

UNIVERSITÉ DE QUÉBEC  
INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
CENTRE EAU TERRE ENVIRONNEMENT

**COUPLAGE DE LA DÉNITRIFICATION AUTOTROPHE SUR SOUFRE AUX SYSTÈMES  
DE TRAITEMENT BIOLOGIQUE DES EAUX USÉES DOMESTIQUES APPLICABLES AU  
SECTEUR DE L'ASSAINISSEMENT DÉCENTRALISÉ**

Par

**Jihen BEN KHALED**

Thèse présentée pour l'obtention du grade de  
*Philosophiae Doctor*, Ph.D. en Sciences de l'Eau

**Jury d'évaluation**

Président du jury et examinateur interne	Patrick Drogui INRS Centre Eau Terre Environnement
Examineur externe	Peter Jones Université de Sherbrooke
Examineur externe	Safia Hamoudi Université Laval
Directeur de recherche	Jean-François Blais INRS Centre Eau Terre Environnement
Codirecteur de recherche	Guy Mercier INRS Centre Eau Terre Environnement

CONFIDENTIEL



## REMERCIEMENTS

J'adresse un spécial hommage à mon professeur et directeur de recherche, Monsieur Jean-François Blais, pour l'attention et l'assistance qu'il m'a accordée durant mon parcours de doctorat. Il m'a offert la chance d'accomplir mes études de 3<sup>ième</sup> cycle au centre Eau, Terre et Environnement de l'INRS au sein de son équipe de recherche. Cette opportunité m'a permis de m'ouvrir sur le monde extérieur et de vivre une expérience enrichissante pour ma carrière. Je tiens à lui témoigner toute ma gratitude et mon respect, pour la patience et la compréhension dont il a fait preuve face à mon état de santé et mes problèmes privés.

Je remercie également mon co-directeur de recherche, Monsieur Guy Mercier, pour son encadrement infaillible, ses précieux conseils et son enthousiasme. Je lui suis très reconnaissante de m'avoir encadrée et soutenue tout au long de ce projet de recherche.

Je tiens également à adresser mes remerciements les plus sincères à Roger Lacasse, à Yan Gilbert, à Pierre Naidier Fanfan et à André Ouellet de la compagnie Premier Tech Aqua, unité d'affaires de Premier Tech Technologies Ltée, pour leur disponibilité, leurs encouragements ainsi que leurs participations actives dans ce projet de recherche.

Ce projet de recherche n'aurait pas vu le jour sans la précieuse contribution de nos partenaires CRIBIQ et Mitacs.

Une pensée amicale s'adresse à tous les membres de notre équipe de recherche du laboratoire d'assainissement du centre-ville et des laboratoires lourds qui ont contribué de près ou de loin à mon intégration au sein de leur groupe et au bon déroulement de mon projet de recherche dans une ambiance familiale. Et plus particulièrement à Lucie Coudert, qui a répondu présente chaque fois que j'en avais besoin, surtout durant la rédaction de ma thèse. Elle m'a beaucoup aidée à avancer dans les bonnes directions en me motivant sans cesse et en me prêtant une oreille attentive, sans hésitation de sa part. J'ai vraiment apprécié sa vivacité et son ardeur et essentiellement ses inlassables encouragements.

Bien évidemment, je tiens à porter une attention toute particulière à mes parents, mon mari, mon fils, mes deux sœurs Myriam et Maya, mon neveu Mourad, mes beaux-parents Nouredine et Hayet, mes véritables amies Dhouha, Sabah, Hajer T., Emna, Hajer S. et Nesrine, mes tantes et mes cousins et cousines. Certes, chacun avait sa façon d'intervenir, mais ils m'ont tous bien soutenue et encouragée dans les moments difficiles et j'espère avoir été à la hauteur de la confiance qu'ils m'ont accordée.

Je ne peux conclure sans adresser mes remerciements les plus respectueux à tous les membres du jury.

Qu'ils trouvent tous, ici, l'expression de ma haute considération.

## DÉDICACES

*Je dédis ma thèse de doctorat à mes très chers parents Ridha Ben Khaled et Samira Ben Ammar. Je suis fière de porter le nom de mon père et de l'inscrire sur la première page de ce manuscrit. Je tiens à glisser mon poème destiné spécialement à mon adorable mère pour la regarder pleurer de joie et rendre encore plus mémorable mon aboutissement :*

***À celle qui fut témoin de mon parcours,***

***À celle qui s'est sacrifiée sans retour.***

***Aucun geste ne pourra exprimer ma gratitude,***

***Aucun mot ne pourra décrire ma quiétude.***

***Je me laisse guider par mes émotions,***

***Pour orienter pleinement ton attention,***

***Vers un message effroyablement touchant,***

***Et un discours incontestablement perçant.***

***Avec ta bénédiction, je me sens rassurée,***

***Et avec tes prières, je demeure comblée.***

***Heureuse et confiante, certes je le suis,***

***Mais sans ta compagnie, en plus je m'ennuie.***

***Tu m'as donnée la vie et soigné mes douleurs,***

***Avec énormément de modestie et de chaleur.***

***J'ai saisi la difficulté de ton parcours,***

***En devenant une maman à mon tour.***

***En me regardant chaque matin au miroir,***

***Je ressens mes désirs qui reflètent ton espoir.***

*Mon savoir et mes réussites te seront dédiés,  
Parce que je ne te remercierai jamais assez.  
J'arriverais au bout de ma promesse,  
Sans éprouver la moindre paresse.  
Je continuerais ma quête sans lassitude,  
Pour te garder loin de toute inquiétude.  
Reçois ces humbles paroles en ton honneur,  
En espérant pouvoir couronner ta valeur.  
Le temps et l'espace me renvoient malheureuse,  
De ne pas pouvoir te rendre encore plus heureuse.  
Cependant, je te dédis cet agréable poème,  
Agrémenté soigneusement par moi-même.  
Ma chérie, ma douce et adorable maman,  
Que dieu te garde à nous qui t'aimons.*

*Je ne peux terminer sans dédier mon travail et mes efforts aux deux hommes de ma vie : mon cher époux Hamdi Ben Ammar et notre fils Yassine, sans qui ce manuscrit aurait été fini deux ans plus tôt et avec qui ma vie est comblée d'amour et de bonheur en dépit de tous les obstacles que nous avons surmontés et que nous surmonterons ensemble.*

## RÉSUMÉ

Premier Tech Aqua (PTA), dont le siège social est situé à Rivière-du-Loup, est l'une des unités d'affaires que compte Premier Tech Technologies Ltée. PTA est considérée comme leader international des technologies d'assainissement autonome et décentralisé des eaux usées destinées aux petites et moyennes collectivités, aux entreprises et aux industries. Cette compagnie développe et commercialise depuis plus de 20 ans divers procédés biologiques d'épuration adaptés au traitement des eaux usées résiduelles des résidences isolées et des petites et moyennes collectivités. Ces procédés permettent de réduire en moyenne de 50 à 60% la teneur en azote retrouvée dans les eaux domestiques. Cependant, l'effluent final contient des teneurs encore élevées en azote, principalement sous forme de nitrates. De plus, la mise en vigueur de réglementations de plus en plus strictes en ce qui concerne les rejets d'éléments nutritifs tels que l'azote, fait en sorte que de nouvelles générations plus performantes de procédés de traitement doivent être développées. L'insertion, en aval de ces procédés, d'une étape de dénitrification biologique constitue probablement la meilleure option technologique pour une élimination accrue de l'azote présent dans l'effluent rejeté au milieu récepteur. Il existe deux voies possibles de dénitrification biologique, soit la dénitrification hétérotrophe, soit la dénitrification autotrophe. Étant donné que les teneurs en matière organique dans les effluents de la plupart des procédés de PTA sont très faibles, la dénitrification hétérotrophe représenterait des inconvénients notables étant donné qu'elle nécessiterait un apport exogène d'un substrat carboné. De plus, son opération nécessite un suivi supplémentaire et sa mise en place demande une maintenance rigoureuse pour garantir la performance du système de dénitrification. Afin d'esquiver ces problèmes, le présent projet a donc porté sur l'étude de la performance de la dénitrification autotrophe sur soufre élémentaire. En effet, cette méthode nécessite un substrat inorganique oxydable, qui peut être le soufre. Ce substrat peut être employé sous forme solide et servir à la fois d'une source d'énergie et de support bactérien aux microorganismes. La principale attention qu'il fallait porter à cette méthode a été l'acidification du milieu représentée par une diminution du pH et de l'alcalinité, qui résulte de la production d'ions  $H^+$  et de la consommation de bicarbonates. Pour prévenir une telle situation pouvant affecter l'efficacité de la dénitrification, l'intégration

du calcaire granulaire en tant que substrat tampon dans le procédé de traitement a été recommandée. Le choix de l'agent neutralisant en question a été fait en raison de son faible coût et de sa faible solubilité. De plus, le calcaire est rapidement accessible et facile à manipuler. Le calcaire granulaire a été fréquemment utilisé dans la dénitrification autotrophe sur soufre comme source passive d'ajout de carbonates permettant la neutralisation de l'acidité générée.

L'objectif principal de ce projet de recherche a été la mise à l'essai d'une dénitrification autotrophe en aval d'un traitement secondaire en applications résidentielles. L'efficacité de dénitrification visée a été de maintenir une teneur résiduelle en nitrates en-dessous de 5 mg NO<sub>3</sub>-N/L. Le système de dénitrification développé doit répondre à certaines exigences d'un point de vue capacité de traitement journalière, économie des coûts et facilité d'opération.

Les travaux réalisés au cours de ce projet de doctorat ont eu pour objectif la détermination à l'échelle laboratoire de conditions opératoires optimales permettant le développement d'une unité de dénitrification sur soufre et calcaire à l'échelle pré-commerciale en vue de sa validation à l'échelle commerciale. L'évaluation de la performance des essais de dénitrification s'est basée essentiellement sur le suivi du taux d'enlèvement des nitrates. Toutefois, d'autres paramètres ont été étudiés dont le pH, la température, l'oxygène dissous, le potentiel d'oxydo-réduction, l'alcalinité, la dureté, l'azote dissous, le carbone organique dissous, le phosphore dissous et les sulfates.

La première étape de ce projet a été d'étudier l'influence de différents milieux de culture (présence d'inoculum ou de calcaire, nature de la source de soufre (soufre élémentaire et/ou thiosulfate)) sur le développement de la biomasse dénitrifiante dans le but d'identifier les conditions les plus favorables au développement des bactéries, les *Thiobacillus denitrificans*, et de rassembler toutes les informations nécessaires au bon démarrage du processus de dénitrification d'un point de vue rapidité de fonctionnement. Il a donc été démontré qu'un milieu de culture gardé à l'obscurité et formé d'eau usée nitrifiée, de soufre élémentaire et de calcaire granulaire est fortement favorable à un développement rapide et efficace de la microflore dénitrifiante. Ces conditions demeurent les plus sécuritaires pour prévenir la diminution du pH et maintenir ce dernier dans les conditions optimales de croissance des

bactéries dénitrifiantes, tout en assurant une dénitrification quasi-totale (84%) en 14 jours ou une éventuelle dénitrification totale (100%) en 21 jours.

Ensuite, des essais de dénitrification en colonne ont été réalisés en mode bath, puis en mode continu. Les conditions opératoires (temps de rétention hydraulique, ratio massique S/C et configuration soufre/calcaire) les mieux adaptées au système de dénitrification ont pu être définies. Pour cela, différents TRH variant de 0,5 à 11h ont été testés, en débutant par le plus long TRH afin d'acclimater le système au mode continu. Les résultats obtenus ont montré qu'un TRH de 1,5 h est optimal dans la mesure où le système a permis un abattement des nitrates de 50% en 2 jours seulement et un abattement total en 6 jours, tout en gardant le pH et l'alcalinité de l'effluent relativement stables par rapport aux conditions initiales.

En effectuant des essais complémentaires au TRH optimal de 1,5 h et avec différents ratios massiques S/C (9/1, 4/1, 7/3, 3/2 et 1/1) selon une configuration de soufre et de calcaire mélangés, le ratio massique S/C de 1/1 a été considéré comme étant le ratio S/C optimal, permettant un enlèvement total (100%) des nitrates dès le premier jour de fonctionnement.

D'un autre côté, trois configurations soufre/calcaire (séparés, mélangés et en couches superposées) ont été testées avec le TRH optimal de 1,5 h et le ratio optimal S/C de 1/1. Les différentes configurations ont montré des comportements similaires du point de vue efficacité de dénitrification avec des rendements d'enlèvement des nitrates supérieurs à 96%. Cependant, l'effet de neutralisation du calcaire semble plus efficace lorsque les matériaux sont placés dans une même colonne. Par conséquent, d'un point de vue faisabilité et facilité de mise en place, la configuration du soufre et du calcaire mélangés a été jugée optimale pour une application à l'échelle pilote du procédé de dénitrification autotrophe sur soufre et calcaire (DASC).

L'étude de l'effet de la concentration initiale en nitrates dans l'affluent (10 à 60 mg NO<sub>3</sub>-N/L) sur l'efficacité de dénitrification a mis en évidence que dans des conditions opératoires optimales de TRH et de ratio S/C, l'enlèvement des nitrates a été total (100%) au bout de 2 jours de fonctionnement et ce, pour des charges volumiques appliquées entre 160 et 960 g NO<sub>3</sub>-N/m<sup>3</sup>.jr.

En considérant les paramètres opératoires optimisés à l'échelle laboratoire et les exigences de la compagnie PTA en terme de capacité journalière de traitement (1 000 à 1 500 L/jr) et des critères de dimensionnement du bioréacteur de dénitrification autotrophe (BDA) pilote, une unité de dénitrification autotrophe sur soufre et calcaire pré-commerciale a été installée en aval du procédé Filtre Coco PTA. Le BDA pilote a montré des performances de dénitrification similaires à celles obtenues à l'échelle laboratoire, avec des rendements de dénitrification supérieurs à 81% pour des charges volumiques appliquées comprises entre 90 et 680 g NO<sub>3</sub>-N/m<sup>3</sup>.jr. En dépit de la baisse des températures (< 5°C), la performance du BDA est restée satisfaisante, avec des taux d'enlèvement des nitrates dépassant 61% et des teneurs résiduelles en nitrates inférieures à 6 mg NO<sub>3</sub>-N/L. Malgré une légère perte d'efficacité causée par une perte de charge hydraulique, des performances non égalées jusqu'à ce jour dans la littérature ont été mises en évidence, comme par exemple l'inutilité d'une opération préliminaire d'inoculation et d'une étape d'acclimatation en mode batch. En effet, une efficacité de dénitrification importante a été observée au 6<sup>ième</sup> jour de fonctionnement en mode continu, avec un enlèvement total des nitrates.

**Mots-clés** : assainissement autonome, azote, dénitrification autotrophe, soufre, calcaire, eaux usées, bioréacteur, laboratoire, pilote.

## **ABSTRACT**

Premier Tech Aqua, located in Rivière-du-Loup (Qc, Canada), is one of the business units of Premier Tech Technologies Ltée. PTA is an international leader in the field of on-site and decentralized wastewater treatment systems designed for the residential, commercial, community and industrial sectors. For over 20 years, this company is developing and offering various biological purification systems for the treatment of wastewaters coming from small and medium communities. These processes allowed the removal of approximately 50 - 60% of the nitrogen content initially present in domestic wastewaters. However, the effluent still contains large amounts of nitrogen, mainly as nitrates. Moreover, the regulations related to the discharge of nutritive elements (nitrogen and phosphorus) becoming more and more stringent encourage the development of wastewater treatment process more efficient. The addition, downstream of these processes, of a biological denitrification process seems to be the best option to improve the removal of nitrogen initially present in the effluent before its discharge in the receiving environment. Nowadays, there are two possible options for the biological denitrification, heterotrophic or autotrophic denitrification. As the organic content in the effluents coming from the PTA processes are very low, the heterotrophic denitrification processes represent some disadvantages such as the need of exogenous supply of carbon substrate. Moreover, the operation of heterotrophic denitrification is difficult and its implementation requires careful maintenance. To avoid these problems, the present research project has focused on the development of an autotrophic denitrification process using elemental sulfur. Indeed, this method requires the use of an oxidizable inorganic substrate such as elemental sulfur. This substrate may be used under its solid form and therefore, serve as support systems for the bacteria. The main disadvantage of this method is the acidification of the effluent, resulting in a decrease of both pH and alkalinity, due to the oxidation of elemental sulfur into sulfuric acid. This problem has encouraged the integration of limestone as a passive source of carbonate in the denitrification process, in order to neutralize the acidity produced. Limestone was chosen based on its low-cost and its low solubility.

The main objective of this research project was to determine the optimal operating conditions of our denitrification process using elemental sulfur at laboratory scale in order to allow its scale-up and its commercialization. The performances of the denitrification systems tested were evaluated based on the nitrate removal yields obtained. However, other parameters including pH, alkalinity, hardness, total and dissolved nitrogen, total organic carbon (TOC) and dissolved organic carbon (DOC) were followed along the experiments.

First of all, the influence of different culture media (the presence of inoculum and/or limestone, the source of sulfur (elemental sulfur and/or thiosulfate) on the development of the denitrifying biomass was studied. These experiments were performed in order to identify the most favorable conditions for the development of *Thiobacillus denitrificans* and to collect useful information for an effective start-up of the denitrification process. According to the results, the use of nitrified wastewater, elemental sulfur and limestone, kept in the dark, is extremely favorable for the development of the denitrifying microflora. These conditions seemed to be the best to prevent the decrease of pH and to maintain the optimum conditions for the growth of denitrifying bacteria. Indeed, in these conditions, more than 84% of the nitrates were removed after 147 days and approximately 100% after 21 days.

The bioreactors were operated in batch and in continuous mode in order to determine the best conditions for nitrates removal in terms of hydraulic retention time (HRT) and sulfur/limestone ratio and configuration (mixed, separated and in layers). Various HRT ranging from 0.5 to 11 h were tested, beginning with the longer HRT. The results obtained showed that an HRT of 1.5 h is optimal as the denitrification system allowed the removal of 50% of the nitrates after only 2 days and a total reduction in 6 days, while keeping the pH and the alkalinity closed to the initial conditions.

Additional experiments were carried out using the optimal HRT (1.5h) in order to determine the influence of the sulfur/limestone (S/L) ratio (9/1, 4/1, 7/3, 3/2 and 1/1 (w/w)). The S/L ratio of 1/1 was identified as optimal, allowing the total removal (100%) of nitrates from the first day of operation.

Then, three sulfur/limestone configurations (separated, mixed and layered) were tested using the optimal HRT (1.5 h) and S/L ratio (1/1). The different configurations showed similar behavior in terms of denitrification performances, with nitrates removal yields higher than 96%. However, the neutralization seemed to be more effective when using sulfur and limestone in the same column (mixed and layered). Therefore, the mixed configuration was considered as optimal in terms of feasibility and ease of implementation for the application of the autotrophic denitrification process using sulfur and limestone at pilot plant scale.

The effect of the initial concentration of nitrates in the influent (from 10 to 60 mg NO<sub>3</sub>-N/L) on the performances of denitrification was studied using the optimal HRT and S/L ratio. The results showed that approximately 100% of the nitrates were removed after two days of operation with volumetric loading rates ranging from 160 to 960 mg NO<sub>3</sub>-N/m<sup>3</sup>d.

Taking into account the optimized operating parameters and the requirements of the company PTA (daily processing capacity of 1 000 – 1 500 L/d and bioreactor sizing criteria), a pre-commercial unit of the denitrification process using sulfur and limestone was installed downstream the Coco PTA Filter process. This denitrification unit showed performances similar than those observed at laboratory scale, with nitrate removal yields higher than 81% for volumetric loading rates ranging from 90 to 680 mg NO<sub>3</sub>-N/m<sup>3</sup>d. Despite lower temperature (< 5°C), the denitrification performances remained stable, with removal yields higher than 61% and residual nitrates concentrations lower than 6 mg NO<sub>3</sub>-N/L. Despite a slight loss of efficiency due to a hydraulic loading loss, the denitrification performances showed that preliminary inoculation steps and acclimation in batch mode are not required, which was not observed in the literature. Indeed, important denitrification efficiencies were observed after 6 days of operation in continuous mode, leading to a total removal of the nitrates.

**Keywords :** decentralized wastewater treatment, nitrogen, autotrophic denitrification, sulfur, limestone, wastewaters, bioreactor.



## TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS.....	III
DÉDICACES.....	V
RÉSUMÉ VII	
ABSTRACT.....	XI
TABLE DES MATIÈRES.....	XV
LISTE DES TABLEAUX.....	XIX
LISTE DES FIGURES.....	XXI
LISTE DES ÉQUATIONS.....	XXV
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	XXVII
INTRODUCTION.....	1
1 MISE EN CONTEXTE.....	5
1.1 PROBLÉMATIQUE DE RECHERCHE.....	5
1.2 CHAMP D'APPLICATION DE PREMIER TECH TECHNOLOGIES LTÉE.....	6
1.3 PROCÉDÉS D'ÉPURATION BIOLOGIQUE DE PTA.....	6
1.4 ORIGINALITÉ DU PROJET.....	10
1.5 HYPOTHÈSE, OBJECTIFS ET APPROCHE MÉTHODOLOGIQUE.....	14
1.5.1 CARACTÉRISATION DE L'EAU EN PROVENANCE DES PROCÉDÉS DE PTA.....	14
1.5.2 DÉVELOPPEMENT DE LA MICROFLORE BACTÉRIENNE DÉNITRIFIANTE.....	14
1.5.3 ÉVALUATION DU SYSTÈME DE DÉNITRIFICATION EN MODE BATCH.....	15
1.5.4 ÉVALUATION DES PARAMÈTRES OPÉRATOIRES POUVANT INFLUENCER LES PERFORMANCES DU PROCÉDÉ DE DÉNITRIFICATION AUTOTROPHE SUR SOUFRE ET DÉTERMINATION DES CONDITIONS OPTIMALES.....	15
1.5.5 CONFIRMATION/INFIRMATION DES CONDITIONS OPTIMALES À UNE ÉCHELLE PILOTE.....	16
2 REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....	17
2.1 PROBLÉMATIQUE DES NITRATES.....	17
2.1.1 CYCLE DE L'AZOTE.....	17
2.1.2 NITRATES/NITRITES.....	19
2.1.2.1 DESCRIPTION.....	19
2.1.2.2 RISQUES SANITAIRES.....	19
2.1.2.3 RISQUES ENVIRONNEMENTAUX.....	20
2.2 RÈGLEMENTATIONS.....	21
2.2.1 OMS.....	21
2.2.2 CANADA.....	21
2.2.3 QUÉBEC.....	22
2.2.4 ÉTATS-UNIS.....	22

<b>2.3</b>	<b>MÉTHODES PHYSICO-CHIMIQUES POUR L'ENLÈVEMENT DES NITRATES.....</b>	<b>23</b>
2.3.1	ÉCHANGE IONIQUE.....	23
2.3.2	OSMOSE INVERSE.....	24
2.3.3	ÉLECTRODIALYSE.....	24
2.3.4	ADSORPTION.....	24
<b>2.4</b>	<b>ENLÈVEMENT DES NITRATES PAR DÉNITRIFICATION BIOLOGIQUE.....</b>	<b>25</b>
2.4.1	GÉNÉRALITÉS.....	25
2.4.2	ENZYMES IMPLIQUÉES DANS LA DÉNITRIFICATION.....	27
2.4.3	DÉNITRIFICATION HÉTÉROTROPHE.....	28
2.4.4	DÉNITRIFICATION AUTOTROPHE.....	30
2.4.4.1	DÉNITRIFICATION À L'HYDROGÈNE.....	30
2.4.4.2	DÉNITRIFICATION AUX COMPOSÉS SOUFRÉS.....	32
<b>2.5</b>	<b>DÉNITRIFICATION AUTOTROPHE SUR SOUFRE ET CALCAIRE.....</b>	<b>34</b>
2.5.1	BACTÉRIES IMPLIQUÉES LORS DE LA DASC.....	34
2.5.2	FACTEURS INFLUENÇANT LA DASC.....	38
2.5.2.1	PH.....	39
2.5.2.2	TEMPÉRATURE.....	40
2.5.2.3	OXYGÈNE DISSOUS.....	40
2.5.2.4	RATIO S/N.....	41
2.5.2.5	TAILLE DES PARTICULES.....	41
2.5.2.6	RAPPORT SOUFRE-CALCAIRE.....	42
2.5.2.7	CONCENTRATION DE L'AFFLUENT EN NITRATES.....	45
2.5.2.8	TEMPS DE RÉTENTION HYDRAULIQUE.....	46
2.5.2.9	INHIBITEURS.....	47
2.5.3	CONFIGURATION DU SOUFRE ET DU CALCAIRE DANS LE BIORÉACTEUR.....	48
2.5.4	APPLICATION D'AUTRES SUBSTRATS TAMPONS.....	49
<b>2.6</b>	<b>SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.....</b>	<b>50</b>
<b>3</b>	<b>MÉTHODOLOGIE EXPÉRIMENTALE.....</b>	<b>53</b>
3.1	SYSTÈMES DE FILTRATION.....	53
3.1.1	COLONNES DE FILTRATION.....	53
3.1.2	BIOFILTRE.....	55
3.1.3	SUBSTRAT TAMPON.....	56
3.1.4	REPLISSAGE DES COLONNES.....	56
3.2	DÉVELOPPEMENT ET ACCLIMATATION DES SOUCHES BACTÉRIENNES.....	57
3.2.1	PHASE DE DÉMARRAGE.....	57

3.2.2	PHASE D'OPTIMISATION DES CONDITIONS D'ACCLIMATATION .....	58
3.3	FONCTIONNEMENT DU SYSTÈME EN MODE BATCH.....	59
3.3.1	DÉMARRAGE DES COLONNES DE TYPE G .....	59
3.3.2	DÉMARRAGE DES COLONNES DE TYPE P.....	62
3.3.3	INTÉGRATION DU CALCAIRE .....	62
3.4	FONCTIONNEMENT DU SYSTÈME EN MODE CONTINU .....	64
3.4.1	DESCRIPTIF DES INSTALLATIONS.....	64
3.4.2	DÉTERMINATION DU TEMPS DE RÉTENTION HYDRAULIQUE (TRH) OPTIMAL .....	69
3.4.3	ÉTUDE DE LA CONFIGURATION SOUFRE/CALCAIRE .....	70
3.4.3.1	RAPPORT SOUFRE/CALCAIRE OPTIMAL .....	70
3.4.3.2	CONFIGURATION SOUFRE/CALCAIRE OPTIMALE .....	72
3.4.4	EFFET DE LA CONCENTRATION INITIALE EN NITRATES .....	73
3.5	DÉMONSTRATION DES PERFORMANCES DU PROCÉDÉ DE DÉNITRIFICATION AUTOTROPHE À L'ÉCHELLE PRÉ-COMMERCIALE .....	75
3.5.1	DIMENSIONNEMENT DU BIORÉACTEUR DE DÉNITRIFICATION AUTOTROPHE.....	75
3.5.1.1	MATÉRIAUX UTILISÉS POUR LE REMPLISSAGE DU BDA.....	75
3.5.1.2	CRITÈRES DE DESIGN DU BDA .....	77
3.5.2	CONSTRUCTION ET INSTALLATION DU PILOTE PRÉ-COMMERCIAL.....	77
3.5.3	ALIMENTATION ET PLAN DE SUIVI DU PILOTE PRÉ-COMMERCIAL .....	80
3.6	MESURES ANALYTIQUES.....	82
3.6.1	DÉTERMINATION DE LA DENSITÉ ET DE LA POROSITÉ.....	82
3.6.2	DÉTERMINATION DU PH ET DE L'ALCALINITÉ.....	83
3.6.3	OXYGÈNE DISSOUS ET POTENTIEL D'OXYDORÉDUCTION .....	84
3.6.4	DURETÉ, SULFATES ET PHOSPHORE .....	85
3.6.5	NITRATES/NITRITES .....	86
3.6.6	CARBONE ORGANIQUE DISSOUS ET AZOTE TOTAL .....	87
3.7	MÉTHODES STATISTIQUES.....	87
4	RÉSULTATS ET DISCUSSION .....	89
4.1	CARACTÉRISATION DES EFFLUENTS ISSUS DES PROCÉDÉS D'ÉPURATION PAR VOIE BIOLOGIQUE DE PTA ..	89
4.2	DÉVELOPPEMENT ET ACCLIMATATION DE LA MICROFLORE DÉNITRIFIANTE .....	91
4.3	FONCTIONNEMENT DU SYSTÈME DE DÉNITRIFICATION EN MODE BATCH.....	99
4.3.1	DÉMARRAGE DES COLONNES DE TYPE G .....	99
4.3.2	DÉMARRAGE DES COLONNES DE TYPE P.....	104
4.4	NEUTRALISATION DE L'EAU .....	106
4.5	FONCTIONNEMENT DU SYSTÈME EN MODE CONTINU .....	111
4.5.1	DÉTERMINATION DU TRH OPTIMAL .....	111

4.5.1.1	ESSAIS AVEC DES TRH DE 11, 8 ET 5,5 H .....	111
4.5.1.2	ESSAIS AVEC DES TRH DE 5, 4, 3 ET 2 H .....	113
4.5.1.3	ESSAIS AVEC DES TRH DE 3,0, 2,5, 2,0 ET 1,5 H.....	115
4.5.1.4	ESSAIS AVEC DES TRH DE 1,2, 1,0, 0,7 ET 0,5 H.....	117
4.5.2	ÉTUDE DE LA CONFIGURATION SOUFRE/CALCAIRE .....	120
4.5.2.1	DÉTERMINATION DU RAPPORT S/C OPTIMAL .....	120
4.5.2.2	DÉTERMINATION DE LA CONFIGURATION SOUFRE/CALCAIRE OPTIMALE .....	124
4.5.3	EFFET DE LA CONCENTRATION INITIALE EN NITRATES .....	127
4.6	DÉMONSTRATION DU PILOTE DE DASC PRÉ-COMMERCIAL .....	129
4.6.1	ÉVOLUTION DE L'OXYGÈNE DISSOUS, DU POR ET DE LA TEMPÉRATURE.....	129
4.6.2	ÉVALUATION DU COMPORTEMENT DU BDA .....	131
4.6.3	EFFICACITÉ DE DÉNITRIFICATION SELON LA HAUTEUR DU GARNISSAGE.....	139
4.6.4	COMPORTEMENT DU BDA AUX BASSES TEMPÉRATURES .....	140
4.6.5	PRODUCTION DES SULFATES .....	143
4.6.6	EFFET DE LA VARIATION DE LA CHARGE VOLUMIQUE .....	144
4.6.7	VITESSE DE COLMATAGE DU GARNISSAGE .....	145
5	CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS .....	149
6	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	153
ANNEXE 1	.....	163
ANNEXE 2	.....	165
ANNEXE 3	.....	167
ANNEXE 4	.....	169
ANNEXE 5	.....	171

## LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1-1	CARACTÉRISTIQUES GÉNÉRALES DE L'EFFLUENT DU PROCÉDÉ FILTRE COCO PTA, OPÉRÉ DU 31-07-2014 AU 13-11-2014, AVEC PH = 6,9 ± 0,4 .....	8
TABLEAU 1-2	RÉCAPITULATIF DES PROCÉDÉS DE DÉNITRIFICATION AUTOTROPHE SUR SOUFRE ÉLÉMENTAIRE (S <sup>0</sup> ) EXISTANTS À L'ÉCHELLE LABORATOIRE OU PILOTE .....	12
TABLEAU 2-1	RÉSUMÉ DES CONCENTRATIONS MAXIMALES ADMISSIBLES (GROUPE SCIENTIFIQUE SUR L'EAU, 2003) .....	22
TABLEAU 2-2	APPLICATIONS DE LA DASC OÙ L'ESPÈCE <i>THIOBACILLUS DENITRIFICANS</i> A ÉTÉ IDENTIFIÉE .....	38
TABLEAU 3-1	DIMENSIONS DES COLONNES DE DÉNITRIFICATION .....	55
TABLEAU 3-2	RÉPARTITION MASSIQUE DES DIFFÉRENTES FRACTIONS GRANULOMÉTRIQUES DU SOUFRE ÉLÉMENTAIRE UTILISÉ .....	55
TABLEAU 3-3	FRACTIONS GRANULOMÉTRIQUES DU CALCAIRE.....	56
TABLEAU 3-4	PARAMÈTRES DES DIFFÉRENTS SYSTÈMES DE FILTRATION UTILISÉS .....	57
TABLEAU 3-5	CONFIGURATIONS ÉTUDIÉES DURANT LA PHASE D'OPTIMISATION DE L'ÉTAPE DE DÉVELOPPEMENT ET D'ACCLIMATATION DES BACTÉRIES DÉNITRIFIANTES.....	59
TABLEAU 3-6	RÉSUMÉ DES TRH (DANS LA COLONNE DE SOUFRE) ET DÉBITS APPLIQUÉS POUR LA DÉTERMINATION DU TRH OPTIMAL .	70
TABLEAU 3-7	PROPORTIONS MASSIQUES SOUFRE/CALCAIRE ÉTUDIÉES AVEC LA CONFIGURATION MÉLANGÉE AVEC UN TRH FIXÉ À 1,5 H (TRH OPTIMAL).....	71
TABLEAU 3-8	DÉBITS APPLIQUÉS (ML/MIN) POUR LES TROIS CONFIGURATIONS SOUFRE/CALCAIRE TESTÉES .....	73
TABLEAU 3-9	FRACTIONS GRANULOMÉTRIQUES DU CALCAIRE.....	76
TABLEAU 3-10	DESIGN DU PILOTE PRÉ-COMMERCIAL .....	77
TABLEAU 3-11	CARACTÉRISTIQUES DE FONCTIONNEMENT DU PILOTE.....	82
TABLEAU 4-1	CARACTÉRISATION DES EFFLUENTS ISSUS DES PROCÉDÉS FILTRE COCO PTA (DU 29-05-2012 AU 03-10-2014) ET ECOFLO® (DU 19-12-2011 AU 06-04-2012) .....	89
TABLEAU 4-2	CARACTÉRISTIQUES COMMUNES DES EFFLUENTS DOMESTIQUES NON TRAITÉS .....	91
TABLEAU 4-3	TAUX D'ENLÈVEMENT DES NITRITES/NITRATES OBTENUS POUR LES DIFFÉRENTS RATIOS MASSIQUES S/C APRÈS 1, 3 ET 7 JOURS	120
TABLEAU 4-4	SUIVI DU PH, DE L'ALCALINITÉ ET DU RENDEMENT D'ENLÈVEMENT DES NITRITES/NITRATES OBTENUS POUR LES BIORÉACTEURS DE DÉNITRIFICATION OPÉRÉS SELON TROIS CONFIGURATIONS S/C DIFFÉRENTES (SÉPARÉS (CS), MÉLANGÉS (CM) ET EN COUCHES SUPERPOSÉES (CCS)) AVEC TRH = 4,0 H (AFFLUENT: PH = 6,61; ALCALINITÉ = 132,2 MG/L ET [NO <sub>x</sub> ] <sub>INI</sub> = 20,9 MG NO <sub>3</sub> -N/L) ET S/C = 1/1 .....	124
TABLEAU 4-5	DÉROULEMENT DE LA RÉACTION DE DÉNITRIFICATION AUTOTROPHE EN FONCTION DE LA HAUTEUR DU LIT FILTRANT ....	139



## LISTE DES FIGURES

FIGURE 1–1	REPRÉSENTATION SCHÉMATIQUE DU PROCÉDÉ ECOFLO®.....	7
FIGURE 2–1	CYCLE DE L'AZOTE (UVED, 2006) .....	18
FIGURE 2–2	PROCESSUS DE DÉNITRIFICATION (ZUMFT, 1997) AVEC LES ENZYMES QUI Y SONT IMPLIQUÉES : LA NITRATE RÉDUCTASE (NAR), LA NITRITE RÉDUCTASE (NIR), L'OXYDE NITRIQUE RÉDUCTASE (NOR) ET L'OXYDE NITREUX RÉDUCTASE (N <sub>2</sub> OR) .....	27
FIGURE 2–3	INTERACTIONS CHIMIQUES DURANT LE PROCESSUS DE DASC (KOENIG ET LIU, 1997).....	35
FIGURE 2–4	PARTICULE DE SOUFRE COLONISÉE PAR DES SOUCHES BACTÉRIENNES CONTENANT DES <i>THIOBACILLUS DENITRIFICANS</i> . A) TIRÉ DE BLAIS <i>ET AL.</i> (1994), B) TIRÉ DE MOON <i>ET AL.</i> (2004) .....	37
FIGURE 3–1	COLONNES DE TYPE G : (A) ET (C) ET COLONNES DE TYPE M : (B) UTILISÉES POUR LES ESSAIS DE DÉNITRIFICATION AUTOTROPHE ET DE NEUTRALISATION, RESPECTIVEMENT .....	54
FIGURE 3–2	COLONNES DE TYPE P UTILISÉES POUR LES ESSAIS DE DÉNITRIFICATION AUTOTROPHE .....	54
FIGURE 3–3	SYSTÈME DE DÉNITRIFICATION EN MODE DISCONTINU AVEC EMPLOI D'UN RÉSERVOIR.....	61
FIGURE 3–4	SYSTÈME DE DÉNITRIFICATION EN MODE DISCONTINU SANS EMPLOI D'UN RÉSERVOIR.....	61
FIGURE 3–5	INTÉGRATION DU CALCAIRE AU SYSTÈME DE DÉNITRIFICATION EN MODE DISCONTINU (COLONNE DE CALCAIRE EN AVAL DE LA COLONNE DE SOUFRE).....	64
FIGURE 3–6	BIORÉACTEURS PILOTES DE DÉNITRIFICATION OPÉRÉS EN MODE CONTINU À LA SEB : (1) BAC DE POMPAGE, (2) COLONNE DE SOUFRE, (3) COLONNE DE CALCAIRE, (4) POMPE PÉRISTALTIQUE D'ALIMENTATION P <sub>1</sub> ET (5) POMPE DE RECIRCULATION P <sub>2</sub> .....	65
FIGURE 3–7	PRINCIPE DE FONCTIONNEMENT EN MODE CONTINU DES BIORÉACTEURS PILOTES DE DÉNITRIFICATION INSTALLÉS À LA SEB	66
FIGURE 3–8	CONFIGURATION D'UNE COLONNE DE TYPE P EN MODE CONTINU .....	68
FIGURE 3–9	COLONNES DE TYPE P EN CONFIGURATION MÉLANGÉE AVEC DIFFÉRENTS RAPPORTS S/C .....	71
FIGURE 3–10	FONCTIONNEMENT DES BIORÉACTEURS PILOTES EN MODE CONTINU, AU TRH OPTIMAL (1,5 H) ET SELON TROIS CONFIGURATIONS DIFFÉRENTES: (1) SÉPARÉE, (2) MÉLANGÉE ET (3) EN COUCHES SUPERPOSÉES.....	73
FIGURE 3–11	COLONNES DE TYPE P EN CONFIGURATION MÉLANGÉE AVEC DIFFÉRENTES CONCENTRATIONS INITIALES EN NITRATES (10, 20, 30, 40, 50 ET 60 MG NO <sub>3</sub> -N/L) .....	74
FIGURE 3–12	SOUFRE ÉLÉMENTAIRE EN FORME DE PASTILLES (2,6 MM) : (A) ET CALCAIRE GRANULAIRE (2,5 - 5 MM) : (B).....	76
FIGURE 3–13	VUE GÉNÉRALE DE LA DISPOSITION DU PILOTE PRÉ-COMMERCIAL .....	78
FIGURE 3–14	COUPE VERTICALE DU PILOTE PRÉ-COMMERCIAL.....	79
FIGURE 4–1	ÉVOLUTION DU PH EN FONCTION DES CONDITIONS UTILISÉES POUR LE DÉVELOPPEMENT DE LA MICROFLORE DÉNITRIFIANTE EN L'ABSENCE D'INOCULUM (A.) OU EN PRÉSENCE D'INOCULUM (B.) .....	96
FIGURE 4–2	ÉVOLUTION DES TENEURS RÉSIDUELLES EN NO <sub>x</sub> (NO <sub>3</sub> -N/L) EN FONCTION DES CONDITIONS UTILISÉES POUR LE DÉVELOPPEMENT DE LA MICROFLORE DÉNITRIFIANTE EN L'ABSENCE D'INOCULUM (A.) OU EN PRÉSENCE D'INOCULUM (B.).....	97
FIGURE 4–3	ÉVOLUTION DE L'ALCALINITÉ (MG/L) EN FONCTION DES CONDITIONS UTILISÉES POUR LE DÉVELOPPEMENT DE LA MICROFLORE DÉNITRIFIANTE EN L'ABSENCE D'INOCULUM (A.) OU EN PRÉSENCE D'INOCULUM (B.).....	98

FIGURE 4–4	ÉVOLUTION DU PH (A), DES NO <sub>x</sub> (B) ET DE L'ALCALINITÉ (C) DES EFFLUENTS ISSUS DES QUATRE COLONNES DE SOUFRE DE TYPE G OPÉRÉES EN MODE BATCH DURANT L'ESSAI N°1 (DU 19-12-2011 AU 30-01-2012, [NO <sub>x</sub> ] <sub>INI MOY</sub> = 19,3 MG NO <sub>3</sub> -N/L)	100
FIGURE 4–5	ÉVOLUTION DU PH (A), DES NO <sub>x</sub> (B), DE L'ALCALINITÉ (C) ET DE LA DURETÉ (D) DANS LES EFFLUENTS ISSUS DES QUATRE COLONNES DE SOUFRE DE TYPE G OPÉRÉES EN MODE BATCH DURANT L'ESSAI N°2 (DU 14-02-2012 AU 28-02-2012, [NO <sub>x</sub> ] <sub>INI MOY</sub> = 5,4 MG NO <sub>3</sub> -N/L)	102
FIGURE 4–6	ÉVOLUTION DES NO <sub>x</sub> PRÉSENTS DANS LES EFFLUENTS DES QUATRE COLONNES DE SOUFRE DE TYPE G OPÉRÉES EN MODE BATCH DURANT L'ESSAI N°3 (A) (DU 12-03-2012 AU 21-03-2012) AVEC [NO <sub>x</sub> ] <sub>INI MOY</sub> = 8,7 MG NO <sub>3</sub> -N /L ET DURANT L'ESSAI N°4 (B) (DU 26-03-2012 AU 04-04-2012) AVEC [NO <sub>x</sub> ] <sub>INI MOY</sub> = 18,1 MG NO <sub>3</sub> -N/L	103
FIGURE 4–7	ÉVOLUTION DU PH (A) ET DES NO <sub>x</sub> (B) DANS LES EFFLUENTS ISSUS DES 6 COLONNES DE SOUFRE DE TYPE P OPÉRÉES EN MODE BATCH DURANT L'ESSAI N°5 (DU 13 AU 24-03-12, [NO <sub>x</sub> ] <sub>INI MOY</sub> = 8,7 MG NO <sub>3</sub> -N/L)	105
FIGURE 4–8	ÉVOLUTION DU PH (A), DES NO <sub>x</sub> (B) ET DE L'ALCALINITÉ (C) DANS LES EFFLUENTS ISSUS DES QUATRE COLONNES DE SOUFRE DE TYPE G PLACÉES EN AVAL DES QUATRE COLONNES DE CALCAIRE DE TYPE M ET OPÉRÉES EN MODE BATCH DURANT L'ESSAI N°6 (DU 18-04-12 AU 01-05-12, [NO <sub>x</sub> ] <sub>INI MOY</sub> = 22,7 MG NO <sub>3</sub> -N/L, RATIO S/C = 7,7)	107
FIGURE 4–9	ÉVOLUTION DU PH (A), DES NO <sub>x</sub> (B) DANS LES EFFLUENTS ISSUS DES SIX COLONNES DE TYPE P EN CONFIGURATION S/C MÉLANGÉS ET OPÉRÉES EN MODE BATCH DURANT L'ESSAI N°7 (DU 13-04-12 AU 14-05-12) POUR DIFFÉRENTS RATIOS S/C ([NO <sub>x</sub> ] <sub>INI MOY</sub> = 18,5 MG NO <sub>3</sub> -N/L)	108
FIGURE 4–10	ÉVOLUTION DU PH (A), DES NO <sub>x</sub> (B) ET DE L'ALCALINITÉ (C) DES EFFLUENTS ISSUS DES SIX COLONNES DE TYPE P EN CONFIGURATION S/C MÉLANGÉS ET OPÉRÉES EN MODE BATCH DURANT L'ESSAI N°8 (DU 26-06-12 AU 04-07-12) POUR DIFFÉRENTS RATIOS S/C ([NO <sub>x</sub> ] <sub>INI MOY</sub> = 18,1 MG NO <sub>3</sub> -N/L)	110
FIGURE 4–11	ÉVOLUTION DU PH (A), DES NO <sub>x</sub> (B) ET DE L'ALCALINITÉ (C) ET DE L'EFFLUENT DES BIORÉACTEURS DE DÉNITRIFICATION OPÉRÉS EN MODE CONTINU AUX TRH DE 11, 8 ET 5,5 H ET AVEC UN TRH <sub>G</sub> DE 8 H	112
FIGURE 4–12	ÉVOLUTION DU PH (A), DES NO <sub>x</sub> (B) ET DE L'ALCALINITÉ (C) DES EFFLUENTS ISSUS DES QUATRE BIORÉACTEURS DE DÉNITRIFICATION OPÉRÉS EN MODE CONTINU AVEC DES TRH DE 5, 4, 3 ET 2 H ET AVEC UN TRH <sub>G</sub> DE 8 H	114
FIGURE 4–13	ÉVOLUTION DU PH (A), DES NO <sub>x</sub> (B) ET DE L'ALCALINITÉ (C) DES EFFLUENTS ISSUS DES QUATRE BIORÉACTEURS DE DÉNITRIFICATION OPÉRÉS EN MODE CONTINU AUX TRH DE 3,0, 2,5, 2,0 ET 1,5 H ET AVEC UN TRH <sub>G</sub> DE 4,8 H	116
FIGURE 4–14	ÉVOLUTION DU PH (A), DES NO <sub>x</sub> (B) ET DE L'ALCALINITÉ (C) DANS LES EFFLUENTS ISSUS DES QUATRE BIORÉACTEURS DE DÉNITRIFICATION OPÉRÉS EN MODE CONTINU AUX TRH DE 1,2, 1,0, 0,7 ET 0,5 H ET AVEC UN TRH <sub>G</sub> DE 4,8 H	119
FIGURE 4–15	ÉVOLUTION DU PH (A), DE L'ALCALINITÉ (B), DES NO <sub>x</sub> (C) ET DE LA DURETÉ (D) DES EFFLUENTS ISSUS DES COLONNES DE TYPE P OPÉRÉES EN MODE CONTINU AVEC UN TRH FIXÉ À 1,5 H ET REMPLIES AVEC DU SOUFRE ET DU CALCAIRE SELON DIFFÉRENTS RATIOS S/C COMPRIS ENTRE 9/1 ET 1/1	123
FIGURE 4–16	ÉVOLUTION DU PH (A), DES NO <sub>x</sub> (B) ET DE L'ALCALINITÉ (C) DES EFFLUENTS ISSUS DES BIORÉACTEURS DE DÉNITRIFICATION OPÉRÉS EN MODE CONTINU AVEC UN RATIO S/C = 1/1 ET UN TRH FIXÉ À 1,5 H, SELON TROIS CONFIGURATIONS SOUFRE/CALCAIRE DIFFÉRENTES (SÉPARÉE, MÉLANGÉE ET EN COUCHES SUPERPOSÉES)	126

FIGURE 4–17	ÉVOLUTION DU PH (A), DES NO <sub>x</sub> (B) ET DE L'ALCALINITÉ (C) DES EFFLUENTS ISSUS DES COLONNES DE TYPE P OPÉRÉES EN MODE CONTINU AVEC UN RATIO S/C = 1/1 ET UN TRH FIXÉ À 1,5 H, POUR DIFFÉRENTES CONCENTRATIONS INITIALES EN NO <sub>x</sub> (DE 10 À 60 MG NO <sub>3</sub> -N/L).....	128
FIGURE 4–18	ÉVOLUTION DE LA TENEUR EN OD (A), DU POR (B) ET DE LA TEMPÉRATURE (C) DE L'AFFLUENT PROVENANT DU FILTRE COCO PTA (AFF-FILTRE), DE L'AFFLUENT PROVENANT DU BASSIN D'ÉGALISATION (AFF-BASSIN) ET DE L'EFFLUENT DU BDA .....	130
FIGURE 4–19	ÉVOLUTION DE LA TENEUR EN NITRATES (A), EN NITRITES (B) ET EN NO <sub>x</sub> (C) PRÉSENTS DANS L'AFFLUENT ET DANS L'EFFLUENT DU BDA PILOTE (DU 09-07 AU 03-10-2014) AVEC T <sub>MOY</sub> = 19,6°C ET OD <sub>MOY</sub> = 4,6 MG O <sub>2</sub> /L À L'ENTRÉE DU BDA, TRH = 1,4 H.....	133
FIGURE 4–20	ÉVOLUTION DES RENDEMENTS D'ENLÈVEMENT DES NITRATES EN FONCTION DE LA DURÉE DE FONCTIONNEMENT DU PILOTE (A) ET EN FONCTION DE LA CHARGE VOLUMIQUE DE L'AFFLUENT (B) (DU 09-07 AU 03-10-2014), AVEC 1) DIMINUTION DU TEMPS DE DOSE À 30 SEC ET 2) AUGMENTATION DU TEMPS DE DOSE À 2 MIN ET AUGMENTATION DU DÉBIT DE TRAITEMENT À 1 500 L/JR (T <sub>MOY</sub> = 19,6°C, TRH = 1,4 H) .....	136
FIGURE 4–21	ÉVOLUTION DE LA TENEUR RÉSIDUELLE EN SULFATES PRÉSENTS DANS L'AFFLUENT ET DANS L'EFFLUENT DU BDA PILOTE (DU 09-07 AU 03-10-2014), AVEC 1) DIMINUTION DU TEMPS DE DOSE À 30 SEC ET 2) AUGMENTATION DU TEMPS DE DOSE À 2 MIN ET AUGMENTATION DU DÉBIT DE TRAITEMENT À 1 500 L/JR (T <sub>MOY</sub> = 19,6°C, TRH = 1,4 H) .....	137
FIGURE 4–22	ÉVOLUTION DU PH (A), DE L'ALCALINITÉ (B) ET DE LA DURETÉ (C) DANS L'AFFLUENT ET DANS L'EFFLUENT DU BDA PILOTE (DU 09-07 AU 03-10-2014; T <sub>MOY</sub> = 19,6°C, TRH = 1,4 H).....	138
FIGURE 4–23	ÉVOLUTION DU PH (A), DE L'ALCALINITÉ (B) ET DE LA TENEUR EN NO <sub>x</sub> (C) DANS L'AFFLUENT ET DANS L'EFFLUENT DU BDA PILOTE DURANT L'AUTOMNE 2014 ET L'HIVER 2015 (TRH = 1,4 H) .....	142
FIGURE 4–24	ÉVOLUTION DES SULFATES PRODUITS EN FONCTION DES NITRATES ENLEVÉS DURANT LA PÉRIODE DE SUIVI DE 8 MOIS, DE L'AUTOMNE 2014 À L'HIVER 2015 (TRH = 1,4 H) .....	143
FIGURE 4–25	ÉVOLUTION DE LA CHARGE VOLUMIQUE DE L'AFFLUENT DE L'EFFLUENT ET DU RENDEMENT D'ENLÈVEMENT DES NITRITES/NITRATES AU COURS DE LA PÉRIODE DE SUIVI DE 8 MOIS, DE L'AUTOMNE 2014 À L'HIVER 2015 (TRH = 1,4 H).....	144
FIGURE 4–26	ÉVOLUTION DE LA TENEUR EN MES DANS L'AFFLUENT ET DANS L'EFFLUENT ET DE LA CONDUCTIVITÉ HYDRAULIQUE DU SYSTÈME AU COURS DE LA PÉRIODE DE SUIVI DE L'AUTOMNE 2014 À L'HIVER 2015 (TRH = 1,4 H) .....	145



## LISTE DES ÉQUATIONS

ÉQUATION 2-1	RÉACTION DE RÉDUCTION DES NITRATES DURANT LA DÉNITRIFICATION HÉTÉROTROPHE.....	28
ÉQUATION 2-2	RÉACTION DE RÉDUCTION DES NITRATES AYANT LIEU LORS DE LA DÉNITRIFICATION AUTOTROPHE À L'HYDROGÈNE .....	30
ÉQUATION 2-3	RÉACTION DE DÉNITRIFICATION AUTOTROPHE SUR SOUFRE ÉLÉMENTAIRE (BATCHELOR ET LAWRENCE, 1978) .....	35
ÉQUATION 2-4	$5S^0 + 6NO_3^- + 6H_2O \rightarrow 3 N_2 + 5 SO_4^{2-} + 4H_3O^+$ .....	35
ÉQUATION 2-5	$11 S^0 + 10 NO_3^- + 4,1 HCO_3^- + 0,5 CO_2 + 1,72 NH_4^+ + 2,54 H_2 \rightarrow 0,92 C_5H_7NO_2 + 11 SO_4^{2-} + 5,4 N_2 + 9,62 H^+$	35
ÉQUATION 2-6	$55 S + 44 CaCO_3 + 50 NO_3^- + 18 H_2O + 4 NH_4^+ \rightarrow 4 C_5H_7O_2N + 25 N_2 + 55 SO_4^{2-} + 44 Ca^{2+} + 24 HCO_3^-$ ....	39
ÉQUATION 2-7	$CaCO_{3(s)} + H^+ \leftrightarrow HCO_3^- + Ca^{2+}$ .....	43
ÉQUATION 2-8	$HCO_3^- + H^+ \leftrightarrow H_2CO_3$ .....	43
ÉQUATION 2-9	$H_2CO_3 \leftrightarrow H_2O + CO_2$ .....	43
ÉQUATION 3-1	DÉTERMINATION DE LA DENSITÉ APPARENTE .....	83
ÉQUATION 3-2	DÉTERMINATION DE LA DENSITÉ DE SOLIDE .....	83
ÉQUATION 3-3	DÉTERMINATION DE LA POROSITÉ .....	83
ÉQUATION 3-4	DÉTERMINATION DE L'ALCALINITÉ .....	84
ÉQUATION 3-5	DÉTERMINATION DE LA DURETÉ.....	86
ÉQUATION 3-6	ESTIMATION DE LA VALEUR DE STUDENT POUR LA COMPARAISON DE DEUX VALEURS MOYENNES .....	87



## LISTE DES ABRÉVIATIONS

∅	Intensité de dose
ATP	Adénosine triphosphate
BDA	Bioréacteur de dénitrification autotrophe
CCS	Configuration en couches superposées
CF	Coliformes fécaux
Ci	Concentration initiale
CM	Configuration mélangée
CMA	Concentration maximale admissible
COD	Carbone organique dissous
COT	Carbone organique total
CRIBIQ	<i>Consortium de recherche et innovations en bioprocédés industriels au Québec</i>
CS	Configuration séparée
CSTR	<i>Continuous stirred tank reactor</i>
DA	Densité apparente
DASC	Dénitrification autotrophe sur soufre et calcaire
DBO	Demande biologique en oxygène
DBO <sub>5</sub>	Demande biologique en oxygène pendant cinq jours
DJA	Dose journalière admissible
DOC	<i>Dissolved organic carbon</i>
DS	Densité réelle ou densité de solide
EPS	<i>Extracellular polymeric substance</i>
EUD	Eaux usées domestiques
EUM	Eaux usées municipales
HDTMA	Bromure d'hexadécyltriméthylammonium
HRT	<i>Hydraulic retention time</i>
INRS-ETE	Institut national de la recherche scientifique Centre Eau, Terre et Environnement
LDH	Hydrotalcite ( <i>Layered double hydroxide</i> )
MES	Matières en suspension
MTAC	<i>Midwest technology assistance center</i>

N <sub>2</sub> O	Oxyde nitreux
NaR	Nitrate réductase
NED	N-1-naphthyléthylènediamine
NH <sub>3</sub>	Ammoniac
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Ion ammonium
NiR	Nitrite réductase
NOR	Oxyde nitrique réductase
N <sub>2</sub> OR	Oxyde nitreux réductase
NO	Oxyde nitrique
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Ion nitrate
NO <sub>3</sub> -N	Nitrates exprimés en N
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Ion nitrite
NO <sub>2</sub> -N	Nitrites exprimés en N
NO <sub>x</sub> -N	Nitrites et nitrates exprimés en N
N <sub>Sol</sub>	Azote total dissous
N <sub>Tot</sub>	Azote total
OMS	Organisation mondiale de la santé
OD	Oxygène dissous
P	Porosité
POR	Potentiel d'oxydo-réduction
P <sub>Sol</sub>	Phosphore total dissous
P <sub>Tot</sub>	Phosphore total
PTA	Premier Tech Aqua
SEB	Station d'épuration de Bellevue
SLAD	<i>Sulfur limestone autotrophic denitrification</i>
TOC	Total organic carbon
TRH	Temps de rétention hydraulique
TRH <sub>G</sub>	Temps de rétention hydraulique global

## INTRODUCTION

Depuis le jour où l'activité industrielle a commencé à prendre de l'essor conjointement avec la croissance démographique, les problèmes liés aux rejets d'eaux contaminées n'ont cessé d'augmenter touchant principalement l'environnement aquatique. En effet, l'augmentation des zones d'habitations dispersées et des agglomérations à population variable non reliées à des systèmes centralisés de traitement des eaux usées aggravent la situation et causent de sérieux dommages aux écosystèmes. Les petites installations non contrôlées de traitement des eaux résiduaires rejettent directement ou indirectement des nutriments, tels que l'azote et le phosphore, dans les plans d'eaux avoisinants, causant des problèmes d'eutrophisation des cours d'eau et de prolifération des cyanobactéries. Les installations effectuant le traitement des eaux usées des résidences isolées ont souvent de la difficulté à atteindre les normes de rejets qui sont de plus en plus strictes. En ce qui a trait aux normes québécoises en matière d'effluent domestique, elles se basent actuellement sur le suivi de la demande biochimique en oxygène (DBO), du phosphore total ( $P_{\text{tot}}$ ), des matières en suspension (MES), ainsi que des coliformes fécaux (CF). D'un autre côté, les normes américaines appliquées exigent la réduction de l'azote pour tous les bassins versants de la baie de Chesapeake et pour les installations de toutes tailles. Comme par exemple, pour le secteur des « Keys » en Floride où il est nécessaire de réduire l'azote à moins de 5 mg/L pour assurer la protection des récifs de corail.

Les technologies de traitement les plus couramment utilisées en assainissement décentralisé sont les procédés biologiques. Ces procédés, où les bactéries sont les principaux acteurs de la dégradation, sont relativement peu coûteux et faciles à mettre en place. Premier Tech Aqua développe et commercialise divers procédés biologiques adaptés à l'assainissement décentralisé. Ces procédés permettent de réduire en moyenne de 25 à 35% la teneur en azote retrouvée dans les eaux domestiques. Cependant, l'effluent final contient des teneurs encore élevées en azote, principalement sous forme de nitrates. La meilleure option technologique pour une élimination accrue de l'azote dans l'effluent rejeté au milieu récepteur est d'insérer, en aval des procédés de PTA, une étape de dénitrification biologique.

Deux types de traitement biologique ont été envisagés : la dénitrification hétérotrophe et la dénitrification autotrophe. Seulement cette dernière a été considérée. Sollicitée depuis longtemps dans le traitement des eaux souterraines, la dénitrification autotrophe a également prouvé son efficacité dans le traitement d'eaux usées et d'eaux salées, en aquariologie et dans le traitement de lixiviats provenant de sites d'enfouissement. Ses avantages par rapport à la dénitrification hétérotrophe est qu'elle génère moins de boues et d'oxyde nitreux ( $N_2O$ ) par rapport à cette dernière. De plus, étant donné que les teneurs en matière organique dans les effluents de la plupart des procédés de PTA sont très faibles, la dénitrification hétérotrophe représentait des inconvénients notables étant donné qu'elle nécessitait l'apport exogène d'un substrat carboné. De plus, son opération est difficile et sa mise en place demande une maintenance rigoureuse.

Cette étude vise donc à évaluer, en laboratoire puis à l'échelle pilote, le potentiel du couplage de la dénitrification autotrophe sur soufre élémentaire avec certains procédés de traitement biologique, commercialisés ou en cours de commercialisation par PTA, pour l'enlèvement des nitrates présents dans les eaux usées de petites et moyennes collectivités. En d'autres termes, il sera question dans ce manuscrit d'identifier le système de dénitrification le plus efficace, économique et approprié aux besoins de PTA pour l'élimination des nitrates. L'évaluation de la performance du système de dénitrification mis en place s'est basée essentiellement sur le taux d'élimination des nitrates. Toutefois, d'autres paramètres ont été étudiés dont le pH, l'alcalinité, la dureté, le  $P_{tot}$ , le phosphore dissous ( $P_{sol}$ ), l'azote total ( $N_{tot}$ ) et dissous ( $N_{sol}$ ), le carbone organique total (COT) et dissous (COD).

Ce manuscrit débute par un premier chapitre de mise en contexte du sujet pour mettre en évidence la problématique et les hypothèses de recherche, les objectifs et l'originalité du projet. Ensuite, le second chapitre sera consacré à la revue de littérature pour présenter la problématique des nitrates avec les différentes techniques de traitement des eaux usées utilisées pour l'élimination des nitrates et plus spécifiquement le procédé de dénitrification autotrophe sur soufre et calcaire avec ses limites. Par la suite, le troisième chapitre exposera la méthodologie de recherche en expliquant les différentes étapes et méthodes adoptés pour le suivi et la réalisation des essais de dénitrification à l'échelle laboratoire et à l'échelle pilote.

Finalemant, le dernier chapitre sera consacré à la discussion des résultats obtenus au cours de ce projet de recherche afin de confirmer/infirmar les conditions optimales à une échelle pilote des résultats obtenus à l'échelle laboratoire.



# 1 MISE EN CONTEXTE

## 1.1 Problématique de recherche

À la sortie des grandes villes, les zones d'habitations dispersées et les agglomérations de faible population (lotissements de résidences secondaires, terrains de camping, hôtels, stations touristiques, villages vacances, club de golf, centres commerciaux, etc.) voient leur nombre augmenter au fil des années. Ces petites et moyennes collectivités ne sont pas reliées aux systèmes centralisés de traitement des eaux usées et elles nécessitent des installations d'assainissement bien particulières.

Au Canada, les petites installations d'assainissement autonome produisent 20% de la quantité totale des eaux usées (Crites et Tchobanoglous, 1998). Le problème rencontré avec ces installations est leur difficulté à atteindre les normes de rejets qui évoluent vers une sévérité croissante (Mortula, 2006). Les procédés biologiques sont les plus couramment utilisés en assainissement décentralisé. En effet, ces procédés où les bactéries sont les principaux acteurs de la dégradation sont relativement peu coûteux et faciles à mettre en place. Leur efficacité pour l'élimination des polluants plus difficilement biodégradables peut être améliorée par l'utilisation de microorganismes spécifiques et par la fixation de ceux-ci sur des supports, ce qui leur permet de mieux supporter les chocs toxiques et les débits très variables.

C'est dans ce contexte que s'inscrivent les efforts réalisés depuis plus de 20 ans par la compagnie Premier Tech Aqua. En effet, cette entreprise développe et commercialise divers procédés biologiques d'épuration (ex. procédés Ecoflo®, Segflo™, Ecoprocess SBR™, Ecoprocess MBR™, Rotofix®, Peatland<sup>MC</sup>, etc.) éprouvés et adaptés au traitement des eaux usées résiduelles des petites et moyennes collectivités. Cependant, la mise en vigueur de réglementations de plus en plus strictes, notamment en ce qui concerne les rejets d'éléments nutritifs (azote et phosphore) responsables de l'eutrophisation des cours d'eau (Healy *et al.*, 2007) et la prolifération des cyanobactéries (Warren *et al.*, 2010), font en sorte que de nouvelles générations plus performantes de procédés de traitement doivent être développées.

Les deux procédés Ecoflo® et Ecoprocess MBR™ permettent de réduire d'environ 50 à 60% la teneur en azote retrouvée dans les eaux domestiques en oxydant l'azote ammoniacal en nitrates et en assurant la transformation d'une partie des nitrates produits en azote gazeux en conditions anoxiques. L'effluent final contient donc des teneurs encore élevées en azote, principalement sous forme de nitrates. Par conséquent, l'insertion en aval de ces procédés d'une étape de dénitrification biologique constitue probablement la meilleure option technologique pour une élimination accrue de l'azote dans l'effluent rejeté au milieu récepteur.

## **1.2 Champ d'application de Premier Tech Technologies Ltée**

La tourbe de mousse de sphaigne qui compte parmi les plus abondantes richesses naturelles du Canada, est exploitée depuis 1923 par la société Premier Tech. Présente à travers 18 pays en Amérique, en Europe et en Asie, Premier Tech a développé des compétences multidisciplinaires en réunissant ses trois groupes - Horticulture et Agriculture, Équipements Industriels, Technologies Environnementales. Ces derniers proposent des produits et services diversifiés et emploient plus de 3 000 personnes pour répondre aux besoins d'une population grandissante.

Le Groupe Technologies Environnementales de Premier Tech Technologies Ltée compte trois unités d'affaires, parmi lesquelles Premier Tech Aqua, considérée comme leader international des technologies d'assainissement autonome et décentralisé des eaux usées destinées aux petites et moyennes collectivités, aux entreprises et aux industries. Les services et produits offerts par PTA garantissent des solutions respectant l'environnement.

## **1.3 Procédés d'épuration biologique de PTA**

Une installation septique conventionnelle ([Figure 1-1](#)) fait intervenir deux principaux éléments : une fosse septique et un élément épurateur. La principale fonction d'une fosse septique est la clarification des eaux. En fait, cette étape permet d'une part l'élimination des matières en suspension par décantation, et d'autre part la rétention des matières grasses par flottation. D'un autre côté, les microorganismes présents peuvent enclencher un début de traitement bactérien et digérer une partie des matières organiques (CRE Laurentides, 2010). Quant à l'élément épurateur (généralement un biofiltre), il s'agit d'un système assurant un traitement

secondaire des eaux usées domestiques par la dégradation des composés organiques et la nitrification. Les procédés commercialisés par PTA ont souvent ce genre de configuration pour le traitement des eaux usées issues de résidences isolées.

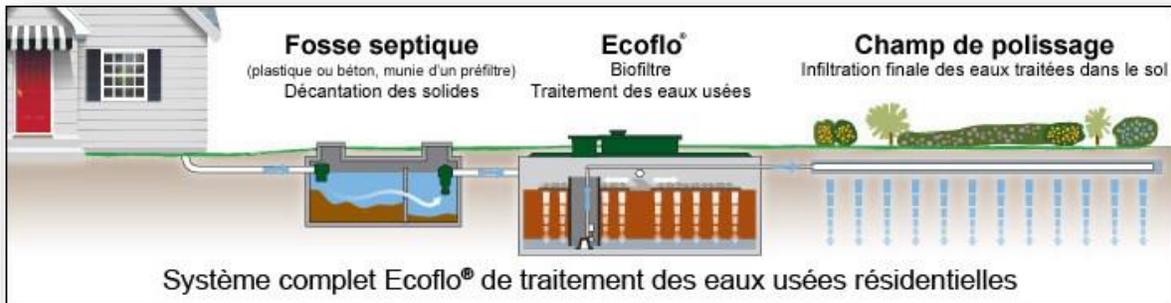


Figure 1-1 Représentation schématique du procédé Ecoflo®

Le procédé Ecoflo® est un système d'épuration entièrement autonome, constitué d'un module fabriqué en fibre de verre, en polyéthylène ou en béton de petite dimension, ainsi que d'un filtre organique à base de tourbe et de fragments de noix de coco spécialement traitée. Selon le modèle disponible, la quantité d'eaux usées traitées peut atteindre jusqu'à 2 500 L d'eau par jour.

Son processus opératoire est simple : les eaux usées en provenance de la fosse septique sont acheminées dans le caisson et sont réparties uniformément sur toute la surface du filtre à l'aide d'un système de distribution gravitaire. Les eaux sont ensuite épurées en percolant à travers le filtre organique et sont finalement évacuées par infiltration dans le sol ou par dilution dans un cours d'eau à débit continu en fonction des réglementations locales. Les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques du lit filtrant organique permettent la rétention de 90% des matières solides en suspension (MES), la dégradation de 95% des matières organiques biodégradables et la réduction de 99% des organismes pathogènes (coliformes).

Le [Tableau 1-1](#) présente un aperçu des concentrations moyennes ( $\pm$  écarts-types) de certains paramètres caractérisant l'effluent du Procédé Filtre Coco PTA. Ces données montrent que l'azote présent dans l'effluent est généralement sous forme de nitrites/nitrates avec une concentration résiduelle en azote ammoniacal de 1,5 mg NH<sub>3</sub>-N/L. De plus, l'effluent ne contient pas assez de matières organiques pour qu'une réaction de dénitrification hétérotrophe ait lieu.

**Tableau 1-1** Caractéristiques générales du procédé Filtre Coco PTA, opéré du 31-07-2014 au 13-11-2014

Paramètres	Affluent (mg/L)	Effluent (mg/L)
pH	7,1 $\pm$ 0,1	6,9 $\pm$ 0,4
Alcalinité (CaCO <sub>3</sub> )	282,7 $\pm$ 46,5	100,4 $\pm$ 21,8
DBO <sub>5</sub>	53 $\pm$ 19	3,4 $\pm$ 1,5
Matières en suspension (MES)	33 $\pm$ 9	2,2 $\pm$ 1,1
Azote total (N <sub>tot</sub> -N)	31,7 $\pm$ 9,4	29,7 $\pm$ 8,2
Azote Kjeldahl (NTK-N)	32 $\pm$ 9	3,1 $\pm$ 1,9
Azote organique (N <sub>org</sub> -N)	7 $\pm$ 2	1,5 $\pm$ 1,1
Azote ammoniacal (NH <sub>3</sub> -N)	25 $\pm$ 9	1,5 $\pm$ 1,4
Nitrites/Nitrates (NO <sub>x</sub> -N)	0	26,6 $\pm$ 7,8
Sulfates	-	61,5 $\pm$ 15,1

Le procédé Ecoprocess MBR de PTA est un procédé breveté de bioréacteur à membrane. Dans ce procédé de traitement par boues activées, la séparation solide/liquide est effectuée à l'aide d'un système de filtration membranaire plutôt que par un clarificateur secondaire. Le procédé utilise des membranes planes d'ultrafiltration en polyéthersulfone, assemblées par regroupement de feuillets à l'intérieur de modules qui sont immergés dans la liqueur mixte du bioréacteur. Le vide partiel créé à l'intérieur des feuillets des modules aspire la liqueur mixte et l'effluent, traité après passage de l'extérieur vers l'intérieur des membranes (perméat), se déverse dans l'émissaire. La recirculation des boues n'est donc pas nécessaire, puisque la séparation solide/liquide est effectuée directement dans le réacteur biologique. Le flux de filtration est maintenu par une pompe à débit constant qui fonctionne par intermittence. Le module membranaire est nettoyé automatiquement par abrasion à l'air (auto-récure) à l'aide

de diffuseurs d'air à grosses bulles ou à fines bulles à la base du module. L'aération du bioréacteur par des diffuseurs à fines bulles est également nécessaire pour le procédé biologique. Un lavage complet de la membrane impliquant périodiquement un trempage dans des solutions chimiques ou un remplacement de la membrane par une autre préalablement nettoyée est également nécessaire. Les boues accumulées dans le système de traitement doivent être gérées adéquatement. Selon l'application visée, elles doivent être soutirées du réacteur, puis emmagasinées dans un bassin d'accumulation, traitées et enfin dirigées vers une voie d'élimination finale.

## 1.4 Originalité du projet

La présente recherche vise à répondre à un besoin en croissance, celui de répondre à des exigences environnementales de plus en plus strictes incombant les rejets issus des technologies d'assainissement d'eaux usées provenant de résidences ou institutions/commerces non-relées aux réseaux d'égout. Ceci permettra d'une part, de mieux protéger les écosystèmes à proximité des points de déversement de ces effluents et, d'autre part, de satisfaire aux exigences environnementales de plus en plus sévères dans ce domaine. Le couplage de la dénitrification autotrophe avec les procédés biologiques de Premier Tech permettra de compléter l'élimination de l'azote, laquelle n'est que partiellement réalisée avec les procédés actuels de traitement. Cette filière technologique pourra notamment être utilisée, à l'échelle commerciale, pour le traitement des eaux usées provenant de résidences, de commerces et d'institutions non-raccordées à un réseau d'égout. Le potentiel d'application est donc très grand.

À ce jour, certains procédés de dénitrification autotrophe ont été développés afin de traiter les eaux usées. En effet, l'enlèvement des nitrates par dénitrification autotrophe utilisant le soufre et le calcaire ou tout autre agent carbonaté est une technique connue et éprouvée depuis déjà trois décennies. Un état des lieux des travaux antérieurs a montré qu'il existe très peu de brevets ou d'articles scientifiques faisant l'objet du développement d'un procédé DASC. Des études ont montré qu'il est possible d'employer le soufre comme seul substrat pour l'enlèvement des nitrates par dénitrification autotrophe, mais en combinant cette dernière avec un procédé de séparation membranaire ou, le plus souvent, à de l'ultrafiltration (Yoshikimi et *al.*, 2002; Chengzhi et *al.*, 2014). Il est possible de constater que l'application de ce genre de procédé pour un traitement biologique de résidences isolées entraînerait des coûts considérables liés à la mise en place, la surveillance et la manutention du procédé en question. Le colmatage des membranes d'ultrafiltration est inévitable, par conséquent l'opération de surveillance et de lavage devient une nécessité. Les coûts d'opération de ces procédés augmentent de manière considérable. Concernant les autres procédés développés, que ce soit une différence dans le design du bioréacteur, dans la nature, la granulométrie, la proportion ou

la configuration des substrats employés, dans la fréquence de ré-inoculation ou de lavage du média, ou dans la concentration ou la nature de l'affluent à traiter, le procédé développé au cours de ce projet de recherche possède ses propres particularités lui permettant de se distinguer des procédés déjà expérimentés.

Le [Tableau 1-2](#) résume l'originalité de cette étude en présentant les principaux procédés de dénitrification autotrophe développés récemment et en mettant l'accent sur les différences observées avec ce projet de recherche et les études citées dans la littérature existante (cases grisées). En d'autres termes, il n'existe pas, à notre connaissance, d'études comportant des similitudes avec le projet actuel et qui est basé sur la dénitrification autotrophe sur soufre employant le calcaire comme agent neutralisant (DASC : Dénitrification Autotrophe sur Soufre et Calcaire).

**Tableau 1-2 Récapitulatif des procédés de dénitrification autotrophe sur soufre élémentaire (S<sup>0</sup>) existants à l'échelle laboratoire ou pilote**

Paramètres	Principe de la méthode	Substrats	Granulométrie (mm)	Ratio S/agent neutralisant	TRH (h)	Teneur initiale NO <sub>3</sub> -N (mg/L)	Taux de charge	Débit de traitement (L/jour)	Enlèvement (%)	Teneur résiduelle SO <sub>4</sub> -S (mg/L)	Temp. (°C)	Configuration substrats	Lavage du média
<b>Cette étude</b>	Bioréacteur à lit fixe	S <sup>0</sup> + Calcaire	Soufre: 2,6, Calcaire: 2,5-5	1/1,17 (m/m) ou 1,3/1 (v/v)	1,4	0-60	70 - 960 g NO <sub>3</sub> -N/m <sup>3</sup> .jr	1000 - 1500	81-99	100-280	5-25	Substrats mélangés	Aucun
<b>Zhou et al. (2011)</b>	Bioréacteur à lit fixe	S <sup>0</sup> + Calcaire	3-15	1/1,5 (m/m)	3	10-40	n.c.	n.c.	90	n.c.	20-25	Substrats mélangés	n.c.
					8	70-100	n.c.	n.c.	50	n.c.	5-10		n.c.
							n.c.	n.c.	100	n.c.	18-28		n.c.
<b>Zhang (2004)</b>	Bioréacteur à lit fixe - Eaux souterraines contaminées	S <sup>0</sup> + Calcaire	2,4-4,8	2/1 (v/v)	6-11	n.c.	>260 g NO <sub>3</sub> -N/m <sup>3</sup> .jr	n.c.	95	7,1 mg SO <sub>4</sub> / mg NO <sub>3</sub> -N réduit	20-25	Substrats mélangés	À chaque ré-inoculation
					2,5	20	n.c.	n.c.	80				
<b>Bae et al. (2003)</b>	Bioréacteur à lit fluidisé	S <sup>0</sup> + Calcaire		6/1 (v/v)	0,19	n.c.	2,5 kg NO <sub>3</sub> -N/m <sup>3</sup> .jr	192	>97	n.c.	n.c.	Calcaire en amont du soufre	n.c.
<b>Sengupta et al. (2006)</b>	Bioréacteur à lit fixe	S <sup>0</sup> + Éclats de marbre	4,7	3/1 (v/v)	16	n.c.	n.c.	n.c.	71-98	n.c.	n.c.	Substrats mélangés	n.c.
		S <sup>0</sup> + Calcaire écrasé			8	50	n.c.	n.c.	90	50-200	n.c.		Après 133 jours
		S <sup>0</sup> + Coquilles d'huitres écrasées					n.c.	n.c.	99	100-220	n.c.		n.c.
<b>Sengupta et Ergas (2007)</b>	Bioréacteur à lit fixe	S <sup>0</sup> + Écailles d'huitres	Soufre: 0,3-5, Écaille: 0,6-8	3/1 (v/v)	2-4,5	n.c.	n.c.	110-230	>80	<250	n.c.	Couches multiples	Tous les 6 mois

**Tableau 1-2 (suite) Récapitulatif des procédés de dénitrification autotrophe sur soufre élémentaire (S<sup>0</sup>) existants à l'échelle laboratoire ou pilote**

Paramètres	Principe de la méthode	Substrats	Granulométrie (mm)	Ratio S/agent neutralisant	TRH (h)	Teneur initiale NO <sub>3</sub> -N (mg/L)	Taux de charge	Débit de traitement (L/jour)	Enlèvement (%)	Teneur résid. SO <sub>4</sub> -S (mg/L)	Temp. (°C)	Configuration substrats	Lavage du média
<b>Koenig et Liu (1996)</b>	Bioréacteur à lit fixe - Lixiviats nitrifiés	Soufre	2,8-5,6	n.c.	>1,2	<100	501 g NO <sub>3</sub> -N/m <sup>3</sup> .jr	n.c.	>85	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.
			5,6-11,2	n.c.	>2,3	254 g NO <sub>3</sub> -N/m <sup>3</sup> .jr	n.c.	>90	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.
			11,2-16	n.c.	>4,2	154 g NO <sub>3</sub> -N/m <sup>3</sup> .jr	n.c.	>90	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.
<b>Yoshikimi et al. (2002)</b>	Dénitrification autotrophe combinée à un traitement membranaire (ultrafiltration)	Soufre	n.c.	n.c.	1,6	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.
<b>Chengzhi et al. (2014)</b>	Dénitrification autotrophe combinée à un traitement membranaire (ultrafiltration)	Soufre	0,1-20	n.c.	0,25-0,5	10-50	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.	n.c.

## **1.5 Hypothèse, objectifs et approche méthodologique**

L'hypothèse de recherche de ce projet est qu'il est possible de développer un procédé de dénitrification biologique adapté au traitement décentralisé des eaux usées domestiques, faiblement chargées en matières organiques, et capable de maintenir l'effluent final à un niveau de nitrates et nitrites en-dessous de 5 mg NO<sub>3</sub>-N/L à des basses températures et avec un court temps de rétention hydraulique inférieur à 2,5 h.

L'objectif principal de ce projet est d'élaborer une filière de traitement par dénitrification autotrophe sur soufre élémentaire et calcaire granulaire efficace, facile à opérer et économique en aval de procédés biologiques de traitement secondaire en application résidentielle (ex. procédés développés et commercialisés par PTA) pour l'enlèvement des nitrates.

Afin d'atteindre l'objectif escompté, l'approche méthodologique adoptée a été de développer les objectifs spécifiques du projet de doctorat énumérés ci-dessous de 1.5.1 à 1.5.5.

### **1.5.1 Caractérisation de l'eau en provenance des procédés de PTA**

La caractérisation physico-chimique des eaux issues des procédés Ecoflo® ou Filtre Coco PTA a été réalisée, en suivant sur une base régulière, différents paramètres tels que le pH, le potentiel d'oxydo-réduction (POR), l'oxygène dissous (OD), la température, l'alcalinité, la dureté, les teneurs en nitrites, en nitrates et en azote dissous (N<sub>sol</sub>), la concentration en carbone organique dissous (COD), les teneurs en phosphore dissous (P<sub>sol</sub>) et en sulfates. Cette caractérisation des affluents entrant dans les différents systèmes de dénitrification a été réalisée entre décembre 2011 et mars 2015.

### **1.5.2 Développement de la microflore bactérienne dénitrifiante**

Le développement de la microflore bactérienne dénitrifiante autotrophe a été réalisé dans des erlenmeyers à l'échelle laboratoire pour être utilisée comme inoculum dans les systèmes de dénitrification étudiés au cours de ce projet de recherche. Différents milieux de culture

contenant divers substrats (soufre élémentaire, thiosulfate de sodium, calcaire et inoculum) ont été testés afin d'optimiser le développement de la microflore et de définir les conditions les plus favorables pour une acclimatation rapide et efficace.

### **1.5.3 Évaluation du système de dénitrification en mode batch**

Le démarrage des colonnes de dénitrification autotrophe sur soufre a été réalisé en opérant ces dernières en mode batch afin de garantir une bonne acclimatation des souches bactériennes et de permettre l'intégration du substrat tampon.

### **1.5.4 Évaluation des paramètres opératoires pouvant influencer les performances du procédé de dénitrification autotrophe sur soufre et détermination des conditions optimales**

Différents essais de dénitrification ont été réalisés en colonnes à l'échelle laboratoire, avec un débit d'alimentation constant et à température ambiante, pour évaluer l'influence de certains facteurs tels que le temps de rétention hydraulique (TRH), la configuration et le ratio soufre/substrat tampon et la teneur initiale en nitrates sur l'efficacité de dénitrification. Différents TRH compris entre 11 et 0,5 h ont été testés à l'échelle laboratoire à travers plusieurs séries d'essais. De plus, trois configurations soufre/substrat tampon (séparés, mélangés ou en couches superposées) ont été testées afin d'évaluer leur influence sur les performances de dénitrification et de neutralisation des effluents traités. Dans le but d'améliorer l'efficacité de neutralisation, divers ratios soufre/substrat tampon compris entre 1/1 et 9/1 ont été étudiés. Les systèmes de dénitrification ont également été utilisés pour évaluer l'effet de la teneur initiale en nitrates sur les performances d'enlèvement des nitrates. Pour ce faire, les systèmes de dénitrification ont été alimentés avec des affluents contenant 10, 20, 30, 40, 50 et 60 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$ .

### **1.5.5 Confirmation/infirmeration des conditions optimales à une échelle pilote**

Le procédé de dénitrification autotrophe sur soufre et calcaire a été testé à l'échelle pilote pour le traitement des eaux usées provenant d'une résidence isolée. L'unité pilote, d'une capacité de traitement de 1 500 L/jr, a été élaborée et construite par le personnel technique de Premier Tech Aqua en fonction des critères de design définis lors des essais réalisés au laboratoire, puis a été positionnée en aval d'une unité commerciale du procédé Filtre Coco PTA. Le suivi de cette unité a été réalisé sur une base régulière ayant duré huit mois, de juillet 2014 à mars 2015. Ces travaux ont pour objectif de valider la stabilité et la performance du procédé de dénitrification dans des conditions réelles, représentatives de ce qui est rencontré par des filières de traitement des eaux usées domestiques décentralisées. Plus spécifiquement, cet essai pilote a pour objectif d'évaluer l'effet de la température des EUD, des variations de charges hydrauliques et de la concentration en nitrates sur la stabilité et les performances du procédé développé, ainsi que d'observer la vitesse de colmatage du garnissage.

## 2 REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

### 2.1 Problématique des nitrates

Les eaux usées domestiques sont essentiellement le siège d'une pollution organique. Elles sont le résultat de divers usages quotidiens de salles de bains, cuisines et toilettes et sont habituellement chargées en détergents, graisses, solvants organiques, déjections et germes fécaux. L'azote présent dans ces eaux est soluble et se trouve sous deux formes : l'azote organique provenant essentiellement des déjections humaines et animales et des rejets alimentaires, ainsi que l'azote ammoniacal dérivant de certains produits détergents ou de la transformation de l'azote organique par ammonification (Agences de l'eau et Ministère de l'Environnement, 1994). Un usager qui utilise 150 à 250 L d'eau par jour génère une pollution comprenant :

- Plus de  $10^9$  coliformes dans 100 mL;
- 15 à 17 g de matières azotées;
- 4 g de phosphore;
- 60 à 70 g de matières organiques;
- 70 à 90 g de matières en suspension.

#### 2.1.1 Cycle de l'azote

L'azote est un élément chimique abondant dans l'atmosphère terrestre, il y est présent à 78% sous sa forme moléculaire diatomique  $N_2$  qui est un gaz très peu réactif et presque inerte. Sous sa forme fixée, l'azote permet à la matière vivante de fabriquer ses protéines pour se développer. Les différentes formes de l'azote présent dans l'eau constituent les nitrates ( $NO_3^-$ ), les nitrites ( $NO_2^-$ ), l'azote ammoniacal ( $NH_3$ ,  $NH_4^+$ ) et l'azote organique. Le cycle de l'azote se résume en cinq principales étapes, qui sont la fixation, l'assimilation, l'ammonification, la nitrification et la dénitrification ([Figure 2-1](#)) (Ratel et Debrieu, 2003).

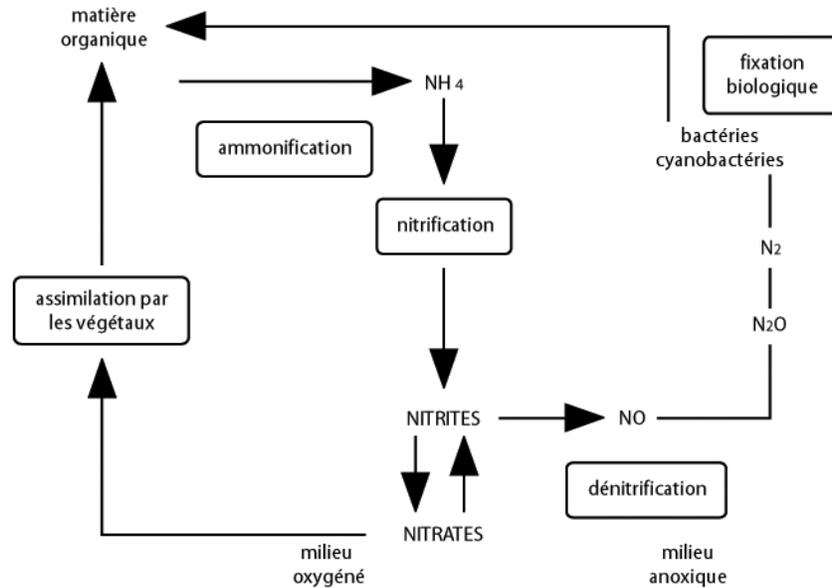


Figure 2-1 Cycle de l'azote (UVED, 2006)

Au cours de la première étape, l'azote atmosphérique est fixé par des bactéries présentes dans le sol ou l'eau. De cette façon, il se retrouve sous sa forme assimilable qui est l'ammoniac. Lors de son étape d'assimilation, les organismes vivants vont consommer la matière végétale et l'azote minéral sera transformé par synthèse protéique en azote organique présent généralement dans les excréments et les cadavres. L'ammonification permet la génération de l'ammoniac/ammonium à partir de matières organiques azotées. En effet, des microorganismes aérobies et anaérobies viennent dégrader ces déchets azotés pour en libérer de l'ammonium (Fusari, 2007).

L'étape suivante de nitrification se déroule en deux phases : la première phase constitue la nitritation où l'ammonium est oxydé en nitrites par l'intermédiaire de microorganismes nitreux (exemple : *Nitrosomonas*), et la deuxième phase, qu'est la nitratation, qui permet d'oxyder les nitrites en nitrates par l'intermédiaire de microorganismes nitriques (exemple : *Nitrobacter*). Ces bactéries nitrifiantes opèrent en présence d'oxygène, elles sont connues pour être des chimiolithotrophes aérobies strictes.

La dénitrification, qu'elle soit hétérotrophe ou autotrophe, est la dernière étape qui vient clore le cycle de l'azote par la réduction des nitrates en azote gazeux par l'entremise des bactéries dénitrifiantes.

### **2.1.2 Nitrates/nitrites**

#### **2.1.2.1 Description**

Les nitrates et les nitrites sont des ions naturellement présents dans l'environnement (sol et eau). Les nitrates ont les caractéristiques d'être très solubles et bien stables dans l'eau. Leur vitesse de propagation dans les sols est assez lente, elle est estimée à 1 m par année. Ces données peuvent aider à suivre l'évolution des teneurs des nitrates dans les nappes phréatiques.

D'une façon générale, les teneurs en nitrates et en nitrites présents dans l'eau sont exprimées, soit en azote, soit en nitrates (ou nitrites). En effet, un milligramme de nitrites par litre (mg/L NO<sub>2</sub>) est équivalent à 0,304 mg de nitrites, sous forme d'azote, par litre (mg-N/L) et un milligramme de nitrates par litre (mg/L NO<sub>3</sub>) correspond à 0,226 mg-N/L (National Research Council, 1995).

#### **2.1.2.2 Risques sanitaires**

Les teneurs en nitrates et nitrites présents dans le corps humain dépendent du type de régime alimentaire suivi. En effet, des concentrations importantes en nitrates sont présentes dans certains légumes (pomme de terre, épinard, laitue, carotte, betterave, etc.) et dans les charcuteries et aliments carnés (bacon, jambon, hot-dog, etc.). Les nitrates peuvent également se retrouver dans le corps humain par un apport quotidien en eau de boisson qui dépend de la quantité et de la qualité de l'eau consommée.

Les nitrates, en eux-mêmes, ne présentent pas un réel danger pour la santé humaine, mais leur réduction en nitrites ou en composés N-nitrosés présente des risques pour la santé. Dans l'organisme, les nitrates sont réduits en nitrites par des bactéries présentes dans le système digestif. Les nitrites vont alors oxyder les ions ferreux (Fe<sup>2+</sup>) de l'hémoglobine en ions ferriques

(Fe<sup>3+</sup>), ce qui transforme l'hémoglobine, responsable du transport de l'oxygène des poumons vers les cellules de l'organisme, en méthémoglobine qui est incapable de le faire (L'hirondel, 1993). Au-delà d'un certain taux d'anoxie cellulaire, la personne risque de souffrir d'une maladie appelée méthémoglobinémie (ou cyanose du nourrisson) qui survient généralement chez les nourrissons. Pour cette raison, la notion de Dose Journalière Admissible (DJA) ne peut être transposée pour le cas des nourrissons de moins de trois mois. Cette maladie se manifeste par des signes de bleuissement sur le corps et autour de la bouche et elle peut provoquer des vomissements, des diarrhées et des troubles du système nerveux central. Quand le niveau de méthémoglobine dépasse 70% de l'hémoglobine totale pour un individu en bonne santé, la mort peut survenir.

Si l'acidité au niveau de l'estomac se retrouve à un pH < 3, les nitrites sont susceptibles de réagir avec les composés aminés (amines et amides) présents dans les médicaments ou dans la nourriture. Le bilan de cette réaction est la formation des nitrosamines ou nitrosamides qui sont cancérigènes (L'hirondel et L'hirondel, 1996). Des cas de cancers, à cause des nitrates, ont été observés chez plusieurs espèces animales, mais chez l'homme la corrélation entre les nitrates et les risques de cancer demeure non fondée (OMS, 1998).

### **2.1.2.3 Risques environnementaux**

Plusieurs activités industrielles (sucrieries, fertilisants, laiteries, etc.) génèrent des effluents chargés en nitrates et/ou en nitrites pouvant présenter une source de pollution ponctuelle pour les eaux de surface. De plus, la décomposition naturelle de la matière animale et végétale, et les risques que les systèmes d'assainissement mal entretenus peuvent présenter, notamment les installations septiques défectueuses, constituent une autre cause de pollution des eaux par les nitrates.

En fait, toute la pollution qui n'est pas absorbée par les plantes, se retrouve mélangée aux eaux de précipitations puis est entraînée dans un premier temps vers les eaux superficielles, pour finir dans les eaux souterraines. Ce risque de contamination est d'autant plus accentué que la nappe d'eau n'est pas profonde (cas des puits de surface) ou que le sol la couvrant est sablonneux. Plusieurs régions rurales du Québec ont été ou sont le siège d'une contamination

des eaux souterraines par les nitrates, notamment en Montérégie et dans le Bas-Saint-Laurent (Groupe scientifique sur l'eau, 2003).

L'azote et le phosphore peuvent causer, ensemble, des problèmes d'eutrophisation et de prolifération des cyanobactéries, générant la croissance d'algues. Ces dernières diminuent la concentration en oxygène dissous présent dans l'eau et affectent l'aspect de l'eau (couleur verte et odeur nauséabonde). Certains scientifiques pensent qu'une concentration en nitrates supérieure à 5 mg/L dans une rivière peut entraîner un risque d'eutrophisation.

## **2.2 Règlementations**

### **2.2.1 OMS**

En fonction des risques étudiés en 1962, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a fixé une Dose Journalière Admissible (DJA) pour l'ingestion de nitrates à 3,65 mg/kg de masse corporelle (0,83 mg-N/L), ce qui correspond à 255 mg de nitrates par jour pour un adulte de 70 kg (OMS, 1962). Il demeure, cependant, important de vérifier les concentrations en nitrates présentes dans les sources d'eau potable, qui ne doivent pas dépasser la concentration maximale admissible (CMA) fixée à 50 mg/L (équivalent à 11,3 mg-N/L) pour les nitrates et à 3 mg/L (équivalent à 0,9 mg-N/L) pour les nitrites (EEC, 1980).

### **2.2.2 Canada**

Concernant les recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada au sujet des nitrates et des nitrites, Santé Canada a fixé la concentration maximale admissible (CMA) à 45 mg/L de nitrates (équivalent à 10 mg-N/L) et à 3,2 mg/L pour les nitrites (équivalent à 1 mg-N/L), quand ils sont analysés indépendamment des nitrates (Santé Canada, 2014).

### 2.2.3 Québec

Depuis 2001, le gouvernement du Québec a émis le *Règlement sur la qualité de l'eau potable* de la *Loi sur la qualité de l'environnement* qui fixe la concentration maximale en nitrates et en nitrites, à ne pas dépasser dans une eau destinée à la consommation humaine, à 10 mg-N/L quand les nitrites et les nitrates sont dosés ensemble (Annexe I du Règlement). Seuls, les nitrites ne doivent pas dépasser une concentration de 1 mg-N/L (Gouvernement du Québec, 2015).

### 2.2.4 États-Unis

La norme américaine régie par l'Agence de Protection de l'Environnement des États-Unis a fixé la concentration maximale permise en nitrates (ou nitrates + nitrites) dans l'eau potable à 10 mg-N/L et à 1 mg-N/L pour les nitrites quand ils sont dosés séparément des nitrates (USEPA, 2009).

**Tableau 2-1** Résumé des concentrations maximales admissibles (Groupe scientifique sur l'eau, 2003)

Paramètres chimiques	OMS	Canada	Québec	États-Unis
Unité	(mg/L)	(mg/L)	(mg-N/L)	(mg-N/L)
Nitrates	50	45	-	10
Nitrites	3	3,2	1	1
Nitrates + Nitrites	-	-	10	10

La solubilité élevée des nitrates fait, de ces contaminants inorganiques, les plus répandus dans les eaux souterraines. En raison du risque de contamination que peuvent atteindre les eaux de consommation, plusieurs technologies de traitement de l'eau potable et des eaux usées ont vu le jour et se sont développées pour voir leur nombre s'accroître durant ces dernières décennies. Il est possible de classer ces technologies en deux catégories : les méthodes physico-chimiques d'une part et les méthodes biologiques d'autre part.

## 2.3 Méthodes physico-chimiques pour l'enlèvement des nitrates

Les méthodes physico-chimiques les plus habituellement employées pour l'enlèvement des nitrates comptent l'osmose inverse, l'échange d'ions, l'électrodialyse, l'adsorption. Ces méthodes sont généralement destinées à la potabilisation des eaux.

### 2.3.1 Échange ionique

La première expérience industrielle pour la dénitratisation de l'eau potable par échange ionique fut implantée aux États-Unis en 1974. Le principe de l'échange ionique est basé sur un transfert des ions à enlever présents dans l'eau vers un support insoluble (résine échangeuse d'ions). Ce dernier capte ces ions en les échangeant par d'autres ions ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{H}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{OH}^-$ , etc.) en quantité équivalente. Ce support insoluble constitue l'échangeur d'ions. Cet échangeur est caractérisé par une capacité d'échange bien définie et sa régénération est réalisée au moyen d'une solution concentrée en ions choisis (Kapoor et Viraraghavan, 1997).

Pour l'enlèvement des nitrates, ces derniers sont remplacés par des anions grâce à une résine échangeuse anionique. En fait, les nitrates vont prendre la place des ions chlorure ou bicarbonate, qui à leur tour, seront relâchés dans le milieu jusqu'à saturation complète de la résine en nitrates. La régénération est alors effectuée par des solutions concentrées en chlorure ou en bicarbonate de sodium. Les résines employées pour l'élimination des nitrates existent généralement sous forme de billes qui sont constituées de polymères de composés aromatiques.

L'inconvénient majeur de cette technique est son coût de revient élevé lié à l'emploi d'une solution concentrée en nitrates. De plus, il existe un ordre de sélectivité des espèces anioniques. Sachant que les sulfates sont retenus plus que les nitrates, la résine va retenir préférentiellement les sulfates si l'eau est riche en sulfates, ce qui peut, par conséquent, gêner gravement l'élimination des nitrates.

### **2.3.2 Osmose inverse**

Il s'agit d'une technique membranaire faisant intervenir une pression supérieure à la pression osmotique de l'eau contenant les nitrates, à travers une membrane semi-perméable. Cette pression est appliquée de la solution la plus concentrée vers la solution la moins concentrée en ions à éliminer. Le rendement d'enlèvement des nitrates peut varier de 85 à 95%, selon la concentration en soluté et la pression appliquée (entre 30 et 60 bars). La membrane d'osmose inverse est non sélective et est fabriquée en polyamide ou en acétate de cellulose. Cette technique présente plusieurs inconvénients, parmi lesquels : 1) le rejet est trop concentré, 2) le traitement est non spécifique et 3) la nécessité de faire un prétraitement pour éviter le colmatage et la détérioration de la membrane à cause des MES et des variations de pH. L'osmose inverse coûte plus cher que l'échange d'ions et elle demeure donc limitée malgré le fait qu'elle soit assez développée et utilisée pour le dessalement de l'eau de mer.

### **2.3.3 Électrodialyse**

Le principe de l'électrodialyse se base sur le passage des ions à travers un empilage de membranes semi-perméables et sélectives de la solution la moins concentrée vers la solution la plus concentrée sous l'effet d'un courant continu appliqué entre les électrodes d'une cellule. Les membranes destinées à l'enlèvement des nitrates sont à base de benzyl-4-pyridinium. Dépendamment des sulfates, les rendements d'élimination des nitrates enregistrés pour cette technique varient entre 40 et 60% (Lavigne, 1993). Tout comme l'osmose inverse, l'électrolyse présente les mêmes inconvénients et limites d'utilisation, étant donné qu'il s'agit également d'un procédé membranaire.

### **2.3.4 Adsorption**

Les adsorbants les plus cités dans la littérature pour l'enlèvement des nitrates sont les adsorbants à base de carbone, suivi par les argiles (Mena-Duran et al., 2007), les hydrotalcites (LDH) et les zéolites. Il s'est avéré que la modification des surfaces des adsorbants à base de carbone tels que les fibres de carbone améliore leur capacité d'adsorption des nitrates pouvant atteindre 2,03 mmol/g (Afkhami *et al.*, 2007). Des observations similaires ont été réalisées pour

le charbon actif granulaire dont la capacité d'adsorption est de l'ordre de 10,2 mg/g en comparaison à celle trouvée (1,7 mg/g) sans traitement au chlorure de zinc (Bhatnagar *et al.*, 2008).

Prises à l'état naturel, la bentonite provenant de Queensland et la kaolinite ne s'avèrent pas efficaces pour l'enlèvement des nitrates (Xi *et al.*, 2010). Ce n'est qu'en les traitant par un surfactant non fonctionnel, le bromure d'hexadécyltriméthylammonium (HDTMA) que les capacités d'enlèvement des nitrates de ces argiles modifiées ont nettement été améliorées. La bentonite modifiée permet d'enlever entre 12,83 et 14,76 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup> par gramme d'argile organique. D'autres auteurs ont étudié l'effet de la calcination des LDH à différentes températures (550, 650 et 850°C), ainsi que la nature et la concentration du cation divalent à partir duquel les LDH ont été préparées, sur leur capacité d'adsorption des nitrates (Hosni et Srasra, 2008; Socias-Viciano *et al.*, 2008). L'inconvénient majeur des hydroxydes à doubles couches réside dans leur faible capacité de désorption et de régénération une fois que l'adsorption des nitrates a été complétée (Bhatnagar et Sillanpaa, 2011).

D'autres types d'adsorbants naturels issus des déchets agricoles comme la bagasse de la canne à sucre, les coquilles des amandes et des noix de coco, la pulpe de la betterave sucrière et les résidus de blé peuvent être employés pour l'élimination des nitrates présents dans les eaux usées (Bhatnagar et Sillanpaa, 2011). Les déchets industriels tels que les cendres volantes, les boues rouges et les scories ont également été étudiés comme adsorbants pour l'élimination des nitrates.

## **2.4 Enlèvement des nitrates par dénitrification biologique**

### **2.4.1 Généralités**

Les techniques physico-chimiques et conventionnelles utilisées pour l'enlèvement des nitrates ne sont pas sélectives et produisent des sous-produits ou des déchets secondaires entraînant des coûts supplémentaires pour les valoriser ou les éliminer. Par contre, l'enlèvement des nitrates par voie biologique et notamment la dénitrification biologique est considéré comme l'une des méthodes les plus efficaces pour atteindre ces limitations (Liu et Koenig, 2002). Les

techniques de traitement biologique employées pour l'élimination des composés azotés présents dans les eaux usées domestiques et industrielles combinent habituellement la succession de la nitrification et de la dénitrification.

Selon les conditions du milieu, les nitrates sont réduits par les microorganismes qui utilisent ces derniers comme accepteur final d'électrons pour répondre à leurs besoins. En fait, les nitrates peuvent être éliminés biologiquement selon deux voies : la voie assimilatrice et la voie dissimilatrice (Zumft, 1997). Dans un intérêt biosynthétique, la voie assimilatrice permet la synthèse des composants cellulaires (protéines, acides aminés, acides nucléiques) en réduisant les nitrates en ammonium, qui par la suite, est incorporé dans l'organisme des microorganismes. La réduction des nitrates selon la voie assimilatrice est conduite dans des conditions d'anaérobiose ou d'aérobiose et généralement, en l'absence de composés azotés inorganiques. Tandis que durant la voie dissimilatrice, la réduction des nitrates a lieu avec une libération d'énergie. En fait, les microorganismes tirent leur énergie suite à l'oxydation d'un donneur d'électrons dans des conditions d'anoxie/anaérobiose, permettant ainsi la formation de molécules énergétiques telles que l'ATP, qui sont nécessaires aux réactions chimiques du métabolisme de la bactérie.

La dénitrification fait partie intégrante du cycle de l'azote, il s'agit d'une séquence de réactions enzymatiques au cours desquelles certaines bactéries anaérobies facultatives réduisent les nitrates en azote gazeux en l'utilisant comme accepteur final d'électrons dans l'oxydation des substrats oxydables (Soares, 2000). Dépendamment de la source de carbone utilisée, la dénitrification est soit hétérotrophe, soit autotrophe. Cependant, ces dernières nécessitent un environnement d'anaérobiose/anoxie, des conditions optimales de pH et la présence de nutriments essentiels pour favoriser le développement des microorganismes.

## 2.4.2 Enzymes impliquées dans la dénitrification

La dénitrification désigne la réduction des nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ) en azote gazeux ( $\text{N}_2$ ) avec pour intermédiaires les nitrites ( $\text{NO}_2^-$ ), l'oxyde nitrique ( $\text{NO}$ ) et l'oxyde nitreux ( $\text{N}_2\text{O}$ ). Au cours de la réaction de dénitrification, des enzymes spécifiques sont impliquées dans la catalyse de chaque étape. La [Figure 2-2](#) explique le rôle de chaque enzyme. La NaR est l'enzyme qui déclenche la réaction de la dénitrification, elle est localisée au niveau de la membrane plasmique et est synthétisée selon le même mécanisme chez différentes espèces. Elle est régulée par des protéines de régulation de certaines fonctions bactériennes en fonction de la pression en oxygène. Au cours de cette étape de la réduction des nitrates en nitrites, une molécule d'ATP est produite. La deuxième étape consiste en la réduction des nitrites en oxyde nitrique, catalysée par la NiR. Ensuite, l'oxyde nitrique ainsi produit sera converti en oxyde nitreux par l'enzyme NO<sub>r</sub> (oxyde nitrique réductase). La dernière étape consiste en la transformation de l'oxyde nitreux en azote gazeux par la N<sub>2</sub>OR (oxyde nitreux réductase) avec la production d'une deuxième molécule d'ATP. Finalement, la réduction d'une molécule de nitrate s'accompagne par la production de deux molécules d'ATP (Zumft, 1997).

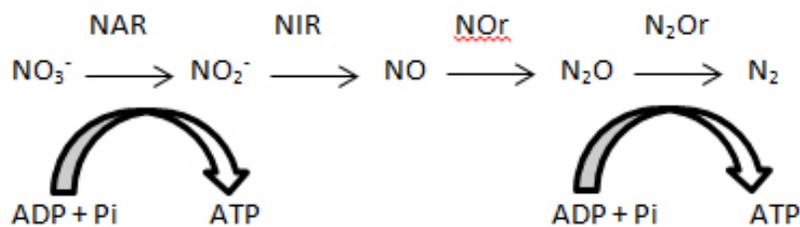
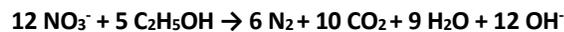


Figure 2–2 Processus de dénitrification (Zumft, 1997) avec les enzymes qui y sont impliquées : la nitrate réductase (NaR), la nitrite réductase (NiR), l'oxyde nitrique réductase (NO<sub>r</sub>) et l'oxyde nitreux réductase (N<sub>2</sub>OR)

### 2.4.3 Dénitrification hétérotrophe

La dénitrification hétérotrophe a été largement utilisée en aquaculture et dans les usines traditionnelles de traitement des eaux usées (Ghafari et al, 2008). Jusqu'à ce jour, elle demeure la technique la plus couramment utilisée pour l'enlèvement de l'azote. Elle s'effectue en conditions d'anoxie sous l'action de bactéries hétérotrophes qui utilisent des composés organiques comme sources d'énergie et de carbone biosynthétique. L'oxydation d'un substrat organique, tels que les alcools, les acides gras, les acides aminés et les glucides, fournit de l'énergie et des électrons qui sont transférés le long d'une chaîne jusqu'à l'accepteur final qui est l'oxygène présent dans les molécules de nitrates. Patureau (1995) a expliqué la réaction ayant lieu durant la dénitrification hétérotrophe suivant l'Équation 2-1.

Équation 2-1 Réaction de réduction des nitrates durant la dénitrification hétérotrophe



Dans ce contexte, plusieurs études qui visaient à améliorer cette méthode ont mis en évidence que divers substrats (liquides ou solides) tels que le méthanol, l'éthanol (Gomez et al., 2003) et l'acide acétique (Felek et Sakakibara, 2002) peuvent être utilisés. Les microorganismes *Pseudomonas* et *Bacillus* sont communément connus pour réaliser la dénitrification hétérotrophe, d'ailleurs ces espèces sont présentes dans la nature en quantités importantes.

Plusieurs études ont montré que la dénitrification hétérotrophe peut se trouver affectée par certains paramètres tels que la nature et la concentration du substrat organique carboné, ou encore le type de support bactérien. Dans un réacteur anaérobie, la dénitrification a été plus rapide avec l'acétate qu'avec l'éthanol ou le glucose (Tam et al., 1992). Gomez et al. (2003) ont montré qu'un rapport carbone/azote (C/N) élevé favorise la dénitrification et qu'en augmentant la concentration en éthanol, le taux de dénitrification augmente lui aussi. Cependant, en présence d'un excès de carbone, les nitrates sont réduits en ammonium par la

voie dissimulatrice. Par contre, un rapport C/N faible peut conduire à une mauvaise dénitrification et un rapport supérieur à la valeur optimale engendrera l'accumulation des nitrates et la production d'un surplus d'azote nitreux par rapport à l'azote gazeux (Kim *et al.*, 2002; Chiu et Chung, 2003).

En présence de la plupart des sources de carbone organique utilisées pour réaliser la dénitrification hétérotrophe, Rijn *et al.* (2006) ont également mis en évidence qu'il est possible de réduire complètement les nitrates en azote élémentaire avec des ratios DCO/NO<sub>3</sub>-N variant entre 3/1 et 6/1 (m/m).

En comparant deux supports différents, l'alcool polyvinyle et l'alginate, Nagadomi *et al.* (1999) ont montré que les microorganismes se fixent sur les supports, mais qu'en présence de l'alcool polyvinyle, une accumulation des nitrates et des nitrites est observée. En fait, l'acide borique, qui sert de durcisseur aux billes de l'alcool polyvinyle, inhibe l'enzyme nitrate-réductase, générant une accumulation des nitrates. D'un autre côté, une concentration en alcool polyvinyle de plus de 60 g/L inhibe l'enzyme nitrite-réductase, provoquant par conséquent une accumulation des nitrites.

Le plus souvent dans les systèmes d'aquaculture et de traitement des eaux usées, la dénitrification hétérotrophe est réalisée en présence de méthanol, qui est considéré comme étant une source de carbone exogène. Cependant, dans un système de digestion des boues organiques, la source de carbone est endogène (Rijn *et al.*, 2006). En dépit des multiples réussites enregistrées, l'enlèvement des nitrates par dénitrification hétérotrophe demeure non satisfaisant dans la mesure où la dénitrification peut être incomplète et engendrer une accumulation des nitrates et des nitrites. De plus, les matières organiques résiduelles peuvent, quant à elles, causer une nouvelle contamination (Zhou *et al.*, 2011).

Comme meilleure alternative à la dénitrification hétérotrophe, la dénitrification autotrophe se distingue par plusieurs avantages, surtout pour les eaux usées faiblement chargées en matières organiques.

#### 2.4.4 Dénitrification autotrophe

Dépendamment du substrat inorganique subissant l'oxydation, il a été possible de distinguer deux types de dénitrification autotrophe : celle à l'hydrogène où ce dernier est utilisé comme donneur d'électrons et celle aux composés soufrés (soufre élémentaire, thiosulfate, etc.). Malgré qu'il soit également réalisé d'une façon autotrophe, le procédé Anammox (Rijn *et al.*, 2006) utilise les nitrites, au lieu des nitrates, comme accepteurs d'électrons en transformant l'ammonium en azote gazeux par le biais de bactéries anaérobies oxydants l'ammonium. Ce procédé a été largement étudié et expérimenté pour l'enlèvement de l'azote et a fourni une démarche alternative à la dénitrification.

Les bactéries autotrophes intervenant dans l'élimination des nitrates par dénitrification autotrophe utilisent une source de carbone minérale et tirent leur énergie de l'oxydation d'un substrat inorganique. Ces bactéries sont généralement connues pour avoir une cinétique très lente.

##### 2.4.4.1 Dénitrification à l'hydrogène

La dénitrification à l'hydrogène est réalisée par des bactéries du type *Paracoccus denitrificans* et *Alcaligenes eutrophus* (Tiedje, 1988). L'oxydation de l'hydrogène fournit aux bactéries l'énergie suffisante à la réduction des nitrates en azote gazeux. En réalité, l'élimination de 10 g de nitrates nécessite 0,9 g de H<sub>2</sub>. La réaction chimique est décrite par l'Équation 2-2.

Équation 2-2 Réaction de réduction des nitrates ayant lieu lors de la dénitrification autotrophe à l'hydrogène



Des essais de dénitrification autotrophe à l'hydrogène menés dans un réacteur à lit fluidisé par Kurt *et al.* (1987) ont permis de mettre en évidence la possibilité d'un enlèvement total de 25 mg NO<sub>3</sub>-N/L avec un TRH de 4,5 h. La présente réaction de dénitrification fait augmenter le pH qui ne doit pas dépasser 9 afin d'éviter tout risque d'accumulation des nitrites. Le pH optimal a été estimé aux alentours de 7,5.

L'installation industrielle de Monchengladbach est un procédé développé par une équipe allemande et suisse (Société Sulzer) et qui est fonctionnel depuis juillet 1987. Dans ce procédé de traitement, les eaux souterraines sont saturées en hydrogène sous pression et enrichies en phosphates et en dioxyde de carbone. Après dénitrification dans des réacteurs à lits fixes, l'eau traitée est aérée et filtrée sur un filtre double-couche. Une désinfection est ensuite réalisée aux moyens de rayons UV. Cette usine de traitement, capable de traiter 50 m<sup>3</sup>/h, permet de réduire la concentration en nitrates de 17 mg NO<sub>3</sub>-N/L à moins de 1 mg NO<sub>3</sub>-N/L avec un TRH de 1,0 h. Ce procédé permet l'enlèvement de 250 g NO<sub>3</sub>-N/m<sup>3</sup>.jr. L'application du procédé Denitropur (Gros *et al.*, 1988) a permis de tirer certaines conclusions quant aux avantages et aux inconvénients de cette méthode. L'hydrogène gazeux, utilisé comme substrat, ne nécessite pas d'être éliminé au niveau du post-traitement s'il est en excès. Mais l'inconvénient majeur de cette technique est le danger que représente l'hydrogène du point de vue des risques d'explosion lors de son stockage. De plus, ce procédé nécessite un temps de contact élevé car si ce dernier est faible, les nitrites s'accumuleront et ce phénomène s'accroîtra par l'augmentation du pH, ce qui affectera le rendement de la dénitrification.

Pour le traitement de l'eau potable, Lee et Rittmann (2002) ont mis en place un procédé d'enlèvement des nitrates par dénitrification autotrophe à l'hydrogène. La dénitrification a lieu dans un bioréacteur à membranes en fibre creuse où de l'hydrogène gazeux est injecté dans ces dernières. En se répandant, le gaz se dissout à l'extérieur de la membrane où les microorganismes oxydant l'hydrogène forment un biofilm. En s'oxydant, l'hydrogène procure aux bactéries l'énergie nécessaire pour réduire les nitrates en azote gazeux. La diffusion à contre-courant du gaz dans ce bioréacteur a permis d'expérimenter des taux de charge élevés en nitrates et en hydrogène et d'atteindre des TRH plus courts (42 min) avec un affluent contenant 15 mg NO<sub>3</sub>-N/L. De plus, il a été possible de réduire le risque d'explosion et de

formation de bulles de H<sub>2</sub> dans le bioréacteur et de diminuer considérablement les pertes en H<sub>2</sub>. Le bioréacteur à membranes en fibre creuse conçu par Lee et Rittmann (2003) a montré une efficacité de dénitrification autotrophe avec un rendement d'enlèvement des nitrates atteignant 97% au pH optimal de 8,4.

#### **2.4.4.2 Dénitrification aux composés soufrés**

Le groupe des bactéries chimiolithoautotrophes capables d'oxyder le soufre élémentaire (S<sup>0</sup>) et d'autres composés soufrés tels que les sulfites (SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>), les sulfures (S<sup>2-</sup>) et le thiosulfate (S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>), peut être séparé en deux groupes : les chimiolithoautotrophes obligatoires et les chimiolithoautotrophes facultatifs. Les bactéries chimiolithoautotrophes obligatoires tels que *Thiobacillus denitrificans* et *Sulfurimonas denitrificans* (précédemment connus sous l'appellation *Thiomicrospora denitrificans*) sont pratiquement limitées à un mode de croissance autotrophe, car ils ne peuvent tirer leur énergie qu'en oxydant les composés soufrés (Kuenen, 1979). Tandis que les bactéries chimiolithoautotrophes facultatives tels que *Thiobacillus thyasiris*, *Thiobacillus versutus*, *Paracoccus denitrificans* et *Thiosphaera pantotropha* sont capables de se développer de façon autotrophe en utilisant le soufre comme source d'énergie mais elles peuvent également croître en hétérotrophie en tirant leur énergie d'une source organique. Lors d'une dénitrification autotrophe sur soufre élémentaire, la source de carbone que les bactéries consomment est le dioxyde de carbone. Ce genre de système ne nécessite pas une intervention extérieure pour enrichir le milieu avec une source de carbone, il est parfaitement autonome (Benmoussa, 1997; Jang, 2005).

La dénitrification autotrophe sur soufre élémentaire a démontré son efficacité dans différents secteurs : 1) pour le traitement des lixiviats issus des sites d'enfouissement (Koenig et Liu, 1996), 2) pour le traitement des eaux salées (Gu et *al.*, 2004), 3) pour le traitement des eaux souterraines (Pan, 2007; Zhang, 2004; Zhou et *al.*, 2011), 4) pour le traitement des eaux usées municipales (Zhou et *al.*, 2011) et 5) en aquariologie (Simard, 2010).

Une étude basée sur la dénitrification autotrophe employant le soufre élémentaire seul a permis d'enlever les nitrates présents dans les lixiviats de sites d'enfouissement. Les essais ont été conduits avec du soufre granulaire selon trois tailles différentes (Koenig et Liu, 1996).

L'étude de l'influence du TRH a montré qu'il existerait un TRH minimum propre à chaque taille de particules de soufre à partir duquel le taux d'enlèvement des nitrates diminue considérablement. Koenig et Liu (1996) ont rapporté des TRH minimums de 72, 138 et 252 min pour des granulométries de 2,8 mm, 5,6 mm, 5,6-11,2 mm et 11,2-16mm, respectivement.

Un procédé, nommé OTV et agréé en France depuis 1985, fait intervenir un bioréacteur de dénitrification rempli d'un mélange granulaire de soufre élémentaire et de maërl (Ratel et Debrieu, 2003). À la sortie des colonnes, l'eau passe à travers des systèmes de post-traitements de filtration, de ré-oxygénation et de désinfection. Afin de ne pas trop allonger la période d'ensemencement des colonnes par les bactéries dénitrifiantes autotrophes, *Thiobacillus denitrificans*, au faible taux de croissance, un enrichissement du système par des phosphates, des nitrates, de l'ammoniaque et des bicarbonates a été effectué grâce à la recirculation de la solution d'enrichissement durant deux semaines. Pour éviter les pertes de charge à cause de l'augmentation de la biomasse, un lavage à l'air et à contre-courant a été effectué à une fréquence de dix jours. L'étude de ce pilote a permis de déduire certains inconvénients du procédé en relation avec la quantité importante de sulfates produits ainsi que la nécessité d'appliquer de faibles débits afin d'optimiser le rendement de dénitrification.

Au cours d'une dénitrification autotrophe conduite dans une colonne de 3 m de long et 10 mm de diamètre, remplie de soufre élémentaire et de charbon actif, il a été possible d'atteindre un enlèvement total des nitrates entrants avec un débit de traitement de 30 L/h et une concentration initiale de 35 mg NO<sub>3</sub>-N/L (Overath et al., 1986).

Les premiers essais de dénitrification autotrophe en présence de thiosulfate et de sulfure, utilisés comme donneurs d'électrons, ont débuté avec une étude comparative de leur efficacité de dénitrification conduite par Driscoll et Bisogni (1978). Les résultats obtenus ont montré une similitude de l'efficacité de dénitrification. D'autres auteurs ont mené des études en présence de thiosulfate pour la dénitrification autotrophe (Claus et Kutzner, 1985a; Furumai et al., 1996). Lors de leurs essais menés dans un réacteur à lit fixe, Claus et Kutzner (1985a) sont parvenus à isoler des *Thiobacillus denitrificans* capables d'atteindre une efficacité de dénitrification d'environ 95% avec un TRH de 2,5 h et une concentration en nitrates de 3 g NO<sub>3</sub>-N/L, correspondant à un taux de charge volumétrique de 25 kg/m<sup>3</sup>.jr.

## 2.5 Dénitrification autotrophe sur soufre et calcaire

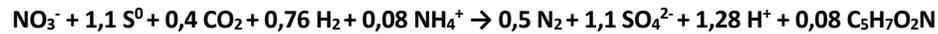
Cette section décrit plus en détails la dénitrification autotrophe réalisée par des bactéries utilisant le soufre élémentaire comme donneur d'électrons et le calcaire en tant que substrat tampon. Issus de son appellation en anglais « *Sulfur limestone autotrophic denitrification* » (SLAD), les systèmes de dénitrification autotrophe sur soufre et calcaire (DASC) ont été couramment étudiés et sollicités en vue de leur application à l'échelle réelle pour le traitement de divers types d'eaux chargées en nitrates (Flere et Zhang, 1999; Van der Hoek et *al.*, 1992; Zhang et Lampe, 1999). L'un des avantages d'utiliser le soufre élémentaire granulaire lors de la DASC est que ce dernier peut jouer deux rôles en même temps pour l'élimination des nitrates. D'une part, il constitue une source d'énergie et, d'autre part, étant donné qu'il est insoluble dans l'eau, il représente un bon support de colonisation pour les bactéries dans le biofiltre.

### 2.5.1 Bactéries impliquées lors de la DASC

Les tous premiers microorganismes dénitrifiants autotrophes isolés et caractérisés depuis plus d'un siècle sont les *Thiobacillus denitrificans* (Beijerinck, 1904). En 1912, Lieske a mis en évidence que ce microorganisme ne pouvait croître qu'en présence de soufre, il était donc considéré obligatoirement comme étant autotrophe (Baalsrud et Baalsrud, 1954). Ce n'est qu'en 1991 que Brettar et Rheinheimer (1991) ont découvert qu'il était possible de substituer la dénitrification hétérotrophe par la dénitrification autotrophe pour son intervention cruciale dans certains cycles de l'azote. Shao *et al.* (2010) ont soigneusement étudié les bactéries impliquées dans la dénitrification autotrophe à base de composés soufrés et ont suggéré l'implication de 14 espèces *Proteobacteria* ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  et  $\epsilon$ ) identifiées en tant que microorganismes dénitrifiants par voie autotrophe. Cependant, les espèces *Thiobacillus denitrificans* et *Sulfurimonas denitrificans* (anciennement connus sous l'appellation de *Thiomicrospira denitrificans*) demeurent les bactéries dénitrifiantes autotrophes les mieux connues et étudiées jusqu'à ce jour.

La réaction stœchiométrique typique d'une dénitrification autotrophe sur soufre élémentaire impliquant les *Thiobacillus denitrificans*, est donnée dans l'Équation 2-3 (Batchelor et Lawrence, 1978).

Équation 2-3 Réaction de dénitrification autotrophe sur soufre élémentaire (Batchelor et Lawrence, 1978)



Dans la même optique, Benmoussa (1997) a suggéré les réactions suivantes pour expliquer le déroulement de la dénitrification autotrophe sur soufre élémentaire (Équations 2-4 et 2-5).

Équation 2-4  $5\text{S}^0 + 6\text{NO}_3^- + 6\text{H}_2\text{O} \rightarrow 3 \text{N}_2 + 5 \text{SO}_4^{2-} + 4\text{H}_3\text{O}^+$

Équation 2-5  $11 \text{S}^0 + 10 \text{NO}_3^- + 4,1 \text{HCO}_3^- + 0,5 \text{CO}_2 + 1,72 \text{NH}_4^+ + 2,54 \text{H}_2 \rightarrow 0,92 \text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2 + 11 \text{SO}_4^{2-} + 5,4 \text{N}_2 + 9,62 \text{H}^+$

La Figure 2-3 résume les différentes interactions chimiques ayant lieu pendant la dénitrification autotrophe à base de soufre et de calcaire. Selon cette figure, les *Thiobacillus denitrificans* acquièrent de l'énergie en oxydant le soufre. Une fois le soufre oxydé, les électrons libérés vont servir à réduire les nitrates en nitrites, puis en azote gazeux.

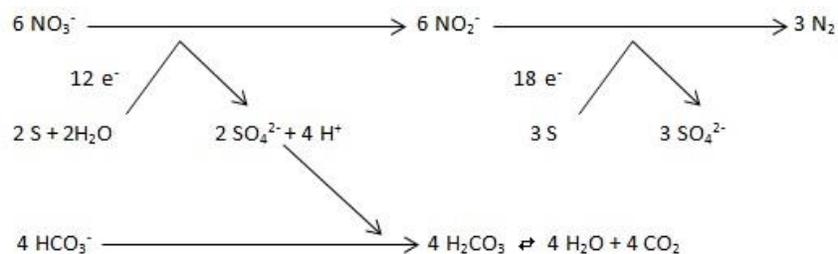
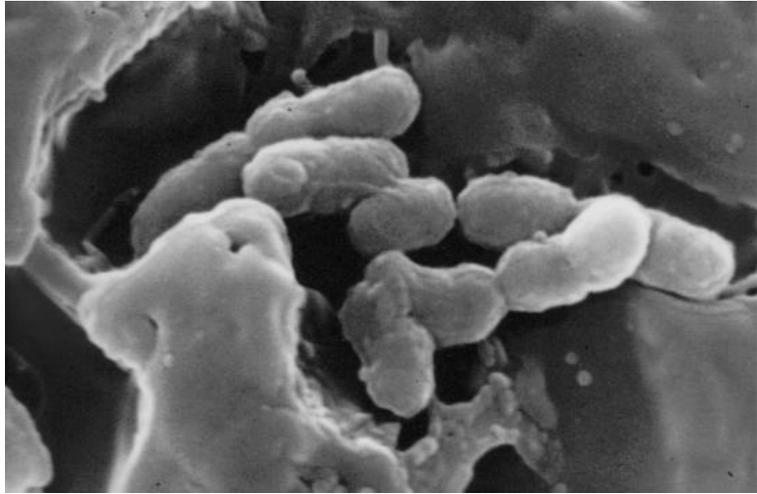


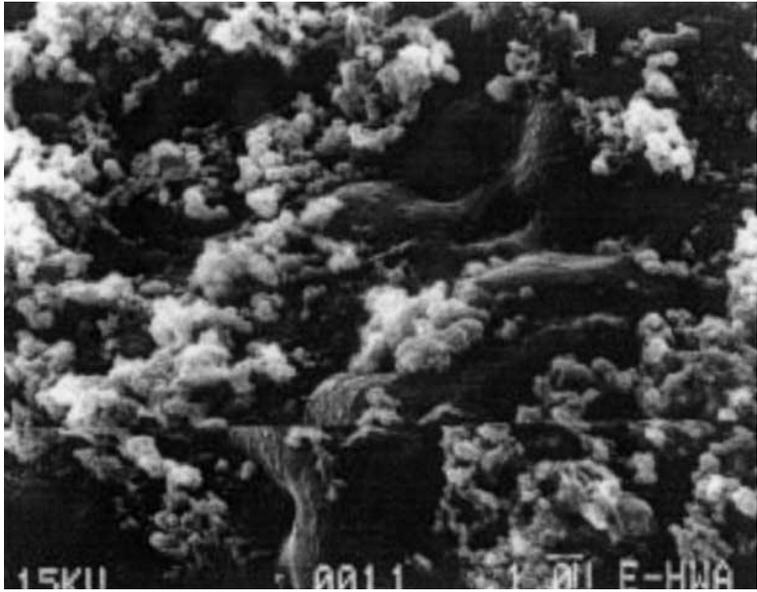
Figure 2-3 Interactions chimiques durant le processus de DASC (Koenig et Liu, 1997)

L'espèce *Thiobacillus denitrificans* est le plus souvent présente dans des endroits riches en nitrates, et est facilement cultivée dans des habitats synthétiques. Par ailleurs, plusieurs auteurs sont parvenus à isoler naturellement cette espèce dans différents habitats tels que les sédiments marins, les milieux aquatiques d'eau douce, les eaux usées domestiques décentralisées (EUD), les mines esseulées, les étangs d'eaux usées et bien évidemment dans le sol (Trouve *et al.*, 1998).

Selon Wanner *et al.* (2006), les microorganismes colonisant la surface d'un substrat forment une couche gélatineuse nommée « biofilm ». Durant un procédé de DASC, l'épaisseur d'un biofilm attaché à une particule de soufre atteint 30 µm, voire même 1 mm et il est constitué de colonies filamenteuses blanches relativement visible à l'œil nu (Moon *et al.*, 2004). Quand les microorganismes se fixent à la surface d'un substrat, le processus de production de polysaccharides extracellulaires (EPS : extracellular polymeric substance) est entamé, ce qui augmente la formation du biofilm en question jusqu'au détachement de ce dernier suite à la mort ou à l'affaiblissement de certains microorganismes (Melo, 2003). La [Figure 2-4](#) illustre une image prise par un microscope électronique à balayage de microorganismes présents à la surface d'une particule de soufre (Blais *et al.*, 1994; Moon *et al.*, 2004).



a.



b.

Figure 2-4 Particule de soufre colonisée par des souches bactériennes contenant des *Thiobacillus denitrificans*. a) tiré de Blais *et al.* (1994), b) tiré de Moon *et al.* (2004)

L'espèce *Thiobacillus denitrificans* a été identifiée (seule ou en présence d'autres espèces) par plusieurs auteurs comme étant un microorganisme actif durant un procédé de DASC pour l'enlèvement des nitrates.

Le [Tableau 2-2](#) résume certains de ces travaux dans lesquels la technique de dénitrification autotrophe avec du soufre et du calcaire mélangés dans un même réacteur a été étudiée.

**Tableau 2-2 Applications de la DASC où l'espèce *Thiobacillus denitrificans* a été identifiée**

Affluent	Type de réacteur	Références
Eaux usées synthétiques	Bioréacteur de type cuve agitée	Zhang et Lampe (1999)
	Réacteur à lit fixe	Moon <i>et al.</i> (2004)
		Koenig et Liu (2002)
Eaux souterraines	Réacteur à lit fixe	Sierra-Alvarez <i>et al.</i> (2007)
		Van der Hoek <i>et al.</i> (1992)
		Moon <i>et al.</i> (2006)
Eaux usées salines	Réacteur à lit fixe	Gu <i>et al.</i> (2004)
	Bioréacteur de type cuve agitée	Zhao <i>et al.</i> (2004)

### 2.5.2 Facteurs influençant la DASC

Les facteurs affectant les performances de la DASC sont ceux qui affectent directement la croissance et l'activité microbienne tandis que d'autres facteurs dépendant de la conception expérimentale affectent l'efficacité d'élimination des nitrates. En effet, certains facteurs tels que le pH, la température, l'oxygène dissous, la présence de contaminants organiques ou inorganiques et des sous-produits (nitrites, sulfates) influencent la DASC en affectant l'activité et la croissance microbienne. Tandis que d'autres paramètres tels que la taille des particules de soufre et de calcaire, le rapport soufre/calcaire, la concentration en nitrates de l'affluent, le débit de traitement et le TRH sont intimement liés et aucun de ces facteurs n'est indépendant de l'autre pour pouvoir réussir la conception d'un bioréacteur de DASC.

### 2.5.2.1 pH

La dénitrification autotrophe sulfurée entraîne une acidification du milieu, provoqué par une baisse du pH et de l'alcalinité. La réduction d'une mole de nitrate produit 1,10 moles de H<sup>+</sup> et entraîne la consommation du bicarbonate. Étant donné que la concentration des ions H<sup>+</sup> reflète le pH, une augmentation de la concentration en ions H<sup>+</sup> de 10 fois plus est traduite par une diminution du pH d'une unité. De plus, selon l'Équation 2-6, il est évident qu'une quantité importante de sulfates est produite et cela peut provoquer une chute du pH dans le système. En effet, près de 7,54 mg/L de sulfates sont produits lorsque 1 mg NO<sub>3</sub>-N/L est dénitrifié (Liu et al., 2009). Différents ratios (mg de sulfate produit par mg de NO<sub>3</sub>-N dénitrifié) ont été identifiés dans la littérature, à savoir 3,4 (Zhang et Lampe, 1999), 9,9 (Hashimoto et al., 1987) et 11,1 (Schippers et al., 1987).

Le pH est un facteur important pour la croissance et la survie de tout microorganisme et puisque la dénitrification autotrophe est arbitrée par des microorganismes, le pH joue un rôle critique dans le système de DASC. Le pH affecte également l'activité de la plupart des enzymes. Le pH optimal pour la plupart des bactéries autotrophes dénitrifiantes varie entre 6 et 9 (Holt et al., 1994). Cependant, une étude réalisée par Koenig et Liu (2002) a également permis de mettre en évidence que les bactéries autotrophes dénitrifiantes telles que les *Thiobacillus denitrificans* ont un pH optimal dans la gamme de 6,8 à 8,2 et qu'un pH inférieur à 5,5 est préjudiciable au procédé. À faible pH (inférieur à 6), les réductases d'oxyde d'azote sont inhibées, en particulier celles réduisant l'oxyde nitreux (N<sub>2</sub>O) et le taux global de dénitrification diminue en raison de l'accumulation du N<sub>2</sub>O (Bergaust et al., 2010). Afin de réaliser une dénitrification complète, le pH du système doit être neutralisé avec des substrats appropriés tels que le bicarbonate de sodium. Selon l'Équation 2-6, les bactéries autotrophes dénitrifiantes nécessitent 3,91 g d'alcalinité sous forme de CaCO<sub>3</sub> par gramme de NO<sub>3</sub>-N réduit pour empêcher la baisse du pH (Zhang et Lampe, 1999).



### 2.5.2.2 Température

La température optimale pour la croissance de bactéries dénitrifiantes est d'environ 30°C. Amatya et *al.* (2005) ont étudié l'effet de la température sur la dénitrification biologique et ont établi que le taux de dénitrification est significatif au-delà de 16°C et maximal à 30°C avec une efficacité d'élimination des nitrates de 76,9% dans des réacteurs en colonnes (Amatya et *al.*, 2005). La température a non seulement un rôle important dans la croissance des cellules bactériennes, mais elle a également un effet direct sur l'expression des gènes d'enzymes impliquées dans la dénitrification. Un maximum de dénitrification a été atteint à des températures variant entre 33 et 35°C (Oh et *al.*, 2000). Cependant, une autre étude a montré qu'il était possible de dénitrifier complètement tous les nitrates à 10°C, excepté que la durée du traitement est nettement plus importante en comparaison avec les autres températures citées précédemment.

Trouve et *al.* (1998) ont isolé des souches cryophiles de *Thiobacillus denitrificans* capables de dénitrifier à des températures aussi basses que 5°C avec une efficacité de dénitrification similaire à celle ayant lieu à 20°C. Le problème avec des températures basses réside dans le fait que le procédé de dénitrification nécessiterait des périodes d'incubation plus élevées. Un enlèvement total des nitrates à 10°C requière 36 à 78 h, et les mêmes souches peuvent nécessiter environ 48 à plus de 120 h d'incubation par un procédé en batch. De plus, selon la source de soufre employée, il semblerait qu'à une température de 5°C et un pH entre 6 et 8, l'enlèvement des nitrates serait plus efficace en présence de thiosulfate en comparaison avec le soufre élémentaire. En effet, Trouve et *al.* (1998) ont émis une classification décrivant l'affinité des *Thiobacillus denitrificans* concernant la source de soufre disponible :  $S_2O_3^{2-} > FeS > FeS_2 > S^0$ .

### 2.5.2.3 Oxygène dissous

L'oxygène dissous (OD) pose un problème majeur au cours du procédé de DASC. Étant donné qu'il fait partie des besoins nutritifs de base des microorganismes, l'oxygène est préférentiellement assimilé comparativement aux nitrates présents dans les effluents à traiter. De plus, le potentiel électrochimique de l'oxygène est supérieur à celui des nitrates. Par conséquent, l'oxygène peut entrer en compétition avec les nitrates comme accepteur

d'électrons final et ralentir, voire stopper la dénitrification autotrophe. La plupart des enzymes dénitrifiantes sont produites à des niveaux d'OD inférieurs à 5 mg O<sub>2</sub>/L (Korner et Zumft, 1989). Dans une autre étude réalisée sur le procédé de DASC, l'élimination des nitrates a été optimale lorsque le niveau d'OD a été maintenu dans une fourchette de 1,5 à 2,0% en saturation dans un fermenteur automatisé (Gu et *al.*, 2004). Alors qu'il est généralement admis qu'une faible concentration d'oxygène dissous dans l'affluent favoriserait la DASC, certains auteurs affirment que même à des concentrations plus élevées en oxygène dissous, la DASC n'est pas affectée. Kuai et Verstraete (1999) ont atteint 75 à 86% d'efficacité d'élimination de l'azote total oxydable présent dans des eaux usées domestiques en employant un lit de soufre et de chaux à un TRH de 2,0 à 3,0 h et une concentration en oxygène dissous de 2 à 5 mg O<sub>2</sub>/L.

#### **2.5.2.4 Ratio S/N**

L'effet de différents ratios S/N sur l'efficacité de dénitrification autotrophe sur soufre a été étudié par Campos et *al.* (2008). Ils ont varié les concentrations en thiosulfate comme source de soufre par rapport à celle des nitrates. Lorsque le ratio S/N a été augmenté de 1,16 à 2,44 g S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-S/g NO<sub>3</sub>-N, une accumulation des nitrites a été observée et la dénitrification n'a pu être complétée. Alors qu'avec un ratio S/N plus élevé (6,67 g/g), les nitrates ont totalement été réduits en azote gazeux dès le début des essais mais les nitrites se sont quand même accumulés par la suite.

#### **2.5.2.5 Taille des particules**

Les résultats des études de Blecon et *al.* (1983) menées sur le procédé de DASC ont montré que l'efficacité de la dénitrification augmente lorsque la taille des particules de soufre diminue. En évaluant la performance du procédé de DASC, Flere et Zhang (1999) ont démontré que pour une taille de particules de soufre comprise entre 2,38 et 4,76 mm, il a été possible d'atteindre un taux de dénitrification optimal d'environ 384 g de NO<sub>3</sub>-N/m<sup>3</sup>.jr.

Koenig et Liu (1996) ont étudié le modèle cinétique d'un bioréacteur à lit fixe permettant l'enlèvement des nitrates présents dans des lixiviats issus de sites d'enfouissement par dénitrification autotrophe sur soufre. Ils ont observé que le profil des nitrates dans le

bioréacteur est particulièrement affecté par la taille des particules de soufre et ont suggéré que plus la taille de la particule de soufre est petite, meilleur est l'enlèvement des nitrates dans la colonne. En étudiant trois gammes de particules de soufre comprises entre 2,8 et 5,6 mm; entre 5,6 et 11,2 mm et entre 11,2 et 16 mm à un débit constant et avec une concentration initiale de 60 mg NO<sub>3</sub>-N/L, le meilleur taux d'enlèvement des nitrates a été atteint avec du soufre dont la taille des particules est comprise entre 2,8 et 5,6 mm. À travers les études de Koenig et Liu (1996), il est possible d'envisager un procédé de DASC employant des particules de soufre de ces dimensions et opérant avec un TRH de 1,4 h pour espérer obtenir un enlèvement total (100%) des nitrates similaire. Ces essais ont également mis en évidence que le TRH augmente avec l'augmentation de la taille des particules de soufre. C'est un fait bien connu que plus la taille des particules est petite, plus la surface réactive permettant d'atteindre une meilleure efficacité de dénitrification est grande. Koenig et Liu (2001) ont rapporté que la cinétique de la dénitrification autotrophe sur soufre suit une réaction de demi-ordre et que l'efficacité de dénitrification est forcément dépendante de la surface spécifique de la particule réactive de soufre.

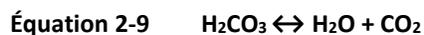
L'étude conduite par Moon *et al.* (2004) est également en accord avec celles menées par d'autres auteurs suggérant que les meilleurs taux d'enlèvement des nitrates enregistrés à ce jour ont été atteints avec des particules de soufre et de calcaire de petite taille. Leur étude a ciblé trois tailles de particules différentes : inférieure à 2 mm, entre 2 et 5 mm et supérieure à 5 mm, leur permettant d'observer des constantes cinétiques de 2,883, 2,949 et 0,677 mg NO<sub>3</sub>-N /L<sup>1/2</sup>.jr, respectivement.

#### **2.5.2.6 Rapport soufre-calcaire**

Étant donné que la réaction biologique de dénitrification autotrophe sur soufre génère des ions H<sup>+</sup>, le processus consomme de l'alcalinité et nécessite, par conséquent, un substrat tampon afin d'arrêter la baisse du pH. Le calcaire est de ce fait utilisé comme phase solide assurant la neutralisation de l'acidité générée au cours de la réaction de dénitrification autotrophe sur soufre (Batchelor et Lawrence, 1978). En effet, différents chercheurs ont étudié la pertinence du calcaire comme substrat tampon. À partir de leurs études, Koenig et Liu (2002) ont conclu

que le calcaire est un agent neutralisant approprié pour la dénitrification autotrophe sur soufre et que le rapport de l'alcalinité initiale par rapport à l'alcalinité requise théoriquement dans les eaux usées doit être d'au moins 0,5 pour une élimination efficace des nitrates. Leur étude révèle que la dissolution du calcaire est inversement proportionnelle au pH pour des valeurs de pH inférieures à 7,1 (Koenig et Liu, 2002). Le rapport soufre-calcaire est généralement déterminé par l'alcalinité de l'affluent.

L'alcalinité est la capacité de l'eau à avoir un pH stable (capacité tampon) et elle se traduit par la présence des ions hydroxydes ( $\text{OH}^-$ ), des ions bicarbonates ( $\text{HCO}_3^-$ ) et des carbonates ( $\text{CO}_3^{2-}$ ). Par conséquent, la consommation du bicarbonate entraîne une baisse de l'alcalinité. Théoriquement, lors d'un processus de dénitrification autotrophe, 1 mg de  $\text{NO}_3\text{-N}$  dénitrifié entraîne la consommation de 4,5 mg de  $\text{CaCO}_3$  (Sengupta et *al.*, 2007). Cependant, d'autres auteurs ont rapporté des résultats relativement différents indiquant que 1 mg de  $\text{NO}_3\text{-N}$  dénitrifié consommerait 5,6 mg de  $\text{CaCO}_3$  (Zhang et Lampe, 1999) et 4,77 mg de  $\text{CaCO}_3$  (Moon et *al.* (2006). Au cours de la DASC, la dissolution du calcaire pour neutraliser l'acidité se traduit par une transformation du bicarbonate en acide carbonique en présence d'ions  $\text{H}^+$  générant ainsi un dégagement du dioxyde de carbone. L'étape de neutralisation se déroule selon les Équations 2-7 à 2-9.



Darbi et *al.* (2002) ont étudié l'effet des différents rapports soufre-calcaire dans le procédé de DASC. Ils ont constaté une augmentation des rendements d'élimination des nitrates pour un rapport S/C de l'ordre de 1/0, mais ceci n'a pas été considéré comme étant le rapport optimal

en raison du pH faible (< 6). Le même résultat a été observé pour un rapport S/C de l'ordre de 3/1 avec une augmentation de la production de sulfates. Cependant, un rapport S/C de 1/1 assure un rendement d'élimination des nitrates de l'ordre de 98% avec une faible production de sulfates. Le même ratio S/C de 1/1 a été utilisé avec du thiosulfate et le meilleur taux d'enlèvement des nitrates obtenu a été de 240 mg NO<sub>3</sub>-N/L.jr (Manconi et *al.*, 2007).

Les études menées par Sikora et Keeney (1976) et par Schippers et Kruithof (1987) ont mis en évidence qu'un rapport de 1/1 était également optimal pour atteindre une grande efficacité d'enlèvement des nitrates avec une faible production de sulfates. Van der Hoek et *al.* (1992), quant à eux, ont montré que des rapports S/C de l'ordre de 1/2, 1/1 et 2/1 ont donné les mêmes résultats en ce qui concerne les capacités d'élimination des nitrates. Moon et *al.* (2004) ont obtenus des constantes cinétiques de 5,490, 3,903, 4,072 et 2,984 (mg/L)<sup>1/2</sup>/jr NO<sub>3</sub>-N pour les ratios volumiques de 1/1, 2/1, 3/1 et 4/1, respectivement.

Cependant, Zhang et Lampe (1999) ont rapporté que le rapport optimal S/C était de 3/1. L'étude qu'ils ont menée pour des eaux souterraines avec différents ratios S/C (1/0, 1/1, 1/3 et 3/1) dans un bioréacteur de DASC à lit fixe leur a permis de mettre en évidence qu'une neutralisation avec du calcaire demeure une étape critique pour le procédé et qu'il est judicieux de maintenir la concentration initiale en nitrates à 35 mg NO<sub>3</sub>-N/L afin d'analyser l'effet des ratios étudiés sur l'efficacité du système selon trois TRH de 17, 9,6 et 3,1 h. Avec le rapport soufre-calcaire de 3/1, les résultats observés ont souligné les meilleures efficacités d'élimination des nitrates avec 99%; 99% et 85% respectivement, aux TRH ci-mentionnés.

Ces différences peuvent être expliquées par la différence dans les conditions expérimentales et les caractéristiques physiques du soufre et du calcaire (taille des particules, forme, etc.) utilisées. Liu et Koenig (2002) ont mis en évidence que certains facteurs tels que le pH de l'affluent, l'alcalinité initiale et l'exigence en calcaire peuvent influencer le rapport S/C optimal dans un procédé de DASC. En effet, si l'alcalinité initiale est présente sous forme de bicarbonate et que le pH de l'affluent à traiter est de l'ordre de 8, un rapport S/C supérieur à 2/1 est suffisant pour assurer une dénitrification efficace. L'exigence dépend en grande partie du pH minimum autorisé pour le maintien de la dénitrification qui détermine par la suite le rapport S/C. Par conséquent, le rapport S/C optimal serait défini comme étant la proportion pour

laquelle le taux de charge de nitrate volumétrique est à un maximum ou inversement, le volume total du réacteur est à un minimum pour une charge donnée d'azote.

### **2.5.2.7 Concentration de l'affluent en nitrates**

La concentration en nitrates dans l'affluent est l'un des principaux facteurs dans le déroulement du procédé de dénitrification autotrophe. Très peu d'études ont été menées avec une concentration en nitrates de 600 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$  (Austerman-Haun et *al.*, 1999). Généralement, une concentration élevée en nitrates dans l'affluent entraîne la formation d'azote gazeux ( $\text{N}_2$ ) dans le haut du bioréacteur, ce qui met fin à la réaction (Blackmer et Bremner, 1978). En d'autres termes, quand la dénitrification biologique a lieu en présence d'une concentration élevée en nitrates, le processus est ralenti. En raison de la grande variabilité de la concentration en azote dans les boues, l'acclimatation des microorganismes est essentielle dans un processus impliquant la concentration en nitrates. En général, le niveau de tolérance des espèces microbiennes vis-à-vis des nitrates est variable. En se basant sur ce niveau de tolérance, il a été possible de classer les bactéries dénitrifiantes en deux groupes : 1) le groupe des microorganismes tolérants aux nitrates pouvant croître à des concentrations élevées en nitrates et réduire ces derniers en nitrites et puis en azote gazeux, et 2) le groupe des microorganismes intolérants aux nitrates s'acclimatant difficilement et lentement aux fortes concentrations en nitrates et génère un taux d'élimination des nitrates avec une cinétique très lente (Breisha , 2010).

Selon la concentration initiale étudiée, Zhou *et al.* (2011) ont simulé un traitement par DASC de différents types d'eaux contaminés en nitrates. Pour de meilleurs résultats, ils ont recommandé l'application d'un TRH de 3,0 h pour des eaux de surface eutrophisées ( $\leq 10 \text{ mg NO}_3\text{-N/L}$ ), un TRH de 4,0 h pour des eaux souterraines et des eaux usées municipales (20-40 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$ ) et finalement un TRH supérieur à 6,0 h pour des eaux usées industrielles (70-100 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$ ).

Les travaux réalisés par Zhang (2004) ont décrit la faisabilité de mise en place d'une installation de DASC permettant l'approvisionnement de 200 habitants (petite collectivité) en eau potable pour une utilisation journalière de  $120 \text{ m}^3/\text{jour}$  dans le cadre d'un projet sponsorisé par Midwest Technology Assistance Center (MTAC) pour le développement d'un procédé de

traitement des eaux souterraines chargées en nitrates. Une bonne efficacité d'enlèvement des nitrates a été enregistrée avec près de 95% pour un bioréacteur cylindrique faisant 3 m de long et 5 m de diamètre (pour un volume sécuritaire de 60 m<sup>3</sup>) et fonctionnant avec un taux de charge ne dépassant pas 200 g NO<sub>3</sub>-N/m<sup>3</sup><sub>(média)</sub>.jr, avec une concentration en nitrates dans l'eau souterraine de 20 mg NO<sub>3</sub>-N/L et un TRH de 2,4 h.

#### **2.5.2.8 Temps de rétention hydraulique**

Le temps de rétention hydraulique (TRH) est un facteur déterminant dans la performance de tout procédé de dénitrification biologique. D'ailleurs, plusieurs TRH ont été étudiés et rapportés dans la littérature concernant les procédés de DASC. Ce facteur est intimement lié aux autres facteurs influençant la performance d'un tel système. Généralement, l'efficacité d'élimination des nitrates est jugée médiocre pour des débits de traitement élevés (courts TRH) et inversement, elle est considérée comme complètement satisfaisante pour des faibles débits de traitement (longs TRH).

L'invention réalisée par Bae *et al.*, (2003) illustre un procédé de DASC ayant lieu dans un bioréacteur à lit fluidisé. Le calcaire est employé comme agent de stabilisation de l'alcalinité et est placé en amont du soufre élémentaire car sa densité spécifique est plus élevée de celle du soufre employé. Une étude comparative avec un bioréacteur lit fixe a montré qu'avec un débit à l'entrée de 192 L/jr ou un taux de charge de 2,5 kg NO<sub>3</sub>-N/m<sup>3</sup>.jr, l'enlèvement des nitrates dans un bioréacteur à lit fluidisé a dépassé 97%. Le TRH appliqué a été de 0,19 h (≈12 min). Dans une étude menée par Li *et al.* (2014), un enlèvement total des nitrates a été atteint avec une élimination simultanée du phosphore de 44,6% quand le TRH a été augmenté de 3,0 à 6,0 h. L'élimination totale des nitrates est demeuré stable jusqu'à 24 h de traitement, et durant cette période le taux d'élimination du phosphore a été amélioré, passant de 44,6% à 59,4%. L'enlèvement des nitrates selon un procédé de DASC a été évalué en testant la performance du système avec différents TRH (Flere et Zhang, 1999). L'étude en question a concerné des TRH de 12, 10, 8,0 et 6,0 h. L'élimination des nitrates atteinte a été comprise entre 90 et 96% pour l'ensemble des TRH testés. Cependant, lorsque le TRH a été réduit à 3,0 h, l'efficacité d'enlèvement des nitrates a été affectée pour les réacteurs fonctionnant avec des

concentrations de 30 à 60 NO<sub>3</sub>-N mg/L compte-tenu de l'augmentation automatique du taux de charge en nitrates. Suite à la diminution du TRH à 1,5 h, Flere et Zhang (1999) ont également remarqué une baisse du taux d'élimination des nitrites avec une concentration résiduelle de 5,5 mg NO<sub>2</sub>-N/L pour concentration initiale de 60 NO<sub>3</sub>-N mg/L.

#### **2.5.2.9 Inhibiteurs**

Les enzymes des microorganismes impliqués dans la dénitrification sont sensibles à l'inhibition par divers composés. Le mécanisme d'action des inhibiteurs demeure non expliqué mais plusieurs d'entre eux exercent des effets métaboliques différents de ceux exercés sur les réductases spécifiques. Selon les études menées par Baalsrud et Baalsrud (1954), la dénitrification autotrophe en présence de soufre peut être inhibée de 40% pour des concentrations en nitrites inférieures à  $3,5 \times 10^{-4}$  mol/L. Dans de telles conditions, les nitrites peuvent s'avérer hautement toxique pour les enzymes dénitrifiantes.

Durant leur étude de la physiologie et de la cinétique de la dénitrification autotrophe par *Thiobacillus denitrificans*, Claus et Kutzner (1985b) ont déclaré qu'une concentration en sulfates supérieure à 5 g/L et une concentration en nitrates supérieure à 0,2 g/L peuvent s'avérer problématiques pour l'efficacité des procédés de dénitrification. De plus, l'activité des *Thiobacillus denitrificans* a été considérée comme complètement inhibée pour des concentrations en sulfates supérieures à 20 g/L.

Les contaminants métalliques présents dans les eaux usées industrielles et municipales sont généralement des métaux lourds. De nos jours, l'utilisation étendue de différents engrais et le non-traitement de certains déchets entreposés puis enfouis conduisent à l'accumulation de métaux dans les eaux souterraines. Lors d'une étude réalisée sur la dénitrification autotrophe sur soufre, Moon *et al.* (2006) ont évalué l'effet de certains contaminants tels que le trichloréthylène (TCE), le cuivre, le zinc et le chrome (VI) sur l'efficacité de dénitrification d'un affluent caractérisé par une concentration initiale de 30 mg NO<sub>3</sub>-N/L. Au-delà d'une concentration de 80 mg/L en TCE, la dénitrification est affectée et le taux d'enlèvement des nitrates est réduit de moitié. Pour les métaux lourds, l'étude a mis en évidence que la présence de chrome (VI) avec une concentration comprise entre 0,1 et 1 mg Cr/L n'indique pas un effet

concret sur le métabolisme des microorganismes autotrophes dénitrifiants. Cependant, pour le cuivre et le zinc, une concentration supérieure à 0,5 mg/L semble inhiber l'activité bactérienne. La raison de l'inhibition demeure inexpliquée mais selon Jong et Parry (2003), cela pourrait être dû à la précipitation de ces ions sous forme de sulfures métalliques.

Selon une étude portant sur la dénitrification autotrophe avec du sulfure comme donneur d'électrons, Fajardo *et al.* (2014) ont observé qu'une concentration en sulfure supérieure à 200 mg/L a inhibé le métabolisme des *Thiobacillus denitrificans*. L'efficacité de dénitrification a été réduite de 50% quand la concentration en nitrites a dépassé 48 mg/L.

### **2.5.3 Configuration du soufre et du calcaire dans le bioréacteur**

La configuration du garnissage de la colonne du réacteur varie en fonction du procédé appliqué et du type d'eaux usées à traiter. Dans le cas d'une DASC, le garnissage remplissant le bioréacteur de dénitrification peut avoir plusieurs configurations dans lequel le soufre élémentaire granulaire et le calcaire granulaire sont mélangés, disposés en couches superposées ou chacun dans un réacteur à part (placés en aval ou en amont l'un de l'autre).

La majorité des travaux cités dans la littérature font référence à une DASC où le soufre et le calcaire sont mélangés dans un même bioréacteur généralement désigné par réacteur à lit fixe (Sengupta *et al.*, 2006; Zhang, 2004; Zhou *et al.*, 2011). Le [Tableau 1-2 \(section 1-4\)](#) résume d'autres études réalisées et basées sur le principe d'une DASC pour l'enlèvement des nitrates présents dans différents types d'effluents avec un garnissage mixte formé de soufre et de calcaire mélangés.

Une seule invention de bioréacteur à lit fluidisé est rapportée à ce jour dans lequel le calcaire a été placé en amont du soufre fluidisé (Bae *et al.*, 2003). Ce type de fonctionnement (lit fluidisé) est différent de ceux communément développés (lit fixe). Il est plus facile d'appliquer de très courts TRH (12 min) avec le lit fluidisé et d'obtenir un taux d'enlèvement des nitrates dépassant 97%, paramètres difficiles à satisfaire et jamais atteints avec un bioréacteur conventionnel de DASC à lit fixe. Cependant, ce genre de bioréacteur nécessite un design permettant la recirculation de l'effluent (complexité d'installation et besoins au sol plus importants).

Jusqu'à ce jour, aucune étude faisant référence à la DASC avec du soufre et du calcaire placés en couches n'a été rapportée. Cependant, en suivant le même principe que le procédé DASC, Sengupta et Ergas (2007) (2007) ont utilisé les écailles d'huîtres à la place du calcaire. L'invention a une particularité quant à la configuration des substrats employés. Le soufre et les écailles d'huîtres ont été disposés dans le bioréacteur sous forme de couches multiples supportées par une couche de gravier. Pour des débits de traitement entre 110 et 230 L/jour, le bioréacteur a eu une capacité de 450 L et a été opéré avec des TRH entre 2 et 4,5 h. La méthode de traitement a permis d'atteindre des concentrations résiduelles en nitrates inférieures à 2 mg/L, avec des taux d'enlèvement des nitrates dépassant 80%.

#### **2.5.4 Application d'autres substrats tampons**

L'effet du pH au cours de la dénitrification autotrophe utilisant du soufre élémentaire en tant que donneur d'électrons est critique. Il a été rapporté que lorsque le soufre élémentaire est utilisé comme donneur d'électrons, le pH optimum est compris entre 7,0 et 8,0. Alors que pour le thiosulfate, le pH optimum est compris entre 6,0 et 8,0 (Claus et Kutzner, 1985a; Kuenen *et al.*, 1992). En tant que substrat inorganique oxydable, le soufre a été grandement utilisé dans la dénitrification autotrophe, seul (Koenig et Liu, 1996) ou en présence de substrats tampons afin de maintenir le pH approprié. Parmi ces derniers, le calcaire ( $\text{CaCO}_3$ ) a été le plus communément utilisé dans la dénitrification autotrophe sur soufre. La chaux éteinte ( $\text{Ca(OH)}_2$ ), la chaux vive ( $\text{CaO}$ ), les coquilles d'huîtres, la chaux dolomitique ( $\text{CaMg(CO}_3)_2$ ) et le maërl (résidus d'algues marines riches en calcaire), qui est considéré comme en voie de disparition, ont également été utilisés en tant que matériaux de neutralisation (Tisdale et Nelson, 1975). L'efficacité de la calcite pour la neutralisation d'effluent est bien connue depuis de nombreuses années. En effet, l'utilisation du calcaire comme substrat tampon durant la dénitrification sur soufre a commencé en 1991 lorsque Marc Langouet a utilisé du maërl pour compenser la baisse de pH observée lors de la dénitrification (Langouet, 2000).

L'efficacité des coquilles d'huîtres, ajoutées au soufre élémentaire dans la dénitrification autotrophe, en tant que substrat tampon pour substituer le calcaire a été prouvée par

différents auteurs (Sengupta *et al.*, 2006; Sengupta et Ergas, 2007 et Simard, 2010 ) présentant des résultats irréfutables avec un enlèvement quasi total des nitrates atteignant près de 99%.

## 2.6 Synthèse bibliographique

La dénitrification biologique présente un grand intérêt dans le traitement des eaux usées et des eaux souterraines en tant que moyen d'élimination de l'excès de nitrates. Ce processus représente une stratégie environnementale et économique pour la récupération de l'eau contaminée par des nitrates (Soares, 2000). En présence de nitrates comme accepteurs finaux d'électrons, le processus se produit de manière soit autotrophe, soit hétérotrophe. La dénitrification hétérotrophe est très efficace en termes d'élimination des nitrates présents dans les effluents à traiter lorsqu'il y a suffisamment de carbone organique (Flere et Zhang, 1999). Toutefois, lorsque le carbone organique présent dans les eaux usées est insuffisant par rapport à la teneur en azote, des substances chimiques telles que le méthanol ou des composés organiques semblables doivent être ajoutés. Pour cette raison, la dénitrification autotrophe a reçu plus d'attention récemment étant donné qu'elle ne nécessite pas une source externe de carbone (Sierra-Alvarez *et al.*, 2007), réduisant de ce fait le risque de retrouver un excès de carbone organique dans l'effluent traité et en raison de la faible production de boues, réduisant ainsi les coûts de traitement en comparaison avec la dénitrification hétérotrophe (Zhang et Lampe, 1999).

L'atout de la dénitrification sur soufre élémentaire réside dans l'utilisation d'un substrat stable et facilement disponible. En comparaison avec l'éthanol et le méthanol, le soufre n'est pas cher puisque c'est un sous-produit de l'industrie pétrolière. De plus, il est non toxique et insoluble dans l'eau. Bien que le procédé de DASC présente de nombreux avantages, il demeure important de rappeler les principaux inconvénients de ce système. Les sous-produits de la dénitrification autotrophe sur soufre sont majoritairement les sulfates. D'après Pan (2007), la réaction de dénitrification produit 6,91 mg de  $SO_4$  par mg  $NO_3-N$  dénitrifié. Cependant, la dénitrification autotrophe augmente la concentration en sulfates dans les eaux usées et consomme de l'alcalinité. Lorsque les eaux usées ont des concentrations très élevées en

nitrate, la production de sulfates devient plus importante et pourrait devenir un problème en raison de la production de sulfures en conditions anaérobiques.

De plus, la production des sulfates jumelée à une production des ions  $H^+$  provoque une baisse du pH puisque cela entraîne la production d'acide sulfurique. D'un autre côté, les nitrites sont connus comme étant un fort inhibiteur des microorganismes et sont d'autant plus toxiques que les nitrates pour la santé humaine (Zhou *et al.*, 2011). Par conséquent, le risque de se retrouver avec une accumulation de nitrites en cours de DASC rend le développement de ce système plus délicat.

Bien que l'utilisation du calcaire semble être un procédé économique et efficace dans la compensation de l'alcalinité dans le processus de dénitrification autotrophe sur soufre, il présente également l'inconvénient d'augmenter la dureté et la concentration en solides dissous dans l'effluent (Driscoll et Bisogni, 1978). Lorsque les eaux usées contiennent un taux élevé de nitrates, il est difficile de favoriser l'alcalinité avec du calcaire en raison du taux limité de  $CaCO_3$  dissous et il est difficile de réduire la forte concentration en sulfates.



## 3 MÉTHODOLOGIE EXPÉRIMENTALE

### 3.1 Systèmes de filtration

#### 3.1.1 Colonnes de filtration

L'étude du système de dénitrification autotrophe sur soufre réalisée au cours de ce projet de doctorat a nécessité l'utilisation de colonnes en acrylique de dimensions différentes. Une nomenclature de ces colonnes a été définie selon le volume total de liquide pouvant être contenu dans la colonne en l'absence de support et cette nomenclature sera utilisée tout au long de ce manuscrit : les grandes colonnes seront nommées « type G », les moyennes colonnes seront appelées « type M » et les petites colonnes seront nommées « type P ».

La [Figure 3-1](#) présente les colonnes de type G ([Figure 3-1a](#) et [3-1c](#)) et de type M ([Figure 3-1b](#)) utilisées au cours de ce projet de recherche. Les colonnes de type G, au nombre de quatre, ont une hauteur de 130 cm et un diamètre interne de 11,4 cm, représentant un volume total utile de 13,5 L. Les colonnes de type G ont été utilisées pour les essais de dénitrification autotrophe.

Les colonnes de type M, également au nombre de quatre, ont été utilisées au cours de ce projet uniquement pour les essais de neutralisation (augmentation de l'alcalinité) des effluents. Elles ont une hauteur de 44 cm et leur diamètre interne est de 8 cm, pour un volume total de 2,2 L.

Au cours de ce projet de recherche, six colonnes de type P ont également été utilisées. Ces dernières ont une hauteur totale de 121 cm et un diamètre interne de 2,54 cm pour un volume total de 620 mL ([Figure 3-2](#)).

Lors des différents essais réalisés, les colonnes de type G et P ont été remplies avec le biofiltre (soufre ou soufre et calcaire mélangés), lieu de la réaction de dénitrification autotrophe, alors que les colonnes de type M ont été remplies avec du calcaire, agent de neutralisation permettant de neutraliser l'acidité générée au cours de la dénitrification autotrophe. Tout au long des expériences menées, les colonnes ont été alimentées de manière ascendante, c'est-à-dire que l'alimentation de l'affluent à traiter a été réalisée à l'aide d'une valve située en bas de chaque colonne et que l'échantillonnage de l'effluent traité a été réalisé au moyen d'une seconde valve installée en haut de chaque colonne.



Figure 3-1 Colonnes de type G : (a) et (c) et colonnes de type M : (b) utilisées pour les essais de dénitrification autotrophe et de neutralisation, respectivement.

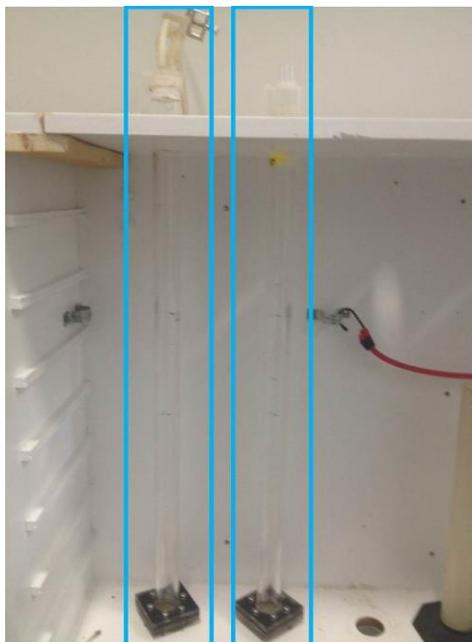


Figure 3-2 Colonnes de type P utilisées pour les essais de dénitrification autotrophe

Le [Tableau 3-1](#) résume les dimensions des différentes colonnes citées ci-dessus et mises à disposition lors de ce projet de recherche pour réaliser les essais de dénitrification autotrophe des effluents issus des résidences isolées.

**Tableau 3-1**      **Dimensions des colonnes de dénitrification**

Caractéristiques des colonnes	Type G	Type M	Type P
Volume total sans support (L)	13,5	2,20	0,62
Diamètre interne (cm)	11,4	8,00	2,50
Hauteur (cm)	132	44,0	121

### 3.1.2 Biofiltre

Pour les essais de dénitrification autotrophe, les colonnes de type G et P ont été remplies à l'aide de soufre élémentaire ( $S^0$ ) sous forme de particules solides aplaties dont les différentes fractions granulométriques sont présentées au [Tableau 3-2](#). Le soufre a été acheté auprès de la compagnie *Buck Expert*, spécialisée dans la vente de produits de chasse et de pêche à Saint-Benjamin (Qc, Canada). Il est commercialisé sous forme de sacs de 22 kg pour un coût total de 30 \$/sac avec une densité en vrac de 1,03.

**Tableau 3-2**      **Répartition massique des différentes fractions granulométriques du soufre élémentaire utilisé**

Fractions granulométriques (mm)	$x \geq 3,18$	$2,0 < x < 3,18$	$1,7 < x < 2,0$	$1,0 < x < 1,7$	$x < 1$
Répartition massique (%)	22	48	13	15	2,0

Une opération de tamisage du soufre a été réalisée tout le long de ce projet afin de ne garder que les particules de taille supérieure à 2 mm pour les essais de dénitrification en colonnes. Cette fraction granulométrique représente environ 70% de la masse de soufre commercialisé en vrac par la compagnie *Buck Expert*. Grâce à des tests rapides effectués à petite échelle et détaillés dans la [Section 3.6.1](#), la densité spécifique et la porosité de ce soufre ont été déterminées, elles sont respectivement de 1,70 et 35%.

### 3.1.3 Substrat tampon

Afin de permettre la neutralisation de l'effluent traité, l'agent neutralisant le plus approprié à la réalisation des objectifs du projet a été le calcaire en raison de son faible coût et de sa faible solubilité. De plus, le calcaire est rapidement accessible et facile à manipuler.

Le substrat tampon, qu'est le calcaire, utilisé durant les essais de dénitrification en colonnes a été fourni par la compagnie *Graymont* de Saint-Marc-des-Carières (Qc, Canada) dans des sacs de 40 kg coûtant environ 7,20 \$ (soit 0,18 \$/kg). Sa densité spécifique et sa porosité ont été estimées à 1,64 g/cm<sup>3</sup> et 20%, respectivement. Il est composé à 36% de Ca, à 92% de CaCO<sub>3</sub>, à 0,47% de Mg et à 2% de MgCO<sub>3</sub>. De plus, des tests de solubilité ont montré qu'il est peu soluble ([Ca<sup>2+</sup>] = 14,5 mg/L et [Mg<sup>2+</sup>] = 0,8 mg/L) et qu'il contient peu d'impuretés.

Une étape de tamisage du calcaire a été réalisée avant chaque essai afin de garder uniquement les granules de taille supérieure à 2 mm. Cette fraction représente environ 73% de la masse totale de calcaire acheté auprès de la compagnie. Le [Tableau 3-3](#) présente les différentes répartitions massiques obtenues pour chaque fraction granulométrique du calcaire granulaire utilisé au cours de ce projet durant les essais de dénitrification menés en colonnes.

**Tableau 3-3 Fractions granulométriques du calcaire**

Fraction granulométrique (mm)	$x \geq 3,18$	$2,0 < x < 3,18$	$1,7 < x < 2,0$	$1,0 < x < 1,7$	$x < 1$
Répartition massique (%)	2,3	70	19	7,5	1,2

### 3.1.4 Remplissage des colonnes

Une fois le soufre et le calcaire tamisés, les différentes colonnes utilisées au cours de ce projet de recherche ont été remplies de soufre pour les colonnes de type G et P et de calcaire pour les colonnes de type M. Le [Tableau 3-4](#) présente les paramètres importants pour chaque type de colonne utilisée à savoir ses dimensions, la quantité de soufre ou de calcaire introduite, le volume total sans support, le volume de liquide avec support et le volume de liquide dans le support.

**Tableau 3-4 Paramètres des différents systèmes de filtration utilisés**

Caractéristiques des colonnes	Unité	Type G	Type M	Type P
Hauteur	cm	130	44,0	121
Diamètre interne	cm	11,4	8,00	2,54
Quantité de soufre	kg	10,0	-	0,46
Quantité de calcaire	kg	-	1,30	-
Volume total sans support	L	13,3	2,20	0,62
Volume de liquide avec support	L	7,00	1,40	0,28
Volume de liquide dans le support	L	3,40	-	0,15

## 3.2 Développement et acclimatation des souches bactériennes

### 3.2.1 Phase de démarrage

Afin de faciliter le démarrage des bioréacteurs, le développement de la microflore bactérienne a été amorcé en mélangeant de faibles volumes d'effluent provenant du procédé Filtre Coco PTA avec les nutriments nécessaires au développement des microorganismes dénitrifiants dans des fioles coniques de 500 mL.

Le milieu de culture utilisé comprend de l'eau nitrifiée (pH = 6,8) avec une concentration initiale en nitrates de 25 mg NO<sub>3</sub>-N/L, ainsi que des nutriments avec des concentrations fixées à 5 g/L de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>.5H<sub>2</sub>O, 2 g/L de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 2 g/L de KNO<sub>3</sub>, 1 g/L de NaHCO<sub>3</sub>, 0,5 g/L de NH<sub>4</sub>Cl, 0,5 g/L de mgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O et 0,01 g/L de FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (Gu *et al.*, 2004). L'acclimatation des souches bactériennes s'est déroulée à température ambiante, en l'absence d'oxygène et sans agitation. Des prélèvements espacés de 3 à 4 semaines ont été réalisés durant trois mois afin de déterminer la concentration résiduelle en nitrites et en nitrates. L'acclimatation de la biomasse dénitrifiante en présence de thiosulfate de sodium a nécessité huit semaines, au bout desquelles la réduction des nitrates a été quasi-totale. Le milieu a été enrichi, par la suite, par ces mêmes nutriments afin d'assurer la survie des bactéries dénitrifiantes développées. Un volume de 375 mL du milieu de culture a ensuite servi pour l'inoculation du média, à savoir le soufre élémentaire.

### 3.2.2 Phase d'optimisation des conditions d'acclimatation

L'optimisation du développement et de l'acclimatation des bactéries dénitrifiantes est un objectif primordial dans le cadre de ce projet de recherche en vue d'une commercialisation future du procédé de dénitrification autotrophe. En effet, dans la mesure où cette étude mène à l'élaboration d'un pilote pré-commercial pouvant fonctionner dans des conditions réelles, il est important de rassembler toutes les informations nécessaires au bon démarrage du processus de dénitrification d'un point de vue rapidité de fonctionnement.

De ce fait, une série de tests a été réalisée à l'échelle laboratoire afin d'étudier l'influence de différents paramètres sur le développement de la biomasse bactérienne dénitrifiante et d'identifier les conditions les plus favorables en termes de rapidité et d'efficacité. Au total, dix configurations différentes ont été testées en présence d'eau nitrifiée provenant des installations de PTA et de divers réactifs tels que : le soufre élémentaire, le calcaire, le thiosulfate de sodium et l'inoculum. Ce dernier est constitué du soufre ou du calcaire déjà colonisé par les bactéries dénitrifiantes, ou encore de l'affluent qui n'est autre que de l'eau dénitrifiée. Le [Tableau 3-5](#) résume les différentes configurations étudiées au cours de cette détermination des conditions optimales de développement et d'acclimatation de la biomasse bactérienne. Ces tests ont été effectués en triplicata et les échantillons ont été soigneusement préparés de la même manière dans des bouteilles en plastique de 1 L et gardés à la noirceur, à température ambiante, sans agitation et en conditions anaérobies.

Selon la configuration envisagée, les quantités de réactifs introduits sont pour :

- le soufre élémentaire : 350 g ou 300 g en présence de 50 g de l'inoculum correspondant;
- le calcaire : 350 g ou 300 g en présence de 50 g de l'inoculum correspondant,
- le thiosulfate de sodium : 5 g;
- l'eau dénitrifiée : 100 mL lorsqu'ajoutée comme inoculum;
- l'eau nitrifiée provenant du procédé Filtre Coco PTA ajoutée pour compléter au volume total de la bouteille en plastique.

Cette expérience a été réalisée jusqu'à ce que les nitrites-nitrates soient complètement réduits. Les prélèvements ont été réalisés à une fréquence de deux fois par semaine pour le suivi des nitrites-nitrates et du pH et de manière hebdomadaire pour le suivi de l'alcalinité.

**Tableau 3-5 Configurations étudiées durant la phase d'optimisation de l'étape de développement et d'acclimatation des bactéries dénitrifiantes**

Échantillons	Réactifs				
	Eau nitrifiée	Soufre	Thiosulfate	Calcaire	Inoculum
1	✓				✓
2	✓	✓			✓
3	✓	✓	✓		✓
4	✓	✓		✓	✓
5	✓	✓	✓	✓	✓
6	✓				
7	✓	✓			
8	✓	✓	✓		
9	✓	✓		✓	
10	✓	✓	✓	✓	

### 3.3 Fonctionnement du système en mode batch

#### 3.3.1 Démarrage des colonnes de type G

Le démarrage du système de dénitrification a été réalisé en mode discontinu dans les colonnes de type G. Chacune de ces colonnes a été remplie à l'aide de 10 kg de soufre puis a étéensemencée avec 375 mL d'un inoculum préalablement préparé ([Section 3.2.1](#)).

Le tout premier essai, surnommé essai n°1, a duré 42 jours durant lesquels les colonnes ont fonctionné en mode batch et en conditions anaérobies selon la configuration présentée à la [Figure 3-3](#). L'échantillonnage à la sortie de ces colonnes a été réalisé aux deux jours. Les colonnes ont été gardées au repos durant 48 h, ensuite leur alimentation a été assurée par des pompes péristaltiques Masterflex L/S 100 RPM (modèle 07528-30) fonctionnant avec des tubes Masterflex en silicone de calibre 15 avec un débit fixé à 125 mL/min durant une heure entière.

Cette étape a permis le changement de la totalité de l'eau contenue dans la colonne, équivalente à un volume de 7 L en présence du support. En effet, chaque colonne a été alimentée à partir de son réservoir d'eau nitrifiée respectif, et ensuite l'effluent a été récupéré dans ce même réservoir. Les résultats concernant le développement de la microflore dans les quatre colonnes de soufre n'étant pas satisfaisants, d'autres essais successifs et similaires ont été réalisés, mais cette fois-ci en abandonnant l'idée d'employer un réservoir.

Au cours des essais subséquents, l'expérience a été menée sans apport d'eau brute dans le système (Figure 3-4) et en gardant les mêmes conditions anaérobies que précédemment. Entre deux échantillonnages, les quatre colonnes ont été gardées au repos puis la recirculation de l'eau dans chaque système a été réalisée durant une heure entière avec un débit de 125 mL/min, assuré par des pompes péristaltiques de marque Masterflex.

Il est important de noter qu'à chaque nouvel essai, les colonnes ont d'abord été vidées, puis inoculées avec 1 L de l'effluent provenant de l'essai précédent et leur volume a été comblé avec une nouvelle eau usée (nitrifiée). L'échantillonnage des colonnes à l'essai n°2 a été exécuté une fois par semaine durant deux semaines et l'échantillonnage des colonnes aux essais n°3 et n°4 ont été accompli aux deux jours pendant une durée de neuf jours. Les essais n°3 et n°4 diffèrent seulement par la concentration initiale en nitrates (8,7 et 18,1 mg NO<sub>x</sub>-N/L, respectivement). La Figure 3-4 donne une idée sur la configuration des colonnes suivie durant les essais n°2, n°3 et n°4 à savoir sans l'emploi d'un réservoir.

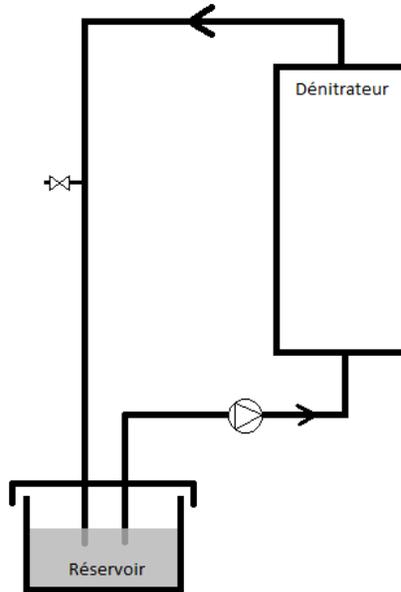


Figure 3-3 Système de dénitrification en mode discontinu avec emploi d'un réservoir

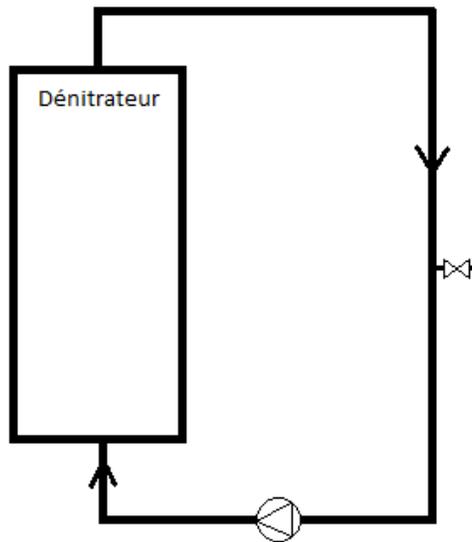


Figure 3-4 Système de dénitrification en mode discontinu sans emploi d'un réservoir

### **3.3.2 Démarrage des colonnes de type P**

Le fonctionnement des six colonnes de soufre de type P a également débuté par un démarrage en mode discontinu sans l'emploi d'un réservoir (Figure 3-4), afin d'assurer un développement favorable et rapide de la microflore bactérienne. En connaissant la quantité de soufre employée avec les colonnes de type G, il a été possible d'extrapoler la quantité de soufre devant être utilisée pour les colonnes de type P. Par conséquent, chacune de ces dernières a été remplie avec 460 g de soufre tamisé et inoculée avec 20 mL de l'effluent provenant des colonnes de type G contenant une biomasse déjà acclimatée.

Durant l'essai n°5, les colonnes ont fonctionné en mode batch pendant 11 jours, en suivant le même principe d'alimentation que celui utilisé pour les colonnes de type G : repos - pompage/échantillonnage - repos. Pour un volume total de 280 mL en présence de soufre dans la colonne et un débit d'alimentation fixé à 55 mL/min, 10 min de recirculation de l'eau ont suffi pour pouvoir procéder à l'échantillonnage qui a été réalisé deux fois par semaine. La recirculation de l'effluent dans le montage a été assurée par deux pompes (assemblage de trois têtes par pompe) Masterflex L/S 100 RPM (modèle 07528-30) fonctionnant avec des tubes Masterflex en silicone de calibre 14.

### **3.3.3 Intégration du calcaire**

Au cours de la dénitrification autotrophe utilisant le soufre comme source d'énergie pour les microorganismes, deux phénomènes liés à l'élimination des nitrates sont relevés, provoquant ainsi l'acidification du milieu. Il s'agit d'une part de la consommation du bicarbonate entraînant une baisse de l'alcalinité et, d'autre part, de la production d'ions  $H^+$  qui diminuent le pH lors de la réaction de dénitrification en présence de bactéries dénitrifiantes. Il était donc primordial de réajuster le pH et l'alcalinité de l'effluent traité afin de s'assurer qu'ils ne baissent pas à un niveau critique où la réaction de dénitrification risquerait de ralentir, voire même de s'arrêter complètement.

L'intégration du calcaire au système de dénitrification à base de soufre a débuté en mode batch afin de permettre aux microorganismes de s'adapter aux changements causés par l'ajout d'un nouveau substrat. Elle a été menée au moyen de colonnes de type M. À l'essai n°6, chacune de ces quatre colonnes a été remplie avec 1,3 kg de calcaire tamisé puis, chacune d'entre elles a été installée en aval d'une colonne de soufre de type G selon la configuration décrite à la [Figure 3-5](#). L'alimentation des colonnes de type G et de type M s'est faite de manière ascendante. La disposition de la colonne de calcaire en amont de la colonne de soufre n'a pas été considérée au cours de ce projet de recherche étant donné les résultats non concluants des essais réalisés par Simard (2010) avec des colonnes de neutralisation fonctionnant avec des écailles d'huîtres. Les quatre systèmes en question ont fonctionné, de manière identique et parallèlement, en mode batch durant deux semaines, sans interruption avec un débit fixé à 8 mL/min.

Ne disposant pas de colonnes supplémentaires pour l'intégration du calcaire au niveau des colonnes de soufre de type P, le calcaire a été incorporé au soufre selon une configuration mélangée où les deux matériaux tamisés ont été mélangés dans différentes proportions massiques soufre/calcaire. Les proportions en question sont présentées plus en détails au [Tableau 3-6 \(Section 3.4.2\)](#). Toujours en mode batch, l'essai n°7 d'une durée de 30 jours et l'essai n°8 d'une durée de 8 jours ont permis de faire le suivi journalier du pH, de l'alcalinité et des nitrites-nitrates ( $\text{NO}_x$ ) selon un échantillonnage réalisé à la suite de 10 min de recirculation avec un débit d'alimentation fixé à 55 mL/min.

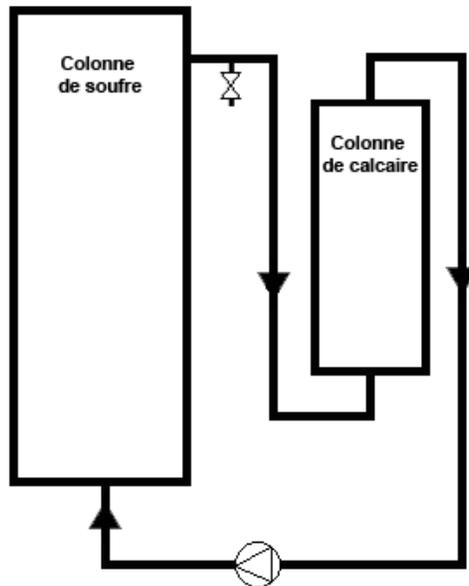


Figure 3-5 Intégration du calcaire au système de dénitrification en mode discontinu (colonne de calcaire en aval de la colonne de soufre)

### 3.4 Fonctionnement du système en mode continu

#### 3.4.1 Descriptif des installations

Une fois l’acclimatation terminée et le développement des bactéries dénitrifiantes stabilisé, les bioréacteurs de dénitrification ont été opérés en mode continu. Étant donné les quantités importantes d’effluent requises pour alimenter les systèmes de traitement, il devenait problématique de s’alimenter continuellement en eau nitrifiée disponible à la station d’épuration de Bellevue (SEB) et de transporter les effluents jusqu’à nos laboratoires.

Par conséquent, les colonnes de type G contenant 10 kg de soufre et les colonnes de type M renfermant 1,3 kg de calcaire ont été déplacées à la SEB à Rivière-du-Loup (Québec, Canada). Le système de dénitrification appelé bioréacteur pilote dans le cas des essais en continu réalisés à la SEB, est formé de la colonne de calcaire placée en aval de la colonne de soufre. La [Figure 3-6](#) présente l’installation des quatre bioréacteurs de dénitrification opérés à la SEB. Le réservoir d’une capacité de 60 L a permis d’alimenter continuellement les quatre bioréacteurs pilotes. Ce réservoir a été directement raccordé à la sortie du procédé Filtre Coco PTA et soigneusement

scellé pour éviter tout contact avec l'oxygène atmosphérique. Chaque bioréacteur pilote a été alimenté par une pompe péristaltique ( $P_1$ ) Masterflex L/S 100 RPM (modèle 07528-30) fonctionnant avec des tubes Masterflex en silicone de calibre 15. Le débit de la pompe  $P_1$  a été calculé en fonction du volume de liquide dans le média (soufre). Le temps de rétention hydraulique appliqué et propre à la colonne de soufre est noté TRH. La variation de ce dernier a permis la détermination du TRH optimal.



**Figure 3–6** Bioréacteurs pilotes de dénitrification opérés en mode continu à la SEB : (1) Bac de pompage, (2) Colonne de soufre, (3) Colonne de calcaire, (4) Pompe péristaltique d'alimentation  $P_1$  et (5) Pompe de recirculation  $P_2$

Le principe de fonctionnement de chacun des bioréacteurs pilotes est expliqué à la [Figure 3-7](#). Dans le réacteur de soufre, l'affluent a été introduit de manière ascendante et les prélèvements ont été effectués en haut de chaque colonne, au point de sortie. Le passage du liquide dans chaque réacteur de calcaire a été assuré par une seconde pompe ajustable ( $P_2$ ) de marque Dos.Stenner selon une boucle de recirculation suivant le sens des aiguilles d'une montre. La fréquence de recirculation de l'eau dans tout le système a été ajustée à l'aide de cette pompe.

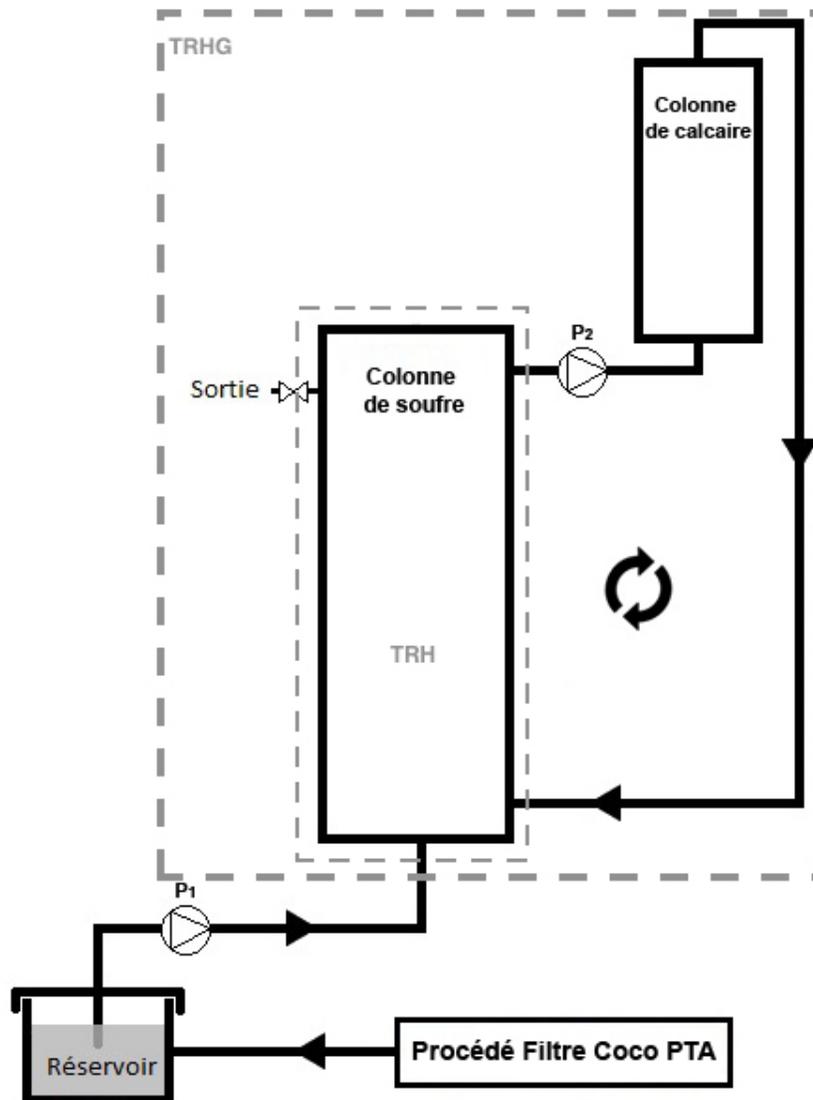


Figure 3-7 Principe de fonctionnement en mode continu des bioréacteurs pilotes de dénitrification installés à la SEB

Le taux de recirculation en question a été calculé en fonction du volume de liquide circulant dans tout le système (colonne de soufre de type G et colonne de calcaire de type M) et selon un TRH global noté  $TRH_G$ . Les taux de recirculation appliqués durant les essais de dénitrification réalisés à la SEB ont été fixés à 3 et à 5 fois/jour traduisant des  $TRH_G$  de 8,0 et de 4,8 h, respectivement. Le débit des pompes  $P_2$  a été ajusté à 18 puis à 29 mL/min, respectivement.

Selon la configuration testée ([Figure 3-7](#)) dans laquelle le soufre et le calcaire ont été séparés et placés chacun dans une colonne à part, il a été important de faire la distinction entre le TRH et le  $TRH_G$  dans ce cas de figure. Réellement, un seul temps de rétention hydraulique nous importe durant ce projet de recherche, il s'agit du temps de séjour d'une goutte d'affluent dans la colonne contenant le soufre où la réaction de dénitrification autotrophe a véritablement lieu. Il est important de noter que le  $TRH_G$  n'affecte pas le TRH réel du système de dénitrification. Cependant, pour affirmer convenablement cette hypothèse, il serait nécessaire d'établir un modèle empirique mettant en évidence les effets des différents temps de rétention engendrés selon cette configuration.

Pouvant fonctionner avec de plus faibles volumes, les autres colonnes de type P ont été laissées en place dans notre laboratoire de l'INRS-ETE et l'équivalent de quatre chaudières de 20 L d'eau nitrifiée (affluent) ont été transportées chaque semaine depuis Rivière-du-Loup (Qc, Canada). L'alimentation des colonnes de type P a été assurée à l'aide de pompes péristaltiques Masterflex L/S 100 RPM (modèle 07528-30) fonctionnant avec des tubes Masterflex en silicone de calibre 14 et permettant de travailler avec de plus faibles débits. Le principe de fonctionnement de ces colonnes en mode continu est décrit à la [Figure 3-8](#).

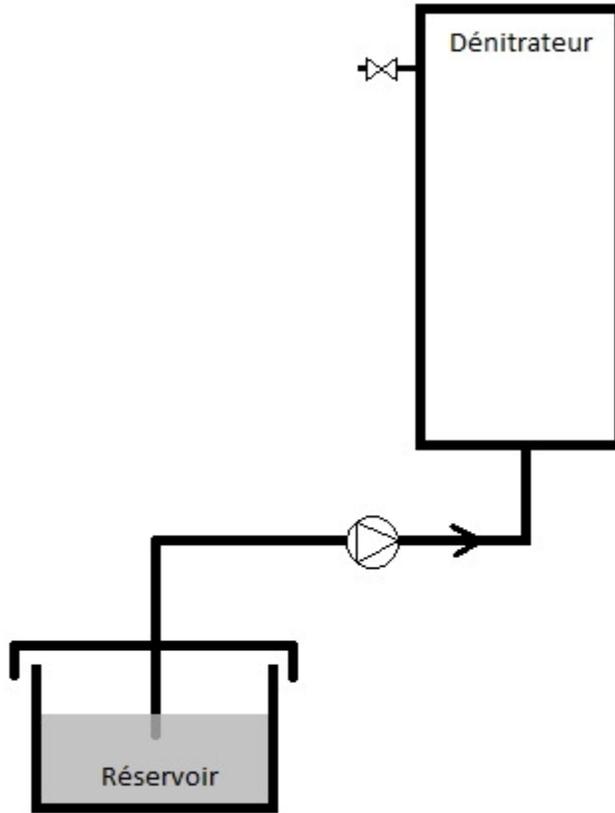


Figure 3–8 Configuration d'une colonne de type P en mode continu

Au cours de ce projet de recherche, l'influence de différents paramètres tels que le temps de rétention hydraulique (TRH), le ratio soufre/calcaire, la configuration des colonnes de soufre et de calcaire (séparée, mélangée ou en couches), ainsi que l'influence de la concentration en nitrates sur les performances de dénitrification des eaux usées du système développé ont été étudiées.

### **3.4.2 Détermination du temps de rétention hydraulique (TRH) optimal**

Les expériences menées à la SEB ont fait l'objet d'une étude pour la détermination du temps de rétention hydraulique (TRH) optimal. Le TRH a été défini comme étant le rapport entre le volume du liquide dans le support et le débit d'alimentation. En suivant la configuration du système de dénitrification décrite à la [Figure 3-8](#), dans lequel le soufre et le calcaire ont été placés chacun dans une colonne, différents TRH compris entre 0,5 h et 11 h ont été testés lors de quatre séries de tests. Les essais d'optimisation ont débuté par des TRH longs afin d'acclimater le système au mode continu. Au début des essais, les bioréacteurs pilotes ont fonctionné en parallèle et de manière identique avec le même TRH selon une série d'essais successifs réalisés avec un TRH de 11 h, puis de 8,0 h et finalement de 5,5 h (série 1), permettant de récolter des données en 4 réplicats. Au fur et à mesure que l'efficacité de dénitrification s'est améliorée dans les quatre bioréacteurs, les TRH ont été diminués progressivement de 5,0; 4,0; 3,0 à 2,0 h (série 2), ensuite de 3,0; 2,5; 2,0 à 1,5 h (série 3) et finalement, de 1,2; 1,0; 0,7 à 0,5 h (série 4) où chaque bioréacteur de dénitrification lui a été affecté un TRH. Durant les deux premières séries de TRH, le TRH<sub>G</sub> a été fixé à 8,0 h, puis diminué à 4,8 h pour les deux séries restantes de TRH. Chaque essai a généralement duré deux semaines.

Sachant que le volume du liquide dans le média (10 kg de soufre) correspond à environ 3,4 L, les débits d'alimentation des colonnes de type G ont été ajustés au moyen des pompes P<sub>1</sub> en fonction des TRH appliqués. Les débits en question, ainsi que les TRH correspondants sont résumés au [Tableau 3-6](#).

**Tableau 3-6** Résumé des TRH (dans la colonne de soufre) et débits appliqués pour la détermination du TRH optimal

<b>TRH (h)</b>	<b>11</b>	<b>8</b>	<b>5,5</b>	<b>5</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>2,5</b>	<b>2</b>	<b>1,5</b>	<b>1,2</b>	<b>1</b>	<b>0,7</b>	<b>0,5</b>
Débits (mL/min)	5,20	7,10	10,3	11,3	14,2	18,9	22,7	28,3	37,8	47,2	56,7	81,0	113

### 3.4.3 Étude de la configuration soufre/calcaire

#### 3.4.3.1 Rapport soufre/calcaire optimal

La détermination du rapport optimal soufre/calcaire (S/C) a été réalisée dans les colonnes de type P. N'ayant pas de colonnes supplémentaires pour disposer le calcaire séparé du soufre, les deux matériaux ont été mélangés dans une même colonne dans des proportions différentes afin de faire varier le rapport S/C. Par conséquent, les essais relatifs à l'optimisation du rapport S/C ont eu lieu selon une configuration S/C mélangée.

Les rapports S/C étudiés sont présentés en pourcentage massique de soufre et de calcaire noté %S - %C au [Tableau 3-7](#). La quantité finale de média, incluant les deux matériaux, a été fixée à 460 g pour chaque test. Afin d'établir l'effet du calcaire sur l'efficacité de dénitrification, une colonne a été remplie seulement de soufre. La [Figure 3-9](#) illustre les colonnes de type P avec les différentes proportions S/C employées. Ces essais ont été réalisés en fixant le débit d'alimentation au TRH optimal défini précédemment afin de vérifier la concordance des résultats obtenus avec les bioréacteurs pilotes installés à la SEB.

Les volumes et les débits appliqués sont également présentés au [Tableau 3-7](#). Au cours de cette période qui a duré deux semaines, des mesures quotidiennes du pH, de l'alcalinité et des nitrites-nitrates ont été réalisées afin de suivre l'évolution du système de dénitrification.

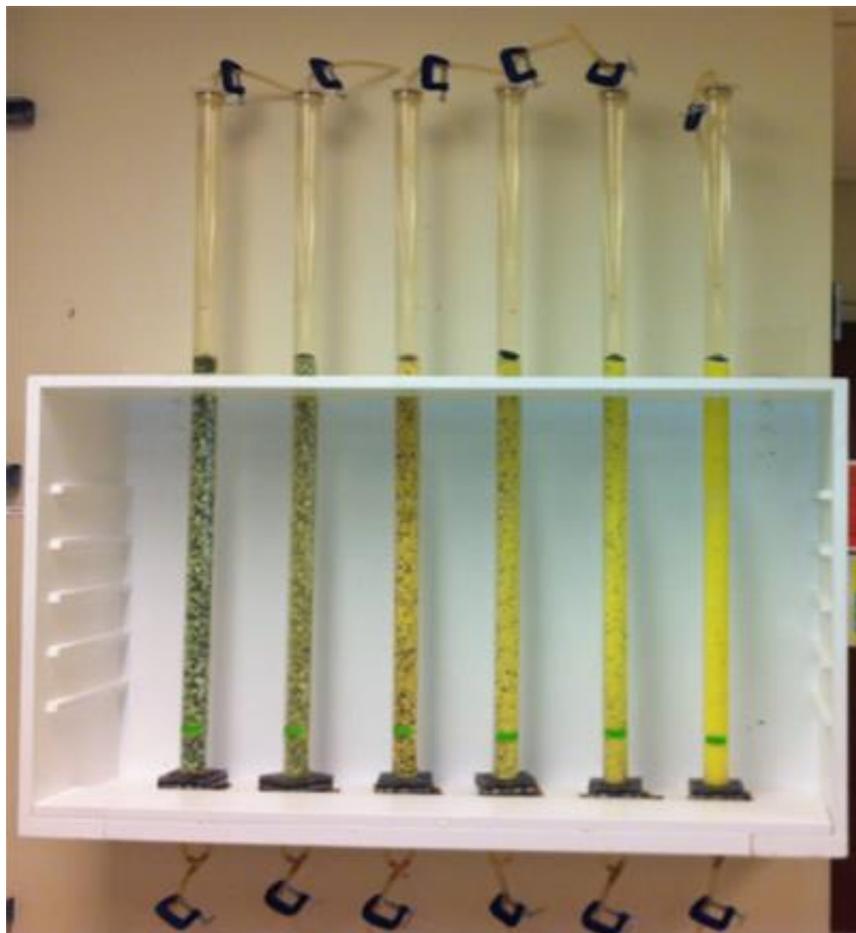


Figure 3–9 Colonnes de type P en configuration mélangée avec différents rapports S/C

Tableau 3-7 Proportions massiques soufre/calcaire étudiées avec la configuration mélangée avec un TRH fixé à 1,5 h (TRH optimal)

Rapport massique S/C	Masse soufre (g)	Masse calcaire (g)	% S - % C (massique)	Volume du liquide dans le média (mL)	Débit (mL/min)
Témoin (sans calcaire)	460	0,00	100 - 0	146	1,2
9/1	414	46,0	90 - 10	138	1,2
4/1	368	92,0	80 - 20	131	1,1
7/3	322	138	70 - 30	124	1,0
3/2	276	184	60 - 40	116	1,0
1/1	230	230	50 - 50	109	0,9

### 3.4.3.2 Configuration soufre/calcaire optimale

L'objectif principal de cette section est de déterminer la meilleure configuration soufre/calcaire pour le système de dénitrification développé au cours de ce projet de recherche. Suite à la détermination du rapport S/C optimal, des tests supplémentaires avec les bioréacteurs pilotes installés à la SEB ont été conduits en employant des quantités égales de soufre et de calcaire selon différentes configurations ([Figure 3-10](#)). En effet, différentes configurations ont été étudiées : soufre et calcaire séparés, c'est-à-dire chacun dans une colonne, soufre et calcaire mélangés dans une même colonne et finalement soufre et calcaire disposés en couches d'environ 20 cm d'épaisseur (3 couches de soufre alternées avec 2 couches de calcaire) dans une même colonne.

En respectant le poids total du solide (10 kg) que peuvent contenir ces colonnes, 5 kg de soufre et 5 kg de calcaire ont été introduits dans chaque colonne. Dans le but d'accélérer le processus de développement de la microflore, les colonnes ont été inoculées en ajoutant 150 g de soufre et 150 g de calcaire inoculés, provenant des essais précédents. Le principe de fonctionnement d'un bioréacteur en configuration séparée est le même que celui présenté à la [Figure 3-7](#), tandis que le principe de fonctionnement des bioréacteurs en configuration mélangée ou en couches est identique à celui décrit à la [Figure 3-8](#).

L'alimentation de ces colonnes en eau nitrifiée a directement débuté en mode continu avec un TRH fixé à 4,0 h pour une durée d'une semaine afin d'assurer une acclimatation progressive des bactéries. Ensuite, les essais se sont déroulés avec le TRH optimal (1,5 h) défini précédemment. Durant les 44 jours de suivi, un échantillonnage a été réalisé avec une fréquence de trois fois par semaine en se limitant aux mesures des NO<sub>x</sub>, de l'alcalinité et du pH. Le [Tableau 3-8](#) résume les débits appliqués aux colonnes de dénitrification pour la détermination de la configuration S/C optimale.

**Tableau 3-8 Débits appliqués (mL/min) pour les trois configurations soufre/calcaire testées**

Type de configuration étudiée	Débits appliqués (mL/min)	
	TRH = 4,0 h	TRH = 1,5 h
Configuration séparée	6,0	18
Configuration mélangée	10	27
Configuration en couches	10	27



**Figure 3-10 Fonctionnement des bioréacteurs pilotes en mode continu, au TRH optimal (1,5 h) et selon trois configurations différentes: (1) séparée, (2) mélangée et (3) en couches superposées**

### **3.4.4 Effet de la concentration initiale en nitrates**

L'étude de l'influence de la concentration initiale en nitrates a été menée avec les colonnes de type P en configuration mélangée. Les essais ont été réalisés avec une eau nitrifiée issue du procédé d'épuration Filtre Coco PTA et transportée chaque semaine de la SEB à notre laboratoire. Les concentrations en nitrates testées sont de 10, 20, 30, 40, 50 et 60 mg NO<sub>3</sub>-N/L. Quand la concentration en nitrates dans l'affluent provenant de la SEB est inférieure aux concentrations visées par cette étude, l'eau nitrifiée est dopée avec du nitrate de potassium

(KNO<sub>3</sub>) pour atteindre les concentrations ciblées. Dans le cas contraire, il est parfois arrivé qu'une dilution de l'affluent soit effectuée.

Afin d'assurer un démarrage efficace du système de dénitrification, les colonnes ont été remplies avec un média (mélange de soufre et de calcaire) provenant de la colonne en configuration mélangée employée au cours des précédents essais et, par conséquent, déjà inoculé. De ce fait, l'équivalent de 3,5 kg de l'ancien média a été récolté, égoutté puis séché à température ambiante sous une hotte afin d'enlever l'excédent d'eau. Ensuite, environ 460 g de solide mixte formé de soufre et de calcaire, ont ainsi été récupérés et utilisés pour le garnissage de chacune des colonnes. Ce mélange de matériaux a été considéré afin de contenir des quantités égales de soufre et de calcaire (ratio massique S/C égal à 1). La [Figure 3-11](#) montre les six colonnes de type P en configuration mélangée en fonction des différentes teneurs en nitrates testées.



**Figure 3–11** Colonnes de type P en configuration mélangée avec différentes concentrations initiales en nitrates (10, 20, 30, 40, 50 et 60 mg NO<sub>3</sub>-N/L)

En faisant varier seulement les concentrations initiales en nitrates dans l'affluent, les colonnes ont donc été continuellement en opération avec un TRH de 1,5 h, correspondant à un débit d'alimentation d'environ 1 mL/min. Avec de telles concentrations initiales, les taux de charge volumique ont finalement été variés de 160 à 960 g NO<sub>3</sub>-N/m<sup>3</sup>.jr. L'étude de l'effet de la concentration initiale en nitrates a été réalisée essentiellement en suivant le pH, l'alcalinité et la concentration en NO<sub>x</sub> sur une base régulière de trois par semaine durant trois semaines.

### **3.5 Démonstration des performances du procédé de dénitrification autotrophe à l'échelle pré-commerciale**

Les essais d'optimisation des conditions opératoires (ratio S/C, configuration des matériaux, TRH, concentration en nitrates) ont mis en évidence les performances de ce procédé de dénitrification pour traiter efficacement les eaux usées issues du Filtre Coco PTA. Cependant, jusqu'ici, tous les essais ont été réalisés dans des conditions idéales avec un débit d'alimentation constant et à température ambiante.

L'évaluation des performances du procédé de dénitrification autotrophe à l'échelle pré-commerciale a été réalisée en construisant une unité pilote installée en aval du procédé Filtre Coco PTA qui opère dans des conditions réelles de traitement des eaux usées en provenance d'une résidence isolée de trois chambres à coucher générant environ 1 500 L/jr d'EUD.

#### **3.5.1 Dimensionnement du bioréacteur de dénitrification autotrophe**

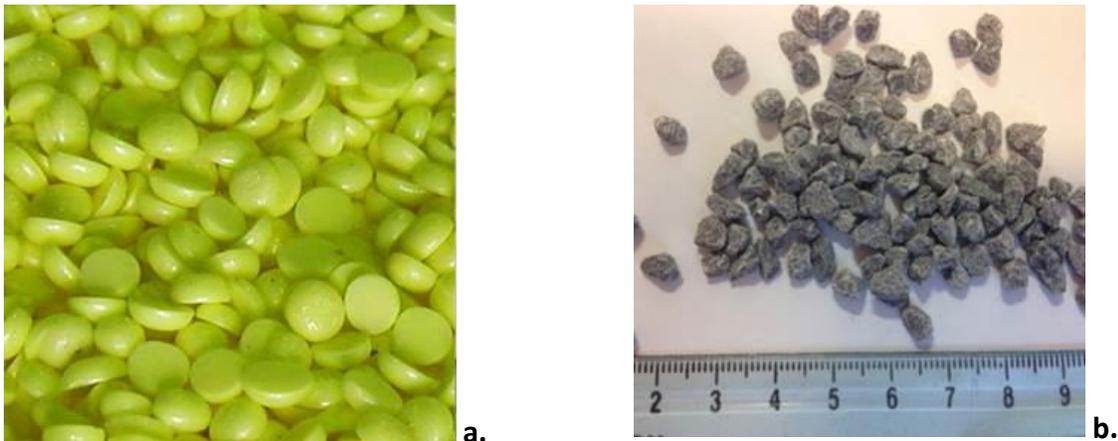
Pour procéder au dimensionnement du bioréacteur de dénitrification autotrophe (BDA) à l'échelle pré-commerciale, il a été impératif d'avoir en notre possession certains renseignements relatifs aux caractéristiques physiques (porosité, densité, granulométrie, etc.) des nouveaux matériaux utilisés pour le remplissage du bioréacteur avant de débiter les essais.

##### **3.5.1.1 Matériaux utilisés pour le remplissage du BDA**

L'approvisionnement en soufre élémentaire a été effectué par la compagnie Quadra Chemical Ltd. (Vaudreuil-Dorion, Québec, Canada), représentante et distributrice des produits de Tiger-Sul (Calgary, Alberta, Canada). Ce produit a été fourni sous forme de pastilles ayant un diamètre de 2,6 mm dans des sacs de 25 kg pour un prix de 1,72 \$/kg (Figure 3-12a).

Le calcaire granulaire (taille des particules entre 2,5 et 5,0 mm), quant à lui, a été fourni en vrac par la compagnie Graymont Portneuf (Saint-Marc-des-Carières, Québec, Canada) à un prix de 0,58 \$/kg. La nouvelle granulométrie du calcaire a permis de minimiser les pertes de produit causées par le tamisage. Comme indiqué au [Tableau 3-9](#) qui présente les différentes fractions granulométriques du calcaire, la fraction des particules de taille supérieure à 2,0 mm constitue près de 99% ([Figure 3-12b](#)).

Des tests, réalisés à l'échelle laboratoire, ont permis d'estimer la densité réelle du soufre élémentaire et du calcaire granulaire à 1,61 g/cm<sup>3</sup> et 2,45 g/cm<sup>3</sup>, respectivement. Leurs porosités respectives ont également été évaluées à 27 et 43%. Du gravier ayant une densité réelle de 2,35 g/cm<sup>3</sup> et une porosité de 44% a également été employé pour pouvoir supporter le poids du soufre et du calcaire formant le garnissage.



**Figure 3-12** Soufre élémentaire en forme de pastilles (2,6 mm) : (a) et Calcaire granulaire (2,5 - 5 mm) : (b)

**Tableau 3-9** Fractions granulométriques du calcaire

Fractions granulométriques (mm)	$x \geq 4,0$	$3,18 < x < 4,0$	$2,0 < x < 3,18$	$1,7 < x < 2,0$	$1,0 < x < 1,7$	$x < 1,0$
Répartition massique (%)	30	59	11	0,05	0,05	0,90

### 3.5.1.2 Critères de design du BDA

Certains critères tels que la capacité journalière de traitement, la hauteur et le diamètre du bioréacteur ont été imposés par la compagnie PTA pour la construction du pilote pré-commercial. Suivant ces critères et les résultats obtenus au cours des expériences réalisées à l'échelle laboratoire et sur le terrain, le pilote pré-commercial a pu être dimensionné (Tableau 3-10). En effet, l'optimisation des paramètres de fonctionnement d'un dénitrificateur à base de soufre et de calcaire ainsi que les caractéristiques des nouveaux matériaux décrites à la Section 3.5.1.1 ont permis d'établir un calcul détaillé pour le dimensionnement du BDA.

**Tableau 3-10** Design du pilote pré-commercial

Design du bioréacteur de dénitrification autotrophe	Valeur
Volume d'eau à traiter (L/j)	1 500
Volume total du BDA (L)	390
Hauteur totale du BDA (cm)	129
Diamètre du BDA (cm)	62
Masse de soufre (kg)	153
Masse de calcaire (kg)	177
Ratio massique S/C	0,9
Ratio volumique S/C	1,3
Masse de gravier (kg)	40
Temps de rétention hydraulique (h)	1,4
Taux moyen d'élimination des nitrates (g NO <sub>x</sub> -N/jr)	44

### 3.5.2 Construction et installation du pilote pré-commercial

L'installation du pilote pré-commercial a débuté le 2 juillet 2014 à l'extérieur de la SEB et le système de dénitrification a été mis en fonction le 9 juillet 2014. L'installation du pilote a nécessité l'emploi d'une excavatrice puisque l'ensemble de ses composantes ont dû être placées sous terre, c'est-à-dire au même niveau que la fosse septique et que le procédé d'épuration biologique de PTA. Comme l'indique la Figure 3-13, l'installation en question est placée juste à la suite du procédé Filtre Coco PTA et est composée : 1) d'un bassin d'égalisation

pour l'affluent du système de dénitrification, 2) d'un bioréacteur de dénitrification autotrophe sur soufre et 3) d'un caisson d'échantillonnage.

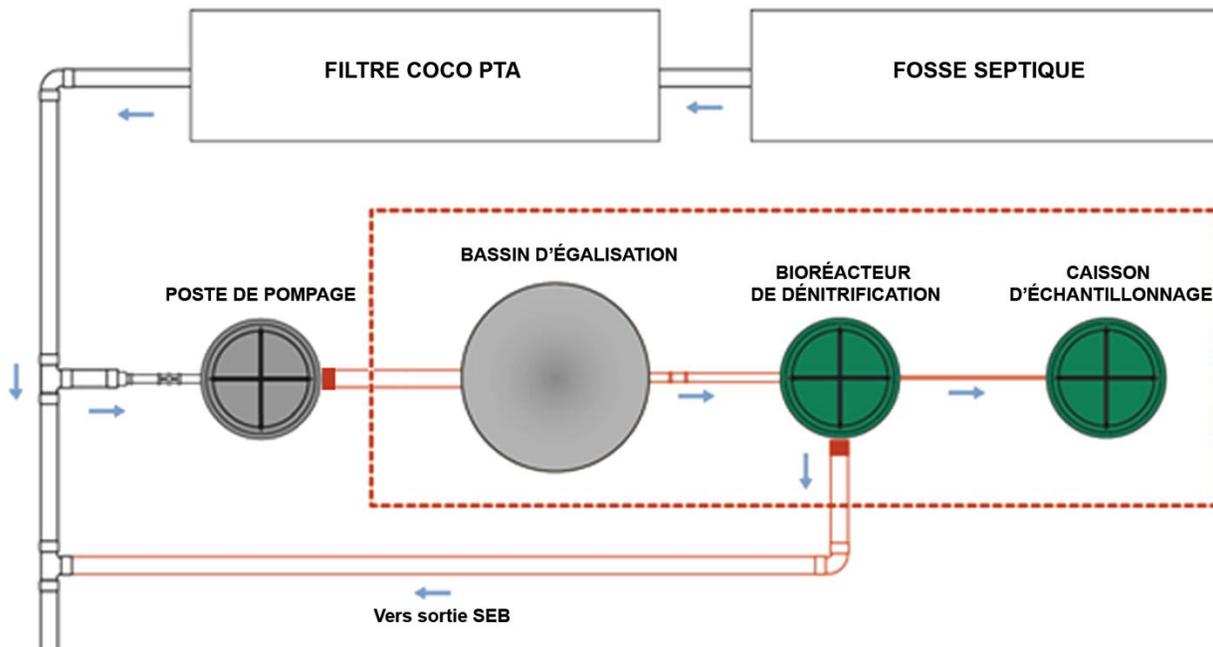


Figure 3–13 Vue générale de la disposition du pilote pré-commercial

Sachant que les essais avec le BDA seront poursuivis durant l'hiver, le bassin d'égalisation, le bioréacteur de dénitrification autotrophe ainsi que les tuyaux d'alimentation ont été isolés au moment de leurs installations afin d'éviter que le système ne gèle.

Une coupe verticale du pilote pré-commercial est présentée à la [Figure 3-14](#) permettant de mieux situer les différentes composantes. Une valve guillotine a été placée au fond du réservoir de béton afin d'effectuer des tests de colmatage du garnissage et dans l'éventualité d'un passage à une alimentation à la demande. Le BDA a été rempli à l'aide de 153 kg de soufre et de 177 kg de calcaire en alternant les sacs afin de garantir autant que possible un mélange homogène des matériaux sur une hauteur totale de 84 cm. Le gravier introduit au fond du

bioréacteur sur une hauteur de 10 cm a permis d'élever le niveau de la zone d'alimentation au niveau du garnissage.

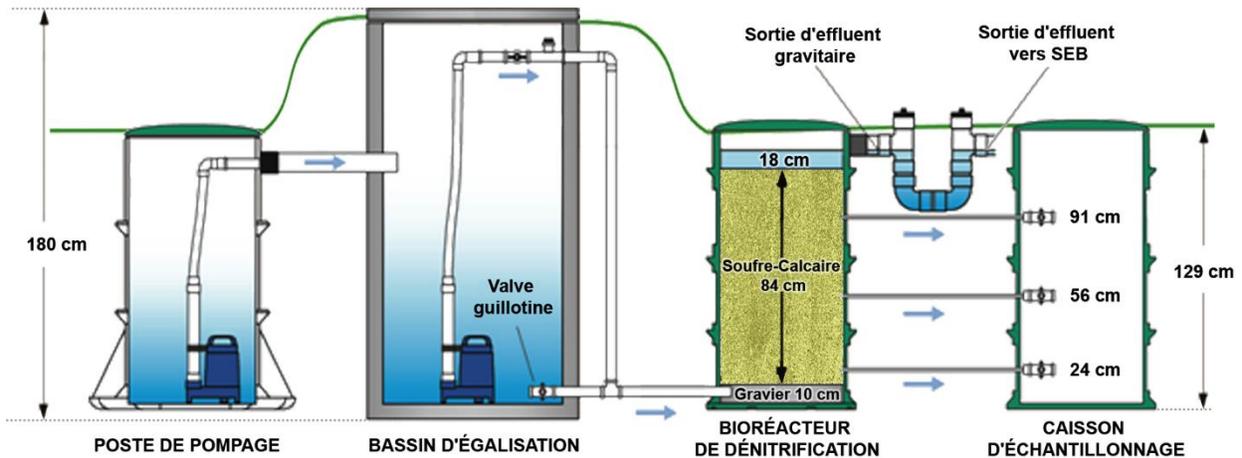


Figure 3–14 Coupe verticale du pilote pré-commercial

Le caisson d'échantillonnage a été installé de façon à faciliter l'échantillonnage de l'effluent à trois hauteurs différentes (24, 56 et 91 cm). Cette étape permet de suivre l'évolution de la dénitrification dans le lit bactérien. L'effluent du BDA est évacué par le trop-plein avec une sortie gravitaire de 10 cm vers la SEB afin d'éviter tout risque de débordement à cause du volume de sécurité dans le bioréacteur restant limité (18 cm). Le bassin d'égalisation est un réservoir en béton d'une capacité de 1 145 L ayant un diamètre de 90 cm et une hauteur de 180 cm. Il a été muni d'une pompe ABS 0,4 HP reliée à un module de contrôle logique pour permettre l'échantillonnage de l'effluent au moment désiré.

### 3.5.3 Alimentation et plan de suivi du pilote pré-commercial

L'effluent du procédé Filtre Coco PTA a été acheminé vers le bassin d'égalisation selon le mode d'alimentation « 35% – 25% – 40% » qui simule le pourcentage de rejet d'eau usée dans une résidence isolée réparti durant la journée.

Par conséquent, pour un débit de 1 000 L/jr, le volume d'EUD a été réparti selon :

- 350 L entre 0 h et 3 h (18 batch);
- 250 L entre 5 h et 8 h (13 batch);
- 400 L entre 11 h et 14 h (20 batch).

Pour cela, le BDA pilote a été opéré avec un débit constant pendant les 16 premières heures de la journée (aucune alimentation du BDA entre 16 h et minuit). En tenant compte de la période où le BDA n'est plus alimenté (8 h/jr), le TRH du BDA a été fixé à 1,4 h ( $85 \text{ L} / (1\,000 \text{ L} / 16 \text{ h} = 1,4 \text{ h})$ ). Le débit d'eau à traiter a été de 42 L/h avec un TRH moyen de 2 h ([Annexe 1](#)) pendant les 70 premiers jours de fonctionnement.

En suivant le même mode d'alimentation que précédemment (35% - 25% - 40%), le débit quotidien de traitement a ensuite été augmenté à 1 500 L/jr et le volume d'EUD alimentant le bassin d'égalisation a été réparti selon :

- 525 L entre 0 h et 3 h (26 batch);
- 375 L entre 5 h et 8 h (19 batch);
- 600 L entre 11 h et 14 h (30 batch).

Avec un débit d'eau à traiter de 62,5 L/h, le BDA pilote a été opéré en continu durant 24 h avec un TRH moyen de 1,4 h ([Annexe 2](#)).

Les temps de marche du module logique LOGO, qui contrôle l'alimentation du bassin d'égalisation, sont ajustés selon 51 ou 75 cuvées durant une journée pour un débit de 1 000 ou 1 500 L/jr respectivement. Entre 14 h et minuit, le bassin d'égalisation n'est plus alimenté.

En considérant le volume du vide dans le garnissage (85 L), l'alimentation du BDA a été dosée avec l'ajout d'un volume de 42,5 L toutes les 42 min (correspondant à la moitié du TRH visé à savoir 1,4 h). Au début des essais, la durée de la dose a été fixée à 15 min parce qu'avec un débit très faible le développement rapide des bactéries anaérobies est favorisé (Langouet, 2000). Ensuite, la durée de dose a été diminuée à 30 sec, puis augmentée à nouveau à 2 min. Le [Tableau 3-11](#) résume les intensités de dose testées au cours de fonctionnement du pilote. Il est important de noter que les paramètres de TRH, de volume de dose et de la fréquence de dose ont été maintenus fixes aux trois situations considérées.

Un ruban à mesurer a été installé sur la paroi interne du réservoir de béton afin de procéder à la validation hebdomadaire du débit de la pompe d'alimentation en observant la diminution de la hauteur du liquide dans le bassin d'égalisation lors d'une dose. La mesure de la perte de charge dans le BDA a été réalisée initialement puis mensuellement en suivant la vitesse d'écoulement de l'eau du bassin d'égalisation vers le BDA jusqu'à une vitesse constante où le niveau d'eau dans le bassin est en équilibre avec celui dans le bioréacteur.

L'échantillonnage de l'affluent et de l'effluent du BDA a été effectué quotidiennement aux 5 jours de la semaine durant les 50 premiers jours de fonctionnement. Par la suite, la fréquence d'échantillonnage a été réduite à trois prélèvements par semaine. Pendant toute la durée de suivi de l'efficacité de dénitrification du BDA (de juillet 2014 à mars 2015), la caractérisation de l'affluent et de l'effluent du BDA a concerné la mesure du pH, de l'alcalinité, de la dureté, de la teneur en  $\text{NO}_x$ , en  $\text{N}_{\text{sol}}$ , en COD, en  $\text{P}_{\text{sol}}$  en sulfates et en MES. Une mesure hebdomadaire de la teneur en oxygène dissous, de la température et du POR a été réalisée au niveau du BDA, du bassin d'égalisation et du poste de pompage de l'effluent provenant du procédé Filtre Coco PTA. Un échantillonnage hebdomadaire de l'effluent au niveau des trois hauteurs du lit bactérien a été réalisé pendant une période de suivi ayant duré dix semaines.

**Tableau 3-11** Caractéristiques de fonctionnement du pilote

Caractéristiques	Situation 0	Situation 1	Situation 2
Date d'entrée en vigueur	09-07-2014	18-08-2014	18-09-2014
TRH appliqué (h)	1,4	1,4	1,4
Volume de vide du lit (L)	85	85	85
Fréquence des doses (dose/x min)	1 dose/ 42 min	1 dose/ 42 min	1 dose/ 42 min
Volume par dose (L)	42,5	42,5	42,5
Temps de dose (min)	15	0,5	2,0
Intensité de dose (L/min)	2,8	85	21

### 3.6 Mesures analytiques

Une série de paramètres (pH, alcalinité, oxygène dissous (OD), potentiel d'oxydo-réduction (POR), sulfates, phosphore, etc.) a été suivi tout au long de ce projet de recherche afin de caractériser :

1. les effluents issus des procédés de traitement biologique de PTA installés à la SEB, considérés dans ce cas comme « affluents »;
2. les effluents issus des colonnes de dénitrification, appelés simplement « effluents ».

#### 3.6.1 Détermination de la densité et de la porosité

Certains renseignements relatifs aux caractéristiques physiques d'un matériau granulaire, tels que sa porosité, sa densité apparente et sa densité réelle (ou spécifique) n'ont pas été précisés sur la fiche technique du matériau utilisé. Par conséquent, ces grandeurs ont été déterminées au cours de quelques essais au laboratoire, en s'aidant de leurs définitions évoquées par Baize (2000). La détermination de ces grandeurs a été réalisée sur des échantillons séchés à 105°C afin d'éviter toute dérive dans le calcul causée par un éventuel gonflement ou un retrait du matériau.

Baize (2000) a défini la densité apparente ( $D_a$ ), la densité réelle ou densité de solide ( $D_s$ ) et la porosité ( $P$ ) selon les [Équations 3-1 à 3-3](#).

Équation 3-1 Détermination de la densité apparente

$$D_a = \frac{\text{masse de l'échantillon (g)}}{\text{masse d'un volume d'eau égal au volume enveloppe de l'échantillon (g)}}$$

Équation 3-2 Détermination de la densité de solide

$$D_s = \frac{\text{masse de l'échantillon sec (g)}}{\text{masse d'un volume d'eau égal au volume de solide (V_s) de l'échantillon sec (g)}}$$

Équation 3-3 Détermination de la porosité

$$P = 1 - \frac{D_a}{D_s}$$

### 3.6.2 Détermination du pH et de l'alcalinité

Le pH et l'alcalinité sont des paramètres primordiaux qui permettent de suivre l'évolution quotidienne de la réaction de dénitrification et de s'assurer que les conditions sont optimales pour la prolifération et la survie des bactéries. La mesure du pH a été réalisée à l'aide d'un pH-mètre *Accumet Research* (modèle *AR 25 dual Channel pH/Ion meter* de *Fisher Scientific*, Nepean, ON, Canada), équipé d'une électrode pH de type Ag/AgCl (*Cole-Parmer Instruments*, Anjou, Qc, Canada). L'électrode pH a été calibrée à chaque utilisation à l'aide de solutions tampons certifiées entre 4 et 10.

L'alcalinité d'un effluent représente sa capacité à avoir un pH stable en résistant aux influences de production ou d'ajout d'acides. Elle est généralement exprimée pour traduire la présence des ions hydroxydes, hydrogénocarbonates et carbonates. En suivant la procédure décrite dans

la méthode 2320B (APHA *et al.*, 1999), l'alcalinité a été déterminée à l'aide d'un titrage volumétrique en présence d'une solution d'acide sulfurique (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) à 0,02 N jusqu'à l'obtention d'un pH final de 4,5. Afin de ne pas altérer l'échantillon à analyser, ce dernier ne doit être ni filtré, ni dilué. L'application de cette méthode est valable pour les effluents avec une alcalinité n'excédant pas 1 000 mg/L CaCO<sub>3</sub>. La solution d'acide sulfurique 0,02 N doit être étalonnée à l'aide d'une solution de carbonate de sodium à 0,04 N. L'alcalinité est exprimée en mg CaCO<sub>3</sub>/L et est calculée selon l'Équation 3-4.

**Équation 3-4 Détermination de l'alcalinité**

$$\text{Alcalinité} = \frac{V \times N \times 50\,000}{V_{\text{échantillon}}}$$

Où :

*V* : volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> utilisé, exprimé en mL.

*N* : normalité de la solution de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, exprimée en N.

50 000 : poids d'un équivalent de CaCO<sub>3</sub>, exprimé en mg.

*V<sub>échantillon</sub>* : volume de l'échantillon utilisé, exprimé en mL.

### 3.6.3 Oxygène dissous et potentiel d'oxydoréduction

La mesure de l'oxygène dissous (OD) a été réalisée en plongeant directement la sonde d'un oxymètre à la sortie des colonnes de soufre ou dans le réservoir de l'affluent à traiter. Le modèle de l'oxymètre portatif utilisé est le modèle *Oakton Waterproof DO 300 Meter* et il est équipé d'une sonde galvanique OD provenant de la compagnie *Oakton Instruments* (Vermon Hills, États-Unis).

La mesure du potentiel d'oxydo-réduction (POR) a été réalisée immédiatement après le prélèvement et au même moment que la mesure du pH. Cette mesure de POR a été effectuée

au moyen d'une électrode à POR de type Platinum band provenant de la compagnie *Cole-Parmer Instruments* (Anjou, Qc, Canada), branchée au même pH-mètre que celui servant à la mesure du pH. La calibration de l'électrode POR a été vérifiée à chaque série d'analyse à l'aide d'une solution certifiée à 470 mV de Hanna Instruments.

#### **3.6.4 Dureté, sulfates et phosphore**

La mesure de la dureté constitue la somme des concentrations individuelles des cations calcium et magnésium exprimées en équivalents de  $\text{CaCO}_3$ . Par conséquent, elle a été déterminée à partir de la teneur en calcium et en magnésium présents dans l'affluent ou dans l'effluent. L'analyse de ces deux éléments a été réalisée par spectrophotométrie d'émission atomique par plasma à couplage inductif ICP-AES (Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectroscopy, modèle Vista, marque *Varian*, Mississauga, Canada). Avant l'analyse par ICP-AES, les échantillons ont préalablement été filtrés sur une membrane de  $1,5 \mu\text{m}$  (lorsque présence de MES), puis sur une membrane en polycarbonate de porosité  $0,4 \mu\text{m}$  (*Osmonics Inc.*, Minnetonka, MN, États-Unis) puis conservés dans de l'acide nitrique (5%, v/v) et réfrigérés à  $4^\circ\text{C}$  jusqu'au moment de l'analyse. Des contrôles de qualité ont été préparés à partir de solutions standards certifiées (*Standard PlasmaCal multi-élément*, numéro de catalogue 900-Q30-100, SCP Science, Baie d'Urfé, Canada) et analysés tous les 15-20 échantillons afin de s'assurer de la conformité des mesures et de mettre en évidence toute dérive de l'appareil analytique.

Le calcul de la dureté, exprimée en  $\text{mg CaCO}_3 \text{ éq/L}$ , est réalisé à partir des concentrations en calcium et en magnésium selon l'[Équation 3-5](#) (Blais, 2011).

**Équation 3-5 Détermination de la dureté**

$$\text{Dureté} = 2,497 \times [\text{Ca}^{2+}] + 4,118 \times [\text{Mg}^{2+}]$$

Où :

$[\text{Ca}^{2+}]$  : concentration en ions calcium, exprimée en mg/L;

$[\text{Mg}^{2+}]$  : concentration en ions magnésium, exprimée en mg/L.

Le soufre et le phosphore ont également été analysés par ICP-AES afin de déduire respectivement la concentration en ions sulfates ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) et en phosphore total dissous ( $\text{P}_{\text{sol}}$ ).

### **3.6.5 Nitrates/Nitrites**

Dans un premier temps, les échantillons ont été filtrés sur une membrane en polycarbonate ayant une porosité de 0,4  $\mu\text{m}$  et ont été conservés au congélateur à  $-8^\circ\text{C}$  jusqu'au moment de l'analyse.

Le suivi de la concentration en nitrites et en nitrates ( $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_3$  et  $\text{NO}_x$ ) a été réalisé à l'aide d'un autoanalyseur *Technicon* de *Lachat Instruments* (Loveland, CO, États-Unis) selon la méthode QuikChem Method 10-107-04-2-A (Lachat Instruments, 1997) pour des concentrations variant entre 0,02 et 22,6 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$ . Le principe de la méthode est spécifiquement basé sur l'analyse des nitrites. Les nitrates présents dans l'échantillon à analyser sont d'abord réduits en nitrites par le sulfate d'hydrazine en présence de sulfate de cuivre et d'hydroxyde de sodium (milieu alcalin). Par la suite, l'ensemble des nitrites est mis à réagir, en milieu acide (acide phosphorique), avec le réactif coloré, le sulfanilamide, pour donner un composé diazoïque qui, à son tour, réagit avec le dihydrochlorure de N-1-naphthyléthylènediamine (N.E.D). Ce composé soluble a une couleur rose-violet lisible à l'aide d'un spectromètre UV à une longueur d'onde de 520 nm. La concentration en nitrites est proportionnelle à l'absorbance du composé final. Le dosage des nitrites seulement peut être réalisé en remplaçant le sulfate d'hydrazine par de l'eau.

### 3.6.6 Carbone Organique Dissous et Azote Total

L'analyse de l'azote total dissous ( $N_{sol}$ ) et du carbone organique dissous (COD) a été réalisée à l'aide d'un appareil TOC-analyzers (modèle *TOC-VCPH* de la compagnie *Shimadzu Scientific Instruments*, Columbia, MD, États-Unis) par un technicien de laboratoire de l'INRS-ETE. En attendant leur analyse, les échantillons ont également été filtrés puis, conservés au réfrigérateur à 4°C après ajout d'acide sulfurique (0,2% v/v).

### 3.7 Méthodes statistiques

Dans le cadre de ce projet de doctorat, le test paramétrique de Student a été utilisé afin de comparer les valeurs moyennes issues d'essais réalisés dans des conditions différentes afin d'évaluer si l'influence du paramètre variable sur la réponse étudiée est significative ou non. Ce test paramétrique consiste à comparer les valeurs moyennes en déterminant la valeur de Student (valeur «  $t$  ») à partir de l'Équation 3-6 (Coudert, 2013; Mercier, 2000).

Équation 3-6 Estimation de la valeur de Student pour la comparaison de deux valeurs moyennes

$$\frac{\bar{Y}_a - \bar{Y}_b}{SP \sqrt{\frac{1}{n_a} + \frac{1}{n_b}}} \sim t (n_a + n_b - 2)$$

Avec :

$$SP^2 = \frac{\sum_{i=1}^{n_a} (Y_{a,z} - \bar{Y}_a)^2 + \sum_{i=1}^{n_b} (Y_{b,z} - \bar{Y}_b)^2}{n_a + n_b - 2}$$

Où :

$t$  : représente la valeur de Student calculée ;

$\bar{Y}_i$  : représente la moyenne arithmétique des rendements de solubilisation des essais de la série  $i$  ;

$Y_{i,z}$  : représente le rendement de solubilisation de l'essai  $z$  de la série  $i$  ;

$n_i$  : représente le nombre d'essais pour la série  $i$  ( $n=3$ ).

Une fois la valeur de «  $t$  » calculée, cette dernière est comparée à une valeur théorique de Student ( $t_{théorique}$ ) définie pour un degré de liberté égale à  $(n_a + n_b - 2)$  et un indice de confiance de 95%. Dans le cadre de ce projet, les essais ont été réalisés en triplicats et le degré de liberté est par conséquent égal à 4. La valeur théorique de Student correspondante à un degré de liberté de 4 et un indice de confiance de 95% est égale à 2,776 ([Annexe 3](#)).

Ce test paramétrique est basé sur deux hypothèses, à savoir :

$H_0$  : valeur moyenne essai  $a$  = valeur moyenne essai  $b$ ;

$H_a$  : valeur moyenne essai  $a$   $\neq$  valeur moyenne essai  $b$ .

La comparaison de la valeur de  $t$  calculée et de la valeur théorique de  $t$  permet de déterminer si les valeurs moyennes sont significativement différentes ou non :

$t_{calculée} < t_{théorique}$ , cela implique de  $H_0$  est vraie;

$t_{calculée} > t_{théorique}$ , cela implique de  $H_a$  est vraie.

## 4 RÉSULTATS ET DISCUSSION

### 4.1 Caractérisation des effluents issus des procédés d'épuration par voie biologique de PTA

Les essais de dénitrification autotrophe sur soufre et calcaire ont été réalisés sur des eaux usées domestiques provenant des procédés biologiques d'épuration expérimentés à la SEB (procédés Ecoflo® et Filtre Coco PTA).

Le [Tableau 4-1](#) présente les valeurs moyennes ( $\pm$  écarts-types) de différents paramètres caractérisant les effluents issus de certains procédés de traitement biologique de la compagnie PTA et représentant l'affluent de notre procédé de DASC.

**Tableau 4-1** Caractérisation des effluents issus des procédés Filtre Coco PTA (du 29-05-2012 au 03-10- 2014) et Ecoflo® (du 19 -12-2011 au 06-04-2012)

Paramètres	Procédés	
	Filtre Coco PTA	Ecoflo®
pH	7,5 $\pm$ 0,3	7,2 $\pm$ 0,3
OD (mg O <sub>2</sub> /L)	5,5 $\pm$ 0,9	5,3 $\pm$ 0,8
T (°C)	18,5 $\pm$ 1,5	18,6 $\pm$ 1,3
POR (mV)	167 $\pm$ 83	211 $\pm$ 73
Alcalinité (mg/L)	92 $\pm$ 25	155 $\pm$ 33
Dureté (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	122 $\pm$ 19	92 $\pm$ 15
Nitrates (mg NO <sub>3</sub> -N/L)	18,3 $\pm$ 6,5	13,3 $\pm$ 5,2
N <sub>sol</sub> (mg/L)	21,6 $\pm$ 6,5	14,5 $\pm$ 3,8
COD (mg/L)	8,8 $\pm$ 1,1	6,3 $\pm$ 0,9
P <sub>sol</sub> (mg/L)	0,94 $\pm$ 0,24	1,1 $\pm$ 0,36
Sulfates (mg SO <sub>4</sub> -S/L)	55,4 $\pm$ 8,6	41,3 $\pm$ 5,3

Même si le pH des effluents est resté dans des conditions de neutralité (pH 7,2 – 7,5), aspect important pour démarrer une réaction de dénitrification autotrophe sur soufre sans la nécessité de neutraliser au préalable, il demeure primordial de surveiller l'évolution du pH et d'avoir recours à un substrat tampon au cours de la dénitrification.

Les résultats de caractérisation des effluents des deux procédés (Filtre Coco PTA et Ecoflo®) sont quasi-similaires, à l'exception de ceux correspondants à l'alcalinité, la dureté, les teneurs en nitrates et en azote dissous. Cette différence est probablement due à une variation des caractéristiques de l'affluent alimentant ces deux procédés.

Les teneurs en carbone organique dissous (COD) et en DBO<sub>5</sub> (Tableau 1-1) présentes dans l'effluent du Filtre Coco PTA (COD = 8,8 mg/L) sont négligeables en comparaison aux concentrations minimales retrouvées dans les EUM (DBO<sub>5</sub> = 190 mg/L) (Tableau 4-2). Par conséquent, il a été possible d'affirmer que l'affluent de notre procédé de DASC est pauvre en matière organique et qu'avec un rapport C/N inférieur à 3, il est peu probable qu'une réaction de dénitrification hétérotrophe se produise dans le BDA (Rijn *et al.*, 2006).

La teneur en sulfates (55 mg/L) présentes dans les effluents des procédés de PTA est semblable à la concentration maximale (50 mg/L) retrouvée dans les EUD non traitées. Il a donc été prudent de prendre en considération l'effet d'une production de sulfates au cours de la DASC.

Le phosphore total renseigne sur toutes les formes de phosphore présent dans l'eau. Il est soit lié aux matières en suspension, il s'agit alors du phosphore retrouvé dans la matière organique, soit dissous dans l'eau. Quant au phosphore total dissous ou soluble (0,9 – 1,1 mg/L), il est aussi appelé la fraction bio-disponible car il est rapidement absorbé par les plantes. Cette fraction est mesurée à partir d'un échantillon ayant subi une filtration sur une membrane (0,45 µm). La présence du phosphore dans un effluent demeure un atout dans la mesure où il représente un nutriment essentiel au développement de toute sorte de microorganismes (Blais, 2011).

L'azote ammoniacal n'a pas été analysé car les objectifs du projet ont été essentiellement orientés vers le taux d'enlèvement des nitrates. De plus, selon le Tableau 1-1, la teneur en azote ammoniacal dans l'affluent de notre procédé de DASC est relativement faible. Par ailleurs, les nitrites ont été rarement analysés car la réaction de nitratisation est rapide. Selon une étude menée en 1958, il a été démontré qu'à une concentration de 12 µg NO<sub>2</sub>-N/mL, les nitrites sont totalement transformés en nitrates au bout de 90 min au moyen des *Nitrobacter agilis* (Aleem et Alexander, 1958). Cependant, il a été important de surveiller une éventuelle accumulation des nitrites même si les nitrates constituent le produit final de la nitrification.

Le [Tableau 4-2](#) présente une brève caractérisation des eaux usées municipales (Blais, 2011).

**Tableau 4-2** Caractéristiques communes des effluents domestiques non traités

Paramètres	Concentration (mg/L)		
	Minimale	Moyenne	Maximale
Alcalinité (CaCO <sub>3</sub> )	50	100	200
DBO <sub>5</sub>	110	190	350
Matières en suspension (MES)	120	210	400
Carbone organique total (COT)	80	140	260
Azote total (N <sub>tot</sub> -N)	20	40	70
Azote Kjeldahl (NTK-N)	20	40	70
Azote organique (N <sub>org</sub> -N)	8	15	25
Azote ammoniacal (NH <sub>3</sub> -N)	12	25	45
Nitrites (NO <sub>2</sub> -N)	0	0	0
Nitrates (NO <sub>3</sub> -N)	0	0	0
Sulfates	20	30	50
Phosphore total (P <sub>tot</sub> -P)	4	7	12

## 4.2 Développement et acclimatation de la microflore dénitrifiante

Dans un premier temps, le développement des bactéries a été réalisé en présence d'une source soluble de soufre, le thiosulfate (S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>). En effet, une période de 60 jours a été suffisante pour réduire suffisamment la teneur en nitrates dans le milieu de culture préparé et utiliser ce dernier pour inoculer les systèmes de dénitrification étudiés.

Dans un second temps, une série de tests complémentaires a été réalisée à l'échelle laboratoire et à l'obscurité afin d'étudier l'influence de différents milieux de culture (présence d'inoculum ou d'un agent de neutralisation, nature de la source de soufre (soufre élémentaire et/ou thiosulfate)) sur le développement de la biomasse dénitrifiante et d'identifier les conditions les plus favorables en termes de rapidité et d'efficacité en vue d'une application du procédé de DASC à une échelle pré-commerciale. Les [Figures 4-1](#) à [4-3](#) présentent l'évolution des paramètres suivis (pH, teneur résiduelle en NO<sub>x</sub> et alcalinité) pour les différents milieux de culture testés en vue d'améliorer le développement de la microflore bactérienne.

Selon les résultats obtenus concernant l'évolution du pH (Figure 4-1a), il est possible de constater que les profils sont similaires pour les différentes conditions testées en l'absence d'inoculum, excepté pour les essais effectués en présence de soufre et en présence de soufre/thiosulfate. En effet, pour les essais réalisés en présence de soufre et de soufre/thiosulfate, une acidification importante et significative du milieu a été observée après 14 jours ( $\text{pH} < 6,0$ ) (Annexe 4). Cette diminution significative du pH s'explique par le fait que la réduction d'une mole de nitrates produit environ 1,1 moles de protons et entraîne la consommation du bicarbonate, comme l'indique l'Équation 2-5 (Benmoussa, 1997). Pour l'essai réalisé en présence de soufre/thiosulfate, l'acidification du milieu observée est significativement plus importante comparativement aux autres essais ( $t_{4;0,05} > 2,776$ ), ce qui peut être expliqué par le fait que le développement de la biomasse et la réduction des nitrites/nitrates sont plus favorables en présence d'une source soluble de soufre, le thiosulfate. Ces résultats sont en accord avec les observations réalisées par Trouve *et al.* (1998) indiquant que le développement des *Thiobacillus denitrificans* est plus favorable en fonction de la source de soufre disponible :  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-} > \text{S}^0$ .

Pour l'ensemble des essais réalisés en l'absence d'inoculum et en présence de calcaire, le pH est resté stable ( $\text{pH} = 6,0-7,0$ ), mettant en évidence que l'ajout de calcaire permet de stabiliser de manière significative le pH, en neutralisant les protons  $\text{H}^+$  produits (Annexe 4).

Pour les essais réalisés en présence d'inoculum (Figure 4-1b), la diminution du pH observée pour les essais réalisés en présence de soufre et de soufre/thiosulfate/calcaire est significativement plus importante et plus rapide que celle observée pour les essais réalisés en l'absence d'inoculum après 32 jours (Annexe 5). Cette diminution plus importante du pH en présence d'inoculum peut s'expliquer par le fait que les bactéries dénitrifiantes présentes dans l'inoculum ont favorisé le développement de la biomasse bactérienne et, par conséquent, l'efficacité de dénitrification et la production d'ions  $\text{H}^+$ . Dans le cas de l'essai réalisé en présence de soufre/thiosulfate/calcaire, l'ajout de calcaire n'a pas été suffisant pour neutraliser l'acidité produite au cours de la dénitrification qui s'est avérée plus efficace.

Les profils d'évolution des teneurs résiduelles en nitrates ( $\text{mg NO}_x\text{-N/L}$ ) obtenus pour les différents milieux de culture testés en l'absence d'inoculum (Figure 4-2a) mettent en évidence

une dénitrification efficace après 21 jours seulement (rendements d'enlèvement des  $\text{NO}_x \geq 83,7\%$ ) à l'exception des essais réalisés en présence de soufre uniquement. L'absence de dénitrification pour les essais réalisés en présence de soufre uniquement peut être liée au non-développement des bactéries dénitrifiantes dans les premiers sept jours malgré une baisse continue du pH ( $\text{pH} < 5,5$ ) et de l'alcalinité probablement due à l'oxydation du soufre en sulfates en présence d'oxygène. De plus, selon certains auteurs, les performances de dénitrification diminuent en raison de l'accumulation de l'oxyde nitreux observée suite à l'inhibition des enzymes réductases d'oxyde d'azote pour des pH inférieurs à 6,0 (Bergaust *et al.*, 2000; Holt *et al.*, 1994), cela pourrait venir expliquer l'augmentation de la teneur résiduelle en  $\text{NO}_x$  à partir du 7<sup>ième</sup> jour. En outre, les résultats obtenus permettent de mettre en évidence que l'ajout de thiosulfate, source soluble de soufre, améliore de manière significative la cinétique de dénitrification après seulement 4 jours d'exposition et ce, jusqu'au 11<sup>ième</sup> jour. Ces résultats sont en accord avec des observations réalisées par d'autres auteurs. En effet, Trouve *et al.* (1998) ont mis en évidence que les nitrates sont totalement réduits en présence de thiosulfate après 2 jours seulement, alors qu'une période de 15 jours n'est pas suffisante au développement de certaines souches de *Thiobacillus denitrificans* en présence de soufre élémentaire. Cependant, une diminution des performances de dénitrification est observée pour les essais réalisés en présence de soufre/thiosulfate après 14 jours comparativement aux essais réalisés en présence de soufre/calcaire et de soufre/thiosulfate/calcaire. Le ralentissement des performances de dénitrification observé pour l'essai réalisé en présence de soufre/thiosulfate peut être expliqué par l'acidification du milieu ( $\text{pH} < 5,5$ ) après le 8<sup>ième</sup> jour, ayant entraîné une inhibition des enzymes réductases d'oxyde d'azote.

Une dénitrification efficace (rendement de près de 100%) a été observée après seulement 4 jours pour l'essai réalisé en présence de soufre/thiosulfate/calcaire et après 21 jours pour l'ensemble des autres essais réalisés en présence d'inoculum (Figure 4-2 b), à l'exception de celui réalisé avec de l'eau usée uniquement. Ces essais mettent en évidence que l'ajout d'inoculum a une influence significative positive sur les performances de dénitrification après 14 jours pour l'ensemble des conditions opératoires testées (Annexe 4) et, plus particulièrement, pour les essais réalisés en présence de soufre seulement. Cette dénitrification

plus efficace et plus rapide observée en présence d'inoculum permettrait ainsi de réduire la période de développement de la biomasse dénitrifiante. Les essais réalisés en présence de soufre et de soufre/calcaire ont également été plus lents à dénitrifier contrairement aux essais réalisés en présence de thiosulfate.

Les [Figures 4-3a](#) et [4-3b](#) présentent l'évolution de l'alcalinité pour les différentes conditions opératoires testées en l'absence et en présence d'inoculum, respectivement. Selon les résultats obtenus, une diminution de l'alcalinité est observée pour les essais réalisés en présence de soufre, de soufre/thiosulfate et de soufre/thiosulfate/calcaire. Cette diminution de l'alcalinité est expliquée par le fait que la réduction des nitrates par les bactéries autotrophes dénitrifiantes consomme 3,91 g de  $\text{CaCO}_3$  par gramme de nitrates réduits ([Équation 2-6](#)) (Zhang et Lampe, 1999). Une compensation de l'alcalinité consommée doit, par conséquent, être réalisée afin de maintenir une alcalinité stable et de permettre aux bactéries dénitrifiantes de fonctionner dans des conditions favorables. Pour les essais réalisés en présence de soufre/calcaire, il est constaté que l'alcalinité du milieu est restée constante tout au long de la période de développement de la microflore bactérienne. Cependant, pour les essais réalisés en présence de soufre/thiosulfate/calcaire, une diminution de l'alcalinité est observée, mettant en évidence que la quantité de calcaire ajoutée n'était probablement pas suffisante pour compenser la consommation de  $\text{CaCO}_3$  en raison des bonnes performances de dénitrification, améliorées grâce à la présence de thiosulfate. Ces résultats mettent en évidence la nécessité d'ajouter du calcaire comme agent neutralisant pour maintenir l'alcalinité du milieu.

D'après les résultats obtenus et discutés ci-dessus, il est évident que l'essai réalisé en présence d'eau usée, d'inoculum, de soufre, de thiosulfate et de calcaire s'avère être le plus efficace d'un point de vue efficacité de dénitrification (abattement total des  $\text{NO}_x$  en seulement 4 jours). Cependant, le profil de pH correspondant demeure inquiétant dans la mesure où une baisse importante et incontrôlable du pH est à prévoir au-delà de 15 jours de fonctionnement. Par conséquent, l'essai réalisé en présence d'eau usée, de soufre et de calcaire semble être un bon compromis concernant la détermination des conditions les plus favorables à un développement rapide et efficace de la microflore dénitrifiante. Ces conditions demeurent les plus sécuritaires pour prévenir la diminution du pH et maintenir ce dernier dans les conditions optimales de

croissance des bactéries dénitrifiantes, tout en assurant une dénitrification quasi-totale (84%) en 14 jours ou une éventuelle dénitrification totale (100%) en 21 jours.

L'effet de l'obscurité sur l'étape de développement et d'acclimatation de la microflore dénitrifiante n'a pas été testé au cours de cette phase d'optimisation, cependant plusieurs auteurs ont affirmé que la dénitrification est nettement plus efficace quand elle a lieu à l'obscurité (Simard, 2010; Olivier, 2007) et en profondeur. En effet, en profondeur la lumière est moins présente, ce qui rend l'enlèvement des nitrates plus aisé en profondeur, surtout pendant l'automne, alors qu'au printemps, la dénitrification a plus lieu dans les eaux de surface ou les moins profondes car la lumière s'introduit moins (Sundbäck et *al.*, 2004).

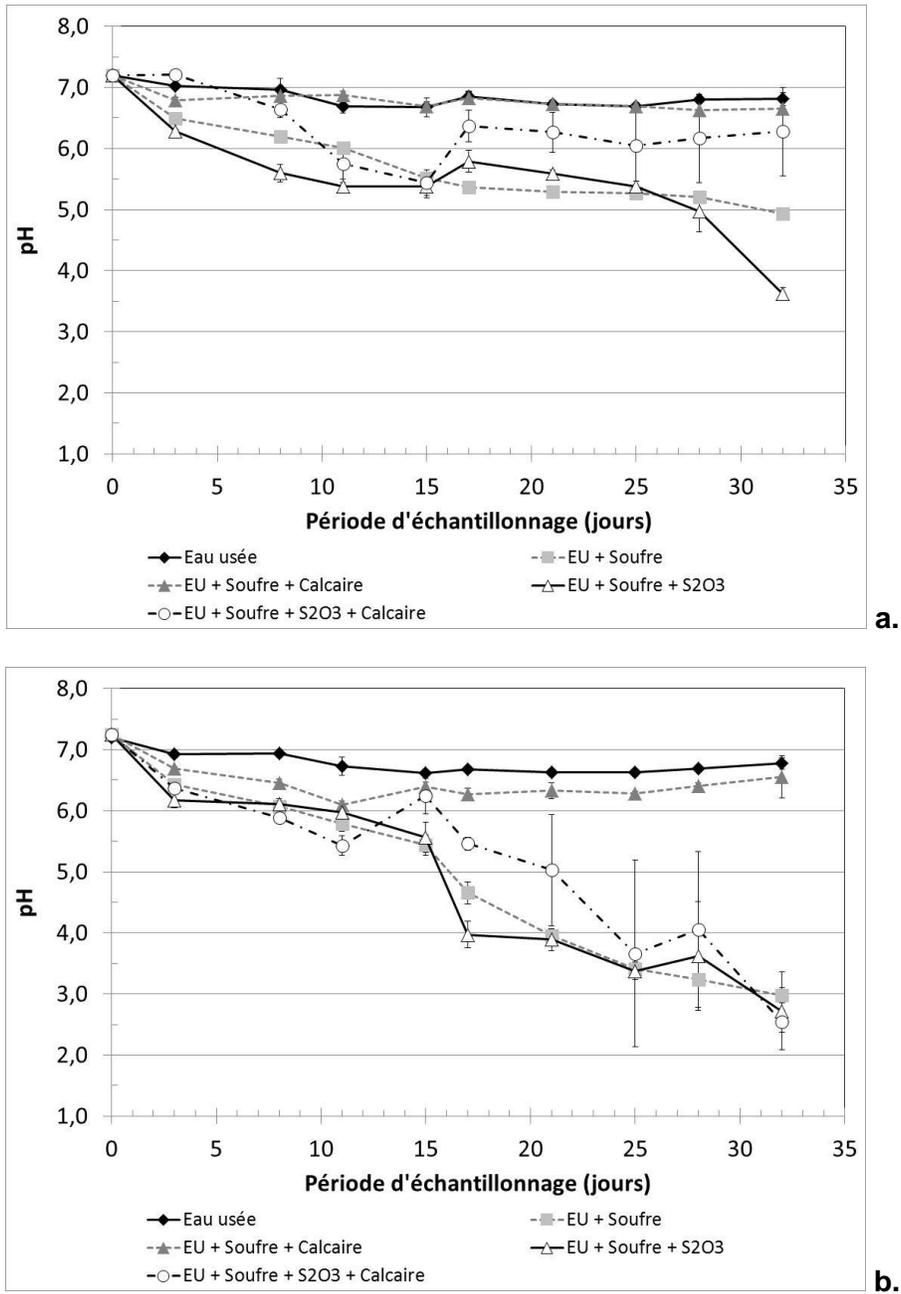


Figure 4–1 Évolution du pH en fonction des conditions utilisées pour le développement de la microflore dénitrifiante en l'absence d'inoculum (a.) ou en présence d'inoculum (b.)

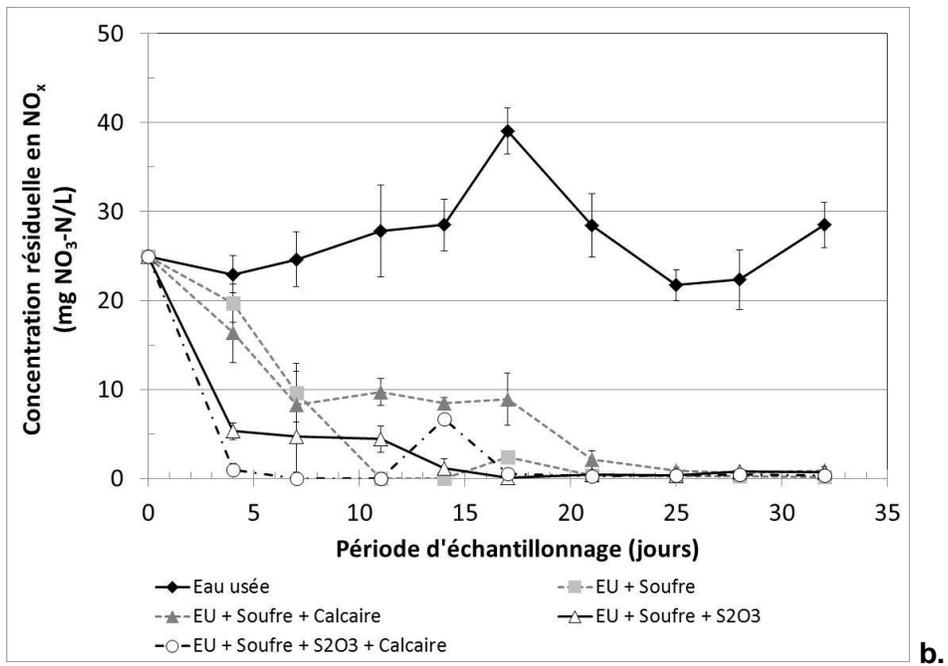
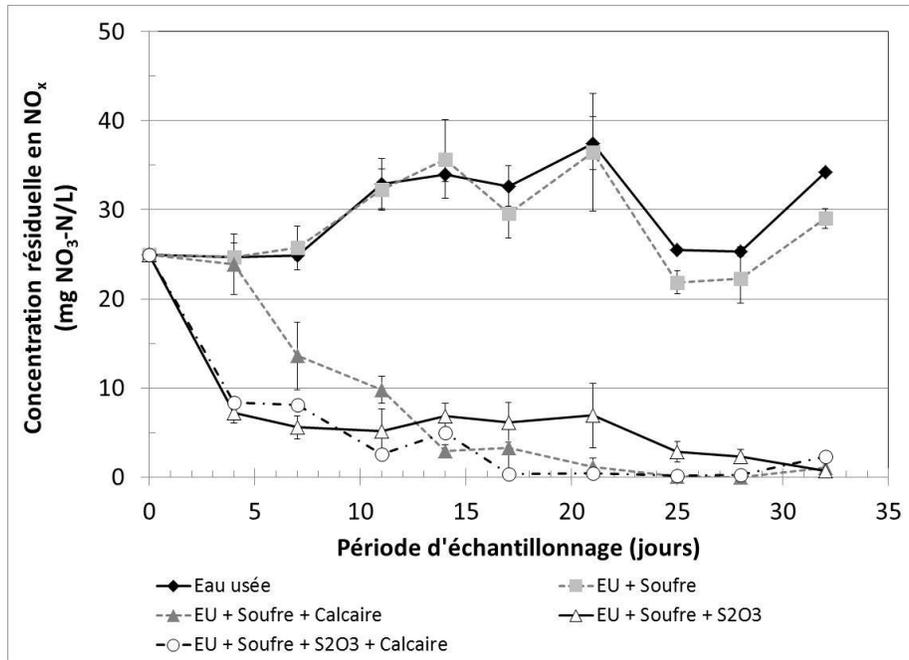


Figure 4–2 Évolution des teneurs résiduelles en  $\text{NO}_x$  ( $\text{NO}_3\text{-N/L}$ ) en fonction des conditions utilisées pour le développement de la microflore dénitrifiante en l'absence d'inoculum (a.) ou en présence d'inoculum (b.)

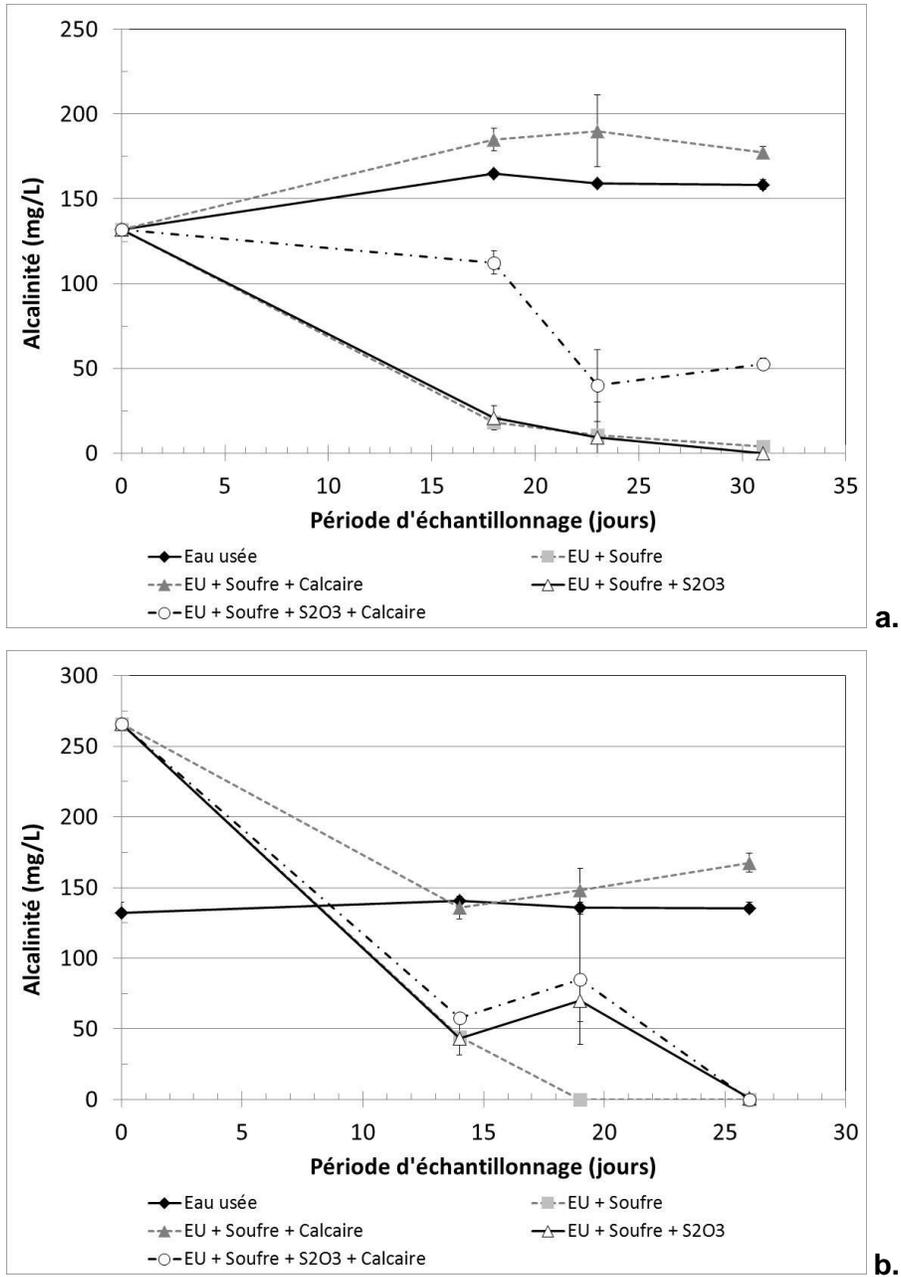


Figure 4-3 Évolution de l'alcalinité (mg/L) en fonction des conditions utilisées pour le développement de la microflore dénitrifiante en l'absence d'inoculum (a.) ou en présence d'inoculum (b.)

### 4.3 Fonctionnement du système de dénitrification en mode batch

L'objectif principal du démarrage des essais de dénitrification autotrophe sur soufre en mode batch a été de développer les bactéries dénitrifiantes au niveau du garnissage de soufre, remplissant les colonnes de dénitrification de type G et de type P.

#### 4.3.1 Démarrage des colonnes de type G

Une fois l'acclimatation des bactéries en présence de thiosulfate atteinte ([Section 4-2](#)), les colonnes de type G, remplies de soufre granulaire, ont été opérées en mode batch afin de continuer le développement des bactéries dénitrifiantes dans le garnissage et de faciliter leur acclimatation. Ces essais ont démarré avec l'essai n°1 au cours duquel l'affluent a été placé dans un réservoir fermé.

La [Figure 4-4](#) présente le pH, l'alcalinité ainsi que la teneur résiduelle en  $\text{NO}_x$  présents dans les effluents issus des systèmes de dénitrification en fonction de la période d'échantillonnage. Selon ces résultats, il est possible de constater que le comportement des quatre colonnes de type G, opérées parallèlement et dans des conditions similaires, est similaire durant toute la période d'acclimatation. En observant l'évolution des  $\text{NO}_x$  ([Figure 4-4b](#)), la teneur en nitrites/nitrates semble inchangée (15-20 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$ ) durant toute la période d'échantillonnage, qui a duré 42 jours. Par conséquent, l'essai n°1 n'a pas réellement permis l'enlèvement des nitrates. Toutefois, le début de développement des bactéries dénitrifiantes est bien décelé entre le 7<sup>ième</sup> et le 10<sup>ième</sup> jour de fonctionnement. En effet, une diminution du pH ([Figure 4-4a](#)) en-dessous de 6,0 accompagnée d'une baisse remarquable de l'alcalinité ([Figure 4-4c](#)) à compter du 7<sup>ième</sup> jour, indiquent qu'il y a bien production d'ions  $\text{H}^+$  et que la réaction de dénitrification a pu être amorcée. Cela dit, la réaction de dénitrification a probablement été interrompue en l'absence des conditions optimales de développement des bactéries dénitrifiantes (pH < 6,5).

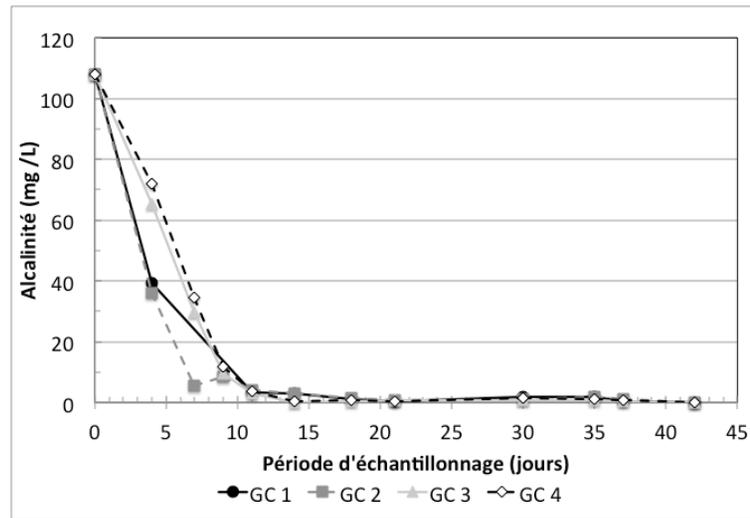
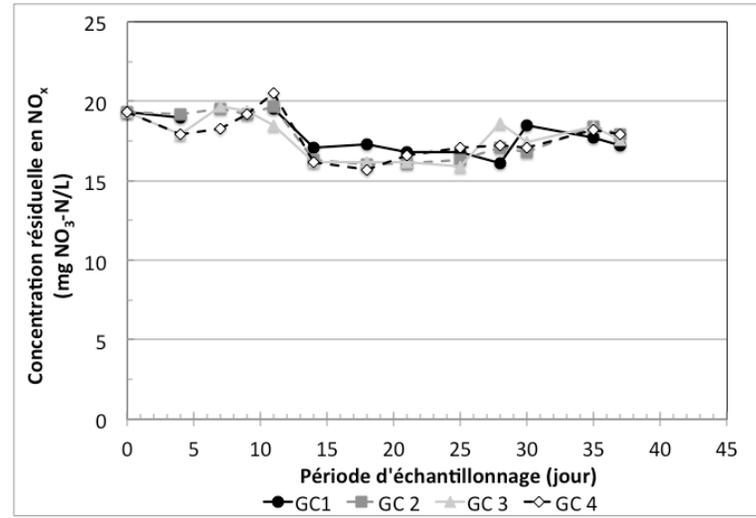
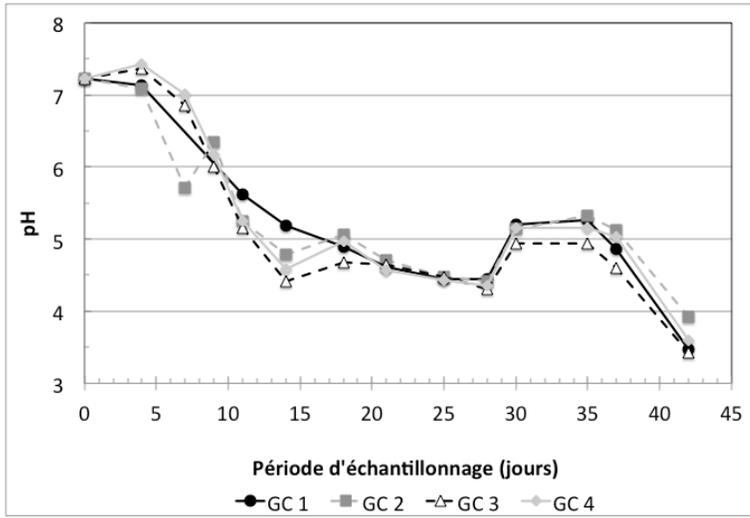
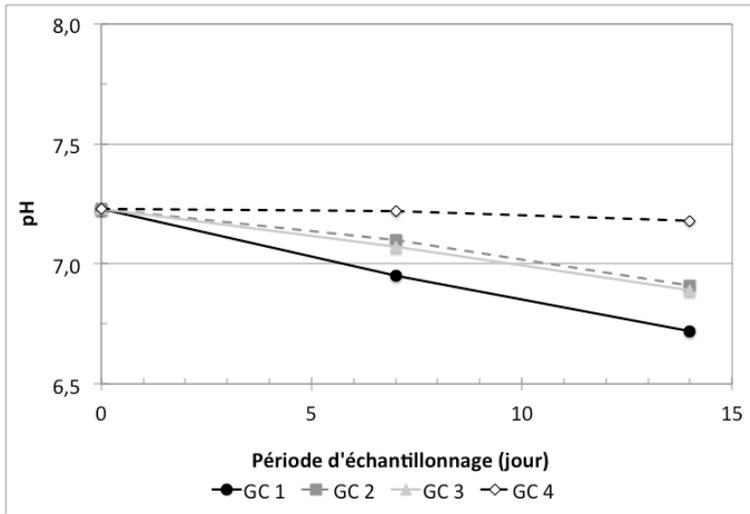


Figure 4-4 Évolution du pH (a), des NO<sub>x</sub> (b) et de l'alcalinité (c) des effluents issus des quatre colonnes de soufre de type G opérées en mode batch durant l'essai n°1 (du 19-12-2011 au 30-01-2012, [NO<sub>x</sub>]<sub>ini moy</sub> = 19,3 mg NO<sub>3</sub>-N/L)

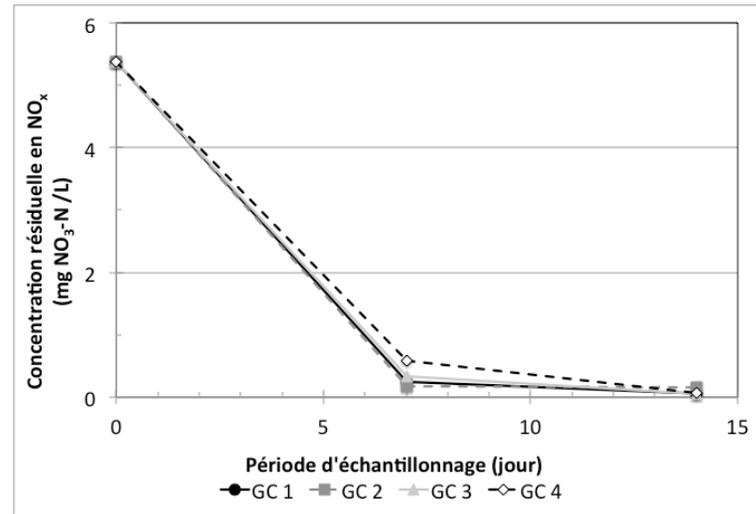
Cette diminution soutenue et simultanée du pH et de l'alcalinité suggère une éventuelle oxydation du soufre en sulfates par d'autres espèces de Thiobacilles en raison de la présence d'oxygène dissous dans le système. En effet, il est supposé que l'utilisation d'un réservoir au cours de l'essai n°1 a probablement entraîné une éventuelle oxygénation du milieu. Dans ces conditions, les bactéries ont pu consommer l'oxygène présent dans le milieu à la place des nitrates. Par conséquent, il serait plus judicieux d'éviter au maximum l'utilisation d'un réservoir, du moins durant la période de développement des bactéries dans les colonnes de dénitrification, et veiller à faire fonctionner ces bioréacteurs de soufre en circuit totalement fermé pour garantir des conditions d'anoxie.

En amorçant l'essai n°2 sans l'emploi d'un réservoir et avec des échantillonnages espacés de 7 jours, il a été constaté qu'une réduction presque totale des nitrates a été atteinte au bout d'une semaine. Les résultats de l'essai n°2 sont présentés à la [Figure 4-5](#). Au cours de cet essai d'acclimatation des bactéries dénitrifiantes, le pH et la dureté de l'eau dénitrifiée sont restés relativement stables en comparaison à leurs valeurs initiales (pH = 7,23 et Alcalinité = 179 mg/L). Cependant, l'alcalinité des effluents a légèrement baissé et est passée de 180 mg/L à environ 100 mg/L en 14 jours, ce qui équivaut à une baisse de 45%. Cette diminution prévisible de l'alcalinité est expliquée par le fait que la dénitrification est toujours accompagnée d'une baisse de l'alcalinité. Toutefois, il demeure important de surveiller l'acidification progressive du milieu afin de s'assurer que les conditions du milieu restent favorables au développement des bactéries dénitrifiantes.

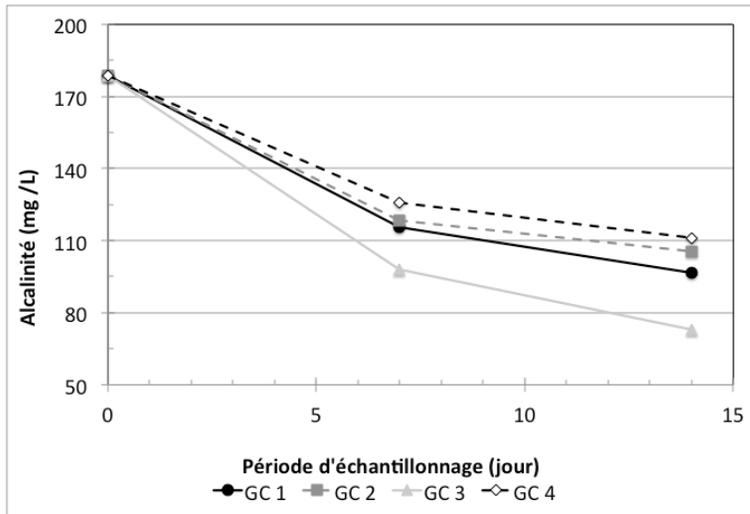
Des échantillonnages espacés d'une fois par semaine ont nettement permis à la microflore d'avoir le temps de se développer dans le média en lui évitant des perturbations d'ordre hydraulique. Toutefois, ces résultats s'avèrent insuffisants pour conclure au développement complet des bactéries dénitrifiantes dans toutes les colonnes de soufre. Il était donc important de surveiller de près l'évolution de ces critères en augmentant la fréquence des échantillonnages.



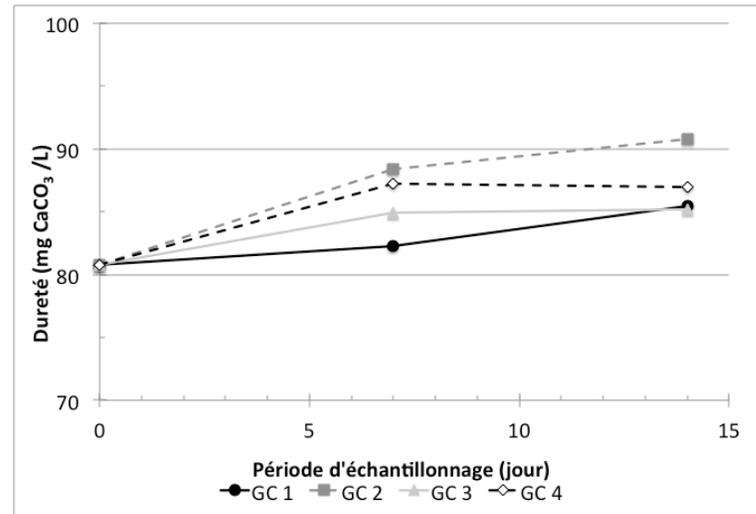
a.



b.



c.



d.

Figure 4-5 Évolution du pH (a), des NO<sub>x</sub> (b), de l'alcalinité (c) et de la dureté (d) dans les effluents issus des quatre colonnes de soufre de type G opérées en mode batch durant l'essai n°2 (du 14-02-2012 au 28-02-2012, [NO<sub>x</sub>]<sub>ini moy</sub> = 5,4 mg NO<sub>3</sub>-N/L)

La Figure 4-6 présente les résultats obtenus lors des essais n°3 et n°4, réalisés en gardant les mêmes conditions qu'avec l'essai n°2 et en opérant sans réservoir et sans apport d'eau brute dans le système. Au cours de ces essais, la fréquence d'échantillonnage est passée à 3 fois/sem, avec des concentrations initiales distinctes en nitrates.

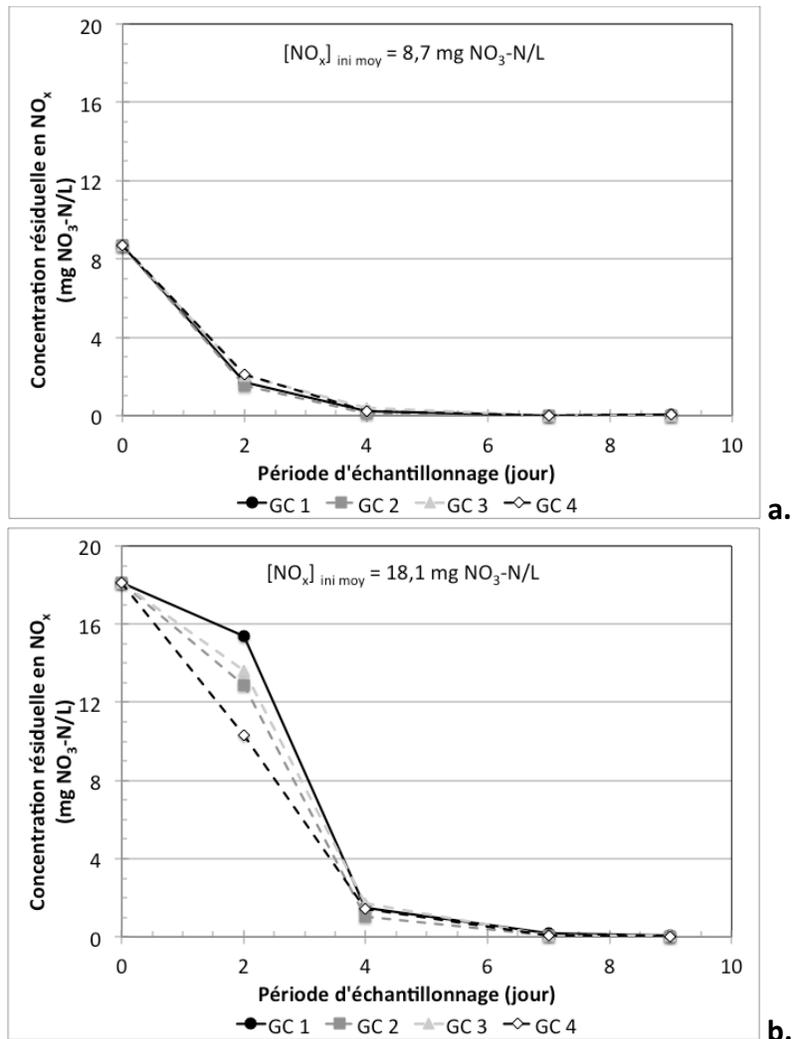


Figure 4-6 Évolution des NO<sub>x</sub> présents dans les effluents des quatre colonnes de soufre de type G opérées en mode batch durant l'essai n°3 (a) (du 12-03-2012 au 21-03-2012) avec  $[NO_x]_{ini\ moy} = 8,7$  mg NO<sub>3</sub>-N /L et durant l'essai n°4 (b) (du 26-03-2012 au 04-04-2012) avec  $[NO_x]_{ini\ moy} = 18,1$  mg NO<sub>3</sub>-N/L

Indépendamment de la concentration initiale en nitrates de l'affluent, l'évolution de la teneur en nitrates à la sortie des colonnes de soufre présentée à la [Figure 4-6a](#) ( $[\text{NO}_x]_{\text{ini moy}} = 8,7 \text{ mg NO}_3\text{-N/L}$ ) et à la [Figure 4-6b](#) ( $[\text{NO}_x]_{\text{ini moy}} = 18,1 \text{ mg NO}_3\text{-N/L}$ ) permet de mettre en évidence que la réduction des nitrates est quasi-totale après 4 à 7 jours de fonctionnement du système de dénitrification en mode batch. De plus, pour chacun de ces deux essais, le comportement des colonnes de soufre s'est avéré relativement identique. Par conséquent, en s'appuyant sur les résultats de l'essai n°2, il est possible d'affirmer que le développement des bactéries dénitrifiantes est désormais complètement atteint aux niveaux des colonnes de type G et que leur acclimatation à l'eau nitrifiée a finalement abouti.

#### **4.3.2 Démarrage des colonnes de type P**

Pour amorcer l'acclimatation de la microflore au niveau des colonnes de soufre de type P, les tests de dénitrification ont été réalisés dans des conditions similaires à ceux effectués avec les colonnes de type G, tout en prenant en compte la variation dans le débit d'alimentation. L'essai n°5, d'une durée de 11 jours, a été réalisé en circuit fermé, avec des échantillonnages espacés aux 3 jours, afin de permettre aux bactéries de croître progressivement. La [Figure 4-7](#) présente l'évolution du pH et de la teneur résiduelle en  $\text{NO}_x$  mesurée dans les effluents issus des colonnes de type P durant la phase d'acclimatation. Selon les résultats présentés à la [Figure 4-7b](#), une diminution de la teneur en nitrates est observée pour les six colonnes de type P étudiées. Ces résultats mettent également en évidence un comportement similaire d'un point de vue efficacité de dénitrification pour l'ensemble des colonnes étudiées, indiquant un enlèvement quasi-total des nitrates au 11<sup>ème</sup> jour de fonctionnement en mode batch avec un taux d'enlèvement moyen de 97%.

En considérant les résultats rapportés en mode batch avec les colonnes de type G, il est possible d'affirmer qu'une période de 7 à 12 jours est suffisante pour développer la microflore bactérienne dans le soufre et l'acclimater à l'effluent issu des procédés de PTA. Cependant, il demeure primordial de surveiller une éventuelle diminution du pH ([Figure 4-7a](#)) et de l'alcalinité dans les systèmes de dénitrification qui pourrait nuire à la croissance de la microflore bactérienne dénitrifiante et, prévenir en conséquence un ralentissement ou un arrêt du

processus de dénitrification autotrophe. Lors de cet essai d'acclimatation, une diminution du pH de 7,0 à 3,2-4,2 a été observée au cours des 11 jours d'acclimatation. Il faut noter qu'un pH inférieur à 5,5 peut causer une diminution de la dénitrification, puisqu'à de telles conditions de pH les réductases d'oxyde d'azote sont inhibées gênant le taux global de dénitrification en raison de l'accumulation de l'oxyde nitreux (Bergaust et *al.*, 2010). En résumé, la nécessité de neutraliser l'eau dans le dénitrificateur de soufre est mise en évidence au cours de ces essais.

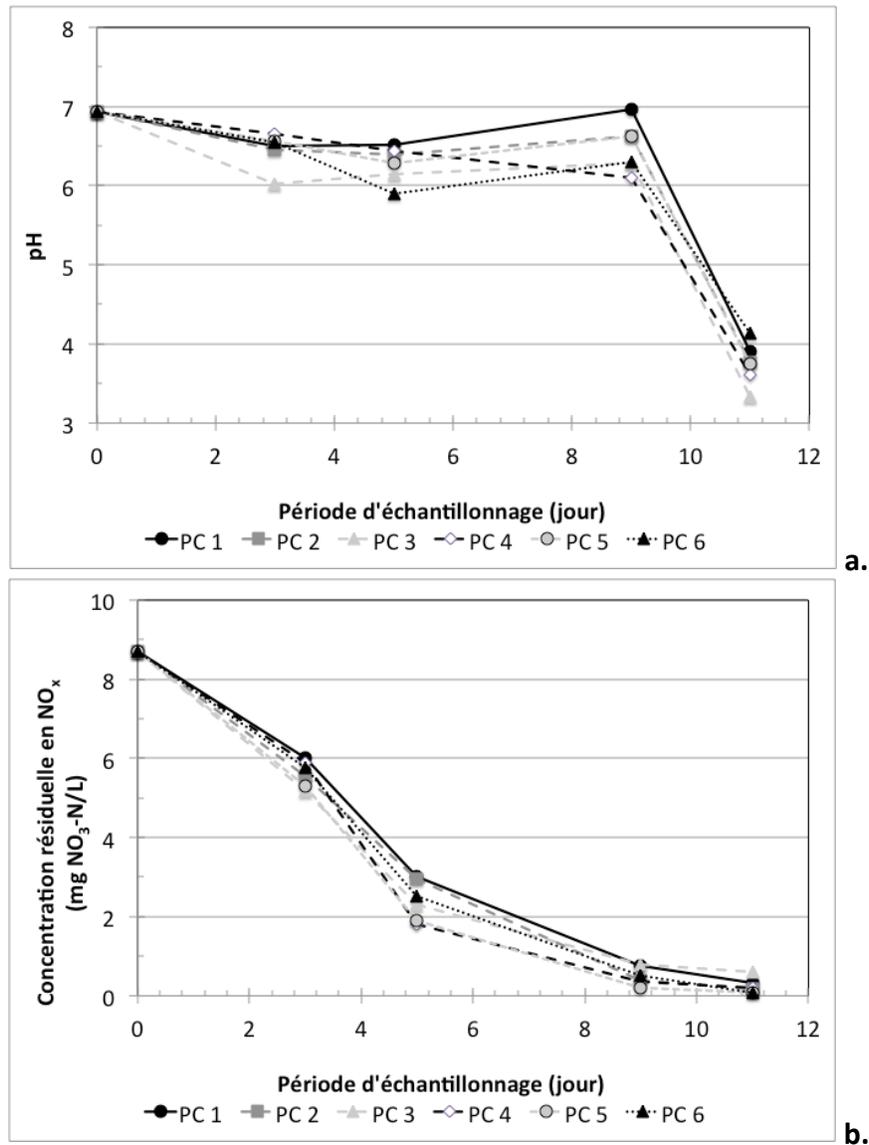
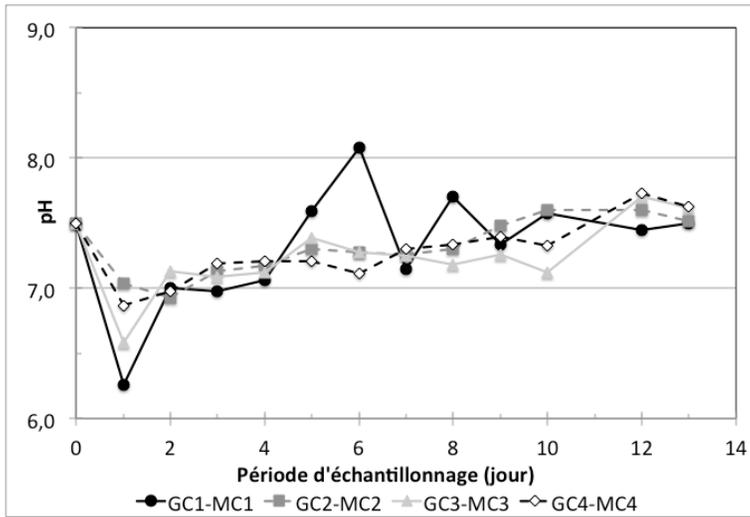


Figure 4-7 Évolution du pH (a) et des NO<sub>x</sub> (b) dans les effluents issus des 6 colonnes de soufre de type P opérées en mode batch durant l'essai n°5 (du 13 au 24-03-12, [NO<sub>x</sub>]<sub>ini moy</sub> = 8,7 mg NO<sub>3</sub>-N/L)

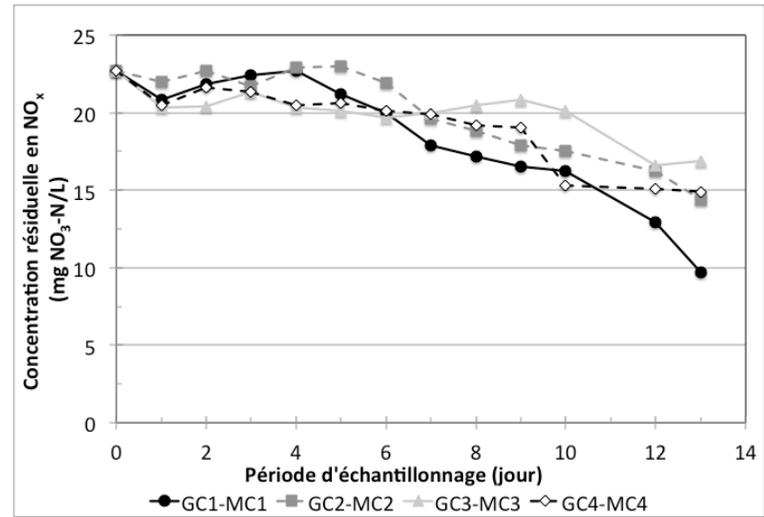
#### 4.4 Neutralisation de l'eau

L'intégration du calcaire aux colonnes de soufre de type G en mode batch a été réalisée dans le but d'accommoder la biomasse au nouveau milieu. En effet, le calcaire est composé de calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) et de carbonates ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) et sa dissolution permet de libérer ces ions dans le milieu. Ces derniers permettent de limiter au maximum les diminutions de l'alcalinité et du pH. En effet, l'essai n°6, réalisé en présence de soufre et de calcaire, a permis d'appuyer ces faits. La [Figure 4-8](#) présente l'évolution du pH, de l'alcalinité et de la teneur résiduelle en  $\text{NO}_x$  dans les effluents issus des systèmes de dénitrification. Selon ces résultats, le pH de l'eau dénitrifiée (effluent du dénitrificateur) est resté au-dessus de 6,5 durant toute la période d'acclimatation ([Figure 4-8a](#)). L'emploi du calcaire comme substrat tampon a également permis de stabiliser l'alcalinité du milieu dénitrifiant et de la garder relativement similaire aux conditions initiales (136 mg/L) ([Figure 4-8c](#)). Cependant, l'enlèvement des nitrates ne s'est pas avéré efficace sur toute la période d'acclimatation, avec un rendement d'enlèvement atteignant à peine 38,4%. Le taux d'enlèvement maximal des nitrates obtenu seulement avec le système de dénitrification GC1/MC1 est de 57% ([Figure 4-8b](#)). Il est probable que la biomasse formée s'est montrée sensible à l'intégration du calcaire et que son adaptation au nouveau milieu (ajout d'un nouveau substrat) a été perturbée.

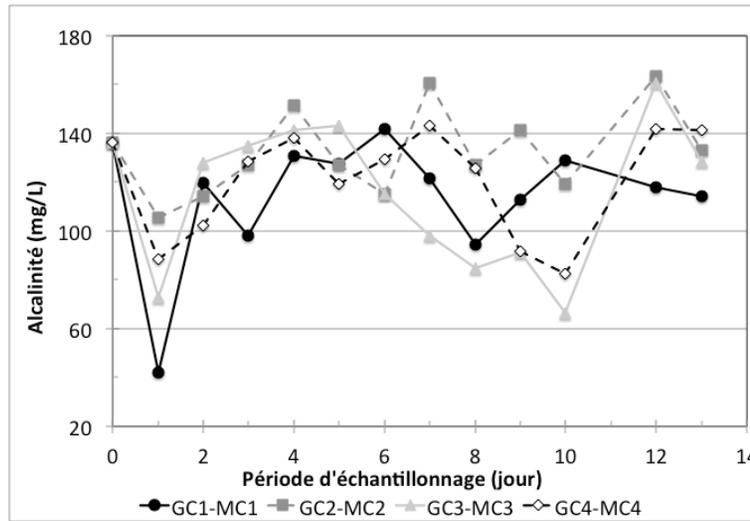
L'intégration du calcaire aux colonnes de soufre de type P a également débuté en mode batch avec l'emploi de six proportions différentes de soufre/calcaire (soufre uniquement, S/C = 9/1, 4/1, 7/3, 3/2 et 1/1). La [Figure 4-9](#) présente l'évolution du pH et de la teneur résiduelle en  $\text{NO}_x$  dans les effluents issus des différents systèmes de dénitrification de l'essai n°7 qui a duré 30 jours. Durant cet essai ([Figure 4-9b](#)), il semblerait que la dénitrification se soit déroulée lentement mais efficacement avec les colonnes contenant du calcaire en présence du soufre. Un taux d'enlèvement moyen de 94% a été obtenu pour les colonnes contenant du soufre et du calcaire comparativement à la colonne témoin (contenant seulement du soufre) dont le pourcentage maximal atteint pour la réduction des nitrates est de 64%. Il s'agit d'un rendement assez faible en comparaison aux travaux réalisés par Koenig et Liu (1996) qui ont obtenu des rendements d'enlèvement des nitrates supérieurs à 80% par dénitrification autotrophe sur soufre en l'absence de calcaire.



a.



b.



c.

Figure 4–8 Évolution du pH (a), des NO<sub>x</sub> (b) et de l'alcalinité (c) dans les effluents issus des quatre colonnes de soufre de type G placées en aval des quatre colonnes de calcaire de type M et opérées en mode batch durant l'essai n°6 (du 18-04-12 au 01-05-12, [NO<sub>x</sub>]<sub>ini moy</sub> = 22,7 mg NO<sub>3</sub>-N/L, ratio S/C = 7,7)

De plus, selon la [Figure 4-9a](#), la variation du pH au cours de la réaction de dénitrification est plus importante en absence de substrat tampon. Cependant, il s'avère que l'adaptation de la biomasse formée a légèrement été perturbée par l'intégration du calcaire au système de dénitrification sur soufre. En effet, l'efficacité de dénitrification a atteint son maximum au bout de 24 jours de fonctionnement du système.

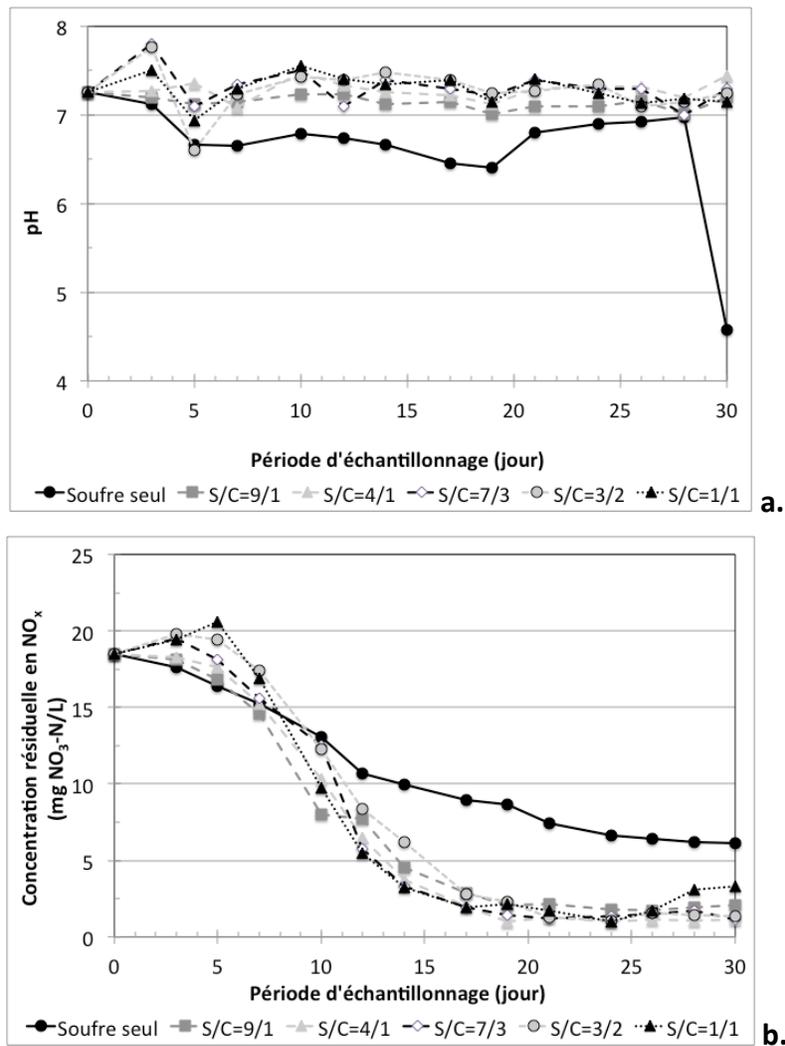


Figure 4–9 Évolution du pH (a), des NO<sub>x</sub> (b) dans les effluents issus des six colonnes de type P en configuration S/C mélangés et opérées en mode batch durant l'essai n°7 (du 13-04-12 au 14-05-12) pour différents ratios S/C ([NO<sub>x</sub>]<sub>ini moy</sub> = 18,5 mg NO<sub>3</sub>-N/L)

Un essai de dénitrification supplémentaire et similaire à l'essai n°7 a été réalisé afin d'améliorer l'acclimatation des bactéries dénitrifiantes. Les résultats de cet essai n°8, qui a duré 8 jours, sont présentés à la [Figure 4-10](#) et montrent une acclimatation remarquablement plus rapide de la microflore bactérienne suite à l'introduction du calcaire au système de dénitrification. En effet, l'essai n°8 met en évidence un enlèvement total des nitrates, atteint après seulement 8 jours de fonctionnement du système de dénitrification. De plus, l'évolution des valeurs de pH et de l'alcalinité ([Figures 4-10a](#) et [4-10b](#)) pour les colonnes contenant du soufre et du calcaire semble subir des variations mineures par rapport aux conditions initiales, ce qui vient appuyer la nécessité d'employer un agent neutralisant dans un procédé de dénitrification autotrophe sur soufre. En effet, les données relatives à la colonne non neutralisée (soufre seul) indiquent une baisse du pH en-dessous du pH optimal, affectant de manière importante l'acclimatation des bactéries et par conséquent, l'efficacité de la réaction de dénitrification.

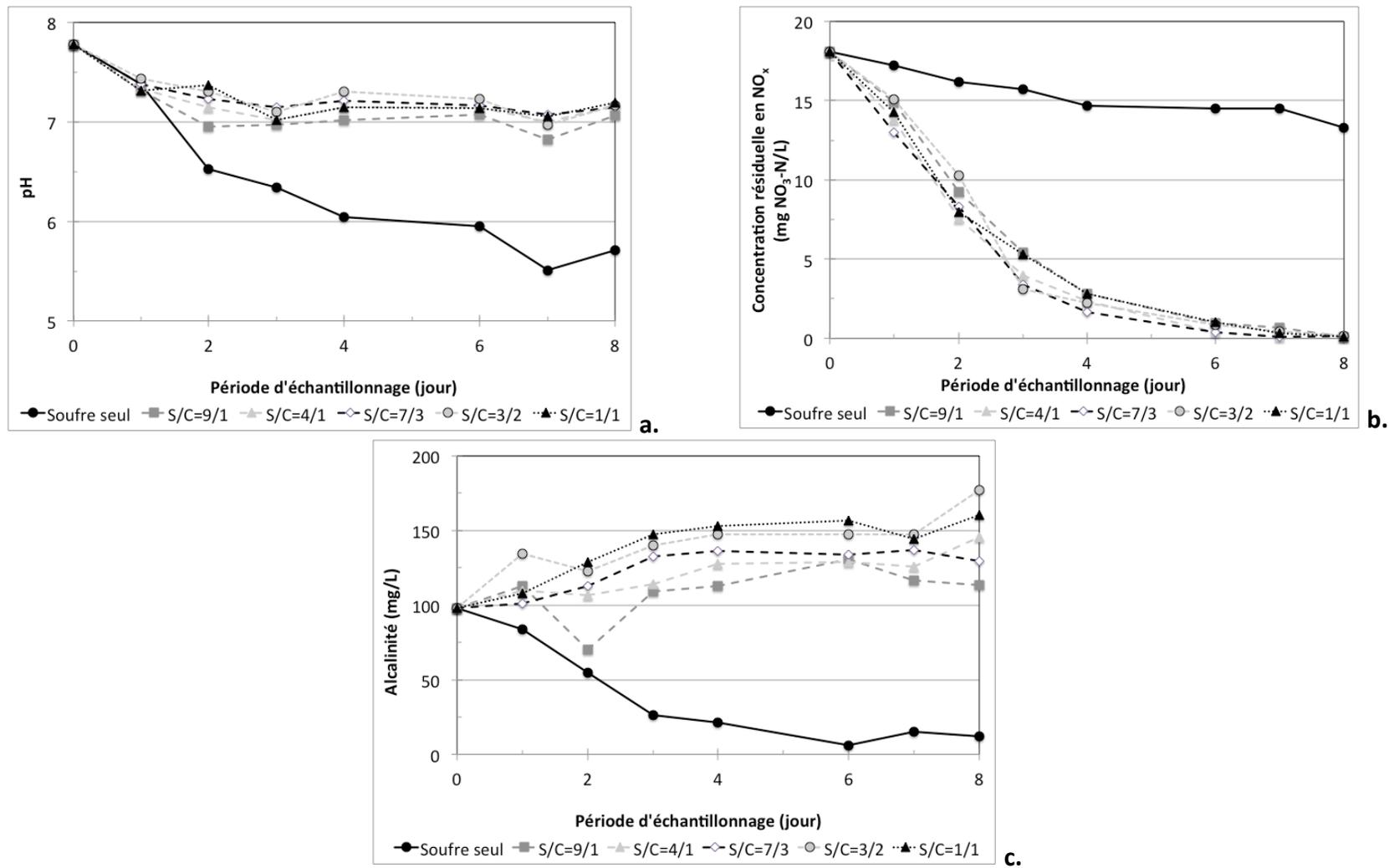


Figure 4–10 Évolution du pH (a), des NO<sub>x</sub> (b) et de l'alcalinité (c) des effluents issus des six colonnes de type P en configuration S/C mélangés et opérées en mode batch durant l'essai n°8 (du 26-06-12 au 04-07-12) pour différents ratios S/C ( $[\text{NO}_x]_{\text{ini moy}} = 18,1 \text{ mg NO}_3\text{-N/L}$ )

## **4.5 Fonctionnement du système en mode continu**

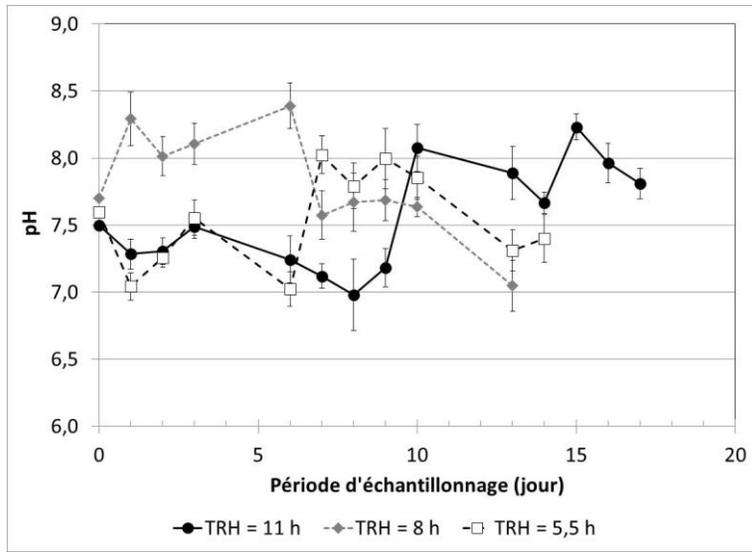
### **4.5.1 Détermination du TRH optimal**

Les expériences visant la détermination du temps de rétention hydraulique (TRH) optimal ont été menées en mode continu à la SEB avec les colonnes de soufre de type G et les colonnes de calcaire de type M. Pour faciliter le démarrage de ces bioréacteurs de dénitrification, il était important de débiter les essais avec un TRH élevé (11 h), afin que le débit soit le plus faible possible. En effet, un faible débit permet aux bactéries de bien s'accommoder au mode continu. Une diminution progressive du TRH au fur à mesure que l'efficacité de dénitrification se stabilisait a été réalisée afin de déterminer le TRH optimal.

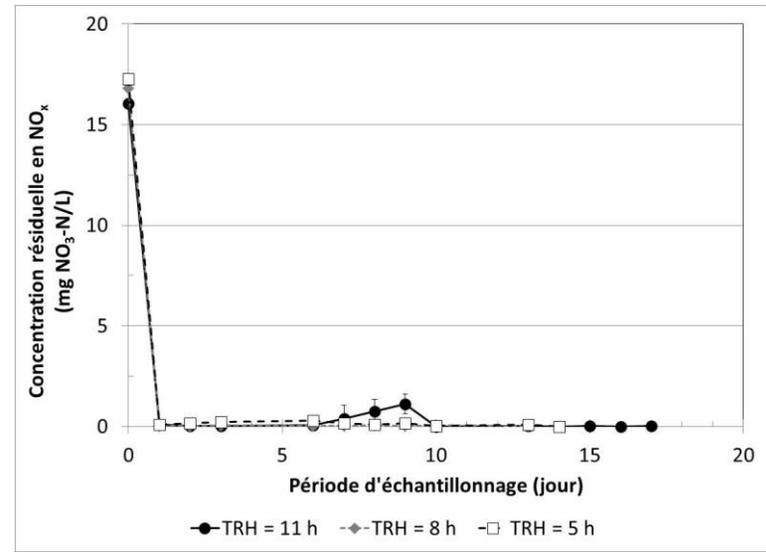
#### **4.5.1.1 Essais avec des TRH de 11, 8 et 5,5 h**

Étant donné que les quatre colonnes de soufre de type G opérées en mode batch ont montré une efficacité de dénitrification semblable, les bioréacteurs de dénitrification installés à la SEB ont fonctionné en quatre répliques dans des conditions similaires et au même TRH. Les résultats des trois essais relatifs aux TRH de 11, 8 et 5,5 h sont présentés à la [Figure 4-11](#) (valeur moyenne des répliques).

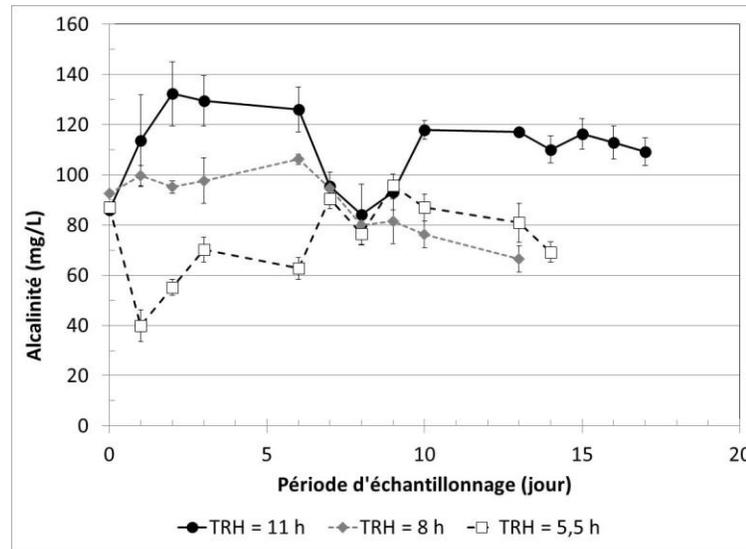
Selon les résultats obtenus, l'efficacité de dénitrification semble similaire pour l'ensemble des TRH testés. Dès le premier jour des essais en mode continu, une dénitrification quasi-totale est observée pour l'ensemble des bioréacteurs avec des rendements d'enlèvement atteignant 98%, et ce, pour les trois TRH étudiés. Cependant, une légère diminution de l'efficacité de dénitrification (rendement d'enlèvement de 88%) est notée au 9<sup>ème</sup> jour de la période d'échantillonnage, pour l'essai réalisé avec un TRH de 11 h. Cette diminution de l'efficacité de dénitrification est probablement due à une perturbation dans les chemins préférentiels qui se forment dans les colonnes au sein des particules de soufre. Une étude similaire, menée par Flere et Zhang (1999), a permis un enlèvement quasi-total des nitrates selon un procédé de DASC ayant fonctionné avec des TRH de 12 - 10 - 8,0 et 6,0 h. Des rendements de dénitrification compris entre 90 et 96% ont été atteints pour l'ensemble des TRH étudiés.



a.



b.



c.

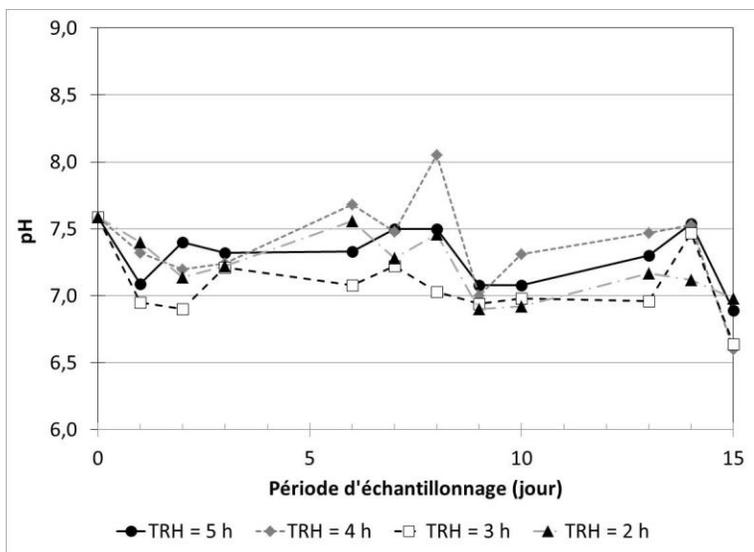
Figure 4–11 Évolution du pH (a), des NO<sub>x</sub> (b) et de l'alcalinité (c) et de l'effluent des bioréacteurs de dénitrification opérés en mode continu aux TRH de 11, 8 et 5,5 h et avec un TRH<sub>c</sub> de 8 h

Concernant l'évolution du pH (Figure 4-11a) et de l'alcalinité (Figure 4-11c), il est constaté des variations en fonction des différents TRH testés. En effet, pour l'essai réalisé avec un TRH de 11 h, une augmentation de l'alcalinité de 60 à 110-130 mg/L est observée sur toute la période d'échantillonnage. Cette augmentation de l'alcalinité ne concorde pas avec l'évolution du pH qui tend à augmenter aux alentours de 8,0. La libération des carbonates dans le bioréacteur, sans être consommés, génère une accumulation de ces derniers, entraînant une augmentation de l'alcalinité. En effet, le système de dénitrification semble autonome pour des TRH élevés et ne semble pas nécessiter d'opération de neutralisation de l'acidité générée au cours de la réduction des nitrates.

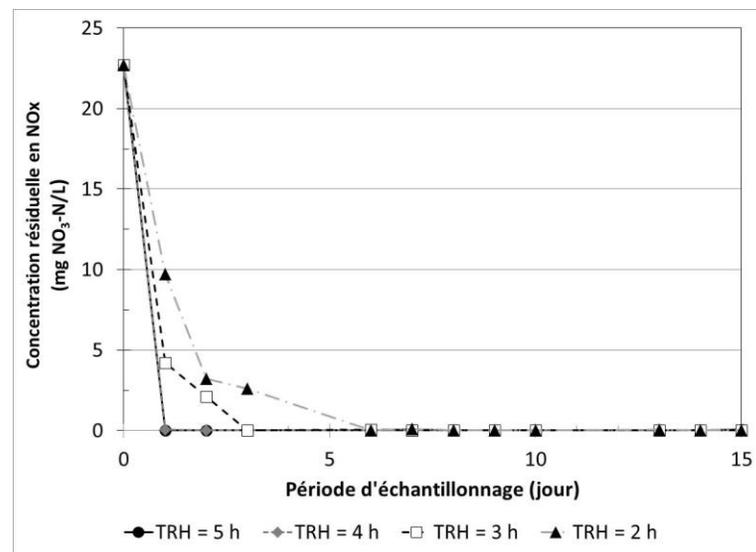
L'influence de la diminution du TRH de 11 h à 5,5 h a surtout été observée sur le pH des effluents issus des bioréacteurs. En effet, une légère diminution du pH peut être observée lors de la diminution du TRH entre 8,0 h et 5,5 h. Cette diminution du pH a été corrigée au cours de la période d'échantillonnage suite au passage de l'effluent dans les colonnes de calcaire de type M. Les performances de dénitrification observées au cours de ces essais ont amené à réaliser des essais supplémentaires afin d'évaluer la possibilité de réduire le TRH et par conséquent les coûts de traitement sans affecter l'efficacité du traitement.

#### **4.5.1.2 Essais avec des TRH de 5, 4, 3 et 2 h**

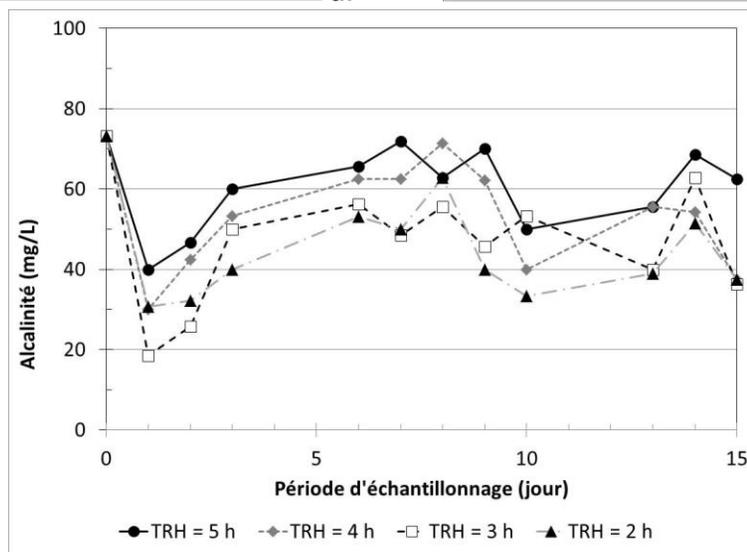
La réduction du TRH a été réalisée d'une manière progressive où les essais de cette section ont fonctionné parallèlement et un TRH a été attribué à chaque bioréacteur de dénitrification. La Figure 4-12 présente l'évolution du pH, de l'alcalinité et de la teneur résiduelle en  $\text{NO}_x$  pour les essais de dénitrification réalisés avec des TRH compris entre 2,0 et 5,0 h.



a.



b.



c.

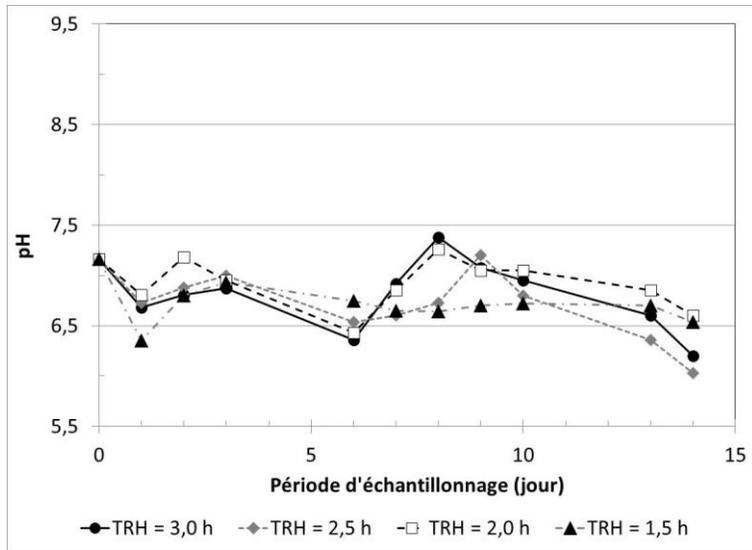
Figure 4–12 Évolution du pH (a), des NO<sub>x</sub> (b) et de l'alcalinité (c) des effluents issus des quatre bioréacteurs de dénitrification opérés en mode continu avec des TRH de 5, 4, 3 et 2 h et avec un TRH<sub>6</sub> de 8 h

D'un point de vue efficacité de dénitrification, les essais réalisés avec des TRH plus longs (5,0 et 4,0 h) ont permis de mettre en évidence une réduction totale des nitrates dès le premier jour de fonctionnement. Cependant, pour les essais réalisés avec des TRH plus courts (3,0 et 2,0 h), un abattement total des nitrates a été atteint après 3 et 6 jours, respectivement. En réduisant le TRH à 2,0 et 3,0 h, l'efficacité de dénitrification a été affectée dès le 1<sup>er</sup> jour de fonctionnement avec un taux d'élimination des nitrates de 56 et 83%, respectivement. Il est évident qu'une augmentation du débit d'alimentation (diminution du TRH de 5,5 h à un TRH de 2,0 ou 3,0 h) a perturbé la microflore la rendant difficilement accommodable à un écoulement plus fort. De plus, ce changement de débit a probablement causé la production des nitrites au début des essais en question, ce qui a pu affecter le rendement de dénitrification (Simard, 2010).

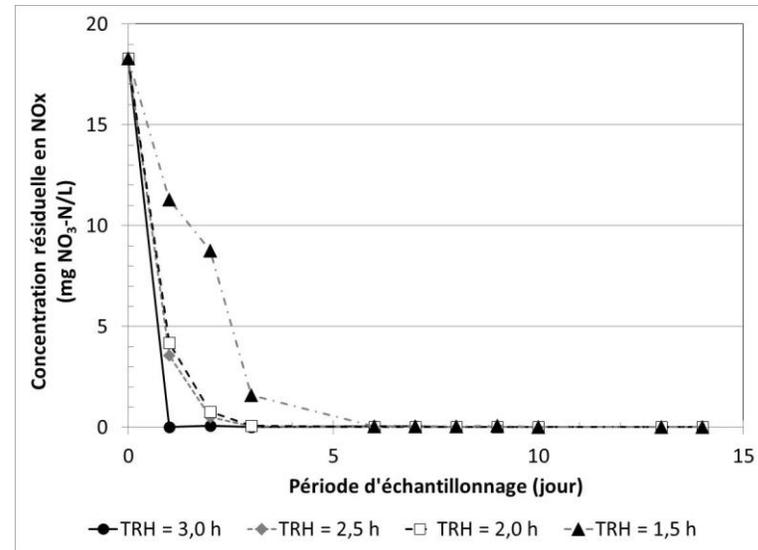
L'évolution du pH est considérée comme étant similaire pour les quatre TRH testés dans la mesure où les conditions optimales de pH (entre 6,5 et 8,0) ont été maintenues durant toute la période d'échantillonnage. Selon ces résultats, il est constaté que la recirculation de l'effluent dans les colonnes de calcaire aide nettement à maintenir le pH dans les conditions favorables aux bactéries dénitrifiantes. Toutefois, le profil de l'alcalinité ne permet pas d'établir des conclusions pertinentes en raison d'une évolution relativement aléatoire au cours de la période d'échantillonnage. Les essais de dénitrification avec des TRH plus courts demeurent encourageants pour expérimenter de nouveaux TRH plus courts. Cependant, il est important d'accentuer l'effet de la neutralisation du calcaire étant donnée la baisse de l'alcalinité (< 35 mg/L) observée pour l'essai réalisé avec un TRH de 2 h.

#### **4.5.1.3 Essais avec des TRH de 3,0, 2,5, 2,0 et 1,5 h**

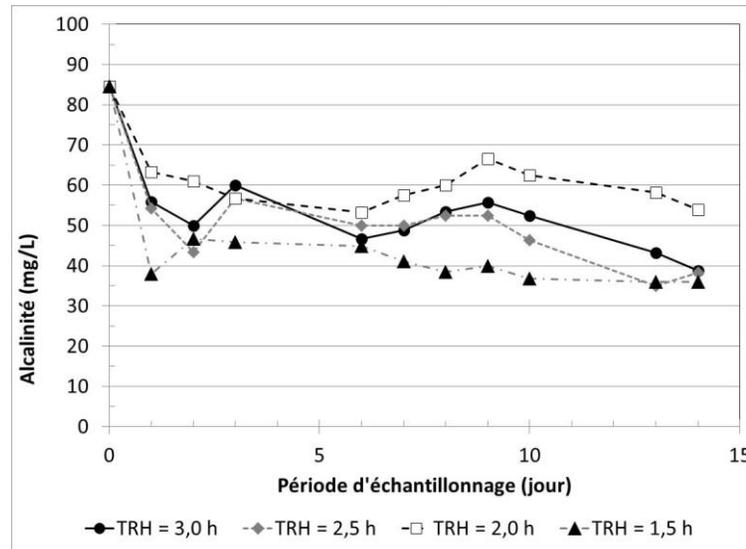
Des essais de dénitrification complémentaires ont été réalisés en augmentant le taux de recirculation de 18 mL/min (3 fois/jour) au maximum des pompes de recirculation (P<sub>2</sub>) qui est de 29 mL/min (5 fois/jour) afin d'assurer une meilleure efficacité de neutralisation de l'effluent. La [Figure 4-13](#) présente l'évolution du pH, de l'alcalinité et de la teneur résiduelle en NO<sub>x</sub> présents dans les effluents issus des colonnes opérées avec des TRH variant de 1,5 à 3,0 h.



a.



b.



c.

Figure 4–13 Évolution du pH (a), des NO<sub>x</sub> (b) et de l'alcalinité (c) des effluents issus des quatre bioréacteurs de dénitrification opérés en mode continu aux TRH de 3,0, 2,5, 2,0 et 1,5 h et avec un TRH<sub>G</sub> de 4,8 h

Selon les résultats obtenus présentés à la [Figure 4-13c](#), il est constaté que les profils d'alcalinité semblent s'être améliorés pour l'ensemble des TRH compris entre 3,0 et 1,5 h étudiés. En effet, peu de fluctuations importantes de l'alcalinité sont observées au cours de ces essais comparativement aux expériences menées précédemment en présence de soufre et de calcaire. Cependant, une diminution de l'alcalinité demeure présente pour tous les TRH testés. Il a également été constaté que cette diminution de l'alcalinité est plus accentuée au cours de l'essai réalisé avec le TRH de 1,5 h, puisque cette dernière a diminué d'environ 50% pour atteindre une valeur moyenne d'environ 40 mg/L. De plus, les profils de pH sont restés relativement stables dans une gamme optimale de pH compris entre 6,7 et 7,5 et ce, tout au long de la période d'échantillonnage.

L'essai de la série ayant le plus faible TRH (1,5 h) s'est avéré être le moins efficace avec un abattement total des nitrates atteint après 6 jours comparativement aux autres essais pour lesquels, cet enlèvement total a été observé après seulement 3 jours. Cette diminution d'efficacité dans les premiers jours d'acclimatation peut s'expliquer par le fait qu'en augmentant le débit d'alimentation du bioréacteur de dénitrification, la microflore prend davantage de temps à s'adapter au changement subi. Cependant, il a été possible de dénitrifier jusqu'à 50% au bout du 2<sup>ème</sup> jour de fonctionnement du bioréacteur de dénitrification lors de l'essai réalisé avec un TRH de 1,5 h.

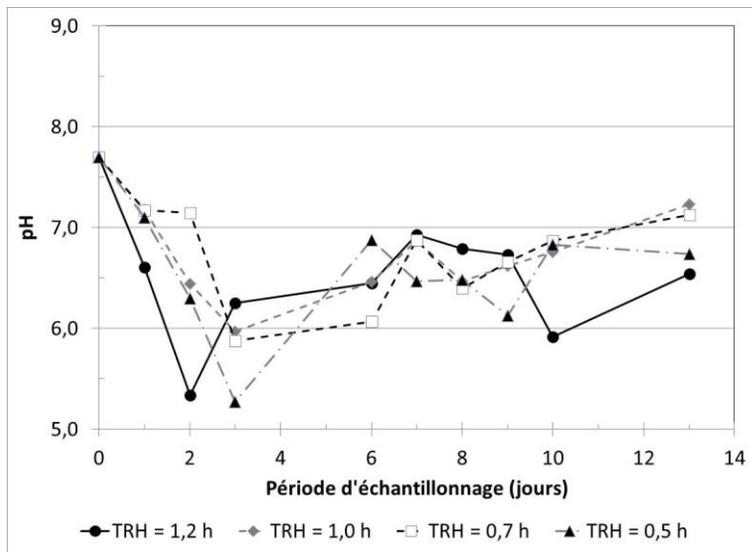
#### **4.5.1.4 Essais avec des TRH de 1,2, 1,0, 0,7 et 0,5 h**

Des essais de dénitrification ont été réalisés avec des TRH compris entre 1,2 et 0,5 h afin d'évaluer l'influence de la réduction du TRH sur les performances de dénitrification. L'évolution du pH, de l'alcalinité et de la teneur résiduelle en NO<sub>x</sub> présents dans les effluents issus des bioréacteurs de dénitrification est présentée à la [Figure 4-14](#). Les profils d'alcalinité et de pH observés au cours de ces essais de dénitrification et des essais précédents présentent la même tendance. Pour chaque TRH testé, la dénitrification débute lentement jusqu'à atteindre une dénitrification totale au bout de 1 à 3 jours seulement. En ce qui concerne le pH et l'alcalinité, ces paramètres suivent des tendances similaires en diminuant jusqu'à ce que l'équilibre tende à se maintenir dans le système. En fait, le pH et l'alcalinité diminuent légèrement dans les

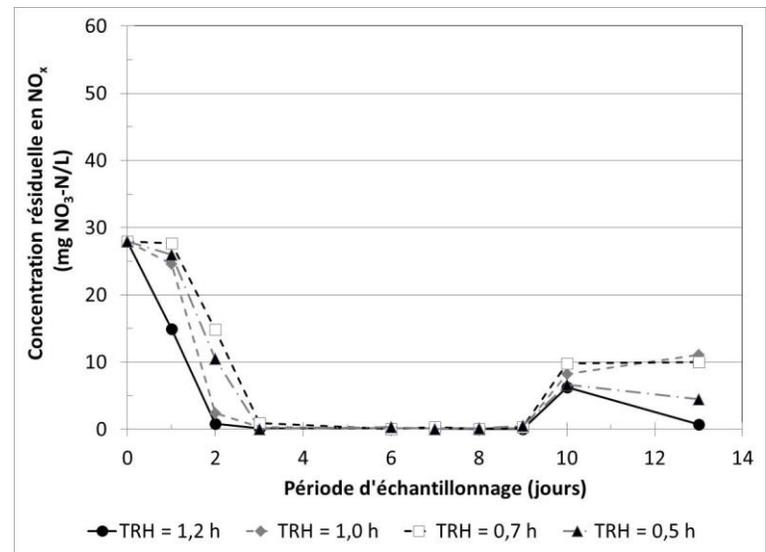
premiers jours d'acclimatation et la neutralisation en présence de calcaire tend toujours à maintenir les conditions du milieu aux conditions initiales (pH = 7,7, Alcalinité = 50 mg/L). En effet, l'utilisation de calcaire permet d'augmenter le pH d'environ 0,3 unité de pH et d'accroître l'alcalinité et la dureté d'environ 10 mg CaCO<sub>3</sub>/L et 25 mg CaCO<sub>3</sub>/L, respectivement. Effectivement, le pH de l'effluent du bioréacteur de soufre étant acide, la dissolution du calcaire est plus facile, permettant la libération du calcium (Ca<sup>2+</sup>) et du carbonate (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) dans le milieu et engendrant ainsi une augmentation du pH, de l'alcalinité et de la dureté (Liu et Koenig, 2002).

Cependant, une perturbation au niveau de la dureté (Figure 4-14d) et des performances de dénitrification (Figure 4-14b) peut être observée au 13<sup>ième</sup> jour d'échantillonnage. Cette perturbation est due à un problème survenu au 11<sup>ième</sup> jour lorsque le bac d'alimentation s'est vidé à cause d'un blocage au niveau du procédé Filtre Coco PTA. Les systèmes de dénitrification ont donc été alimentés avec de l'air durant près de 2 jours et la recirculation à travers la colonne de calcaire a continué de fonctionner en vain, entraînant une augmentation drastique de la dureté en fin de période.

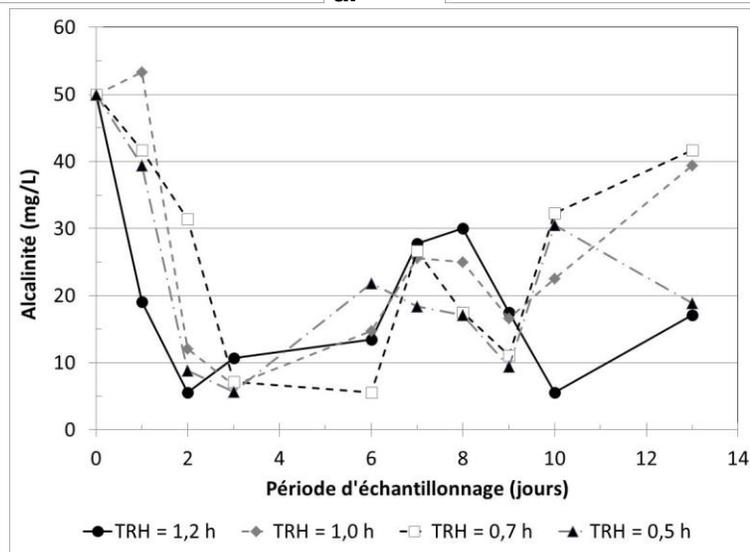
En résumé de l'ensemble des essais réalisés en mode continu, l'essai qui s'est montré le plus performant d'un point de vue efficacité de dénitrification est celui réalisé avec un TRH de 1,2 h. Cependant, la diminution drastique du pH et de l'alcalinité observée suggère qu'avec un tel TRH, le système de dénitrification risque des perturbations à long terme, alors qu'avec un TRH plus élevé (1,5 h) la dénitrification est efficace et le pH et l'alcalinité de l'effluent demeurent stables par rapport aux conditions initiales. Par conséquent, un TRH de 1,5 h a été retenu pour les essais portant sur l'étude de la configuration soufre/calcaire et du ratio S/C optimums et sur l'influence de la concentration initiale en nitrates sur le procédé de dénitrification.



a.



b.



c.

Figure 4–14 Évolution du pH (a), des NO<sub>x</sub> (b) et de l'alcalinité (c) dans les effluents issus des quatre bioréacteurs de dénitrification opérés en mode continu aux TRH de 1,2, 1,0, 0,7 et 0,5 h et avec un TRH<sub>c</sub> de 4,8 h

## 4.5.2 Étude de la configuration soufre/calcaire

### 4.5.2.1 Détermination du rapport S/C optimal

Des essais complémentaires ont été réalisés, en appliquant le TRH optimal défini précédemment, dans les colonnes de type P afin d'évaluer l'influence du ratio soufre/calcaire sur les performances de dénitrification et de déterminer la meilleure proportion soufre/calcaire à utiliser. En considérant le fait que l'enlèvement des nitrates a été efficace pour tous les TRH testés au niveau des bioréacteurs, les colonnes de type P ont été opérées avec différents ratios S/C en appliquant des TRH longs de 6,0 et de 3,0 h. Chaque essai a duré une semaine durant laquelle le débit d'alimentation a été progressivement augmenté afin d'acclimater la biomasse en configuration soufre/calcaire mélangée au mode continu et de faciliter le fonctionnement des colonnes en question sous le TRH optimal qui est de 1,5 h.

Le [Tableau 4-3](#) présente les rendements d'enlèvement des nitrates obtenus pour les essais réalisés en présence de différents ratios massiques S/C testés. L'augmentation du pourcentage de calcaire utilisé par rapport à celui du soufre entraîne une diminution du rapport soufre/calcaire. Dépendamment du ratio S/C, les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence qu'un TRH de 1,5 h est nettement suffisant pour garantir une dénitrification totale (100% d'abattement avec un ratio S/C = 1/1 et 3/2) ou quasi-totale (70% d'abattement pour un ratio S/C = 9/1) dès le premier jour d'échantillonnage, à l'exception de l'essai où le soufre a été employé seul. En effet, les profils d'évolution de la teneur résiduelle en NOx obtenus pour les différents ratios S/C testés viennent confirmer qu'une durée de 1,5 h est bel et bien suffisante pour garantir une bonne efficacité de dénitrification (TRH optimal).

**Tableau 4-3 Taux d'enlèvement des nitrites/nitrates obtenus pour les différents ratios massiques S/C après 1, 3 et 7 jours**

Ratio S/C (m/m)		Soufre seul	1/1	3/2	7/3	4/1	9/1
Rendement d'enlèvement des NOx (%)	Jour 1	10,0	99,8	99,9	92,2	86,7	67,6
	Jour 3	19,8	99,7	99,7	93,7	86,7	65,5
	Jour 7	53,5	100	99,9	99,8	99,7	99,6

La [Figure 4-15](#) présente les profils d'évolution du pH, de l'alcalinité, de la teneur résiduelle en NO<sub>x</sub> et de la dureté obtenus au cours de ces essais réalisés avec un TRH de 1,5 h (les données obtenues pour les TRH de 6,0 et 3,0 h ne sont pas présentés afin de ne pas alourdir la présentation des résultats. Selon la [Figure 4-15d](#), le profil de dureté de la colonne témoin (soufre seul) indique une évolution stable de cette dernière tout au long de la période d'échantillonnage, indiquant l'absence des ions calcium et magnésium dans le support solide (soufre). Pour les essais réalisés en présence de différents ratios S/C, une augmentation de la dureté est observée le 1<sup>er</sup> jour suivie par une stabilisation. Ces essais indiquent que le calcaire présent dans les colonnes de dénitrification se solubilise partiellement lors du procédé de traitement. Selon les résultats présentés à la [Figure 4-15b](#), il est observé que l'absence du calcaire comme substrat tampon affecte de manière importante l'efficacité de dénitrification. En effet, l'essai de dénitrification autotrophe comportant seulement du soufre s'est avéré être le moins efficace, avec un enlèvement maximal de seulement 61 % des nitrates observé au 10<sup>ième</sup> jour de fonctionnement. De plus, l'efficacité de cette colonne témoin (soufre seulement) a été grandement affectée au-delà de cette date en raison d'une baisse considérable du pH (en dessous de 6) et de l'alcalinité qui pourrait expliquer l'augmentation de la teneur résiduelle des NO<sub>x</sub> observée. Effectivement, une baisse de pH en-dessous des conditions optimales de croissance et de survie des bactéries autotrophes (pH 6 à 9, Holt *et al.*, 1994) pourrait ralentir voire même stopper le processus de dénitrification et entraîner une accumulation des nitrites quand la réaction de dénitrification est incomplète (Simard, 2010). Cependant, l'évolution du pH pour les différents ratios S/C testés est demeurée relativement stable dans la mesure où les conditions optimales du pH ont été préservées grâce à l'ajout de calcaire. Une fois de plus, l'efficacité du calcaire est éprouvée et la nécessité d'utiliser un agent neutralisant lors de la dénitrification autotrophe sur soufre est confirmée. Le fait d'employer le calcaire au cours de la dénitrification autotrophe sur soufre aide à mieux contrôler l'acidité générée suite à la réduction des nitrates. En effet, avec les différents ratios S/C testés, il semblerait que plus la quantité de calcaire utilisée est importante et plus l'efficacité d'enlèvement des nitrates est importante et meilleur est l'effet de la neutralisation des ions H<sup>+</sup> produit par le calcaire.

De plus, les résultats des essais réalisés avec des ratios 1/1 et 3/2 mettent en évidence des profils de pH, de dureté et d'alcalinité relativement semblables avec des rendements d'élimination sensiblement similaires après 1, 3 et 7 jours de fonctionnement ([Tableau 4-3](#)). De même que pour la série d'essais réalisés avec des ratios 7/3 et 4/1, il semblerait que malgré la variation du pourcentage massique %S-%C de 70-30 à 80-20 afin d'augmenter la quantité de calcaire introduite, l'efficacité de dénitrification soit demeurée identique. Par conséquent, dans le but de déterminer le ratio S/C optimal, il a été important de concilier l'efficacité de dénitrification avec le coût de revient des deux matériaux. Sachant que le soufre est plus dispendieux que le calcaire, des quantités égales de soufre et de calcaire (S/C = 1/1) ont été considérées comme étant le ratio S/C optimal pour le procédé de DASC développé.

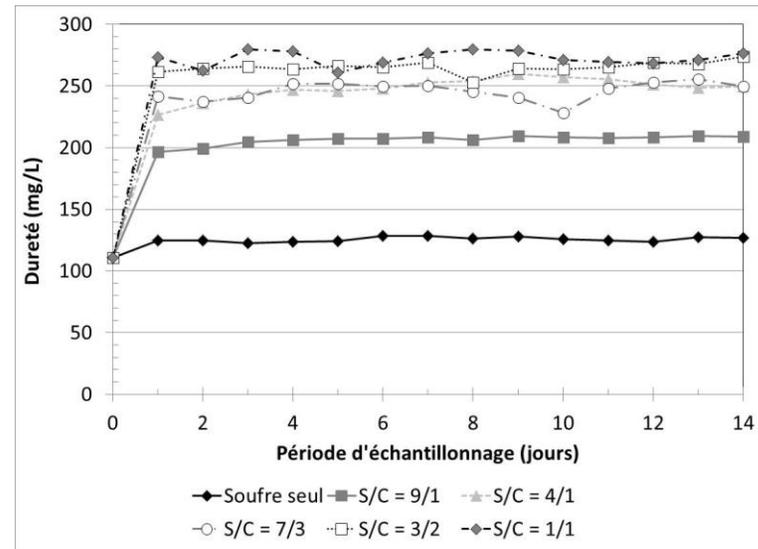
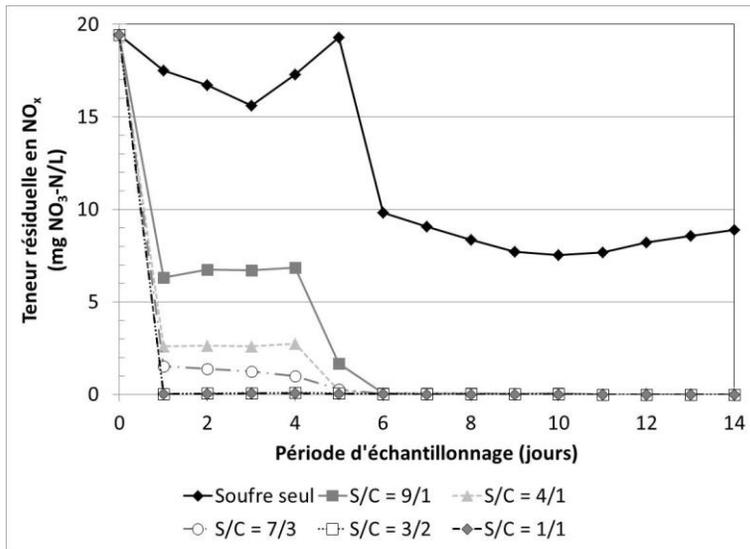
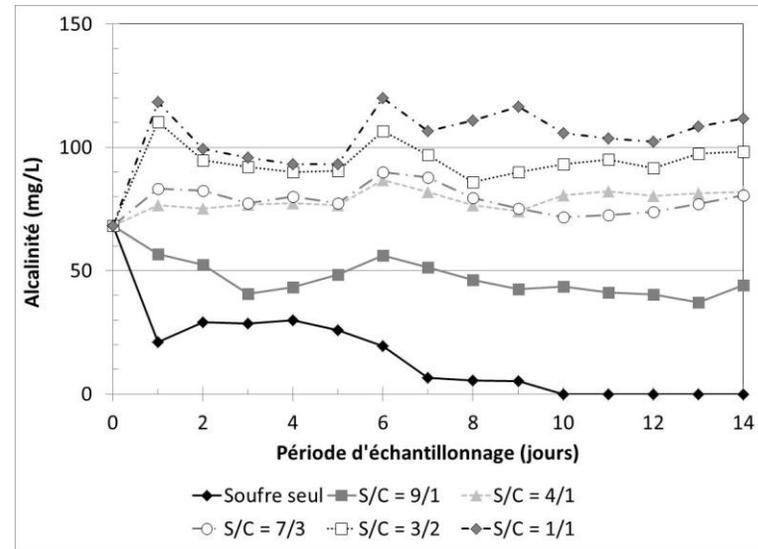
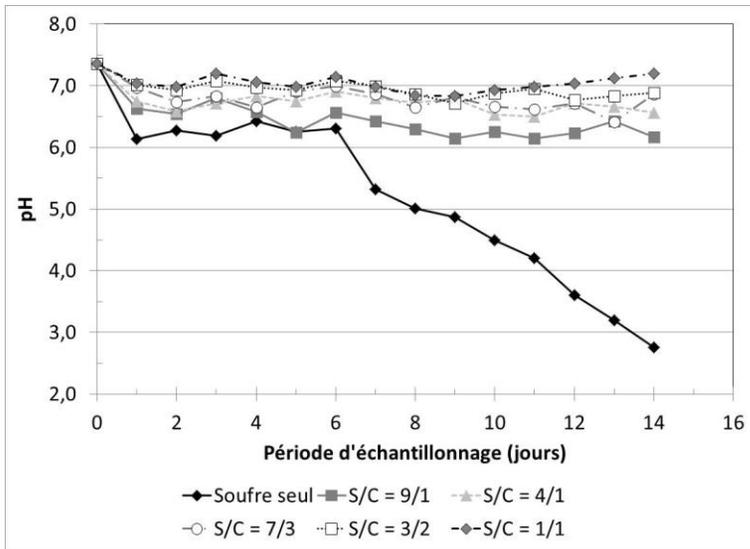


Figure 4–15 Évolution du pH (a), de l'alcalinité (b), des NO<sub>x</sub> (c) et de la dureté (d) des effluents issus des colonnes de type P opérées en mode continu avec un TRH fixé à 1,5 h et remplies avec du soufre et du calcaire selon différents ratios S/C compris entre 9/1 et 1/1

#### 4.5.2.2 Détermination de la configuration soufre/calcaire optimale

Des essais complémentaires permettant l'étude de diverses configurations soufre/calcaire (mélangés, séparés ou en couches superposées) ont été réalisés avec le ratio optimal S/C = 1/1, en appliquant dans un premier temps un TRH de 4,0 h et dans un second temps, le TRH optimal de 1,5 h.

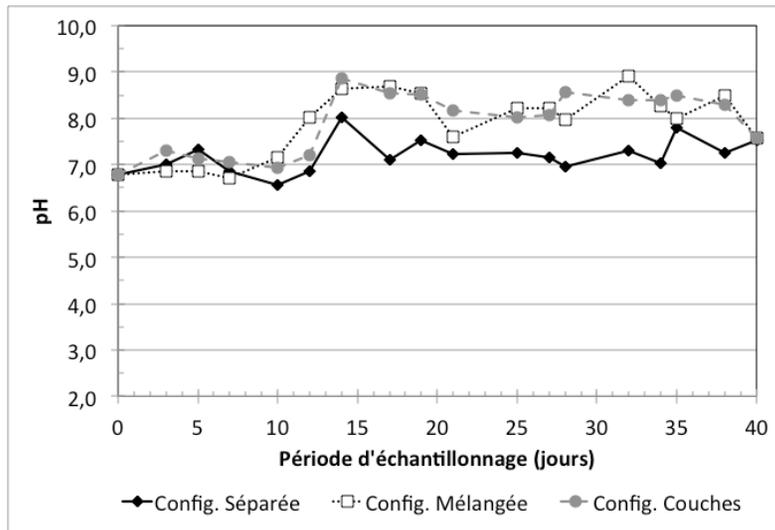
Le [Tableau 4-4](#) présente l'évolution du pH, de l'alcalinité et des rendements d'enlèvement des NO<sub>x</sub> obtenue pour les essais réalisés avec différentes configurations soufre/calcaire et un TRH fixé à 4,0 h. Ces résultats mettent en évidence une dénitrification totale des nitrates (rendements d'enlèvement ≥ 99%) après 7 jours de fonctionnement seulement pour les trois configurations testées. Étant donnée l'évolution constante du pH proche des conditions optimales de développement des bactéries dénitrifiantes et les performances de dénitrification observées, il est remarqué que la croissance et l'acclimatation des bactéries dénitrifiantes est favorable après seulement 8 jours et que les essais peuvent être poursuivis avec un TRH optimal de 1,5 h.

**Tableau 4-4** Suivi du pH, de l'alcalinité et du rendement d'enlèvement des nitrites/nitrates obtenus pour les bioréacteurs de dénitrification opérés selon trois configurations S/C différentes (séparés (CS), mélangés (CM) et en couches superposées (CCS)) avec TRH = 4,0 h (Affluent: pH = 6,61; Alcalinité = 132,2 mg/L et [NO<sub>x</sub>]<sub>ini</sub> = 20,9 mg NO<sub>3</sub>-N/L) et S/C = 1/1

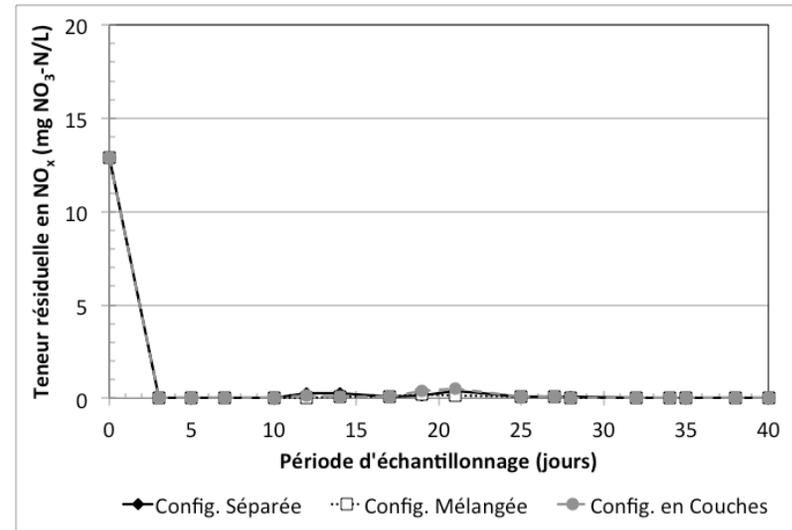
Paramètres	Jours d'échantillonnage			
	1	4	7	8
<b>pH</b>				
CS	6,35	6,69	6,26	6,36
CM	6,86	6,93	6,99	6,91
CCS	6,70	6,75	6,79	6,97
<b>Alcalinité (mg/L)</b>				
CS	65,0	51,0	62,0	61,0
CM	94,0	110	124	142
CCS	100	90,0	130	128
<b>Rendement d'élimination des NO<sub>x</sub> (%)</b>				
CS	13,9	43,5	99,6	100
CM	26,8	72,1	100	100
CCS	18,2	77,4	99,9	100

Les profils de pH et d'alcalinité (Figures 4-16a et 4-16c) obtenus pour les configurations de soufre et de calcaire mélangés et en couches superposées sont pour ainsi dire similaires, avec un pH moyen de  $7,86 \pm 0,73$  et de  $7,91 \pm 0,67$ , respectivement. La configuration de soufre et calcaire séparés a montré une évolution satisfaisante du pH (Figure 4-16a) avec un pH moyen de  $7,20 \pm 0,37$ , légèrement inférieur à ceux enregistrés avec les autres configurations. Cependant, l'évolution de l'alcalinité met en évidence une diminution moyenne de 32% par rapport aux conditions initiales contre une augmentation moyenne de 6 et de 13% pour les configurations mélangés et en couches superposées, respectivement. Il semblerait que l'effet de neutralisation du calcaire soit plus prononcé quand le calcaire et le soufre élémentaire ne sont pas dans des colonnes séparées. Avec une concentration initiale moyenne en  $\text{NO}_x$  d'environ 13 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$  (Figure 4-16b), l'enlèvement des nitrites/nitrates a été totale à partir du 3<sup>ème</sup> jour de fonctionnement des bioréacteurs de dénitrification pour les trois configurations testées, avec un minimum d'abattement des  $\text{NO}_x$  de 96%. Par conséquent, il est noté que l'efficacité de dénitrification est restée optimale avec un TRH de 1,5 h et ce, quel que soit la configuration soufre/calcaire utilisée.

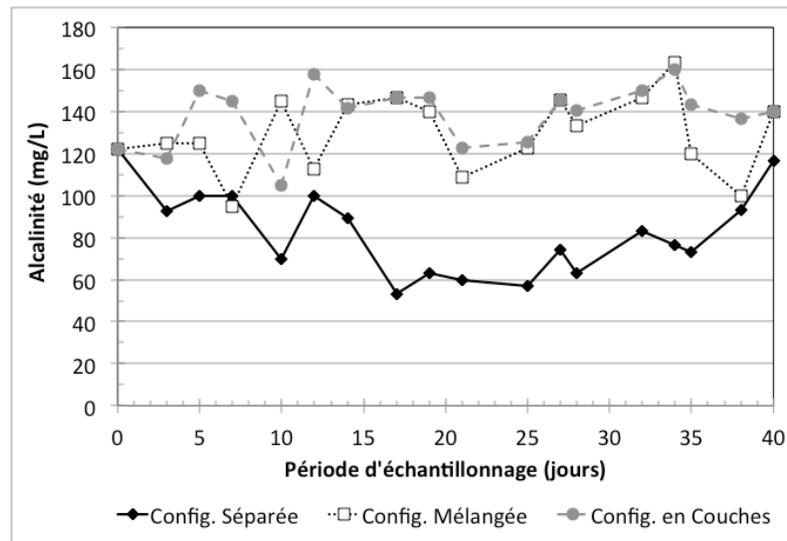
Dans la littérature scientifique, la configuration de soufre/calcaire mélangés demeure la plus utilisée pour un système de DASC (Sengupta *et al.*, 2006; Zhang, 2004; Zhou *et al.*, 2011). À notre connaissance, aucune étude faisant référence à la DASC en présence de soufre et de calcaire placés en couches superposées n'a été rapportée à ce jour. De plus, malgré le fait que les essais réalisés avec les configurations des matériaux mélangés et en couches superposées ont présenté des comportements sensiblement semblables, la mise en place à l'échelle pré-commerciale d'un tel procédé avec les matériaux mélangés dans le même bioréacteur est plus pratique que d'intégrer sous terre deux réacteurs séparés (contenant le soufre élémentaire ou le calcaire granulaire). En résumé, la configuration où le soufre et le calcaire sont mélangés a été jugée comme étant optimale dans le cas de notre projet de recherche.



a.



b.



c.

Figure 4–16 Évolution du pH (a), des  $\text{NO}_x$  (b) et de l'alcalinité (c) des effluents issus des bioréacteurs de dénitrification opérés en mode continu avec un ratio S/C = 1/1 et un TRH fixé à 1,5 h, selon trois configurations soufre/calcaire différentes (séparée, mélangée et en couches superposées)

### 4.5.3 Effet de la concentration initiale en nitrates

Des essais complémentaires ont été réalisés afin d'évaluer l'influence de la teneur initiale en nitrites/nitrates sur les performances du procédé de dénitrification autotrophe sur soufre et calcaire développé. La [Figure 4-17](#) présente l'évolution du pH, de la teneur résiduelle en  $\text{NO}_x$  et de l'alcalinité observée pour des essais menés en présence d'eaux usées contenant entre 10 et 60 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$  initialement. Pour l'ensemble des essais réalisés avec différentes concentrations initiales en nitrites/nitrates comprises entre 10 et 60 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$ , le pH est resté relativement stable (pH 7,0–8,0). Une dénitrification totale a été observée dès la seconde journée de fonctionnement des colonnes de dénitrification ([Figures 4-17a](#) et [4-17b](#)), permettant de mettre en évidence que le procédé de DASC est très performant sous les conditions opératoires estimées optimales de TRH, de ratio S/C et de configuration soufre/calcaire et ce, quel que soit la teneur initiale en nitrates présents dans l'affluent à traiter. En effet, pour un système de DASC des eaux souterraines et des eaux usées municipales avec des concentrations initiales en nitrates comprises entre 20 et 40 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$ , Zhou *et al.* (2011) ont estimé qu'il est plus judicieux d'appliquer un TRH de 4,0 h pour obtenir une meilleure efficacité de dénitrification, ce qui a été aisément comblé avec un TRH de seulement 1,5 h.

Une importante augmentation de l'alcalinité (de 100 à 250 mg/L) a été observée au cours des cinq premiers jours de fonctionnement des colonnes de dénitrification pour les différents essais réalisés et ce, en dépit d'une efficacité de dénitrification exemplaire dès le 2<sup>ième</sup> jour de fonctionnement. Cette augmentation de l'alcalinité est probablement due à une solubilisation plus importante du calcaire avec le ratio S/C = 1/1, comparativement à la consommation de l'alcalinité observée au moment de la réduction des nitrates.

Selon les résultats obtenus, il est possible de conclure que notre procédé de DASC développé à l'échelle du laboratoire a prouvé sa robustesse pour dénitrifier une vaste gamme d'affluents ayant des teneurs en nitrates et des charges volumiques variées.

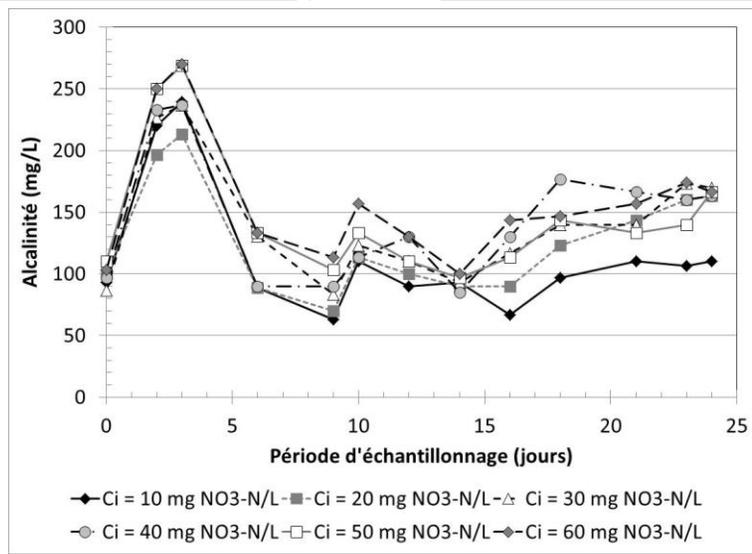
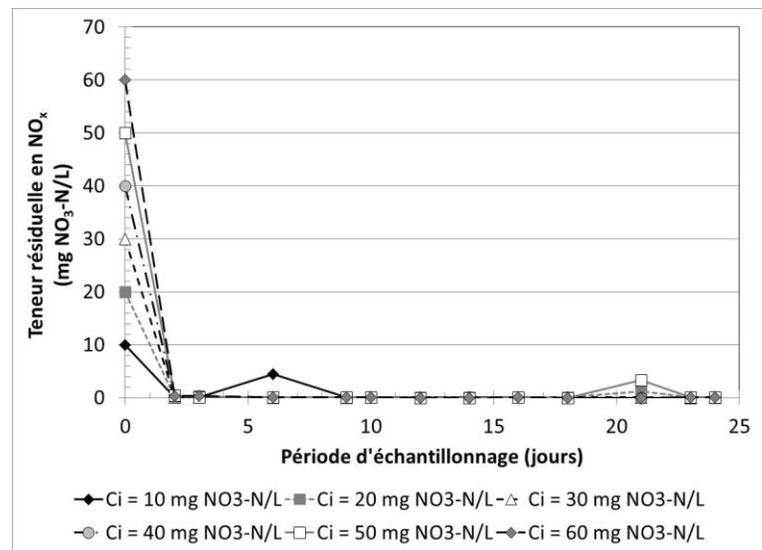
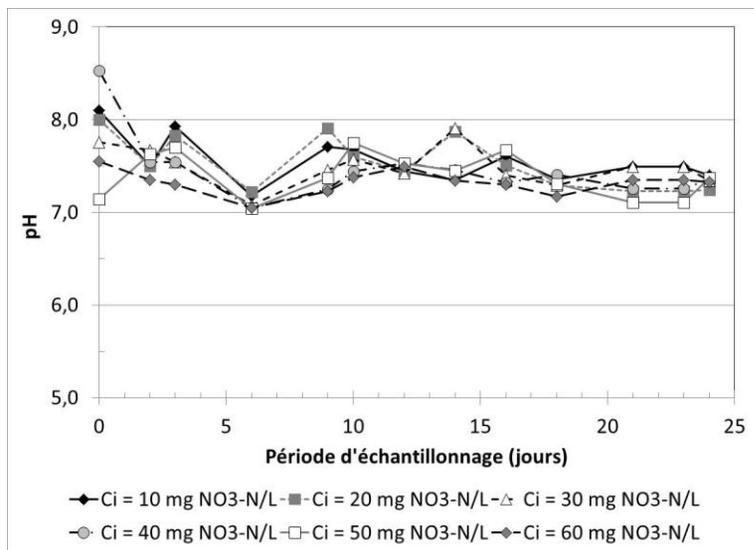


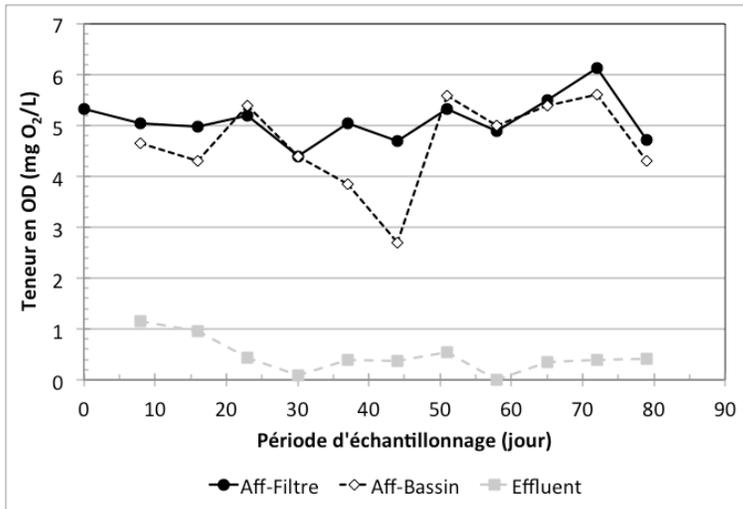
Figure 4–17 Évolution du pH (a), des NO<sub>x</sub> (b) et de l'alcalinité (c) des effluents issus des colonnes de type P opérées en mode continu avec un ratio S/C = 1/1 et un TRH fixé à 1,5 h, pour différentes concentrations initiales en NO<sub>x</sub> (de 10 à 60 mg NO<sub>3</sub>-N/L)

## 4.6 Démonstration du pilote de DASC pré-commercial

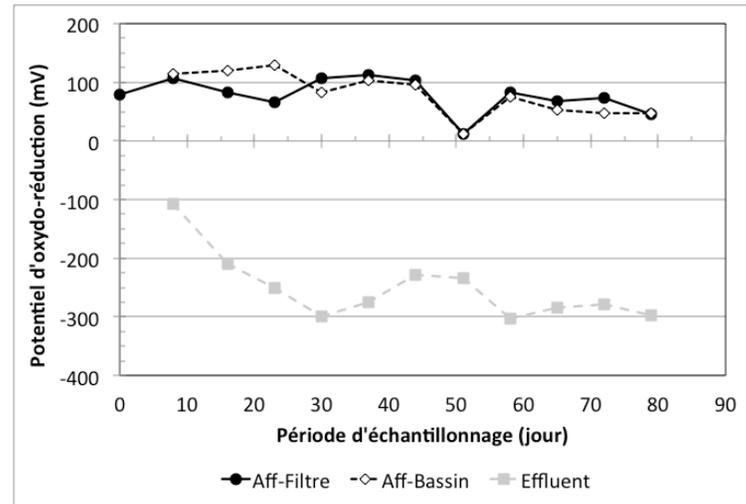
### 4.6.1 Évolution de l'oxygène dissous, du POR et de la température

En s'appuyant sur les essais réalisés à l'échelle laboratoire, un bassin d'égalisation (sans système d'agitation) a été placé en amont du bioréacteur de dénitrification afin d'homogénéiser l'effluent du procédé Filtre Coco PTA (considéré comme l'affluent du bioréacteur de dénitrification) et de minimiser l'entrée d'oxygène dissous (OD) dans les colonnes de dénitrification. Étant donné que cet effluent arrive d'une manière discontinue, le bassin d'égalisation a été construit de manière à contenir un volume suffisant afin de fournir une alimentation continue et de délivrer un débit constant au bioréacteur de dénitrification.

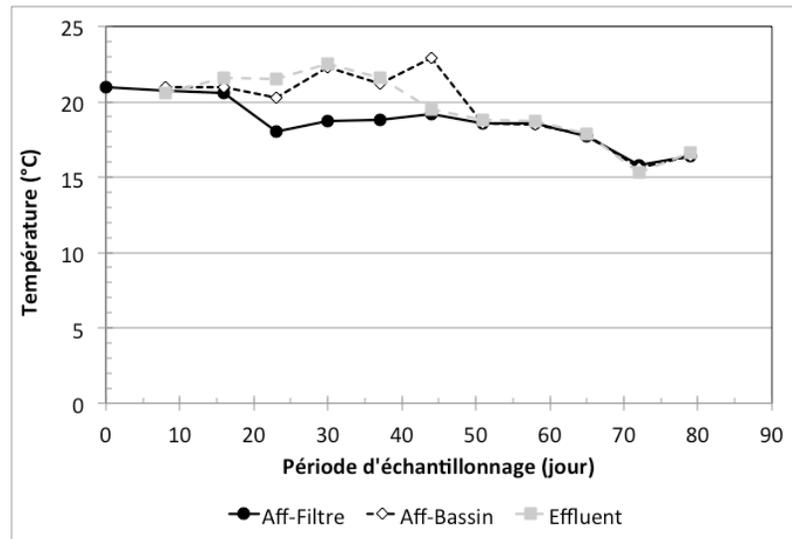
La [Figure 4-18a](#) présente le suivi de la teneur en OD à l'entrée et à la sortie du pilote de dénitrification. Les résultats de suivi obtenus indiquent qu'il y a une réelle variation de la teneur en OD entre l'affluent, le bassin et l'effluent ; suggérant une consommation de l'OD au cours de la réaction de dénitrification et des conditions d'anoxie dans le bioréacteur de dénitrification. Les teneurs en OD dans l'affluent, comprises entre 4,3 et 6,1 mg/L, n'ont pas empêché la dénitrification d'avoir lieu. Kuai et Verstraete (1999) ont mis en évidence que la dénitrification est efficace (jusqu'à 86%) en présence d'une teneur en OD de 2 à 5 mg/L avec un système à base de soufre et de chaux opéré à un TRH de 2 à 3 h. Cependant, étant donné qu'il n'y a pas de variabilité visible de la teneur en OD entre l'affluent provenant du Filtre Coco PTA (noté Aff-Filtre) et celui provenant du bassin d'égalisation (noté Aff-Bassin), l'hypothèse considérée au départ qu'un réservoir pourrait diminuer la teneur en OD à l'entrée du système de dénitrification est à abandonner. Cependant, la nécessité d'homogénéiser l'affluent et les bienfaits d'un bassin d'égalisation demeurent utiles dans le cadre de ce projet de recherche.



a.



b.



c.

Figure 4-18 Évolution de la teneur en OD (a), du POR (b) et de la température (c) de l'affluent provenant du Filtre Coco PTA (Aff-Filtre), de l'affluent provenant du bassin d'égalisation (Aff-Bassin) et de l'effluent du BDA

Dans un environnement biologiquement réactif, le POR renseigne sur l'état de l'accepteur d'électron présent dans ce milieu (Holman et Wareham, 2003). La tendance de l'évolution du POR (Figure 4-18b) dans l'affluent et l'eau du bassin est similaire à celle observée pour la teneur en OD, avec un minimum de 51 mV et un maximum de 129 mV. Ces valeurs de POR sont caractéristiques d'un système non exempt d'oxygène. De plus, ces résultats viennent confirmer qu'il n'y a pas de variation physico-chimique de l'affluent à la suite de son stockage dans le bassin. Par contre, l'évolution du POR obtenue pour l'effluent de dénitrification présente des valeurs négatives (atteignant -300 mV au 30<sup>ième</sup> jour de fonctionnement), caractéristiques d'un environnement anaérobie soulignant la formation d'un milieu réducteur dans le bioréacteur de dénitrification, aspect révélateur du bon déroulement de la réaction de dénitrification.

Les profils d'évolution de la température présentés à la Figure 4-18c pour l'Aff-Filtre, l'Aff-Bassin et l'effluent mettent en évidence une évolution quasi-similaire avec un minimum de 15,3°C et un maximum de 22,9°C sur la période d'échantillonnage comprise entre le 9 juillet 2014 et le 26 septembre 2014. Il est à noter que ces températures demeurent avantageuses pour la croissance et la survie des bactéries dénitrifiantes (Amatya et *al.*, 2005).

#### 4.6.2 Évaluation du comportement du BDA

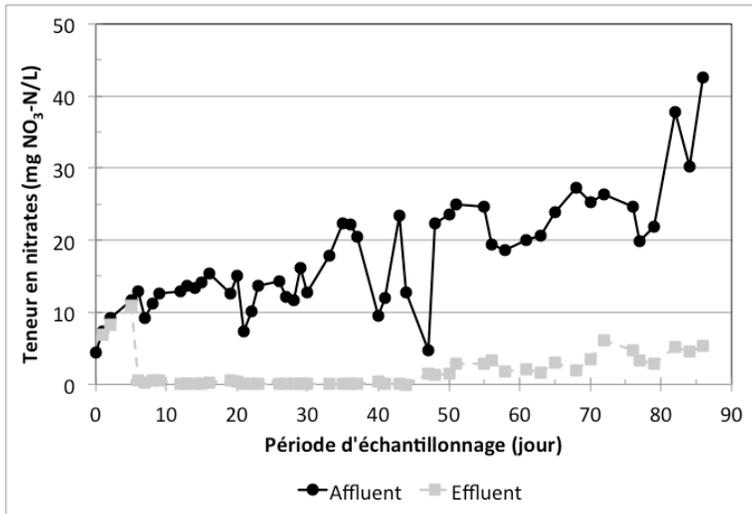
Un suivi régulier du fonctionnement en continu du pilote pré-commercial a permis l'étude de son comportement tout au long de la période d'échantillonnage qui a duré environ 3 mois. Au début de la période de suivi, le pilote a été opéré avec un débit journalier de 1 000 L/jr et un temps de dose de 15 min (jusqu'au 44<sup>ième</sup> jour), puis de 30 sec. Ensuite, le débit et le temps de dose ont été augmentés à 1 500 L/jr et 2 min, respectivement au 71<sup>ième</sup> jour du suivi du pilote (Tableau 3-11).

Selon la méthode d'analyse des nitrates ( $\text{NO}_3$ ), la teneur de ces derniers est déduite en soustrayant la teneur en nitrites ( $\text{NO}_2$ ) de celle en nitrites/nitrates ( $\text{NO}_x$ ). Par conséquent, en ayant les teneurs de chacune de ces espèces, il a été facile de détecter une accumulation éventuelle des nitrites au cours de la réaction de dénitrification ayant lieu dans le bioréacteur de DASC.

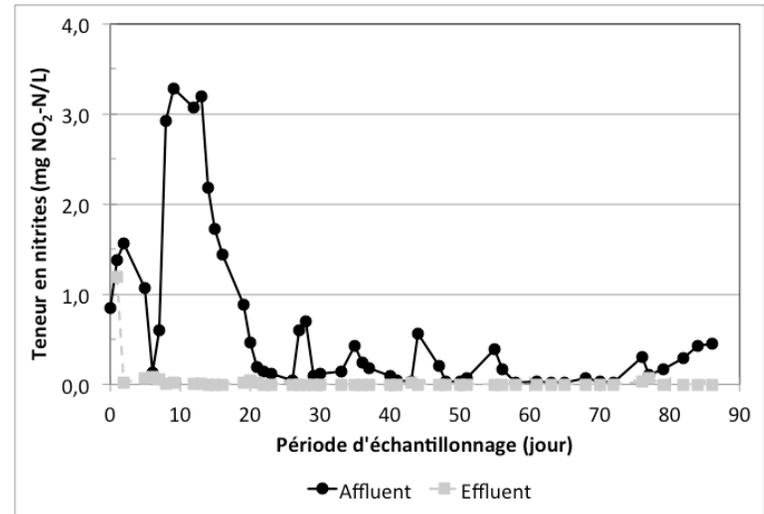
Les teneurs en nitrites ([Figure 4-19b](#)) présentes dans l'affluent demeurent négligeables sur la totalité de la période de suivi (inférieures à 1,5 mg NO<sub>2</sub>-N/L), mis à part un léger accroissement entre le 8<sup>ième</sup> et le 15<sup>ième</sup> jour de fonctionnement du pilote, comparativement aux teneurs en nitrates présentes (11,3 - 42,5 mg NO<sub>3</sub>-N/L).

En effet, les profils de teneurs en nitrates et en NO<sub>x</sub> présents dans l'affluent, présentés aux [Figures 4-19a et 4-19c](#) respectivement, sont sensiblement identiques, mettant en évidence une présence négligeable des nitrites dans l'affluent et l'effluent. Par conséquent, l'hypothèse que les nitrites sont considérés comme instables et rapidement oxydables en nitrates est bien confirmée (Santé Canada, 2013).

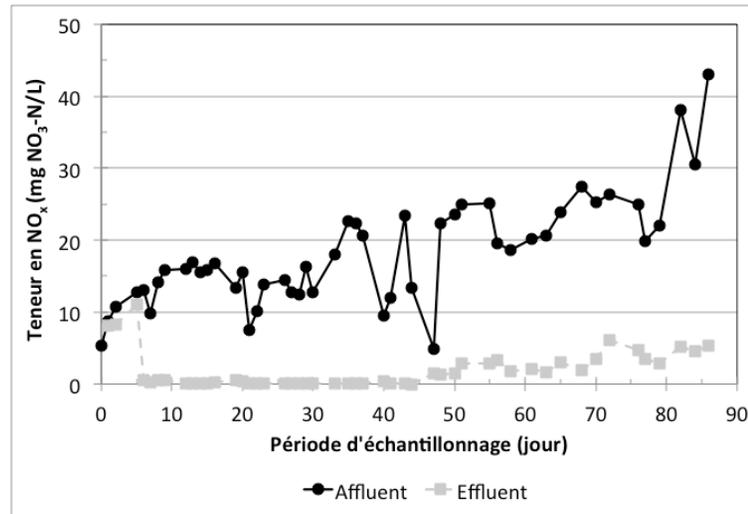
Sachant que le Filtre Coco PTA est entré en fonction le 13 juin 2014, soit 26 jours avant le début du fonctionnement du bioréacteur pilote de dénitrification (09 juillet 2014), l'efficacité de nitrification du biofiltre de PTA a continué de s'améliorer progressivement en fonction du temps nécessaire au développement des bactéries nitrifiantes. L'évolution de la teneur en nitrates présents dans l'affluent ([Figure 4-19a](#)) montre de faibles teneurs en nitrates en début de la période de suivi (4,5 mg NO<sub>3</sub>-N/L à jr = 0), suivies d'une augmentation des teneurs en nitrates au cours de la durée de suivi du pilote (jusqu'à 42,5 mg NO<sub>3</sub>-N/L à jr = 86).



a.



b.



c.

Figure 4–19 Évolution de la teneur en nitrates (a), en nitrites (b) et en NO<sub>x</sub> (c) présents dans l'affluent et dans l'effluent du BDA pilote (du 09-07 au 03-10-2014) avec  $T_{\text{moy}} = 19,6^{\circ}\text{C}$  et  $\text{OD}_{\text{moy}} = 4,6 \text{ mg O}_2/\text{L}$  à l'entrée du BDA,  $\text{TRH} = 1,4 \text{ h}$

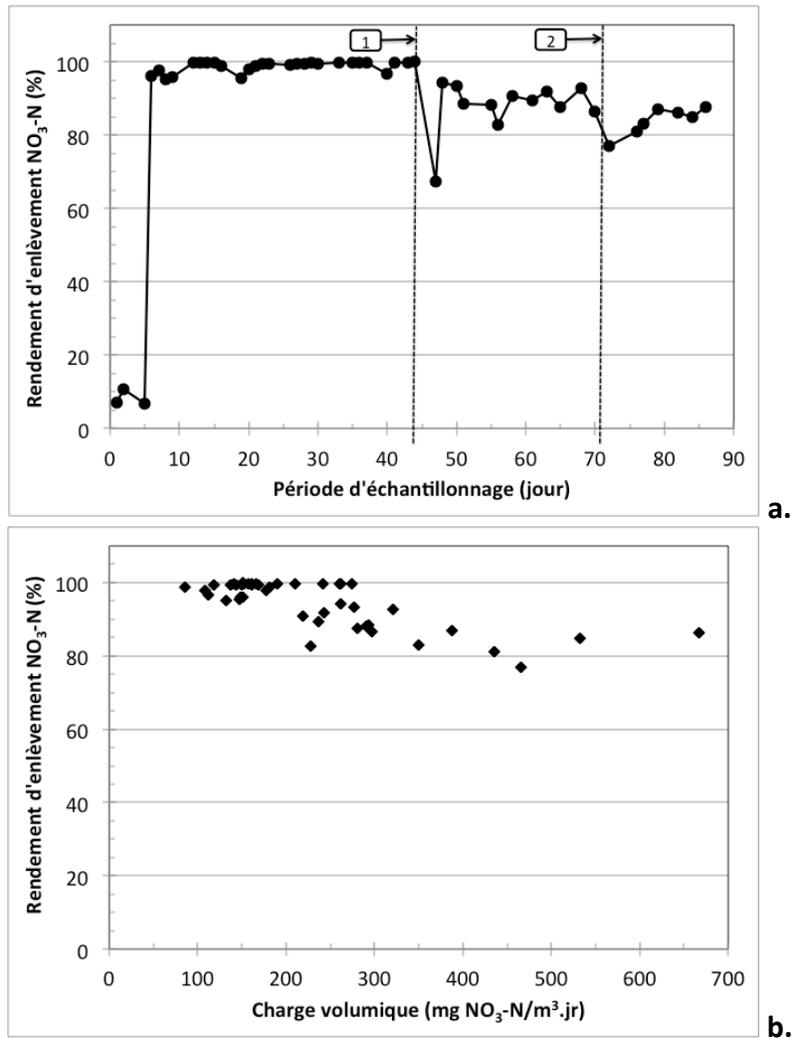
Les rendements de dénitrification du BDA présentés à la [Figure 4-20a](#) montrent que la réduction des nitrates a réellement débuté au 6<sup>ième</sup> jour de fonctionnement du pilote avec un rendement d'enlèvement des nitrates atteignant 96%. En s'appuyant sur l'évolution du POR ([Figure 4-18b](#)) dans l'effluent du BDA et la première lecture négative du POR (-107 mV) notée au 8<sup>ième</sup> jour de fonctionnement du pilote, il a été possible d'affirmer que le développement des bactéries dénitrifiantes a été atteint en 6 jours. Nous avons remarqué qu'à une plus grande échelle, la durée de développement des bactéries a été nettement inférieure à celle constatée durant la phase d'optimisation de l'étape de développement et d'acclimatation de la microflore dénitrifiante (21 jours). Il est important de noter que le mode d'alimentation choisi pour le pilote afin de simuler une résidence isolée, a forcément amélioré l'efficacité de développement des bactéries puisque le pilote a été considéré au repos durant une période de la journée où le système de dénitrification n'a pas été alimenté par l'effluent du procédé Filtre Coco PTA.

Au-delà de cette période de 6 jours, le bioréacteur de dénitrification a atteint son équilibre, en montrant une excellente performance de dénitrification, avec des rendements d'enlèvement des nitrates atteignant 99,8% durant les 44 premiers jours de fonctionnement du pilote. Pour un procédé de DASC fonctionnant avec des TRH supérieurs à 6,0 h, Flere et Zhang (1999) ont obtenu des rendements de dénitrification compris entre 90 et 96%, alors qu'avec un TRH de 1,5 h, l'efficacité a été grandement affectée pour les réacteurs fonctionnant avec des concentrations de 30 à 60 NO<sub>3</sub>-N mg/L. D'un autre côté, Zhang (2004) a montré qu'il a été possible de dénitrifier 80% des nitrates entrants dans un bioréacteur à lit fixe opéré avec un TRH de 2,5, avec une concentration initiale de 20 mg NO<sub>3</sub>-N /L.

Cependant, l'augmentation brusque de l'intensité de dose de 2,8 à 85 L/min au 44<sup>ième</sup> jour (situation 1) a entraîné une diminution ponctuelle de l'efficacité de dénitrification avec un rendement d'enlèvement des nitrates atteignant 67% ([Figure 4-20a](#)). Cet important changement de débit a dû perturber la microflore bactérienne et faire décoller une portion de la biomasse formée sur le soufre et/ou sur le calcaire. Toutefois, il n'a pas fallu beaucoup de temps pour que la microflore s'adapte au nouveau débit et que le système reprenne sa performance de dénitrification avec des rendements satisfaisants allant jusqu'à 94%, mais légèrement inférieurs à ceux enregistrés avant l'augmentation de l'intensité de dose.

En espérant améliorer à nouveau l'efficacité de dénitrification du pilote, l'intensité de dose a été diminuée de 85 à 21,3 L/min au 71<sup>ème</sup> jour, en augmentant le temps de dose de 0,5 à 2,0 min. En augmentant le débit de traitement de 1 000 à 1 500 L/jr (situation 2), le pilote a également été affecté avec une légère diminution du rendement de dénitrification enregistrée à 77% (Figure 4-20a). Il est clair qu'en ayant fait varier la charge volumique, le comportement du BDA a été affecté. En effet, la Figure 4-20b qui présente l'évolution du rendement d'enlèvement des nitrates en fonction de la charge volumique à l'entrée du pilote vient appuyer cette constatation. Pour le ratio volumique S/C de 1,3/1 appliqué dans la démonstration du pilote à l'échelle pré-commerciale, le taux de charge volumique maximal a été d'environ 300 g NO<sub>3</sub>-N/m<sup>3</sup>.jr (Tableau 3-10). Ce résultat approximatif est comparable aux résultats obtenus par Koenig et Liu (2002). Ces derniers ont montré qu'avec une concentration initiale d'environ 60 mg NO<sub>3</sub>-N/L, des taux de charge volumique maximums de 320 et 260 g NO<sub>3</sub>-N/m<sup>3</sup>.jr ont été enregistrés pour des ratios volumiques S/C de 2/1 et 1/1, respectivement. Cependant, d'une manière générale, le rendement de dénitrification du pilote est resté supérieur à 81% pour des charges volumiques appliquées comprises entre 90 et 680 g NO<sub>3</sub>-N/m<sup>3</sup>.jr (Figure 4-20). Ce résultat vient confirmer l'hypothèse suggérée suite aux résultats obtenus à l'échelle du laboratoire qui a été de souligner la robustesse du procédé de DASC pour des charges volumiques allant de 160 à 960 g NO<sub>3</sub>-N/m<sup>3</sup>.jr.

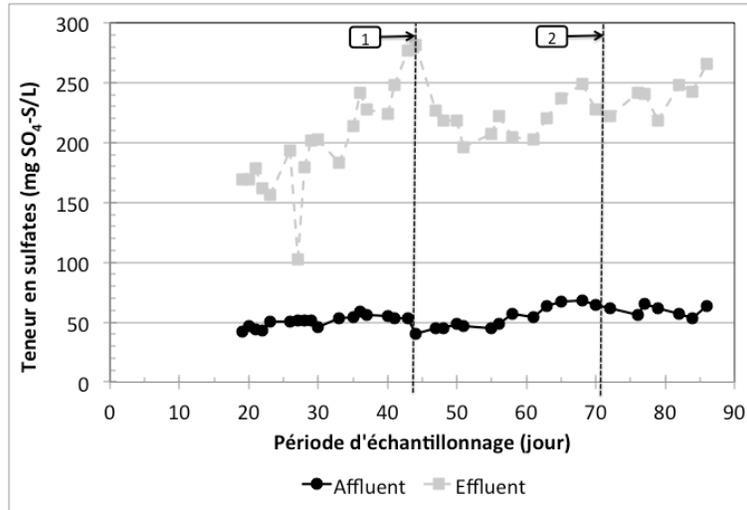
Malgré cette légère perte d'efficacité de dénitrification à cause de la variation du taux de charge volumique, les rendements d'enlèvement des nitrates sont restés satisfaisants et supérieurs à 81% durant toute la période de suivi du pilote (du 09-07 au 03-10-2014) avec des teneurs résiduelles en nitrates inférieures à 6 mg NO<sub>3</sub>-N/L (Figure 4-19a).



**Figure 4-20** Évolution des rendements d'enlèvement des nitrates en fonction de la durée de fonctionnement du pilote (a) et en fonction de la charge volumique de l'affluent (b) (du 09-07 au 03-10-2014), avec 1) diminution du temps de dose à 30 sec et 2) augmentation du temps de dose à 2 min et augmentation du débit de traitement à 1 500 L/jr ( $T_{\text{moy}} = 19,6^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{TRH} = 1,4 \text{ h}$ )

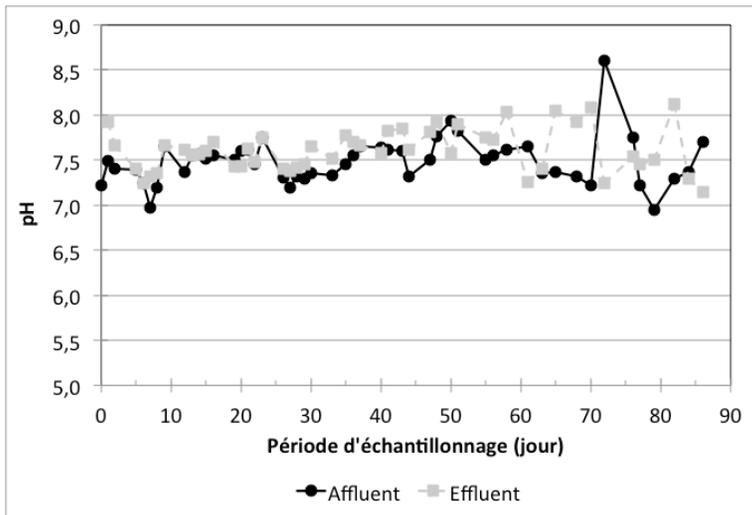
Le profil des teneurs en sulfates au cours du temps (Figure 4-21) appuie les résultats constatés avec les deux nouvelles situations auxquelles le pilote a été confronté. La baisse d'efficacité de dénitrification du pilote enregistrée en (1) et (2) a été accompagnée par une légère baisse de production des sulfates. En considérant la réaction de dénitrification complète avec l'atteinte de conditions d'anaérobie dans le bioréacteur, 1 mg NO<sub>3</sub>-N/L dénitrifié génère environ 7,54 mg

SO<sub>4</sub>-S/L (Liu et *al.*, 2009). Par conséquent, meilleur est le rendement d'enlèvement des nitrates, plus importante est la production des sulfates.

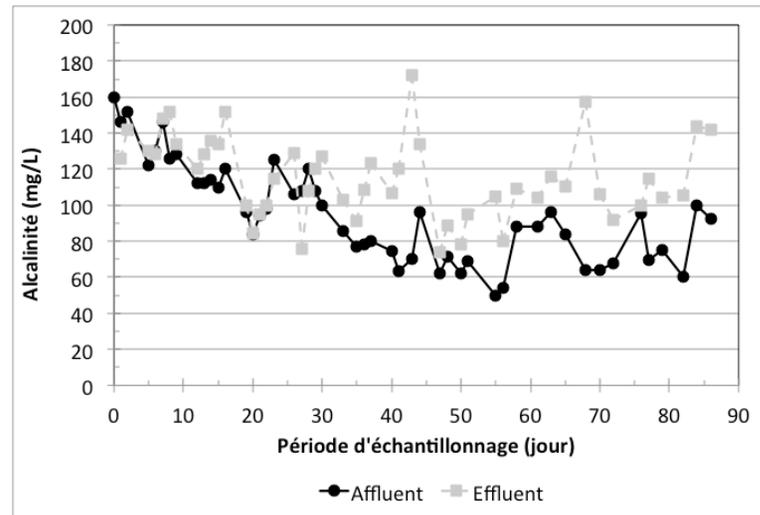


**Figure 4–21** Évolution de la teneur résiduelle en sulfates présents dans l'affluent et dans l'effluent du BDA pilote (du 09-07 au 03-10-2014), avec 1) diminution du temps de dose à 30 sec et 2) augmentation du temps de dose à 2 min et augmentation du débit de traitement à 1 500 L/jr ( $T_{\text{moy}} = 19,6^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{TRH} = 1,4 \text{ h}$ )

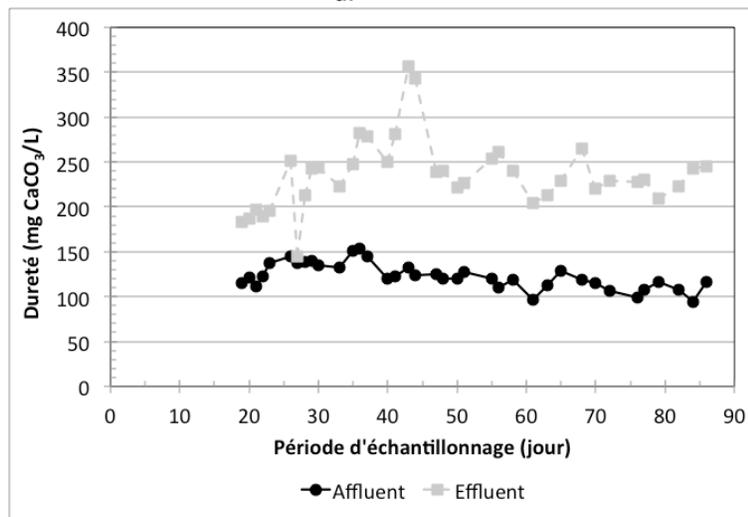
Le profil de pH présenté à la [Figure 4-22a](#) indique qu'il y a une bonne évolution du pH dans les conditions optimales de croissance et de survie des bactéries dénitrifiantes tout le long de la période de fonctionnement du pilote. Malgré la bonne progression de l'efficacité de dénitrification, les valeurs de pH et d'alcalinité ([Figure 4-22b](#)) de l'effluent sont restées voisines de celles mesurées dans l'affluent. Il semblerait que le calcaire ait amplement neutralisé l'acidité supposée être générée au cours de la réaction de dénitrification, avec un relargage assuré des ions calcium et magnésium lors de sa dissolution. En effet, l'augmentation considérable des valeurs de la dureté dans l'effluent du BDA ([Figure 4-22c](#)) par rapport à celles enregistrées dans l'affluent vient confirmer l'efficacité de neutralisation du calcaire. Comme à l'échelle du laboratoire, la performance du calcaire granulaire en tant que substrat tampon a également été éprouvée à l'échelle pré-commerciale.



a.



b.



c.

Figure 4–22 Évolution du pH (a), de l'alcalinité (b) et de la dureté (c) dans l'affluent et dans l'effluent du BDA pilote (du 09-07 au 03-10-2014;  $T_{\text{moy}} = 19,6^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{TRH} = 1,4 \text{ h}$ )

### 4.6.3 Efficacité de dénitrification selon la hauteur du garnissage

En prenant en considération la hauteur du gravier supportant le garnissage de soufre élémentaire granulaire et le calcaire granulaire qui est de 10 cm, l'étude de l'efficacité de dénitrification en fonction de la hauteur du lit fixe (garnissage) a été suivie selon trois hauteurs différentes : H = 14, 46 et 81 cm. Le [Tableau 4-5](#) présente les moyennes des différents paramètres suivis durant 62 jours (du 31-07 au 01-10-2014) en fonction des hauteurs du lit de dénitrification autotrophe.

**Tableau 4-5** Déroulement de la réaction de dénitrification autotrophe en fonction de la hauteur du lit filtrant

Paramètres suivis	H = 0 cm	H = 14 cm	H = 46 cm	H = 81 cm
pH	7,5	7,9	7,9	7,8
NO <sub>3</sub> -N (mg/L)	21,1	6,0	1,3	1,8
NO <sub>2</sub> -N (mg/L)	0,13	0,43	0,04	0,00
N <sub>sol</sub> (mg/L)	23,2	7,5	3,0	3,4
Alcalinité (mg/L)	80,0	107,0	123,0	123,1
Dureté (mg CaCO <sub>3</sub> /L)	120,8	177,6	215,3	224,0
SO <sub>4</sub> -S (mg/L)	55,2	174,9	220,4	220,6
COD (mg/L)	8,5	8,8	9,3	8,8
P <sub>sol</sub> (mg/L)	0,8	0,9	0,8	0,6

Avec un pH relativement constant (7,5 – 7,9) aux différentes hauteurs du lit filtrant, l'effet de neutralisation du calcaire semble fonctionner pareil dans chaque point du garnissage. Une fois de plus, la configuration du soufre et du calcaire mélangés a prouvé son efficacité.

Selon les différentes teneurs en nitrates et en azote dissous résumées dans le [Tableau 4-5](#), le pilote a montré une diminution de la teneur en nitrates quand l'eau traverse le lit filtrant du bas (H = 0 cm) vers le haut du bioréacteur (H = 81 cm). Il est clair que l'enlèvement quasi total des nitrates s'est déroulé dans la moitié inférieure du BDA (entre 14 et 46 cm), cela expliquerait peut être les faibles valeurs d'alcalinité enregistrées aux hauteurs 0 et 14 cm du lit en comparaison aux hauteurs 46 et 81 cm, car initialement, davantage d'alcalinité a été nécessaire

dans la partie inférieure du bioréacteur. L'alcalinité procurée par le calcaire a été largement suffisante pour fournir une capacité tampon permettant de neutraliser l'acidité générée au cours de la réaction de dénitrification et maintenir une bonne efficacité de dénitrification. Il est donc possible d'envisager que du soufre et du calcaire soient en excès, puisque les valeurs de dureté aux hauteurs 46 et 81 cm sont légèrement plus importantes probablement dues à une dissolution prolongée du calcaire en haut du bioréacteur. Cependant, selon les quantités de matériaux introduites dans le BDA, la durée de vie d'un tel pilote a été estimée à plus de 5 ans. Une légère accumulation des nitrites suite à l'augmentation de l'intensité de dose (situation 1) qui a eu lieu au 45<sup>ième</sup> jour de fonctionnement du pilote justifie la valeur moyenne de la teneur en nitrites (0,43 mg NO<sub>2</sub>-N/L) constatée à H = 14 cm. De plus, une intensité de dose de 85 L/min est jugée imprudente dans la mesure où il peut y avoir de l'oxygène dissous qui rentre dans le BDA.

#### **4.6.4 Comportement du BDA aux basses températures**

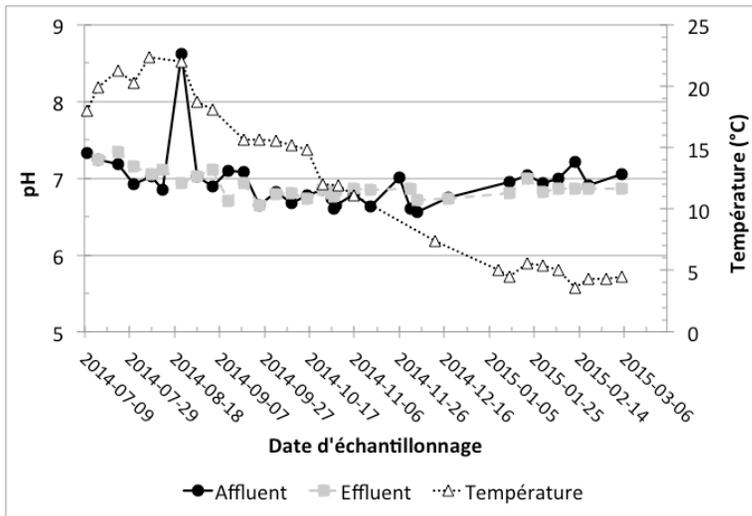
La période de suivi du pilote pré-commercial s'est ensuite prolongée jusqu'en mars 2015 où il a été possible d'évaluer son comportement sur une durée plus longue (8 mois) et d'évaluer l'effet de la baisse de la température à l'hiver (jusqu'à 5°C) sur l'efficacité de dénitrification du BDA.

L'évolution des profils de pH de l'affluent et de l'effluent ([Figure 4-23a](#)) durant toute la période de suivi est similaire avec des valeurs de pH proches de la neutralité (pH 6,6 – 7,4). Le pH du BDA ne semble pas être affecté par la baisse de température de l'hiver 2014-2015. Les profils de l'alcalinité de l'affluent et de l'effluent ([Figure 4-23b](#)) semblent également évoluer de la même manière. Par exemple, quand une baisse et une augmentation de l'alcalinité de l'affluent ont été enregistrées entre le 18-08-2014 et le 17-10-2014 et entre 26-11-2014 et le 06-03-2015 respectivement, l'alcalinité de l'effluent a subi les mêmes fluctuations. Même aux faibles températures d'environ 5°C, le calcaire a semblé garder la même efficacité de neutralisation.

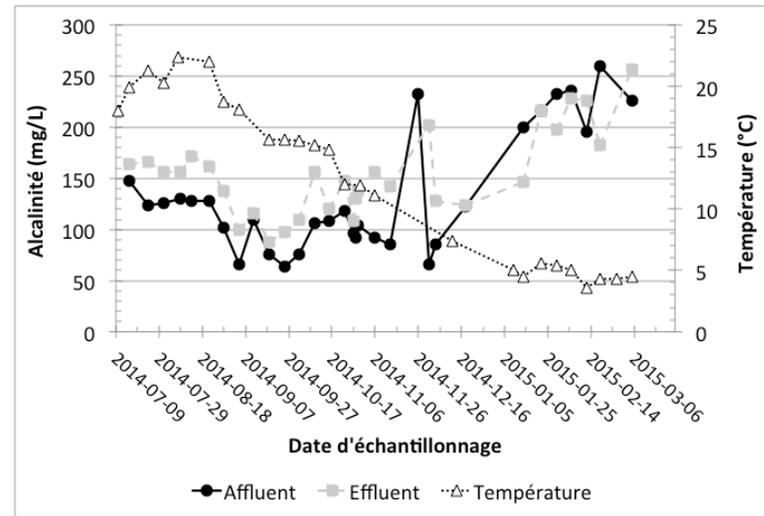
Selon les profils de la teneur en nitrites/nitrates dans l'affluent et dans l'effluent présentés à la [Figure 4-23c](#), une première baisse d'efficacité de nitrification du procédé Filtre Coco PTA de 42% a été notée au 18 décembre 2014 avec une température enregistrée à 7,5°C. Il semblerait que la baisse de température ait affecté la production des nitrates au niveau du biofiltre de

PTA. Malgré les basses températures de l'affluent de l'hiver 2014-2015 (3,5 à 7,5°C) avec une température minimale de 3,5°C relevée à l'entrée du pilote le 12 février 2015, l'affluent est demeuré chargé en nitrates avec des teneurs en  $\text{NO}_x$  comprises entre 15 et 20 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$ . Cependant, durant cette période de gel, le BDA a montré des rendements de dénitrification moyens de  $73,6 \pm 8,6\%$  avec un maximum de 84% atteint à une température de l'affluent de 3,5°C pour une teneur résiduelle de 2,9 mg  $\text{NO}_x\text{-N/L}$ . De plus, la teneur résiduelle en  $\text{NO}_x$  la plus élevée enregistrée durant l'hiver 2014-2015 a été de 7 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$ .

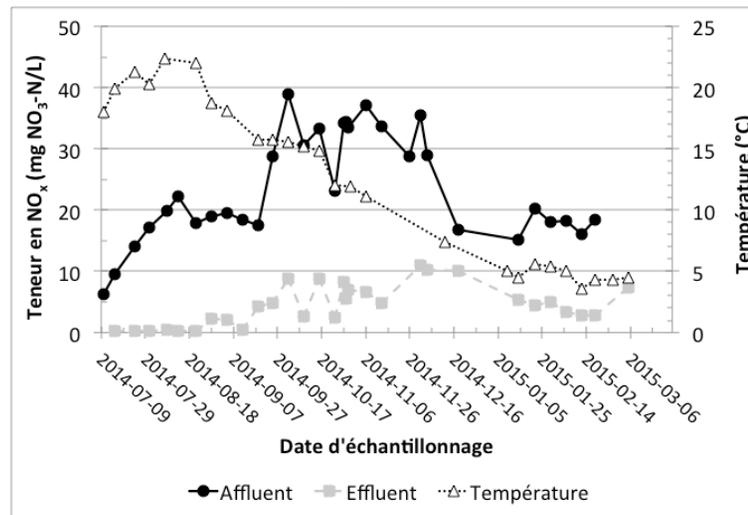
En résumé, le BDA pilote a été capable de dénitrifier durant la saison froide jusqu'à une température de 3,5°C avec une efficacité similaire à une dénitrification ayant lieu à 16°C. Effectivement, selon Trouve et *al.* (1998), il a été possible de dénitrifier efficacement à des températures inférieures à 5°C en retrouvant des rendements similaires à ceux obtenus en dénitrifiant à 20°C.



a.



b.



c.

Figure 4–23 Évolution du pH (a), de l'alcalinité (b) et de la teneur en NO<sub>x</sub> (c) dans l'affluent et dans l'effluent du BDA pilote durant l'automne 2014 et l'hiver 2015 (TRH = 1,4 h)

#### 4.6.5 Production des sulfates

Au cours de cette période de fonctionnement du pilote, il a été possible de suivre, sur une base assez régulière, la quantité de sulfates produits. La Figure 4-24, reliant la quantité de sulfate produits en fonction de la quantité de nitrates dénitrifiés, a permis de mettre en évidence une relation linéaire dont l'équation est  $Y = 8,6 X$  et dont le coefficient de corrélation est de  $R^2 = 0,64$ . Le taux de production des sulfates a été estimé à 8,6 mg  $SO_4$ -S par mg  $NO_3$ -N enlevé. En se basant sur le taux théorique de production des sulfates souvent cité dans la littérature qui est de 7,54 mg  $SO_4$ -S par mg  $NO_3$ -N dénitrifié (Liu et *al.*, 2009), ce dernier est plus faible que le taux déduit expérimentalement dans le cas de figure de notre BDA pilote. Il semblerait que la production de sulfates soit plus importante, probablement due à l'oxydation du soufre en sulfate dans les premiers centimètres du bioréacteur où l'affluent est chargé en oxygène dissous. En réalité, les bactéries anaérobies facultatives telles que les *Thiobacillus denitrificans* ont tendance à consommer préférentiellement l'oxygène dissous que de respirer l'oxygène des nitrates, car cette opération consomme beaucoup de leur énergie.

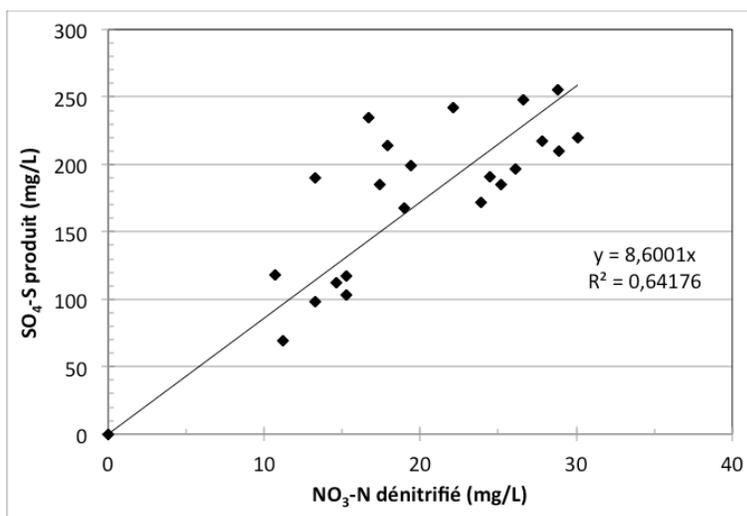


Figure 4–24 Évolution des sulfates produits en fonction des nitrates enlevés durant la période de suivi de 8 mois, de l'automne 2014 à l'hiver 2015 (TRH = 1,4 h)

#### 4.6.6 Effet de la variation de la charge volumique

La Figure 4-25 montre clairement les variations de charge volumique subies par le BDA pilote. En effet, les profils correspondants indiquent également que le rendement d'enlèvement des nitrates a été affecté par une variation du taux de charge volumique induite par une variation du débit de traitement appliqué au pilote et des teneurs en nitrates fluctuantes dans l'affluent.

Par similitude avec les constatations de la section 4.6.2, il semblerait que sur une période de suivi plus longue du pilote (8 mois), le rendement de dénitrification soit resté supérieur à 60% pour des charges volumiques appliquées comprises entre 100 et 700 g NO<sub>3</sub>-N/m<sup>3</sup>.jr. Cette légère perte d'efficacité de dénitrification (de 81 à 60%) est certainement due à l'effet de basses températures ressenties pendant la durée de suivi du pilote qui a renfermé l'hiver 2015.

Cependant, en plus de la baisse de la température pendant la saison hivernale qui vient également affecter l'efficacité de dénitrification du pilote, l'allure décroissante que suit le rendement de dénitrification en fonction de l'avancement de fonctionnement du pilote, laisse suggérer qu'une perte de la conductivité hydraulique du système est en train de s'installer avec le temps.

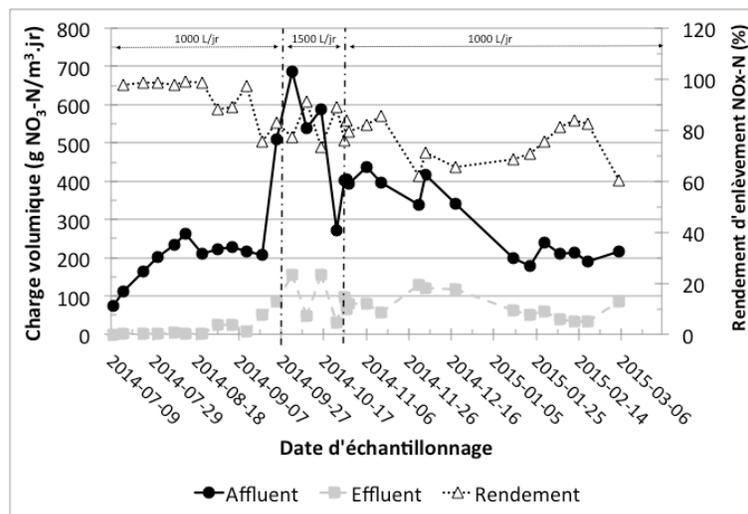


Figure 4–25 Évolution de la charge volumique de l'affluent de l'effluent et du rendement d'enlèvement des nitrites/nitrates au cours de la période de suivi de 8 mois, de l'automne 2014 à l'hiver 2015 (TRH = 1,4 h)

#### 4.6.7 Vitesse de colmatage du garnissage

La Figure 4-26 présentant l'évolution de la conductivité hydraulique du système vient confirmer l'hypothèse suggérée ci-dessus. Malgré que les données relatives aux mesures de la conductivité hydraulique soient incomplètes et ne couvrent malheureusement pas la période de suivi du pilote qui a duré 8 mois, il paraît probable que le système soit affecté dans les jours ou les mois à venir, aspect important qu'il faudra prendre en considération pour pouvoir évaluer la résistance du système de dénitrification à un éventuel colmatage du garnissage de soufre et de calcaire. Cependant, la mesure la plus faible de la conductivité hydraulique a été notée à  $2,3 \cdot 10^{-3}$  m/s, ce qui demeure une valeur estimée raisonnable pour un milieu encore perméable.

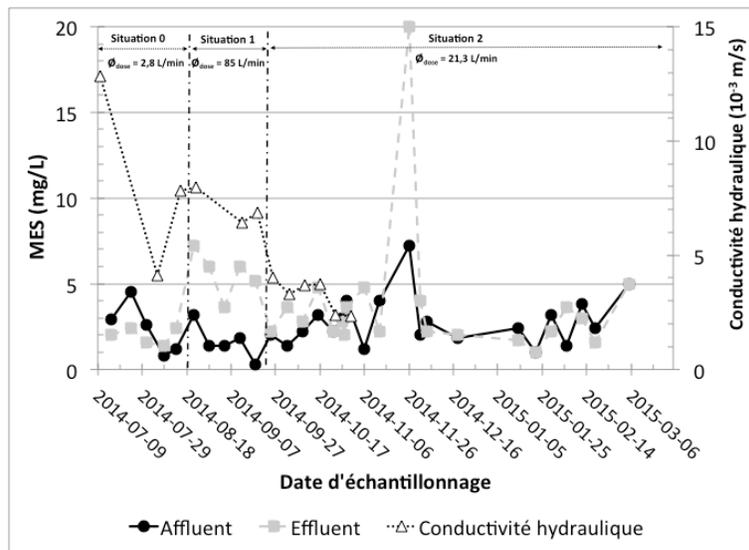


Figure 4–26 Évolution de la teneur en MES dans l'affluent et dans l'effluent et de la conductivité hydraulique du système au cours de la période de suivi de l'automne 2014 à l'hiver 2015 (TRH = 1,4 h)

Les profils de la teneur en MES à l'entrée et à la sortie du BDA pilote ont généralement suivi la même évolution à l'exception de la période s'étendant du 18-08-2014 au 18-09-2014, au cours de laquelle une légère augmentation des MES dans l'effluent est observée avec une teneur moyenne de 6 mg/L (Figure 4-26). Cette période a correspondu au passage de la situation "0" à la situation "1" (Tableau 3-11) avec l'augmentation de l'intensité de dose de 2,8 à 85 L/min. Cependant, sur toute la période de suivi du pilote, la teneur en MES dans l'effluent est demeurée acceptable avec une valeur moyenne de 4 mg/L, valeur largement inférieure à celle tolérée (15 mg/L) dans l'effluent d'un système de traitement tertiaire (MDDELCCC, 2015). Ce changement de situation a probablement provoqué involontairement une sorte de lavage ascendant permettant le relargage progressif de certaines matières en suspension. Sans pour autant provoquer une perte de solides importantes. Toutefois, il est important d'attirer l'attention sur le fait qu'une telle opération a permis d'enregistrer des valeurs de conductivité hydraulique (environ  $7,5 \cdot 10^{-3}$  m/s) supérieures à celles remarquées durant la situation "2" ( $4 \times 10^{-3}$  m/s) quand l'intensité de dose a diminué de nouveau et ce, en faisant passer le temps de dose de 30 sec à 2 min.

En dépit des constatations, il demeure difficile d'évaluer la vitesse de colmatage du garnissage sans données supplémentaires. Cependant, l'entretien régulier d'un tel procédé de DASC occasionné par des problèmes de colmatage du lit filtrant et causant une perte d'efficacité de dénitrification, pourrait être facilité en évitant des opérations fréquentes de lavage à contre-courant du garnissage comme mentionné dans la littérature. En effet, les études réalisées sur la vitesse de colmatage du lit filtrant, formé de soufre et de calcaire, et citées dans la littérature sont rares. Quelques auteurs évoquent souvent la nécessité de procéder à des lavages du garnissage réalisés généralement à contre-courant et souvent à une fréquence d'un lavage aux 6 mois (Sengupta *et al.*, 2006; Sengupta et Ergas, 2007).

Par conséquent, il serait probablement plus facile de procéder indirectement à un lavage en mode co-courant du garnissage comme cela a été décrit au cours des essais réalisées sur le pilote où l'intensité de dose a été de 85 L/min (Tableau 3-11). Le lavage en question pourrait être programmé pour s'effectuer une fois ou deux par semaine en fixant la durée de dose à

30 sec pour deux lavages successifs (2 x 42,5 L) permettant le renouvellement du volume du liquide dans tout le garnissage.

En résumé, il a été possible d'affirmer que les performances du système de dénitrification à l'échelle pilote pré-commerciale ont généralement concordé avec les résultats obtenus à l'échelle laboratoire. Contrairement aux essais réalisés à l'échelle laboratoire en mode batch, le démarrage du BDA pilote n'a pas nécessité un fonctionnement en mode batch pour assurer le développement et l'acclimatation des bactéries dénitrifiantes. En effet, il a été possible d'observer une dénitrification totale en six jours seulement après le début de fonctionnement du pilote en mode continu et sans avoir recours à une étape d'inoculation. En comparaison aux essais d'optimisation de l'étape de développement et d'acclimatation des bactéries dénitrifiantes (21 jours), il s'est avéré que la durée de cette étape a été plus courte à l'échelle pilote. Ceci est probablement dû au fait qu'il y a eu des périodes de repos (entre 16 h et minuit pour un débit de traitement de 1 000 L/jr) pendant lesquelles le BDA n'a pas été alimenté, favorisant un développement rapide et efficace de la microflore. Ces périodes de repos ont permis de substituer le recours au mode batch et de diminuer le temps d'opération.

Le ratio massique S/C (1/1,1) calculé lors de l'étape du dimensionnement du bioréacteur et appliqué pour le fonctionnement du BDA à l'échelle pilote est légèrement différent du ratio S/C optimal déterminé durant les essais réalisés à l'échelle laboratoire. De plus, en considérant le débit d'eau à traiter (1 000 à 1 500 L/jr) pour simuler le volume d'EUD provenant d'une résidence isolée composée de trois chambres à coucher, le dimensionnement du BDA pilote nous a imposé l'application d'un TRH de 1,4 h, légèrement plus court que le TRH optimisé durant les essais réalisés à l'échelle laboratoire. Cependant, cela n'a pas empêché l'obtention, à l'échelle pré-commerciale, d'efficacités de dénitrification satisfaisantes avec des rendements d'enlèvement des nitrates supérieurs à 81% et des teneurs résiduelles inférieures à 6 mg NO<sub>3</sub>-N/L en comparaison à ceux enregistrés à l'échelle laboratoire qui ont été supérieurs à 96% pendant la durée de fonctionnement des colonnes de dénitrification en configuration S/C mélangée et en mode continu.

La démonstration réalisée à l'échelle pré-commerciale a permis d'atteindre un taux de charge volumique maximal d'environ 300 g NO<sub>3</sub>-N/m<sup>3</sup>.jr, malgré le fait que le rendement de

dénitrification du pilote soit resté supérieur à 81% pour des charges volumiques appliquées comprises entre 90 et 680 g NO<sub>3</sub>-N/m<sup>3</sup>.jr et similaires à celles testées à l'échelle laboratoire (160 à 960 g NO<sub>3</sub>-N/m<sup>3</sup>.jr).

En plus des résultats satisfaisants remarquables au cours de la démonstration du procédé de DASC à l'échelle pré-commerciale, l'emploi d'une configuration de soufre et de calcaire mélangés dans un même réacteur s'est avéré fructueux pour les essais réalisés à l'échelle laboratoire et également avantageux pour les essais effectués à l'échelle pilote dans la mesure où le remplissage du BDA a été facilité en alternant un sac de soufre élémentaire avec un sac de calcaire granulaire.

## 5 CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

La présente étude a visé l'évaluation du potentiel de couplage de la dénitrification autotrophe sur soufre élémentaire avec des procédés de traitement biologique, commercialisés par PTA, pour l'assainissement des eaux usées domestiques de petites et moyennes collectivités non raccordées à un réseau d'égout. L'objectif principal de ce projet de recherche a été d'élaborer une filière de traitement par dénitrification autotrophe sur soufre élémentaire placée en aval de procédés de traitement biologique de PTA. La réaction de dénitrification autotrophe utilisant le soufre comme source d'énergie pour les microorganismes génère la consommation du bicarbonate et la production d'ions  $H^+$ . Il a été donc primordial de réajuster le pH et l'alcalinité de l'effluent traité afin de s'assurer qu'ils ne diminuent pas à un niveau critique où la réaction de dénitrification risquerait de ralentir, voire même de s'arrêter complètement. Pour ce faire, l'optimisation d'un tel système s'est principalement basée sur l'évaluation des différents paramètres opératoires pouvant influencer l'efficacité de dénitrification, en employant le calcaire granulaire en tant que substrat tampon.

Les travaux de ce projet de recherche ont débuté par une étape d'acclimatation en fiole conique avec de l'eau nitrifiée issue du procédé Ecoflo®, une source de soufre soluble, le thiosulfate, et en présence d'une série de nutriments afin de développer la microflore bactérienne dénitrifiante. Après une période d'incubation de 60 jours, la teneur en nitrates dans le milieu de culture a suffisamment diminué pour suggérer le développement des bactéries dénitrifiantes. Par la suite, les essais de dénitrification en mode batch ont commencé en inoculant les colonnes de dénitrification remplies de soufre avec le milieu de culture préparé. Quelques difficultés sont survenues en mode batch lors du tout premier essai de dénitrification qui a duré 42 jours durant lesquels aucun enlèvement significatif des nitrates n'a été signalé, dû probablement à la présence d'OD dans le milieu. Les essais subséquents en mode batch ont été réalisés sans réservoir et en circuit fermé afin de minimiser l'apport en OD et maintenir des conditions d'anoxie. Cette précaution a permis d'obtenir un abattement quasi-total des nitrates en 4 à 9 jours seulement pour des teneurs initiales en nitrates comprises entre 8 et 18 mg  $NO_3-N/L$ .

Cependant, il a été important de prévenir la baisse du pH et de l'alcalinité en intégrant le calcaire granulaire dans une colonne placée en aval de la colonne contenant le soufre élémentaire avec un ratio massique S/C de 7,7. Les premières expériences réalisées à la SEB ont eu pour but de déterminer le TRH optimal du système de dénitrification étudié. Pour ce faire, différents TRH compris entre 0,5 et 11 h ont été testés en débutant par le plus long TRH afin d'acclimater le système au mode continu. Les résultats obtenus ont montré qu'un TRH de 1,5 h est estimé optimal dans la mesure où le système a été efficacement capable de conduire à un taux d'abattement des nitrates de 50% en 2 jours seulement et un abattement total ( $\approx 100\%$ ) en 6 jours de fonctionnement, tout en gardant le pH et l'alcalinité de l'effluent relativement stables par rapport aux conditions initiales.

Des essais supplémentaires ont été réalisés en testant différents ratios massiques S/C (9/1, 4/1, 7/3, 3/2 et 1/1) selon une configuration mélangée (soufre et calcaire mélangés dans une même colonne de dénitrification) et en appliquant le TRH optimal défini précédemment, afin d'évaluer l'influence du ratio S/C sur les performances de dénitrification et de déterminer la meilleure proportion S/C à utiliser. Les résultats obtenus ont mis en évidence que le déroulement d'une dénitrification autotrophe sur soufre en l'absence de calcaire comme substrat tampon affecte grandement l'efficacité de dénitrification avec un abattement des nitrates de seulement 61% au 10<sup>ème</sup> jour de fonctionnement. Les ratios S/C de 1/1 et 3/2 ont montré des efficacités de dénitrification similaires avec un enlèvement total des nitrates enregistré dès le premier jour de fonctionnement. Sachant que le soufre est plus dispendieux que le calcaire, le ratio massique S/C = 1/1 a été considéré comme étant le ratio S/C optimal.

Jusqu'ici, les essais de dénitrification ont été réalisés selon une configuration séparée où chacun des matériaux a été disposé dans une colonne à part. Cependant, pour une application à l'échelle pilote, il a été judicieux d'examiner d'autres configurations pouvant faciliter la mise en place d'un pilote pré-commercial disposé sous terre. Pour cela, d'autres essais de dénitrification ont été réalisés avec le TRH optimal de 1,5 h et le ratio optimal S/C de 1/1 selon trois configurations S/C différentes : séparés, mélangés dans la même colonne et placés en couches superposées dans la même colonne. Les trois configurations ont montré des comportements similaires du point de vue efficacité de dénitrification avec des rendements

d'enlèvement des nitrates supérieurs à 96%. Cependant, l'effet de neutralisation du calcaire semble plus important quand les matériaux sont placés dans une même colonne. Par conséquent, d'un point de vue faisabilité et facilité de mise en place, la configuration S/C mélangés a été jugée optimale pour une application à l'échelle pré-commerciale du DASC.

En faisant varier la concentration initiale en nitrates dans l'affluent de 10 à 60 mg NO<sub>3</sub>-N/L, les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence que les performances du procédé de DASC optimisé ne sont pas affectées par les charges volumiques appliquées. En effet, l'enlèvement des nitrates a été total (100%) au bout de 2 jours de fonctionnement du système avec des charges volumiques comprises entre 160 et 960 g NO<sub>3</sub>-N/m<sup>3</sup>.jr.

En se basant sur les conditions opératoires (ratio S/C, configuration des matériaux, TRH, concentration en nitrates) optimisées à l'échelle laboratoire et sur certains critères imposés par la compagnie PTA (capacité journalière de traitement, hauteur et diamètre du bioréacteur), une unité pilote de DASC a été dimensionnée. Cette unité a été opérée dans les conditions réelles de traitement des eaux usées en provenance d'une résidence isolée de trois chambres à coucher générant entre 1 000 à 1 500 L/jr d'EUD. Avec une hauteur totale de 129 cm et un diamètre de 62 cm, le fonctionnement du bioréacteur de dénitrification autotrophe (BDA) pilote a débuté au mois de juillet 2014 où les températures sont favorables à la croissance des microorganismes tels que les *Thiobacillus denitrificans*. N'ayant pas nécessité une opération préliminaire d'inoculation et une étape d'acclimatation en mode batch, le BDA pilote a démontré une efficacité de dénitrification importante, en enregistrant un enlèvement total des nitrates en 6 jours de fonctionnement seulement. En opérant avec un temps de rétention hydraulique de 1,4 h et avec un ratio massique S/C de 1/1,1, le BDA pilote a montré des performances de dénitrification similaires à celles obtenues à l'échelle laboratoire, avec des rendements de dénitrification supérieurs à 81% pour des charges volumiques appliquées comprises entre 90 et 680 g NO<sub>3</sub>-N/m<sup>3</sup>.jr. En dépit de la baisse observée des températures durant l'hiver (jusqu'à 5°C), le BDA pilote est demeuré performant avec des taux d'enlèvement des nitrates dépassant 61% et des teneurs résiduelles en nitrates inférieures à 6 mg NO<sub>3</sub>-N/L.

Quelques recommandations peuvent être apportées afin de poursuivre le développement de ce procédé de dénitrification autotrophe sur soufre et calcaire pour le traitement des eaux usées de résidences isolées :

- Prolonger la période de suivi du pilote à l'échelle pré-commerciale sur une année entière afin d'évaluer efficacement la robustesse du procédé de DASC développé et d'identifier les problèmes potentiels pouvant arriver à la fin de l'hiver ou au début du printemps.
- Estimer la vitesse de colmatage du garnissage et la fréquence de lavage du lit filtrant pour l'amélioration des performances du système de dénitrification. Cependant, en s'appuyant sur les données de conductivité hydraulique récoltées, un lavage du garnissage en mode co-courant une fois ou deux par semaine est à suggérer avec une intensité de dose de 85 L/min pour deux lavages successifs de 42,5 L chacun permettant le renouvellement du volume du liquide dans tout le garnissage.
- Réaliser une évaluation du coût d'exploitation de la technologie (investissement, consommation en produits chimiques, main-d'œuvre, électricité, etc.) en considérant le couplage de la dénitrification autotrophe avec le procédé d'épuration biologique Filtre Coco PTA afin de permettre le développement de cette technologie très prometteuse à l'échelle commerciale.
- Évaluer le potentiel de génération de sulfure d'hydrogène à partir des sulfates présents dans l'effluent traité lors de son infiltration dans un champ de polissage (conditions anaérobies).

## 6 RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Afkhami, T., Madrakian, Z. et Karimi, Z. (2007) The effect of acid treatment of carbon cloth on the adsorption of nitrite and nitrate ions. *J. Hazard. Mater.* 144, 427-431.
- Agence de l'eau et Ministère de l'environnement (1994) L'assainissement des agglomérations : techniques d'épuration actuelles et évolutions. *Cahier technique* no. 27, Paris, France, 89-90.
- Aleem, M.I.H. et Alexander, M. (1958) Cell-free nitrification by nitrobacter. *J. Bacteriol.* 76, 510-514.
- Amatya, I.M., Kansakar, B., Tare, V. et Fiksdal, L. (2005) Impact of temperature on biological denitrification process. *J. Instit of Eng.* 7(1), 1-6.
- APHA, AWWA et WPCF (1999) Standards methods for examination of water and wastewaters. *American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) et Water Pollution Control Federation (WPCF)*, 20<sup>th</sup> Edition, Washington, DC, États-Unis, 541 p.
- Austerman-Haun, U., Meyer, H., Seyfried, C. et Rosenwinkel, K. (1999) Full scale experiences with anaerobic/aerobic treatment plants in the food and beverage industry. *Water Sci. & Tech.* 40, 305-312.
- Baalsrud, K. et Baalsrud, K.S. (1954) Studies on *Thiobacillus denitrificans*. *Archiv für microbiol.* 20, 34-62.
- Bae, J.H., Ahn, K.H. et Lee, S.H. (2003) Biological denitrification apparatus and method using fluidized-bed reactor filled with elemental sulphur. WO patent, No. 2003093180.
- Baize, D. (2000) Guide des analyses en pédologie. Institut National de la Recherche Agronomique, 2<sup>ième</sup> édition revue et augmentée, Paris, France, 257 p.
- Batchelor, B. et Lawrence, A.W. (1978) Autotrophic denitrification using elemental sulfur. *J. Water Pollut. Control Fed.*, 50(8), 1986–2001.
- Beijerinck, M.V. (1904) Über die bakterien, welche sich im dunkeln mit kohlen-säure als kohlenstoffquelle ernähren können. *Zentrabl Baktriol Parasitenkd Infektionskr Hyg.*
- Benmoussa, H. (1997) Étude conjointe de la biolixiviation des métaux lourds et de la stabilisation des boues de stations d'épuration. Thèse de doctorat, INRS-ETE, Université du Québec, Québec, QC, Canada, 217 p.
- Bergaust, L., Mao, Y., Bakken, L.R. et Frostegard, A. (2010) Denitrification response patterns during the transition to anoxic respiration and posttranscriptional effects of suboptimal pH on nitrogen oxide reductase in *Paracoccus denitrificans*. *Appl. Environ. Microbiol.* 76, 6387–6396.
- Bhatnagar, M., Ji, Y.H., Choi, W., Jung, S.H., Lee, S.J., Kim, G., Lee, H., Suk, H.S., Kim, B., Min, S.H. Kim, B.H. et Jeon J.W. (2008) Removal of nitrate from water by adsorption onto zinc chloride treated activated carbon. *Sep. Sci. Technol.* 43, 886-907.

- Bhatnagar, M. et Sillanpaa, M. (2011) A review of emerging adsorbents for nitrate removal from water. *Chem. Eng. J.* 168, 493-504.
- Blackmer, A. et Bremner, J. (1978) Inhibitory effect of nitrate on reduction of N<sub>2</sub>O to N<sub>2</sub> by soil micro-organisms. *Soil Biol. Biochem.* 10, 187-191.
- Blais, J.F. (2011) Assainissement des eaux usées. Chapitre Production et caractéristiques des eaux usées. Cours Eau 454, INRS-ETE, Québec, QC, Canada, 645 p.
- Blais, J.F., Tyagi, R.D., Meunier, N. et Auclair, J.C. (1994) The production of extracellular appendages during bacterial colonization of elemental sulphur. *Process Biochem.* 29, 475-482.
- Blecon, G., Gillet, M., Martin, G. et Philipot, J.M. (1983) Autotrophic biological denitrification by *Thiobacillus denitrificans* on sulfur-marl. *Revue Française des Sciences de l'Eau.* 2(3), 267-279.
- Breisha, G.Z. (2010) Bio-removal of nitrogen from wastewaters—A review. *Nature and Sci.* 8(12), 210-228.
- Brettar, I. et Rheinheimer, G. (1991) Denitrification in the Central Baltic : evidence for H<sub>2</sub>S-oxidation as motor of denitrification a the oxic-anoxic interface. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 77, 157-169.
- Campos, J.L., Carvalho, S., Portela, R., Mosquera-Corral, A. et Mendez, R. (2008) Kinetics of denitrification using sulphur compounds: effects of S/N ratio, endogenous and exogenous compounds. *Bioresour Technol.* 99(5), 1293-9.
- Chiu, Y.C. et Chung, M.S. (2003) Determination of optimal COD/nitrate ratio for biological denitrification. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 51, 43-49.
- Chui, P.C., Terashima, Y., Tay, J.H. et Ozaki, H. (2001) Wastewater treatment and nitrogen removal using submerged filter systems. *Water Sci. Technol.* 43(1), 225-232.
- Claus, G., Kutzner, H.J. (1985a). Autotrophic denitrification by *Thiobacillus denitrificans* in a packed bed reactor. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 22, 289-296.
- Claus, G. et Kutzner, H.J. (1985b) Physiology and kinetics of autotrophic denitrification by *Thiobacillus denitrificans*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 22, 283-288.
- Chengzhi H., Lili Z., Huijuan L., Jihui Q et Chao Z. (2014) Method for removing nitrate nitrogen from water. CN patent, No. 103723893.
- Coudert, L. (2013) Décontamination de déchets de bois traité à base de composés cuivrés en vue de leur revalorisation. Thèse de doctorat, *Institut national de la recherche scientifique*, Université du Québec, Québec, Qc, Canada, 320 p.
- Crites, R.W et Tchobanoglous, G. (1998) Small and decentralized wastewater management systems. McGraw Hill, New York, NY, USA, 1084 p.
- Darbi, A., Viraraghavan, T., Butler, R. et Corkal, D. (2002) Batch studies on nitrate removal from potable water. *Water SA.* 28, 319–322.

- Driscoll, C.T. et Bisogni, J.J. (1978) The use of sulphur and sulphide in packed bed reactors for autotrophic denitrification. *J. WPCF.* 50, 569-577.
- EEC (1980) Directive de la commission européenne sur la qualité des eaux à destination de la consommation humaine. *Communauté économique européenne*, Directive du Conseil 80/778/EEC. J.O. N1 L229, 30.08.1980, pp. 11-26.
- Fajardo, C., Mora, M., Fernandez, I., Mosquera-Corral, A., Campos, J.L. et Méndez, R. (2014) Cross effect of temperature, pH and free ammonia on autotrophic denitrification process with sulphide as electron donor. *Chemosphere.* 97, 10-15.
- Feleke, Z. et Sakakibara, Y. (2002) A bio-electrochemical reactor coupled with adsorber for the removal of nitrate and inhibitory pesticide. *Water Res.* 36, 3092-3102.
- Flere, J.M. et Zhang, T.C. (1999) Nitrate removal with sulfur-limestone autotrophic denitrification processes. *J. Environ. Eng.* 125(8), 721-729.
- Furumai, H., Tagui, H. et Fujita, K. (1996) Effects of pH and Alkalinity on Sulfur-Denitrification in a Biological Granular Filter. *Water Sci. Technol.* 34(1-2), 355-362.
- Fusari, C.E. (2007) Réalisation et optimisation d'un dénitrificateur autotrophe à l'Aquarium de La Rochelle. Rapport de stage, La Rochelle, France, 26 p.
- Ghafari, S., Hasan, M. et Aroua, M.K. (2008) Bio-electrochemical removal of nitrate from water and wastewater - A review. *Biores. Technol.* 99(10), 3965-3974.
- Gomez, M.A., Galvez, J.M., Hontoria, E. et Gonzalez-Lopez, J. (2003) Influence of ethanol concentration on biofilm bacterial composition from a denitrifying submerged filter used for contaminated groundwater. *J. Biosci. Bioeng.* 95, 245-251.
- Gouvernement du Québec (2015) Règlement sur la qualité de l'eau potable. Loi sur la qualité de l'environnement chapitre Q-2, r. 40. Gouvernement du Québec, Québec, QC, Canada.
- Groupe scientifique sur l'eau (2003) Nitrates/Nitrites. Fiches synthèses sur l'eau potable et la santé humaine, *Institut national de santé publique du Québec*, Québec, QC, Canada, 12 p.
- Gros, H. Schnoor, G. et Rutten, P. (1988) Biological denitrification process with hydrogen-oxidizing bacteria for drinking water treatment. *Water Supply.* 6, 193-198.
- Gu, J.D., Qiu, W., Koenig, A. et Fan, Y. (2004) Removal of high  $\text{NO}_3^-$  concentrations in saline water through autotrophic denitrification by the bacterium *Thiobacillus denitrificans* strain MP. *Water Sci. Technol.* 49, 105-112.
- Healy, M.G, Rodgers, M. et Mulqueen, J. (2007) Treatment of dairy wastewater using constructed wetlands and intermittent sand filters. *Biores. Technol.* 9(12), 2268-2281.
- Hignette, M., Lamort, B., Langouet, M., Leroy, S. et Martin, G. (1996) Élimination des nitrates par filtration biologique autotrophe sur soufre en aquariologie marine. Dans : *Congrès EUAC 1996, Mém. Institut Océanographique Prichard*. Paris, France, pp. 7-13.

- Holman, J. et Wareham, D. (2003) Oxidation-reduction potential as a monitoring tool in a low dissolved oxygen wastewater treatment process. *J. Environ. Eng.* 129(1), 52-58.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A, Staley, J.T. et Williams, S.T. (1994) *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Éditions Williams et Wilkins, 9<sup>ième</sup> édition, Baltimore, MS, États-Unis, 1134 p.
- Hosni, K. et Srasra, E. (2008) Nitrate adsorption from aqueous solution by MII–Al–CO<sub>3</sub> layered double hydroxide. *Inorg. Mater.* 44, 742–749.
- Jang, A., Minsu, B., Sungyoun, K., Yeonghee, A., In, S.K. et Bishop, P. (2005) Assessment of characteristics of biofilm formed on autotrophic denitrification. *J. Microbiol. Biotechnol.* 15, 455-460.
- Jong, T. et Parry, D.L. (2003) Removal of sulfate and heavy metals by sulfate reducing bacteria in short-term bench scale upflow anaerobic packed bed reactor runs. *Water Research.* 37, 3379-3389.
- Kapoor, A. et Viraraghavan, T. (1997) Nitrate removal from drinking water-review. *J. Environ. Eng. Div. ASCE.* 123, 371-380.
- Kim, Y.S., Nakano, K., Lee, T.J., Kanchanatawee, S. et Marsumura, M. (2002) On-site nitrate removal of groundwater by an immobilized psychrophilic denitrifier using soluble starch as a carbon source. *J. Biosci. Bioeng.* 93, 303-308.
- Koenig, A. et Liu, L.H. (1996) Autotrophic denitrification of landfill leachate using elemental sulphur. *Water Research.* 34(5-6), 469-476.
- Koenig, A. et Liu, L.H. (1997) Autotrophic denitrification of nitrified leachate in sulphur packed-bed reactors. Dans: *Proceedings SARDINIA'97 Sixth International Landfill Symposium*, Cagliari, Italy, 283-292.
- Koenig, A. et Liu, L.H. (2001) Kinetic model of autotrophic denitrification in sulphur packed-bed reactors. *Water Research.* 35(8), 1969-1978.
- Koenig, A. et Liu, L.H. (2002) Use of limestone for pH control in autotrophic denitrification: continuous flow experiments in pilot-scale packed bed reactors. *J. Biotechnol.* 99(2), 161-171.
- Korner, H. et Zumft, W.G. (1989) Expression of Denitrification Enzymes in Response to the Dissolved Oxygen Level and Respiratory Substrate in Continuous Culture of *Pseudomonas stutzeri*. *Applied & Environ. Microbio.* 55(7), 1670-1676.
- Kuai, L. et Verstraete, W. (1999) Autotrophic Denitrification with Elemental Sulphur in Small-Scale Wastewater Treatment Facilities. *Environ. Technol.* 20(2), 201-209.
- Kuenen, J. G. (1979) Growth yields and maintenance energy requirement in *Thiobacillus* species under energy limitation. *Arch. Microbiol.* 122, 183-188.
- Kuenen, J.G., Robertson, L.A. et Tuovinen, O.H. (1992). The Genera *Thiobacillus*, *Thiomicrospira* and *Thiosphaera*. In *The Prokaryotes*. Éditions Balows, A., Truper, H. G., Dworkin, M.,

Harder, W. et Schleifer, K.-H. 2<sup>ième</sup> édition, Vol 3, Chapitre 138, 2638–2657.

- Kurt, M., Dunn, J. et Bourne, J.R. (1987) Biological denitrification of drinking water using autotrophic organisms with H<sub>2</sub> in a fluidized-bed biofilm reactor. *Biotechnol. Bioeng.* 29, 493-501.
- Lachat Instruments. QuickChem Method 10-107-04-2-A (1997). Analytix Lachat Instruments Division, Milwaukee, États-Unis.
- Langouet, M. (2000) *La biodénitratation autotrophe sur soufre en aquarium marin*. Disponible à l'adresse : <http://recifal.fr/chimie-de-laquarium-recifal/>. Consulté le 26-10-2015.
- Lavigne, R. (1993) La dénitrification biologique: 2<sup>e</sup> Partie. *Aquarama* 131, 42-50.
- Lee, K-C. et Rittmann, B.E. (2002) Applying a novel autohydrogenotrophic hollow-fiber membrane biofilm reactor for denitrification of drinking water. *Water Res.* 36(8), 2040-2052.
- Lee, K-C. et Rittmann, B.E. (2003) Effects of pH and precipitation on autohydrogenotrophic denitrification using the hollow-fiber membrane-biofilm reactor. *Water Res.* 37, 1551-1556.
- L'hirondel, J.L. et L'hirondel, J. (1996) Les nitrates et l'Homme : le mythe de leur toxicité. *Editions de l'Institut de l'Environnement*, Liffre, France, 142 p.
- L'hirondel, J.L. (1993) Les méthémoglobinémies du nourison. Données nouvelles. *Cahier Nutrit. Diet.* 28, 341-349.
- Li, R., Yuan, Y., Zhan, X. et Liu, B. (2014) Phosphorus removal in a sulfur-limestone autotrophic denitrification (SLAD) biofilter. *Environ Sci Pollut Res Int.* 21(2), 972-8.
- Liu L.H. et Koenig A. (2002) Use of limestone for pH control in autotrophic denitrification: Batch experiments. *Process Biochem.* 37, 885-893.
- Liu, H., Jiang, W., Wan, D. et Qu, J. (2009) Study of a combined heterotrophic and sulfur autotrophic denitrification technology for removal of nitrate in water. *J Hazard Mater.* 169(1-3), 23-8.
- Manconi, I., Carucci, A. et Lens, P. (2007) Combined removal of sulfur compounds and nitrate by autotrophic denitrification in bioaugmented activated sludge system. *Biotechnol Bioeng.* 98(3), 551-560.
- Mena-Duran, C.J., Sun Kou, M.R., Lopez, T., Azamar-Barrios, J.A., Aguilar, D.H., Domínguez, M.I., Odriozola, J.A. et Quintana, P. (2007) Nitrate removal using natural clays modified by acid thermoactivation. *Appl. Surf. Sci.* 253, 5762–5766.
- Melo, L.F. (2003) Biofilm formation and its role in fixed film processes. *Handbook of water and wastewater microbiology*. Academic Press, New York, NY, États-Unis, Chap 20, pp. 337-349.

- Mercier, G. (2000) Disponibilité des métaux dans les sols et prévision du rendement d'enlèvement par des techniques minéralurgiques. *Université Laval, Québec, QC, Canada et Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse, Toulouse, France*, 277 p.
- MDDELCCC (2015) Loi sur la qualité de l'environnement. Règlement sur l'évacuation et le traitement des eaux usées des résidences isolées. *Ministère du Développement Durable, de l'Environnement et de Lutte Contre les Changements Climatiques*, Chapitre Q-2, r. 22., Québec, QC, Canada.
- Moon, H.S., Ahn, K.H., Lee, S., Nam, K. et Kim, J.Y. (2004) Use of autotrophic sulfur-oxidizers to remove nitrate from bank filtrate in a permeable reactive barrier system. *Environ. Pollut.* 129(3), 499-507.
- Moon, H.S., Chang, S.W., Nam, K., Choe, J. et Kim, J.Y. (2006) Effect of reactive media composition and co-contaminants on sulfur-based autotrophic denitrification. *Environ. Pollut.* 144(3), 802-807.
- Mortula, M. (2006) Phosphorus removal from small-scale wastewater application using alum sludge. Mémoire de doctorat, Dalhousie University, Halifax, Nouvelle Écosse, Canada, 211 p.
- Nagadomi, H., Hiromitsu, T., Takeno, K., Watanabe, M. et Sasaki, K. (1999) Treatment of aquarium water by denitrifying photosynthetic bacteria using immobilized polyvinyl alcohol beads. *J. Biosci. Bioeng.* 87, 189-193.
- National Research Council (1995) Nitrate and nitrite in drinking water. *National Academy of Science*, National Academy Press, Washington, DC, États-Unis, 63 p.
- Oh, S.E., Kim, K.S., Choi, H.C., Cho, J. et Kim, I.S. (2000) Kinetics and physiological characteristics of autotrophic denitrification by denitrifying sulfur bacteria. *Water Sci. Technol.* 42, 59-68.
- Olivier, L. (2007) Autotrophic denitrification chamber and calcium reactor. US patent, No. 7306733B2.
- OMS (1998) Nitrate and nitrite, guideline for drinking-water quality. *Organisation Mondiale de la Santé*, Vol 1 recommandations, WHO, Genève, Suisse, pp. 8-10.
- OMS (1962) Evaluation of the toxicity of a number of antimicrobials and antioxidants. Sixth report of the joint FAO/WHO. *World Health Organization Technical Report, Series 228*, WHO, Genève, Suisse, pp. 76-78.
- Overath, H., Hussmann, A. et Haberer, K. (1986) Biological denitrification by *Thiobacillus denitrificans* using elemental sulfur fixed on granular activated carbon as electron donor. *Vom Wasser.* 66, 59-83.
- Pan, S.H. (2007) Autotrophic denitrification of groundwater in a granular sulfur-packed up-flow reactor. Mémoire de doctorat, *The University of Texas at Arlington*, Arlington, Texas, États-Unis, 148 p.

- Patureau, D. (1995) Étude cinétique et physiologique d'une bactérie dénitrifiante en conditions aérobie, suivi d'un réacteur aéré, parfaitement mélangé, en culture pure et en culture mixte associée à une flore nitrifiante. Mémoire de doctorat, *INSA Toulouse*, Toulouse, France, 2047 p.
- Ratel, M.O. et Debrieux, C. (2003) Élimination des nitrates des eaux potables. Document technique, FNDAE, Hors série N°4. *Ministère de l'Agriculture de l'Alimentation, de la Pêche et des Affaires Rurales, Direction de l'Espace Rural et de la Forêt*, Paris, France, 71 p.
- Rijn, J.V., Tal, Y. et Schreier, H.J. (2006) Denitrification in recirculating systems : Theory and applications. *Aquacultural Eng.* 34, 364-376.
- Santé Canada (2014) Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada. Tableau sommaire. *Comité fédéral-provincial-territorial sur l'eau potable du Comité fédéral-provincial-territorial sur la santé et l'environnement*, Canada.
- Santé Canada (2013) Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada. Document technique – Le nitrate et le nitrite. *Comité fédéral-provincial-territorial sur l'eau potable du Comité fédéral-provincial-territorial sur la santé et l'environnement*, Canada.
- Schippers, C.J. et Kruithof, C.J. (1987) Removal of nitrate by slow sulphur/limestone filtration. *Aqua.* 5, 274-280.
- Sengupta, S., Ergas, S.J., Lopez-Luna, E., Sahu, A.K. et Palaniswamy, K. (2011) Autotrophic biological denitrification for complete removal of nitrogen from septic systems wastewater. *Wat. Air Soil Pollut.* 6, 111-126.
- Sengupta, S. et Ergas, S. (2007) Process for autotrophic denitrification using elemental sulfur and mollusk shells. US patent, No. 20070262019A1.
- Sengupta, S., Ergas, S. et Lopez-luna, E. (2007) Investigation of solid-phase buffers for sulfur-oxidizing autotrophic denitrification. *Water Environ. Res.* 79, 2519–2526.
- Sengupta, S. et Ergas, S.J. (2006) Autotrophic Biological Denitrification with Elemental Sulfur or Hydrogen for Complete Removal of Nitrate-Nitrogen from a Septic System Wastewater. *A Final Report Submitted to The NOAA/UNH Cooperative Institute for Coastal and Estuarine Environmental Technology (CICEET)*, 1-40.
- Shao, M-F., Zhang, T. et Fang, H. H-P. (2010) Sulfur-driven autotrophic denitrification : diversity, biochemistry, and engineering applications. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 88, 1027-1042.
- Simard, M.C. (2010) Contrôle des éléments nutritifs dans le grand bassin marin de l' Aquarium du Québec. Mémoire de maîtrise, *INRS-ETE*, Université du Québec, Québec, QC, Canada, 135 p.
- Sierra-Alvarez, R., Beristain-Cardoso, R., Salazar, M., Gomez, J., Razo-Flores, E. et Field, J.A. (2007) Chemolithotrophic denitrification with elemental sulfur for groundwater treatment. *Water Res.* 41(6), 1253-1262.
- Sikora, L.J. et Keeney, D.R. (1976) Evaluation of sulphur-*Thiobacillus denitrificans* nitrate

- removal system. *J. Environ. Quality*. 5(3), 298-303.
- Socias-Viciano, M.M., Urena-Amate, M.D., González-Pradas, E., García-Cortés, M.J. et López-Teruel, C. (2008) Nitrate removal by calcined hydrotalcite-type compounds, Clay. *Clay Miner.* 56, 2-9.
- Soares, M.I.M. (2000) Biological denitrification of groundwater. *Water, Air & Soil Pollut.* 123, 183-193.
- Sundbäck, K., Linares, F., Larson, F. et Wulff, A. (2004) Benthic nitrogen fluxes along a depth gradient in a microtidal fjord : The role of denitrification and microphytobenthos. *Limnol. Oceanogr.* 49, 1095-1107.
- Tam, N.F.Y., Wong, Y.S. et Leyng, G. (1992) Effect of exogenous carbon-sources on removal of inorganic nutrient by the nitrification denitrification process. *Water Res.* 26, 1229-1236.
- Tiedje, J.M. (1988) Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. In A.J.B. Zehnder (Eds.), *Biology of anaerobic microorganism*. New-York, États-Unis, pp. 179-244.
- Tisdale, S.L. et Nelson, J.W.L. (1975) Soil fertility and fertilizers. *Éditions Macmillan, 3<sup>ème</sup> édition*, New York, NY, États-Unis, 694 p.
- Trouve, C., Chazal, P.M., Gueroux, B. et Sauvaitre, N. (1998) Denitrification by New Strains of *Thiobacillus Denitrificans* under Non-Standard Physicochemical Conditions. Effect of Temperature, pH, and Sulphur Source. *Environ. Technol.* 19(6), 601-610.
- USEPA, United States Environmental Protection Agency (2009) National primary drinking water regulations. EPA 816-F-09-004, USA.
- Uved, 2006, Cours : Dynamique des ressources naturelles. Disponible à l'adresse : [http://www.uved.fr/fileadmin/user\\_upload/modules\\_introductifs/module2/site/html/m2c3\\_m2c3p1\\_m2c3p1sp1\\_1.html](http://www.uved.fr/fileadmin/user_upload/modules_introductifs/module2/site/html/m2c3_m2c3p1_m2c3p1sp1_1.html). Consulté en 09-2012.
- Van der Hoek, J.P., Kappelhof, J. et Hijnen, W.A.M. (1992) Biological nitrate removal from ground water by sulphur/limestone denitrification. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 54(2), 197-200.
- Wanner, O., Eberl, H., Morgenroth, E., Noguera, D., Picioreanu, C., Rittmann, B. et Van Loosdrecht, M. (2006) Mathematical modelling of biofilms. *IWA Scientific and Technical Report No. 18*, Éditions IWA, 199 p.
- Warren, A., Drogui, P. et Laurion, I. (2010) Revue sur l'état actuel des connaissances des procédés utilisés pour l'élimination des cyanobactéries et cyanotoxines lors de la potabilisation des eaux. *Revue Sciences Eau* 23(4), 391-412.
- Xi, Y., Mallavarapu, M. et Naidu, R. (2010) Preparation, characterization of surfactants modified clay minerals and nitrate adsorption. *Appl. Clay Sci.* 48, 92-96.
- Yoshikimi, W., Katsuteru, K., Kiyokazu, T. et Naoki, O. (2002) Biological treatment apparatus and autotrophic sulfur denitrification method. JP patent, No. 2002316189.
- Zhang, T.C. (2004) Development of sulfur-limestone autotrophic denitrification processes for

treatment of nitrate-contaminated groundwater in small communities. *Final report for Midwest Technology Assistance Center (MTAC)*, Champaign, Illinois, États-Unis, 46 p.

- Zhang, T.C. et Lampe, T.C. (1999) Sulfur :limestone autotrophic denitrification processes for treatment of nitrate-contaminated water : batch experiments. *Water Res.* 33(3), 599-608.
- Zhao, Z., Qiu, W., Koenig, A., Fan, X. et Gu, J.D. (2004) Nitrate removal from saline water using autotrophic denitrification by the bacterium *Thiobacillus denitrificans* MP-1. *Environ. Technol.* 25(10), 1201-1210.
- Zhou, W., Sun, Y., Wu, B., Zhang, Y., Huang, M., Miyanaga, T. et Zhang, Z. (2011) Autotrophic denitrification for nitrate removal using sulfur-limestone. *J. Env. Sci.* 23(11), 1761-1769.
- Zumft, W.G. (1997) Cell biology and molecular basis of denitrification. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 61, 533-616.



## ANNEXE 1

Paramètres	Valeurs	Unités	Calculs
Volume d'eau à traiter (VTJ)	1000	L/jr	
Débit d'eau à traiter (QTH)	41,7	L/h	VTJ / 24
Concentration initiale de nitrate (CIN)	30	mg NO <sub>x</sub> -N/L	
Concentration finale de nitrate (CFN)	1	mg NO <sub>x</sub> -N/L	
Taux d'élimination des nitrates (TEN)	29	g NO <sub>x</sub> -N/jr	(CIN - CFN) * VTJ / 1000
Taux spécifique de consommation de soufre (TSS)	2,52	g S/g NO <sub>x</sub> -N	
Taux de consommation de soufre (TCS)	73,1	g S/jr	TEN * TSS
Volume journalier de consommation du soufre (VJCS)	0,0454	L/jr	TCS / (DES * 1000)
Taux spécifique de consommation de calcaire (TSC)	1,16	g CaCO <sub>3</sub> /g S	
Taux de consommation de calcaire (TCC)	84,9	g CaCO <sub>3</sub> /jr	TCS * TSC
Volume journalier de consommation du calcaire (VJCC)	0,0347	L/jr	TCC / (DEC * 1000)
Densité spécifique du soufre (DES)	1,61	kg/L	
Densité spécifique du calcaire (DEC)	2,45	kg/L	
Densité spécifique du gravier (DEG)	2,35	kg/L	
Porosité du soufre (POS)	27	%	
Porosité du calcaire (POC)	43	%	
Porosité du gravier (POG)	44	%	
Porosité du support S/CaCO <sub>3</sub> (POM)	33,7	%	(POS*VJCS/(VJCS+VJCC) + POC*VJCC/(VJCS+VJCC))
Volume total du bioréacteur/ capacité (VTB)	389,46	L	HTB * 3,1416 * ((DIB / 2) ^2) / 1000
Volume utile du bioréacteur (VUB)	338,1	L	HUB * 3,1416 * ((DIB / 2) ^2) / 1000
Hauteur totale du bioréacteur (HTB)	129,0	cm	
Hauteur du volume utile dans le bioréacteur (HUB)	112,0	cm	
Diamètre interne du bioréacteur (DIB)	62,0	cm	
Hauteur du gravier à la base du bioréacteur (HLB)	10,0	cm	
Volume disponible pour le gravier (VDG)	30,2	L	HLB * 3,1416 * (DIB / 2) ^2
Volume occupé par l'eau dans le gravier (VEG)	13,3	L	VDG * POG / 100
Hauteur de liquide en haut du bioréacteur (HLH)	18,5	cm	
Volume de liquide en haut du bioréacteur (VLH)	55,9	L	HLH * 3,1416 * (DIB / 2) ^2
Hauteur disponible pour le support S/CaCO <sub>3</sub> (HDS)	83,5	cm	HUB - HLB - HLH
Volume disponible pour le support S/CaCO <sub>3</sub> (VDS)	252,1	L	HDS * 3,1416 * (DIB / 2) ^2
Volume occupé par l'eau dans le support (VES)	85,0	L	VDS * POM / 100
Volume occupé par le soufre et calcaire (VSC)	167,1	L	VDS - VES
Volume occupé par le soufre dans le support (VSS)	94,7	L	VSC * VJCS / (VJCS + VJCC)
Volume occupé par le calcaire dans le support (VCS)	72,4	L	VSC - VSS

Volume occupé par le gravier dans le bas du bioréacteur (VG)	16,9	L	VDG - VEG
Masse de soufre dans le bioréacteur (MSB)	153	kg	VSS * DES
Masse de calcaire dans le bioréacteur (MCB)	177	kg	VCS * DEC
Masse de gravier dans le bioréacteur (MGB)	40	kg	VG * DEG
Ratio soufre/calcaire (m/m)	0,9	1/1,17	
Ratio soufre/calcaire (v/v)	1,3	1,3/1	
Durée de vie du soufre (DVS)	2088	jours	MSB * 1000 / TCS
Durée de vie du calcaire (DVC)	2088	jours	MCB * 1000 / TCC
Durée de vie du soufre	5,72	ans	
Durée de vie du calcaire	5,72	ans	
Temps de rétention hydraulique (TRH)	2,0	h	VES / QTH
Charge d'élimination des nitrates (CEN)	0,341	g NO <sub>x</sub> -N/L.jr	TEN / VES
Fréquence des doses	2	/TRH	
Intervalle entre les doses	42	minutes	
Temps de pompage par dose	2,0	minutes	
Débit de pompe (QP1)	21	L/min	
Volume par dose	42,5	L	

## ANNEXE 2

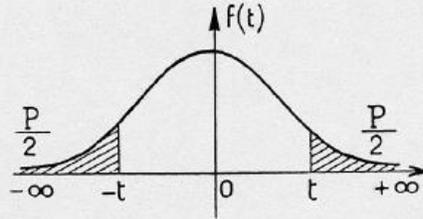
Paramètres	Valeurs	Unités	Calculs
Volume d'eau à traiter (VTJ)	1500	L/jr	
Débit d'eau à traiter (QTH)	62,5	L/h	VTJ / 24
Concentration initiale de nitrate (CIN)	30	mg NO <sub>x</sub> -N/L	
Concentration finale de nitrate (CFN)	1	mg NO <sub>x</sub> -N/L	
Taux d'élimination des nitrates (TEN)	44	g NO <sub>x</sub> -N/jr	(CIN - CFN) * VTJ / 1000
Taux spécifique de consommation de soufre (TSS)	2,52	g S/g NO <sub>x</sub> -N	
Taux de consommation de soufre (TCS)	109,6	g S/jr	TEN * TSS
Volume journalier de consommation du soufre (VJCS)	0,0681	L/jr	TCS / (DES * 1000)
Taux spécifique de consommation de calcaire (TSC)	1,16	g CaCO <sub>3</sub> /g S	
Taux de consommation de calcaire (TCC)	127,4	g CaCO <sub>3</sub> /jr	TCS * TSC
Volume journalier de consommation du calcaire (VJCC)	0,0520	L/jr	TCC / (DEC * 1000)
Densité spécifique du soufre (DES)	1,61	kg/L	
Densité spécifique du calcaire (DEC)	2,45	kg/L	
Densité spécifique du gravier (DEG)	2,35	kg/L	
Porosité du soufre (POS)	27	%	
Porosité du calcaire (POC)	43	%	
Porosité du gravier (POG)	44	%	
Porosité du support S/CaCO <sub>3</sub> (POM)	33,7	%	(POS*VJCS/(VJCS+VJCC) + POC*VJCC/(VJCS+VJCC))
Volume total du bioréacteur/ capacité (VTB)	389,46	L	HTB * 3,1416 * ((DIB / 2) ^2) / 1000
Volume utile du bioréacteur (VUB)	338,1	L	HUB * 3,1416 * ((DIB / 2) ^2) / 1000
Hauteur totale du bioréacteur (HTB)	129,0	cm	
Hauteur du volume utile dans le bioréacteur (HUB)	112,0	cm	
Diamètre interne du bioréacteur (DIB)	62,0	cm	
Hauteur du gravier à la base du bioréacteur (HLB)	10,0	cm	
Volume disponible pour le gravier (VDG)	30,2	L	HLB * 3,1416 * (DIB / 2) ^2
Volume occupé par l'eau dans le gravier (VEG)	13,3	L	VDG * POG / 100
Hauteur de liquide en haut du bioréacteur (HLH)	18,5	cm	
Volume de liquide en haut du bioréacteur (VLH)	55,9	L	HLH * 3,1416 * (DIB / 2) ^2
Hauteur disponible pour le support S/CaCO <sub>3</sub> (HDS)	83,5	cm	HUB - HLB - HLH
Volume disponible pour le support S/CaCO <sub>3</sub> (VDS)	252,1	L	HDS * 3,1416 * (DIB / 2) ^2
Volume occupé par l'eau dans le support (VES)	85,0	L	VDS * POM / 100
Volume occupé par le soufre et calcaire (VSC)	167,1	L	VDS - VES
Volume occupé par le soufre dans le support (VSS)	94,7	L	VSC * VJCS / (VJCS + VJCC)
Volume occupé par le calcaire dans le support (VCS)	72,4	L	VSC - VSS

Volume occupé par le gravier dans le bas du bioréacteur (VG)	16,9	L	VDG - VEG
Masse de soufre dans le bioréacteur (MSB)	153	kg	VSS * DES
Masse de calcaire dans le bioréacteur (MCB)	177	kg	VCS * DEC
Masse de gravier dans le bioréacteur (MGB)	40	kg	VG * DEG
Ratio soufre/calcaire (m/m)	0,9	1/1,17	
Ratio soufre/calcaire (v/v)	1,3	1,3/1	
Durée de vie du soufre (DVS)	1392	jours	MSB * 1000 / TCS
Durée de vie du calcaire (DVC)	1392	jours	MCB * 1000 / TCC
Durée de vie du soufre	3,81	ans	
Durée de vie du calcaire	3,81	ans	
Temps de rétention hydraulique (TRH)	1,4	h	VES / QTH
Charge d'élimination des nitrates (CEN)	0,512	g NO <sub>x</sub> -N/L.jr	TEN / VES
Fréquence des doses	2	/TRH	
Intervalle entre les doses	42	minutes	
Temps de pompage par dose	2,0	minutes	
Débit de pompe (QP1)	21	L/min	
Volume par dose	42,5	L	

---

### ANNEXE 3

#### Valeur de t-student – Test t



$\frac{P}{v}$	0,90	0,80	0,70	0,60	0,50	0,40	0,30	0,20	0,10	0,05	0,02	0,01	0,001
1	0,158	0,325	0,510	0,727	1,000	1,376	1,963	3,078	6,314	12,706	31,821	63,657	636,619
2	0,142	0,289	0,445	0,617	0,816	1,061	1,386	1,886	2,920	4,303	6,965	9,925	31,598
3	0,137	0,277	0,424	0,584	0,765	0,978	1,250	1,638	2,353	3,182	4,541	5,841	12,929
4	0,134	0,271	0,414	0,569	0,741	0,941	1,190	1,533	2,132	2,776	3,747	4,604	8,611
5	0,132	0,267	0,408	0,559	0,727	0,920	1,156	1,476	2,015	2,571	3,365	4,032	6,869
6	0,131	0,265	0,404	0,553	0,718	0,906	1,134	1,440	1,943	2,447	3,143	3,707	5,959
7	0,130	0,263	0,402	0,549	0,711	0,896	1,119	1,415	1,895	2,365	2,998	3,499	5,408
8	0,130	0,262	0,399	0,546	0,706	0,889	1,108	1,397	1,860	2,306	2,896	3,355	5,041
9	0,129	0,261	0,398	0,543	0,703	0,883	1,100	1,383	1,833	2,262	2,821	3,250	4,781
10	0,129	0,260	0,397	0,542	0,700	0,879	1,093	1,372	1,812	2,228	2,764	3,159	4,587
11	0,129	0,260	0,396	0,540	0,697	0,876	1,088	1,363	1,796	2,201	2,718	3,106	4,437
12	0,128	0,259	0,395	0,539	0,695	0,873	1,083	1,356	1,782	2,179	2,681	3,055	4,318
13	0,128	0,259	0,394	0,538	0,694	0,870	1,079	1,350	1,771	2,160	2,650	3,012	4,221
14	0,128	0,258	0,393	0,537	0,692	0,868	1,076	1,345	1,761	2,145	2,624	2,977	4,140
15	0,128	0,258	0,393	0,536	0,691	0,866	1,074	1,341	1,753	2,131	2,602	2,947	4,073
16	0,128	0,258	0,392	0,535	0,690	0,865	1,071	1,337	1,745	2,120	2,583	2,921	4,015
17	0,128	0,257	0,392	0,534	0,689	0,863	1,069	1,333	1,740	2,110	2,567	2,898	3,965
18	0,127	0,257	0,392	0,534	0,688	0,862	1,067	1,330	1,734	2,101	2,552	2,878	3,922
19	0,127	0,257	0,391	0,533	0,688	0,861	1,066	1,328	1,729	2,093	2,539	2,861	3,883
20	0,127	0,257	0,391	0,533	0,687	0,860	1,064	1,325	1,725	2,086	2,528	2,845	3,850
21	0,127	0,257	0,391	0,532	0,686	0,859	1,063	1,323	1,721	2,080	2,518	2,831	3,819
22	0,127	0,256	0,390	0,532	0,686	0,858	1,061	1,321	1,717	2,074	2,508	2,819	3,792
23	0,127	0,256	0,390	0,532	0,685	0,858	1,060	1,319	1,714	2,069	2,500	2,807	3,767
24	0,127	0,256	0,390	0,531	0,685	0,857	1,059	1,318	1,711	2,064	2,492	2,797	3,745
25	0,127	0,256	0,390	0,531	0,684	0,856	1,058	1,316	1,708	2,060	2,485	2,787	3,725
26	0,127	0,256	0,390	0,531	0,684	0,856	1,058	1,315	1,706	2,056	2,479	2,779	3,707
27	0,127	0,256	0,389	0,531	0,684	0,855	1,057	1,314	1,703	2,052	2,473	2,771	3,690
28	0,127	0,256	0,389	0,530	0,683	0,855	1,056	1,313	1,701	2,048	2,467	2,763	3,674
29	0,127	0,256	0,389	0,530	0,683	0,854	1,055	1,311	1,699	2,045	2,462	2,756	3,659
30	0,127	0,256	0,389	0,530	0,683	0,854	1,055	1,310	1,697	2,042	2,457	2,750	3,646
40	0,126	0,255	0,388	0,529	0,681	0,851	1,050	1,303	1,684	2,021	2,423	2,704	3,551
80	0,126	0,254	0,387	0,527	0,679	0,848	1,046	1,296	1,671	2,000	2,390	2,650	3,460
120	0,126	0,254	0,386	0,526	0,677	0,845	1,041	1,289	1,658	1,980	2,358	2,617	3,373
$\infty$	0,126	0,253	0,385	0,524	0,674	0,842	1,036	1,282	1,645	1,960	2,326	2,576	3,291



## ANNEXE 4

**Valeurs de t-Student calculées pour évaluer l'influence de la source de soufre et de calcaire sur le développement de la biomasse bactérienne (pH et teneur résiduelle en nitrates) après 14 et 32 jours en l'absence et en présence d'inoculum**

	Absence inoculum		Présence inoculum	
	pH	Nox	pH	Nox
<b>Influence de la présence de soufre/thiosulfate</b>				
<b>t = 14 jours</b>				
EU versus EU + Soufre	12,8	0,66	12,2	17,1
EU versus EU+ Soufre + S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	9,38	29,1	7,38	15,5
EU + Soufre versus EU + Soufre + S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	1,36	10,8	0,72	1,65
<b>t = 32 jours</b>				
EU versus EU + Soufre	23,1	7,47	41,1	19,1
EU versus EU+ Soufre + S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	39,7	126	10,8	18,8
EU + Soufre versus EU + Soufre + S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	17,6	44,4	0,68	7,2
<b>Influence de la présence de calcaire</b>				
<b>t = 14 jours</b>				
EU + Soufre versus EU + Soufre + Calcaire	26,9	12,2	9,2	21,5
EU + Soufre + S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> versus EU + Soufre + S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> + Calcaire	0,41	2,15	3,11	8,62
<b>t = 32 jours</b>				
EU + Soufre versus EU + Soufre + Calcaire	20,2	23,2	16,8	2,13
EU + Soufre + S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> versus EU + Soufre + S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> + Calcaire	6,26	5,27	0,46	5,39



## ANNEXE 5

**Valeurs de t-Student calculées pour évaluer l'influence de l'ajout d'inoculum sur le pH et les teneurs résiduelles en nitrates pour les différentes conditions opératoires testées après 14 et 32 jours**

	t = 14 jours		t = 32 jours	
	pH	NO <sub>x</sub>	pH	NO <sub>x</sub>
<b>Influence de la présence d'inoculum</b>				
EU versus EU + Inoculum	0,63	3,18	0,44	3,79
EU + Soufre versus EU + Soufre + Inoculum	0,96	14,0	21,5	45,0
EU + Soufre + S2O3 versus EU + Soufre + S2O3 + Inoculum	1,05	5,73	2,42	0,18
EU + Soufre + Calcaire versus EU + Soufre + Calcaire + Inoculum	5,25	6,04	0,49	0,19
EU + Soufre + S2O3 +Calcaire versus EU + Soufre + S2O3 +Calcaire + Inoculum	3,86	3,66	8,62	6,18