CO_2$  as their carbon source and the energy required for the fixation of  $CO_2$  is derived from the oxidation of sulphur and reduced sulphur compounds to sulphate. Two energy supplying reactions have been reported. These are called indirect and direct.

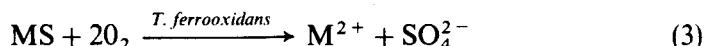
### Indirect process



Reaction (1) takes place under the active participation of *Thiobacillus*, whereas reaction (2) takes place only chemically without any participation of bacteria. A cyclic process between reactions (1) and (2) results in more and more metal solubilisation. Formation of  $\text{H}_2\text{SO}_4$  during the process further enhances the overall efficiency. MS represents the metal sulphide and  $\text{M}^{2+}$  soluble metallic ion.

### Direct process

In this process non-ferrous metallic sulphides are directly oxidised by *T. ferrooxidans* to soluble metal sulphates according to eqn (3).



The organism *T. thiooxidans* cannot oxidise iron; it is best known for its ability to grow on elemental sulphur compounds.

The objective of the present investigation was to examine the microbial leaching process to solubilise metals from anaerobically digested sludge, in single and mixed culture. The acid treatment process for metal solubilisation was also investigated with the same sludge to compare the performance of the two processes.

## MATERIALS AND METHODS

### Acid treatment process

All anaerobically digested sludge samples were obtained from the anaerobic treatment unit of a wastewater plant in Valcartier (Québec, Canada). The metal concentrations of the sludge samples varied depending on the sampling dates. Copper and lead were the metals of greatest importance as their concentrations were above that recommended for sludge application to the land. The composition of important metals in the sludge which was used in these experiments is shown in Table 1. Prior to acidification treatment, soluble metal concentrations within the liquid portion of the sludges were low ( $\leq 0.1 \text{ mg litre}^{-1}$ ).

**TABLE 1**  
Metal Composition of the Sludge and their Recommended Level

Metal	Composition (mg kg <sup>-1</sup> of dry sludge)	Recommended conc. in sludge (mg kg <sup>-1</sup> of dry sludge) (Flynn et al., 1984)
Cd	10	10
Pb	465	300
Cu	2300	600
Zn	640	1750

To avoid excessive chemical transformations within the sludge samples because of prolonged storage, the experiments were initiated within the shortest possible time after obtaining the samples from the wastewater treatment plant.

For dilution of samples to the desired solids concentrations, twice distilled deionised water was added as necessary. Thicker sludge samples than those obtained from the plant were prepared by centrifuging the sludge. The solids concentration in the sludge as obtained from the wastewater treatment plant was 14 to 17 g litre<sup>-1</sup>. All materials coming in contact with the sludge were glass or plastic, thoroughly washed and rinsed with a 1:1 nitric acid–water mixture, followed by washings with twice distilled deionised water.

Analytical grade sulphuric acid was diluted with twice distilled deionised water to adjust its normality to 1N and was used to acidify the sludge samples throughout the experiments. The use of sulphuric acid is advantageous (compared to hydrochloric and nitric acids) because of its low cost and improved filterability of leach mixture (Scott & Horlings, 1979). Past research has also indicated that when compared under identical conditions of sludge, pH and time, the efficiencies of hydrochloric, nitric and sulphuric acids for solubilisation of sludge heavy metals were very similar (Oliver & Carey, 1976; Scott & Horlings, 1979; Hayes *et al.*, 1980).

All metal solubilisation tests were performed in 500-ml Erlenmeyer flasks with stirring provided by a Gallenkamp shaker at 25 rpm. The shaker speed was kept constant throughout the course of these studies. The acid treatment experiments were carried out at room temperature ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ). Duplicate acidification trials were performed with 200 ml of sludge in each flask at different pH and solids concentrations. The content of each flask was adjusted to the desired level and pH was monitored during the experiments. Additional acid was added as necessary to maintain the pH of the sludge within 0.1 pH units of the desired value. Sludge samples were taken for heavy

metal solubilisation analysis immediately before and after acidification and at regular time intervals.

Samples were centrifuged to separate the solids and liquid. Solubilised metals were analysed in the liquid portion.

### **Microbiological process**

#### *Microorganisms*

The microorganisms, *Thiobacillus ferrooxidans* (ATCC 19859) and *Thiobacillus thiooxidans* (ATCC 19377) used in these studies were obtained from American Type of Culture Collection.

#### *Medium*

*T. ferrooxidans* cells were maintained in 9 K medium (Lacy & Lawson, 1970) with 14.74%  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  as the energy source at pH 2.5. *T. thiooxidans* cells were also maintained in 9 K medium with 5 g per litre of  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  in place of ferrous sulphate at pH 4.0 (Andrews & Maczuga, 1982). Both the organisms were grown at 24°C on a gyratory shaker at 125 rpm. The cells were transferred twice a week to 10 ml fresh medium and routinely gave a cell count in the range of  $10^5$ – $10^6 \text{ ml}^{-1}$ . The culture was adapted to the anaerobically digested sludge medium.

#### **Inoculum**

Inoculum was prepared by growing sludge adapted cells in 500-ml Erlenmeyer flasks containing 100 ml of the medium sludge at pH 3.0 and 28°C. The flasks were agitated at 250 rpm using a gyratory incubator shaker apparatus model 26 (New Brunswick Scientific). For mixed culture experiments *T. thiooxidans* and *T. ferrooxidans* were grown separately in 500-ml flasks and were mixed in equal volume before inoculation. This mixture of cells was then used to inoculate the bioreactor. A 10% volume of inoculum was used in all experiments.

### **Experimental**

Leaching experiments were carried out at room temperature ( $23 \approx 25^\circ\text{C}$ ) in 5-litre laboratory reactors fitted with an air sparger made of sintered glass. The air was sparged at a rate of  $0.5 \text{ vol vol}^{-1} \text{ min}^{-1}$ . The initial pH was adjusted to 4 (with  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ). The contents of the bioreactor were well mixed with a mechanical agitator. A control run without *T. thiooxidans* and *T. ferrooxidans* was also carried out in order to compare the results. Ten-millilitre samples were drawn each day in order to analyse the solubilised

metals. Samples were also drawn immediately after acidifying the sludge to pH 4. Unsterile sludge with a concentration of 30 g litre<sup>-1</sup> (dry weight basis) was used.

### **Analytical**

The samples were centrifuged at 10 000 rpm for 20 min and metals in the supernatant were determined by atomic absorption spectrophotometry according to *Standard Methods for Examination of Water and Wastewaters* (1980). Absorption calibration curves for each metal were determined using standardised metal solutions prepared following *Standard Methods* procedure. Metal solutions for analysis were diluted following the procedures outlined in *Standard Methods* and were performed in the linear range of calibration curve.

The sulphur content of the sludge was estimated as per *Standard Methods* and sulphate concentration in the sludge was measured by the turbidimetric method (*Standard Methods*, 1980).

## **RESULTS AND DISCUSSION**

### **Acid treatment procedure**

#### *Effect of pH and solids concentration on metal solubilisation*

Metal removal from the sludge solids was found to be dependent upon pH, solids concentration, specific types of metals and length of acidification times. Solubilisation rates and ultimate removal efficiencies for all metals increased with time and decreasing pH and solids concentration.

For many cases, limitations in solubilisation exist, regardless of the length of acidification time. These limitations are dependent on pH and solids concentration, for any given metal. For all the metals investigated, the pattern of metal solubilisation with respect to time was similar. It increased to reach a maximum solubilisation in a relatively short period of time, then remained the same for the duration of the 24-h acidification period.

#### *Zinc*

Zinc solubilisation from sludge solids is depicted in Fig. 1(a)-(c) for a range of pH from 1.5 to 4. This figure demonstrates combined effects of pH and sludge solids concentration on metal removal from sludge solids. As can be seen, removal efficiencies were diminished with increased pH and the solids concentration (Table 2). Increasing the solids concentration from 0.5 to 4.5% at pH 2, the solubilisation efficiency of zinc was reduced from 93.75 to

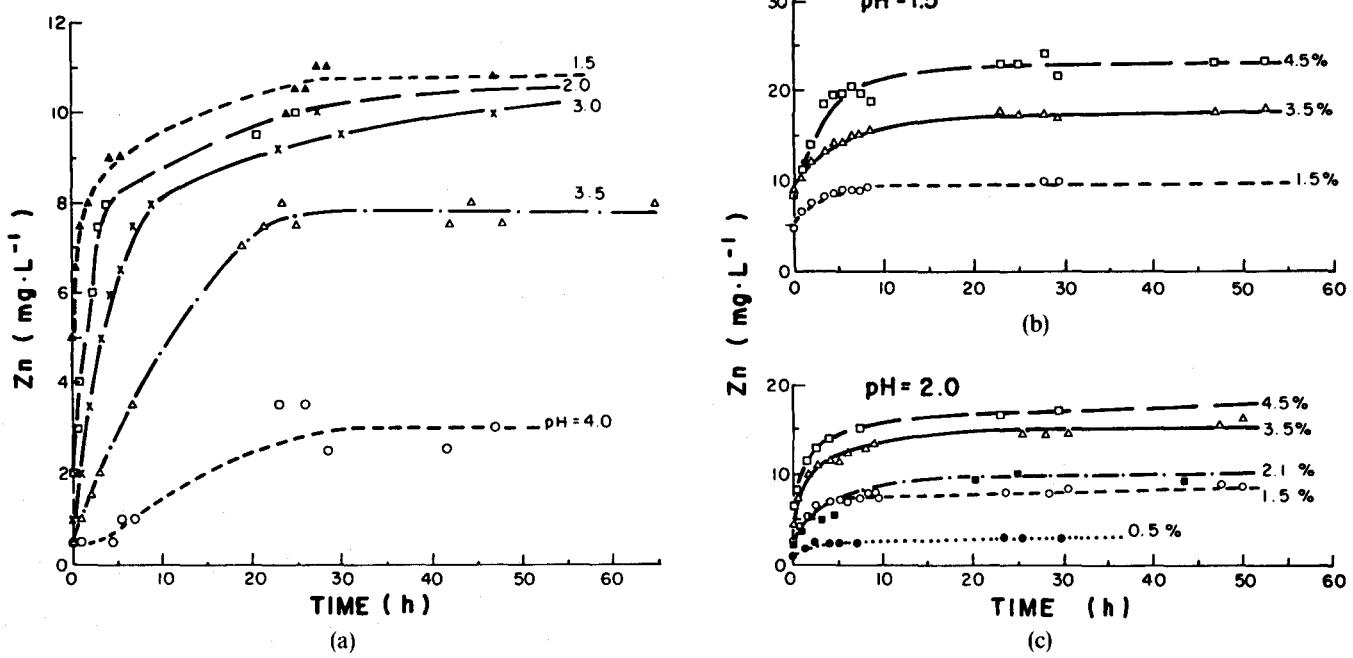


Fig. 1. (a) Solubilisation of zinc at different pH (sludge concentration = 21 g litre<sup>-1</sup>); (b) and (c) solubilisation of zinc from anaerobically digested sludge.

**TABLE 2**  
Maximum Metal Solubilisation from Sludge Solids

<i>pH</i>	<i>Solids concentration</i> (g litre <sup>-1</sup> )	<i>Metal</i>		
		<i>Zn</i> Maximum removal efficiency (%)	<i>Pb</i> Maximum removal efficiency (%)	<i>Cu</i> Maximum removal efficiency (%)
1.5	5	—	86.00	86.95
	15	89.95	71.68	75.36
	21	80.35	61.44	74.50
	35	78.12	49.1	55.90
	45	78.12	—	55.07
2.0	5	93.75	55.91	47.80
	15	88.54	—	69.50
	21	74.40	56.30	48.65
	35	66.96	47.90	55.90
	45	60.76	—	46.37
2.5	21	—	43.52	39.33
	3.0	74.40	15.36	16.83
	3.5	58.00	—	2.00
	4.0	23.32	—	—

60.76%. The metal solubilisation efficiency was calculated at a time when metal concentration in solution reached its maximum value. At lower pH, relatively higher solubilisation of zinc took place immediately after acid addition to the sludge (Table 3). Generally the lower the pH, the less time is required for achieving maximum zinc solubilisation.

The maximum removal rate of zinc was almost attained within the first three hours at pH 2.5 or lower. The time required for maximum removal increased to 20 h at pH 3.5 and 30 h at pH 4 (Fig. 1(a)). These time durations may be considered optimal for the removal of zinc from sludge solids, for each of the respective pH values.

#### *Lead*

Removal of lead from sludge at pH 3 was much lower than at pH 1.5 or 2.5 (Fig. 2(a)). Solids concentration effects on lead removal were also the most evident of all metal solubilisation investigated at pH 1.5 and 2 (Fig. 2(b) and (c)). Maximum lead removal was 86% at pH 1.5 and solids concentration 0.5%. The maximum efficiency of Pb removal decreased with increased solids concentration and pH (Table 2). The length of time necessary to

**TABLE 3**  
Initial Metal Solubilisation

pH	Sludge solids concentration (%)	Metal		
		Zn Solubilisation (%)	Pb Solubilisation (%)	Cn Solubilisation (%)
1.5	5	—	21.5	0.0
	15	52.0	7.1	0.0
	21	37.2	5.1	0.0
	35	37.9	4.9	0.0
	45	29.5	—	0.0
2.0	5	—	0.0	0.0
	15	26.0	0.0	0.0
	21	—	0.0	0.0
	35	20.1	4.3	0.0
	45	22.0	—	—
2.5	21	11.1	0.0	0.0
	3.0	7.4	0.0	0.0
	3.5	3.7	—	—
	4.0	3.7	—	—

approach the maximum lead solubilisation varied, ranging from 7 to 25 h depending on the pH and solids concentrations. As is clear from Table 3, initial (immediately after acid addition) solubilisation of lead was less than that of zinc.

#### Copper

The pattern of copper solubilisation with respect to time was somewhat different from the pattern of the previous metals. As shown in Fig. 3(a)-(c), copper was not solubilised until 2 h after acid addition at pH 1.5. As the pH was increased the lag time for copper solubilisation was increased. At pH 3, copper in solution was not observed until 10 h. At pH 3.5 the copper concentration in solution was less than 1 mg litre<sup>-1</sup> until 50 h (not shown in the Figure). Similar results have been reported by Wozniak & Huang (1982) on secondary activated sludge. They found that Cr, Ni and Zn were removed in large amounts immediately after acid addition. But initial removal of Cd, Cu and Pb usually represented less than 10% of the maximum value under given conditions of pH and solids concentration. McNulty *et al.* (1977) also observed that zinc and nickel were most readily solubilised with an efficiency of 91% and 36%, respectively, only 3-4% of the chromium and lead were extractable and no appreciable amount of copper was solubilised with the hot acid treatment process. Overall copper solubilisation was found to

*Heavy metals removal from anaerobically digested sludge*

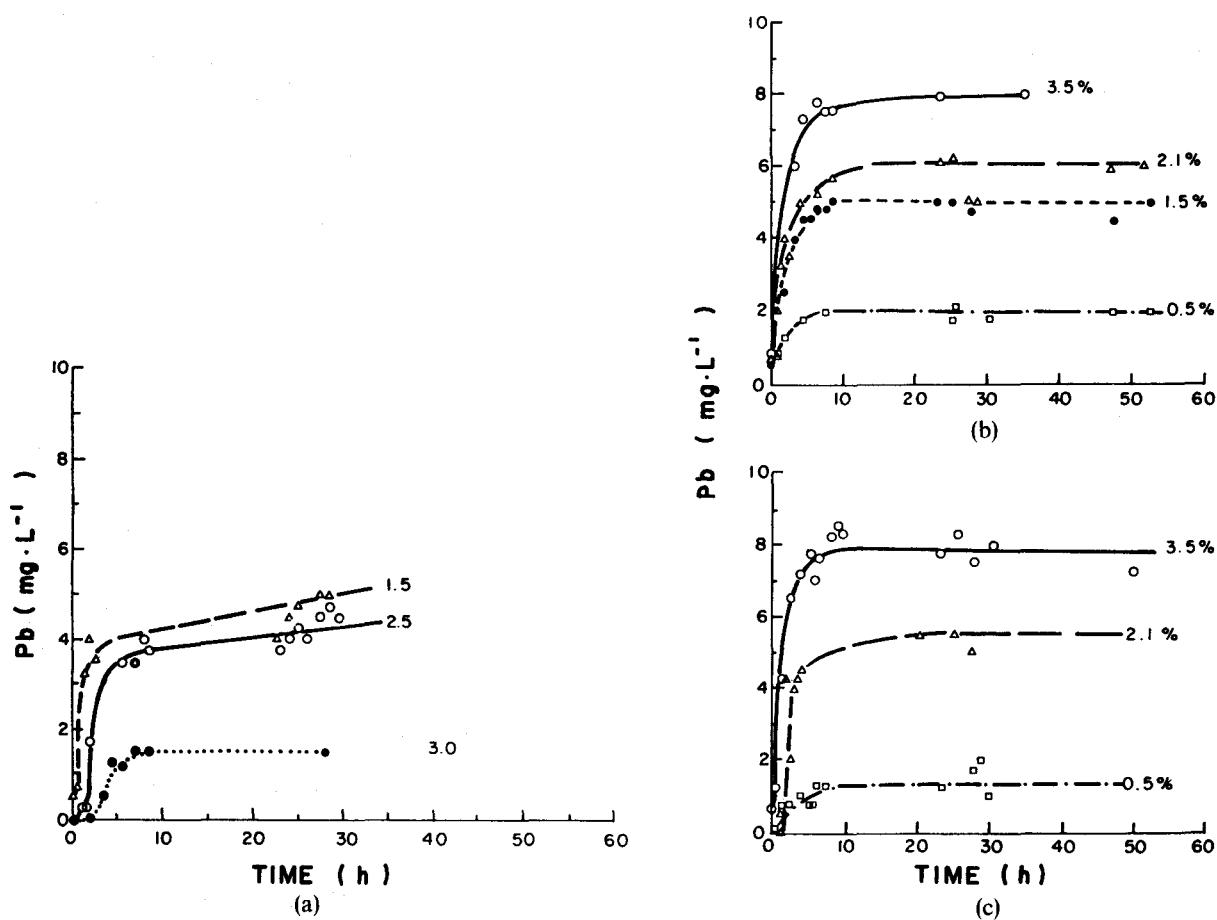
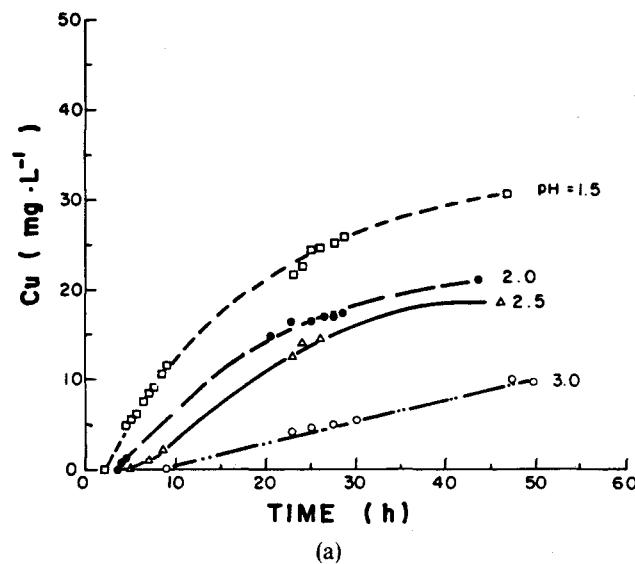
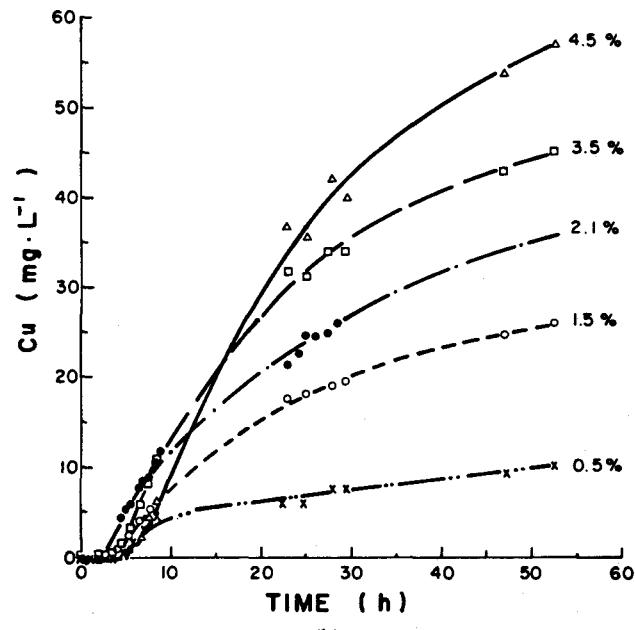


Fig. 2. (a) Solubilisation of lead at different pH (sludge concentration =  $21\text{ g litre}^{-1}$ ); (b) and (c) solubilisation of lead from anaerobically digested sludge.



(a)



(b)

Fig. 3. (a) Solubilisation of copper at different pH (sludge concentration = 21 g litre<sup>-1</sup>); (b) and (c) solubilisation of copper from anaerobically digested sludge, pH = 1.5 and 2.0, respectively.

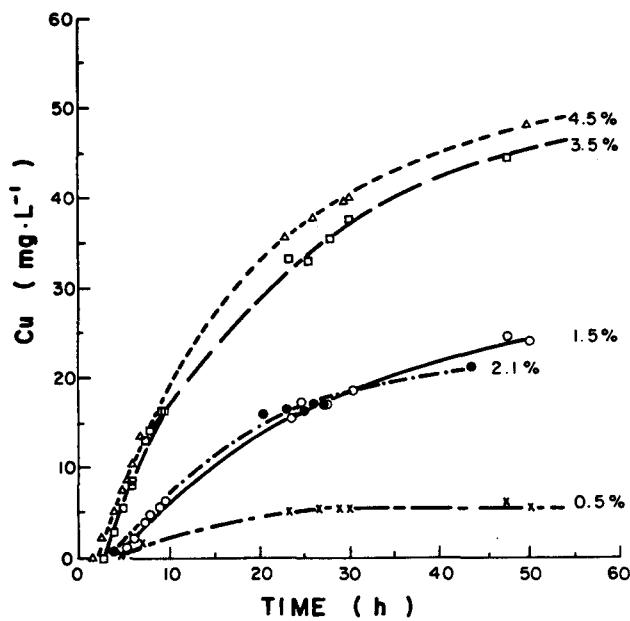


Fig. 3—contd.

decrease with increased pH. At any given pH, increased solids concentration decreased the maximum metal solubilisation. Longer times are required to solubilise copper than zinc and lead. The effects of solids concentration on metal solubilisation were also more pronounced for copper than for zinc or lead. Solids concentration effects decreased considerably by lowering the pH. This observation reflects the nature or form of the Cu in the sludge.

Low solubility of sludge copper may be due to an organic complex. Oliver & Carey (1976) have suggested that Cu exists as an organic complex in sludge. The strong affinity of Cu for the organics of sludge was demonstrated by Cheng *et al.* (1973). The strong complexing power of  $\text{Cu}^{2+}$  relative to other metals has been demonstrated using amino diacetic acid, a chemical structure similar to the complexing sites of waste proteinaceous matter in sludge. The copper release profile, studied by Hayes *et al.* (1980) for AATD, raw sludge and anaerobically digested sludge, also showed a definite lag before measurable solubilisation was observed. This is in agreement with the pattern of copper solubilisation in the present investigations. However, the lag observed by Hayes *et al.* (1980) was minimum for AATD sludge and was found to increase for anaerobic sludge at pH 2.0 acidified with nitric acid. This behaviour is not easily explained solely on the basis of discrete precipitate solubilisation but rather suggests the possibility that other mechanisms of heavy metal immobilisation, such as complexation to

organic solids, coprecipitation, protective organic entrapment of precipitates and intracellular uptake, may exert some control over metal solubilisation in acidified sewage sludges.

### Microbiological process

The results of pH variation during batch experiments are shown in Fig. 4. Initially the pH tends to rise and then decreases gradually. The initial sulphur content of the sludge was found to be 19.8 g per kg of sludge on a dry weight basis. The initial sulphate concentration in the supernatant after centrifugation of sludge was found to be 53 mg litre<sup>-1</sup>. There was a net increase in sulphate concentration during microbial leaching (660–1450 mg litre<sup>-1</sup>) and the final level of sulphate concentration was dependent on the pH at the end of each run. This is also in agreement with the observation of various workers for bacterial leaching of metals from anaerobically digested sludge using *T. ferrooxidans* alone (Wong & Henry, 1983; Schönborn & Hartmann, 1978). The decrease in pH therefore can be attributed to the oxidation of sulphides to sulphates and by generation of acid according to eqn (2). An increase in the initial pH was observed in the control run. The pH fell much faster in the reactor inoculated with *T. ferrooxidans* than in the control run because mineral sulphides were oxidised more rapidly in the presence of these bacteria. The rate of pH fall was further increased when mixed culture of *T. ferrooxidans* and *T. thiooxidans* was

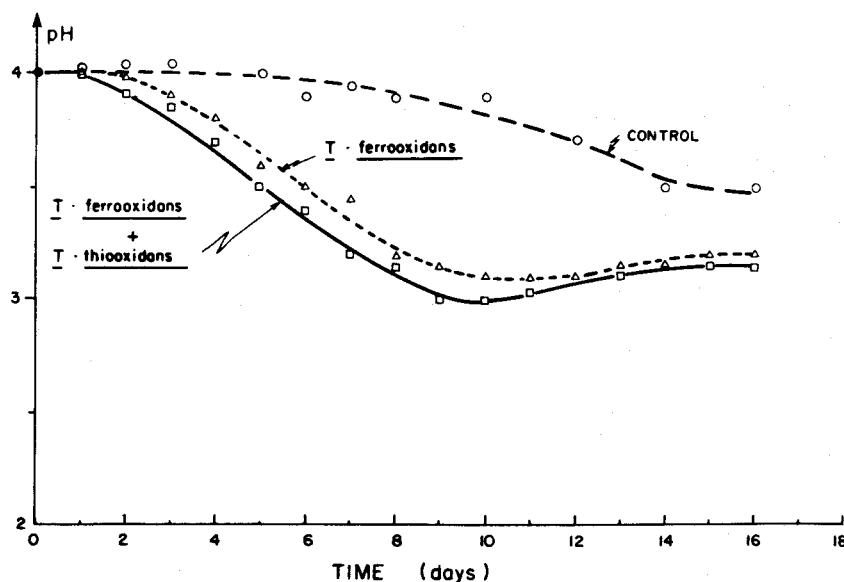


Fig. 4. Variation of pH during bacterial leaching in batch culture.

used. The final pH dropped to a level of 3.0, 3.1 and 3.5 in mixed culture, *T. ferrooxidans* culture and control runs, respectively. The time required to achieve this in three cases was observed to be 9, 10 and 15 days, respectively.

Torma (1971) demonstrated that microbiological oxidation of sulphides of some metals was preceded by a lag phase during which the pH of the leach solutions tended to rise due to the formation of elemental sulphur (i.e. acid requiring reaction) followed by bacterial oxidation of sulphur. Therefore a rapid decrease of pH with *T. ferrooxidans* and mixed culture may be attributed to the faster oxidation of elemental sulphur produced during the lag period reaction. *T. thiooxidans* is known to have constitutive oxidising enzymes; whereas *T. ferrooxidans* needs an adaptation time before it could oxidise the elemental sulphur furnishing hydrogen ions (Andrews & Maczuga, 1982). This could be the possible explanation for rapid decrease in pH for mixed culture experiment.

The per cent solubilisation of copper during microbial leaching is shown in Fig. 5. No metal solubilisation was observed during pH adjustment of the sludge. It took about 9 days before the measurable copper concentration was detected in the soluble form. The increase in metal solubilisation occurred with the decrease in pH of the culture medium. The maximum solubilisation occurred between the 10th and the 12th day of batch culture. Similar observations were obtained with respect to each of the metals tested. The analysis of metals in sludge and in the liquid portion after leaching is

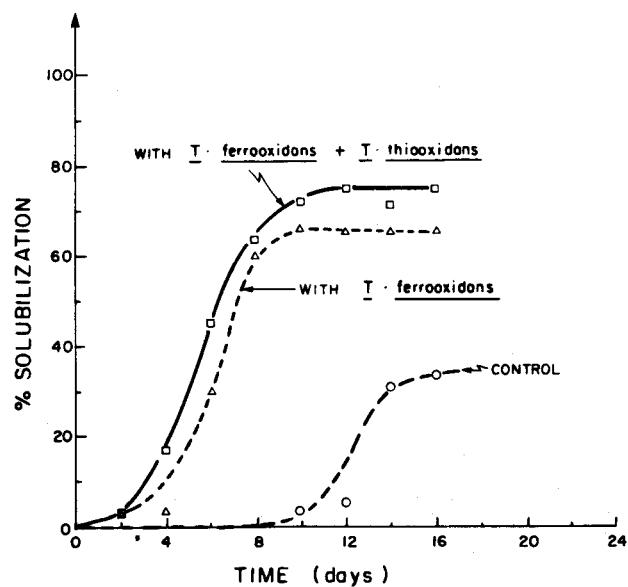


Fig. 5. Solubilisation of copper from anaerobically digested sludge.

TABLE 4  
Metals in Sludge after 12 Days of Microbial Leaching

Metal	Control		T. ferrooxidans		T. ferrooxidans + T. thiooxidans	
	Solid fraction (mg kg <sup>-1</sup> )	Liquid fraction (mg litre <sup>-1</sup> )	Solid fraction (mg kg <sup>-1</sup> )	Liquid fraction (mg litre <sup>-1</sup> )	Solid fraction (mg kg <sup>-1</sup> )	Liquid fraction (mg litre <sup>-1</sup> )
Zn	128	13.0	64	17.3	19.2	18.8
Pb	440	1.5	276	5.2	253	6.2
Cu	1610	20.1	805	44.8	575	51.7
Cd	7.0	0.075	6.0	0.12	5.0	0.15

presented in Table 4. The rate of metal removal was minimum in the control run and maximum in the mixed culture experiment. The yield of metal solubilisation was about 10% higher in mixed culture as compared to that of single culture of *T. ferrooxidans*. The maximum metal solubilisations observed in control, single culture and mixed culture experiments are indicated in Table 5. Analyses of Ni and Cr were also made but their solubilisation was found to be negligible. The initial concentration of these metals in the sludge was found well below the limits permitted by regulations. Having achieved 75% removal of copper during mixed culture and 65% removal during *T. ferrooxidans* culture brings its concentration below the required limit.

#### Acid requirements

The volume of 1N sulphuric acid required to adjust the pH at 21 g litre<sup>-1</sup> solids concentration is shown in Fig. 6. Initial pH of the sludge was 7. The

TABLE 5  
Maximum Metal Solubilisation during Microbial  
Leaching

	Percentage of initial metal concentration			
	Zn	Cd	Pb	Cu
Control	80	25	15	35
<i>T. ferrooxidans</i>	90	40	47	65
<i>T. ferrooxidans</i> +	97	50	55	75
<i>T. thiooxidans</i>				

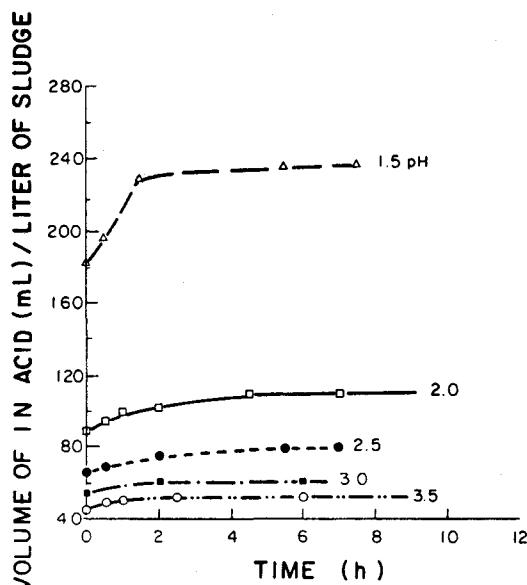


Fig. 6. Requirement of sulphuric acid (sludge solids = 21 g litre<sup>-1</sup>).

acid requirement depends upon both the desired pH and the solids concentration. Acid requirement tends to increase with time. Rapid consumption of acid was observed for the first 3 h followed by slow acid consumption until 8 h. This indicates that, over a 7–8 h time period some chemical reaction occurs between the acid and the sludge constituents. The acid might be consumed in the hydrolysis of polysaccharides making up the cellular material of the biomass within the sludge or some other possible reactions. The acid requirements to adjust the pH of secondary activated sludge are reported to be much higher by Wozniak & Huang (1982) compared to those other workers and recorded in this work (Table 6). This difference in acid consumption is not clear but may be due to the nature of the secondary activated sludge used by Wozniak & Huang (1982). A much larger amount of acid is required for the adjustment of pH 1.5 than the pH 2. But the metal removal efficiency is lower at pH 2 than at pH 1.5.

The amount of acid required per unit weight of sludge solids treated (acidification efficiency) is presented in Fig. 7. This amount has been calculated from the total quantity of acid added until the pH was constant. For a given pH, Fig. 7 indicates that the amount of acid required generally decreased with the sludge solids concentration. The decrease in acid requirement was much larger at pH 1.5 when the solids concentration was increased from 0.5% to 3.5%. The increase was much less at pH 2 in the similar range of solids concentration. The comparison of acid requirements by various workers using different sludges is presented in Table 6.

**TABLE 6**  
Comparison of Acid Requirements

<i>pH</i>	<i>Solids</i> (%)	<i>Acid requirements:</i> <i>equivalent H<sup>+</sup> per gram of dry sludge</i>			
		<i>Wozniak &amp; Huang (1982)</i>	<i>This work</i>	<i>Jenkins et al. (1981)</i>	<i>Salotto (1982)</i>
1.5	1.0	7.0	0.026	—	—
	1.5	6.0	0.0146	—	—
	2.0	5.8	0.0122	—	—
	1.0	3.7	0.0068	—	—
	1.5	3.6	0.0052	—	—
	2.0	3.5	0.005	—	—
2.0	0.4	—	—	0.0102	—
	—	—	—	—	0.0059
	4.0	30	0.0034 <sup>a</sup>	—	—

<sup>a</sup> Acid requirements in microbial leaching.

The acid requirements per gram of sludge are lowest in microbial processes compared to the acid treatment process tested in these investigations and those by other workers. The requirements of acid are generally higher for waste secondary sludge used by other workers compared to the anaerobically digested sludge.

Using a figure of \$52.37 per metric tonne sulphuric acid, the costs of acid required for this work and for other workers are presented in Table 7. For the present investigation it is necessary to remove the copper by 75%. To achieve this a pH of 1.5 has to be used (for acid treatment process) with a solids concentration of less than 35 g litre<sup>-1</sup> (Table 2). The quantity of acid required under these conditions will be 6.12 moles of sulphuric acid per kilogram of dry solids and is equivalent to \$31.42 per tonne of dry sludge solids. It is clear from Table 7 that in terms of acid cost the microbial process is the most economical followed by the hot acid treatment process (Salotto, 1982). However, the hot-acid process has associated disadvantages such as solubilisation of nitrogen, phosphorus and organic matter of the sludge to varying degrees. This decreases the fertiliser value of the treated sludge. It has been established that sludge does not lose its fertiliser value during the microbial leaching process (Wong & Henry, 1984).

The metals were recovered from the leachate by the addition of lime. In order to precipitate 95% of metals in solution, pH 10 or above was found to be necessary. The lime dosage to increase the pH from 3.5 to 10 was found to be 1.3 g of lime per litre of leachate or 0.0736 g of lime per gram of dry sludge

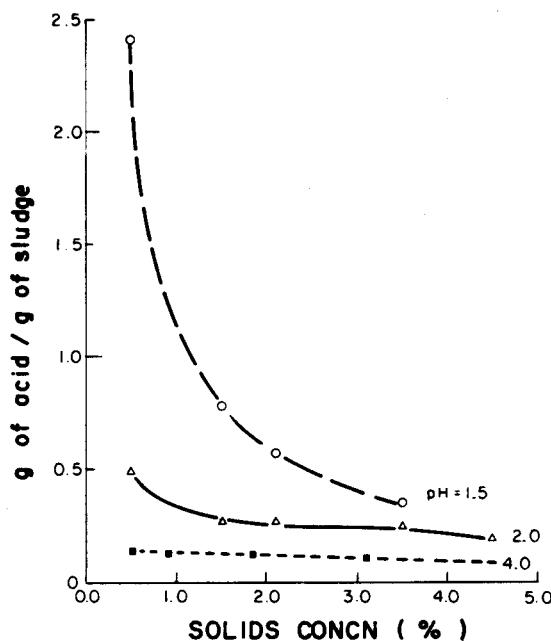


Fig. 7. Acid requirement per unit weight of sludge.

TABLE 7  
Acid and Alkali Costs for Metals Removal

Type of sludge/process	Acid cost (\$ per dry metric tonne)	Lime requirement (gram of lime per gram of dry sludge)	Cost of lime (\$ per metric tonne)	Total chemical cost (\$ per tonne)	References
1 Primary sludge	25.9	—	—	—	Jenkins <i>et al.</i> (1981)
2 Primary digested sludge	37.1	0.5	44.1	81.2	Jenkins <i>et al.</i> (1981)
3 Digested sludge (microbial leaching)	8.5	0.0736	6.5-7.5	15.1	This work
4 Digested sludge (acid treatment)	31.4	—	—	—	This work
5 Primary and waste activated sludge (hot acid process)	14.7	—	—	—	Salotto (1982)

solids. A large quantity of lime is required to raise the pH during the acid treatment process (Jenkins *et al.*, 1981). Using a hydrated lime cost of \$44.0 per metric tonne, an added chemical cost of \$44.1 per dry metric tonne was shown for the acid treatment process (Jenkins *et al.*, 1981). Whereas, only \$6.5  $\approx$  7.5 per metric tonne is required in terms of lime to precipitate metals from microbially leached leachate (Table 7). Thus in terms of chemical use the microbial process represents only one fifth the cost of the acid treatment process. In addition to these chemical costs, additional costs, in terms of mixing, holding tank construction, operation maintenance, etc. will be added to have the final values.

## CONCLUSIONS

The following conclusions can be drawn:

- Efficiency of metal removal depends upon pH, sludge solids concentration and length of acidification time.
- The copper concentration can be reduced to an acceptable level at pH 1.5 or lower and at solids concentrations less than 35 g litre<sup>-1</sup>. On the contrary, in the microbial process, copper can be decreased to acceptable levels at a comparatively higher pH(4–3).
- A mixed culture process gave 10% higher metal solubilisation compared to a single culture of *T. ferrooxidans*.
- Considerably lower amounts of acid and lime were required in the microbial process. As a result, the cost of sludge treatment in terms of chemicals was 80% lower in microbial leaching than in the chemical process. However, additional cost factors have to be included in the final cost estimation.

## ACKNOWLEDGEMENTS

Sincere thanks are due to I. Piché for collecting the samples from wastewater treatment plant and performing the experiments. Thanks are also due to Professor J. C. Auclair and A. Tessier for reading the manuscript and providing useful suggestions. This research was made possible through grants from Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (grants A3711 and A4984), the Ministère de l'Éducation of the Province of Québec (grant FCAR 87-AS-2462) and the Programmes de développements académiques du réseau de l'Université du Québec (Québec).

## REFERENCES

- Andrews, G. F. & Maczuga, J. (1982). Bacterial coal desulfurization, *Biotechnol. Bioeng. Symp.*, **12**, 337-48.
- Bloomfield, C. & Pruden, G. (1975). The effects of aerobic and anaerobic incubation on extractability of heavy metals in digested sludge, *Environ. Pollut.*, **8**, 217-32.
- Chaney, R. L. (1973). Crop and food chain effects of toxic elements in sludges and effluents on land. National Association of State Univ. and Land-Grant Colleges, Washington, DC, 129.
- Cheng, M. H., Patterson, J. W. & Minear, R. A. (1973). Investigation of heavy metals sludges complexation constants by cation exchange, *Proc. Am. Chem. Soc. Cong., Chicago, Ill., Environ. Chem. Div.*, **13**(2), 14-24.
- Cornwell, D. A., Westermoff, G. P. & Cline, G. C. (1980). Batch feasibility testing of heavy metals removal from wastewater sludge with liquid-ion exchange, *Proc. Mid Atlantic Waste Conf.*, 12 TM Bucknell Univ., Lewisburg, P. A., Jul. 13-15, 111-119.
- Flynn, F., Jalbert, J. M., Robert, J., St-Yves, A., Terrault, A. & Trudel, G. (1984). Rapport sur la qualité des boues des stations d'épuration et autres boues. Gouvernement du Québec, Ministère de l'Environnement, août.
- Hayes, T. D. & Theis, T. L. (1978). The distribution of heavy metals in anaerobic digestion, *J. Water Pollut. Control Fed.*, **50**(1), 61-72.
- Hayes, T. D., Jewell, W. J. & Kabrick, R. M. (1980). Heavy metals removal from sludges using combined biological/chemical treatment, *Proc. 34th Ind. Waste Conf.*, Purdue Univ., West Lafayette, Indiana, 529-43.
- Jenkins, R. L., Benjamin, J. S., Marvin, L. S., Rodger, B., Lo, M. P. & Huang, R. T. (1981). Metals removal and recovery from municipal sludge, *J. Water Pollut. Control Fed.*, **53**(1), 25-32.
- Lacey, D. T. & Lawson, F. (1970). Kinetics of liquid-phase oxidation of acid ferrous sulfate by the bacterium *Thiobacillus ferrooxidans*, *Biotechnol. Bioeng.*, **XII**, 29-50.
- Leeper, G. W. (1972). Reactions of heavy metals with soils with special regard to their application in sewage wastes. Special Report prepared for the US Army Corps of Engineers, Washington, DC.
- Lester, J. N., Sterrit, R. M. & Kirk, P. W. (1983). Significance and behaviour of heavy metals in waste water treatment processes. II. Sludge treatment and disposal, *The Science of Total Environ.*, **30**, 45-83.
- Logan, T. J. & Chaney, R. L. (1983). Utilization of municipal wastewaters and sludges on land-metals. *Proc. Workshop on utilization of municipal wastewater and sludges on land. Denver, Co.*, 235-326, 23-25 Feb.
- McNulty, K. J., Malarkey, A. T., Goldsmith, R. L. & Fremont, M. A. (1977). Development of a new process for sludge conditioning. Paper presented at the National Conference on Composting of Municipal Residue and sludge, Rockville, Md., August 23-25.
- Oliver, B. G. & Carey, J. H. (1976). Acid solubilization of sewage sludge and ash constituents for possible recovery, *Water Res.*, **10**, 1077-81.
- Olver, J. W., Kreye, W. C. & King, P. H. (1975). Heavy metal release by chlorine oxidation of sludge, *J. Water Pollut. Control Fed.*, **47**, 2490-7.

- Salotto, B. V. (1982). Engineering assessment of hot acid treatment of municipal sludge for heavy metals removal. US Environment Protection Agency. EPA-600/52-82-014.
- Schönborn, W. & Hartmann, H. (1978). Bacterial leaching of metals from sewage sludge, *Europ. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **5**, 305-13.
- Scott, D. S. & Horlings, H. (1979). Removal of phosphates and metals from sewage sludges, *Environmental Sci. and Technol.*, **9**(9), 849-55.
- Standard Methods for Examination of Water and Wastewaters* (1980). (15th edn), Am. Public Health Assoc., Washington, DC.
- Theis, T. L. & Hayes, T. D. (1978). Chemistry of heavy metals in anaerobic digestion. In: *Chemistry of wastewater technology*, ed. by A. J. Rubin, Ann Arbor Science Publishers Inc., Ann Arbor, MI, 403-19.
- Torma, A. E. (1971). Microbiological oxidation of synthetic cobalt, nickel and zinc sulfides by *Thiobacillus ferrooxidans*, *Revue Canadienne de Biologie*, **30**, 209-16.
- Wong, L. & Henry, J. G. (1983). Bacterial leaching of heavy metals from anaerobically digested sewage sludge, *Water Pollut. Res. J. Canada*, **18**, 151-62.
- Wong, L. & Henry, J. G. (1984). Biological removal and chemical recovery of metals from sludges. *Proc. 39th Ind. Waste Conf. Purdue Univ. West Lafayette, Indiana*, 515-20.
- Wozniak, D. J. & Huang, J. Y. C. (1982). Variables affecting metals removal from sludge, *J. Water Poll. Control Fed.*, **54**, 1574-80.

# ALTERNATIVE À LA GESTION DES BOUES RÉSIDUAIRES MUNICIPALES: RECYCLAGE EN SYLVICULTURE

Denis Couillard<sup>1</sup> et Yvon Grenier<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Professeur, Institut National de la recherche scientifique (INRS-Eau), C.P. 7500, Sainte-Foy, Québec, Canada, G1V 4C7

<sup>2</sup> Consultant en valorisation de boues résiduaires, 65, rue des Commissaires est, Québec, Québec, Canada, G1K 2N5

## RÉSUMÉ

*Les boues résiduaires d'usine d'épuration des eaux usées peuvent constituer un excellent fertilisant forestier, ce qui augmente les rendements de production de matière ligneuse et offre en même temps une avenue pour écouter ce produit. Cette revue de littérature rapporte quelques résultats d'augmentation de production de biomasse forestière à l'aide de fertilisants chimiques et de boues résiduaires, allant jusqu'à 1 140% après 4 mois pour une expérience en serre menée sur des semis de mélèze laricina. Différents clients qui pourraient utiliser les boues sont présentés, laissant voir les possibilités de leur recyclage qui s'inscrit bien dans la gestion intégrée du territoire.*

**Mots-clés:** gestion, boues résiduaires municipales, recyclage, sylviculture.

## ABSTRACT

*Forest land application of municipal wastewater sludge enhances the production of lignocellulosic materials and represents a promising sludge management alternative to disposal in the environment. The present literature review reports some forest biomass increase of yield with sludges applications compared to chemical fertilizers application. As much as 1 140% increase was observed after 4 months growth of tamarack larch in greenhouse studies. Sludge recycling by different users could be a part of an integrated program of land management.*

**Keywords:** sludge, forest, wastewater, municipal, recycling, land management.

## INTRODUCTION

Les sociétés industrialisées produisent de nombreux déchets et leur accumulation dans l'environnement occupe de plus en plus de surface (dépotoirs, sites d'enfouissement sanitaire). Ces lieux peuvent être considérés comme de la pollution «concentrée» et pourraient éventuellement devenir «sources» potentielles de matières premières. Par exemple, les déchets miniers, les dépôts de verre, métaux, plastiques et cendres, etc. (Couillard, 1982a; 1983a; 1986) seraient exploitables dans l'avenir avec d'autres technologies ou des contextes socio-économiques différents.

Il y a aussi la dispersion diffuse de polluants dans l'environnement, par exemple les émissions gazeuses ( $\text{NO}_x$ ,  $\text{SO}_x$ ) les rejets d'égouts domestiques, industriels et agricoles dans les lacs et cours d'eau. La situation est devenue telle qu'il

est parfois impossible de trouver un plan d'eau propice à la baignade près des lieux d'habitation.

Le citoyen réclame de plus en plus vivement un environnement de qualité (Couillard, 1982b, 1983b). Lui-même étant souvent un pollueur inconscient, il demande aux autorités de régler le problème de façon collective. Ainsi, depuis quelques années, des programmes d'amélioration des conditions de vie et de l'environnement en général ont fait leur apparition. Pour s'attaquer plus spécifiquement au problème de la pollution de l'eau, les gouvernements ont mis sur pied des programmes d'assainissement des eaux usées (Crowley et al., 1986).

L'objectif de cette intervention est fort louable, mais sa contrepartie inévitable est la génération de boues résiduaires. Celles-ci peuvent être considérées comme un déchet. Si elles sont enfouies, incinérées ou rejetées à la mer, le problème n'est pas réglé mais simplement déplacé. De plus, c'est une perte de matière potentiellement utilisable. La seule avenue prometteuse concernant les boues résiduaires est leur recyclage dont une des voies les plus encourageantes est leur valorisation agricole (Environnement Canada, 1985; Gouvernement du Québec, 1984; EPA, 1979) ou sylvicole (Grenier, 1985).

Parallèlement, la production de biens de consommation a besoin de ressources. Aussi, c'est près des lieux de production et de transformation qu'elles furent d'abord trouvées. Puis, peu à peu, leur épuisement local a amené leur exploitation de plus en plus loin. Le bois est un bon exemple de cette situation. Certaines usines de pâtes et papiers et de sciage s'approvisionnent à des centaines de kilomètres de leurs lieux d'opérations. Cette pression sur la ressource se voit augmentée quand la production de biomasse forestière en courtes rotations est envisagée. Indéniablement, de telles pratiques nécessitent des fertilisants car la nature ne pourra suffire seule à la tâche. Les fertilisants chimiques coûtent cher et il serait intéressant de pouvoir les remplacer. En agriculture, depuis des millénaires, les fumiers d'animaux ont été utilisés et ont produit de bons résultats. Ainsi est venue l'idée d'utiliser les boues résiduaires comme fertilisant car une certaine comparaison a été établie entre elles et les fumiers (Pommel, 1979), même si ces produits sont différents.

Le problème de la gestion des boues résiduaires et les besoins de plus de matière ligneuse près des centres de transformation et de consommation se font sentir actuellement. Donc, étant animé par le désir de réaliser le maximum de recyclage, il paraît naturel de vérifier si les objectifs de la gestion des boues résiduaires et de l'augmentation des rendements des forêts sont conciliables. L'avantage principal de la valorisation sylvicole sur la valorisation agricole est que la matière ligneuse produite ne fait pas partie de la chaîne alimentaire humaine. Les risques associés à la transmission de pathogènes ou d'agents toxiques (métaux et composés synthétiques) sont donc écartés, ce qui n'est pas le cas si les boues sont utilisées pour produire des biens destinés directement ou indirectement à l'alimentation humaine.

## AUGMENTATION DES RENDEMENTS DUS À LA FERTILISATION

À l'opposé des cultures agronomiques, la fertilisation de forêts naturelles ou artificielles n'est pas essentielle en soi pour leur croissance. Généralement, les surfaces boisées ne sont pas fertilisées (Crites, 1984). Cependant, la production de matière ligneuse est augmentée quand cette activité est pratiquée (Cole, 1981; Morrison, 1974). Les fertilisants accélèrent la croissance chez la plupart des espèces forestières (Vézina et Roberge, 1981; Gagnon, 1974). Ainsi, la fertilisation pourrait être un outil adéquat lorsqu'on désire retirer plus de ressources du milieu sans devoir agrandir le territoire d'exploitation, ou encore pour la production de biomasse en courtes rotations, ce qui exige des fertilisants (Miller, 1983; Blake et Raitenen, 1981). De plus, l'intensité croissante des récoltes, en arbres entiers par exemple, signifie nécessairement un plus grand enlèvement des éléments nutritifs du site (Hornbeck et Kropelin, 1982; Patrick et Smith, 1975).

Les forêts croissant sur les sols les plus pauvres sont les plus susceptibles de réagir positivement à la fertilisation (Roberge et al., 1980). Le facteur important à considérer est l'écart qui existe entre le capital en éléments nutritifs présents et assimilables dans le sol et ce qui est ajouté artificiellement en fertilisants chimiques ou organiques.

### Augmentation des rendements avec des fertilisants chimiques

De nombreuses expériences de fertilisation forestière ont été tentées de par le monde et les résultats sont positifs: une production (mètres cubes à l'hectare) plus élevée est obtenue sur les parcelles fertilisées que sur celles qui ne le sont pas. L'azote a été identifié comme l'élément nutritif le plus souvent déficient (Vézina et Roberge, 1981). Donc, c'est surtout avec des fertilisants riches en azote que les expériences ont été menées: par exemple de l'urée (Groupe de Recherches Interdisciplinaires en Fertilisation des Forêts, 1977) ou du nitrate d'ammonium.

Gagnon (1973) rapporte que des sapinières ont été fertilisées à l'urée à une dose de 224 kg N/ha. Après 4 ans, il observe des augmentations de l'accroissement annuel moyen en diamètre allant jusqu'à 3,7%. Cette augmentation pourrait atteindre 10% après 10 ans si le rythme de croissance se maintenait. Il rapporte aussi que l'effet de l'urée se répercute sur plusieurs années et que l'optimum n'a pas nécessairement été atteint.

Roberge et al. (1980) donnent suite à cette étude et rapportent des résultats après 10 ans. Les parcelles fertilisées avec 224 kg N/ha ont donné un volume marchand supérieur de 19 m<sup>3</sup>/ha par rapport aux parcelles-témoins; ce qui représente 23% de plus. Selon ces auteurs, la quantité optimale d'azote à ajouter à ces sapinières pour avoir une augmentation maximale en volume marchand serait inférieure à 224 kg N/ha.

Veilleux et Sheedy (1978) rapportent des résultats positifs sur la fertilisation de sapinières en Gaspésie. Ainsi, avec une dose de 112 kg N/ha sous forme d'urée, ils obtiennent des augmentations moyennes de surface terrière de 0,8 m<sup>2</sup>/ha et 5,8 m<sup>3</sup>/ha pour le volume total après 5 ans. Ces valeurs passent à 1,2 m<sup>2</sup>/ha et 8,7 m<sup>3</sup>/ha respectivement quand la dose d'azote est portée à 224 kg N/ha incluant un ajout de 112 kg K/ha sous forme de KCl. Des valeurs intermédiaires de 1,0 m<sup>2</sup>/ha et 7,4 m<sup>3</sup>/ha sont rapportées avec des doses de 224 kg N/ha sous forme d'urée.

Sheedy (1982) rapporte des résultats semblables pour des stations de pins gris (*Pinus divaricata* (Ait.) Dumont) fertilisées avec 150 kg N/ha sous forme d'urée. Après 5 ans, la hauteur des arbres fertilisés était supérieure de 21% sur celle des témoins et le diamètre moyen était supérieur de 30%.

Ces quelques expériences permettent de constater l'effet positif des fertilisants chimiques sur les augmentations en hauteur et diamètre qui se traduisent par des augmentations en volume de matière ligneuse. La fertilisation chimique est donc un traitement sylvicole qui permet de récupérer plus de bois par hectare par rapport à une forêt qui se développe naturellement.

### Augmentation des rendements avec des boues résiduaires

Il ne se fait presque rien à grande échelle aux États-Unis (EPA, 1983) et relativement peu de travaux de recherche ont été faits sur l'application de boues résiduaires dans les forêts (Crites, 1984). Cependant, les quelques expériences dont les résultats sont disponibles sont encourageantes.

Au Québec, Gagnon (1972; 1974) a appliqué 560 kg/ha de boue digérée anaérobiquement (base sèche) dans une plantation d'épinette blanche (*Picea glauca* (Moench) Voss.) de 10 ans établie sur un sol sablonneux de faible fertilité. Le contenu en azote de cette boue était d'environ 1,5%. La croissance en hauteur des arbres fertilisés a dépassé celle des témoins de 7% après 1 an, de 13% après 2 ans, de 20% après 3 ans, de 30% après 4 ans et de 38% après 6 ans.

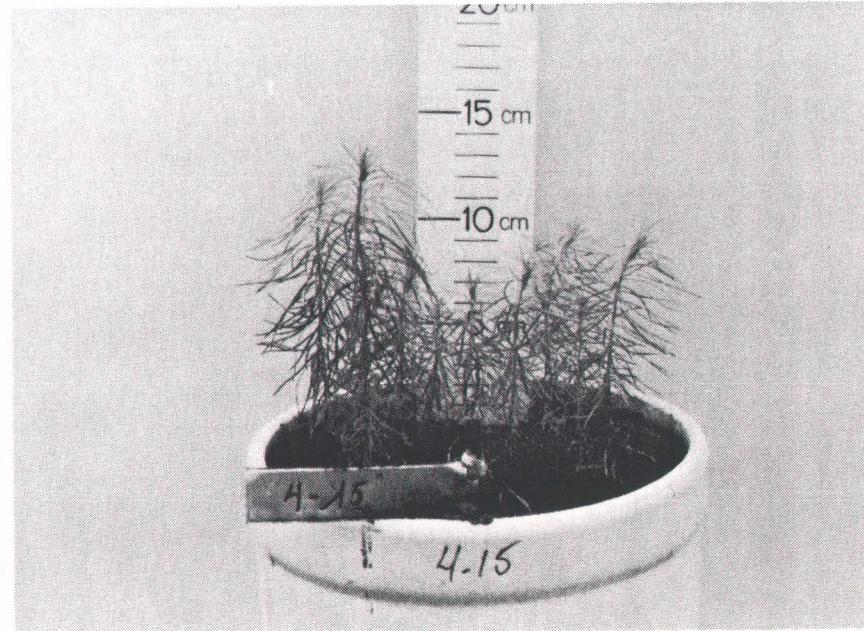
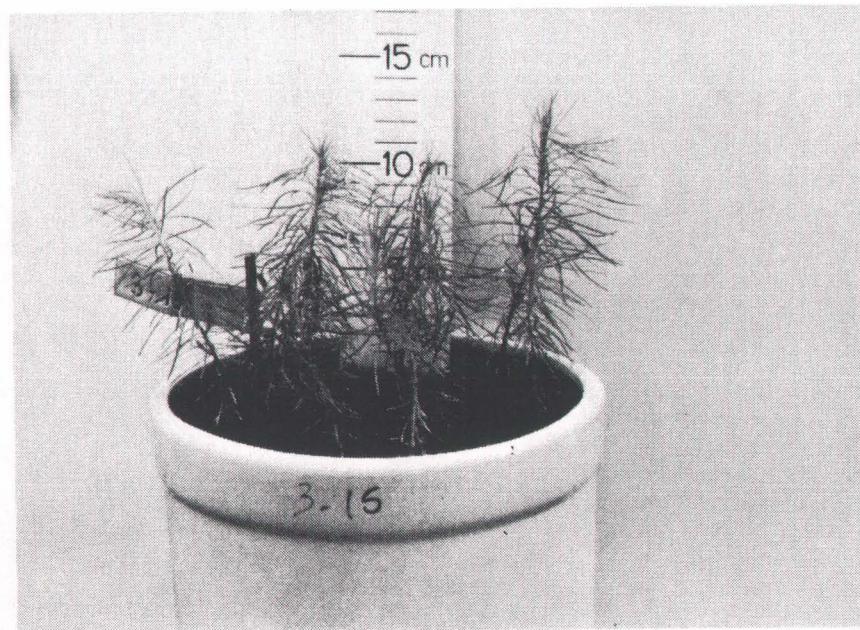
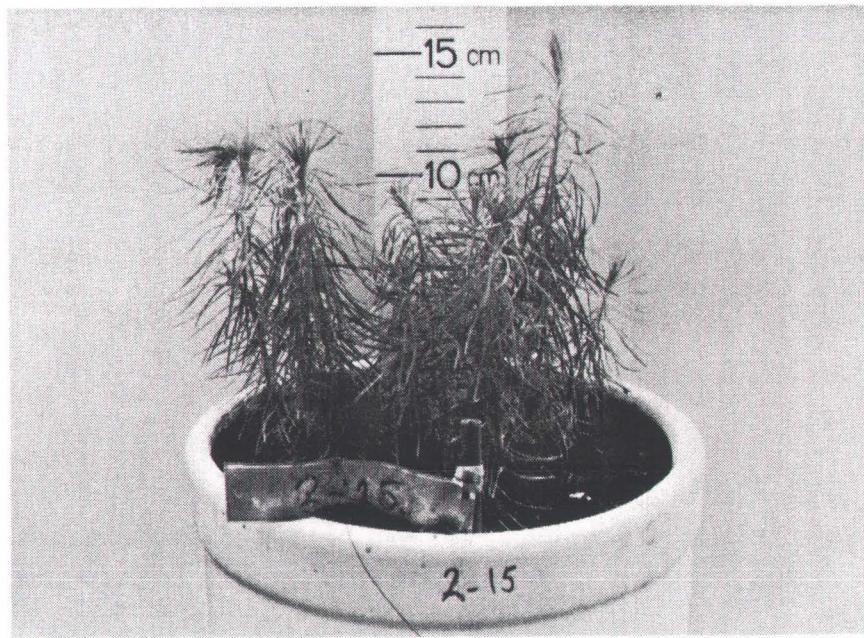
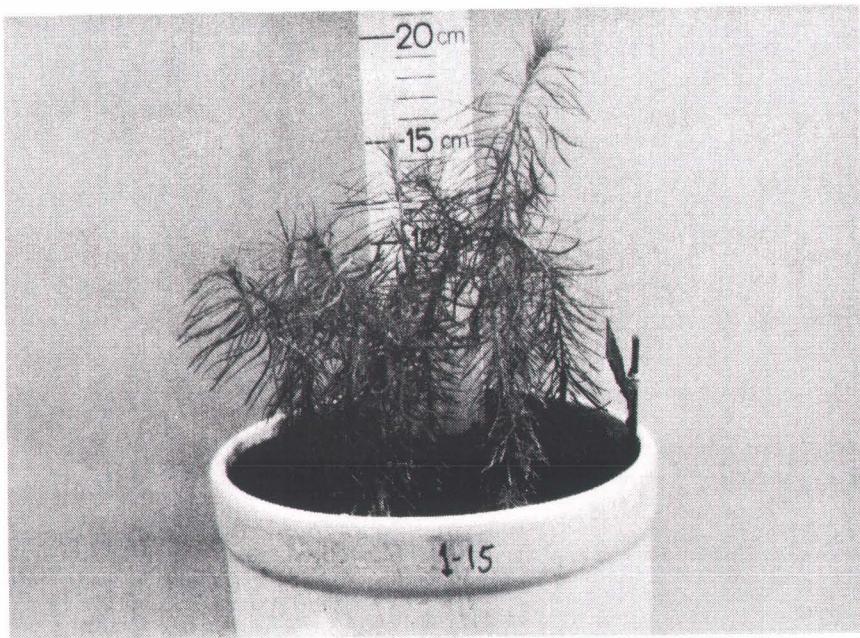
Au Michigan, Brockway (1983) a fertilisé une plantation de pins blancs (*Pinus strobus* L.) avec des boues digérées anaérobiquement. La boue contenait 6% d'azote, 7% de phosphore et 0,15% de potassium. Avec une dose de 4,8 t/ha (4 800 kg/ha), le diamètre à hauteur de poitrine (homme) était de 11% supérieur à celui du témoin après 2 mois de croissance et de 20% supérieur après 14 mois. Avec une dose de 19,3 t/ha (19 300 kg/ha), le diamètre était, après 2 mois, supérieur de 39% par rapport à celui du témoin et cette différence est portée à 47% après 14 mois de croissance.

En ce qui nous concerne, nous avons fertilisé du mélèze laricin (*Larix laricina* Du Roi K. Koch) en serres avec de la boue anaérobiose provenant de l'usine de Valcartier. Les semis, qui avaient été partis de la semence, ont crû sur du sable pur (Grenier, 1985). La boue contenait 4,2% d'azote. Elle a été appliquée en surface, une fois par semaine pendant 17 semaines, à une dose de 600 kg/ha (base sèche). Cela correspondait à 25 kg N/ha-sem. Cette dose cumulative de 425 kg N/ha a donné une croissance supplémentaire sur le traitement-témoin de 350% pour la hauteur et de 240% pour le diamètre. L'intégration de ces deux mesures donne une production de biomasse (tiges et feuilles) de 1 140% supérieure à celle du témoin. Deux jeux de photographies accompagnent ces résultats; les photos 1 à 4 sont celles du traitement discuté ci-haut et les photos 5 à 8 sont celles du témoin, toutes prises à la fin de l'expérience, soit 17 semaines.

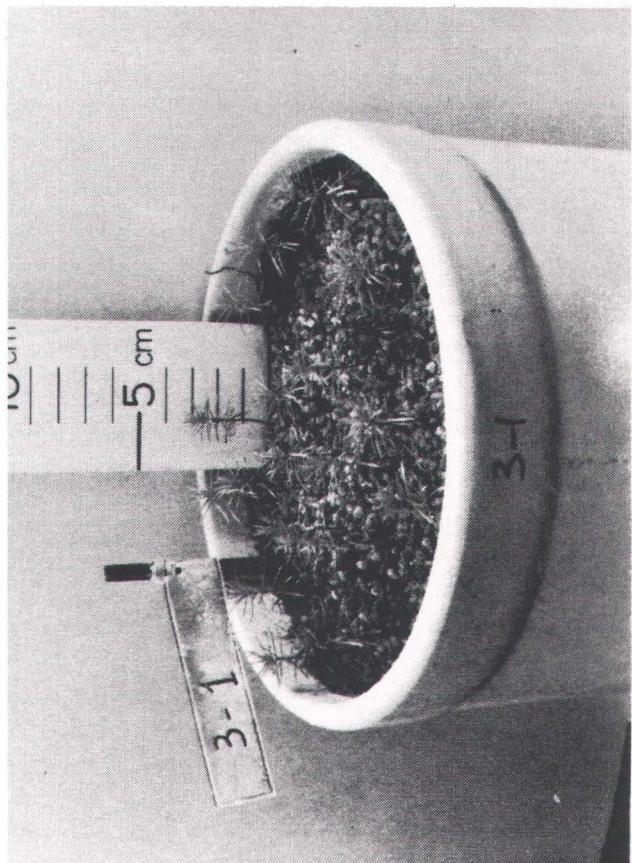
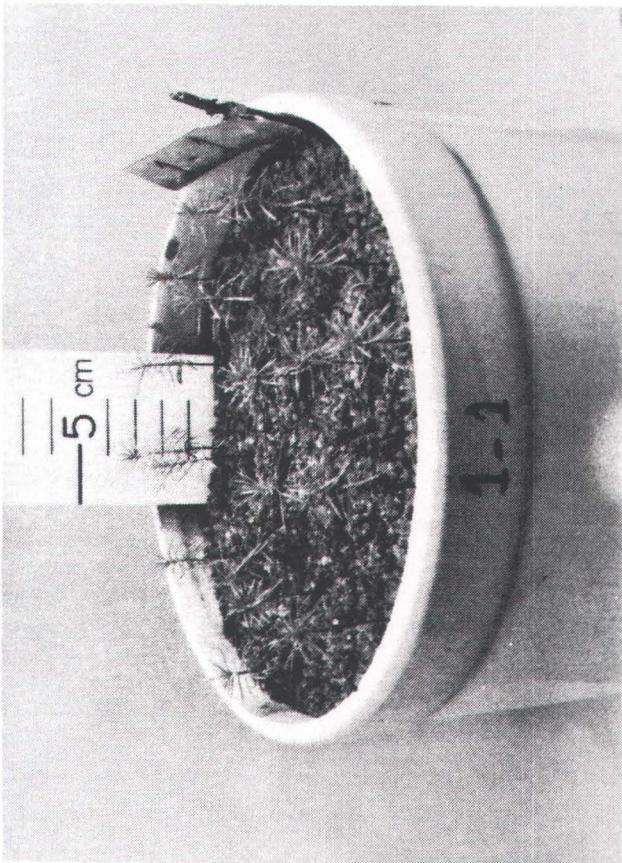
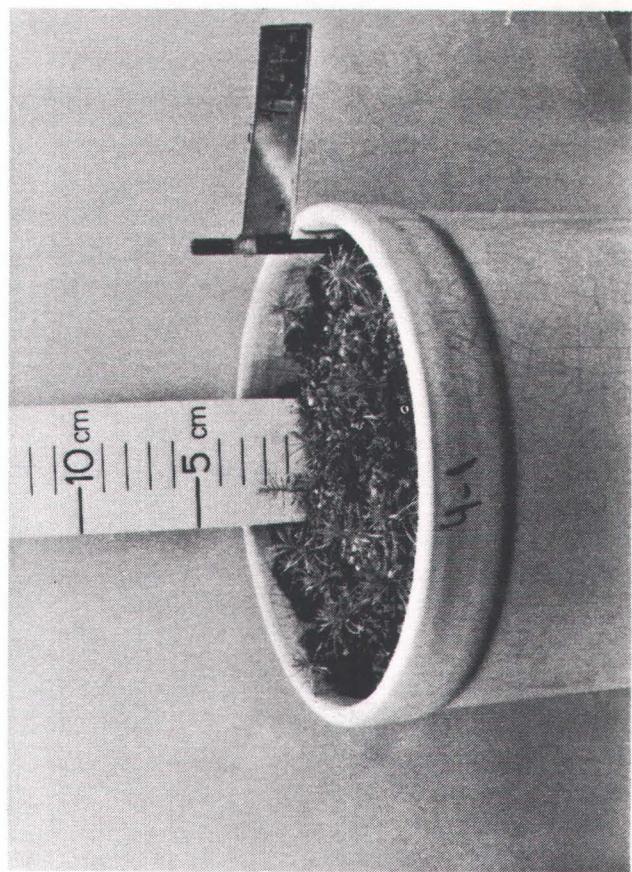
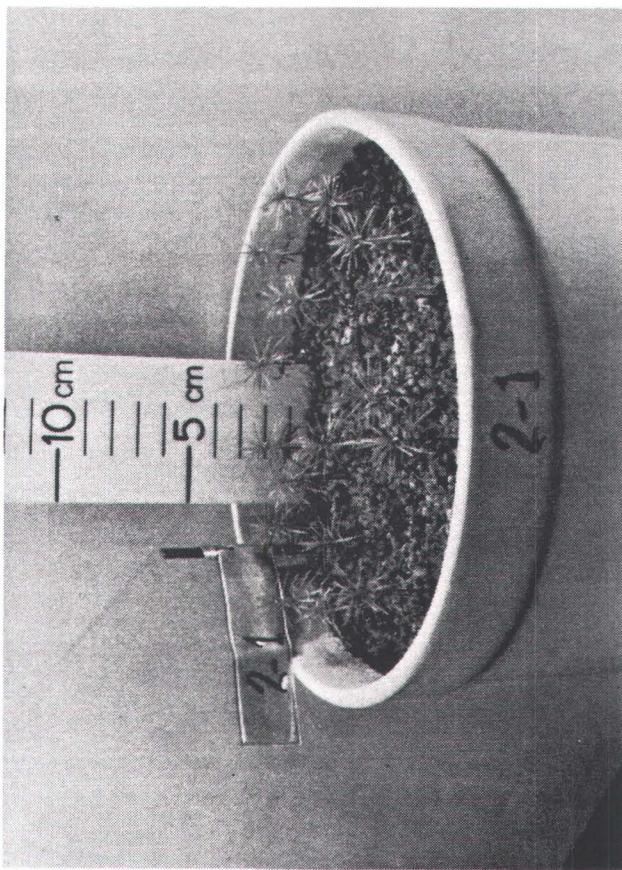
## CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

Ces expériences démontrent que les boues résiduaires peuvent constituer un excellent fertilisant forestier. D'une part, il y a production de plus de matière ligneuse et d'autre part leur recyclage est accompli.

Plusieurs craintes ont été soulevées concernant les risques potentiels associés à l'utilisation des boues résiduaires, soit



Photos 1 à 4: Résultats de la croissance après 17 semaines pour le traitement  $17 \times 25 = 425$  kg N/ha.



Photos 5 à 8: Résultats de la croissance après 17 semaines pour le traitement-témoin.

### Alternative à la gestion des boues

les organismes pathogènes, les métaux lourds et les composés synthétiques toxiques. De nombreuses études (Grenier, 1985; Webber, 1984; EPA, 1983) ont démontré que ce ne sont pas des obstacles majeurs à l'utilisation des boues résiduaires si elles sont destinées à produire de la matière ligneuse. Il faut cependant que les boues soient stabilisées et que les concentrations des substances indésirables ne soient pas trop élevées.

Il faut donc en arriver à une gestion saine qui doit être compatible entre le potentiel de cette ressource et la réalité économique. La dispersion des boues résiduaires à la grandeur du territoire n'est pas envisageable, en raison des coûts prohibitifs qui y seraient associés. Ce n'est d'ailleurs pas le but d'un aménagement intensif. Il faudrait plutôt identifier quelques cibles qui utiliseraient les boues régulièrement et massivement. Dans le cadre d'une gestion intégrée à long terme, des problèmes qui traînent en longueur pourraient être solutionnés. Par exemple, les boues résiduaires pourraient être utilisées pour revégétaliser les sites perturbés (par des activités d'extraction) qui se régénèrent mal ou pas du tout. À cet effet, les carrières abandonnées et les déchets de mines seraient des cibles potentielles. Ces surfaces improductives sont immenses et pourraient absorber la production totale ou partielle d'une usine d'épuration des eaux usées avoisinante pendant plusieurs années.

D'autres utilisateurs pourraient être les pépinières forestières tant privées que d'état. Les boues résiduaires pourraient remplacer, en partie, les fertilisants chimiques et les amendements apportés à ces sols.

Une autre alternative serait l'aménagement intensif de forêts naturelles ou artificielles près des usines de traitement des eaux usées. Connaissant la production des boues résiduaires, la surface de terrain requise pour l'absorber peut être déterminée en tenant compte des besoins des arbres en éléments nutritifs et des durées de rotation. L'implantation de forêts artificielles pourrait aussi se faire le long des autoroutes.

Finalement, outre les usages agricoles déjà fort répandus de par le monde, les activités de recherche devraient permettre d'identifier d'autres marchés pour les boues résiduaires.

La gestion intégrée du territoire est l'avenue qui semble la plus prometteuse et le recyclage des boues d'usine d'épuration des eaux constitue un moyen d'y parvenir. Cette solution est la seule option qui ne fait pas que déplacer le problème de la pollution, mais le règle.

### REMERCIEMENTS

Les auteurs adressent leurs remerciements au CRSNG (subvention A-3711), au programme de développement académique du réseau de l'Université du Québec, au service de la recherche du ministère de l'Énergie et des Ressources (Terres et Forêts) du Québec ainsi qu'au ministère de l'Environnement du Québec pour leur participation financière et technique.

### Références bibliographiques

- BLAKE, T.J. et W.E. RAITENEN. (1981)  
*A summary of factors influencing coppicing*. International Energy Agency, Program of research, development and demonstration on forestry energy. National Swedish Board for Energy Source Development, Stockholm. NE 1981: 22, 24 pages.
- BROCKWAY, D.G. (1983)  
*Forest floor, soil and vegetation responses to sludge fertilization in red and white pine plantations*. Soil. Sci. Soc. Am. J. 47: 776-784.

- COLE, D.W. (1981)  
*Mineral cycling in forest ecosystems of the Pacific Northwest*. In Proc. Forest fertilization conference. Édité par S.P. Gessel, R.M. Kenady et W.A. Atkinson. Univ. of Washington, pp. 29-36.
- COUILLARD, D. et R.D. TYAGI (1986)  
*Traitemen du phosphore ( $PO_4$ ) des eaux usées à l'aide des résidus de l'extraction alcaline de la bauxite*. Trib. du Cebedeau, 507(39): 3-14.
- COUILLARD, D. (1983a)  
*Déphosphatation ( $PO_4$ ) des eaux à l'aide de déchets provenant des industries de la réduction de l'aluminium*. Eau du Québec, 16(1): 34-38.
- COUILLARD, D. (1983b).  
*Quality of life: the importance of man-environment relations and a tentative conceptual model*. J. of Environ. Systems, 12(2): 163-185.
- COUILLARD, D. (1982a)  
*Use of red mud, a residue of alumina production by the Bayer process*, in Water treatment. The Science of the Total Envir. 25: 181-191.
- COUILLARD, D. (1982b)  
*The man-habitat system and multi-use projects: description and representation*. J. of Environ. Systems, 11(2): 175-186.
- CRITES, R.W. (1984)  
*Land use of wastewater and sludge*. Environ. Sci. Technol. 18(5): 140A à 147A.
- CROWLEY, M., SASSEVILLE, J.L. et D. COUILLARD (1986)  
*L'importance accordée à l'évaluation technologique dans l'assainissement des eaux usées municipales au Québec*. Rev. Int. des Sciences de l'Eau. 2(2): 49-57.
- ENVIRONNEMENT CANADA (1985)  
*L'épandage des eaux usées traitées et des boues d'épuration d'origine urbaine*. Service de la protection de l'environnement, guide SPE 6-EP-84-1, 190 pages.
- EPA. (1983)  
*Land application of municipal sludge*. Process design manual. EPA-625/1-83-016, 466 pages.
- EPA. (1979)  
*Sludge treatment and disposal*. Process design manual. EPA-625/1-79-011, 952 pages.
- GAGNON, J.D. (1974)  
*Results of fertilizer experiments in Quebec*. Proc. of a workshop on forest fertilization in Canada. Sault-Sainte-Marie, Ontario. Édité par Environnement Canada, Service des forêts, pp. 83-91.
- GAGNON, J.D. (1973)  
*Effets de la fertilisation azotée sur la croissance en rayon du sapin baumier*. Édité par Environnement Canada, Centre de recherches forestières des Laurentides, Québec. Rapport Q-F-X-38, 24 pages.
- GAGNON, J.D. (1972)  
*Les égouts domestiques: un engrais valable en foresterie*. Édité par Environnement Canada, Centre de recherches forestières des Laurentides, Québec. Rapport Q-F-X-30, 13 pages.
- GOVERNEMENT DU QUÉBEC (1984)  
*Bilan du programme de l'assainissement des eaux*. Allocution du ministre de l'Environnement, M. Adrien Ouellette lors du colloque de l'Union des municipalités du Québec sur l'assainissement des eaux. Montréal, le 7 septembre 1984, 14 pages.
- GRENIER, Y. (1985)  
*La valorisation des boues d'usine d'épuration des eaux en fertilisation forestière*. INRS-Eau. Thèse de maîtrise, 290 pages.
- GROUPE DE RECHERCHES INTERDISCIPLINAIRES EN FERTILISATION DES FORÊTS (1977)  
*Essai opérationnel de fertilisation aérienne de peuplements de pin gris dans la Mauricie*. Rapport d'étape 1974-1976, mémoire no. 41, Service de la Recherche, Direction générale des forêts, Ministère des Terres et Forêts, 137 pages.
- HORNBECK, J.W. et W. KROPELIN (1982)  
*Nutrient removal and leaching from a whole-tree harvest of northern hardwoods*. J. Environ. Qual. 11: 309-316.
- MILLER, H.G. (1983)  
*Wood energy plantations: diagnosis of nutrient deficiencies and the prescription of fertilizer applications in biomass production*. Édité par International Energy Agreement – Forestry Energy Agency. Rapport no. 3, Programme Group «B», 20 pages.
- MORRISON, I.K. (1974)  
*Mineral nutrition of conifers with special reference to nutrient status interpretation*.

*tion: a review of literature.* Service Canadien des forêts, Centre de recherches forestières des Grands-Lacs. Publication no. 1343, 74 pages

PATRICK, J.H. et D.W. SMITH. (1975)  
*Forest management and nutrient cycling in eastern hardwoods.* N.E. Forest Exp. Stn., Upper Darby, PA. (USDA Forest Serv. Res. Paper NE-324), 12 pages.

POMMEL, B. (1979)  
*Comparaison de l'utilisation par le maïs du phosphore des boues résiduaires ou du phosphate monocalcique pour différents niveaux de zinc et de fer dans le substrat.* Ann. Agron. 30: 443-453.

ROBERGE, M.R., J.D. GAGNON et C.H. UNG. (1980)  
*Essai d'un dosage d'azote dans trois sapinières de 60 ans au Québec: résultats de 10 ans.* Can. J. For. Res. 10: 470-475.

SHEEDY, G. (1982)  
*Essai de fertilisation dans une jeune plantation de pin gris; résultats de cinq ans.* Gouvernement du Québec, ministère de l'Énergie et des Ressources, Service de la recherche (Terres et Forêts). Mémoire no. 83, 32 pages.

VEILLEUX, J.M. et G. SHEEDY (1978)  
*Projet interprovincial de fertilisation des forêts naturelles: 1. Effets de la fertilisation sur quelques caractéristiques de sept sapinières en Gaspésie.* Gouvernement du Québec, ministère des Terres et Forêts, Direction générale des forêts, Service de la recherche. Mémoire no. 45, 63 pages.

VÉZINA, P.E. et M.R. ROBERGE (1981)  
*Comment aménager nos forêts.* Les Presses de l'Université Laval, 273 pages.

WEBBER, M.D. (1984)  
*Épandage des boues résiduaires sur les sols: une évaluation.* Agriculture Canada, direction générale de la recherche, 45 pages.

(Reçu le 18 février 1987, accepté le 7 juillet 1987)



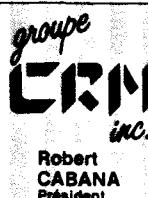
**Gendron Lefebvre**  
Consultants

**EAU ET ASSAINISSEMENT**

Prix d'excellence AQTE 1984-1985

- ÉTUDES ET PLANIFICATION
- PRÉPARATION DE SCHÉMAS DIRECTEURS DE RÉSEAUX D'AQUEDUC ET D'ÉGOUT
- CONCEPTION DE RÉSEAUX, PRÉPARATION DE PLANS ET DEVIS ET SURVEILLANCE DE TRAVAUX
- USINES DE TRAITEMENT D'EAU
- GESTION DE RÉSEAUX
- GESTION DE PROJETS

2, place Laval, bureau 200, LAVAL (Québec), CANADA H7N 5N6 (514) 384-1260



- Consultation • Expertise • Estimation
- Construction • Réalisation, maintenance

**EAUX ET ASSAINISSEMENT**

1815, de Lorimier, bur. 200  
Montréal, Qc H2K 3W6  
(514) 598-7506

## LES SCIENCES À L'UQAM UNE QUESTION D'APPLICATION

La famille des sciences offre deux programmes de certificat à l'intention des personnes oeuvrant dans le domaine de l'environnement et recherchant une formation ou un complément de formation professionnelle.

### Certificat en analyse chimique

Formation théorique et pratique dans différentes techniques d'analyse chimique et familiarisation avec les méthodes d'analyse chimique utilisées dans divers domaines d'application: l'environnement, le milieu du travail et l'industrie.

### Certificat en sciences et techniques de l'eau

Formation pluridisciplinaire dans les sciences et techniques de l'eau orientée principalement sur les problèmes de gestion et de traitement des eaux.

#### Conditions générales d'admission

- Diplôme d'études collégiales avec concentration en sciences ou
- Diplôme d'études collégiales en formation professionnelle dans une technique jugée pertinente ou
- Posséder des connaissances appropriées, une expérience jugée pertinente et être âgé d'au moins 22 ans.

#### Renseignements

On peut obtenir des renseignements sur les programmes, les conditions particulières d'admission et les méthodes de sélection dans le cas du certificat en analyse chimique en s'adressant:

— Certificat en analyse chimique: 282-3657 — Certificat en sciences et techniques de l'eau: 282-3676

#### Pour obtenir le formulaire de demande d'admission:

##### Par la poste:

Registrariat, Service aux clientèles universitaires  
UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL  
C.P. 8888, Succursale A, Montréal (Québec) H3C 3P8

##### En personne:

870, boul. de Maisonneuve est  
local T-3600  
Tél.: 282-3121

Dates limites de demande d'admission:  
session d'hiver: 1er octobre 1987, session d'automne: 1er mars 1988



Université du Québec à Montréal

Forest management: trees response to wastewater  
sludge fertilization<sup>1</sup>

by

Denis Couillard

and

Yvon Grenier<sup>2</sup>

Submitted for publication

in

Journal of Environmental Management

<sup>1</sup>: Institut National de la Recherche Scientifique (INRS-Eau), Université du Québec, 2700, rue Einstein, C.P. 7500, Sainte-Foy, Québec, Canada, G1V 4C7

<sup>2</sup>: Titular professor and research assistant respectively

**ABSTRACT**

A greenhouse study has been conducted to evaluate the potential of wastewater sludge as a fertilizer for larch (Larix laricina) seedlings growing on sand. After 5 months of growth, it can be concluded that sludge is a good fertilizer for this species, giving yields up to 350%, 210% and 1140% higher over control respectively for height, diameter and biomass. Thus, such results give a supplemental reinforcement that sludge can be used positively as fertilizer for forest species.

Key words: fertilization, forest management, larch, recycling, wastewater sludge.

## 1. INTRODUCTION

Industrialized societies produce much waste material and the accumulation of this waste material in the environment is demanding more and more space (dumps, sanitary landfilling). These places can be seen as sites of "concentrated" pollution and could even be transformed into potential sources of matter. For example: mine tailing glass, ash and metal dumps could be harvested in a future time with new technology or within a different social-economic context (Couillard and Tyagi, 1986; Couillard, 1983a; 1982a).

Diffusive pollution, such as gaseous emission ( $\text{NO}_x$ ,  $\text{SO}_x$ ), and discharges of domestic, industrial and agricultural wastewater into lakes and streams is also a part of the problem. Sometimes, it is almost impossible to find clean water, even for aquatic activities, within the vicinity of inhabited areas.

More and more active, the citizen lays claim to a better living environment (Couillard, 1983b; 1982b). But he, being an unconscious polluter, wants the authorities to solve the problem through collective action. Consequently, in recent years, programs for improving the quality of life and the environment in general have appeared.

## 2. SLUDGE AS THE CONSEQUENCE OF WASTEWATER TREATMENTS

Attacking the specific problem of water pollution, the governments decided to establish a program to encourage the building of wastewater

treatment plants (Couillard *et al.*, 1986). This commendable objective has nevertheless not accounted for the possibility of the productive usage of the waste sludge generated. At present it is considered a waste by-product that must be disposed of, either through incineration or dumping into landfill sites or even into the sea. These solutions are not definitive, because the pollution problem remains, and is only displaced. Moreover, this reusable material is completely lost. The only promising avenue for the use of wastewater sludge is through its recycling in agriculture, (Environnement Canada, 1985; Gouvernement du Québec, 1984; EPA, 1979) or silviculture (Grenier, 1985). This idea is growing in popularity.

### 3. RECYCLING WASTEWATER SLUDGES AS FOREST FERTILIZER

The production of consumer goods requires resources. Initially, these resources were found and extracted close to production or transformation plants. After the exhaustion of these local sites, primary resources were harvested further and further afield. Wood can be cited as an excellent example. Some pulp and paper plants and lumber mills are supplied by forests hundreds of kilometers away from the plants themselves. This demand on the resource will be increased if forest biomass production in short rotation periods is planned. For sure, such management practices will require fertilizers, because the task is too great to demand of nature alone. Chemical fertilizers are expensive. Therefore it would be interesting to find a substitution. In agriculture, animal wastes have been used for centuries and have produced good results. From this, the idea of using wastewater sludge as a fertilizer can be envisaged. Even if these

products are different, a certain comparison was established between them (Pommel, 1979).

In opposition to agronomic culture, the fertilization of natural or artificial forests is not essential for their growth. Generally, wooded areas are not fertilized (Crites, 1984), however production of ligneous matter is enhanced when fertilized (Cole, 1981; Morrison, 1974). Fertilizers increase the growth rate of most forest species (Vézina and Roberge, 1981; Gagnon, 1974). Thus, fertilization could be an adequate intervention if more matter is desired without increasing the area of exploitation. It would also be necessary when producing biomass through short rotation periods, an activity requiring fertilizers (Miller, 1983; Blake and Raitanen, 1981). Moreover, the increasing occurrence of whole-tree harvesting for example, removes a lot of nutrients from the site (Hornbeck and Kropelin, 1982; Patrick and Smith, 1975).

Forests growing on the poorest of soils react the most positively to fertilization (Roberge et al., 1980). The main factor to take into account is the difference between available in-site nutrient stocks for plants and artificial additions from chemical or organic fertilizers.

The problem of sludge management and the need for more ligneous matter at a greater proximity to transformation plants and consumer centers is now a reality. Therefore, the instigation to promote recycling as a management alternative naturally leads one to verify if the objective of sludge usage through forest fertilization is possible. The principle advantage of sylviculture fertilization compared to that of agriculture is that ligneous

matter produced is not a part of the human food chain. Thus, potential hazards associated with pathogens or toxic agents (metals or synthetic compounds) are minimized (Grenier, 1985; Webber, 1984; EPA, 1983). This would not be true if sludge was used as fertilizer for plants designated directly or indirectly for human consumption.

#### 4. CASE STUDY

Because larch (Larix laricina Du Roi K. Koch) is studied for it's potential as forest biomass (Gouvernement du Québec, 1985), this work has been conducted to study the effect of wastewater sludge for fertilization of larch growing on sand.

##### 4.1 Material and methods

Our experiment was concerned with the fertilization of larch with different doses and frequencies of anaerobically digested wastewater sludge from the Valcartier (Québec) treatment plant. Seedlings having been started from seed, grew on sand for the period of 17 weeks. The experiment was conducted in greenhouse. Artificial lighting was applied 16 hours per day and sprinklers were in action a few minutes per day for the duration of the experiment.

The quantities of sludge applied varied from 605 kg·ha<sup>-1</sup> to 10 890 kg·ha<sup>-1</sup> dry base of the equivalent of 25 kg·N·ha<sup>-1</sup> and 450 kg·N·ha<sup>-1</sup>. A summary of these treatments is presented in table 1. Liquid sludge (9 000 mg·L<sup>-1</sup>) was surface applied, except for 2 treatments where the sludge was

mixed with the upper 10 cm of sand. In the sludge, N (4,2 %) was mostly in an organic form. It also contained 1,05% of P and 0,08% of K (dry base). The experimental pattern also included a control-treatment which did not receive any fertilizer, but evolved in the same conditions as the other fertilized treatments.

Height measurements were taken with a ruler graduated in millimetres. The diameter was measured with a microdendrometer with the precision of 0,01 mm. In order to determine the mass, roots and stems were separated. They were gathered and grouped according to treatment and replication then ovendried and weighed. Results were thus obtained by dividing the mass by the number of plants in each group.

#### 4.2 Results and discussion

Table 1 presents the average height, diameter and biomass measured at the completion of the experiment.

##### Heigh growth

For variance analysis, the F-test is very significant amongst treatment and insignificant amongst repetitions.

The treatments receiving multiple sludge applications performed the best. On the other hand, the quantity of sludge seems unimportant, at least for the heaviest doses. Treatments 14 and 15 each received sludge 17 times, treatment 15 receiving twice as much as treatment 14. Despite this, they

were equal in height, at 125 mm. But for treatment 13, receiving 2 times less sludge than treatment 14 and 4 times less than treatment 15, it measures 15 mm less than both 14 and 15. Such a slight difference perhaps does not justify double and quadruple applications of sludge.

A comparison can be established between treatments 3 and 19. Both receiving 50 kg N/ha, present the same growth in height, but the sludge for treatment 19 was mixed with the sand, contrary to treatment 3 which was surface applied. These, it would appear pointless to mix the sludge. The same conclusion can be drawn for treatments 20 and 4, which received 125 kg N/ha under the same conditions. However, treatments 20 and 4 gave better result than 19 and 3 respectively.

Concerning the single-application treatments, results are generally proportionnal to the quantity of applied sludge, except for treatment 2 which shows a better result than treatments 3 and 19. For treatments receiving 2 or 5 applications, results are proportional to the total dose. For the 2 treatments receiving 9 applications, the smallest dose gave better results than the greatest. For treatments with 17 applications, the results seem unrelated to the quantity of sludge applied.

Thus, for height growth, the best results were obtained with the most sludge applications, unregardless to the dose applied each time. On the other hand, for the less frequent applications, the best growth is proportionnal to the total dose. The growth in height is particularly important, because the faster trees grow the better they can compete with shrub growth (Archie and Smith, 1981).

Diameter growth

For variance analysis, the F-test is very significant amongst treatments and insignificant amongst repetitions.

The best results are obtained by treatments receiving 17 sludge applications (except treatment 13). The nine-time-application treatments show better results than those with only 5 applications. For the single and two-application treatments, there is almost no difference between them, and they are smaller than those receiving multiple applications. Treatments where the sludge was mixed with the sand present better results when compared to the surface-applied treatments, the dose applied being equal.

Biomass

The biomass is divided into two sections: the underground biomass consisting of seedling roots, and the aerial biomass consisting of stems and needles, the so-called "stem" or stem-biomass.

Root biomass

For variance analysis, the F-test is very significant amongst treatments and significant amongst repetition. The averages of the replications for 2 and 3 are higher than those of 1 and 4.

Treatments receiving repeated applications display the best results, but without apparent relation to the amount applied each time. The same

conclusion can be drawn for the treatments which received 1, 2 or 5 sludge applications.

Stem biomass

Stem biomass is a particularly important measure, as experiment results can be concluded in this way. Being an integration of height and diameter, it is the value ultimately looked for, as it gives the total quantity of matter produced.

For variance analysis, the F-test is very significant amongst treatments and insignificant amongst repetitions.

The treatments with the smallest mass are those which received one sludge application. However, the total nitrogen quantity of dosages coupled with the number of applications seems to be significant. So, the dose 125 kg N/ha reveals better results than doses 50 or 25 kg N/ha. Moreover, 5 applications of 25 kg N/ha produced more biomass than a single 125 kg N/ha application.

Among treatments having received the most applications (group f), those receiving the most sludge of all present the best results, except for treatments 11 and 12 where the opposite is observed.

## 5. CONCLUSIONS AND RECOMMENDATIONS

In brief, at the end of the experiment, seedlings which received the greatest quantities of sludge had the best growth results. Treatment 15 (425 kg N/ha as 17 times 25 kg N/ha) presents the best yields. Compared to the control, it's results were superior by 350% for height, 210% for diameter, 375% for root biomass and 1 140% for stem biomass. Even treatment 2, with a single 25 kg N/ha application displays better yields than the control. Two treatments presented in table 1 are relisted in table 2, or which some values are added from the literature. Our results are comparable to those obtained by these authors. For example, our 425 kg N/ha, treatment gave 350% additionnal height growth, which is better than Fiskell's et al. experiment using 400 kg N/ha which give 205% additionnal height.

Wastewater treatment plants produce sludge, which can be seen as a new product. It's management was anticipated here and its recycling appears as the most logical solution. Firstly, a resource is optimized, and secondly, a definitive use is identified.

Some fears have been discussed about potential hazards associated with the utilization of wastewater sludge, through pathogenic organisms, heavy metals and synthetic compounds. Many studies demonstrated that this is not a major inconvenience in sludge valorization, if it is used in the production of ligneous matter. However, the sludge must be stabilized and must not contain high concentrations of these undesirable substances. These studies do not take into consideration the forest ecosystem as a whole. Therefore, nothing can be advanced about possible changes occurring to its

fungi, bacteria, insect and bird populations. However, because wastewater sludge would have to be disposed of somewhere, it seems logical to develop these possibilities through its recycling.

The good management of this new resource should therefore compromise between its potential and the economic reality. The dispersion of great quantities of sludge over large territories is neither possible nor desirable, because of the prohibitive costs associated with such an operation. Moreover, it is not the target of an intensive management. Rather, within the limits of an intensive and integrated management plan, long terms problems could be solved. For example, wastewater sludge could be used to aid in reclaiming land disturbed by mining activities which have unsufficient or no vegetation cover. These unproductive sites cover large areas and could absorb the total production of sludge from a neighbouring plant for years.

Other potential customers could be forest nurseries, public or private. Wastewater sludge could be a partial substitute for chemical fertilizers much used in this activity. Sludge is also a soil conditionner.

Another alternative could be the intensive management of natural or artificial forest within the vicinity of wastewater treatment plants. Establishing sludge production, the required land area necessary for absorption could be evaluated in terms of the plants needs and the rotation periods of the culture. Artificial forest could be established along highways. In conclusion, research activities could identify new markets or possibilities for the utilization of wastewater sludge.

Integrated land management is the most promising avenue of the future and the recycling of wastewater sludge is one facet that could help reach this objective. Sludge valorization through recycling is the sole option that does not only displace a pollution problem but solves it.

#### ACKNOWLEDGEMENT

This research was made possible through grants from Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (grant A-3711) and the Programme de développement académique du réseau de l'Université du Québec (Québec).

#### REFERENCES

- ARCHIE, S.G. and M. SMITH (1981). Survival and growth of plantations in sludge-treated soils and older forest growth study. In Municipal sludge applications to Pacific Northwest forest land. Edited by C.S. Bledsoe, University of Washington, College of forest resources, pp. 105-113.
- BERRY, C.R. and D.H. MARX. (1980). Significance of various soil amendments to borrow pit reclamation with loblolly pine and fescue. Reclamation Review. 3: 87-94.
- BLAKE, T.J. and W.E. RAITENEN. (1981). A summary of factors influencing coppicing. International Energy Agency, Programme of research, development and demonstration on forestry energy. National Swedish

Board for Energy Source Development, Stockholm. NE 1981:22, 24 pages.

BROCKWAY, D.G. (1983). Forest floor, soil and vegetation responses to sludge fertilization in red and white pine plantations. Soil Science Society of America Journal 47: 776-784.

COLE, D.W. (1981). Mineral cycling in forest ecosystems of the Pacific Northwest. In. Forest fertilization conference. Edited by S.P. Gessel, R.M. Kenady and W.A. Atkinson. Univ. of Washington, pp. 29-36.

COUILLARD, D. and R.D. TYAGI (1986). Traitement du phosphore ( $\text{PO}_4$ ) des eaux usées à l'aide des résidus de l'extraction alcaline de la bauxite. Tribune du Cebedeau, 507(39): 3-14.

COUILLARD, D., M. CROWLEY and J.L. SASSEVILLE (1986). Technological public choice in practice: the case of wastewater treatment facilities. Journal of Environmental Management, 22(2): 133-146.

COUILLARD, D. (1983a). Déphosphatation ( $\text{PO}_4$ ) des eaux à l'aide de déchets provenant des industries de la réduction de l'aluminium. Eau du Québec, 16(1): 34-38.

COUILLARD, D. (1983b). Quality of life: the importance of man-environment relations and a tentative conceptual model. Journal of Environment Systems 12(2): 163-185.

COUILLARD, D. (1982a). Use of red mud, a residue of alumina production by the Bayer process in water treatment. The Science of the Total Environment, 25: 181-191.

COUILLARD, D. (1982b). The man-habitat system and multi-use projects: description and representation. Journal of Environment Systems, 11(2): 175-186.

CRITES, R.W. (1984). Land use of wastewater and sludge. Environmental Science and Technology. 18(5): 140A-147A.

ENVIRONMENT CANADA. (1985). L'épandage des eaux usées traitées et des boues d'épuration d'origine urbaine. Service de la protection de l'environnement, guide SPE 6-EP-84-1, 190 pages.

EPA. (1983). Land application of municipal sludge. Process design manual. EPA-625/1-83-016, 466 pages.

EPA. (1979). Sludge treatment and disposal. Process design manual. EPA-625/1-79-011, 952 pages.

FISKELL, J.G.A., F.G. MARTIN, W.L. PRITCHETT, and M. MAFTOUN. (1982). Effects of cadmium levels and sludges on loblolly pine seedlings. Soils and Crop Science Society of Florida Proceedings. Vol. 41, Soil Science Department University of Florida, Gainesville, pp. 163-168.

GAGNON, J.D. (1974). Results of fertilizer experiments in Québec.  
Proceeding of a workshop on forest fertilization in Canada.  
Sault-Sainte-Marie, Ontario. Edited by Environnement Canada, Service  
des forêts, pp. 83-91.

GAGNON, J.D. (1972). Les égouts domestiques: un engrais valable en  
foresterie. Edited by Environnement Canada, Centre de recherches  
forestières des Laurentides, Québec. Rapport Q-F-X-30, 13 pages.

GOUVERNEMENT DU QUÉBEC. (1985). Bâtir une forêt pour l'avenir: La  
politique forestière. Ministère de l'Énergie et des Ressources,  
98 pages.

GOUVERNEMENT DU QUÉBEC. (1984). Bilan du programme de l'assainissement des  
eaux. Allocution du ministre de l'Environnement, M. Adrien Ouellette  
lors du colloque de l'Union des municipalités du Québec sur  
l'assainissement des eaux. Montréal, le 7 septembre 1984, 14 pages.

GRENIER, Y. (1985). La valorisation des boues d'usine d'épuration des eaux  
en fertilisation forestière. INRS-Eau. Université du Québec, Master  
thesis, 290 pages.

HORNBECK, J.W. and W. KROPELIN. (1982). Nutrient removal and leaching from  
a whole-tree harvest of northern hardwoods. Journal of Environmental  
Quality. 11: 309-316.

McINTOSH, M.S., J.E. FOSS, D.C. WOLF, K.R. BRANDT and R. DARMODY. (1984).

Effect of composted municipal sewage sludge on growth and elemental composition of white pine and hybrid poplar. Journal of Environmental Quality. 11: 60-62.

MILLER, H.G. (1983). Wood energy plantations: diagnosis of nutrient deficiencies and the prescription of fertilizer applications in biomass production. Edited by International Energy Agreement - Forestry Energy Agency. Report no.3, Programme Group "B", 20 pages.

MORRISON, I.K. (1974). Mineral nutrition of conifers with special reference to nutrient status interpretation: a review of literature. Canadian Forest Service, Great Lakes Forest Research Station. Publication no. 1343, 74 pages.

PATRICK, J.H. and D.W. SMITH. (1975). Forest management and nutrient cycling in eastern hardwoods. North East Forest Experimental Station Upper Darby, PA. (USDA Forest Service Research Paper NE-324), 12 pages.

POMMEL, B. (1979). Comparaison de l'utilisation par le maïs du phosphore des boues résiduaires ou du phosphate monocalcique pour différents niveaux de zinc et de fer dans le substrat. Annales Agronomiques 30: 443-453.

ROBERGE, M.R., J.D. GAGNON and C.H. UNG. (1980). Essai d'un dosage d'azote dans trois sapinières de 60 ans au Québec: résultats de 10 ans. Canadian Journal of Forest Research. 10: 470-475.

VÉZINA, P.E. and M.R. ROBERGE. (1981). Comment aménager nos forêts. Les Presses de l'Université Laval, 273 pages.

WEBBER, M.D. (1984). Épandage des boues résiduaires sur les sols: une évaluation. Agriculture Canada, direction générale de la recherche, 45 pages.

Table 1: Mean results of height, diameter, and biomass at experiment conclusion

Treatment number	Treatment characteristics	Height	Diameter	Root biomass	Stem biomass
		(kg N/ha)	(mm)	(mg)	(mg)
1	Control 0	27,9 a <sup>1</sup>	0,58 a	6,5 a	17,6 a
2	Su, 1x 25 = 25	46,1 a	0,77 abc	13,4 abc	38,3 ab
3	Su, 1x 50 = 50	43,6 a	0,73 ab	9,8 ab	33,8 ab
4	Su, 1x125 = 125	58,9 ab	0,91 abc	13,8 abc	56,1 ab
5	Su, 2x 25 = 50	59,4 ab	0,85 abc	13,9 abc	53,5 ab
6	Su, 2x 50 = 100	63,2 ab	0,95 abc	12,2 ab	62,3 ab
7	Su, 2x125 = 250	82,5 abc	1,15 abcd	15,7 abcd	92,2 bcd
8	Su, 5x 25 = 125	80,9 abc	1,10 abcd	17,5 bcde	90,6 bcd
9	Su, 5x 50 = 250	112,0 abc	1,48 abcde	23,9 cdef	155,0 def
11	Su, 9x 25 = 225	122,5 abc	1,62 abcde	27,6 ef	190,6 f
12	Su, 9x 50 = 450	114,7 abc	1,60 abcde	24,8 def	176,2 f
13	Su, 17x 6,25= 106	110,1 abc	1,43 abcde	26,1 def	149,3 cdef
14	Su, 17x 12,5 = 213	125,3 abc	1,66 bcde	31,4 f	200,4 f
15	Su, 17x 25 = 425	124,9 abc	1,80 cde	30,8 f	218,5 f
19	Mi, 1x 50 = 50	42,2 a	0,70 abc	10,5 ab	37,3 ab
20	Mi, 1x125 = 125	63,1 ab	1,07 abc	18,4 bcde	87,6 bc

<sup>1</sup>: In the same column, the means followed by the same letters are not significantly different ( $P = 0,05$ ) (Duncan's test)

Su: Surface applied sludge

Mi: Sludge mixed in upper 10 cm of sand

Table 2: Summary of some yields of height and diameter for trees fertilized with sludge

Species	Quantity of sludge applied (kg/ha)	Nitrogen concentration (%)	Quantity of nitrogen applied (kg/ha)	Supplementary growth observed %		Duration of experiment	References
				Height	Diameter		
White spruce	560	1,5	8,4	7 20	—	1 year 3 years	Gagnon (1972; 1974)
Loblolly pine	34 000	2,0	680	250	240	3 years	Berry and Marx (1980)
Loblolly pine	8 000	5,0	400	205	—	10 months	Fiskell et al., (1982)
	4 000	2,6	104	130	—	10 months	
White pine	4 800	6,0	288	—	20	14 months	Brockway (1983)
	19 300	6,0	1 158	—	47	14 months	
Hybrid poplars	150 000	1,36	2 040	190	—	3 years	McIntosh et al., (1984)
Tamarack larch	10 285	4,2	425	350	210	5 months	This study
	605	4,2	25	65	31	5 months	

# Le recyclage des boues d'usine d'épuration des eaux usées à des fins de fertilisation forestière

par Yvon Grenier et Denis Couillard

Dans toute société industrialisée, les individus peuvent se procurer de nombreux biens de consommation qui leur rendent la vie plus agréable et plus confortable. Cette amélioration des conditions de vie, par rapport à celles de nos ancêtres, a également sa contre-partie, à savoir la prolifération de nombreux déchets sous diverses formes, soit liquide, solide ou gazeuse. Ces déchets ont malheureusement la caractéristique commune de polluer l'environnement.

Depuis quelques décennies, on assiste cependant à une prise de conscience générale face à cette situation et au désir de l'améliorer. On souhaite conserver un environnement sain, intact, tout en voulant maintenir un mode de vie et, donc, un même niveau de consommation. La lutte contre la pollution est coûteuse et n'est pas toujours justifiée sur le plan économique. Cependant, dans le cas de la récupération des déchets, il est possible d'affecter ces coûts à une nouvelle forme de production : le recyclage.

Dans ce contexte, l'eau est considérée comme un bien de consommation, mais une fois qu'elle a servi aux usages domestique et industriel, elle ressort souillée et, de ce fait, impropre à un second usage.

À ce niveau, la solution la plus simple et la plus expéditive consiste à renvoyer les eaux résiduaires dans le milieu naturel (lac ou rivière). Cette façon d'agir a considérablement détérioré l'environnement, rendant les plans d'eau d'abord impropres à la consommation, puis finalement inutilisables à des fins récréatives. La situation est devenue intolérable et certains gestionnaires ont décidé de prendre les choses en main afin de la corriger.

Les usines d'épuration des eaux usées rejettent des déchets que l'on appelle les boues résiduaires. Celles-ci sont de nouveau susceptibles de polluer l'environnement à moins que l'on ne procède à leur recyclage. Cet article traite de la gestion éventuelle des boues résiduaires et de leur usage comme fertilisant.

Pour que le recyclage devienne une réalité, il faut trouver un débouché, c'est-à-dire un marché. Il peut s'agir de la valorisation agricole ou, comme nous le préférions, de la valorisation sylvicole. Bien que les risques de contamination par des organismes pathogènes soient minimes lorsque les boues résiduaires sont stabilisées, elles contiennent des métaux lourds et des composés synthétiques. Puisque les produits sylvicoles n'entrent pas dans la

chaîne alimentaire humaine, les dangers associés à de telles pratiques sont donc écartés.

Ce projet de recherche a été guidé par deux objectifs. Le premier est la valorisation (ou recyclage) des boues résiduaires produites par les usines de traitement des eaux usées, et le second est l'augmentation des rendements sylvicoles grâce à la fertilisation.

Cette recherche a été concrétisée par une application expérimentale, menée en serre, où l'on a fait croître du mélèze laricin dans du sable fertilisé avec différentes quantités de boues anaérobies. L'expérience a été concluante : les boues d'usines d'épuration des eaux usées peuvent avantageusement être utilisées pour la fertilisation forestière.

Pendant une période de 119 jours, nous avons fait croître du mélèze laricin dans du sable. Cette culture a été fertilisée en utilisant différentes quantités de boue anaérobiose provenant de l'usine de la base militaire de Valcartier, près de la ville de Québec. Cette boue a été appliquée en surface pour les 14 premiers traitements, après que les graines aient été semées (figure 2). Seulement dans le cas de deux traitements, 19 et 20, elle a été enfouie

Figure 1 Tous les pots à la fin de l'expérience (119 jours)

All the pots at the end of the experiment



Figure 2 Application de la boue  
Application of sludge



**Tableau 1 : Résultats des moyennes de croissance en hauteur à divers temps; des diamètres et des masses des tiges à la fin de l'expérience**

Numéro de traitement	Caractéristiques finales		Hauteur moyenne après 69 jours (mm)	Hauteur moyenne après 105 jours (mm)	Hauteur moyenne après 119 jours (mm)	Diamètre après 119 jours (mm)	Masse foliaire moyenne après 119 jours (mg)
	Nombre d'applications x	Quantité de boue					
1	Témoin	0	30,8	33,6	27,9	0,58	17,6
2	Su,	1 x 25 = 25	34,5	46,1	46,1	0,77	38,3
3	Su,	1 x 50 = 50	33,1	44,5	43,6	0,73	33,8
4	Su,	1 x 125 = 125	38,9	55,1	58,9	0,91	56,1
5	Su,	2 x 25 = 50	35,3	53,7	59,4	0,85	53,5
6	Su,	2 x 50 = 100	35,4	55,4	63,2	0,95	62,3
7	Su,	2 x 125 = 250	39,6	67,5	82,5	1,15	92,2
8	Su,	5 x 25 = 125	36,9	65,5	80,9	1,10	90,6
9	Su,	5 x 50 = 250	42,8	86,0	112,0	1,48	155,0
11	Su,	9 x 25 = 225	47,2	92,2	122,5	1,62	190,6
12	Su,	9 x 50 = 450	44,3	90,1	114,7	1,60	176,2
13	Su,	17 x 6,25 = 106	45,8	83,4	110,1	1,43	149,3
14	Su,	17 x 12,5 = 213	46,8	96,5	125,3	1,66	200,4
15	Su,	17 x 25 = 425	46,2	98,3	124,9	1,80	218,5
19	En,	1 x 50 = 50	34,9	41,0	42,2	0,77	37,3
20	En,	1 x 125 = 125	40,2	52,7	63,1	1,07	87,6

Su = boue appliquée en surface

En = boue enfouie dans 10 cm de sable

dans 10 cm de sable avant que les graines ne soient semées. Les différents traitements étaient basés sur leur charge en azote.

On a mesuré plusieurs fois la hauteur des mélèzes au cours de l'expérience (tableau 1). De plus, à la fin, des mesures de diamètre au collet et de biomasse sèche ont été effectuées. Les résultats sont présentés sous forme d'un tableau, accompagné de photographies et de graphiques parmi les plus représentatifs. Les graphiques présentent l'évolution de la croissance en hauteur entre le début et la fin de l'expérience (119 jours).

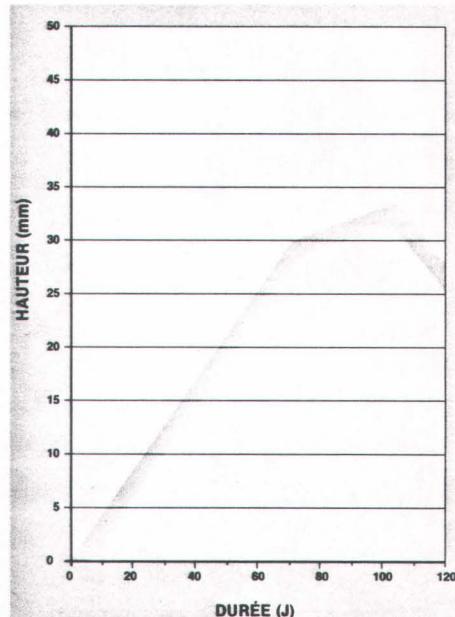
Les meilleurs résultats sont obtenus avec le plus grand nombre d'applications combiné à la charge totale. Malgré de faibles différences, les traitements 14 et 15 sont meilleurs que le traitement 13. À doses

**Tableau 2 : Évolution de la croissance en hauteur (moyenne) dans le temps par répétition pour le traitement 1**

*Changes in height growth (average) over time by repeating treatment 1*

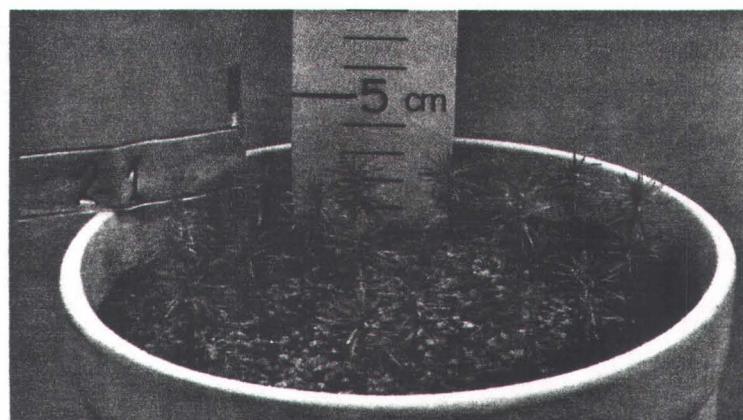
égales, des applications multiples donnent de meilleurs résultats que des applications uniques. Ainsi, le traitement 9 est meilleur que le 7, et le traitement 8 est meilleur que le 4. Cette croissance en hauteur est particulièrement importante, car plus les arbres grandiront, plus vite pourront-ils entrer en compétition avec les mauvaises herbes.

Les traitements qui ont reçu 17 fois de suite des applications de boue sont ceux qui présentent les meilleurs résultats, sauf dans le cas du traitement 13. Avec neuf applications de boue, le diamètre moyen des mélèzes est plus gros que s'il en avait reçu cinq fois (tableau 2). Les



**Figure 3 : La répétition 2 du traitement 1 après 119 jours de croissance.**

*Second repetition of treatment 1 after 119 days of growth*



**Figure 4 : La répétition 2 du traitement 4 après 119 jours de croissance.**

*Second repetition of treatment 4 after 119 days of growth*



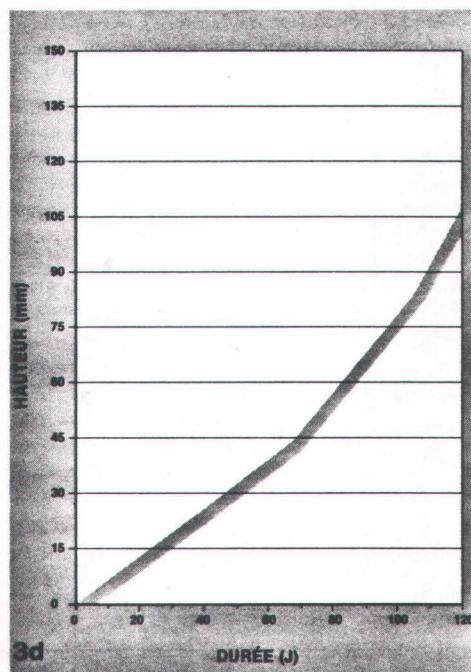
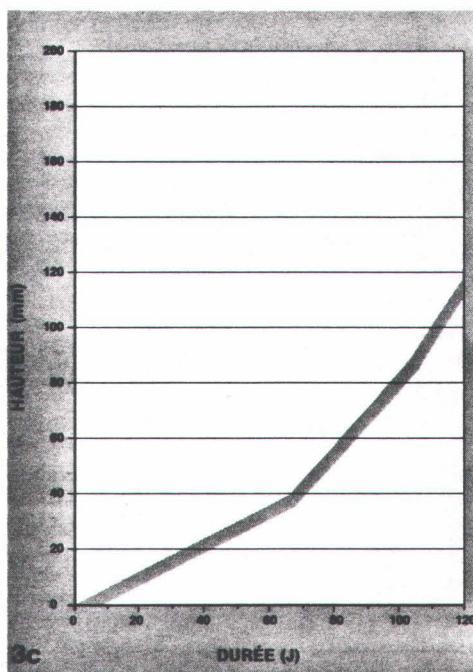
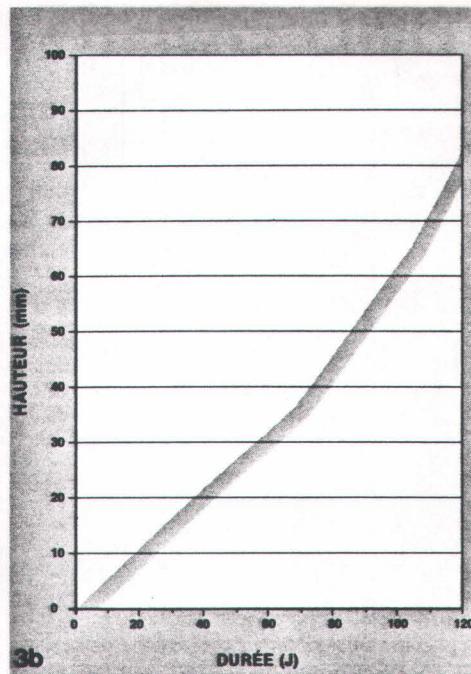
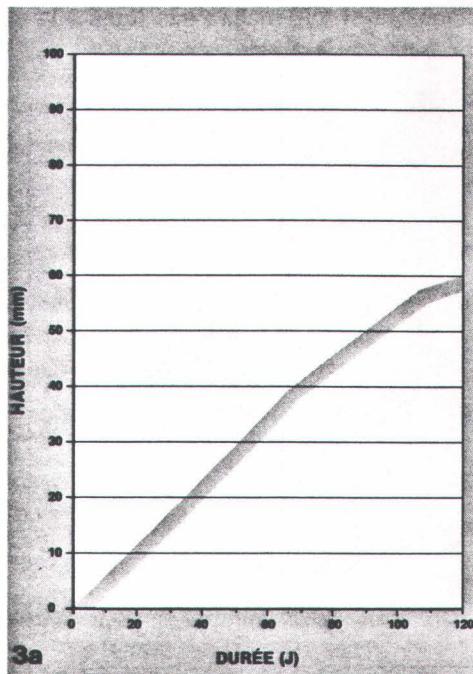


Figure 5 La répétition 2 du traitement 8 après 119 jours de croissance

Second repetition of treatment 8 after 119 days of growth

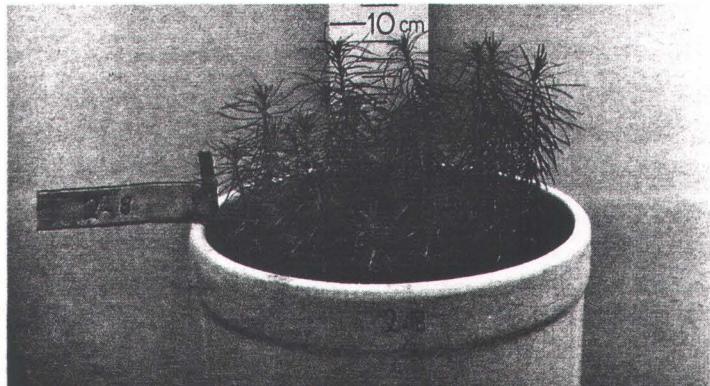


Figure 6 La répétition 2 du traitement 13 après 119 jours de croissance

Second repetition of treatment 13 after 119 days of growth

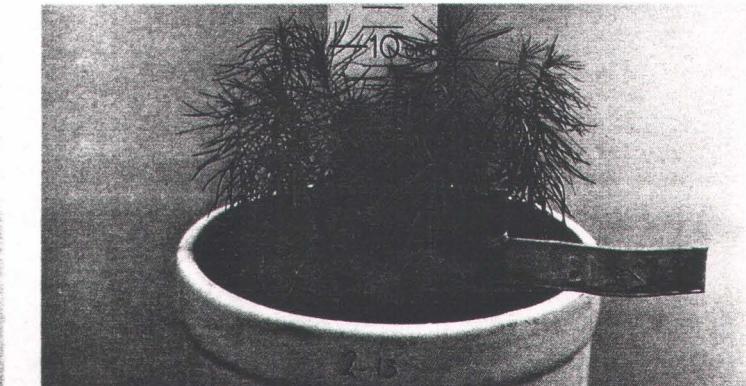


Tableau 3 Évolution de la croissance en hauteur (moyenne) dans le temps par répétition pour les traitements 4 (tableau 3a), 8 (tableau 3b), 12 (tableau 3c) et 13 (tableau 3d)

Changes in height growth (average) over time by repeating treatments 4 (Table 3a), 8 (Table 3b), 12 (Table 3c) and 13 (Table 3d)

traitements, dont on a appliqué seulement une ou deux doses, présentent des résultats guère différenciés. Les mélèzes sont plus petits que lors des traitements ayant subi plusieurs applications. On constate que lorsque la boue a été enfouie, les résultats sont légèrement meilleurs, à dose égale, que leurs équivalents fertilisés en surface.

La biomasse des tiges inclut aussi celle des feuilles. C'est une mesure qui est particulièrement intéressante car elle permet de constater plus globalement les résultats d'une expérience (tableau 3). Non seulement intègre-t-elle la hauteur et le diamètre des tiges, mais c'est de plus la valeur qui est finalement recherchée lors de la production de fibres, puisqu'elle donne la matière totale produite.

Les traitements qui ont donné les plus petites masses sont ceux qui ont reçu une seule application de boue. Par contre, la dose totale d'azote combinée au nombre d'applications semble avoir provoqué un effet. C'est ainsi que la dose de 125 kg N/ha est meilleure que les doses de 50 kg N/ha et 25 kg N/ha, et à l'intérieur de la dose de 125 kg N/ha, cinq applications répétées de 25 kg N/ha (traitement 8) ont produit plus de biomasse qu'une seule application de 125 kg N/ha (traitements 4 et 20).

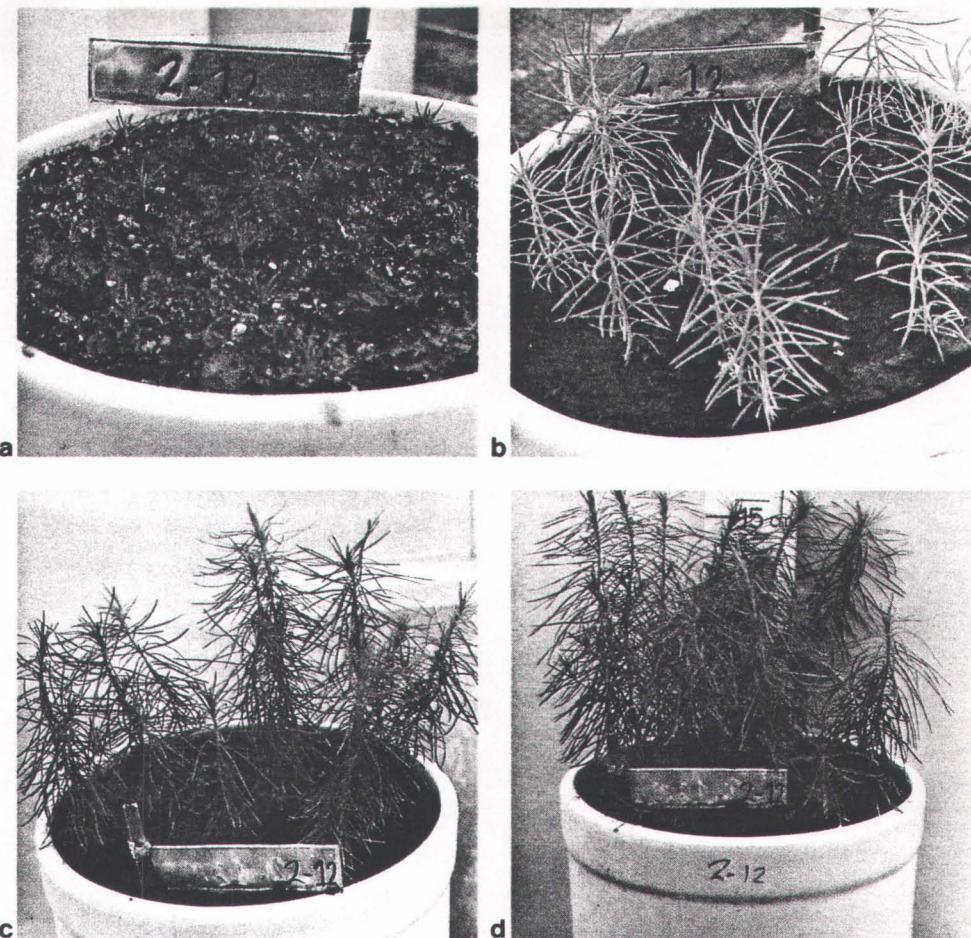
Si l'on passe aux traitements ayant reçu 9 et 17 applications, ce sont ceux qui ont reçu le plus de boue en tout et qui présentent les meilleurs résultats, sauf pour les traitements 11 et 12 où c'est l'inverse (fig. 7a, 7b, 7c et 7d).

En conclusion, les boues constituent un bon fertilisant forestier quand il s'agit d'améliorer un substrat voué à la croissance du mélèze laricin. Même si cette expérience a été menée en serre, il serait fort probable que des résultats semblables seraient obtenus sur le terrain.

Il est difficile d'identifier avec exactitude la dose et le nombre d'applications idéales. D'une part, on peut déjà conclure, d'après les résultats expérimentaux, que pour une même dose totale, la production de biomasse est plus grande qu'avec des applications répétées comparativement à une application massive (le traitement 9 est meilleur que le traitement 7 et le 8 est meilleur que le 4). D'autre part, les coûts associés à plusieurs applications sont plus élevés. En outre, pour un même nombre d'applications, des doses plus grandes produisent de meilleurs résultats (le traitement 15 est meilleur que le 14, lui-même meilleur que le 13).

Les résultats indiquent aussi qu'un plus grand nombre d'applications, avec des petites doses à chaque fois, donnent de meilleurs résultats qu'un plus petit nombre d'applications avec des doses plus grandes (le traitement 14 est meilleur que le traitement 12). Le traitement 13 est une exception car cette dose de 6,25 kg N/ha-sem. ne produit jamais les meilleurs résultats.

Il aurait été intéressant d'étudier le comportement d'un traitement ayant reçu une application (massive) de 425 ou 450 kg N/ha afin de le comparer avec les traitements qui ont reçu cette dose de façon cumulative. Finalement, nous ne pouvons pas déterminer si l'enfouissement est préférable à la fertilisation en surface, les différences entre ces traitements n'étant pas assez importantes.



*Figure 7(a) La répétition 2 du traitement 12 après 25 jours de croissance  
(b) après 69 jours de croissance  
(c) après 105 jours  
(d) après 119 jours*

*Second repetition of treatment 12 after 25 days of growth  
(b) after 69 days  
(c) after 105 days  
(d) after 119 days*

Cette expérience en serre a révélé qu'une plus grande proportion de biomasse a été produite en utilisant les boues résiduaires comme fertilisant. Puisque les boues pro-

duites devront être déposées quelque part, il est logique d'en tirer le meilleur parti possible en les recyclant.

M. Yvon Grenier est ingénieur forestier de l'Université Laval (1982) et possède une maîtrise en Sciences de l'eau de l'Institut national de la recherche scientifique (INRS-Eau) de l'Université du Québec. Il a travaillé en foresterie au Québec, en Irlande et en Finlande. Il a aussi été assistant de recherche à l'INRS-Eau, où il a travaillé à l'enlèvement des métaux des boues résiduaires par des processus biologiques. Il est maintenant à la tête d'une firme de consultation dont les intérêts professionnels vont vers le recyclage, l'amélioration de la qualité de l'environnement et la valorisation des boues résiduaires.

Docteur en génie chimique de l'Université Laval, M. Denis Couillard est professeur depuis 1971, et titulaire depuis 1981, à l'Institut national de la recherche scientifique (INRS-Eau).

M. Couillard bénéficie actuellement de subventions provenant de plusieurs milieux pour ses travaux de recherche sur le traitement des eaux usées et sur l'impact des rejets dans le milieu environnemental.

M. Couillard est également récipiendaire de nombreux prix, et auteur de plusieurs articles scientifiques et de rapports de recherche.

L'article publié dans ce numéro ne couvre qu'un des aspects du projet mené par les auteurs. Une version plus détaillée existe sous forme d'une thèse de maîtrise déposée à l'INRS-Eau sous le titre « La valorisation des boues d'usine d'épuration des eaux en fertilisation forestière ».

This research project had two objectives: upgrading, or recycling, residual sludge produced by water-treatment plants, and increasing silvicultural yields through fertilization.

We conducted an experiment in greenhouses over a four-month period. We grew larches in sand fertilized with varying quantities of anaerobic sludge. The experiment proved conclusively that sludge from water-purification plants can be put to good use in forest fertilization.

This article is also available in English.

EFFECTS OF MEDIUM COMPOSITION ON THE  
BACTERIAL LEACHING OF METALS FROM DIGESTED SLUDGE

R.D. TYAGI, D. COUILLARD AND Y. GRENIER

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

INRS-EAU

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

COMPLEXE SCIENTIFIQUE

2700, rue Einstein

Sainte-Foy (Québec), CANADA, G1V 4C7

Phone: (418) 654-2617

SUMMARY

Effects of medium constituents; soluble iron,  $K_2HPO_4$ ,  $MgSO_4$ ,  $CaNO_3$ ,  $KCl$ ,  $(NH_4)_2SO_4$ , and sludge solids concentration; on bacterial leaching of heavy metals from digested sludge have been studied in batch culture using a strain of T. ferrooxidans at 24°C and an initial pH 4.0. The sludge medium was found to be deficient in iron source. Metal leaching rate was increased proportionally with the ferrous iron and the sludge solids concentrations. Addition of ammonium sulfate increased the overall solubilization of Cu and Zn. But the ultimate metal solubilization efficiency was reduced with solids concentration. Other medium constituents did not affect the metal leaching rate. The kinetic constants ( $V_m$  and  $K_m$ ) were computed from the batch results.

KEYWORDS: Heavy Metals Removal, Microbial Leaching, Digested Sludge, Sewage Sludge, Sludge Disposal, Sludge Utilization, Thiobacillus ferrooxidans.

1. INTRODUCTION

Heavy metals enter in a wastewater treatment plant from a number of domestic and industrial sources. Mobilization of metals in primary and secondary sludges during sewage treatment and subsequent increased metals concentration in anaerobic digestion makes the utilization and final disposal of sludge very troublesome. In order to render the sludge suitable

for agricultural land application and to protect the environment and human health from heavy metals contamination, the latter should be removed. The fact that during anaerobic digestion metals are concentrated into insoluble sulfide form suggested that metals could be removed by bacterial leaching (Tyagi and Couillard, 1987a).

In our earlier work the bacterial leaching of heavy metals from anaerobically digested sludge was studied in batch system using mixed culture of Thiobacillus ferrooxidans and Thiobacillus thiooxidans and single culture of T. ferrooxidans alone (Tyagi and Couillard, 1987a). Mixed culture gave better solubilization rate of metals compared to that of single culture. Maximum metal solubilization observed in mixed culture for Zn, Cu, Pb and, Cd was in the order of 96%, 75%, 55% and 50% respectively in 10 to 12 days time. The rate of solubilization observed was in the order of Cu > Zn > Cd > Pb. In continuous system a dilution rate (flow rate/working volume) of 0.2-0.3/day was optimum for maximum rate of solubilization of Pb (Tyagi, 1988). The rate of solubilization increased with dilution rate for Cu and Zn. Recommended level of Cu in sludge (74% removal) was obtained with a residence time of five days in continuous system. The performance of the acid treatment process and the microbial process has also been compared by Tyagi et al. (1988) using similar samples of digested sludge. The removal of metals was found to increase with decreased sludge solids concentration and pH. A pH of 1.5 was required to bring the copper concentration in the sludge to an acceptable level. The acid requirement was much lower for the microbial process. The cost of sludge treatment in terms of chemicals was found to decrease by 80% in microbial leaching process. The bacterial leaching of digested sludge has also been studied by other workers (Wong and Henry, 1983, 1984a, 1984b) using T. ferrooxidans. The factors affecting the leaching rate (pH, temperature and aeration rate) were investigated.

The foregoing research demonstrated the potential of bacterial leaching for heavy metals removal from digested sludge, but the time required to produce acceptable sludge varies from 8 to 30 days depending upon the nature of sludge, cultivation conditions and the type of bacterial strain used (Wong and Henry 1983, 1984a, 1984b; Tyagi and Couillard, 1987a, 1987b; Tyagi

et al., 1988; Tyagi, 1988; Schonborn and Hartman, 1978; Calmano et al., 1985). From the economic standpoint, the bioreaction time should be reduced.

The strategies which can be adapted to reduce the bioreaction time are: a) manipulation of medium composition in order to provide optimal nutrients requirements for bioconversion or optimization of medium composition, b) optimal bioreactor regime, and c) isolation of highly active bacterial mutants through classical screening or genetic engineering techniques. The objective of the present investigation was to study the medium composition in search of lower bioreaction time. The effect of sludge concentration on metal removal efficiency was also investigated.

## 2. FACTORS AFFECTING THE GROWTH OF LEACHING BACTERIA

Among the most important factors required by iron oxidizing thiobacilli are: energy source (ferrous ions), nutritional components including ammonia, sulfate, potassium, phosphate, magnesium and calcium (Lundgren and Silver, 1980). Other trace element requirements are usually fulfilled by the impurities in the constituents of the media. The carbon source is supplied in the air as carbon dioxide. Although ferric iron has been suggested as an oxidant, oxygen is generally regarded as the only agent to fulfil this role (Lundgren and Silver, 1980). The growth media have been widely used in laboratory studies of leaching minerals, but they are too expensive. It is desirable to identify those nutrients needed to be added to the leaching solution to form a practical leaching medium for municipal sludge. Therefore, the effects of soluble iron,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , KCl,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4$  and  $\text{CaNO}_3$ , on the bacterial leaching rate were studied.

## 3. MATERIALS AND METHODS

### a) Sludge source and metal concentration

Sludge samples were obtained from Valcartier waste treatment plant, Québec. The metals concentration of the sludge samples varied depending on the sampling dates. Copper and lead were by far the metals of greatest

concentration within the sludge solids. In order to maintain stability, the sludge was stored in a refrigerator at 4°C and was used throughout the study. The metal composition of this sludge is shown in Table 1. The pH of the sludge obtained from the treatment plant was 6.5-7.0. Before adjusting the pH for bacterial leaching, the soluble metal concentration within the liquid portion of the sludge was insignificant compared to that present in the sludge solids. For all sludge samples collected during the experiments, the soluble metal concentration in the liquid portion was below 0.2 mg/L.

b) Microorganism

The strain of Thiobacillus ferrooxidans (ATCC, 19859) used in these studies was obtained from American Type of Culture Collection. The culture was maintained in 9 K medium (Lacey and Lawson, 1970) with 14.74% FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O as energy source at pH 2.5. The cells were grown at 24°C on a gyratory shaker at 125 rpm. The cells were transferred twice a week to 10 mL fresh medium. The culture was adapted to the anaerobically digested sludge medium.

c) Inoculum

Inoculum was prepared by growing sludge adapted cells in 500 mL Erlenmeyer flasks containing 100 mL of the medium and sludge at pH 3.0 and 28°C. The flasks were agitated at 250 rpm using gyratory shaker apparatus model 26, from New Brunswick Scientific Co. Inc. N.J. A 10% volume of inoculum was used in all the experiments.

d) Experimental

Leaching experiments were carried out at room temperature (24°C) in 500 mL flasks with 150 mL of sludge medium. The flasks were agitated at 250 rpm in the shaker. The initial pH was adjusted to 4.0 with sulfuric acid. A control run without T. ferrooxidans was always carried out in order to compare the results. Ten mL of samples were drawn each day in order to analyse the solubilized metals. Samples were also drawn immediately after acidifying the sludge to pH 4.0. During the experiments unsterilized sludge was used.

e) Analytical

The samples were centrifuged at 10 000 rpm for 20 minutes and metals in the supernatant were determined by atomic absorption spectrophotometer according to Standard Methods for Examination of Water and Wastewaters (1985). Absorption calibration curves for each metal were determined using standardised metal solutions prepared following "Standard Methods" procedure. Metal solutions for analysis were diluted following the procedure outlined in "Standard Methods" and were performed in the linear range of calibration curve.

4. RESULTS AND DISCUSSION

4a) Effects of iron and other nutrient concentrations

The experiments were carried out to explore the effect of ferrous iron concentration on the leaching rate of chemically-pure iron. The results obtained in these experiments in terms of pH are shown in Figure 1. In the control run there was an initial increase in pH of the reactor content followed by a gradual fall. The pH decreased at a faster rate when the bioreactor was inoculated with T. ferrooxidans cells. Addition of  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  to the bioreactor in the presence of T. ferrooxidans further enhanced the rate of pH fall. The effects of soluble iron on metal extraction is shown in Figure 2. The metal leaching rate increased rapidly in the presence of dissolved iron. The enhancement of the metals leaching rate in the presence of added ferrous iron support the participation of ferric leaching mechanism of sludge metals (Tyagi and Couillard, 1987a). Since dissolved iron would be quickly oxidized to the ferric state by the bacteria, the results shown in Fig. 2 may indicate a substantial indirect ferric ion leaching component during the bacterial oxidation of metal sulfides.

Metal solubilization rate during batch experiments with varying concentration of soluble iron (added in the form of ferrous sulfate) was calculated by differentiating the batch curve. The maximum value of metal solubilization rate for different metals thus obtained are presented in

Fig. 3. The metal leaching rate increased proportionally with iron concentration in the medium. The Zn solubilization rate was increased two times and that of copper was increased 1.9 times. Ferrous sulfate concentration in the leaching medium beyond 20 g/L had less effect on the metal leaching rate. The time of maximum solubilization of metals was reduced as low as 4 days against the time required 10 to 12 days without the iron in the medium. These results are somewhat similar to the effect of iron in microbial leaching of metals in mines. Sakaguchi *et al.* (1976) reported optimum concentrations of ferric iron in the range of 0.004-0.01 M during oxidation of covellite and chalcocite by T. ferrooxidans. The sludge contain 9200 mg of iron per Kg of sludge on dry weight basis. Taking 30 g/L sludge concentration used in this series of experiments, iron concentration is equal to 276 mg/L. This is equivalent to 1370 mg/L of  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . Slow metal solubilization rate and pH change, without the addition of ferrous sulfate, suggest that availability of native iron is a limiting factor.

According to Scott and Horlings (1975), in the sludge which has not undergone anaerobic digestion, the iron would be primarily in the ferric form. The extract of anaerobic digester underflow sludge did not contain ferric iron and generally showed lower iron content in solution. Ferrous iron also has been reported to combine with orthophosphate to form a fairly well defined ferrous phosphate compound (Ghassemi, 1971), which does not begin to solubilize until the pH is of the order 4-4.5 or lower. At or about pH 4.0, only a minor amount of ferrous iron is precipitated. Above a pH of 4.5, the precipitation rate of orthophosphate parallels the reduction in ferrous ion content of the solution. These results were obtained when sludge phosphorous concentration was 2.575 g/L. During these experiments, the initial pH was adjusted to 4.0. Accordingly the ferrous iron was expected to be in the soluble form. But T. ferrooxidans did utilize the iron very slowly. This is to be noticed that the concentration of phosphorus in the sludge medium was only 175.6 mg/L (5.85 mg/ g of dry sludge). The large difference in phosphorus concentration may reflect different course of iron precipitation with pH. Thus there may be two reasons for the slow availability of sludge ferrous iron to T. ferrooxidans. Either the soluble ferrous phosphate is in complexation with other soluble organic matter and is slowly released out of this complex and/or ferrous

ions remain in complex with sludge solids in insoluble phase. Further research is required to clarify the nonavailability of sludge iron for bacterial growth.

Figure 4 represents the effect of ammonium sulfate (nitrogen source) concentration on the maximum solubilization of different metals. There was a slight increase in the yield of Zn and Cu. Cadmium yield remained unaffected. The effects of other medium constituents (potassium chloride, dipotassium hydrogen phosphate, magnesium sulfate, and calcium nitrate) were also studied and the results in terms of pH variation are shown in Table 2. In these batch runs the concentration of  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  was kept constant 1.0 g/L and the concentration of other nutrients were added in the same concentration as that in the basal medium (Lacey and Lawson, 1970). Insignificant pH change during these runs demonstrates that other nutrients are not required for the growth of bacteria and T. ferrooxidans cells are capable of utilizing these elements from the sludge itself.

4b) Effects of sludge solids concentration

These experiments were carried out with sludge solids concentration varied from 10 g/L to 50 g/L, at an initial pH of 4.0 and with the addition of 1.0 g/L of  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . The variation of pH and metals concentration in leach solution under the influence of sludge solids concentrations are shown in Figs 5, 6 and 7. The pH was found to decrease until 3rd day of the culture and then tends to increase at 10 to 33 g/L solids concentration (Fig. 5). It is also evident from Fig. 5 that the higher is the solids concentration, the higher final (minimum) pH is attained. At 50 g/L solids concentration, pH decreased at a slower rate compared to lower solids concentrations and continued to decrease until 4th day. Increasing trends of pH after a minimum may be due to the autolysis of cellular material.

The pattern of copper solubilization with respect to time at different sludge concentration was somewhat different than that of zinc. Copper was slightly solubilized for the first day (Fig. 6), whereas substantial amount of zinc appeared in solution during the same time (Fig. 7). Similar results were obtained during acid treatment of anaerobically digested sludge (Tyagi

et al., 1988). At pH 3.0, the copper in solution was not observed until 10 hours and at pH 3.5, the copper concentration in solution was less than 1 mg/L until 50 hours. It is to be noticed that after the first day the pH decreased from 4.0 to 3.5-3.7 (Fig. 5). However, during the same pH drop zinc shows substantial solubilization and is proportional to sludge concentration. This indicates that some common factor deaccelerates the copper solubilization in bacterial as well as in acid leaching process. Wozniak and Huang (1982) also obtained resembling results with regard to copper solubilization on secondary activated sludge. They found that Cr, Ni, Zn were removed in large amounts immediately after acid addition. But initial removal of Cd, Cu and Pb usually represented less than 10% of the maximum value under given conditions of pH and solids concentration. McNulty et al. (1977) also observed that Zn and Ni were most readily solubilized with an efficiency of 91 and 36% respectively. Only 3-4% of the Cr and Pb were extractable and no appreciable amount of copper was solubilized with the hot acid treatment process.

The rate of metal solubilization during microbial leaching increased proportionally with sludge solids concentration. The average metal solubilization rates (metal concentration in solution at 6th day divided by the time) are shown in Table 3. Lead solubilization rate did not increase with sludge solids concentration. At low solids concentration (10 to 15 g/L), the metal removal attained maximum at 3rd day for Cu as well as for Zn. This also corresponds to the fact that metal in solution did not increase after pH reached a minimum (Fig. 5). However, at 20 to 30 g/L sludge solids concentration, solubilized metal concentration continued increasing after 3rd day even in spite the pH started increasing. Metal solubilization at 50 g/L solids concentration showed the same trend except that the metal solubilization changed its course at 4th day. Initial lag was also higher at this solid concentration.

The final extraction yield of metal decreased with solids concentration linearly (Fig. 8). Copper yield was reduced from 98% to 84% when sludge solids increased from 10 g/L to 50 g/L, whereas Zn extraction reduced from 100% to 94% under the same variation of solids concentration. Wong and Henry (1984b) also found that the overall metal solubilization was inversely

related to the sludge concentration, with the highest leaching at the lowest solids concentration. These authors used unoptimized medium conditions for bacterial growth and hence the bioreaction time was very long. These results indicate that the time for solubilization is only 3 to 4 days. The overall metal removal efficiency was also shown to be reduced with increased solids concentration during the acid treatment process using anaerobically digested sludge and the secondary activated sludge (Tyagi et al., 1988; Wozniak and Huang, 1982). These workers also observed that the effects of solids concentration were more pronounced on copper than those of other metals.

During acid treatment of anaerobic sludge, the maximum solubilization of copper (87%) occurred at a pH 1.5 and solids concentration of 5 g/L. Increase in either pH or solids concentration decreased the metal solubilization (Tyagi et al., 1988). At pH 4.0, copper was not solubilized from anaerobic sludge as well as from secondary activated sludge (Tyagi et al., 1988; Wozniak and Huang, 1982). However, in the present process maximum copper solubilization 98% was achieved at solids concentration of 10 g/L and initial pH 4.0 (Fig. 8). At pH 1.5, in the acid treatment process where copper was substantially solubilized, the acid consumption was the order of 0.93 to 0.5 g/g of dry sludge. In the microbial process the acid consumption is about 0.16 g/g of dry sludge. Thus in the microbial leaching process a considerable low amount of acid is required and increased metal solubilization is achieved. Nevertheless in order to enhance the bacterial leaching rate the addition of iron source to sludge is essential.

The initial lag in copper solubilization, slow rate of metal dissolution after attainment of minimum pH at higher solids concentration, and lower ultimate solubilization efficiency at increased solids concentration in bacterial leaching is related to the formation of organometallic complex. These organometallic complexes follow the Irving-William series: Pb > Cu > Ni > Co > Zn > Cd in the order of strong complexation. Gould and Genetelli (1978) also showed the order of affinity of metals for sludge solids: Cu > Zn > Cd > Ni. The Irving-William series describes the relative order of metal-organic chelate bond strengths. The greater the organic metal bond strength, the less soluble the complex. The removal of metals from the

sludge by acidifying to pH as low as 2.0 and 1.5 has shown that the metal removal efficiency follows this series. As might be expected, the order of percent metal solubilization in bacterial leaching experiments was Pb < Cu < Zn. Lowest solubilization rate as well as low overall solubilization of Pb may be due to less solubility and/or greater tendency to form complex with the sludge solids. Since copper has been suggested to form stronger complexes than zinc explains the larger initial lag time in solubilization (Oliver and Carey, 1976; Cheng et al., 1973). Strong organo-metal complexing tendency renders Cu less accessible for microbial attack.

But the average rates of metals solubilization observed in the order of Cu > Zn > Pb (Table 3) are in contrast to the Irving-William series. This can be attributed to the individual metal concentration in the sludge and shows that metal/sludge ratio plays an important role. Since insoluble metal sulfides are the energy substrate in metal leaching process for bacterial cells. The increase in metal sulfide concentration resulting from increased sludge concentration expectedly will increase the biological activity. At increased solids concentration the metals may also become more strongly attached or complexed by the solids and may create adverse effects on solubilization as has been observed during these experiments (Wozniak and Huang, 1982).

The distribution of metals were measured as acid-extractable and acid digestible according to the method used by Kao et al. (1982). If by first approximation, the amount of the acid-digestible fraction represents the metal that became incorporated into the intracellular substance. Then these measurements showed that the intracellular proportion of Cu, Zn, Pb, Cd, Cr and Ni was in the order of 86.5%, 45%, 7.8%, 7.6%, 50% and 41.2% respectively. These results also clearly support that a major amount of Cu is complexed with the organic matter as compared to the other metals.

Acidification studies of soil samples containing organically chelated metals have shown that order of metal removal may not necessarily correspond to the prediction of the Irving-William series, but may deviate slightly (Schnitzer and Skinner, 1967). Such relative series of organic-metal chelate solubilizations were also found to be dependent upon pH, metal concentration

of soil and length of acidification time. These effects are evident in microbial leaching of metals from sludge and may indicate that certain metals predominate as organic chelate within or on sludge solids.

Apart from the formation of organo-metallic complexes, the solids concentration may also affect the bacterial leaching rate under optimized as well as under non-optimized conditions due to several other factors. These includes mass transfer limitations for oxygen and carbon dioxide which are essential nutrients for the growth of *T. ferrooxidans*, interference of sludge solids in dispersing the microbial cells and their substrate (iron).

#### 4c) Estimations of kinetics constants

In this heterogenous system the assessment of the bacterial number involved in metal sulfide oxidation in sludge presents many difficulties. This is due to the fact that a large number of cells are attached to the solid surface. In order to avoid uncertainty of cell count measurement, product formation (P) rather than cell number (N) was used as growth measuring parameter. This assumption is justified because the rate of product formation corresponds to bacterial growth in energy linked growth:

$$\frac{dP}{dt} = Y \frac{dN}{dt}$$

Here Y is the yield constant.

The kinetic parameters ( $V_m$  and  $K_m$ ) obtained in this work differ in many respect from those originally described by Monod who was concerned with the bacterial growth in homogeneous systems rather than the metal extraction in heterogenous systems dealt here. The metal extraction rate (V) was determined from the linear section of the plot of metal concentration versus time (Figs. 6 and 7), where the cell growth is approximated the logarithmic growth phase. A further difference from Monod's model can be noted with respect to the substrate concentration, which is replaced in this work by the initial sludge concentration. This is obviously justified as metal sulfide concentration is directly proportional to the density of sludge solids. The results of these calculations for copper and zinc are shown in

Figs. 9 and 10. Each point in these figures represents the mean value of metal extraction rate derived from triplicate experiments carried out under identical conditions. The kinetic parameters ( $V_m$  and  $K_m$ ) determined by Line-Weaver-Burk type of plots for individual and combined metals are summarized in Table 4. The maximum rate of metal dissolution ( $V_m$ ) is lower for zinc than for copper. The order of corresponding values of  $K_m$  was higher for copper than for zinc. This indicates that *T. ferrooxidans* has greater affinity for Zn rather than Cu. This is in accordance with the values of the maximum specific growth rate and the saturation constant calculated from the continuous culture results (Tyagi, 1988).

##### 5. CONCLUSIONS

- 1) Addition of soluble iron in the sludge medium increases the metal leaching rate.
- 2) Addition of nitrogen (ammonium sulfate) increases the overall solubilization of Cu and Zn to a small extent.
- 3) Addition of phosphate is not required.
- 4) Addition of other nutrients (KCl, MgSO<sub>4</sub> and CaNO<sub>3</sub>) did not affect the leaching rate.
- 5) Increasing the sludge concentrations augmented the metal solubilization rate but final efficiency of metal removal varied inversely.
- 6) The kinetic constants of metal leaching were calculated.

##### ACKNOWLEDGEMENTS

This research was made possible through grants from Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (grants A3711 and A4984), the ministère de l'Éducation of the province of Québec (grant FCAR 87-AS-2462) and the programmes de developments académiques du réseau de l'Université du Québec (Québec).

REFERENCES

- CALMANO, W., W. AHLF and U. FORSTNER (1985). Heavy metals removal from contaminated sludge with dissolved sulfur dioxide in combination with bacterial leaching. Proc. 5th Int. Conf. on Heavy Metals in the Environment, Athens, CEP Consultants, Edinburg, p. 952-955.
- CHENG, M.H., J.W. PATTERSON and R.A. MINEAR (1973). Investigation of heavy metals sludges complexation constants by cation exchange. Proc. Am. Soc. Cong. Chicago, Environ. Chem. Div., 13(2): 14-24.
- GHASSEMI, M. and H.L. RECHT (1971). Phosphate precipitation with ferrous ions. Water Pollut. Control Res. Ser., U.S. Department of Interior, Programme No. 17010EKI.
- GOULD, M.S. and E.J. GENETELLI (1978). Complexation behaviour in anaerobically digested sludges. Water Res., 12: 505-512.
- KAO, J.F., L.P. HSIEH, S.S CHENG and C.P. HUANG (1982). Effect of EDTA on cadmium in activated sludge systems. J. Water Pollut. Control Fed., 54: 1118-1126.
- LACEY, D.T. and F. LAWSON (1970). Kinetics of liquid-phase oxidation of acid ferrous sulphate by the bacterium Thiobacillus ferrooxidans. Biotechnol. Bioengg. XII: 29-50.
- LUNDGREN, G. and M. SILVER (1980). Ore leaching by bacteria. Ann. Rev. Microbiol., 34: 263-283.
- McNULTY, K.J., A.T. MALARKEY, R.L. GOLDSMITH and M.A. FERMONT (1977). Development of a new process for sludge conditioning: a paper presented at the National Conference on Composting of Municipal Residue and Sludge, Rockville, Md., August 23-25.
- OLIVER, B.G. and J.H. CAREY (1976). Acid solubilization of sewage sludge and ash constituents for possible recovery. Water Res., 10: 1077-1081.

SAKAGUCHI, H., M. SILVER and A.E. TORMA (1976). Microbiological oxidation of synthetic chalcocite and covellite by Thiobacillus ferrooxidans. Appl. Environ. Microbiol., 31: 7-10.

SCHNITZER, M. and S.I.M. SKINNER (1967). Metallic interactions in soils: 7. Stability constants of  $Pb^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$  and  $Mg^{2+}$ . Fulvic Acid Complexes. Soil Science, 103: 247.

SCHONBORN, W. and H. HARTMAN (1978). Bacterial leaching of metals from sewage sludge. Europ. J. Appl. Microbiol., 5: 305-313.

SCOTT, D.S. and H. HORLINGS (1975). Removal of phosphates and metals from sewage sludge. Environmental Sci. and Technol., 9: 849-855.

STANDARD METHODS FOR EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER (1985). 16th Ed., Am. Public Health Assoc., Washington, D.C.

TYAGI, R.D. and D. COUILLARD (1987a). Bacterial leaching of metals from digested sewage sludge. Process. Biochem., 22(4): 114-117.

TYAGI, R.D. and D. COUILLARD (1987b). Comparison of chemical and microbiological processes to remove heavy metals from anaerobically digested sludge. Proc. Int. Symp. on Small Systems for Water Supply and Wastewater Disposal, National Univ. of Singapore, 2-4 July, p. 435-448.

TYAGI, R.D.(1988). Microbial leaching of metals from digested sludge in continuous system. J. Water Pollut. Control Fed. (submitted for publication).

TYAGI, R.D., D. COUILLARD and F. TRAN (1988). Heavy metals removal from anaerobically digested sludge by chemical and microbiological methods. Environmental Pollution (in press).

WONG, L. and J.G. HENRY (1983). Bacterial leaching of heavy metals from anaerobically digested sludge. Water Pollut. Res. J. of Canada, 18: 151-162.

WONG, L. and J.G. HENRY (1984a). Decontaminating biological sludge for agricultural use. Water Sci. Technol., 17: 575-586.

WONG, L. and J.G. HENRY (1984b). Biological removal and chemical recovery of metals from sludge. Proc. 39th Ind. Waste Conf., Purdue Univ. Lafayete, Indiana, p. 515-520.

WOZNIAK, D.J. and J.Y.C. HUANG (1982). Variables affecting metal removal from sludge. J. Water Pollut. Control Fed., 54: 1574-1580.

Table 1. Metal composition in sludge and their recommended level.

Metal	Composition (mg/L)	Recommended concentration (mg/Kg of dry sludge)	Removal required(%)
Cd	10	10	0.0
Pb	465	300	35.0
Cu	3355	600	82.1
Zn	1000	1750	0.0

Table 2. Effects of medium constituents on pH change.

Run	pH					
	106	108	109	110	111	112
0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
1	3.0	2.9	2.9	2.9	2.9	2.9
2	2.5	2.7	2.7	2.7	2.7	2.8
3	--	2.6	2.6	2.6	2.6	2.6
4	2.1	2.4	2.4	2.4	2.4	2.4
5	1.7	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
6	1.6	1.8	1.8	1.8	1.9	2.1

Medium Components						
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (g/L)	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
KCl (g/L)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.0	0.0
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (g/L)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.0
MgSO <sub>4</sub> (g/L)	0.5	0.5	0.5	0.0	0.0	0.0
CaNO <sub>3</sub> (g/L)	0.01	0.01	0.0	0.0	0.0	0.0
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O (g/L)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0

Table 3. Average metal solubilization rate as a function of sludge concentration.

Sludge concentration (g/L)	Average metal solubilization rate at 6th day	
	Cu	Zn
10	5.5	1.7
15	8.9	2.5
20	10.5	3.3
26	13.7	4.0
33	16.7	4.7
50	23.4	7.8

Table 4. Values of the kinetic constants.

Metal	$V_m$ (mg/L.day)	$K_m$ (g/L)
Cu	$1.8 \times 10^2$	70.0
Zn	$0.36 \times 10^2$	49.3
Cu, Zn	$2.5 \times 10^2$	72.7

LEGENDS OF THE FIGURES

Figure 1. Variation of pH with different culture conditions.

Figure 2. Metal solubilization with different culture conditions.

- o - o - copper solubilization in control run
- • - • - zinc solubilization in control run
- - - zinc solubilization in the presence of ferrous sulfate
- - - copper solubilization in the presence of ferrous sulfate
- Δ - Δ - copper solubilization in the presence of T. ferrooxidans and ferrous sulfate
- - - zinc solubilization in the presence of T. ferrooxidans and ferrous sulfate

Figure 3. Variation of metal solubilization rate with ferrous sulfate concentration.

Figure 4. Variation of metal solubilization with ammonium sulfate concentration.

Figure 5. Variation of pH with sludge concentration.

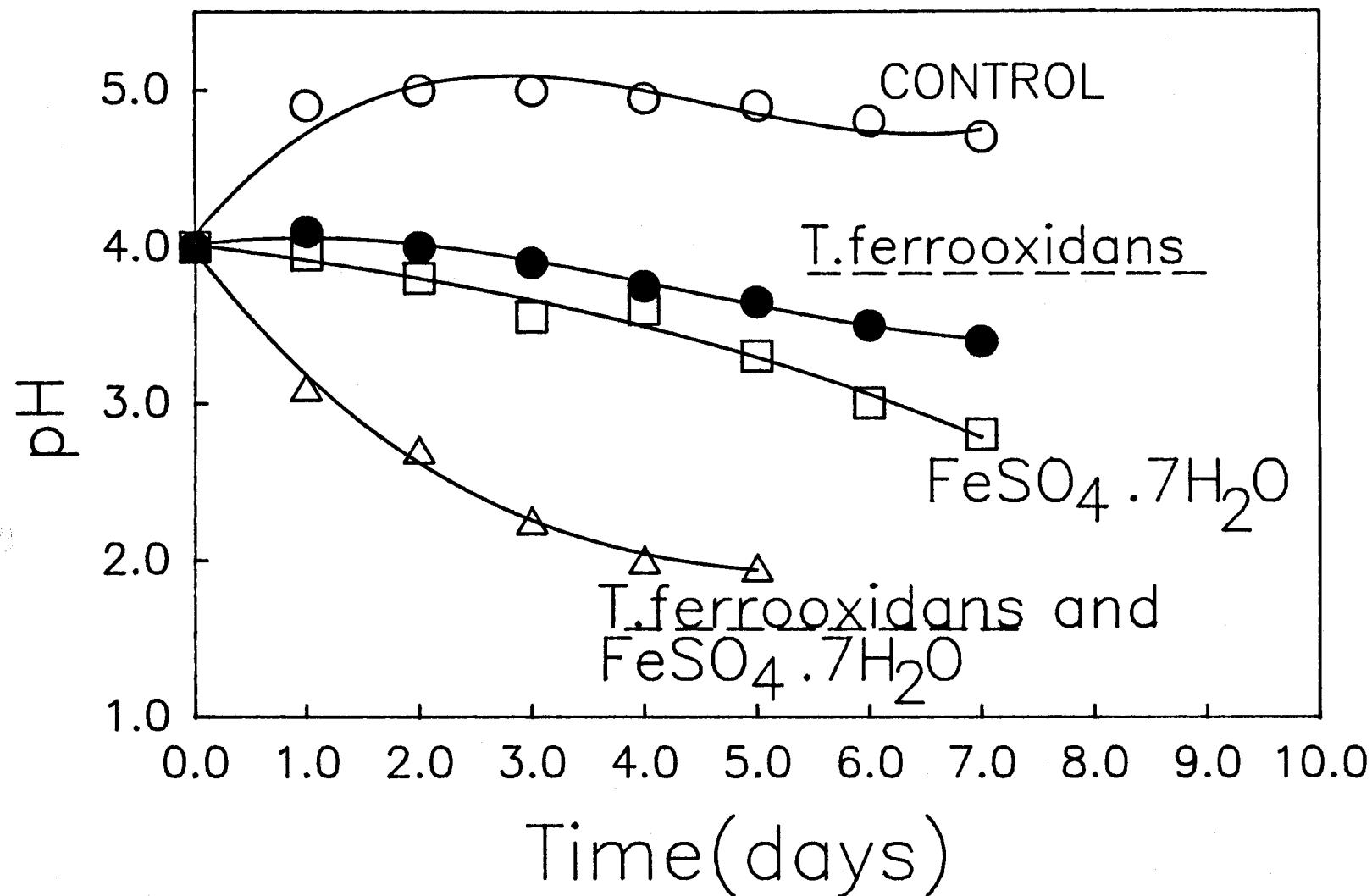
Figure 6. Solubilization of copper with varying sludge solids concentration.

Figure 7. Solubilization of zinc with varying sludge solids concentration.

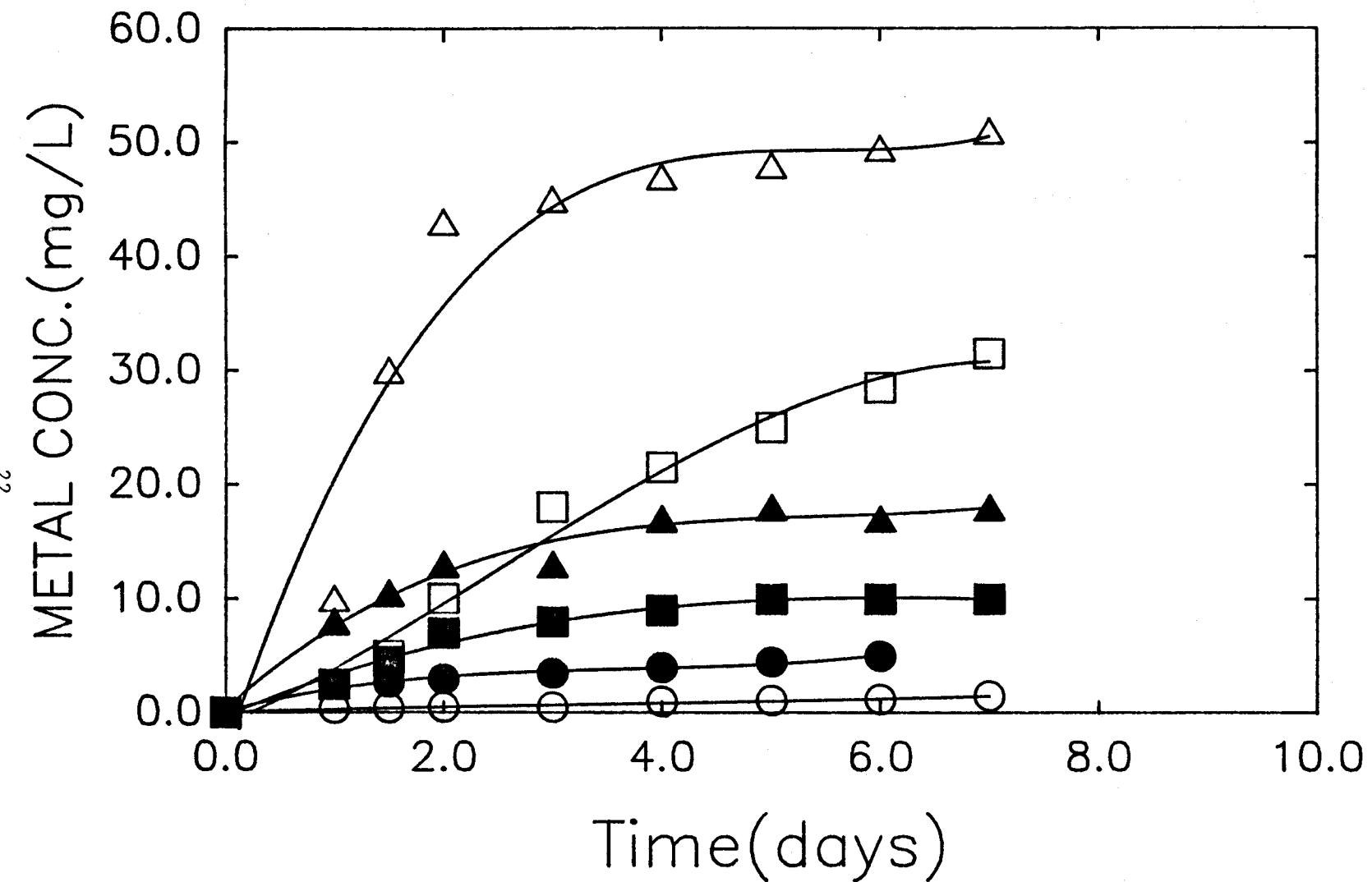
Figure 8. Variation of metal solubilization with sludge solids concentration.

Figure 9. Lineweaver-Burk plot for copper extraction.

Figure 10. Lineweaver-Burk plot for zinc extraction.

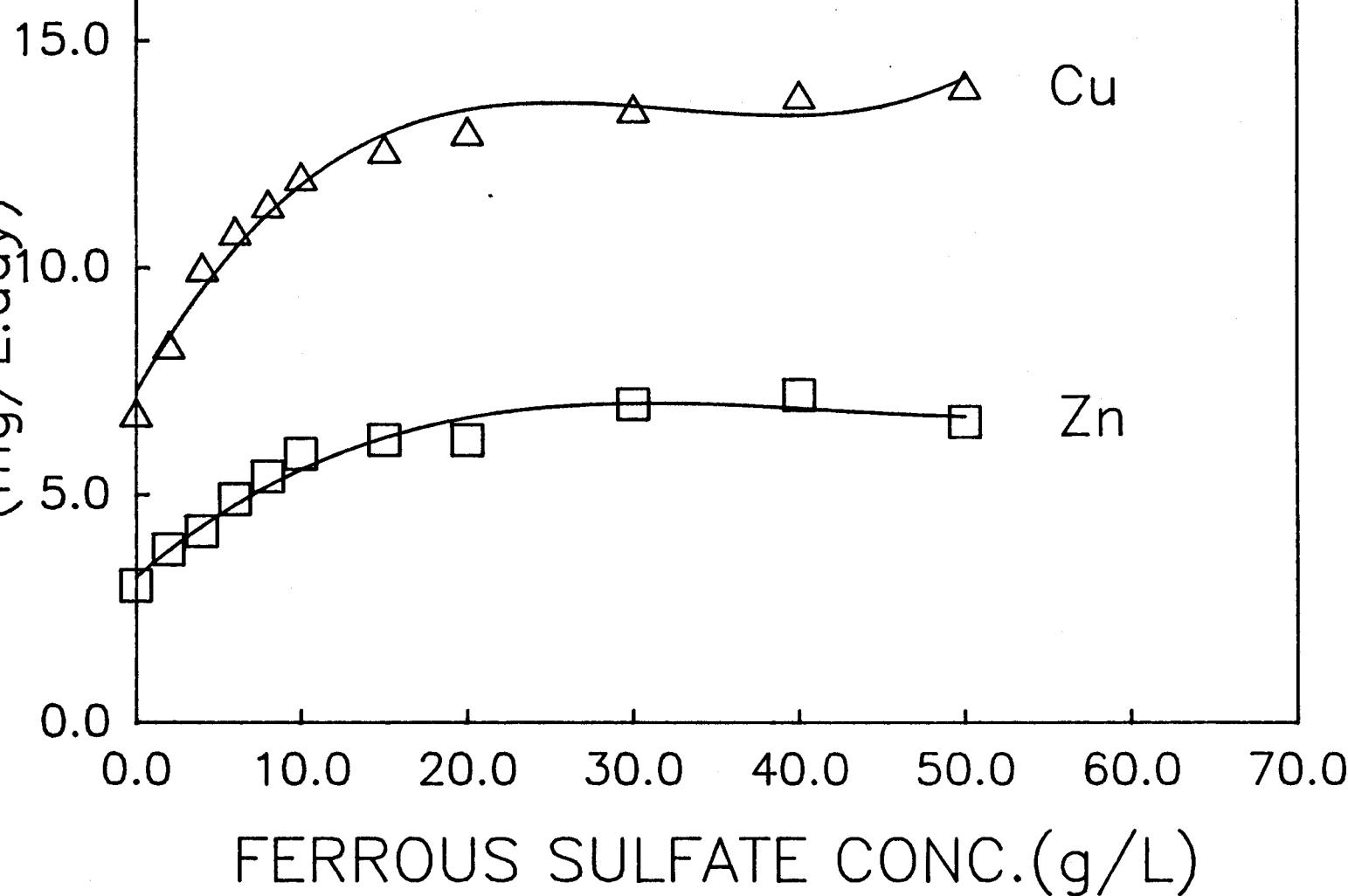


VARIATION OF pH WITH DIFFERENT CULTURE CONDITIONS

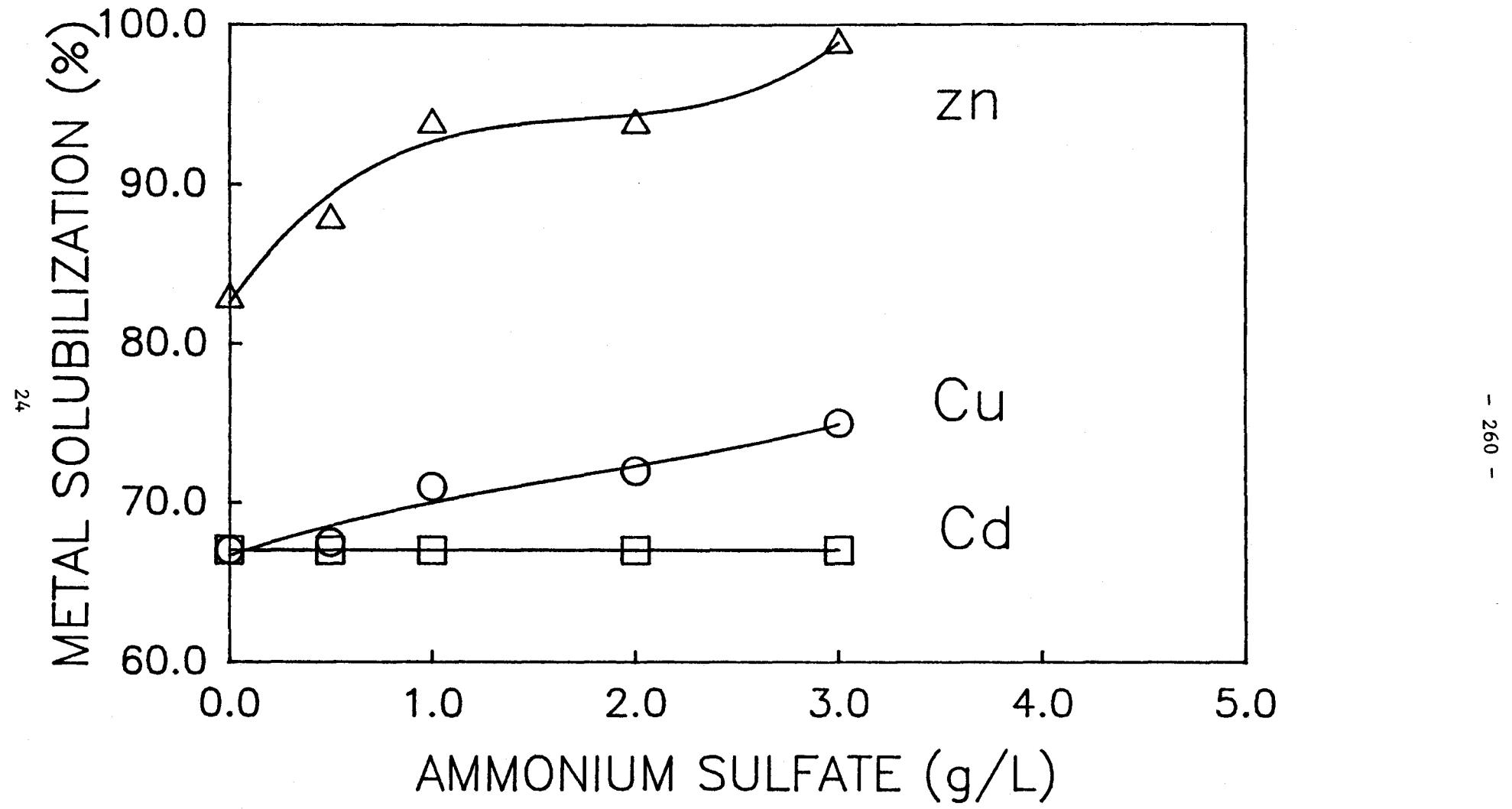


METAL SOLUBILIZATION WITH DIFFERENT  
CULTURE CONDITIONS

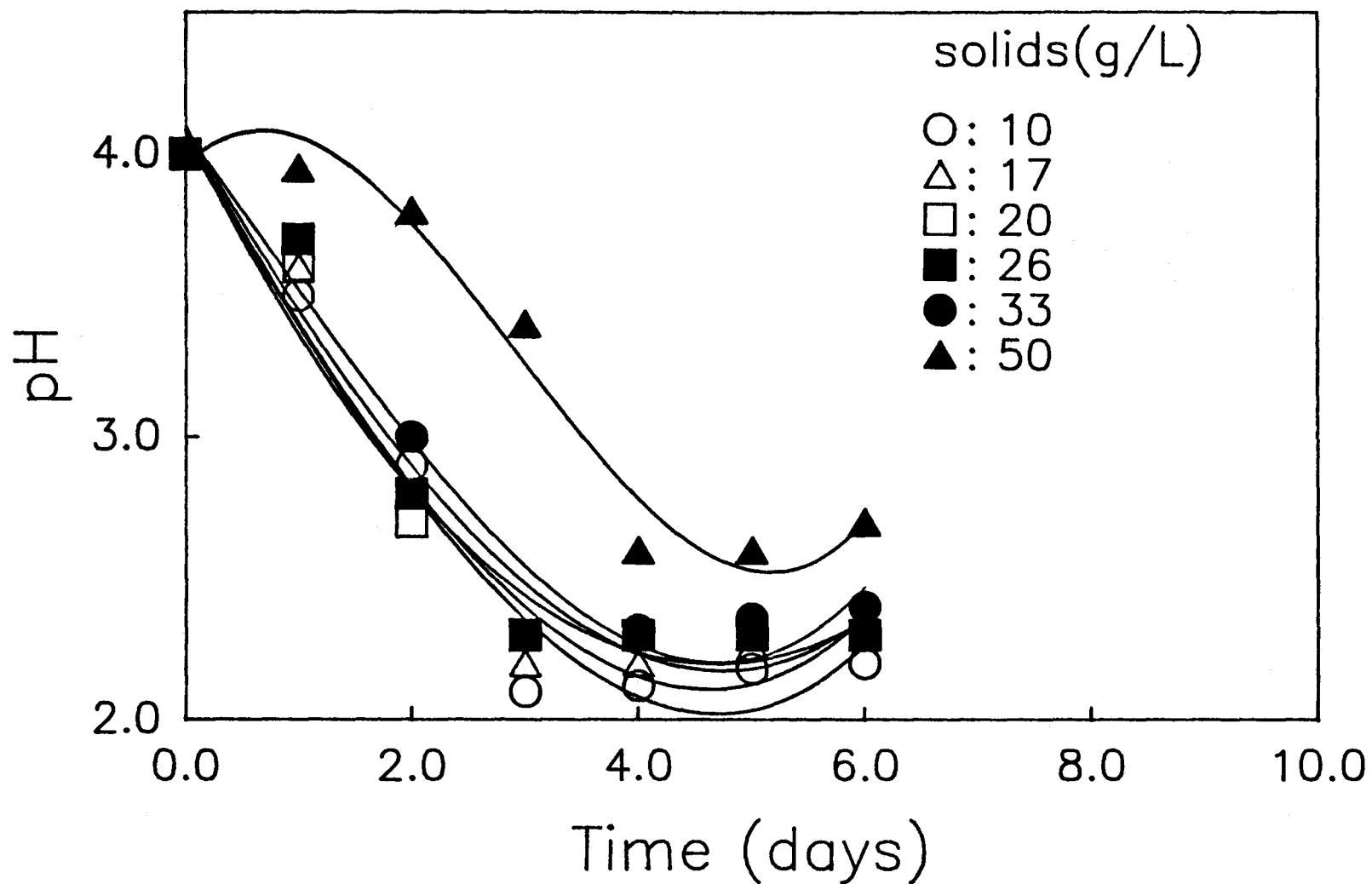
23  
METAL SOLUBILIZATION RATE



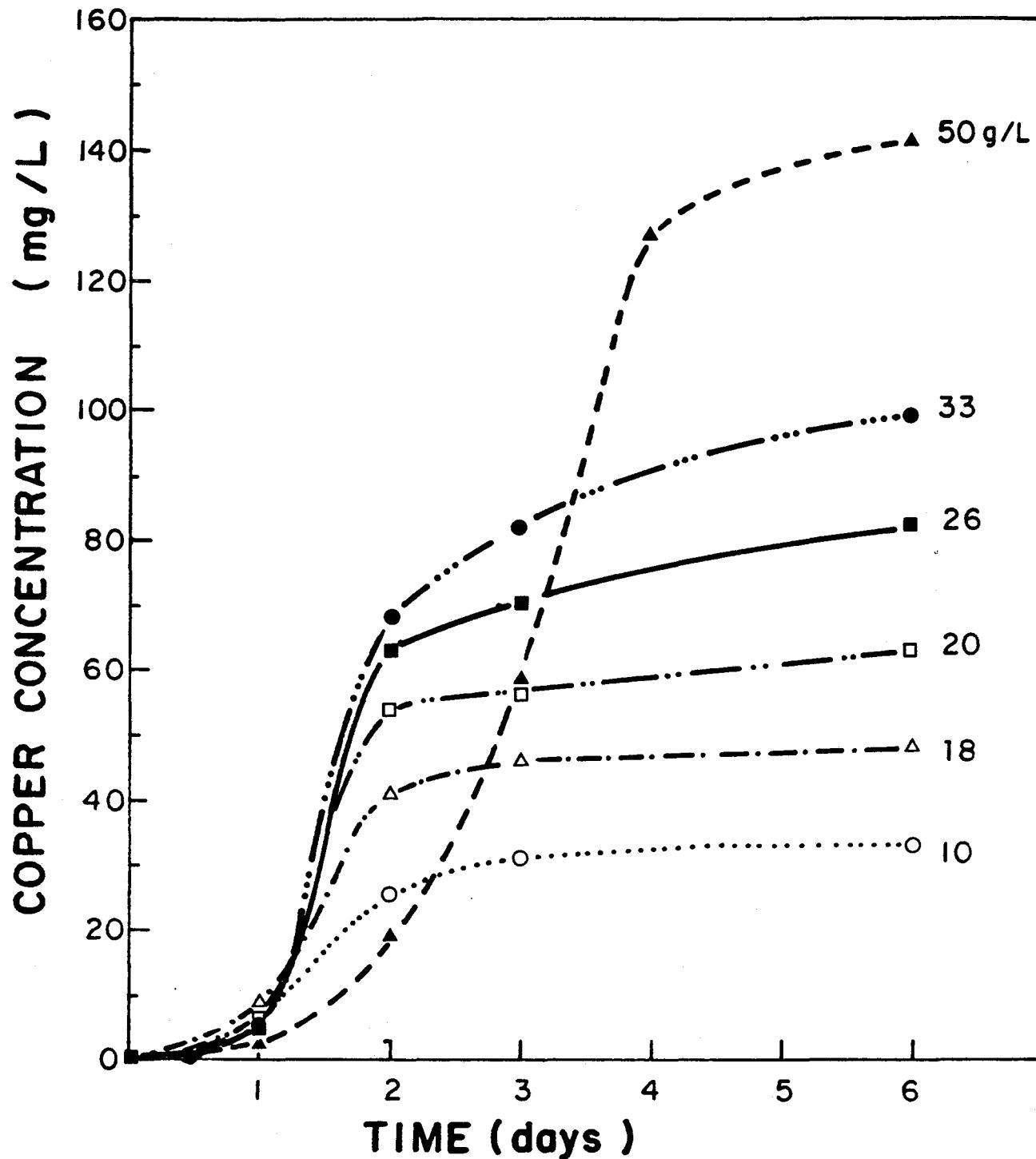
VARIATION OF METAL SOLUBILIZATION RATE WITH  
FERROUS SULFATE CONCENTRATION



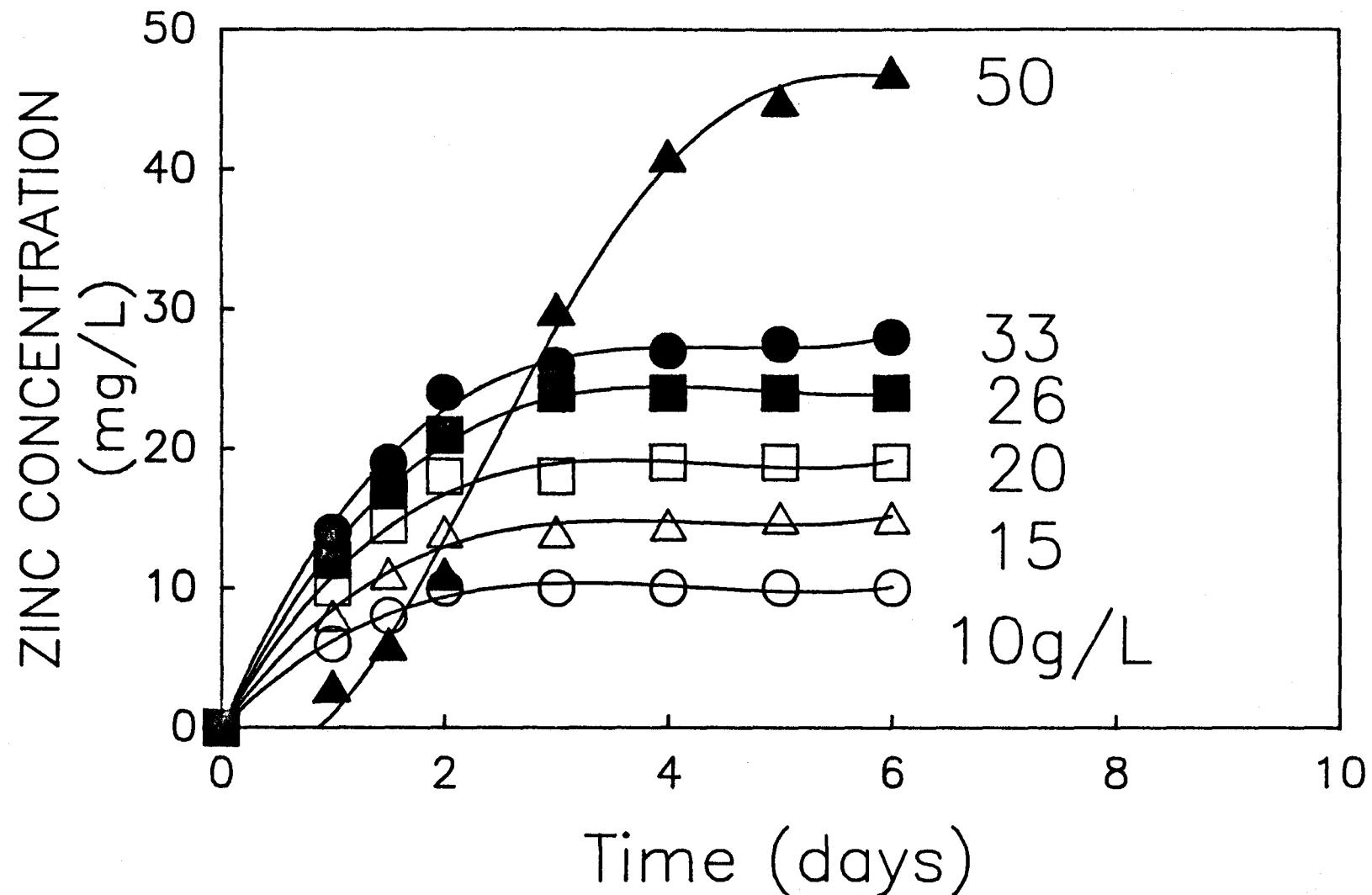
VARIATION OF METAL SOLUBILIZATION WITH  
AMMONIUM SULFATE CONCENTRATION



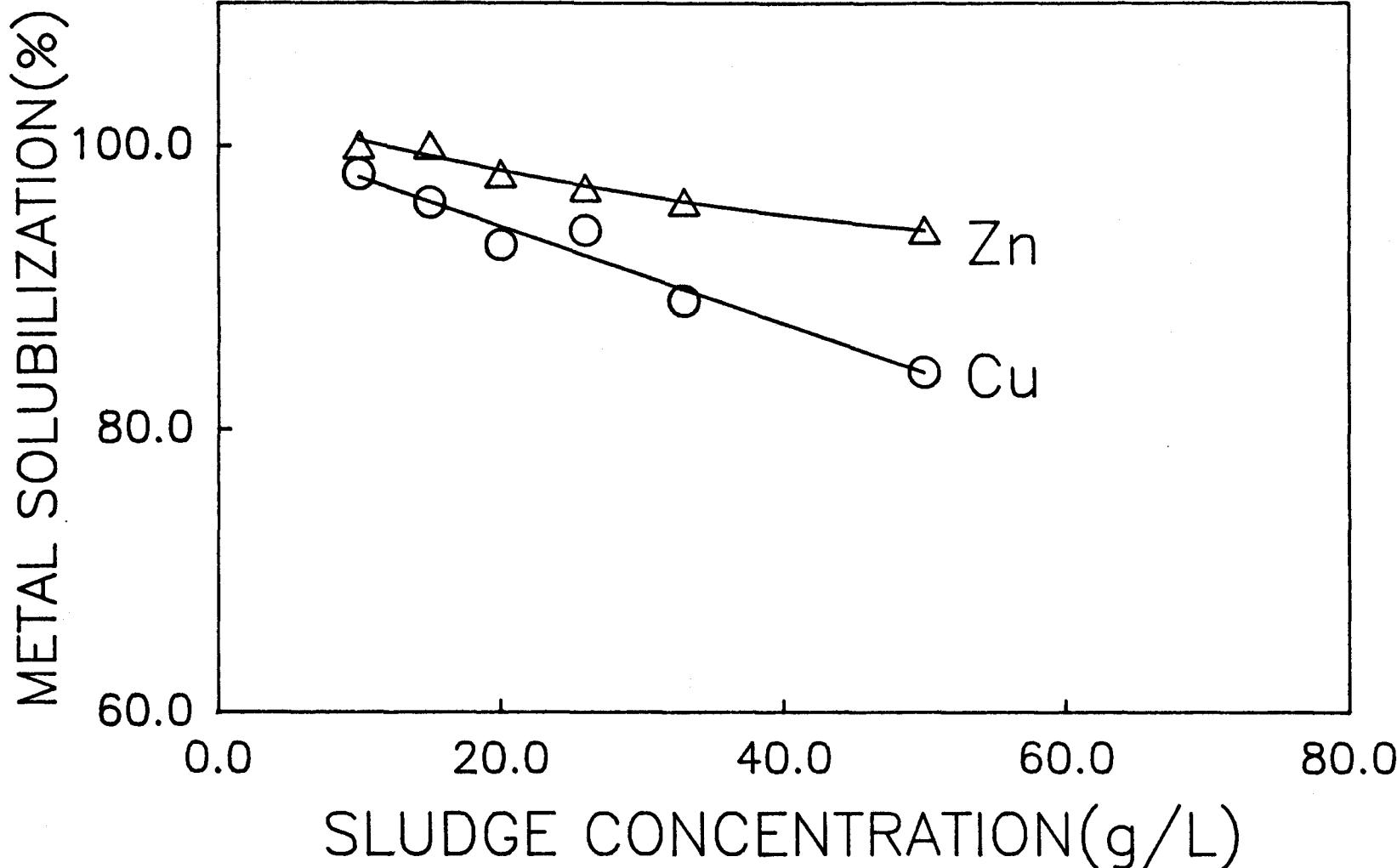
VARIATION OF pH WITH SLUDGE CONCENTRATION



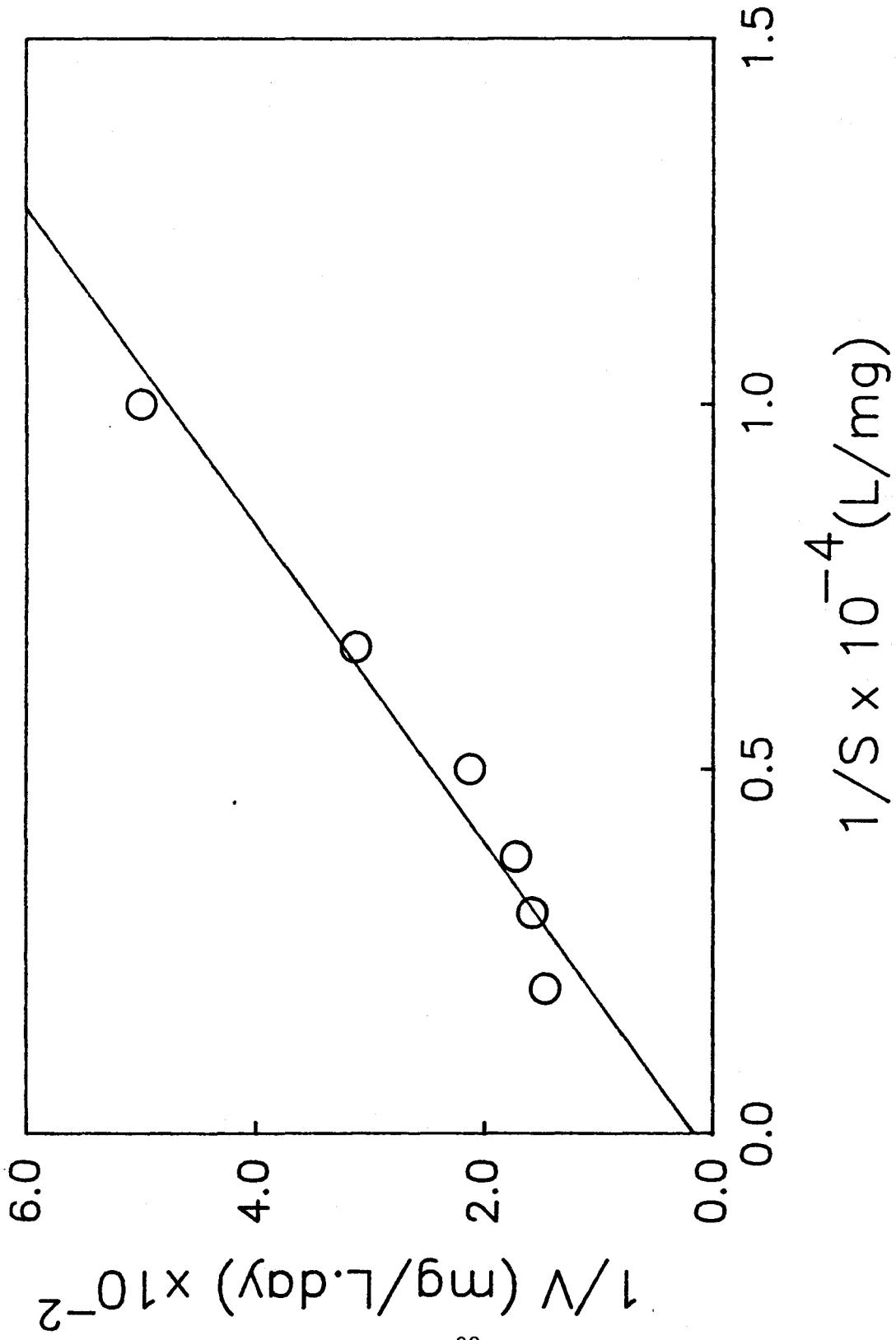
## SOLUBILIZATION OF COPPER WITH VARYING SLUDGE SOLIDS CONCENTRATION .



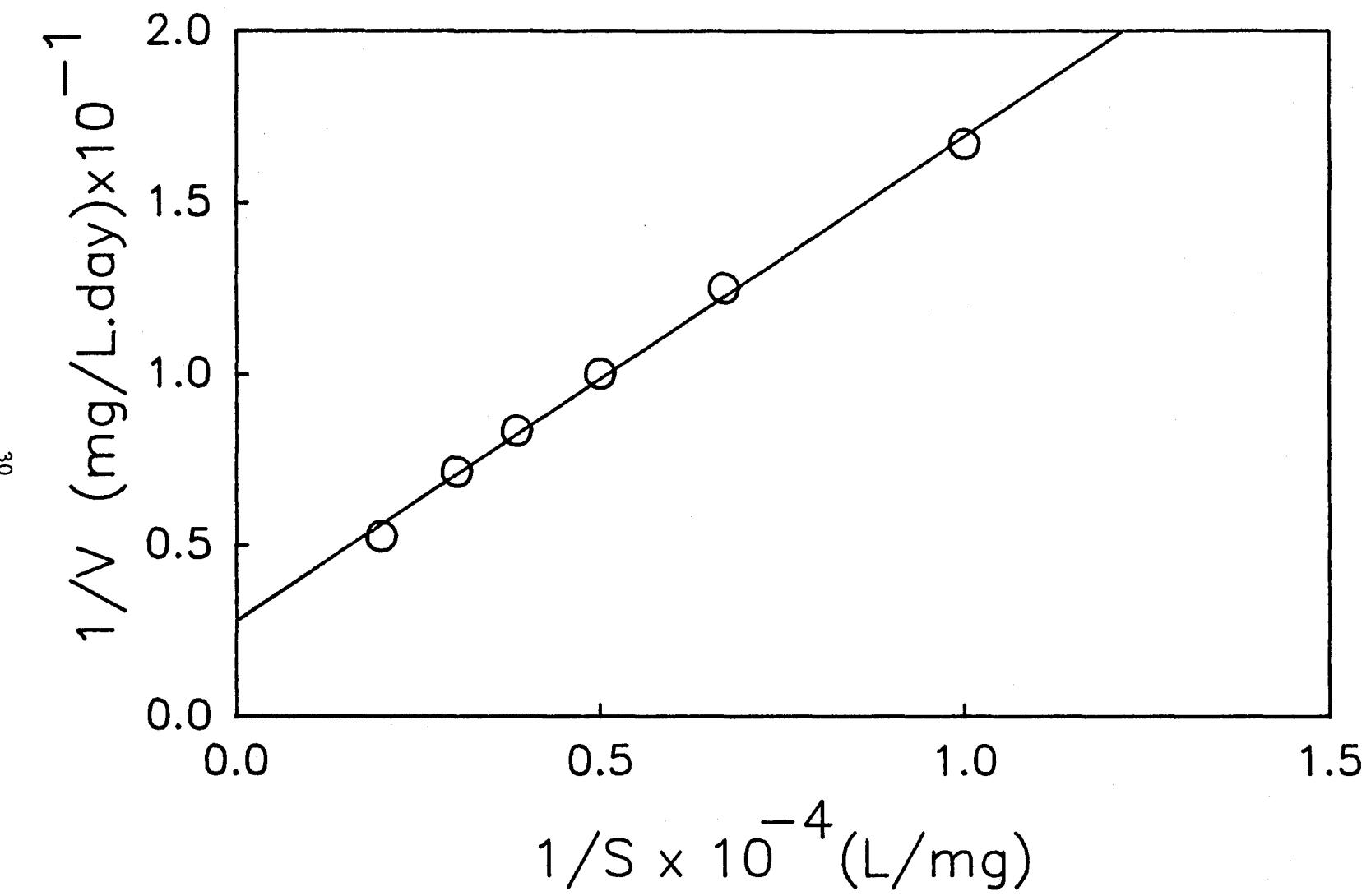
SOLUBILIZATION OF ZINC WITH VARYING SLUDGE SOLIDS CONCENTRATION



VARIATION OF METAL SOLUBILIZATION WITH  
SLUDGE CONCENTRATION



LINEWEAVER-BURK PLOT FOR  
COPPER EXTRACTION



LINEWEAVER-BURK PLOT FOR  
ZINC EXTRACTION

BACTERIAL LEACHING OF METALS FROM SLUDGE

R.D. Tyagi and D. Couillard

Institut national de la recherche scientifique (INRS-Eau)

Université du Québec

C.P. 7500 - 2700, rue Einstein

Sainte-Foy (Québec)

G1V 4C7

CANADA

Ph. (418) 654-2617

Submitted for publication in Sewage and Wastewater Treatment: May 1987

1. INTRODUCTION

During wastewater treatment, the volume of the sludge generated amounts to approximately 1% of the volume of wastewater treated, with solids content of 1 to 7 percent [1, 2]. The amount of sludge produced has recently increased due to: higher levels of sewage treatment and use of chemical precipitation for phosphorus removal. This precipitation also removes a large proportion of many of the heavy metals which then become concentrated in the sludge.

The heavy metals (Cd, Cu, Zn, Pb, Hg, Cr, Ni) are concentrated in the primary and secondary sludge [3-8]. The treatment and final sludge disposal cost represents 50% of the overall cost of the wastewater treatment facility [1, 2, 9]. Internationally, sludge disposal is governed by an abundance of legislation because of the large quantities which must be disposed and of the relatively high levels of toxic substances which become concentrated in the sludge. The heavy metal content of sewage sludge is about 0.5 to 2% on a dry weight basis. However, in some cases extremely high concentrations of 4% W/W of chromium, copper, lead and zinc have been recorded.

The metal laden sludge involves the danger of toxic effects of concentrated heavy metals on aquatic life. Bioaccumulation of heavy metals by fresh water and marine species is a well known phenomenon. Accumulated metals may migrate to the trophic chain of a defined ecosystem or may even through the alimentary tract may be transferred to multiecosystems. This phenomenon is the main

reason for the spread of metals in the natural environment and the so called biological enrichment in metals, a term used to describe the increase in metal content in the separate links of a food web in a particular ecosystem. A wide range of treatment processes and disposal options have been used. The principal disposal sites for sewage sludge are: land filling, incineration, marine environment and land spreading (agricultural or forest) [1-3, 9-12]. Incineration is costly (3) due to high energy consumption and contribution to pollution due to metals attachment to ashes that have to be disposed off. The metals can be leached out, contaminating the ground and the surface waters if landfills are to be used as sludge disposal method. In most cases, the disposal on agricultural or forest lands of digested sludge has been proven to be the most economical means of final sludge disposal (2, 3). Disposal of heavy metals contaminated sludge to agricultural land is also not free from health hazards. The potential health hazard associated with the land disposal of sludge is the metal uptake by the plants and the subsequent accumulation of metals in the food chain via plant and animals. Plant grazing animals tend to accumulate Cu, Se, Mn, Ni, Zn, Fe and Cd [1, 13, 14]. Metals which are leached from the polluted soils may be mobilised into surface and ground waters. This may occur quite quickly due to direct run off and drainage and may have important consequences where these waters are used as sources for potable supply. Large concentrations of heavy metals have been found to affect the yield of crops [1-3, 13, 15-17].

## 2. HEAVY METALS GUIDELINES FOR SLUDGE USE IN AGRICULTURE

The maximum permissible heavy metal concentrations in sludges considered to be acceptable for use on agricultural lands in different countries in the world are shown in Table 1. Table 2 is the summary of the norms providing guidelines to European Economic Communities (EEC) countries [3]. The limit applicable to soils can be on heavy metal content of the sludges. According to Davis [3], it is broadly compatible with existing U.K. guidelines. Table 1 shows that Netherlands norms are more strict than those of EEC.

Lester [1] evaluated that 82-85% of the sludge in U.K. do not respect the norm. According to Tjell [18] in a survey, he found that 63% of the sludge in U.K.

Table 1. Maximum permissible heavy metal concentrations (mg/kg dry.wt.) in sludges considered to be acceptable for use on agricultural lands.

Element	Belgium	Canada	Denmark	Finland	France	Germany	Netherlands	Norway	Sweden	Switzerland	All Countries	EEC Directive		
											Range	Median	R*	M**
As	10	75					10				10 - 75	10		
Cd	10	20	8	30	20	20	10	10	15	30	8 - 30	7	20	40
Co	20	150		100				20	50	100	20 - 150	75		
Cr	500			1000	1000	1200	500	200	1000	1000	200 - 1200	1000	750	
Cu	500			3000	1000	1200	600	1500	3000	1000	500 - 3000	1100	1000	1500
Hg	10	5	6	25	10	25	10	7	8	10	5 - 25	10	16	
Mn	500			3000				500			500 - 3000	500		
Mo			20							20		20		
Ni	100	180	30	500	200	200	100	100	500	200	30 - 500	200	300	400
Pb	300	500	400	1200	800	1200	300	300	300	1000	300 - 1200	500	750	1000
Se	25	14		100							14 - 100	25		
Zn	2000	1850		3000	3000	3000	3000	3000	10000	1000	1000 - 10000	3000	2500	3000

\*R: Recommended.

\*\*M: Mandatory.

From Webber et al., ref. 14 with permission.

Table 2. Limit values for metals in EEC countries.

Metal	Soil (mg/kg dw)	Sludge (mg/kg dw)	Annual amounts (kg/ha/yr)
Cadmium	1 - 3	20 - 40	0.15
Copper	50 - 140	1000 - 1750	12
Nickel	30 - 75	300 - 400	3
Zinc	150 - 300	2500 - 4000	30
Lead	50 - 300	750 - 1200	15
Mercury	1 - 1.5	16 - 25	0.1

(From Davis ref. 3 with permission).

do not respect the guidelines for heavy metal contents. In Federal Republic of Germany, 60% of the sludges do not comply to their respective norms. In Ontario (Canada), Wong and Henry [19] estimated that up to 50% of the sludges do not conform to the Ontario guidelines.

In U.S.A., Wozniak [20] found that 50 to 60% of the sludges do not respect the norm imposed by the Environment Protection Agency (E.P.A.). In U.K., the average concentration of cadmium in the sludge is 29.9 mg/kg of sludge compared to 16 mg/kg [4] in U.S.A. All these values are well above the accepted level which is 25 mg/kg in the U.S.A. [18] whereas in Netherlands the norm is established at 5 mg/kg on dry weight basis. It is important to emphasise here that in general the metals under insoluble form are less available to plant uptake whereas the metals in the dissolved form have been demonstrated to exhibit greater mobility and are thus more available for plant uptake [21]. Webber *et al.* [14] concluded that cadmium should be taken as the basis for establishing regulations concerning the tolerance concentrations of heavy metals in sludges.

### 3. METAL REMOVAL FROM SLUDGES

Usually the guidelines, as discussed above, for sewage sludge utilization on agricultural lands require that only sewage sludge with low metal content be used and the sludge application rate is governed by the cumulative metal loading to the soils. The reduction of heavy metals in sewage sludge can be achieved either by source control of discharge to sewer systems or by removing metals from sludge. In source control, the major difficulty resides in the identification of the sources. Moreover, even with complete elimination of toxic metals from all industrial discharges to sewers, the problem remains because of the metal content of domestic wastewater and runoff water [22-24]. Several chemical methods for solubilization of heavy metals have been suggested [14, 20].

Waste activated sludge was used by Wozniak and Huang [20] to remove heavy metals by acid treatment. They found that metal removal from sludge solids via

the acidification process were found to be dependent upon the pH, the sludge solids concentration, the specific metal and the length of acidification time. Solubilization rates and ultimate removal efficiencies for all metals increased with time, decreasing pH and solids concentrations. Limitations in metal solubilization existed, regardless of the length of acidification time and were often attained within 12 hours. The metal removal was found to be worse at increased pH and/or sludge solids concentration. Chromium and nickel were removed in large amounts immediately after acid addition. Initial removal of other metals (Cd, Cu, Pb, Zn) from the sludge solids usually represented less than 10% of the maximum value under given conditions of pH and solids concentration. Acid usage in the metal solubilization process was found to be dependent upon the concentration of sludge solids, the desired pH and the length of time necessary to maintain the pH. Acid requirements increased with both time and sludge solids concentration, indicating that some on going chemical reaction was occurring [20].

Jenkins et al. [25] found that using an acid dosage (sludge concentration 4 g/l) to decrease the pH to 2 and a stirring time of 24 hours, the removal efficiencies for Fe, Zn, Ni and Cr were found to be more than 75%. Copper was removed to an extent less than 10%. The metal extraction efficiencies were Cd-15%, Cr-76%, Cu-1%, Ni-72%, Pb-9% and Zn-63% with a stirring time of one hour. They also found no major differences in the 24 hours metal removal efficiencies with primary sludge waste activated sludge and their digested counterparts. Metal extraction using ethylene diamine tetracetic acid (EDTA), a strong chelating agent, was also studied [25]. The results showed higher removal efficiencies for Fe, while those for Ni and Cr were lowered using EDTA.

Scott and Horlings [16] acidified dilute samples of anaerobic sludge with sulfuric acid to pH 1.5. The extraction efficiencies for Cr, Cu and Zn were 54, 0 and 73% respectively. Hayes et al. [26] developed an acid extraction process for sludge metals using aerobic autoheated thermophilic digestion (AATD). The AATD is an experimental process using aerobic conditions to produce sufficient biological activity to maintain thermophilic conditions.

The sludge was acidified to pH 2.0 for 6 hours and dewatered, removing 95, 99 and 87% of Cd, Zn and Ni respectively. Sixty-one, 55 and 29% of Cu, Pb and Cr respectively were also removed. In general, efficiencies of cadmium, copper and zinc solubilization through bench scale acidification to pH 2.0 were significantly higher for auto heated aerobic thermophilic sludge ( $60^{\circ}\text{C}$ ) than for raw sludge ( $25^{\circ}\text{C}$ ) or anaerobically digested sludge ( $35^{\circ}\text{C}$ ). The order of metal solubilization efficiencies observed in aerobic sludge were as follows:  $\text{Zn} \approx \text{Cd} \geq \text{Ni} \geq \text{Cu} \geq \text{Pb} \geq \text{Cr}$ . Chromium did not show remarkable variation in extraction efficiency with respect to AATD, raw sludge or anaerobically digested sludge. According to Hayes et al. [26] this difference in solubility was observed due to predominant presence of chromium as trivalent hydroxide precipitate in three kind of sludges. These authors also observed that, in general, the various sludges acidified with hydrochloric acid exhibited heavy metal solubilization efficiencies comparable to those produced by nitric acid addition.

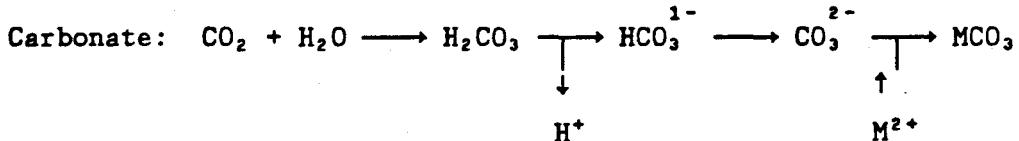
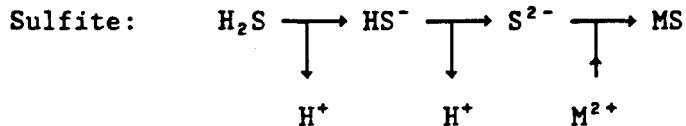
McNulty et al. [27] used a combination of heating ( $95^{\circ}\text{C}$ ) and short term (10-60 minutes) acidification (pH 2.0-3.5) to facilitate solubilization of heavy metals in thickened activated sludge followed by filtration through glass fibre filters. Zinc and nickel were most readily solubilized within 91 and 36% efficiencies respectively. Only 3-4% of chromium and lead were extractible and no appreciable amount of copper was solubilized with the hot acid treatment method. Results on cadmium solubilization were erratic with a range of removal efficiency of 0-90%, a standard deviation of 52% and an average removal of about 30%.

Olver et al. [28] used chlorine oxidation method to remove heavy metals from different sludges (primary, secondary, mixture of primary and secondary and anaerobic sludge) and showed that heavy metal release from sludge depends upon pH of the sludge after chlorine oxidation, the type of sludge oxidized and the species of metals present in the sludge. Fewer metals were released from anaerobic sludge than from combined or primary sludges for the same chlorine dosage. Heavy metal release follows the solubility products of pure metal hydroxides and sulfides.

In spite of good metal extraction achieved in acid treatment methods, the factors such as cost, operational difficulties, large requirement of acid (0.5 to 0.89 gm of  $H_2SO_4$  per gm of dry sludge) and large amount of lime required at the end of the treatment have made practical applications of these methods unattractive.

#### 4. SPECIATION OF METALS

In most cases, sewage treatment plant sludges are stabilized with biological treatment primarily for odour control prior to land disposal. This is accomplished through anaerobic or aerobic digestion. Some marked changes not only with respect to organic composition but also with respect to heavy metals speciation are expected to occur. The mechanism of heavy metal removal under anaerobic conditions may involve four distinct processes: adsorption, incorporation into cells, precipitation and the subsequent entrapment of the precipitate in the biofloc and chelation of soluble metal species by organic and inorganic ligands [29]. The possible interaction of the metal with the hydrogen sulfide/sulfide system and with the carbon dioxide carbonate system can precipitate the metals and can be depicted as follows:



M is the bivalent metal, MS and  $MCO_3$ , represent metal sulfide and metal carbonate respectively. Hydrogen sulfide ( $H_2S$ ) is an end product of anaerobic metabolism and its precursors include the sulfate ion ( $SO_4^{2-}$ ). The activity of carbonate ions ( $CO_3^{2-}$ ) present in anaerobic treatment is controlled by both the pH and the dissolved carbon dioxide. The metal solubility can also be reduced by the formation of metal sulfide precipitate via the reduction of amino acids cysteine and methionine [30]. The distribution of a particular heavy metal

among various chemical forms in treated sludges, however, largely depends upon the physical and chemical properties of the environment established by the sludge treatment process itself. Upon introduction into the biological treatment system, species of heavy metal would be expected to make adjustments towards a new equilibrium state as defined by certain chemical environment parameters such as pH, oxidation reduction potential (ORP), the presence of complexing agents, and concentration of precipitant ligands [31]. Several studies have demonstrated the ability of bacteria to sorb heavy metals from solutions [8, 29, 32-35]. Intracellular uptake has been assumed to be a primary operative mechanism of metal binding to the organic solid phase in biologically treated sludges [26]. According to Sterrit and Lester [36], in general, free metal ions are scarce and that inorganic precipitate represent the most predominant form. However, there is strong evidence that organometallic complexation could also be a major mechanism responsible for the association of heavy metals with insoluble sludge solids [30, 36].

Heavy metals solubilization in anaerobic sludge is complicated by the fact that various metals are complexed with the organic solid phase fraction and intracellular metals. Difference in metal solubilization efficiencies in the acid extraction processes, discussed in the last section, may largely be in terms of inorganic species predominance under certain anaerobic conditions [35]. During anaerobic digestion as discussed above, the heavy metal chemistry is controlled not only by the solubility of inorganic precipitates but also by sorption into and subsequent incorporation of metals into digester's biomass. There is evidence which suggests that heavy metals associated with the organic fraction of sludge are less available to the disposal environment than inorganic precipitates. Particularly in cases of the acid environments, precipitates could be expected to equilibrate rapidly. For metals which are organically bound, however, a prolonged exposure under more extreme acid conditions would be required to bring about removal and recovery of heavy metals.

The reducing conditions prevailing in anaerobic digestion tend to form metal sulfides [30, 37] which are extremely insoluble. The only exception is chromium which form insoluble hydroxide [37]. For copper equilibrium

consideration indicate that cuprous sulfide, Cu<sub>2</sub>S, controls the solubility [37-39]. According to Hayes and Theis [35], 70% of the metals exist as insoluble sulfides and 30% are intracellular attached to the cell material. Alibhai et al. [40] concluded that the principal mechanism involved in desolubilizing metals is the cationic exchange to surface ligands which enter in competition with the formation of metal sulfides (Cu, Zn, Pb, Ni, Cd, Hg).

Stover et al. [38] and Gould and Genetelli [31] believe that Zn predominantly exist as organically bound whereas Legret et al. [39] showed the form of carbonate. Cadmium is found more often greater fraction under carbonate form than the sulfide form [35, 39]. Ni is the only metal which can be partly found in the soluble form [35, 39] with important fraction of sulfide, carbonate and exchangeable. Lead is the least soluble of these metals and is well fixed in the sludge by mechanism of precipitation (PbS) and coprecipitation. Iron is present as FeS and ferrous phosphate Fe<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> [16]. Therefore, it can be concluded that most of the metals in anaerobic sludge (Zn, Ni, Cd, Cu, Hg), except chromium, exist either as carbonate or as sulfide forms. Metal speciation studies in aerobically digested sludge are scarce [39].

In primary sludges, metals are associated with particulates [36]. In activated sludge, 20% of insoluble metals are intracellular [41]. Active metabolic uptake of soluble metals by bacteria has been reported of minor importance [8, 42]. The major mechanism responsible for the removal of metals is the interaction of metals associated particulates with the settleable flocs [8]. The more soluble metals attach to the extracellular polymers produced by the cells [8, 29]. Activated and primary sludges remove metals by adsorption to cell's surface and organic particles [5].

##### 5. THEORY OF METAL SOLUBILIZATION FROM SLUDGE

The solubility of metals is governed primarily by pH but other factors are also important. These factors include the oxidation reduction potential (ORP) of the sludge, the concentration of metals and ligands (negative ions or uncharged molecules) and the chemical equilibria between the constituents. Hayes and

Theis [37] showed that mere lowering of pH for anaerobic sludge will not result in a shift of metal sulfides to soluble ions form unless acidification is proceeded by an increase of sludge's ORP values.

The ORP of anaerobically digested sludges is of the order of -300 to -500 mV (Fig. 1). At elevated ORP values above +100 mV, it was predicted that a shift to the divalent cadmium ion could be achieved by lowering the pH below 4.0 [26, 37]. Raising the ORP by aeration as carried out by Hayes *et al.* [26] or by other means would establish favorable conditions for the formation of cadmium carbonate. According to the predominance diagram (Fig. 1), the divalent cadmium ion could be achieved by lowering the pH below 4.0. Similar  $E_h$ -pH diagrams can be constructed for inorganic chromium, copper, nickel, lead and zinc [37]. A solubilization strategy would require then an optimum adjustment of pH and ORP of the sludge so that the chemical equilibria will shift towards metallic ion formation. The ORP values of anaerobic sludge can be raised either by means of chemical oxidation or by biological oxidation. Chemical oxidation can be achieved through aeration or the addition of an oxidizing agent. Hayes *et al.* [26] raised the ORP through aerobic biological treatment prior to acidification and achieved considerable better metal solubilization. With aeration, the rate of oxidation is very slow. High cost and change in characteristics of sludge in terms of fertilizer value and soil conditioner are the prohibitive factors related to the use of chemical oxidizing agents. Metal sulfides in digested sludge can be oxidized to soluble metal sulfates and hence raising the ORP through microbial leaching [19, 43-45]. This technique is very well established to extract metals from low grade ores in mines. However, the fact that the heavy metals may also turned insoluble by other mechanisms, including adsorption, intracellular and coprecipitation, plays an important role in the enhancement or inhibition of acid induced metals solubilization.

The metals from primary and activated sludge can be removed by lowering the pH [39, 46] either by the addition of acids or by the production of acids via microbial action. In microbial process, the major problem would be the source of energy substrate for microbial growth of leaching bacteria. Sulfur normally present in very small amount may not suffice to produce substantial quantity of

acids. Therefore, addition of acid producing agents ( $\text{FeS}_2$ , elemental sulfur, or sulfur bearing wastes) to the sludge may be required for acid production. Primary and secondary sludges contain low metals concentration than digested sludge. This necessitate larger requirements of acid for primary and secondary sludges. Thus, theoretically speaking the bacterial leaching can be applied to all kind of sludges provided essential nutrients are available for bacterial growth.

## 6. MECHANISM OF BACTERIAL LEACHING

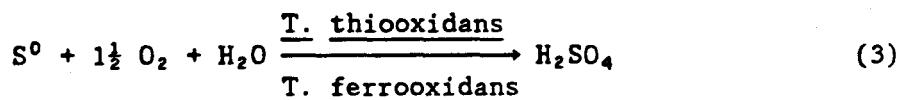
Metal extraction from insoluble metal sulfides can be achieved in direct and indirect ways of bacterial metabolism. In the direct mechanism, the metal sulfide is oxidized to metal sulfate [47-50]:



where M is a bivalent metal. The heavy metal sulfides are generally insoluble in aqueous acid leach media while their sulfates are soluble. This mechanism has been corroborated for  $\text{NiS}$ ,  $\text{ZnS}$ ,  $\text{CoS}$ ,  $\text{PbS}$ ,  $\text{CuS}$  [49, 50]. In the indirect mode of bacterial action, the metal sulfide is oxidized by ferric ion



The elemental sulfur which has been set free in equation 2 will be oxidized to sulfuric acid by bacteria:



Similarly, the ferrous iron is reoxidized by the microorganisms [51]:

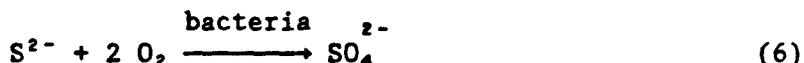


and the iron redox cycle is repeated. The production of sulfuric acid will decrease the pH which will further enhance the solubilization of metals.

In the direct mode of bacterial oxidation, as shown in equation 1, bacteria must remain close to the surface (attachment of bacteria) of the solid substrate, where dissociation takes place according to the solubility product of metal sulfide [47-50]:



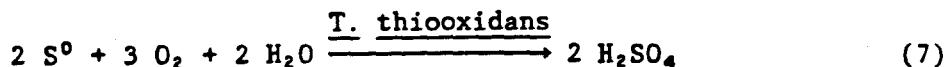
The released sulfide moiety of the metal sulfide is then immediately captured by the enzymic system of bacteria and is oxidized to sulfate:



As the sulfide ion is oxidized to sulfate, further dissolution of MS as shown in equation 5 will occur, allowing for continual solubilization of the metal moiety. The prerequisite for bacterial oxidation of solid sulfides according to this explanation is the availability of the substrate in soluble form.

Sakaguchi *et al.* [52] demonstrated that for an optimum concentration of ferrous sulfate from 0.004 M to 0.01 M there is formation of yellow precipitate, called jarosite or yellow boy [50, 53]. A bright yellow layer of jarosite can be noticed in the solid portion of the centrifuged microbially leached municipal sludge enriched with ferrous sulfate.

Another biochemical process in bioleaching which produces acid more effectively than pyrite or metal sulfide oxidation is bacterial oxidation of sulfur, which is described by the following equation:

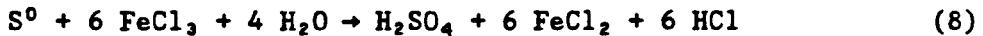


T. thiooxidans oxidizes elemental sulfur more efficiently and rapidly than any other bacteria. Where elemental sulfur is the only energy source, T.

thiooxidans definitely predominates and within a very short time the sulfur is oxidized to sulfuric acid. Bioleaching could be used for recovering valuable metals from non sulfide industrial waste products and primary and secondary sludges as discussed before, if a sulfuric acid producing substrate is added in presence of T. thiooxidans.

In contrast to the direct leaching of sulfide minerals, this process will be called as indirect one in which the leaching agent ( $H_2SO_4$ ) is produced by bacterial oxidation.

Under anaerobic conditions, Sugio et al. [54] suggested the following reaction for the oxidation of sulfur:



## 7. MICROORGANISMS INVOLVED IN MICROBIOLOGICAL LEACHING

The most widely used microorganisms for the leaching of minerals are Thiobacillus thiooxidans and Thiobacillus ferrooxidans [55, 56]. T. ferrooxidans is a chemoautotrophic genus of Thibacilli and can derive metabolic energy from reduced inorganic sulfur compounds [47, 53, 57, 58]. Specific characteristic of this bacterium is the fact that it draws energy from the oxidation of ferrous ions to ferric ions as the sole energy source. T. ferrooxidans is a rod shaped bacterium approximately of 0.5  $\mu m$  of width and 2  $\mu m$  of length [42]. Sporulation has never been observed [58]. T. ferrooxidans has also been observed to survive under anaerobic conditions [54, 59, 60]. This organism is morphologically similar to Thiobacillus thiooxidans which is often found in heap and dump leachings of minerals together with T. ferrooxidans. The fundamental difference between the two species is generally recognized to be the inability of T. thiooxidans to oxidize ferrous iron and insoluble heavy metals sulfide. T. ferrooxidans relies on carbondioxide as the sole source of carbon and assimilate nitrogen in the form of ammonia for synthesis of cellular materials [61]. It has also been demonstrated that T. ferrooxidans is capable of fixing atmospheric nitrogen [62]. According to

Ingledew [57] and Leroux *et al.* [63], T. ferrooxidans can feed on organic matter. In contrast, Harrison [58] has showed that the effective consumption of organic matter is due to the contamination of the culture Thiobacillus acidophilus or Acidiphillum cryptum. But little is known about the organisms capacity for heterotrophy and mixotrophy in nature. When T. ferrooxidans is adapted to heterotrophy, whether the organism can permanently loose its ability to oxidize iron or not, is still under discussion. Harrison [61] studied 23 different strains of this bacteria which are strictly aerobic and acidophile.

T. ferrooxidans tends to live in environments such as hot springs, volcanic fissures and sulfide deposits. Several forms of sulfur can be attacked. They include both soluble and insoluble sulfides (compounds containing the bivalent sulfur ion, elemental sulfur and insoluble compounds that incorporate either the thiosulfate ion ( $S_2O_3^{2-}$ ) or the tetrathionate ion ( $S_4O_6^{2-}$ )). In each case, the product of the transformation is a substance in which the sulfur atom has fewer valence electrons, culminating in the formation of sulfate ion ( $SO_4^{2-}$ ).

Although T. ferrooxidans is essential to the bacterial leaching of metals, it is by no means the only microorganism with an important role in the process. It was found that the combination of T. ferrooxidans and T. thiooxidans is more effective in leaching of certain ores and municipal sludge [44, 45, 64]. Similarly, the combination of Leptospirillum ferrooxidans and T. organoparus can degrade pyrite ( $FeS_2$ ) and chalcopyrite ( $CuFeS_2$ ) more efficiently than either species can accomplish alone. The most robust leaching microorganisms are the extremely thermophilic ( $60^\circ C$ ) acidophilic species of the genus sulfolobus.

Thiobacillus acidophilus bacteria oxidize organic matters and reduced forms of sulfur [58]. Acidiphillum cryptum was reported to oxidize organic matters [58]. Andrews and Maczuga [65] concluded that heterotrophes such as (T. acidophilus, A. cryptum) cooperate with T. ferrooxidans metabolism by leaching on pyruvates, which are metabolic residues and could be inhibitory to iron oxidizing bacteria.

Gram negative Thiobacillus acidophilus exhibit the form of a short rod shape, do not form spores and more often aggregate in undetached pairs. They grow at pH from 1.5 to 6.0 with an optimum at pH 3.0. Sodium chloride inhibits its growth at concentration exceeding 0.5% [66]. Acidiphillum cryptum stays aside from other by their extraordinary mobility, ability to turn around and the spot spinning [58].

Gram negative Leptospirillum ferrooxidans pertains also to iron oxidizing bacteria type. They can not oxidise sulfur [67-69]. They possess a long flagella which gives a great mobility [49]. Leptospirillum ferrooxidans are found to be mesophilic, acidophilic, and chemoautotroph bacteria. In 1982, researchers demonstrated that they were able to oxidize pyrite in pure cultures [70] and were capable to leach other metal sulfides, indirectly containing minimal concentration of iron [45].

Under microscopic observation of sludge undergoing bacterial leaching with T. ferrooxidans, visual identification allows to confirm the presence of Leptospirillum ferrooxidans and Acidiphillum cryptum. It is also highly probable that T. acidophilus and T. thiooxidans are present [49], these bacteria being often identified in soil and sludge samples.

Recent research has focused on thermophilic bacteria, such as Sulfolobus acidocaldarius. Kargi and Robinson [71, 72] reported the utilisation of the bacteria at a temperature of 75°C to desulfurize coal. Murr and Mehta [73] also worked with a thermophilic bacteria at 55°C. Nevertheless the high temperature necessary for their optimum growth somewhat hinder their chance of practical application because of the high energy cost incurred.

Table 3 presents a summary of the previous brief review of heavy metals leaching bacteria. The method for enumerating T. ferrooxidans bacteria has been developed by Harrison [58] using silica gel plates. An easier and faster method has recently been published by Butler and Kempton [74]. The incubation time is between 7-14 days. Early works on enumeration of T. ferrooxidans were also reported by Tuovinen and Kelly [75]. In this study, direct count is

Table 3. Acidophilic microorganisms which have a potential in bacterial leaching of metals from sewage sludge.

Species	Substrate	General characteristics	pH range	Temperature (°C)	Use
<u><i>Thiobacillus ferrooxidans</i></u>	Metal sulfide [48] FeSO <sub>4</sub> [76] Pyrite (FeS <sub>2</sub> ) [76] Thiosulphate [77] Tetrathionate [77] Elemental sulfur [61]	Aerobic Rod shape 0.5-0.8 μm x 1.0-2 μm Gram negative Non sporulating Motile single pairs Chemoautotrophe	1.5 to 5.0 Optimum = 2-3	10 to 40 Optimum = 32°C	Biydro-metallurgy Coal desulfurization Bacterial leaching of metal
<u><i>Thiobacillus thiocoxidans</i></u>	MS [76] S <sup>0</sup> [76] Thiosulphate [76] Tetrathionate [76]	Strictly aerobic Rod shape 0.5 μm x 1.0-20 μm Gram negative Sometimes motile single, pairs or short, chain Chemoautotrophe	0.5 to 6.0 Optimum 2.0-3.5	10 to 37 Optimum 28-30	Same as <u><i>T. ferrooxidans</i></u>
<u><i>Leptospirillum ferrooxidans</i></u>	FeSO <sub>4</sub> [69] Pyrite [69] and metal sulfide [67, 68]	L shape rod with flagella Gram negative Motile Aerobic Chemoautotrophe	≈ 2.0	Mesophilic	Same as <u><i>T. ferrooxidans</i></u> under development
<u><i>Thiobacillus acidophilus</i></u>	Thiosulphate [74] Tetrathionate [74] Trithionate [74] Elemental sulfur [66] Organic matter [66]	Rod shape 0.5-0.8 μm x 1.0-1.5 μm Aerobic Motile Often in pairs	1.5 to 6.0 Optimum ≈ 3.0	Mesophilic Optimum 25-30	Found in bacterial leaching of ores
<u><i>Acidiphilum cryptum</i></u>	Glucose [58] Yeast extract Organic matter	Rod shape Aerobic Chemoorganotrophe	2.0 to 6.0	Mesophilic	Found in bacterial leaching of ores
<u><i>Sulfolobus acidocaldarius</i></u>	FeSO <sub>4</sub> Pyrite S <sup>0</sup> Thiosulphate Tetrathionate H <sub>2</sub> S, MS Simplic sulfurized [67, 68] organic compound	Lobed sphere 0.8-1.0 μm, gram negative Non-motile Aerobic Non sporulating Facultative autotroph	0.9 to 5.8 Optimum on S <sup>0</sup> 2-3	55-85 Optimum 70-75	Coal desulfurization

effected on the total number of bacteria in leached sludge with a Petroff Hausser bacteria counting chamber which has a field depth of 20  $\mu\text{m}$ . Due to acidic environment, nonacidophile bacteria were killed.

## 8. PARAMETERS AFFECTING MICROBIAL LEACHING

### 8.1 COMPOSITION OF LEACHING MEDIUM

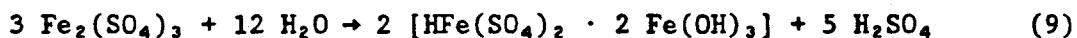
*T. ferrooxidans* activity is markedly affected by variation in ammonium sulfate and dipotassium hydrogen phosphate concentrations of the leach medium [78]. The absence of nitrate, calcium, potassium and chloride ions (present in the nutrient medium most frequently used for bacterial leach studies) have no measurable influence on metal sulfide oxidation. These nutrients are required in such minute quantities by the microorganisms that their need in this respect is satisfied by the impurities present in the sulfide bearing substrates. Optimum concentration of ammonium sulfate is 3 g/dm<sup>3</sup> and dipotassium hydrogen phosphate, 0.5 g/dm<sup>3</sup>. *T. ferrooxidans* require sulfate at 2 g/L [78], magnesium from 2.0 mg/L to 12 mg/L, ammonium and phosphate 9.6 mg/L [79].

Typical composition of sludge from wastewater treatment plant (Valcartier, Québec) [9] is shown in Table 4. The sludge contains sufficient quantity of nitrogen (7.2-6.8 g/L), calcium (0.4-0.3 g/L), potassium (31.8 mg/L), iron 165-94 mg/L and phosphate (114-100 mg/L). Sulfate ions are added while adjusting the pH with sulfuric acid. A concentration of soluble sulfate of 53 mg/L is also present in the sludge before adjusting the pH. These figures clearly indicate that the essential elements are abundantly present in the sludge. Similar conclusions were also derived from the study on the effects of medium composition on the rates of metal leaching [80]. It was shown that the rate of metal leaching was unchanged by the addition of KCl, K<sub>2</sub>HP<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>, and CaNO<sub>3</sub>. However, iron was found to be deficient in the medium. Addition of external iron in the form of ferrous sulfate increased the leaching rate proportionally. The effect of ferrous sulfate concentration in the sludge leaching medium is shown in Fig. 2. Initial pH was adjusted to 4.0 with H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. In the control run (without ferrous sulfate), the pH increased from 4.0 to 4.75

Table 4. Typical composition of municipal sludge (Valcartier, Québec).

Component	Concentration range
Total solids	30 - 18.8 g/L
Volatile solids	20.5 - 14.7 g/L
Dissolved material	0.95 - 1.0 g/L
pH	7.3 - 6.0
Total nitrogen	40.0 - 37.1 g/Kg
Ammonium nitrogen	24.1 - 8.1 g/Kg
(Nitrate + nitrite) Nitrogen	32.0 - 27 g/Kg
Total phosphorous	6.2 - 5.5 g/Kg
Calcium	22.0 - 16.0 g/Kg
Potassium	1.8 - 1.6 g/Kg
Iron	9.2 - 5.2 g/Kg
Magnesium	2.0 - 1.4 g/Kg

and then decreased to 4.0 in 160 hours. Initial increase in pH may be due to the consumption of acid in hydrolysis of sludge material. Production of acid as a result of oxidation of sulfur compounds is less than the consumption of acid during this phase. This clearly shows that the soluble iron is a limiting factor for microbial leaching. The rate of leaching was found to increase until a concentration of ferrous sulfate reached 20 g/L in the leaching medium. Typical curves of metal solubilization and pH change at 20 g/L ferrous sulfate concentration are depicted in Fig. 3. The data were taken at 3.0 L capacity bioreactor. The maximum concentration of metals in solution reached almost in 3 days time compared to 7 days in mixed culture of T. ferrooxidans and T. thiooxidans and 10 to 12 days in T. ferrooxidans culture alone without the addition of iron. It should be remembered that the addition of iron required depends upon the concentration of iron already present in the sludge. Therefore, the requirements of additional iron will vary with the sludge source. Higher concentration of iron should be avoided because it may partially precipitate in the form of jarosite according to the following equation [81]:



The jarosite precipitate representing a solid phase in the system may diminish oxygen mass transfer in the medium and, as a consequence, adversely affect the bacterial activity. The effective ferric ions concentration which may accelerate the leaching process is in the range of 0.004 to 0.025 M and has been reported to be optimum during oxidation of copper and nickel sulfides [81].

## 8.2 OXIDATION-REDUCTION POTENTIAL(ORP)

The ferrous ferric system requires an ORP of 747 mV at 25°C [47]. The experimental values from +220 mV to +540 mV have been observed during the oxidation of metal sulfides as substrate [47, 82]. As discussed before, the ORP of the anaerobic sludge is between -300 to -500 mV. Therefore, efficient biological solubilization of metals requires adjustment of ORP values in the

range of that required for the growth of T. ferrooxidans. The indirect oxidation that results in solubilization of minerals by ferric ion is highly dependent upon this factor.

### 8.3 TEMPERATURE

Optimal leaching of metal sulfide ores and oxidation of ferrous iron by iron-oxidizing bacteria has been determined to occur between 25-35°C; 55°C is the limiting temperature for biological oxidation, and only chemical oxidation occurs above this temperature [48, 83]. Active bacterial oxidation in soil and in mines has been noted at about 10°C, and the lower limit of this activity is generally accepted to be the freezing point of water. Wong and Henry [19] studied the effect of temperature on metal solubilization from municipal sludge. The rates of leaching of cadmium, copper, nickel, and zinc were increased when the temperature was raised from 10 to 25°C.

In order to quantify the effect of temperature on the rate of metal solubilization, the laboratory results were analysed according to first order chemical kinetics. Figure 4 summarizes these results in terms of fraction of cadmium (R) solubilized as a function of leaching time (t) using the following equation:

$$-\frac{dR}{dt} = (1 - R)k \quad (10)$$

Here k is the first order reaction rate constant. The rate of cadmium extraction from anaerobic sludge is increased from 20 to 35°C. The increase in solubilization rate followed the bacterial activity as a function of temperature. There are two competing rate phenomenon simultaneously occurring during the increase in temperature: the usual kinetic rise in reaction rate with increasing temperature and at the same time an increase in the rate of thermal death of the microorganisms. Above the optimum temperature thermal death rate is higher than increase in reaction rate. Fig. 5 shows the Arrhenius plot for the extraction of cadmium from municipal sludge. From this figure, the activation energy and the frequency factor were determined to be

$E_a = 13.4$  Kcal and  $A = 0.287 \times 10^5 \text{ S}^{-1}$  respectively for the temperature range of 10 to 35°C. Within the temperature studied, 35°C is the optimum temperature. This temperature corresponds to the optimum temperature for solubilization of metals from ores by T. ferrooxidans.

The temperature coefficient,  $Q_{10}$ , was calculated by the following equation [84]:

$$Q_{10} = \left( \frac{k_2}{k_1} \right) \left( \frac{10}{T_2 - T_1} \right) \quad (11)$$

and the data obtained in the activation range of temperature (10 to 35°C) to be  $Q_{10} = 2.24$ .  $Q_{10}$  values in the order of magnitude 2 are typical for many chemical and biochemical reactions and are the basis for the rule of thumb that reaction rates double for a 10°C increase in temperature. The  $Q_{10}$  value for bacterial leaching of uranium has been reported to be 1.8 and optimum temperature for leaching was 32°C [84]. The  $Q_{10}$  and  $E_a$  values calculated for the temperature effect are in good agreement with those reported for bacterial leaching of a variety of other metal sulfides [85, 86].

#### 8.4 HYDROGEN ION CONCENTRATION

Optimum pH is between 1.0 and 2.5 for the oxidation of ferrous ions and metal sulfides. T. ferrooxidans is active in the pH range of 1.5 to 5.0 with a maximum of 6.0 and minimum of about 1.0 without adaptation of culture. When adapted, the culture can grow at lower pH at which the formation of basic ferric sulfate jarosite is decreased. An initial pH of 4.0 has been found to be the reasonable for bacterial leaching of metals from anaerobic sludge [44, 45, 82]. Better results on metal solubilization have been obtained by lowering the initial pH to 2.0. High requirement of acid (2.5 times more acid at pH 2.0 than at pH 4.0) and similar ultimate removal of metals are the associated disadvantages of low pH bacterial leaching [19]. At pH 6.0, the solubilization of metals is extremely poor. At this pH, leaching may not be mediated by T. ferrooxidans.

Sulfolobus has been shown to be active between pH values 1.0 to 6.0, with optima 2.0 and 3.0. A number of Thiobacilli have also been isolated with various pH optima between 2.0 and 9.0 (as discussed before) when substrate are ferrous iron, sulfide minerals, elemental sulfur and reduced compounds. These organism can be tested to further reduce the acid requirement during microbial leaching.

#### 8.5 AGITATION AND VOLUMETRIC OXYGEN TRANSFER COEFFICIENT

Effects of mixing on T. ferrooxidans have been studied in leaching of ores as well as in the leaching of anaerobic sludge [43, 81, 87]. Leaching rates were increased with agitation for ore leaching. But only a gentle mixing has been suggested for sludge leaching. Rapid mixing resulted in lowering the metal solubilization rates. An aeration rate of 50 cm<sup>3</sup>/L/min was recorded to be the appropriate [19]. The combined effects of agitation and aeration is expressed in terms of mass transfer coefficient ( $k_{La}$ ) [87]. This represents the oxygen uptake efficiency. Increasing leaching rates have been observed with increased  $k_{La}$  [81, 83]. A range of  $k_{La}$  values from 8.72 to 46.85/h for varying rpm from 300 to 800 have been obtained. In continuous leaching of metals from digested sludge in 3.0 L bioreactor with 425 rpm and 0.1 vvm (volume of air flowing/litre of working volume/minute) of aeration rate,  $k_{La}$  values of 7.9-7.3 have been obtained [88]. T. ferrooxidans requires minimum oxygen concentration of 2.5% of saturation [89]. However, for sludge as a substrate, a minimum oxygen concentration of 35% of the saturation is required. Lower oxygen levels resulted in reduced microbial activity.

#### 8.6 PARTICLE SIZE AND SUBSTRATE CONCENTRATION

In microbial leaching of ores, in general, leaching rate increases with surface area and reduced diameter [53, 65, 90, 91]. An optimum diameter of 30  $\mu\text{m}$  has been found optimum [53]. For soluble substrates (ferrous sulfate), this factor is not important. The particle diameter of sewage sludge is of the order of 1 to 15  $\mu\text{m}$ . Therefore, this factor is not very important for biological leaching of sludge. However, concentration of intracellular and extracellular metals in

the sludge bacterial mass may be important. The extracellular and intracellular metal concentrations were determined in our laboratory using extraction with HCl and digestion with HNO<sub>3</sub>, respectively. The respective intracellular concentration of Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, and Zn in the order of 76%, 50%, 86%, 41%, 8%, and 52% were observed. The effects of sludge solids concentration on metal solubilization showed that the ultimate metal removal were reduced with increased sludge concentration [43]. The mass transfer and dispersion limitations are the factors responsible for reduced bacterial activity. Sludge solids may also hinder the transfer and dispersion of bacteria and substrate (Fe<sup>2+</sup>, reduced inorganic sulfur and metal sulfides). Metals may also become more readily adsorbed or complexed by the solids particles at increased solids concentration.

The effects of sludge solids concentration on bacterial leaching of sludge have also been studied by Tyagi *et al.* [80]. Final pH and ultimate metal removal efficiency were influenced by the sludge concentration. The over all metal removal efficiency was reduced with solids concentration under optimized medium conditions; the rate of metal removal was proportional to the sludge concentration (Fig. 6) and tends to level off at higher sludge concentrations.

#### 9. LEACHING IN BATCH PROCESS

A variety of reactor configurations have been in practice using microbial cells. The most common system is the batch operated stirred tank reactor with or without cell recycle. Stirred tank systems are normally the cheapest because of their relative simplicity and excellent operational flexibility. Packed reactors are not advantageous due to suspended solids in sludge. A number of workers have used batch reactors or shake flask technique which are described in this section.

The metal leaching of digested sludge under different cultivation conditions have been studied by a number of workers [19, 43-45, 80, 82, 92]. The sludge used by different workers contained varying composition of heavy metals. Prior to leaching, the sludge was acidified to pH 4.0. Zinc, nickel and cadmium were

solubilized to an extent of 80-90% [82]. The copper was solubilized in the range of 60-70% which is otherwise difficult to solubilize in chemical leaching due to strong association of copper with the sludge solids. The acid requirements have also been reduced considerably [82]. The time required to obtain metal solubilization was reported to be 10 to 12 days. The pH was reduced from 4.0 to 3.2. The ORP of the sludge was increased from -220 mV to 420 mV. This increase in ORP can be attributed to the combined effects of aeration and bacterial oxidation of metal sulfides. The lead was not solubilized during microbial process. The lead has also been reported to form strong organometallic complexes. Nevertheless, low solubility of lead is one of the principal factor which keeps the lead in solid phase.

Thiobacillus thiooxidans was shown to oxidize added sulfur in digested sludge in a period of 20 to 30 days, while decreasing the pH from 5.5 to 1.0 or 1.5. Insoluble metals were found to be solubilized through this acidification. Thiobacillus ferrooxidans oxidised pyrite ore in the presence of 6% centrifuged sludge if the pH was adjusted to about 2.5. Pyrite was also used as substrate for T. ferrooxidans in our laboratory (Figures 7 and 8) [93]. The sludge was acidified to pH 4.0 followed by the addition of pyrite and ferrous sulfate. The pH was instantly reduced from 4.0 to 2.8, when 1 g/L pyrite was added. The reactors were then inoculated with 10% volume of T. ferrooxidans cells grown on their respective substrates. The bioreaction course was then followed by analysing pH, ORP and soluble metal concentrations. With ferrous sulfate as substrate, pH showed initial increase and then decreased to 2.8. The zinc and copper were solubilized to an extent of 58 and 56% respectively in 9 days of batch culture. The change in ORP with ferrous sulfate, pyrite and in control run is depicted in Fig. 8. Due to aeration and bacterial oxidation, the sludge became more and more aerobic and the ORP increased. The rate of increase in ORP was accelerated significantly in the presence of ferrous sulfate and pyrite. This is due to the faster oxidation in the presence of pyrite than in the presence of ferrous sulfate.

T. thiooxidans and T. ferrooxidans were mixed with the sludge in the presence of 1% sulfur [92]. The former acidified the sludge by oxidizing the sulfur to

sulfuric acid and the later oxidized the metal sulfides; together they solubilized more metals than T. ferrooxidans alone. Norris and Kelly [68] also showed that mixed natural cultures are more effective in leaching of pyrite. Mixed culture studies with T. thiooxidans and T. ferrooxidans increased the rate of metal solubilization substantially. These results are depicted in Fig. 9, where 'f' represents the T. ferrooxidans and 't' for T. thiooxidans. The time for metal solubilization was reduced by 2 days in mixed culture [44]. Rapid decrease of pH and increase in ORP during the mixed culture may be attributed to the oxidation of sulfur (formed during lag phase) to sulfate by T. thiooxidans. During the lag phase, the pH of the leach solution tends to rise and becomes stable or decreases slowly in the subsequent phases. The increase in pH may be due to the presence of oxidizable components [94] in the sludge or may be due to the production of elemental sulfur according to equation 2. The elemental sulfur produced in this reaction is oxidized to sulfuric acid by the bacteria according to equation 3.

According to equation 2, the increase in the lag phase metal ion concentration is equivalent to the quantity of sulfuric acid required to maintain a constant pH condition. T. ferrooxidans needs an adaptation time before it could oxidize the elemental sulfur to furnish hydrogen ions. The yield of metal solubilization was 10% higher in mixed culture compared to that of single culture of T. ferrooxidans. The rate of solubilization in the order of Cu > Zn > Cd > Pb was observed. The maximum metal solubilization observed in mixed culture of Zn, Cu, Pb and Cd was in the order of 96%, 75%, 55% and 50% respectively. The maximum rates of metal solubilization in single and mixed culture are compared in Table 5.

Dredged sludge was acidified using sulfurous acid followed by bacterial leaching with T. ferrooxidans (f), T. thiooxidans (t) and mixed culture of the two organisms (t + f) [94]. During the aeration of the suspension, sulfurous acid was oxidized to sulfuric acid and the pH was lowered from 5.0 to 4.0; subsequently, bacterial leaching further reduced the pH to the range of 2.1-2.5 depending upon the solids concentration and initial pH in 10 to 15 days. Cu was extracted by more than 80% during combined leaching (t + f), whereas the

Table 5. Maximum rate of metal solubilication in bacth culture.

Metal	<u>T. ferrooxidans</u>	<u>T. ferrooxidans</u> +	<u>T. thiooxidans</u>
	(mg/L/day)		(mg/L/day)
Cu	7.8		10.3
Zn	1.8		2.8
Pb	0.55		0.65

release of Ni and Cr was found to be the highest in the T. thiooxidans extract. The release of Fe and Pb was less effective and was found at a maximum of 25% for Fe and 15% for Pb in the T. thiooxidans extract.

Kreye et al. [95] studied the biodegradation of high thiosulfate containing wastes in activated sludge process. In 8 days, the thiobacilli lowered the pH from 8.3 to 2.7 and thiosulfate was completely removed. However, the sludge lost the power to eliminate COD. This suggests that the effluent rich in sulfur and sulfur derivatives can be mixed with the sludge in order to generate the acid and hence the pH can be lowered. Consequently, metal removal rate can be enhanced. This possibility is yet to be tested in the laboratory.

#### 10. CONTINUOUS LEACHING

The aim of any continuous industrial process is to reach a maximum conversion at the highest flow rate and to minimize the substrate losses (metal sulfides) in the outflow stream. Compared to most catalytic chemical reactions the overall biochemical reaction (microbial leaching) rates are generally very slow. As a result, larger reactor sizes are required for biochemical systems to yield the same quantity of products. Batch reactors employing larger residence times are usually employed for large turnover of industrial products due to slow rates. Microbial leaching in batch process takes nearly 8 to 30 days depending on type of sludge employed, cultivation conditions and the type of microbial strain used as described in the previous section. Therefore, much faster reaction is necessary if biomass conversions are to be employed on a large scale. Continuous bioreactors are better for biological conversions and biotransformation rates could be several times faster than the batch rates. This is specially true when maintenance of sterility is not required. Continuous leaching is also desirable to facilitate the plant operation and eliminate the incubation lag time associated with the batch process.

Continuous bacterial leaching of digested sludge using T. ferrooxidans was studied at varying dilution rates (flow rate\working volume). The solubilization rate of copper and zinc were increased with increased dilution

rate. The acceptable level of metals in the sludge was achieved at a dilution rate of 0.2/day (5 days residence time) [96]. The rates of metal leaching in batch and continuous process are compared in Table 6. The continuous results were also used to calculate the kinetic constants (the maximum specific growth rate,  $\mu_m$  and the saturation constant,  $K_S$ ). Double substrate kinetic models (interactive and noninteractive) were verified and it was established that noninteractive multiple substrate model is applicable for bacterial leaching of metals from sludge. The value of maximum specific growth rate of 0.038/hour was found to be the same with respect to the individual and combined metals kinetics. However,  $K_S$ , values varied widely with individual and combined metals. The values of  $K_S$  for zinc, copper and combination of these two were 18.5, 43.6 and 61.7 mg/L respectively. The values of the different kinetic constants obtained by different workers on various substrates are presented in Table 7.

In continuous bioreactor without cell recycle, a steady state mass balance dictates that the specific growth rate equals the dilution rate (inverse of the residence time) of the system. Increasing the flow rate dilutes the cell concentration exponentially. At sufficient high flow rates, the dilution rate exceeds the maximum specific growth rate of the organisms, thereby washing the culture out of the reactor. Thus, continuous bioreactors are subject to productivity limitations determined by growth characteristics of the organism. Moreover, the maximum productivity often occurs near the maximum value of dilution rate. Therefore, small fluctuations in flow rates or changes in the environmental conditions (pH, temperature, feedflow) which affect the growth characteristics of the organism may result in washout conditions in the bioreactor. Consequently, the process approaches maximum productivity but never attains that value.

Since bioreaction rate is proportional to the concentration of active cellular biomass, continuous mixed flow is favourable with respect to the production of biomass; but it does not prevent the washout of the cells. Therefore, a reactor configuration should be employed, to generate a sufficient amount of biomass. To overcome washout of biomass, the dilution rate in the continuous

Table 6. Comparison of the rates of metal solubilization in batch and continuous processes.

Metal	Rate of metal solubilization (mg/L/day)	
	Batch	Continuous
Zn	3.0	4.0
Cu	7.2	10.5
Pb	0.65	0.8

Table 7. Kinetics parameters of T. ferrooxidans on various substrates.

Substrate	Authors (ref.)	Specific growth rate $\mu$ (hr <sup>-1</sup> )	Maximum specific growth rate $\mu_{\text{m}}$ (hr <sup>-1</sup> )	Half saturation constant K <sub>s</sub> (mM)	Yield on substrate Y <sub>sx</sub> Kg dry wet bacteria/Kg substrate
FeSO <sub>4</sub>	Lacey and Lawson [97]		0.20 (30°C)	36 (30°C)	
FeSO <sub>4</sub>	Tuovinen and Kelly [98]				0.002 CSTR*
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	Chang and Myerson [99]		0.1085 (28°C)	2.5	
FeSO <sub>4</sub>	Godard et al. [100]		0.158 (30°C)		0.017 Air lift
FeSO <sub>4</sub>	Kelly and Jones [101]		0.143	36	0.002 CSTR
FeSO <sub>4</sub>	Takamori et al. [102]	0.16-0.31			CO <sub>2</sub> CSTR
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	Yunker and Radovich [103]				0.048 (electrolytic)
FeS <sub>2</sub>	Myerson and Kline [90]	0.023-0.073			CSTR
FeS <sub>2</sub>	Huber et al. [104]	0.060			0.044-0.066
FeS <sub>2</sub>	Hoffman et al. [91]		0.22	2.41	0.075
FeS <sub>2</sub>	Chang and Myerson [99]		0.07-0.22		0.070
FeS <sub>2</sub>	Mishra et al. [105]	0.08			
ZnS	Gormely et al. [106]		> 0.1038		0.070 CSTR
ZnS	Sanmugasunderam [107]		0.015-0.025		
PbS	Tomisuka and Yagisawa [108]		0.10		
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Tuovinen and Kelly [98]	0.018-0.043	0.043		0.037
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Bounds and Colmer [109]			20-50	
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Eccleston and Kelly [110]			1.2-25	0.047
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Hazeu et al. [77]			0.005-0.025	0.034 CSTR
K <sub>2</sub> S <sub>4</sub> O <sub>6</sub>	Tuovinen and Kelly [98]		0.050		0.032
K <sub>2</sub> S <sub>4</sub> O <sub>6</sub>	Eccleston and Kelly [110]	0.092		0.13-8.33	0.041
K <sub>2</sub> S <sub>4</sub> O <sub>6</sub>	Hazeu et al. [77]			0.004-0.025	0.034 CSTR
Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub>	Hazeu et al. [77]			0.03-0.06	CSTR
Na <sub>2</sub> S	Hazeu et al. [77]			0.005	CSTR
S <sup>0</sup>	Espejo and Romero [111]	0.021			

\* CSTR: Continuous stirred tank reactor.

mixed flow reactor must be lower than the growth rate. This condition can be expressed in characteristics times as follows:

$$t_{\text{residence}} (1/D) > t_{\text{growth}} (1/\mu) \quad (12)$$

The size of the bioreactor is governed by the relationship between the bacterial growth rate and the reaction rate (i.e. metal solubilization rate).

The following regimes can be distinguished:

- 1) The growth rate is large compared with the reaction rate:

$$t_{\text{growth}} (1/\mu) < t_{\text{reaction}} (= 1/k) \quad (13)$$

Where k is the reaction rate constant. In this situation, a small continuous mixed flow reactor is sufficient to produce enough biomass, thus the overall reactor volume is determined by metal oxidation rate.

- 2) The growth rate is small compared with reaction rate:

$$t_{\text{growth}} (1/\mu) > t_{\text{reaction}} (= 1/k) \quad (14)$$

In this situation the major problem is the shortage of biomass.

The maximum specific growth rate determined from continuous results gave a value of 0.038/hour (or  $t_{\text{growth}} = 1.1$  days). Microbial oxidation of metals by first order kinetics is related to the amount of insoluble metals available. The first order rate constant has been determined with respect to cadmium solubilization and was found to be 0.704/day at 35°C ( $t_{\text{reaction}} = 1.42$  days). The time of reaction will increase to 2.9 days if the operating temperature is reduced to 25°C. This analysis indicates that, with respect to the prevention of biomass limitation, maintaining a sufficient biomass concentration should not be troublesome because the growth time (1.1 days) of the biomass is smaller than the reaction time (1.4 days).

Nevertheless, the bacterial population can further be increased by separating and recycling the cells. But in this system, the separation of biomass from the sludge suspension is very troublesome. The continuous cell recycle system has been investigated with hydraulic residence time 1, 2, 3 and 4 days [88]. A cell population of  $4.3 \times 10^9/\text{mL}$  in cell recycle and  $3.4 \times 10^9/\text{mL}$  in without cell recycle were observed. One gm/L of ferrous sulfate was added to enhance the rate of metal solubilization. The solubilization of zinc and copper in the order of 68% and 50% respectively was observed. Under similar operating conditions and sludge samples, the continuous system without cell recycle gave a solubilization of 78.5% and 59% for zinc and copper respectively. Thus in spite of higher cell population in cell recycle system, low metal solubilization was observed.

#### 11. MICROBIAL LEACHING IN AIR-LIFT BIOREACTOR

Airlift reactors offer unique advantages over agitated reactors in particulate solids substrate bioconversion systems such as microbial leaching of sludge. Gas agitation, used in airlift reactor, is preferable to mechanical agitation due to following reasons: a sludge suspension of pH 2 to 3 is rather corrosive and, therefore, moving parts should be avoided if possible; the scale of commercial installation will be large; in the case of power failure the suspension will settle, resuspension in gas agitated reactor is easier than in a mechanically agitated reactor; due to lower shear stress in airlift reactors the extent of cell desorption from particle surfaces would be less as compared to agitated system; they are relatively easy to operate and more energy efficient compared to mechanically agitated biological reactors. The airlift reactors require only compressed air for aeration and agitation and eliminate the need for mechanical agitation. The oxygen transfer efficiency in some airlift reactors ( $\text{kg O}_2$  transferred/kWh) is higher than mechanical agitated reactors [72].

Due to aforementioned advantages, an airlift reactor was designed and developed in our laboratory for microbial leaching of sludge. The experimental system comprises of an inner loop system shown in Figure 10 consists of two vertical

co-axial tubes of 1.9 m deep and 15 cm and 10 cm diameters. Circulation is initiated by feeding air, from a compressor, into the riser section. The air bubbles thus generated, travel upwards; they create a partial voidage in this portion of the riser. This causes the column of the liquid in the downcomer, subjected to its head static pressure, to move downward. The cyclic circulation is thus started. Downcomer air may now be fed and engulfed downward along with the liquid. As these air bubbles descend, they shrink in size due to their dissociation in the liquid phase.

At the bottom, almost complete dissolution occurs. Bubbles are again realesed in the riser section, due to progressive decrease of the static pressure. At the top, where the bubbles enter the head tank, they partially disengage and exit through the opening provided in the head tank cover. At steady state a velocity 0.3 to 0.9 m/sec could be achieved (depending on the depth of the column) and that of the gas bubbles about one third to one fifth that value in the riser. The gas holdup percentage (which measures difference between liquid and gas superficial velocities) is lower than that of bubble column; this helps to decrease the incidence of large bubble or swarm (coalescence) formations and ensure a more uniform distribution of gas molecules in the liquid. Compressed air was bubbled through humidifier tank before entering the bioreactor in order to avoid the loss of liquid due to evaporation.

Adapted strain of T. ferrooxidans was used and the sludge was supplemented with 1 g/L of ferrous sulfate heptahydrate to enhance the leaching rate. A 10% inoculum volume was used to start the batch run. The samples were drawn from the top, middle and bottom of the bioreactor to determine if the airlift reactor was well mixed. The pH and metal soluble concentration at different position in the reactor were similar and, therefore, the reaction mixture was practically well mixed. Figure 11 depicts the change in pH as a result of microbial oxidation of metal sulfides. pH was decreased from initial value of 4 to 2.6 in 50 hours and the sludge metal contents also decreased to the acceptable level in the same time. The bioreaction time is almost the same as in batch stirred tank reactor with the addition of ferrous sulfate.

This study indicates that an airlift bioreactor can be used for microbial leaching of sludge as an alternative to mechanically agitated bioreactor with similar efficiency of bioconversion, since airlift reactors operate with considerably lower power requirements.

#### 12. RECOVERY OF METALS FROM LEACHED SLUDGE

The solubilized metals in sludge can be separated from solids by centrifugation. The gravity settling or centrifugation does not seem to work. The solubilized metals are then precipitated by the addition of lime to adjust the pH to 10 (Fig. 12). The final pH of the leachate varies in the range of 2.5 to 3.5. The lime requirements to precipitate the metals for this pH range varies from 1.1 to 2.2 gm per litre of leachate. Almost 90 to 95% of the metals are removed. The residual solution (pH 10) can be used to raise the pH of the decontaminated sludge to the neutralization point at the plant site. The sludge can also be neutralized at the disposal site in order to reduce the transportation cost. The precipitated metals may possibly be recovered for recycling and/or can be disposed of safely. The decontaminated sludge thus obtained does not change its fertilizer value in terms of nitrogen, phosphorus and potassium contents. The overall process flow diagram is presented in Figure 12.

#### 13. CONCLUSIONS

- As per guide lines the toxic heavy metals content should be reduced before final disposal.
- Chemical methods to remove heavy metals are unattractive due to high cost, operational difficulties, large acid and lime requirements.
- Metal speciation studies suggest that microbial leaching process can be utilised to remove heavy metals.
- Several microbial strains have been worked out for metal leaching but only a few have been tested for metal removal from sludge.

- The growth parameters of leaching bacteria require their optimum adjustment.
- The kinetic and thermodynamic data provided in this study can be useful for specialists involved in studies of scaling up the process to pilot plant or to industrial scales.
- Bacterial leaching of sludge in batch reactors requires long residence time of 8 to 30 days depending on sludge characteristics, type of microbial strain, and cultivation conditions.
- Residence time is reduced to 5 days in continuous culture. The reactor configuration requiring the lowest overall residence time consists of a single mixed flow reactor. Preliminary investigations on continuous cell recycle system suggests that system involves operational problems.
- Preliminary investigations on air lift bioreactor showed that the process is as efficient as continuous stirred tank reactor and should be worked out further to improve the efficiency.
- From practical stand point , much work remain to be done to elucidate the feasibility of the process.

#### ACKNOWLEDGMENTS

The authors wish to thank Mr. G. Mercier for the initial research for this text and Dr. F. Tran for his critical review of the manuscript. Also, we thank Mr. F. D'Amours for his technical services to prepare the drawings.

#### REFERENCES

- 1. J.N. Lester, R.M. Sterrit, and P.W.W. Kirk, "Significance and behaviour of heavy metals in waste water treatment process. II. Sludge treatment and disposal". Sci. Total Envir. 30: 45 (1983).

- 2. R.D. Davis, "Cadmium in sludges used as fertilizer". Experientia Supplementum 50: 55 (1986).
- 3. R.D. Davis, "Use of sewage sludge on land in the United Kingdom", Wat. Sci. Technol. 19(8): 1 (1987).
- 4. B.G. Oliver, and E.G. Cosgrove, "The efficiency of heavy metal removal by a conventional activated sludge treatment plant", Water Res. 8: 869 (1974).
- 5. T. Stephenson, and J.N. Lester, "Heavy metal removal during the activated sludge process. I. Extent of soluble and insoluble metal removal mechanisms", Sci. Total Envir. 63: 199 (1987).
- 6. T. Stephenson, and J.N. Lester, "Heavy metal removal during the activated sludge process. II. Insoluble metal removal mechanisms", Sci. Total Envir. 63: 215 (1987).
- 7. S. Stoveland, M. Astruc, J.N. Lester, and R. Perry, "The balance of heavy metals through a sewage treatment works. II. Chromium nickel and zinc". Sci. Total Envir. 12: 25 (1979).
- 8. M.H. Cheng, J.W. Patterson, and R.A. Minear, "Heavy metals uptake by activated sludge". J. Wat. Pollut. Control Fed. 47(2): 362 (1975).
- 9. D. Couillard, "Étude de quelques indices de croissance du Larix laricina fertilisé par des boues anaérobies". Envir. Technol. Lett. 9: 206 (1987).
- 10. D. Couillard, "Forest management: Larix laricina response to wastewater sludge fertilization", J. Envir. Mgt. 27: 247 (1987).
- 11. D. Couillard, and Y. Grenier, "Alternative à la gestion des boues résiduaires municipales: recyclage en sylviculture". Sci. Techni. Eau 20(3): 215 (1987).

- 12. D. Couillard, "Fertilizing forests with wastewater sludge". J. Envir. Syst. 15: 324 (1987).
- 13. H.M.J. Scheltinga, "Sludge in agriculture: the european approach", Wat. Sci. Technol. 19(8): 9 (1987).
- 14. M.D. Webber, A. Kloke, and J.C. Tjell, "A review of current sludge use guidelines for the control of heavy metals contamination in soils", Processing and use of sewage sludge, Proceedings 3rd International Symposium, Brighton, (P. L'Hermite, and H. Ott, eds), D. Reidel Publishing Co., The Netherlands, 1984, p. 371.
- 15. G. Sposito, "Trace metals in contaminated waters". Envir. Sci. Technol. 15(4): 396 (1981).
- 16. D.S. Scott, and H. Horlings, "Removal of phosphates and metals from sewage sludges", Envir. Sci. Technol. 9(9): 849 (1975).
- 17. L.E. Sommers, and D.W. Nelson, "Monitoring the response of soils and crops to sludge applications", Sludge and its ultimate disposal, (J.A. Bouchart, W.J. Jone, and G.E. Sprague, eds) Ann Arbor Science, 1981, 286 p.
- 18. J.C. Tjell, "Trace metal regulations for sludge utilization in agriculture; a critical review". European Communities, EUR 10361, p. 348 (1986).
- 19. L. Wong, and J.G. Henry, "Decontaminating biological sludge for agricultural use", Wat. Sci. Technol. 17: 575 (1984).
- 20. D.J. Wozniak, and J.Y.C. Huang, "Variables affecting metal removal from sludge", J. Wat. Pollut. Control Fed. 54(12): 1574 (1982).

- 21. R.D. Davis, "Environmental effects of sludge", Processing and use of sewage sludge, Proceedings 3rd International Symposium, Brighton, (P. L'Hermite, and H. Ott, eds), D. Reidel Publishing Co., The Netherlands, 1984, p. 349.
- 22. P. Couture, D. Couillard, and G. Croteau, "Un test biologique pour caractériser la toxicité des eaux usées", Envir. Pollut., series B, 2(3): 217 (1981).
- 23. D. Couillard, "Toxicité des eaux de ruissellement de la fonte de neige en milieu urbain", Water Res. 16(7): 1197 (1982).
- 24. D. Couillard, and Y. Lefebvre, "Indice de qualité de l'eau pour détecter l'impact de la pollution diffuse urbaine", Can. J. Civil Engng. 13(1): 631 (1986).
- 25. R.L. Jenkins, B.J. Scheybeler, M.L. Smith, R. Baird, M.P. Lo, and R.T. Haug, "Metals removal and recovery from municipal sludge", J. Wat. Pollut. Control Fed. 53(1): 25 (1981).
- 26. T.D. Hayes, W.J. Jewell, and R.M. Kabrick, "Heavy metal removal from sludges using combined biological/chemical treatment", Proceedings of the 34th Industrial Waste Conference, Purdue University, Lafayette, Indiana, Ann Arbor, MI, Ann Arbor Science Publishers Inc., 1980, p. 529.
- 27. K.J. McNulty, A.T. Malarkey, R.L. Goldsmith, and M.A. Fermont, "Development of a new process for sludge conditioning", a paper presented at National Conference on composting of municipal residue and sludge, Rockville, MD, Aug. 23-25 (1977).
- 28. J.W. Olver, W.C. Kreye, and P.H. King, "Heavy metal release by chlorine oxidation of sludge", J. Wat. Pollut. Control Fed. 47(10): 2490 (1975).

- 29. M.J. Brown, and J.N. Lester, "Metal removal in activated sludge: the role of extracellular polymers", Water Res. 13: 817 (1979).
- 30. F.E. Mosey, "Assessment of the maximum concentration of heavy metals in crude sewage which will not inhibit the anaerobic digestion of sludge", Water Pollut. Control 75: 10 (1976).
- 31. M. Gould, and E. Genetelli, "Heavy metal complexation behaviour in anaerobically digested sludges", Water Res. 12: 505 (1978).
- 32. R.D. Newfeld, and E.R. Hartman, "Heavy metal removal by acclimated activated sludge", J. Wat. Pollut. Control Fed. 47: 310 (1975).
- 33. M.S. Gould, and E.J. Genetelli, "Heavy metal distribution in anaerobically digested sludge", Proceedings of the 30th Industrial Waste Conference, Purdue University, Lafayette, Indiana, Ann Arbor, MI, Ann Arbor Science Publishers Inc., 1976, p. 689.
- 34. J.J. Doyle, R.T. Marshall, and W.M. Pfander, "Effects of cadmium on growth and uptake of cadmium microorganisms", Appl. Microbiol. 29(4): 562 (1975).
- 35. T.D. Hayes, and T.L. Theis, "The distribution of heavy metals in anaerobic digestion", J. Wat. Pollut. Control Fed. 50: 61 (1978).
- 36. R.M. Sterrit, and J.N. Lester, "Significance and behaviour of heavy metals in waste waters treatment processes. III. Speciations in waste waters and related complex matrices", Sci. Total Envir. 34: 117 (1984).
- 37. T.L. Theis, and T.D. Hayes, "Chemistry of heavy metals in anaerobic digestion", Chemistry of wastewater technology (A.J. Rubin, ed), Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor, 1980, p. 403.
- 38. R.C. Stover, L.E. Sommers, and D.J. Silviera, "Evaluation of metals in wastewater sludge", J. Wat. Pollut. Control Fed. 48(9): 2165 (1976).

- 39. M. Legret, D. Demare, and P. Marchandise, "Speciation of heavy metals in sewage sludge", Proceedings of the 3th International Conference on Heavy Metals in the Environment, Heidelberg, CEP Consultants, Edinburgh, 1983, p. 350.
- 40. K.R.K. Alibhai, I. Mehrotra, and C.F. Forster, "Heavy metal binding to digested sludge", Water Res. 19(12): 1483 (1985).
- 41. J.F. Kao, L.P. Hsieh, S.S. Cheng, and C.P. Huang, "Effect of EDTA on cadmium in activated sludge system", J. Wat. Pollut. Control Fed. 54(7): 1118 (1982).
- 42. P.S. Lawson, R.M. Sterrit, and J.N. Lester, "Factors affecting the removal of metals during activated sludge wastewater treatment. II. The role of mixed liquor biomass", Arch. Envir. Contam. Toxicol. 13: 391 (1984).
- 43. L. Wong, and J.G. Henry, "Biological removal and chemical recovery of metals from sludge", Proceedings of the 39th Industrial Waste Conference, Purdue University, Lafayette, Indiana, 1984, p. 515.
- 44. R.D. Tyagi, and D. Couillard, "Bacterial leaching of metals from digested sewage sludge", Process Biochem. 22(4): 114 (1987).
- 45. R.D. Tyagi, and D. Couillard, "Comparison of chemical and microbiological processes to remove heavy metals from anaerobically digested sludge", Proceedings of the International Symposium on small systems for water supply and waste water disposal, National University of Singapore, 2-4 July 1987, p. 435.
- 46. B.R. Fristoe, and P.O. Nelson, "Equilibrium chemical modelling of heavy metals in activated sludge", Water Res. 17(7): 771 (1983).
- 47. D.G. Lundgren, and M. Silver, "Ore leaching by bacteria", Ann. Rev. Microbiol. 34: 263 (1980).

- 48. A.E. Torma, "Biohydrometallurgy as an emerging technology", Biotechnology and Bioengineering Symposium 16: 49 (1986).
- 49. S.R. Hutchins, M.S. Davidson, J.A. Brierley, and C.L. Brierley, "Microorganisms in reclamation of metals", Ann. Rev. Microbiol. 40: 311 (1986).
- 50. R. Guay, and M. Silver, "Uranium biohydrometallurgy", Process. Biochem. 16(1): 8 (1981).
- 51. K. Bosecker, and M. Kürsten, "Recovery of metallic raw materials by microbial leaching", Process Biochem. 13(2): 2 (1978).
- 52. H. Sakaguchi, A.E. Torma, and M. Silver, "Microbiological oxidation of synthetic chalcocite and covellite by Thiobacillus ferrooxidans", Appl. Envir. Microbiol. 31(1): 7 (1976).
- 53. R. Guay, M. Silver, and A.E. Torma, "Microbiological leaching of a low grade uranium ore by Thiobacillus ferrooxidans", Europ. J. Microbiol. 3: 157 (1976).
- 54. T. Sugio, C. Domatsu, O. Munakata, T. Tano, and K. Imai, "Role of a ferric iron reducing system in sulfur oxidation of Thiobacillus ferrooxidans", Appl. Envir. Microbiol. 49(6): 1401 (1985).
- 55. A.R. Colmer, and M.E. Hinkle, "The role of microorganism in acid mine drainage", Science 106: 253 (1947).
- 56. A.R. Colmer, K.L. Temple, and M.E. Hinkle, "An iron-oxidising bacterium from the acid drainage of some bituminous coal mines", J. Bact. 59: 317 (1950).
- 57. J.W. Ingledew, "Thiobacillus ferrooxidans, the bioenergetics of an acidophilic chemolithotroph", Biochem. Biophys. Acta 683: 89 (1982).

- 58. A.P.Jr. Harrison, "The acidophilic Thiobacilli and other acidophilic bacteria that share their habitat", Ann. Rev. Microbiol. 38: 265 (1984).
- 59. C.M. Corbett, and J.W. Ingledew, "Is  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$  cycling an intermediate in sulfur oxidation of  $\text{Fe}^{2+}$  grown Thiobacillus ferrooxidans", FEMS Microbiol. Letters 41: 1 (1987).
- 60. A.E. Goodman, T. Babij, and A.I.M. Ritchie, "Leaching of a sulfide ore by Thiobacillus ferrooxidans under anaerobic conditions", Recent progress in biohydrometallurgy (A.E. Torma and G. Rossi, eds), Cagliari, Italy, 1983, p. 361.
- 61. A.P.Jr. Harrison, "Genomic and physiological diversity amongst strains of Thiobacillus ferrooxidans and genomic comparison with Thiobacillus thiooxidans", Arch. Microbiol. 131: 68 (1982).
- 62. M. Mackintosh, "Nitrogen fixation by Thiobacillus ferrooxidans", J. Gen. Microbiol. 105: 215 (1978).
- 63. N.W. Leroux, D.S. Wakerley, and V.P. Perry, "Leaching of minerals using bacteria other than Thiobacilli", Metallurgical applications of bacterial leaching and other related microbiological phenomena (A.E. Torma, L.E. Murr, and J.A. Brierley, eds), Academic Press, New York, 1978, p. 167.
- 64. P.R. Dungan, and W.A. Apel, "Microbial desulfurization of coal", Metallurgical applications of bacterial leaching and other related microbiological phenomena (A.E. Torma, L.E. Murr, and J.A. Brierley, eds), Academic Press, New York, 1978, p. 223.
- 65. G.F. Andrews, and J. Maczuga, "Bacterial coal desulfurization", Biotechnol. Bioengng. 12: 337 (1982).

- 66. R. Guay, and M. Silver, "Thiobacillus acidophilus sp. nov., isolation and some physiological characteristics", Can. J. Microbiol. 21: 281 (1975).
- 67. P.R. Norris, "Iron and mineral oxidation with Leptospirillum like bacteria", Recent progress in biohydrometallurgy (A.E. Torma, and G. Rossi, eds), Cagliari, Italy, 1983, p. 83.
- 68. P.R. Norris, and D.P. Kelly, "Dissolution of pyrite by pure and mixed culture of some acidophilic bacteria", FEMS Microbiol. Letters 4: 143 (1978).
- 69. V.V. Balashova, I.Y. Vedenina, G.E. Markosyan, and G.A. Zavarzin, "The auxotrophic growth of Leptospirillum ferrooxidans", Microbiology 43(4): 581 (1974).
- 70. P.R. Norris, and D.P. Kelly, "The use of mixed microbial culture in metal recovery", Microbial interactions and communities (A.T. Bull, and J.H. Slater, eds), Academic Press, London, 1982, p. 443.
- 71. F. Kargi, and J.M. Robinson, "Removal of sulfur compounds from coal by the thermophilic organism Sulfolobus acidocaldarius", Appl. Envir. Microbiol. 44(4): 878 (1982).
- 72. F. Kargi, and J.M. Robinson, "Microbial desulfurization of coal by thermophilic microorganism Sulfolobus acidocaldarius", Biotechnol. Bioengng. 24: 2115 (1982).
- 73. L.E. Murr, and A.P. Mehta, "Coal desulfurization by leaching involving acidophilic and thermophilic microorganisms", Biotechnol. Bioengng. 24: 743 (1982).
- 74. B. Butler, and A. Kempton, "Growth of T. ferrooxidans on solid media containing heterotrophic bacteria", J. Industrial Microbiol. 2: 41 (1987).

- 75. O.H. Tuovinen, and D.P. Kelly, "Studies on the growth of Thiobacillus ferrooxidans", Arch. Microbiol. 88: 285 (1973).
- 76. W.V. Vishniac, "Bergey's manual of determinative bacteriology", (R.E. Buchanan, and N.E. Gibbons, eds), Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1974, 1246 p.
- 77. W. Hazeu, W. Bijleveld, J.T.C. Grotenhuis, E. Kakes, and J.G. Kuenen, "Kinetics and energetics of reduced sulfur oxidation by chemostat culture of Thiobacillus ferrooxidans", Antonie Van Leeuwenhoek. 52: 507 (1986).
- 78. O.H. Tuovinen, S.I. Niemelä, and H.G. Gyllenberg, "Effect of mineral nutrients and organic substances on the development of Thiobacillus ferrooxidans", Biotechnol. Bioengng. 13: 517 (1971).
- 79. R.G.L. McCready, D. Wadden, and A. Marchbank, "Nutrient requirement for the in-place leaching of uranium by Thiobacillus ferrooxidans", Hydrometallurgy 17: 61 (1986).
- 80. R.D. Tyagi, D. Couillard, and Y. Grenier, "Effects of medium composition on the bacterial leaching of metals from digested sludge", submitted to Water Res. (1988).
- 81. R. Guay, and M. Silver, "Ferrous iron oxidation and uranium extraction by Thiobacillus ferrooxidans", Biotechnol. Bioengng. 19: 727 (1977).
- 82. L. Wong, and J.G. Henry, "Bacterial leaching of heavy metals from anaerobically digested sewage sludges", Wat. Pollut. Res. J. Can. 18: 151 (1983).
- 83. R. Guay, A.E. Torma, and M. Silver, "Oxydation de l'ion ferreux et mise en solution de l'uranium d'un mineraï par Thiobacillus ferrooxidans", Ann. Microbiol. 126B: 209 (1975).

- 84. A.G. Torma, and G.G. Gabra, "Oxidation of stibnite by Thiobacillus ferrooxidans", Antonie Van Leeuwenkoek 43(1): (1977).
- 85. A.G. Torma, and K. Bosecker, "Bacterial leaching", Progress in Industrial Microbiology, (M.J. Bull, ed), Elsevier Scientific Publishing Co., Amsterdam, 1982, vol. 16, p. 77.
- 86. K.J. Laidler, "Physical chemistry with biological applications", The Benjamin/Cummings Publishing Co., Inc., Menlo Park, California, 1982, p. 391.
- 87. S.J. Pirt, "Principles of microbe and cell cultivations", John Wiley and Sons, New York, 1975, 275 p.
- 88. G. Mercier, "Étude de bioréacteurs pour l'extraction bactérienne des métaux lourds dans les boues anaérobies d'épuration", Master Thesis, INRS-Eau (1988).
- 89. P. Bos, T.F. Huber, C.H. Kos, C. Ras, and J.G. Kuenen, "A dutch feasability study on microbial coal desulphurization", Process Metall. 4: 129 (1986).
- 90. A.S. Myerson, and P.C. Kline, "Continuous bacterial coal desulfurization employing Thiobacillus ferrooxidans", Biotechnol. Bioengng. 24: 92 (1984).
- 91. M.R. Hoffman, B.C. Faust, F.A. Panda, H.H. Koo, and H. Tsuchiya, "Kinetics of the removal of iron pyrite from coal by microbial catalysis", Appl. Envir. Microbiol. 42(2): 259 (1981).
- 92. W. Schönborn, and H. Hartmann, "Bacterial leaching of metals from sewage sludge", Europ. J. Appl. Microbiol. Biotec. 5: 305 (1978).
- 93. I. Piché, "Étude de substrats utilisés lors de l'extraction bactérienne des métaux lourds dans les boues résiduaires", M.S. Thesis, INRS-Eau (1988).

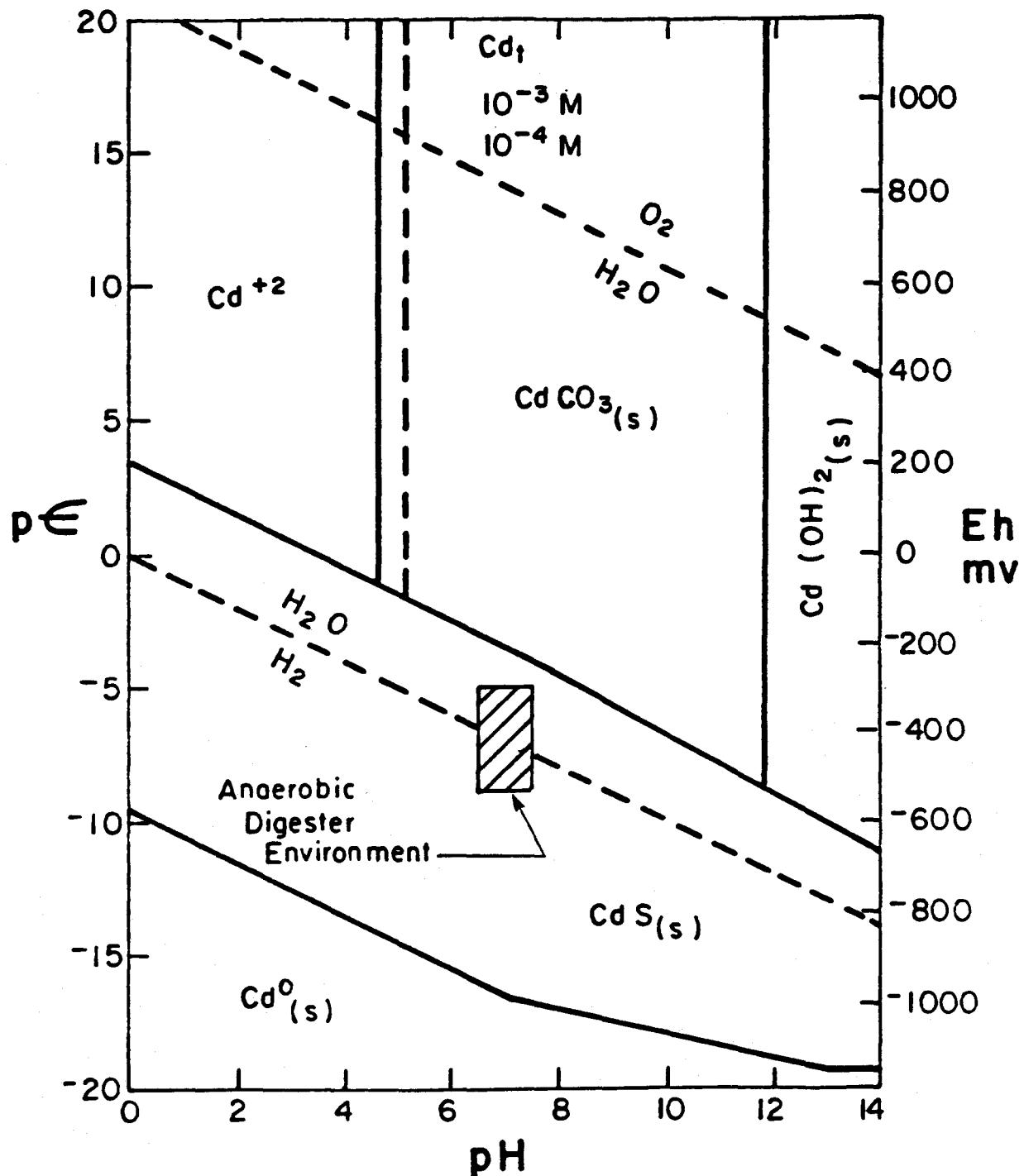
- 94. W. Calmano, W. Ahlf, and U. Förstner, "Heavy metal removal from contaminated sludges with dissolved sulfur dioxide in combination with bacterial leaching", Heavy Metals in the Environment, Proceedings of the 5th International Conference, Athens, CEP Consultants, Edinburg, 1985, p. 952.
- 95. W.C. Kreye, P.H. King, and C.W. Randall, "Biological treatment of high thiosulfate industrial wastewater", Proceedings of the 28th Industrial Waste Conference, Purdue University, Lafayette, Indiana, 1973, p. 537.
- 96. R.D. Tyagi, and D. Couillard, "Microbial leaching of metals from digested sewage sludge in continuous system", submitted to Pollution Control. (1988).
- 97. D.T. Lacey, and F. Lawson, "Kinetics of the liquid-phase oxidation of acid ferrous sulfate by the bacterium Thiobacillus ferrooxidans", Biotechnol. Bioengng. 12: 29 (1970).
- 98. O.H. Tuovinen, and D.P. Kelly, "Studies on the growth of Thiobacillus ferrooxidans", Arch. Microbiol. 98: 351 (1974).
- 99. Y.C. Chang, and A.S. Myerson, "Growth model of the continuous bacterial leaching of iron pyrite by Thiobacillus ferrooxidans", Biotechnol. Bioengng. 24: 889 (1982).
- 100. F. Godard, D. Klvana, C. Chavarie, G. André, D. Karamanov, and M. Jolicoeur, "Cinétique d'oxydation du fer ferreux par Thiobacillus ferrooxidans", Proceedings of the 37th Canadian Chemical Engineering Conference, Montréal, 18-22 May 1987, p. 329.
- 101. D.P. Kelly, and C.A. Jones, "Factors affecting metabolism and ferrous iron oxidation in suspensions and batch cultures of Thiobacillus ferrooxidans: relevance to ferric iron leach solution regeneration", Metallurgical applications of bacterial leaching and other related microbiological phenomena (A.E. Torma, L.E. Murr, and J.A. Brierley, eds), Academic Press, New York, 1978, p. 19.

- 102. T. Takamori, H. Kakuta, and M. Sumiya, "Some properties of Thiobacillus ferrooxidans and applications of the properties to improvement of the rate of sulfide mineral leaching", Recent progress in biohydrometallurgy (A.E. Torma, and G. Rossi, eds.), Cagliari, Italy, 1983, p. 679.
- 103. S.B. Yunker, and J.M. Radovich, "Enhancement of growth and ferrous iron oxidation rates of T. ferrooxidans by electrochemical reduction of ferric iron", Biotechnol. Bioengng. 28: 1867 (1986).
- 104. T.F. Huber, C. Ras, and N.W.F. Kossen, "Design and scale up of a reactor for the microbial desulphurization of coal: a kinetic model for bacterial growth and pyrite oxidation", Proceedings Third European Conference on Biotechnology 3: 151 (1984).
- 105. A.K. Mishra, S.S.R. Mahapatra, and P. Roy, "Factors affecting the growth and chalcopyrite oxidation by Thiobacillus ferrooxidans", Proceedings Indian National Sci. Acad. B52(4): 519 (1986).
- 106. L.S. Gormely, D.W. Duncan, R.M.R. Branon, and K.L. Pinder, "Continuous culture of Thiobacillus ferrooxidans on a Zn sulfide concentrate", Biotechnol. Bioengng. 17: 31 (1975).
- 107. S. Sanmugasunderam, D.W. Duncan, and R.M.R. Branon, "Novel reactor configuration for small scale microbial leaching", Advances in biotechnology vol. 1, Scientific and Engineering Principles (M. Moo-Young, C.W. Robinson, and C. Vezina, eds) Pergamon Press, New York, 1980, p. 595-600.
- 108. N. Tomisuka, and M. Yagisawa, "Optimum conditions for leaching of uranium and oxidation of lead sulfide with Thiobacillus ferrooxidans and recovery of metals from bacterial leaching solutions with sulfate reducing bacteria", Metallurgical applications of bacterial leaching and other related microbiological phenomena (A.E. Torma, L.E. Murr, and J.A. Brierley, eds), Academic Press, New York, 1978, p. 167.

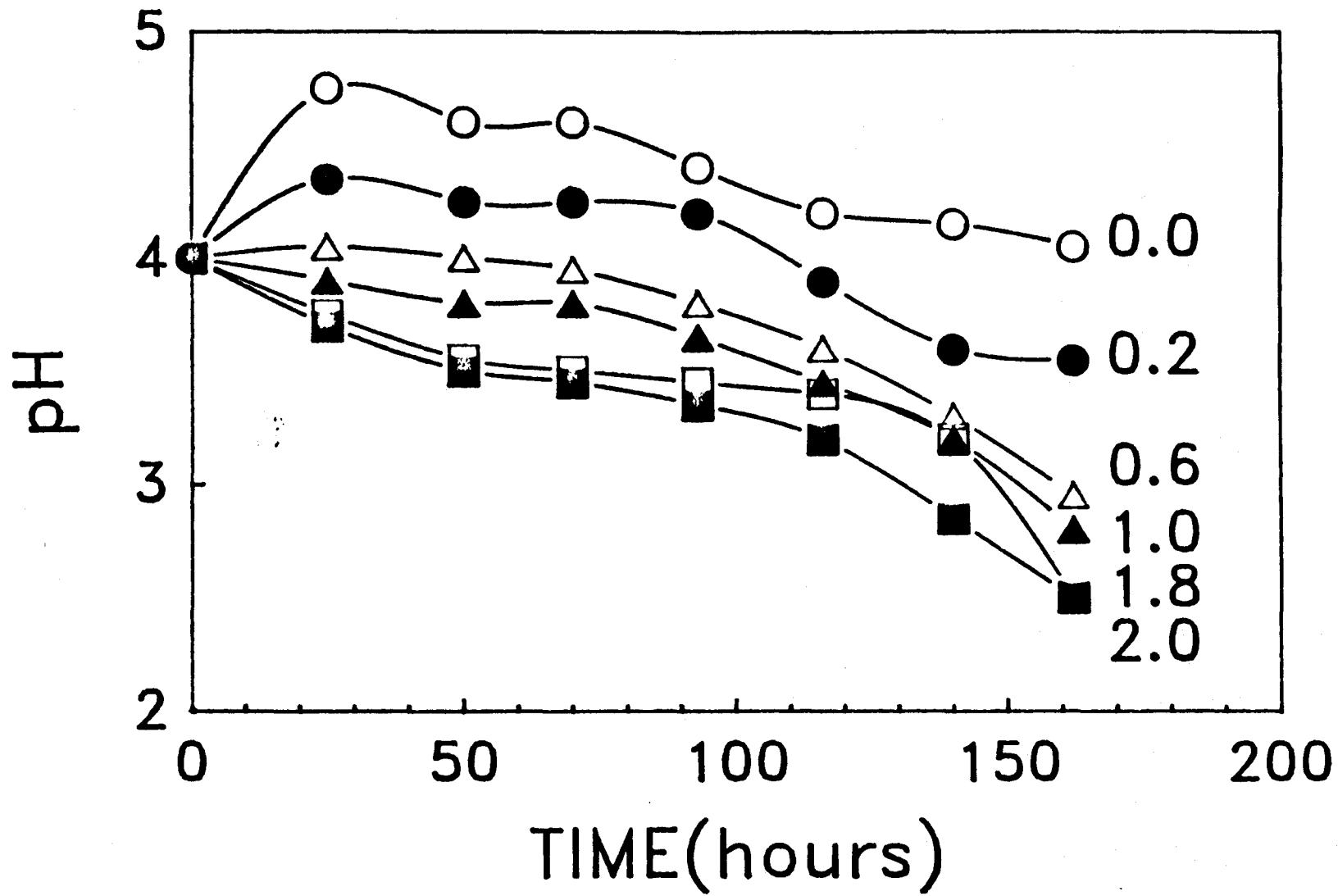
- 109. H.C. Bounds, and A.R. Colmer, "Comparison of the kinetics of thiosulfate oxidation by three iron-sulfur oxidizers", Can. J. Microbiol. 18: 735 (1972).
- 110. M. Eccleston, and D.P. Kelly, "Oxidation kinetics and chemostat growth kinetics of Thiobacillus ferrooxidans on tetrathionate and thiosulfate", J. Bact. 134: 718 (1978).
- 111. R. Espejo, and P. Romero, "Growth of Thiobacillus ferrooxidans on elemental sulfur", Appl. Envir. Microbiol. 53(8): 1907 (1987).

LEGENDS OF FIGURES

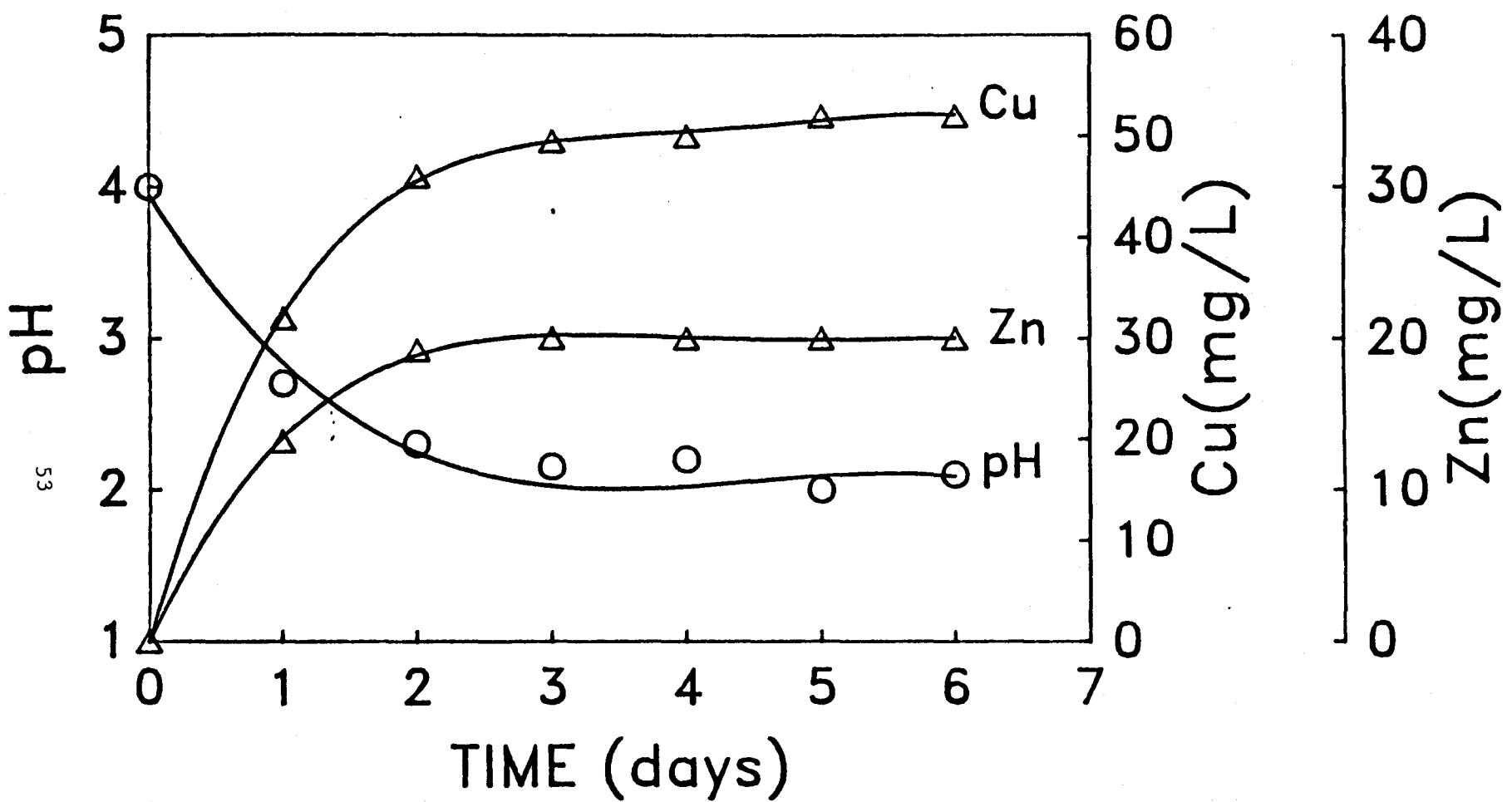
- Figure 1.** Predominance area diagram in terms of pE and pH for cadmium.
- Figure 2.** Variation of pH with varying concentration of  $\text{FeSO}_4$  in bacterial leaching.
- Figure 3.** Bacterial leaching in batch reactor.
- Figure 4.** Variation of fractional solubilization ( $R$ ) of cadmium with temperature.
- Figure 5.** Arrhenius plot for bacterial leaching of cadmium from anaerobic sludge.
- Figure 6.** Variation of rate of metal solubilization with sludge concentration.
- Figure 7.** Variation of pH with different iron sources in bacterial leaching.
- Figure 8.** Change in ORP during bacterial leaching with different iron sources.
- Figure 9.** Comparision of rate of metal solubilization.
- Figure 10.** Air-lift inner-loop bioreactor.
- Figure 11.** Bacterial leaching in air-lift bioreactor (variation of pH).
- Figure 12.** Process diagram of bacterial leaching of sludge.



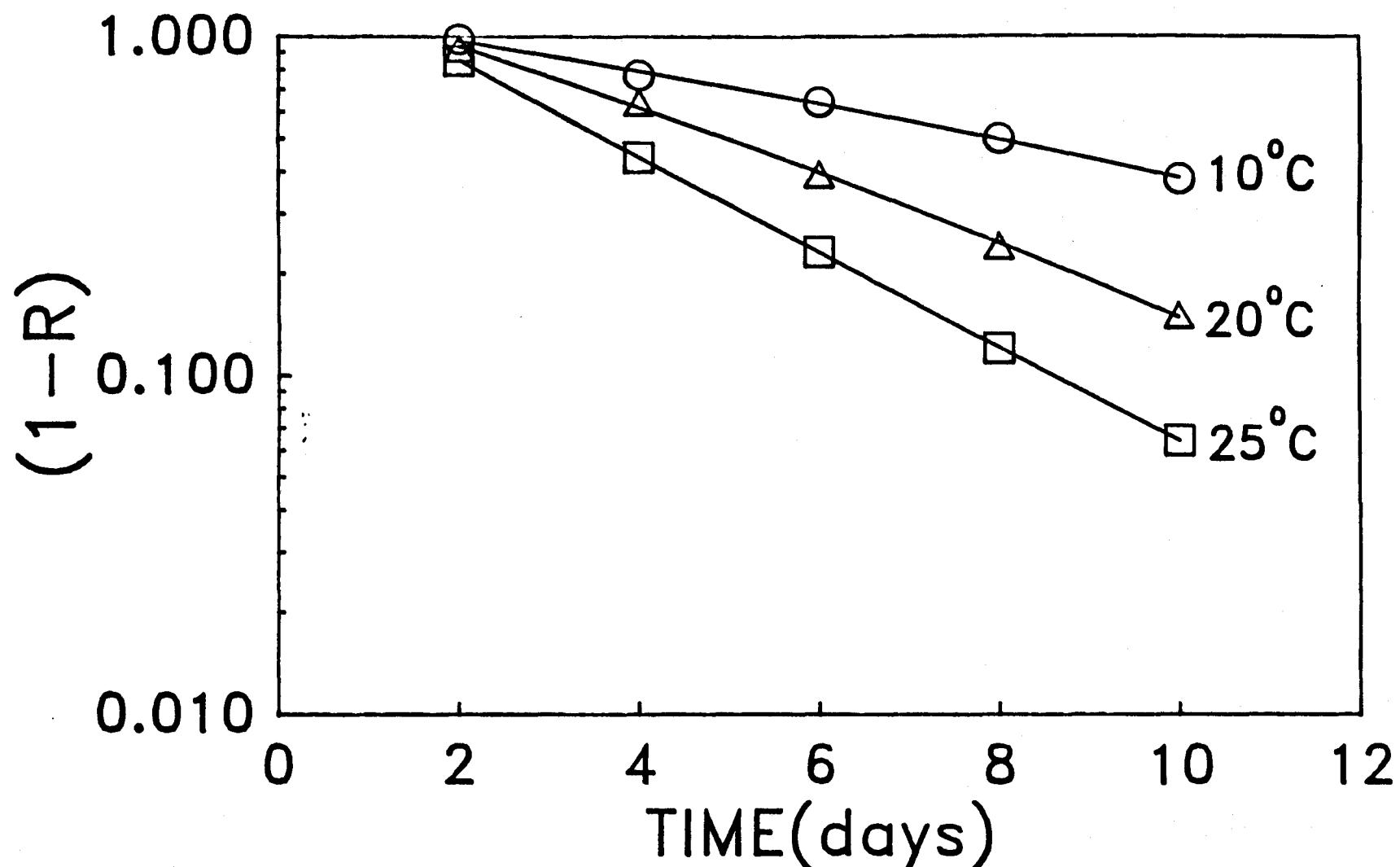
PREDOMINANCE AREA DIAGRAM IN TERMS OF  
 $p\epsilon$  AND pH FOR CADMIUM .



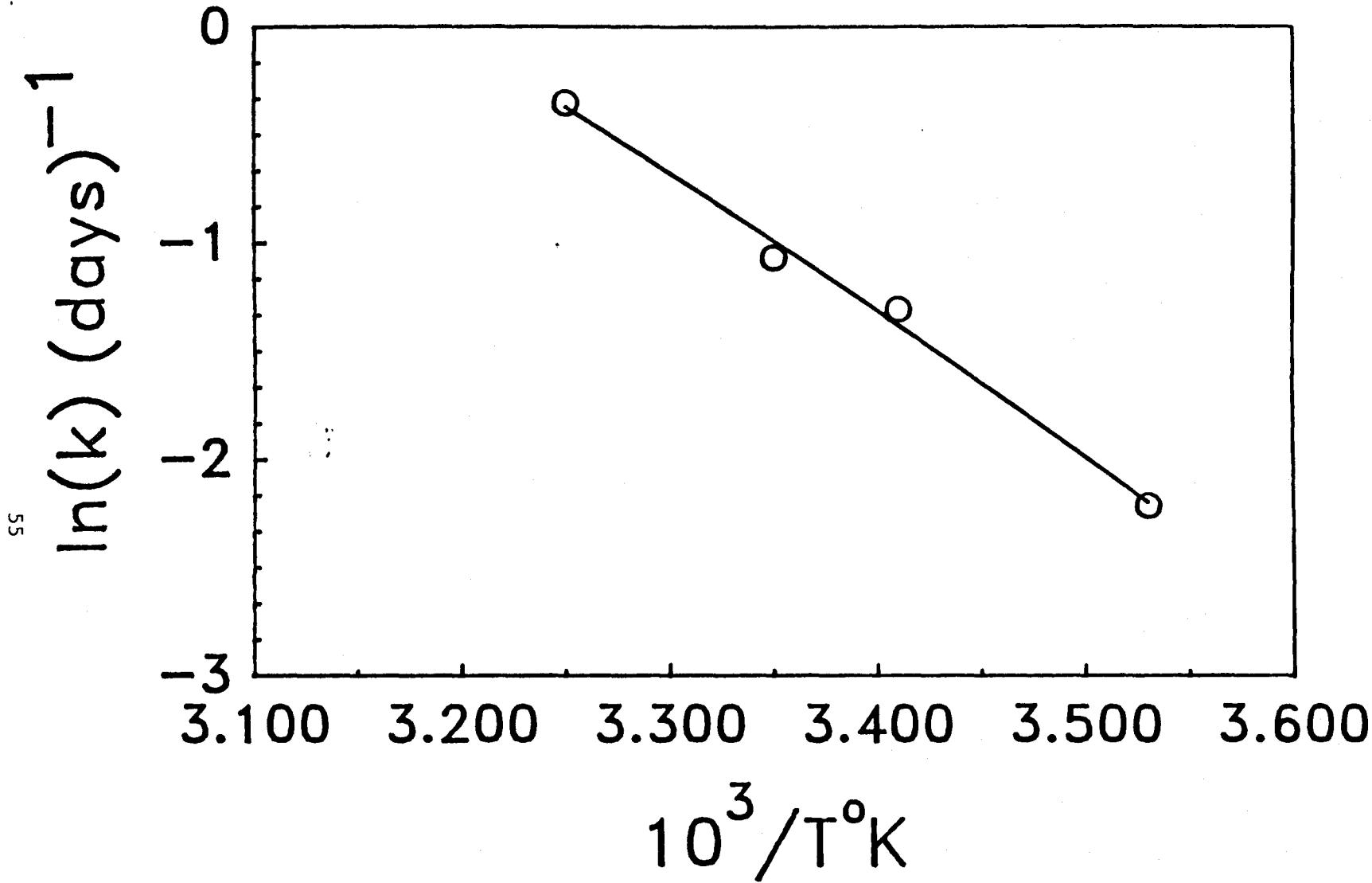
VARIATION OF pH WITH VARYING CONCENTRATION  
OF  $\text{FeSO}_4$  IN BACTERIAL LEACHING.



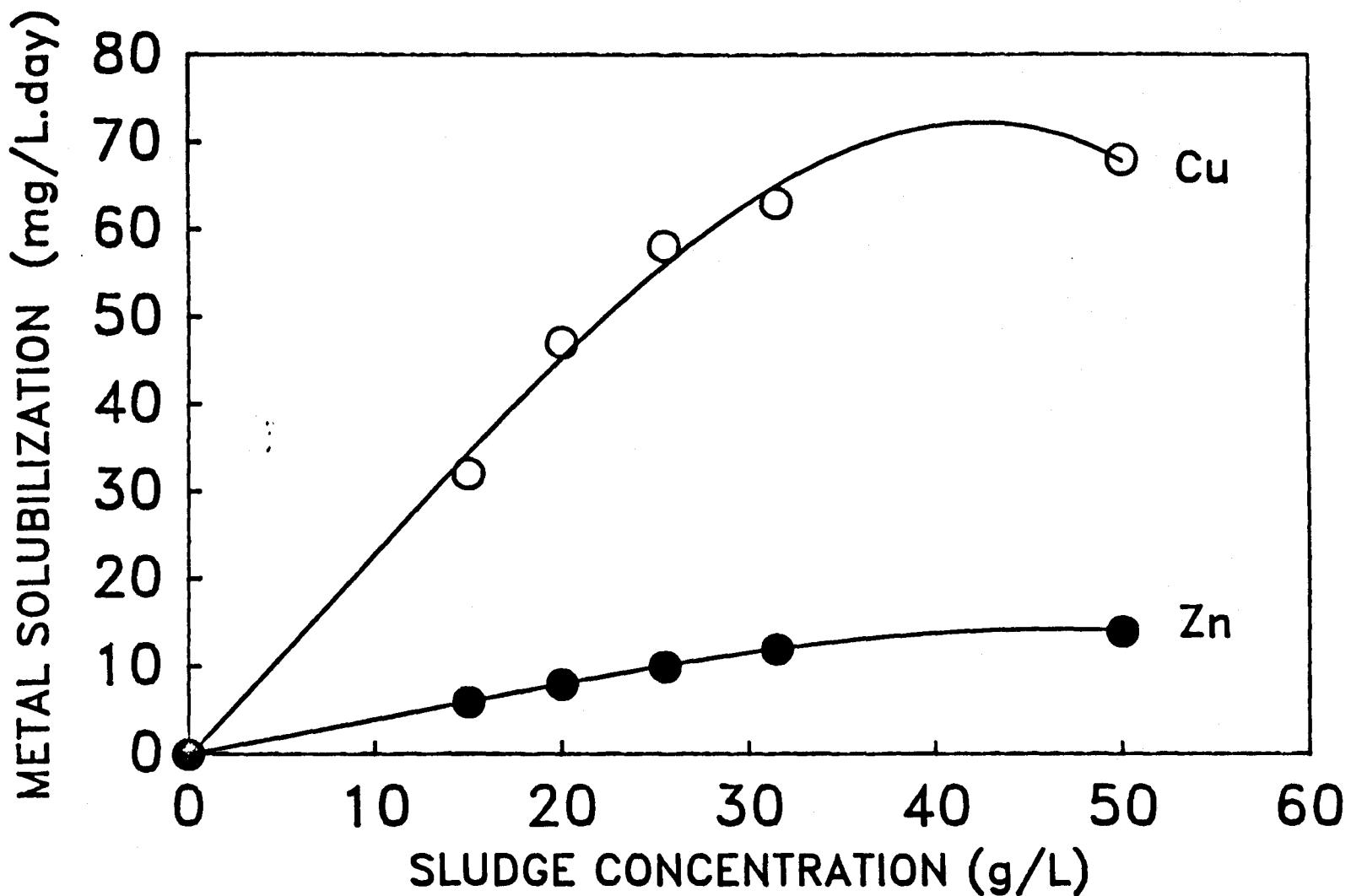
BACTERIAL LEACHING IN BATCH REACTOR



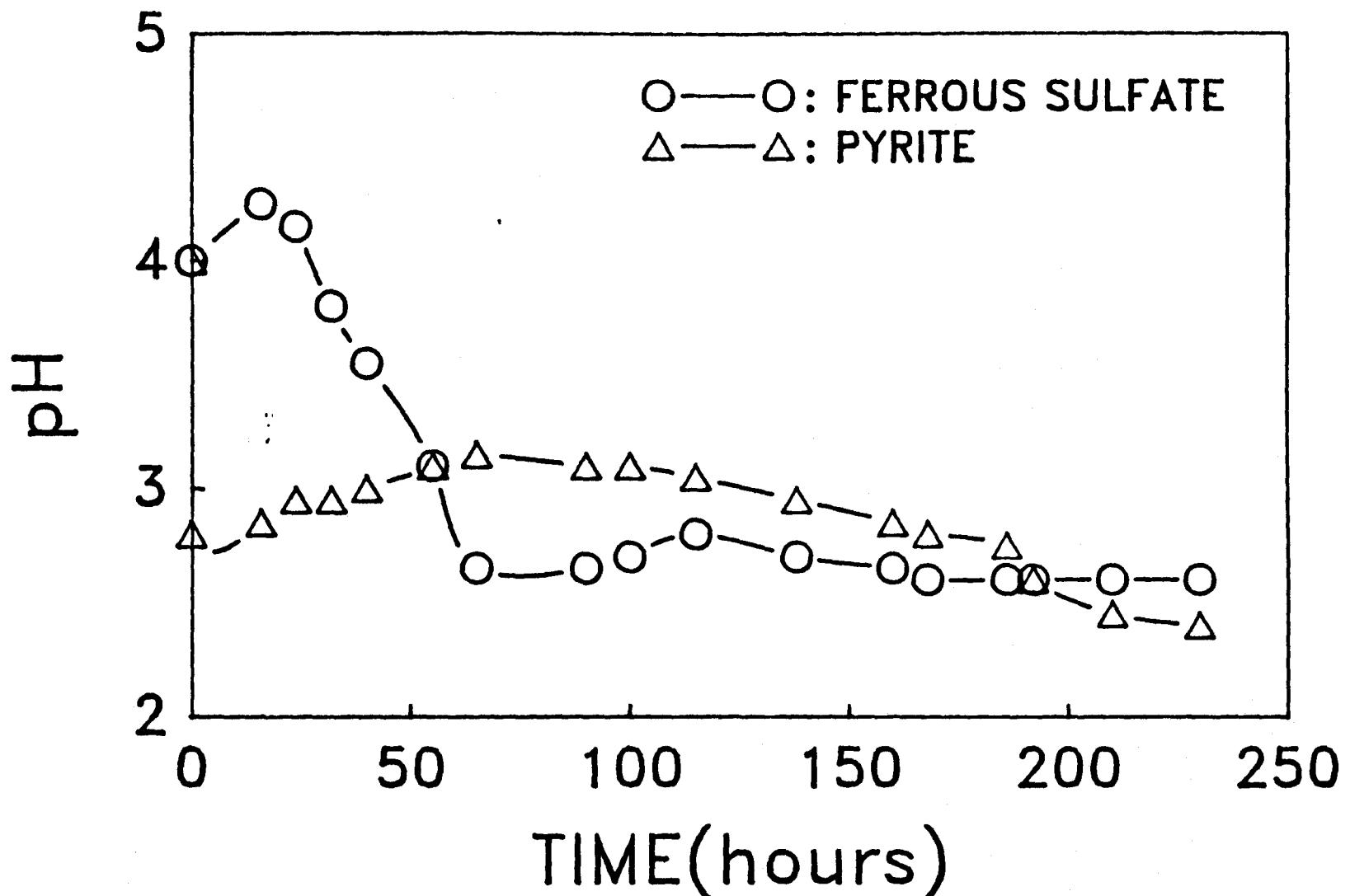
VARIATION OF FRACTIONAL SOLUBILIZATION ( $R$ )  
OF CADMIUM WITH TEMPERATURE.



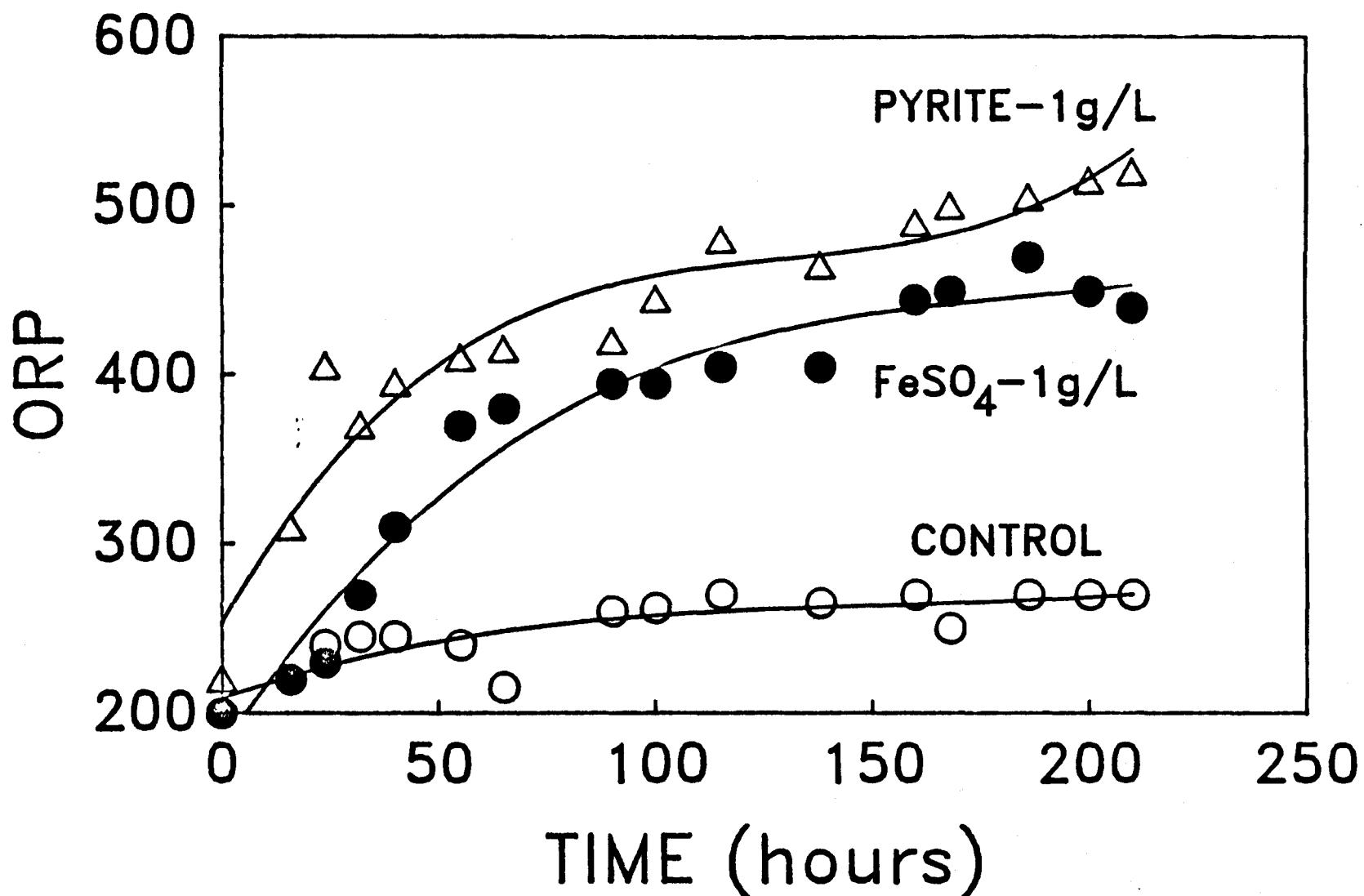
ARRHENIUS PLOT FOR BACTERIAL LEACHING  
OF CADMIUM FROM ANAEROBIC SLUDGE



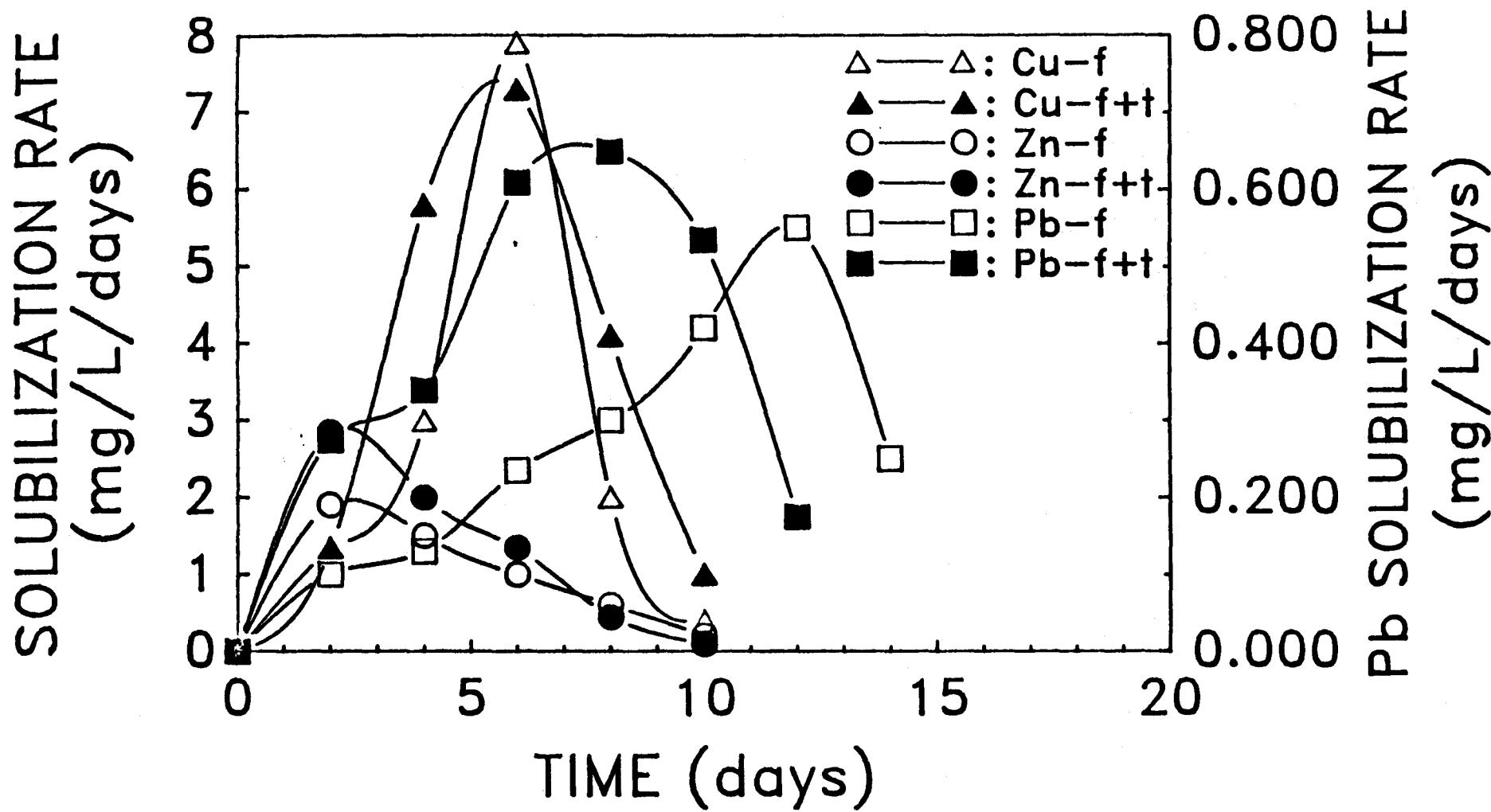
VARIATION OF RATE OF METAL SOLUBILIZATION WITH  
SLUDGE CONCENTRATION.



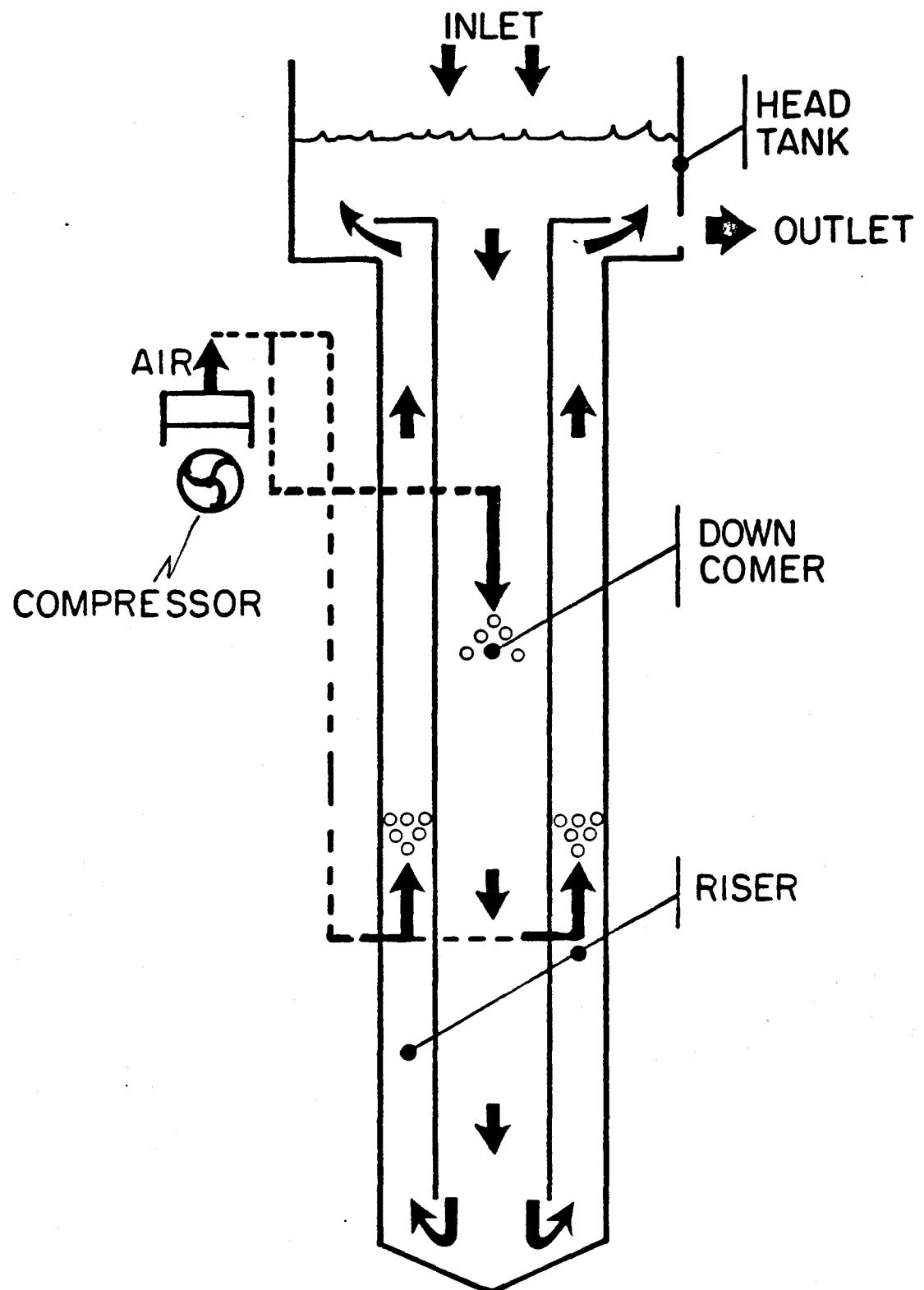
VARIATION OF pH WITH DIFFERENT IRON SOURCES  
IN BACTERIAL LEACHING.



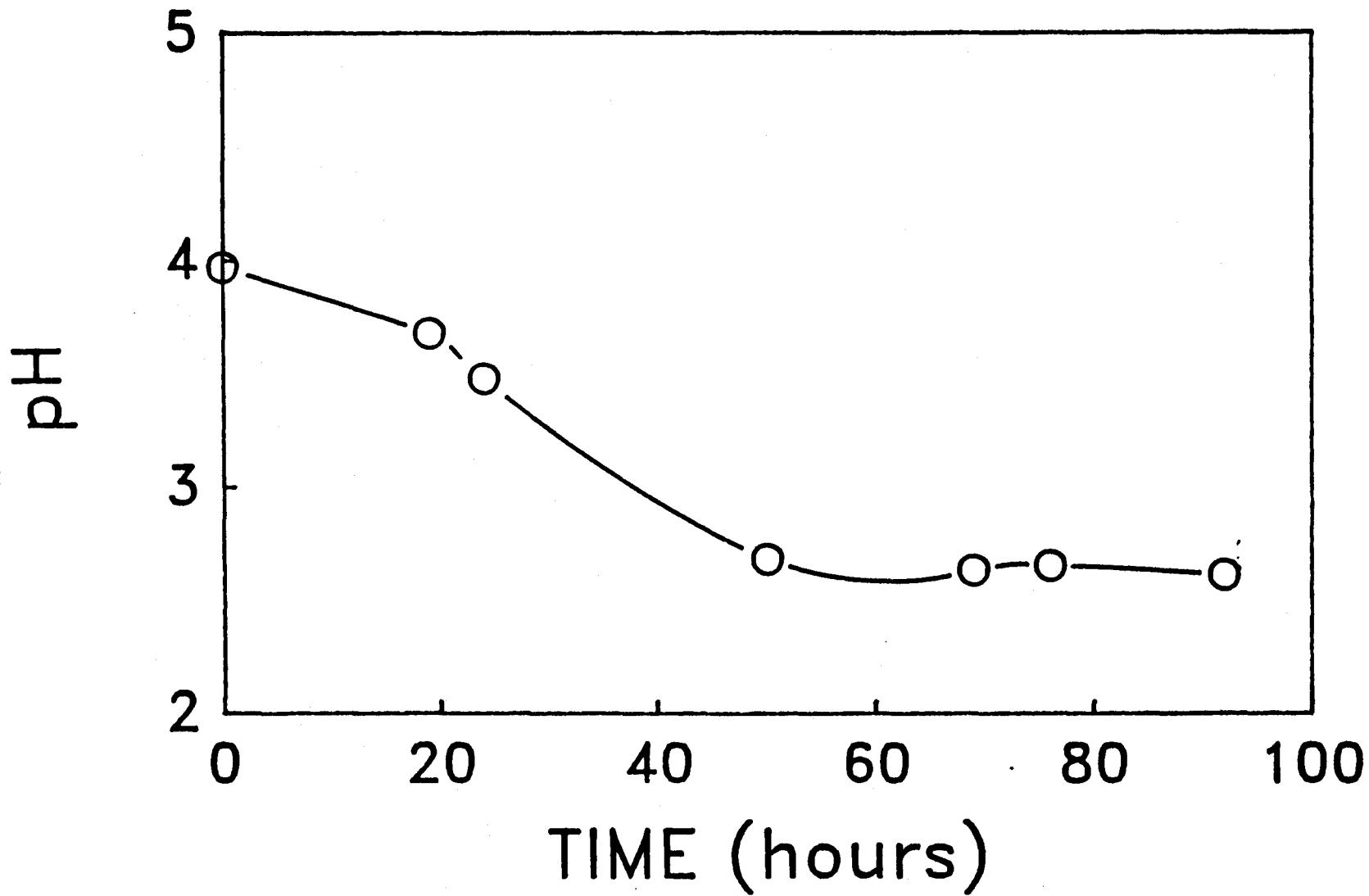
CHANGE IN ORP DURING BACTERIAL LEACHING  
WITH DIFFERENT IRON SOURCES.



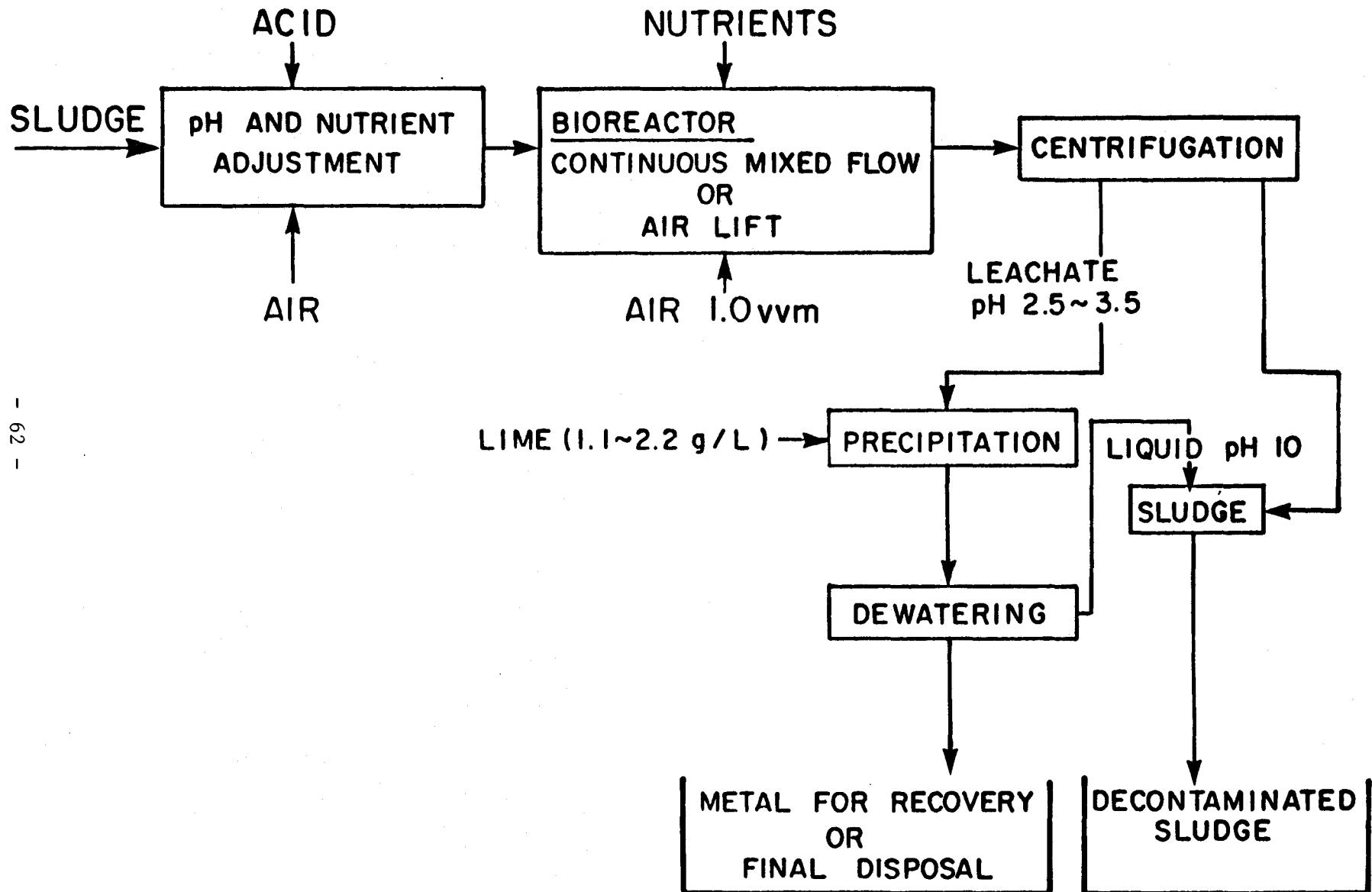
COMPARISON OF RATE OF METAL SOLUBILIZATION



AIR-LIFT INNER-LOOP BIOREACTOR



BACTERIAL LEACHING IN AIR LIFT BIOREACTOR  
(VARIATION OF pH)



PROCESS DIAGRAM OF BACTERIAL LEACHING OF SLUDGE .