

**Université du Québec**

**Mémoire**

**présenté à**

**l'Institut National de la Recherche Scientifique**

**(INRS-Eau)**

**comme exigence partielle**

**de la maîtrise ès Sciences de l'Eau**

**par**

**Martin Gamache**

**B. Sc. Microbiologie**

**Caractérisation de la microflore hétérotrophe impliquée dans le procédé simultané  
de biolixiviation des métaux et de la digestion des boues d'épuration**

**Avril 1997**

## REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier le Dr. Rajeshwar Dajhal Tyagi mon directeur de maîtrise, et le Dr. Jean-François Blais mon co-directeur. J'ai apprécié leur soutien tout au long de mes travaux. Je voudrais témoigner de ma gratitude envers Madame Nathalie Meunier, une personne fortement compétente, pour son aide et ses précieux conseils. Une grande reconnaissance également au personnel de l'INRS-Eau, le dévouement leur fait honneur. Je m'en voudrais d'oublier de remercier chaleureusement mon amie, Lynda Rodrigue et mes parents, Micheline et Jean-Yves pour leur soutien moral et leur aide qu'ils m'ont apportés tout au long de mes études. Finalement, je remercie l'INRS-Eau pour son soutien matériel et financier.

## RÉSUMÉ

Jusqu'à présent, quelques études microbiologiques ont permis de mettre en évidence le rôle et l'identification de certaines espèces bactériennes chimolithotrophes directement impliquées dans le procédé simultané de biolixiviation des métaux lourds et de digestion des boues d'épuration municipales (procédé SSDML). De plus, d'autres travaux microbiologiques ont fait en sorte d'établir la performance de ce procédé pour la destruction des micro-organismes indicateurs de pathogènes. Cependant, aucune étude n'avait été effectuée sur l'équilibre des populations microbiennes hétérotrophes durant l'acidification des boues survenant lors de l'opération, en mode cuvée et continu, du procédé SSDML. Les résultats obtenus sur des boues primaires provenant de la CUQ-Est, des boues mixtes de Valcartier et secondaires de Beauceville montrent une diminution, puis une destruction de la très grande majorité des espèces bactériennes hétérotrophes retrouvées initialement lors de l'opération en mode cuvée et continu du procédé SSDML. L'application des conditions acide et oxydante prévalant lors de l'opération du procédé entraîne une uniformisation de la flore microbienne hétérotrophe; seuls deux types de micro-organismes subsistent, soit principalement la levure *Blastoschizomyces capitatus* et une moisissure non identifiée.

## TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS.....	III
RÉSUMÉ.....	V
LISTE DES TABLEAUX.....	IX
LISTE DES FIGURES.....	XI
INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE 1.....	7
REVUE DE LITTÉRATURE.....	7
1.1 PROBLÉMATIQUE DE LA GESTION DES BOUES D'ÉPURATION.....	7
1.2 STABILISATION ET TRAITEMENT DES BOUES.....	10
1.2.1 <i>Digestion aérobie</i> .....	10
1.2.2 <i>Digestion anaérobie</i> .....	18
1.2.3 <i>Lagunage</i> .....	20
1.2.4 <i>Stabilisation chimique</i> .....	20
1.2.5 <i>Stabilisation thermique</i> .....	26
1.2.6 <i>Stérilisation</i> .....	28
1.3 BIOLIXIVIATION DES MÉTAUX ET DIGESTION SIMULTANÉE DES BOUES D'ÉPURATION.....	29
1.3.1 <i>Biolixiviation-digestion avec soufre</i> .....	33
1.3.2 <i>Biolixiviation avec sulfate ferreux</i> .....	34
1.3.3 <i>Lixiviation chimique</i> .....	35
1.4 MICROBIOLOGIE DES MICRO-ORGANISMES HÉTÉROTROPHES.....	40
1.5 MICROBIOLOGIE DES MICRO-ORGANISMES HÉTÉROTROPHES ACIDOPHILES.....	41

1.6 HYPOTHÈSE DE RECHERCHE .....	43
1.7 OBJECTIFS SPÉCIFIQUES DE RECHERCHE .....	44
<b>CHAPITRE 2</b> .....	<b>47</b>
<b>MÉTHODOLOGIE</b> .....	<b>47</b>
2.1 ÉCHANTILLONNAGE DES BOUES D'ÉPURATION .....	47
2.2 ACCLIMATATION DE LA MICROFLORE INDIGÈNE.....	48
2.3 DESCRIPTION DU MONTAGE EXPÉRIMENTAL (MODE CUVÉE).....	48
2.4 DESCRIPTION DU MONTAGE EXPÉRIMENTAL (MODE CONTINU) .....	50
2.5 ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES .....	50
2.6 MESURE DES POPULATIONS MICROBIENNES .....	51
2.7 IDENTIFICATION DES MICRO-ORGANISMES .....	52
<b>CHAPITRE 3</b> .....	<b>57</b>
<b>RÉSULTATS</b> .....	<b>57</b>
3.1 CONDITIONS OPÉRATOIRES EN MODE CUVÉE DES PROCÉDÉS SSDML ET CASD.....	57
3.2 CONDITIONS OPÉRATOIRES EN MODE CONTINU DU PROCÉDÉ SSDML .....	64
3.3 DIGESTION DES BOUES D'ÉPURATION.....	68
3.4 BIOLIXIVIATION DES MÉTAUX LOURDS.....	74
3.5 CARACTÉRISATION DE LA MICROFLORE HÉTÉROTROPHE.....	78
<b>CHAPITRE 4</b> .....	<b>95</b>
<b>CONCLUSION</b> .....	<b>95</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....	<b>99</b>

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1	Variations du pH, du POR, de la température et de l'oxygène dissous des boues lors de l'opération en mode cuvée des procédés SSDML et CASD .....	61
Tableau 2	Conditions opératoires moyennes du procédé SSDML en mode continu.....	65
Tableau 3	Bilan de réduction des matières en suspension des boues lors de l'opération en mode cuvée des procédés SSDML et CASD .....	72
Tableau 4	Réduction des matières en suspension des boues lors de l'opération en mode continu du procédé SSDML.....	73
Tableau 5	Concentration initiale et solubilisation des métaux lourds des boues lors de l'opération en mode cuvée du procédé SSDML .....	76
Tableau 6	Concentration initiale et solubilisation des métaux lourds des boues lors de l'opération en mode continu du procédé SSDML.....	77
Tableau 7	Identification de la présence des micro-organismes dans les boues lors de l'opération en mode cuvée du procédé SSDML .....	88
Tableau 8	Identification de la présence des micro-organismes dans les boues lors de l'opération en mode continu du procédé SSDML.....	91

## LISTE DES FIGURES

Figure 1	Aperçu des diverses possibilités d'intégration du procédé acide dans une chaîne conventionnelle de traitement des boues d'épuration.....	24
Figure 2	Chaîne de décontamination des boues d'épuration municipales.....	36
Figure 3	Profil temporel du pH des boues lors de l'opération en mode cuvée des procédés SSDML et CASD.....	62
Figure 4	Profil temporel du POR des boues lors de l'opération des procédés SSDML et CASD en mode cuvée.....	63
Figure 5	Profil temporel du pH des boues lors de l'opération du procédé SSDML en mode continu.....	66
Figure 6	Profil temporel du POR des boues lors de l'opération du procédé SSDML en mode continu.....	67
Figure 7	Dénombrement par milieux de culture des micro-organismes présents dans les boues primaires de la CUQ lors de l'opération en mode cuvée. (A) procédé CASD, (B) procédé SSDML A.....	82

Figure 8	Dénombrement par milieux de culture des micro-organismes présents dans les boues secondaires de Beauceville lors de l'opération en mode cuvée. (A) procédé CASD, (B) procédé SSDML .....	83
Figure 9	Dénombrement par milieux de culture des micro-organismes présents dans les boues mixtes de Valcartier lors de l'opération en mode cuvée. (A) procédé CASD, (B) procédé SSDML.....	84
Figure 10	Dénombrement par genres microbiens des micro-organismes présents dans les boues primaires de la CUQ lors de l'opération en mode cuvée. (A) procédé CASD, (B) procédé SSDML.....	85
Figure 11	Dénombrement par genres microbiens des micro-organismes présents dans les boues secondaires de Beauceville lors de l'opération en mode cuvée. (A) procédé CASD, (B) procédé SSDML .....	86
Figure 12	Dénombrement par genres microbiens des micro-organismes présents dans les boues mixtes de Valcartier lors de l'opération en mode cuvée. (A) procédé CASD, (B) procédé SSDML.....	87
Figure 13	Fluctuations de la concentration de <i>Blastoschizomyces capitatus</i> dans les boues lors de l'opération en mode continu du procédé SSDML.....	89
Figure 14	Fluctuations de la concentration de moisissures dans les boues lors de l'opération en mode continu du procédé SSDML.....	90

## INTRODUCTION

Depuis quelques années, la population et de nombreux dirigeants d'entreprise ont été sensibilisés aux divers problèmes de pollution pouvant affecter l'environnement. Ainsi, dans la dernière décennie, plusieurs politiques de redressement de la qualité de l'environnement ont été introduites dans les milieux municipaux et industriels. En ce qui concerne le problème de la pollution des eaux superficielles, les diverses autorités politiques ont mis en œuvre des programmes adéquats d'assainissement des eaux usées municipales. Ces nombreux programmes gouvernementaux ont conduit à la construction de nombreuses stations d'épuration des eaux usées. La construction rapide de ces stations a entraîné une production importante de boues résiduelles, dont le traitement et l'élimination comportent des restrictions économiques, sanitaires et technologiques importantes.

Le traitement des boues est donc devenu un obstacle inévitable au traitement des eaux usées car il nécessite une amélioration des techniques actuelles et une augmentation des investissements financiers. La chaîne de traitement des boues comprend généralement trois étapes; une étape de stabilisation suivie d'une étape de conditionnement chimique et d'une étape de déshydratation mécanique. En ce qui concerne l'étape de stabilisation, il existe plusieurs procédés dont ceux étudiés par les laboratoires de l'INRS-Eau depuis plusieurs années. Un de

ces procédés consiste à faire simultanément une biolixiviation des métaux lourds et une digestion des boues d'épuration.

Il existe plusieurs études concernant l'élimination des micro-organismes pathogènes et la caractérisation des micro-organismes biolixiviants associés à l'étape de stabilisation des boues mais il existe peu d'information sur l'évolution des autres micro-organismes. Cette étude est consacrée à la caractérisation de la microflore hétérotrophe impliquée dans le procédé simultané de biolixiviation des métaux et de la digestion des boues d'épuration versus le traitement traditionnel de digestion aérobie.

La démarche expérimentale a consisté tout d'abord à isoler, caractériser et identifier les divers micro-organismes présents dans trois types de boue provenant de trois usines distinctes de traitement des eaux usées. Par la suite, les cinétiques de croissance ou d'élimination des divers constituants de la flore microbienne hétérotrophe ont été évaluées durant le traitement en mode cuvé et en mode continu du procédé de biolixivation-digestion ainsi que du procédé de digestion aérobie traditionnelle. Finalement, les impacts de la biolixiviation-digestion et de la digestion aérobie traditionnelle sur les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques des boues ont été examinées.

Cette thèse est divisée en 4 chapitres. Le premier chapitre élabore la revue de littérature touchant les problèmes attribués à la gestion des boues d'épuration, aux différents types de traitements utilisés, à la biolixiviation des métaux et aux divers micro-organismes qui ont été isolés jusqu'à présent. La méthodologie employée est décrite au chapitre 2 et concerne les méthodes d'échantillonnage des boues, l'acclimatation de la microflore indigène, la description

des montages expérimentaux, les analyses physico-chimique et microbiologiques. Le chapitre 3 présente les résultats physico-chimiques et microbiologiques obtenus selon les différents procédés utilisés. Le tout est accompagné par une discussion des résultats. Le chapitre 4 présente la conclusion des travaux de recherche.

## **CHAPITRE 1**

# CHAPITRE 1

## REVUE DE LITTÉRATURE

La problématique de la gestion des boues ainsi que les nombreux traitements seront expliqués pour mieux comprendre la réalité complexe des divers possibilités de traitement des boues d'épuration des eaux usées municipales. Par la suite, un résumé des principaux micro-organismes retrouvés dans les boues à pH neutre et à pH acide sera présenté pour finalement conduire à l'élaboration de l'hypothèse de travail et des objectifs spécifiques de l'étude.

### 1.1 Problématique de la gestion des boues d'épuration

Depuis quelques années, notre société a développé différents mécanismes de surveillance pour diminuer et contrer les problèmes de pollution. En ce qui concerne les problèmes de pollution de l'eau, les diverses instances politiques ont mis sur pied des programmes de plus en plus adéquats pour l'assainissement des eaux usées municipales. Par contre, ces divers programmes ont engendré une quantité de boues résiduelles élevée qui ne cesse de croître avec les années. D'ici la fin du siècle, la production de boues au Canada devrait atteindre le million

de tonnes (Webber 1986). Des solutions sécuritaires et peu dispendieuses d'élimination de ces boues doivent être identifiées puisque la disposition finale de celles-ci constitue une étape très coûteuse dans le traitement des eaux usées municipales (Couillard et Mercier 1994). Parmi les méthodes de disposition envisageables, la valorisation agricole semble être une solution à privilégier. Toutefois, deux inconvénients majeurs font obstacle à cette pratique, soient la concentration élevée en métaux toxiques dans les boues et la présence de micro-organismes pathogènes (Bruce et Davis 1989; Dudley *et al.* 1980; Scheltinga 1987; U.S. EPA 1979, 1993).

Pour éliminer ces deux principaux obstacles, plusieurs groupes de chercheurs ont étudié l'utilisation de procédés chimiques (Hayes *et al.* 1979; Jenkins *et al.* 1981; Scott et Horlings 1975; Tuin et Tels 1990; Wozniak et Huang 1982) alors que d'autres ont développé des procédés biologiques. Au cours des 10 dernières années, des procédés de lixiviation bactérienne des métaux (Blais *et al.* 1992a, 1992c, 1993c; Couillard *et al.* 1991; Henry *et al.* 1988; Tyagi et Couillard 1990; Wong et Henry 1988) et de biolixiviation des métaux combinée à une digestion simultanée des boues (procédé SSDML) (Benmoussa *et al.* 1994; Blais *et al.* 1992b; Tyagi *et al.* 1993b, 1993c) ont été étudiés. L'avantage de cette dernière approche technologique, en comparaison avec les techniques d'acidification chimiques, provient de la réduction considérable des quantités de produits chimiques nécessaires pour l'opération du procédé (acidification et neutralisation des boues).

Du point de vue technologique, les effets des principaux paramètres sur l'opération du procédé SSDML sont maintenant bien cernés (Blais *et al.* 1993a; Ravishankar *et al.* 1994; Sreekrishnan *et al.* 1993; Tyagi *et al.* 1993a). Du point de vue microbiologique, il a été démontré que le procédé SSDML permet une destruction des bactéries et virus indicateurs de pathogènes

(coliphages, coliformes totaux, coliformes fécaux et streptocoques fécaux) lors de l'abaissement du pH (Blais *et al.* 1992b; Shooner *et al.* 1992). La microflore responsable du processus d'acidification des boues composée de micro-organismes oxydant le soufre élémentaire en acide sulfurique a aussi été caractérisée (Blais *et al.* 1992a, 1993b).

Plusieurs études ont été réalisées dans le passé afin de caractériser la microflore hétérotrophe de boues d'épuration (Dudley *et al.* 1980; Witthauer 1980). Parmi les micro-organismes hétérotrophes aérobies retrouvés généralement dans les boues, il y a une forte prédominance de bâtonnets et de coccobacilles Gram négatifs, de levures appartenant au genre *Rhodotorula* et *Blastoschizomyces* et de moisissures. En fait, plusieurs facteurs peuvent influencer la composition initiale des micro-organismes hétérotrophes contenus dans les boues d'épuration. Les facteurs primaires sont la composition des eaux résiduaires, le taux intrinsèque de croissance des micro-organismes, la compétition entre chaque espèce et les conditions physico-chimiques des boues. La charge organique du bassin d'aération, la disponibilité de l'oxygène, le pH, les agents inhibants, l'âge des boues et la turbulence physique sont probablement les principales conditions physico-chimiques influant sur la composition microbiologique des boues municipales (Cyrus et Sladka 1970; Witthauer 1980).

Bien que les populations microbiennes hétérotrophes des boues aient fait l'objet de travaux antérieurs, il demeure que le comportement de cette flore indigène lors du traitement des boues par le procédé SSDML est inconnu à ce jour. L'objectif de la présente étude était donc de vérifier la composition et l'équilibre des populations microbiennes hétérotrophes dans divers types de boues, lors de l'opération du procédé SSDML en mode cuvée et continu.

## **1.2 Stabilisation et traitement des boues**

La majorité des procédés utilisés dans le traitement des eaux usées municipales produisent des boues provenant d'un procédé de séparation solide-liquide (décantation, flottation, etc.) ou résultant d'une réaction chimique (coagulation), biochimique ou encore biologique. Ces matières subissent une série de traitement pouvant comprendre, entre autres, l'épaississement, la stabilisation, la décontamination, le conditionnement et la déshydratation des boues. Le présent chapitre fait le point sur les procédés utilisés couramment pour la stabilisation et le traitement des boues d'épuration, ainsi que les nouvelles technologies ayant été développées au cours des dernières années. Avant de débiter ce survol, il faut signaler que de très bonnes revues de littérature portant sur les nouveautés dans le domaine du traitement, de l'utilisation et de la disposition des boues d'épuration, sont présentées annuellement dans la revue «Water Environment Research» (Bowen *et al.*, 1988, 1989, 1991, 1992, 1993; Groff et McLaughlin, 1994).

### **1.2.1 Digestion aérobie**

Les objectifs principaux de la stabilisation des boues d'épuration consistent à réduire l'émission d'odeurs nauséabondes, à diminuer les concentrations de micro-organismes pathogènes et également réduire la putrescibilité des boues. La digestion aérobie est une technique de stabilisation des boues utilisée surtout dans les stations d'épuration ayant des capacités inférieures à 10 millions de gallons U.S. par jour ( $<38\ 000\ \text{m}^3/\text{jr}$ ). La stabilisation par digestion aérobie est réalisable sur des boues secondaires ou sur des boues mixtes (primaires et secondaires). Le coût énergétique important associé à l'aération des boues est un facteur limitant

l'emploi de cette technologie. Cependant, le développement de variantes du procédé conventionnel de digestion aérobie fait en sorte d'accroître sa popularité et son utilisation. Les nouvelles variantes comprennent notamment, la digestion autothermique thermophile et la digestion anoxie aérobie.

Lors de la digestion aérobie, les bactéries aérobies métabolisent les matières organiques solubilisées en dioxyde de carbone, en eau et en nouvelles cellules bactériennes. Lorsque les matières organiques solubles sont épuisées, les cellules bactériennes meurent et libèrent ainsi des éléments nutritifs intracellulaires qui servent de nourriture à d'autres organismes. Le taux de minéralisation des boues dépend principalement du temps de séjour, de la température, ainsi que de l'âge des boues introduites.

#### 1.2.1.1 Procédé conventionnel

Dans sa forme conventionnelle, la digestion aérobie est similaire au procédé de boues activées, à l'exception du temps de séjour des boues qui est nettement plus long. Le procédé conventionnel s'opère à température ambiante, soit habituellement, à des températures de boues comprises entre 8 et 22 °C. La stabilisation aérobie s'effectue dans des bassins aérés par des diffuseurs submergés ou des aérateurs mécaniques de surface. La digestion aérobie conventionnelle présente plusieurs avantages sur la digestion anaérobie classique (Desjardins et Lessard, 1992a):

- L'opération des digesteurs aérobies est plus simple que celle des digesteurs anaérobies, de même, moins de problèmes d'instabilité sont constatés;

- De plus, une plus grande partie de la valeur fertilisante des boues (i.e. teneur en azote, phosphore et potassium) est conservée lors du traitement par voie aérobie en comparaison au traitement anaérobie;
- La digestion aérobie requiert une moins grande concentration de boues pour opérer, ceci permettant d'éviter la nécessité d'une étape d'épaississement;
- Finalement, les coûts en capitaux pour la construction des digesteurs aérobies sont moins élevés que pour les digesteurs anaérobies.

Il faut toutefois considérer que la digestion aérobie classique présente quelques désavantages par rapport à la digestion anaérobie:

- Les coûts d'opération des digesteurs aérobies sont forts élevés, en raison de la grande demande énergétique occasionnée par l'aération des bassins;
- Aucune récupération énergétique ne résulte du procédé de digestion aérobie, alors que le méthane produit lors de la digestion anaérobie est utilisé, permettant ainsi de diminuer les coûts d'opération;
- La performance de la digestion aérobie est très dépendante de la température, donc des conditions climatiques.

Ils existent plusieurs documents de synthèse faisant état de l'opération et du contrôle du procédé de digestion aérobie conventionnel (Degremont, 1989; Desjardins et Lessard, 1992a; Rich, 1987; U.S. EPA, 1979).

### 1.2.1.2 Procédé thermophile autothermique

La température affectant appréciablement la cinétique de digestion des boues, des temps de rétention très longs deviennent nécessaires pour stabiliser complètement les boues en saison hivernale. Par exemple, un temps de rétention de 60 jours est requis pour la digestion suffisante des boues à 10 °C, et de 80 jours à 5 °C (Koers et Mavinic, 1977). L'isolation thermique des digesteurs peut permettre de contrer cet inconvénient en rendant la température des boues indépendante de celle du milieu environnant. Cette isolation peut aussi permettre de conserver la chaleur produite par les réactions d'oxydation de la matière organique et ainsi, augmenter la température des boues jusqu'aux températures thermophiles (45 à 65 °C) (Jewell et Kabrick, 1980; Kambhu et Andrews, 1969; Matsch et Drnevich, 1977).

La digestion des boues dans ces conditions thermophiles de température s'effectue de façon plus rapide que dans les conditions mésophiles, ce qui résulte en une réduction significative du temps de séjour des boues dans les digesteurs. La faisabilité des procédés thermophiles sans source exogène de chaleur a été démontrée lors de diverses études (Kambhu et Andrews, 1969; Popel et Ohnmacht, 1972; Smith *et al.*, 1975; Surucu *et al.*, 1976). Les avantages de la digestion aérobie autothermique sur la digestion aérobie mésophiles peuvent se résumer ainsi:

- La hausse des cinétiques de digestion permet de diminuer le temps de digestion des boues (< 7 jours) (Grulois *et al.*, 1991; Jewell et Kabrick, 1980; Kelly *et al.*, 1993; Matsch et Drnevich, 1977; Tyagi *et al.*, 1990; Wolinski, 1985);

- Les températures élevées entraînent une destruction très performante des micro-organismes pathogènes (i.e. sous la limite de détection qui est  $< 10^3$  UFC/ 100 ml) (Martin *et al.*, 1990; Matsch et Drnevich, 1977; Surucu *et al.*, 1976);
- La nitrification n'a habituellement pas lieu en conditions thermophiles, permettant ainsi de diminuer la demande en oxygène du système (Surucu *et al.*, 1976);
- Les micro-organismes thermophiles nécessitent une énergie de maintenance accrue, ce qui résulte en une production réduite de biomasse (Sonnleitner et Fiechter, 1983; Surucu *et al.*, 1976).

Il faut cependant prendre note que le procédé de digestion aérobie autothermique nécessite une teneur en solides initiales plus élevée que la digestion aérobie mésophile, et ce, afin d'atteindre les températures thermophiles.

L'opération des digesteurs thermophiles (ATAD) peut se faire avec des systèmes d'aération à l'oxygène pur (Matsch et Drnevich, 1977; Smith *et al.*, 1975), ou encore avec l'aération conventionnelle (Jewell et Kabrick, 1980; Wolinski, 1985). La technologie de digestion aérobie thermophile autothermique (ATAD) est fort populaire en Allemagne. Deeny *et al.* (1991) ont présenté une étude détaillée décrivant les conditions opératoires et l'économie de plus de 35 systèmes ATAD en fonction dans ce pays.

### 1.2.1.3 Procédé de digestion mixte

Au cours des dernières années, de nouvelles approches de digestion biologique des boues ont été développées. Par exemple, la digestion aérobie autothermique peut être associée avec une étape de digestion anaérobie mésophile pour former un procédé mixte. Deux variantes de ce type de combinaison de procédés de digestion ont été utilisées, soit la pré-digestion aérobie thermophile suivie de la digestion anaérobie mésophile, et la digestion anaérobie mésophile suivie de la digestion aérobie thermophile (Desjardins et Lessard, 1992a).

Dans le premier cas, les boues sont pré-digérées (temps de séjour d'environ 1 jour) dans un digesteur thermophile autothermique, puis elles sont acheminées dans un réacteur anaérobie mésophile, où la digestion peut alors être complétée dans une période de traitement s'étalant entre 8 et 10 jours (Appleton et Venosa, 1986). L'implantation de ce procédé est suggérée dans les stations d'épuration dont la capacité des digesteurs anaérobies est excédée (Fuggle et Spensley, 1985; Loll, 1989).

Il faut noter que la chaleur des boues produite lors de l'étape thermophile est transférée dans le digesteur anaérobie, ce qui permet de maintenir celui-ci dans les conditions de températures optimales, sans apport exogène de chaleur. Le méthane produit lors de la digestion anaérobie est donc pleinement utilisable pour d'autres fins énergétiques dans la station d'épuration (Appleton et Venosa, 1986; Fuggle et Spensley, 1985; Loll, 1989). Ce procédé permet d'obtenir une désinfection très performante des boues et favorise l'équilibre des conditions opératoires dans le digesteur anaérobie (Appleton et Venosa, 1986; Fuggle et Spensley, 1985).

L'autre variante possible de la digestion mixte consiste à réaliser le procédé de digestion anaérobie en amont d'une étape de digestion aérobie autothermique. Dans ce cas, l'opération de la digestion anaérobie est sous sa forme conventionnelle (temps de séjour de 15 à 30 jours), toutefois, une plus grande réduction de la matière organique est atteinte, de même qu'une meilleure désinfection des boues. L'ajout d'un échangeur de chaleur associant les boues digérées dans le digesteur thermophile et les boues affluentes du digesteur anaérobie permet de récupérer une partie de la chaleur produite.

#### 1.2.1.4 Procédé anoxie-aérobie

Les coûts énergétiques importants inhérents à l'aération des digesteurs aérobies ont orienté la recherche de procédé de digestion à aération intermittente. Le principe de base associé à cette approche est l'utilisation, par les micro-organismes à métabolisme respiratoire, du nitrate comme accepteur final d'électrons, lorsque la disponibilité de l'oxygène est limitée, donc en conditions anoxiques (Desjardins et Lessard, 1992a).

Le procédé de digestion anoxie-aérobie consiste à traiter les boues par une alternance de conditions d'aération et de non-aération. Lors de la phase aérobie, les activités biologiques de minéralisation de la matière organique causent une oxydation de l'azote ammoniacal en nitrate, lequel devient disponible pour la respiration lorsque l'aération est arrêtée (phase anoxie). Les diverses études portant sur ce procédé témoignent d'une stabilisation des boues équivalente au procédé conventionnel de digestion aérobie (Jenkins et Mavinic, 1989; Matsuda *et al.*, 1988; Peddie et Mavinic, 1990; Warner *et al.*, 1986). De plus, cette nouvelle variante technologique

présente des avantages intéressants par rapport à la digestion aérobie de base (Desjardins et Lessard, 1992a):

- Les coûts énergétiques associés à l'aération sont nettement moindres (jusqu'à 42 % de moins) (Jenkins et Mavinic, 1989);
- L'alcalinité produite en conditions anoxies favorise le maintien du pH près de la neutralité (Peddie et Mavinic, 1990);
- À la suite de la dénitrification, un enlèvement appréciable (entre 20 et 32 %) de l'azote total est constaté dans les boues (Hao et Kim, 1990; Jenkins et Mavinic, 1989; Matsuda *et al.*, 1988).

La dénitrification prévalant dans les boues lors du procédé de digestion anoxie-aérobie permet d'obtenir un effluent de meilleure qualité que pour le procédé conventionnel (Hashimoto *et al.*, 1982; Peddie et Mavinic, 1990). Toutefois, les travaux de Hao et Kim (1990) ont révélé que la déshydratabilité des boues digérées par cette nouvelle technique est relativement faible.

L'implantation du procédé de digestion anoxie-aérobie dans une station se fait aisément, en incorporant des périodes d'arrêt d'aération dans les digesteurs (Dold *et al.*, 1985; Matsuda *et al.*, 1988). Une autre possibilité est d'effectuer une pré-digestion dans un bassin anoxie séparé (non-aéré), suivie d'une digestion dans un bassin aéré (Hao et Kim, 1990; Hashimoto *et al.*, 1982). La recirculation d'une partie de l'effluent du bassin aéré vers le bassin anoxie est requise pour satisfaire aux besoins en nitrate de la respiration.

### 1.2.2 Digestion anaérobie

La digestion anaérobie est l'une des méthodes les plus couramment utilisées pour la stabilisation des boues d'épuration municipales. L'utilisation de la digestion anaérobie pour la stabilisation des boues d'épuration remonte à plus de 60 ans (Desjardins et Lessard, 1992b). De fait, la fermentation méthanique a un très grand pouvoir de biodestruction cellulaire. Elle permet l'élimination d'une quantité importante de matières organiques. La digestion anaérobie des boues comporte trois étapes:

- Au cours de la première étape, les composés organiques complexes de la partie solide des boues subissent une transformation en composés organiques complexes solubles;
- Après cette solubilisation, les molécules organiques complexes sont converties en acides gras volatils, composés plus simples, par des micro-organismes anaérobies;
- La dernière étape de la réaction en série est la minéralisation complète des acides gras volatils en méthane, en dioxyde de carbone et en sulfure d'hydrogène.

En cours d'exploitation de la plupart des installations municipales, les trois étapes de fermentation méthanique, se produisent simultanément dans un digesteur clos. Le temps de rétention des boues est de l'ordre de 30 jours. Le procédé de digestion anaérobie peut également être effectué en deux étapes, dans deux digesteurs disposés en série. Dans le premier digesteur, on maintient les conditions les plus favorables à la solubilisation et à la formation d'acides gras à chaînes courtes ou d'acides volatils. Le temps de séjour est bref. Ce court temps de passage favorise l'accumulation des bactéries acidogènes à croissance rapide et empêche la prolifération

des bactéries méthanogènes à croissance plus lente. Le digesteur de la deuxième étape, avec un temps de séjour beaucoup plus long, assure le développement des bactéries méthanogènes.

La production de gaz ( $\text{CH}_4$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{N}_2$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ , etc.) est le critère le plus représentatif et le plus simple de la digestion. Celle-ci dépend principalement de deux facteurs, soit la température et le temps de séjour. La digestion anaérobie s'effectue le plus souvent en conditions mésophiles à 35 °C (Moletta, 1989), mais peut également se faire en conditions thermophiles à 50 et 55 °C (Buhr et Andrews, 1977).

L'utilisation de la digestion anaérobie a baissé de manière significative au cours des dernières décennies. Les raisons de cette chute de popularité sont principalement le faible coût des ressources énergétiques, la sensibilité de la digestion anaérobie aux conditions d'opération (débit d'entrée, pH, température, composés toxiques, etc.), de même que l'instauration de traitements primaires chimiques tel que la déphosphatation, ainsi que l'augmentation de la complexité des déchets industriels, qui affectent les caractéristiques des boues et donc l'efficacité de la digestion anaérobie (Andrews, 1989; Desjardins et Lessard, 1992b; Parkin et Owen, 1986). Par contre, le chauffage et l'agitation dans les digesteurs anaérobies nécessitent moins d'énergie que pour l'aération des digesteurs aérobies. Un autre avantage de cette technologie est la quantité relativement faible de biomasse générée par voie anaérobie.

La mauvaise connaissance des principes fondamentaux du processus de digestion anaérobie serait en cause dans le contrôle non optimal de cette technologie, et par conséquent, du manque d'intérêt pour cette méthode de stabilisation des boues (Desjardins et Lessard, 1992b; Moletta, 1989; Parkin et Owen, 1986). Au cours des dernières années, la digestion anaérobie a

repris un peu de popularité avec l'amélioration des connaissances génériques et le développement de meilleurs outils de contrôle. Une étude détaillée des coûts d'implantation et d'opération de la digestion anaérobie des boues a été préparée par Horii *et al.* (1989).

### **1.2.3 Lagunage**

Le lagunage consiste à laisser stabiliser les boues d'épuration dans des fossés artificiels ou naturels d'oxydation. Cette technique a été largement employée au cours des dernières décades pour le traitement économique de divers déchets résidentiels, municipaux, industriels et agricoles. Une littérature très importante a été développée sur les diverses variantes (aérobie, facultatif, anaérobique) du lagunage des boues. Haug *et al.* (1992) présentent une synthèse de ces techniques de stabilisation pouvant être employées pour la stabilisation des boues d'épuration provenant de petites municipalités. Dans le langage technique anglais les fossés d'oxydation ou de lagunage peuvent prendre divers noms tels que: *sewage lagoon*, *waste treatment lagoon*, *stabilization lagoon*, *waste pond*, *oxidation pond*, *stabilization pond*, *maturation pond* et *waste stabilization pond*.

### **1.2.4 Stabilisation chimique**

La stabilisation des boues par voie biologique (aérobie ou anaérobie) nécessite des installations relativement importantes. Lorsque la réduction du montant d'investissement est un objectif prioritaire, le pouvoir fermentescible des boues peut être diminué, au moins temporairement, par la seule addition de réactifs chimiques en combinaison ou non avec un traitement thermique. Les procédés de stabilisation chimique se répartissent en trois catégories: acide, neutre et alcalin (Reimers et Akers, 1991).

#### 1.2.4.1 Traitement alcalin

L'apport de chaux peut être effectué sur des boues liquides ou sur des boues déshydratées. Pour obtenir un pouvoir de désinfection adéquat, les boues doivent être amenées à pH 12 pendant au moins deux heures et de préférence pendant 24 heures (Degremont, 1989). Le coût réduit de la chaux, son alcalinité et son effet favorable sur la structure physique des boues en font le réactif le plus utilisé. Cette dernière technique ne modifie pas la quantité de matières organiques biodégradables contenues dans les boues. Une reprise de fermentation est donc possible si l'évolution ultérieure des conditions du milieu le permet. Un autre désavantage de cette technique est que la masse de boues n'est pas réduite, mais au contraire, elle est augmentée à la suite de l'addition d'agents alcalins. Il faut également signaler que l'application sur les terres agricoles de boues chaulées n'est pas souhaitable où les sols sont alcalins, comme c'est le cas, par exemple, dans une grande partie de l'Ouest du continent Américain. Une étude menée par l'agence de protection environnementale américaine fait état que plus de 250 stations d'épuration aux États-Unis, ont implanté un traitement alcalin pour la stabilisation de leurs boues (U.S. EPA, 1989).

La fixation chimique est un procédé de stabilisation alcalin des boues qui transforme les boues en un produit, lequel peut être utilisé pour le remplissage de terrain en surface ou pour l'application sur les terres. Durant la fixation chimique, une série de réactions chimiques ont lieu en combinant les boues déshydratées avec les réactifs chimiques, ce qui permet l'obtention d'un solide stable du point de vue chimique, biologique et physique. Le produit final est presque inodore et ne contient pratiquement plus de micro-organismes pathogènes. De plus, les métaux présents initialement dans les boues sont fixés dans le solide obtenu.

Deux procédés de fixation chimique ont été brevetés et commercialisés: *Chem-fix* et *N-Viro Soil*. Le procédé *Chem-fix* utilise du ciment Portland et un silicate de sodium afin de produire un sol synthétique à base de boues. Le procédé *N-Viro Soil* emploie de la chaux et de la poussière de ciment comme additifs chimiques. Le produit *N-Viro Soil* peut également être préparé en utilisant des cendres volantes et de la poussière de chaux (Jacobs et Silver, 1990; Reimers et Akers, 1988, 1990, 1991). La compagnie Bio Gro Systems, Inc. a également développé quatre procédés de stabilisation alcaline sous le nom de « *Biofix* ». Une revue des techniques de stabilisation alcaline des boues a été élaborée par Haug *et al.* (1992) et MacConnell *et al.* (1992).

#### 1.2.4.2 Traitement neutre

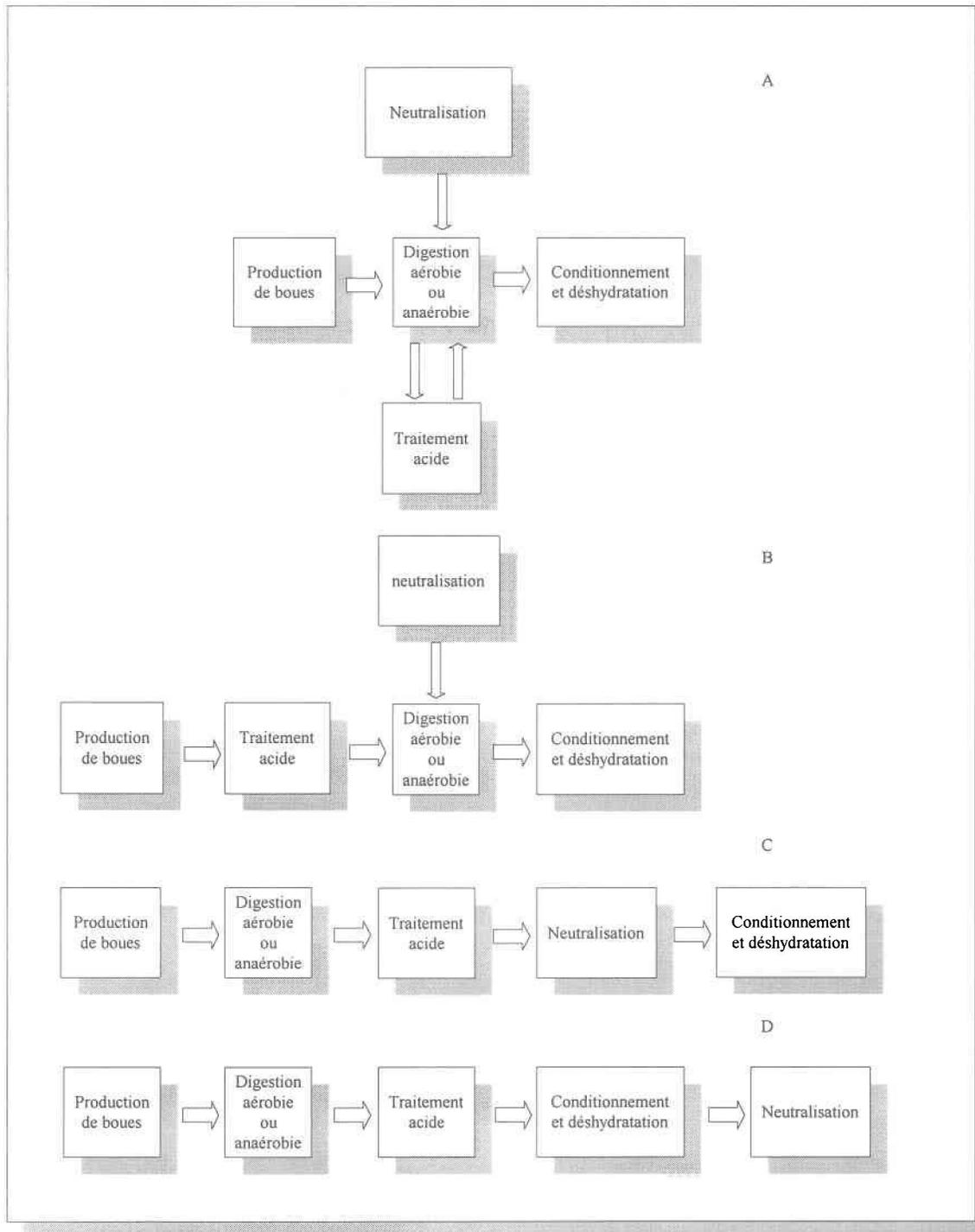
Les technologies de stabilisation en milieu neutre comprennent le procédé « *CCBA Process* » et le procédé « *Wet Chlorine Oxidation* ». Le procédé *CCBA process* (Coordinate Chemical Binding and Adsorption Process) utilise un réactif à base d'argile et d'alun, lequel adsorbe les métaux. Toutefois, ce procédé est peu efficace pour la stabilisation des boues et la désinfection de celles-ci. La même situation s'applique pour le procédé *Wet Chlorine Oxidation* (Reimers et Akers, 1991).

#### 1.2.4.3 Traitement acide

Les procédés acides tels que *Synox* et *Ozonics* utilisent l'acide sulfurique afin d'abaisser le pH des boues entre 2.5 et 3.0 et un mélange d'ozone et d'oxygène (3 à 6 % d'ozone) est injecté dans une chambre pressurisée (Krofta, 1991; Reimers et Akers, 1990). Un nouveau procédé

développé au Canada (*Detox<sup>TM</sup>*) emploi de l'oxygène, de l'acide, de même qu'un apport exogène de chaleur (Rockandel, 1991).

Récemment, une autre approche a été suggérée par les chercheurs de l'INRS-Eau (Meunier *et al.*, 1994, 1996). Le procédé consiste en une acidification des boues (pH 2.0 à 2.5) par un ajout d'acide sulfurique, entraînant une réduction importante des solides des boues, à la suite d'une hydrolyse et minéralisation très rapide d'une partie de la matière organique des boues. Ce procédé simple d'acidification et efficace pour la digestion partielle de différents types de boues municipales (primaires, secondaires et mixtes) et industrielles (papetières), pourrait ultérieurement s'intégrer aux chaînes actuelles de traitement et de stabilisation des boues d'épuration. La Figure 1 expose d'ailleurs quatre scénarios différents d'intégration de cette technologie dans les chaînes de gestion des boues d'épuration.



**Figure 1** Aperçu des diverses possibilités d'intégration du procédé acide dans une chaîne conventionnelle de traitement des boues d'épuration

Le premier scénario envisagé consiste à ajouter aux digesteurs aérobies conventionnels, un réacteur chimique acidifiant en mode continu des boues provenant du digesteur (Figure 1A). Le temps de rétention hydraulique dans ce réacteur chimique serait très court (0.25 à 2 heures). Les boues traitées seraient alors retournées au digesteur aérobie. Afin de maintenir une activité biologique intense dans le digesteur aérobie, le pH des boues devrait être maintenu près de la neutralité par un ajout d'agent alcalin, probablement de la chaux inactive. Le deuxième scénario technologique envisagé est relativement semblable au premier, à l'exception que le traitement acide serait inséré en amont de la digestion aérobie conventionnelle (Figure 1B).

La courte période d'acidification des boues devrait donc permettre d'une part, de hausser les rendements de digestion des boues obtenus dans le digesteur aérobie et, d'autre part, d'accélérer le processus de respiration endogène par une lyse microbienne partielle résultant de l'action acide. Les éléments nutritifs ainsi libérés par la lyse microbienne seront donc assimilés par la microflore lors du retour des boues dans le digesteur aérobie. Il faut également prendre note que l'acidification modérée des boues à des pH se situant entre 2.0 et 2.5 permet une destruction efficace des indicateurs bactériens (coliformes totaux, coliformes fécaux, streptocoques fécaux) et viraux (coliphage) de pathogènes (Blais *et al.* 1992d; Shooner *et al.*, 1992; Tyagi *et al.*, 1993d).

La troisième variante d'application de ce traitement consiste en l'utilisation de ce procédé acide en aval de la digestion aérobie conventionnelle des boues d'épuration, et ce, afin d'améliorer la stabilisation des boues atteinte par voie biologique (Figure 1C). De plus, il faut

souligner que cette variante permettrait d'améliorer significativement les rendements relativement faibles d'élimination des germes pathogènes, qui sont obtenus par digestion aérobie mésophile (Kuchenrither et Benefield, 1983; Martin *et al.*, 1990; Polan et Jones, 1992). Après le traitement acide, les boues seraient neutralisées avant d'être conditionnées et déshydratées.

La quatrième possibilité technologique est similaire à la précédente, à l'exception que la neutralisation des boues serait effectuée une fois les boues déshydratées (Figure 1D). L'avantage principal de cette chaîne de traitement serait de pouvoir, en plus de compléter la digestion des boues, extraire de celles-ci une proportion importante des métaux toxiques limitant, dans bien des cas, leur utilisation en agriculture (Bruce et Davis, 1989; U.S. EPA, 1993). En effet, plusieurs procédés chimiques et biologiques ont été proposés afin de décontaminer les boues d'épuration par solubilisation des métaux lourds en milieu acide. Ces procédés de décontamination seront d'ailleurs discutés dans une section ultérieure.

Cette application du traitement acide des boues nécessiterait l'emploi d'équipements de déshydratation résistants à la corrosion, ainsi que l'intégration d'un circuit de précipitation des métaux et de neutralisation des lixiviats (filtrats ou surnageants de la déshydratation des boues). Ces particularités techniques ont d'ailleurs déjà été analysées dans le cas du développement des procédés de décontamination des boues d'épuration (Couillard et Mercier, 1992a, b).

### **1.2.5 Stabilisation thermique**

La stabilisation thermique aussi appelée combustion humide, consiste à chauffer les boues en présence d'air, sous de très fortes pressions (jusqu'à 20 MPa et plus) dans le but de réaliser une oxydation poussée de la matière organique, simultanément à la transformation

physique des matières colloïdales. Ce procédé de stabilisation sert également au conditionnement thermique des boues. Les boues ainsi traitées peuvent, en effet, être filtrées aisément, avec l'obtention d'une siccité de gâteaux se situant entre 40 et 70 % (Degrémont, 1989). Modell (1993) a décrit un procédé d'oxydation sous pression (22 Mpa) et à haute température (374 °C) « *supercritical water oxidation process* » pour le traitement des déchets biologiques.

Une autre approche proposée par Karlsson et Goransson (1993) consiste en l'hydrolyse forte de la matière organique des boues par un traitement thermique (150 à 160 °C) en milieu acide (pH 1 à 2). Ce traitement permet une réduction d'environ 90 % des matières en suspension et hausse de manière importante la filtrabilité des boues non-hydrolysées. Après traitement, les boues et l'hydrolysate sont neutralisées par addition de chaux, ce qui entraîne la production d'une boue inorganique contenant les métaux lourds extraits, d'une boue organique valorisable par l'amendement des sols, et d'une fraction liquide fortement chargée en matière organique qui est retournée en tête de la chaîne de traitement des boues.

Une alternative à ce procédé utilise la technologie des puits profonds, selon les méthodes de forage pétrolier (profondeur de 1 200 à 1 500 m). Une variante de ce type de traitement a été commercialisée sous le nom de « *VerTech Aqueous-Phase Oxidation Process* ». L'énergie de pompage requise est limitée seulement aux pertes de charge dans les puits. Les températures élevées atteintes (environ 276 °C) sont dues aux températures des grandes profondeurs et au caractère exothermique des réactions d'oxydation de la matière organique. Ce procédé qui permet l'oxydation d'environ 96 % de la matière organique en dioxyde de carbone et en acides

organiques facilement biodégradables (principalement de l'acide acétique), a été implanté en 1992 à Apeldoorn en Hollande (Bowers *et al.*, 1991).

### **1.2.6 Stérilisation**

La stabilisation partielle des boues peut être atteinte par une stérilisation partielle ou complète de ces rejets urbains. Cette approche n'est toutefois pas courante à l'échelle industrielle. Les techniques qui ont été proposées sont la pasteurisation, l'irradiation et la pressurisation.

#### 1.2.6.1 Pasteurisation

La pasteurisation n'est pas réellement un procédé de stabilisation des boues, mais une technique d'aseptisation des boues. Ce traitement consiste à chauffer les boues à une température voisine de 70 °C pendant au moins 30 minutes. L'apport calorifique nécessaire est fourni par une chaudière autonome et un échangeur de chaleur eau-boues ou, éventuellement, par un brûleur à gaz immergé dans les boues (Degrémont, 1989).

#### 1.2.6.2 Radiation ionisante

La radiation ionisante a également été proposée par divers chercheurs pour la désinfection des boues d'épuration (Hashimoto *et al.*, 1986; Mann, 1971; Suess et Lessel, 1977). Récemment, Hashimoto *et al.* (1991) démontra la faisabilité technico-économique d'un procédé de désinfection par un accélérateur d'électrons, combiné à un appareil de préparation de couches minces de boues. Dans ce système, les boues déshydratées sont pressées en couches de moins de 5 mm, puis celles-ci sont irradiées à une dose de 5 kGy. L'utilisation d'un accélérateur

d'électron d'une puissance de 15 kW est suffisante pour traiter une capacité de 10 tbs/jour (50 tonnes humides par jour). Hashimoto *et al.* (1991) suggèrent de combiner cette technologie de désinfection à un post-compostage rapide des boues.

#### 1.2.6.3 Pressurisation

La désinfection des boues peut également être accomplie par une pressurisation importante des boues en autoclave. Dollerer et Wilderer (1993) ont étudié cette technique et signalèrent que le traitement des boues sous une pression de 6 000 bars ne nécessite qu'environ le dixième de l'énergie requise pour la stérilisation par chauffage. Par contre, les coûts d'investissement inhérents à cette technique sont forts importants et peu propices à une utilisation à l'échelle industrielle

### **1.3 Biolixiviation des métaux et digestion simultanée des boues d'épuration**

L'intérêt de réduire les concentrations en métaux toxiques des boues d'épuration est aujourd'hui un fait bien reconnu (U.S. EPA, 1991). Pour ce faire, deux types d'intervention sont envisagés: l'enlèvement des métaux lors de l'épuration des eaux usées et le contrôle à la source des rejets industriels. Pour ce qui est de la réduction à la source, bien que celle-ci soit souhaitable, cette approche est non seulement coûteuse, mais porteuse de résultats incertains, car elle peut difficilement circonscrire les sources diffuses de pollution qui contribuent à l'enrichissement des boues en métaux toxiques; plusieurs études démontrent en effet qu'une grande partie des métaux provient des résidences et du ruissellement urbain (Davis, 1987; Tjell, 1986; Wozniak et Huang, 1982).

Depuis 1975, plusieurs techniques d'enlèvement des métaux lourds des boues d'épuration ont été examinées, mais jusqu'à présent, aucun procédé économique et efficace n'a été implanté à

l'échelle industrielle. De nombreuses tentatives de solubilisation chimique des métaux ont été étudiées: la chloration (Olver *et al.*, 1975), l'échange d'ions (Cornwell *et al.*, 1980), l'utilisation d'agents chélateurs tel que l'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) et l'acide nitrilotriacétique (NTA) (Campanella *et al.*, 1985; Jenkins *et al.*, 1981; Lo et Chen, 1990), l'extraction par solvants organiques (Vieira e Silva *et al.*, 1993) et la digestion aérobie thermophile auto-chauffée (AATD) couplée à une acidification par l'acide chlorhydrique (Hayes *et al.*, 1979). Les coûts élevés d'opération, certaines difficultés opératoires, et quelques fois des rendements insatisfaisants de lixiviation des métaux ont compromis l'émergence de ces techniques.

L'ajout de différents acides organiques ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) et inorganiques ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HCl}$ ,  $\text{HNO}_3$ ) aux boues est la technique qui a été la plus considérée par différents chercheurs (Blais *et al.*, 1992c; Bloomfield et Pruden, 1975; Campanella *et al.*, 1985; Kiff et Brown, 1981; Kiff *et al.*, 1981; Lo et Chen, 1990; Logan et Feltz, 1985; McNulty *et al.*, 1977; Mitani *et al.*, 1991; Oliver et Carey, 1976; Scott et Horlings, 1975; Wozniak et Huang, 1982). L'utilisation des acides organiques ne permet, la plupart du temps, que de faibles rendements de solubilisation des métaux, tout en étant fort dispendieuse.

L'emploi des acides inorganiques ne permet pas une solubilisation efficace du cuivre et du plomb, malgré une acidification considérable (pH 1.5) des boues. La solubilité des métaux dans les boues est affectée principalement par le pH, mais aussi par d'autres facteurs tout aussi importants: le potentiel d'oxydoréduction du milieu (POR), la concentration des métaux et des ligands (anions et molécules non-chargées) et l'équilibre chimique entre les constituants (Tyagi et Couillard, 1990). La solubilisation du cuivre et du plomb dans les boues nécessite une augmentation importante du POR, ce qui ne peut être obtenue rapidement par oxydation chimique lors de l'aération des boues. Les

quantités considérables d'acide nécessaires à la solubilisation chimique des métaux rendent ces techniques peu attrayantes économiquement (Tyagi et Couillard, 1990; Wong et Henry, 1988).

L'utilisation combinée d'un acide et d'un agent oxydant fort a également été examinée. Kiff et Brown (1981) et Kiff *et al.* (1981) suggèrent l'utilisation d'acide chlorhydrique (pH final 1.0) et de peroxyde d'hydrogène ce qui permet l'obtention de meilleurs rendements de solubilisation des métaux que l'ajout de seulement un acide. Toutefois, les coûts d'opération de cette technique demeurent prohibitifs.

Rasmussen et Rockandel (1991) ont développé un procédé (U.S. Pat. No. 5,051,191) utilisant conjointement un acide (sulfurique ou chlorhydrique), un agent oxydant ferrique (sulfate ou chlorure) et un oxydant régénérant (peroxyde d'hydrogène, hypochlorite de sodium ou de calcium, air comprimé, oxygène, ozone, dioxyde de soufre, chlore ou composés chlorés). Malgré de bons rendements de décontamination des boues, les coûts élevés d'opération de ce procédé restreignent fortement leur mise en marché.

Des essais de séparation des métaux par centrifugation ont été effectués par Fronk *et al.* (1985). Deux étapes successives de centrifugation permettent de concentrer les métaux dans un culot. Les concentrations de métaux retrouvées dans le culot se situe entre 60 et 73 % pour le cadmium, le nickel, le chrome, le cuivre et le zinc, alors que ce procédé ne permet pas d'extraire le plomb. Cette technique présente des problèmes au niveau de la récupération des solides, puisque les boues sans métaux ne constituent que 23 % du volume des boues totales.

L'extraction des métaux au moyen d'un procédé magnétique et de résine échangeuse d'ions a été développée en Australie (Becker *et al.*, 1989). Les métaux dans les boues sont captés par la résine

échangeuse d'ions qui est régénérée par la suite en milieu acide. Les rendements d'enlèvement des métaux par cette approche technologique dans des boues artificiellement contaminées, sont de 57 % pour le cuivre, de 66 % pour le zinc et de 86 % pour le cadmium. La faisabilité économique de cette approche n'a toutefois pas été démontrée pour une application à l'échelle réelle.

Un nouveau procédé chimique incluant une solubilisation des métaux suivie d'une chélation sur un support solide a été mis au point à Toronto pour la décontamination des sols. Les auteurs du rapport final de développement de ce procédé (Mourato et Lang, 1994) prétendent être capables de décontaminer les boues d'épuration préalablement digérées. Les détails donnés dans le rapport final ne permettent pas de juger de la faisabilité technico-économique de l'application de cette technologie pour la décontamination des boues d'épuration. D'autre part, le fait de traiter des boues digérées augmente très certainement le coût du traitement global des boues et rend ce procédé économiquement moins intéressant.

Suite aux différentes contraintes techniques et économiques rencontrées avec les procédés chimiques déjà testés d'enlèvement des métaux associés aux boues municipales, l'intérêt de mettre au point un procédé biologique d'extraction est apparu. Au cours des dernières années, quelques études de biolixiviation ont été réalisées à travers le monde (Calmano *et al.*, 1985; Hashimoto *et al.*, 1987; Schönborn et Hartmann, 1978, 1979; Wong et Henry, 1983, 1984, 1988).

Les travaux réalisés à l'INRS-Eau (Québec, Canada), avec la participation financière de BIOLIX Inc., ont conduit au développement de deux procédés biologiques (un procédé combiné de biolixiviation des métaux lourds et de digestion des boues d'épuration utilisant le soufre élémentaire (U.S. Pat. No. 7,659,723; U.S. Pat. No. 7,693,650) et un procédé de biolixiviation des

métaux lourds utilisant le sulfate ferreux (Couillard *et al.*, 1993) et un procédé chimique (Blais *et al.*, 1994a) de décontamination des boues d'épuration, permettant des rendements élevés d'enlèvement des métaux toxiques, une destruction efficace des germes pathogènes et la conservation des propriétés fertilisantes des boues. Ces procédés, qui ont d'abord été développés en laboratoire, ont par la suite été testés et optimisés avec succès, à l'échelle du pilote industriel, à la station d'épuration de la base militaire de Valcartier (Québec).

Les procédés développés à l'INRS-Eau en sont au stade de la démonstration commerciale. L'application de ces procédés aux boues accumulées dans les étangs aérés ou produites quotidiennement aux stations conventionnelles (boues activées, biofiltres, physico-chimiques) est, en effet, fort prometteuse: les études technico-économiques réalisées au cours des deux dernières années ont démontré que les procédés proposés sont performants, en termes de coût et d'efficacité, pour la décontamination des boues primaires et secondaires produites dans les stations d'épuration conventionnelles.

### **1.3.1 Biolixiviation-digestion avec soufre**

Le procédé de biolixiviation-digestion exploite la présence dans les boues d'épuration d'une microflore indigène (thiobacilles peu-acidophiles et acidophiles) capable d'oxyder le soufre élémentaire en acide sulfurique (Blais *et al.*, 1992a, 1993d). Cette production d'acide, qui se fait sans production d'intermédiaires de polysulfures, entraîne une baisse considérable du pH des boues et une hausse des conditions oxydantes du milieu, ceci causant une solubilisation importante des métaux toxiques retrouvés dans cette biomasse (Blais *et al.*, 1992b; Tyagi *et al.*, 1994, 1996a, b). Le procédé peut être opéré en mode cuvée dans un bioréacteur à cuve agitée et

aérée avec addition de soufre élémentaire en poudre ou également en colonnes aérées avec utilisation de soufre granulaire immobilisé (Benmoussa *et al.*, 1994; Blais *et al.* 1994b; Ravishankar *et al.*, 1994). La concentration initiale optimale de solides des boues pour ce procédé se situe entre 30 et 40 g/L (Sreekrishnan *et al.*, 1993; Tyagi *et al.*, 1993c). Cette biotechnologie permet dans une même étape, une stabilisation efficace des boues (réduction de la biomasse, élimination des micro-organismes pathogènes, réduction des odeurs) et un enlèvement efficace des métaux toxiques (Blais *et al.*, 1992d; Shooner *et al.*, 1992; Tyagi *et al.*, 1993d). Un temps de rétention hydraulique de l'ordre de 8 à 12 jours est requis pour permettre une stabilisation adéquate des boues municipales (Tyagi *et al.*, 1993e, 1996a). Afin de hausser les rendements de solubilisation des métaux et de précipiter une fraction importante du phosphore solubilisé lors de l'acidification des boues, un ajout de chlorure ferrique peut être effectué à la fin de la période de biolixiviation-digestion.

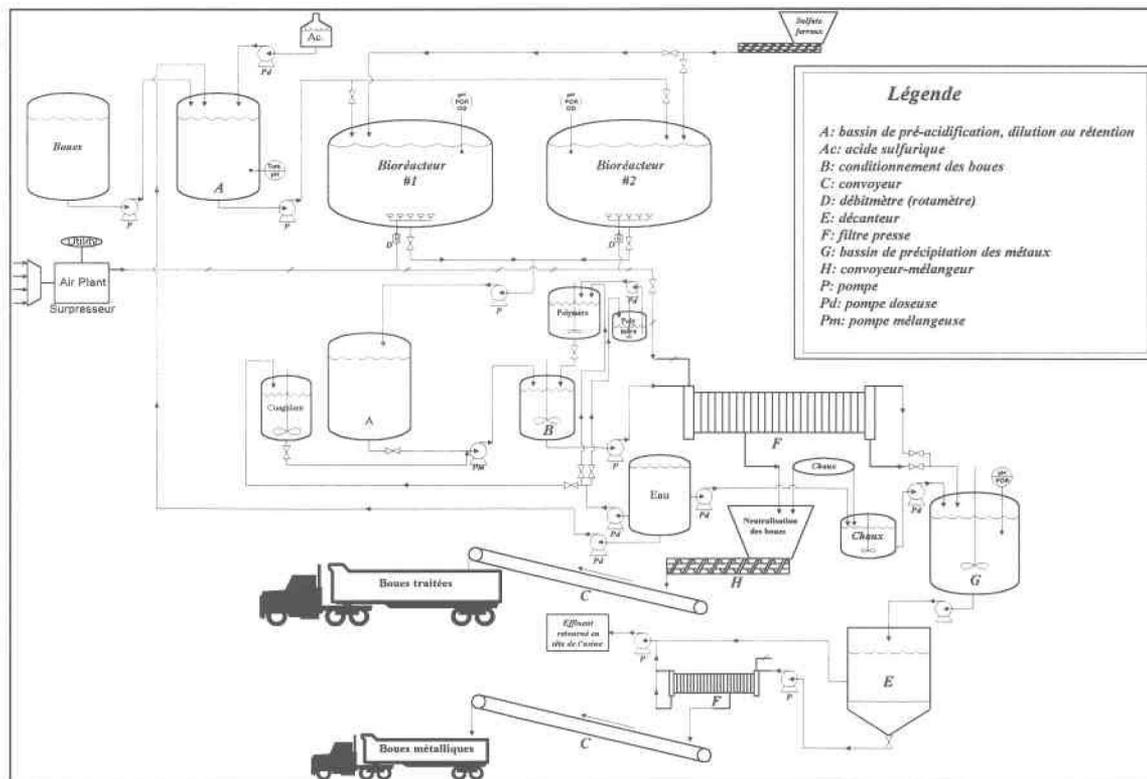
### **1.3.2 Biolixiviation avec sulfate ferreux**

De manière similaire au procédé biologique avec soufre, cette technologie profite de la présence dans les boues d'épuration d'une flore bactérienne indigène (*Thiobacillus ferrooxidans*) capable d'oxyder l'ion ferreux en ion ferrique (Blais *et al.*, 1993e). Ce procédé est opéré en bioréacteur à cuve agitée et aérée, avec une addition d'acide sulfurique pour abaisser le pH initial des boues et un ajout de sulfate ferreux comme substrat énergétique (Couillard et Mercier, 1992a, b; Couillard et Zhu, 1992a). Les conditions d'acidité ainsi créées et la hausse des conditions oxydantes du milieu lors de l'oxydation de l'ion ferreux en ion ferrique, permettent une solubilisation importante des métaux toxiques retrouvés dans les boues, de même qu'une élimination efficace des bactéries indicatrices de pathogénéicité (Couillard *et al.*, 1993). Le

contenu initial optimal de solides des boues est compris entre 20 et 25 g/L. Un court temps de rétention hydraulique est possible en mode continu pour la décontamination des boues (Couillard et Mercier, 1993).

### **1.3.3 Lixiviation chimique**

Le procédé chimique développé à l'INRS-Eau utilise l'acide sulfurique et un agent oxydant. L'ajout de l'acide sulfurique aux boues d'épuration permet d'accélérer la solubilisation des métaux. Ce procédé peut être opéré facilement dans un réacteur de type cuve agitée en mode cuvée, semi-continu ou continu et permet un enlèvement adéquat des métaux toxiques, ainsi qu'une élimination efficace des micro-organismes pathogènes, et ce, avec un très court temps de traitement. Un contenu en solides des boues se situant entre 30 et 40 g/L représente la gamme optimale pour ce procédé. Il peut être utilisé en alternative avec le procédé de biolixiviation, selon l'évolution des prix des facteurs générateurs de coûts.



**Figure 2 Chaîne de décontamination des boues d'épuration municipales**

La Figure 2 présente les diverses étapes de traitement faisant partie de la chaîne de décontamination utilisant le procédé de biolixiviation avec sulfate ferreux. Les chaînes de décontamination utilisant les autres procédés sont similaires, à l'exception de la partie associée à l'étape de lixiviation ou biolixiviation en réacteur.

Après l'étape de solubilisation des métaux par l'un des trois procédés décrits précédemment, les boues sont conditionnées par ajout d'aide-coagulant et de flocculants, puis déshydratées sur une unité de filtres-presses à plateaux. Les boues déshydratées sont ensuite neutralisées par ajout de chaux vive et acheminées par camion au lieu d'épandage agricole (Couillard et Mercier, 1992b). D'autres modes de déshydratation, tel que le pressoir rotatif, pourraient aussi être envisagés. L'efficacité des filtres à bandes presseuses serait également

intéressante à vérifier, car la plupart des stations d'épuration québécoises font appel à ce type d'équipement.

Le lixiviat acide contenant les métaux est neutralisé par ajout d'une solution de chaux saturée et décanté jusqu'à l'obtention d'une boue métallique. Un ajout facultatif de flocculants permet dans certains cas de hausser les rendements de précipitation des métaux. Ce dernier résidu est déshydraté tout d'abord sur une unité de filtres-presses, puis séché à l'air avant d'être acheminé à un site de disposition de produits dangereux.

Les trois procédés de décontamination des boues permettent un enlèvement efficace des métaux lourds. En effet, les études menées à l'échelle du pilote industriel ont démontré que les rendements réels d'enlèvement du cuivre et du zinc se situent entre 70 et 90 %, alors que pour le manganèse, un pourcentage d'extraction compris entre 75 et 95 % est aisément atteint. Les autres métaux lourds tels que le cadmium et le nickel sont également solubilisés lorsqu'ils sont présents en concentration élevée dans les boues. Les procédés de décontamination peuvent aussi être opérés de façon adéquate dans les diverses conditions climatiques rencontrées en Amérique du Nord.

Les performances de destruction des indicateurs bactériens et viraux des procédés de décontamination sont nettement supérieures à celles atteintes avec les procédés conventionnels de digestion aérobie et anaérobie. De plus, les procédés de décontamination entraînent une réduction importante de la production d'odeurs désagréables en comparaison aux boues brutes.

Le procédé de biolixiviation-digestion avec soufre permet également une réduction appréciable de la biomasse des boues. Les cinétiques de digestion des boues sont pratiquement similaires à celles prévalant lors de la stabilisation aérobie conventionnelle.

La caractérisation chimique des boues traitées par ces procédés de décontamination indique que les boues décontaminées possèdent une valeur fertilisante comparable à celles de boues digérées par voie aérobie conventionnelle. La décontamination mène à un enrichissement appréciable des boues en fer et en soufre. Des études en serre sur de l'orge avec les boues décontaminées par le procédé biologique au sulfate ferreux ont démontré que les boues conservaient une bonne valeur fertilisante et qu'elles ne causaient pas de problèmes environnemental ou agronomique. En fait, ces essais ont indiqué que le potentiel de valorisation des boues ainsi décontaminées s'avère plus élevé que celui de la plupart des boues conventionnelles. De même, l'épandage agricole des boues décontaminées pourrait être particulièrement intéressant, en ce qui concerne les besoins nutritifs en soufre des cultures végétales. Il faut d'ailleurs noter à ce sujet qu'une portion appréciable des terres agricoles retrouvées à travers le monde, ont des carences en soufre.

Les recherches effectuées ont démontré qu'il est possible de déshydrater les boues décontaminées dans des conditions normales d'opération, à l'échelle réelle, et à des coûts acceptables. L'utilisation d'un filtre-pressé à plateaux permet d'obtenir des gâteaux de boues présentant une siccité supérieure à 20 % et même, dans certains cas, de plus de 30 %. En outre, la capacité de filtration mesurée avec les boues décontaminées est égale et même supérieure à celle atteinte avec des boues digérées par voie aérobie conventionnelle.

Il est possible d'obtenir de plus amples informations concernant les procédés de décontamination des boues développés à l'INRS-Eau en consultant les diverses publications et rapports scientifiques présentés à la section bibliographie. Il faut toutefois prendre note que certaines informations techniques ne peuvent être diffusées car les trois technologies développées font présentement l'objet de demandes de brevet.

Le choix des technologies à privilégier doit également être fonction de la qualité du produit recherché. Ainsi, il appert que le choix entre les deux technologies de décontamination développées, excluant une étape de digestion, soit le procédé biologique avec sulfate ferreux et le procédé chimique, pourrait être fonction des conditions particulières du marché, dans le cas où une étape préalable de digestion des boues serait jugée non indispensable, en accord avec la réglementation existante et la stabilité des boues atteinte. Autrement, dans le cas où une étape de digestion est souhaitable, le procédé biologique avec soufre s'avère être une alternative technologique prometteuse.

Les trois technologies développées peuvent être employées pour la décontamination de l'ensemble des divers types de boues générées lors du traitement des eaux usées municipales (primaires, boues activées, biofiltration, physico-chimiques, étangs aérés, fosses septiques). En plus du marché important du traitement des boues d'épuration municipales, il apparaît désormais possible d'adapter ces technologies pour le traitement des boues industrielles, des sédiments et des dizaines de milliers de sites à travers le monde pollués par les métaux toxiques.

#### 1.4 Microbiologie des micro-organismes hétérotrophes

Les dernières recherches de caractérisation des bactéries hétérotrophes aérobies et des champignons retrouvés dans les boues d'épurations remontent principalement aux années 1960 et 1970. L'étude la plus récente et la plus complète est celle de Witthauer en 1980. Dans cette étude, il caractérise les principaux genres retrouvés dans les boues: *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, micro-organismes filamenteux (*Sphaerotilus*), *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Zooglea* ainsi que le groupe des Enterobacteriaceae. Dans le cas des champignons, Cooke et coll., rapporte une grande variété de moisissures et de levures présentes dans les boues. En 1970, Cooke et Pipes, après avoir isolé les champignons de 64 séries d'échantillons provenant de 19 usines d'épuration, soulignent que les levures rencontrées étaient des genres: *Candida*, *Geotrichum*, *Rhodotorula* et *Trichosporon* (*Blastoshizomyces*). Des études de Hinzelin et Lectard en 1979 confirme ces résultats. Plus récemment, des études ont été consacrées à l'identification des bactéries filamenteuses qui causent des problèmes importants dans le traitement des boues. Ces études ont mis en évidence la présence entre autre de *Thiothrix* sp. (Tandoi *et al.* 1994), *Sphaerotilus natans* (Takahashi *et al.* 1990), *Nostocoida limicola* (Nowak et Brown 1990) et de *Microthrix parvicella* (Kristensen *et al.* 1994). Le développement de stratégies de contrôle de *Microthrix parvicella* est devenue très urgent (Eikelboom et Pujol 1994). Comme nous pouvons le constater, nous retrouvons dans les boues principalement des bactéries à Gram négatif, cependant certaines bactéries à Gram positif y sont aussi isolées (ex: *Microsphaera multipartita* (Yoshimi *et al.* 1996)). La microflore des boues varie selon la composition chimique de l'eau usée et des conditions d'opération. De

plus, la mise en évidence des micro-organismes dépend des techniques de détection utilisées qui comme nous le savons ne représentent pas toujours la réalité.

### 1.5 Microbiologie des micro-organismes hétérotrophes acidophiles

Jusqu'à présent, vingt-deux espèces de *Thiobacillus* ont été isolées et identifiées (Blais *et al.* 1993b). Le genre *Thiobacillus* regroupe un ensemble de bactéries démontrant des caractéristiques nutritionnelles variées dans l'utilisation des composés inorganiques et organiques. De plus, ces bactéries peuvent être classées en deux groupes principaux qui sont : le groupe peu-acidophile et le groupe acidophile.

Les espèces peu-acidophiles ne peuvent proliférer en milieu très acide ( $\text{pH} < 3,0$ ) et leur croissance optimale se situe à pH neutre ( $\text{pH} 6$  à  $8$ ). Les espèces acidophiles ont leur pH optimum de croissance près de  $3,0$  et ne peuvent initier leur développement dans un milieu neutre ou alcalin. Dans le groupe peu-acidophile, l'espèce la plus importante dans le processus initial d'acidification des boues est *Thiobacillus thioparus*. Au niveau du groupe acidophile, l'espèce la plus importante qui est responsable de l'acidification finale des boues est *Thiobacillus thiooxidans* (Blais *et al.* 1993b). La collaboration entre ces deux bactéries constitue un bon modèle de la biolixiviation avec la microflore indigène acclimatée à l'oxydation du soufre.

Les bactéries peu-acidophiles comme *Thiobacillus intermedius*, *T. aquasulis*, *T. delicatus*, *T. novellus*, *T. versutus* et *T. perometabolis* utilisent la matière organique ou le soufre ( $\text{pH} \approx 7,0$ ) et abaissent le pH du milieu jusqu'à  $4$ . Cette réduction du pH favorise le développement des bactéries acidophiles du genre *Thiobacillus thiooxidans*, *T. acidophilus*, *T. cuprinus* et *T. ferrooxidans* et bien d'autres. Plusieurs recherches ont démontré la présence de

bactéries hétérotrophes acidophiles suite au développement de *Thiobacillus ferrooxidans* dans le milieu. Ces bactéries utilisent les composés organiques (pyruvate, glutamate, aspartate, serine, glycine et autres acides aminés) (Lobos *et al.* 1986) formé par *Thiobacillus ferrooxidans* de même que les cellules lysées de *Thiobacillus ferrooxidans* qui peuvent servir de source d'énergie. Ces bactéries incluent des genres tels que: *Acidiphilium* (Bhattacharyya *et al.* 1991, Kishimoto et Tano 1987, 1990, Lobos *et al.* 1986, Wichlacz *et al.* 1989) et *Flavobacterium* (Millard 1973). Ces bactéries sont impliquées dans le phénomène d'acidification du milieu et de digestion des boues mais avec un impact moins important que *Thiobacillus*.

Le genre *Acidiphilium* regroupe des bactéries à Gram négatif, aérobie, mésophile et strictement hétérotrophe et acidophile. Ce genre démontre des caractéristiques de croissance variables selon l'espèce concernée. Par exemple, *A. cryptum* requière un milieu contenant peu de glucose (0,1%) et de substrats organiques (0,01% d'extrait de levure ou trypticase) tandis que *A. organovorum* peut croître à des concentrations élevées en glucose (1 à 4%) avec ou sans supplément organique. Malgré leur différence nutritionnelle, ces deux espèces ont été isolées à partir de cultures de *T. ferrooxidans*.

Une autre espèce bactérienne hétérotrophe et acidophile est le *Sulfobacillus disulfidooxidans* qui a été isolé à partir des boues d'épuration (Dufresne *et al.* 1996). *Sulfobacillus disulfidooxidans* est une bactérie à gram positif, aérobie produisant des endospores. Sa croissance est optimale entre un pH de 1.5 et 2.5 et elle peut croître entre un pH de 0.5 et 6.0. *Sulfobacillus disulfidooxidans* utilise le glucose, le glutamate, le glutathion oxydé ou dithio(bis)benzothiazole lors de sa croissance hétérotrophique. Quand la bactérie utilise le soufre élémentaire comme seule source d'énergie, elle ne l'oxyde pas en acide sulfurique. De plus

l'extait de levure est un facteur de croissance essentiel. Aucune production d'acide n'a été observé lors de sa croissance sur différents sucres (Dufresne *et al.* 1996).

## **1.6 Hypothèse de recherche**

Les différentes études complétées à ce jour, sur la biolixiviation-digestion et sur la digestion aérobie traditionnelle sont particulièrement axées sur l'évaluation de la performance et l'optimisation du rendement de décontamination, sur la possibilité de transférer la technologie à l'échelle réelle, sur les frais d'implantation et d'opération, sur les caractéristiques des résidus traités (boues et lixiviats), sur l'élimination des bactéries indicatrices de pathogènes et sur les bactéries directement responsables du procédé de traitement des boues. Pourtant, plusieurs autres éléments peuvent être étudiés pour augmenter la compréhension de base du processus et par le fait même augmenter le rendement de ces procédés. Le but de cette étude est donc d'approfondir les connaissances microbiologiques qui prévalent durant le traitement de divers types de boues par le procédé de biolixiviation-digestion et le procédé de digestion aérobie traditionnelle. Dans le même optique nous pouvons formuler une hypothèse:

Plusieurs micro-organismes survivent au procédé de biolixiviation-digestion et ils sont des atouts importants dans la digestion biologique des boues. Ces micro-organismes seraient acidorésistants et seraient en mesure de dégrader la matière organique.

## **1.7 Objectifs spécifiques de recherche**

- 1) Isoler et identifier les micro-organismes hétérotrophes aérobies présents dans trois types de boues différentes et non responsables directement de la biolixiviation des métaux.
- 2) Évaluer les cinétiques de croissance et d'élimination des populations microbiennes hétérotrophes aérobies lors du traitement des boues par le procédé de biolixiviation-digestion et les comparer au procédé de digestion aérobie traditionnelle.
- 3) Vérifier si les micro-organismes hétérotrophes peuvent être responsables de la réduction des solides durant le traitement des boues par le procédé de biolixiviation-digestion.

## **CHAPITRE 2**

## CHAPITRE 2

### MÉTHODOLOGIE

Les méthodologies utilisées pour l'échantillonnage, l'acclimatation de la microflore indigène ainsi que la description des montages expérimentaux sont essentielles à la bonne compréhension de l'étude. Les méthodes d'analyses physico-chimiques et de caractérisations des populations microbiennes seront aussi décrites.

#### 2.1 Échantillonnage des boues d'épuration

Les différentes boues d'épuration utilisées pour cette étude ont été prélevées des décanteurs primaires et/ou des unités de décantation secondaire, de stations québécoises d'épuration des eaux, soient des boues primaires de la CUQ-Est (CUQ), des boues secondaires de Beauceville (BV) et des boues mixtes de Valcartier (VC). Les boues mixtes employées sont constituées d'approximativement 60 % (v/v) de boues primaires et de 40 % (v/v) de boues secondaires. Les boues ont été conservées à 4 °C jusqu'à leur utilisation, puis ont été tamisées (< 1 cm) afin d'éliminer les particules grossières pouvant obstruer les conduites d'alimentation des bioréacteurs. En raison du nombre de réacteurs employés et des temps de rétention hydrauliques

retenus, l'âge maximum des boues ainsi préservées était de 21 jours. Enfin, une dilution appropriée avec de l'eau du robinet a été effectuée afin de garder des proportions en solides similaires d'un type de boues à l'autre. L'utilisation de l'eau du robinet comme diluant n'a aucun impact sur les paramètres microbiologiques et physico-chimiques des boues.

## **2.2 Acclimatation de la microflore indigène**

L'inoculum employé pour le début des essais provenait de la microflore indigène des boues d'épuration qui a été adaptée tout d'abord en y ajoutant une concentration de 3 g/L de soufre en poudre et en fournissant une agitation et une aération adéquate (500 rpm et 0.12 vvm d'aération). Le pH et le potentiel d'oxydoréduction ont été suivis aux 24 heures jusqu'à l'obtention d'un pH d'environ 2.0. Dès lors, l'inoculum était prêt à être utilisé pour le démarrage de l'essai en mode cuvée. Pour les essais subséquents, les boues traitées contenues dans les réacteurs à la fin de l'essai précédent, ont servi d'inoculum de départ, ce qui a permis d'obtenir une culture mixte de thiobacilles (micro-organismes oxydant le soufre élémentaire), de plus en plus adaptée aux boues à traiter. La même technique, mais sans apport exogène de soufre élémentaire, a été utilisée pour préparer un inoculum afin d'ensemencer les boues, lors de l'opération du procédé conventionnel de digestion aérobie (CASD).

## **2.3 Description du montage expérimental (mode cuvée)**

Six bioréacteurs de 40 litres de capacité ont été employés pour les essais en mode cuvée. Ces réacteurs étaient de type Nalgène en polyéthylène haute densité (HDPE) (hauteur et diamètre interne respectivement de 54 et 32 cm) et étaient agités chacun par un agitateur "Caframo RZR50" de 1/6 hp muni d'une hélice à quatre palmes de marque Lightnin, modèle A315, d'un

diamètre total de 12.5 cm montée sur une tige métallique creuse en acier inoxydable (316SS) et tournant à 500 rpm. Chaque bioréacteur était également muni d'un couvercle de 32 cm de diamètre et de trois chicanes creuses en polyméthacrylate de 3.2 cm de diamètre par 40 cm de longueur, placés à 120 degrés d'intervalle et à 2.5 cm du fond des cuves.

Chacun des bioréacteurs utilisés contenait un volume utile de 30 litres des diverses boues à l'étude. Pour un volume d'opération de 30 litres, la hauteur du liquide était de 35 cm, ce qui donne un rapport h/d de 1.09.

Les boues ont été aérées à 0.20 VVM (volume d'air par volume de réacteur par minute) par un diffuseur de 2.5 cm de diamètre externe muni d'un disque poreux de 70  $\mu\text{m}$  en polyéthylène (Cole-Palmer, modèle G-06614-25) fixé le long d'une des chicanes, et ce, afin de faciliter le nettoyage quotidien du disque poreux. Les débits d'air ont été ajustés par un débitmètre Cole-Palmer (modèle G-03267-28) et la pression du gaz a été maintenue constante à 103 kPa.

Une quantité de 90 g de soufre élémentaire de la compagnie SULCHEM PRODUCTS (aire de surface de 3 055  $\text{cm}^2/\text{g}$ ), soit l'équivalent de 3.0 g/L, a été ajoutée à chacun des réacteurs utilisés pour l'opération du procédé SSDML, alors qu'aucun ajout n'a été fait à ceux utilisés pour les études du procédé conventionnel de digestion aérobie (CASD). Un volume de 20 % (v/v) d'inoculum de chaque boue a été utilisé pour ensemercer respectivement chacun des bioréacteurs.

L'évaporation a été compensée quotidiennement par ajout d'eau du robinet, 15 minutes avant les échantillonnages. Des échantillons ont été prélevés à des intervalles minimaux de 24

heures pour les différentes mesures. Les bioréacteurs ont été maintenus à température ambiante (25°C) pour l'ensemble des essais réalisés en mode cuvée et en mode continu.

#### **2.4 Description du montage expérimental (mode continu)**

Quatre bioréacteurs possédant les caractéristiques décrites précédemment ont été utilisés pour les essais en mode continu. Un bassin agité commun assurant l'alimentation en boue fraîche pour les quatre réacteurs a été employé.

Une minuterie programmable de marque Chontrol, modèle XT permettait de contrôler une pompe péristaltique Cole-Palmer (modèle 7553-30) pour chaque bioréacteur, qui assurait l'entrée simultanée de boue fraîche et l'évacuation des boues traitées à chaque heure. Des quantités de 1 g/L de soufre élémentaire en poudre ont été ajoutées à chaque jour en fonction de la quantité de boues traitées.

#### **2.5 Analyses physico-chimiques**

Les mesures de potentiel d'oxydoréduction (POR) et de pH ont été prises sur un pH-mètre Fisher Acumet modèle 915 avec des électrodes Cole-Palmer à double-jonction, cellule de référence de type Ag/AgCl pour le pH et à bande de platine pour le POR. La concentration en oxygène dissous (OD) dans les boues a été mesurée avec un oxymètre Yellow Springs Instruments (modèle 58). Les solides totaux et volatils, les matières en suspension totales (MES) et volatiles (MVES), ainsi que les solides dissous et colloïdaux totaux (STDC) et volatils (STDCV) ont été déterminés selon les méthodes standardisées (APHA *et al.* 1989; Degremont 1989). Des échantillons de boues prélevées ont également été filtrées sur des membranes filtrantes Whatman GF/A afin de mesurer les concentrations de métaux lourds solubilisés (Cd,

Cr, Cu, Mn, Ni, Pb et Zn). La mesure des métaux dans la phase liquide a été effectuée par spectrophotométrie à émission de plasma induit (ICP, model Atom Scan 25 of Thermo Jarrell Ash corporation). La teneur total de métaux dans les boues a été mesurée après digestion de celles-ci dans HNO<sub>3</sub>, HF et HClO<sub>4</sub> selon APHA *et al.* (1989). Des standards certifiés étaient utilisés pour confirmer la validité de toutes les analyses.

## 2.6 Mesure des populations microbiennes

Les populations microbiennes dans les boues ont été dénombrées par la technique d'ensemencement direct sur milieu gélosé telle que décrite par APHA *et al.* (1989). Les hétérotrophes totaux (HT) ont été énumérés sur un milieu Trypticase soy broth - yeast extract (milieu TSBYE) composé de 30 g/L de TSB, de 3.0 g/L de YE et de 15 g/L d'agar pH 7.3 ± 0.2. La croissance des levures, des actinomycètes et des moisissures a été mesurée sur le milieu Potato dextrose agar (milieu PDA pH 5.6 ± 0.2). Les milieux de culture utilisés proviennent de la compagnie BBL.

Les populations hétérotrophes acidophiles ont été dénombrées sur trois milieux de culture, soit le milieu Mannitol - Trypticase soy broth (MTS-2.5) composé de 0.1 g/L de TSB, 0.5 g/L de MgSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O, 0.1 g/L de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.05 g/L de KCl et 1.0 g/L de mannitol ajusté à pH 2.5, le milieu Glucose - Trypticase soy broth (GTS-2.5) composé de 0.1 g/L de TSB, 0.5 g/L de MgSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O, 2.0 g/L de (HH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.1 g/L de KCl, 0.5 g/L de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> et 1.0 g/L de glucose ajusté à pH 2.5, ainsi que le milieu Potato dextrose agar ajusté à pH 2.5 (PDA-2.5). Lors de leur préparation, ces milieux ont été ajusté à pH 2.5 avec de l'acide sulfurique (2N). La composition

des milieux MTS-2.5 et GTS-2.5 est tirée des études de Johnson et Kelso (1983) et Harrison (1978, 1981).

Des contrôles de stérilité et de croissance ont été effectués lors de la préparation de chaque lot de milieux. La validité des milieux pour la croissance des micro-organismes était évaluée par l'utilisation de souches de référence provenant de l'American type culture collection (l'A.T.C.C.). La performance du milieu TSBYE était testée par l'utilisation de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et la performance des autres milieux était testée par l'utilisation de *Candida albicans* ATCC 60193.

La préparation des échantillons de boues a été effectuée selon la technique modifiée de Dudley *et al.* (1980) décrite par Blais *et al.* (1992b). Des volumes de 5 mL de boues ont été mélangés à haute vitesse au Vortex pendant deux minutes dans un tube à centrifugation contenant approximativement 1 g de billes de verre stériles (4 à 5 mm). Les échantillons étaient par la suite dilués dans du tampon PBS (0.01 M) et des volumes de 0.1 mL des dilutions appropriées étaient déposés, en duplicata, à la surface des géloses et étalées à l'aide d'une tige de verre stérile. Les différents milieux étaient incubés à 32 °C pendant 72 à 120 heures.

## **2.7 Identification des micro-organismes**

Les diverses souches microbiennes retrouvées sur les cinq différents milieux de culture ont été isolées. Les tests de bases tels que la coloration de Gram, la catalase et l'oxydase ont été effectués. Les diverses souches étaient alors identifiées avec des galeries d'identification API appropriées (20E, 20C, CHB, NFT, Staph Ident). Des tests supplémentaires ont été parfois

effectués pour confirmer l'étape d'identification sur galerie API (Warren et Shadomy 1991). Des souches de référence ATCC ont été utilisées afin de valider les tests d'identification.

## **CHAPITRE 3**

## CHAPITRE 3

### RÉSULTATS

Les résultats des tests physico-chimiques serviront à établir les conditions opératoires des réacteurs et à vérifier si les résultats sont similaires à ceux déjà obtenus dans d'autres études. La performance des réacteurs sera évaluée en fonction de la réduction des solides des boues et de la lixiviation des métaux lourds dans le cas des réacteurs ayant utilisés le procédé de biolixiviation-digestion. Un lien sera fait entre les résultats du suivi des populations microbiennes hétérotrophes aérobies et les données obtenues précédemment.

#### 3.1 Conditions opératoires en mode cuvée des procédés SSDML et CASD

La solubilisation des métaux présents dans les boues requiert l'obtention de pH acides et de conditions du milieu fortement oxydantes (potentiel d'oxydoréduction élevé). Ces conditions physico-chimiques se produisent dans les boues d'épuration subissant le procédé SSDML, suite à la production d'acide sulfurique résultant de l'oxydation du soufre élémentaire ajouté (Blais *et al.* 1992a; Tyagi *et al.* 1993b). Toutefois, les cinétiques d'acidification des boues sont dépendantes

des conditions d'opération du procédé, tels que la température, le type de boues (primaires, secondaires, mixtes) et le contenu en solides des boues (Blais *et al.* 1992c, 1993a; Tyagi *et al.* 1993a). Par ailleurs, des travaux menés sur plus de 23 boues d'épuration différentes ont démontré que le procédé SSDML peut être utilisé pour la décontamination et la stabilisation de divers types de boues (Blais *et al.* 1992a).

Dans la présente étude, l'efficacité du procédé SSDML a donc été comparé à celle du procédé conventionnel de digestion aérobie (CASD) pour la stabilisation des boues, la décontamination de celles-ci, ainsi que pour l'équilibre des populations microbiennes hétérotrophes dans trois types de boues, soient les boues primaires de la Communauté Urbaine de Québec (CUQ), les boues secondaires de Beauceville (BV) et les boues mixtes de Valcartier (VC).

Le tableau 1 présente les valeurs initiales et finales (après 20 jours d'essai) de pH et de potentiel d'oxydoréduction (POR), ainsi que les valeurs moyennes de température et d'oxygène dissous mesurées quotidiennement dans les boues. L'ajout initial de l'inoculum (20 % v/v) dans les boues subissant le procédé SSDML entraîne une légère hausse du pH (4.37 à 5.14) en comparaison aux boues traitées par le procédé CASD (pH initial entre 5.22 et 6.27). Cette observation s'explique par l'acidité des inoculums du procédé SSDML (CUQ: 2.13, BV: 2.07, VC: 2.00) par rapport à celle des inoculums utilisés pour le procédé CASD (CUQ: 6.02, BV: 4.30, VC: 8.18). Après 20 jours de traitement, le pH des trois types de boues subissant le procédé SSDML est très acide (1.69 à 2.26), alors que le pH des trois boues traitées par digestion aérobie conventionnelle est très différent, soit à 7.49 et 8.15 pour les boues primaires et mixtes et à 4.10 pour les boues secondaires.

L'observation de la Figure 1 permet de mieux apprécier les variations au niveau du pH des boues durant l'opération des procédés SSDML (CUQ-S, BV-S et VC-S) et CASD (CUQ-C, BV-C et VC-C). Ainsi, bien que les valeurs finales des boues traitées par le procédé SSDML soient rapprochées, la cinétique d'acidification des boues est très différente selon les boues. Une période de traitement de 5.5 jours est suffisante pour acidifier les boues secondaires (BV) à pH 3.0, alors que des périodes de 8.0 et 12.5 jours sont nécessaires pour les boues mixtes (VC) et les boues primaires (CUQ) respectivement. Cette différence au niveau de la cinétique d'acidification des divers types de boues peut être attribuée principalement à deux causes, soient la différence de capacité tampon des boues et l'activité des micro-organismes (thiobacilles) producteurs d'acide sulfurique (Blais *et al.* 1993b; Sreekrishnan *et al.* 1993).

Par ailleurs, le pH des boues primaires (CUQ) et mixtes (VC) traitées par le procédé CASD augmente progressivement durant les 10 premiers jours d'opération, puis se stabilise dans les 10 derniers jours. Cette hausse du pH des boues peut être associée à une forte activité endogénique avec protéolyse pour ces boues initialement très peu digérées. Dans le cas des boues secondaires (BV) digérées partiellement (boues activées à aération prolongée), la hausse du pH est de moindre durée, soit environ 5 jours, puis est suivie par une acidification progressive résultant probablement du processus de nitrification.

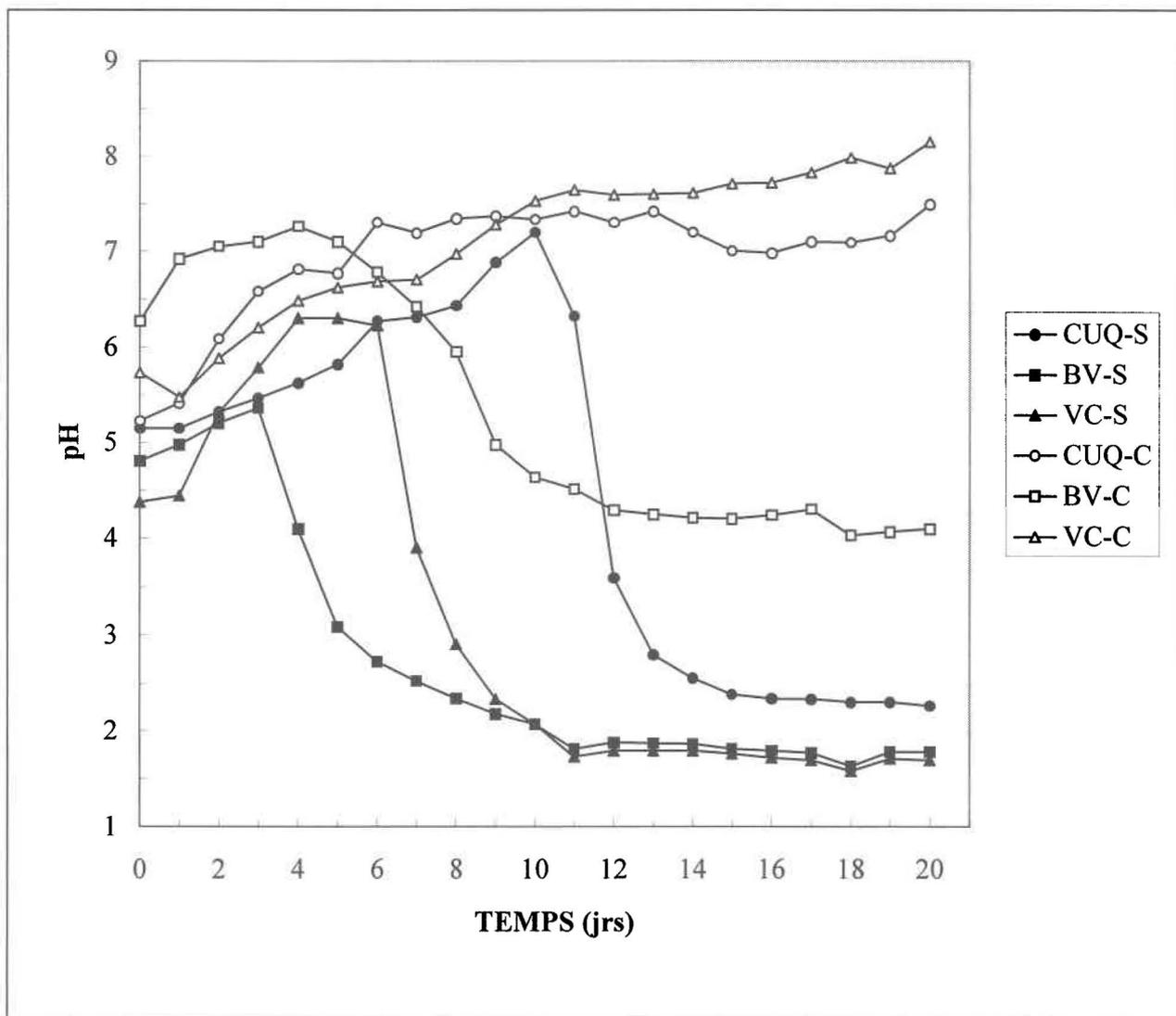
Le POR étant fonction en bonne partie du pH, il est normal de constater que le POR initial et final des boues subissant le procédé SSDML (initial: 4 à 81 mV et final: 467 à 521 mV) est plus élevé que celui des boues traitées par le procédé CASD (initial: -74 à 4 mV et final: -24 à 301 mV) (Tableau 1). La Figure 2 montre d'ailleurs la fluctuation du POR des boues lors des essais des procédés SSDML et CASD menés en mode cuvée. En plus du pH, le POR qui mesure

l'état d'oxydation général du système, est influencé par le rapport  $Fe^{3+}/Fe^{2+}$  ainsi par la concentration en oxygène dissous du milieu (Desjardins et Lessard 1992a; Pesic *et al.* 1989). Les valeurs de POR plus élevées pour les boues traitées par le procédé SSDML comparativement au procédé CASD s'expliquent aussi par l'oxydation biologique du fer solubilisé lors de l'acidification des boues. L'oxydation de l'ion ferreux en milieu acide est catalysé par la bactérie *Thiobacillus ferrooxidans* qui fait partie de la microflore indigène des boues d'épuration municipales (Blais *et al.* 1993c).

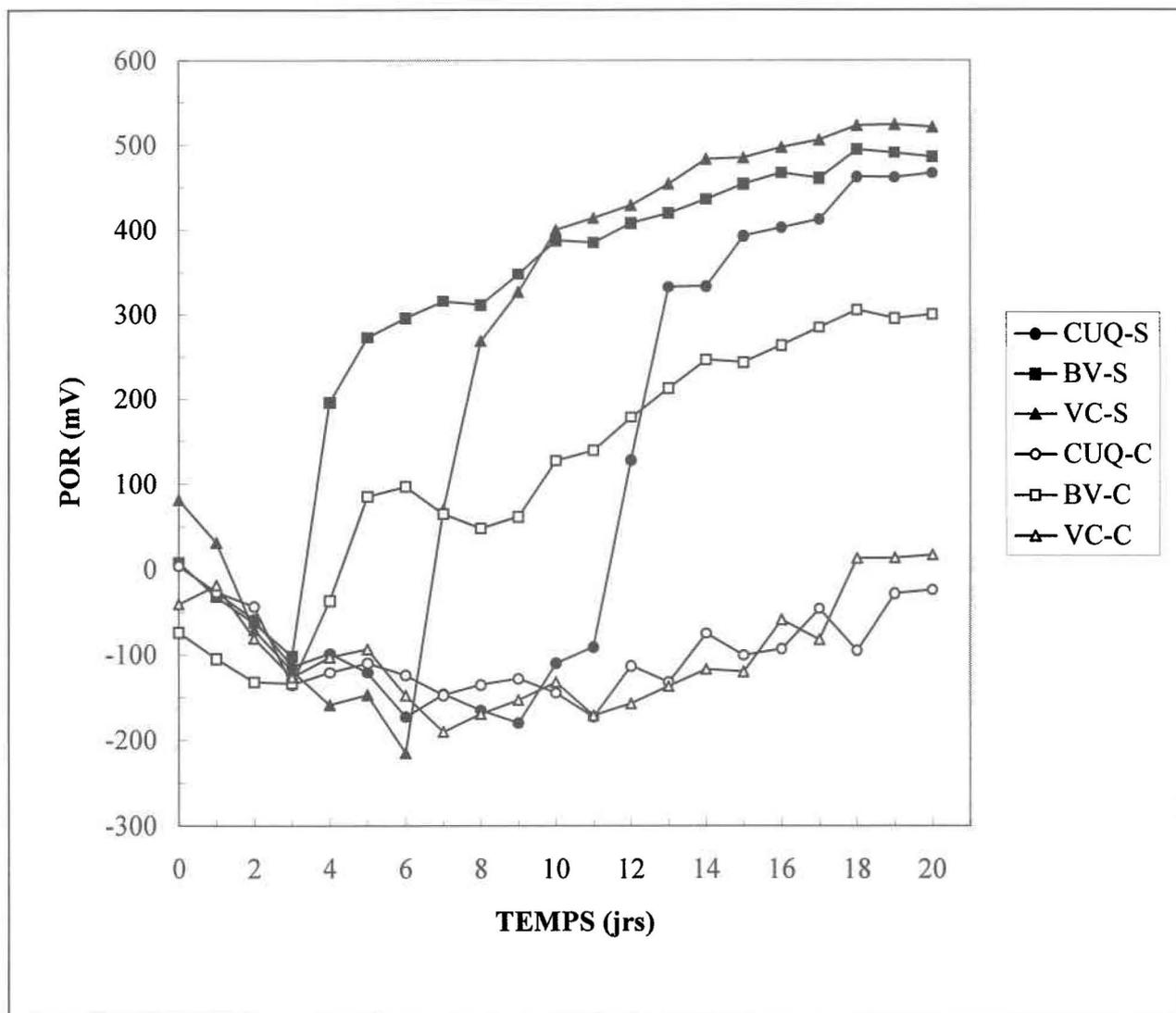
Les teneurs moyennes en oxygène dissous, calculées sur l'ensemble des mesures quotidiennes, dans les boues traitées par le procédé SSDML sont un peu supérieures (4.2 à 5.8 mg/L) à celles observées dans les boues subissant le procédé CASD (2.8 à 4.0 mg/L) (Tableau 1). Ce phénomène s'explique assez aisément par une baisse importante de l'activité de la flore microbienne suite à l'application des conditions acides et oxydantes prévalant lors de l'opération du procédé SSDML. Cette chute de l'activité microbienne est d'ailleurs confirmée dans une section ultérieure, par la réduction dramatique des diverses espèces microbiennes hétérotrophes composant la microflore des boues.

**Tableau 1 Variations du pH, du POR, de la température et de l'oxygène dissous des boues lors de l'opération en mode cuvée des procédés SSDML et CASD**

Paramètres	Procédé SSDML			Procédé CASD		
	CUQ	BV	VC	CUQ	BV	VC
pH initial	5.14	4.80	4.37	5.22	6.27	5.73
pH final	2.26	1.78	1.69	7.49	4.10	8.15
POR initial	4	8	81	4	-74	-41
POR final	467	486	521	-24	301	17
T (°C)	23.0 ± 0.7	23.3 ± 0.5	24.2 ± 0.7	23.5 ± 0.5	23.4 ± 0.4	23.3 ± 1.1
O.D. (mg/L)	4.2 ± 1.9	4.8 ± 1.7	5.8 ± 2.4	2.8 ± 0.9	4.0 ± 1.8	3.3 ± 1.7



**Figure 3** Profil temporel du pH des boues lors de l'opération en mode cuvée des procédés SSDML et CASD



**Figure 4** Profil temporel du POR des boues lors de l'opération des procédés SSDML et CASD en mode cuvée

### 3.2 Conditions opératoires en mode continu du procédé SSDML

Les premières recherches portant sur le procédé SSDML ont été réalisées en mode d'opération cuvée (Benmoussa *et al.* 1994; Blais *et al.* 1992b). En effet, cette technologie comprenait initialement deux étapes successives, soit une étape de digestion aérobie des boues, suivie de l'étape de solubilisation des métaux lors de l'acidification des boues, à pH près de 2.0, par la microflore indigène des boues oxydant le soufre élémentaire ajouté en acide sulfurique (Blais *et al.* 1992a, 1993b). Ainsi, compte-tenu du peu d'activité biologique mesurée normalement à pH très acide (< 2.5), il semblait peu envisageable de pouvoir opérer le procédé SSDML en mode semi-continu ou continu, donc en milieu constamment acide.

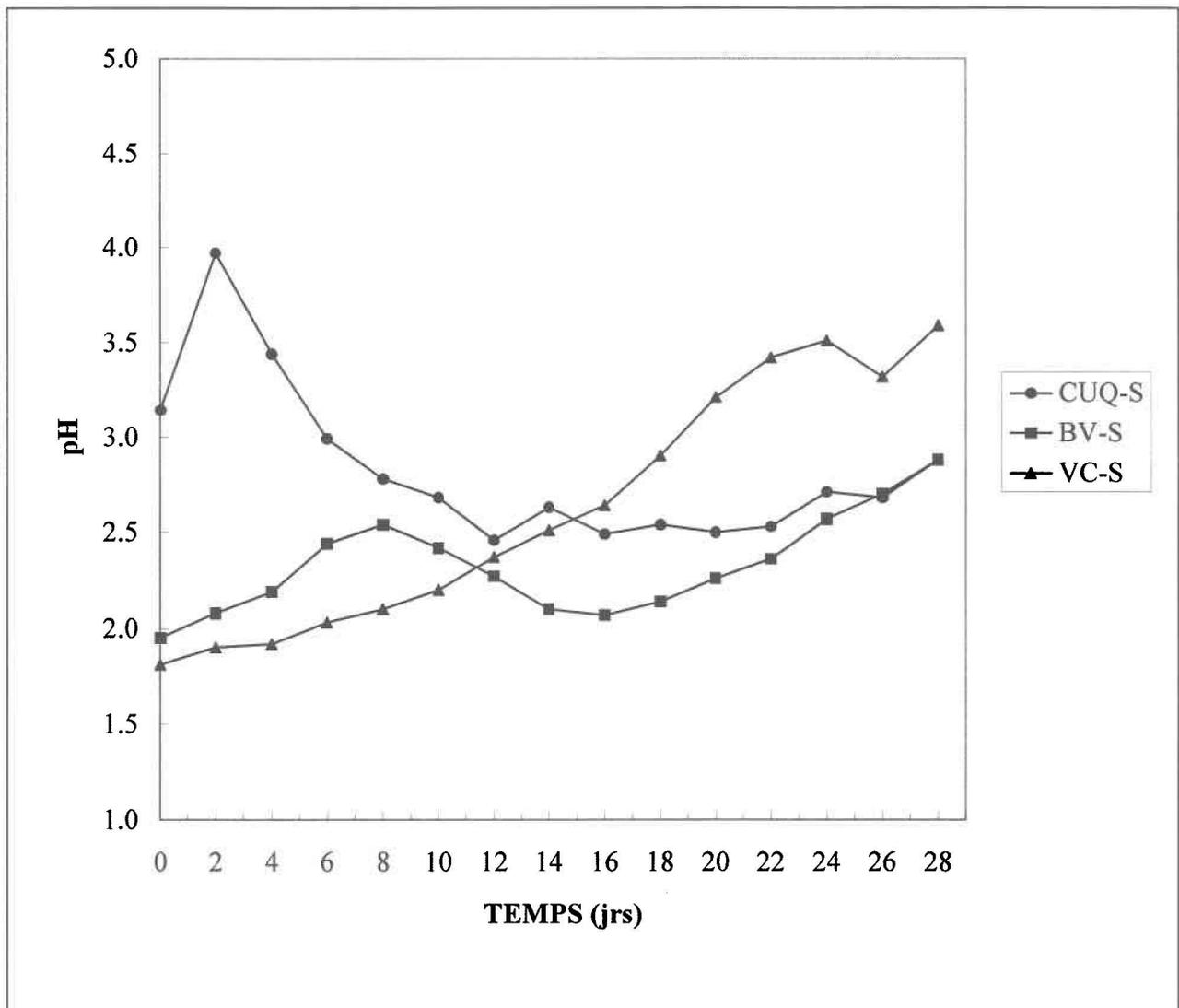
Toutefois, les études récentes portant sur l'opération en mode cuvée du procédé SSDML ont montré que le processus de digestion des boues se poursuit malgré l'acidification prononcée des boues à des pH voisins de 2.0 (Tyagi *et al.* 1993b). L'étude du procédé SSDML à pH constant a démontré que les cinétiques de réduction des solides des boues à pH acide (2.0-2.5), sont comparables à celles mesurées à des pH près de la neutralité (Blais *et al.* 1996). Dès lors, l'opération en mode semi-continu ou continu du procédé SSDML est apparue possible.

Lors des essais du procédé SSDML en mode continu, les variations du pH et du POR (Figures 3 et 4) montrent une certaine instabilité dans les conditions d'équilibre des bioréacteurs. Ainsi, un accroissement initial suivi par une diminution et une stabilisation du pH à 2.5 a été dénoté pour les boues primaires (CUQ), alors que pour les boues mixtes (VC) une augmentation progressive du pH, de 1.8 à 3.6 a été observée. Pour ce qui est des boues secondaires (BV), une hausse progressive du pH, de 2.1 à 2.9, a été observée à partir du quatorzième jour de l'essai.

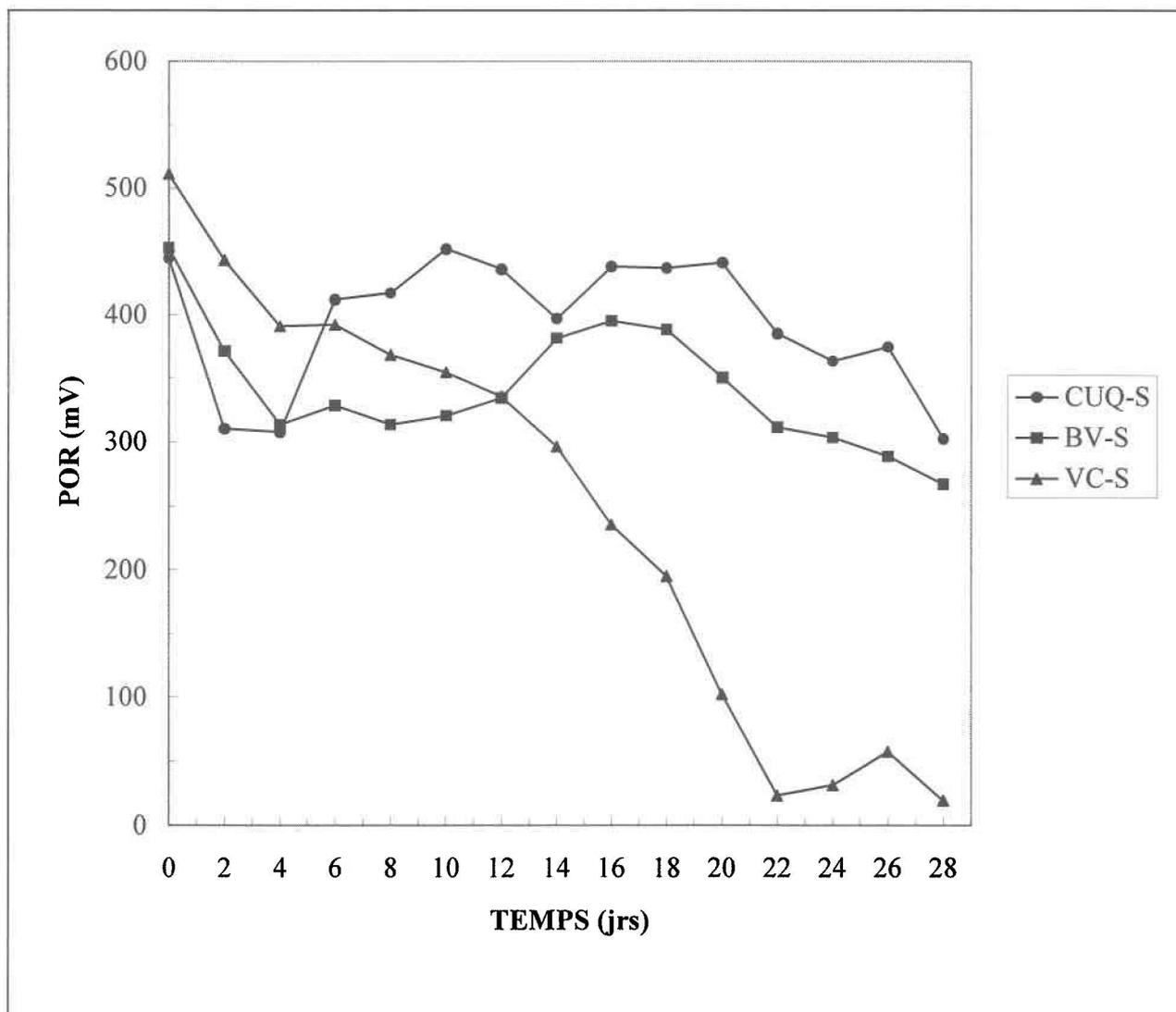
Les profils de POR présentés à la Figure 4 montrent que les conditions oxydantes du milieu ont diminué quelque peu en ce qui concerne les boues primaires (CUQ) et les boues secondaires (BV). Une baisse substantielle du POR a été notée dans le cas des boues mixtes (VC). Le Tableau 2 présente les valeurs moyennes de pH et de POR mesurées lors des essais. Le temps de rétention hydraulique (TRH) présenté au Tableau 2 a été calculé à partir de la quantité totale de boues traitées durant la période d'essai de 28 jours. Une période d'essai plus longue aurait sans doute permis de mieux stabiliser les conditions d'opération et de performance des bioréacteurs. De même, l'utilisation d'un TRH plus grand aurait également favorisé le maintien de l'activité de la microflore indigène oxydant le soufre en acide sulfurique.

**Tableau 2 Conditions opératoires moyennes du procédé SSDML en mode continu**

<b>Paramètres</b>	<b>CUQ</b>	<b>BV</b>	<b>VC</b>
TRH (jours)	26.1	14.9	22.0
pH moyen	2.83 ± 0.30	2.33 ± 0.21	2.63 ± 0.56
POR (mV)	394 ± 43	341 ± 39	250 ± 145



**Figure 5 Profil temporel du pH des boues lors de l'opération du procédé SSDML en mode continu**



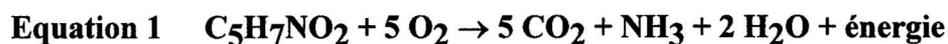
**Figure 6** Profil temporel du POR des boues lors de l'opération du procédé SSDML en mode continu

### 3.3 Digestion des boues d'épuration

La réduction des solides des boues constitue un critère de performance de première importance dans l'évaluation des procédés de stabilisation et de digestion des boues d'épuration (Desjardins et Lessard 1992a; U.S. EPA 1979).

Deux types d'activités métaboliques prévalent lors du traitement des boues d'épuration par stabilisation aérobie. D'une part, l'anabolisme résulte de l'assimilation et de la transformation des composés simples en des constituants cellulaires. D'autre part, le catabolisme sert à fournir l'énergie nécessaire pour les activités métaboliques et pour le maintien des fonctions vitales des cellules.

Lorsque les substrats exogènes métabolisables sont en concentrations faibles dans le milieu, les cellules vont puiser dans leurs réserves intracellulaires, afin de pourvoir à leurs activités vitales. Ce phénomène, appelé *respiration endogène*, constitue le principe de base de la digestion aérobie. Ainsi, dans ces conditions de carence, les cellules oxydent leurs propres constituants. Une fois les réserves épuisées, les cellules meurent et se lysent, entraînant ainsi une libération de substrats dans le milieu, lesquels deviennent disponibles pour les cellules encore vivantes. Ce processus continu cause une réduction globale de la biomasse active et une minéralisation de la matière organique biodégradable. De façon simplifiée, l'activité métabolique de destruction de la biomasse en condition aérobie et en absence de bactéries nitrifiantes, peut s'exprimer par l'équation suivante :



La réduction des solides des boues constitue le paramètre le plus commun pour caractériser la qualité des boues effluentes des digesteurs aérobies et anaérobies. L'efficacité des procédés de digestion est généralement exprimée en termes de réduction des matières volatiles en suspension (MVES). Une réduction de 40 % des MVES est suggérée, par l'agence américaine de protection environnementale (U.S. EPA, 1979), comme critère standard de stabilité des boues d'épuration. Ce critère de qualité des boues peut toutefois être contesté puisque la portion biodégradable varie amplement (35 à 70 %) selon les boues produites (Desjardins et Lessard 1992a). L'application de ce critère d'efficacité peut donc s'avérer irréalisable dans certains cas et peu exigeant dans d'autres cas (Matsch et Drnevich 1977).

En système continu, un temps de rétention hydraulique de 12 à 16 jours est normalement employé pour le traitement aérobie des boues secondaires, alors qu'une période de 18 à 22 jours est requise pour une stabilisation adéquate de mélanges de boues primaires et secondaires (Reynolds 1982).

Le Tableau 3 présente le bilan de réduction des matières en suspension pour les procédés SSDML et CASD opérés en mode cuvée. Les cinétiques de réduction des matières en suspension (MES et MVES) montrent que le procédé SSDML est aussi performant que le procédé CASD pour la réduction des solides.

En fait, la cinétique de réduction des MES et des MVES des boues primaires (CUQ) est plus grande pour le procédé CASD (2.6 et 3.2 %/jr) que pour le procédé SSDML (2.3 %/jr). Toutefois, pour les deux autres types de boues, soient les boues secondaires (BV) et les boues

mixtes (VC), la diminution des matières en suspension totales et volatiles est plus rapide avec le procédé SSDML (1.6 à 1.8 %/jr) qu'avec le traitement CASD (0.8 à 1.5 %/jr).

Le bilan de réduction des matières en suspension lors des essais du procédé SSDML en mode continu est montré au Tableau 4. Les taux de diminution des MES et MVES des boues secondaires (BV) s'avèrent supérieurs (2.3 et 2.5 %/jr) à ceux mesurés en mode d'opération cuvée (1.6 et 1.8 %/jr). Par contre, la réduction des MES et MVES est plus faible en mode continu pour les boues mixtes (VC) et est inexistante dans le cas des boues primaires (CUQ). Ce phénomène s'explique par les conditions d'acidité insuffisantes appliquées à ces boues, lors de l'opération en mode continu du procédé SSDML, soit un pH moyen de  $2.83 \pm 0.30$  pour les boues primaires et  $2.63 \pm 0.56$  pour les boues mixtes. En comparaison, un pH moyen de  $2.33 \pm 0.21$  a été mesuré dans le cas des boues secondaires.

Les études antérieures portant sur l'opération du procédé SSDML en mode cuvée ont démontré que la réduction des solides des boues s'effectue tout au long de la période de traitement, c'est à dire à pH neutre et à pH acide (Benmoussa *et al.* 1994; Tyagi *et al.* 1993b). De plus, des essais chimiques de digestion des boues en milieu acide ont mis en évidence que l'acidification des boues à pH 2.0 à 2.5 entraîne une digestion partielle et rapide des boues, associée à une activité chimique d'hydrolyse et de minéralisation de la matière organique (Meunier *et al.* 1996). Toutefois, une fraction non-négligeable de la réduction des solides des boues peut être attribuée à une activité biologique de respiration endogène lors d'une incubation prolongée des boues en milieu acide. Une chute importante des cinétiques de réduction des solides est notée lorsque les boues sont maintenues à des pH supérieurs à 2.5.

Une partie de la diminution des MES et MVES mesurée lors de l'opération du procédé SSDML résulte de la mise en solution des matières solides des boues. Toutefois, les études précédentes ont démontré que la solubilisation de la matière organique et des éléments nutritifs des boues demeure faible, lorsque le pH final des boues est maintenu supérieur à 1.8 (Tyagi *et al.* 1993b). Il faut également considérer que le traitement des boues dans les conditions d'acidité rencontrées lors de l'opération du procédé SSDML permettent une destruction très efficace des indicateurs bactériens et viraux de pathogènes, laquelle est nettement supérieure à celle observée lors des digestions aérobie et anaérobie mésophiles (Blais *et al.* 1992b; Shooner *et al.* 1992).

**Tableau 3 Bilan de réduction des matières en suspension des boues lors de l'opération en mode cuvée des procédés SSDML et CASD**

		Procédé SSDML			Procédé CASD		
		CUQ	BV	VC	CUQ	BV	VC
MES	initial (g/L)	18.6	26.2	18.4	16.6	26.2	18.2
	final (g/L)	10.0	17.8	12.0	8.0	21.8	14.0
	<i>réd. (%/jr)</i>	<i>2.3</i>	<i>1.6</i>	<i>1.7</i>	<i>2.6</i>	<i>0.8</i>	<i>1.2</i>
MVES	initial (g/L)	13.0	12.6	14.6	12.4	12.2	13.6
	final (g/L)	7.0	8.2	9.8	4.6	9.2	9.6
	<i>réd. (%/jr)</i>	<i>2.3</i>	<i>1.8</i>	<i>1.6</i>	<i>3.2</i>	<i>1.2</i>	<i>1.5</i>

**Tableau 4 Réduction des matières en suspension des boues lors de l'opération en mode continu du procédé SSDML**

<b>Solides</b>		<b>CUQ</b>	<b>BV</b>	<b>VC</b>
MES	initial (g/L)	15.3 ± 1.7	34.9 ± 6.2	19.6 ± 3.3
	final (g/L)	15.0 ± 1.5	23.2 ± 0.8	15.7 ± 1.5
	<i>réduction (%/jr)</i>	0.0	2.3	0.9
MVES	initial (g/L)	10.7 ± 1.2	18.3 ± 3.2	15.7 ± 2.5
	final (g/L)	10.9 ± 1.0	11.6 ± 0.7	12.4 ± 1.2
	<i>réduction (%/jr)</i>	0.0	2.5	1.0

### 3.4 Biolixiviation des métaux lourds

Le but original visé par le développement du procédé SSDML était de mettre au point une technologie efficace pour l'enlèvement des métaux lourds présents dans les boues d'épuration municipales et qui limitent leur utilisation comme fertilisant en agriculture.

Les Tableaux 5 et 6 présentent les teneurs initiales en métaux lourds dans les boues d'épuration, ainsi que les rendements de solubilisation atteints au terme des essais du procédé SSDML en mode cuvée, ainsi que les moyennes de ceux obtenus dans les boues traitées en mode continu.

Les teneurs limites en métaux lourds prescrites par le Gouvernement du Québec (1991) pour l'application des boues d'épuration sur les terres agricoles sont les suivantes: Cd: 15, Cr: 1000, Cu: 1 000, Mn: 3 000, Ni: 180, Pb: 500 et Zn: 2 500 mg/kg de boues sèches. Les trois boues employées dans cette étude respectaient initialement ces normes en métaux lourds. Quoiqu'il en soit, l'utilisation du procédé SSDML permet de diminuer appréciablement les teneurs en métaux toxiques dans ces boues, ce qui rehausse en soit leur valeur comme fertilisant.

En mode cuvée (Tableau 5), les rendements de solubilisation des métaux varient de 24 à 100 % pour le cadmium, de 5 à 37 % pour le chrome, de 41 à 94 % pour le cuivre, de 68 à 88 % pour le manganèse, de 26 à 47 % pour le nickel, de 5 à 27 % pour le plomb et de 82 à 100 % pour le zinc. En mode continu (Tableau 6), bien que les conditions acides et oxydantes ne soient pas optimales, des rendements moyens intéressants de solubilisation des métaux sont mesurés: Cd: 31 à 67 %, Cr: 4 à 24 %, Cu: 39 à 57 %, Mn: 18 à 77 %, Ni: 7 à 46 %, Pb: 8 à 12 % et Zn: 83 à 91 %.

Il faut noter que les métaux solubilisés lors de l'application du procédé SSDML sont précipités et récupérés après déshydratation des boues. L'utilisation de ce procédé de décontamination nécessite donc l'emploi d'équipements de déshydratation résistants à la corrosion, ainsi que l'intégration d'un circuit de précipitation des métaux et de neutralisation des lixiviats (filtrats ou surnageants de la déshydratation des boues). Ces divers aspects techniques ont d'ailleurs été discutés par Couillard et Mercier (1992a, b).

**Tableau 5** Concentration initiale et solubilisation des métaux lourds des boues lors de l'opération en mode cuvée du procédé SSDML

Métaux	CUQ		BV		VC	
	Conc.	Solub.	Conc.	Solub.	Conc.	Solub.
	(mg/kg)	(%)	(mg/kg)	(%)	(mg/kg)	(%)
Cd	2.56	24.4	1.61	100	2.58	100
Cr	130	5.1	91.4	36.6	69.8	26.3
Cu	385	41.4	219	81.0	638	93.8
Mn	311	68.3	1 650	88.0	421	86.6
Ni	36.4	43.8	54.4	46.9	37.4	25.9
Pb	113	4.7	19.2	15.9	93.8	26.7
Zn	1 020	81.6	407	96.8	441	100

**Tableau 6 Concentration initiale et solubilisation des métaux lourds des boues lors de l'opération en mode continu du procédé SSDML**

Métaux	CUQ		BV		VC	
	Conc. (mg/kg)	Solub. (%)	Conc. (mg/kg)	Solub. (%)	Conc. (mg/kg)	Solub. (%)
Cd	4.81	67 ± 22	2.03	66 ± 15	4.15	31 ± 37
Cr	706	4 ± 3	95.7	24 ± 7	69.8	8 ± 12
Cu	232	54 ± 8	219	57 ± 12	754	39 ± 43
Mn	290	66 ± 15	1 490	77 ± 18	520	18 ± 28
Ni	39.0	46 ± 13	50.0	38 ± 10	31.3	7 ± 10
Pb	49.0	8 ± 4	11.0	12 ± 9	76.0	10 ± 10
Zn	667	87 ± 4	403	91 ± 6	505	83 ± 14

### 3.5 Caractérisation de la microflore hétérotrophe

Le suivi des populations microbiennes hétérotrophes aérobies dans les boues a été effectué dans le cas des trois types de boues traitées en mode cuvée par le procédé de digestion aérobie conventionnelle (CASD), ainsi que par le procédé simultané de biolixiviation des métaux et de digestion des boues d'épuration (SSDML). De même, la fluctuation des diverses populations microbiennes dans les boues traitées par le procédé SSDML opéré en mode continu a été évaluée.

Les genres microbiens retrouvés lors de notre étude sont similaires aux genres retrouvés par Witthauer en 1980. Par contre, contrairement aux études de Harrison en 1983 et 1984, aucun *Thiobacillus* peu acidophile ainsi qu'aucun micro-organisme hétérotrophe acidophile appartenant aux genres: *Acidiphilium*, *Aspergillus* et *Flavobacterium* n'a été retrouvé lors de la caractérisation de la flore des différentes boues.

Les Figures 5 à 7 présentent les variations des décomptes microbiens sur les divers milieux de culture, effectués lors des essais en mode cuvée. Une diminution lente et continue des populations dénombrées sur les cinq milieux de culture a été observée dans les trois boues traitées par le procédé CASD. Dans ce cas, la microflore initiale des trois boues est composée principalement par des micro-organismes non-acidophiles. En effet, les concentrations initiales des micro-organismes mesurées sur les milieux PDA et TSBYE variaient entre  $8 \times 10^5$  et  $4 \times 10^7$  UFC/mL, alors que les comptes initiaux sur les milieux acidifiés à pH 2.5 (PDA-2.5, GTS-2.5 et MTS-2.5) se situaient entre  $2 \times 10^3$  et  $4 \times 10^4$  UFC/mL.

Dans le cas des boues traitées en mode cuvée par le procédé SSDML, une baisse subite des populations dénombrées sur les milieux PDA et TSBYE a été notée lors de l'acidification des boues. Parallèlement à cette baisse, une hausse des décomptes de micro-organismes acidophiles a été constatée lors de la réduction du pH des boues. Dans les boues acidifiées, les concentrations de micro-organismes retrouvées sur les milieux acidifiées et non-acidifiées sont pratiquement semblables et évoluent à la hausse, particulièrement pour les boues primaires de la CUQ et les boues mixtes de Valcartier.

La caractérisation de la microflore retrouvée sur les divers milieux de culture a permis de mieux comprendre le comportement des différentes populations microbiennes lors de l'opération en mode cuvée des procédés CASD et SSDML. Les Figures 8 à 10 montrent d'ailleurs l'équilibre des principaux genres de micro-organismes retrouvés dans les trois boues. Ainsi, de manière semblable aux décomptes totaux effectués sur les milieux de culture, une diminution progressive des diverses populations de micro-organismes a été observée dans les boues traitées par le procédé CASD. Toutefois, il faut souligner le comportement particulier des bactéries du genre *Klebsiella*, (*K. pneumoniae* et *K. oxytoca*) dont le décompte baisse brutalement dans les trois boues. Cette baisse est due au fait que ce genre bactérien est plus sensible au pH acide. De même, il faut noter l'augmentation des populations de moisissures dans les boues mixtes de Valcartier qui elles sont favorisées à pH acide.

Les essais microbiologiques démontrent également qu'il y a une destruction de la flore microbienne hétérotrophe aérobie, suite à l'acidification des boues survenant lors de l'opération en mode cuvée du procédé SSDML. À partir de ce moment, il y a une uniformisation de la flore microbienne. L'observation du Tableau 7 montre en effet que seul deux types de micro-

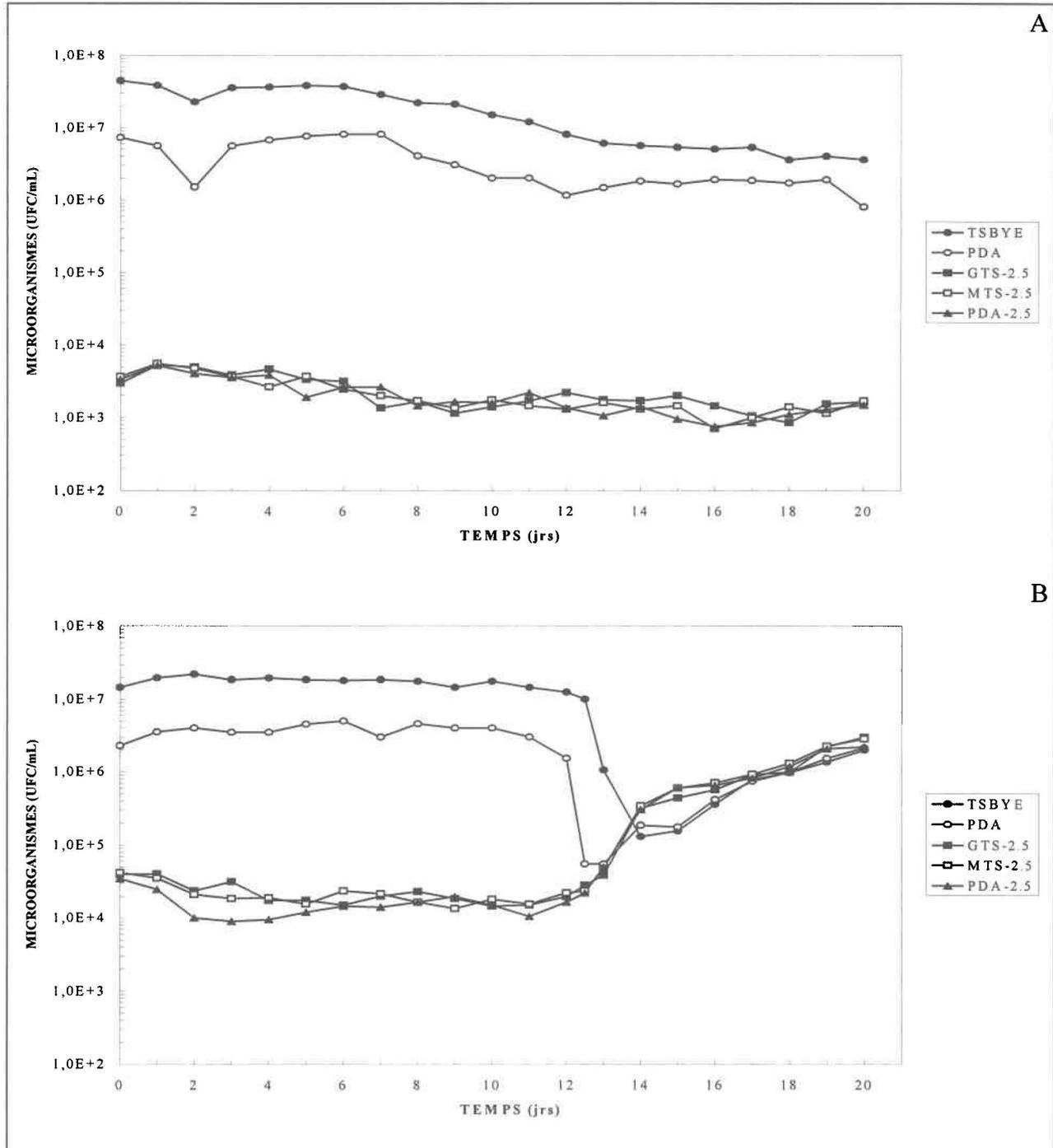
organismes subsistes à l'application du procédé SSDML, soit principalement la levure *Blastoschizomyces capitatus*, ainsi qu'une moisissure non-identifiée. Une hausse importante de la concentration de cellules viables de *B. capitatus* a d'ailleurs été notée dans les trois boues testées et correspond à la hausse des populations microbiennes constatée sur les divers milieux de culture.

Les levures et les moisissures sont des micro-organismes très versatiles, pour lesquels il a été démontré que plusieurs espèces peuvent résister à des pH acides et à des conditions de milieux extrêmes (Lodder et Kreger-Van Rij, 1967; Rossi et Arst 1990). Ainsi, les essais de croissance qui ont été menés démontrent que *B. capitatus* croît aussi bien dans les cinq milieux de culture utilisés et donc en milieux acide et neutre. Peu de renseignements sont disponibles concernant la physiologie et le métabolisme de ce micro-organisme. Toutefois, il appert que cette levure assimile le glucose et le galactose, mais ne fermente aucun sucre (Lodder et Kreger-Van Rij, 1967; Warren et Shadomy, 1991).

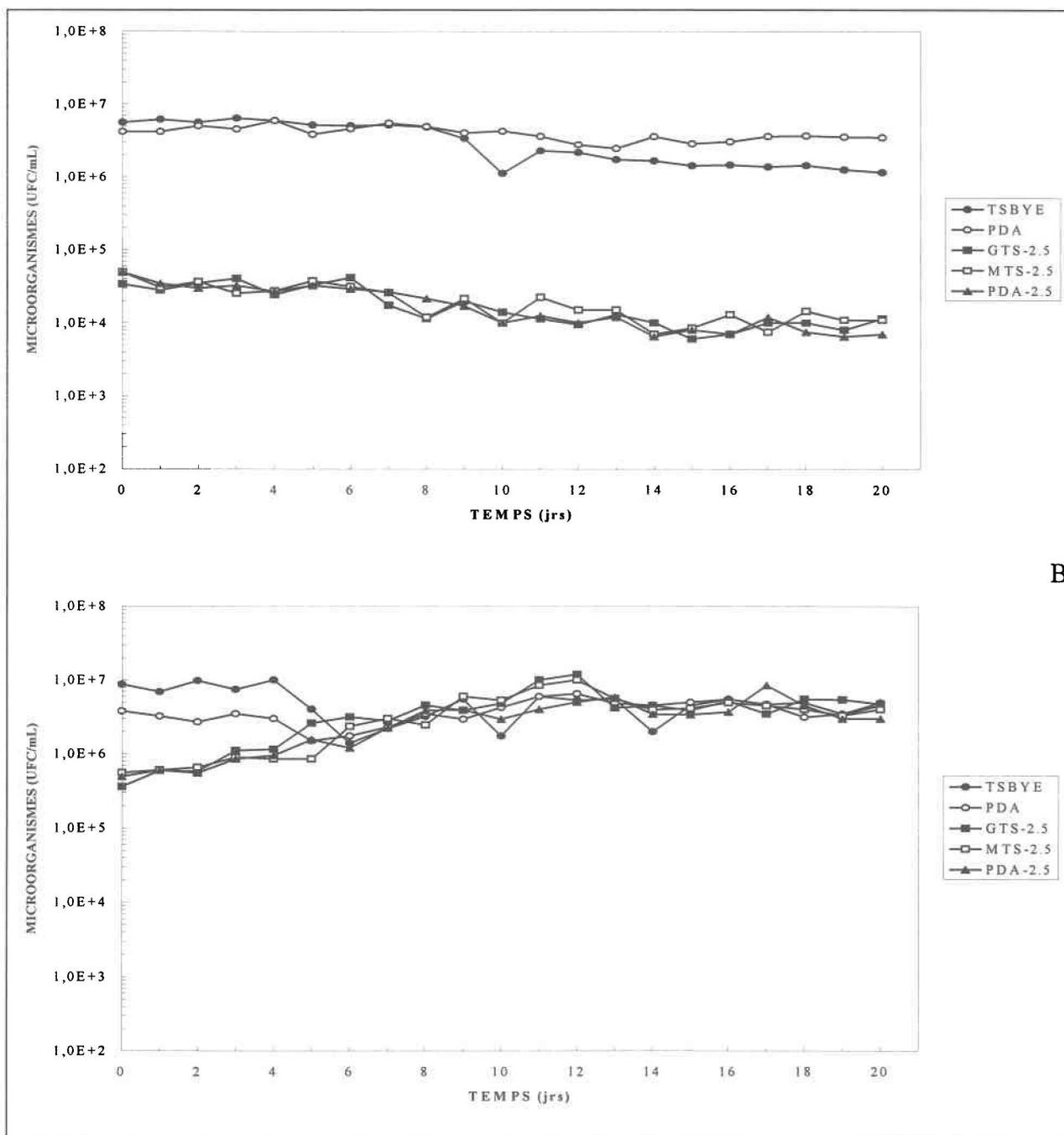
L'étude microbiologique des boues traitées en mode continu par le procédé SSDML corrobore le comportement de la microflore hétérotrophe dénotée en mode cuvée. En effet, comme le démontre le Tableau 8, seul la levure *B. capitatus* et une moisissure ont été retrouvées dans les effluents acides finaux des bioréacteurs opérés en mode continu. Les Figures 11 et 12 illustrent d'ailleurs l'équilibre de ces populations microbiennes au long des essais. Tout comme pour les essais en mode cuvée, une croissance significative de la levure *B. capitatus* a été remarquée lors de l'opération du procédé SSDML en mode continu. La prolifération des populations de moisissures est nettement moins accentuée que pour la levure. D'ailleurs, les

concentrations de moisissures dans l'effluent des boues primaires de la CUQ étaient inférieures à  $1 \times 10^3$  UFC/mL.

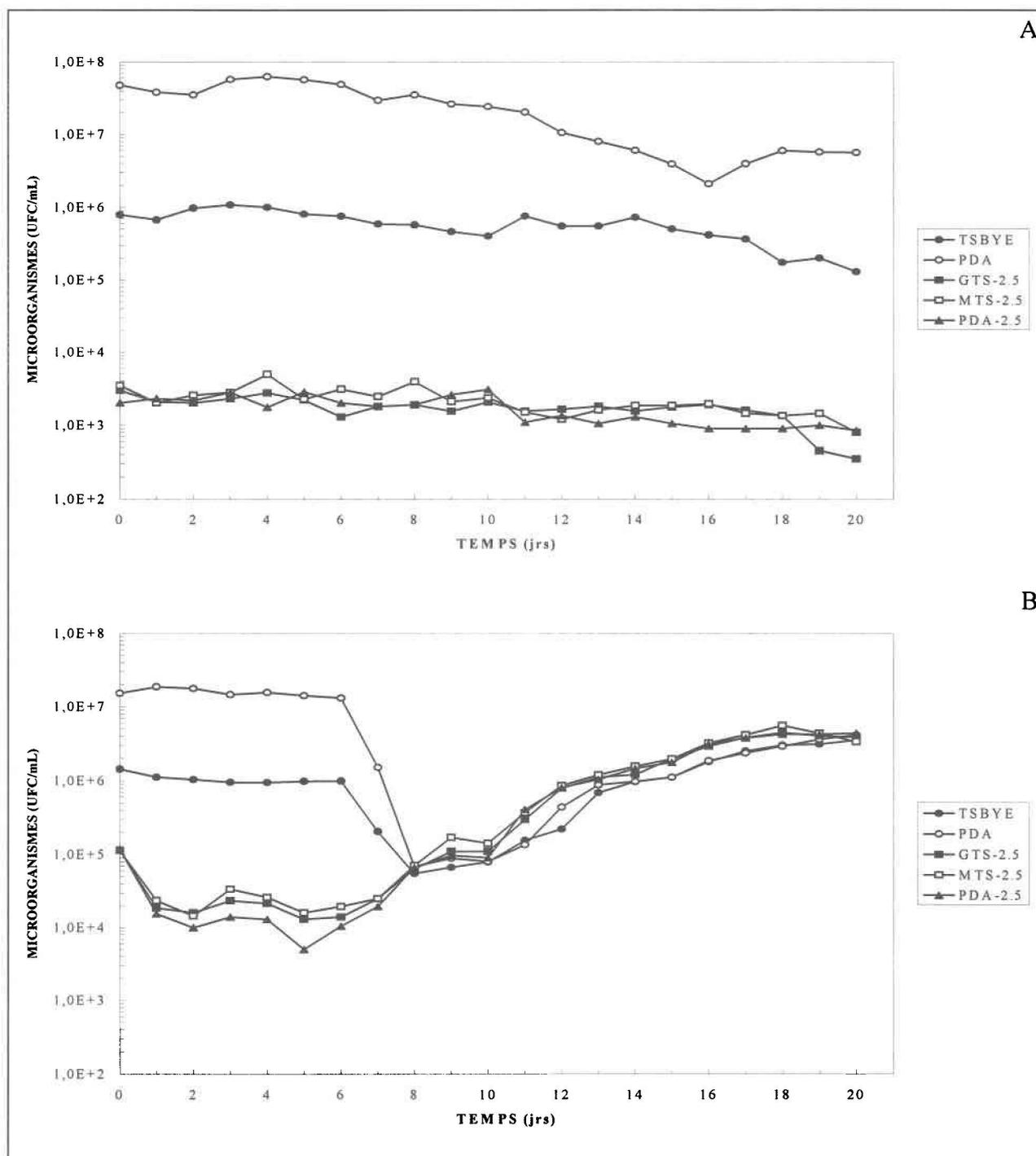
Nos résultats ne contredisent pas ceux de Cook et coll. (1970), lesquels retrouvaient aussi des levures et des moisissures dans leurs boues. Contrairement à eux, nous n'avons retrouvé que deux types de micro-organismes hétérotrophes acidophiles. Ces deux types comprennent une levure (*Blastoschizomyces capitatus*) et une moisissure non-identifiée. Il est connu que les types de micro-organismes retrouvés vont variés selon la composition chimique de l'eau usée et des conditions d'opération des boues. Ce qui peut expliquer, que nous avons retrouvé un nombre plus restreint de micro-organismes hétérotrophes acidophiles. Dans notre étude, nous observons que *Blastoschizomyces capitatus* et la moisissure survivent au procédé de biolixiviation-digestion. De plus, ces micro-organismes semblent être un atout important dans la digestion biologique des boues outre le fait de l'abaissement du pH. Car, ils sont acidorésistants et ils sont en mesure de dégrader la matière organique.



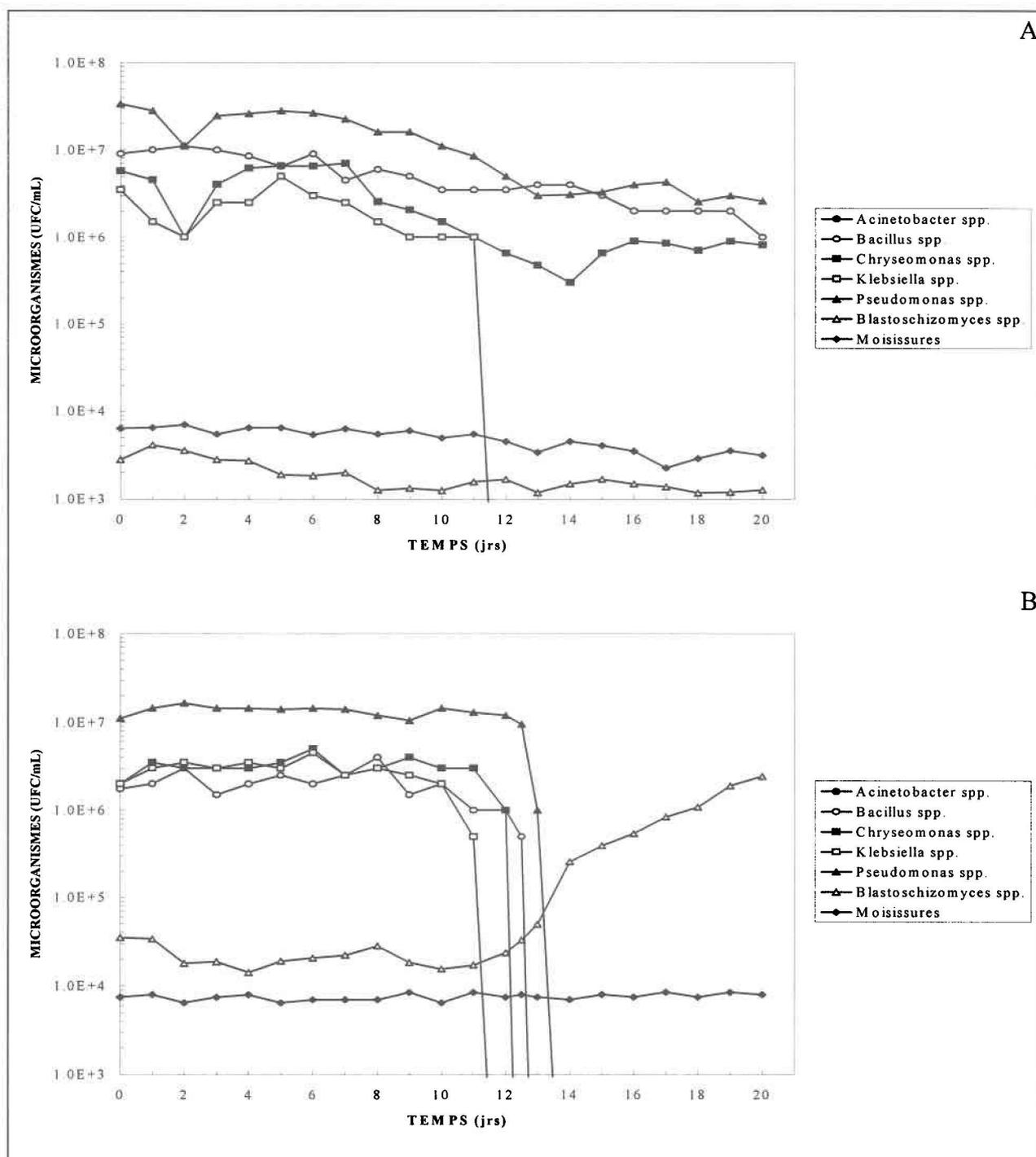
**Figure 7** Dénombrement par milieux de culture des micro-organismes présents dans les boues primaires de la CUQ lors de l'opération en mode cuvée. (A) procédé CASD, (B) procédé SSDML A



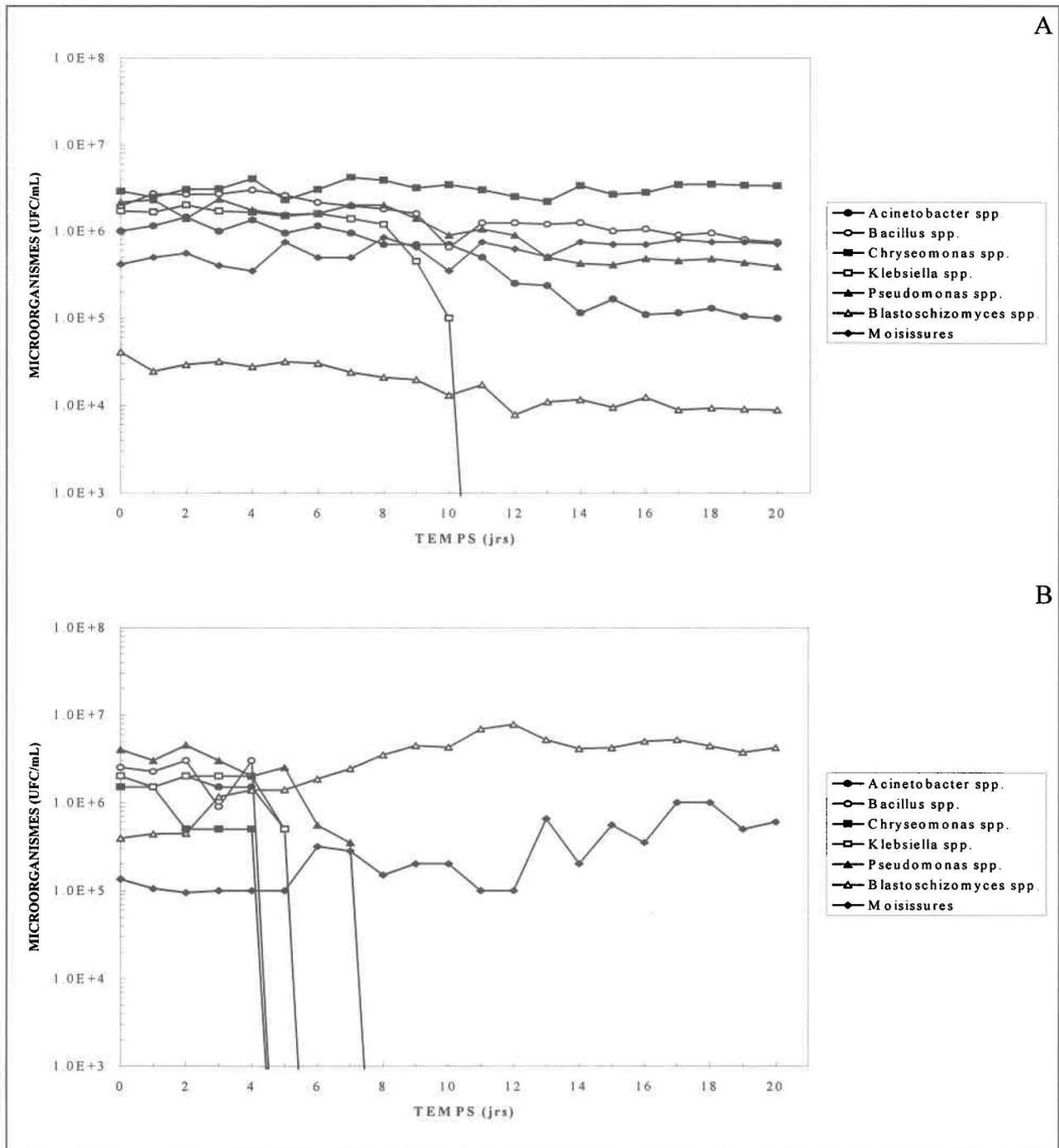
**Figure 8** Dénombrement par milieux de culture des micro-organismes présents dans les boues secondaires de Beauceville lors de l'opération en mode cuvée. (A) procédé CASD, (B) procédé SSDML



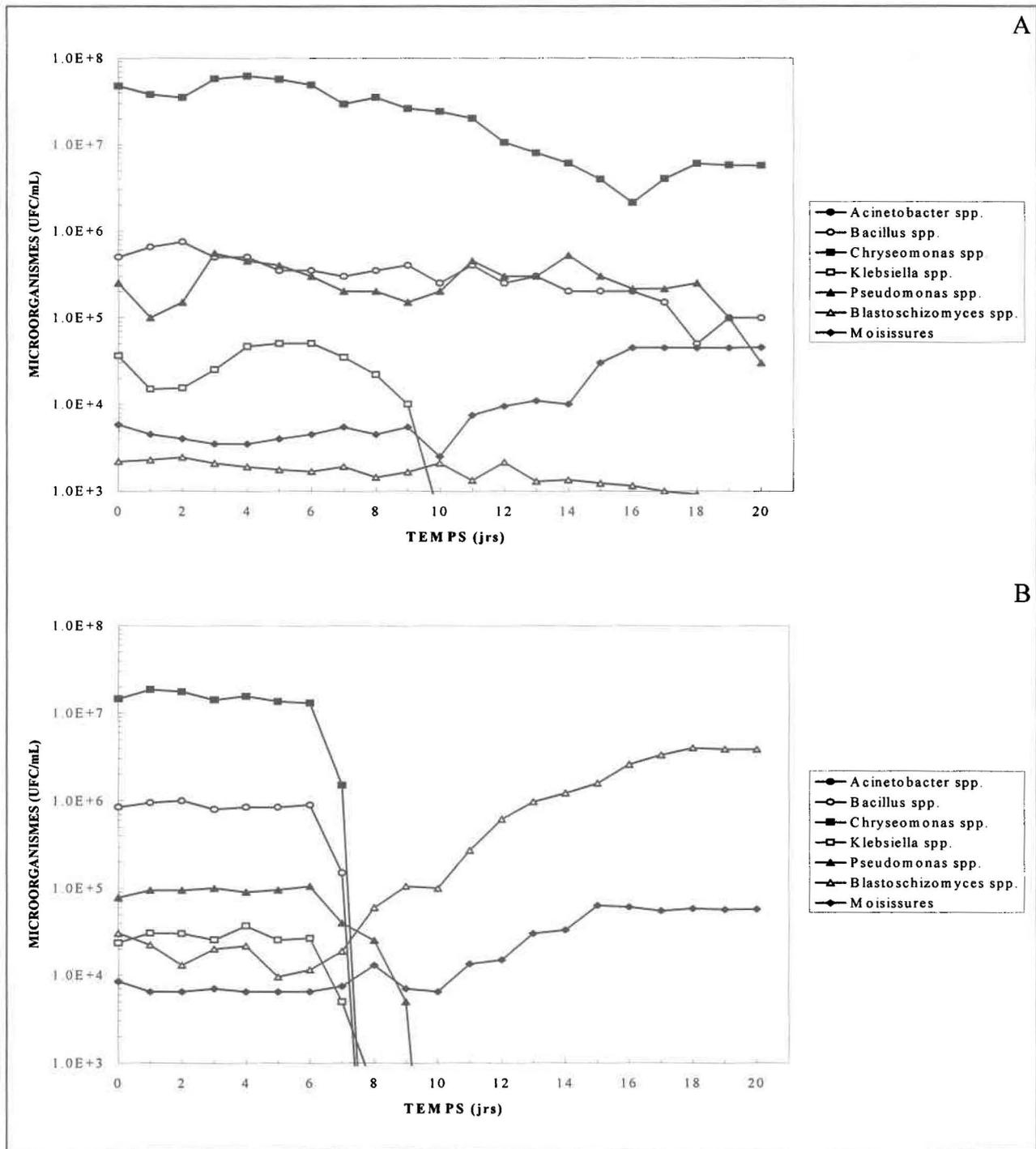
**Figure 9** Dénombrement par milieux de culture des micro-organismes présents dans les boues mixtes de Valcartier lors de l'opération en mode cuvée. (A) procédé CASD, (B) procédé SSDML



**Figure 10** Dénombrement par genres microbiens des micro-organismes présents dans les boues primaires de la CUQ lors de l'opération en mode cuvée. (A) procédé CASD, (B) procédé SSDML



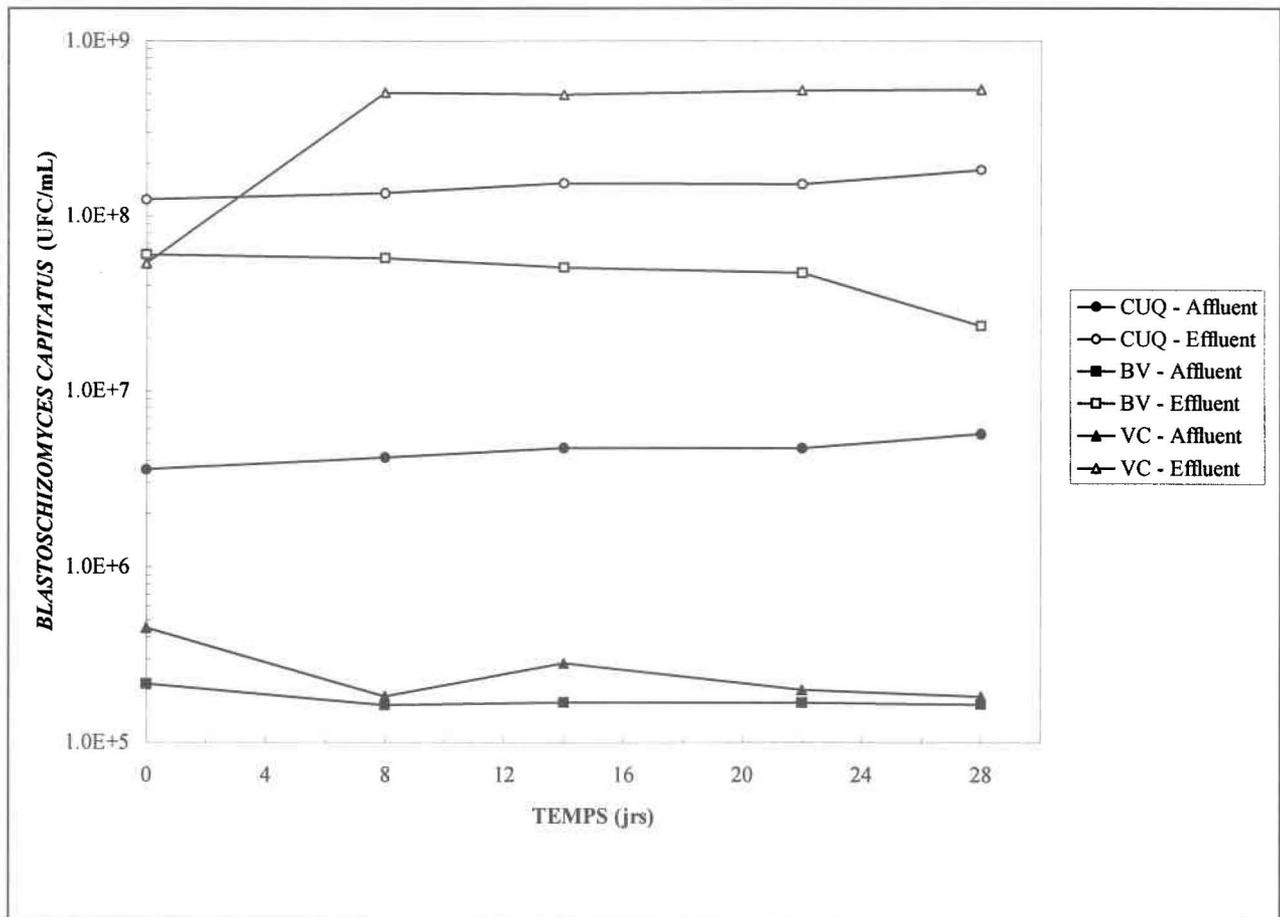
**Figure 11** Dénombrement par genres microbiens des micro-organismes présents dans les boues secondaires de Beauceville lors de l'opération en mode cuvée. (A) procédé CASD, (B) procédé SSDML



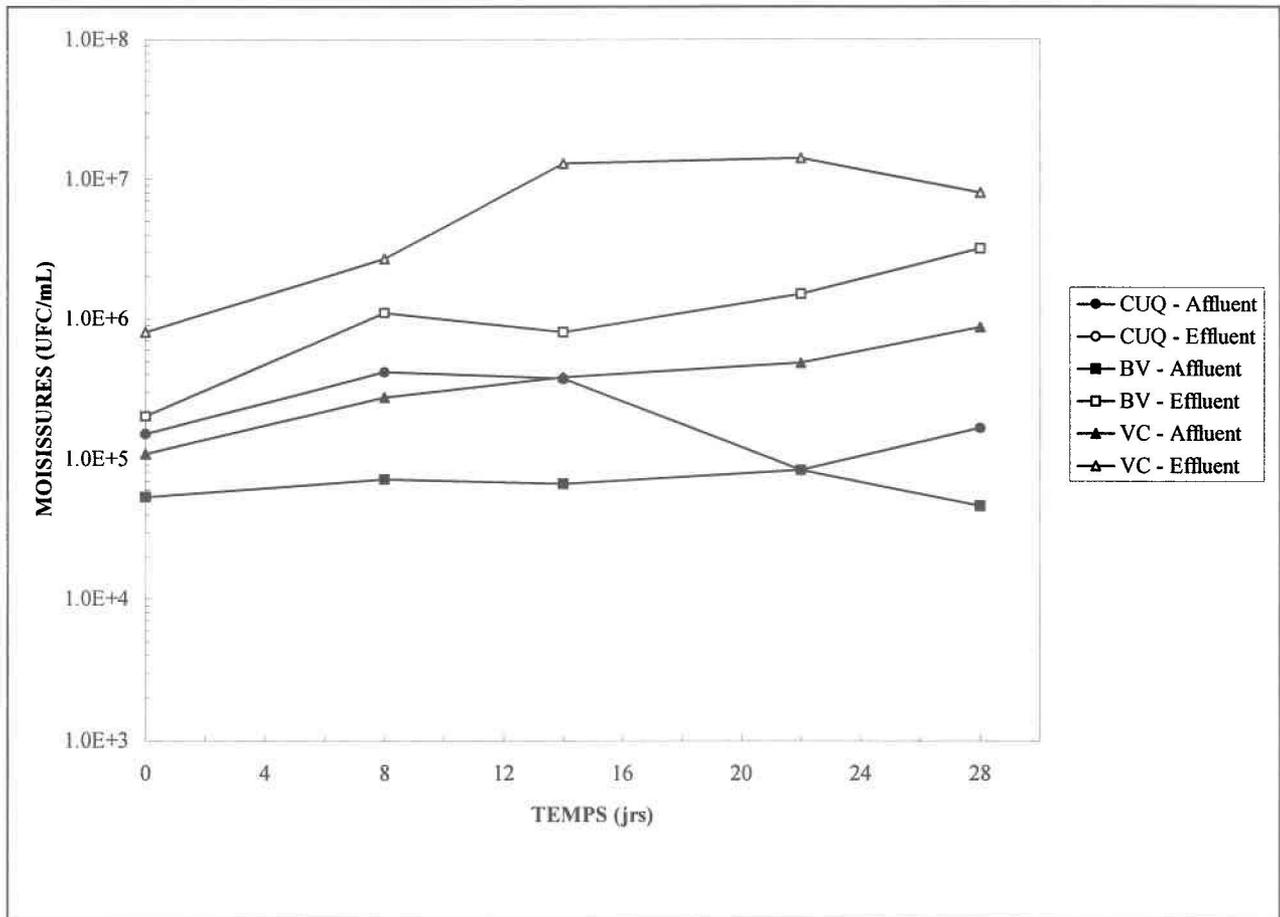
**Figure 12** Dénombrement par genres microbiens des micro-organismes présents dans les boues mixtes de Valcartier lors de l'opération en mode cuvée. (A) procédé CASD, (B) procédé SSDML

**Tableau 7 Identification de la présence des micro-organismes dans les boues lors de l'opération en mode cuvée du procédé SSDML**

Micro-organismes	Initial			Final		
	CUQ	BV	VC	CUQ	BV	VC
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	-	+	-	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	+	+	+	-	-	-
<i>Bacillus pumilus</i>	+	-	-	-	-	-
<i>Bacillus brevis/radius</i>	+	+	+	-	-	-
<i>Blastoschizomyces capitatus</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Chrysonomonas luteola</i>	+	+	+	-	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	+	-	-	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	+	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	+	-	-	-
<i>Pseudomonas cepacia</i>	+	+	-	-	-	-
<i>Pseudomonas paucimobilis</i>	+	+	+	-	-	-
<i>Pseudomonas putrefaciens</i>	+	-	+	-	-	-
<i>Pseudomonas testo./alcali.</i>	+	-	+	-	-	-
<i>Rhodotorula sp.</i>	-	-	+	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	-	+	-	-	-
Moisissures	+	+	+	+	+	+



**Figure 13** Fluctuations de la concentration de *Blastoschizomyces capitatus* dans les boues lors de l'opération en mode continu du procédé SSDML



**Figure 14** Fluctuations de la concentration de moisissures dans les boues lors de l'opération en mode continu du procédé SSDML

**Tableau 8 Identification de la présence des micro-organismes dans les boues lors de l'opération en mode continu du procédé SSDML**

Micro-organismes	Affluent			Effluent		
	CUQ	BV	VC	CUQ	BV	VC
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	-	+	-	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	+	+	+	-	-	-
<i>Bacillus pumilus</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus brevis/radius</i>	+	+	+	-	-	-
<i>Blastoschizomyces capitatus</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Chrysomonas luteola</i>	+	+	+	-	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	+	-	-	-
<i>Pseudomonas cepacia</i>	+	+	-	-	-	-
<i>Pseudomonas paucimobilis</i>	+	+	+	-	-	-
<i>Pseudomonas putrefaciens</i>	+	-	-	-	-	-
<i>Pseudomonas testo./alcali.</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Rhodotorula sp.</i>	-	+	+	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	-	+	-	-	-
Moisissures	+	+	+	+	+	+

## **CHAPITRE 4**

## CHAPITRE 4

### CONCLUSION

Les présents travaux de recherche ont démontré que le traitement des boues d'épuration municipales par le procédé simultané de biolixiviation des métaux et de digestion des boues (procédé SSDML), opéré en mode cuvée ou continu, cause une élimination drastique de la diversité des populations microbiennes hétérotrophes aérobies. En effet, l'application des conditions acide et oxydante prévalant lors de l'opération du procédé SSDML entraîne la prolifération des deux seuls micro-organismes survivants au traitement, soit la levure *Blastoschizomyces capitatus* et une moisissure non-identifiée. Des recherches complémentaires doivent donc être menées afin, d'une part, d'étudier la physiologie et le métabolisme particulier de ces micro-organismes et, d'autre part, de vérifier le potentiel d'utilisation et de valorisation des boues traitées par ce procédé.

## **BIBLIOGRAPHIE**

## BIBLIOGRAPHIE

- ANDREWS J.F. 1989. Dynamics, stability and control of the anaerobic digestion process. *Dans:*  
Dynamics modeling and expert systems in wastewater engineering. G.G. Patry et D.  
Chapman (éds.), Lewis Publishers inc., Chelsea, MI, U.S.A.
- APHA 1989. *Standards Methods for Examination of Water and Wastewaters*, 17<sup>e</sup> éd. Am. Publ.  
Hlth Assoc., Washington, DC, U.S.A.
- APPLETON A.R.Jr. et A.D. VENOSA. 1986. Technology evaluation of the dual digestion  
system. *J. Wat. Pollut. Control Fed.* **58**: 764-773.
- BECKER N.S., W.J. CHEN, J.R. ELDREDGE et S.A. SWINTON. 1989. Recovery of heavy  
metals from municipal and industrial wastewaters with magnetic ion exchange resins.  
12th International Symposium of Wastewater Treatment, 20 et 21 nov., Montréal,  
Québec, Canada, pp. 77-95.
- BENMOUSSA H., P.G.C. CAMPBELL, R.D. TYAGI et J.F. BLAIS. 1994. Lixiviation  
biologique des métaux toxiques et stabilisation des boues d'épuration municipales. *Wat.  
Pollut. Res. J. Can.* **29**: 39-52.

- BHATTACHARYYA S., B.K. CHAKRABARTY, A. DAS, P.N. KUNDU et P.C. BANERJEE. 1991. *Acidiphilium symbioticum* sp.nov., an acidophilic heterotrophic bacterium from *Thiobacillus ferrooxidans* cultures isolated from Indian mines. *Can. J. Microbiol.* **37**: 78-85.
- BLAIS J.F., R.D. TYAGI et J.C. AUCLAIR. 1992a. Bioleaching of metals from sewage sludge by indigenous sulfur-oxidizing bacteria. *J. Envir. Engng Div. ASCE.* **118**: 690-707.
- BLAIS J.F., R.D. TYAGI, J.C. AUCLAIR et M.C. LAVOIE. 1992b. Indicator bacteria reduction in sewage sludge by a metal bioleaching process. *Wat. Res.* **26**: 487-495.
- BLAIS J.F., R.D. TYAGI, C.P. HUANG et J.C. AUCLAIR. 1992c. Comparison of acid and microbial leaching for metal removal from municipal sludge. *Wat. Sci. Technol.* **26**: 197-206.
- BLAIS J.F., R.D. TYAGI, J.C. AUCLAIR et M.C. LAVOIE. 1992d. Indicator bacteria reduction in sewage sludge by a metal bioleaching process. *Wat. Res.* **26**: 487-495.
- BLAIS J.F., R.D. TYAGI et J.C. AUCLAIR. 1993a. Bioleaching of metals from sewage sludge: Effects of temperature. *Wat. Res.* **27**: 111-120.
- BLAIS J.F., R.D. TYAGI et J.C. AUCLAIR. 1993b. Bioleaching of metals from sewage sludge: Microorganisms and growth kinetics. *Wat. Res.* **27**: 101-110.
- BLAIS J.F., R.D. TYAGI et J.C. AUCLAIR. 1993c. Metal removal from sewage sludge by indigenous iron-oxidizing bacteria. *J. Envir. Sci. Hlth.* **A28**: 443-467.

- BLAIS J.F., R.D. TYAGI, et J.C. AUCLAIR. 1993d. Bioleaching of metals from sewage sludge: Microorganisms and growth kinetics. *Wat. Res.* **27**:101-110.
- BLAIS J.F., R.D. TYAGI, et J.C. AUCLAIR. 1993e. Metals removal from sewage sludge by indigenous iron-oxidizing bacteria. *J. Envir. Sci. Health.* **A28**:443-467.
- BLAIS J.F., N. MEUNIER, J.L. SASSEVILLE, G. MERCIER et D. COUILLARD. 1994a. *Procédé chimique de décontamination des boues d'épuration municipales*. Déclaration d'intervention déposée le 16 septembre 1994, INRS-Eau, Université du Québec, Sainte-Foy, Québec, Canada.
- BLAIS J.F., R.D. TYAGI, N. MEUNIER et J.C. AUCLAIR. 1994b. The production of extracellular appendages during bacterial colonization of elemental sulfur. *Proc. Biochem.* **29**:475-482.
- BLAIS J.F., N. MEUNIER et R.D. TYAGI. 1996. Simultaneous sewage sludge digestion and metal leaching at controlled pH. *Wat. Res.* (article soumis).
- BLOOMFIELD C. et G. PRUDEN. 1975. The effects of aerobic and anaerobic incubation on the extractabilities of heavy metals in digested sewage sludge. *Envir. Pollut.* **8**: 217-232.
- BOWEN P.T., J.E. HENDRICK, T.A. WOODWARD, L.S. MITCHELL et M. LAHLOU. 1989. Sludge treatment, utilization, and disposal. *Wat. Environment Res.* **61**: 821-829.
- BOWEN P.T., J.M. ENTWISTLE, J.E. HENDRICK, J.S. QUILIN et U.N. TYAGI. 1988. Sludge treatment, utilization, and disposal. *Wat. Environment Res.* **60**: 837-843.

- BOWEN P.T., M.K. JACKSON et R.A. CORBITT. 1991. Sludge treatment, usage, and disposal. *Wat. Environment Res.* **63**: 406-414.
- BOWEN P.T., M.K. JACKSON, R.A. CORBITT et N. GONCE. 1992. Sludge treatment, utilization, and disposal. *Wat. Environment Res.* **64**: 378-386.
- BOWEN P.T., M.K. JACKSON, R.A. CORBITT et N. GONCE. 1993. Sludge treatment, utilization, and disposal. *Wat. Environment Res.* **65**: 360-368.
- BOWERS D.L., K.P. WONG, D.A. BROSNAN et W.L.K. SCHWOYER. 1991. The VerTech Aqueous-Phase Oxidation Process. *Wat. Environment Technol.* **Novembre**: 64-68.
- BRUCE A.M. et R.D. DAVIS. 1989. Sewage sludge disposal: current and future options. *Wat. Sci. Technol.* **21**: 1113-1128.
- BUHR H.O. et J.F. ANDREWS. 1977. The thermophilic anaerobic digestion process. *Wat. Res.* **11**: 129-143.
- CAMPANELLA L., E. CARDARELLI, T. FERRI, B.A. PETRONIO et A. PUPELLA. 1985. Evaluation of toxic metals leaching from urban sludge. *Dans: Chemistry for protection of the environment*, L. Pawlowski, G. Alaerts et W.J. Lacy (éds), Elsevier, Amsterdam, Pays-Bas, pp. 151-161.
- CALMANO W., W. AHLF et U. FÖRSTNER (1985) Heavy metal removal from contaminated sludges with dissolved sulfur dioxide in combination with bacterial leaching. *Heavy Metals Intern. Conf.*, pp. 952-955.

- COOK W.B. et W.O. PIPES. 1970. The occurrence of fungi in activated sludge. *Mycopathol. Mycol. Appl.* **40**: 249-270.
- CORNWELL D.A., G.P. WESTERMOFF et G.C. CLINE. 1980. Batch feasibility testing of heavy metals removal from wastewater sludge with liquid-ion exchange. Proc. Mid. Atlantic Waste Conf., Bucknell Univ., 13 au 15 juillet, Lewisburg, PA, U.S.A., Comptendu, pp. 111-119.
- COUILLARD D., M. CHARTIER et G. MERCIER. 1991. Bacterial leaching of heavy metals from aerobic sludge. *Biores. Technol.* **36**: 293-302.
- COUILLARD D. et G. MERCIER. 1992a. Précipitations sélectives des métaux solubilisés biologiquement des boues d'épuration. *Can. J. Chem. Eng.* **70**: 1021-1029.
- COUILLARD D. et G. MERCIER. 1992b. Procédé de solubilisation biologique des métaux dans les boues anaérobies d'épuration: filtrabilité, neutralisation, et teneur en N et P des boues traitées. *Can. J. Chem. Eng.* **69**: 779-787.
- COUILLARD D. et G. MERCIER. 1994. An economic evaluation of biological removal of heavy metals from wastewater sludge. *Wat Environment Res.* **66**: 32-39.
- COUILLARD D. et S. ZHU. 1992a. Alternative energy substrate for bacterial leaching of heavy metals from sewage sludge. *Can. J. Civ. Eng.* **19**: 359-360.
- COUILLARD D., J. BOURGET, M. CHARTIER, P. CHOUINARD, G. MERCIER et G. ROBERGE. 1993. *Mise au point d'un procédé industriel au FeSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O pour la décontamination des boues résiduelles d'usine d'assainissement des eaux usées urbaines,*

*Tome I et II. Projet de R&D: PMC-1 (partie A), Rapport final, INRS-Eau, Université du Québec, Sainte-Foy, Québec, Canada, novembre.*

CYRUS A. et A. SLADKA. 1970. Several interesting organisms present in activated sludge.

*Hydrobiologia. 35: 383-396.*

DAVIS R.D. 1987. Use of sewage sludge on land in the United Kingdom. *Wat. Sci. Technol. 19:*

1-8.

DEGRÉMONT. 1989. *Mémento technique de l'eau*, 9<sup>e</sup> éd. Degrémont, France.

DEENY K., H. HAHN, D. LEONARD et J. HEIDMAN. 1991. Autoheated thermophilic aerobic digestion. *Wat. Environment Technol. Octobre: 65-72.*

DESJARDINS B. et P. LESSARD. 1992a. Digestion aérobie des boues: principes, modélisation et contrôle. *Sci. Techniques Eau. 26: 209-226.*

DESJARDINS B. et P. LESSARD. 1992b. Modélisation du procédé de digestion anaérobie. *Sci. Tech. Eau. 25: 119-136.*

DOLD P.L., G.A. EKAMA et G.V.R. MARAIS. 1985. pH control and cost savings in aerobic digestion. *Dans: Advances in water pollution control: instrumentation and control of water and wastewater treatment and transport systems.* R.A.R. Drake (éd.), Pergamon Press, Oxford, Royaume-Uni.

DOLLERER J. et P.A. WILDERER. 1993. High pressure treatment of organic wastes. *Wat. Sci. Technol. 28: 243-248.*

- DUDLEY D.J., M.N. GUENTZEL, M.J. IBARRA, B.E. MOORE et B.P. SAGIK. 1980. Enumeration of potentially pathogenic bacteria from sewage sludges. *Appl. Envir. Microbiol.* **39**: 118-126.
- DUFRESNE S., J. BOUSQUET, M. BOISSINOT et R. GUAY. 1996. *Sulfobacillus disulfidooxidans* sp. nov., a new acidophilic, disulfide-oxidizing, Gram-positive, spore-forming bacterium. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **46**: 1056-1064.
- EIKELBOOM D.H. et R. PUJOL. 1994. The *Microthrix parvicella* puzzle. *Wat. Sci. Technol.* **29**: 271-279.
- FRONK C.A., J.B. FARRELL et W. STRACHAN. 1985. Separation of metals in wastewater sludge by centrifugal classification. *Envir. Prog.* **4**:269-276.
- FUGGLE R.W. et R.A. SPENSLEY. 1985. New developments in sludge digestion and pasteurization. *Wat. Pollut. Control.* **84**: 33-43.
- GOVERNEMENT DU QUÉBEC 1991. *Valorisation agricole des boues de stations d'épuration des eaux usées municipales. Guides de bonnes pratiques*, Ministère de l'Environnement, Ministère de l'Agriculture des Pêcheries et de l'Alimentation, Québec, Canada.
- GROFF K.A. et L.A. MCLAUGHLIN. 1994. Sludge management. *Wat. Environment Res.* **66**: 368-374.
- GRULOIS P., J. AIGUILLON, J.M. AUDIC et C. FAYOUX. 1991. La digestion aérobie thermophile autothermique des boues. 14<sup>e</sup> Symposium international sur le traitement des

eaux usées, Ministère des Approvisionnements et Services Canada, Montréal, Québec, Canada, Compte-rendu, pp. 221-229.

HAO O.J. et M.H. KIM. 1990. Continuous pre-anoxic and aerobic digestion of waste activated sludge. *J. Envir. Div. ASCE*. **11** : 863-879.

HARRISON A.P.Jr. 1978. Microbial succession and mineral leaching in an artificial coal spoil. *Appl. Envir. Microbiol.* **36**: 861-869.

HARRISON A.P.JR. 1981. *Acidiphilium cryptum* gen. nov., sp. nov., heterotrophic bacterium from acidic minerals environments. *Inter. J. Syst. Bacteriol.* **31**: 327-332.

HARRISON A.P.JR. 1983. Genomic and physiological comparaisons between heterotrophic thiobacilli and *Acidiphilium cryptum*, *Thiobacillus versutus* sp nov., and *Thiobacillus acidophilus* nom. rev. *Inter. J. Syst. Bacteriol.* **33**: 211-217.

HARRISON A.P.JR. 1984. The acidophilic thiobacilli and other acidophilic bacteria that share their habitat. *Ann. Rev. Microbiol.* **38**: 265-292.

HASHIMOTO S., M. FUJITA et K. TERAJ. 1982. Stabilization of waste-activated sludge through the anoxic-aerobic digestion process. *Biotechnol. Bioeng.* **24**: 1789-1802.

HASHIMOTO S., K. NISHIMURA, W. KAWAKAMI et H. WATANABE. 1986. Disinfection of sewage sludge by an electron accelerator. *J. Ferment. Technol.* **64**: 299-304.

HASHIMOTO S., O. MASANORI et N. OZAKI. 1987. Bacterial leaching of sewage sludge containing some heavy metals. *Mizu Shori Gijutsu.* **28**: 285-300.

- HASHIMOTO S., K. NISHIMURA, H. IWABU et K. SHINABE. 1991. Pilot plant test of electron-beam disinfected sludge composting. *Wat. Sci. Technol.* **23**: 1991-1999.
- HAUG R.T., R. KUCHENRITHER, D. OERKE, T.B.S. PRAKASAM, S. SOSZYNSKI et D. ZENZ. 1992. Sludge processing technology. *Dans*: Municipal sewage sludge management: processing, utilization and disposal. C.Lue-Hing, D.R. Zenz et T. Kuchenrither (éds), Water Quality Management Library, Vol. 4, Technomic Publishing Co., Inc., Lancaster, Pennsylvanie, U.S.A., Chap. 6, pp. 223-298.
- HAYES T.D., W.J. JEWELL et R.M. KABRICK. 1979. Heavy metals removal from sludges using combined biological/chemical treatment. *Dans* Proc. 34th Ind. Waste Conf., Purdue Univ., West Lafayette, Indiana, U.S.A., pp. 529-543.
- HORII R.S., D.L. SMITH et B.M. SMITH. 1989. *Hyperion solids handling digester expansion. Technical supplement to the predesign report.* City of Los Angeles, Department of Public Works, Bureau of Engineering, Wastewater Program Management Division.
- HENRY G., D. PRASAD et W. LOHAZA. 1988. Survival of indicator bacteria during leaching. *Dans* ASCE Nat. Conf. Env. Eng., Vancouver, Canada, pp. 369-376.
- HINZELIN F. et D. LECTARD. 1979. Les levures dans les stations d'épuration des eaux usées. *Mycopathologia.* **69**: 121-127.
- JACOBS A. et M. SILVER. 1990. From ocean disposal to landfill cover. *Wat. Eng. Manag.* **137**: 28-31.

- JENKINS R.L., J.S. BEANJAMI, L.S. MARVIN, B. RODGER, M.P. LO et R.T. HUANG. 1981. Metals removal and recovery from municipal sludge. *J. Wat. Pollut. Control Fed.* **53**: 25-32.
- JENKINS C.J. et D.S. MAVINIC. 1989. Anoxic-aerobic digestion of waste activated sludge: Part I - Solids reduction and digested sludge characteristics. *Envir. Technol. Lett.* **10**: 350-370.
- JEWELL W.J. et R.M. KABRICK. 1980. Autoheated aerobic thermophilic digestion with aeration. *J. Wat. Pollut. Control Fed.* **52**: 512-523.
- JOHNSON D.B. et W.I. KELSO. 1983. Detection of heterotrophic contaminants in cultures of *Thiobacillus ferrooxidans* and their elimination by subculturing in media containing copper sulphate. *J. Gen. Microbiol.* **129**: 2969-2972.
- KAMBHU K. et J.F. ANDREWS. 1969. Aerobic thermophilic process for the biological treatment of wastes - simulation studies. *J. Wat. Pollut. Control Fed.* **41**: R127-R141.
- KARLSSON I. et J. GORANSSON. 1993. Thermic sludge treatment. *Wat. Sci. Technol.* **27**: 449-456.
- KELLY H.G., H. MELCER et D.S. MAVINIC. 1993. Autothermal thermophilic aerobic digestion of municipal sludges: A one-year, full-scale demonstration project. *Wat. Environment Res.* **65**: 849-861.

- KIFF R.J. et S. BROWN. 1981. The development of an oxidative acid hydrolysis process for sewage sludge detoxification. International Conference, Heavy metals in the environment, septembre, Amsterdam, Pays-Bas, pp. 159-162.
- KIFF R.J., Y.H. CHEUNG et S. BROWN. 1981. Heavy metal removal from sewage sludges-factors governing detoxification process efficiency. International Conference, Heavy metals in the environment, septembre, Amsterdam, Pays-Bas, pp. 401-404.
- KISHIMOTO N. et T.TANO. 1987. Acidophilic heterotrophic bacteria isolated from acidic mine drainage, sewage, and soil. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **33**: 11-25.
- KISHIMOTO N., K. INAGAKI, T. SUGIO et T. TANO. 1990. Growth inhibition of *Acidiphilium* species by organics acids contained in yeast extract. *J. Ferment. Bioeng.* **70**: 7-10.
- KOERS D.A. et D.S. MAVINIC. 1977. Aerobic digestion of waste activated sludge. *J. Wat. Pollut. Control Fed.* **49**: 460-468.
- KRISTENSEN G.H., P.E. JORGENSEN, P.H. NIELSEN et R. PUJOL. 1994. Settling characteristics of activated sludge in Danish treatment plants with biological nutrient removal. *Wat. Sci. Technol.* **29**:157-165.
- KROFTA M. 1991. Municipal sludge stabilization and disinfection with ozone/ozone treatment. WPCF Speciality Conference, the future of residuals management after 1991. WPCF, Caroline du Nord, U.S.A.

- KUCHENRITHER R.D. et L.D. BENEFIELD. 1983. Mortality patterns of indicator organisms during aerobic digestion. *J. Wat. Pollut. Control Fed.* **55**: 76-80.
- LO K.S.L. et Y.H. CHEN. 1990. Extracting heavy metals from municipal and industrial sludges. *Sci. Total Environment.* **90**: 99-116.
- LOBOS J.H., T.E. CHISOLM, L.H. BOPP et D.S. HOLMES. 1986. *Acidiphilium organovorum* sp.noc., an acidophilic heterotroph isolated from a *Thiobacillus ferrooxidans* culture. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **36**: 139-144.
- LODDER J. et N.J.W. KREGER-VAN RIJ. 1967. *The Yeast: a taxonomic study*, North Holland Pub., Amsterdam, Pays-Bas.
- LOGAN T.J. et R.E. FELTZ. 1985. Effect of aeration, cadmium concentration and solids content on acid extraction of cadmium from a municipal wastewater sludge. *J. Wat. Pollut. Control Fed.* **57**: 406-412.
- LOLL U. 1989. Combined, aerobic, thermophilic and anaerobic digestion of sewage sludge. *Dans: Treatment of sewage sludge: thermophilic aerobic digestion and processing requirements for landfilling*. A.M. Bruce, F. Colin et P.J. Newman (éds.), Elsevier Applied Science, Londres et New York.
- MACCONNELL G.S. 1992. Alkaline sludge stabilization processes offer viable sludge management options. *Proc. Environ. Eng. Speciality Conf., Am. Soc. Civ. Eng., Baltimore, Maryland, U.S.A., Compte-rendu*, p. 394.

- MANN L.A. 1971. Biological-gamma radiation system for sewage processing. *Isotopes Radiation Technol.* **3**: 439-444.
- MARTIN J.H.Jr., H.E. BOSTIAN et G. STERN. 1990. Reductions of enteric microorganisms during aerobic sludge digestion. *Wat. Res.* **24**:1377-1385.
- MATSCH L.C. et R.F. DRNEVICH. 1977. Autothermal aerobic digestion. *J. Wat. Pollut. Control Fed.* **49**: 296-310.
- MATSUDA A., T. IDE et S. FUJII. 1988. Behavior of nitrogen and phosphorus during batch aerobic digestion of waste activated sludge - continuous aeration and intermittent aeration by control of DO. *Wat. Res.* **22**: 1495-1501.
- McNULTY K.J., A.T. MALARKEY, R.L. GOLDSMITH et M.A. FREMONT. 1977. Development of a new process for sludge conditioning. National Conference on Composting of Municipal Residue and Sludge, 23-25 août, Rockville, MD, U.S.A.
- MEUNIER N., J.F. BLAIS et R.D. TYAGI. 1994. Stabilisation microbiologique des boues d'épuration municipales en milieu acide. 11<sup>e</sup> Congrès Scientifique de l'Association des Microbiologistes du Québec, 17 et 18 septembre, Sainte-Foy, Québec, Canada, Compte rendu, p. 17.
- MEUNIER N., R.D. TYAGI et J.F. BLAIS. 1996. Traitement acide pour la stabilisation des boues d'épuration. *Can. J. Civ. Eng.* **23** : 76-85.
- MILLARD W.N. 1973. Heterotrophic bacterial population in acid coal mine water: *Flavobacterium acidurans*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **23**: 142-150.

- MITANI T., T. UENO et T. NAKAMURA. 1991. Characteristics of heavy metals removed from activated sludge by acidification. *Agric. Biol. Chem.* **55**: 569-571.
- MODELL M. 1993. Supercritical water oxidation, an environmentally sound approach to treating aqueous wastes that is now becoming cost competitive. *Mater. Technol.* **8**: 131-134.
- MOLETTA R. 1989. Contrôle et conduite des digesteurs anaérobies. *Rev. Sci. Eau.* **2**: 265-293.
- MOURATO D. et D.D. LANG. 1994. *The Toronto harbour commissioners soil recycling demonstration project, summary of operations and test results*. Final report. The Toronto harbour commissioners et Zenon Environmental inc., 46 pages.
- NOWAK G et G.D. BROWN. 1990. Characteristics of *Nostocoida limicola* and its activity in activated sludge suspension. *Res. J. Water Pollut. Control Fed.* **62**: 137-142.
- OLVER J.W., W.C. KREYE et P.H. KING. 1975. Heavy metal release by chlorine oxidation of sludge. *J. Wat. Pollut. Control Fed.* **47**: 2490-2497.
- OLIVER B.G. et J.H. CAREY. 1976. Acid solubilization of sewage sludge and ash constituents for possible recovery. *Wat. Res.* **10**: 1077-1081.
- PARKIN G.F. et W.F. OWEN. 1986. Fundamentals of anaerobic digestion of wastewater sludges. *J. Envir. Eng. (Div. ASCE)*. **112**: 867-920.
- PEDDIE C.C. et D.S. MAVINIC. 1990. A pilot-scale evaluation of aerobic-anoxic sludge digestion. *Can. J. Civ. Eng.* **17**: 68-78.

- PESIC B., D.J. OLIVER et P. WICHLACZ. 1989. An electrochemical method of measuring the oxidation rate of ferrous to ferric iron with oxygen in the presence of *Thiobacillus ferrooxidans*. *Biotechnol. Bioeng.* **33**: 428-439.
- POLAN P. et P. JONES. 1992. Problématique des métaux lourds et des organismes pathogènes dans les boues de stations d'épuration municipales. *Sci. Tech. Eau* **25**: 11-16.
- POPEL F. et C. OHNMACHT. 1972. Thermophilic bacterial oxidation of highly concentrated substrates. *Wat. Res.* **6**: 807-815.
- RASMUSSEN H.W. et M.A. ROCKANDEL. 1991. *Method to detoxify sewage sludge*. Brevet enregistré au Canada et aux États-Unis, septembre, No. 5,051,191.
- RAVISHANKAR B.R., J.F. BLAIS, H. BENMOUSSA et R.D. TYAGI. 1994. Microbial leaching of metals from sewage sludge: Elemental sulphur recovery. *J. Envir. Engng Div. ASCE.* **120**: 462-470.
- REIMERS R.S. et T.G. AKERS. 1988. Emerging sludge management technologies. 2nd Annual WPCF Speciality Conference on Residuals Management. WPCF, Alexandria, Virginie, U.S.A., Compte rendu, pp. 82-110.
- REIMERS R.S. et T.G. AKERS. 1990. *Update on emerging technologies in sludge management. Pursuing beneficial uses of municipal sewage sludge*. USEPA, Region II.
- REIMERS R.S. et T.G. AKERS. 1991. Chemical sludge treatment - a way of the future. *Dans: Environmental Engineering. Proceedings of the 1991 Speciality Conference*. P.A.

- Krenkel (éd.), Environmental Engineering Division of the American Society of Civil Engineers, 8 au 10 juillet, Reno, Nevada, U.S.A., Compte rendu, pp. 679-685.
- REYNOLDS T.D. 1982. Unit operations and processes in environmental engineering. Ray Kingman (éd.), B/C Engineering Division, PWS Publishers, Boston, MA.
- RICH L.G. 1987. Rational design of aerobic digestion systems. *J. Environ. Eng. Div. ASCE* **113**: 499-515.
- ROCKANDEL M.A. 1991. Chemical detoxification and pathogen destruction in sludge contaminated with heavy metals. WPCF Speciality Conference, the future of residuals management after 1991. WPCF, Caroline du Nord, U.S.A.
- ROSSI A et H.N.JR. ARST. 1990. Mutants of *Aspergillus nidulans* able to grow at extremely acidic pH acidify the medium less wild type when grown at more moderate pH. *Microbiol. Lett.* **66**: 51-54.
- SHELTINGA H.M.J. 1987. Sludge in agriculture: the european approach. *Wat. Sci. Technol.* **19**: 9-18.
- SCHÖNBORN W. et H. HARTMANN. 1978. Bacterial leaching of metals from sewage sludge. *Eur. J. Appl. Microbiol.* **5**: 305-313.
- SCHÖNBORN W. et H. HARTMANN. 1979. Entfernung von schwermetallen aus klarschlammen durch bakterielle laugung. *gwf-wasser/abwasser* **120**: 329-334.

SCOTT D.S. et H. HORLINGS. 1975. Removal of phosphates and metals from sewage sludges. *Envir. Sci. Technol.* **9**: 849-855.

SHOONER F., H. BENMOUSSA, J.F. BLAIS et R.D. TYAGI. 1992. Inactivation virale lors d'un processus de biolixiviation des boues d'usines d'épuration des eaux municipales. 8<sup>e</sup> Congrès régional de l'Est du Canada de l'Association canadienne sur la qualité de l'eau. Compte-rendu, Sainte-Foy, Québec, Canada.

SMITH J.E.Jr., K.W. YOUNG et R.B. DEAN. 1975. Biological oxidation and disinfection of sludge. *Wat. Res.* **9**:17-24.

SONNLEITNER B. et A. FIECHTER. 1983. Bacterial diversity in thermophilic aerobic sewage sludge - II. Types of organisms and their capacities. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **18**: 174-180.

SREEKRISHNAN T.R., R.D. TYAGI, J.F. BLAIS et P.G.C. CAMPBELL. 1993. Kinetics of heavy metals bioleaching from sewage sludge-I: Effects of process parameters. *Wat. Res.* **27**: 1641-1651.

SUESS A. et T. LESSEL. 1977. Radiation treatment of sewage sludge. *Rad. Phys. Chem.* **9**: 353-370.

SURUCU G.A., E.S.K. CHIAN et R.S. ENGELBRECHT. 1976. Aerobic thermophilic treatment of high strength wastewaters. *J. Wat. Pollut. Control Fed.* **48**:669-679.

- TANDOI V., N. CARAVAGLIO, D. DI DIO BALSAMO, M. MAJONE, M.C. TOMEI et R. PUJOL. 1994. Isolation and physiological characterization of *Thiothrix* sp. *Water Sci. Technol.* **29**:261-269
- TAKAHASHI R., A. HATTORI, T. INOUE, K. OGIWARA, M. SUZUKI et H. YONEYAMA. 1990. Isolation of *Sphaerotilus natans*-lysing microorganism from activated sludge. *J. Ferment. Bioeng.* **69**: 143-147.
- TJELL J.C. 1986. Trace metal regulations for sludge utilization in agriculture; A critical review Processing and use of organic sludge and liquid agricultural wastes. *Dans*: Commission European Communities Proc. Fourth Int. Symp., P. L'Hermite (éditeur), D. Reidel Publishing Co., Rome, Italie, 8 au 11 octobre, pp. 348-361.
- TUIN B.J.W. et M. TELS. 1990. Removing heavy metals from contaminated clay soils by extraction with hydrochloric acid, EDTA or hypochlorite solutions. *Envir. Technol.* **11**: 1039-1052.
- TYAGI R.D. et D. COUILLARD. 1990. Bacterial leaching of metals from sludge. *Dans* Encyclopedia of Environmental Control Technology, Vol. 3: Wastewater Treatment Technology. P.E. Cheremisinoff (éd.), Library of Environmental Pollution Control Technology, Gulf Publishing Co., Texas, U.S.A., pp. 557-591.
- TYAGI R.D., J.F. BLAIS, J.C. AUCLAIR et N. MEUNIER. 1993a. Bacterial leaching of toxic metals from municipal sludge: Influence of sludge characteristics. *Wat. Environment Res.* **65**: 196-204.

- TYAGI R.D., J.F. BLAIS, N. MEUNIER et D. KLUEPFEL. 1993b. Biolixiviation des métaux lourds et stabilisation des boues d'épuration. Essai en bioréacteur opéré en mode cuvée. *Can. J. Civ. Eng.* **20**: 57-64.
- TYAGI R.D., J.F. BLAIS, B. BOULANGER et J.C. AUCLAIR. 1993c. Simultaneous municipal sludge digestion and metal leaching. *J. Envir. Sci. Hlth.* **A28**: 1361-1379.
- TYAGI R.D., J.F. BLAIS, N. MEUNIER et D. KLUEPFEL. 1993d. Biolixiviation des métaux lourds et stabilisation des boues d'épuration. Essai en bioréacteur opéré en mode cuvée. *Can. J. Civ. Eng.* **20**: 57-64.
- TYAGI R.D., T.R. SREEKRISHNAN, P.G.C. CAMPBELL et J.F. BLAIS. 1993e. Kinetics of heavy metals bioleaching from sewage sludge-II: Mathematical model. *Wat. Res.* **27**:1653-1661.
- TYAGI R.D., J.F. BLAIS et N. MEUNIER. 1996a. Simultaneous sewage sludge stabilization and metal leaching - Effect of sludge solids concentration. *Wat. Res.* (article soumis).
- TYAGY R.D., N. MEUNIER ET J.F. BLAIS. 1996B. Simultaneous sewage sludge stabilization and metal leaching - Effect of temperate. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* (article sous presse).
- TYAGI R.D., T.R. SREEKRISHNAN, J.F. BLAIS et P.G.C. CAMPBELL. 1994. Kinetics of heavy metals bioleaching from sewage sludge-III: Temperature effects. *Wat. Res.* **28**: 2367-2375.

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY 1979. *Sludge treatment and disposal. Process design manual*. Center for Environmental Research Information, EPA-625/1-79-011, Cincinnati, Ohio, U.S.A.

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 1989. *1988 Needs survey of municipal wastewater treatment facilities*. U.S. Environmental Protection Agency, EPA 430/09-89-001, Cincinnati, Ohio, U.S.A.

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 1991. *Recovery of metals from sludges and wastewaters*. U.S. Environmental Protection Agency, EPA/600/S2-91/041, Cincinnati, Ohio, U.S.A.

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 1993. *Standards for the use and disposal of sewage sludge, 40 CFR Parts 257, 403 and 503, Final Rule*. U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio, U.S.A.

VIEIRA E SILVA J.M., H. DOMINGUE et M.E. MESQUITA. 1993. Sequential extraction of copper and zinc from sewage sludges. Use of organic solvents. *Intern. J. Envir. Qual.* **51**:109-112.

WARREN N.G. et H.J. SHADOMY. 1991. Yeast of Medical Importance. *Dans Manual of Clinical Microbiology*, 5th edn. A. Balows, W.J.Jr. Hausler, K.L. Herrmann, H.D. Isenberg et H.J. Hhadomy (éds), American Society for Microbiology, Washington, D.C. pp 617-629.

- WEBBER M.D. 1986. *Épandage des boues d'épuration sur les terres agricoles - une évaluation*.  
Direction générale de la recherche, Agriculture Canada, 42 pages.
- WICHLACZ P.L., R.F. UNZ et T.A. LANGWORTHY. 1986. *Acidiphilium angustum* sp.nov.,  
*Acidiphilium facilis* sp.nov., and *Acidiphilium rubrum* sp.nov.: Acidophilic heterotrophic  
bacteria isolated from acidic coal mine drainage. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **36**: 197-201.
- WITTHAUER D.P. 1980. Biocoenosis and degradation in model waste water treatment plants.  
*Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **9**: 150-1693.
- WOLINSKI W.K. 1985. Aerobic thermophilic sludge stabilization using air. *Wat. Pollut.*  
*Control* **84**: 433-445.
- WONG L. et J.G. HENRY. 1983. Bacterial leaching of heavy metals from anaerobically  
digested sewage sludge. *Wat. Pollut. Res. J. Can.* **18**: 151-162.
- WONG L. et J.G. HENRY. 1984. Decontaminating biological sludge for agricultural use. *Wat.*  
*Sci. Technol.* **17**: 575-586.
- WONG L.T.K. et J.G. HENRY. 1988. Bacterial leaching of heavy metals from anaerobically  
digested sludge. *Dans Biotreatment Systems. Vol. II.*, D.L. Wise. (éd.), CRC Press Inc.,  
Boca Raton, Floride, U.S.A., pp. 125-169.
- WOZNIAK D.J. et J.Y.C. HUANG. 1982. Variables affecting metal removal from sludge. *J.*  
*Wat. Pollut. Control Fed.* **54**: 1574-1580.

YOSHIMI Y., A. HIRAISHI et K. NAKAMURA. 1996. Isolation and characterization of *Microsphaera multipartita* gen. nov., sp. nov., a polysaccharide-accumulating gram-positive bacterium from activated sludge. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **46**: 519-525.